

符清露, 董志远, 李宝泉, 等. 基于环境 DNA 宏条形码技术的黄河三角洲典型潮沟单元秋季无脊椎动物多样性及共现网络分析[J]. 海洋学报, 2024, 46(11): 75–90, doi:10.12284/hyxb2024122

Fu Qinglu, Dong Zhiyuan, Li Baoquan, et al. Analysis of invertebrate diversity and co-occurrence network based on environmental DNA metabarcoding in autumn typical tidal creek units of the Huanghe River Delta[J]. Haiyang Xuebao, 2024, 46(11): 75–90, doi:10.12284/hyxb2024122

基于环境 DNA 宏条形码技术的黄河三角洲典型潮沟单元秋季无脊椎动物多样性及共现网络分析

符清露¹, 董志远², 李宝泉^{2,3}, 陈莉², 孙德斌², 倪艳梅², 唐永政¹, 陈琳琳^{2,3*}

(1. 烟台大学海洋学院, 山东烟台 264003; 2. 中国科学院烟台海岸带研究所海岸带生物学与生物资源保护实验室, 山东烟台 264003; 3. 中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室(烟台海岸带研究所), 山东烟台 264003)

摘要: 潮沟系统作为滨海湿地中活跃的地貌单元, 不同级别潮沟水文环境变化显著, 进而导致生物群落的空间分布出现差异。本研究选取黄河三角洲典型潮沟单元, 利用环境 DNA 宏条形码 (environmental DNA metabarcoding, eDNA) 技术检测不同级别潮沟无脊椎动物多样性, 采用生物共现网络分析和冗余分析 (RDA) 分别揭示典型潮沟无脊椎动物关键种与驱动因素。结果表明: 该潮沟单元共检测到无脊椎动物 127 个分类操作单元 (Operational Taxonomic Units, OTUs), 隶属于 9 门 24 纲 53 目 103 科 87 属 90 种。无脊椎动物门水平和属水平分别以节肢动物门 (43.9%) 和围沙蚕属 (*Perinereis*) (25.2%) 为优势类群。群落综合多样性指标 (Comprehensive diversity index, CD) 分析显示, 三级潮沟综合多样性最高, 一级潮沟无脊椎动物综合多样性最低。生物共现网络分析显示, 线围沙蚕 (*Perinereis linea*) 和双枝蕨枝螭 (*Obelia dichotoma*) 为关键种, 对维持该潮沟无脊椎动物群落结构稳定起关键作用。RDA 显示, 水体的硅酸盐含量、温度和沉积物的粉砂、黏土占比是影响该潮沟无脊椎动物群落特征的主要环境因子。相关性网络分析显示, 关键种受硅酸盐含量、黏土和氮元素含量的显著影响 ($P < 0.05$)。研究结果有助于了解黄河三角洲典型潮沟无脊椎动物群落结构, 揭示典型潮沟无脊椎动物关键种, 并为无脊椎动物多样性监测与保护提供数据支持与理论参考。

关键词: 环境 DNA 宏条形码; 共现网络; 生物多样性; 无脊椎动物; 黄河三角洲

中图分类号: Q959.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2024)11-0075-16

1 引言

黄河三角洲湿地是西太平洋沿岸最完整的新生湿地生态系统^[1]。受海洋、陆地和河流的交互影响, 黄河三角洲湿地潮滩面积广大, 潮沟系统发育成熟^[2]。作为潮滩上活跃的地貌单元, 潮沟在湿地水体连通中

发挥重要作用, 其不仅是水体、沉积物和碎屑输入与输出的重要通道, 同时也是海陆物质能量交换发生的关键区域^[3-5]。一方面, 黄河径流输送和潮水顶托为潮沟区输送大量营养元素和有机物质, 为生物群落组建和生态系统发展提供了充足的营养物质条件^[6-7]。另一方面, 潮沟区咸淡水交替, 塑造了复杂的生境条

收稿日期: 2024-07-16; 修订日期: 2024-11-05。

基金项目: 国家自然科学基金(42176160 和 42276142); 山东省自然科学基金(ZR2021MD084); 山东省水文中心黄河三角洲水文连通及其对湿地生态系统健康驱动研究(SDGP370000000202302007881A 001)。

作者简介: 符清露(2000—), 女, 海南省海口市人, 主要从事海岸带生物多样性与生态连通性研究。E-mail: qingluf64@163.com

* 通信作者: 陈琳琳, 博士, 硕士生导师, 主要从事海岸带生物多样性与生态连通性研究。E-mail: llchen@yc.ac.cn

件,是三角洲内海洋型、淡水型和河口型生物的重要栖息地,生物多样性丰富^[8]。物种构成的水陆兼性特征,使之成为多种咸淡水鱼类和无脊椎动物生长繁殖的重要场地^[9]。由于潮沟的地貌特征(如长度、宽度和深度)和理化性质(如流速、水文和基质)差异^[10],受生境异质性影响,不同级别潮沟的物种组成和群落结构差异显著^[11]。

无脊椎动物是滨海湿地生态系统的重要类群^[12]。一方面,其作为生态系统的关键次级生产者和鸟类及其他动物的主要食源,是系统物质循环和能量流动过程的重要环节,维系系统结构和功能稳定。另一方面,由于具有对环境变化敏感度高、分布范围广、生活周期长和迁移范围小等特点,无脊椎动物常被广泛用作水生生态系统评价指标之一^[13-16]。黄河三角洲湿地潮沟分布区广、密度高,潮沟区内无脊椎动物类群多、丰度大、生物量高,是系统主要生物组成部分^[11]。同时,受不同级别潮沟的生境异质性影响,无脊椎动物物种组成及群落结构在空间上存在差异。无脊椎动物对潮沟的水文特征和理化环境响应敏感,其种群结构、关键类群和物种数等群落结构变化特征直接反映潮沟区的稳定性与变异性^[17],是开展湿地潮沟系统研究的理想生物类群。

环境 DNA 宏条形码技术是一种有效监测水生生物群落结构组成和多样性的工具^[18-20],其将高通量测序技术与生物 DNA 条形码识别相结合,利用高通量测序获得条形码基因扩增子,再通过数据库中的序列进行注释分类,得到分析鉴定群落的物种组成^[21-22]。相较于传统分类鉴定方法,环境 DNA 条形码技术具有非破坏性、操作简易和灵敏度高等特点,常被应用于水生生物调查中^[23-25]。DNA 宏条形码技术在检测无脊椎动物物种组成方面更为准确和全面。研究表明利用环境 DNA 宏条形码技术可提高物种检出率和物种丰度估计^[26]。黄河三角洲湿地环境复杂多样,利用传统方法采样低效,且鉴定分类的主观因素影响大。相比较于传统方法,环境 DNA 宏条形码技术在无脊椎动物多样性评估及生态评估方面具有明显优势。

生物共现网络是研究群落水平物种互作的结构模型,基于物种在群落中出现及丰度数据,可描述物种间潜在的相互作用、群落的基本结构,揭示群落中的物种互作关系及群落中的关键类群^[27-28]。传统的生物监测多基于生物或类群的出现率和多度信息,忽略了生物间及生物与环境间的作用关系,而这些关系是影响评估群落多样性及其对环境变化响应的重要因素^[29]。环境 DNA 宏条形码技术基于高通量测序能够

高效便捷地获取环境中群落大数据信息,结合环境数据构建生物共现网络模型,生物共现网络的多项拓扑结构属性(中心性、模块性、连接度等)可反映群落稳定性及鉴别出群落关键种^[30]。目前,生物共现网络模型多集中在微生物群落、真核浮游生物和鱼类研究中^[31-33],在揭示群落稳定性和关键种方面提供了丰富的研究方法。因此,生物共现网络模型是研究无脊椎动物相互关系及其影响因素的有效途径。

本研究以黄河三角洲内咸淡水交替环境下的典型潮沟单元为研究区域,利用环境 DNA 宏条形码技术评估该潮沟单元无脊椎动物生物多样性,探究:(1)不同级别潮沟间无脊椎动物多样性特征;(2)鉴别典型潮沟单元无脊椎动物群落关键种;(3)揭示无脊椎动物群落结构的关键影响因素,以为黄河三角洲湿地的生物多样性监测与保护提供数据支持。

2 材料与方法

2.1 采样站点

研究区位于黄河三角洲自然保护区内,属暖温带大陆性季风气候,年平均气温为 11.7~12.6℃,年降水量为 530~630 mm,年蒸发量为 1 900~2 400 mm。研究区潮水为不规则半日潮,平均高潮间隙为 10~11 h,平均大潮潮差为 1.06~1.78 m,小潮潮差为 0.46~0.78 m。区域内分布有大面积的浅海滩涂和多样的湿地植被,是水生动植物的优质栖息地。基于文献资料、遥感影像与现场调查,于 2021 年 10 月在黄河三角洲自然保护区内选择典型潮沟单元。按照 Horton-Strahler 潮沟分级原则^[34],将不再分支的末端潮沟定义为一二级潮沟(S1),将多个一级潮沟汇聚形成的次支流定义为二级潮沟(S2),将与海洋直接相连的潮沟定义为三级潮沟(S3)。S1 布设两个采样带(S1S 与 S1X),分别位于 S1 和 S2 潮沟节点分叉处下端与 S1 末端。S2 布设两个采样带(S2S 与 S2X),分别位于 S2 和 S3 潮沟节点分叉处下端与 S1 和 S2 潮沟节点分叉处上端。S3 布设一个采样带(S3S),见图 1。每个样带 3 个采样点,每个样点间隔 20 m 且混合为一个样品。

2.2 环境因子测定与沉积物 eDNA 样品采集

使用 YSI 水质分析仪 [(Professional Plus (6050000))/ProComm(605604), 美国]现场测定温度(T)、溶解氧(DO)、盐度(SAL)和 pH。使用间隙水采水器(Rhizon, Rhizosphere, 荷兰)采集底层沉积物间隙水,暂存于 -20℃ 冷冻保存带回实验室。间隙水样品经 0.45 μm 水系滤膜抽滤后使用连续流动分析仪(Seal-Bran-lubbe AA3, SEAL, 英国)于 24 h 内测定间隙水营养盐

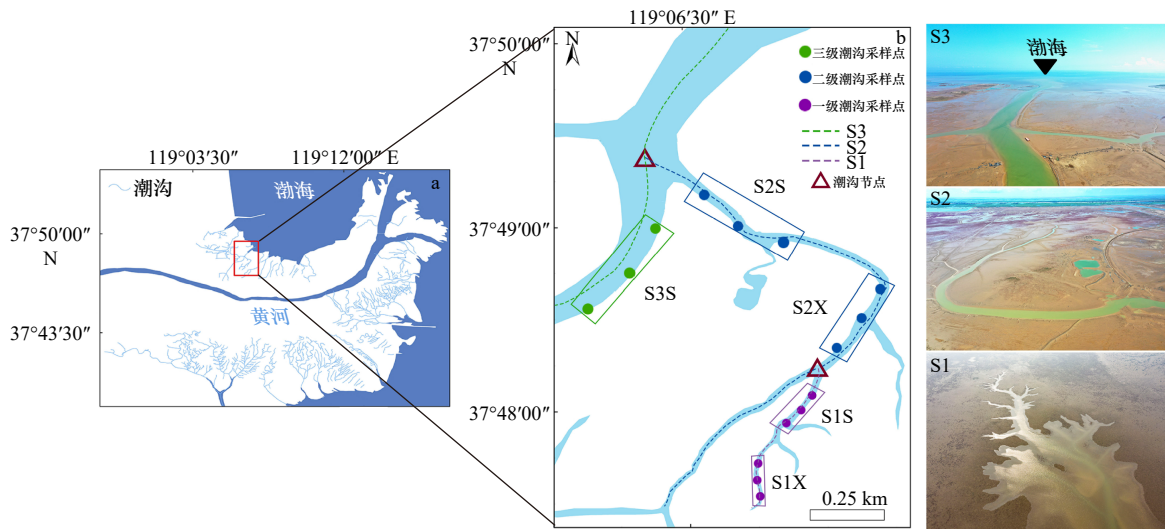


图 1 黄河口三角洲潮沟采样点

Fig. 1 Sampling sites of tidal creek in the Huanghe River Delta

含量($\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{SiO}_3\text{-Si}$)。沉积物样品使用处理过的注射器收集,于 -20°C 冷冻保存至实验室。沉积物样品部分在剔除砾石、动植物残体等杂质后,使用激光粒度仪(Marlvern Mastersizer 2000F, Marlvern Panalytical, 英国)测定沉积物粒径(D)。其余部分于冷冻机内冻干后研磨、过筛,使用元素分析仪(Vario Macro, Elementar, 德国)测定沉积物总氮(TN)、总碳(TC)和有机碳(TOC)含量。

沉积物 eDNA 样品采集方法参照 Clark 等^[35]进行。沉积物 eDNA 最终收集于 50 mL 无菌无酶离心管中,各站位设置 3 个平行处理。样品于 -20°C 车载冰箱内冷冻保存至实验室。3 个平行样放入灭菌烧杯混为一个样品,充分搅拌均匀,分装于 5 mL 冻存管内于超低温冰箱中保存(-80°C)。室内操作均在超净工作台完成。

2.3 DNA 提取、PCR 扩增和高通量测序

使用 Fast DNATM SPIN Kit for Soil(MP Biomedicals, 美国)提取 DNA,使用 NanoDrop 测定 DNA 浓度及质量。使用针对线粒体细胞色素氧化酶 I(COI)的通用引物 mLCOIintF: 5'-GWACWGGWTGAACWGT-WTAYCCYCC-3'和 jgHCO2198: 5'-TAIACYTCIGGRT-GICCRAARAAYCA-3'^[36],对无脊椎动物目标基因 COI 进行 PCR 扩增,并设置阴性对照,确保扩增过程中未受到污染。PCR 扩增总反应体系 25 μL ,包含 2 \times Taq plus Master Mix (Biosharp) 12.5 μL ,正反引物各 1 μL ,DNA 模板 1 μL , ddH_2O 9.5 μL ,扩增片段长度 313 bp。使用 PCR 仪 T100TM Thermal Cycler(Bio-rad, 美国),反应程序为:于 95°C 预变性 3 min,循环 35 次(95°C 变性 30 s, 57°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s),最后 72°C

延伸 5 min。每个样品 3 个技术重复,扩增完后使用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,核酸染料使用 GelRed,电泳电压 110 V,电泳时间 30 min,使用 100 bp DNA Ladder 对产物 DNA 链长度进行划分。扩增完后,使用凝胶成像仪(Tanon 2500/2500R, Tanon, 中国)查看扩增情况,要求扩增产物有清晰且单一的目的条带,阴性对照无显著条带。DNA 提取和 PCR 扩增操作过程使用的所有器材和试剂均为无菌状态,操作过程避免交叉污染。使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒(AXYGEN, 美国)切胶回收 PCR 产物,最后送至北京诺禾致源科技股份有限公司进行高通量测序,样品 DNA 片段于 Illumina NovaSeq 测序平台(Illumina, 美国)进行测序。

2.4 数据统计分析

使用 FLASH 1.2.7 拼接原始测序数据,采用 FastQC (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>)对数据进行质控和过滤。使用 Uparse 7.0.1001 (<http://www.drive5.com/uparse/>)按照 97% 相似性聚类到可操作单元(Operational Taxonomic Units, OTUs),同时采用 UCHIME(UCHIME Algorithm, http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html)检测嵌合体并去除,得到 OTU 的代表序列。采用 RDP classifier 贝叶斯算法 (<https://sourceforge.net/projects/rdpclassifier/>),将 OTU 代表序列在美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)中的核酸序列数据库 (<ftp://ftp.ncbi.nih.gov/blast/db/>)和 BOLD 数据库 (<https://www.boldsystems.org/>)进行物种注释(相似度大于 98%,序列覆盖度为 100%)。将 OTU 注释到的物种进行以下筛选:(1)去除非无脊椎动物(如细菌、真菌和浮游植物等)OTUs;(2)保留至

少在 2 个样本中序列都大于 5 的 OTUs; (3) 保留序列总和大于 20 的 OTUs; (4) 剔除非本地无脊椎动物 OTUs, 剔除标准参考 Ji 等^[37]。剔除非本地无脊椎动物 OTUs 参考书目主要为《中国动物志(无脊椎动物第四十三卷)》《胶州湾及青岛邻近海域底栖甲壳动物》和《中国经济动物志:淡水软体动物》^[38-40]。最后, 在世界海洋物种登记库(WoRMS)网站(<https://www.marinespecies.org/>)和中国生物志库(<https://species.sciencereading.cn/biology/v/biologicalIndex/122.html>)检索校对注释物种信息并添加具体的分类阶元信息。

对物种丰度数据和环境因子数据进行对数 $\log_{10}(x+1)$ 转换。为减少冗余的环境因子并保证分析的准确性与简洁性, 数据经膨胀因子(VIF)检验, 减少多重共线性, 将所有环境因子的 VIF 保持在 10 以下, 采用正向筛选程序选择最终的环境因素。使用 Canoco 5 软件对无脊椎动物数据进行去趋势对应分析(DCA), 若所有轴中梯度最大值大于 4.0, 采用典范对应分析(CCA), 若在 3.0~4.0 之间, 选择冗余分析(RDA)或 CCA, 如果小于 3.0 则选用 RDA。此外, 我们使用 Origin2021 软件, 采用层次聚类分析(HCA)对不同潮沟级别的无脊椎动物 OTUs 丰度进行群落结构分析。使用生物共现网络解析研究区无脊椎动物生态网络。首先, 为减少低丰度物种数据对网络模型的干扰, 根据样品中无脊椎动物 OTUs 的相对丰度组成, 选择相对丰度前 50% 且出现率高于 40% 的物种进行 Spearman 相关性分析。其次, 为减少生物共现网络分析物种间的冗余信息, 降低网络复杂性, 保留相关系数绝对值大于 0.6 且 P 值小于 0.05 的数据, 利用 Gephi 0.10.1 软件绘制无脊椎动物共现网络拓扑图。

使用 SPSS 23.0 进行因子分析计算综合多样性指数(Comprehensive diversity index, CD)和综合关键物种指数(Integrated keystone family indicator, IKFI)。本文的 CD 是指对无脊椎动物在物种丰富度和均匀度上的多样性特征进行综合量化评估的一个概念。类似地, IKFI 指通过整合生物共现网络中心性指标对无脊椎动物中心性进行综合量化评估。CD 用来表征无脊椎动物群落 α 多样性, IKFI 用来筛选潮沟区关键种, IKFI > 4.70 的物种为关键种。选取 5 个生物共现网络中心性指标计算综合关键物种指标 IKFI: 紧密度中心性(closeness centrality)、介数中心性(betweenness centrality)、和谐接近中心性(harmonic closeness centrality)、特征向量中心性(eigenvector centrality)和度(degree)。将网络中心性指标原始数据进行标准化(Z-score 法), 经 KOM 检验法和 Bartlett 球体检验法进行

因子分析的适用性检验(KOM > 0.6, Sig < 0.05)。基于主成分法提取主成分, 计算主成分得分和主成分系数^[41]。归一化后得到各指标权重, 基于指标权重计算得到加权关键物种指数。综合关键物种指数由加权关键物种指数计算得到。

使用 Past 4.11 软件计算无脊椎动物群落多样性指数。综合多样性指数选取辛普森(Simpson)多样性指数、香农(Shannon)多样性指数、均匀度(Equitability)多样性指数、Chao1 指数和 ACE 指数 5 个指标计算得到, 计算方法与综合关键物种指数相同, 各多样性指标公式如下:

Simpson 多样性指数(D):

$$D = 1 - \sum_{i=1}^{S_{\text{obs}}} P_i^2, P_i = N_i/N;$$

Shannon 多样性指数(H):

$$H = - \sum_{i=1}^{S_{\text{obs}}} P_i \ln(P_i);$$

Equitability 多样性指数(E):

$$E = \frac{D_{\text{ens}}}{S};$$

Chao1 指数:

$$\text{Chao1} = S_{\text{obs}} + \frac{n_1(n_1 - 1)}{2(n_2 + 1)};$$

ACE 指数:

$$\text{ACE} = S_{\text{abund}} + \frac{S_{\text{rare}}}{C_{\text{acc}}} + \frac{F_1}{C_{\text{acc}}} \gamma_{\text{acc}}^2;$$

式中, S_{obs} 为实际检测的 OTU 数, N_i 为含有 i 条序列的 OTU 数, N 为序列总数, D_{ens} 为 Simpson 有效物种数, S 为群落物种丰富度指数, n_1 为只观测到一次的物种数, n_2 为只观测到两次的物种数, S_{abund} 为高丰度物种数量, S_{rare} 为低丰度物种数量, C_{acc} 为样本覆盖度估计值, γ_{acc}^2 是稀有物种的变异系数。

为探讨无脊椎动物与环境因子关系, 选取科水平和种水平 IKFI 排名前 20 的类群和排名前 30 的物种与环境因子进行 Spearman 相关性分析。文中所有潮沟之间的差异比较均取同一潮沟样带数据的平均值。数据处理和其余图绘制均在 R 4.0.1 中进行。

3 结果

3.1 沉积物环境 DNA 宏条形码测序

高通量测序共获得 548 031 条原始序列, 对原始双端测序数据进行拼接并过滤掉低质量和短长度的序列后, 最终得到可用于后续分析的有效序列 459 461 条。各样品的有效序列 Q30 均大于 95%, 表明各样品的测序序列碱基质量高。将有效序列按照 97% 的相

似水平进行聚类, 获得 7 072 个 OTUs。OTUs 进一步筛选注释后, 最终获得 127 个无脊椎动物 OTUs 用于后续分析。127 个无脊椎动物 OTUs 分属于 9 门 24 纲 53 目 103 科 87 属 90 种(表 A1)。

节肢动物门(Arthropoda)序列占比(38.4%)和 OTUs(50)在所有类群中最高, 环节动物门(Annelida)次之; 纽形动物门(Nemertea)具有较低的序列数占比(0.5%), 棘皮动物门(Echinodermata)OTUs 最低, 仅为 2 个(表 1)。

3.2 无脊椎动物群落组成

各采样点无脊椎动物门水平相对丰度分析显示, 节肢动物门与刺胞动物门为主要门类(图 2a), 平均相对丰度分别为 43.9% 和 16.2%, 其次是环节动物门(15.8%)与软体动物门(10.9%)。节肢动物门在 S2X 样点中相对丰度占比最高, 为 74.1%, 其次是 S2S 样点(52.8%), 而在 S1S 样点占比最低, 为 21.9%。刺胞动物门在 S1X 样点中相对丰度占比最高(34.6%), 在 S1S 占比最低(2.8%)。各级别潮沟优势类群有所差异, 一级潮沟以环节动物门为主, 二级潮沟和三级潮沟以节肢动物门为主。各采样点无脊椎动物属水平相对丰度分析显示, 围沙蚕属(*Perinereis*)、矮胖猛水蚤属(*Nannopus*)和薺枝螅水母属(*Obelia*)为优势类群

表 1 DNA 宏条形码测序结果
Table 1 Environmental DNA metabarcoding sequencing results

类群	序列数	OTUs	序列百分比
节肢动物门 Arthropoda	16 123	50	38.4%
环节动物门 Annelida	11 645	6	27.8%
刺胞动物门 Cnidaria	5 662	22	13.5%
软体动物门 Mollusca	3 920	28	9.4%
线虫动物门 Nematoda	2 543	4	6.1%
棘皮动物门 Echinodermata	716	2	1.7%
扁形动物门 Platyhelminthes	704	7	1.7%
多孔动物门 Porifera	426	5	1.0%
纽形动物门 Nemertea	206	3	0.5%
合计	41 945	127	100%

(图 2b), 分别占比 25.2%、5.5% 和 3.5%; 其中, 围沙蚕属和矮胖猛水蚤属在一级潮沟 S1S 中相对丰度占比最高, 分别为 61.7% 和 11.2%。薺枝螅水母属在一级潮沟 S1X 样点中相对丰度占比最高, 相对丰度占比达到 11.2%, 而在三级潮沟 S3S 样点相对丰度最低(1.3%)。

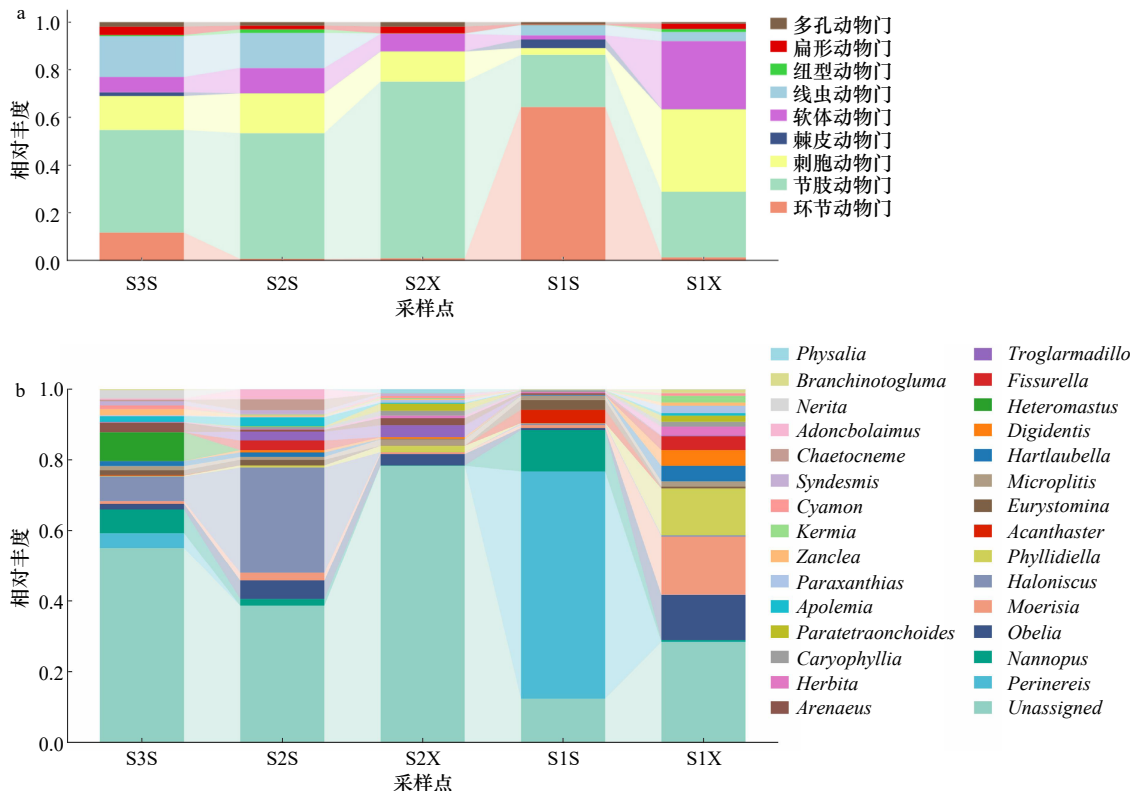


图 2 黄河三角洲典型潮沟门(a)和属(b)水平无脊椎动物相对丰度组成

Fig. 2 Relative abundance of invertebrates on phylum (a) and genus (b) level in the Huanghe River Delta typical tidal creek

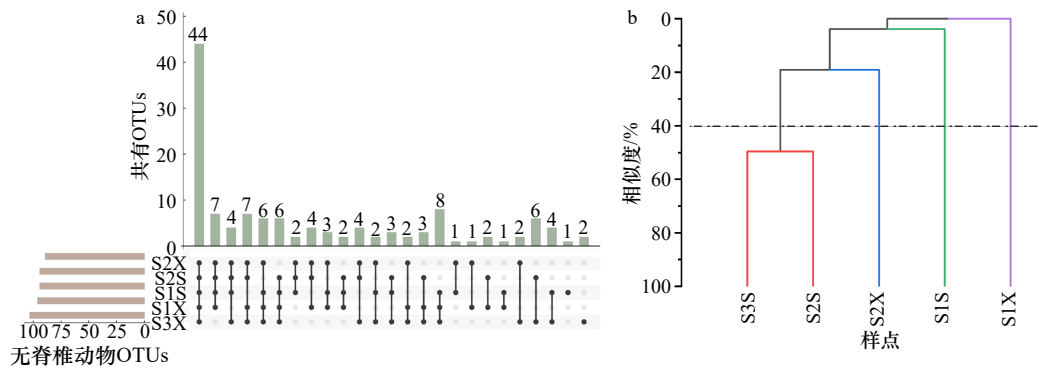


图3 不同采样点无脊椎动物 OTUs 多集韦恩图(a)与 HCA(b)
Fig. 3 Multiset Venn diagram of invertebrate OTUs among different sampling sites (a) and HCA (b)

多集韦恩图(图 3a)结果显示,各样点无脊椎动物 OTUs 数量表现为 S3S (103 个) > S1X (96 个) > S1S (94 个) = S2S (94 个) > S2X (89 个)。各样点有 44 个共有 OTUs, 主要为节肢动物门。S1X 与 S3S 站点各有一个特有 OTU, 其中 S1X 特有 OTU 隶属于多孔动物门(Porifera)寻常海绵纲(Demospongiae)皮海绵属(*Suberites*), S3S 样点特有 OTU 隶属于节肢动物门软甲纲(Malacostraca)等足目(Isopoda)海蟑螂科(Ligiidae)湖水虱属(*Ligidium*)。HCA 结果显示, 采样点无脊椎动物 OTUs 丰度在 40% 相似性下分为 4 个组(图 3b)。其中, S3S 与 S2S 聚为一组, S1S、S1X 和 S2X 各聚为一组, 表明潮沟系统内无脊椎动物群落空间分布具有差异性。

3.3 无脊椎动物 α 多样性

基于 OTUs 相对丰度的无脊椎动物 α 多样性指数分析显示(表 2), 该潮沟单元无脊椎动物辛普森指数平均值为 0.824(0.601~0.945), 香农指数平均值为 2.923(1.790~3.539); 均匀度指数平均值为 0.641(0.394~0.748), 这 3 个指数均在 S3S 最高, 在 S1S 最低。Chao1 指数平均值为 103.314(89.500~115.000), S2S 最高, S2X 最低; ACE 指数平均值为 99.690(89.180~107.300),

表 2 黄河三角洲典型潮沟无脊椎动物 α 多样性指数

Table 2 Invertebrate alpha diversity index in typical tidal creek of the Haunghe River Delta

样点	辛普森指数	香农指数	均匀度指数	Chao1 指数	ACE 指数	综合多样性指数
S3S	0.945	3.539	0.764	109.000	107.300	0.21
S2S	0.913	3.344	0.736	115.000	104.100	0.18
S2X	0.723	2.527	0.563	89.500	89.180	0.03
S1S	0.601	1.790	0.394	105.200	98.930	0.05
S1X	0.938	3.416	0.748	97.870	98.940	0.09

S3S 最高, 于 S2X 最低。综合多样性指标评估显示, S3S 样点的综合多样性指数最高(0.21), 其次是 S2S(0.18), S2X 样点的综合多样性指数最低(0.03)。潮沟总体表现为: 三级潮沟(0.21) > 二级潮沟(0.11) > 一级潮沟(0.07)。

3.4 无脊椎动物 OTUs 共现网络拓扑特征

利用生物共现网络分析典型潮沟无脊椎动物相互作用关系及其复杂性。结果显示(图 4), 科水平生物共现网络中包含 52 个节点, 334 条边, 其中正相关边数占比为 51.5%, 负相关边数占比为 48.5%。种水平生物共现网络中包含 53 个节点, 157 条边, 其中正相关边数占比为 96.2%, 负相关边数占比为 3.8%。说明潮沟生境中无脊椎动物类群共同出现(co-occurrence)的情况多于彼此排斥(co-exclusion), 类群间更倾向于协同互动。此外, 图密度结果显示(表 3), 科水平(0.11)与种水平(0.25)生物共现网络密度高, 表明潮沟系统无脊椎动物网络结构复杂性较高。

科水平和种水平无脊椎动物类群分别被分成 3 个模块和 8 个模块, 模块化解析系数均大于 0.5(表 3), 说明生物模块分析具有较高可信度。在科水平中, 模块 1(30%)、模块 2(36.8%)和模块 3(66.7%)均以节肢动物门节点组成。此外, 科水平生物共现网络的度在 4~22 之间, 平均为 12.84, 单宫线虫科(Monhysteridae)和海蟑螂科的度最高, 钥孔蛾科(Fissurellidae)的度最低, 说明单宫线虫科和海蟑螂科在生物网络中与其他类群联系密切, 在潮沟无脊椎动物中为重要类群。

种水平生物网络分析显示, 模块 1 节点最多, 占网络图节点的 26.4%, 其中软体动物门节点最多, 占比为 42.9%, 其次是刺胞动物门(14.3%)。模块 2 节点占网络图节点的 18.9%, 主要门类为节肢动物门, 节点占比为 40.0%。模块 3 共有 7 个节点, 包含 6 个门类。

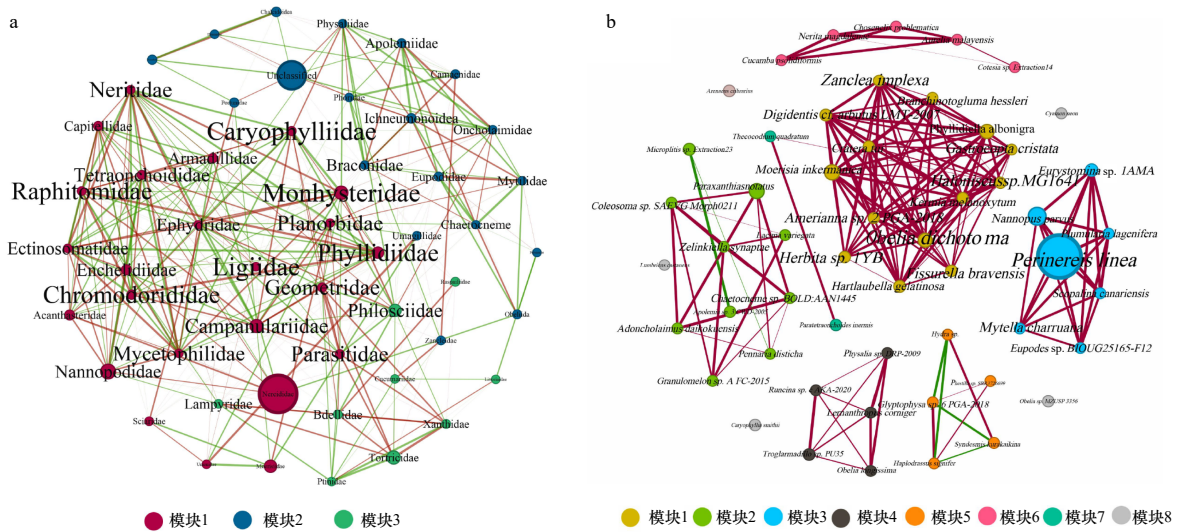


图 4 无脊椎动物科水平(a)和种水平(b)的生物共现网络拓扑图

Fig. 4 Topology of biological co-occurrence networks at family (a) and species levels (b) of invertebrates

图中节点表示无脊椎动物; 不同节点颜色表示不同模块; 节点大小表示物种相对丰度; 边颜色表示正负相关性, 红色表示正相关, 绿色表示负相关; 边大小表示相关性系数绝对值大小

The nodes in the graph represent invertebrates; different node colors represent different modules; node size represents the relative abundance of species. Edge colors represent positive and negative correlations, with red indicating positive correlation and green indicating negative correlation; edge size represents the absolute value of the correlation coefficient

表 3 无脊椎动物生物共现网络特征指标

Table 3 The characteristic index of invertebrate co-occurrence network

特征指标	平均度	平均加权度	网络直径	图密度	模块化系数	平均聚类系数	平均路径长度	模块数
科水平	5.92	11.38	5	0.11	0.64	0.87	1.43	3
种水平	12.84	25.69	4	0.25	0.54	0.6	2.1	8

种水平生物共现网络的度在 0~13 之间, 平均为 5.92, 线围沙蚕 (*Perinereis linea*) 和双枝数枝螭 (*Obelia dichotoma*) 的度在生物网络中最高 (Degree = 13)。

3.5 黄河三角洲典型潮沟单元无脊椎动物群落结构与环境因子关系

3.5.1 无脊椎动物群落结构与环境因子相关性分析

为评估潮沟区无脊椎动物群落与环境因子之间的关系, 以无脊椎动物不同门类相对丰度为响应变量, 环境因子为解释变量进行分析。DCA 显示, 梯度长度第一轴小于 3, 因此选择 RDA。RDA 排序前两轴分别解释了变异程度的 44.8% 和 30.6% (图 5)。RDA 分析显示, 在潮沟区中, 硅酸盐与无脊椎动物具有显著 ($P < 0.01$) 相关性。水温、黏土和粉砂解释率分别为 30.6%、17.5% 和 7.1%。刺胞动物门、节肢动物门、环节动物门与棘皮动物门与硅酸盐呈正相关。RDA 分析表明, 硅酸盐是显著影响无脊椎动物的主要环境因子。

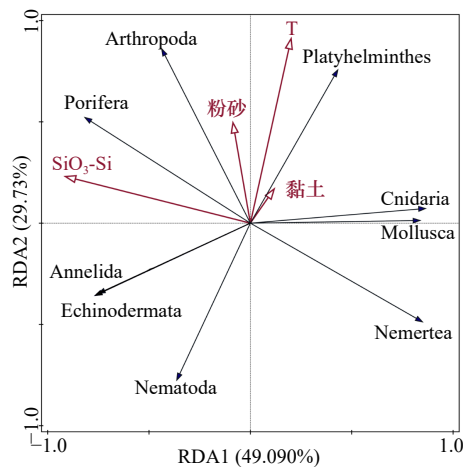


图 5 黄河三角洲潮沟无脊椎动物门水平与环境因子的冗余分析

Fig. 5 Redundancy analysis of invertebrates at the phylum level and environmental factors in tidal creeks of the Huanghe River Delta

3.5.2 无脊椎动物关键类群与环境因子相关性分析

基于生物共现网络中心性指标计算 IKFI。科水平上, 相关性共现网络图中包含 27 个节点, 66 条边, 正相关边数占 51.51%, 负相关边数占比为 48.48% (图 6a)。在物种节点中, Nannopodidae 科的 IKFI (5.42) 最高, 它的节点为关键节点, 其次是沙蚕科 (Nereididae), IKFI 为 4.84。Nannopodidae 科与硅酸盐呈正相关, 沙蚕科与黏土呈正相关。

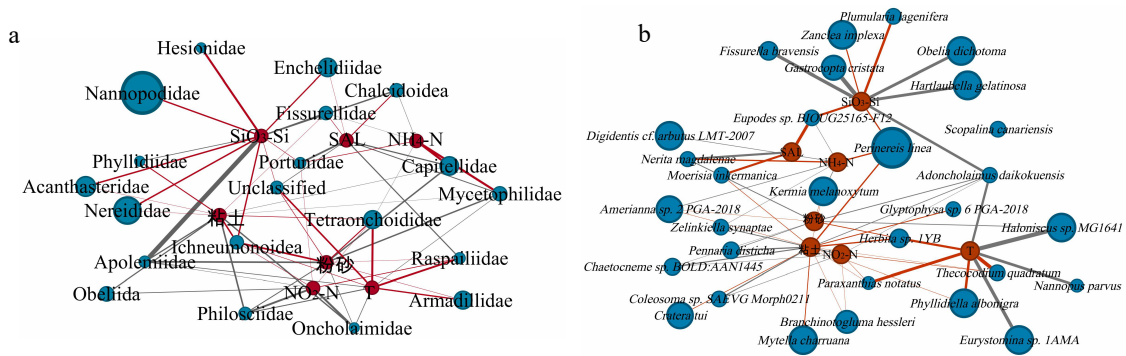


图 6 科水平(a)和种水平(b)关键类群与环境因子相关性分析

Fig. 6 Correlation analysis of keystone groups and environmental factors at family level (a) and species level (b)

图中蓝色节点表示无脊椎动物, 节点大小表示无脊椎动物相对丰度大小; 红色节点表示环境因子; 边颜色表示正负相关性, 红色表示正相关, 黑色表示负相关; 边大小表示相关性系数绝对值大小

The blue nodes in the figure represent invertebrates, and the size of the nodes indicates the relative abundance of invertebrates. The red nodes represent environmental factors. The color of the edges indicates the sign of the correlation, with red indicating positive correlation and black indicating negative correlation; the size of the edges indicates the absolute value of the correlation coefficient

种水平上, 相关性共现网络图中包含 30 个节点, 58 条边, 正相关边数占 51.7%, 负相关边数占比为 48.3%(图 6b)。在物种节点中, 线围沙蚕的 IKFI(7.16) 最高, 它的节点为关键节点, 其次是双枝藪枝螭和 *Mytella charruana*, IKFI 分别为 4.77 和 4.65。线围沙蚕与硅酸盐、黏土和 $\text{NH}_4\text{-N}$ 呈显著正相关($P < 0.05$), 双枝藪枝螭与硅酸盐呈正相关但不显著(图 6b)。线围沙蚕和双枝藪枝螭是潮沟区无脊椎动物中维持群落结构稳定的关键物种。

4 讨论

4.1 基于 DNA 宏条形码的典型潮沟无脊椎动物群落结构

环境 DNA 宏条形码技术是研究典型潮沟无脊椎动物群落结构组成的有力工具。陈凯等^[42]开展的黄河三角洲湿地无脊椎动物调查共获得 84 个分类单元, 以节肢动物门和软体动物门为主, 分别占总分类单元 52.4% 和 21.4%。刘丹丹等^[1]开展的调查中共采集无脊椎动物 96 种, 隶属于 3 门 7 纲 20 目 59 科, 同样以节肢动物门和软体动物门为主。本研究结果与上述研究结果具有相似之处。研究结果虽然显示节肢动物门和软体动物门检出的门类多于相关研究传统分类方法^[1, 42], 但是二者在总分类单元中的占比低于传统分类结果。以往研究获得的无脊椎动物主要以节肢动物门、软体动物门和环节动物门为主, 而本研究大量刺胞动物门、棘皮动物门、扁形动物门等被检出。这一结果差异进一步凸显了沉积物 eDNA 在本研究中的合理性和准确性。沉积物能够更有效地

保存那些在生态系统中活动范围相对较小、或者生命周期中与沉积物有密切接触的物种的 DNA 信息^[35]。刺胞动物门、棘皮动物门和扁形动物门中的部分物种可能具有这样的生活习性, 使得它们在沉积物中的 DNA 留存更为显著^[26]。但同时, 沉积物 eDNA 的提取和分析仍然面临一些挑战, 如 DNA 降解和复杂的基质干扰, 今后通过优化提取方法和严格的质量控制, 可望有效降低这些因素的影响, 进一步提高检测的准确性^[35]。总体而言, 基于 DNA 宏条形码技术的无脊椎动物物种在检出率方面要高于传统的鉴定分类方法, 可作为传统采样方法的有效补充。但是, 本研究无脊椎动物属门类数(87 属)低于科门类数(103 科), 这是由于在物种注释时公共数据库缺失相应物种序列, 在与数据库序列比对时未能在一定阈值上注释到更低阶元。因此, 在未来的相关研究中, 应构建本地条形码数据库, 结合公共数据库和本地库, 以满足后续环境 DNA 条形码注释需求。

黄河三角洲潮沟系统无脊椎动物群落组成与潮沟水文特征和物种扩散潜力有关。HCA 结果显示不同级别潮沟的无脊椎动物群落空间分布具有差异性(图 3b)。其中, 一级潮沟围沙蚕属相对丰度占比最高(>25%), 二级潮沟(>60%)和三级潮沟(>50%)主要为节肢动物为主。节肢动物在栖息地选择上更倾向于具有大颗粒沉积物、底质较硬的环境类型^[9]。三级潮沟和二级潮沟受潮汐动力影响, 具有较大的水量和流速, 高强度的水动力对底部的冲刷最强, 沉积物细颗粒物随着动力迁移, 而大量较粗的颗粒物沉降在三级潮沟。因此三级潮沟和二级潮沟相比于一级潮沟

具有流速大、深度大、底质硬等特点,更利于节肢动物(矮胖猛水蚤属、*Eurystomina*、*Arenaeus*等)生存繁殖。一级潮沟靠近陆端,底质受潮水压实程度低,孔隙度小,细颗粒物沉积物含量高^[43],是环节动物沙蚕科的重要栖息场所^[44]。本研究结果显示围沙蚕属为一级潮沟优势类群。围沙蚕属对细颗粒物沉积物环境具有较好的适应性,其成体食性为杂食性(以动、植物碎片和腐屑为食),摄食沉积物时倾向于粒径较小的有机颗粒物^[45]。一级潮沟的水文特征为围沙蚕属提供了良好的生境条件。总体来看,节肢动物是黄河三角洲湿地潮滩区的重要优势类群,其分布面积广且种类多,相比于其他无脊椎动物其在潮滩湿地中有较强的扩散能力和适应能力^[46]。另一方面,由于微地貌单元的环境异质性,大型无脊椎动物在潮滩系统内具有明显的空间分布差异。

4.2 基于生物共现网络分析典型潮沟无脊椎动物关键种与多样性特征

生物共现网络每个模块中的物种群落可反映模块间的生境异质性、物理接触和功能联系^[47]。基于菌群和浮游动植物的共现网络分析显示同一模块中的物种具有相似生态位,共同行使特定功能特性^[48]。生物共现网络模块化可展示无脊椎动物类群间相互作用强烈程度,反映无脊椎动物中高度连接的分类群,揭示不同功能的节点组,是群落结构特征的重要表征^[49-50]。无脊椎动物的生物共现网络分析结果显示,节肢动物和软体动物在无脊椎动物模块内属于主要的链接节点(图4),表明节肢动物和软体动物是对潮沟环境异质性作出响应的主要类群,在潮间带具备较强的适应能力,并且能够在不同的环境中与其他类群发挥不同的功能。种水平生物共现网络的模块数量多、模块内物种链接密切(图4b),无脊椎动物在潮沟区呈现出模块化的小世界(small world)。小世界性质有利于不同节点之间高效、快速通信,因此模块内物种可以对环境变化做出快速响应^[27]。另一方面,环境扰动可通过小世界迅速波及整个网络,改变网络结构和功能^[32]。线围沙蚕和双枝藪枝螭在网络中与其他节点连接度最高,它们为生物共现网络中关键种,其在网络中发挥重要作用,它们维系着潮沟区无脊椎动物群落稳定性,维持潮沟生态系统功能。

多样性指数可反映研究区内大型无脊椎动物群落的物种富集度、变异程度和均匀度^[51]。丰富度指数和均匀度指数会影响多样性指数,丰富度指数和均匀度指数越高,生物多样性就越高^[52]。无脊椎动物综合多样性结果显示多样性指数呈:三级潮沟 > 二级潮

沟 > 一级潮沟,与国内外研究结论一致^[53-55]。不同级别潮沟水文连通强度不同,对于水文连通性较好的二级和三级潮沟生境条件更适应大部分无脊椎动物的生存繁殖,而水文连通性较差的一级潮沟对无脊椎动物的筛选更强,更多满足特定水文条件的无脊椎动物生存。本研究二级潮沟 S2X 样点综合多样性最低。综合关键物种指标结果显示, Nannopodidae 科和沙蚕科为黄河三角洲潮沟无脊椎动物的重要关键类群,这些关键类群在无脊椎动物群落中与其他类群关系极其密切,为共现网络结构的重要节点,一旦移除这些类群极易影响区域内无脊椎动物群落结构稳定性^[56]。上述关键类群在 S2X 样点检出较少,此外,沙蚕科,小头虫科等 8 个重要类群在该样点未出现。受部分重要类群缺失影响,潮沟无脊椎动物间物质、能量和信息交换减少,种间相互作用减弱,生物共现网络复杂性降低,导致群落结构不稳定,生物多样性降低。与之相反,三级潮沟区关键类群分布广泛、物种数多,区域内种间相互作用强烈,生物共现网络更加稳定,生物多样性较高。

4.3 环境因子对黄河三角洲潮沟无脊椎动物群落结构影响

黄河三角洲潮滩湿地水盐环境、底质条件和物质输入输出过程复杂多变,微地貌单元环境异质性较高,为无脊椎动物塑造了多元的栖息条件。受植被类型、水深、流速、水土理化性质等环境因子的带状分布和梯度变化影响,潮沟系统内无脊椎动物的群落组成和多样性空间差异大^[9,57]。唐诗琴等^[58]在海珠湖的生态调查结果显示磷酸盐和电导率是影响无脊椎动物群落结构的主要环境因子。雅砻江下游大型底栖动物调查显示,温度是影响群落结构的重要环境因子^[59]。本研究结果显示,水体硅酸盐含量、温度和沉积物粒径结构是影响潮沟内无脊椎动物群落特征的主要环境因子,其中硅酸盐与无脊椎动物具有显著相关性($P < 0.05$)。无脊椎动物主要营底质内或底表栖息,主要取食浮游生物、底栖硅藻和水草碎屑。受潮沟区底质异质性影响,其群落结构组成具有明显差异^[60]。本研究调查季节为秋季,黄河径流属于丰水期,河口区陆源输入增加,潮汐周期内水体营养盐含量变化剧烈^[11]。一方面,硅酸盐含量变化与各级潮沟水动力条件密切相关,是反映底质和连通性差异的关键环境因子,因此成为区域内无脊椎动物群落的重要环境响应指标^[21]。另一方面,作为水体硅藻繁殖必需的营养要素之一,硅酸盐含量对水体和底栖的初级生产力具有显著影响,是系统中无脊椎动物开展次级生

产的重要基础营养盐类^[61-62]。

本次研究相关性网络分析显示,硅酸盐、氨氮、粘土占比是影响无脊椎动物关键种组成的主要环境因子。Reece 和 Richardson^[63]在研究无脊椎动物群落结构中,发现无脊椎动物丰度与硝态氮、亚硝态氮和总氮含量有关。吴东浩等^[64]在浙江西苕溪无脊椎动物研究中发现氨氮含量是影响该地区底栖动物分布的关键环境因子。本研究结论与上述研究结论相似。在复杂的潮滩湿地生境中,潮沟区无脊椎动物关键种线围沙蚕受营养盐(硅酸盐、氨氮)含量影响,这是由于线围沙蚕的生长和繁殖需求。线围沙蚕喜欢栖息于富含有机质和硅藻的生境中,线围沙蚕幼虫时期主要以硅藻为食^[65],而硅酸盐为硅藻的重要营养要素,因此营养盐含量影响着线围沙蚕的生长繁殖。此外,沉积物粒径也是影响潮沟区无脊椎动物关键种线围沙蚕的重要环境因子。粒径结构是水生无脊椎动物生长繁殖的重要底质基础,其分级占比、异质性、表面结构等是影响群落结构的重要环境因子^[66]。在潮滩湿地软底质生境中,沉积物粒度是底栖动物群落结构与分布的主导因素^[66]。有研究表明,沉积物理化性质是影响多毛类动物群落结构的环境因子^[67]。此外,受潮沟水文特征影响,沉积物粒径具有空间异质性,因此影响本研究多毛类动物在潮沟区空间上的分布。在多数情况下,无脊椎群落受多个环境因子的耦

合影响^[68]。探讨无脊椎动物与环境因子关系时应考虑环境条件对无脊椎动物的综合影响。

5 结论

(1)基于环境 DNA 宏条形码技术,黄河三角洲潮沟共检出无脊椎动物 127 个 OTUs,隶属于 9 门 24 纲 53 目 103 科 87 属 90 种。节肢动物门占比最高,属水平上主要以围沙蚕属和矮胖猛水蚤属为主,各级别潮沟无脊椎动物群落具有差异。应用环境 DNA 宏条形码技术能够了解典型潮沟无脊椎动物群落结构,掌握无脊椎动物物种组成情况。

(2)无脊椎动物共现网络分析显示,典型潮沟关键种为线围沙蚕和双枝数枝螳,是潮沟区无脊椎动物群落维持结构稳定的关键种。在潮间带生态系统监测中应优先关注上述物种,以避免群落内的连锁灭绝或生态系统功能发生改变。

(3)综合多样性指标结果显示,三级潮沟综合多样性最高,一级潮沟综合多样性指数最低。关键类群主导潮沟系统无脊椎动物群落分布格局,是影响潮沟无脊椎动物群落多样性的主要类群。

(4)冗余分析和相关性网络分析表明,硅酸盐含量与黄河三角洲无脊椎动物总丰度呈显著相关($P < 0.05$)。关键种线围沙蚕与硅酸盐、粘土和 $\text{NH}_4\text{-N}$ 呈显著正相关($P < 0.05$)。

参考文献:

- [1] 刘丹丹, 武海涛, 芦康乐, 等. 空间和环境因子对黄河口自然和淡水恢复湿地底栖动物群落的差异影响 [J]. 生态学报, 2021, 41(17): 6893-6903.
Liu Dandan, Wu Haitao, Lu Kangle, et al. Effects of spatial and environmental factors on benthic invertebrate communities in natural and freshwater restored wetlands of the Yellow River Delta[J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(17): 6893-6903.
- [2] Mou Kuinan, Gong Zhaoning, Qiu Huachang. Spatiotemporal differentiation and development process of tidal creek network morphological characteristics in the Yellow River Delta[J]. Journal of Geographical Sciences, 2021, 31(11): 1633-1654.
- [3] Zhou Shiwei, Wang Cheng, Li Yufeng, et al. Study on spatio-temporal variation and hydrological connectivity of tidal creek evolution in Yancheng coastal wetlands[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30(13): 37143-37156.
- [4] 龚政, 严佳伟, 耿亮, 等. 开敞式潮滩-潮沟系统发育演变动力机制——Ⅲ. 海平面上升影响 [J]. 水科学进展, 2018, 29(1): 109-117.
Gong Zheng, Yan Jiawei, Geng Liang, et al. Mechanisms underlying the dynamic evolution of an open-coast tidal flat-creek system: III: impact of sea level rise[J]. Advances in Water Science, 2018, 29(1): 109-117.
- [5] 葛嘉欣, 崔步礼, 王晓杰, 等. 潮沟形态对潮滩湿地土壤有机碳空间分布的影响 [J]. 环境工程, 2023, 41(6): 23-31.
Ge Jiaxin, Cui Buli, Wang Xiaojie, et al. Effects of tidal creek morphology on spatial distribution of soil organic carbon in soil in tidal wetland[J]. Environmental Engineering, 2023, 41(6): 23-31.
- [6] Zhao Guangming, Ye Siyuan, He Lei, et al. Historical change of carbon burial in Late Quaternary sediments of the ancient Yellow River delta on the west coast of Bohai Bay, China[J]. CATENA, 2020, 193: 104619.
- [7] 刘艳芬, 左明, 王晓璇, 等. 黄河三角洲潮间带底栖贝类群落结构与多样性研究 [J]. 海洋湖沼通报, 2022, 44(6): 121-129.
Liu Yanfen, Zuo Ming, Wang Xiaoxuan, et al. Community structure and diversity of benthic shellfish in the intertidal zone of Yellow River Delta[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2022, 44(6): 121-129.
- [8] 徐凤山, 张均龙. 中国海典型生境双壳类软体动物多样性特点 [J]. 生物多样性, 2011, 19(6): 716-722.
Xu Fengshan, Zhang Junlong. Characteristics of bivalve diversity in typical habitats of China seas[J]. Biodiversity Science, 2011, 19(6): 716-722.
- [9] 芦康乐, 武海涛, 吕宪国, 等. 湿地水生无脊椎动物群落结构及影响因素 [J]. 生态学杂志, 2017, 36(10): 2961-2970.

- Lu Kangle, Wu Haitao, Lü Xianguo, et al. Review on the structure and influencing factors of aquatic invertebrates in wetland ecosystems[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2017, 36(10): 2961–2970.
- [10] Vlaswinkel B M, Cantelli A. Geometric characteristics and evolution of a tidal channel network in experimental setting[J]. *Earth Surface Processes and Landforms*, 2011, 36(6): 739–752.
- [11] 陈莉, 陈琳琳, 董志远, 等. 黄河三角洲典型潮沟系统水文连通性对大型底栖动物群落结构的影响 [J]. *生态学报*, 2023, 43(22): 9232–9246.
- Chen Li, Chen Linlin, Dong Zhiyuan, et al. Influence of hydrological connectivity of typical tidal creek system on macrobenthos community structure in the Yellow River Delta[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2023, 43(22): 9232–9246.
- [12] Wang Tuantuan, Wang Xiaodi, Wang Dingying, et al. Aquatic invertebrate diversity profiling in heterogeneous wetland habitats by environmental DNA metabarcoding[J]. *Ecological Indicators*, 2023, 150: 110126.
- [13] 修玉娇, 龙诗颖, 李晓茜, 等. 黄河三角洲底栖动物群落分布及与环境的关系 [J]. *北京师范大学学报 (自然科学版)*, 2021, 57(1): 112–120.
- Xiu Yujiao, Long Shiyang, Li Xiaoqian, et al. Macro benthos community distribution in the Yellow River Delta and correlation with environment[J]. *Journal of Beijing Normal University (Natural Science)*, 2021, 57(1): 112–120.
- [14] 左倬, 陈煜权, 成必新, 等. 不同植物配置下人工湿地大型底栖动物群落特征及其与环境因子的关系 [J]. *生态学报*, 2016, 36(4): 953–960.
- Zuo Zhuo, Chen Yuquan, Cheng Bixin, et al. Ecological characteristics of macrobenthic communities in SFWs of different hydrophytes and their relationships with environmental factors[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(4): 953–960.
- [15] Fierro P, Arismendi I, Hughes R M, et al. A benthic macroinvertebrate multimetric index for Chilean Mediterranean streams[J]. *Ecological Indicators*, 2018, 91: 13–23.
- [16] Gleason J E, Rooney R C. Aquatic macroinvertebrates are poor indicators of agricultural activity in northern prairie pothole wetlands[J]. *Ecological Indicators*, 2017, 81: 333–339.
- [17] Xu Yong, Sui Jixing, Ma Lin, et al. Temporal variation of macrobenthic community zonation over nearly 60 years and the effects of latitude and depth in the southern Yellow Sea and East China Sea[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 739: 139760.
- [18] Wang Meng, Yergaliyev T, Sun Changhai, et al. Environmental DNA metabarcoding of intertidal meiofauna sheds light on its potential for habitat discovery[J]. *Ecological Indicators*, 2023, 150: 110223.
- [19] Li Jianlong, Hatton-Ellis T W, Handley L J L, et al. Ground-truthing of a fish-based environmental DNA metabarcoding method for assessing the quality of lakes[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2019, 56(5): 1232–1244.
- [20] Wu Qianqian, Sakata M K, Wu Diyi, et al. Application of environmental DNA metabarcoding in a lake with extensive algal blooms[J]. *Limnology*, 2021, 22(3): 363–370.
- [21] 董志远, 陈琳琳, 张乃鹏, 等. 基于环境 DNA 宏条形码技术研究黄河三角洲典型潮沟系统鱼类多样性及其对水文连通性的响应 [J]. *生物多样性*, 2023, 31(7): 23073.
- Dong Zhiyuan, Chen Linlin, Zhang Naipeng, et al. Response of fish diversity to hydrological connectivity of typical tidal creek system in the Yellow River Delta based on environmental DNA metabarcoding[J]. *Biodiversity Science*, 2023, 31(7): 23073.
- [22] 王晨, 陶孟, 李爱民, 等. 基于环境 DNA 宏条形码技术的秦淮河生物多样性研究 [J]. *生态学报*, 2022, 42(2): 611–624.
- Wang Chen, Tao Meng, Li Aimin, et al. Research on the biodiversity of Qinhuai River based on environmental DNA metabarcoding[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(2): 611–624.
- [23] Bombin S, Wysor B, Lopez-Bautista J M. Assessment of littoral algal diversity from the northern Gulf of Mexico using environmental DNA metabarcoding[J]. *Journal of Phycology*, 2021, 57(1): 269–278.
- [24] McElroy M E, Dressler T L, Titcomb G C, et al. Calibrating environmental DNA metabarcoding to conventional surveys for measuring fish species richness[J]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2020, 8: 276.
- [25] 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): 1423–1432.
- Zhou Chunhua, Wang Rongrong, Wang Sheng, 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): 1423–1432.
- [26] Deiner K, Bik H M, Mächler E, et al. Environmental DNA metabarcoding: transforming how we survey animal and plant communities[J]. *Molecular Ecology*, 2017, 26(21): 5872–5895.
- [27] Shore J, Chu C J, Bianchi M T. Power laws and fragility in flow networks[J]. *Social Networks*, 2013, 35(1): 116–123.
- [28] D'amen M, Mod H K, Gotelli N J, et al. Disentangling biotic interactions, environmental filters, and dispersal limitation as drivers of species co-occurrence[J]. *Ecography*, 2018, 41(8): 1233–1244.
- [29] Friberg N, Bonada N, Bradley D C, et al. Biomonitoring of human impacts in freshwater ecosystems: the good, the bad and the ugly[J]. *Advances in Ecological Research*, 2011, 44: 1–68.
- [30] Layeghifard M, Hwang D M, Guttman D S. Disentangling interactions in the microbiome: a network perspective[J]. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(3): 217–228.
- [31] Zappellini C, Karimi B, Foulon J, et al. Diversity and complexity of microbial communities from a chlor-alkali tailings dump[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 90: 101–110.
- [32] Ford B M, Roberts J D. Evolutionary histories impart structure into marine fish heterospecific co-occurrence networks[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2019, 28(9): 1310–1324.

- [33] Yuan M M, Guo Xue, Wu Linwei, et al. Climate warming enhances microbial network complexity and stability[J]. *Nature Climate Change*, 2021, 11(4): 343–348.
- [34] Strahler A N. Dynamic basis of geomorphology[J]. *GSA Bulletin*, 1952, 63(9): 923–938.
- [35] Clark D E, Pilditch C A, Pearman J K, et al. Environmental DNA metabarcoding reveals estuarine benthic community response to nutrient enrichment – Evidence from an *in-situ* experiment[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 267: 115472.
- [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(1): 34.
- [37] Ji Fenfen, Han Dingyi, Yan Liang, et al. Assessment of benthic invertebrate diversity and river ecological status along an urbanized gradient using environmental DNA metabarcoding and a traditional survey method[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 806: 150587.
- [38] 中国科学院中国动物志编辑委员会, 任先秋. 中国动物志 无脊椎动物 第四十三卷 甲壳动物亚门 端足目 钩虾亚目 (二)[M]. 北京: 科学出版社, 2012.
- Editorial Committee of Zoology of China, Chinese Academy of Sciences, Ren Xianqiu. Fauna Sinica Vol. 43 II Invertebrata Crustacea Amphipoda Gammaridea[M]. Beijing: Science Press, 2012.
- [39] 刘月英, 张文珍, 王跃先, 等. 中国经济动物志: 淡水软体动物 [M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- Liu Yueying, Zhang Wenzhen, Wang Yuexian, et al. Economic Fauna of China – Freshwater Mollusks[M]. Beijing: Science Press, 1979.
- [40] 沙忠利, 任先秋, 王永良. 胶州湾及青岛邻近海域底栖甲壳动物 [M]. 北京: 科学出版社, 2018.
- Sha Zhongli, Ren Xianqiu, Wang Yongliang. Marine Benthic Crustacea from Jiaozhou Bay and Qingdao Adjacent Waters [M]. Beijing: Science Press, 2018.
- [41] 孙增禹, 王燕, 张志鹏, 等. 基于因子分析法的闲置土地影响因素及处置措施分析 [J]. 价值工程, 2024, 43(34): 1–3.
- Sun Zengyu, Wang Yan, Zhang Zhipeng, et al. Analysis of Influencing Factors and Disposal Measures of Idle Land Based on Factor Analysis Method[J]. *Value Engineering*, 2024, 43(34): 1–3.
- [42] 陈凯, 肖能文, 王备新, 等. 黄河三角洲石油生产对东营湿地底栖动物群落结构和水质生物评价的影响 [J]. *生态学报*, 2012, 32(6): 1970–1978.
- Chen Kai, Xiao Nengwen, Wang Beixin, et al. The effects of petroleum exploitation on water quality bio-assessment and benthic macro-invertebrate communities in the Yellow River Delta wetland, Dongying[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(6): 1970–1978.
- [43] 伊锋, 李雪艳, 许国纯, 等. 潮滩干湿转换的地貌发育物理模型及动力机制 [J]. 海洋通报, 2020, 39(3): 372–380.
- Yi Feng, Li Xueyan, Xu Guochun, et al. Physical model of landform development and its dynamic mechanism response to dry-wet conversion of tidal flat[J]. *Marine Science Bulletin*, 2020, 39(3): 372–380.
- [44] Chu Tianjiang, Sheng Qiang, Wang Sikai, et al. Variability of polychaete secondary production in intertidal creek networks along a stream-order gradient[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97287.
- [45] 姜亦松, 丛艺, 张明兴, 等. PET 微纤维在双齿围沙蚕体内的摄入排出动力学研究 [J]. *海洋环境科学*, 2024, 43(2): 243–251.
- Jiang Yisong, Cong Yi, Zhang Mingxing, et al. Study on the uptake and depuration kinetics of PET microfibers in the polychaete *Perinereis aibuhitensis*[J]. *Marine Environmental Science*, 2024, 43(2): 243–251.
- [46] Batzer D P, Wu Haitao. Ecology of terrestrial arthropods in freshwater wetlands[J]. *Annual Review of Entomology*, 2020, 65: 101–119.
- [47] Olesen J M, Bascompte J, Dupont Y L, et al. The modularity of pollination networks[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(50): 19891–19896.
- [48] Zhao Dayong, Shen Feng, Zeng Jin, et al. Network analysis reveals seasonal variation of co-occurrence correlations between Cyanobacteria and other bacterioplankton[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 573: 817–825.
- [49] Liu Lemian, Chen Huihuang, Liu Min, et al. Response of the eukaryotic plankton community to the cyanobacterial biomass cycle over 6 years in two subtropical reservoirs[J]. *The ISME Journal*, 2019, 13(9): 2196–2208.
- [50] Guseva K, Darcy S, Simon E, et al. From diversity to complexity: Microbial networks in soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 169: 108604.
- [51] 芦康乐, 武海涛. 三江平原沼泽湿地底栖无脊椎动物群落特征 [J]. *中国环境科学*, 2020, 40(2): 832–838.
- Lu Kangle, Wu Haitao. Community characteristics of benthic invertebrate in marsh wetlands of the Sanjiang Plain, China[J]. *China Environmental Science*, 2020, 40(2): 832–838.
- [52] 程济生, 郭学武. 渤海底栖生物的种类、数量分布及其动态变化 [J]. 海洋水产研究, 1998, 19(1): 31–42.
- Cheng Jisheng, Guo Xuewu. Distribution and dynamic variations of species and quantity of benthos in the Bohai sea[J]. *Marine Fisheries Research*, 1998, 19(1): 31–42.
- [53] Yin Shuo, Bai Junhong, Wang Xin, et al. Hydrological connectivity and herbivores control the autochthonous producers of coastal salt marshes[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 160: 111638.
- [54] 董芮, 王玉玉, 吕偲, 等. 水文连通性对西洞庭湖大型底栖动物群落结构的影响 [J]. *生态学报*, 2020, 40(22): 8336–8346.
- Dong Rui, Wang Yuyu, Lü Cai, et al. Effects of hydrological connectivity on the community structure of macrobenthos in West Dongting Lake[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(22): 8336–8346.
- [55] Castella E, Béguin O, Besacier-Monbertrand A L, et al. Realised and predicted changes in the invertebrate benthos after restoration of connectivity to the floodplain of a large river[J]. *Freshwater Biology*, 2015, 60(6): 1131–1146.

- [56] Palazzi M J, Borge-Holthoefer J, Tessone C J, et al. Macro- and mesoscale pattern interdependencies in complex networks[J]. *Journal of the Royal Society: Interface*, 2019, 16(159): 20190553.
- [57] 孙德斌, 栗云召, 于君宝, 等. 黄河三角洲湿地不同植被类型下土壤营养元素空间分布及其生态化学计量学特征 [J]. *环境科学*, 2022, 43(6): 3241–3252.
Sun Debin, Li Yunzhao, Yu Junbao, et al. Spatial distribution and eco-stoichiometric characteristics of soil nutrient elements under different vegetation types in the Yellow River delta wetland[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(6): 3241–3252.
- [58] 唐诗琴, 王庆, 刘璐, 等. 基于环境 DNA 宏条形码技术的水体无脊椎动物多样性研究: 以广州海珠湖为例 [J]. *湖泊科学*, 2023, 35(4): 1443–1456.
Tang Shiqin, Wang Qing, Liu Lu, et al. Biodiversity of aquatic invertebrates based on environmental DNA metabarcoding technology: a case study of Lake Haizhu in Guangzhou[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2023, 35(4): 1443–1456.
- [59] 张葵, 周连凤, 陈威, 等. 雅砻江下游大型底栖无脊椎动物群落结构及与环境因子的关系 [J]. *中国环境科学*, 2023, 43(4): 1857–1866.
Zhang Kui, Zhou Lianfeng, Chen Wei, et al. Macroinvertebrates community structure in relation to environmental variables in the lower reaches of the Yalong River[J]. *China Environmental Science*, 2023, 43(4): 1857–1866.
- [60] 任海庆, 袁兴中, 刘红, 等. 环境因子对河流底栖无脊椎动物群落结构的影响 [J]. *生态学报*, 2015, 35(10): 3148–3156.
Ren Haiqing, Yuan Xingzhong, Liu Hong, et al. The effects of environment factors on community structure of benthic invertebrate in rivers[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(10): 3148–3156.
- [61] 孙凌, 金相灿, 杨威, 等. 硅酸盐影响浮游藻类群落结构的围隔试验研究 [J]. *环境科学*, 2007, 28(10): 2174–2179.
Sun Ling, Jin Xiangcan, Yang Wei, et al. Effects of silicate on the community structure of phytoplankton in enclosures[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(10): 2174–2179.
- [62] 陈敏, 黄国彪, 戚洪帅, 等. 砂质海岸底栖硅藻的研究进展 [J]. *生态科学*, 2024, 43(2): 246–252.
Chen Min, Huang Guobiao, Qi Hongshuai, et al. Research progress of benthic diatoms on sandy beach[J]. *Ecological Science*, 2024, 43(2): 246–252.
- [63] Reece P F, Richardson J S. Benthic macroinvertebrate assemblages of coastal and continental streams and large rivers of southwestern British Columbia, Canada[J]. *Hydrobiologia*, 2000, 439(1): 77–89.
- [64] 吴东浩, 张勇, 于海燕, 等. 影响浙江西苕溪底栖动物分布的关键环境变量指示种的筛选 [J]. *湖泊科学*, 2010, 22(5): 693–699.
Wu Donghao, Zhang Yong, Yu Haiyan, et al. Selection of indicator species of major environmental variables affecting macroinvertebrate communities in the Xitiao Stream, Zhejiang, China[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2010, 22(5): 693–699.
- [65] 滕瑜, 王印庚, 王彩理. 沙蚕的营养分析与功能研究 [J]. *海洋科学进展*, 2004, 22(2): 215–218.
Teng Yu, Wang Yingeng, Wang Caili. Nutritional analysis and function study of *Perineris aibuhitensis*[J]. *Advances in Marine Science*, 2004, 22(2): 215–218.
- [66] Sanders H L. Benthic studies in buzzards bay. I. Animal-sediment relationships[J]. *Limnology and Oceanography*, 1958, 3(3): 245–258.
- [67] Beauger A, Lair N, Reyes-Marchant P, et al. The distribution of macroinvertebrate assemblages in a reach of the River Allier (France), in relation to riverbed characteristics[J]. *Hydrobiologia*, 2006, 571(1): 63–76.
- [68] Yang Zaoli, He Shufeng, Feng Tao, et al. Spatial variation in the community structure and response of benthic macroinvertebrates to multiple environmental factors in mountain rivers[J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 341: 118027.

附录

表 A1 基于环境 DNA 宏条形码技术的典型潮沟无脊椎动物物种名录

Table A1 Typical invertebrate species list of intertidal scours based on environmental DNA metabarcoding

门	属	种
环节动物门 Annelida	围沙蚕属 <i>Perinereis</i>	线围沙蚕 <i>Perinereis linea</i>
	水丝蚓属 <i>Limnodrilus</i>	水丝蚓属一种 <i>Limnodrilus</i> sp.
	丝异须虫属 <i>Heteromastus</i>	<i>Heteromastus gusipoensis</i>
	<i>Branchinotogluma</i>	<i>Branchinotogluma hessleri</i>
节肢动物门 Arthropoda	纺锤水蚤属 <i>Acartia</i>	纺锤水蚤属一种 <i>Acartia</i> sp.
	<i>Carpelimus</i>	<i>Carpelimus</i> sp. BBCCM392-10
	<i>Chydorus</i>	<i>Chydorus sphaericus</i>
	伪镖水蚤属 <i>Pseudodiaptomus</i>	指状伪镖水蚤 <i>Pseudodiaptomus inopinus</i>

续表 A1

门	属	种
	纹藤壶属 <i>Amphibalanus</i>	象牙纹藤壶 <i>Amphibalanus eburneus</i>
	小绿叶蝉属 <i>Empoasca</i>	小绿叶蝉属一种 <i>Empoasca</i> sp. BOLD-2016
	<i>Eupodes</i>	<i>Eupodes</i> sp. BIOUG25165-F12
	单蛛属 <i>Haplodrassus</i>	单蛛属一种 <i>Haplodrassus</i> sp.
	人形鱼虱属 <i>Lernanthropus</i>	<i>Lernanthropus corniger</i>
	湖水虱属 <i>Ligidium</i>	湖水虱属一种 <i>Ligidium</i> sp.
	蜚属 <i>Gaetice</i>	平背蜚 <i>Gaetice depressus</i>
	侧沟茧蜂属 <i>Microplitis</i>	侧沟茧蜂属一种 <i>Microplitis</i> sp.
	矮胖猛水蚤属 <i>Nannopus</i>	<i>Nannopus parvus</i>
	<i>Oxidus</i>	<i>Oxidus</i> sp.
	拳蟹属 <i>Pyrhila</i>	豆形拳蟹 <i>Pyrhila pisum</i>
	<i>Troglarmadillo</i>	<i>Troglarmadillo</i> sp.
	若甲螨属 <i>Zygoribatula</i>	若甲螨属一种 <i>Zygoribatula</i> sp.
	<i>Pleuromamma</i>	<i>Pleuromamma abdominalis</i>
	球蛛属 <i>Coleosoma</i>	球蛛属一种 <i>Coleosoma</i> sp.
	<i>Haloniscus</i>	<i>Haloniscus</i> sp. MG1641
	<i>Herbita</i>	<i>Herbita</i> sp. 1YB
	小家蚁属 <i>Monomorium</i>	小家蚁属一种 <i>Monomorium</i> sp.
刺胞动物门 Cnidaria	<i>Aurelia</i>	<i>Aurelia</i> sp.
	<i>Abietinaria</i>	<i>Abietinaria variabilis</i>
	美螵水母属 <i>Clytia</i>	美螵水母属一种 <i>Clytia</i> sp. WA01
	哈钟螵属 <i>Hartlaubella</i>	<i>Hartlaubella gelatinosa</i>
	水螵属 <i>Hydra</i>	水螵属一种 <i>Hydra</i> sp.
	<i>Malagazzia</i>	带拟杯水母 <i>Malagazzia taeniogonia</i>
	<i>Gonionemus</i>	钩手水母属一种 <i>Gonionemus</i> sp.
	藪枝螵水母属 <i>Obelia</i>	<i>Obelia dichotoma</i>
		藪枝螵水母属一种 <i>Obelia</i> sp. MZUSP 3356
		<i>Obelia longissima</i>
		<i>Obelia geniculata</i>
	僧帽水母属 <i>Physalia</i>	僧帽水母属一种 <i>Physalia</i> sp. DRP-2009
	海樞属 <i>Plumularia</i>	海樞属一种 <i>Plumularia</i> sp.
	<i>Praya</i>	<i>Praya dubia</i>
	<i>Thecocaldium</i>	<i>Thecocaldium quadratum</i>
	<i>Zanclaea</i>	<i>Zanclaea implexa</i>
	离翼水母属 <i>Apolemia</i>	离翼水母属一种 <i>Apolemia</i> sp. 3 CWD-2005
	<i>Caryophyllia</i>	<i>Caryophyllia</i> sp.
	逼螵水母属 <i>Pennaria</i>	<i>Pennaria disticha</i>

续表 A1

门	属	种
棘皮动物门 Echinodermata	长棘海星属 <i>Acanthaster</i>	<i>Acanthaster planci</i>
	海盘车属 <i>Asterias</i>	多棘海盘车 <i>Asterias amurensis</i>
软体动物门 Mollusca	彩虹蛤属 <i>Iridona</i>	彩虹蛤 <i>Iridona iridescens</i>
	德文蛤属 <i>Devonia</i>	内壳德文蛤 <i>Devonia semperi</i>
	<i>Bosellia</i>	<i>Bosellia mimetica</i>
	<i>Chosenelix</i>	<i>Chosenelix</i> sp.
	<i>Cornu</i>	<i>Cornu aspersum</i>
	冠蚌属 <i>Cristaria</i>	<i>Cristaria plicata</i>
	砂螺属 <i>Gastrocopta</i>	砂螺属一种 <i>Gastrocopta</i> sp.
	<i>Glyptophysa</i>	<i>Glyptophysa</i> sp. 6 PGA-2018
	<i>Granulomelon</i>	<i>Granulomelon</i> sp. A FC-2015
	<i>Magallana</i>	长牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i>
	<i>Indoplanorbis</i>	<i>Indoplanorbis exustus</i>
	<i>Lacuna</i>	<i>Lacuna variegata</i>
	旋螺属 <i>Gyraulus</i>	旋螺属一种 <i>Gyraulus</i> sp.
	小贻贝属 <i>Mytella</i>	<i>Mytella charruana</i>
	蜚螺属 <i>Nerita</i>	<i>Nerita magdalenae</i>
	<i>Phestilla</i>	<i>Phestilla</i> sp.
	<i>Radix</i>	折叠萝卜螺 <i>Radix plicatula</i>
	<i>Runcina</i>	<i>Runcina</i> sp. c AKA-2020
	<i>Setobaudinia</i>	<i>Setobaudinia kessneri</i>
	<i>Trapania</i>	<i>Trapania ortei</i>
	海蛞蝓属 <i>Tritonia</i>	海蛞蝓属一种 <i>Tritonia</i> sp.
	<i>Clathurella</i>	<i>Daphnella</i> sp. NP-2008
	<i>Digidentis</i>	<i>Digidentis</i> cf. <i>arbutus</i> LMT-2007
	<i>Fissurella</i>	<i>Fissurella bravensis</i>
	<i>Kermia</i>	<i>Kermia melanoxytum</i>
	叶海牛属 <i>Phyllidiella</i>	<i>Phyllidiella albonigra</i>
纽形动物门 Nemertea	四眼属 <i>Tetrastemma</i>	四眼属一种 <i>Tetrastemma</i> sp.
线虫动物门 Nematoda	阔口线虫属 <i>Eurystomina</i>	阔口线虫属一种 <i>Eurystomina</i> sp. 1AMA
	<i>Obainia</i>	<i>Obainia pachnephorus</i>
	<i>Adoncholaimus</i>	<i>Adoncholaimus daikokuensis</i>
扁形动物门 Platyhelminthes	<i>Bolbophorus</i>	<i>Bolbophorus damnificus</i>
	<i>Cratera</i>	<i>Cratera tui</i>
	单咽虫属 <i>Haplopharynx</i>	单咽虫属一种 <i>Haplopharynx</i> sp.
	多目涡虫属 <i>Polycelis</i>	多目涡虫属一种 <i>Polycelis</i> sp.
	<i>Pseudoceros</i>	<i>Pseudoceros laingensis</i>

续表 A1

门	属	种
	<i>Syndesmis</i>	<i>Syndesmis kurakaikina</i>
	副似四钩虫属 <i>Paratetraonchoides</i>	副似四钩虫属一种 <i>Paratetraonchoides</i> sp.
多孔动物门 Porifera	<i>Caulophacus</i>	<i>Caulophacus arcticus</i>
	石豆海绵属 <i>Cyamon</i>	石豆海绵属一种 <i>Cyamon</i> sp.
	<i>Scopalina</i>	<i>Scopalina canariensis</i>
	<i>Suberites</i>	<i>Suberites topsenti</i>
	<i>Thrinacophora</i>	<i>Thrinacophora cervicornis</i>
	<i>Arturia</i>	细薄白枝海绵 <i>Arturia tenuipilosa</i>

Analysis of invertebrate diversity and co-occurrence network based on environmental DNA metabarcoding in autumn typical tidal creek units of the Huanghe River Delta

Fu Qinglu¹, Dong Zhiyuan², Li Baoquan^{2,3}, Chen Li², Sun Debin², Ni Yanmei², Tang Yongzheng¹, Chen Linlin^{2,3}

(1. School of Ocean, Yantai University, Yantai 264003, China; 2. Key Laboratory of Coastal Biology and Bioresource Utilization, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China; 3. Key Laboratory of Coastal Zone Environmental Process and Ecological Restoration (Yantai Coastal Zone Research Institute), Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China)

Abstract: The tidal creek system is an active geomorphic unit in coastal wetlands, and the water environment of different level tidal creeks changes significantly, leading to spatial distribution differences of biological communities. This study selected a typical tidal creek unit in the Huanghe River Delta and used environmental DNA metabarcoding (eDNA) technique to detect the diversity of invertebrates. The biological co-occurrence network analysis and redundancy analysis (RDA) were respectively used to reveal the keystone species and driving factors of the invertebrate community in the typical tidal creek. The results showed that a total of 127 operational taxonomic units (OTUs) of invertebrates were detected in the tidal creek unit, belonging to 9 phyla, 24 classes, 53 orders, 103 families, 87 genera, and 90 species; among them, the class level was dominated by the Arthropoda (43.9%), and the genus level was dominated by the *Perinereis* (25.2%). The comprehensive diversity index (CD) analysis showed that the comprehensive diversity of invertebrates in the third-level tidal creek was the highest, and the comprehensive diversity of invertebrates in the first-level tidal creek was the lowest. The biological co-occurrence network analysis showed that the *Perinereis linea* and the *Obelia dichotoma* were the keystone species, which played a key role in maintaining the stability of the invertebrate community structure in the tidal creek. The RDA showed that the silicate content of the water body, temperature, and the proportion of fine sand and clay in the sediment were the main environmental factors affecting the invertebrate community characteristics in the tidal creek. Correlation network analysis showed that the keystone species were significantly affected by silicate content, clay, and nitrogen content in water ($P < 0.05$). The research results are helpful for understanding the community structure of typical tidal creek invertebrates, revealing the keystone species of typical tidal ditch invertebrates, and providing data support and theoretical reference for the monitoring and protection of invertebrate diversity.

Key words: environmental DNA metabarcoding; co-occurrence network; biodiversity; invertebrates; Huanghe River Delta