

DOI: 10.20103/j.stxb.202307181531

李筱芹, 吴开阳, 倪达富, 杨丽亚, 鲁桃秀, 张连博, 邓华堂, 吴彤飞, 何荣超, 付梅, 姚维志, 吕红健. 基于环境 DNA 技术的梯级水坝对长江上游重要支流鱼类多样性的影响研究——以綦江为例. 生态学报, 2024, 44(19): 8865-8883.

Li X Q, Wu K Y, Ni D F, Yang L Y, Lu T X, Zhang L B, Deng H T, Wu T F, He R C, Fu M, Yao W Z, Lü H J. Impacts of cascade dams on the diversity of fish species in an important tributary of the upper reaches of Yangtze River based on environmental DNA technology: a case study of Qijiang River. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(19): 8865-8883.

基于环境 DNA 技术的梯级水坝对长江上游重要支流 鱼类多样性的影响研究 ——以綦江为例

李筱芹¹, 吴开阳¹, 倪达富¹, 杨丽亚², 鲁桃秀¹, 张连博³, 邓华堂⁴, 吴彤飞¹, 何荣超¹,
付梅¹, 姚维志¹, 吕红健^{1,*}

1 西南大学水产学院, 农业农村部长江上游水生生物多样性保护研究中心, 西南大学渔业资源环境研究中心, 重庆 400715

2 自贡市大安区农业农村局, 自贡 643012

3 中国水产科学研究院渔业工程研究所, 北京 100141

4 中国水产科学院长江水产研究所, 国家农业科学重庆观测实验站, 武汉 430223

摘要: 为了探究梯级水坝对长江上游重要支流中不同鱼类的阻隔效应, 利用环境 DNA (Environmental DNA, eDNA) 技术于 2021 年 5 月对綦江 9 个区段鱼类物种组成与多样性进行了分析, 并与传统渔业资源调查的结果进行了对比, 探讨了 eDNA 技术在长江水系鱼类监测中的应用前景。结果显示基于 eDNA 技术在綦江中共检测到鱼类 7 目 16 科 49 属 59 种。其中, 鲤形目 41 种, 占比 69.49%; 珍稀特有鱼类 12 种, 占比 20.34%。通过传统渔业资源调查方法共监测到鱼类 7 目 17 科 64 属 92 种。两种调查方法的综合分析结果表明綦江中共有鱼类 96 种, 其中 55 种为共同调查到的鱼类, 占比 57.29%。此外, 基于 eDNA 技术检测到的 59 种綦江鱼类, 按照下游至上游次序呈现如下趋势: (1) 不同区段的鱼类物种多样性阶梯式降低; (2) 各采样点与全流域间的鱼类物种相似性阶梯式降低; (3) 喜流水鱼类与喜静缓流鱼类物种数之间的比值, 以及洄游性鱼类的物种数量及其所占比例逐渐减小; (4) 各区段底层鱼类的物种数量百分比逐渐减小, 而中上层和中下层鱼类的物种数量百分比逐渐增大。研究表明水坝的长期阻隔对綦江中鱼类物种组成和多样性产生了较大影响, 且梯级水坝造成的影响较单个水坝更加严重; 梯级水坝对喜流水、洄游性鱼类以及底层鱼类 (包括多种长江上游珍稀特有鱼类) 有较明显的阻隔效应。在现有研究基础和背景条件下, 认为如果用于物种注释的本地数据库已充分完善, 将 eDNA 技术应用于长江水系的鱼类监测总体可行; 否则, 在监测过程中应将 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法进行适当结合, 进而有效提高调查结果的全面性与可信度。

关键词: 鱼类多样性; 梯级水坝; 环境 DNA; 綦江; 长江上游

Impacts of cascade dams on the diversity of fish species in an important tributary of the upper reaches of Yangtze River based on environmental DNA technology: a case study of Qijiang River

LI Xiaolin¹, WU Kaiyang¹, NI Dafu¹, YANG Liya², LU Taoxiu¹, ZHANG Lianbo³, DENG Huatang⁴,
WU Tongfei¹, HE Rongchao¹, FU Mei¹, YAO Weizhi¹, LÜ Hongjian^{1,*}

1 College of Fisheries, Southwest University, Research Center for Aquatic Biodiversity Conservation in the Upper Reaches of Yangtze River, Research Center of

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFC3204200); 国家自然科学基金 (31802296); 农业农村部长江流域渔政监督管理办公室资助项目 (4142200026); 重庆市农业综合行政执法总队资助项目 (2023001029)

收稿日期: 2023-07-18; **网络出版日期:** 2024-07-22

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: hongjianlv@swu.edu.cn

Fishery Resources and Environment, Chongqing 400715, China

2 Zigong Municipal, Agriculture and Rural Affairs Da'an District, Zigong 643012, China

3 Fisheries Engineering Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China

4 National Agricultural Science Observing and Experimental Station of Chongqing, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Wuhan 430223, China

Abstract: To explore the barrier effects of cascade dams on different fish species in the main tributaries of the upper reaches of the Yangtze River, the present study has analyzed fish species composition and diversity across 9 sections of the Qijiang River using environmental DNA (eDNA) technology in May 2021. These findings were compared with the results using traditional fisheries investigation methods, and the potential application of eDNA technology in Yangtze River system fish monitoring was explored. The results showed that a total of 59 fish species were detected by eDNA technology, which were categorized into 7 orders, 16 families, and 49 genera. Among these fish species, 41 species (accounting for 69.49%) belonged to the Cypriniformes, and 12 species (accounting for 20.34%) were the rare-endemic ones in the upper reaches of the Yangtze River. A total of 92 fish species were captured by traditional fisheries investigation methods, which belonged to 7 orders, 17 families, and 64 genera. The comprehensive analysis results of the two methods suggested that 96 fish species inhabited the Qijiang River. Among them, 55 species (accounting for 57.29%) were obtained by both methods. Moreover, from downstream to upstream of the Qijiang River, the 59 fish species detected by eDNA technology showed the following trends: (1) the diversity of fish species in different sections exhibited a step-down decreasing trend; (2) the similarity of fish species between each sampling site and the entire basin exhibited a stepwise decreasing trend; (3) The ratio of species quantity between the fish preferring flowing water and those preferring calm and slow flowing water decreased gradually, additionally, both the number and proportion of migratory fish species gradually decreased; (4) as the proportion of bottom fish species gradually decreased, the proportion of pelagic and lower-middle fish species gradually increased. Hence, these findings demonstrated that the prolonged barrier created by dams had a substantial impact on the composition and diversity of fish species in the Qijiang River, with cascade dams exerting more pronounced effects compared to single dams. The cascade dams had obvious barrier effects on the flowing, migratory, and bottom fish species (including the rare and endemic ones in the upper reaches of Yangtze River). Finally, under the existing research basis and background conditions, we believe it is applicable for eDNA technology to be used in fish investigation of the Yangtze River system if the local database for species annotation is adequately improved. Otherwise, this technology is suggested to be properly combined with traditional fisheries investigation methods to improve the comprehensiveness and credibility of the final investigation results. The results of present study will be helpful for understanding the status of fishery resources and the barrier effects of cascade dams on different fish species in the Qijiang River. Meanwhile, the application prospects of eDNA technology will provide scientific and technical supports for protection of fishes in the Yangtze River.

Key Words: diversity of fish species; cascade dams; environmental DNA; Qijiang River; upper reaches of Yangtze River

长江水系作为我国最大的淡水生态系统,其中的淡水渔业资源量一直处于我国各水系的最高水平^[1]。为了保护长江渔业资源,自2020年1月1日起我国在长江流域实施为期十年的禁渔计划,并全面禁止天然渔业资源的任何生产性捕捞。利用网捕、笼捕、甚至电捕等方式的传统渔业资源调查方法在禁渔期间将受到较大限制,且长期使用传统渔业资源调查方法,不仅会影响到鱼类自身生存(特别是对于那些野生资源量已经处于较低水平的濒危珍稀鱼类),还会一定程度地破坏水域生态环境^[2-3]。此外,受传统调查方法所使用网具选择性,以及某些鱼类个体小、数量少、善隐蔽等因素的影响,导致实际鱼类多样性调查结果被低估的现象时有发生^[4-5]。因此,单靠传统渔业资源调查方法可能已无法满足当下长江鱼类多样性保护的全面要求,亟需探索新的渔业资源调查与监测方法。

近年来,随着分子生物学技术的高速发展,以环境 DNA (Environmental DNA, eDNA) 检测为核心的物种监测方法,即 eDNA 技术开始兴起^[6-8]。eDNA 是指能够从水体、土壤、沉积物、空气等环境介质中提取到的不同物种 DNA 片段的总和,其主要来源包括生物体的皮肤细胞、粘液、排泄物、卵子或精子等^[9]。eDNA 技术则是通过从环境样本中富集、提取上述 eDNA 样本(即 DNA 片段),并对其进行扩增、测序和生物信息学分析,进而确定取样环境中的生物物种组成、分布状况、遗传多样性等^[10-11]。eDNA 技术以无创采样、方便高效和检测灵敏度高优势弥补了传统渔业资源调查方法的不足,逐渐发展为一种新型的水生生物资源调查手段,近几年也已被广泛应用于濒危珍稀鱼类监测、水生外来或入侵生物监测、渔业资源生物量评估、鱼类多样性调查等水生态研究领域^[2,8,12]。目前,运用 eDNA 技术监测长江流域鱼类多样性的可行性已得到部分研究的验证,调查范围覆盖了长江干流(包括上、中、下游)^[13-19]、部分支流(包括嘉陵江、赤水河、乌江、汉江、赣江、雅砻江、秦淮河等)^[20-27]和长江口^[28]。

綦江作为长江上游右岸的一级支流,发源于贵州省桐梓县东北部山区,北流至石门坎进入重庆市境内,后经綦江区城区,在江津区仁沱镇汇入长江^[29]。自 1952 至 2018 年由于航道运输和水电开发等原因,重庆市在綦江中共建成 9 座水坝,自下游至上游分别为五福电站坝、车滩电站坝、桥溪口电站坝、大常电站坝、大华电站坝、石溪口电站坝、珠滩电站坝、盖石洞电站坝、羊蹄洞电站坝。已有研究表明,在河道中建造水坝会对水域生态及鱼类群落有诸多不利影响,包括破坏河流的连通性,影响鱼类洄游,引起生境破碎化和水文情势改变等,这也是造成全球淡水鱼类多样性下降的主要原因之一^[30-37]。本研究便针对上述研究结果,采用 eDNA 技术对水坝阻隔下綦江不同区段的鱼类物种组成与多样性开展研究,以探究水坝对不同鱼类的阻隔效应。此外,将传统渔业资源调查方法与 eDNA 技术调查结果进行比较,探讨 eDNA 技术在长江水系鱼类监测中的应用前景,以期为禁渔期间长江水系的鱼类多样性监测提供基础数据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 基于 eDNA 技术的綦江鱼类组成调查

1.1.1 水样的采集与处理

本研究监测水域为綦江重庆段的江津区下坝镇至綦江区赶水镇江段,长度约 80 km,共涉及 9 座水坝,在每座水坝的下游设置采样点,将 9 个采样点自下游至上游依次编号为 I 至 IX(图 1),9 座水坝的基本情况见表 1,各采样点的经纬度见表 2。于 2021 年 5 月使用全新采样瓶在各采样点采集 2 L 表层水样,每个采样点平

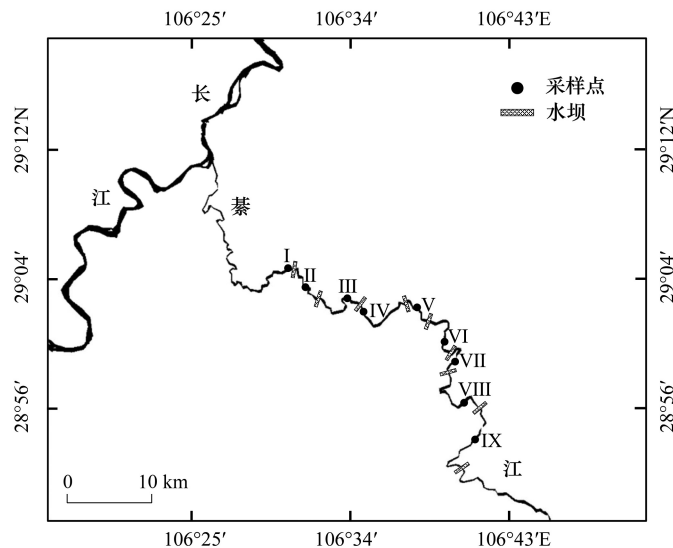


图 1 綦江各采样点地理分布示意图

Fig.1 Geographic distribution map of sampling sites in Qijiang River

行采集 2 瓶水样进行混合,混合完成后低温保存。每个采样点设置 1 个采样阴性对照。将采集的所有水样 24 h 内带回实验室,先低温静置沉淀 1 h 后使用混合纤维素滤膜(0.45 μm 孔径)进行抽滤,并将滤膜装入 10 ml 无菌无酶的离心管,置于 -80°C 条件下冷冻保存,以备后续 eDNA 的提取和分析。阴性对照水样同样采用上述方法处理。为避免样品间的交叉污染,每次抽滤开始前及结束后均使用次氯酸钠溶液对所用器材进行消毒处理。

表 1 碁江水坝基本信息表

Table 1 The basic information of dams in Qijiang River in this study

| 水坝名称 Name of dam | 建设年份 Year of construction | 经纬度 Longitude and latitude | 距碁江口的距离 Distance from Qijiang Estuary/km | 蓄水高程 Water storage elevation/m | 回水长度 Backwater length/km | 库容 Reservoir capacity/ m^3 |
|---------------------|------------------------------|-------------------------------|---|-----------------------------------|-----------------------------|--|
| 五福 | 1978 | 29°6'29.41"N, 106°28'54.64"E | 45.29 | 200.24 | — | — |
| 车滩 | 1966 | 29°3'42.83"N, 106°30'26.69"E | 53.40 | 205.70 | — | — |
| 桥溪口 | 2018 | 29°2'33.30"N, 106°34'20.41"E | 63.15 | 211.73 | 0.79 | 1300 |
| 大常 | 1953 | 29°1'36.73"N, 106°38'43.72"E | 75.40 | 215.70 | — | — |
| 大华 | 1952 | 28°59'46.39"N, 106°40'32.99"E | 81.60 | 220.70 | — | — |
| 石溪口 | 1990 | 28°58'48.86"N, 106°41'48.01"E | 90.60 | 225.60 | — | — |
| 珠滩 | 2009 | 28°57'13.74"N, 106°41'10.65"E | 96.59 | 242.50 | — | — |
| 盖石洞 | 1980 | 28°55'45.23"N, 106°42'55.64"E | 110.21 | 269.00 | 15.10 | 7400000 |
| 羊蹄洞 | 2005 | 28°50'8.19"N, 106°40'31.60"E | 126.00 | 277.70 | 4.80 | 500000 |

—: 无数据记载 No records

表 2 碁江各采样点的经纬度

Table 2 Longitude and latitude of sampling sites in Qijiang River

| 采样点 Sampling site | 经纬度 Longitude and latitude | 采样点 Sampling site | 经纬度 Longitude and latitude | 采样点 Sampling site | 经纬度 Longitude and latitude |
|----------------------|-------------------------------|----------------------|-------------------------------|----------------------|-------------------------------|
| I | 29°6'43.29"N, 106°28'26.99"E | IV | 29°1'36.28"N, 106°34'40.46"E | VII | 28°58'4.8"N, 106°42'14.91"E |
| II | 29°3'44.74"N, 106°29'57.26"E | V | 29°2'8.06"N, 106°39'36.6"E | VIII | 28°56'19.06"N, 106°42'51.59"E |
| III | 29°3'11.53"N, 106°33'11.59"E | VI | 28°59'32.28"N, 106°41'19.38"E | IX | 28°53'36.1"N, 106°42'53.9"E |

1.1.2 eDNA 提取

将含有 eDNA 的滤膜使用 HiPure Water DNA Kit 试剂盒(美基生物,中国)进行 DNA 提取,每张滤膜独立提取,并设置空白滤膜作为阴性对照来评估提取过程是否存在污染。然后,使用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测提取的 DNA 质量,并将提取的 DNA 样品放入 -80°C 冰箱保存。

1.1.3 目的基因扩增及高通量测序

利用鱼类通用引物 MiFish-U/E (MiFish-U-F: 5'-GTCGGTAAAACCTCGTGCCAGC-3' 和 MiFish-U-R; 5'-CATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTTTG-3')对 12s rRNA 的高变区进行扩增,具体方法参照 Miya 等^[38]。PCR 反应体系(20 μL)为:5 \times 缓冲液 4 μL 、dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL 、Taq DNA 聚合酶 0.4 μL 、DNA 模板 1 μL 、正反引物(5 $\mu\text{mol/L}$)各 0.8 μL ,最后加入 11 μL ddH₂O。PCR 仪采用的是 ABI GeneAmp[®] 9700,反应程序为:预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min,变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,退火 59 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s,变性-退火-延伸反应循环数为 35,终延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。每个样本均使用 ddH₂O 为模板进行 PCR 阴性对照来评估扩增过程是否存在污染。扩增结束后将产物混合,并使用 2% 琼脂糖凝胶进行电泳检测。检测合格后,使用凝胶回收试剂盒对产物进行回收,并使用 Illumina NovaSeq 6000 测序平台(上海凌恩生物科技,中国)进行高通量测序。

1.1.4 鱼类物种比对

将高通量测序所得序列经过去除引物、质控过滤、组装拼接和去除嵌合体等步骤处理后得到有效序列,按照相似度 $\geq 97\%$ 的条件对有效序列进行 OTU(Operational Taxonomic Units)聚类分析。此处的 OTU,又称操作

分类单元,是指通过序列间的相似性将测序读数分组,从而产生读数簇,该簇即被称为 OTU^[39],理想情况下每个 OTU 都应该代表一个实际物种。为了得到每个 OTU 对应的物种分类信息,将 OTU 代表序列与美国国家生物技术信息中心数据库(National Center for Biotechnology Information, NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行比对、分类注释,实现各物种在界、门、纲、目、科、属、种分类水平上的可视化。对注释结果进行人工校对,剔除比对到的非鱼类数据信息后,统计得到各采样点的鱼类物种组成,最后参照《中国内陆鱼类物种与分布》^[40]完善鱼类分类学信息。

1.2 基于传统渔业资源调查方法的綦江鱼类组成调查

本研究统计了 2002 年 1 月至 2023 年 4 月西南大学渔业资源环境研究中心基于传统渔业资源调查方法(采样渔具包括长度为 20—50 m,高度为 3—4 m,网目为 3—11 cm 的三层定置刺网,以及长度为 8—20 m,网目为 2 cm 的地笼)调查的綦江鱼类组成数据。鱼类样本的物种鉴定参照《中国鱼类系统检索》^[41]、《中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目(下卷)》^[42]等,并将上述鱼种调查结果与相关历史文献资料进行逐一比对^[43—45],最终统计得到基于传统渔业资源调查方法的綦江鱼类物种组成。

1.3 数据处理与分析

1.3.1 珍稀特有鱼类统计

根据《国家重点保护野生动物名录》、《重庆市重点保护野生动物名录》和《长江上游珍稀特有鱼类国家级自然保护区科学考察报告》^[46],统计基于 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法的綦江鱼类组成中的国家级保护鱼类、重庆市重点保护鱼类与长江上游特有鱼类。

1.3.2 鱼类生态类型划分

参考相关历史文献资料^[43—45],通过对基于 eDNA 技术检测到的綦江鱼类栖息水层、生境偏好进行整理分析后,对其生态类型进行划分:首先,根据栖息水层划分为中上层鱼类、中下层鱼类和底层鱼类 3 种类型;其次,根据对流水生境的喜好程度划分为喜流水鱼类与喜静缓流鱼类。对基于传统渔业资源调查方法调查到的綦江鱼类,同样进行上述生态类型划分。

1.3.3 鱼类物种多样性分析

采用 $G-F$ 指数^[47—48]分析基于 eDNA 技术所获得的綦江鱼类物种多样性,计算公式如下:

F 指数(D_F) (表示科间的多样性):

$$D_F = \sum_{k=1}^m D_{Fk} = - \sum_{k=1}^m \sum_{i=1}^n P_i \ln P_i$$

式中, $P_i = S_{ki}/S_k$, S_{ki} 为 k 科 i 属中的物种数, S_k 为 k 科中的物种数, n 为 k 科中的属数, m 为科数。

G 指数(D_G) (表示属间的多样性):

$$D_G = \sum_{j=1}^p D_{Gj} = - \sum_{j=1}^p q_j \ln q_j$$

式中, $q_j = S_j/S$, S_j 为 j 属中的物种数, S 为物种数, p 为属数。

$G-F$ 指数(表示鱼类物种多样性):

$$D_{G-F} = 1 - D_G/D_F$$

$G-F$ 指数的测度区间为 0—1,非单个物种的科越多, $G-F$ 指数数值越大。

1.3.4 鱼类物种相似性分析

采用 Jaccard 相似性系数^[49—50]分析基于 eDNA 技术检测到的綦江各采样点与全流域,以及每一采样点与其相邻后一采样点间的鱼类物种相似性,计算公式如下:

$$C_i = AB/(A+B-AB) \times 100\%$$

式中, C_i 为相似性系数, A 、 B 分别为群落 A 和群落 B 中的物种数, AB 为群落 A 和群落 B 中的共有物种数。当 C_i 数值为 75%—100% 时,属极相似;为 50%—75% 时,属中等相似;为 25%—50% 时,属中等不相似;为 0—25% 时,属极不相似。

1.3.5 数据处理

数据处理使用 Microsoft Excel 2019, 图表绘制使用 Origin 2021 (Origin Lab) 和 Microsoft PowerPoint 2019。

2 结果

2.1 基于 eDNA 技术的綦江鱼类物种组成

根据 OTU 聚类分析和物种注释结果, 本研究共检测出鱼类 59 种, 隶属于 7 目 16 科 49 属, 其中仅食蚊鱼 (*Gambusia affinis*) 1 种外来鱼类 (表 3)。从目水平来看, 鲤形目 (Cypriniformes) 的种类最多, 共有 41 种, 约占本次调查鱼类物种总数的 69.49%; 其次是鲇形目 (Siluriformes), 共有 9 种, 约占 15.25%; 再次是鲈形目 (Perciformes), 共有 5 种, 约占 8.47%; 鲟形目 (Acipenseriformes)、颌针鱼目 (Beloniformes)、合鳃鱼目 (Synbranchiformes) 和鲢形目 (Cyprinodontiformes) 的种类最少, 均只检测出 1 种 (表 3)。从科水平来看, 鲤科 (Cyprinidae) 的种类最多, 共有 33 种, 约占 55.93%; 其次是花鳅科 (Cobitidae) 和鲢科 (Bagridae), 均为 5 种, 约占 8.47% (表 3)。

本研究共检测出 12 种珍稀特有鱼类, 其中, 国家级保护鱼类 4 种, 包括长江鲟 (*Acipenser dabryanus*)、长薄鳅 (*Leptobotia elongata*)、岩原鲤 (*Procypris rabaudi*)、长鳍吻鮡 (*Rhinogobio ventralis*); 重庆市重点保护鱼类 2 种, 包括中华沙鳅 (*Botia supercilialis*)、白缘缺 (*Liobagrus marginatus*); 长江上游特有鱼类 10 种, 包括长江鲟、长薄鳅、岩原鲤、长鳍吻鮡、四川华吸鳅 (*Sinogastromyzon szechuanensis*)、半鳊 (*Hemiculterella sawagei*)、张氏鳊 (*H. tchangi*)、厚颌鲂 (*Megalobrama pellegrini*)、华鲮 (*Sinilabeo rendahli*)、宽体沙鳅 (*B. reevesae*) (表 3)。此外, 本研究所检测出的鱼类中, 按栖息水层划分, 底层鱼类的种类数最多, 共有 36 种, 约占鱼类物种总数的 61.02%; 其次是中上层鱼类, 共有 13 种, 约占 22.03%; 中下层鱼类最少, 共有 10 种, 约占 16.95%。按对流水生境的喜好程度划分, 喜流水鱼类共有 33 种, 约占鱼类物种总数的 55.93%; 喜静缓流鱼类共有 26 种, 约占 44.07% (表 3)。

2.2 基于 eDNA 技术的綦江不同区段鱼类物种多样性、相似性及生态类型

基于 eDNA 技术在綦江的 I 至 IX 采样点检测出的鱼类物种数分别为 59、47、46、30、27、23、21、18、16, 即自下游至上游检出鱼类物种数逐渐减少, 且呈阶梯式下降, 采样点 IX 检出鱼类物种数仅为采样点 I 检出鱼类物种数的 27.12% (16:59) (表 3)。此外, 本研究检出的 12 种珍稀特有鱼类中, 在采样点 I 全部检出; 在采样点 II 检出 4 种, 包括岩原鲤、半鳊、张氏鳊、厚颌鲂; 在采样点 III 检出 4 种, 包括岩原鲤、半鳊、张氏鳊、白缘缺; 在采样点 IV 及之后的上游采样点均未检测到珍稀特有鱼类 (表 3)。

从物种多样性来看, 采样点 I 的 F 指数、 G 指数、 $G-F$ 指数均最大, 而采样点 IX 的上述指数均最小, 且自采样点 I 至 IX 的 F 指数、 G 指数、 $G-F$ 指数总体均呈逐渐减小的趋势 (表 4)。从物种相似性来看, 采样点 I、II、III 与全流域间的鱼类物种相似性系数分别为 100%、79.66%、77.97%, 属极相似; 采样点 IV 为 50.85%, 属中等相似; 采样点 V、VI、VII、VIII、IX 分别为 45.76%、38.98%、35.59%、30.51%、27.12%, 属中等不相似 (图 2)。此外, 采样点 I 与 II、III 与 IV 之间的鱼类物种相似性系数分别为 73.77%、65.22%, 属中等相似; 而采样点 II 与 III、IV 与 V、V 与 VI、VI 与 VII、VII 与 VIII、VIII 与 IX 之间分别为 89.80%、90.00%、81.19%、91.30%、85.71%、88.89%, 属极相似 (图 2)。

从生态类型来看, 按栖息水层划分, 在采样点 I 至 IX, 底层鱼类的物种数均最多。但是从下游至上游, 底层鱼类的物种数量百分比由 61.02% (采样点 I, 36:59) 减小至 56.25% (采样点 IX, 9:16); 中上层鱼类由 22.03% (采样点 I, 13:59) 增大至 25.00% (采样点 IX, 4:16); 中下层鱼类由 16.95% (采样点 I, 10:59) 增大至 18.75% (采样点 IX, 3:16)。按对流水生境的喜好程度划分, 在采样点 I, 喜流水鱼类的物种数较喜静缓流鱼类多; 在采样点 II 至 IX, 均为喜流水鱼类的物种数较喜静缓流鱼类少; 且自采样点 I 至 IX, 喜流水鱼类物种数与喜静缓流鱼类物种数的比值由 33:26 变为 4:12, 呈减小趋势 (图 3)。

表 3 基于 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法在秦江监测到的鱼类物种列表
Table 3 List of fish species monitored based on environmental DNA (eDNA) technology and traditional fisheries investigation methods in Qijiang River

| 目 Order | 科 Family | 属 Genus | 种 Species | 资源属性 Resource properties | 生态类型 Ecological type | eDNA 技术 Environmental DNA (eDNA) technology | | | | | | | | | 传统渔业资源调查方法 Traditional fisheries investigation methods | | |
|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|-------------------------|--|------|-----|----|---|----|-----|------|----|---|---|---|
| | | | | | | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | | | |
| 鲟形目 Acipenseriformes | 鲟科 Acipenseridae | 鲟属 <i>Acipenser</i> | 长江鲟 <i>A. dabryanus</i> | ★ | B; R | + | | | | | | | | | | √ | |
| 胡瓜鱼目 Osmeriformes | 银鱼科 Salangidae | 新银鱼属 <i>Neosalanx</i> | 陈氏新银鱼 <i>N. tangshahkei</i> | | P; R | | | | | | | | | | | √ | |
| 鲢形目 Cypriniformes | 胭脂鱼科 Catostomidae | 胭脂鱼属 <i>Myxocyprinus</i> | 胭脂鱼 <i>M. asiaticus</i> | ★ | L; R | | | | | | | | | | | √ | |
| | | 鲢鱼属 <i>Pseudolaubuca</i> | 鲢鱼 <i>P. sinensis</i> | | P; R | | + | + | | | | | | | | √ | |
| 鲢形目 Cypriniformes | 鲤科 Cyprinidae | 鲢属 <i>Ochetobius</i> | 寡鳞鲢鱼 <i>P. engraulis</i> | ◆ | P; R | | | | | | | | | | | √ | |
| | | 棒花鱼属 <i>Abbottina</i> | 棒花鱼 <i>A. rivularis</i> | | B; R | | | | | | | | | | | √ | |
| | | 鱮属 <i>Acheilognathus</i> | 兴凯鱮 <i>A. chankaensis</i> | | B; Q | | | | | | | | | | | √ | |
| | | 瓣结鱼属 <i>Folifer</i> | 瓣结鱼 <i>F. brevifilis brevifilis</i> | | L; Q | | | | | | | | | | | √ | |
| | | 光唇鱼属 <i>Acrossocheilus</i> | 云南光唇鱼 <i>A. yunnanensis</i> | | L; R | | | | | | | | | | | √ | |
| | | | 宽口光唇鱼 <i>A. monticola</i> | | L; Q | | | | | | | | | | | √ | |
| | | | 鮠属 <i>Parabramis</i> | 鮠 <i>P. pekinensis</i> | | B; R | | | | | | | | | | √ | |
| | | | 似鮠属 <i>Pseudobrama</i> | 似鮠 <i>P. simoni</i> | | L; R | | | | | | | | | | √ | |
| | | | 细鲫属 <i>Aphyocypris</i> | 中华细鲫 <i>A. chinensis</i> | | L; R | | | | | | | | | | √ | |
| | | | 鳊属 <i>Zacco</i> | 宽鳍鳊 <i>Z. platypus</i> | | P; Q | | | | | | | | | | √ | |
| | | | 马口鱼属 <i>Opsarichthys</i> | 马口鱼 <i>O. bidens</i> | | P; R | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 鲢形目 Cypriniformes | 青鱼属 <i>Mylopharyngodon</i> | 青鱼属 <i>Mylopharyngodon</i> | 青鱼 <i>M. piceus</i> | | B; R | | + | | | | | | | | √ |
| 草鱼属 <i>Ctenopharyngodon</i> | 草鱼 <i>C. idella</i> | | | | L; Q | | + | + | + | + | + | + | + | + | √ | | |
| 赤眼鳟属 <i>Squaliobarbus</i> | 赤眼鳟 <i>S. curriculus</i> | | | | P; R | | + | + | + | + | + | + | + | + | √ | | |
| 鳊属 <i>Elopichthys</i> | 鳊 <i>E. bambusa</i> | | | | P; R | | + | | | | | | | | √ | | |
| 华鳊属 <i>Sinibrama</i> | 伍氏华鳊 <i>S. wui</i> | | | | L; Q | | + | + | + | + | + | + | + | + | √ | | |
| 半鲮属 <i>Hemiculterella</i> | 半鲮 <i>H. sawagei</i> | | | | P; R | | + | + | + | + | + | + | + | + | √ | | |
| 鲮属 <i>Hemiculter</i> | 鲮 <i>H. leuciscutis</i> | | | | P; Q | | + | + | + | + | + | + | + | + | √ | | |
| | 张氏鲮 <i>H. ichangi</i> | | | | P; R | | + | + | + | + | + | + | + | + | √ | | |
| | 厚颌鲂 <i>M. pellegrini</i> | | | | L; R | | + | + | + | + | + | + | + | + | √ | | |
| | 翘嘴鲂 <i>C. ilishaeformis</i> | | | | P; R | | + | + | + | + | + | + | + | + | √ | | |
| | 尖头鲂 <i>C. oxycephalus</i> | | | | L; R | | + | + | + | + | + | + | + | + | √ | | |
| 鲢形目 Cypriniformes | 红鳍鲂属 <i>Chanodichthys</i> | | | 达氏鲂 <i>C. dabryi dabryi</i> | | | P; R | | + | + | + | + | + | + | + | √ | |
| | | 蒙古鲂 <i>C. mongolicus mongolicus</i> | | | P; R | | + | + | + | + | + | + | + | √ | | | |
| | | 红鳍原鲂 <i>C. erythropterus</i> | | | P; Q | | + | + | + | + | + | + | + | √ | | | |
| | | 黑尾近红鲂 <i>A. nigrocauda</i> | | | P; R | | + | + | + | + | + | + | + | √ | | | |
| | | 黄尾鲂 <i>X. davidi</i> | | | B; Q | | + | + | + | + | + | + | + | √ | | | |
| | | 细鳞鲂 <i>X. microlepis</i> | | | B; Q | | + | + | + | + | + | + | + | √ | | | |
| | | 银鲂 <i>X. argentea</i> | | | B; Q | | + | + | + | + | + | + | + | √ | | | |

续表

| 目 Order | 科 Family | 属 Genus | 种 Species | 资源属性 Resource properties | 生态类型 Ecological type | eDNA 技术 Environmental DNA (eDNA) technology | | | | | | | | | 传统渔业资源调查方法 Traditional fisheries investigation methods |
|------------|-------------------|------------------------------|--|--------------------------------|----------------------------|--|----|-----|----|---|----|-----|------|----|--|
| | | | | | | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | |
| | | 圆吻鲷属 <i>Discochodon</i> | 圆吻鲷 <i>D. tumirostris</i> | | L; Q | | | | | | | | | | √ |
| | | 鲢属 <i>Hypophthalmichthys</i> | 鲢 <i>H. molitrix</i> | | P; R | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 鳊属 <i>Aristichthys</i> | 鳊 <i>A. nobilis</i> | | P; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 鲮属 <i>Rhodeus</i> | 彩石鲮 <i>R. lighti</i> | | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | | | 中华鲮 <i>R. sinensis</i> | | B; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | | 高体鲮 <i>R. ocellatus</i> | | L; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 蛇鲷属 <i>Saurogobio</i> | 长蛇鲷 <i>S. dumerili</i> | | B; R | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | | 蛇鲷 <i>S. dabryi</i> | | B; R | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | | 斑点蛇鲷 <i>S. punctatus</i> | | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | | 银鲷属 <i>Squalidus</i> | 银鲷 <i>S. argentatus</i> | | L; R | | | | | | | | | | √ |
| | | 鲃属 <i>Hemibarbus</i> | 唇鲃 <i>H. labeo</i> | | B; Q | + | | | | | | | | | √ |
| | | | 花鲃 <i>H. maculatus</i> | | B; Q | + | + | + | | | | | | | √ |
| | | 鲃属 <i>Sarcocheilichthys</i> | 华鲃 <i>S. sinensis sinensis</i> | | B; R | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | | 黑鳍鲃 <i>S. nigripinnis</i> | | L; Q | | | | | | | | | | √ |
| | | 吻鲷属 <i>Rhinogobio</i> | 长鳍吻鲷 <i>R. ventralis</i> | ★ | B; R | + | | | | | | | | | √ |
| | | | 吻鲷 <i>R. typus</i> | | B; R | + | + | + | | | | | | | √ |
| | | | 圆筒吻鲷 <i>R. cylindricus</i> | ● | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | | 小鲃属 <i>Microphysogobio</i> | 乐山小鲃 <i>M. liaotingensis</i> | | B; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 麦穗鱼属 <i>Pseudorasbora</i> | 麦穗鱼 <i>P. parva</i> | | L; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 鲤属 <i>Cyprinus</i> | 鲤 <i>C. carpio</i> | | B; R | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | | 散鳞镜鲤 | | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | | | <i>C. carpio haemato pterus Temm. et Sch</i> | | | | | | | | | | | | |
| | | 原鲤属 <i>Procypris</i> | 岩原鲤 <i>P. rabaudi</i> | ★ | B; Q | + | + | + | | | | | | | √ |
| | | 鲫属 <i>Carassius</i> | 鲫 <i>C. auratus auratus</i> | | L; R | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 倒刺鲃属 <i>Spinibarbus</i> | 中华倒刺鲃 <i>S. sinensis</i> | | B; R | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 白甲鱼属 <i>Onychostoma</i> | 白甲鱼 <i>O. sima</i> | | B; R | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | | 多鳞白甲鱼 <i>O. macrolepis</i> | ★ | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | | | 四川白甲鱼 <i>O. angustistomata</i> | ★ | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | | 华鲮属 <i>Sinilabeo</i> | 华鲮 <i>S. renahli</i> | ● | B; R | + | | | | | | | | | √ |
| | 条鲃科 Nemacheilidae | 副鲃属 <i>Homatula</i> | 红尾副鲃 <i>H. variegatus</i> | | B; R | + | + | + | | | | | | | √ |
| | | | 短体副鲃 <i>H. potanini</i> | ● | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | 花鲃科 Cobitidae | 副沙鲃属 <i>Parabotia</i> | 花斑副沙鲃 <i>P. fasciata</i> | | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | | | 双斑副沙鲃 <i>P. bimaculata</i> | | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | | 沙鲃属 <i>Botia</i> | 中华沙鲃 <i>B. superciliosus</i> | ◆ | B; R | + | | | | | | | | | √ |
| | | | 宽体沙鲃 <i>B. reevesae</i> | ● | B; R | + | | | | | | | | | √ |

续表

| 目 Order | 科 Family | 属 Genus | 种 Species | 资源属性 Resource properties | 生态类型 Ecological type | eDNA 技术 Environmental DNA (eDNA) technology | | | | | | | | | 传统渔业资源调查方法 Traditional fisheries investigation methods |
|------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|----------------------------|--|----|-----|----|---|----|-----|------|----|--|
| | | | | | | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | |
| | | 薄鳅属 <i>Leptobotia</i> | 长薄鳅 <i>L. elongata</i> | ★ | B; R | + | | | | | | | | | √ |
| | | 花鳅属 <i>Cobitis</i> | 中华花鳅 <i>C. sinensis</i> | | B; Q | | | | | | | | | | √ |
| | | 泥鳅属 <i>Misgurnus</i> | 泥鳅 <i>M. anguillicaudatus</i> | | B; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 副泥鳅属 <i>Paramisgurnus</i> | 大鳞副泥鳅 <i>P. dabryanus</i> | | B; Q | + | | | | | | | | | √ |
| | 爬鳅科 <i>Balitoridae</i> | 华吸鳅属 <i>Sinogostromyzon</i> | 四川华吸鳅 <i>S. szechuanensis</i> | ● | B; R | + | | | | | | | | | √ |
| | | | 西昌华吸鳅 <i>S. sichangensis</i> | ● | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | | 金沙鳅属 <i>Jinshaia</i> | 中华金沙鳅 <i>J. sinensis</i> | ● | B; R | | | | | | | | | | √ |
| | | 犁头鳅属 <i>Lepturichthys</i> | 犁头鳅 <i>L. fimbriata</i> | | B; R | + | + | + | | | | | | | √ |
| | 鲇形目 <i>Siluriformes</i> | 鲇属 <i>Silurus</i> | 鲇 <i>S. asotus</i> | | B; Q | + | + | + | | | | | | | √ |
| | | | 大口鲇 <i>S. meridionalis</i> | | B; Q | + | + | + | + | | | | | | √ |
| | | 黄颡鱼属 <i>Pelteobagrus</i> | 光泽黄颡鱼 <i>P. nitidus</i> | | L; Q | + | + | | | | | | | | √ |
| | | | 瓦氏黄颡鱼 <i>P. wachellii</i> | | B; Q | + | + | | | | | | | | √ |
| | | | 黄颡鱼 <i>P. fulvidraco</i> | | B; Q | | | | | | | | | | √ |
| | | | 长须黄颡鱼 <i>P. eupogon</i> | | B; Q | | | | | | | | | | √ |
| | | 鮡属 <i>Leiocassis</i> | 长吻鮡 <i>L. longirostris</i> | | B; R | + | + | + | + | + | | | | | √ |
| | | | 粗唇鮡 <i>L. crassilabris</i> | | B; R | + | + | + | | | | | | | √ |
| | | 鮡属 <i>Hemibagrus</i> | 大鳍鮡 <i>H. macropterus</i> | ◆ | B; R | + | + | + | + | + | | | | | √ |
| | | 鮡属 <i>Liobagrus</i> | 白缘鮡 <i>L. marginatus</i> | | B; R | + | + | + | + | + | | | | | √ |
| | | 纹胸鮡属 <i>Glyptothorax</i> | 中华纹胸鮡 <i>G. sinensis</i> | | B; R | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | 颌针鱼目 <i>Belontiiformes</i> | 青鳉属 <i>Oryzias</i> | 青鳉 <i>O. latipes</i> | | P; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 食蚊鱼属 <i>Gambusia</i> | 食蚊鱼 <i>G. affinis</i> | | P; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | 鲈形目 <i>Cyprinodontiformes</i> | 黄鲈属 <i>Monopterus</i> | 黄鲈 <i>M. albus</i> | | B; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | 合鳃鱼目 <i>Synbranchiiformes</i> | 鳊属 <i>Siniperca</i> | 鳊 <i>S. chuatsi</i> | | L; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | | 斑鳊 <i>S. scherzeri</i> | | L; R | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | | 大眼鳊 <i>S. kneri</i> | | L; Q | | | | | | | | | | √ |
| | | 小黄鲂属 <i>Microperops</i> | 小黄鲂 <i>M. swinhonis</i> | | B; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 鳊属 <i>Chanina</i> | 鳊 <i>C. argus</i> | | B; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| | | 吻虾虎鱼属 <i>Rhinogobius</i> | 吻虾虎鱼 <i>R. giurinus</i> | | B; Q | + | + | + | + | + | + | + | + | + | √ |
| 合计 Total | 18 | 67 | 96 | | | | | | | | | | | | 92 |

★: 国家级保护鱼类 national protected fish species; ◆: 重庆市重点保护鱼类 key protected fish species of Chongqing; ●: 长江上游特有鱼类 endemic fish species in the upper reaches of Yangtze River; P: 中上层鱼类 pelagic fish species; L: 中下层鱼类 lower-middle fish species; B: 底层鱼类 bottom fish species; R: 喜流水鱼类 fish species which like flowing water; Q: 喜静缓流鱼类 fish species which like quiet and slow flow; +: 基于 eDNA 技术检测到的鱼类物种 fish species detected based on eDNA technology; I: 采样点 I sampling site I; II: 采样点 II sampling site II; III: 采样点 III sampling site III; IV: 采样点 IV sampling site IV; V: 采样点 V sampling site V; VI: 采样点 VI sampling site VI; VII: 采样点 VII sampling site VII; VIII: 采样点 VIII sampling site VIII; IX: 采样点 IX sampling site IX; √: 基于传统渔业资源调查方法监测到的鱼类物种 fish species monitored based on traditional fisheries investigation methods

表 4 綦江各采样点的鱼类物种多样性

Table 4 Fish species diversity for each sampling site in Qijiang River

| 采样点 Sampling site | 科的数量 Number of families | 属的数量 Number of genera | 种的数量 Number of species | F 指数 F index | G 指数 G index | G-F 指数 G-F index |
|----------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|---------------------|
| I | 16 | 49 | 59 | 6.37 | 3.84 | 0.40 |
| II | 14 | 40 | 47 | 4.24 | 3.64 | 0.14 |
| III | 15 | 43 | 46 | 4.47 | 3.65 | 0.18 |
| IV | 12 | 28 | 30 | 3.36 | 3.26 | 0.03 |
| V | 12 | 25 | 27 | 2.60 | 3.14 | -0.21 |
| VI | 9 | 22 | 23 | 2.62 | 3.08 | -0.18 |
| VII | 9 | 21 | 21 | 2.56 | 3.04 | -0.19 |
| VIII | 9 | 18 | 18 | 2.30 | 2.89 | -0.26 |
| IX | 9 | 16 | 16 | 2.08 | 2.77 | -0.33 |

2.3 基于传统渔业资源调查方法的綦江鱼类物种组成

综合历次调查数据与历史文献资料,传统渔业资源调查方法在綦江重庆段共监测到鱼类 92 种,隶属于 7 目 17 科 64 属,其中包括食蚊鱼和散鳞镜鲤 (*Cyprinus carpio haemato pterus* Temm.et Sch) 2 种外来鱼类。从目水平来看,鲤形目的种类最多,共有 71 种,约占历史调查鱼类物种总数的 77.17%;其次是鲇形目,共有 10 种,约占 10.87%。从科水平来看,鲤科的种类最多,共有 56 种,约占 60.87%;其次是花鳅科,共有 8 种,约占 8.70%。传统渔业资源调查方法共监测到 18 种珍稀特有鱼类,其中,国家级保护鱼类 5 种,包括胭脂鱼 (*Myxocyprinus asiaticus*)、长薄鳅、长鳍吻鲈、多鳞白甲鱼 (*Onychostoma macrolepis*)、四川白甲鱼 (*O. angustistomata*);重庆市重点保护鱼类 3 种,包括鳊 (*Ochetobius elongates*)、中华沙鳅、白缘鳅;长江上游特有鱼类 13 种,包括长薄鳅、半鳊、张氏鳊、厚颌鲂、华鲮、长鳍吻鲈、宽体沙鳅、中华金沙鳅 (*Jinshaia sinensis*)、四川华吸鳅、四川白甲鱼、圆筒吻鲈 (*R. cylindricus*)、短体副鳅 (*Homatula potanini*)、西昌华吸鳅 (*S. sichangensis*) (表 3)。此外,基于传统渔业资源调查方法监测到的綦江鱼类中,按栖息水层划分,同样是底层鱼类的种类数最多,共有 52 种,约占鱼类物种总数的 56.52%;中上层鱼类与中下层鱼类的物种数相等,各有 20 种,分别占 21.74%。按对流水生境的喜好程度划分,喜流水鱼类共有 56 种,占鱼类物种总数的 60.87%;喜静缓流鱼类共有 36 种,占 39.13%(表 3)。

2.4 基于 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法的綦江鱼类物种组成比较

研究结合 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法所得调查结果,发现历史上共有 96 种鱼类分布在綦江中。其中,基于 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法均监测到的鱼类有 55 种,约占綦江鱼类物种总数的 57.29% (55:96) (表 3,图 4)。此外,相较于传统渔业资源调查方法,基于 eDNA 技术新检测到的鱼类有 4 种,包括长江鲟、岩原鲤、乐山小鳊 (*Microphysogobio kiatingensis*)、长蛇鲈 (*Saurogobio dumerili*);未检测到的鱼类有 37 种,包括胭脂鱼、多鳞白甲鱼、四川白甲鱼、短体副鳅、斑点蛇鲈 (*S. punctatus*) 等(表 3)。

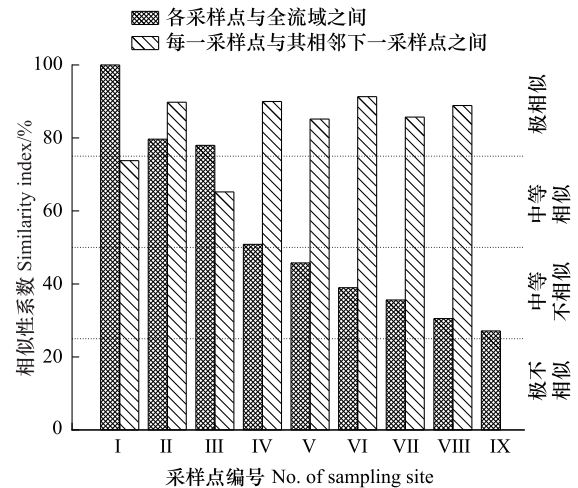


图 2 綦江各采样点鱼类物种相似性系数

Fig.2 The similarity index of fish species for each sampling site in Qijiang River

3 讨论

3.1 基于 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法的綦江鱼类物种组成分析

綦江作为长江的一级支流,其与长江干流交汇江段属长江上游珍稀特有鱼类国家级自然保护区的缓冲区^[46],且在每年 2 至 5 月春季繁殖季节,许多生活于长江上游干流的鱼类会洄游至綦江中繁殖产卵,例如胭脂鱼、长鳍吻鮡、华鲮、中华倒刺鲃 (*Spinibarbus sinensis*) 等^[43-45]。因此,綦江自身的水生态环境,及其中的鱼类物种组成对长江上游鱼类多样性保护具有重要意义。运用 eDNA 技术调查了綦江中的鱼类物种组成,共检测出鱼类 59 种,其中仅食蚊鱼 1 种外来鱼类。从目水平来看,鲤形目的种类最多,其次是鲇形目;从科水平来看,鲤科的种类最多,其次是花鲈科和鳊科(表 3);上述调查结果与其他研究或历史文献资料中所描述的长江上游鱼类区系组成特征基本一致^[40,43-46]。此外,本研究基于 eDNA 技术共检测出 12 种珍稀特有鱼类,包括 4 种国家级保护鱼类、2 种重庆市重点保护鱼类和 10 种长江上游特有鱼类(表 3)。这一调查结果也与就近江段的鱼类资源调查结果类似^[15,46],例如王梦等^[15]基于 eDNA 技术对长江上游珍稀特有鱼类国家级自然保护区重庆段鱼类多样性开展了相关研究,共检测出鱼类 74 种,其中就有国家级保护鱼类 2 种,长江上游特有鱼类 10 种,重庆市重点保护鱼类 6 种(原文为 1 种),以及外来鱼类 8 种。

对基于 eDNA 技术检测出的鱼类进行了生态类型划分,结果表明按栖息水层划分,綦江中的底层鱼类种类数最多;按对流水生境的喜好程度划分,喜流水鱼类的种类数较喜静缓流鱼类偏多(表 3)。分析原因不难发现:首先,綦江的河流底质多由卵石、砂砾石和沙泥质组成,这为底层鱼类的生存(包括摄食、繁殖、躲避敌害等)提供了适宜的底质环境;其次,綦江中险滩较多,且具有水流较急的原始生境特征^[29,51]。因此,綦江自身的底质环境与生境特征可能是造成其中鱼类上述生态类型划分结果的重要原因。综合上述所有分析结果,可以发现基于 eDNA 技术获得的綦江鱼类物种组成与其他在就近江段的调查或研究结果相似,且上述鱼类物种组成所对应的生态类型划分结果与綦江生境特征相符。

基于传统渔业资源调查方法在綦江监测到的 92 种鱼类无论是鱼类区系组成特征、生态类型划分结果还是外来鱼类组成均与 eDNA 检测结果相近。另外,基于 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法均监测到的鱼类共有 55 种(图 4),约占 eDNA 检测鱼类物种总数的 93.22%,以及传统渔业资源调查方法调查到鱼类物种总数的 59.78%,表明本研究基于 eDNA 技术所获鱼类物种数量较传统渔业资源调查方法所获鱼类物种数量明显

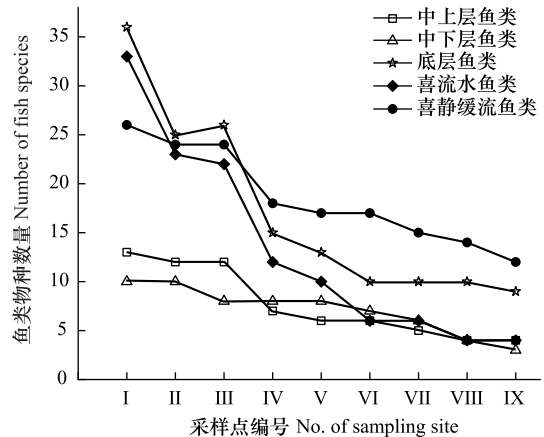


图 3 綦江各采样点不同生态类型的鱼类物种数量

Fig.3 The number of fish species belonging to different ecological types for each sampling site in Qijiang River

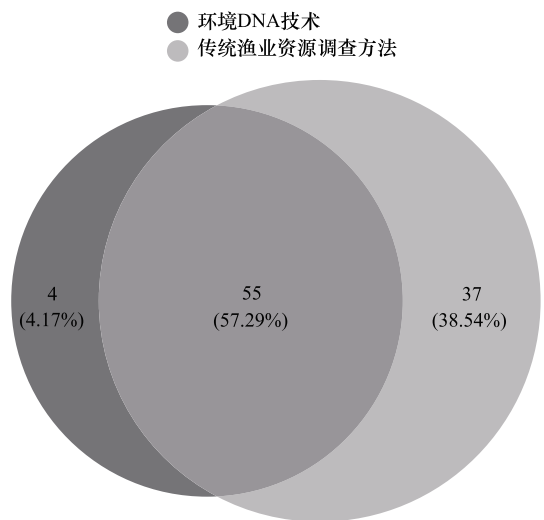


图 4 基于 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法获得綦江鱼类物种总数的维恩图

Fig.4 Venn diagrams based on the number of fish species detected by environmental DNA (eDNA) technology and monitored by traditional fisheries investigation method in Qijiang River

偏低,但考虑到参考的物种注释数据库(NCBI)尚不完善,以及目前 eDNA 技术具有的其他缺陷(例如部分鱼种 eDNA 的存留时间较短、无法精准区分近缘鱼种等),eDNA 检测结果仍具有较高可信度,可用于后续綦江不同区段鱼类物种多样性、相似性及生态类型分析。

3.2 基于 eDNA 技术的綦江不同区段鱼类物种多样性、相似性及生态类型分析

从基于 eDNA 技术在各采样点检测出的鱼类物种数,及计算所得相关 F 指数、 G 指数、 $G-F$ 指数来看,綦江不同区段的鱼类物种多样性存在明显差异,且呈现出自下游至上游阶梯式下降的趋势(表 4)。上述綦江鱼类物种多样性的变化特征符合河流生态系统中鱼类空间分布格局的普遍规律,即随着河流上游至下游的非生物、生物因子和生态过程的纵向梯度变化,鱼类群落结构也随之发生相应的梯度变化,并表现出物种丰富度逐渐增加的普遍规律^[52-54]。郭宁宁等^[22]基于 eDNA 技术研究了赤水河 212 km 河道中鱼类多样性分布特征后,发现随着赤水河上游至下游海拔的逐渐降低(高度落差可达 1254 m),赤水河上游至下游的鱼类物种数逐渐增多,且上游鱼类物种数约占总数的 49.35%(38:77)。綦江 9 个采样点之间的河道长度与海拔高度落差分别约为 80 km 与 125 m,但是在采样点 IX 检测出的鱼类物种数却仅占总数的 27.12%(16:59)。因此,不难发现綦江中鱼类物种多样性的纵向梯度变化幅度远大于保持自然流态的赤水河,本研究调查水域内的 9 座水坝可能是造成上述差异的重要原因。换言之,綦江中的梯级水坝对鱼类在不同区段种群间的交流与扩散(包括迁入、迁出,以及洄游)造成了明显的阻隔效应。

从鱼类物种相似性来看,本研究基于 eDNA 技术检测出的 59 种鱼类在采样点 I 均被检测到,且有 3 个采样点与全流域间的鱼类物种相似性属极相似,1 个采样点属中等相似,5 个采样点属中等不相似(图 2)。此外,每一采样点与其相邻下一采样点间的鱼类物种相似性有 6 个组属极相似,2 个组属中等相似(图 2)。上述研究结果表明受多个大坝阻隔的两个采样点间的鱼类物种相似性较单个大坝阻隔的两个相邻采样点间的鱼类物种相似性低。已有研究表明在天然河流中建设水坝往往会导致河流物理、化学、地貌和水文特征的剧烈变化,而当这些变化来自多个水坝时,累积效应会被放大,并对其中的鱼类物种组成造成比单个水坝更显著的影响^[23,30-37]。被水坝分隔的綦江不同区段鱼类物种多样性与相似性分析结果均印证了上述推论,即本研究调查区域内的 9 座水坝对綦江不同区段间鱼类扩散的阻隔及对綦江流水生境的破坏较单个水坝更加严重。

各采样点检测出的鱼类物种中,首先按对流水生境的喜好程度划分,仅在采样点 I 喜流水鱼类物种数较喜静缓流鱼类多,且自下游至上游,喜流水鱼类物种数与喜静缓流鱼类物种数之间的比值逐渐减小(表 3,图 3)。梯级水坝对河流水文环境最直接的影响便是将原本自然流淌的河流转变成多个类湖泊的深水水库,梯级水库蓄水运行导致部分鱼类产卵场被淹没,并阻断了鱼类的洄游通道,致使需要流水刺激才能完成产卵繁殖的喜流水鱼类以及需要洄游活动来完成生活史鱼类的物种数量及其占比自下游至上游逐渐减小(包括长江鲟、长鳍吻鮡、华鲮、四川华吸鳅等)^[43-45,55-56]。与之相反,喜静缓流鱼类的繁殖一般不需要流水刺激,也不需要洄游活动来完成其生活史,从而使得喜静缓流鱼类的物种数量及其占比自下游至上游逐渐增大。其次按栖息水层划分,各采样点底层鱼类物种数占比均最多,但是从下游至上游,底层鱼类的物种数量百分比逐渐减小,而中上层和中下层鱼类的物种数量百分比逐渐增大(图 3)。究其原因,綦江中的多数底层鱼类多以底栖无脊椎动物或着生藻类为食(包括岩原鲤、中华倒刺鲃、中华沙鳅等)^[43-45],而此类食性鱼类分布会更容易受到梯级水库蓄水运行的影响^[32-33]。对比分析上述生态类型划分结果,对梯级水坝响应较为敏感鱼类生态类型划分标准为生境偏好,即根据对流水生境的喜好程度划分。此外,本研究检出的 12 种珍稀特有鱼类仅在采样点 I 全部检出,采样点 II 和 III 各检出 4 种,其余采样点均未检出,而外来鱼类(食蚊鱼)则在所有采样点检出。综合上述研究结果,綦江的梯级水坝对喜流水和洄游性鱼类,以及底层鱼类具有较明显的阻隔效应,且上述鱼种多属长江上游珍稀特有鱼类。这一研究结果与陈美玲^[32]、杨志^[33]有关梯级水电开发对鱼类分布和鱼类群落影响的研究结果基本一致。由于本研究未采用传统渔业资源调查方法监测綦江不同区段的鱼类物种组成,基于传统方法和 eDNA 技术所得綦江不同区段鱼类多样性研究结果的差异还有待进一步验证与探讨。

3.3 eDNA 技术在长江水系鱼类物种组成调查与监测中的应用前景

近年来,随着 eDNA 技术的发展,其已逐渐成为水生生物多样性和群落结构评估的一个潜在工具。按照研究水域、方法论、优缺点等将目前基于 eDNA 技术开展的我国内陆水域鱼类物种组成调查与监测的研究进行了综述,具体见表 5。eDNA 技术的实验流程一般可概括为“野外样品采集→eDNA 捕获→eDNA 提取→目的基因扩增与测序→物种注释→后续分析”,而不同实验方法(包括采集水样体积、滤膜孔径与材质、DNA 提取方法、引物等)的选择会显著影响从样品中获得 DNA 的浓度,并最终影响到鱼类物种组成的分析结果^[8,21]。

在野外样品采集中,由于各研究水域的水质,以及研究目标差异等原因,采集的水样体积一般在 0.5—20 L 不等,现有研究中采用最多的为 2 L(表 5)。在滤膜的选择上,综合抽滤时间和 DNA 捕获量考虑,现有研究中使用最多的是孔径大小为 0.45 μm 的混合纤维素膜(表 5)。王月^[21]比较了 6 种不同材质滤膜(硝酸纤维素膜、玻璃纤维素膜、聚碳酸酯膜、聚四氟乙烯膜、混合纤维素膜、尼龙膜)的 DNA 捕获总量,结果显示混合纤维素膜的捕获效果显著优于其它 5 种材质的滤膜。此外,王月^[21]用 5 种不同的 DNA 提取方法(酚氯仿异戊醇法、高盐法、磁珠法、Qiagen DNeasy PowerWater Kit、Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit)进行实验,结果表明使用 Qiagen DNeasy PowerWater Kit 提取的 DNA 所得 ddPCR 产物浓度显著高于其它 4 种方法,且现有研究中最常用的也是 Qiagen DNeasy PowerWater Kit(表 5)。从引物选择来看,目前最常用的是 Miya 等^[38]基于 12S rRNA 基因的一个高变区(163—185 bp)开发的鱼类通用引物(即 MiFish)(表 5)。最后,当进行物种注释时,目前使用最多的是 NCBI(表 5)。然而,也有部分学者指出现有公共数据库的完整性和准确性仍不够,因此在进行 eDNA 检测之前应先构建本地鱼种数据库^[21,27,57]。

eDNA 技术作为一种新型的水生生物资源和生态学调查手段,现有研究结果表明将其应用于鱼类物种监测时,相较于传统渔业资源调查方法,其在很多方面都能体现出显著优势。例如,eDNA 技术应用过程中的时间和人力成本较低^[13,21,23—24,57—66];对采样生境及对象无破坏和损伤^[13—14,21,23—24,28,57—59,61,63,65,67];能够有效减少物种鉴定过程中的主观差异^[15,26,63,68];不受物种各生活史时期的限制^[22,59]等(表 5)。此外,许多研究还指出 eDNA 技术检测灵敏度高,适用于监测种群密度较低、样本采集困难的物种,如珍稀特有和外来入侵物种以及小型鱼类^[13—14,17,20—22,57—60,63,65,67]。研究结果也印证了这一结论,即本研究使用 eDNA 技术检测到了传统渔业资源调查方法未监测到的珍稀特有鱼类(包括长江鲟和岩原鲤)和小型鱼类(包括长蛇鮈和乐山小鰾鮈)(表 3)。但应指出的是,eDNA 技术应用于鱼类物种监测时,仍然存在以下缺点和局限性:eDNA 的产生、降解和移动除受到鱼类不同生活史阶段的影响之外,还受到水温、pH、流速等诸多水环境因素的影响^[13,20—24,32,61,67];由于通用引物对同源鱼种的区分度不够,部分近缘鱼种无法区分,并且引物还可能存在一定的扩增偏向性^[13—14,18—19,28,60,66];eDNA 技术还存在尚无统一的标准化操作规范、无法获得目标鱼种各生长发育阶段的生物学特征、无法准确评估目标鱼种的位置信息、无法实现鱼类的绝对定量(包括体重体长组成、年龄结构、性比等种群结构特征)、数据库生物信息缺失及精准度不够、易出现“假阳性”或“假阴性”,以及 eDNA 随气候、地域、季节的不规律变化会影响监测结果等问题^[14,21,23—24,28,57,69,62—68,70—72]。研究中也存在部分通过传统渔业资源调查方法监测到的物种未被 eDNA 技术检出的现象。引起这一现象的原因:首先,可能与调查的水域范围有关,历史调查的水域范围涵盖了綦江干流及其河汉,本研究的 9 个采样点位于綦江干流的江津区和綦江区共 80 km 江段,未检测到的鱼种可能分布于綦江的其它江段或河汉中;其次,可能与 eDNA 采样次数较少有关,本研究统计了 2002 年 1 月至 2023 年 4 月通过传统渔业资源调查方法监测到的鱼种,而采用 eDNA 技术检测的结果仅来自于 2021 年 5 月一次性采集的水样,因此 eDNA 检测的结果可能没有历史数据全面;最后,可能是 eDNA 检测结果出现了“假阴性”,本研究选用的引物和物种注释参考数据库均可能导致“假阴性”的出现。使用的 MiFish 引物虽然是目前鱼类多样性研究中应用最广,扩增效果最好的鱼类通用引物,但该引物仍然具有对近缘鱼种的分辨率不高,种属间区分度有限等问题^[12,28,60]。此外,参考的物种注释数据库(NCBI)可能缺乏部分特有物种及新物种(例如斑点蛇鮈)的序列信息,从而导

表 5 我国内陆水域基于环境 DNA (eDNA) 技术的鱼类监测研究综述

| 研究水域 Research waters | 采集水样体积 Sampling volume of water sample/L | 滤膜孔径 Pore size of the filter membrane/ μm | 方法论 Methodology | | | 优缺点 Advantage and disadvantage | | 参考文献 Reference |
|-------------------------|---|---|---|----------------------------------|----------------|---|---|-------------------|
| | | | 滤膜材质 Material of the filter membrane | 提取方法 Isolation methods | 引物 Primer | 物种注释参考数据库 Species notes reference database | 优点 Advantage | |
| 长江中下游 | 2 | 0.45 | — | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | 线粒体细胞色素 B 筒并引物 | — | 成本低、效率高;适用于监测种群密度低且样本采集困难的物种;对脆弱生态系统的干扰和对目标物种的伤害极低 | [13] |
| 长江中下游 | 2 | 0.45 | 聚醚砜膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | 线粒体细胞色素 B 筒并引物 | — | 高效灵敏;对目标物种和生态环境的影响极低;分析流程标准化;可突出群落中的优势类群;对濒危物种的敏感度高 | [14] |
| 长江上游 | 2 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | Teleo | NCBI, MitoFish | 灵敏度和标准化程度高;种类鉴别准确;操作简单 | [15] |
| 三峡水库 | 1 | 0.22 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | MiFish | NCBI, MitoFish | 成本低;对鱼类及其生境无损害;检出率高 | [16] |
| 长江上游 | 2 | 0.45 | 聚四氟乙烯膜 | Omega Tissue DNA Kit | MiFish | 自建数据库 | 更容易检测到传统方法很难捕获的低丰度物种 | [17] |
| 长江上游 | 2 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | Tele02 | NCBI | 准确率高 | [18] |
| 长江上游 | 2 | 0.45 | 硝酸纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | Tele02 | NCBI | 灵敏度高 | [19] |
| 嘉陵江下游 | 2 | 0.45 | 硝酸纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | Tele02 | 本地数据库 | 可检出稀有物种或隐蔽物种 | [20] |
| 赤水河 | 2 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | AcMDB07 | 自建数据库 | 经济高效;对采样生境及对象无破坏和损伤;对珍稀特有和外来入侵物种的敏感度高 | [21] |
| 赤水河 | 1 | 0.22 | 聚乙烯膜 | Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit | MiFish | NCBI, MitoFish | 无损伤、灵敏高效、覆盖面积大;不需要专门的设备或特定的观察时间也能调查出体积小、数量少的物种 | [22] |
| 乌江 | 2 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | CO I | 本地数据库 | 高效、非侵入性且易于标准化操作;检出率高 | [23] |

续表

| 研究水域 Research waters | 方法论 Methodology | | | | | 优缺点 Advantage and disadvantage | | 参考文献 Reference | |
|-------------------------|---|---|---|----------------------------------|--------------|---|--|--|---------------------------------------|
| | 采集水样体积 Sampling volume of water sample/L | 滤膜孔径 Pore size of the filter membrane/ μm | 滤膜材质 Material of the filter membrane | 提取方法 Isolation methods | 引物 Primer | 物种注释参考数据库 Species notes reference database | 优点 Advantage | | 缺点和局限性 Disadvantage and limitation |
| 汉江上游 | 2 | 0.45 | 混合纤维素膜 | — | — | — | 非破坏性采样;无采样限制;高效便捷 | 受 eDNA 转移的影响,检测结果可能出现假阳性 | [24] |
| 赣江下游 | 2 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit | Tele02 | — | 检出率和灵敏度高 | 部分鱼类未检测到 | [25] |
| 雅砻江锦屏一级库区 | 1 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Omega Soil DNA Kit | Tele02 | 自建数据库 | 灵敏度高,成本低,受环境制约程度低 | 检测结果可能具有偏见性 | [26] |
| 秦淮河 | 3 | 0.22 | — | PowerSoil DNA Kit | 12S rRNA | NCBI | 时间和人力成本低,不需要专业的形态学鉴定人员;检出率高 | — | [27] |
| 长江口 | 1 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit | MiFish | — | 对生态系统的干扰极小;调查周期短 | 通用引物对同源物种的区分度不够;参考数据库的完整性和准确性不足 | [28] |
| 澜沧江梯级库区 | 5 | 0.70 | 玻璃纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | MiFish | NCBI | 检出率和灵敏度高 | eDNA 的降解速率受多种因素影响 | [32] |
| 太湖 | 1 | 1.20 | — | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | 12S rRNA | 自建数据库 | 检出率高;对稀有物种、入侵物种、不常见物种灵敏度高;总成本低;对生境的破坏小 | 引物有偏好性;eDNA 的季节性变化会影响监测结果;无法实现鱼类的绝对定量;在大型和复杂的水体中,采集的水样中可能没有目标物种 DNA | [57] |
| 六冲河 | 2.5 | 0.45 | 硝酸纤维素膜 | Omega Soil DNA Kit | MiFish | NCBI, MitoFish | 半衰期短,灵敏度高,成本低,无损伤;能快速检出入侵物种、濒危种及稀有种;受气候条件影响较小;检出率高 | 养殖用水会导致结果中出现非该流域的种类 | [58] |
| 秦岭南北两麓 | 5 | 0.22 | — | Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit | MiFish | 本地数据库 | 高效,灵敏,非侵入性;可监测濒危鱼类;不受物种各生活史时期的限制 | — | [59] |
| 抚仙湖、阳宗海、滇池、星云湖 | 20 | 0.45 | — | Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit | MiFish | NCBI | 效率高,成本低;可监测濒危鱼类 | 不能完全匹配到明确的种 | [60] |
| 洱海 | 2 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | 12S rRNA | 本地数据库 | 非破坏性采样,便捷高效,成本低;灵敏度高 | eDNA 产生、降解及移动过程受诸多环境因素的影响;无法获取目标物种的种群数量、年龄结构、生理状态和生长发育阶段等相关信息;参考数据库不完整 | [61] |

续表

| 研究水域 Research waters | 方法论 Methodology | | | | | 优缺点 Advantage and disadvantage | | 参考文献 Reference | |
|----------------------------|---|--|--|---|--------------|--|---|--|---------------------------------------|
| | 采集水样体积 Sampling volume of water sample/L | 滤膜孔径 Pore size of the filter membrane/ μm | 滤膜材质 Material of the filter membrane | 提取方法 Isolation methods | 引物 Primer | 物种注释参考数 Species notes reference database | 优点 Advantage | | 缺点和局限性 Disadvantage and limitation |
| 北京地区 | 1 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit | 12S rRNA | NCBI | 快速高效、灵敏度高 | — | [62] |
| 邵伯湖 | 2 | 0.22 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | 12S rRNA | NCBI | 采样过程简单,人力与时间成本低,对生境和鱼体无破坏,可应用于难以用捕捞法监测的水域;减少了物种鉴定中的主观差异;对不易捕获或稀有物种的灵敏度高 | 缺乏技术规范;少数近缘物种难以区分;无法反映鱼类的生理状态、生长发育阶段等生物学特征 | [63] |
| 珠江中下游 | 2 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy PowerWater Kit | mCOLintF | 自建数据库 | 检测效率高、灵敏度和成本效益高 | 部分传统调查中的优势种类未检出;由于检测概率、物种的稀有性和采集强度的影响,对物种多样性的评估可能受到限制;数据库缺少目标物种序列时会导致假阴性检测 | [64] |
| 太湖 | 2 | 0.45 | 混合纤维素膜 | TIANamp Soil DNA Kit | 12S rRNA | NCBI | 在不破坏生态环境的同时可实现生物快速监测;可发现传统监测中未捕获的鱼类 | 无法实现绝对定量 | [65] |
| 千岛湖 | 2 | 0.22 | 混合纤维素膜 | MPBio Fast DNA Spin Kit | 12S rRN | 自建数据库 | 灵敏度和监测效率高 | 不同引物对鱼类物种的覆盖范围和分辨率不同;数据库不完整 | [66] |
| 东平湖 | 1 | 0.45 | — | E.Z.N.A. TM Mag- Bind Soil DNA Kit | MiFish | NCBI | 可监测个体小、难捕获及数量少的鱼类;对目标物种及其生境友好 | 无法判断目标物种的生理状态、年龄结构以及种群大小等;eDNA的存留时间有限,影响其降解的因素较复杂 | [67] |
| 黄河 | 1 | 0.22 | 聚碳酸酯膜 | Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit | MiFish | NCBI, Mitofish | 显著提高了分类分辨率 | — | [68] |
| 黄河兰州段 | 0.5 | 0.45 | 硝酸纤维素膜 | Omegra Soil DNA Kit | MiFish | NCBI | 调查结果更全面 | 生物和非生物因素、地理位置、环境因子、DNA 片段长短、数据库生物信息完整度及精度都会影响结果 | [69] |
| 雁栖湖 | 1 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit | 12S rRNA | NCBI | 准确性高 | 数据库不完整 | [70] |
| 高君溪和成屏 水库 | 3 | 0.45 | 混合纤维素膜 | 磁珠法 | 12S rRNA | NCBI、本地数据库 | 检出率高 | 缺乏确定群落物种丰富度的实质性证据 | [71] |
| 红枫湖 | 2 | 0.45 | 混合纤维素膜 | Omegra Water DNA Kit | Tele02 | — | — | 数据库不完整 | [72] |

NCBI: 美国国家生物技术信息中心数据库 National Center for Biotechnology Information; —: 未研究 no study.

致这类鱼种无法被准确注释^[14,28,61,64,66,69-70,72]。综上,研究基于 eDNA 技术对綦江鱼类多样性的调查结果基本可信,但不可否认的是,目前 eDNA 技术应用于我国内陆水域鱼类资源调查过程中仍具有诸多缺点和局限。因此,在现有研究基础和背景条件下,在我国内陆水域,包括长江水系鱼类物种监测中,如果用于物种注释的本地鱼种数据库已根据传统渔业资源调查结果进行了充分补充和完善,采用 eDNA 技术进行鱼种调查基本可行,且应适当增加 eDNA 的采集次数(例如每个季度或逐月采样),能够得到更全面的检测结果;否则,应将 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法进行适当结合,进而有效提高调查结果的全面性与可信度。

4 结论

综上所述,研究运用 eDNA 技术在綦江共检测出鱼类 6 科 49 属 59 种,其中包含 12 种珍稀特有鱼类,59 种鱼类中以鲤形目为主,约占总数的 69.49%。通过传统渔业资源调查方法历史上在綦江共监测到鱼类 7 目 17 科 64 属 92 种。综合两种方法的监测结果,綦江共有鱼类 96 种,且两种方法共同监测到的鱼种共 55 种,约占鱼种总数的 57.29%。由于受到梯级水坝蓄水运行的不利影响,研究基于 eDNA 技术的鱼类监测结果表明綦江不同区段的鱼类物种多样性、各采样点与全流域间的鱼类物种相似性均呈现出自下游至上游阶梯式降低的趋势。此外,多个梯级水坝造成的这一影响较单个水坝更加严重,同时梯级水坝对喜流水和洄游性鱼类,以及底层鱼类具有较明显的阻隔效应,且上述鱼种多属长江上游珍稀特有鱼类。在现有研究基础和背景条件下,如果用于物种注释的本地鱼种数据库已充分完善,将 eDNA 技术应用于长江水系的鱼类监测总体可行;否则,应将 eDNA 技术与传统渔业资源调查方法进行适当结合以得到更为全面、可信的调查结果。

参考文献(References):

- [1] 李思发. 长江重要鱼类生物多样性和保护研究. 上海: 上海科学技术出版社, 2001.
- [2] 郝雅宾, 张爱菊, 刘金殿, 顾志敏. 环境 DNA 技术在鱼类资源研究中的应用. 生物技术通报, 2018, 34(12): 56-62.
- [3] Knudsen S W, Ebert R B, Hesselsoe M, Kuntke F, Hassingboe J, Mortensen P B, Thomsen P F, Sigsgaard E E, Hansen B K, Nielsen E E, Møller P R. Species-specific detection and quantification of environmental DNA from marine fishes in the Baltic Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2019, 510: 31-45.
- [4] MacKenzie D I, Nichols J D, Sutton N, Kawanishi K, Bailey L L. Improving inferences in population studies of rare species that are detected imperfectly. *Ecology*, 2005, 86(5): 1101-1113.
- [5] Evans N T, Lamberti G A. Freshwater fisheries assessment using environmental DNA: a primer on the method, its potential, and shortcomings as a conservation tool. *Fisheries Research*, 2018, 197: 60-66.
- [6] Rondon M R, August P R, Bettermann A D, Brady S F, Grossman T H, Liles M R, Loiacono K A, Lynch B A, MacNeil I A, Minor C, Tiong C L, Gilman M, Osburne M S, Clardy J, Handelsman J, Goodman R M. Cloning the soil metagenome: a strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(6): 2541-2547.
- [7] Ficetola G F, Miaud C, Pompanon F, Taberlet P. Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters*, 2008, 4(4): 423-425.
- [8] 沈梅, 肖能文, 卢林, 罗遵兰, 史娜娜, 孙光. 环境 DNA 技术及在鱼类监测中的应用. *水生态学杂志*, 2022, 43(2): 133-141.
- [9] Bohmann K, Evans A, Gilbert M T, Carvalho G R, Creer S, Knapp M, Yu D W, de Bruyn M. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution*, 2014, 29(6): 358-367.
- [10] 高养春, 李海涛, 王孝程, 孙艺, 战爱斌, Aileen TAN Shau-Hwai, 李宏俊. 利用宏 DNA 条形码研究浮游动物多样性——以鸭绿江口为例. *生态学报*, 2020, 40(11): 3822-3832.
- [11] 蒋佩文, 李敏, 张帅, 陈作志, 徐姗姗. 基于线粒体 COI 和 12S rDNA 基因构建珠江河口鱼类 DNA 宏条形码数据库. *南方水产科学*, 2022, 18(3): 13-21.
- [12] 赵明, 赵梦迪, 马春艳, 张凤英, 蒋科技, 王田, 马凌波. 环境 DNA 在水域生态中的研究进展. *中国水产科学*, 2018, 25(4): 714-720.
- [13] 徐念, 常剑波. 长江中下游干流环境 DNA 样本鱼类物种检测的初步研究. *水生态学杂志*, 2016, 37(5): 49-55.
- [14] 徐念, 熊美华, 邵科, 阙延福, 李键庸. 长江中下游环境 DNA 宏条形码生物多样性检测技术初步研究. *环境科学研究*, 2020, 33(5): 1187-1196.
- [15] 王梦, 杨鑫, 王维, 段聪, 刘智皓, 陈启亮, 李英文, 沈彦君. 基于 eDNA 技术的长江上游珍稀特有鱼类国家级自然保护区重庆段鱼类多

- 样性研究. 水生生物学报, 2022, 46(1): 2-16.
- [16] 舒政博. 基于环境 DNA 宏条形码的三峡水库变动回水区鱼类多样性研究[D]. 重庆: 重庆交通大学, 2024.
- [17] 董智玲, 陈莎莎, 吕宏森, 张连博, 姚维志, 何文平. 基于环境 DNA 技术的长江上游重庆市江北段鱼类多样性研究. 生态毒理学报, 2023, 18(6): 1-15.
- [18] Cheng R L, Luo Y, Li Q H, Zhang Y F, Liu Z H, Chen Q L, Li Y W, Shen Y J. Application of eDNA metabarcoding for monitoring the fish diversity of the Jiangjin to Fuling section of the upper reaches of the Yangtze River. *Hydrobiologia*, 2023, 850(19): 4067-4088.
- [19] Shen Y J, Zhang Y F, Cheng R L, Wang W, Duan C, Liu Z H, Chen Q L, Li Y W, Wang M, Luo Y. Diversity and spatiotemporal dynamics of fish communities in the Chongqing section of the Upper Yangtze River based on eDNA metabarcoding. *Ecology and Evolution*, 2023, 13(11): e10681.
- [20] 林佳艳. 基于环境 DNA 宏条形码技术的嘉陵江下游鱼类多样性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2022.
- [21] 王月. 赤水河鱼类环境 DNA 宏条形码参考数据库的构建及应用[D]. 大连: 大连海洋大学, 2022.
- [22] 郭宁宁, 沈梅, 肖能文, 高晓奇, 郭晓晨, 李俊生. 基于环境 DNA 技术的赤水河秋季鱼类多样性分布特征. 生态学报, 2023, 43(4): 1676-1690.
- [23] 程如丽, 罗杨, 张玉凤, 李清华, 王梦, 张钰, 李英文, 沈彦君. 基于环境 DNA 技术的乌江干流梯级水电库区的鱼类多样性. 水产学报, 2023: 1-19. (2023-04-13). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.S.20230412.1705.006.html>.
- [24] 丁洋, 李艳艳, 赵进勇, 彭文启, 张晶, 任锦豪. 基于环境 DNA 宏条形码的汉江上游黄金峡段鱼类多样性研究. 北京大学学报: 自然科学版, 2024, 60(1): 157-164.
- [25] 周春花, 王蓉蓉, 王生, 郭婷, 欧阳珊, 吴小平. 基于环境 DNA 宏条形码技术的赣江下游(南昌段)鱼类多样性. 湖泊科学, 2023, 35(4): 1423-1440.
- [26] 廖敏. 雅砻江锦屏一级库区鱼类夏秋季分布格局与环境因子关系初步研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2022.
- [27] 王晨, 陶孟, 李爱民, 施鹏, 杨江华, 王志浩, 张效伟. 基于环境 DNA 宏条形码技术的秦准河生物多样性研究. 生态学报, 2022, 42(2): 611-624.
- [28] 王汝贤, 杨刚, 耿智, 赵峰, 冯雪松, 张涛. 环境 DNA 技术在长江口鱼类多样性分析中的应用. 水生生物学报, 2023, 47(3): 365-375.
- [29] 朱道清. 中国水系辞典. 2 版. 青岛: 青岛出版社, 2007.
- [30] 李陈. 长江上游梯级水电开发对鱼类生物多样性影响的初探[D]. 武汉: 华中科技大学, 2012.
- [31] 曹文宣. 长江上游水梯级开发的水域生态修复问题. 长江技术经济, 2019, 3(2): 5-10.
- [32] 陈美玲. 澜沧江梯级库区环境梯度对鱼类分布的影响及其机制[D]. 昆明: 云南大学, 2021.
- [33] 杨志. 长江上游干流梯级水电开发对鱼类群落的影响研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- [34] Cheng F, Li W, Castello L, Murphy B R, Xie S G. Potential effects of dam cascade on fish: lessons from the Yangtze River. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2015, 25(3): 569-585.
- [35] Cooper A R, Infante D M, Daniel W M, Wehrly K E, Wang L Z, Brenden T O. Assessment of dam effects on streams and fish assemblages of the conterminous USA. *The Science of the Total Environment*, 2017, 586: 879-889.
- [36] Ticiani D, Larentis C, de Carvalho D R, Ribeiro A C, Delariva R L. Dam cascade in Run-of-river systems promotes homogenisation of fish functional traits in a plateau river. *Ecology of Freshwater Fish*, 2023, 32(1): 147-165.
- [37] Freitas C E, de Almeida Mereles M, Pereira D V, Siqueira-Souza F, Hurd L, Kahn J, Morais G, Sousa R G C. Death by a thousand cuts: small local dams can produce large regional impacts in the Brazilian Legal Amazon. *Environmental Science & Policy*, 2022, 136: 447-452.
- [38] Miya M, Sato Y, Fukunaga T, Sado T, Poulsen J Y, Sato K, Minamoto T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Kondoh M, Iwasaki W. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, 2015, 2(7): 150088.
- [39] Mysara M, Njima M, Leys N, Raes J, Monsieurs P. From reads to operational taxonomic units: an ensemble processing pipeline for MiSeq amplicon sequencing data. *GigaScience*, 2017, 6(2): giw017.
- [40] 张春光, 邢迎春, 赵亚辉, 周伟, 唐文乔. 中国内陆鱼类物种与分布. 北京: 科学出版社, 2016.
- [41] 成庆泰, 郑葆珊. 中国鱼类系统检索. 北京: 科学出版社, 1987.
- [42] 乐佩琦. 中国动物志-下卷-硬骨鱼纲, 鲤形目: 硬骨鱼纲 鲤形目. 北京: 科学出版社, 2000.
- [43] 丁瑞华. 四川鱼类志. 成都: 四川科学技术出版社, 1994.
- [44] 湖北省水生生物研究所鱼类研究室. 长江鱼类. 北京: 科学出版社, 1976.
- [45] 伍律. 贵州鱼类志. 贵阳: 贵州人民出版社, 1989.
- [46] 危起伟. 长江上游珍稀特有鱼类国家级自然保护区科学考察报告. 北京: 科学出版社, 2012.
- [47] 蒋志刚, 纪力强. 鸟兽物种多样性测度的 G-F 指数方法. 生物多样性, 1999, 7(3): 61-66.

- [48] 付贵权, 秦涛, 陈小勇, 雷春云, 李光华. 澜沧江西双版纳段鱼类组成和物种多样性. 生态学报, 2021, 41(24): 9557-9573.
- [49] 刘毅, 林小涛, 孙军, 张鹏飞, 陈国柱. 东江下游惠州河段鱼类群落组成变化特征. 动物学杂志, 2011, 46(2): 1-11.
- [50] 陈国柱, 仇玉萍, 李丽萍. 塔里木盆地鱼类入侵及区系演变趋势. 生态学报, 2017, 37(2): 700-714.
- [51] 贵州省地方志编纂委员会. 贵州省志-上册-地理志. 贵阳: 贵州人民出版社, 1985.
- [52] Vannote R L, Minshall G W, Cummins K W, Sedell J R, Cushing C E. The river continuum concept. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1980, 37(1): 130-137.
- [53] 储玲, 王文剑, 闫莉莉, 严云志, 朱仁, 司春. 黄山陈村水库上游河源溪流的鱼类群落及其纵向梯度格局. 生态学报, 2015, 35(3): 900-910.
- [54] 陈兵, 孟雪晨, 张东, 储玲, 严云志. 河流鱼类分类群和功能群的纵向梯度格局——以新安江流域为例. 生态学报, 2019, 39(15): 5730-5745.
- [55] Nilsson C, Reidy C A, Dynesius M, Revenga C. Fragmentation and flow regulation of the world's large river systems. Science, 2005, 308(5720): 405-408.
- [56] Dias R M, de Oliveira A G, Baumgartner M T, Angulo-Valencia M A, Agostinho A A. Functional erosion and trait loss in fish assemblages from Neotropical Reservoirs: the man beyond the environment. Fish and Fisheries, 2021, 22(2): 377-390.
- [57] 高旭. 太湖鱼类环境 DNA 宏条形码快速监测技术应用研究[D]. 南京: 南京大学, 2020.
- [58] 陈云川. 环境 DNA 技术在六冲河上游鱼类资源调查中的应用研究[D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- [59] 陈锦孝. 基于环境 DNA 高通量条形码技术的秦岭南北两麓鱼类物种组成及多样性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
- [60] 罗加山. 利用环境 DNA 探究滇中高原湖泊的鱼类多样性[D]. 昆明: 云南大学, 2019.
- [61] 舒璐, 林佳艳, 徐源, 曹特, 封吉猛, 彭作刚. 基于环境 DNA 宏条形码的洱海鱼类多样性研究. 水生生物学报, 2020, 44(5): 1080-1086.
- [62] 刘波, 王浩, 秦斌, 范仲儒, 熊薇, 陈义永. 基于环境 DNA 宏条形码技术的北京地区鱼类多样性调查和外来鱼种入侵风险评估. 生物安全学报, 2021, 30(3): 220-229.
- [63] 唐晟凯, 刘燕山, 王华, 李大命, 张彤晴, 孙晶莹, 许飞, 王志浩. 环境 DNA 技术在邵伯湖鱼类资源监测中的应用. 水产科学, 2022, 41(6): 1007-1016.
- [64] 朱书礼, 陈蔚涛, 武智, 夏雨果, 杨计平, 李跃飞, 李捷. 基于环境 DNA 技术的珠江中下游鱼类多样性初步研究. 南方水产科学, 2024, 20(1): 120-129.
- [65] 刘燕山, 孙晶莹, 朱明胜, 李大命, 唐晟凯, 钟立强, 张增, 王超群, 沈冬冬. 基于 eDNA 技术的太湖鱼类多样性调查. 生态毒理学报, 2023, 18(6): 16-26.
- [66] 周严, 童璐, 胡文静, 李志力, 郝雷, 刘其根, 胡忠军. 淡水鱼类环境 DNA 宏条形码引物的筛选及其在千岛湖的应用. 湖泊科学, 2024, 36(1): 187-199.
- [67] 仝亚东, 匡箴, 刘鹏飞, 梁翼东, 凡迎春, 徐东坡. 基于环境 DNA 技术的东平湖鱼类多样性研究. 中国水产科学, 2023, 30(12): 1530-1542.
- [68] Gu S S, Deng Y, Wang P Y, Li C H, Shi D J, Wang S P. Assessing riverine fish community diversity and stability by eDNA metabarcoding. Ecological Indicators, 2023, 157: 111222.
- [69] 葛玉双. 基于环境 DNA 技术的黄河兰州河段鱼类多样性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- [70] 高婉茹, 李雪健, 席蕊, 邢迎春, 赵亚辉. 基于环境 DNA 方法的北京雁栖湖鱼类调查. 中国水产, 2022(8): 76-80.
- [71] 颀志刚, 阮高. 环境 DNA 宏条形码技术应用于溪流和水库鱼类物种多样性监测的敏感性和有效性评估. 中国农学通报, 2023, 39(6): 157-164.
- [72] 许龙飞, 姚邓雕, 郭星辰, 杨原伟, 李君轶, 姜海波, 安苗, 邵俭. 基于环境 DNA 宏条形码的红枫湖鱼类多样性研究. 水产学杂志, 2023, 36(4): 1-7.