

基于环境 DNA 技术的乌江干流梯级水电站库区的鱼类多样性

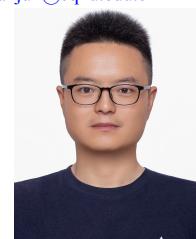


程如丽, 罗杨, 张玉凤, 李清华, 王梦,
张钰, 李英文, 沈彦君^{*}
重庆师范大学, 水生态健康与环境安全实验室, 重庆 401331

第一作者: 程如丽, 从事水生生物学研究, E-mail: 840754633@qq.com



通信作者: 沈彦君, 博士、硕士生导师。从事水生生物多样性保护、生物适应性演化过程和机制等研究。主持国家自然科学基金项目1项、重庆市自然科学基金项目2项、重庆市教委科技项目2项, E-mail : shenyanjun@cqnu.edu.cn



资助项目: 国家自然科学基金(32202939); 重庆市自然科学基金(CSTB2022NSCQ-MSX0793)

收稿日期: 2022-03-20
修回日期: 2022-12-30

文章编号:
1000-0615(2025)03-039310-18
中图分类号: S 931.3
文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)

关键词: 鱼类多样性; 梯级水电站; 环境 DNA; 乌江干流

鱼类作为水生态系统中至关重要的一部分, 其多样性不仅是生物多样性的重要组成部分, 也可作为水生态系统健康监测的一个关键性指标^[1-2]。传统的渔业资源调查大多以捕捞为主, 不仅成本高、费时费力, 还会对鱼类个体甚至生态系统造成一定伤害^[3]。同时, 其调查结果的准确性还依赖于捕捞网具的选择以及调查者完备的专业分类知识^[4]。此外, 在传统方法调查过程中, 部分鱼类由于数量较少或隐蔽性较高而很难被发现^[5]。环境 DNA 宏条形码 (environmental DNA metabarcoding, eDNA metabarcoding) 技术作为一种高效、非侵入性且易于标准化操作的物种检测方式, 最早于 1987 年提出^[6], 该技术可以直接从环境样本 (土壤、沉积物、水等) 中获得遗传物质, 很大程度上弥补了传统方式的种种不足^[7]。在对鱼类和两栖类的检测中, 环境 DNA 的检出率普遍比传统方式更高^[8], 如陈云川^[9]发现环境 DNA 技



术在六冲河各采样点的鱼类检测中周年检出率及全流域检出率均高于传统方法。但环境 DNA 技术也存在诸多局限, 例如环境 DNA 易受环境因素影响, 该技术的结果容易出现假阳性或假阴性等^[10-11]。

自 2008 年研究者利用环境 DNA 技术首次在池塘中监测到入侵种美洲牛蛙 (*Rana catesbeiana*) 后^[12], 目前该技术已被广泛应用于生态学研究中, 尤其在生物多样性监测方面应用极其广泛。例如, 基于环境 DNA 技术在长江中下游检测到 15 种鱼类^[13]; 在长江流域共检出 75 种鱼类^[14]; 在洱海检出 17 种鱼类, 其中土著种 5 种、外来种 12 种^[15]; 余玥^[16]利用 MiFish 鱼类通用引物在乐清湾 20 个海水样本中共检出 66 种鱼类; Zhang 等^[17]使用环境 DNA 方法调查了北京 109 个水体的鱼类群落, 鉴定出 52 种土著鱼类和 23 种外来鱼类。近年来随着环境 DNA 技术的发展, 该技术已成为生物多样性检测的有力工具, 在生态学应用方面拥有巨大潜能。

乌江是长江上游南岸的最大支流, 位于 $104^{\circ}18' \sim 109^{\circ}22'E$, $26^{\circ}07' \sim 30^{\circ}22'N$, 发源于乌蒙山麓, 流经云、贵、渝、鄂四省市, 于重庆市涪陵区汇入长江^[18-19], 干流全长 1 037 km, 流域内人文地理、自然景观和生物多样性丰富^[20], 是国家生态文明建设和长江大保护的重要区域之一。乌江也是我国 13 个大水电基地之一^[21], 自 1970 年乌江渡水电站兴建至今, 乌江干流梯级水电已开发至 11 级。据历史资料记载, 乌江渔业资源极其丰富, 据不完全统计, 共有鱼类 193 种, 隶属于 7 目 22 科 100 属, 其中不乏中华鲟 (*Acipenser sinensis*)、岩原鲤 (*Procypris rabora*) 以及胭脂鱼 (*Myxocyprinus asiaticus*) 等国家级保护鱼类^[20, 22-27]。但长期以来, 乌江干流梯级水电站开发导致的生境片段化和水文情势的改变已经不可避免地对乌江流域鱼类资源造成了严重影响^[22, 27]。鱼类物种资源量急剧下降, 如白甲鱼 (*Onychostoma sima*)、中华倒刺鲃 (*Spinibarbus sinensis*)、裂腹鱼类等一些短距离洄游性鱼类的栖息环境被改变, 它们的生存空间被片段化, 涠游通道被阻隔, 导致这些物种衰退甚至消失^[28]。因此, 亟需了解当前乌江流域鱼类资源现状, 采取合理的措施减少由水利工程所带来的不利影响, 以便进一步保护乌江流域的鱼类多样性。

随着《中华人民共和国长江保护法》的颁

布和“长江十年禁渔”实施, 长江流域的生态环境正在逐渐改善, 但传统的渔业资源调查方法也受到了更大的局限。在“长江大保护”的背景下, 渔业资源调查需要联合新的辅助方式进行。而且乌江干流较为全面的渔业资源数据年限较远, 近年的数据大多集中在乌江干流的中下游, 不能全面反映乌江干流现有水电开发背景下的鱼类种类组成及物种多样性变化情况。鉴于此, 本研究利用环境 DNA 技术于 2021 年 7 月对乌江干流各水电站库区的鱼类种类组成进行了调查, 一方面为探测环境 DNA 技术的适用效果, 另一方面初步了解目前乌江各库区的渔业资源现状, 以便后期为乌江干流鱼类多样性的保护提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 采样区的设置

由于乌江干流被梯级水电大坝分割成 12 个相互隔离的区域, 因此实验将乌江干流分为 12 个江段 (图 1), 分别为普定 (PD)、引子渡 (YZD)、洪家渡 (HJD)、东风 (DF)、索风营 (SFY)、乌江渡 (WJD)、构皮滩 (GPT)、思林 (SL)、沙陀 (ST)、彭水 (PS) 和银盘 (YP) 库区以及涪陵 (FL) 入江段。设置为 12 个采样区, 每个采样区设置 3~4 个采样点。

1.2 采样方法及处理

本研究于 2021 年 7 月底在各采样点用采水器取江段左、中、右断面以及上、中、下水层的混合水样 2 L 或 3 L (若一个采样区有 3 个采样点, 则每个采样点取 3 L 水样; 若一个采样区有 4 个采样点, 则每个采样点取 2 L 水样)。为防止外源 DNA 污染, 在进行不同采样区的水样采集之前用 10% 的漂白粉溶液冲洗所有器具和采样瓶, 并更换一次性手套^[29]。之后将同一个采样区不同采样点的水样混匀, 取水样 6 L 分装为 3 个平行样 ($n=3$), 每个平行样收集 2 L 水样, 共 36 个样本。为防止 DNA 的降解, 采集的水样立即储存于冷藏环境下, 在 24 h 内用真空泵抽滤到 0.45 μm 的混合纤维素滤膜 (Whatman, 英国) 上。若水样含有较多的泥沙, 则在采集水样时用无菌的医用纱布先进行预过滤再收集^[30]。每个样品进行抽滤前对所有过滤器具等进行消毒, 避免样品间交叉污染。同时在抽滤时用蒸馏水设置阴性对照^[17]。最后将滤

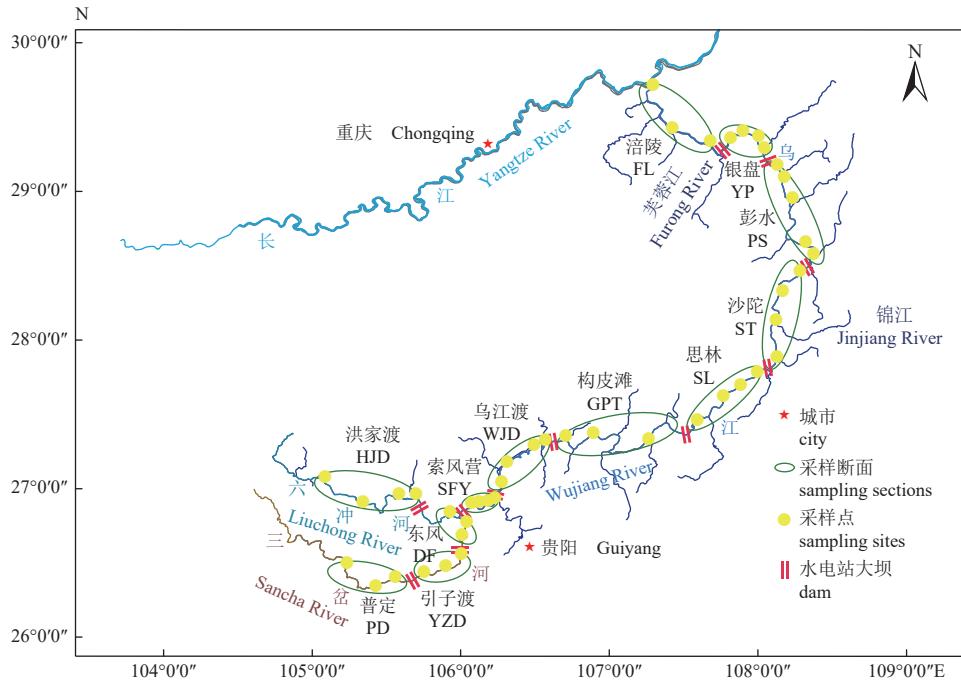


图 1 乌江干流采样点分布图

Fig. 1 Distribution map of sampling points in the main stream of the Wujiang River

膜置于 -80°C 冷冻保存, 用于下一步DNA提取。

使用PowerWater DNA Isolation Kits试剂盒按照说明书提取滤膜中的总DNA。之后用1%的凝胶电泳检测提取到的环境DNA质量^[31]。每个样品独立提取, 同步设置空白滤膜作为阴性对照。最后将提取的DNA样品置于 -20°C 下保存, 用于下一步PCR扩增。

本研究选用线粒体基因CO I位点的通用引物对样品进行扩增^[32]。20 μL的TransStart FastPfu DNA Polymerase扩增体系包含4 μL 5×FastPfu Buffer、2 μL dNTPs、0.4 μL FastPfu Polymerase、1~2 μL模板DNA(10 ng/μL)和上下游引物各0.8 μL(10 μmol/L), 最后用ddH₂O将体系补至20 μL。PCR反应条件: 5 min 95 °C预变性, 30 s 95 °C变性, 30 s 55 °C退火, 45 s 72 °C延伸, 以及10 min 72 °C终延伸, 最后于10 °C保存(变性-延伸-退火为35个循环)。用ddH₂O为模板进行PCR阴性对照, 以此评判PCR扩增过程中是否出现污染。每份样品重复3次PCR扩增过程, 并将同一样品的PCR产物混匀后, 用2%的琼脂糖凝胶电泳检测^[33]。在本研究中, 36个样品电泳均获得了目的条带, 长度约为300 bp, 而阴性对照均无目的条带。最后经纯化的PCR产物送至上海凌恩生物科技有限公司, 通过Illumina NovaSeq 6000测序平

台进行高通量测序。实验过程中操作人员严格遵守实验动物福利伦理国家标准, 并按照重庆师范大学伦理委员会制定的规章制度执行。

1.3 环境因子的测定

采集水样的同时, 采用便携式水质检测仪现场测定水温和溶解氧, 用便携式pH计现场测定pH, 海拔高度用GPS设备定位测量。

1.4 历史数据整理以及本地参考数据库建立

历史数据来源于乌江流域鱼类资源调查的历史文献(2001—2019年)以及地方鱼类志(1989和1994年)^[20, 22-27]; 本地参考数据库构建基于前期已公布的长江鱼类DNA条形码数据^[33-34]以及NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)和BOLD(<http://www.boldsystems.org/>)数据库截至目前最新的长江流域鱼类的CO I序列整合而成。该数据库包括了乌江历史资料中具有CO I序列的154种鱼类。

1.5 生物信息学、鱼类组成及多样性分析

Illumina PE250测序序列首先根据barcode得到所有样品的有效序列, 之后进行质控过滤、拼接(根据PE reads之间的overlap关系, 将成对的reads拼接成一条序列), 最后按照barcode和引物序列拆分得到每个样本的优质序

列, 并在过程中根据正反 barcode 和引物方向校正序列方向, 用 Usearch 软件和 gold 数据库, 采用 de novo 和 reference 结合的方式去除嵌合体。将相似性 $\geq 97\%$ 的序列进行 OTU 聚类分析后与本地参考数据库进行比对、分类注释, 其中物种组成 OTU 按相似度 $\geq 97\%$ 、e 值 $\leq 10^{-5}$ 的标准筛选对比至鱼类物种, 之后基于物种序列丰度 $\geq 1\%$ 进行制图分析。

本研究以各采样区物种组成情况及其序列丰度为基础, 进行物种组成、Alpha 多样性、Beta 多样性以及环境因子相关性分析。在 Excel 软件中统计各样本的鱼类组成及其生态类型。Alpha 多样性和 Beta 多样性基于物种序列丰度进行分析, Alpha 多样性反映样本内的结果, Beta 多样性反映样本间的关系。各分析可视化的图表都利用 Excel 或 R 软件进行制作。

2 结果

2.1 鱼类物种组成情况

基于环境 DNA 的鱼类物种组成 本次调查从 36 个样本中均获得了可检测的 PCR 产

物。上机建库测序共获得 83 864 条有效 COI 序列, 按序列相似性 $\geq 97\%$ 聚类后得到 423 个 OTUs, 基于自建数据库的比对注释分析后, 整个乌江干流共检出 32 种淡水鱼类, 隶属于 5 目 9 科 25 属 (表 1)。鲤形目鱼类最多, 占 56.25%, 其次为鲇形目, 占比 21.88%, 然后为鲈形目, 占 15.63%。各梯级水电站库区的鱼类种类组成: 普定水电站库区有 14 种、引子渡水电站库区 19 种、洪家渡水电站库区 22 种、东风水电站库区 22 种、索风营水电站库区 17 种、乌江渡水电站库区 20 种、构皮滩水电站库区 17 种、思林水电站库区 15 种、沙陀水电站库区 18 种、彭水水电站库区 17 种、银盘水电站库区 15 种以及涪陵入江段 20 种。基于各库区序列丰度进行分析, 各库区种水平的物种组成情况显示出不同库区间鱼类组成情况不尽相同 (图 2), 其中大鳍鱲、马口鱼、光泽黄颡鱼、尼罗罗非鱼、子陵吻虾虎鱼和青鱂 6 个物种在各库区均被检测到。同时, 青鱂、大鳍鱲、光泽黄颡鱼和宽鳍鱲在大部分库区均展现出了较高的序列丰度。而贝氏鱲、云南盘鮈、史氏鮈、拟缘鮈、粗唇鮈、波氏吻虾虎鱼和刺鮈 7 个物

表 1 基于环境 DNA 宏条形码在乌江干流 12 个断面检测到的鱼类组成情况表

Tab. 1 Composition of fish detected in 12 sections of the main stream of the Wujiang River based on environmental DNA metabarcoding

编号 serial number	目 order	科 family	属 genus	种 species	栖息流速类型 habitat velocity type	栖息水层类型 habitat aquifer type	各采样区物种组成 species composition of each sample section											
							PD	YZD	HJD	DF	SFY	WJD	GPT	SL	ST	PS	YP	FL
1	鲤形目 Cypriniformes	鲤科 Cyprinidae	鱲属 <i>Acheilognathus</i>	大鳍鱲 <i>A. macropterus</i>	缓静水 semi-lentic water	底栖 benthopelagic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2			鳡属 <i>Elopichthys</i>	鳡 <i>E. bambusa</i>	广适性 eurytopicity	中上层 pelagic		+	+	+	+	+	+			+		+
3			鱲属 <i>Zacco</i>	宽鳍鱲 <i>Z. platypus</i>	流水 flowing water	底栖 benthopelagic	+	+	+	+				+	+	+	+	
4			鮈属 <i>Culter</i>	红鳍鮈 <i>C. erythropterus</i>	缓静水 semi-lentic water	中上层 pelagic			+	+		+					+	
5			鳌属 <i>Hemiculter</i>	鳌 <i>H. leucisculus</i>	缓静水 semi-lentic water	中上层 pelagic			+	+								
6				贝氏鳌 <i>H. bleekeri</i>	缓静水 semi-lentic water	中上层 pelagic				+								+
7		半鲿属 <i>Hemiculterella</i>	半鲿 <i>H. sauvagei</i>	流水 flowing water	中上层 pelagic								+	+			+	
8		似鳊属 <i>Pseudobrama</i>	似鳊 <i>P. simoni</i>	广适性 eurytopicity	中下层 demersal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9		飘鱼属 <i>Pseudolaubuca</i>	寡鳞飘鱼 <i>P. engraulis</i>	广适性 eurytopicity	中上层 pelagic	+			+	+								+
10		银鮈属 <i>Squ alidus</i>	银鮈 <i>S. argentatus</i>	缓静水 demi-lentic water	底栖 benthopelagic			+	+	+				+		+	+	

· 续表 1 ·

编号 serial number	目 order	科 family	属 genus	种 species	栖息流速类型 habitat velocity type	栖息水层类型 habitat aquifer type	各采样区物种组成 species composition of each sample section											
							PD	YZD	HJD	DF	SFY	WJD	GPT	SL	ST	PS	YP	FL
11	鲤形目 Cypriniformes	鲤科 Cyprinidae	草鱼属 <i>Ctenopharyngodon</i>	草鱼 <i>C. idella</i>	广适性 eurytopicity	中下层 demersal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
12			鲫属 <i>Carassius</i>	鲫 <i>C. auratus</i>	广适性 eurytopicity	底栖 benthopelagic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
13			鲢属 <i>Hypophthalmichthys</i>	鲢 <i>H. molitrix</i>	广适性 eurytopicity	中上层 pelagic	+	+				+						
14			鲤属 <i>Cyprinus</i>	鲤 <i>C. carpio</i>	广适性 eurytopicity	中下层 demersal	+	+	+	+	+	+	+					
15			盘𬶋属 <i>Discogobio</i>	云南盘𬶋 <i>D. yunnanensis</i>	缓静水 semi-lentic water	底栖 benthopelagic				+							+	
16			马口鱼属 <i>Opsariichthys</i>	马口鱼 <i>O. bidens</i>	流水 flowing water	中上层 pelagic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
17			泥鳅属 <i>Misgurnus</i>	泥鳅 <i>M. anguillicaudatus</i>	广适性 eurytopicity	底栖 benthopelagic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
18		爬鳅科 Balitoridae	华吸鳅属 <i>Sinogastromyzon</i>	西昌华吸鳅 <i>S. sichangensis</i>	流水 flowing water	底栖 benthopelagic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
19	鲟形目 Acipenseriformes	鲟科 Acipenseridae	鲟属 <i>Acipenser</i>	史氏鲟 <i>A. schrenckii</i> ★	流水 flowing water	底栖 benthopelagic				+								
20	鲇形目 Siluriformes	钝头𬶏科 Amblycipitidae	𬶏属 <i>Liobagrus</i>	黑尾𬶏 ¹ <i>L. nigricauda</i>	流水 flowing water	底栖 benthopelagic	+	+	+	+	+			+		+	+	
21				拟缘𬶏 ¹ <i>L. marginatoides</i>	流水 flowing water	底栖 benthopelagic								+				
22		鲿科 Bagridae	𬶏属 <i>Leiocassis</i>	粗唇𬶏 ¹ <i>P. crassilabris</i>	流水 flowing water	底栖 benthopelagic										+	+	
23			黄颡鱼属 <i>Pelteobagrus</i>	黄颡鱼 ¹ <i>P. fulvidraco</i>	缓静水 semi-lentic water	底栖 benthopelagic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
24				光泽黄颡鱼 ¹ <i>P. nitidus</i>	广适性 eurytopicity	底栖 benthopelagic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
25				长须黄颡鱼 ¹ <i>P. eupogon</i>	缓静水 semi-lentic water	底栖 benthopelagic								+				
26					瓦氏黄颡鱼 ¹ <i>P. vachellii</i>	广适性 eurytopicity	底栖 benthopelagic			+	+			+	+	+	+	
27	鲈形目 Perciformes	丽鱼科 Cichlidae	罗非鱼属 <i>Oreochromis</i>	尼罗罗非鱼 [★] <i>O. niloticus</i> ★	广适性 eurytopicity	底栖 benthopelagic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
28				莫桑比克罗非鱼 ¹ <i>O. mossambicus</i> ★	广适性 eurytopicity	中下层 demersal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
29		虾虎鱼科 Gobiidae	吻虾虎鱼属 <i>Rhinogobius</i>	波氏吻虾虎鱼 ¹ <i>R. cliffordpopei</i>	广适性 eurytopicity	底栖 benthopelagic				+	+							
30				子陵吻虾虎鱼 ¹ <i>R. giurinus</i>	广适性 eurytopicity	底栖 benthopelagic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
31		刺鳅科 Mastacembelidae	刺鳅属 <i>Mastacembelus</i>	刺鳅 ¹ <i>M. aculeatus</i>	广适性 eurytopicity	底栖 benthopelagic											+	
32	鱥形目 Cyprinodontiformes	青鳉科 Cyprinodontidae	青鳉属 <i>Oryzias</i>	青鳉 ¹ <i>O. latipes</i>	缓静水 semi-lentic water	中上层 pelagic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
总计 total	5	9	25	32			14	19	22	22	17	20	17	15	18	17	15	20

注: ★. 外来物种, +. 该物种在该采样区被检出。PD. 普定库区, YZD. 引子渡库区, HJD. 洪家渡库区, DF. 东风库区, SFY. 索风营库区, WJD. 乌江渡库区, GPT. 构皮滩库区, SL. 思林库区, ST. 沙陀库区, PS. 彭水库区, YP. 银盘库区, FL. 泸陵入江段。

Notes: ★. alien species; +. the species was detected in that sampling area; PD. Puding Reservoir, YZD. Yinziyu Reservoir, HJD. Hongjiadu Reservoir, DF. Dongfeng Reservoir, SFY. Suofengying Reservoir, WJD. Wujiangdu Reservoir, GPT. Gupitan Reservoir, SL. Silin Reservoir, ST. Shatuo Reservoir, PS. Pangshui Reservoir, YP. Yimpan Reservoir, FL. Fuling River Inlet.

种仅在个别库区被检测到。

将各库区的鱼类按栖息流速生态类型划分发现, 基于鱼类序列丰度, 不同库区不同流速的占比各不相同, 其中沙沱库区喜流水的鱼类序列丰度占比高达 94.95%, 而东风库区喜流水的鱼类序列丰度仅占 6.65%。各库区的鱼类物种组成较为相似, 都是广适性鱼类占比较高(图 3)。按栖息水层的不同对各库区的鱼类进行划分(图 4), 基于鱼类序列丰度, 大部分库区底栖鱼类占比较多, 中下层的鱼类序列占比较少,

其中沙沱库区的底栖鱼类占比高达 96.84%, 中下层鱼类仅占 0.65%。此外, 各库区基于鱼类物种组成的各水层组成占比相似, 其中底栖性鱼类占比均在 50% 以上。

传统方法的鱼类组成情况

据传统资料记载(表 2), 近年来通过捕捞、走访调查等传统方法监测到乌江流域有鱼类 193 种, 隶属于 7 目 22 科 100 属, 其中包括中华鲟、胭脂鱼和岩原鲤等 15 种国家级保护鱼类。传统资料显示, 乌江干流鱼类组成中鲤形目鲤科鱼类占比最大,

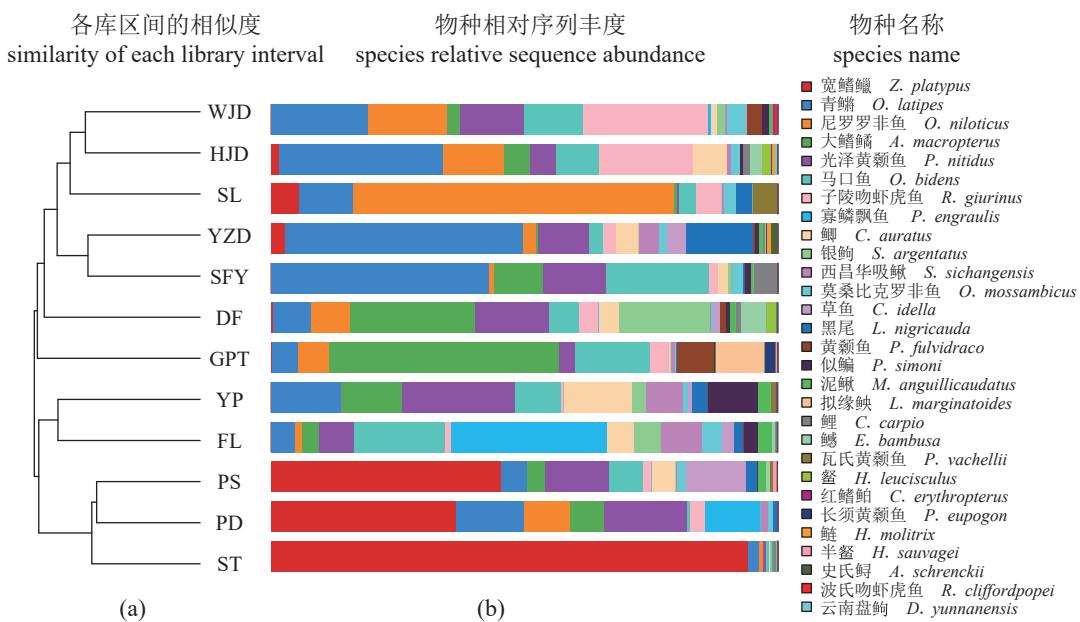


图 2 各库区鱼类物种组成 (a) 及其相似度 (b)

相对序列丰度小于 1% 的物种在图 (b) 中不显示。

Fig. 2 Composition (a) and similarity of fish species (b) in each reservoir area

Species with relative sequence abundance less than 1% are not shown in picture (b).

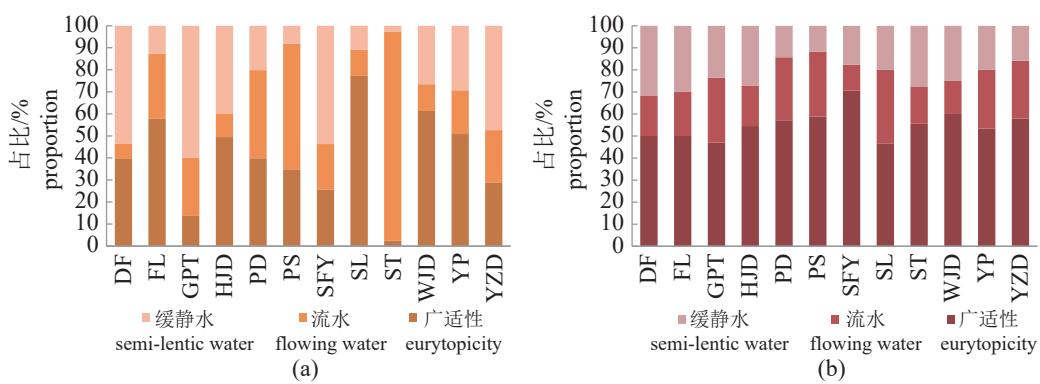


图 3 各库区不同栖息流速鱼类组成情况

(a) 基于序列丰度, (b) 基于物种组成, 图 4 同。

Fig. 3 Composition of fish habitat velocity in each reservoir area

(a) based on sequence abundance, (b) based on species composition, the same as Fig.4.

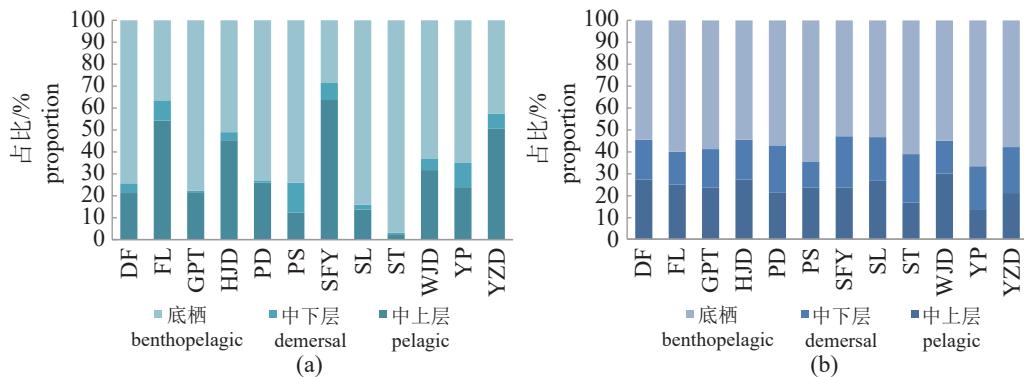


图 4 各库区不同栖息水层鱼类组成情况

Fig. 4 Composition of fish habitat aquifer in each reservoir area

表 2 基于传统方法在乌江流域监测到的历史鱼类名录

Tab. 2 A list of historical fish monitored in the Wu River basin based on traditional methods

编号 serial number	目 order	科 family	属 genus	种 species	国家级 保护鱼类 national protected fishes
1	鲟形目 Acipenseriformes	鲟科 Acipenseridae	鲟属 <i>Acipenser</i>	达氏鲟 <i>A. dabryanus</i>	+
2				中华鲟 <i>A. sinensis</i>	+
3		匙吻鲟科 Polyodontidae	白鲟属 <i>Psephurus</i>	白鲟 <i>P. gladius</i>	+
4	鳗鲡目 Anguilliformes	鳗鲡科 Anguillidae	鳗鲡属 <i>Anguilla</i>	日本鳗鲡 <i>A. japonica</i>	
5	鲤形目 Cypriniformes	胭脂鱼科 Catostomidae	胭脂鱼属 <i>Myxocyprinus</i>	胭脂鱼 <i>M. asiaticus</i>	+
6		鲤科 Cyprinidae	鯿属 <i>Luciobrama</i>	鯿 <i>L. macrocephalus</i>	+
7			草鱼属 <i>Ctenopharyngodon</i>	草鱼 <i>C. idella</i>	
8			赤眼鳟属 <i>Squaliobarbus</i>	赤眼鳟 <i>S. curriculus</i>	
9			鳡属 <i>Elopichthys</i>	鳡 <i>E. bambusa</i>	
10			鳤属 <i>Ochetobius</i>	鳤 <i>O. elongatus</i>	
11			青鱼属 <i>Mylopharyngodon</i>	青鱼 <i>M. piceus</i>	
12			鮀属 <i>Phynchocyparis</i>	洛氏鮀 <i>P. lagowskii</i>	
13			鱲属 <i>Zacco</i>	尖头鱲 <i>P. oxycephalus</i>	
14			细鲫属 <i>Aphyocyparis</i>	宽鳍鱲 <i>Z. platypus</i>	
15			马口鱼属 <i>Opsariichthys</i>	中华细鲫 <i>A. chinensis</i>	
16			半鲿属 <i>Hemiculterella</i>	马口鱼 <i>O. bidens</i>	
17			餐属 <i>Hemiculter</i>	半鲿 <i>H. sauvagei</i>	
18				餐 <i>H. leucisculus</i>	
19				张氏餐 <i>H. tchangi</i>	
20				贝氏餐 <i>H. bleekeri</i>	
21			拟餐属 <i>Pseudohemiculter</i>	南方拟餐 <i>P. dispar</i>	
22				海南拟餐 <i>P. hainanensis</i>	
23				贵州拟餐 <i>P. kweichowensis</i>	
24			华鳊属 <i>Sinibrama</i>	伍氏华鳊 <i>S. wui</i>	
25				大眼华鳊 <i>S. macrops</i>	
26				四川华鳊 <i>S. taeniatus</i>	
27			近红鮰属 <i>Ancherythroculter</i>	黑尾近红鮰 <i>A. nigrocauda</i>	
28				高体近红鮰 <i>A. kurematsui</i>	
29			飘鱼属 <i>Pseudolaubuca</i>	飘鱼 <i>P. sinensis</i>	
30				寡鳞飘鱼 <i>P. engraulis</i>	
31			原鮰属 <i>Chanodichthys</i>	红鳍原鮰 <i>C. erythropterus</i>	
32			鮰属 <i>Culter</i>	翘嘴鮰 <i>C. alburnus</i>	
33				蒙古鮰 <i>C. mongolicus</i>	

· 续表 2 ·

编 号 serial number	目 order	科 family	属 genus	种 species	国家級 保护鱼类 national protected fishes
34	鲤形目	鲤科 Cyprinidae	鮈属 <i>Culter</i>	达氏鮈 <i>C. dabryi</i>	
35	Cypriniformes			尖头鮈 <i>C. oxycephalus</i>	
36				拟尖头鮈 <i>C. oxycephalooides</i>	
37			鲂属 <i>Megalobrama</i>	厚颌鲂 <i>M. pellegrini</i>	
38				鲂 <i>M. skolkovii</i>	
39				三角鲂 <i>M. terminalis</i>	
40			鳊属 <i>Parabramis</i>	鳊 <i>P. pekinensis</i>	
41			圆吻鲴属 <i>Distoechodon</i>	圆吻鲴 <i>D. tumirostris</i>	
42			鲴属 <i>Xenocypris</i>	细鳞鲴 <i>X. microlepis</i>	
43				银鲴 <i>X. argentea</i>	
44				黄尾鲴 <i>X. dawidi</i>	
45			似鳊属 <i>Pseudobrama</i>	似鳊 <i>P. simoni</i>	
46			副鱊属 <i>Paracheilognathus</i>	广西副鱊 <i>P. meridianus</i>	
47			鱊属 <i>Acheilognathus</i>	大鱊鱊 <i>A. macropterus</i>	
48				越南鱊 <i>A. tonkinensis</i>	
49			鳑鲏属 <i>Rhodeus</i>	彩石鳑鲏 <i>R. lighti</i>	
50				中华鳑鲏 <i>R. sinensis</i>	
51				高体鳑鲏 <i>R. ocellatus</i>	
52			四须鲃属 <i>Barbodes</i>	多鳞四须鲃 <i>B. schwanenfisdi</i>	
53				宽头四须鲃 <i>B. laticeps</i>	
54			倒刺鲃属 <i>Spinibarbus</i>	光倒刺鲃 <i>S. hollandi</i>	
55				中华倒刺鲃 <i>S. sinensis</i>	
56			鲈鲤属 <i>Percocypris</i>	鲈鲤 <i>P. pingi</i>	+
57			光唇鱼属 <i>Acrossocheilus</i>	厚唇鱼 <i>A. labiatus</i>	
58				宽口光唇鱼 <i>A. monticolus</i>	
59				侧条光唇鱼 <i>A. parallens</i>	
60				云南光唇鱼 <i>A. yunnanensis</i>	
61			白甲鱼属 <i>Onychostoma</i>	白甲鱼 <i>O. simum</i>	
62				四川白甲鱼 <i>O. angustistomata</i>	+
63				短身白甲鱼 <i>O. brevis</i>	
64				多鳞白甲鱼 <i>O. macrolepis</i>	+
65				粗须白甲鱼 <i>O. barbata</i>	
66				小口白甲鱼 <i>O. lini</i>	
67				稀有白甲鱼 <i>O. rara</i>	
68				珠江卵形白甲鱼 <i>O. ovalis</i>	
69			结鱼属 <i>Tor</i>	rhomboides 瓣结鱼 <i>T. brevifilis</i>	
70			金线鲃属 <i>Sinensis</i>	多斑金线鲃 <i>S. multipunctatus</i>	
71			华鲮属 <i>Sinilabeo</i>	长须华鲮 <i>S. longibarbus</i>	
72				洞庭华鲮 <i>S. tungting</i>	
73				华鲮 <i>S. rendahli</i>	
74			华缨鱼属 <i>Sinocrossocheilus</i>	华缨鱼 <i>S. guizhouensis</i>	
75			直口鲮属 <i>Rectoris</i>	泸溪直口鲮 <i>R. luxiensis</i>	
76			泉水鱼属 <i>Pseudogyrincheilus</i>	泉水鱼 <i>P. procheilus</i>	
77			墨头鱼属 <i>Garra</i>	墨头鱼 <i>G. pingi</i>	
78			盘𬶋属 <i>Discogobio</i>	云南盘𬶋 <i>D. yunnanensis</i>	
79			𬶋属 <i>Hemibarbus</i>	唇𬶋 <i>H. labeo</i>	
80				花𬶋 <i>H. maculatus</i>	
81			似𬶋属 <i>Belligobio</i>	似𬶋 <i>B. nummifer</i>	
82			麦穗鱼属 <i>Pseudorasbora</i>	麦穗鱼 <i>P. parva</i>	
83			鳈属 <i>Sarcocheilichthys</i>	华鳈 <i>S. sinensis</i>	
84				小鳈 <i>S. parvus</i>	

· 续表 2 ·

编 号 serial number	目 order	科 family	属 genus	种 species	国家級 保护鱼类 national protected fishes
85	鲤形目 Cypriniformes	鲤科 Cyprinidae	鳈属 <i>Sarcocheilichthys</i>	江西鳈 <i>S. kiansiensis</i>	
86				黑鳍鳈 <i>S. nigripinnis</i>	
87			颌须𬶋属 <i>Gnathopogon</i>	短须颌须𬶋 <i>G. imberbis</i>	
88				嘉陵颌须𬶋 <i>G. herzensteini</i>	
89				西湖颌须𬶋 <i>G. sihuensis</i>	
90			铜鱼属 <i>Coreius</i>	铜鱼 <i>C. heterokon</i>	
91				圆口铜鱼 <i>C. guichenoti</i>	+
92			似刺鳊𬶋属 <i>Paracanthobrama</i>	似刺鳊𬶋 <i>P. guichenoti</i>	
93			银𬶋属 <i>Squalidus</i>	点纹银𬶋 <i>S. wolterstorffi</i>	
94				银𬶋 <i>S. argentatus</i>	
95			片唇𬶋属 <i>Platysmacheilus</i>	片唇𬶋 <i>P. exiguis</i>	
96				裸腹片唇𬶋 <i>P. nudiventris</i>	
97			吻𬶋属 <i>Rhinogobio</i>	吻𬶋 <i>R. typus</i>	
98				圆筒吻𬶋 <i>R. cylindricus</i>	
99				湖南吻𬶋 <i>R. hunanensis</i>	
100				长鳍吻𬶋 <i>R. ventralis</i>	+
101			棒花鱼属 <i>Abbottina</i>	棒花鱼 <i>A. rivularis</i>	
102				钝吻棒花鱼 <i>A. obtusirostris</i>	
103			小鳔𬶋属 <i>Microphysogobio</i>	福建小鳔𬶋 <i>M. fukiensis</i>	
104				洞庭小鳔𬶋 <i>M. tungtingensis</i>	
105				乐山小鳔𬶋 <i>M. kiatingensis</i>	
106			蛇𬶋属 <i>Sauvagobio</i>	长蛇𬶋 <i>S. dumerili</i>	
107				蛇𬶋 <i>S. dabryi</i>	
108				湘江蛇𬶋 <i>S. xiangjiangensis</i>	
109				光唇蛇𬶋 <i>S. gymnocheilus</i>	
110			裂腹鱼属 <i>Schizothorax</i>	中华裂腹鱼 <i>S. sinensis</i>	
111				四川裂腹鱼 <i>S. kozlovi</i>	
112				短须裂腹鱼 <i>S. wangchiachii</i>	
113				昆明裂腹鱼 <i>S. grahami</i>	
114				齐口裂腹鱼 <i>S. prenanti</i>	
115				重口裂腹鱼 <i>S. davidi</i>	+
116				灰裂腹鱼 <i>S. griseus</i>	
117			鳅𬶍属 <i>Gobiobotia</i>	宜昌鳅𬶍 <i>G. filifer</i>	
118				南方鳅𬶍 <i>G. meridionalis</i>	
119			异鳔鳅𬶍属 <i>Xenophysogobio</i>	异鳔鳅𬶍 <i>X. boulengeri</i>	
120				裸体异鳔鳅𬶍 <i>X. nudicorpa</i>	
121			鲫属 <i>Carassius</i>	鲫 <i>C. auratus</i>	
122			鲤属 <i>Cyprinus</i>	三角鲤 <i>C. multitaeniata</i>	
123				鲤 <i>C. carpio</i>	
124			原鲤属 <i>Procypris</i>	岩原鲤 <i>P. rabaudi</i>	+
125			鲢属 <i>Hypophthalmichthys</i>	鲢 <i>H. molitrix</i>	
126			鳙属 <i>Aristichthys</i>	鳙 <i>A. nobilis</i>	
127		鳅科 Cobitidae	花鳅属 <i>Cobitis</i>	中华花鳅 <i>C. sinensis</i>	
128			副泥鳅属 <i>Paramisgurnus</i>	大鳞副泥鳅 <i>P. dabryanus</i>	
129			泥鳅属 <i>Misgurnus</i>	泥鳅 <i>M. anguillicaudatus</i>	
130			沙鳅属 <i>Botia</i>	中华沙鳅 <i>B. superciliaris</i>	
131				美丽沙鳅 <i>B. pulchra</i>	
132				宽体沙鳅 <i>B. reevesae</i>	
133			副沙鳅属 <i>Parabotia</i>	花斑副沙鳅 <i>P. fasciata</i>	
134			薄鳅属 <i>Leptobotia</i>	长薄鳅 <i>L. elongata</i>	+
135				红唇薄鳅 <i>L. rubrilaris</i>	+

· 续表 2 ·

编 号 serial number	目 order	科 family	属 genus	种 species	国家級 保护鱼类 national protected fishes
136	鲤形目	鳅科 Cobitidae	薄鳅属 <i>Leptobotia</i>	紫薄鳅 <i>L. taeniaps</i>	
137	Cypriniformes			小眼薄鳅 <i>L. microphthalmalma</i>	
138		爬鳅科 Balitoridae	副鳅属 <i>Paracobitis</i>	乌江副鳅 <i>P. wujiangensis</i>	
139				红尾副鳅 <i>P. variegatus</i>	
140				短体副鳅 <i>P. potanini</i>	
141			高原鳅属 <i>Triplophysa</i>	贝氏高原鳅 <i>T. bleekeri</i>	
142			间吸鳅属 <i>Hemimzon</i>	中华间吸鳅 <i>H. sinensis</i>	
143			华吸鳅属 <i>Sinogastromyzon</i>	四川华吸鳅 <i>S. szechuanensis</i>	
144				西昌华吸鳅 <i>S. sichangensis</i>	
145		平鳍鳅科 Homalopteridae	犁头鳅属 <i>Lepturichthys</i>	犁头鳅 <i>L. fimbriata</i>	
146			原缨口鳅属 <i>Vanmnenia</i>	平舟原缨口鳅 <i>V. pinchowensis</i>	
147			后平鳅属 <i>Metahomaloptera</i>	峨嵋后平鳅 <i>M. omeiensis</i>	
148			爬岩鳅属 <i>Beaufortia</i>	四川爬岩鳅 <i>B. szechuanensis</i>	
149			金沙鳅属 <i>Jinshaia</i>	中华金沙鳅 <i>J. sinensis</i>	
150	鲇形目	胡子鲇科 Clariidae	胡子鲇属 <i>Clarias</i>	胡子鲇 <i>C. fuscus</i>	
151	Siluriformes			胡鲇 <i>C. batrachus</i>	
152		鲇科 Siluridae	鲇属 <i>Silurus</i>	鲇 <i>S. asotus</i>	
153				南方大口鲇 <i>S. meridionalis</i>	
154		鲿科 Bagridae	𬶏属 <i>Leiocassis</i>	长吻𬶏 <i>L. longirostris</i>	
155				钝吻𬶏 <i>L. crassirostris</i>	
156				粗唇𬶏 <i>L. crassilabris</i>	
157			拟鲿属 <i>Pseudobagrus</i>	白边拟鲿 <i>P. albomarginatus</i>	
158				乌苏拟鲿 <i>P. ussurirnisis</i>	
159				切尾拟鲿 <i>P. truncates</i>	
160				细体拟鲿 <i>P. pratti</i>	
161				短尾拟鲿 <i>P. brevicaudatus</i>	
162				凹尾拟鲿 <i>P. emarginatus</i>	
163				圆尾拟鲿 <i>P. tenuis</i>	
164				中臀拟鲿 <i>P. medianalis</i>	
165			黄颡鱼属 <i>Pelteobagrus</i>	黄颡鱼 <i>P. fulvidraco</i>	
166				瓦氏黄颡鱼 <i>P. vachelli</i>	
167				岔尾黄颡鱼 <i>P. eupogon</i>	
168				光泽黄颡鱼 <i>P. nitidus</i>	
169			鳠属 <i>Mystus</i>	大鳍鳠 <i>M. macropterus</i>	
170		钝头𬶏科 Amblycipitidae	𬶐属 <i>Liobagrus</i>	白缘𬶐 <i>L. marginatus</i>	
171				黑尾𬶐 <i>L. nigricauda</i>	
172				拟缘𬶐 <i>L. marginatoides</i>	
173		𬶐科 Sisoridae	𬶐属 <i>Pareuchiloglanis</i>	短鳍𬶐 <i>P. feae</i>	
174			石爬𬶐属 <i>Euchiloglanis</i>	青石爬𬶐 <i>E. davidi</i>	+
175				黄石爬𬶐 <i>E. kishinouyei</i>	
176			纹胸𬶐属 <i>Glyptothorax</i>	福建纹胸𬶐 <i>G. fukiensis</i>	
177				中华纹胸𬶐 <i>G. sinense</i>	
178	鱂形目	胎鳉科 Poeciliidae	食蚊鱼属 <i>Gambusia</i>	食蚊鱼 <i>G. affinis</i>	
179	Cyprinodontiformes	青鳉科 Cyprinodontidae	青鳉属 <i>Oryzias</i>	青鳉 <i>O. latipes</i>	
180	合鳃目	合鳃鱼科 Synbranchidae	黄鳝属 <i>Monopterus</i>	黄鳝 <i>M. albus</i>	
181	Synbranchiformes				
182	鲈形目	鳢科 Channidae	鳢属 <i>Channa</i>	月鳢 <i>C. asiatica</i>	
	Perciformes			乌鳢 <i>C. argus</i>	

· 续表 2 ·

编号 serial number	目 order	科 family	属 genus	种 species	国家级 保护鱼类 national protected fishes
183	鲈形目 Perciformes	鮨科 Serranidae	鮨属 <i>Siniperca</i>	斑鮨 <i>S. scherzeri</i> 波纹鮨 <i>S. undulata</i>	
184				鱖 <i>S. chuatsi</i>	
185				大眼鮨 <i>S. kneri</i>	
186				小黄鮚鱼属 <i>Micropercops</i>	小黄鮚鱼 <i>M. cinctus</i>
187		塘鳢科 Eleotridae		黄鮚鱼属 <i>Hypseleotris</i>	黄鮚鱼 <i>H. swinhonis</i>
188				栉虾虎鱼属 <i>Ctenogobius</i>	普栉虾虎鱼 <i>C. giurinus</i>
189		虾虎鱼科 Bobiidae		吻虾虎鱼属 <i>Rhinogobius</i>	子陵吻虾虎鱼 <i>R. giurinus</i>
190					波氏吻虾虎鱼 <i>C. cliffordpopei</i>
191					刺鮨属 <i>Mastacembelus</i>
192		刺鮨科 Mastacembelidae			刺鮨 <i>M. aculeatus</i>
193		斗鱼科 Belontiidae			叉尾斗鱼 <i>M. opercularis</i>
合计 total	7	22	100	193	15

注: “+”代表国家级保护鱼类。

Notes: "+" represents national protected fishes.

其中只有索风营库区的优势种有明确指出是餐、鲤、吻鮈和四川裂腹鱼^[24], 其他库区的优势种并未明确指出。

2.2 Alpha 多样性分析

本研究通过计算 ACE^[35]、Chao1^[36]、Shannon^[37]、Simpson^[38]等多样性指数对乌江干流鱼类群落进行 Alpha 多样性分析(表 3)。各采样区的覆盖度均为 0.977 8~0.999 9, 表明测序深度基本覆盖全部 OTU 数据, 能反映样本的真实情况。将 12 个采样区分为 12 个组, 各分组样本的

ACE、Chao1、Shannon 和 Pielou 4 个指数的数据绘制成箱型图, 结果见图 5。在 12 个分组样本间, ACE、Chao1 以及 Shannon 指数三者的变化趋势基本一致, 其中沙陀库区的 ACE 指数和 Chao1 指数最高, 表明该库区的鱼类物种多样性最为丰富; 而银盘库区的 ACE 指数和 Chao1 指数最低, 表明该库区的鱼类物种多样性最低。此外, 均匀度指数最高的是引子渡库区, 表明该库区的物种分布最为均匀。

2.3 Beta 多样性分析

为探讨各库区间鱼类组成的相似性和差异性, 本研究基于各采样区的鱼类物种序列丰度进行了 Bray-Curtis 距离矩阵的 PCoA 分析(图 6)。PCoA 横轴 PC1 对样本组成差异的解释度为 21.603%, 纵轴 PC2 的解释度为 16.495%, 坚轴 PC3 的解释度为 11.575%。乌江渡库区和思林库区的鱼类组成较为相似, 引子渡库区和索风营库区的鱼类组成较为相似, 而涪陵入江段的鱼类组成与其他库区间差异较大。

2.4 环境因子关联分析

为评价乌江干流各库区的鱼类群落与部分环境因子(温度、pH、海拔和溶解氧)的相关性, 对其进行冗余分析。在 DCA 分析的结果均小于 3 的情况下, 选择 RDA 分析, 结果如图 7 所示。环境因子未对各库区鱼类组成产生显著影响, 4 个环境因子间均为正相关关系, 其中构

表 3 各样本的 Alpha 多样性指数均值统计

Tab. 3 Alpha diversity index mean statistics for each sample

样本 sample	ACE 指数 index	Chao1 指数 index	香农 指数 Shannon index	辛普森 指数 Simpson index	均匀度 指数 Pielou index	覆盖度 coverage index
PD	49.522 6	47.780 0	3.546 7	0.127 5	0.703 5	0.977 8
YZD	50.540 8	49.890 0	4.236 8	0.077 8	0.766 4	0.996 8
HJD	64.924 8	63.250 0	3.877 8	0.132 5	0.671 8	0.998 2
DF	41.733 6	41.250 0	3.467 0	0.144 8	0.673 8	0.997 8
SFY	36.666 9	34.730 0	3.459 0	0.137 1	0.713 9	0.996 8
WJD	50.432 0	50.750 0	3.039 3	0.325 9	0.545 7	0.998 9
GPT	24.791 8	24.440 0	2.918 1	0.189 5	0.638 3	0.999 9
SL	30.743 1	29.060 0	2.452 0	0.364 6	0.511 4	0.997 0
ST	91.139 8	88.670 0	4.023 9	0.131 9	0.656 4	0.998 8
PS	39.334 9	39.330 0	3.102 9	0.235 8	0.646 1	0.998 0
YP	22.090 9	22.000 0	2.905 5	0.212 6	0.664 1	0.999 8
FL	36.310 0	34.170 0	3.447 7	0.147 8	0.686 3	0.999 0

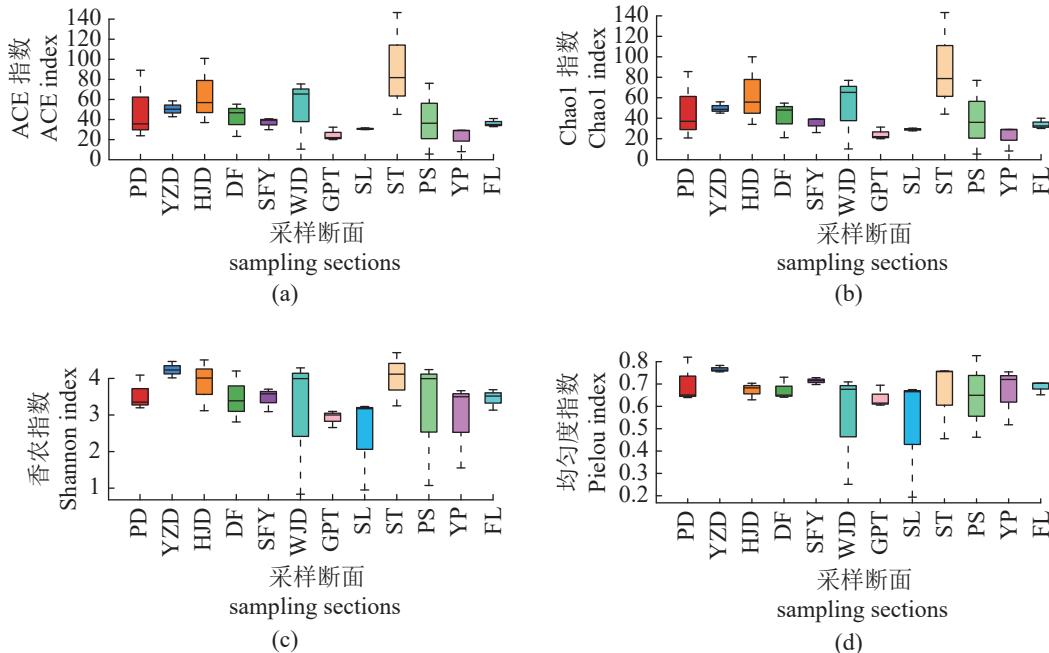


图 5 Alpha 多样性指数样本组间分布箱型图

Fig. 5 Boxplot of Alpha diversity index

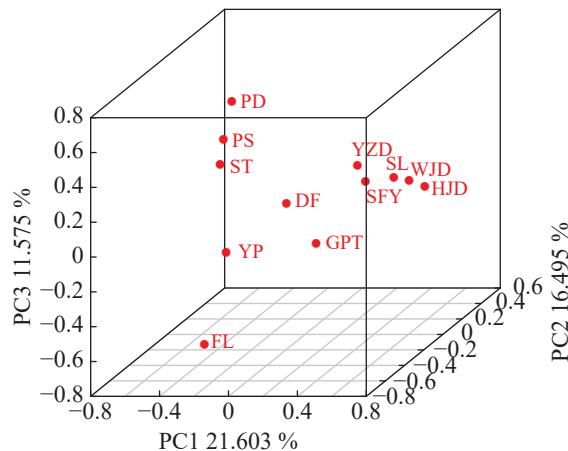


图 6 基于 Bray-Curtis 距离矩阵的鱼类的主坐标分析 (PCoA)

Fig. 6 Analysis of fish principal coordinates based on Bray-Curtis distance matrix

皮滩库区、沙陀库区和思林库区的鱼类群落与环境因子的相关性更高，其他群落与环境因子的相关性较低。

3 讨论

3.1 基于传统方法和环境 DNA 的物种组成

历史文献记录的鱼类有 193 种，而在本研究中，环境 DNA 技术只检出 32 种，历史文献

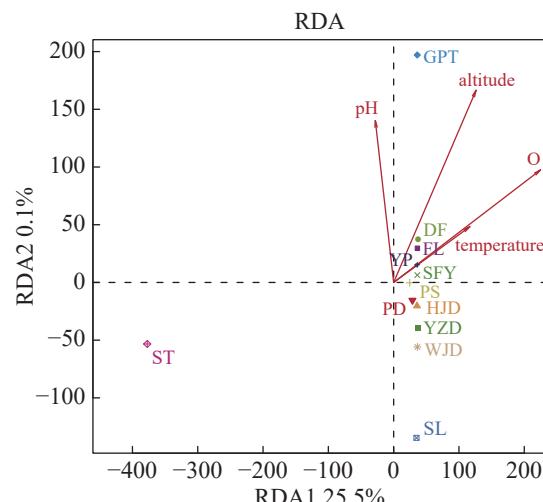


图 7 乌江干流各采样区鱼类群落与环境因子的冗余分析

altitude. 库区平均海拔；O. 水体中的溶解氧。

Fig. 7 Redundancy analysis of fish community and environmental factors in each sampling section of the main stream of the Wujiang River

altitude. average altitude of reservoir area, O. dissolved oxygen in water.

记录汇总了从 2001—2019 年乌江流域鱼类的监测数据，而乌江支流大多都有大坝阻隔，支流的鱼类无法进入干流，导致有些鱼类仅在支流分布。同时，本次环境 DNA 技术使用的是 *CO I* 引物，该引物的捕获效率有限，从而导致

检出率较低。基于历史文献分析的传统渔获物调查中鲤形目鱼类最多, 占比 63.21%, 鲇形目次之, 占比 12.44%, 鲈形目占 6.74%。本次环境 DNA 检出的 32 种鱼类中, 鲤形目鱼类最多, 占 56.25%, 其次是鲇形目, 占 21.88%, 鲈形目占 15.63%。本次环境 DNA 调查结果中鱼类物种数较少, 与传统渔获物目水平上的鱼类组成比较一致, 并且除了史氏鲟、尼罗罗非鱼和莫桑比克罗非鱼是外来物种, 其他 29 种鱼类皆为历史资料中出现过的本地物种, 表明本次研究结果接近乌江干流历史的鱼类结构组成, 进一步表明环境 DNA 技术在该水域具有一定的适用性, 可作为传统调查方法的辅助手段^[11, 39]。

环境 DNA 调查结果显示当前乌江干流的广适性鱼类较多, 可能与近几十年来乌江干流梯级水电站开发相关。通常水电站大坝的修建会导致河流流速降低, 泥沙沉积, 饵料生物增多^[40], 更适合喜缓流或静水生活的鱼类生存, 而喜流水生活的鱼类生存空间将被压缩, 导致数量减少, 此时广适性鱼类在该条件下生存更会展现出优势。同时, 肖琼等^[22]发现由于水电站大坝的修建, 乌江干流下游喜流水的鱼类物种出现衰减, 该结果与本次调查展现的结果具有相似性。

3.2 基于环境 DNA 的乌江干流鱼类多样性及其与环境因子的相关性

Alpha 多样性指数显示, 沙沱库区的 ACE 指数和 Chao1 指数均为最高, 表明该库区的鱼类物种多样性最丰富; 而银盘库区的 ACE 指数和 Chao1 指数最低, 表明该库区的鱼类物种多样性最低。该结果可能与采样点的环境相关, 沙沱库区采样点附近水草丰富, 利于鱼类索饵, 因此该库区的鱼类多样性较高; 而银盘库区检测到的鱼类物种较少, 只有 15 种, 可能与该库区的采样点均分布在人类活动较多的码头或景区有关, 在此区域内活动的鱼类较少, 导致本次检测该库区鱼类多样性较低。Shannon 指数和 Pielou 指数的变化趋势一致, 均为引子渡库区最高, 推测是因为该库区的采样点更接近自然环境, 受人类因素影响较小, 所以鱼类多样性较高; 而思林库区最低, 可能是因为该库区个别鱼类的序列丰度太高, 而 Shannon 指数和 Pielou 指数均与物种分布均匀程度相关, 所以

导致该库区的鱼类多样性较低。虽然 Simpson 指数与香农指数和 Pielou 指数的变化趋势相反, 但它展示的意义与其一致^[9], 体现出引子渡库区的鱼类丰度最高, 思林库区的鱼类丰度最低。

相对而言, 乌江渡库区和思林库区的鱼类组成较为相似, 引子渡库区和索风营库区的鱼类组成较为相似, 但大多库区间的鱼类组成差异较大(图 6)。可能由于大坝的修建, 各库区间的鱼类无法自由进行基因交流, 随着时间增加, 导致各库区间的鱼类组成出现了差异。由此也可看出梯级水电站对乌江干流鱼类的影响。此外, 研究表明, 鱼类多样性会受到水温、pH 和溶解氧等一系列环境因子的影响^[41]。而水电站大坝的修建会导致河流原本的水温、溶解氧和 pH 等一些环境因子的改变, 对鱼类多样性产生影响^[42]。但在本研究中, 可能由于乌江干流修建的梯级水电站年限大多较短, 同时大部分库区长度较短, 所以大多数库区的鱼类组成与环境因子的相关性较低(图 7)。而构皮滩库区相对较长, 整个库区海拔差距最大, 所以受环境影响相对较大, 尤其是受海拔因素影响最大。

3.3 梯级水电站对乌江干流鱼类的影响及保护措施

河流生境片段化是导致鱼类生物多样性下降的重要原因之一^[43]。乌江干流目前被 11 个梯级水电站分割成 12 个相互隔离的空间, 在地理位置上普定库区与彭水库区的距离相隔甚远, 生境相差较大, 但在本次调查中它们的鱼类物种组成却相似度较高, 反而离彭水库区距离较近的沙沱库区鱼类物种组成与彭水库区差异较大(图 2), 同时本研究结果表明各江段的鱼类组成都存在一定的差异性, 暗示梯级水电站对乌江干流的鱼类产生了影响。此外, 也有其他研究表明各水电站库区内鱼类群落结构均发生了不同程度的改变, 主要表现为鱼类种类减少、个体及年龄偏小、优势类群发生转变、洄游性鱼类减少以及定居型鱼类增多等^[22, 27, 44]。此外, 基于传统分子标记的群体遗传学研究发现, 乌江干流梯级水电站开发已经影响了许多鱼类的遗传多样性并导致了鱼类种群不同程度的分化, 如白甲鱼^[45]、四川裂腹鱼^[46] 和泉水鱼^[47] 等。以上研究均证明, 梯级水电站给乌江带来的水文情势显著改变、河流的自然径流过程改变、水

温分层化等一系列不利因素, 已经导致乌江干流鱼类组成改变、多样性降低。

在“长江大保护”的背景下, 结合乌江干流目前的水电站开发情况以及鱼类群落多样性特征, 提出以下保护对策: ①保护鱼类栖息地。建立鱼类自然保护区, 让鱼类回到其适应的生态环境, 正常生长繁衍, 尽量减少人为活动干扰。②加强人工繁殖。为弥补水电站工程带来的不利影响, 可开展鱼类增殖放流活动, 作为生态补偿的一种机制。③禁止滥捕。在经济条件允许的情况下, 禁止捕鱼或是严格管控捕鱼所用工具和规格。④加强水域生态健康状况监测。梯级水电站对乌江干流产生的影响会有累计效益^[48], 所以对该水域进行长期的监测十分有必要, 可更好地保护该水域的鱼类多样性。

3.4 环境 DNA 技术的劣势

虽然环境 DNA 技术现已被广泛应用, 但该技术还存在许多不足。环境 DNA 的产生与降解深受温度、紫外线以及 pH 等一系列环境因子的影响^[49], 因此在采集环境水体样本及处理过程中很容易导致环境 DNA 降解, 而影响最终的结果。例如, 在本研究中, 洪家渡库区和东风库区采样时水样中都含有较多泥沙, 而环境 DNA 会附着在泥沙上, 所以结果显示洪家渡库区和东风库区的鱼类物种数最多。但由于水样中泥沙太多堵塞了滤膜孔, 所以洪家渡库区和东风库区的 6 L 水样抽滤时间长达 10 h, 在此过程中, 环境 DNA 会产生降解, 从而使得结果不准确。因此, 在既要保留附着在泥沙上的环境 DNA, 又要加快抽滤速度的情况下, 可以采取先用无菌的医用纱布进行预过滤或换多张滤膜抽滤的方式来优化该过程^[13, 30]。同时, 环境 DNA 技术中出现的现场过滤时样品容易污染、样品扩增容易出现假阳性以及用该技术如何准确定量等问题还需进一步探究。

此外, 在本研究中, 利用环境 DNA 技术在整个乌江干流只检出 32 种鱼类, 物种数量仅占传统资料中的 16.58%, 检出率较低。一方面是由本研究选择的引物是 CO I 引物, 该引物长度有 313 bp, 而游离在环境中的 DNA 大多是很短的片段, 从而导致该引物的捕获率较低。同时, 该分子标记由于自身特点, 设计的通用引物难以覆盖较全面的物种^[50]。此外, 基于该

分子标记的设计的引物具有偏好性, 容易使个别具有优势的物种过度扩增, 而导致一些低丰度或不被偏好的物种难以检出^[51]。另一方面, 环境 DNA 检测结果的准确性十分依赖数据库的完整性与其质量^[52]。公共的数据库, 物种序列信息繁多, 对比的结果可能并不属于调查水域的本地物种, 导致“假阳性”。而自建数据库往往缺乏更加完整的物种序列信息, 对比结果容易出现“假阴性”。因此, 要提高环境 DNA 技术结果的准确性, 在操作流程优化的情况下, 还要选择合适的引物, 并建立一个包含全面物种序列信息的数据库。

4 结论

本研究运用环境 DNA 技术揭示了乌江干流各库区鱼类多样性及种类组成结构现状和差异, 同时综合历史资料对比分析, 表明梯级水电站开发已经对乌江干流鱼类多样性造成了一定的影响。此外, 在“长江大保护”的背景下, 环境 DNA 技术具有简单易操作的优势, 可作为乌江流域渔业资源监测的重要辅助方法。

参考文献 (References):

- [1] Holmlund C M, Hammer M. Ecosystem services generated by fish populations[J]. *Ecological Economics*, 1999, 29(2): 253-268.
- [2] Zou K S, Chen J W, Ruan H T, et al. EDNA metabarcoding as a promising conservation tool for monitoring fish diversity in a coastal wetland of the Pearl River Estuary compared to bottom trawling[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 702: 134704.
- [3] 马鸿娟, Stewart K, 马利民, 等. 环境 DNA 及其在水生生态系统保护中的应用 [J]. 生态学杂志, 2016, 35(2): 516-523.
Ma H J, Stewart K, Ma L M, et al. Environmental DNA and its application in protecting aquatic ecosystems[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, 35(2): 516-523 (in Chinese).
- [4] Hopkins G W, Freckleton R P. Declines in the numbers of amateur and professional taxonomists: implications for conservation[J]. *Animal Conservation*, 2002, 5(3): 245-249.
- [5] Hebert P D N, Cywinski A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2003, 270(1512): 313-321.
- [6] Ogram A, Sayler G S, Barkay T. The extraction and purifica-

- tion of microbial DNA from sediments[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1987, 7(2-3): 57-66.
- [7] Thomsen P F, Willerslev E. Environmental DNA-an emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity[J]. *Biological Conservation*, 2015, 183: 4-18.
- [8] Valentini A, Taberlet P, Miaud C, et al. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding[J]. *Molecular Ecology*, 2016, 25(4): 929-942.
- [9] 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.
- Chen Y C. Application of environmental DNA technology in fish resources investigation in the upper reach of Liuchong River[D]. Chongqing: Southwest University, 2020 (in Chinese).
- [10] Bohmann K, Evans A, Gilbert M T P, et al. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2014, 29(6): 358-367.
- [11] 王梦, 杨鑫, 王维, 等. 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 [J]. *水生生物学报*, 2022, 46(1): 2-16.
- Wang M, Yang X, Wang W, et al. Fish diversity in Chongqing section of the national nature reserve for rare and endemic fish in the upper Yangtze River based on eDNA technology[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, 46(1): 2-16 (in Chinese).
- [12] Ficetola G F, Miaud C, Pompanon F, et al. Species detection using environmental DNA from water samples[J]. *Biology Letters*, 2008, 4(4): 423-425.
- [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 [J]. 水生态学杂志, 2016, 37(5): 49-55.
- Xu N, Chang J B. Preliminary study on fish species detection in the middle and lower Yangtze River using environmental DNA[J]. *Journal of Hydroecology*, 2016, 37(5): 49-55 (in Chinese).
- [14] Qu C J, Stewart K A, Clemente-Carvalho R, et al. Comparing fish prey diversity for a critically endangered aquatic mammal in a reserve and the wild using eDNA metabarcoding[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 16715.
- [15] 舒璐, 林佳艳, 徐源, 等. 基于环境 DNA 宏条形码的洱海鱼类多样性研究 [J]. *水生生物学报*, 2020, 44(5): 1080-1086.
- Xu L, Lin J Y, Xu Y, et al. Investigating the fish diversity in erhai lake based on environmental DNA metabarcoding[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, 44(5): 1080-1086 (in Chinese).
- [16] 余玥. 基于环境 DNA 技术的乐清湾鱼类多样性研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- Yu Y. Study of fish diversity in Yueqing Bay based on environmental DNA method[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020 (in Chinese).
- [17] Zhang S, Zhao J D, Yao M. A comprehensive and comparative evaluation of primers for metabarcoding eDNA from fish[J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2020, 11(12): 1609-1625.
- [18] 邱兴春, 白建军, 向刚. 乌江干流水电梯级开发对陆生生态敏感区影响的后评价研究 [J]. *水力发电*, 2022, 48(4): 4-8,13.
- Qiu X C, Bai J J, Xiang G. Study on the environmental impact post assessment of hydroelectric development on terrestrial ecological sensitive region in Wujiang River[J]. *Water Power*, 2022, 48(4): 4-8,13 (in Chinese).
- [19] 梁俐, 张和喜, 黄维. 乌江干流梯级水库段气候变化特征分析 [J]. 人民长江, 2017, 48(S2): 68-72.
- Liang L, Zhang X H, Huang W. Analysis of climate change characteristics in cascade reservoir section of mainstream of Wujiang River[J]. Yangtze River, 2017, 48(S2): 68-72 (in Chinese).
- [20] 丁瑞华. 四川鱼类志 [M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1994.
- Ding R H. The fishes of Sichuan, China[M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 1994 (in Chinese).
- [21] 何光宏. 乌江流域梯级自动发电控制研究与应用 [J]. 水电与新能源, 2014(7): 1-4,17.
- He G H. Study on automatic generation control and its application in cascade hydropower stations in Wujiang River[J]. *Hydropower and New Energy*, 2014(7): 1-4,17 (in Chinese).
- [22] 肖琼, 杨志, 唐会元, 等. 乌江下游干流鱼类物种多样性及其资源保护 [J]. *生物多样性*, 2015, 23(4): 499-506.
- Xiao Q, Yang Z, Tang H Y, et al. Species diversity of fish and its conservation in the mainstream of the lower reaches of Wujiang River[J]. *Biodiversity Science*, 2015, 23(4): 499-506 (in Chinese).
- [23] 代应贵, 李敏. 梵净山及邻近地区鱼类资源的现状 [J]. *生物多样性*, 2006, 14(1): 55-64.
- Dai Y G, Li M. Fish resources around Fanjing Mountain, Guizhou[J]. *Biodiversity Science*, 2006, 14(1): 55-64 (in Chinese).
- [24] 伍律. 贵州鱼类志 [M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1989.
- Wu L. Fishes of Guizhou Province[M]. Guiyang: Guizhou People's Publishing House, 1989 (in Chinese).
- [25] 杨再明, 张青, 吕万洪, 等. 乌江彭水电站沿河段库区鱼类资源调查 [J]. *现代农业科技*, 2010(24): 312-313,319.
- Yang Z M, Zhang Q, Lü W H, et al. Investigation of fish

- resources in the reservoir area along the Wujiang Peng Hydro-power Station[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2010(24): 312-313,319 (in Chinese).
- [26] 王智慧, 陈浒, 姜永河, 等. 乌江索风营水电站库区鱼类资源现状调查及预测评价 [J]. 贵州师范大学学报 (自然科学版), 2001, 19(4): 7-11.
- Wang Z H, Chen H, Gu Y H, et al. Investigation and prediction of fish resources at Suofengying Hydropower Station reservoir in the Wujiang River[J]. Journal of Guizhou Normal University (Natural Science Edition), 2001, 19(4): 7-11 (in Chinese).
- [27] 杨志, 陈小娟, 唐会元, 等. 乌江银盘水电站蓄水前后坝上和坝下江段的鱼类资源及其变动特征 [J]. 三峡生态环境监测, 2019, 4(4): 70-81.
- Yang Z, Chen X J, Tang H Y, et al. Fish resources and their variation characteristics in the upstream and downstream of Yinpan Dam in Wujiang River before and after the impoundment of the reservoir[J]. *Ecology and Environmental Monitoring of Three Gorges*, 2019, 4(4): 70-81 (in Chinese).
- [28] 姚俊杰, 李川, 杨兴, 等. 贵州省鱼类资源现状及保护对策 [J]. 现代渔业信息, 2009, 24(2): 12-14.
- Yao J J, Li C, Yang X, et al. Status and protection countermeasures of fish resources in Guizhou Province[J]. *Modern Fisheries Information*, 2009, 24(2): 12-14 (in Chinese).
- [29] Dibattista J D, Coker D J, Sinclair-Taylor T H, et al. Assessing the utility of eDNA as a tool to survey reef-fish communities in the Red Sea[J]. *Coral Reefs*, 2017, 36(4): 1245-1252.
- Stewart K, Ma H J, Zheng J S, et al. Using environmental DNA to assess population-wide spatiotemporal reserve use[J]. *Conservation Biology*, 2017, 31(5): 1173-1182.
- [31] 姜维, 王启军, 邓捷, 等. 以川陕哲罗鲑为目标物种的水样环境 DNA 分析流程的优化 [J]. 应用生态学报, 2016, 27(7): 2372-2378.
- Jiang W, Wang Q J, Deng J, et al. Protocol optimization of eDNA analysis workflow for detecting *Hucho bleekeri*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(7): 2372-2378 (in Chinese).
- [32] Lim N K M, Tay Y C, Srivathsan A, et al. Next-generation freshwater bioassessment: eDNA metabarcoding with a conserved metazoan primer reveals species-rich and reservoir-specific communities[J]. *Royal Society Open Science*, 2016, 3(11): 160635.
- [33] Shen Y J, Guan L H, Wang D Q, et al. DNA barcoding and evaluation of genetic diversity in Cyprinidae fish in the mid-stream of the Yangtze River[J]. *Ecology and Evolution*, 2016, 6(9): 2702-2713.
- [34] Shen Y J, Hubert N, Huang Y, et al. DNA barcoding the ichthyofauna of the Yangtze River: insights from the molecular inventory of a mega-diverse temperate fauna[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2019, 19(5): 1278-1291.
- [35] 陈世静. 基于 eDNA 技术的西南大学崇德湖鱼类与浮游生物多样性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- Chen S J. Analysis of the fish and plankton diversity in Chongde Lake at Southwest University using environmental DNA technology[D]. Chongqing: Southwest University, 2020 (in Chinese).
- [36] Chao A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population[J]. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1984, 11(4): 265-270.
- [37] Shannon C E. A mathematical theory of communication[J]. *Bell System Technical Journal*, 1948, 27(3): 379-423.
- [38] Simpson E H. Measurement of diversity[J]. *Nature*, 1949, 163(4148): 688.
- [39] 姜维, 赵虎, 邓捷, 等. 环境 DNA 分析技术——一种水生生物调查新方法 [J]. 水生态学杂志, 2016, 37(5): 1-7.
- Jiang W, Zhao H, Deng J, et al. Detection of aquatic species using environmental DNA[J]. *Journal of Hydroecology*, 2016, 37(5): 1-7 (in Chinese).
- [40] 曹文宣. 长江上游水电梯级开发的水域生态修复问题 [J]. 长江技术经济, 2019, 3(2): 5-10.
- Cao W X. Water ecological restoration in the cascade development of hydropower in the upper reaches of the Yangtze River[J]. *Technology and Economy of Changjiang*, 2019, 3(2): 5-10 (in Chinese).
- [41] 黄欣. 南流江河口红树林潮沟鱼类群落时空分布格局及其与环境因子的关系 [D]. 桂林: 桂林理工大学, 2020.
- Huang X. Temporal and spatial distribution patterns of fish assemblages from mangrove creek in the Nanliujiang River estuary and its relationship with environmental factors[D]. Guilin: Guilin University of Technology, 2020 (in Chinese).
- [42] 屈霄, 郭传波, 熊芳园, 等. 梯级开发下金沙江下游鱼类群落结构特征及环境驱动因子 [J]. 水生态学杂志, 2020, 41(6): 46-56.
- Qu X, Guo C B, Xiong F Y, et al. Characterization of the fish community and environmental driving factors during development of cascaded dams in the lower Jinsha River[J]. *Journal of Hydroecology*, 2020, 41(6): 46-56 (in Chinese).

- [43] Banks S C, Cary G J, Smith A L, et al. How does ecological disturbance influence genetic diversity? [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2013, 28(11): 670-679.
- [44] 杨志, 郑海涛, 熊美华, 等. 彭水电站蓄水前后鱼类群落多样性特征 [J]. *环境科学与技术*, 2011, 34(8): 22-29.
Yang Z, Zheng H T, Xiong M H, et al. Variation characteristics of fish community structure and biodiversity in autumn before and after impoundment of pengshui hydropower station[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 34(8): 22-29 (in Chinese).
- [45] 熊美华, 史方, 徐念, 等. 微卫星标记分析乌江流域白甲鱼群体的遗传多样性 [J]. *水生态学杂志*, 2009, 2(2): 122-125.
Xiong M H, Shi F, Xu N, et al. A Preliminary analysis of genetic diversity of population of *Onychostoma sima* in Wujiang River with microsatellite markers[J]. *Journal of Hydroecology*, 2009, 2(2): 122-125 (in Chinese).
- [46] 代应贵, 邹习俊, 肖海. 四川裂腹鱼乌江种群 mtDNA 控制区序列的遗传多样性分析 [J]. *四川动物*, 2010, 29(4): 505-509.
Dai Y G, Zou X J, Xiao H. Genetic diversity of the mtDNA d-loop in the population of *Schizothorax kozlovi* from the Wujiang River[J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2010, 29(4): 505-509 (in Chinese).
- [47] 史方, 熊美华, 郑海涛, 等. 泉水鱼长江流域 3 个地理群体的遗传结构分析 [J]. *水生态学杂志*, 2018, 39(2): 58-63.
Shi F, Xiong M H, Zheng H T, et al. Genetic structure analysis of three *Pseudogyrincheilus procheilus* populations in the Yangtze River basin[J]. *Journal of Hydroecology*, 2018, 39(2): 58-63 (in Chinese).
- [48] 黄峰, 魏浪, 李磊, 等. 乌江干流中上游水电梯级开发水温累积效应 [J]. *长江流域资源与环境*, 2009, 18(4): 337-342.
Huang F, Wei L, Li L, et al. Cumulative effects of water temperature by cascade hydropower stations built on upper and middle reaches of the Wujiang River[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2009, 18(4): 337-342 (in Chinese).
- [49] Strickler K M, Fremier A K, Goldberg C S. Quantifying effects of UV-B, temperature, and pH on eDNA degradation in aquatic microcosms[J]. *Biological Conservation*, 2015, 183: 85-92.
- [50] Deagle B E, Jarman S N, Coissac E, et al. DNA metabarcoding and the cytochrome c oxidase subunit I marker: not a perfect match[J]. *Biology Letters*, 2014, 10(9): 20140562.
- [51] Elbrecht V, Vamos E E, Meissner K, et al. Assessing strengths and weaknesses of DNA metabarcoding-based macroinvertebrate identification for routine stream monitoring[J]. *Methods in Ecology & Evolution*, 2017, 8(10): 1265-1275.
- [52] 李晗溪, 黄雪娜, 李世国, 等. 基于环境 DNA-宏条形码技术的水生生态系统入侵生物的早期监测与预警 [J]. *生物多样性*, 2019, 27(5): 491-504.
Li H X, Huang X N, Li S G, et al. Environmental DNA (eDNA)-metabarcoding-based early monitoring and warning for invasive species in aquatic ecosystems[J]. *Biodiversity Science*, 2019, 27(5): 491-504 (in Chinese).

Fish diversity of the cascade hydropower reservoir area of the Wujiang River based on environmental DNA technology

CHENG Ruli, LUO Yang, ZHANG Yufeng, LI Qinghua, WANG Meng,
ZHANG Yu, LI Yingwen, SHEN Yanjun *

Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China

Abstract: A total of 36 environmental DNA samples were collected in 12 sections of the mainstream of the Wujiang River (11 cascade hydropower reservoir areas and the Fuling section entering the Yangtze River) in July 2021 to investigate the differences in fish diversity among the reservoir areas of Wujiang's cascade hydropower stations, and explore the impact of hydro-power development on fish diversity. Meanwhile, the fish diversity and species composition structure of each river section were analyzed using environmental DNA metabarcoding technology based on *CO I* gene sequence. A total of 83 864 valid *CO I* sequences were obtained from environmental DNA metabarcoding, and 423 OTUs were obtained after clustering by sequence similarity $\geq 97\%$, based on the alignment and annotation analysis of the self-built database, a total of 32 species of freshwater fish were detected in the entire Wujiang River, which belongs to 5 orders, 9 families and 25 genera, among which the Cypriniformes was the most species of all fish, accounting for about 56.25%. The results showed that the fish species diversity and species composition structure were some differences in the cascade hydropower reservoir area of the Wujiang River, indicating that the long-term barrier effect of cascade hydropower partially affected fish diversity and species composition structure. This study uses environmental DNA metabarcoding technology to investigate the fish diversity and species composition structure of the Wujiang River, which is helpful in understanding the current status of fish resources in the mainstream of the Wujiang River and provides certain scientific and technical support for the protection of fish diversity in the Wujiang River Basin.

Key words: fish diversity; cascade hydropower; environmental DNA; main stream of the Wujiang River

Corresponding author: SHEN Yanjun. E-mail: shenyanjun@cqnu.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (32202939); Natural Science Foundation of Chongqing, China (CSTB2022NSCQ-MSX0793)