

基于 eDNA 的长江流域重庆段鱼类多样性空间格局

张玉凤, 周鑫鑫, 李清华, 张家铭, 沈彦君*
重庆师范大学生命科学学院, 水生生态健康与环境安全实验室, 重庆 401331

摘要:

【目的】了解三峡大坝建成后 2003 年蓄水成库后长江流域重庆段鱼类多样性现状及空间格局演变。

【方法】本研究于 2022 年 5—6 月利用环境 DNA (eDNA) 技术对江津至巫山 6 个干流断面和 8 个重要一级支流断面的鱼类多样性进行调查。

【结果】本次调查共发现鱼类 107 种, 隶属于 7 目 20 科 74 属, 其中包括国家级保护鱼类 6 种, 长江上游特有鱼类 17 种, 以及外来鱼类 12 种。基于成库后不同时期鱼类多样性对比分析发现, 外来鱼类现状相较于三峡水库试运行期间增多。不同生境偏好的鱼类种类占比波动明显, 喜流水鱼类相较于水库试运行期间减少, 广适性鱼类增加。此外, 支流生境的鱼类 Alpha 多样性指数普遍高于其邻近的干流江段。分组模型表明江津—涪陵江段平均 Alpha 多样性指数高于涪陵—巫山江段, 组间的鱼类物种组成具有显著差异。

【结论】本研究揭示了长江流域重庆段鱼类多样性现状及格局演变, 进一步验证了 eDNA 技术在鱼类多样性监测中的可行性和高效性, 可作为传统调查方法的重要补充手段。

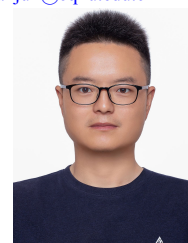
关键词: 鱼类多样性; 外来鱼类; 环境 DNA; 三峡库区

鱼类作为水域生态系统的重要组成部分^[1], 其多样性不仅对水域生态系统的平衡稳定有重要作用, 也是衡量水生态系统健康的关键性指标, 能在一定程度上反映大尺度环境变化对水生生物多样性影响的过程和机制^[2]。长江流域重庆段自江津石蟆镇进入重庆境内, 止于巫山培石镇, 境内干流江段共 691 km, 流经 17 个区县。境内流域河流数量众多, 水网复杂, 除干流江段、乌江、嘉陵江外, 流域面积超过 1 000 km² 的支流多达 16 条, 为鱼类生存繁衍提供了多样化的栖息生境^[3], 也孕育了丰富的鱼类资源和多样性^[4], 是我国淡水鱼类资源的宝库。然而, 长期以来, 水利开发、环境污染、外来鱼类引入等人类活动过度干扰^[5-8], 使得长江流域重庆段鱼类生境遭受到不同程度的破坏, 当前鱼类多样性受到严重威胁^[9-10], 资源量急剧下降, 部分鱼类甚至已经面临资源枯竭危机。因此, 制定实施科学合理的鱼类多样性保护措施不仅关乎长江流域重庆段水生生态系统的稳定健康发展, 更关系到国家长江经济带的生态发展和可持续发展^[6, 11], 而对鱼类进行生物多样性

第一作者: 张玉凤, 从事水域生态学研究, E-mail: 2668984316@qq.com



通信作者: 沈彦君, 从事生物多样性保护与群体遗传学研究, E-mail: shenyanjun@cqnu.edu.cn



资助项目: 国家自然科学基金(32202939); 重庆市水产科技创新联盟重点创新攻关项目(CQFTIU-20220101); 重庆市自然科学基金(CSTB2022NSCQ-MSX0793)

收稿日期: 2023-08-11

修回日期: 2023-11-15

文章编号:

1000-0615(2025)06-069309-16

中图分类号: S 932.4

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)



格局研究是制定科学合理的资源保护措施的基础和先决条件。

传统的鱼类多样性调查主要采用网具捕捞方式进行。然而鱼类在自然水体中的分布具有明显的时空差异性, 因此, 传统捕捞调查方法通常耗时久、成本高、工作量大, 同时捕捞网具对大部分鱼类具有损伤性, 对鱼类种群甚至群落结构可能造成一定影响。此外, 捕捞网具选择的有限性以及形态学分类专业人员的匮乏也在一定程度上制约了传统调查的准确性和可靠性^[12]。随着分子生物学技术的发展, 环境DNA (environmental DNA, eDNA) 技术应运而生, 被逐渐应用到生物多样性检测中。eDNA 技术是指以来源于环境样品, 例如水、空气和土壤等的混合 DNA 分子片段为模板^[13], 通过对特定基因片段进行 PCR 扩增、高通量测序和生物信息学分析, 从而实现生物多样性检测目的^[14-16]。

eDNA 来源多样, 包括生物体尿液、生殖细胞、黏液、脱落的肠道和皮肤细胞等, eDNA 技术允许在不捕获或者未直接观察到生物个体的情况下, 检测到物种存在与否^[17], 对生物个体、群落结构甚至生态系统不具有侵入性。eDNA 技术最早源于环境微生物学领域^[18], 在 2000 年之后得到广泛应用^[19]。Ficetola 等^[20]首次将其应用到入侵种美国牛蛙 (*Rana catesbeiana*) 分布情况的监测上, 将该技术引入水生生物研究领域。Jerde 等^[21]在北美五大湖利用 eDNA 技术监测亚洲鲤科 (Cyprinidae) 鱼类入侵情况, 发现鳙 (*Aristichthys nobilis*) 和鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 的入侵范围已经超出监管区域。徐念等^[22]利用 eDNA 技术在长江中下游检测到 15 种鱼类。Zhang 等^[23]首次将 eDNA 技术应用到长江口及邻近海域监测鱼类群落, 表明在不同季节间鱼类群落存在显著差异。当前, eDNA 技术作为一种省时高效、非破坏性的多样性检测方法正逐渐被广泛运用到水生态系统中的物种多样性调查中, 同时其应用潜能和可靠性也逐渐得到验证^[24-26]。

当前, 在长江流域“十年禁渔”和长江大保护背景下, 传统捕捞调查方法难以大规模实施, 同时其对鱼类多样性也具有一定的干扰性和破坏性^[12]。因此, 本研究于 2022 年 5—6 月采用非侵入性的 eDNA 技术对长江流域重庆段 6 个干流断面和 8 个重要支流断面的鱼类多样性进

行了调查, 一方面结合历史资料以验证 eDNA 技术的适用性和可靠性, 另一方面以期摸清流域内的鱼类多样性现状以及外来鱼类现状, 为后期流域内的鱼类多样性保护措施制定和优化提供一定的科学依据和基础资料。

1 材料与方法

1.1 不同时期鱼类历史名录整理及调查断面布设

鱼类历史名录主要综合三峡大坝建成后, 2003 年蓄水成库以来不同时期相关调查资料整理而成^[7, 27-29], 包括 2005—2008 年、2013—2015 年和 2017—2019 年。

综合流域地理特性、水文变动特征和生境多样性等特点, 本研究在长江流域重庆段共布设 6 个干流断面 (S1: 巫山断面; S3: 云阳断面; S6: 忠县断面; S8: 涪陵断面; S11: 南岸断面和 S14: 江津断面) 和 8 个重要一级支流断面 (S2: 大宁河断面; S4: 小江断面; S5: 磨刀溪断面; S7: 龙河断面; S9: 乌江断面; S10: 御临河断面; S12: 嘉陵江断面和 S13 綦江断面) (图 1)。

1.2 水样采集、eDNA 富集和测序

水样采集 在取得相关渔业主管部门批准下, 本研究于 2022 年 5—6 月进行各断面的水样采集。水样采集过程中, 各断面内分别布设 3~5 个采样点, 用采水器在断面内各采样点采集混合水体 8~10 L 后分装置于 3 个 2 L 的聚乙烯瓶中, 作为 3 个平行水样^[30]。实验前, 采水器和聚乙烯瓶均用 10% 漂白粉溶液消毒处理, 且每次采样后及时更换一次性手套以避免污染^[31]。

eDNA 富集 采集的水样储存于冷藏条件下, 在 24 h 内用真空抽滤装置将水样中遗传物质过滤在孔径为 0.45 μm 混合纤维素滤膜上 (Whatman, 英国) 较混浊的水样预先用无菌医用纱布粗过滤后再进行抽滤操作^[22]。每个采样断面的水样在抽滤时均用无菌双蒸水 (ddH_2O) 设置 1 个阴性对照, 用于评估实验过程中是否有外源 DNA 污染。同时, 每份样品在抽滤前后, 均用 10% 的漂白粉溶液对抽滤装置进行消毒处理, 并用蒸馏水洗涤以清除残留 DNA, 避免样品间交叉污染。水样抽滤完成后, 用消毒后的镊子将抽滤好的滤膜置于 4.5 mL 无酶冻存管中并做好标签, 置于 -80°C 低温保存^[24]。

DNA 提取、PCR 扩增与高通量测序 参

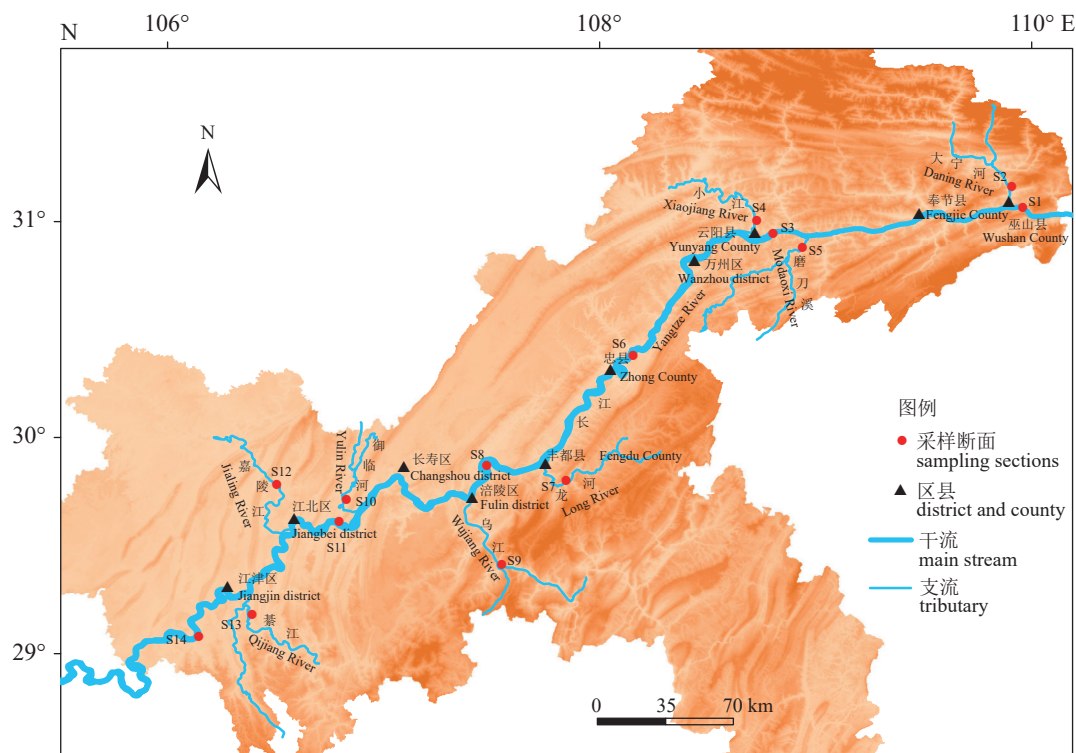


图1 长江流域重庆段鱼类eDNA采样断面分布图

S1. 巫山断面, S2. 大宁河断面, S3. 云阳断面, S4. 小江断面, S5. 磨刀溪断面, S6. 忠县断面, S7. 龙河断面, S8. 涪陵断面, S9. 乌江断面, S10. 御临河断面, S11. 南岸断面, S12. 嘉陵江断面, S13. 綦江断面, S14. 江津断面; 下同。

Fig. 1 Distribution map of eDNA sampling sections for fish in the Chongqing section of the Yangtze River Basin

S1. Wushan section, S2. Daninghe section, S3. Yunyang section, S4. Xiaojiang section, S5. Modaoxi section, S6. Zhongxian section, S7. Long river section, S8. Fuling section, S9. Wujiang section, S10. Yulin river section, S11. Nan'an section, S12. Jialin river section, S13. Qijiang section, S14. Jiangjin section; the same below.

照 DNA 提取试剂盒 PowerWater DNA Isolation Kits 说明书步骤提取滤膜中水样总 DNA, 并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 最后将提取的 DNA 样品置于 -80°C 超低温冰箱保存备用^[32]。

线粒体 12S *rRNA* 位点具高保守性与可变性, 是鱼类多样性检测效率较高的常用引物区域^[33-34]。本研究使用 12S *rRNA* 通用引物^[35](Tele02-F: 5'-AAACTCGTGCCAGCCACC-3'; Tele02-R: 5'-GGGTATCTAATCCCAGTTTG-3') 进行 PCR 扩增。反应体系为 20 μL , 包含 5 $\times$ FastPfu Buffer 4 μL , dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL , bar-PCR 上游引物 0.8 μL , 下游引物 0.8 μL , FastPfu 聚合酶 0.4 μL , 模板 DNA 10 ng, 然后加入 ddH₂O 补至 20 μL 。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 变性退火延伸为 30 个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 10 min。扩增过程同步设置以 ddH₂O 为模板的 PCR 作为阴性对照以评估是否有污染。PCR

产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后通过 Illumina NovaSeq 6000 测序平台进行高通量测序。

1.3 生物信息学分析

首先对所有样本的高通量测序结果进行质控和过滤, 并将得到的高质量序列片段根据重叠关系进行拼接。其次按照 barcode 和引物序列拆分得到每个样本的优质序列, 同时根据正反 barcode 和引物方向对序列方向进行校正。最后用 Usearch 软件和 gold 数据库, 采用 de novo 和 reference 结合的方式去除嵌合体。

按照序列相似度 $\geq 99\%$ 进行操作分类单元 (OTU) 聚类, 将 OTU 代表序列与 MitoFish 数据库 (<http://mitofish.aori.u-tokyo.ac.jp/>) 及 NCBI 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行比对和分类注释以获取 OTU 相对丰度表。分析过程中, 每个采样断面的 3 个平行样品中, 未匹配到鱼类物种的序列被剔除, 匹配到的序列取 3 个平行样品结果的均值。OTU 注释分析时筛选标准

参数为 identity 值 $\geq 97\%$, $E\text{-value} \leq 10^{-5}$, $\text{cover} \geq 0.9$, 且将比对至同一物种的 OTU 合并, 若 OTU 未比对至种水平则向上一级分类地位统计^[36]。

鱼类物种有效学名、分类地位、生态类型、外来鱼类、长江上游特有鱼类及国家级保护鱼类参照已有文献^[7, 27, 37]、Fishbase 数据库、《四川鱼类志》^[38]《贵州鱼类志》^[39]和《国家重点保护野生动物名录》^[40]等进行分类整理。

1.4 鱼类多样性分析

基于 OTU 聚类分析结果对各断面鱼类进行 Alpha 和 Beta 多样性分析、物种组成分析、生态类型分析、相对序列丰度分析等。由于长江流域重庆段不同地理位置断面受库区蓄水影响差异显著^[41], 库区水位变更, 重庆江津至涪陵之间区域始终为稳定水库环境, 而涪陵至巫山江段在夏季会恢复为自然河流状态。本研究以涪陵为界将研究区域划分为 S1~S7 组和 S8~S14 组; 以干支流为标准划分为干流组和支流组。同时基于物种组成和序列丰度对各分组进行 t 检验及非度量多维尺度分析 (NMDS) 分析。

1.5 优势序列物种分析

基于物种序列数计算各物种的序列数占比, 取 $Y > 0.02$ 为优势序列物种^[42], 计算公式:

$$f_i = T_i / T \quad (1)$$

$$Y = n_i / N f_i \quad (2)$$

式中, f_i 为出现频率 (%), Y 为优势度指数。 T_i 为第 i 种鱼类出现的采样断面数量 (个), T 为采样断面总数 (个)。 n_i 为第 i 种鱼类 OTU 序列数 (个), N 为鱼类 OTU 总序列数 (个)。

2 结果

2.1 鱼类物种组成现状

本研究基于 eDNA 技术在长江流域重庆段共检测到鱼类 107 种, 隶属于 7 目 20 科 74 属, 其中包括国家级保护鱼类 6 种, 长江上游特有鱼类 17 种, 以及外来鱼类 12 种。从分类地位等级组成上看, 目水平占比最多的为鲤形目 (Cypriniformes) (69.16%), 其次为鲇形目 (Siluriformes) (14.02%) (图 2-a)。科水平为鲤科鱼类最多 (54.21%), 鳅科 (Cobitidae) 次之 (11.21%) (图 2-b)。属水平占比较高的为薄鳅属 (*Leptobotia*) (3.74%)、拟鲢属 (*Pseudobagrus*) (3.74%), 但总体上各属鱼类所占比例无显著差异 (图 2-c)。

基于鱼类不同生态类型划分标准^[7, 27, 37] 分析显示, 长江流域重庆段整体上喜流水鱼种类

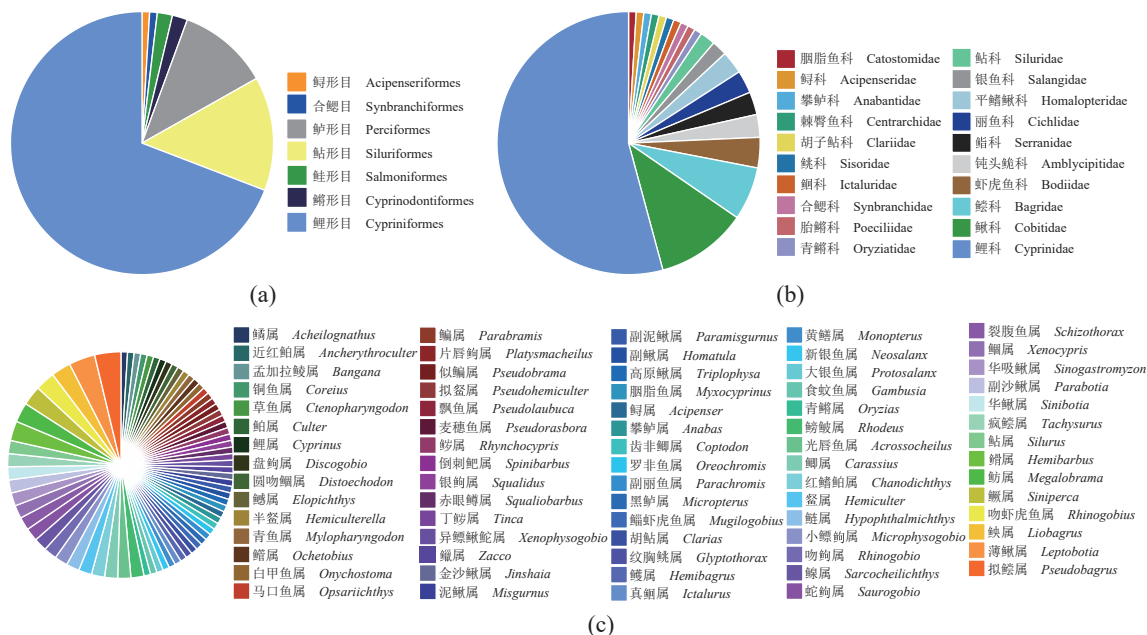


图 2 不同分类水平鱼类物种组成图

(a) 目水平, (b) 科水平, (c) 属水平; 下同。

Fig. 2 Map of fish species composition at different taxonomic levels

(a) the order level, (b) the family level, (c) the genus level; the same below.

表 1 基于 eDNA 的长江流域重庆段不同生态类型鱼类物种组成表

Tab. 1 Species composition of different ecological types of fish in Chongqing section of the Yangtze River Basin based on eDNA

类目 item	生境偏好 habitat type			食性 feeding habit			水层 water layer			产卵类型 spawning type				
	N	R	G	H	O	C	U	L	B	A	D	F	W	S
种类数/种 no. of species	38	43	26	4	67	36	20	31	56	54	7	31	3	12
占比/% proportion	35.51	40.19	24.30	3.74	62.62	33.64	18.69	28.97	52.34	50.47	6.54	28.97	2.80	11.21

注: N. 喜缓静流鱼类; R. 喜流水鱼类; G. 广适性鱼类; H. 植食性鱼类; O. 杂食性鱼类; C. 肉食性鱼类; U. 上层鱼类; L. 中下层鱼类; B. 底层鱼类; A. 黏性卵; D. 沉性卵; F. 漂流性卵; W. 浮性卵; S. 特殊方式。
Notes: N. limnophilic fish; R. rheophilic fish; G. eurytopic fish; H. phytophagous fish; O. omnivorous fish; C. carnivorous fish; U. pelagic fish; L. lower mesopelagic fish; B. benthopelagic fish; A. adhesive egg; D. sinking egg; F. drifting egg; W. floating egg; S. special modality.

最多, 食性以杂食性、肉食性鱼类为主, 分布水层以中下层、底层鱼类居多, 产卵类型上以产黏性卵鱼类种类最多, 浮性卵最少(表 1)。
各断面鱼类物种组成结果显示, S11 检测到物种数最多(76 种), S3 最少(34 种), S14 特有鱼类数最多(13种), S3 和 S4 特有鱼类数最少(3 种)。生态类型上, 各断面占比最多的生态类型分析结果显示, S1~S4 均以广适性鱼类占比最多, S5~S8 和 S10 均以喜缓静流鱼类占

比最多, 其中 S7 广适性鱼类与喜缓静流鱼类数目相同(18 种)。S11~S14 和 S9 均以喜流水鱼类占比最多。食性及产卵类型上各断面均为杂食性、产黏性卵鱼类占比最多。分布水层除 S3、S4 和 S10 以中下层鱼类占比最多, 其余各断面均为底层鱼类占比最多(表 2)。

2.2 鱼类多样性现状

在整个研究区域, 除 S3、S11 和 S14 外,

表 2 基于 eDNA 的各断面鱼类物种组成

Tab. 2 Fish species composition based on eDNA at different sampling sections

采样断面 sampling section	组成 composition					占比最多的生态类型 ecological type with the largest proportion			
	目 order	科 family	属 genus	种 species	特有鱼类 endemic fish	生境偏好 habitat type	食性 feeding habit	水层 water layer	产卵类型 spawning type
巫山断面 S1	4	9	36	42	4	广适性 42.86%	杂食性 59.52%	底层 40.48%	产黏性卵 47.62%
大宁河断面 S2	4	9	39	45	4	广适性 40.00%	杂食性 55.56%	底层 42.22%	产黏性卵 44.44%
云阳断面 S3	4	6	30	34	3	广适性 41.18%	杂食性 55.88%	中下层, 上层 35.29%	产黏性卵 44.12%
小江断面 S4	4	8	35	42	3	广适性 40.48%	杂食性 54.76%	中下层 40.48%	产黏性卵 42.86%
磨刀溪断面 S5	5	12	45	58	6	喜缓静流 41.38%	杂食性 55.17%	底层 39.66%	产黏性卵 51.72%
忠县断面 S6	5	10	41	52	6	喜缓静流 38.46%	杂食性 61.54%	底层 42.31%	产黏性卵 55.77%
龙河断面 S7	5	11	41	53	6	广适性, 喜缓静流 33.96%	杂食性 60.38%	底层 41.51%	产黏性卵 50.94%
涪陵断面 S8	6	14	49	63	6	喜缓静流 41.27%	杂食性 57.14%	底层 39.68%	产黏性卵 47.62%
乌江断面 S9	6	14	54	73	12	喜流水 38.36%	杂食性 54.79%	底层 53.42%	产黏性卵 49.32%
御临河断面 S10	4	9	31	38	4	喜缓静流 36.84%	杂食性 57.89%	中下层 42.11%	产黏性卵 57.89%
南岸断面 S11	7	16	57	76	12	喜流水 36.84%	杂食性 56.58%	底层 52.63%	产黏性卵 50.00%
嘉陵江断面 S12	5	14	52	68	12	喜流水 39.71%	杂食性 57.35%	底层 51.47%	产黏性卵 45.59%
綦江断面 S13	3	9	45	67	12	喜流水 40.30%	杂食性 59.70%	底层 47.76%	产黏性卵 52.24%
江津断面 S14	3	9	38	56	13	喜流水 44.64%	杂食性 58.93%	底层 64.29%	产黏性卵 55.36%

各断面均以鲤形目鲤科鲤属鱼类序列丰度较高(图 3)。S3 以鲢形目银鱼科新银鱼属鱼类序列丰度最高。S11 以鲢形目钝头鲮科鲮属鱼类序列丰度较高。S14 以鲢形目鳅科副鳅属鱼类序列丰度较高。

不同生态类型鱼类序列丰度分析结果显示, S1、S2、S10、S13 和 S14 喜流水性鱼类序列数占比较高, S3 和 S6 喜缓静流鱼类序列数占比较高, 其余 7 个断面均以广适性鱼类序列数占比较高(图 4-a)。食性组成上, 各断面序列数占比较高的为杂食性和肉食性鱼类(图 4-b), 分布水层上, S1、S3、S6 和 S8 均以上层鱼类序列

数占比最高, 其余 10 个断面均以底层鱼类序列数占比最高(图 4-c)。产卵类型上, S2、S9 与 S13 以产漂流性卵鱼类序列数占比最高, S3 以产沉性卵鱼类序列数占比最高, 剩余 10 个采样断面均为产黏性卵鱼类序列数占比最高(图 4-d)。

Alpha 多样性分析主要通过计算各断面的 Chao1^[43] 指数、Coverage 指数、Shannon^[44] 指数和 Simpson^[45] 指数(表 3)。各断面的 Coverage 指数均在 0.992 506~0.998 987, 表明测序深度基本覆盖全部 OTU 数据, 能够反映样本真实情况。Chao1 指数最高为 S5, 最低为 S3, 表明 S5 群落丰富度最高, S3 最低。Shannon 指数和

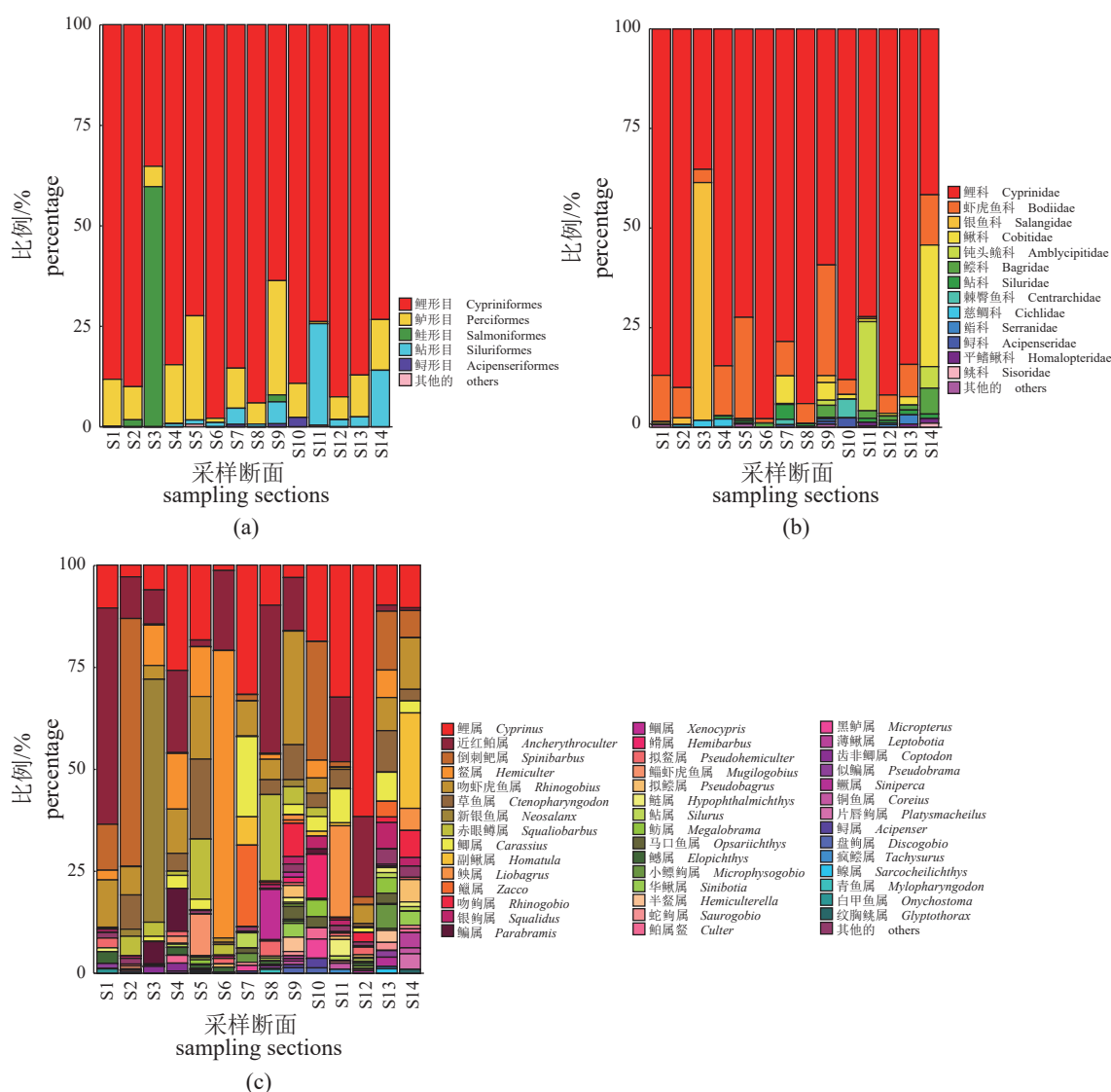


图 3 各分类等级不同鱼类在各采样断面序列占比图

序列丰度较低的目科属合并为其他。

Fig. 3 The sequence proportion of different fish species at different sampling sections

Orders with lower sequence abundance were combined as others.

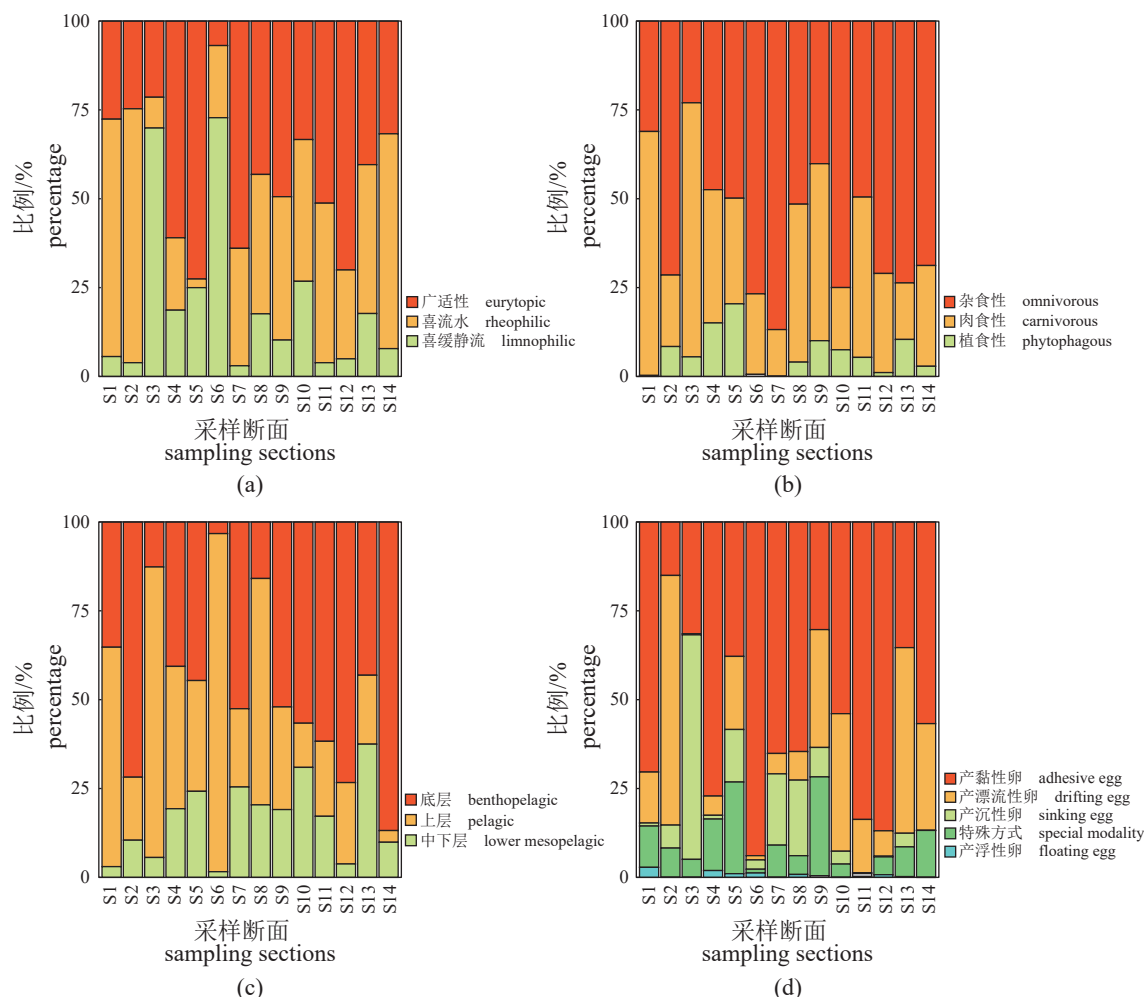


图 4 基于序列数的不同生态类型鱼类占比图

(a) 不同生境偏好鱼类序列占比; (b) 不同食性鱼类序列占比; (c) 不同水层鱼类序列占比; (d) 不同产卵类型鱼类序列占比。

Fig. 4 The proportion of different ecological types of fish based on sequence number

(a) percentage of fish sequences with different habitat preferences; (b) percentage of sequences of fish with different diets; (c) percentage of fish sequences in different water layers; (d) percentage of sequences of fish of different spawning types.

Simpson指数结果均表明 S13 多样性最高, S6 最低。此外, 除 S2 和 S12 外, 其余支流断面的 Shannon 指数普遍高于临近的干流断面。

2.3 分组划分比较分析

以涪陵为界划分的 S1~S7 和 S8~S14 中, 基于鱼类物种组成数目分析, t 检验结果显示组间差异显著 ($P=0.014$), 基于物种序列数的 t 检验结果显示组间无显著差异 ($P=0.788$)。多样性指数分析结果表明, S8~S14 的 Shannon 指数平均值 (3.52) 高于 S1~S7 (2.80) (表 4)。

S1~S7 各断面共有物种为 25 种, 平均物种数为 46 种。S8~S14 各断面共有物种为 19 种, 平均物种数为 63 种。特有鱼类在 S1~S7 均为 6 种

及以下, S8~S14, 除 S10 外 (4 种), 其余均为 6 种及以上, 且有一种特有鱼类厚颌鲂 (*M. pellegrini*) 仅在支流中检测到。生态类型组成层面, 各断面、食性、水层和产卵类型占比最多的生态类型相似, 生境偏好上, S1~S7 多数以广适性鱼类占据优势, S8~S14 多数以喜流水鱼类占据优势 (表 2)。

以干、支流生境划分, 基于鱼类物种组成数目和序列数分析表明干流组和支流组间无显著差异。多样性指数分析表明支流组 Shannon 指数平均值 (3.40) 高于干流组 (2.85) (表 4)。

干流组各断面共有物种为 22 种, 平均物种数为 53 种。支流组各断面共有物种为 17 种, 平均物种数为 55 种。特有鱼类在干流组及支流

表 3 各断面 Alpha 多样性指数

Tab. 3 Alpha diversity index at different sampling sections

采样断面 sampling section	Chao1 指数 Chao1 index	覆盖指数 coverage index	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index
巫山断面 S1	126 0	0.992 859	2.41	0.288 2
大宁河断面 S2	166 1	0.998 39	2.34	0.318 9
云阳断面 S3	115 1	0.997 338	2.65	0.220 7
小江断面 S4	235 4	0.998 531	3.36	0.102 5
磨刀溪断面 S5	291 2	0.998 224	3.80	0.069 6
忠县断面 S6	136 4	0.998 132	1.95	0.375 7
龙河断面 S7	202 5	0.998 477	3.15	0.121 2
涪陵断面 S8	202 0	0.997 641	2.93	0.170 6
乌江断面 S9	273 3	0.997 176	3.94	0.055 4
御临河断面 S10	129 7	0.992 506	3.87	0.052 2
南岸断面 S11	178 6	0.998 895	3.26	0.109 5
嘉陵江断面 S12	180 3	0.998 987	2.53	0.279 3
綦江断面 S13	278 0	0.998 029	4.22	0.041 6
江津断面 S14	211 5	0.997 613	3.92	0.048 9

表 4 不同分组模型信息

Tab. 4 Information of different grouping models

分组 group		平均物种数 average number of species	平均Shannon指数 average Shannon index	t检验结果 t-test results	t-test results
				基于物种数 based on the no. of species	基于序列数 based on the no. of sequences
干支流分组 grouping of main and tributary streams	干流组	53	2.85	0.828	0.116
	支流组	55	3.40		
以涪陵为界分组 grouping based on Fuling	S1~S7	46	2.80	0.014*	0.788
	S8~S14	63	3.52		

注：“*”代表差异显著($P<0.05$)。

Notes: "*" means significant difference ($P<0.05$).

组无明显差异。生态类型组成层面,除生境偏好外,各断面占比最多的生态类型相似,生境偏好上,干、支流组也无明显差异(表 2)。

此外,基于序列丰度的 NMDS 分析结果显示,干流和支流组之间没有显著差异(图 5-a),S1~S7 与 S8~S14 之间同样无显著差异(图 5-b),干流和支流组 stress 均为 0.131,表明图形具有一定解释意义^[46]。

2.4 优势序列物种

本研究基于 eDNA 序列数计算的优势序列物种有 8 种(表 5),除真吻虾虎鱼(*R. similis*)外,均为鲤科鱼类,优势度最高的鱼类为鲤(*C. carpio*)和汪氏近红鲃(*A. wangi*)。

3 讨论

3.1 鱼类多样性组成

本研究基于 eDNA 技术在长江流域重庆段共检测到鱼类 7 目 20 科 74 属 107 种,与 2017—2019 年^[7]传统调查结果相比,有 76 种鱼类与之相同,与之不同的 31 种鱼类也均为该流域已记录种类^[27, 38, 47],表明 eDNA 技术在鱼类多样性检测中具有较好的适用性。

各断面鱼类组成情况对比分析表明,S3 物种数最少,鲢形目银鱼科新银鱼属鱼类序列丰度较高,表明该断面太湖新银鱼(*N. taihuensis*)数量可能较多。S11 物种数目最多,可能因为该干流断面受库区环境影响较小^[41],能为更多

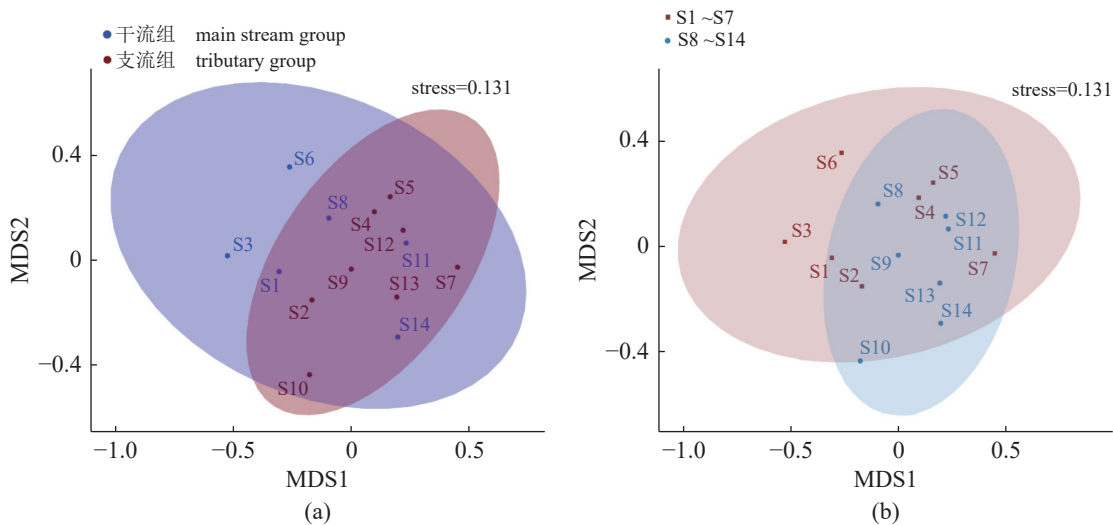


图5 不同分组模型 NMDS 分析

(a) 干支流分组模型 NMDS 分析; (b) 以涪陵为界分组模型 NMDS 分析。

Fig. 5 NMDS analysis of different grouping models

(a) NMDS analysis of the main stream-tributary grouping model; (b) NMDS analysis of the Fuling-boundary-based grouping model.

表 5 基于 eDNA 的长江流域重庆段优势序列物种

Tab. 5 The dominant sequence species of Chongqing section of the Yangtze River Basin based on eDNA

种类 species	优势度指数 Y
鲤 <i>C. carpio</i>	0.215
汪氏近红鲌 <i>A. wangi</i>	0.124
中华倒刺鲃 <i>Spinibarbus sinensis</i>	0.073
张氏鲮 <i>Hemiculter tchangi</i>	0.068
真吻虾虎鱼 <i>R. similis</i>	0.066
草鱼 <i>C. idella</i>	0.059
鲫 <i>C. auratus</i>	0.043
赤眼鲮 <i>Squaliobarbus curriculus</i>	0.040

鱼类提供适宜的栖息环境, 且该断面鲃形目钝头鲃科鲃属鱼类序列丰度较高, 表明该江段白缘鲃(*L. marginatus*) 数量可能较多。S14 特有鱼类种类最多, 且该断面鲃形目和鲃科副鲃属鱼类序列丰度较高, 鲃形目序列丰度较其他采样断面高主要是由于白缘鲃序列丰度较高导致, 鲃科副鲃属鱼类序列丰度较高的原因为短体副鲃(*H. potanini*) 序列丰度较高, 表明该断面这两种鱼数量可能较多。且 S14 虽为干流断面, 但地理位置偏自然河段, 生境条件受蓄水影响程度较小, 适合更多喜流水生境的特有鱼类生存。

各断面生态类型组成对比分析表明, 占比最多的生态类型除生境偏好外, 其余生态类型

差异并不明显。生境偏好整体结果表明, 临近三峡库区库首位置的江段 (S1~S4) 基本为广适性鱼类占据优势, 临近库中位置的江段 (S5~S10) 为喜缓静流鱼类占据优势, 临近库尾位置的江段 (S11~S14) 为喜流水鱼类占据优势。这可能是因为库区蓄水形成的环境更有利于广适性鱼类生存^[9-10], 且库区运行造成的水流速度变缓、水位升高及水沙特性等改变^[48-49]也更适合喜缓静流鱼类生存。库尾江段由于仍保留一定的流水生境, 能为喜流水和产漂流性卵鱼类提供一定的生存空间, 因此喜流水鱼类种类也相对较多^[50]。

各断面不同生态类型序列数对比分析表明, 在 5 个喜流水鱼类序列丰度较高的断面中 (S1、S2、S10、S13 和 S14), 3 个 (S2、S10 和 S13) 为支流断面, 可能因为支流断面保留了更多自然河流条件, 适宜更多喜流水鱼类生存。2 个 (S14 和 S1) 为干流断面, 可能因为 S14 为偏自然河段, 受库区影响较小, 适宜更多喜流水鱼类生存, 而 S1 喜流水鱼类序列数较多的原因主要是汪氏近红鲌序列丰度较高。食性上, 各断面均为杂食性及肉食性鱼类序列占比较高, 这可能与杂食性及肉食性鱼类种类较多, 植食性鱼类较少有关。水层分布上, 各支流均为底层鱼类序列数占比较高, 表明底层鱼类数量可能较多, 且有相关研究表明, 三峡库区重要支流

鱼类以底栖为主^[47]。产卵类型上, 相较于其他断面, S3 因太湖新银鱼序列数较高使得产沉性卵鱼类序列数占比较高, 表明其数量可能较多。

基于 Chao1 指数的多样性分析结果显示, S5 群落丰富度最高, S3 最低, 可能暗示磨刀溪生境条件适宜, 且有相关研究表明磨刀溪回水区河段存在多种产黏沉性卵鱼类的产卵场^[51], 这可能也是该断面群落丰富度较高的原因。S3 丰富度较低, 可能是受到库区蓄水改变了原有生态环境^[11]和外来鱼类压缩本土鱼类生存空间^[52]等的影响。Shannon 指数和 Simpson 指数结果均显示, S13 多样性指数最高, S6 最低, 这在一定程度上表明远离三峡库区的支流较库区内干流受库区影响较小。

分组模型比较结果显示, 以涪陵为界分组, 组间鱼类物种数差异显著, 且 S8~S14 平均物种数、特有鱼类数量及 Shannon 指数平均值高于 S1~S7, 这可能表明涪陵—江津江段生境条件适宜于更多鱼类物种栖息, 且有相关研究表明, 重庆江津至涪陵之间区域在冬季高水位运行期会因蓄水形成大面积回水区, 在夏季又恢复为自然河流状态, 较涪陵—巫山江段始终为稳定水库环境, 不同水位环境变更及部分河流状态的保持, 使涪陵—江津江段栖息地结构更复杂^[53], 可为更多鱼类提供适宜生长环境。此外, 4—5 月繁殖季节上游鱼类所产漂流性卵也可漂流至库尾河段生长, 增加鱼类数量^[54]。生态类型组成对比分析表明, S1~S7 龙河断面组多数以广适性鱼类占据优势, S8~S14 多数以喜流水鱼类占据优势, 这可能与三峡库区季节间水位变动密切相关, 涪陵—江津江段保留了更多自然河流生境, 可能适合更多喜流水鱼类生存, 而涪陵—巫山江段由于始终处于库区环境, 可能更适合广适性鱼类生存^[9-10, 41]。

库区内支流和干流组的物种数并无显著差异。支流组的平均物种数及 Shannon 指数平均值略高于干流组, 而鱼类多样性与生境异质性、河流面积等相关^[55-56], 可能说明支流的生境条件相对干流更适宜鱼类栖息。且除 S2 大宁河断面和 S12 嘉陵江断面外, 其他支流的 Shannon 指数都比附近的干流段高一些。S2 附近为人类生活区, 人为活动频繁, 可能在一定程度上影响了该区域的鱼类分布。S12 多样性指数较低可能是嘉陵江本身作为长江上游主要支流

之一, 各种水利工程建设对鱼类生存、产卵繁殖也造成了一定程度的干扰^[57], 进而影响鱼类物种多样性。

3.2 多样性格局演变分析

长江上游特有鱼类数量 2017—2019 年^[7]最多 (27 种), 占比 18.75%; 2005—2008 年^[28-29]次之 (20 种), 占比 17.39%; 2013—2015 年^[27]最少 (12 种), 占比 14.46%; 2022 年本研究共检测到 17 种, 占比 15.89%。不同时期特有鱼类数量对比分析表明, 特有鱼类数量波动明显, 现状较三峡水库试运行期间减少。同时不同时期优势物种变动也较大, 原本在试运行期间占据优势的圆口铜鱼 (*C. guichenoti*)、宜昌鳅鲇 (*G. filifer*) 和蒙古鲌 (*C. mongolicus*) 不再占据优势, 出现短颌鲚 (*C. brachygnathus*) 和鳊等新的优势物种。

不同时期鱼类生态类型组成对比分析表明, 生境偏好上, 喜缓静流鱼类种类占比在 2013—2019 年两个时期呈上升趋势, 这可能与库区蓄水导致水环境更适合喜缓静流鱼类生存密切相关。但本次研究结果中, 喜缓静流鱼类种类占比与试运行期间相似, 这可能是由于库区稳定运行后, 鱼类逐渐适应库区环境, 种群结构趋于稳定^[27], 也可能是由于本次研究时间跨度较小, 调查到的鱼类名录较少, 使得结果可能存在一定偏差。广适性鱼类则呈现先上升后下降再上升的趋势, 最终种类占比仍略高于试运行期间, 喜流水鱼类则呈现先下降再上升的趋势, 最终种类占比仍略低于试运行期间, 这可能也与库区蓄水密切相关。库区蓄水后生境条件更适合广适性和喜缓静流鱼类生存, 且库区蓄水及水利工程的实施破坏了部分喜流水鱼类的生境, 使其无法正常生存和繁衍^[7], 同时广适性鱼类和喜缓静流鱼类种类增加也可能在一定程度上挤占喜流水鱼类的生存空间 (图 6-a)。食性上, 不同时期不同食性鱼类的种类占比总体上趋于稳定, 但占比最高的均为杂食性鱼类, 可能表明, 杂食性鱼类的竞争生存能力较强 (图 6-b)。水层分布上, 三种栖息水层鱼类所占比例均有不同程度波动, 但折线整体趋于平缓, 这可能也与鱼类群体对库区水环境的适应有关 (图 6-c)。产卵类型上, 不同时期均以产黏性卵鱼类占比最多, 这可能表明, 产黏性卵鱼类较其他产卵类型鱼类有一定优势 (图 6-d)。

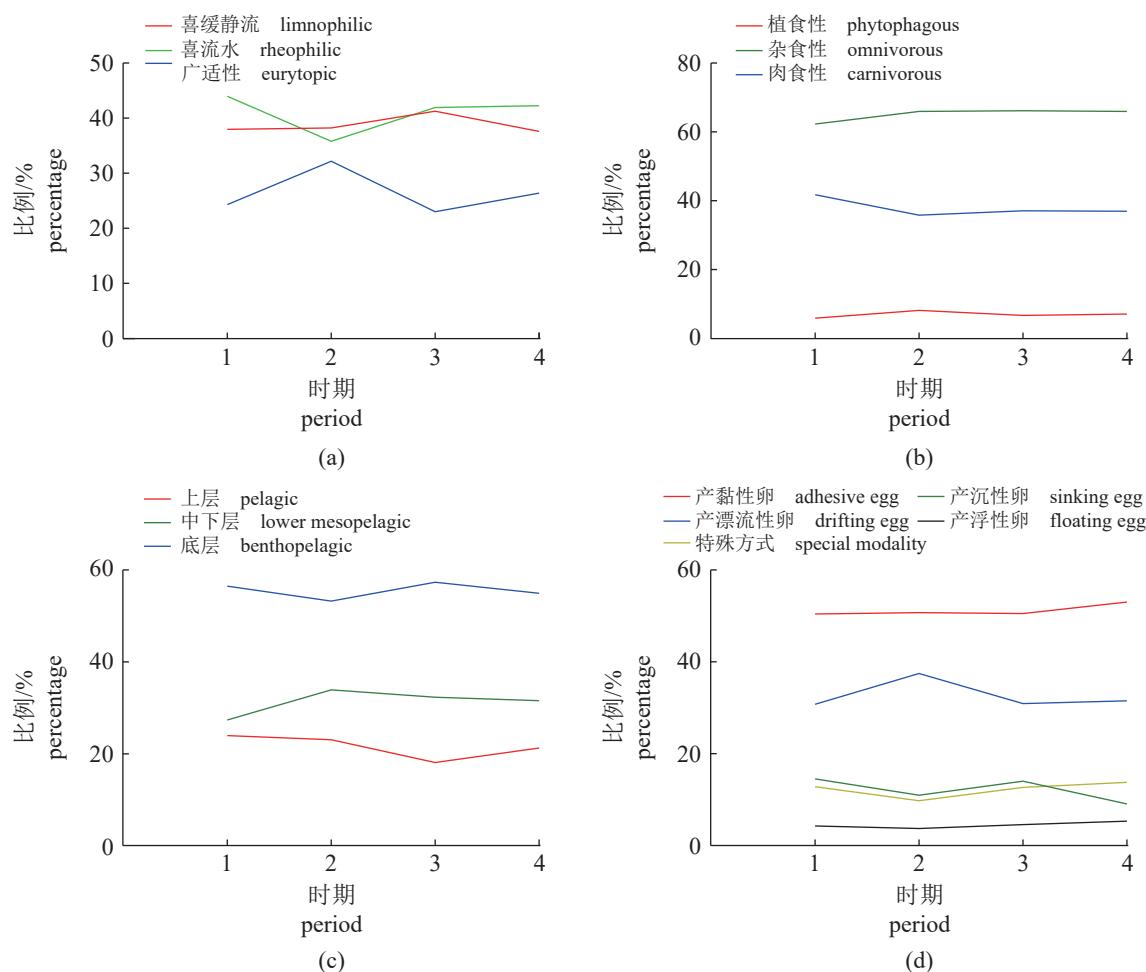


图 6 不同生态类型鱼类物种占比历史变动

(a) 生境偏好, (b) 食性, (c) 水层, (d) 产卵类型; 1. 2005—2008 年, 2. 2013—2015 年, 3. 2017—2019 年, 4. 2022 年。

Fig. 6 Historical changes in the proportion of fish species of different ecological types

(a) habitat types, (b) feeding habits, (c) water layer, (d) spawning type; 1. 2005-2008, 2. 2013-2015, 3. 2017-2019, 4. 2022.

总体上, 近年来区域内喜流水鱼类种类下降, 广适性鱼类种类上升明显, 其他生态类型鱼类种类占比在不同时期均有波动, 整体趋于稳定。因此, 加强鱼类重要栖息地的修复和保护, 特别是喜流水鱼类的栖息生境保护是十分必要的。

3.3 外来鱼类变动及其潜在影响

2005—2008 年^[28-29] 外来鱼类种类有 7 种, 占比 6.09%, 2013—2015 年^[27] 有 2 种, 占比 2.41%, 2017—2019 年^[7] 有 20 种, 占比 13.89%, 本次研究共调查到外来鱼类 12 种, 占比 11.2%, 从历史演变来看, 总体上长江流域重庆段外来鱼类种类增多。且本次研究中外来鱼类序列数占比为 4.34%, 表明外来鱼类在该区域已有一定的种群数量。虽然相较于种类占比, 目前这

些外来鱼类的序列数占比较小, 但这些外来鱼类基本都具有喜缓静流、食性广等生态类型特点。因此, 未来仍然存在种群增长并挤占其他本土鱼类生存空间的可能^[7]。本研究中调查到的外来鱼类太湖新银鱼, 有研究表明其引入云南湖泊后, 由于其种群扩张导致了鳊浪白鱼 (*A. grahami*) 等土著鱼类灭绝^[52]。本研究中, 相较于其他断面, S3 银鱼序列数明显偏高, 甚至已超过鲤形目鱼类序列总数。已有研究表明三峡库区银鱼优势种为太湖新银鱼, 自 2006 年以来种群便迅速增长^[7, 58-59], 近期在涉及该断面的长江专项调查结果也表明其优势度极高。

研究表明, 外来鱼类主要源于养殖逃逸、人为无序放流和渔业捕捞运输等途径^[60]。库区蓄水后水域生态环境转变, 生态系统结构和功能受到强烈干扰, 鱼类群落结构的变动可能形

成部分空缺的生态位, 并可能给部分外来鱼类定居和扩散提供一定的条件。外来种一旦入侵成功, 将严重挤压土著种生存空间, 随着时间效应, 将对土著鱼类的生存和繁衍带来巨大威胁, 降低其遗传多样性, 造成种群衰退, 甚至可能导致土著种的灭绝^[6]。

因此, 加强对外来鱼类的跟踪监测和入侵风险评估十分必要。根据本研究周围养殖情况, 外来鱼类多数来自养殖逃逸, 建议在水产养殖中应当建造物种隔离及防逃设施。

3.4 eDNA 的局限性

本研究基于 eDNA 技术在长江流域重庆段检测到较为丰富的鱼类物种多样性, 其中有 76 种鱼类与近期的 (2017—2019 年) 传统调查结果相同, 与传统调查方法相比, eDNA 技术所需时间成本及人力成本较低, 且 eDNA 技术对鱼类个体、群落结构甚至生态系统都不具有侵入性。然而, 对比传统调查结果, 仍有 69 种鱼类未在本研究中检测到。一方面可能与本研究调查周期较短、调查季节单一以及所设断面的整体代表性不够等因素有关; 另一方面, eDNA 技术本身的局限性也可能影响物种的检出率。研究表明, 环境 DNA 产生及降解易受水温、pH、紫外线等一系列环境因子影响^[61], 且未能明确的各类环境条件对检测情况的影响是环境 DNA 进一步实地调查的难点^[62]。此外, 12S rRNA 标志基因保守性较大, 序列较短, 辨别近缘物种的程度不够^[63], 有待于后续进一步优化。

4 结论

本研究运用 eDNA 技术揭示了长江流域重庆段鱼类多样性现状及结构差异, 并结合历史资料进行分析, 表明三峡库区蓄水过程已经对长江流域重庆段鱼类多样性造成一定影响, 广适性鱼类种类上升与喜流水鱼类种类下降明显, 外来鱼类的入侵和繁殖也将进一步影响土著鱼类生存, 降低鱼类多样性。江津—涪陵江段较涪陵—巫山江段受三峡库区运行影响较小, 适宜于更多喜流水鱼类和特有鱼类生存, 长江支流的生物多样性高于干流江段。此外, 在“长江十年禁渔”的背景下, eDNA 技术的高效性和非破坏性的优势, 可作为长江流域重庆段渔业资源监测的重要辅助工具。

参考文献 (References):

- [1] Lundberg J G, Kottelat M, Smith G R, *et al.* So many fishes, so little time: an overview of recent ichthyological discovery in continental waters[J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 2000, 87(1): 26-62.
- [2] Rashleigh B. Relation of environmental characteristics to fish assemblages in the upper French broad river basin, north Carolina[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2004, 93(1-3): 139-156.
- [3] 何滔, 黎学练, 郑永华, 等. 长江重庆段干流与主要支流鱼类分布的比较分析 [J]. *淡水渔业*, 2016, 46(3): 47-51.
He T, Li X L, Zheng Y H, *et al.* Comparative analysis of fish distribution between main stream and tributaries in Chongqing district of the Yangtze River[J]. *Freshwater Fisheries*, 2016, 46(3): 47-51 (in Chinese).
- [4] 中国水产科学研究院长江水产研究所. 《三峡地区渔业资源开发规划研究》成果报告 [R]. 荆州: 中国水产科学研究院长江水产研究所, 1990.
Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences. Report on the results of the study on the planning of fishery resources development in the Three Gorges area[R]. Jingzhou: Report on the results of research on fishery resources development planning in the Three Gorges area, 1990 (in Chinese).
- [5] Wang J Z. Three Gorges Project: the largest water conservancy project in the world[J]. *Public Administration and Development*, 2002, 22(5): 369-375.
- [6] 巴家文, 陈大庆. 三峡库区的入侵鱼类及库区蓄水对外来鱼类入侵的影响初探 [J]. *湖泊科学*, 2012, 24(2): 185-189.
Ba J W, Chen D Q. Invasive fishes in Three Gorges Reservoir area and preliminary study on effects of fish invasion owing to impoundment[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2012, 24(2): 185-189 (in Chinese).
- [7] 魏念, 张燕, 吴凡, 等. 三峡库区鱼类群落结构现状及变化 [J]. *长江流域资源与环境*, 2021, 30(8): 1858-1869.
Wei N, Zhang Y, Wu F, *et al.* Current status and changes in fish assemblages in the three gorges reservoir[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2021, 30(8): 1858-1869 (in Chinese).
- [8] 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.
Li C. A preliminary analysis of the impacts of the cascade hydropower development on the fish biodiversity in the upper reach of the Yangtze River[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2012 (in Chinese).
- [9] Baxter R M. Environmental effects of dams and

- impoundments[J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 1977, 8: 255-283.
- [10] Martinez P J, Chart T E, Trammell M A, *et al.* Fish species composition before and after construction of a main stem reservoir on the White River, Colorado[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1994, 40(3): 227-239.
- [11] 段辛斌, 陈大庆, 刘绍平, 等. 长江三峡库区鱼类资源现状的研究 [J]. *水生生物学报*, 2002, 26(6): 605-611.
- Duan X B, Chen D Q, Liu S P, *et al.* Studies on status of fishery resources in three gorges reservoir reaches of the Yangtze River[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, 26(6): 605-611 (in Chinese).
- [12] 顾志刚, 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 [J]. *中国农学通报*, 2023, 39(6): 157-164.
- Xie Z G, Ruan G. Sensitivity and effectiveness evaluation of environmental DNA metabarcoding for monitoring fish species diversity in stream and reservoir waters[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2023, 39(6): 157-164 (in Chinese).
- [13] Amos W, Whitehead H, Ferrari M J, *et al.* Restrictable DNA from sloughed cetacean skin; its potential for use in population analysis[J]. *Marine Mammal Science*, 1992, 8(3): 275-283.
- [14] Deiner K, Bik H M, Mächler E, *et al.* Environmental DNA metabarcoding: transforming how we survey animal and plant communities[J]. *Molecular Ecology*, 2017, 26(21): 5872-5895.
- [15] Dejean T, Valentini A, Duparc A, *et al.* Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems[J]. *PLoS One*, 2017, 6(8): e23398.
- [16] Yoccoz N G. The future of environmental DNA in ecology[J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(8): 2031-2038.
- [17] 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.
- [18] Goldberg C S, Turner C R, Deiner K, *et al.* Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species[J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2016, 7(11): 1299-1307.
- [19] Hänfling B, Handley L L, Read D S, *et al.* Environmental DNA metabarcoding of lake fish communities reflects long-term data from established survey methods[J]. *Molecular Ecology*, 2016, 25(13): 3101-3119.
- [20] 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.
- [21] Jerde C L, Mahon A R, Chadderton W L, *et al.* "Sight - unseen" detection of rare aquatic species using environmental DNA[J]. *Conservation Letters*, 2011, 4(2): 150-157.
- [22] 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).
- [23] Zhang H, Yoshizawa S, Iwasaki W, *et al.* Seasonal fish assemblage structure using environmental DNA in the Yangtze estuary and its adjacent waters[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2019, 6: 515.
- [24] 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).
- [25] Fujii K, Doi H, Matsuoka S, *et al.* Environmental DNA metabarcoding for fish community analysis in backwater lakes: a comparison of capture methods[J]. *PLoS One*, 2019, 14(1): e0210357.
- [26] 程如丽, 罗杨, 张玉凤, 等. 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 [J]. *水产学报*, 2025, 49(3): 039310.
- Cheng R L, Luo Y, Zhang Y F, *et al.* Fish diversity of the cascade hydropower reservoir area of the Wujiang River based on environmental DNA technology[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2025, 49(3): 039310 (in Chinese).
- [27] 董纯, 杨志, 龚云, 等. 三峡库区干流鱼类资源现状与物种多样性保护 [J]. *水生态学杂志*, 2019, 40(1): 15-21.
- Dong C, Yang Z, Gong Y, *et al.* Fish resource status and biodiversity conservation in the main channel of Three Gorges Reservoir[J]. *Journal of Hydroecology*, 2019, 40(1): 15-21 (in Chinese).
- [28] 吴强, 段辛斌, 徐树英, 等. 长江三峡库区蓄水后鱼类资源现状 [J]. *淡水渔业*, 2007, 37(2): 70-75.
- Wu Q, Duan X B, Xu S Y, *et al.* Studies on fishery resources in the Three Gorges Reservoir of the Yangtze river[J]. *Freshwater Fisheries*, 2007, 37(2): 70-75 (in Chinese).
- [29] 杨少荣, 高欣, 马宝珊, 等. 三峡库区木洞江段鱼类群落结构的季节变化 [J]. *应用与环境生物学报*, 2010, 16(4): 555-560.
- Yang S R, Gao X, Ma B S, *et al.* Seasonal dynamics of fish community in Mudong section of the Three Gorges Reservoir of the Yangtze River, China[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2010, 16(4): 555-560 (in Chinese).
- [30] 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.
- Luo J S. Assessing fish diversity in plateau lakes in central Yunnan Province using environmental DNA[D]. Kunming: Yunnan University, 2019 (in Chinese).
- [31] Pilliod D S, Goldberg C S, Arkle R S, *et al.* Estimating occupancy and abundance of stream amphibians using environmental DNA from filtered water samples[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2013, 70(8): 1123-1130.
- [32] 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).
- [33] 杨江华, 张效伟. 一种淡水鱼类线粒体 12S 通用宏条形码扩增引物及其应用方法: 中国, 109943645A[P]. 2019-06-28.
- Yang J H, Zhang X W. A mitochondrial 12S universal macrobarcode amplification primer for freshwater fish and its application: CN, 109943645A[P]. 2019-06-28 (in Chinese).
- [34] 徐田军, 孙悦娜, 王日昕, 等. 海洋鱼类线粒体 12S *rRNA* 基因扩增引物及其设计和扩增方法: 中国, 102912012B[P]. 2013-12-25.
- Xu T H, Sun Y N, Wang R X, *et al.* Amplification primers for the mitochondrial 12S *rRNA* gene of marine fishes and their design and amplification methods: CN, 102912012B[P]. 2013-12-25 (in Chinese).
- [35] 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.
- [36] Miya M, Sato Y, Fukunaga T, *et al.* MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species[J]. *Royal Society Open Science*, 2015, 2(7): 150088.
- [37] 李婷, 唐磊, 王丽, 等. 水电开发对鱼类种群分布及生态类型变化的影响——以溪洛渡至向家坝河段为例 [J]. 生态学报, 2020, 40(4): 1473-1485.
- Li T, Tang L, Wang L, *et al.* Distribution characteristics and ecological types changes in fish communities under hydro-power development from Xiluodu to Xiangjiaba reach[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(4): 1473-1485 (in Chinese).
- [38] 丁瑞华. 四川鱼类志 [M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1994.
- Li R H. The fishes of Sichuan, China[M]. Chengdu: Sichuan Publishing House of Science & Technology, 1994 (in Chinese).
- [39] 伍律. 贵州鱼类志 [M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1989.
- Wu L. Fish of Guizhou[M]. Guiyang: Guizhou People's Publishing House, 1989 (in Chinese).
- [40] 国家林业和草原局, 农业农村部. 《国家重点保护野生动物名录》(2021 年 2 月 1 日修订)[J]. 野生动物学报, 2021, 42(2): 605-640.
- National Forestry and Grassland Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. List of wild animals under state key conservation (revised on February 1, 2021)[J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2021, 42(2): 605-640 (in Chinese).
- [41] 吴兴蓉. 三峡库区支流鱼类多样性及其对水库环境的响应 [D]. 重庆: 西南大学, 2021.
- Wu X R. Fish Diversity in tributaries of the three gorges reservoir and its responses to the reservoir formation[D]. Chongqing: Southwest University, 2021 (in Chinese).
- [42] 杜龙飞, 徐建新, 李彦彬, 等. 北京市主要河流鱼类群落的空间格局特征 [J]. 环境科学研究, 2019, 32(3): 447-457.
- Du L F, Xu J X, Li Y B, *et al.* Fish community characteristics and spatial pattern in major rivers of Beijing City[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2019, 32(3): 447-457 (in Chinese).
- [43] Chao A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population[J]. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1984, 11(4): 265-270.
- [44] Shannon C E. A mathematical theory of communication[J]. *The Bell System Technical Journal*, 1948, 27(3): 379-423.
- [45] Simpson E H. Measurement of diversity[J]. *Nature*, 1949, 163(4148): 688.
- [46] Fasham M J R. A Comparison of nonmetric multidimensional scaling, principal components and reciprocal averaging for the ordination of simulated coenoclines, and coenoplanes[J]. *Ecology*, 1977, 58(3): 551-561.
- [47] 解崇友, 牛亚兵, 罗德怀, 等. 三峡库区重要支流鱼类多样性初探 [J]. 长江流域资源与环境, 2018, 27(12): 2747-2756.
- Xie C Y, Niu Y B, Luo D H, *et al.* A preliminary study on fish diversity for some important branches of Three Gorges Reservoir[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2018, 27(12): 2747-2756 (in Chinese).
- [48] 朱文浩, 李云, 闫金波. 三峡水库蓄水前后皇华城河段水流条件变化及泥沙冲淤分析 [J]. 科学技术与工程, 2015, 15(11): 95-99.
- Zhu W H, Li Y Z, Yan J B. Flow condition changes and sediment analysis of Huanghuacheng River reach before and after impoundment of the Three Gorges Reservoir[J]. *Science Technology and Engineering*, 2015, 15(11): 95-99 (in Chinese).
- [49] 毛海涛, 王正成, 林荣, 等. 三峡水库蓄水后上下游河段水沙特性变化及影响因素分析 [J]. 水资源与水工程学报, 2019, 30(5): 161-169.
- Mao H T, Wang Z C, Lin R, *et al.* Analysis of water-sediment characteristics and influence factors of upper and lower river reaches before and after impoundment of Three Gorges Reser-

- voir[J]. *Journal of Water Resources and Water Engineering*, 2019, 30(5): 161-169 (in Chinese).
- [50] 杨志, 唐会元, 朱迪, 等. 三峡水库 175 m 试验性蓄水期库区及其上游江段鱼类群落结构时空分布格局 [J]. *生态学报*, 2015, 35(15): 5064-5075.
- Yang Z, Tang H Y, Zhu D, *et al.* Spatiotemporal patterns of fish community structures in the Three Gorges Reservoir and its upstream during the 175-m-deep impoundment[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(15): 5064-5075 (in Chinese).
- [51] 阮瑞, 张燕, 沈子伟, 等. 三峡消落区鱼卵、仔稚鱼种类的鉴定及分布 [J]. *中国水产科学*, 2017, 24(6): 1307-1314.
- Ruan R, Zhang Y, Shen Z W, *et al.* Identification and distribution of fish eggs and larvae in the water-level fluctuation zone of Three Gorges Reservoir[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2017, 24(6): 1307-1314 (in Chinese).
- [52] 熊飞, 李文朝, 潘继征, 等. 云南抚仙湖鱼类资源现状与变化 [J]. *湖泊科学*, 2006, 18(3): 305-311.
- Xiong F, Li W C, Pan J Z, *et al.* Status and changes of fish resources in Lake Fuxian, Yunnan Province[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2006, 18(3): 305-311 (in Chinese).
- [53] 王宝强, 刘学勤, 彭增辉, 等. 三峡水库底栖动物群落结构特征及其与蓄水前资料的比较 [J]. *水生生物学报*, 2015, 39(5): 965-972.
- Wang B Q, Liu X Q, Peng Z H, *et al.* The community structure of zoobenthos in the three gorges reservoir: a comparison before and after the impoundment[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, 39(5): 965-972 (in Chinese).
- [54] 曹文宣. 有关长江流域鱼类资源保护的几个问题 [J]. *长江流域资源与环境*, 2008, 17(2): 163-164.
- Cao W X. Issues related to the conservation of fish resources in the Yangtze River Basin[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2008, 17(2): 163-164 (in Chinese).
- [55] Oberdorff T, Dias M S, Jézéquel C, *et al.* Unexpected fish diversity gradients in the Amazon basin[J]. *Science Advances*, 2019, 5(9): eaav8681.
- [56] Hugueny B, Movellan A, Belliard J. Habitat fragmentation and extinction rates within freshwater fish communities: a faunal relaxation approach[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2011, 20(3): 449-463.
- [57] Zhang H, Kang M, Shen L, *et al.* Rapid change in Yangtze fisheries and its implications for global freshwater ecosystem management[J]. *Fish and Fisheries*, 2020, 21(3): 601-620.
- [58] 邵晓阳, 黎道峰, 潭路, 等. 三峡库区银鱼生长特点及资源分析 [J]. *生态学报*, 2011, 31(17): 4858-4865.
- Shao X Y, Li D F, Tan L, *et al.* The study on ice-fish resources in the Three Gorges Reservoir[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(17): 4858-4865 (in Chinese).
- [59] 王红丽, 黎明政, 高欣, 等. 三峡库区丰都江段鱼类早期资源现状 [J]. *水生生物学报*, 2015, 39(5): 954-964.
- Wang H L, Li M Z, Gao X, *et al.* The status of the early stage fish resources in the Fengdu section of the Three Gorges Reservoir[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, 39(5): 954-964 (in Chinese).
- [60] 郇珊, 陈家宽, 王小明. 淡水鱼类入侵种的分布、入侵途径、机制与后果 [J]. *生物多样性*, 2016, 24(6): 672-685.
- Li S, Chen J K, Wang X M. Global distribution, entry routes, mechanisms and consequences of invasive freshwater fish[J]. *Biodiversity Science*, 2016, 24(6): 672-685 (in Chinese).
- [61] 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.
- [62] Shogren A J, Tank J L, Egan S P, *et al.* Riverine distribution of mussel environmental DNA reflects a balance among density, transport, and removal processes[J]. *Freshwater Biology*, 2019, 64(8): 1467-1479.
- [63] Mishra P, Kumar A, Nagireddy A, *et al.* DNA barcoding: an efficient tool to overcome authentication challenges in the herbal market[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 14(1): 8-21.

Spatial patterns of fish diversity in the Chongqing section of the Yangtze River Basin based on eDNA

ZHANG Yufeng, ZHOU Xinxin, LI Qinghua, ZHANG Jiaming, SHEN Yanjun *

*Laboratory of Water Ecological Health and Environmental Safety, College of Life Sciences,
Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China*

Abstract: Fish diversity not only plays a pivotal role in maintaining the balance and stability of aquatic ecosystems, but also serves as a critical indicator for assessing the health status of freshwater ecosystems. However, prolonged anthropogenic disturbances, including hydraulic development, environmental pollution, and the introduction of exotic fish species, have resulted in varying degrees of habitat degradation for ichthyofauna in the Chongqing section of the Yangtze River Basin, posing severe threats to contemporary fish biodiversity. This study aimed to investigate the current status and spatial pattern evolution of fish diversity in the Chongqing section of the Yangtze River Basin following reservoir impoundment. From May to June 2022, environmental DNA (eDNA) technology was employed to survey fish diversity across six mainstream sections (from Jiangjin to Wushan) and eight important primary tributary sections. A total of 107 fish species were detected, belonging to 7 orders, 20 families, and 74 genera. These included 6 nationally protected species, 17 endemic species to the upper Yangtze River, and 12 exotic species. Comparative analysis of post-impoundment periods revealed an increase in exotic species compared to the trial operation phase of the Three Gorges Reservoir. Notably, the proportion of rheophilic fish species declined, while eurytopic fish species increased. Tributary habitats exhibited higher alpha diversity indices than adjacent mainstream sections. The grouping model demonstrated that the Jiangjin-Fuling section had a higher average alpha diversity index than the Fuling-Wushan section, with statistically significant differences in fish community composition between the groups. This study elucidates the current status and spatial pattern evolution of fish diversity in the Chongqing section of the Yangtze River Basin. It further validates the feasibility and efficiency of eDNA technology for fish diversity monitoring, positioning it as a robust complement to traditional survey methods.

Key words: fish diversity; exotic fishes; environmental DNA (eDNA); the Three Gorges Reservoir area

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

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (32202939); Chongqing Aquatic Science and Technology Innovation Union Key Innovation Research Project (CQFTIU-20220101); Chongqing Natural Science Foundation (CSTB2022NSCQ-MSX0793)