

基于 eDNA 宏条形码的金沙江中下游大型底栖无脊椎动物多样性*

陈锦贤¹, 吕佳林¹, 黄贵英², 宁冶霜¹, 彭智奇¹, 陈晓¹, 戈昕宇¹, 陈凯³, 王备新^{1**}

(1: 南京农业大学植物保护学院, 南京 210095)

(2: 浙江泰顺县环境监测站, 温州 325000)

(3: 温州市环境科技有限公司, 温州 325000)

摘要: 金沙江是长江上游的重要生态屏障区, 水生生物资源丰富但受梯级水电站开发影响严重。eDNA 宏条形码技术可以高效、标准化地获取生物多样性数据, 是国内外学者广泛认可的可替代传统生物多样性监测方法的技术。为探究金沙江干流大型底栖无脊椎动物(底栖动物)多样性空间特征和影响因子, 2021 年 2 月采用 eDNA 宏条形码技术和传统方法调查了金沙江中、下游干流河段 16 个样点的底栖动物, 并监测了水体理化因子, 收集了水坝环境数据。eDNA 宏条形码技术共检测到底栖动物 4 门 6 纲 15 目 24 科 46 个可操作分类单元, 传统形态学调查法共检测到 3 门 5 纲 9 目 19 科 29 属, 两种检测方法均发现双翅目多样性最高。eDNA 序列及形态学多维度数据的分析都表明金沙江中、下游的底栖动物群落组成差异显著, 基于 eDNA 的优势类群及群落 α 多样性指数均有显著差异。典范对应分析显示, 海拔、高锰酸盐指数及样点上游电站年平均发电量是影响底栖动物群落特征的关键环境因子。研究结果表明, 金沙江中下游底栖动物多样性存在明显的空间差异, 梯级水电开发是底栖动物群落的主要胁迫因子。本研究为金沙江水生生物多样性保护与监测方法的改进提供了参考依据。

关键词: eDNA; 形态学; 底栖动物; 群落结构; 水电站开发

Diversity of macroinvertebrate in the middle and lower reaches of the Jinsha River based on eDNA metabarcoding *

Chen Jinxian¹, Lv Jialin¹, Huang Guiying², Ning Yeshuang¹, Peng Zhiqi¹, Chen Xiao¹, Ge Xinyu¹, Chen Kai³ & Wang Beixin^{1**}

(1: College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, P.R.China)

(2: Taishun County Environmental Monitoring Station, Wenzhou 325000, P.R.China)

(3: Wenzhou Environmental Technology Co., Ltd., Wenzhou 325000, P.R.China)

Abstract: The Jinsha River serves as a vital ecological barrier in the upper reaches of the Yangtze River. This area has been abundant in aquatic biological resources but is being severely impacted by the cascade hydropower stations along its watercourse. eDNA metabarcoding can efficiently and standardly obtain biodiversity data, widely recognized by both domestic and international researchers as a technology capable of replacing traditional methods for biodiversity monitoring. To explore the spatial pattern of benthic macroinvertebrate diversity and the related influencing factors in the Jinsha River mainstream, eDNA metabarcoding and traditional methods were used to sample the macroinvertebrates at 16 sampling sites along the mainstream of the middle and lower reaches of the Jinsha River in February 2021. Water physicochemical variables were simultaneously measured, and environmental data of hydropower stations were collected. The eDNA metabarcoding technique detected a total of 46 operational taxonomic units (OTUs) across 4 phyla, 6 classes, 15 orders, and 24 families of benthos, while traditional morphological survey methods identified 29 genera within 3 phyla, 5 classes, 9 orders, and 19 families. Both methods found that Diptera had the highest diversity. The middle and lower reaches of the Jinsha River showed significant differences in macroinvertebrate community composition, as re-

* 2024-06-29 收稿; 2024-08-19 收修改稿。

生态环境部生物多样性调查与评估项目(2019HJ2096001006)和国家自然科学基金项目(41771052)联合资助。

** 通信作者; E-mail: wangbeixin@njau.edu.cn。

vealed by both eDNA sequences and morphological abundance data. In addition, eDNA methods further detected the remarkable differences in the dominant taxa and alpha diversity between middle and lower reaches. Canonical correspondence analysis identified altitude, permanganate index, and the average annual power generation of hydropower stations in the upper reach of sampling sites as the key environmental factors affecting macroinvertebrate communities. Our results highlighted the significant differences in macroinvertebrate diversity between the middle and lower reaches of the Jinsha River and cascade hydropower development is the major stressor on macroinvertebrates. Our findings provide a reference for the improvement of biodiversity conservation and monitoring methods for aquatic organisms in the Jinsha River.

Keywords: eDNA; morphology; macroinvertebrate; community structure; hydroelectric power station development

受人类活动影响,淡水生态系统的生物多样性丧失速度明显高于海洋和陆地生态系统^[1]。科学准确地揭示生物多样性丧失过程与机制,对淡水生物多样性保护有重要意义^[2]。快速、高效和标准化获取生物多样性监测数据,对揭示生物多样性丧失过程与机制有重要作用。eDNA 宏条形码(environmental DNA metabarcoding)技术具有非侵入性、高灵敏性、流程标准化等优点,被认为是未来替代生物多样性传统监测与调查方法的重要技术^[3]。eDNA 包括生物体经由体表、尿液、粪便、黏液等释放到环境中表皮细胞的胞内 DNA,以及细胞死亡裂解后释放到环境中的胞外 DNA^[4]。eDNA 宏条形码技术是指通过高通量测序手段批量检测 eDNA 条形码的方法来监测物种多样性。在水域生态系统,eDNA 宏条形码技术已成功应用于濒危稀有物种、入侵物种监测^[5-6]和评估群落生物多样性^[7]等。研究表明,eDNA 方法监测到的鱼类物种丰富度与传统方法相当或更高^[8-9],但监测大型底栖无脊椎动物(底栖动物)不同生物类群时两种方法有各自的优势和局限性。例如,在监测昆虫纲时 eDNA 比传统方法更高效,软体动物与传统方法相当,但对环节动物的监测弱于传统方法^[10]。目前,国内应用 eDNA 方法监测水生生物多样性的研究以鱼类为主,针对淡水底栖动物多样性的研究相对较少^[11]。

长江上游的金沙江孕育了丰富的水生生物资源,其中不乏珍稀鱼类、浮游动植物和底栖动物^[12]。金沙江也是水能资源极其丰富和开发利用程度最高的流域之一,水电基地数量位于全国首位^[13]。然而,水电站建设通常导致水生生物资源严重衰退,加速生物多样性的丧失,甚至严重破坏区域生态平衡^[14]。底栖动物活动范围相对固定,对环境变化敏感,被广泛应用于水质生物监测与水生态质量评估^[15]。本研究以底栖动物作为生物评价的指示生物,结合传统方法和 eDNA 宏条形码技术,揭示金沙江中下游干流底栖动物多样性特征,分析环境因素和梯级水电站运行对底栖动物多样性的影响,为金沙江干流水生生物多样性提供数据和监测方法支持。

1 材料与方法

1.1 研究区域与样点设置

金沙江全长约 2290 km,以云南石鼓镇和四川攀枝花为界,分为上、中、下游 3 个河段。金沙江是长江中游中泥沙含量最多的河段,但不同季节泥沙含量差异显著,冬季河水含沙量显著低于其他季节^[16]。金沙江中下游干流因大量水电基地的建立,河流连通性和生境完整性已明显受到影响。

本研究选择枯水期(2021 年 2 月)开展野外调查,此时水体中泥沙含量最低,流速和水深都适合水样和底栖动物的采集,且获取水样 eDNA 过程中滤膜不易堵塞。样点设置参考现有国家水质考核断面,考虑支流入江河口、水电站上下游等因素,一共设置 16 个调查样点(S01~S16),其中中游河段 8 个(S01~S08),下游河段 8 个(S09~S16,图 1)。

1.2 环境因子的测定

采用便携式水质仪(Mettler toledo,SG 9)现场测定水温(WT)、pH、电导率(EC)和溶解氧(DO)(Mettler toledo,S4),按照《水和废水监测分析方法》(第四版)^[17]采集和测定水体高锰酸盐指数(COD_{Mn})、总氮(TN)、硝态氮(NO₃-N)及总磷(TP)浓度。通过中国水电顾问集团有限公司公示的各水坝环境影响报告书收集装机容量数据信息,采用 GPS 仪(Garmin eTrex)记录样点的经纬度、海拔(AL)以及水坝经纬度,并将其录入谷歌地图,采用测距工具沿河流中泓线测量样点和上游水坝之间的距离^[18]。

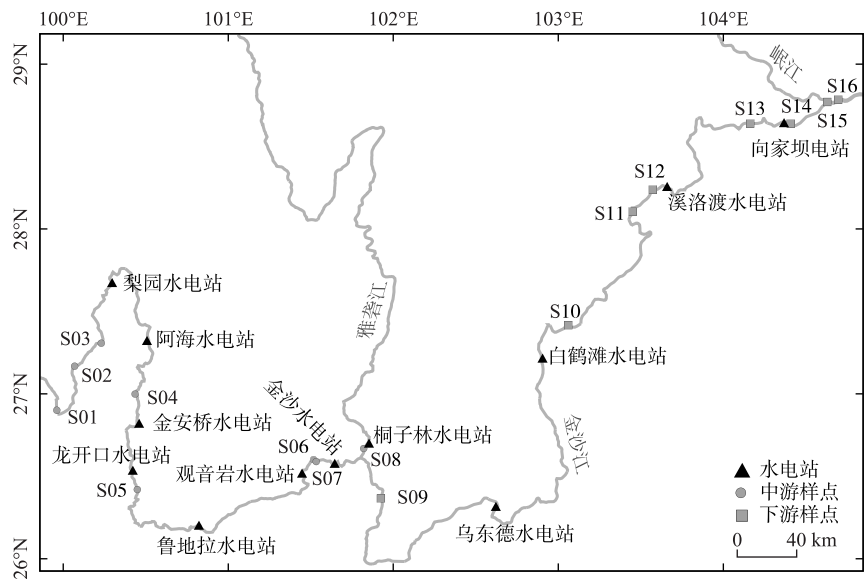


图 1 金沙江中下游采样点分布

Fig.1 Sampling sites located at the middle and lower reaches of Jinsha River

1.3 eDNA 和底栖动物样品采集

利用无菌采样瓶在每个样点采集水样,采集时至少距水面 10 cm,每个样点采集 3 个平行样品,每个平行样品采集 500 mL 且间隔至少 5 m 以上,然后用过滤器 (Nalgene 300-4100) 和玻璃微纤维滤膜 (Whatman GF/F, CAT No. 1825-047) 过滤水样^[19]。过滤后的滤膜放入离心管并暂存于液氮中,带回实验室后于 -20 ℃ 环境下保存。所有仪器和材料在使用前均紫外灭菌处理。

参照《生物多样性观测技术导则·淡水底栖大型无脊椎动物》^[20] 采集底栖动物。可涉水样点使用 D 型网 (直径 30 cm, 孔径 0.5 mm) 采集 15~20 个样方,按照多生境采样的原则合理分配不同生境中的 D 形网样方。在不可涉水 (水深 > 3 m) 点,使用 Peterson 采泥器 (1/16 m²) 在每个样点定量采集 3 个平行样^[21]。所有样本经 500 μm 孔径的分样筛清洗后装入采集瓶,加入 95% 乙醇浸没固定。于实验室内挑拣所有底栖动物个体,参照形态学资料^[22-24] 鉴定至最低的分类单元。按照鉴定的分类单元将隶属于某一类群的所有物种或 OTU 在所有点位出现的次数进行加和,记为检出属次,以进一步探究两种方法的一致性。

1.4 eDNA 提取、扩增与测序

eDNA 采用上海生工 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒提取^[19]。首先将滤膜剪成约 3 mm 的碎片,置于无菌离心管中,并加入 ACL 缓冲液与蛋白酶 K 消解 6 h,随后参照试剂盒说明步骤完成 eDNA 提取。将 500 mL 超纯水过滤后的样本设为阴性对照 (SN)。

使用通用引物 mlCOLintF/jgHCO2198 扩增线粒体 COI 基因,正向引物为 mlCOLintF: 5'-GGWACWGGWT-GAACWGTWTAYCCYCC-3',反向引物为 jgHCO2198: 5'-TANACYTCNGGRTGNCRAARAAYCA-3',目标片段长度约为 313 bp^[25-26]。在每对引物的 5'末端分别添加 8 个核苷酸作为标签,以区分每个测序组中的样品。所有 eDNA 样品进行 3 次 PCR 重复。本研究采用 50 μL 反应体系,包括 44 μL MIX (北京擎科,金牌 MIX)、2 μL 正向引物 (10 μmol/L)、2 μL 反向引物 (10 μmol/L) 和 2 μL DNA 模板。扩增程序为:94 ℃,5 min;16 个循环:95 ℃,10 s,62 ℃,30 s (每个循环依次减少 1 ℃),72 ℃,60 s;25 个循环:95 ℃,10 s,46 ℃,30 s,72 ℃,30 s;65 ℃,5 min^[19]。利用浓度为 2% 的琼脂糖凝胶对每个 PCR 扩增产物进行检测。确认目标条带单一且明亮后,将每个样品的 3 个 PCR 扩增产物混合并使用 SanPrep 柱式 PCR 产物纯化试剂盒 (上海生工) 进行纯化。纯化后的样品按浓度等比例混合后送至北京诺禾致源科技股份有限公司,在 Illumina Hiseq 2500 平台 250 bp PE 模式下进行测序 (总测序量为 4 Mb)。

1.5 生物信息分析

首先,利用 SEED 软件拼接组装测序数据^[27]。其次,控制筛选出质量分数(quality scores,Q)≥ 30 的序列^[28],保留长度在 308~318 bp 的序列,按照标签将序列分流为各个样点数据。接着去除引物与标签不匹配的
错误序列,删去嵌合体。然后利用 USEARCH 对所得优质序列按照大于 97%的相似度进行可操作分类单元(operational taxonomic units,OTU)聚类^[29]。接着通过 R 软件绘制稀释曲线判断样本测序深度的合理性。此外,通过 BLASTn 对所有 OTU 代表序列进行分类学注释,以中国淡水大型底栖无脊椎动物条形码数据库^[30]作为参考数据库,保留相似度≥85%的 OTU^[31],然后去除易引发假阳性错误的低丰度序列(序列丰度小于样本总丰度的 0.005%)。

1.6 统计分析

中下游河段水环境差异分析采用基于欧氏距离的 Ward-linkage 聚类分析^[32],并采用 ANOVA 方差分析法检验单个环境变量在中下游间的差异。采用相对多度数据制作弦图及热图比较 eDNA 样本和形态学鉴定结果的物种组成,用曼惠特尼 U (Mann-Whitney U)非参数检验分析比较中下游间底栖动物群落的 Shannon-Wiener 多样性指数、Simpson 多样性指数、Margalef 丰富度指数与 Pielou 均匀度指数的差异^[33]。以物种多度数据计算 Bray-Curtis 距离作为 β 多样性的度量,通过距离矩阵进行主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)比较中下游群落组成的差异性,并利用置换多元方差分析(PERMANOVA)检验基于不同方法的中下游间群落差异的显著性。利用消除趋势对应分析(detrended correspondence analysis, DCA)的轴长确定两种采集方法均采用典范对应分析(canonical correspondence analysis, CCA)来调查样点沿环境综合梯度的分布特征,使用前向选择(forward selection)确定影响群落分布的关键环境因子。CCA 分析前,通过方差膨胀系数(variance inflation factor, VIF)进行共线性检测,删去 VIF>10 的高共线性环境变量,避免由于变量间的共线性造成的结果不合理^[34]。数据分析和作图在 R 软件(Version 4.1.0)及 SPSS 22 软件中完成。

2 结果与分析

2.1 环境因子

金沙江中、下游的水体理化因子存在显著差异(表 1),中、下游采样点在聚类分析结果中被划分为不同的组(附图 I)。中游的水温和总磷浓度显著低于下游,但电导率显著高于下游($P<0.05$)。中、下游的高锰酸盐指数、pH 和溶解氧浓度之间无显著差异。

表 1 金沙江中游与下游河段环境变量差异(均值±标准差)

Tab.1 Difference in environmental variables between the middle and lower reaches of Jinsha River (mean±SD)

环境变量	中游河段	下游河段	F 检验统计量	P 值
WT/℃ *	12.19±2.159	16.88±1.622	24.11	0.00023
TP/(mg/L) *	0.01±0.005	0.04±0.028	5.505	0.0342
COD _{Mn} /(mg/L)	1.24±0.239	1.24±0.825	0	1
DO/(mg/L)	8.92±0.385	9.50±1.958	0.687	0.421
pH	8.45±0.294	8.50±0.249	0.141	0.713
EC/(μS/cm) *	656.38±250.252	457.63±55.859	4.807	0.0457

* 表示该环境变量在中下游河段间存在显著差异, $P<0.05$ 。

2.2 底栖动物物种组成

2.2.1 传统形态学方法 基于形态学方法(环节动物鉴定至纲)共检测底栖动物 3 门 5 纲 9 目 19 科 29 属(附表 I),共计出现 48 属次,平均每个点位发现 3 个属。节肢动物门丰富度最高(23 属,占比为 79.3%),其次为软体动物门(5 属,17.2%)、环节动物门(1 属,3.5%)。节肢动物门中的昆虫纲共采集到 17 属,占总分类单元数的 58.6%。目级分类水平中物种丰富度最高的为双翅目(48.3%),其次为十足目(13.8%),蜉蝣目与中腹足目均占 10.3%。物种多度最高的为双翅目(74.5%),其次为贻贝目(11.4%)、十足目(7.0%)。

2.2.2 eDNA 检测结果 所有样点共获得 2229918 条序列,经过质量控制及筛选目标片段长度后得到

1609750 条序列,去除错配的嵌合体及单倍体后剩余 747785 条序列。稀释曲线显示每个样本基本上都趋于平缓(附图 II),说明样本的测序数据量是合理的。注释分类学信息后,筛选其中相似度 $\geq 85\%$ 、覆盖度 $\geq 50\%$ 的 OTU,最终共检测到 46 个底栖动物的 OTU(共 4744 条序列),包括 4 门 6 纲 15 目和 24 科(附表 II),共计出现 88 属次,平均每个点位发现 5.5 个属。其中,节肢动物门 21 个 OTU,占 OTU 总数的 45.7%;其他依次为环节动物门(14,30.4%)、软体动物门(9,19.6%)和扁形动物门(2,4.4%)。目级水平上,物种丰富度最高的为颤蚓目,占总 OTU 数的 28.3%,其次为双翅目(17.4%)、蜉蝣目(13.0%)。物种多度最高的为帘蛤目(38.8%),其次为双翅目(25.9%)和单肠目(11.3%)。

eDNA 法在每一个样点都检测到底栖动物,但传统方法在 4 个样点未采集到底栖动物样本(图 2)。eDNA 检测到的物种丰富度显著高于传统调查法,但两种方法监测结果均表明,金沙江中游底栖动物多度高于下游。两种方法在科、属水平上共同采集到的种类较少(科:10.5%;属:5.6%;图 3),体现了两种方法在丰富度检测上的互补性。

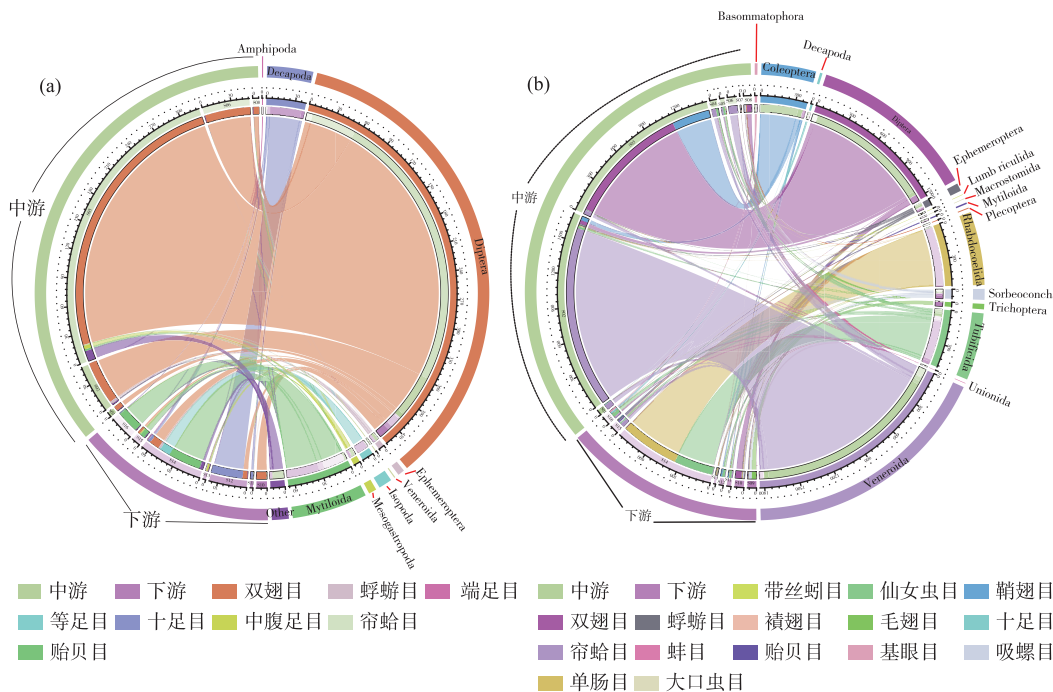


图 2 底栖动物群落组成弦图(a: 形态学;b: eDNA)(外圈:中游、下游、目级分类单元;中圈:采样点、序列丰度;内圈:采样点群落组成)

Fig.2 Chord diagram of macroinvertebrate community composition (a: morphology; b: eDNA)
(Outer circle: middle reach, lower reach, and order taxonomic category; Middle circle: sampling sites, sequence abundance; Inner circle: community composition of sampling sites)

2.3 中游和下游底栖动物群落特征

eDNA 多度数据表明,下游底栖动物群落的 Shannon-Wiener 多样性指数、Simpson 多样性指数、Pielou 均匀度指数均高于中游(图 4)。形态学多度及丰富度数据表明,中游底栖动物有较高的群落多度和较低的物种丰富度。多元方差分析检验结果表明(图 5),中下游底栖动物群落组成差异显著(eDNA: $P = 0.045$;传统方法: $P = 0.041$),其中第 1 轴的贡献率为 19.6%(eDNA)和 18.3%(传统方法),第 2 轴的贡献率为 12.3%(eDNA)和 17.2%(传统方法)。

在群落组成方面,eDNA 结果表明,前 3 位优势类群在中游依次为帘蛤目(51.7%)、双翅目(33.6%)和鞘翅目(10.7%);下游依次为单肠目(42.2%)、颤蚓目(34.2%)和双翅目(4.7%)。形态学结果表明,中游依次

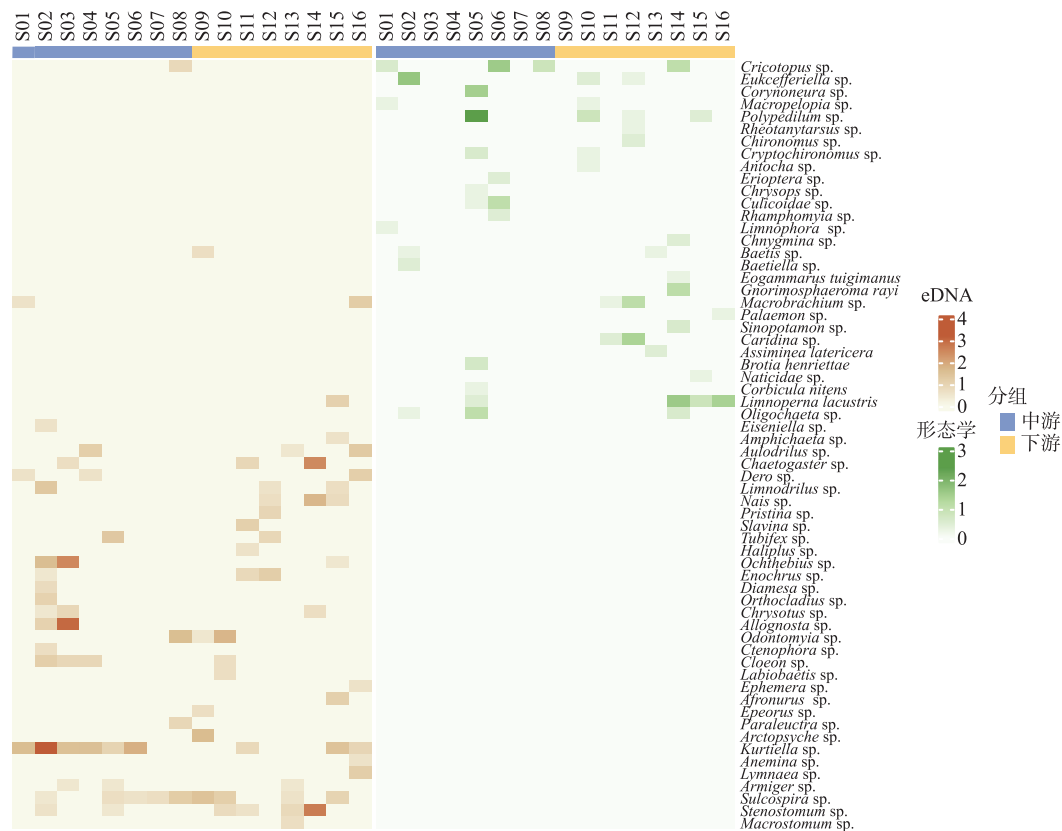


图3 底栖动物群落组成热图
(颜色梯度表示相对多度等级,eDNA 数据范围为 0~4,形态学数据范围为 0~3)

Fig.3 Heatmap of macroinvertebrate community composition (color gradients indicate relative abundance levels, with eDNA data ranging from 0 to 4 and morphological data ranging from 0 to 3)

为双翅目(94.9%)、寡毛纲(2.8%)和中腹足目(0.9%);下游依次为貽贝目(41.4%)、十足目(26.1%)和双翅目(18.5%)。利用两种监测方法均表明,双翅目类群在金沙江中下游干流占优势地位。

2.4 金沙江物种群落与环境因子的关系

基于 eDNA 多度数据,关键环境因子共解释 28.02%的样点环境差异(附表Ⅳ),前向选择结果显示,中下游底栖动物的群落结构主要受海拔与高锰酸盐指数的影响(图 6a)。其中,中游底栖动物群落结构与海拔及高锰酸盐指数均呈正相关关系,下游底栖动物群落结构与海拔及高锰酸盐指数均呈负相关关系。

基于形态学鉴定结果,关键环境因子共解释 40.35%的样点环境差异(附表Ⅳ),前向选择结果显示,中下游底栖动物的群落结构主要受海拔与样点上游电站年平均发电量的影响(图 6b)。其中,中游底栖动物群落结构与海拔呈正相关关系,与样点上游电站年平均发电量呈负相关关系,下游底栖动物群落结构与海拔呈负相关关系,与样点上游电站年平均发电量呈正相关关系。

3 讨论

3.1 金沙江底栖动物群落结构

eDNA 结果表明,金沙江中下游干流底栖动物中节肢动物为优势类群,其中以昆虫纲为主(双翅目及蜉蝣目为主要优势类群),其次是环节动物门与软体动物门,与历史研究结果一致^[35]。传统调查法在种类组成上同样以节肢动物门为优势类群,其次为软体动物门及环节动物门。本研究与同区域河段^[35]相比,软体

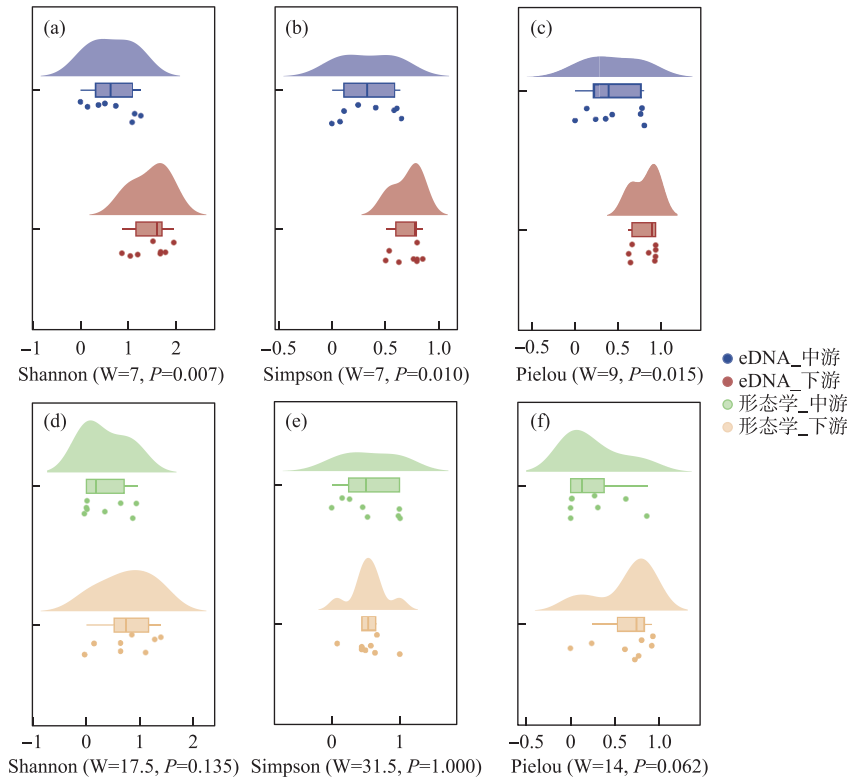


图 4 底栖动物群落多样性比较 (a: eDNA _ Shannon; b: eDNA _ Simpson; c: eDNA _ Pielou; d: 形态学 _ Shannon; e: 形态学 _ Simpson; f: 形态学 _ Pielou)

Fig.4 Comparisons of species diversity indices of macroinvertebrate (a: eDNA _ Shannon; b: eDNA _ Simpson; c: eDNA _ Pielou; d: morphology _ Shannon; e: morphology _ Simpson; f: morphology _ Pielou)

动物种类数占比升高,分析原因可能与水电站的建设有关。首先,水电站建设改变了水体的流动性和温度^[36-37],更有利于软体动物的生存和繁殖。其次,水电站建设可能导致水体中悬浮颗粒物的沉积^[38],为软体动物提供栖息地。最后,水电站建设可能导致水质富营养化^[39],间接导致刮食者多度增加。

两种方法均表明,中游物种多度更高,而下游物种丰富度更高,这可能与中、下游样点的分布与结构有关。中游干流具有 8 座梯级水电站,目前有 70% 已蓄水,非自然河段占比为 63.4%;下游包含 4 座巨型梯级水电站,且均已蓄水,非自然河段占比为 96.9%^[40]。本研究中游的底栖动物多度显著高于下游,与罗欢等^[41]关于自然河段的底栖动物密度显著高于水库河段的结论一致。梯级水电站的运行改变了自然河段的占比,进一步影响底栖动物的物种多度。另外,中游的水电站数量明显多于下游,水电站的修建可能对部分底栖动物起到拦截作用,降低其纵向漂流的连续性^[42],部分类群可能重新建立栖息地,导致其多度增加。而由于下游起始点 S09 位于中游与雅砻江的交汇处,更多底栖动物类群经水流的运输作用在此处汇集,导致下游物种丰富度增加。

3.2 eDNA 宏条形码技术在淡水底栖动物监测中的适用性

本研究证实了 eDNA 方法比传统调查法表现出明显优势。首先,eDNA 检测到的物种丰富度明显高于传统方法,与大多研究结果一致^[12,43]。其次,当前金沙江底栖动物的研究主要集中在可涉水支流^[44],干流底栖动物的研究较少,主要原因是干流河深水急,不仅采样难度大,而且安全性也低^[45]。利用 eDNA 采集,不仅提高安全系数,同时具有非侵入性、高效灵敏性等特点。本次 eDNA 检测到了传统调查法未采集到的底栖动物种类,包括扁形动物门的单肠目和大口虫目,软体动物门的 4 个目以及节肢动物门的鞘翅目、襀翅

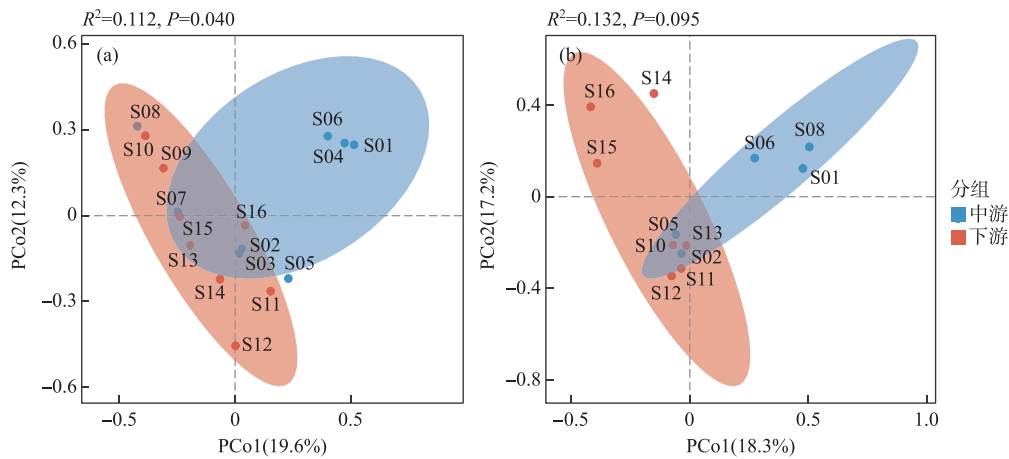


图 5 金沙江中下游样点底栖动物群落组成 PCoA 图 (a: eDNA; b: 形态学)

Fig.5 PCoA of macroinvertebrate community composition in the middle and lower reaches of Jinsha River (a: eDNA; b: morphology)

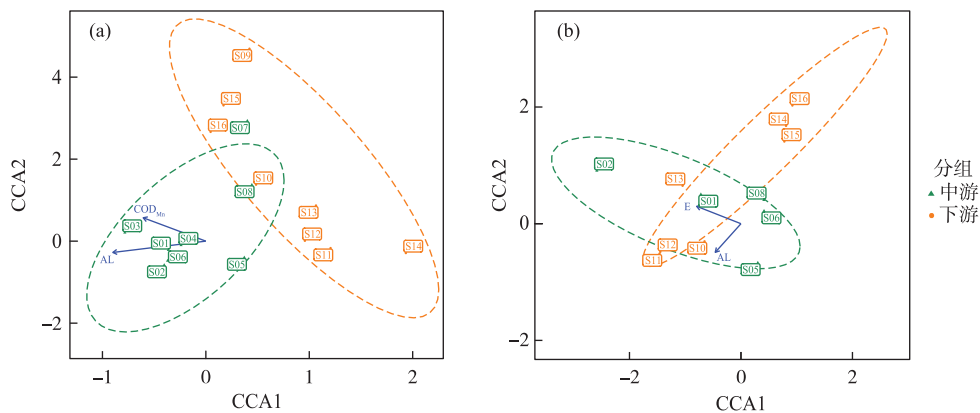


图 6 底栖动物群落组成与环境因素关系的 CCA 排序图 (a: eDNA; b: 形态学) (E: 样点上游电站年平均发电量)

Fig.6 CCA of macroinvertebrate community composition and environmental variables (a: eDNA; b: morphology) (E: average annual power generation of power station in the upper reach of sampling sites)

目、毛翅目,这可能归功于 eDNA 方法可以通过卵、幼虫、肠道内容物或微量 DNA 即可监测到物种的存在^[46],也可能是由于应用传统调查法采样时受水深、流速、底质组成和交通工具等因素影响,采集时无法覆盖采样河段的所有生境。另外,这可能与本研究采集方式有关,如:平唇水龟甲科、长足虻科及水虻科栖息的生境比较特殊^[47-48],不适用于 D 型网采集,后续建议增加传统调查法的采集方式。最后,eDNA 在每个样点均检测到底栖动物,而传统调查法有 4 个样点没有采集到样本,且只有少数样点采集到环节动物门及软体动物门(环节动物门在 S02、S05、S14 样点采集到;软体动物门在 S05、S13~S16 样点采集到),体现了 eDNA 方法在本次生物多样性研究中对传统调查法监测的补充作用,其中利用传统调查法在 S07 样点未采集到样本,反映了 eDNA 含量与物种生物量的正相关性^[49]。

传统方法监测到的端足目与等足目,eDNA 方法并未监测到,这与 Furlan 的研究结果一致,当环境中生物个体数量较少时,物种的检测难度加大,这可能导致 eDNA 检测出现假阴性结果^[50]。然而,eDNA 检测到

的帘蛤目物种多度占比最高,但传统方法个体数量远低于其他类群,表明 eDNA 在检测底栖动物数量方面仍存在局限性。研究表明,底栖动物物种条形码本地数据库不完整、通用引物的分辨率限制、目标物种 eDNA 浓度过低、样品本身的理化特性等因素均可能导致假阴性结果^[51]。由于本研究使用的本地数据库中已包括端足目与等足目的目标片段,且形态学结果表明端足目与等足目均在 S14 中被检测。然而,eDNA 并未在该样点采集到目标片段或高度聚类的片段,表明端足目与等足目类群并未被成功采集或扩增。因此,本研究猜测假阴性结果可能与通用引物的局限性或目标片段的 eDNA 浓度等有关。后续研究应逐一排除可能的影响因素,如通过多重 PCR^[52]以排除通用引物的局限性因素。另外,研究表明,死亡个体也能通过 eDNA 方法被检测^[53],但是形态结果并未将采集前已死亡的个体计入,导致两种方法检测到的帘蛤目出现多度上的偏差。因此,后续研究建议结合 eRNA 等方法以判断生物个体的存活状态。此外,不排除 eDNA 仅检测到目标对象的排泄物等胞外物质的可能。同时,在野外实验中,eDNA 对生物量估算时效率较低^[54]。因此,定量研究应成为 eDNA 后续工作重点之一。本研究中,eDNA 与传统方法监测到的物种在反映群落结构方面有较高的一致性。如:eDNA 技术检测到昆虫纲 20 个 OTU (43.5%),传统调查法检测到昆虫纲 17 个分类单元 (58.6%),两种方法均表明金沙江中下游干流的昆虫纲物种多样性最丰富。在目级水平的监测上也有较高的一致性 (35%),包括双翅目、蜉蝣目、十足目、中腹足目、帘蛤目与贻贝目。

基于流体动力学建模的方法研究表明,eDNA 在水体中随水流向下游移动的距离通常不超过 2 km^[55]。由于金沙江的水流速度较快,因此本研究设置的相邻样点之间的距离远超过 2 km。除流速外,eDNA 的生成、降解和稀释等因素均会影响其在流水系统中的检测距离和有效性^[9]。Minamoto 等^[56]研究发现,水生动物释放的 eDNA 在水体中的存留时间一般为 7~30 天,而不同生物种类的生活史特征会影响 eDNA 的释放速率。因此,本研究检测多个采集与扩增的平行样品,并确保每个采集样品间隔超过 5 m,以验证样品的重复性。尽管 eDNA 来源与激流系统的检测样点之间存在许多干扰因素,但多项研究表明,eDNA 在揭示空间生物多样性方面具有重要的参考价值^[9]。另外,由于栖息地的多样性,底栖动物 eDNA 多分布于沉积物及水体中,但是大量研究仍主要通过采集水体以获取淡水的底栖动物 eDNA^[57],与沉积物中的 eDNA 相比,水体 eDNA 具有更短的环境驻留时间,其信号更可能反映近期的生物多样性。Deiner 等^[7]认为,从工作效率和降低工作强度角度考量,在区域或流域尺度开展底栖动物多样性评估时,建议优先选择 eDNA 方法。首先,相较于传统形态学方法,eDNA 方法能显著减少采样工作量与人力成本。其次,eDNA 在水体中的扩散特性使其在流域尺度上整合多河段生物信号,与单一河段的生物多样性相比,可更高效地表征大尺度生物分布模式。综上,基于 eDNA 方法在本次调查中表现出的优势以及成本因素等,本研究认为通过 eDNA 方法监测金沙江底栖动物多样性是可行的。

3.3 金沙江底栖动物空间分布差异的影响因素

根据多元方差分析检验结果,中下游的底栖动物群落结构差异具有显著性。结合 eDNA 与形态学的 CCA 分析结果,中下游底栖动物群落的变化和海拔有关。金沙江中游海拔((1336.88±356.951)m)明显高于下游((483.38±238.98)m)(附表 III),且中游底栖动物多样性及分布均匀度更低。这与 Chinche^[58]及 Suren^[59]的研究结果一致,生物多样性在海拔高的地方会出现下降趋势。

基于 eDNA 结果表明,中下游底栖动物群落的变化与高锰酸盐指数有关,高锰酸盐指数可反映水体中有有机物及还原性无机物的污染程度,是水质监测的重要指标^[60]。金沙江下游的攀枝花至屏山河段是泥沙主要产生区间^[16],水电站的拦沙作用会导致出库沙量大幅减少^[61]。高锰酸盐指数在中游样点(S01~S08)及位于下游水电站后的样点(S10~S16)普遍偏低,位于泥沙产出区间的 S09 样点高锰酸盐指数高于其他样点约 2~3 倍。本研究结果与禹雪中等^[62]的研究结果一致,含沙量显著影响高锰酸盐指数的浓度,因此本研究认为,在金沙江流域,高锰酸盐指数很大程度上反映了泥沙含量,故而对底栖动物群落产生了显著影响。

基于形态学结果进一步表明,样点上游电站年平均发电量是影响金沙江干流底栖动物群落空间分布格局的主要影响因素之一。金沙江中游样点上游电站年平均发电量明显大于下游,物种丰富度较下游低。研究表明,梯级水坝的运行会导致底栖动物群落结构产生变化^[63]。电站发电量对群落结构的影响主要体现在水流量、水质的变化等方面,大坝发电排放的水流会扰乱物种正常的行为模式,包括产卵活动、迁徙动物的行进速度等^[64],导致物种丰富度下降。

4 结论

eDNA 宏条形码技术与传统调查方法相比,在监测金沙江中、下游干流 2 月的底栖动物群落结构时有明显的优势。eDNA 的检测效率与监测对象的生物量、条形码数据库的完整性等多个因素有关,未来应继续致力于本地数据库的完善以及 eDNA 技术的扩展研究。eDNA 监测结果表明,金沙江下游的底栖动物多样性明显高于中游,底栖动物组成的空间差异主要与海拔、高锰酸盐指数及上游电站年平均发电量有关,说明底栖动物群落组成与水域环境变化及人为干扰程度密不可分。因此,未来应积极开展长期的水生生物监测和生态多样性调查工作,重点关注生物多样性衰退的流域,加强流域生境保护,因地制宜,合理开发水坝工程。

5 附录

附表 I ~ IV 和附图 I ~ II 见电子版(DOI:10.18307/2025.0331)。

6 参考文献

- [1] Harrison I, Abell R, Darwall W *et al.* The freshwater biodiversity crisis. *Science*, 2018, **362** (6421): 1369. DOI: 10.1126/science.aav9242.
- [2] Bista I, Carvalho GR, Walsh K *et al.* Annual time-series analysis of aqueous eDNA reveals ecologically relevant dynamics of lake ecosystem biodiversity. *Nature Communications*, 2017, **8**: 14087. DOI: 10.1038/ncomms14087.
- [3] Cilleros K, Valentini A, Allard L *et al.* Unlocking biodiversity and conservation studies in high-diversity environments using environmental DNA (eDNA): A test with Guianese freshwater fishes. *Molecular Ecology Resources*, 2019, **19** (1): 27-46. DOI: 10.1111/1755-0998.12900.
- [4] Taberlet P, Bonin A, Zinger L *et al.* Environmental DNA: For biodiversity research and monitoring. Wellington Square Oxford OX1 2JD: Oxford University, DOI: 10.5555/3239824.
- [5] Thomsen PF, Kielgast J, Iversen LL *et al.* Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology*, 2012, **21** (11): 2565-2573. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05418.x.
- [6] Sepulveda AJ, Nelson NM, Jerde CL *et al.* Are environmental DNA methods ready for aquatic invasive species management? *Trends in Ecology & Evolution*, 2020, **35** (8): 668-678. DOI: 10.1016/j.tree.2020.03.011.
- [7] Deiner K, Fronhofer EA, Mächler E *et al.* Environmental DNA reveals that rivers are conveyor belts of biodiversity information. *Nature Communications*, 2016, **7**: 12544. DOI: 10.1038/ncomms12544.
- [8] Tsuji S, Takahara T, Doi H *et al.* The detection of aquatic macroorganisms using environmental DNA analysis—A review of methods for collection, extraction, and detection. *Environmental DNA*, 2019, **1** (2): 99-108. DOI: 10.1002/edn3.21.
- [9] Yao M, Zhang S, Lu Q *et al.* Fishing for fish environmental DNA: Ecological applications, methodological considerations, surveying designs, and ways forward. *Molecular Ecology*, 2022, **31** (20): 5132-5164. DOI: 10.1111/mec.16659.
- [10] Fedijaevaite J, Priestley V, Arnold R *et al.* Meta-analysis shows that environmental DNA outperforms traditional surveys, but warrants better reporting standards. *Ecology and Evolution*, 2021, **11** (9): 4803-4815. DOI: 10.1002/ece3.7382.
- [11] Cai W, Ma ZX, Yang CY *et al.* Using eDNA to detect the distribution and density of invasive crayfish in the Honghe-Hani rice terrace World Heritage site. *PLoS One*, 2017, **12** (5): e0177724. DOI: 10.1371/journal.pone.0177724.
- [12] Wei ZB, He YF, Gong JL *et al.* Temporal and spatial variation of phytoplankton community structure in the main stream of the Jinsha River. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2020, **29** (6): 1356-1365. DOI: 10.11870/cjlyzyyhj202006010. [魏志兵, 何勇凤, 龚进玲等. 金沙江干流浮游植物群落结构特征及其时空变化. 长江流域资源与环境, 2020, **29** (6): 1356-1365.]
- [13] He YF, Zhu YJ, Gong JL *et al.* Genetic diversity and population demography of *Coreius guichenoti* from the middle and lower reaches of the Jinsha River. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, **46** (1): 37-47. DOI: 10.7541/2021.2020.255. [何勇凤, 朱永久, 龚进玲等. 金沙江中下游圆口铜鱼遗传多样性与种群历史动态分析. 水生生物学报, 2022, **46** (1): 37-47.]
- [14] Li JS. Impacts and assessment on ecological environment by hydroelectric station construction. *Environmental Science Survey*, 2011, **30** (5): 81-83. [李锦胜. 水电站建设对生态环境的影响及评价. 环境科学导刊, 2011, **30** (5): 81-83.]
- [15] Rafia R, Ashok KP. Macroinvertebrates (oligochaetes) as indicators of pollution: A review. *Journal of Ecology and the Natural Environment*, 2014, **6** (4): 140-144. DOI: 10.5897/jene2014.0443.
- [16] Chen XJ. Unsteady change of water and sediment processes downstream of cascade reservoirs in the Lower Jinsha River and its influence on navigation conditions. *Journal of Hydraulic Engineering*, 2019, **50** (2): 218-224. [陈绪坚. 金沙江梯级水库下游水沙过程非恒定变化及其对通航条件的影响. 水利学报, 2019, **50** (2): 218-224.]

- [17] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法(第4版). 北京: 中国环境科学出版社 2002.
- [18] Wang FS, Maberly SC, Wang BL *et al.* Effects of dams on riverine biogeochemical cycling and ecology. *Inland Waters*, 2018, **8**(2): 130-140. DOI: 10.1080/20442041.2018.1469335.
- [19] Wang Y, Chen K, Gao J *et al.* Environmental DNA of preservative ethanol performed better than water samples in detecting macroinvertebrate diversity using metabarcoding. *Diversity and Distributions*, 2021, **27**(10): 1989-2002. DOI: 10.1111/ddi.13284.
- [20] HJ 710.8—2014, 生物多样性观测技术导则·淡水底栖大型无脊椎动物. 北京: 中华人民共和国环境保护部, 2014.
- [21] Li FL, Zhang Y, Altermatt F *et al.* Consideration of multitrophic biodiversity and ecosystem functions improves indices on river ecological status. *Environmental Science & Technology*, 2021, **55**(24): 16434-16444. DOI: 10.1021/acs.est.1c05899.
- [22] 唐红渠. 中国摇蚊幼虫系统学[学位论文]. 天津: 南开大学, 2006.
- [23] 刘月英, 张文珍, 王跃先等. 中国经济动物志·淡水软体动物. 北京: 科学出版社, 1979.
- [24] 刘文亮, 何文珊. 长江河口大型底栖无脊椎动物. 上海: 上海科学技术出版社, 2007.
- [25] Geller J, Meyer C, Parker M *et al.* Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. *Molecular Ecology Resources*, 2013, **13**(5): 851-861. DOI: 10.1111/1755-0998.12138.
- [26] Leray M, Yang JY, Meyer CP *et al.* A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: Application for characterizing coral reef fish gut contents. *Frontiers in Zoology*, 2013, **10**: 34. DOI: 10.1186/1742-9994-10-34.
- [27] Vetrovský T, Baldrian P, Morais D. SEED 2: A user-friendly platform for amplicon high-throughput sequencing data analyses. *Bioinformatics*, 2018, **34**(13): 2292-2294. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty071.
- [28] Ali MY, Pavasovic A, Amin S *et al.* Comparative analysis of gill transcriptomes of two freshwater crayfish, *Cherax cainii* and *C. destructor*. *Marine Genomics*, 2015, **22**: 11-13. DOI: 10.1016/j.margen.2015.03.004.
- [29] Carew ME, Pettigrove VJ, Metzeling L *et al.* Environmental monitoring using next generation sequencing: Rapid identification of macroinvertebrate bioindicator species. *Frontiers in Zoology*, 2013, **10**(1): 45. DOI: 10.1186/1742-9994-10-45.
- [30] Wang M, Yuan Y, Yu HY *et al.* Construction of barcode library of freshwater macroinvertebrate in China. *Environmental Monitoring in China*, 2022, **38**(1): 36-44. DOI: 10.19316/j.issn.1002-6002.2022.01.04. [王萌, 苑艺, 于海燕等. 中国淡水大型底栖无脊椎动物条形码数据库构建. 中国环境监测, 2022, **38**(1): 36-44.]
- [31] Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 2010, **26**(19): 2460-2461. DOI: 10.1093/bioinformatics/btq461.
- [32] Cao Y, Bark, Williams WP. A comparison of clustering methods for river benthic community analysis. *Hydrobiologia*, 1997, **347**(1): 24-40. DOI: 10.1023/A:1002938721135.
- [33] Ruxton GD. The unequal variance t-test is an underused alternative to Student's t-test and the Mann-Whitney U test. *Behavioral Ecology*, 2006, **17**(4): 688-690. DOI: 10.1093/beheco/ark016.
- [34] Ma XW. Diagnosis and empirical analysis on multicollinearity in linear regression model. *Journal of Huazhong Agricultural University: Social Science Edition*, 2008, (2): 78-81, 85. DOI: 10.3969/j.issn.1008-3456.2008.02.019. [马雄威. 线性回归方程中多重共线性诊断方法及其实证分析. 华中农业大学学报: 社会科学版, 2008, (2): 78-81, 85.]
- [35] Ru HJ, Zhang Y, Wu XX *et al.* Macrozoobenthos community structure and its relationship with environmental factors in the riparian zone of the lower Jinsha River. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2022, **29**(12): 1679-1692. DOI: 10.12264/JFSC2022-0200. [茹辉军, 张燕, 吴湘香等. 金沙江下游沿岸大型底栖动物群落结构及影响因素. 中国水产科学, 2022, **29**(12): 1679-1692.]
- [36] Zhang LH, Chai JX, Zhu JR *et al.* Dynamic simulation and assessment of the ecological benefits of hydropower as an alternative energy for thermal power under ecological civilization construction: A case study of Fujian, China. *Energy Science & Engineering*, 2020, **8**(7): 2426-2442. DOI: 10.1002/ese3.677.
- [37] 吴秀荣. 水电站建设的环境影响分析. 今日科苑, 2015, (8): 88-89.
- [38] Carlisle DM, Wolock DM, Meador MR. Alteration of streamflow magnitudes and potential ecological consequences: A multiregional assessment. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2011, **9**(5): 264-270. DOI: 10.1890/100053.
- [39] Yi ML, Hu HX, Lei WG *et al.* Analysis of surface water quality in Shennongjia. *Journal of Wuhan University of Science and Technology*, 2007, **30**(1): 41-45. [易梦龄, 胡鸿兴, 雷卫国等. 神农架地表水质初步调查分析. 武汉科技大学学报: 自然科学版, 2007, **30**(1): 41-45.]
- [40] Cui L, Gu HB, Gao F. Analysis and suggestions on hydropower development utilizing the natural river sections of Jinsha River. *Water Power*, 2022, **48**(1): 1-4, 129. DOI: 10.3969/j.issn.0559-9342.2022.01.001. [崔磊, 顾洪宾, 高繁. 水电开发利用金沙江自然河段的分析与建议. 水力发电, 2022, **48**(1): 1-4, 129.]
- [41] Luo H, Chen Q, Wu Q *et al.* Effects of cascade hydroelectric exploits on community structure of macrobenthos in Wujiang River. *Pearl River*, 2016, **37**(5): 80-84. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9235.2016.05.018. [罗欢, 陈睿, 吴琼等. 武汉梯级水电站开发对底栖动物群落结构的影响. 人民珠江, 2016, **37**(5): 80-84.]

- [42] Shi J, Du Y, Zhang YH *et al.* Effects of multiple runoff dams on diel drift mechanisms of macroinvertebrate. *Research of Environmental Sciences*, 2020, **33**(8): 1894-1900. DOI: 10.13198/j.issn.1001-6929.2020.05.27. [石晶, 杜颖, 张宇航等. 多级闸坝对大型底栖动物群落日漂流规律的影响. 环境科学研究, 2020, **33**(8): 1894-1900.]
- [43] Uchida N, Kubota K, Aita S *et al.* Aquatic insect community structure revealed by eDNA metabarcoding derives indices for environmental assessment. *PeerJ*, 2020, **8**: e9176. DOI: 10.7717/peerj.9176.
- [44] Lü YN, Xie Y, Wang SM *et al.* Studies about Heishui River as an alternative habitat for aquatic biodiversity protection based on macroinvertebrate community similarity. *China Environmental Science*, 2020, **40**(6): 2647-2657. [吕雅宁, 解莹, 王少明等. 基于底栖动物群落相似性的黑水河替代生境的研究. 中国环境科学, 2020, **40**(6): 2647-2657.]
- [45] Li XL, Liu Y, Wang CC *et al.* Study on fish species diversity in the East China Sea in summer based on environmental DNA technology. *Haiyang Xuebao*, 2022, **44**(4): 74-84. [李晓玲, 刘洋, 王丛丛等. 基于环境 DNA 技术的夏季东海鱼类物种多样性研究. 海洋学报, 2022, **44**(4): 74-84.]
- [46] Zieritz A, Lee PS, Eng WWH *et al.* DNA metabarcoding unravels unknown diversity and distribution patterns of tropical freshwater invertebrates. *Freshwater Biology*, 2022, **67**(8): 1411-1427. DOI: 10.1111/fwb.13926.
- [47] Deler-Hernández A, Delgado JA. The Hydraenidae of Cuba (Insecta: Coleoptera) II: Morphology of preimaginal stages of six species and notes on their biology. *Zootaxa*, 2017, **4238**(4): 451-498. DOI: 10.11646/zootaxa.4238.4.1.
- [48] 张莉莉. 中国长足虻亚科系统分类研究(双翅目:长足虻科)[学位论文]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [49] Takahara T, Minamoto T, Yamanaka H *et al.* Estimation of fish biomass using environmental DNA. *PLoS One*, 2012, **7**(4): e35868. DOI: 10.1371/journal.pone.0035868.
- [50] Furlan EM, Davis J, Duncan RP. Identifying error and accurately interpreting environmental DNA metabarcoding results: A case study to detect vertebrates at arid zone waterholes. *Molecular Ecology Resources*, 2020, **20**(5): 1259-1276. DOI: 10.1111/1755-0998.13170.
- [51] Li CH, Ling LX, Tan J *et al.* Challenge, breakthrough and future perspectives of environmental DNA technology in monitoring aquatic organisms. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2023, **32**(3): 564-574. DOI: 10.12024/jsou.20221104019. [李晨虹, 凌岚馨, 谭娟等. 环境 DNA 技术在水生生物监测中的挑战、突破和发展前景. 上海海洋大学学报, 2023, **32**(3): 564-574.]
- [52] Sint D, Raso L, Traugott M. Advances in multiplex PCR: Balancing primer efficiencies and improving detection success. *Methods in Ecology and Evolution*, 2012, **3**(5): 898-905. DOI: 10.1111/j.2041-210X.2012.00215.x.
- [53] Coble AA, Flinders CA, Homyack JA *et al.* eDNA as a tool for identifying freshwater species in sustainable forestry: A critical review and potential future applications. *Science of the Total Environment*, 2019, **649**: 1157-1170. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.370.
- [54] Carvalho CS, de Oliveira ME, Rodríguez-Castro KG *et al.* Efficiency of eDNA and iDNA in assessing vertebrate diversity and its abundance. *Molecular Ecology Resources*, 2022, **22**(4): 1262-1273. DOI: 10.1111/1755-0998.13543.
- [55] Jo T, Yamanaka H. Meta-analyses of environmental DNA downstream transport and deposition in relation to hydrogeography in riverine environments. *Freshwater Biology*, 2022, **67**(8): 1333-1343. DOI: 10.1111/fwb.13920.
- [56] Minamoto T, Fukuda M, Katsuhara KR *et al.* Environmental DNA reflects spatial and temporal jellyfish distribution. *PLoS One*, 2017, **12**(2): e0173073. DOI: 10.1371/journal.pone.0173073.
- [57] Li M, Wei TT, Shi BY *et al.* Biodiversity monitoring of freshwater benthic macroinvertebrates using environmental DNA. *Biodiversity Science*, 2019, **27**(5): 480-490. DOI: 10.17520/biods.2018227. [李萌, 尉婷婷, 史博洋等. 环境 DNA 技术在淡水底栖大型无脊椎动物多样性监测中的应用. 生物多样性, 2019, **27**(5): 480-490.]
- [58] Chinche SB, Piscart C, Medjo PM *et al.* Impact of altitude on spring macroinvertebrates and water quality in South West region of Cameroon. *International Journal of Limnology*, 2023.
- [59] Suren AM. Macroinvertebrate communities of streams in western Nepal: Effects of altitude and land use. *Freshwater Biology*, 1994, **32**(2): 323-336. DOI: 10.1111/j.1365-2427.1994.tb01129.x.
- [60] 胡睿娟. 水中高锰酸盐指数能力验证测定方法与数据处理. 科技与创新, 2022, (6): 94-96, 100.
- [61] Xu JX. Recent variations in water and sediment in relation with reservoir construction in the upper Changjiang River Basin. *Journal of Mountain Science*, 2009, **27**(4): 385-393. DOI: 10.3969/j.issn.1008-2786.2009.04.001. [许炯心. 长江上游干支流近期水沙变化及其与水库修建的关系. 山地学报, 2009, **27**(4): 385-393.]
- [62] Yu XZ, Zhong DY, Li JX *et al.* Review of studies on sediment in water environment. *Journal of Sediment Research*, 2004, **29**(6): 75-81. [禹雪中, 钟德钰, 李锦秀等. 水环境中泥沙作用研究进展及分析. 泥沙研究, 2004, **29**(6): 75-81.]
- [63] Li JP, Dong SK, Peng MC *et al.* Effects of cascading hydropower dams operation on the structure and distribution pattern of benthic macroinvertebrate assemblages in Manwan Reservoir, Southwest China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, **28**(12): 4101-4108. DOI: 10.13287/j.1001-9332.201712.033. [李晋鹏, 董世魁, 彭明春等. 梯级水坝运行对漫湾库区底栖动物群落结构及分布格局的影响. 应用生态学报, 2017, **28**(12): 4101-4108.]
- [64] Pandian TJ. Impact of dam-building on marine life. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 1980, **33**(1): 415-421. DOI: 10.1007/BF02414766.

附表 I 传统调查法检测金沙江中下游物种信息名录

Attached Tab.I Species information in middle and lower reach of Jinsha River detected by traditional survey methods																				
Phylum 门	Class 纲	Order 目	Family 科	Genus 属	S01	S02	S03	S04	S05	S06	S07	S08	S09	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16
Annelida 环节动物门	Oligochaeta 寡毛纲	/	/	/	0	1	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Arthropoda 节肢动物门	Insecta 昆虫纲	Diptera 双翅目	Chironomidae 摇蚊科	<i>Chironomus</i> 摇蚊属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
				<i>Cricotopus</i> 环足摇蚊属	3	0	0	0	0	34	0	6	0	0	0	0	0	11	0	0
				<i>Eukiefferiella</i> 真开氏摇蚊属	0	46	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0
				<i>Corynoneura</i> 棒脉摇蚊属	0	0	0	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<i>Macropelopia</i> 大粗腹摇蚊属	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
				<i>Polypedilum</i> 多足摇蚊属	0	0	0	0	270	0	0	0	0	6	0	1	0	0	2	0
				<i>Rheotanytarsus</i> 流长跗摇蚊属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
				<i>Cryptochironomus</i> 隐摇蚊属	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
			Tipulidae 大蚊科	<i>Antocha</i> 朝大蚊属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

			<i>Erioptera</i>	棉大蚊属	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
		Tabandidae 虻科	<i>Chrysops</i>	斑虻属	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Ceratopogonidae 蠓科	<i>Culicoides</i>	库蠓属	0	0	0	0	1	11	0	0	0	0	0	0	0	0
		Empididae 舞虻科	<i>Rhamphomyia</i>	猎舞虻属	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
		Muscidae 蝇科	<i>Limnophora</i>	池蝇属	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ephemeroptera 蜉蝣目	Heptageniidae 扁蜉科	<i>Cinygmina</i>	似动蜉属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
		Baetidae 四节蜉科	<i>Baetis</i>	四节蜉属	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
			<i>Baetiella</i>	花翅蜉属	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
软甲纲 Malacostraca	Amphipoda 端足目	Anisogammaridae 异钩虾科	<i>Eogammarus</i>	原钩虾属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Isopoda 等足目	Sphaeromatidae 团水虱科	<i>Gnorimosphaeroma</i>	团水虱属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0
	Decapoda 十足目	Palaemonidae 长臂虾科	<i>Macrobrachium</i>	沼虾属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	12	0	0

				<i>Palaemon</i> 长臂虾属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
				Potamidae 溪蟹科	<i>Sinopotamon</i> 华溪蟹属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	
				Atyidae 匙指虾科	<i>Caridina</i> 米虾属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	22	0	0	0	0	
Mollusca 软 体动物门	Gastropoda 腹 足纲	Mesogastropoda 中腹足目	Assimineidae 拟沼 螺科	<i>Assimineea</i> 拟沼螺属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	
			Pachychilidae 厚唇 螺科	<i>Brotia</i> 川蜷属	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Naticidae 玉螺科	/	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Bivalvia 双壳 纲	Veneroida 帘蛤目	Corbiculidae 蚬科	<i>Corbicula</i> 蚬属	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Mytiloida 贻贝目	Mytilidae 贻贝科	<i>Limnoperna</i> 股蛤属	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	35	6	24	

*表格中的数字代表物种的个体数量。

附表 II eDNA 宏条形码技术检测金沙江中下游物种信息名录

Attached Tab.II Species information in middle and lower reach of Jinsha River detected by eDNA metabarcoding

Phylum 门	Class 纲	Order 目	Family 科	Genus 属	OTU ID	Accession 凭 证号	S01	S02	S03	S04	S05	S06	S07	S08	S09	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16
Annelida 环节 动物门	Oligochaeta 寡毛纲	Lumbriculida 带 丝蚓目	Lumbricidae 正 蚓科	<i>Eiseniella</i>	OTU04611	KY284329	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Tubificida 颤蚓 目	Naididae 仙女 虫科	<i>Amphichaeta</i>	OTU05050	AF534829	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
				<i>Chaetogaster</i>	OTU03249	KF952322	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0
				毛腹虫属	OTU00250	GQ355367	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	294	0	0
					OTU03799	GQ355367	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<i>Dero</i> 尾盘虫属	OTU01741	AF054195	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
				<i>Nais</i> 仙女虫属	OTU00852	JQ519842	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	52	0	0
					OTU03741	JQ519842	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
				<i>Pristina</i> 吻盲 虫属	OTU02897	AF534855	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0
				<i>Slavina</i> 癞皮虫 属	OTU02290	MG421610	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0
			Tubificidae 颤 蚓科	<i>Aulodrilus</i> 管 水蚓属	OTU02241	CW0184	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	11
					OTU02231	LT903814	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
				<i>Limnodrilus</i> 水 丝蚓属	OTU01329	KY369750	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	4	0
				<i>Tubifex</i> 颤蚓属	OTU01409	MF669033	0	0	0	0	19	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0

Arthropoda 节肢动物门	Insecta 昆虫纲	Coleoptera 鞘翅目	Haliplidae 沼螺科	<i>Haliplus</i> 沼螺属	OTU04925	KU906700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
			Hydraenidae 平唇水龟虫科	<i>Ochthebius</i>	OTU00212	LT991359	0	38	334	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
			Hydrophilidae 水龟虫科	<i>Enochrus</i>	OTU04482	LT905356	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
					OTU01740	LT905356	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	6	11	0	0	0	0	0
		Diptera 双翅目	Chironomidae 摇蚊科	<i>Cricotopus</i> 足摇蚊属	OTU03246	JN887060	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<i>Diamesa</i> 寡角摇蚊属	OTU03672	LN897600	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<i>Orthocladius</i> 直突摇蚊属	OTU03326	Chiro_00271	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Dolichopodidae 长足虻科	<i>Chrysotus</i> 小异长足虻属	OTU02109	KR439920	0	2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
			Stratiomyidae 水虻科	<i>Allognosta</i> 距水虻属	OTU04154	KR665843	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				<i>Odontomyia</i> 短角水虻属	OTU00569	JF873407	0	0	0	0	0	0	0	37	2	53	0	0	0	0	0	0	0
			Tipulidae 大蚊科	<i>Ctenophora</i> 栉大蚊属	OTU04106	JN302481	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Ephemeroptera 蜉蝣目	Baetidae 四节蜉科	<i>Baetis</i> 四节蜉属	OTU04305	JQ662830	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0
				<i>Cloeon</i> 二翅蜉属	OTU01228	LC223554	0	13	7	7	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
				<i>Labibaetis</i> 突唇蜉属	OTU04030	MN167323	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0

				Ephemeridae 蜉	<i>Ephemera</i> 蜉蛄	OTU04884	MK951659	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
				蜉科	属																
				Heptageniidae	<i>Afronurus</i> 亚非	OTU02232	NJNU01H003	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0
				扁蜉科	蜉属																
					<i>Epeorus</i> 高翔	OTU04414	KY865686	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
					蜉属																
				Plecoptera 襁翅	Leuctridae 卷襁	<i>Paraleuctra</i> 拟	OTU02930	Ple_00026	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0
				目	科	卷襁属															
				Trichoptera 毛翅	Hydropsychidae	<i>Arctopsyche</i> 弓	OTU01032	Tri_00086	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0	0
				目	纹石蛾科	石蛾属															
Malacostraca	Decapoda 十足	Palaemonidae	<i>Macrobrachium</i>	OTU01768	MK308134	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
软甲纲	目	长臂虾科	沼虾属																		
Mollusca 软体	Bivalvia 双	Veneroida 帘蛤	Montacutidae	<i>Kurtiella</i>	OTU00066	MG935356	39	1616	32	33	9	71	0	0	0	0	6	0	0	0	0
动物门	壳纲	目	孟达蛤科		OTU01126	MG935356	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	8
				Unionida 蚌目	Unionidae 蚌科	<i>Anemina</i> 船蚌	OTU04647	NC_026792	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
						属															
				Mytiloida 贻贝	Mytilidae 贻贝	<i>Limnoperna</i> 股	OTU02347	NC_028706	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0
				目	科	蛤属															
Gastropoda	Basommatophora	Lymnaeidae 椎	<i>Lymnaea</i> 椎实	OTU01866	MN737035	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
腹足纲	基眼目	实螺科	螺属																		
					Planorbidae 扁	<i>Armiger</i>	OTU03126	KC495836	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0
					蛄螺科																
				Mesogastropoda	Pachychilidae	<i>Sulcospira</i> 沟	OTU00679	MK046719	0	0	0	0	0	3	4	15	25	13	0	0	0
				中腹足目	厚唇螺科	蛄属	OTU04282	MK046719	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
							OTU03205	MK046719	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0

Platyhelminthes	Turbellaria	Rhabdocoelida	Stenostomidae	<i>Stenostomum</i>	OTU02852	NC_035256	0	3	0	0	2	0	0	0	0	5	3	0	6	519	0	0
扁形动物门	涡虫纲	单肠目																				
		Macrostomida	Macrostomidae	<i>Macrostomum</i>	OTU04162	KY006976	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
		大口虫目	大口虫科	大口虫属																		

*表格中的数字代表物种的 read 数。

附表 III 金沙江中下游样点及环境因子信息

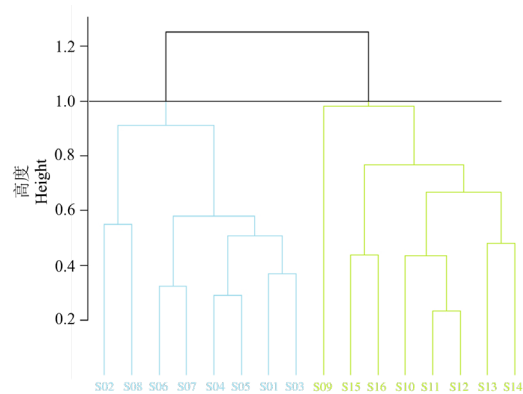
Attached Tab.III Information of sampling sites and environmental variables in middle and lower reach of Jinsha River

Site	Long.	Lat.	WT	TP	TN	COD _{Mn}	NO ₃ ⁻ -N	DO	PH	EC	AL	FV/(m/s)	H (上游水坝蓄 水位)	V (上游水坝装机 容量)	E (上游电站年平均发 电量)	N (上游大坝 数量)	X (上游水坝距 离)
S01	99.961	26.901	14.3	0.01	0.56	1.6	0.487	9.81	7.82	811	1767	0.22	9999	9999	9999	0	9999
S02	100.069	27.168	9.8	0.02	0.48	1.1	0.306	8.76	8.85	245	1771	0.61	9999	9999	9999	0	9999
S03	100.231	27.308	10.6	0.01	0.51	1.5	0.501	8.98	8.63	787	1651	0	9999	9999	9999	0	9999
S04	100.435	26.999	10.7	0.01	0.55	1.1	0.475	8.87	8.38	711	1396	0.10	1504	2000	88.77	2	51.74
S05	100.449	26.420	10.6	0.02	0.51	0.9	0.496	8.72	8.49	704	1184	0	1298	1800	87.353	4	12.54
S06	101.517	26.602	12.6	0.02	0.58	1.2	0.517	8.58	8.42	860	987	0	1134	3000	122.4	6	13.13
S07	101.533	26.590	16	0.01	0.59	1.4	0.51	8.68	8.47	854	986	0	1134	3000	122.4	6	15.26
S08	101.821	26.669	12.9	0.01	0.57	1.1	0.488	8.94	8.55	279	953	0.50	380	600	29.75	2	5.25
S09	101.925	26.366	14.2	0.01	4.28	3.2	2.78	8.62	8.52	458	950	0.20	1022	560	21.77	7	59.37
S10	103.061	27.417	19.6	0.07	1.41	0.9	1.06	9.01	8.45	456	582	0.05	825	16000	640.95	9	39.56
S11	103.450	28.105	17.5	0.02	1.02	0.8	0.642	9.92	8.59	502	577	0.02	825	16000	640.95	9	166.66
S12	103.573	28.239	16.6	0.03	0.8	0.8	0.662	9.94	8.61	505	582	0.18	825	16000	640.95	9	187.44
S13	104.163	28.640	17	0.02	0.64	0.9	0.573	13.86	8.94	483	376	0	600	13860	571.2	10	119.17
S14	104.408	28.640	17.8	0.01	0.74	0.7	0.671	9.21	8.52	492	267	0.03	380	6400	307.47	11	1.12
S15	104.630	28.771	15.3	0.08	2.06	1.3	1.23	7.51	8.07	335	293	0.3	380	6400	307.47	11	32.18
S16	104.696	28.785	17	0.06	1.38	1.3	0.939	7.95	8.32	430	240	0.08	380	6400	307.47	11	38.93

附表 IV 关键环境因子解释率

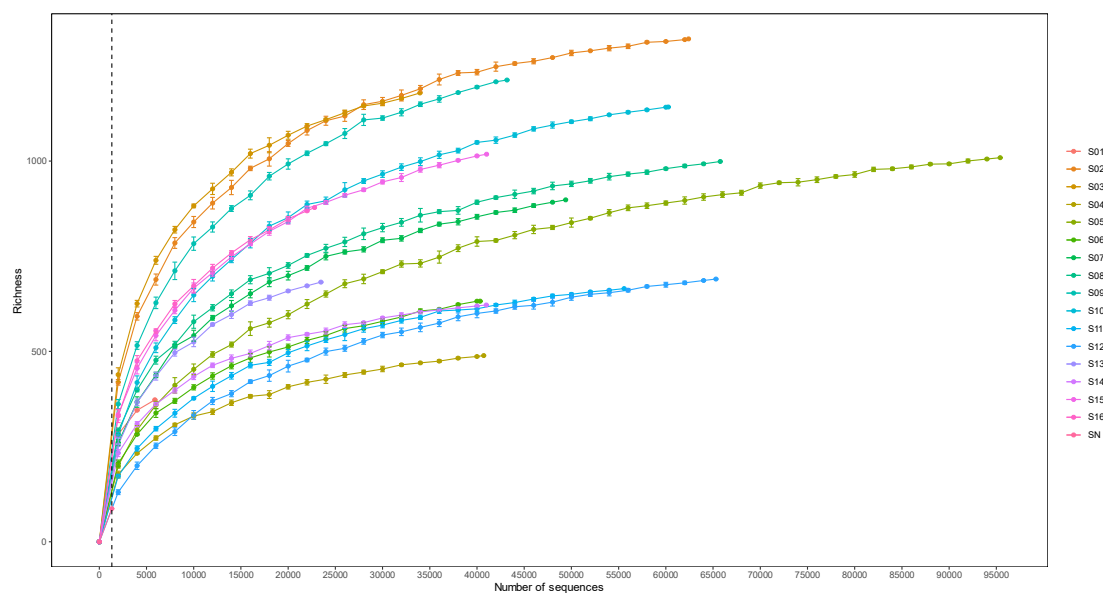
Attachted Tab.IV Explained rate of key environmental variables

采集方法	环境变量	I.perc/%	adjusted R^2
eDNA	高锰酸盐指数 (COD _{Mn})	14.12	0.028
	海拔 (AL)	13.90	0.024
形态学	上游电站年平均发电量 (E)	33.20	0.058
	海拔 (AL)	7.15	0.027



附图 I 基于环境变量的 Ward-linkage 聚类分析结果

Attached Fig.I Result of Ward-linkage cluster analysis based on environmental variables



附图 II 稀释曲线

Attached Fig.II Rarefaction curves