

DOI: 10.12264/JFSC2024-0097

基于 DNA 条形码的黑龙江中游漂流性鱼卵鉴定及其群落结构初探

彭文杰^{1,2}, 马波¹, 赵然³, 王迪³, 韩豪祥¹, 赵月³, 王克兢³, 朱冠宇^{1,4}

1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 国家渔业资源环境抚远观测实验站, 农业农村部黑龙江流域渔业资源与环境科学观测实验站, 黑龙江 哈尔滨 150070;
2. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁 大连 116023;
3. 黑龙江省环境监测中心站, 黑龙江 哈尔滨 150056;
4. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 黑龙江位于高纬度寒冷地区, 鱼类自然繁殖及早期资源发生具有其独特性, 了解漂流性鱼卵种类及群落结构的格局, 对于保护黑龙江鱼类资源具有重要意义。于 2022 年 6—7 月对黑龙江干流的抚远、勤得利、萝北 3 个江段开展漂流性鱼卵资源监测研究, 采用 DNA 条形码技术鉴定鱼卵的种类, 获得 CO I 基因序列 1179 条, 共鉴定鱼类 15 种, 隶属于 2 目 3 科 8 亚科 15 属, 其中鲤科最多(13 种), 占 83.29%; 鳅科和鲇科各 1 种, 分别占 16.45% 和 0.25%。分析结果显示, 漂流性鱼卵的种类组成主要以贝氏鲮(*Hemiculter bleekeri*)、花斑副沙鳅(*Parabotia fasciatus*)、潘氏鳅鲇(*Gobiobotia pappenheimi*)等小型鱼类为主, 群落多样性为抚远江段最高, 抚远以上呈下降趋势, 表现出明显的空间异质性。鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、鳙(*Elopichthys bambusa*)、翘嘴鲇(*Culter alburnus*)、鳊(*Parabramis pekinensis*)、鳊(*Siniperca chuatsi*)等重要经济鱼类的鱼卵相对重要性指数(IRI)由抚远(下游)至萝北(上游)呈显著下降趋势, 暗示抚远江段的繁殖亲鱼的规模要大于以上江段, 而萝北江段资源面临衰退。本研究推测, 环境因子及过度捕捞应该是影响重要经济鱼类早期资源的主要因素, 建议在产卵场设立禁渔区、禁渔期, 降低捕捞强度, 开展鱼卵、仔稚鱼等早期资源的长期监测研究, 以科学保护并合理利用黑龙江渔业资源。

关键词: 漂流性鱼卵; CO I 基因; 种类鉴定; 群落结构; 黑龙江

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)05-0613-13

繁殖产卵是鱼类生活史中的重要环节^[1]。鱼卵、仔稚鱼是鱼类生活史的早期阶段^[2]。鱼类通过繁衍后代使种群得以延续, 而早期资源是鱼类资源的重要来源和补充^[1]。近年来, 针对内陆江河水域开展了鱼类的繁殖过程及早期资源群体动态等方面的研究^[3-8], 积累了丰富的数据资料和理论依据, 对这些大江大河的鱼类资源及栖息地的保护管理具有重要意义。

黑龙江流域地处我国北方高纬度寒冷地区,

主要包括黑龙江、松花江、乌苏里江等河流。鱼类区系复杂多样, 包含着北寒带、亚寒带、北温带的类型^[9], 鱼类资源丰富, 是我国重要的淡水鱼产区之一^[10]。黑龙江流域气候寒冷, 冬季漫长, 夏季短暂, 年平均气温 2.57 °C^[11], 鱼类在生态习性上具有适应高纬度寒冷条件下繁殖的特殊类型^[9], 自然繁殖的起始时间晚, 繁殖期持续的时期短。有研究显示, 松花江鱼类的产卵繁殖时期集中在 6—7 月^[12], 这与我国南方低纬度江河流域鱼类产

收稿日期: 2024-03-28; 修订日期: 2024-04-28.

基金项目: 农业农村部财政专项“东北地区重点水域渔业资源与环境调查”; 国家水污染防治专项资金项目“中俄跨界水体黑龙江水生态环境质量调查与评价”; 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2023DT07, 2021JC0104).

作者简介: 彭文杰(1999–), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类生态学. E-mail: pengwenjie@live.com

通信作者: 马波, 研究员, 研究方向为渔业资源与生态学. E-mail: hsyambo@163.com

卵的时期显著不同^[3-8], 具有高纬度河流鱼类繁殖习性的独特性。

鱼卵是研究鱼类生活史中最初阶段的重要材料, 通过对鱼卵的鉴定识别以获得种类信息及早期资源的发生状况^[1], 但鱼卵存在发育阶段时间短、形态变化复杂、近缘物种间差异不明显等情况, 形态学方法的局限性限制了在鱼卵鉴定中的应用^[13-14]。DNA 条形码(DNA barcode)是通过生物体的 DNA 序列中的特定基因片段来识别不同生物物种的一种分子生物学技术^[15]。线粒体 DNA 具有稳定和母系遗传的特点^[16], 其中的 CO I 基因的进化速率相对保守和序列长度适宜, 已经被广泛地应用于鱼类种及以上分类单元的鉴定研究^[17-20]。目前, 利用 DNA 条形码技术能够从分子水平对形态特征相似的鱼卵种类进行准确鉴定, 已成为传统形态学方法鉴定的重要补充, 在鱼类早期资源研究中得到有效应用^[21-26]。

目前, 利用 DNA 条形码对松花江^[22]、乌苏里江^[23]的鱼卵进行了鉴定, 获得了鱼类的种类及组成结构, 初步揭示了高纬度地区水域的鱼类早期资源发生情况, 但有关黑龙江的鱼类早期资源方面的研究资料较为缺乏, 特别是在特殊的气候环境、水文条件下鱼类早期资源的生态特征及发生规律还不清楚。本研究于 2022 年 6—7 月在黑龙江中游干流的抚远、勤得利、萝北等江段开展鱼类早期资源调查监测, 基于 DNA 条形码技术鉴定鱼类的种类及分析空间分布特征, 旨在了解鱼类鱼卵个体种类组成、群落多样性及空间分布格局, 为黑龙江鱼类资源的保护管理提供基础信息。

1 材料与方法

1.1 样品采集

于 2022 年 6—7 月, 在黑龙江中游干流中国一侧的抚远(134°12'26"E, 48°22'56"N)、勤得利(133°16'27"E, 48°7'11"N)、萝北(131°21'20"E, 47°43'55"N)共 3 个江段设置采样站点(图 1), 采样站点的河岸平直, 水流平稳, 底质为砾石(萝北)和细沙(勤得利、抚远)。

采用定置网的方式采集鱼卵^[27-29], 网布置于距离岸边 3~5 m, 所处水体深度 2~3 m, 水体

流速约 0.5 m/s, 当水位下降或上升时, 及时调整网的位置, 以保证能够稳定地收集鱼卵。调查期内每天 24 h 网始终处于水中开口接卵, 每日采集鱼卵 2 次, 分别为 7:00 和 19:00。采集鱼卵同时, 测量网口江水的流速、水温、透明度、水位等环境因子数据。对采集到的鱼卵, 使用光学解剖镜观察拍照, 确定胚胎发育时期, 并用 75% 的乙醇溶液固定, 置于低温下(4 ℃)保存, 用于种类的分子鉴定。

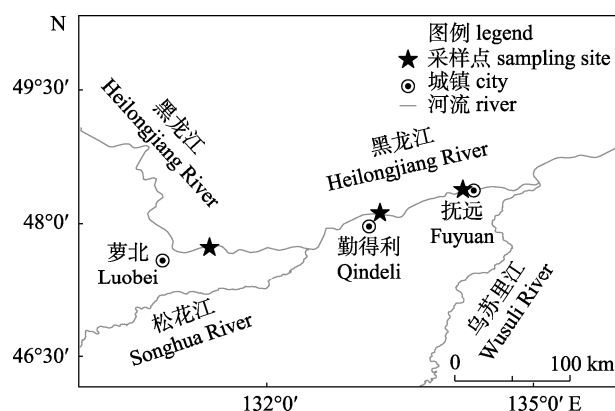


图 1 黑龙江中游鱼卵采集站点示意图

Fig. 1 Fish egg collection sites in middle of the Heilongjiang River

1.2 鱼卵抽样及 CO I 基因扩增与测序

对每天采集的鱼卵进行随机抽样用于鉴定和分析, 其中数量多于 10 粒小于 30 粒的鱼卵, 全部用于鉴定; 多于 30 粒的鱼卵, 抽取其中的 30~60 粒用于鉴定。挑取单个鱼卵, 使用 ddH₂O 洗脱乙醇, 采用生工生物工程(上海)股份有限公司 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒提取基因组 DNA, 4 ℃ 保存备用。CO I 基因序列扩增引物为 Fish-F1: 5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3', 和 Fish-R1: 5'-TAGACTTCTGGGTGGC-CAAAGAATCA-3'^[30]。建立 PCR 反应体系 25 μL, 包含 dNTP 2.5 μL、buffer 15 μL、Mg²⁺ 1.5 μL、正反向引物 (10 pmol/μL) 各 1 μL, KOD DNA 聚合酶 0.2 μL, 模板 DNA (20 ng/μL) 2 μL, 补充 ddH₂O 至 25 μL。在 ABI 9700 型 PCR 仪上, 进行如下反应程序: 94 ℃ 预变性 4 min; 94 ℃ 变性 55 s, 60 ℃ 退火 45 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 72 ℃ 延伸 7 min; 30 个循环。反应结束后, 取 PCR 产物 3 μL

经 1%凝胶电泳检测合格后,由生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

1.3 序列比对

利用 Clustal X 软件对序列进行对位排列及校正,利用 DnaSP 6.12 软件分析所得序列的单倍型,将单倍型序列与 NCBI 数据库(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)中已知物种的参考序列进行 BLAST 比对,采用 neighbor joining 聚类构建物种系统进化树,获得相似度最高的物种序列。依据 Ko 等^[13]的鉴定标准,当 CO I 基因序列与参考序列的相似性 $\geq 99\%$ 时,可鉴定到种;当 $95\% \leq$ 相似性 $< 99\%$ 时,鉴定到属。本研究选择对相似性 $\geq 99\%$ 的序列鉴定为种。

1.4 产卵场位置推算

观察并确定鱼卵胚胎发育时期^[31-32],产卵场位置的推算依据鱼卵的发育时期和所经历的时间,结合当时江水流速来推算鱼卵的漂流距离,计算公式如下:

$$L=VT$$

式中 L 为鱼卵的漂流距离, m; V 为调查断面水体流速, m/s; T 为胚胎发育所经历的时间, s。

1.5 数据处理

1.5.1 优势种 选用相对重要性指数(index of relative importance, IRI)描述鱼卵群落中的优势种,按照以下公式计算:

$$IRI=N\% \times F\% \times 10^4$$

式中 $N\%$ 为每种鱼卵数量占鱼卵总数量的数量百分比; $F\%$ 为每种鱼卵出现的频率。定义 $IRI > 1000$ 为优势种; $100 \leq IRI < 1000$ 为常见种; $10 \leq IRI < 100$ 为少见种。

1.5.2 群落多样性 采用香农-威纳指数(Shannon-Wiener, H')、Margalef 丰富度指数(D)和绝对均衡度指数(J)分析鱼卵群落多样性,计算公式为:

$$H' = -\sum_{i=1}^S (n_i / N) \ln(n_i / N)$$

$$D = \frac{(S-1)}{\ln N}$$

$$J = \frac{H'}{\ln S}$$

式中 S 为鱼卵的总种数; n_i 为某种鱼卵的个体数; N 为鱼卵的总个体数。

1.5.3 群落结构聚类 鱼卵群落结构聚类使用 Origin 2019b 软件进行多变量下的系统聚类分析进行排序。使用 R 4.3.1 软件采用 vegan 对鱼卵群落结构进行非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS),以胁迫系数(stress)衡量 NMDS 结果的有效性。通常认为,当 $stress < 0.05$ 时,具有较佳的代表性;当 $0.05 \leq stress < 0.1$ 时,排序结果基本可信,可以认为是一个较好排序;当 $0.1 \leq stress < 0.2$ 时,其图形具有一定解释意义。

2 结果与分析

2.1 鱼卵发生

本次调查期间,抚远江段鱼卵的主要发生时期为 6 月 16 日—7 月 15 日,共获得 3801 粒,其中单日发生量超过 400 粒的高峰期的时间为 6 月 18 日、6 月 19 日和 7 月 6 日(图 2);勤得利江段鱼卵的主要发生时期为 6 月 19 日—7 月 25 日,共获得 3426 粒,其中单日发生量超过 400 粒的高峰期时间为 6 月 23 日、6 月 28 日和 6 月 29 日(图 3);萝北江段鱼卵的主要发生时期为 6 月 15 日—7 月 31 日,共获得 6409 粒,其中单日发生量超过 400 粒的高峰期时间为 6 月 22 日、6 月 26 日、6 月 27 日、7 月 1 日和 7 月 10 日(图 4)。由上可见,3 个江段的鱼卵发生过程存在不同,鱼卵发生的时期由长到短依次为萝北、勤得利、抚远,高峰期出现的天数由多到少依次为萝北、勤得利、抚远。

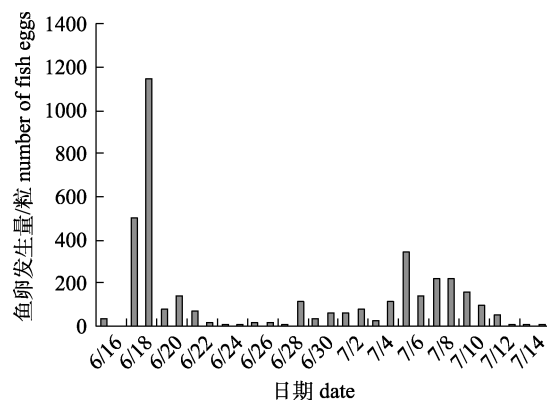


图 2 抚远江段漂流性鱼卵发生量的日变化
Fig. 2 Daily variation in drifting fish egg occurrence at the Fuyuan sampling site

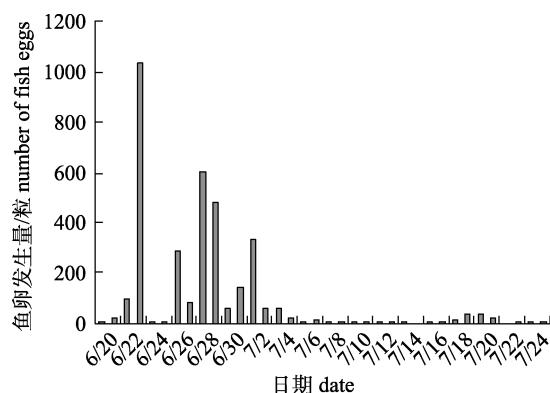


图 3 勤得利江段漂流性鱼卵发生量的日变化

Fig. 3 Daily variation in drifting fish egg occurrence at the Qindeli sampling site

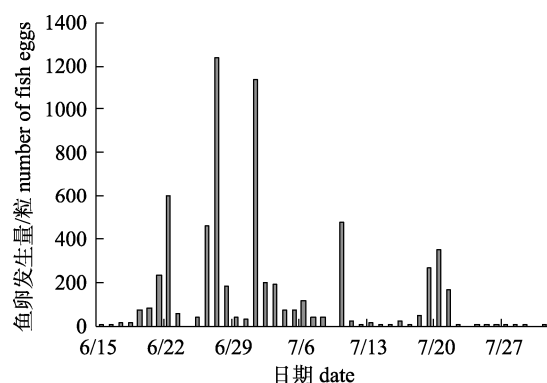


图 4 萝北江段漂流性鱼卵发生量日变化

Fig. 4 Daily variation in drifting fish egg occurrence at the Luobei sampling site

2.2 序列比对

对各调查江段采集的鱼卵抽取样本, 经对 COI 基因测序, 共获得长度为 625 bp 的有效序列 1201 条, 其中抚远江段 390 条, 勤得利江段 326 条, 萝北江段 485 条, 抽样检测到有效序列的卵数占总卵数量的 8.76%。

将获得的 COI 基因序列与 NCBI 数据库中已知物种的参考序列进行 BLAST 比对(图 5、表 1), 其中在 1179 条序列中检测出的 132 种单倍型, 与已知物种参考序列的相似度为 99%~100%, 可以鉴定到种, 占总序列的 98.16%; 另有 22 条相似性小于 99% 的序列为待定种, 需进一步确认。

2.3 鱼卵种类

经比对, 在 1179 个鱼卵中可以鉴定到种的鱼类为 15 种, 隶属于 2 目 3 科 8 亚科 15 属(表 1)。其中, 鲤科(Cyprinidae)鱼类有 13 种, 分别为草鱼

(*Ctenopharyngodon idella*)、鳊(*Elopichthys bambusa*)、贝氏鲮(*Hemiculter bleekeri*)、翘嘴鲌(*Culter alburnus*)、鳊(*Parabramis pекinensis*)、银鲴(*Xenocypris argentea*)、东北鲌(*Sarcocheilichthys lacustris*)、银鲴(*Squalidus argentatus*)、突吻鲌(*Rostrogobio amurensis*)、蛇鲌(*Saurogobio dabryi*)、潘氏鲌(*Gobiobotia pappenheimi*)、鲌(*Aristichthys nobilis*)、鲌(*Hypophthalmichthys molitrix*), 共 982 个样本, 占总样本的 83.29%; 鳅科(Cobitidae)鱼类有 1 种, 为花斑副沙鳅(*Parabotia fasciatus*), 共有 194 个样本, 占总样本数的 16.45%; 鲈科(Serranidae)鱼类有 1 种, 为鳊(*Siniperca chuatsi*), 共有 3 个样本, 占总样本数的 0.25%。

2.4 胚胎发育时期及产卵场位置

观察鱼卵胚胎的发育时期(图 6), 抚远、勤得利、萝北 3 个江段鱼卵的发育时期主要介于囊胚早期至出膜前期之间, 其中处于囊胚晚期与尾芽期之间的鱼卵数分别占各自总卵数的 64.07%、84.94%、78.55%。以蛇鲌^[31]、鲌^[32]等鱼卵胚胎发育时期及所需时间作为参照, 显示鱼卵处于受精后 6~69 h 发育时期。以收集鱼卵时水体平均流速为 0.5 m/s 计算, 推测各江段鱼类产卵场的位置处于采集点的上游约 10~124 km 的范围内, 其中主要产卵场位于 14~72 km 范围内。抚远与勤得利间的河流长度约为 96 km, 即抚远江段的主要产卵场位于勤得利的下游, 但部分产卵场与勤得利江段产卵场有重合; 勤得利与萝北之间的河流长度约为 196 km, 即两者的产卵场位置未重合。

2.5 组成结构及空间分布

在 15 种鱼类中, 萝北江段检测到 14 种, 未见鳊; 勤得利江段检测到 11 种, 未见突吻鲌、银鲴、东北鲌和鳊; 抚远江段检测到 14 种, 未见突吻鲌。在各江段的鱼卵数量所占比例中(图 7), 萝北江段的花斑副沙鳅、潘氏鲌和贝氏鲮的数量占比(分别为 47.08%、23.41%和 14.25%)较高, 勤得利江段的贝氏鲮、潘氏鲌和鳊的数量占比(分别为 62.03%、9.54%和 9.26%)较高, 抚远江段的贝氏鲮、潘氏鲌、鲌和鳊的数量占比(分别为 43.56%、12.61%、11.19%和 7.29%)较高, 其他种

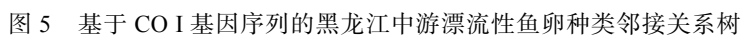


Fig. 5 Neighbor joining tree of drifting fish eggs in middle of the Heilongjiang River based on CO I gene sequence

Tab. 1 COI gene sequence comparison of drifting fish eggs in middle of the Heilongjiang River

物种 species	CO I 基因序列数量 number of CO I gene sequences			单倍型 haplotype	GenBank 比对序列 GenBank alignment sequences
	相似度为 100% similarity=100%	99%≤相似度<100% 99%≤similarity<100%	合计 total		
鲤科 Cyprinidae					
雅罗鱼亚科 Leuciscinae					
草鱼属 <i>Ctenopharyngodon</i>					
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idella</i>	137	8	145	Hap1-6	MH664230
鳊鱼属 <i>Elopichthys</i>					
鳊 <i>Elopichthys bambusa</i>	15	10	25	Hap7-11	MH664232
鲃亚科 Culterinae					
鲃属 <i>Hemiculter</i>					
贝氏鲃 <i>Hemiculter bleekeri</i>	121	30	151	Hap12-27	MH664186
鲃属 <i>Culter</i>					
翘嘴鲃 <i>Culter alburnus</i>	94	13	107	Hap28-37	KX244762

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)

物种 species	CO I 基因序列数量 number of CO I gene sequences			单倍型 haplotype	GenBank 比对序列 GenBank alignment sequences
	相似度为 100% similarity=100%	99%≤相似度<100% 99%≤similarity<100%	合计 total		
鳊属 <i>Parabramis</i>					
鳊 <i>Parabramis pekinensis</i>	58	6	64	Hap38-42	MW649787
鲴亚科 <i>Xenocyprinae</i>					
鲴属 <i>Xenocypris</i>					
银鲴 <i>Xenocypris argentea</i>	3	9	12	Hap43-47	NC008682
鮡亚科 <i>Gobioninae</i>					
鮡属 <i>Sarcocheilichthys</i>					
东北鮡 <i>Sarcocheilichthys lacustris</i>	4	1	5	Hap48-49	NC022934
银鮡属 <i>Squalidus</i>					
银鮡 <i>Squalidus argentatus</i>	20	10	30	Hap50-59	NC023336
突吻鮡属 <i>Rostrogobio</i>					
突吻鮡 <i>Rostrogobio amurensis</i>	6	0	6	Hap60-64	NC033965
蛇鮡属 <i>Saurogobio</i>					
蛇鮡 <i>Saurogobio dabryi</i>	9	3	12	Hap65-67	KF612272
鳅鲇亚科 <i>Gobiobotinae</i>					
鳅鲇属 <i>Gobiobotia</i>					
潘氏鳅鲇 <i>Gobiobotia pappenheimi</i>	0	115	115	Hap68-90	NC032293
鲢亚科 <i>Hypophthalmichthyinae</i>					
鳙属 <i>Aristichthys</i>					
鳙 <i>Aristichthys nobilis</i>	3	0	3	Hap91-92	MH664223
鲢属 <i>Hypophthalmichthys</i>					
鲢 <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	265	42	307	Hap93-120	MT853034
鳅科 <i>Cobitidae</i>					
沙鳅亚科 <i>Botiinae</i>					
副沙鳅属 <i>Parabotia</i>					
花斑副沙鳅 <i>Parabotia fasciata</i>	0	194	194	Hap121-131	NC008677
鲇科 <i>Serranidae</i>					
鳊亚科 <i>Sinipercinae</i>					
鳊属 <i>Siniperca</i>					
鳊 <i>Siniperca chuatsi</i>	3	0	3	Hap132	ON479122

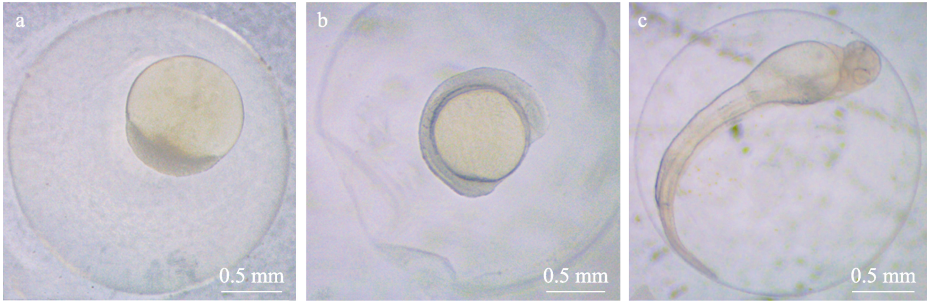


图 6 黑龙江中游漂流性鱼卵胚胎发育时期
a. 囊胚晚期; b. 尾芽期; c. 出膜前期.

Fig. 6 Embryonic development period of drifting fish eggs in Fuyuan section of the Heilongjiang River
a. Late blastocyst stage, b. Tail-bud stage, c. Pre-hatching stage.

类比例较低, 各江段的鱼类组成及资源的空间分布格局呈现明显差异。

在检测到的鱼卵种类中, 鲢、鳊、翘嘴鲌、草鱼、鳙、鳊和鳊为黑龙江主要的大型经济鱼类, 其他为小型鱼类。总体来看, 7 种大型经济鱼类的总数量占比以抚远最高(29.52%), 其次为勤得利(15.70%), 萝北最低(2.54%), 呈现出由下游至上游显著降低的趋势。在 7 种大型经济鱼类中(图 7), 除

了鳊为勤得利为最高(占比 9.26%)外, 其余种均为抚远最高, 勤得利次之, 萝北最低(图 7), 也呈现出由下游至上游显著降低的趋势, 即抚远江段的大型经济鱼类的早期资源较为丰富, 而萝北江段较为贫乏。

分析鱼卵发生高峰期时的种类、空间分布及数量占比(图 8), 各江段存在明显的不同。抚远江段第 1 次高峰期(6 月 8 日)出现 5 种, 以贝氏鲶为

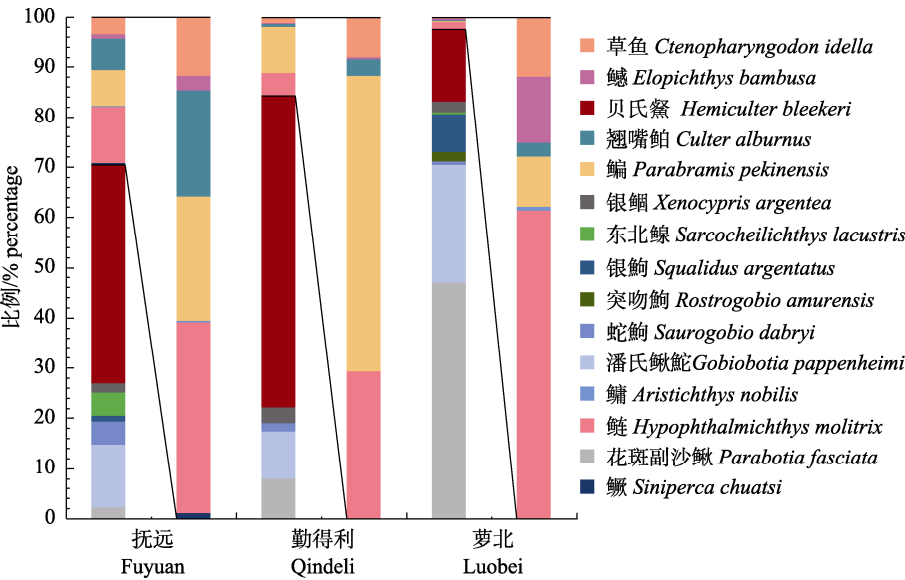


图 7 黑龙江中游漂流性鱼卵种类组成

Fig. 7 Species composition of drifting fish eggs in middle of the Heilongjiang River

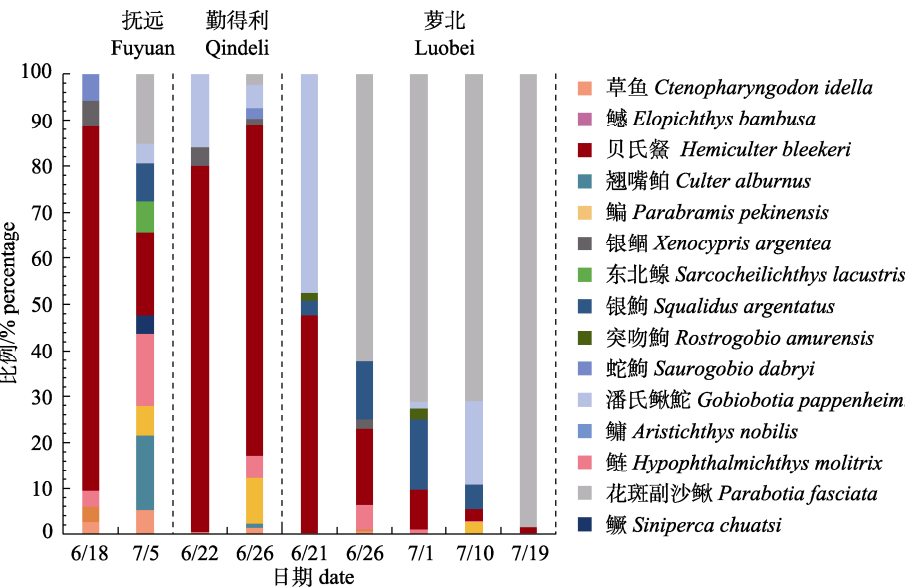


图 8 黑龙江中游漂流性鱼卵发生高峰期的种类组成

数据为高峰期首日的种类组成数据。

Fig. 8 Species composition during the peak period of drifting fish eggs in middle of the Heilongjiang River
The date referring to the first day of the peak period.

主(79.21%), 其他种占比较低; 第 2 次高峰(7 月 5 日)出现 12 种, 贝氏鲮(17.86%)、鲢(15.72%)、花斑副沙鳅(15.12%)和翘嘴鲌(13.69%)的占比接近, 其他种类较低。勤得利江段第 1 次高峰(6 月 22 日)出现 5 种, 以贝氏鲮为主(79.69%), 其次为潘氏鳅鲇(15.94%), 其他种占比较低; 第 2 次高峰(6 月 26 日)出现 9 种, 以贝氏鲮为主(71.64%), 其次为鳊鱼(9.98%), 其他种占比较低。萝北江段第 1 次高峰期(6 月 21 日)出现 6 种, 主要以贝氏鲮(47.38%)和潘氏鳅鲇(47.62%)为主, 其他种占比较低; 第 2 次高峰期(6 月 26 日)以花斑副沙鳅为主(62.43%), 其次为贝氏鲮(16.65%)、银鲴(12.49%); 第 3 次高峰期(7 月 1 日)以花斑副沙鳅为主(71.17%), 其次为银鲴(15.31%)和贝氏鲮(8.65%), 其他种占比较低; 第 4 次高峰期(7 月 10 日)以花斑副沙鳅为主(70.90%), 其次为潘氏鳅鲇(18.38%)和银鲴(8.65%), 其他种占比较低。第 5 次高峰期时(7 月 19 日)以花斑副沙鳅为主(98.43%), 其他种占比低。

2.6 优势种及空间变化

以鱼卵的发生过程及种类组成, 基于相对重要性指数(IRI)分析鱼卵的优势种情况显示(表 2), 抚远江段的鱼卵中贝氏鲮、鲢为优势种, 银鲴、银鲴、鳊为劣势种, 其他为常见种和一般种; 勤得利江段的鱼卵中贝氏鲮为优势种, 鳊、鳊、翘嘴鲌、蛇鲴、东北鳊、银鲴、突吻鲴为劣势种, 其他为常见种和一般种; 萝北江段的鱼卵中潘氏鳅鲇、花斑副沙鳅为优势种, 草鱼、鳊、鳊、东北鳊、蛇鲴、鳊为劣势种, 即各江段相比优势种情况存在明显不同。在一些种类中, 草鱼、贝氏鲮、翘嘴鲌、鳊、鲢等的相对重要性指数呈现出由抚远至勤得利、萝北显著下降的趋势, 而银鲴、突吻鲴、潘氏鳅鲇、花斑副沙鳅呈现出明显上升趋势。

2.7 群落多样性

以鱼卵的种类和数量分析各江段鱼卵群落的多样性水平(表 3), 3 个江段的多样性指数(H')、均衡度指数(J)和丰富度指数(D)的变化趋势不同, 各指数总体表现为下游高于上游。其中, H' 为抚远>萝北>勤得利, D 为抚远>萝北>勤得利, 表明在各江段中抚远的多样性水平最高。 J 为抚远>勤

表 2 黑龙江中游漂流性鱼卵相对重要性指数(IRI)
Tab. 2 The index of relative importance (IRI) for drifting fish eggs in middle of the Heilongjiang River

种类 species	相对重要性指数(IRI) index of relative importance (IRI)		
	抚远 Fuyuan	勤得利 Qindeli	萝北 Luobei
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idella</i>	135.70	66.84	4.95
鳊 <i>Elopichthys bambusa</i>	13.31	0.30	6.85
贝氏鲮 <i>Hemiculter bleekeri</i>	2635.89	1893.34	902.51
翘嘴鲌 <i>Culter alburnus</i>	417.86	7.72	6.19
鳊 <i>Parabramis pekinensis</i>	823.34	624.18	0.85
银鲴 <i>Xenocypris argentea</i>	9.05	27.74	38.17
东北鳊 <i>Sarcocheilichthys lacustris</i>	24.13	0	0.85
银鲴 <i>Squalidus argentatus</i>	6.03	0	330.81
突吻鲴 <i>Rostrogobio amurensis</i>	0	0	35.63
蛇鲴 <i>Saurogobio dabryi</i>	156.83	3.47	7.63
潘氏鳅鲇 <i>Gobiobotia pappenheimi</i>	431.27	104.01	1638.77
鳊 <i>Aristichthys nobilis</i>	3.02	0	0.85
鲢 <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	1024.68	353.52	68.29
花斑副沙鳅 <i>Parabotia fasciata</i>	48.25	86.69	1726.14
鳊 <i>Siniperca chuatsi</i>	6.03	0	0

表 3 黑龙江中游漂流性鱼卵群落多样性指数
Tab. 3 Biodiversity index of drifting fish eggs in middle of the Heilongjiang River

点位 sections	香农-威纳指数 H'	丰富度指数 D	均衡度指数 J
抚远 Fuyuan	1.99668	1.455777	0.778447
勤得利 Qindeli	1.46844	1.103103	0.637737
萝北 Luobei	1.52809	1.371595	0.595758

得利>抚远, 表明由抚远江段至上游的各物种比例的均衡水平逐渐降低。此外, 勤得利的 H' 和 D 较低, 可能是勤得利检测到的物种较少所致。

2.8 群落结构聚类

对鱼卵的群落结构进行聚类分析(图 9), 抚远江段与勤得利江段首先聚为一支, 两者群落组成相似度较高, 距离较近(0.224), 而与萝北的群落组成相似性较低, 距离较远(0.608), 即抚远江段与地理位置相邻的勤得利江段的群落结构相似。NMDS 排序的二维空间结果显示(图 10), stress<0.05 表明该结果具有很好的代表性, 鱼类群落结构聚类分析排序效果较好, 即抚远江段和勤得利江段的地理距离小于萝北江段和勤得利江段, 以及萝北江段和抚远江段的距离, 反映了抚远江段

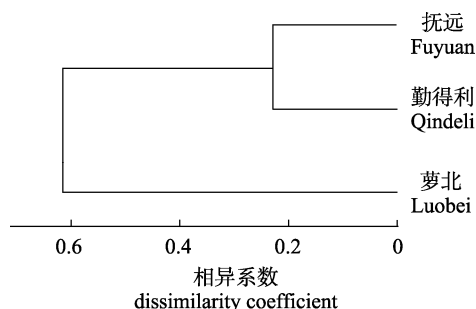


图 9 黑龙江中游漂流性鱼卵群落结构空间格局的聚类

Fig. 9 Spatial distribution clustering of drifting fish egg community structure in middle of the Heilongjiang River

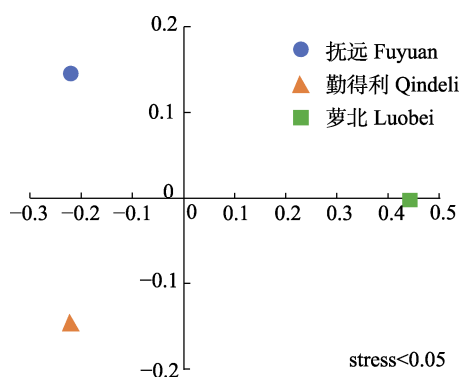


图 10 黑龙江中游漂流性鱼卵群落结构 NMDS 排序

Fig. 10 NMDS ordination of drifting fish egg community structure in middle of the Heilongjiang River

与勤得利江段之间的鱼卵组成的相似程度高于萝北与它们之间的相似程度。

3 讨论

3.1 DNA 条形码对黑龙江漂流性鱼卵鉴定的适用性

鱼卵的物种一般依据于形态学方法,通过观察不同发育阶段的胚胎形态特征,或对鱼卵孵化成仔稚鱼进行鉴定^[1],但受制于鱼卵、仔稚鱼形态的相似性,利用形态学方法鉴定存在一定困难,有些种类往往仅能鉴定到属或科^[13-14]。本研究中所采集到的鱼卵主要处于卵裂期、囊胚期或出膜前期等不同发育时期,由于缺乏有关黑龙江鱼卵的形态学鉴定方面的研究基础,尚没有可用于形态学特征鉴定的可靠依据,特别是对特有种的鉴定还存在空白,仅采用形态学方法有效识别早期鱼卵种类还存在难度,因此还需要采用更加便捷、准确的鉴定方法。

近年来,将 DNA 条形码技术应用于鱼卵种类

鉴定成为有效的方法之一。阮瑞等^[21]和周美玉等^[33]研究发现, DNA 条形码技术与形态学鉴定相结合,能够更准确地对鱼卵和仔稚鱼进行鉴定,尤其对于鱼卵的鉴定有效。陈静等^[14]、郜星晨等^[34]的研究显示, DNA 条形码能将形态学分类结果鉴定至更低阶元,证实了 DNA 条形码技术在鱼卵物种识别中的可行性。本研究使用 CO I 基因对黑龙江中游的抚远、勤得利、萝北等江段的漂流性鱼卵进行鉴定,获得了 1201 粒鱼卵的序列,其中 98.17% 的序列与已知序列相似度大于 99%,依据条形码共鉴定种类 15 种,与利用 CO I 基因序列分别对松花江^[22]和乌苏里江^[23]的漂流性鱼卵所鉴定的种类相似,而黑龙江、松花江、乌苏里江属于同一水系,因此在鱼类种类组成上相似性高,即基于 DNA 条形码技术可以有效适用于黑龙江的鱼卵种类鉴定。

本研究基于 NCBI 数据库搜索的序列相似度作为种类鉴定的判定标准,但所参照的物种序列大多不是源自于黑龙江水系的物种,为保证鉴定的准确性,仅选择了相似度 $\geq 99\%$ 的序列,尚有 22 条相似度 $< 99\%$ 的序列未鉴定到种,因此利用现有的数据库还不能完全对黑龙江的鱼卵准确鉴定。公共数据库中基因数据的丰富性、准确性及完整性将会影响到鉴定结果^[14]。郜星晨等^[34]建立了三峡库区鱼类核苷酸数据库,可以有效用于库区鱼卵、仔稚鱼和渔获物的分子鉴定; Hou 等^[35]建立了珠江口及近岸海域 DNA 条形码数据库,使鱼卵鉴定的准确性得到了提高; Chen 等^[25]建立了珠江下游仔稚鱼 DNA 条形码数据库,有助于获得更详细、更全面的物种信息。但大多水域尚缺乏完整有效的基因数据库,而黑龙江鱼类条形码数据尚不够完善,有些特有种还存在缺失,因此建立一个基于黑龙江水系的鱼类 DNA 条形码数据库还是很有必要。

3.2 黑龙江中游漂流性卵群落多样性及时空分布格局

本研究鉴定出的 15 种鱼类均为具有产漂流性卵的特性,构成黑龙江中游漂流性卵鱼类早期资源的主要类群,与松花江下游^[12,22]和乌苏里江中下游^[23]的产漂流性卵鱼类组成相似,与长江^[5-6]

等水域相比黑龙江水系种类要少,即黑龙江地处北方高纬度寒冷地区,在鱼类区系组成上冷水性鱼类种类较多^[9],而产漂流性卵的温水性鱼类的种类要明显少于南方地区,显示不同纬度地理水系间的差异。在空间分布格局上,鱼卵的种类存在一定的差异,主要表现为勤得利江段突吻鲟、银鲟、东北鲈和鳊等种类缺失,且贝氏鲶、鲢、潘氏鳅鲇、花斑副沙鳅等各种类的群落结构及相对重要性指数表现出明显的空间异质性。同时,松花江下游未见鳊、鳊、鳊^[12,22]及乌苏里江中下游^[23]未见草鱼、鳊、鳊和鳊等种类鱼卵,表明黑龙江水系内不同河流区域鱼卵种类分布及群落结构具有明显的变化,这与长江中游不同区域鱼卵种类和资源量存在差异的情况相似^[36],也大致反映出黑龙江、松花江、乌苏里江的不同水域产卵繁殖亲鱼种类分布和资源量情况。

有研究表明,鱼类的群落结构与环境因子密切相关。珠江中下游鱼类物种多样性高于上游,年均气温、降雨量、年均径流量、河流宽度与透明度是群落结构时空差异的主要影响因子^[37],长江中游 NH_4^+-N 和底质类型是影响鱼类分布的主要环境因子^[38],而鱼类群落结构也进而会影响到鱼卵等早期资源发生及群落多样性。本研究显示漂流性鱼卵群落多样性为抚远江段最高,抚远以上呈下降趋势,特别是鲢、草鱼、鳊、贝氏鲶、翘嘴鲈、鳊、东北鲈、蛇鲈、鳊的鱼卵相对重要性指数均显著高于上游河段,也能表现出产卵亲鱼群落结构的差异。此外,3 个江段鱼卵的发生的时期和过程存在不同,特别是鱼卵高峰时的种类和数量也存在时空差异。对红水河^[26]和赤水河^[39]研究显示,不同漂流性鱼卵鱼类的产卵期存在差异,鱼类的产卵繁殖对环境因子有各自需求。萝北以上水域位于小兴安岭南麓与三江平原交界地带,属山地丘陵,河谷束窄,水流湍急,底质多为礁石、砾石;勤得利至抚远水域地处三江平原腹地,地势平坦,江面开阔,水流缓慢,底质泥沙^[40],因此河流的宽度、流量、水温、底质等自然环境因子可能影响着鱼类群落结构,也体现在鱼卵群落多样性的空间差异。对连江^[41]、长江中游^[5,42]的研究表明,相似的生境中鱼类群落组成也非常

相似。本研究也显示鱼卵群落多样性以抚远和勤得利之间具有更高的相似性,而与萝北相似性较小,即抚远和勤得利之间的地理距离较近,具有相似的生境,且产卵场有部分重叠,表现出群落结构也相似,与萝北的生境差异较大、产卵场之间距离较远而群落结构相似性低。

3.3 黑龙江中游重要经济鱼类的鱼卵资源及保护

本研究中的江段区域是黑龙江中游主要的渔业产区。鲢、草鱼、翘嘴鲈等鱼类为重要的经济鱼类,具有春季从黑龙江下游洄游至中游产卵繁殖的习性^[10]。对鱼卵等早期资源监测可以了解其产卵场及繁殖群体情况。鱼卵发生数量可反映出参与繁殖亲鱼群体的规模^[5]。本研究中,由抚远至勤得利、萝北江段,鲢、草鱼、鳊、翘嘴鲈、鳊、鳊等鱼类卵的数量占比(分别为 29.53%、15.69%、2.54%)呈显著下降趋势,且每种鱼的相对重要性指数由下游至上游也呈显著下降趋势,表明勤得利、抚远江段为主要产卵场,产卵繁殖的亲鱼数量较多,而萝北以上江段产卵场规模较小,即产卵繁殖的亲鱼群体也很少。分析其原因,一方面勤得利至抚远江段具有适宜产卵繁殖的生境条件而优于萝北以上江段,并受到洄游距离限制及对产卵场的选择,亲鱼洄游至上游过程中种群数量会逐渐缩减;另一方面,实地调查也发现,由抚远至勤得利、萝北沿江的渔业捕捞生产活动频繁,使洄游至上游的群体在没有进入产卵场及产卵活动前被过度拦截捕捞,也造成上游水域的资源逐渐衰退,进而影响到鱼卵发生的数量,表现为明显下降趋势。因此需要采取保护措施,在主要的产卵场设立禁渔区、禁渔期,研究建立配额捕捞制度,降低捕捞强度,并开展鱼卵、仔稚鱼及繁殖亲鱼的长期监测研究,以维护黑龙江重要经济鱼类群体资源的可持续利用。

参考文献:

- [1] Cao W X, Cang J B, Qiao Y, et al. Fish resources of early life history stages in Yangtze River[M]. Beijing: China Water & Power Press, 2007. [曹文宣, 常剑波, 乔晔, 等. 长江鱼类早期资源[M]. 北京: 中国水利水电出版社, 2007.]
- [2] Yin M C. Advances and studies on early life history of fish[J]. Journal of Fisheries of China, 1991, 15(4): 348-358. [殷名称.

- 鱼类早期生活史研究与其进展[J]. 水产学报, 1991, 15(4): 348-358.]
- [3] Tan X C, Li X H, Tao J P, et al. Spatial and temporal distribution of larval resources of fishes in Xijiang River[J]. Freshwater Fisheries, 2007, 37(4): 37-40. [谭细畅, 李新辉, 陶江平, 等. 西江肇庆江段鱼类早期资源时空分布特征研究[J]. 淡水渔业, 2007, 37(4): 37-40.]
- [4] Li M Z, Duan Z H, Jiang W, et al. Preliminary analysis on the diel drifting behavior of fish eggs and larvae in different sections of main stream of the Yangtze River[J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2011, 20(8): 957-962. [黎明政, 段中华, 姜伟, 等. 长江干流不同江段鱼卵及仔鱼漂流特征昼夜变化的初步分析[J]. 长江流域资源与环境, 2011, 20(8): 957-962.]
- [5] Liu M D, Gao L, Tian H W, et al. Status of fishes at the early life history stage in the Yichang section in the middle reaches of the Yangtze River[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(1): 147-158. [刘明典, 高雷, 田辉伍, 等. 长江中游宜昌江段鱼类早期资源现状[J]. 中国水产科学, 2018, 25(1): 147-158.]
- [6] Meng Q, Gao L, Wang D Q, et al. The early-stage fish resources and effects of ecological regulation on fish reproduction at the Jianli section of the Yangtze River[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(7): 824-833. [孟秋, 高雷, 汪登强, 等. 长江中游监利江段鱼类早期资源及生态调度对鱼类繁殖的影响[J]. 中国水产科学, 2020, 27(7): 824-833.]
- [7] He X H, Tan L F, Peng Y X, et al. Four major Chinese carps eggs resources and spawning grounds distribution at Hukou section of the Yangtze River[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2021, 28(4): 420-430. [何晓辉, 谈龙飞, 彭云鑫, 等. 长江湖口段四大家鱼卵资源及其产卵场分布[J]. 中国水产科学, 2021, 28(4): 420-430.]
- [8] Zhou X, Wang D Q, Duan X B, et al. Studies on spatial and temporal distribution of fish eggs in the Yichang section in middle reaches of the Yangtze River[J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2021, 30(4): 861-868. [周雪, 汪登强, 段辛斌, 等. 长江中游宜昌江段鱼卵时空分布特征研究[J]. 长江流域资源与环境, 2021, 30(4): 861-868.]
- [9] Ren M L. Ichthyofauna of the Heilongjiang River[J]. Chinese Journal of Fisheries, 1994, 7(1): 1-13. [任慕莲. 黑龙江的鱼类区系[J]. 水产学杂志, 1994, 7(1): 1-13.]
- [10] Heilongjiang River Fisheries Research Institute of Chinese Academy of Fishery Sciences, Heilongjiang Aquatic Products Corporation. Fishery resources in Heilongjiang River[M]. Mudanjiang: Heilongjiang Korean National Press, 1985. [中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江省水产总公司. 黑龙江省渔业资源[M]. 牡丹江: 黑龙江朝鲜民族出版社, 1985.]
- [11] Yu C L, Liu D, Ma Q S, et al. Temperature changes in Heilongjiang River from 1961 to 2013[J]. Environmental Science and Technology, 2016, 39(5): 169-175. [于成龙, 刘丹, 马秋斯, 等. 1961-2013 年黑龙江省气温变化特征[J]. 环境科学与技术, 2016, 39(5): 69-175.]
- [12] Huo T B, Song D, Liu W, et al. Status of early fish resources in the Fujin section of the lower Songhua River[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(1): 91-101. [霍堂斌, 宋聃, 刘伟, 等. 松花江下游富锦江段鱼类早期资源状况[J]. 中国水产科学, 2022, 29(1): 91-101.]
- [13] Ko H L, Wang Y T, Chui T S, et al. Evaluating the accuracy of morphological identification of larval fishes by applying DNA barcoding[J]. PLoS ONE, 2013, 8(1): e53451.
- [14] Chen J, Huang D L, Wang X H, et al. Species identification and morphology of fish eggs from Jiangmen coastal waters in spring using DNA barcoding[J]. South China Fisheries Science, 2022, 18(6): 10-18. [陈静, 黄德练, 王雪辉, 等. 基于 DNA 条形码的江门近岸海域春季鱼卵的种类鉴定及其形态[J]. 南方水产科学, 2022, 18(6): 10-18.]
- [15] Cheng X, Wang A M, Gu Z F, et al. Current progress of DNA barcoding[J]. Genomics and Applied Biology, 2011, 30(6): 748-758. [程希婷, 王爱民, 顾志峰, 等. DNA 条形码研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2011, 30(6): 748-758.]
- [16] Hutchison C A, Newbold J E, Potter S S, et al. Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA[J]. Nature, 1974, 251(5475): 536-538.
- [17] Liu S F, Liu Y X, Ye N H, et al. DNA barcoding: A potential tool for fishery biodiversity conservation[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(4): 902-914. [柳淑芳, 刘永新, 叶乃好, 等. DNA 条形码在渔业生物多样性保护中的应用[J]. 中国水产科学, 2018, 25(4): 902-914.]
- [18] Ma B, Li L, Wang J L, et al. Morphological and COI gene barcode analyses of *Schizothorax waltoni*, *S. o'connori* and their natural hybrids in the Yarlung Zangbo River[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(4): 753-761. [马波, 李雷, 王继隆, 等. 雅鲁藏布江拉萨裂腹鱼、异齿裂腹鱼及其自然杂交种的形态与 COI 基因条形码分析[J]. 中国水产科学, 2018, 25(4): 753-761.]
- [19] Li M H, An C T, Li A, et al. DNA barcodes enable higher taxonomic assignments in goby in the Bohai Sea and Yellow Sea of China[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(8): 1179-1188. [李明晖, 安长廷, 李昂, 等. 黄渤海虾虎鱼 DNA 条形码分类体系构建[J]. 中国水产科学, 2022, 29(8): 1179-1188.]
- [20] Zhou J S, Zhang C, Liu H P, et al. Studies on identification of Schizothoracinae population in Tibet water system by DNA barcode[J]. Freshwater Fisheries, 2019, 49(1): 33-41. [周建设, 张驰, 刘海平, 等. DNA 条形码在西藏水系裂腹鱼亚科鱼类鉴定中的研究[J]. 淡水渔业, 2019, 49(1): 33-41.]
- [21] Ruan R, Zhang Y, Shen Z W. 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. [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.]
- [22] Lu C Y, Huo T B, Wang J L, et al. Early molecular identification of fishes in the lower reaches of the Songhua River[J]. Wetland Science, 2020, 18(5): 516-524. [鲁翠云, 霍莹斌, 王继隆, 等. 松花江下游鱼类早期分子鉴定[J]. 湿地科学, 2020, 18(5): 516-524.]
- [23] Tang F J, Wang J L, Na R B, et al. Identification of drifting eggs of fish in the middle and lower reaches of the Wusuli River based on DNA barcoding technology[J]. Wetland Science, 2020, 18(6): 653-659. [唐富江, 王继隆, 那荣滨, 等. 基于 DNA 条形码技术的乌苏里江中下游漂流性鱼卵鉴定[J]. 湿地科学, 2020, 18(6): 653-659.]
- [24] Zhang N, Wu N, Guo H Y, et al. DNA barcoding technology to identify spawn from the Jiangmen marine environment in summer[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(4): 721-727. [张楠, 吴娜, 郭华阳, 等. 基于 DNA 条形码技术对江门沿岸海域夏季鱼卵的鉴定[J]. 中国水产科学, 2018, 25(4): 721-727.]
- [25] Chen W, Li C, Yang J, et al. Temporal species-level composition of larvae resources in the lower Pearl River drainage and implications for species' reproductive cycles[J]. Gene, 2021, 776: 145351.
- [26] Chen W, Zhu S, Yang J, et al. DNA barcoding reveals the temporal community composition of drifting fish eggs in the lower Hongshui River, China[J]. Ecology and Evolution, 2021, 11(16): 11507-11514.
- [27] Yi B L, Yu Z T, Liang Z S, et al. The distribution, natural conditions and breeding production of the spawning grounds of four famous freshwater fishes on the main stream on the Yangtze River[M]. Wuhan: Hubei Science and Technology Press, 1988: 1-46. [易伯鲁, 余志堂, 梁秩桑, 等. 长江干流草、青、鲢、鳙四大家鱼产卵场的分布、规模和自然条件[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1988: 1-46.]
- [28] Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Aquatic Product Standard of the People's Republic of China: Technical specification for drifting fish eggs and larvae sampling in river, SC/T 9407-2012[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2013. [中华人民共和国农业部. 中华人民共和国水产行业标准: 河流漂流性鱼卵、仔鱼采样技术规范 SC/T 9407-2012[S]. 北京: 中国农业出版社, 2013.]
- [29] Li X H, Li Y F, Tan X C. Research on early life history resources of river fishes [M]. Beijing: Science Press, 2021: 126-152. [李新辉, 李跃飞, 谭细畅. 江河鱼类早期资源研究[M]. 北京: 科学出版社, 2021: 126-152.]
- [30] Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, et al. DNA barcoding Australia's fish species[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Sciences. 2005, 360(1462): 1847-1857.
- [31] He X F, Song Z B, Xie E Y. Oviposition habits and embryonic development of *Saurogobio dabryi*[J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition), 1996(3): 276-281. [何学福, 宋昭彬, 谢恩义. 蛇鮈的产卵习性及胚胎发育[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 1996(3): 276-281.]
- [32] Guo Y C. The effect of water temperature on the embryonic development of *Hypophthalmichthys molitrix* and *Ctenopharyngodon idella*[J]. Freshwater Fisheries, 1982(3): 35-40. [郭永灿. 水温对鲢鱼、草鱼胚胎发育的影响[J]. 淡水渔业, 1982(3): 35-40.]
- [33] Zhou M Y, Chen X, Yang S Y. Identification of several fish eggs and larvae by DNA barcoding in Xiamen Water[J]. Marine Environmental Science, 2015, 34(1): 120-125, 135. [周美玉, 陈骁, 杨圣云. 采用 DNA 条形码技术对厦门海域鱼卵、仔稚鱼种类的鉴定[J]. 海洋环境科学, 2015, 34(1): 120-125, 135.]
- [34] Gao X C, Jiang W. The construction and application of BLAST database of DNA barcode for common fish in the three gorges reservoir[J]. Genomics and Applied Biology, 2021, 40(Z1): 1952-1960. [郜星晨, 姜伟. 三峡库区常见鱼类 DNA 条形码本地 BLAST 数据库的构建和应用[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(Z1): 1952-1960.]
- [35] Hou G, Chen W T, Lu H S, et al. Developing a DNA barcode library for perciform fishes in the South China Sea: Species identification, accuracy and cryptic diversity[J]. Molecular Ecology Resources, 2018, 18(1): 137-146.
- [36] Zhou X, Wang D Q, Duan X B, et al. Studies on spatial and temporal distribution of fish eggs in the Yichang section in middle reaches of the Yangtze River[J]. 2021, 30(4): 861-868. [周雪, 汪登强, 段辛斌, 等. 长江中游宜昌江段鱼卵时空分布特征研究[J]. 长江流域资源与环境, 2021, 30(4): 861-868.]
- [37] Shuai F M, Li X H, Liu Q P, et al. Spatial patterns of fish diversity and distribution in the Pearl River[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(9): 3182-3192. [帅方敏, 李新辉, 刘乾甫, 等. 珠江水系鱼类群落多样性空间分布格局[J]. 生态学报, 2017, 37(9): 3182-3192.]
- [38] Fang D D, Yang H L, Zhang H, et al. Fish community structure and diversity in the middle reaches of the Yangtze River[J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(2): 154-170. [方冬冬, 杨海乐, 张辉, 等. 长江中游鱼类群落结构及多样性[J]. 水产学报, 2023, 47(2): 154-170.]
- [39] Liu F, Zhang F B, Wang X, et al. Relationships between reproduction activities of fishes with drifting eggs and environmental factors in the Chishui River[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(S1): 77-83. [刘飞, 张富斌, 王雪, 等. 赤水河产漂流性卵鱼类的繁殖活动及其与环境因子之间的关系[J]. 水生生物学报, 2019, 43(S1): 77-83.]
- [40] Mu J L, Di J. Hydrological characteristics of the middle and

- upper reaches of the main stream of Heilongjiang River[J]. Heilongjiang Science and Technology of Water Conservancy, 2007, 35(2): 101-102. [牟金玲, 狄娟. 黑龙江干流中上游段水文特性[J]. 黑龙江水利科技, 2007, 35(2): 101-102.]
- [41] Li J, Li X H, Jia X P, et al. Relationship between fish community diversity and environmental factors in the Lianjiang River, Guangdong, China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(18): 5795-5805. [李捷, 李新辉, 贾晓平, 等. 连江鱼类群落多样性及其与环境因子的关系[J]. 生态学报, 2012, 32(18): 5795-5805.]
- [42] Li S J, Chen D Q, Liu S P, et al. Spatial and temporal distribution patterns of eggs, fish larvae and juveniles at Jianli cross-section in the middle reaches of the Yangtze River[J]. Freshwater Fisheries, 2011, 41(2): 18-24. 9. [李世健, 陈大庆, 刘绍平, 等. 长江中游监利江段鱼卵及仔稚鱼时空分布[J]. 淡水渔业, 2011, 41(2): 18-24, 9.]

Species identification and community structure of drifting fish eggs in the middle reaches of the Heilongjiang River on DNA barcoding

PENG Wenjie^{1,2}, MA Bo¹, ZHAO Ran³, WANG Di³, HAN Haoxiang¹, ZHAO Yue³, WANG Kejing³, ZHU Guanyu^{1,4}

1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; National Fishery Resources and Environment Fuyuan Observation Experimental Station; Heilongjiang River Basin Fishery Resources and Environment Scientific Observation Experimental Station, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Harbin 150070, China;
2. College of Fisheries and Life Science, Dalian Oceans University, Dalian 116023, China;
3. Heilongjiang Provincial Environmental Monitoring Center Station, Harbin 150056, China;
4. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: The Heilongjiang River is located in a high-latitude cold region, and the natural Reproduction and early-stage resource occurrence of fish have their own uniqueness. Understanding the spatial patterns of drifting fish eggs species and community structure is of great significance for the conservation of Heilongjiang River fish resources. From June to July 2022, a monitoring study of drifting fish eggs was conducted in three river sections of the Heilongjiang River main streams: Fuyuan, Qindeli, and Luobei. DNA barcoding technology was used to identify the species of fish eggs, resulting in the acquisition of 1179 CO I gene sequences, identifying a total of 15 fish species belonging to 2 orders, 3 families, 8 subfamilies, and 15 genera. Among them, the Cyprinidae family was the most represented with 13 species, accounting for 83.29%, followed by one species each in the Cobitidae and Siniperidae families, accounting for 16.45% and 0.25% respectively. The analysis results showed that the species composition of drifting fish eggs was mainly composed of small fish such as *Hemiculter bleekeri*, *Parabotia fasciatus*, and *Gobiobotia pappenheimi*. Community diversity was highest in the Fuyuan section and showed a decreasing trend upstream, demonstrating clear spatial heterogeneity. The relative importance index (IRI) of important economic fish species such as *Hypophthalmichthys molitrix*, *Ctenopharyngodon idella*, *Elopichthys bambusa*, *Culter alburnus*, *Parabramis pekinensis*, and *Siniperca chuatsi* shows a significant decreasing trend from Fuyuan (downstream) to Luobei (upstream), implying that the spawning stock in the Fuyuan section is larger than in the upstream sections, while the resources in the Luobei section are facing decline. This study suggests that environmental factors and overfishing are likely the main factors affecting the early resources of important economic fish species. It is recommended to establish fishing bans and closed seasons in spawning grounds, reduce fishing intensity, and conduct long-term monitoring studies of early resources such as fish eggs and larvae to scientifically protect and rationally utilize Heilongjiang River fishery resources.

Key words: drifting fish eggs; CO I gene; species identification; community structure; Heilongjiang River

Corresponding author: MA Bo. E-mail: hsymabo@163.com