

文章编号:1000-0615(2009)06-0972-08

## 滤食性鲢、鳙肠含物 PCR-DGGE 指纹分析

颜庆云<sup>1</sup>, 余育和<sup>1</sup>, 张堂林<sup>1</sup>, 冯伟松<sup>1</sup>, 李学梅<sup>1,2</sup>

(1. 中国科学院水生生物研究所, 中国科学院水生生物多样性与保护重点实验室, 湖北 武汉 430072;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要:**以采自武汉东湖的滤食性鲢、鳙为对象,通过 PCR-DGGE 并结合序列分析对其肠道微生物及肠含物中残留的食物组分进行了探索研究。在所有个体中都能检测到不同的 PCR-DGGE 指纹谱带,其中包括肠道细菌在内的原核谱带较多,真核谱带相对较少;分析结果表明针对鲢、鳙肠含物这一特殊生境样品进行 PCR-DGGE 指纹分析是可行的。PCR-DGGE 指纹结构及针对部分特定 PCR-DGGE 谱带的序列分析显示,从武汉东湖采集的鲢、鳙在食性上存在很大的重叠,并没有像基于常规食性分析文献报道的那样明显不同。基于肠含物 DNA 来进行鱼类食性分析的方法不受对食物碎片分类鉴定的制约,可同时对多个样品平行进行分析,且不同研究者间的研究结果便于进行比较,以便总结生态学的内在规律。

**关键词:**鲢;鳙;PCR-变性梯度凝胶电泳;肠含物;武汉东湖

**中图分类号:**S 917

**文献标识码:**A

鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*)、鳙 (*Aristichthys nobilis*) 是东亚地区季风气候影响下,适应泛滥平原江湖复合生态系统的特有鱼类,与青鱼、草鱼并称为我国的“四大家鱼”。20 世纪 50 年代末,家鱼人工繁殖试验的成功<sup>[1]</sup>极大地推动了我国池塘养殖业的发展。鲢、鳙作为主要放养鱼种,生长快、产量高,其食性问题是养殖实践中需要优先考虑的问题。关于鲢、鳙食性的研究始于倪达书和蒋燮治<sup>[2]</sup>,采用的主要手段是肠含物显微分析及对鳃耙结构进行显微观察,结果发现鲢以浮游植物为主要食料,鳙则主要摄食浮游动物。由于鲢、鳙缺乏挑选食物的能力,因此鲢还带吃些浮游动物,鳙带吃些浮游植物,其食性差异主要是因为鳃耙的构造不同<sup>[2]</sup>。陈少莲<sup>[3]</sup>对武汉东湖水果湖区鲢、鳙食性的研究表明鲢摄食浮游植物多于浮游动物,而鳙则正好相反。此外,还发现鲢、鳙摄食各类浮游动、植物的情况也有所差异:鲢选择摄食较小的浮游动物,而鳙则选择较大的浮游动物;对浮游植物而言,虽然鲢、鳙都以滤

食蓝藻和绿藻为主,但鳙滤食蓝藻比鲢多,而鲢滤食绿藻比鳙多<sup>[3]</sup>。

浮游生物作为鲢、鳙的主要食物,它们与鲢、鳙相互影响和制约。因此,如何充分利用鲢、鳙与浮游生物的相互关系显得尤其重要,这要求我们首先必须弄清楚鲢、鳙食性与环境的关系。但由于浮游生物大多个体小,形态分类特征不是很明显,且有些种类在不同环境条件会有一些的形态变化。因此,对鲢、鳙肠含物进行镜检的常规食性分析方法所得的结果有可能丢失了许多的营养关系。本研究将鲢、鳙肠道(主要指前肠部分)视为特殊的小生境,进一步探讨针对湖泊、河流等自然生境浮游生物群落建立的 DNA 指纹分析方法<sup>[4-8]</sup>在鱼类食性分析及消化道微生物多样性研究中的应用。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 样品采集

鲢、鳙于 2008 年 6 月采自武汉东湖水果湖

收稿日期:2009-03-10 修回日期:2009-06-19

资助项目:国家重点基础研究发展计划(2007CB109205);国家自然科学基金(30770298);淡水生态与生物技术国家重点实验室开放课题(2008FB016)

通讯作者:余育和, E-mail: yhyu@ihb.ac.cn

区,取 1 kg 左右的个体(表 1)用于实验。解剖后取前肠内含物于无菌离心管用于 DNA 提取,另取一份用 1.5 mL 4% 的甲醛溶液固定以进行肠含物的镜检分析。同时,参照文献[6]的方法于

鲢、鳙捕捞地点平行采集两水样(W1、W2)以分析水体中浮游生物背景。水样中浮游生物物种组成及定量分析方法参见文献[6];群落 DNA 提取及 PCR-DGGE 指纹分析参照文献[5]进行。

表 1 鲢、鳙个体大小特征比较  
Tab.1 Comparison of silver and bighead carp in size

	全长 (cm) full length	体长 (cm) body length	体重 (kg) body weight
鳙 1 <i>A. nobilis</i> 1 (A1)	40.8	33.5	0.78
鳙 2 <i>A. nobilis</i> 2 (A2)	50.5	41.0	1.22
鳙 3 <i>A. nobilis</i> 3 (A3)	47.5	39.5	1.15
鲢 1 <i>H. molitrix</i> 1 (H1)	49.5	41.0	1.10
鲢 2 <i>H. molitrix</i> 2 (H2)	45.8	38.4	0.90
鲢 3 <i>H. molitrix</i> 3 (H3)	48.0	39.4	0.90
鲢 4 <i>H. molitrix</i> 4 (H4)	44.9	36.5	0.75
鲢 5 <i>H. molitrix</i> 5 (H5)	43.0	35.0	0.75
鲢 6 <i>H. molitrix</i> 6 (H6)	41.0	33.8	0.83

## 1.2 前肠内含物组成分析及肠含物 DNA 提取

前肠内含物组成分析通过镜检进行:将经甲醛固定的内含物充分混匀后迅速吸取 0.1 mL 到计数框中,必要时盖上盖玻片,先在低倍镜(32×)下检视,全片统计较大的食物类群(如枝角类、桡足类等),再在高倍镜下(100×或 400×)检视较小的食物类群(如轮虫、藻类等)。检查视野一般为 10~30 个(视放大倍数而定),食物尽可能鉴定到较小分类单元,并计算各组分百分比。

向肠含物中加入 800 μL 裂解液(0.5% SDS;10 mmol/L Tris-Cl, pH 8.0;10 mmol/L EDTA, pH 8.0;100 mmol/L NaCl;蛋白酶 K,100 μg/mL;RNAase A,50 μg/mL)于 55 °C 水浴裂解过夜,离心(10 000 × g,10 min,20 °C)后上清转入新的无菌离心管通过常规的酚-氯仿法进行抽提, DNA 重悬于 50 μL TE(10 mmol/L Tris-Cl,1 mmol/L EDTA, pH 8.0)并保存于 -20 °C 备用。

## 1.3 PCR-DGGE 及序列分析

分别采用针对 16S *rRNA* 和 18S *rRNA* 基因的引物对肠含物中的原核类群(包括肠道细菌)及真核类群进行 PCR-DGGE 指纹分析(参见文献[6]),其中变性剂梯度范围为 35%~50%。并对部分特定 PCR-DGGE 谱带进行序列分析:首先将切下的胶条用 50 μL TE 于 4 °C 重悬过夜洗脱胶中的 DNA,离心后取上清 1 μL 作模板用不含 GC 发夹的引物重新进行 PCR 扩增(扩增体系和程序同上)。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后用东盛公

司的 DNA 回收试剂盒回收。将回收的 DNA 片段连接到 pMD18-T 载体,克隆后筛选阳性送北京利嘉泰成科技有限公司测序。将所测得的序列在 NCBI 进行 BLAST,并从 GenBank 下载相似的 16S 或 18S 核糖体 *rRNA* 基因序列,通过 Clustal X 软件进行多序列比对<sup>[9]</sup>,经校对和剪切后采用最大简约法(Phylip 软件包)进行序列相似性分析。

## 1.4 数据分析

利用 Quantity One 4.6.2 (Bio-Rad Laboratories, CA, USA)软件对 PCR-DGGE 指纹图谱进行分析,根据各谱带在凝胶中的迁移距离转换成 1/0 矩阵(1、0 分别代表谱带的有、无)。通过公式  $S = 2n_{AB}/(n_A + n_B)$  计算所比较样品的 Dice 相似系数,其中  $n_{AB}$  表示两站点的共有谱带数; $n_A$  和  $n_B$  分别代表站点 A 和 B 特有的谱带数。进而针对 Dice 相似系数进行非加权配对算术平均法聚类(UPGMA)和多维尺度分析(MDS),以揭示不同个体肠含物中生物构成之间的相似性,并与水样中的浮游生物群落 PCR-DGGE 指纹进行比较。

## 2 结果

### 2.1 水体中浮游生物背景

常规的形态分类在水样中(W1、W2)共检测到浮游生物 57 种,其中原生动物 22 种、轮虫 19 种、藻类 13 种、枝角类 2 种、桡足类 1 种;W1、W2 水样中浮游生物组成的 Dice 相似系数为 0.643。

从对浮游动物的定量计数结果来看,原生动物的丰度上占优势,平均为 19 050 ind/L,轮虫为 2 550 ind/L,而枝角类和桡足类的丰度很低。两平行水样浮游动物丰度的 Pearson 相似系数为 0.912,基于 16S 和 18S *rRNA* 基因 DGGE 谱带 Dice 系数分别为 0.778 和 0.917。且 W1 和 W2 在基于 16S 和 18S *rRNA* 基因 DGGE 谱带 Dice 相似系数的 UPGMA 聚类中都聚成一枝。

## 2.2 前肠内含物组成

总体上看,肠道内食物非常少,且以藻类为

主,浮游动物很少。选择食物量稍多的个体(A3、H1、H6)进行镜检和计数,结果显示鲢、鳙肠含物中丰度最高的是栅藻属(*Scenedesmus* sp.) (数量百分比为 42.83% ~ 64.73%),所占比例较高的还有小环藻属(*Cyclotella* sp.) 和弓形藻属(*Schroederia* sp.)。从对肠含物镜检分析的结果来看,鲢、鳙选择性摄食的藻类和浮游动物差异不明显,针对不同个体前肠内含物各组分丰度(表 2)的 Pearson 相似系数为 0.928 ~ 0.941。

表 2 鲢、鳙肠含物食物组成及数量百分比

Tab.2 Composition and percentage of food in intestinal contents of silver and bighead carp

	A3		H1		H6	
	丰度(ind/L)	百分比(%)	丰度(ind/L)	百分比(%)	丰度(ind/L)	百分比(%)
	abundance	percentage	abundance	percentage	abundance	percentage
栅藻属 <i>Scenedesmus</i> sp.	2 597	44.93	365 199	64.73	2 597	42.83
小环藻属 <i>Cyclotella</i> sp.	866	14.98	64 447	11.42	866	14.28
弓形藻属 <i>Schroederia</i> sp.	649	11.23	26 853	4.76	866	14.28
直链藻属 <i>Melosira</i> sp.	-	-	32 223	5.71	649	10.71
衣藻属 <i>Chlamydomonas</i> sp.	-	-	21 482	3.81	-	-
十字藻属 <i>Crucigenia</i> sp.	216	3.74	21 482	3.81	-	-
四角藻属 <i>Tetraedron</i> sp.	-	-	10 741	1.90	-	-
盘星藻属 <i>Pediastrum</i> sp.	-	-	-	-	433	7.14
针杆藻属 <i>Synedra</i> sp.	649	11.23	16 112	2.86	433	7.14
舟形藻属 <i>Navicula</i> sp.	433	7.49	5 371	0.95	-	-
轮虫 Rotifer	50	0.86	10	0.002	10	0.16
盘肠蚤 Chydoridae	40	0.69	20	0.003	10	0.16
剑水蚤 Cyclopoida	10	0.17	-	-	-	-
植物碎屑 plant debris	120	2.08	110	0.02	70	1.15
未定类型 unidentified	150	2.59	170	0.03	130	2.14
合计 total	5781	100	564 220	100	6 064	100

## 2.3 肠含物 PCR-DGGE 分析

针对 16S *rRNA* 基因的 DGGE 指纹分析共检测到 30 条不同的谱带(图 1),代表 30 个分类单元(OTU)。其中仅在单个个体肠含物中检测到的谱带占 36.7%,而只有一条谱带在所有个体都能检测到。鲢、鳙不同个体肠含物中检测到的谱带数在 4 ~ 19 条不等,平均为 11.1 条。基于 16S *rRNA* 谱带 Dice 相似系数的 UPGMA 聚类和 MDS 排序显示鲢除了 H6 外,其它个体相似性较高,且与水样中的浮游生物背景比较接近;而鳙与水样中的浮游生物背景相差比较大(图 2- a,c)。

针对 18S *rRNA* 基因的 DGGE 指纹分析共检测到 10 条不同的谱带,其中仅在单个个体肠含物检测到的谱带占 50.0%,而只有一条谱带在所有个体都能检测到。不同鲢、鳙个体肠含物检测到

的谱带数为 2 ~ 7 条,较水样中检测到的 18S *rDNA* 谱带数少。基于 18S *rDNA* 谱带 Dice 相似系数的 UPGMA 聚类和 MDS 排序显示鲢、鳙肠含物中检测到的真核类群没有太明显的区别(图 2-b,d)。PCR-DGGE 指纹分析发现主要谱带在鲢、鳙不同个体中均能检测到,对部分 DGGE 条带的序列分析显示,从鲢、鳙不同个体肠含物获得的序列存在很多交叉(图 3,图 4),这些都表明鲢、鳙的食性存在较大的重叠。

## 3 讨论

鲢、鳙是我国重要的淡水养殖品种,自 1958 年人工繁殖成功以来得到了迅速推广,并在我国淡水养殖中占据了主导地位;它们被广泛引种到其他各国后其养殖量也占有相当的比重,如 1989

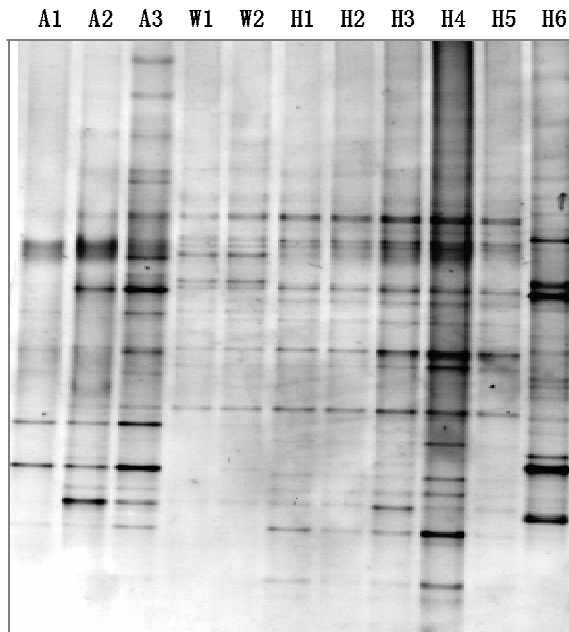


图1 16S rDNA 变性梯度凝胶电泳(DGGE)图谱

A、H 分别表示样品取自鲢、鳙, W 表示水样

Fig.1 DGGE patterns of 16S ribosomal DNA (rDNA)

A, H and W indicate the samples collected from bighead carp, silver carp and water sample, respectively

年鲢位居世界内陆水体鱼产量的榜首(占 12%), 鳙占 6%<sup>[10]</sup>。尽管近些年来我国大力发展名特优鱼类养殖,但 2005 年的统计结果仍显示鲢、鳙占我国淡水养殖总产量的 28%<sup>[11]</sup>。鲢、鳙作为滤食性鱼类,与浮游生物密切相关,它们之间相互依赖、相互调节,在物质循环、能量流动和维持水体生态系统平衡中发挥着各自的作用,同时对水体营养状况也会产生一定的影响。因此,鲢、鳙放养对水质的影响受到了国内外学者的关注,在武汉东湖的研究表明鲢、鳙的放养延缓了水体富营养化的进程<sup>[12-13]</sup>;也有研究认为鲢、鳙等滤食浮游生物的高密度放养可加速水体富营养化进程<sup>[14-15]</sup>。这有可能是由于不同研究涉及的水体环境,鲢、鳙配比和放养密度,以及研究方法手段上的差异所致。由于个体较小的浮游生物种类能够顺利通过鲢、鳙的摄食器官而不被滤食,这样导致了鲢、鳙放养水体中的浮游生物有向小型化演替的趋势<sup>[13, 16]</sup>。而且,鲢、鳙的食性也不是固定不变的,会随着环境的改变而发生相应的变化,如太湖的鲢、鳙均以微囊藻为主要食物<sup>[17-18]</sup>是因为富营养条件下的太湖初级生产力几乎全部由微囊藻形成。不过,现有研究对鲢、鳙食性的分析主

要是从形态分类角度通过镜检来进行,所得结果在一定程度上受分类鉴定等人为因素的影响。

基于动物胃、肠道内含物或粪便中残留食物的 DNA 来进行食性分析的方法,在近些年受到了大家的青睐<sup>[13-21]</sup>。因为常规的食性分析方法主要是对胃、肠内含物或粪便中残留的食物碎片通过形态来进行分类,但很多情况下对食物碎片的鉴定比较困难。况且,有些被摄食的物种即便是完整保留的个体都很难准确鉴定(如某些浮游生物)。基于 DNA 的食性分析方法与常规镜检相比,即使是经消化后的残留碎片仍有可能鉴定出是什么物种。此外,该方法比较便捷,能同时对多个样品进行平行检测,且不同研究间的结果便于比较分析。此类方法已应用到昆虫<sup>[22-23]</sup>、蜘蛛<sup>[24]</sup>、磷虾<sup>[25]</sup>、软体动物<sup>[26]</sup>、鱼类<sup>[27]</sup>和哺乳动物<sup>[28]</sup>等的食性分析中,而对我国的主要养殖品种鲢、鳙还未见相关报道。由于鲢、鳙的主要食物——浮游生物的分类特征不是很明显,它们被摄食后想要通过对食物碎片的镜检来准确鉴定,即便是对分类经验丰富的专家也显得比较困难,其研究结果也有可能因为不同研究者分类经验等人为因素的影响产生较大的偏差。

本研究将鲢、鳙肠道内环境视为特殊生境,并以此来探讨 DNA 指纹分析在家鱼食性分析及肠道微生物多样性等生态问题研究中的应用。由于样品于清晨采集,是鲢、鳙摄食的一个低谷期<sup>[29]</sup>,且捕获的鲢、鳙在挣扎过程中消耗了相当部分食物能量,因此解剖后发现肠道内的食物普遍较少。常规食性分析只在其中 3 尾检测到较少的浮游生物(主要是藻类),但基于肠内含物 DNA 的 PCR-DGGE 指纹分析在所有个体都能检测到不同的谱带(各谱带分别视为独立的分类单元,OTU),其中包括肠道内环境细菌在内的原核 OTU 较多,而真核谱带所代表的 OTU 相对较少。PCR-DGGE 谱带反映的肠内含物组分在鲢、鳙之间差异不是很明显,主要谱带在鲢、鳙不同个体中均能检测到,这表明 PCR-DGGE 指纹分析较常规镜检能更灵敏地检测肠内含物中的食物组分的多样性。对 PCR-DGGE 指纹进行聚类分析发现鲢、鳙个体并没有截然分开,而是存在交叉(图 2),表明它们在食性上存在重叠, DGGE 谱带序列分析结果也支持这一点。这与张堂林<sup>[30]</sup>基于常规镜检分析结果相吻合,认为鲢、鳙营养生态位重叠较高。所有

这些表明针对鲢、鳙肠道这一特殊的生境进行 PCR-DGGE 指纹分析是可行的,且武汉东湖水果湖区的鲢、鳙在食性上并不是像基于常规食性分析文献报道的那样存在明显的不同<sup>[2-3]</sup>。当然,鲢、鳙食性之间的确切差异及其与环境的关系还需在更大的时空尺度范围内,结合环境背景对肠

含物 DNA 多态性差异进行更深入的研究。

基于肠含物 DNA 来进行鱼类食性分析的吸引力主要表现在:(1)针对不同物种或类群设计好特异引物后,可以直接用来检测目标类群是否被摄食,一旦有了合适的探针将使得某些特定物种或类群的检测更加简便和准确;(2)核酸序列

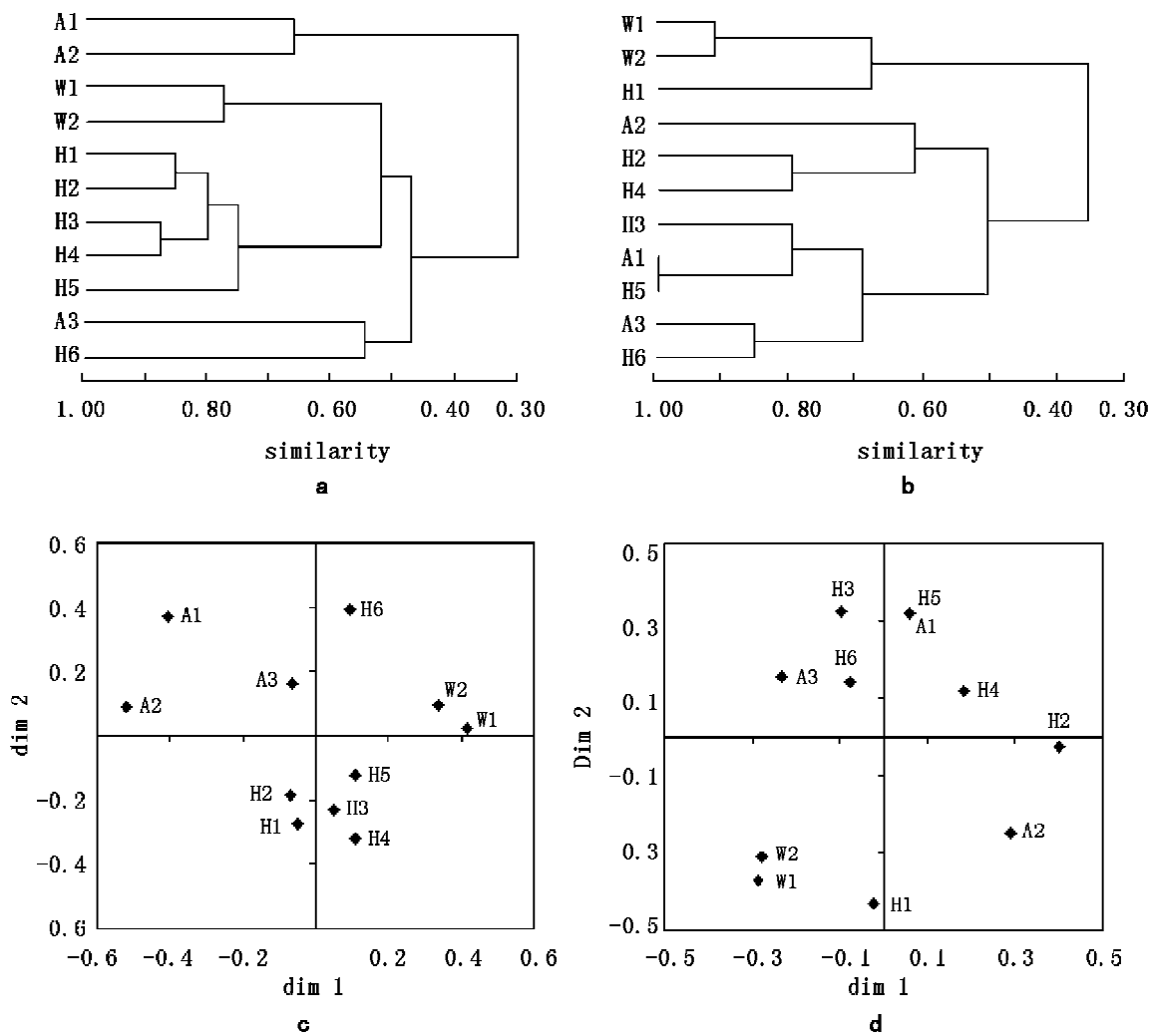


图2 16S rDNA 和 18S rDNA DGGE 指纹图谱相似性比较

A、H 分别表示样品取自鳙、鲢, W 表示水样;

(a) 基于 16S rDNA 谱带 UPGMA 聚类; (b) 基于 18S rDNA 谱带 UPGMA 聚类;

(c) 基于 16S rDNA 谱带 MDS 排序; (d) 基于 18S rDNA 谱带 MDS 排序

Fig. 2 Comparison of similarity based on DGGE fingerprints of 16S rDNA and 18S rDNA

A, H and W indicate the samples collected from bighead carp, silver carp and water sample, respectively;

(a) UPGMA clustering on the basis of 16S rDNA bands; (b) UPGMA clustering on the basis of 18S rDNA bands; (c) MDS ordination

on the basis of 16S rDNA bands; (d) MDS ordination on the basis of 18S rDNA bands

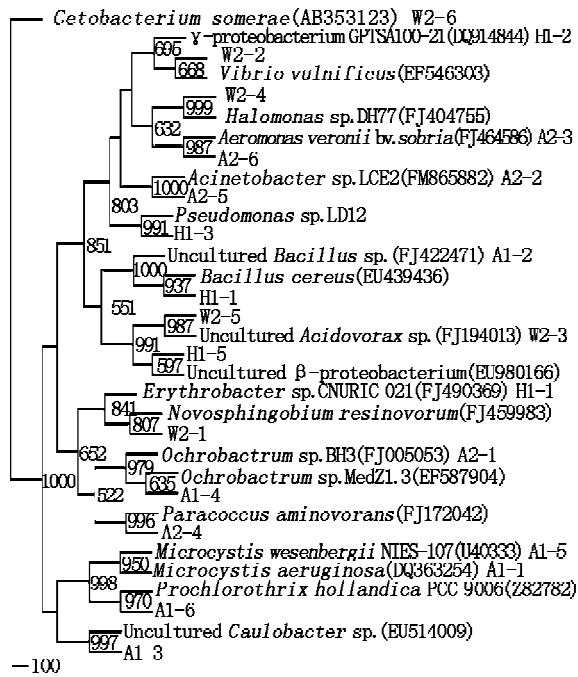


图3 从回收的 DGGE 谱带获得的  
16S rDNA 序列相似性比较

粗体所示为本研究测得的序列;A、H 分别表示样品取自鳊、鲢,W 表示水样;节点处的数字为 1 000 次 bootstrap 的置信度值(只显示在 50% 以上的)

Fig. 3 Comparison on sequences similarity of 16S rDNA obtained from excised DGGE bands

Sequences obtained in this study showing as bold; A, H and W indicate the samples collected from bighead carp, silver carp and water, respectively; The number next to each node indicates bootstrap value of 1000 replicates (only values above 50% are shown)

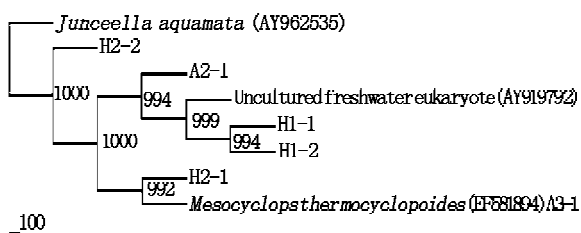


图4 从回收的 DGGE 谱带获得的  
18S rDNA 序列相似性比较

粗体所示为本研究测得的序列;A、H 分别表示样品取自鳊、鲢;节点处的数字为 1000 次 bootstrap 的置信度值(只显示 50% 以上的置信度值)

Fig. 4 Comparison on sequences similarity of 18S rDNA obtained from excised DGGE bands

Sequences obtained in this study showing as bold; A, H indicate the samples collected from bighead and silver carp, respectively; The number next to each node indicates bootstrap value of 1000 replicates (only values above 50% are shown)

数据库已公布了大量的序列信息且以惊人的速度在增长,这为比对分析提供了很好的平台;(3)可同时多个样品平行进行分析,且不同研究者间的研究结果便于进行比较以总结生态学的内在规律。

#### 参考文献:

- [1] 钟麟,李有广,张松涛,等. 家鱼的生物学和人工繁殖[M]. 北京:科学出版社,1965.
- [2] 倪达书,蒋燮治. 花鲢和白鲢的食料问题[J]. 动物学报,1954,6(1):59-71.
- [3] 陈少莲. 东湖放养鲢、鳙鱼种的食性分析[J]. 水库渔业,1982,(3):21-26.
- [4] Yan Q Y, Yu Y H, Feng W S, et al. Genetic diversity of plankton community as depicted by PCR-DGGE fingerprinting and its relation to morphological composition and environmental factors in Lake Donghu [J]. Microbial Ecology, 2007, 54(2): 290-297.
- [5] Yan Q Y, Yu Y H, Feng W S, et al. Plankton community succession in artificial systems subjected to cyanobacterial blooms removal using chitosan-modified soils [J]. Microbial Ecology, 2009, 58(1): 47-55.
- [6] Yu Y H, Yan Q Y, Feng W S. Spatiotemporal heterogeneity of plankton communities in Lake Donghu, China, as revealed by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and its relation to biotic and abiotic factors [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 63(3): 328-337.
- [7] 余育和,张文静,颜庆云. DNA 指纹分析技术在群落级生命系统应用的可能性[J]. 水生生物学报,2004,28(5):457-463.
- [8] 颜庆云,余育和,冯伟松. 洞庭湖浮游生物群落 DNA 指纹拓扑结构与物种组成对应关系[J]. 生态学报,2005,25(9):2221-2226.
- [9] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(24): 4876-4882.
- [10] FAO. Fishery statistics, catches and landings [1989] [M]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1991.
- [11] 农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2005.
- [12] 陈少莲,刘肖芳,华俐. 鲢、鳙在东湖生态系统

- 的氮、磷循环中的作用[J]. 水生生物学报, 1991, 15: 9-26.
- [13] 杨宇峰, 黄祥飞. 武汉东湖主要养殖水域的浮游甲壳动物群落分析[J]. 生态学报, 2002, 22: 318-325.
- [14] Andersson G, Berggren H, Cronberg G, *et al.* Effects of planktivorous and benthivorous fish on organisms and water chemistry in eutrophic lakes [J]. *Hydrobiologia*, 1978, 59: 9-15.
- [15] Arcifa M S, Northcote T G, Froehlich O. Fish-zooplankton interactions and their effects on water quality of a tropical Brazilian reservoir [J]. *Hydrobiologia*, 1986, 139: 49-58.
- [16] Xie P, Liu J K. Practical success of biomanipulation using filter-feeding fish to control cyanobacteria blooms; a synthesis of decades of research and application in a subtropical hypereutrophic lake [J]. *The Scientific World Journal*, 2001, 1: 337-356.
- [17] 刘恩生, 鲍传和, 曹萍, 等. 太湖鲢、鳙的食物组成及渔获量变化原因分析[J]. 水利渔业, 2007, 27: 72-74.
- [18] 刘恩生, 刘正文, 鲍传和, 等. 太湖鲢鱼和鳙、鳊的食物组成及相互影响分析[J]. 湖泊科学, 2007, 19: 451-456.
- [19] Symondson W O C. Molecular identification of prey in predator diets [J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11: 627-641.
- [20] Sheppard S K, Harwood J D. Advances in molecular ecology: tracking trophic links through predator-prey food-webs [J]. *Functional Ecology*, 2005, 19: 751-762.
- [21] King R A, Read D S, Traugott M, *et al.* Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches [J]. *Molecular Ecology*, 2008, 17: 947-963.
- [22] Agustí N, de Vicente M C, Gabarra R. Development of sequence amplified characterized region (SCAR) markers of *Helicoverpa armigera*: a new polymerase chain reaction-based technique for predator gut analysis [J]. *Molecular Ecology*, 1999, 8: 1467-1474.
- [23] Chen Y, Giles K L, Payton M E, *et al.* Identifying key cereal aphid predators by molecular gut analysis [J]. *Molecular Ecology*, 2000, 9: 1887-1898.
- [24] Agustí N, Shayler S P, Harwood J D, *et al.* Collembola as alternative prey sustaining spiders in arable ecosystems: prey detection within predators using molecular markers [J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12: 3467-3475.
- [25] Passmore A, Jarman S, Swadling K, *et al.* DNA as a dietary biomarker in Antarctic krill, *Euphausia superba* [J]. *Marine Biotechnology*, 2006, 8: 686-696.
- [26] Deagle B E, Jarman S N, Pemberton D, *et al.* Genetic screening for prey in the gut contents from a giant squid (*Architeuthis* sp.) [J]. *Journal of Heredity*, 2005, 96: 417-423.
- [27] Rosel P E, Kocher T D. DNA-based identification of larval cod in stomach contents of predatory fishes [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2002, 267: 75-88.
- [28] Deagle B E, Tollit D J, Jarman S N, *et al.* Molecular scatology as a tool to study diet: analysis of prey DNA in scats from captive Steller sea lions [J]. *Molecular Ecology*, 2005, 14: 1831-1842.
- [29] 陈少莲, 胡传林, 张水元. 鲢、鳙在天然条件下的摄食强度(I) 鲢、鳙鱼种在夏季的摄食强度[J]. 水生生物学报, 1986, 10: 277-285.
- [30] 张堂林. 扁担塘鱼类生活史策略、营养特征及群落结构研究[D]. 武汉: 中国科学院研究生院(水生生物研究所), 2005.

## PCR-DGGE fingerprinting analysis on intestinal contents of filter-feeding fishes (*Hypophthalmichthys molirix* and *Aristichthys nobilis*)

YAN Qing-yun<sup>1</sup>, YU Yu-he<sup>1</sup>, ZHANG Tang-lin<sup>1</sup>, FENG Wei-song<sup>1</sup>, LI Xue-mei<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory of Biodiversity and Conservation of Aquatic Organisms, Institute of Hydrobiology,

Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;

2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract**: PCR-DGGE fingerprinting was explored in the present study to analyze intestinal contents of filter-feeding fishes (*Hypophthalmichthys molirix* and *Aristichthys nobilis*), which were sampled from the Donghu Lake, Wuhan. Different microbial bands (16S rDNA) and eukaryotic bands (18S rDNA) were detected in all the individuals, and the numbers of 16S rDNA bands were more than that of 18S rDNA bands. Results of the present study suggested that it is possible and useful to apply PCR-DGGE fingerprinting to studying the intestinal contents of filter-feeding fishes. Additionally, PCR-DGGE fingerprinting and sequences analysis of the DGGE bands indicated that intestinal contents composition of silver carp and bighead carp, which had been found to be significantly different in traditional dietary analyses with microscopy identification, was not significantly different. These results suggested that a significant portion of planktonic organisms were fed by the silver carp and bighead carp. In DNA based dietary analyses, multiple samples can be studied simultaneously with a standardized set of procedures, making it practical to perform comparative analyses, and furthermore, this comparison makes it possible to elucidate some objective ecological rules.

**Key words**: *Hypophthalmichthys molirix*; *Aristichthys nobilis*; PCR-DGGE; intestinal contents; Donghu Lake