

DOI: 10.12264/JFSC2022-0138

新疆克孜勒河5种土著鱼食性分析

赵贺^{1,2,4}, 赵年桦^{1,2,4}, 李丽^{2,3,4}, 强壮^{2,3,4}, 魏杰^{1,2,4}, 聂竹兰^{1,2,4}

1. 塔里木大学动物科学与技术学院, 新疆维吾尔自治区 阿拉尔 843300;
2. 省部共建塔里木盆地生物资源保护利用国家重点实验室, 新疆维吾尔自治区 阿拉尔 843300;
3. 塔里木大学生命科学与技术学院, 新疆维吾尔自治区 阿拉尔 843300;
4. 新疆生产建设兵团塔里木畜牧科技重点实验室, 新疆维吾尔自治区 阿拉尔 843300

摘要: 为探究克孜勒河5种土著鱼食物组成及其营养级, 本研究选取采自于克孜勒河的塔里木裂腹鱼(*Schizothorax biddulphi*)、宽口裂腹鱼(*Schizothorax eurystomus*)、厚唇裂腹鱼(*Schizothorax irregularis*)、叶尔羌高原鳅(*Triplophysa yarkandensis*)和长身高原鳅(*Triplophysa tenuis*) 5种鱼样品共46尾作为研究对象, 运用传统形态学方法, 对样品5个摄食器官形态性状进行分析, 通过高通量测序技术分析其肠道食物组成, 并测定了碳、氮稳定同位素以分析其营养级。研究结果显示, 3种裂腹鱼属鱼类摄食器官形态较为相近, 2种高原鳅摄食器官形态基本一致; 厚唇裂腹鱼肠长比约为2.95, 主要食物来源于初级生产者, 包括刚毛柽柳(*Tamarix hispida*)、野大豆(*Glycine soja*)和白刺(*Nitraria tangutorum*)等; 宽口裂腹鱼肠长比较短, 约为2.56, 食物以初级生产者为主, 如二穗短柄草(*Brachypodium distachyon*), 也会捕食一些小型鱼类; 塔里木裂腹鱼肠长比较短, 约为2.38, 食物以裂腹鱼属鱼类为主, 其次为白柠檬(*Citrus latifolia*); 叶尔羌高原鳅与长身高原鳅比肠长均小于1, 肠道中裂腹鱼属鱼类丰度达到95%以上; 塔里木裂腹鱼、宽口裂腹鱼和厚唇裂腹鱼营养级分别为3.19、2.78和2.52, 叶尔羌高原鳅与长身高原鳅营养级为3.44和3.55; 综合判断厚唇裂腹鱼属植食性鱼类, 宽口裂腹鱼为杂食性偏植食性鱼类, 塔里木裂腹鱼为杂食性偏肉食性鱼类, 叶尔羌高原鳅和长身高原鳅为肉食性鱼类。本研究拓展了对克孜勒河食物网的认识, 探明克孜勒河鱼类食物关系和营养级, 为克孜勒河鱼类资源保护及合理利用提供基础数据。

关键词: 裂腹鱼属; 高原鳅属; 食性; 高通量测序; 稳定同位素

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)10-1461-14

克孜勒河属喀什噶尔河水系, 是新疆南疆地区河流之一^[1], 其中栖息着多种土著鱼类, 例如塔里木裂腹鱼(*Schizothorax biddulphi*)、宽口裂腹鱼(*Schizothorax eurystomus*)、厚唇裂腹鱼(*Schizothorax irregularis*)、叶尔羌高原鳅(*Triplophysa yarkandensis*)和长身高原鳅(*Triplophysa tenuis*)^[1-5]。受人类活动影响, 克孜勒河流域内植被覆盖率降低, 少有降水, 鱼类生存环境日渐恶劣, 加之水利设施的兴建, 鱼类洄游路线阻断, 野外鱼类种

群数量逐年减少^[3,6]。目前, 克孜勒河土著鱼类资源亟需保护。

探究鱼类食性是了解鱼类生活习性的前提, 鱼类生长、发育、繁殖所需要的能量都来自于食物, 通过对鱼类的食物组成和饵料环境的了解, 既可以掌握鱼类生态位和活动规律, 为鱼类生物学研究奠定基础^[7-9], 也可进一步揭示鱼类在整个生态系统中所扮演的主要角色, 对鱼类种质资源保护有重要意义^[10]。胃内容物分析法(Analysis

收稿日期: 2022-04-13; 修订日期: 2022-06-20.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31560721; 31860729); 新疆生产建设兵团中青年科技创新领军人才计划项目(2018CB033); 塔里木大学校长基金项目(TDZKCX202204); 中国海洋大学塔里木大学科研合作联合基金项目(ZHYLH201902).

作者简介: 赵贺(1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水生生物资源保护与利用. E-mail: 1742961937@qq.com

通信作者: 魏杰, 副教授, 研究方向为水生生物资源保护与利用、水域生态学. E-mail: weijiedky@126.com

of Stomach Content, SCA)是通过研究者的肉眼进行直接观察或借助显微镜等仪器,对鱼类肠道内容物进行定性和定量分析^[11-12],目前已被广泛应用于裂腹鱼属和高原鳅属鱼类食性研究,如巨须裂腹鱼(*Schizothorax macropogon*)^[13]、拉萨裂腹鱼(*Schizothorax waltoni*)^[14]和细尾高原鳅(*Triplophysa stenura*)^[15]等。虽然通过胃内容物分析法可以得到详细的食物分类,但对于已被消化或者外部特征不明显的食物,可能无法进行正确识别,存在一定局限性^[16]。

随着分子生物学技术的发展,基于 Illumina Miseq 高通量测序技术也开始应用于胃含物的物种鉴定^[17]。基于特异性 DNA 片段扩增的高通量测序技术(High-throughput sequencing technology)目前已被广泛使用于鱼类的食物组成研究,如牛鼻鲢(*Rhinoptera bonasus*)^[18]、欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)^[19]、小口棘鳞鱼(*Sargocentron microstoma*)^[20]、凸颌锯鳞鱼(*Myripristis berndti*)^[20]等。相比于传统的形态学鉴定,该技术具有对样品需求少,灵敏度高和检出物种种类多的优点,可以更有效地了解研究鱼类的摄食情况,从而获得更全面、可靠的食谱信息^[21]。

稳定碳氮同位素分析(Stable Carbon and Nitrogen Isotope Analysis, SIA)也已经成为探究鱼类食性的一种补充工具,并为鱼类及其栖息地生态系统之间的营养关系提供了新的探索方法^[22-24]。稳定同位素分析能反映鱼类长时间的摄食和吸收情况^[25-27],通过捕食者的碳稳定同位素比值与其饵料相应同位素比值,判断捕食者较长时间内的食物来源;通过测定生态系统中不同生物的氮稳定同位素比值,判断生物在食物链的位置,推算其营养级的大小,确定所在食物网的结构^[28-29],如 Dixon 等^[30]利用稳定同位素分析评估在西格陵兰海岸中北美大西洋鲑(*Salmo salar*)的营养级,发现大西洋鲑鱼位于食物网的中上层,且会前往远洋进行猎食活动;Divine 等^[31]利用稳定同位素对阿拉斯加北极雪蟹(*Chionoecetes opilio*)食性进行分析,发现其营养级较低,缺乏相对于可用性的猎物选择,食物种类较为单一;Park^[32]利用稳定同位素揭示

日本海西部狭鳕(*Theragra charcogramma*)的食性和营养位置的转变,狭鳕的中间 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值介于底栖和中上层捕食者之间,且狭鳕的同位素值随着体长的增加而增加,表明食性发生改变,从主要摄食中上层生物转变为摄食底栖生物。

针对裂腹鱼属和高原鳅属鱼类食性研究的薄弱现状,本研究以克孜勒河流域采集到的 3 种裂腹鱼和 2 种高原鳅个体为研究对象,以 18S rDNA 为靶标,利用 Illumina Miseq 高通量测序方法探究裂腹鱼和高原鳅饵料生物组成特征,并通过稳定同位素技术测定并分析其碳、氮同位素,计算其营养级,以期描述裂腹鱼和高原鳅的食谱信息并估算平均营养水平,探明其在河流生态系统中所扮演的生态角色,丰富其摄食生态学信息。

1 材料与方法

1.1 样品采集及处理

实验所用样品为 2021 年 7-9 月通过地笼网收集于新疆克孜勒河流域的渔获样本,采样点布置如图 1 所示。本次研究共选取胃饱满度较高的个体共 46 尾用于食性分析,其中塔里木裂腹鱼 11 尾,宽口裂腹鱼 9 尾,厚唇裂腹鱼 9 尾,叶尔羌高原鳅 8 尾,长身高原鳅 9 尾。为保持样品新鲜及胃含物不被进一步分解,捕捉后立即使用 MS-222 麻醉处死并于现场进行常规生物学测量,现场使用游标卡尺和电子天平测量渔获物传统形态特征(游标卡尺精确到 0.02 mm,电子天平精确到 0.1 g):体重(body weight, BW)、体长(body length, BL)、吻长(kiss length, KL)、头长(head length, HL)、口宽(mouth breadth, MB)、肠长(intestinal length, IL)、下唇厚(lower lip thick, LLT)。随即解剖取得全部胃含物和背部白肌于干冰中保存备用。参照鱼类生物规范对渔获样品摄食强度进行分级(0~5 级),分别对应空胃、食物体积占胃腔约 25%、食物体积占胃腔约 50%、食物体积占胃腔约 75%、食物充满不膨胀和食物充满胃腔并且膨胀等 6 种状态。实验样品的生物学信息如表 1 所示。对于死亡个体,使用甲醛溶液进行浸泡,带回实验室做进一步分析。

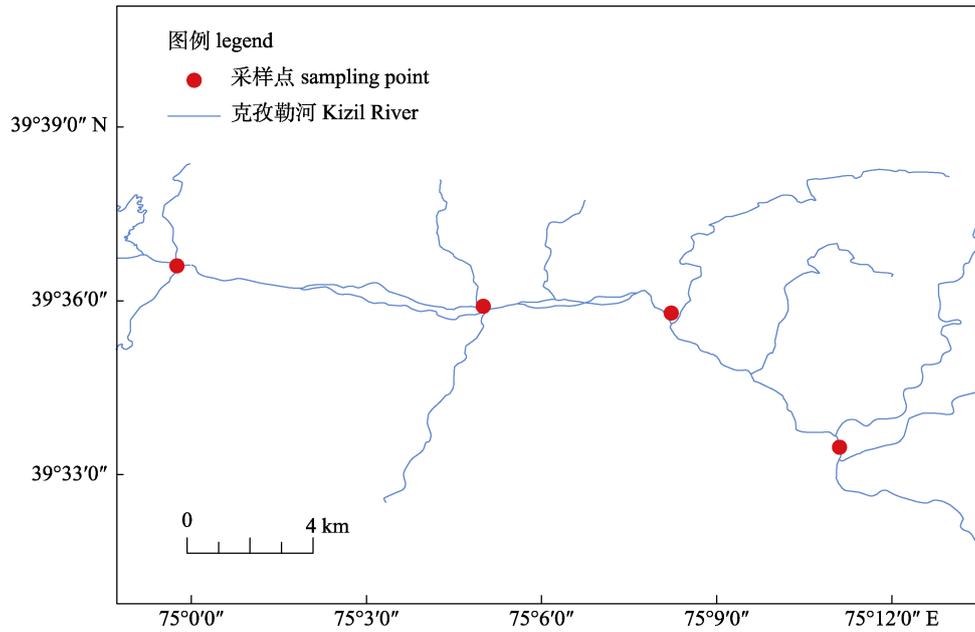


图 1 克孜勒河采样点布置
Fig. 1 Sampling site arrangement of the Kizil River

表 1 样品基础生物学信息
Tab. 1 Sample basic biological information

种类 species	样品编号 sample number	体长 body length	体重 body weight	摄食强度 feeding intensity	样品编号 sample number	体长 body length	体重 body mass	摄食强度 feeding intensity		
塔里木裂腹鱼 <i>Schizothorax biddulphi</i>	T1	183.26	69.51	4	厚唇裂腹鱼 <i>Schizothorax irregularis</i>	H4	231.01	136.33	4	
	T2	196.80	102.74	5		H5	202.78	103.28	5	
	T3	266.58	173.23	4		H6	198.47	86.64	4	
	T4	191.22	87.86	5		H7	221.8	124.34	4	
	T5	186.1	72.33	4		H8	214.72	106.55	5	
	T6	190.22	92.85	4		H9	195.37	98.95	5	
	T7	216.18	99.33	4		叶尔羌高原鳅 <i>Triplophysa yarkandensis</i>	Y1	67.82	4.52	4
	T8	221.84	106.35	4			Y2	66.23	4.05	3
	T9	266.21	168.71	5			Y3	69.35	5.62	4
	T10	261.32	146.63	4	Y4	68.52	5.36	3		
	T11	202.78	97.28	4	Y5	61.22	3.02	3		
宽口裂腹鱼 <i>Schizothorax eurystomus</i>	K1	234.12	146.04	4	Y6	63.31	3.13	3		
	K2	186.23	82.30	5	Y7	64.25	4.05	4		
	K3	248.33	153.03	4	Y8	64.85	4.03	4		
	K4	197.39	76.75	4	长身高原鳅 <i>Triplophysa tenuis</i>	C1	67.85	4.65	3	
	K5	190.91	95.02	4		C2	69.31	5.98	4	
	K6	183.63	62.63	4		C3	65.22	4.33	3	
	K7	198.47	86.64	5		C4	63.32	3.11	4	
	K8	208.05	86.31	4		C5	68.58	5.04	4	
	K9	216.21	129.23	5		C6	64.21	3.22	3	
厚唇裂腹鱼 <i>Schizothorax irregularis</i>	H1	266.21	153.32	4	C7	66.25	3.42	3		
	H2	188.09	94.18	4	C8	68.35	5.23	3		
	H3	197.39	76.75	4	C9	67.89	3.57	3		

1.2 DNA 提取

胃含物在实验室中经磷酸盐缓冲液(pH 7.2~7.6)冲洗后进行匀浆处理。充分匀浆后的胃含物经定量后采用海洋生物 DNA 提取试剂盒(北京天根)并参照说明书进行总 DNA 提取。所得总 DNA 经 0.8%琼脂糖凝胶电泳检测,并采用紫外分光光度计定量,随后于-20 °C 保存备用。

1.3 Illumina Miseq 高通量测序

使用扩增片段约为 420 bp 的通用引物 547F: 5'-CCAGCASCYGC GGTAATCC-3'和 V4R: 5'-ACTTTCGTTCTTGATY R A-3'对 18S rDNA V4 区域进行扩增。PCR 反应在一个 20 μ L 体系中进行,反应体系如下: 5 \times 缓冲液 4 μ L, dNTPs(2.5 mmol/L) 2 μ L, 正反引物(5 μ mol/L)各 1 μ L, Q5 高保真 Taq 酶(NEB, 北京) 0.5 μ L, DNA 模板 10 ng。PCR 程序为: 95 °C 预变性 7 min, 95 °C 变性 45 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 最后 72 °C 延伸 10 min, 反应循环数为 29。PCR 扩增产物通过 2%琼脂糖凝胶电泳进行检测和纯化后,在 Illumina Miseq 测序平台(Illumina, 美国)进行双端测序。

下机数据经过初步筛选并去除嵌合体后得到有效数据。应用 QIIME 软件对序列按照 97%的序列相似度进行归并和操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)划分,再选择 OTU 中的代表性序列与 Silva 数据库(<http://www.arb-silva.de/>)进行物种注释分析,并结合克孜勒河各生态类型水生生物分布信息对所注释物种进行人工校对^[1]。由于 Silva 数据库并未有本试验中各裂腹鱼的序列,无法剔除自身序列,故对塔里木裂腹鱼和宽口裂腹鱼进行解剖,验证最终结果。并运用 QIIME 软件对所得 OTU 进行聚类以分析不同样品胃含物的物种组成。通 OTU 分析可得出饵料生物的多样性和不同物种的相对丰度。

1.4 碳氮同位素测定

肌肉组织干燥保存后送至上海派森诺生物科技有限公司进行检测, Sercon Integra2 型元素分析-稳定同位素比值质谱联用仪(EA-IRMS)联机测定样品中 TOC、TN、 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值。氧化管温度: 1000 °C; 还原管温度: 620 °C; GC 柱: 60 °C; He 压力: 17 psi; He 流速: 70 mL/min; O₂ 压力: 18 psi。实验室碳氮同位素标准物质(IAEA-600: $\delta^{13}\text{C}$ =

-27.771‰; $\delta^{15}\text{N}$ =1‰; 乙酰苯胺: $\delta^{13}\text{C}$ =-26.85‰, $\delta^{15}\text{N}$ =-4.21‰)。

1.5 数据处理

进行形态聚类时,为消除样本个体大小差异对形态特征的影响,将 KL、HL、MB、IL、LLT 与其 BL 的比值作为形态度量分析的性状值,从而得到 5 个形态比例性状参数。运用 Origin 2021 中 PCAC.opx 对形态比例参数进行主成分分析,分别计算各主成分的贡献率及其累计贡献率并绘制主成分散点图,进一步采用 Origin 2021 绘制得分系数图,确定其形态分化情况。使用 Origin 2021 中的欧式最短距离聚类分析法对五种土著鱼类 46 尾个体进行聚类分析并绘制聚类分析图并进行物种聚类热图绘制。

进行高通量测序结果分析时,通过在线分析软件工具(<https://www.genescloud.cn/home>)进行 OTU 分类水平、物种分类学组成分析以及样本 non-metric multidimensional scaling (NMDS)分析。样品肌肉碳、氮稳定同位素比值使用稳定同位素质谱仪测定。使用 δ 值表示碳、氮稳定同位素比值。 $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOC}}$ 值以 PDB 国际标准作为参考标准, $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOC}}$ 值按以下公式计算:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \left(\frac{{}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}_{\text{sample}}}{{}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}_{\text{VPDB}}} - 1 \right) \times 1000$$

式中, (${}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}_{\text{VPDB}}$) 为国际标准物 Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB) 的碳同位素丰度比值。 $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOC}}$ 值的分析精度为 $\pm 0.2\text{‰}$ 。

$\delta^{15}\text{N}_{\text{TON}}$ 值以国际标准 N₂-atm 作为参考标准, $\delta^{15}\text{N}_{\text{TON}}$ 值按以下公式计算:

$$\delta^{15}\text{N}(\text{‰}) = \left(\frac{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{sample}}}{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{air}}} - 1 \right) \times 1000$$

式中, ${}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{air}}$ 为空气中氮气的氮同位素丰度比值。 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TON}}$ 值的分析精度为 $\pm 0.2\text{‰}$ 。

营养级使用 $\delta^{15}\text{N}$ 值计算,公式如下:

$$\text{TL}_{\text{fish}} = \frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{fish}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{baseline}})}{4^{15}\text{N}} + 2$$

式中, TL_{fish} 表示样本的营养级; $\delta^{15}\text{N}_{\text{fish}}$ 表示样本的氮稳定同位素比值; $\delta^{15}\text{N}_{\text{baseline}}$ 表示所选取的基线生物 $\delta^{15}\text{N}$ 值。本研究选取研究区域中使用浮游生物网所采集的浮游动物为基线生物,经测定其

$\delta^{15}N$ 平均值为 3.4‰。 $\Delta^{15}N$ 为一个营养级氮稳定同位素富集度, 本研究取 3.4‰; “2”为基线生物(浮游动物)的营养级。采用 one-way ANOVA 比较 5 种土著鱼类营养级, $P < 0.05$ 表示差异显著。使用 Origin 2021 中 2D ConfidenceEllipse.opx 绘制 $\delta^{15}N$ 和 $\delta^{13}C$ 组成的贝叶斯标准椭圆图, 并计算裂腹鱼属和高原鳅属的群落营养结构范围指标。本实验

选用的指标包括 5 个度量参数^[21](表 2)。

2 结果与分析

2.1 5 种鱼类形态学聚类

5 个群体的形态比例性状见表 3, 对 5 个群体 5 个摄食形态学比例性状进行主成分分析, 结果显示: 前 2 个主成分累积贡献率为 77.4%; 其中第

表 2 渔业生物的群落营养结构指标参数

Tab. 2 Community nutrient structure index parameters of fishery organisms

参数 parameter	缩写 abbreviation	参数示意 parameter indication
$\delta^{15}N$ 范围 range of $\delta^{15}N$	NR	营养层次 trophic level
$\delta^{13}C$ 范围 range of $\delta^{13}C$	CR	摄食来源多样性水平 diversity of feeding sources
质心的平均距离 average distance of centroid	CD	平均营养级多样性 mean nutrient level diversity
平均最近相邻距离 average nearest neighbor distance	MNND	物种聚集度密度 species aggregation density
最近相邻距离的标准差 standard deviation of nearest neighbor distance	SDNND	物种聚集度均匀度 uniformity of species aggregation

表 3 5 个群体的形态比例性状

Tab. 3 Descriptive statistics of morphological proportional traits for 5 populations

样品编号 sample ID	吻长/ 体长	头长/ 体长	口宽/ 体长	肠长/ 体长	下唇厚/ 体长	样品编号 sample ID	吻长/ 体长	头长/ 体长	口宽/ 体长	肠长/ 体长	下唇厚/ 体长
	A1	A2	A3	A4	A5		A1	A2	A3	A4	A5
T1	0.08646	0.22820	0.06819	2.45369	0.01255	H4	0.08040	0.22580	0.06989	3.01258	0.01458
T2	0.08018	0.19666	0.06569	2.56987	0.01680	H5	0.08733	0.22734	0.05990	3.24996	0.01268
T3	0.08061	0.24011	0.07151	2.36898	0.01041	H6	0.08646	0.21735	0.09447	2.69875	0.01522
T4	0.07217	0.21363	0.05405	2.33699	0.01296	H7	0.08018	0.23595	0.06573	2.97658	0.01750
T5	0.07754	0.24638	0.05759	2.32658	0.01566	H8	0.08699	0.23459	0.06047	2.99869	0.02088
T6	0.08457	0.23139	0.07202	2.23595	0.01459	H9	0.07392	0.18424	0.04569	3.02588	0.01056
T7	0.07986	0.22931	0.06028	2.36988	0.01693	Y1	0.06768	0.18162	0.04816	0.92582	0.01181
T8	0.08039	0.28515	0.04662	2.12366	0.01412	Y2	0.06830	0.17417	0.04662	0.84699	0.01249
T9	0.07729	0.24364	0.05951	2.05699	0.01388	Y3	0.07133	0.19990	0.05951	0.85769	0.01058
T10	0.08835	0.22606	0.05631	2.35268	0.01249	Y4	0.06750	0.19656	0.05631	0.89688	0.01163
T11	0.07683	0.24982	0.06170	2.98675	0.00968	Y5	0.06948	0.18934	0.04678	0.87569	0.01173
K1	0.06160	0.26236	0.06316	2.55625	0.01079	Y6	0.06705	0.18429	0.04536	0.99659	0.01197
K2	0.07800	0.24145	0.07362	2.68953	0.01160	Y7	0.07040	0.21447	0.04954	0.85614	0.01155
K3	0.07293	0.29181	0.07302	2.57896	0.01069	Y8	0.06510	0.20305	0.04256	0.75864	0.01190
K4	0.07783	0.22306	0.06721	2.53699	0.01051	C1	0.07495	0.21195	0.05214	0.85687	0.01342
K5	0.07180	0.24217	0.08397	2.42368	0.00971	C2	0.07217	0.21204	0.04521	0.79652	0.01031
K6	0.06659	0.22204	0.06051	2.68974	0.01114	C3	0.07293	0.18060	0.04524	0.85698	0.01108
K7	0.06636	0.24477	0.05480	2.62240	0.00943	C4	0.06659	0.22236	0.04124	0.99652	0.01129
K8	0.06617	0.23665	0.06034	2.42370	0.01111	C5	0.06636	0.17491	0.04897	0.93266	0.01079
K9	0.08065	0.22574	0.05624	2.59876	0.01226	C6	0.07180	0.24150	0.04876	0.96875	0.01258
H1	0.08643	0.22578	0.06636	2.96876	0.01223	C7	0.07293	0.18424	0.04368	0.87946	0.00913
H2	0.08131	0.21379	0.05140	2.85678	0.01894	C8	0.06831	0.18162	0.04456	0.86575	0.00947
H3	0.07683	0.20865	0.05912	2.75894	0.01822	C9	0.08646	0.22820	0.06819	0.87575	0.01255

一主成分贡献率为 56.5%，第二主成分贡献率为 20.9%，前 2 个主成分可基本反应综合指标所隐含的信息，故选用前 2 个主成分构建散点图(图 2a)，可见裂腹鱼类 3 个群体不同个体之间有个体发生重叠，高原鳅属种群并未形成明显的独立组群。其中第一主成分起主要作用的是 A4，主要反映肠长特征；第二主成分起主要作用的是 A5，反映了唇厚特征(图 2b)。根据 5 个群体基于欧式距离聚类分析图显示(图 2c)，裂腹鱼形态更为相近，高原鳅形态更为接近，与主成分分析结果一致。由 5 个群体的典型判别分析散点图(图 2d)可以看出，3 个裂腹鱼群体和 2 个高原鳅群体明显独立分开，裂腹

鱼群体相离较近，高原鳅群体摄食形态更为相似。

2.2 OTU 划分与分类地位鉴定

经 Illumina 高通量测序共从 46 个样品中获得有效序列片段 4442842 条，样品的序列数目最低为 60269 条，最高为 134129 条，平均序列数为 (96583 ± 16515) 条。46 个样品经过聚类共获得 554 个 OTU，不同样品中含有 OTU 数目差异较大，其 OTU 划分和分类地位鉴定结果参见图 3a。

从图 3b 中可以看出，随着测序深度的增加，各样本的稀释曲线趋于平缓，说明本次用于研究的样本足够。NDMS 分析结果显示(图 3c)，两种高原鳅和塔里木裂腹鱼肠道内容物种类较为相近，而

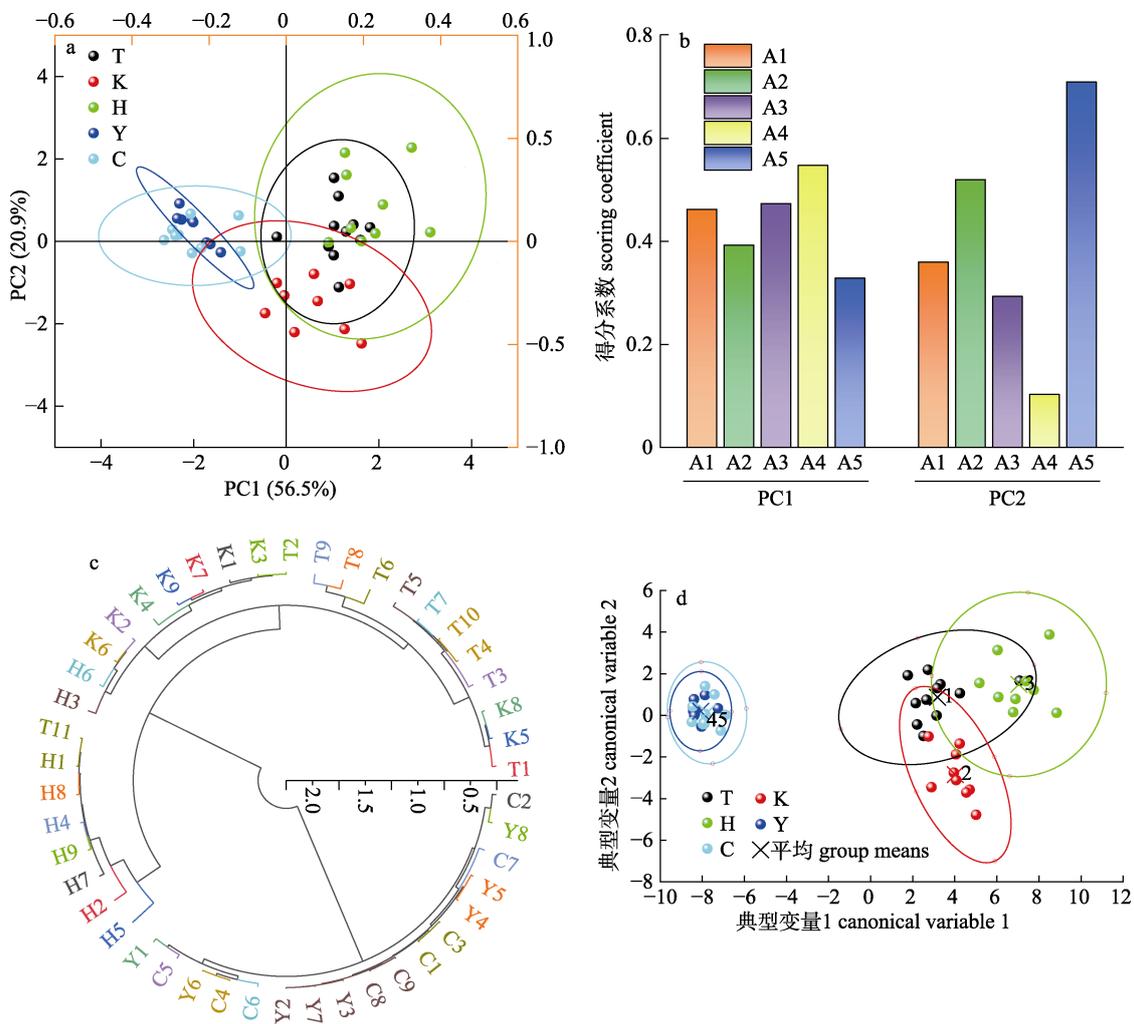


图 2 5 种鱼类形态差异分析

a. 5 个群体第 1、2 主成分散布情况; b. PC1 和 PC2 得分系数; c. 由欧式距离产生的 5 个群体的聚类分析图; d. 5 个群体形态测量特征的典型判别分析散点图。

Fig. 2 Analysis of morphological differences of 5 species of fishes

a. Distribution of PC1 and PC2 for 5 groups; b. Scoring coefficient of PC1 and PC2; c. Cluster analysis of 5 groups in the Euclidean distance; d. Typical discriminant analysis scatter plot for morphological trait measurements of five group.

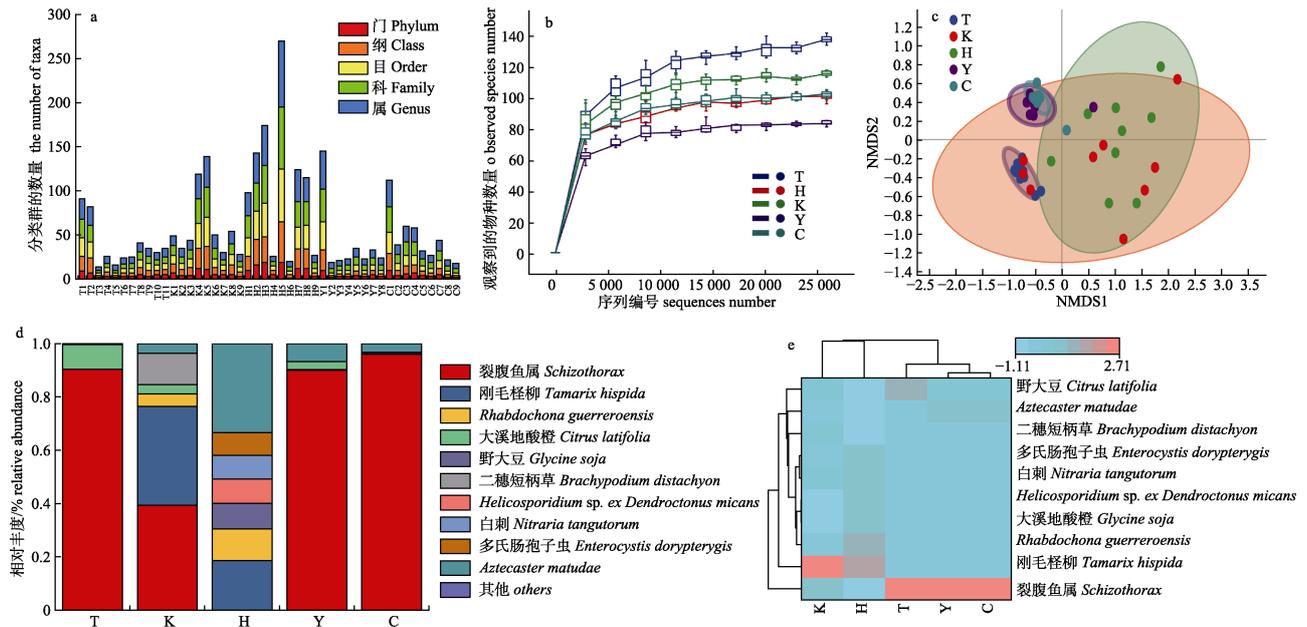


图 3 高通量测序结果分析

a. 克孜勒河消费者食物序列和 OTU 在各分类水平的比例; b. 克孜勒河消费者肠道内容物稀释曲线; c. 克孜勒河消费者的食物分布与组成; d. 克孜勒河消费者食物种类 NMDS 聚类分析; e. 物种组成热图。

Fig. 3 Analysis of Illumina Miseq results

a. The proportion of food sequence and OTU in different taxonomic levels of consumers in Kizil River; b. The rarefaction curve of intestinal contents of consumers in Kizil River; c. Dietary partitioning and composition of consumers in Kizil River; d. NMDS Clustering Analysis of consumers in Kizil River; e. Species composition heat map.

厚唇裂腹鱼和宽口裂腹鱼肠道内容物种类较为相近。图 3d 所示为样本胃含物样本所含饵料生物相对丰度前 10 位的分类单元的总分类等级堆积图, 并以不同颜色区分各分类单元。46 个样品胃含物中的主要饵料生物分属于脊索动物门 (Chordata)、链形植物门 (Streptophyta) 和线虫动物门 (Nematoda)。其中塔里木裂腹鱼最主要是食物来源为脊索动物门中的裂腹鱼属鱼类, 其次为白柠檬 (*Citrus latifolia*); 宽口裂腹鱼和厚唇裂腹鱼主要食物均以植物性食物为主, 但宽口裂腹鱼胃含物中丰度排名第二的为裂腹鱼属鱼类, 而厚唇裂腹鱼胃含物中丰度排名第二的为杆咽属 (*Rhabdochona*) 线虫, 两者食性存在差异; 叶尔羌高原鳅与长身高原胃含物种类十分相似, 均以裂腹鱼属小型鱼类为主要食物。根据图 4, 发现塔里木裂腹鱼和宽口裂腹鱼肠道中确存在裂腹鱼属鱼类, 但通过肉眼仅只可以鉴定到属水平, 无法进行种水平的鉴定。聚类热图显示 (图 3-e), 叶尔羌高原鳅和长身高原鳅食物基本由裂腹鱼属鱼类构成, 两者首先聚为一支, 再与塔里木裂腹鱼聚为

一支, 最后与厚唇裂腹鱼和宽口裂腹鱼聚为一大支, 聚类结果与 NMDS 结果一致。

2.3 碳、氮同位素比值及营养级

对所采集的 5 种鱼类 ($n=46$) 进行同位素分析 (图 5a), 其中塔里木裂腹鱼、宽口裂腹鱼、厚唇裂腹鱼、叶尔羌高原鳅和长身高原鳅 $\delta^{15}\text{N}$ 范围为 4.32‰~10.13‰、1.94‰~9.78‰、3.67‰~7.58‰、2.22‰~11.78 和 4.61‰~11.88; 其 $\delta^{13}\text{C}$ 范围为 -27.36‰~-14.89‰、-27.81‰~-13.87‰、-26.09‰~-17.64‰、-28.80‰~-15.47‰和 -27.21‰~-18.79‰。塔里木裂腹鱼、宽口裂腹鱼和厚唇裂腹鱼营养级分别为 3.19、2.78 和 2.52, 三者存在极显著差异 ($P < 0.01$); 叶尔羌高原鳅与长身高原鳅营养级为 3.44 和 3.55, 两者无显著差异 ($P > 0.05$) (图 5b)。利用裂腹鱼属和高原鳅属的 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 构建营养结构 (图 5c), 计算生物群落生态指标参数值 (图 5d)。结果显示, 裂腹鱼属平均营养级多样性和摄食来源多样性水平高于高原鳅属, 高原鳅属的营养层次、物种聚集度密度以及物种聚集度均匀度高于裂腹鱼属。

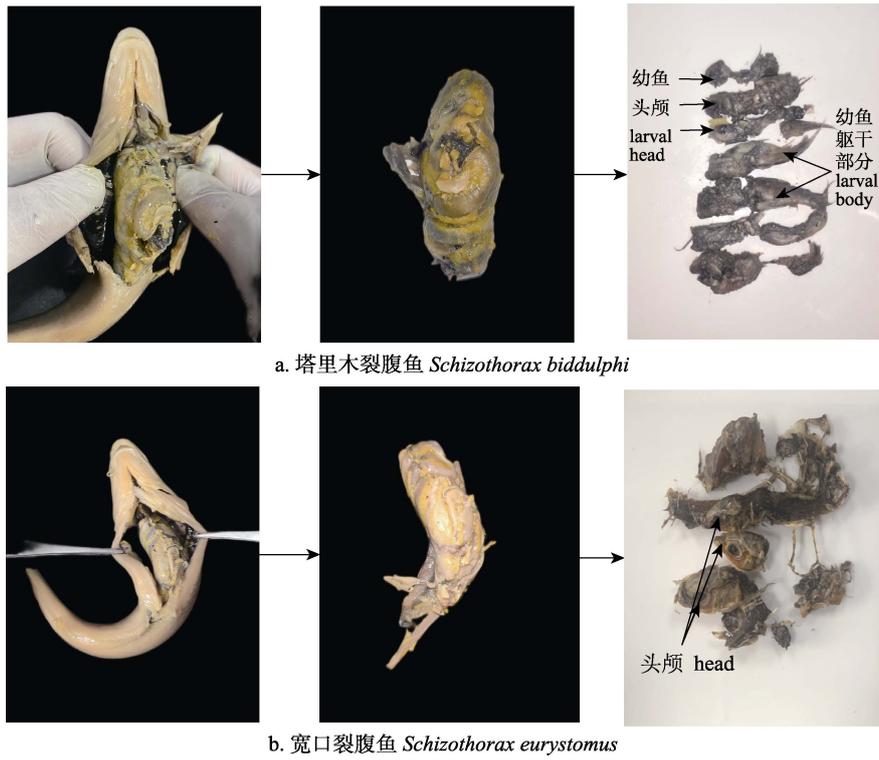


图 4 塔里木裂腹鱼和宽口裂腹鱼肠道解剖图

Fig. 4 Anatomy of the intestinal tracts of *Schizothorax biddulphi* and *Schizothorax eurystomus*

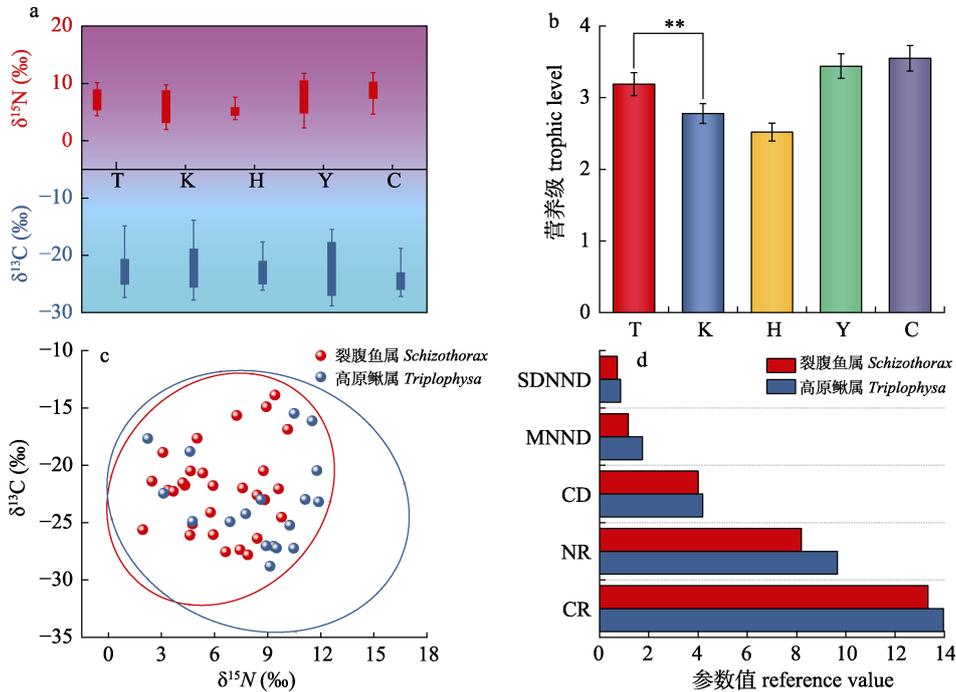


图 5 稳定碳氮同位素结果分析

a. 克孜勒河消费者的碳、氮稳定同位素含量; b. 克孜勒河消费者的营养级比较; c. 克孜勒河消费者的碳、氮稳定同位素双位图; d. 克孜勒河不同属水平的渔业生物营养结构指标参考值, 横坐标缩写释义见表 2.

Fig. 5 Stable carbon and nitrogen isotope analysis

a. Content of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of consumers in Kizil River; b. Comparison of trophic levels of consumers in Kizil River; c. Stable isotope biplots of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of consumers in Kizil River; d. Reference. values of trophic structure of fishery organisms in Kizil River in different generic levels. The abbreviations of indicators are explained in Tab. 2.

3 讨论

3.1 5 种鱼类食物组成及营养级分析

厚唇裂腹鱼主要食物来源为初级生产者, 包括 *Aztecaster matudae*、刚毛怪柳(*Tamarix hispida*)、野大豆(*Glycine soja*)和白刺(*Nitraria tangutorum*)等。唇裂腹鱼比肠长约为 2.95, 营养级为 2.52, 判断为植食性鱼类。笔者在对厚唇裂腹鱼进行解剖过程中, 在其肠道中可发现数量较多的沙粒和明显的泥土。沙粒可以有效地帮助胃进行机械地挤压植物碎屑^[33-34], 有助于食物的消化, 肠道中的沙粒和泥土也表明了厚唇裂腹鱼的底层食性。值得注意的是, 高通量测序结果显示厚唇裂腹鱼肠道中假杆咽属线虫丰度较高, 而多数线虫动物成员是小型底栖动物群落的永久性成员, 通常可以占到小型底栖动物总丰度的 70%~90%^[35], 厚唇裂腹鱼在河床底泥觅食过程中, 个体偏小的底栖线虫被意外摄入厚唇裂腹鱼体内, 从而导致其肠道中线虫动物丰度较高。Kouakou 等^[36]在研究杜氏鲮(*Liza dumerili*)食性时发现相似现象, 杜氏鲮具有吞食大颗粒沙子的习性, 而一些底栖生物会随沙子一起进入杜氏鲮肠道中。大豆属和白刺属植物在塔里木裂腹鱼、宽口裂腹鱼、叶尔羌高原鳅和长身高原鳅的肠道中并未出现。推测厚唇裂腹鱼下唇结构与草鱼^[37]一致, 两者下唇均分布着发达的味蕾, 在摄食过程中, 厚唇裂腹鱼使用下唇触碰大豆属和白刺属植物, 通过唇上味蕾进行精准识别, 判断食物的位置以及种类, 触发“咬食”反射作用, 使二者组成厚唇裂腹鱼独特的食谱。

本研究中宽口裂腹鱼以初级生产者为主要食物, 也会捕食一些小型鱼类, 推测落叶或树枝掉入河流中, 被着生在河床底部或石头上的丝状藻类缠绕, 宽口裂腹鱼借着锐利的角质和较宽的口裂, 刮食附着的植物碎屑。底栖线虫动物被动地通过鱼类摄食活动进入宽口裂腹鱼肠道中, 这一点与厚唇裂腹鱼研究结果相似。宽口裂腹鱼与其他刮食性鱼类均具备发达的吻须^[38], 在觅食过程中, 借助须上的味蕾可以进行有效的食物来源定位^[39-40], 二穗短柄草(*Brachypodium distachyon*)植

物就是宽口裂腹鱼特定食物之一, 在另外四种鱼的肠道中也并未发现短柄草属植物的存在。宽口裂腹鱼营养级为 2.78, 肠长比较短约为 2.56, 判断宽口裂腹鱼为杂食性偏植食性鱼类, 与郭焱等研究结果一致^[1]。

塔里木裂腹鱼营养级为 3.19, 肠长比较短约为 2.38, 主要摄食小型裂腹鱼属鱼类, 为杂食性偏肉食性鱼类。这与阿克苏河塔里木裂腹鱼^[41]食性研究结果一致。而聂竹兰等对托什干河塔里木裂腹鱼食性进行研究, 发现其主要摄食藻类及有机碎屑, 偶见水生昆虫、底栖动物和小型鱼类, 属于杂食性偏植食性鱼类。本研究结果与其有所不同, 推测原因有以下 3 点: 1) 塔里木裂腹鱼确存在杂食性属性, 但其饵料组成很大程度上取决于塔里木裂腹鱼所在栖息环境能够提供的食物^[43]; 2) 厚唇裂腹鱼和宽口裂腹鱼繁殖期集中于 3 月至 5 月, 繁殖过后, 幼鱼数量增加, 塔里木裂腹鱼的猎物丰度得以提高, 其肠道中鱼类丰度占比上升。Leul^[44]在研究革胡子鲶 (*Clarias gariepinus*) 得出类似结论, 在高水位时期, 尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 集中繁殖, 幼鱼数量快速增加, 革胡子鲶肠道中尼罗罗非鱼幼鱼丰度在此时期也达到最高; 3) 当气温开始下降, 鱼类摄入大量食物储存脂肪为越冬期做准备^[45]。克孜勒河流域在 10 月份之后水温开始下降, 塔里木裂腹鱼需要捕食更多小型鱼类, 确保自身储备足够多的能量度过寒冷季节。

研究发现叶尔羌高原鳅与长身高原鳅比肠长均小于 1, 两种高原鳅营养级较植食性厚唇裂腹鱼营养级增加了 0.92~1.03, 约提高了 1 个营养级, 说明二者属于肉食性鱼类。据陈生熬^[46]报道, 叶尔羌高原鳅存在互相残食现象, 但在本研究中, 并未发现此现象, 推测可能由于叶尔羌高原鳅所在捕猎场中食物较为丰富, 不需要通过摄食同类补充营养。在叶尔羌高原鳅和长身高原鳅肠道中均出现了少量异株菀属、怪柳属和柑橘类植物, 在解剖过程中也发现了少量沙粒。综合来看, 笔者并不认为大型植物和沙粒是这两种高原鳅的食物, 造成这种情况出现的原因可能是高原鳅在追逐猎物过程中, 水体扰动, 沙粒和植物碎屑扬起,

被捕食者意外摄入^[47-48]。

高通量测序分析结果中,克孜勒河 5 种土著鱼类食谱中的植物性食物: *Aztecaster matudae*、刚毛怪柳、野大豆和白刺和二穗短柄草等,在目前已有的裂腹鱼属鱼类食性研究中并未发现^[13-14,49],由本研究首次报道。推测是由于鱼的种类不同和鱼类分布地区不同造成裂腹鱼属食性调查多样性的结果。

高通量测序方法存在一定不足,在本次实验取样中,样品本身肠道中上皮细胞或者黏膜,难免会被当作食物进行测序。由于 Silva 数据库并未有本试验中各裂腹鱼的序列,无法剔除自身序列,所以需要塔里木裂腹鱼和宽口裂腹鱼进行解剖,结合传统胃含物分析方法,进一步验证两者肠道中是否确实存在裂腹鱼属幼鱼。故笔者认为,今后进行珍稀鱼类食物组成分析时,需要将传统胃含物分析和高通量测序方法相结合,使得最后的结果更为可靠科学。

3.2 5 种鱼类生态功能探讨

本课题组在克孜勒河进行多年的调查研究发现:喀什大一级水电站下游,河道已经开始渠化,鱼类资源几乎消失不见。而在吉根乡河段至卡拉贝利水利枢纽河段,河道中只分布着塔里木裂腹鱼、厚唇裂腹鱼、宽口裂腹鱼、叶尔羌高原鳅和长身高原鳅,重唇裂腹鱼[*Schizothorax (Racoma) davidi*]和斯氏高原鳅(*Triplophysa stoliczkae*)本课题组近几年并未在野外采集到,克孜勒河也未出现生物入侵现象。目前克孜勒河食物链消费者组成成员已经趋于简单化,成员组成基本为新疆土著鱼类,这也反映出克孜勒河生态系统极易遭到破坏,加强克孜勒河渔业监管和恢复土著鱼类种群是保护克孜勒河生态系统健康的主要措施。

克孜勒河生态系统初级生产力较差(笔者对克孜勒河浮游生物资源进行调查,相应成果目前投稿于其他期刊),通过对厚唇裂腹鱼和宽口裂腹鱼食物组成分析,发现两者严重依赖外来食物资源作为主要食物,如树叶、树枝和果实等。这一点与来自印度西高止山脉(Western Ghats)同样生态资源贫瘠的卡拉达河(Kallada River)一致,栖息在河流中的汤氏高须魮(*Hypselobarbus thomassi*)

大量消耗外来食物,占其肠道总内容物的 65%以上^[50]。厚唇裂腹鱼和宽口裂腹鱼通过地主动摄食的行为消耗了大量的植物碎屑,使这些植物碎屑的有机质和营养元素得以保留在克孜勒河这个原始脆弱的生态系统内,在凋落叶的周转和物质归还方面起到关键的作用^[51],对克孜勒河流域两岸植被更新能力和植被群落结构产生影响。厚唇裂腹鱼作为初级消费者,其摄食行为在联系初级生产者和更高级消费者之间的关系^[51]、影响两岸植物生长和繁殖,以及改变克孜勒河底部沉积物环境方面起着重要的作用。由此可见,提高克孜勒河两岸植被覆盖率,是有效保护其生态系统的措施之一。

塔里木裂腹鱼为杂食性偏肉食性鱼类,主要摄食小型鱼类,也会摄食植物碎屑,这种扩大食物来源的方式缓解了与其他杂食性裂腹鱼类之间在食物方面的矛盾,有利于克孜勒河中本就贫瘠的资源进行合理的分配,提高饵料资源的利用率。而叶尔羌高原鳅和长身高原鳅营养级较高,主要摄食裂腹鱼属鱼类,是克孜勒河顶级捕食者,也是该流域中物质和能量传递的终点。这两种鱼类充分利用克孜勒河流域中鱼类生物资源,拉长克孜勒河生态系统食物链长度,在一定程度上增加克孜勒河食物网的复杂性,对维持整个河流生态系统的稳定具有重大影响。

参考文献:

- [1] Guo Y. Xinjiang Fish Journal[M]. Urumqi: Xinjiang Science and Technology Press, 2012: 2-21. [郭焱. 新疆鱼类志[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2012: 2-21.]
- [2] Zhao N H, Zhao H, Qiang Z, et al. Effects of water temperature, photoperiod and light intensity on survival, feeding and growth of *Schizothorax biddulphi* juveniles and their tolerance of salinity and alkalinity[J]. South China Fisheries Science, 2021, 17(5): 54-63. [赵年桦, 赵贺, 强壮, 等. 水温、光周期和光照强度对塔里木裂腹鱼幼鱼存活、摄食和生长的影响及其盐碱耐受能力研究[J]. 南方水产科学, 2021, 17(5): 54-63.]
- [3] Zhao H, Hong J B, Zhao N H, et al. Artificial propagation technology, and embryonic and early larval development of *Schizothorax irregularis* in Kizil River in Xinjiang[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2021, 36(3): 414-422. [赵贺, 洪继彪, 赵年桦, 等. 新疆克孜勒河厚唇裂腹鱼人

- 工繁殖及胚胎、早期仔鱼发育研究[J]. 大连海洋大学学报, 2021, 36(3): 414-422.]
- [4] Xia Z H, Zhao H, Qiu M, et al. Artificial propagation, embryonic and early larval development of *Schizothorax eurystomus*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2022(3): 471-481. [夏子惠, 赵贺, 邱梦, 等. 宽口裂腹鱼的人工催产、胚胎发育及早期仔鱼发育观察[J]. 大连海洋大学学报, 2022(3): 471-481.]
- [5] Zhao N H, Xu X, Zhao H, et al. Artificial propagation technology, embryonic and early larval development of *Schizothorax biddulphi*[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2021, 30(12): 1767-1776. [赵年桦, 徐筱, 赵贺, 等. 塔里木裂腹鱼人工繁殖、胚胎发育和早期仔鱼发育研究[J]. 西北农业学报, 2021, 30(12): 1767-1776.]
- [6] Cui L X, Li Z H, Zhang J, et al. Analysis of spatial pattern and dynamic change trend of vegetation cover in Kizil su river basin[J]. Journal of Dalian Minzu University, 2019, 21(1): 39-43. [崔立新, 李政海, 张靖, 等. 克孜勒苏河流域植被覆盖空间格局及动态变化趋势分析[J]. 大连民族大学学报, 2019, 21(1): 39-43.]
- [7] Motta P J, Clifton K B, Hernandez P, et al. Ecomorphological correlates in ten species of subtropical seagrass fishes: Diet and microhabitat utilization[J]. Environmental Biology of Fishes, 1995, 44(1): 37-60.
- [8] Piet G J. Ecomorphology of a size-structured tropical freshwater fish community[J]. Environmental Biology of Fishes, 1998, 51(1): 67-86.
- [9] Hyslop E J. Stomach contents analysis-a review of methods and their application[J]. Journal of Fish Biology, 1980, 17(4): 411-429.
- [10] Xia Y G, Li Y F, Zhu S L, et al. Individual dietary specialization reduces intraspecific competition, rather than feeding activity, in black Amur bream (*Megalobrama terminalis*)[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 17961.
- [11] Choat J, Clements K, Robbins W. The trophic status of herbivorous fishes on coral reefs[J]. Marine Biology, 2002, 140(3): 613-623.
- [12] Preciado I, Cartes J E, Serrano A, et al. Resource utilization by deep-sea sharks at the Le Danois Bank, Cantabrian Sea, north-east Atlantic Ocean[J]. Journal of Fish Biology, 2009, 75(6): 1331-1355.
- [13] Liu J Y. Study on biology and population dynamics of *Schizothorax macropogon* in the Yarlung Tsangpo River[D]. Alaer: Tarim University, 2016. [刘洁雅. 西藏巨须裂腹鱼个体生物学和种群动态研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2016.]
- [14] Zhou X J. Study on the biology and population dynamics of *Schizothorax waltoni*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014. [周贤君. 拉萨裂腹鱼个体生物学和种群动态研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.]
- [15] Deng H T, Yue X J, Chen D Q, et al. Growth characteristics and feed habit of *Triplophysa stenura* in Nujiang River[J]. Freshwater Fisheries, 2010, 40(1): 26-33. [邓华堂, 岳兴建, 陈大庆, 等. 怒江细尾高原鳅生长特征与食性[J]. 淡水渔业, 2010, 40(1): 26-33.]
- [16] Kulbicki M, Bozec Y M, Labrosse P, et al. Diet composition of carnivorous fishes from coral reef lagoons of New Caledonia[J]. Aquatic Living Resources, 2005, 18(3): 231-250.
- [17] Barnett A, Redd K S, Frusher S D, et al. Non-lethal method to obtain stomach samples from a large marine predator and the use of DNA analysis to improve dietary information[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2010, 393(1-2): 188-192.
- [18] Bade L M, Balakrishnan C N, Pilgrim E M, et al. A genetic technique to identify the diet of cownose rays, *Rhinoptera bonasus*: Analysis of shellfish prey items from North Carolina and Virginia[J]. Environmental Biology of Fishes, 2014, 97(9): 999-1012.
- [19] Riemann L, Alfredsson H, Hansen M M, et al. Qualitative assessment of the diet of European eel larvae in the Sargasso Sea resolved by DNA barcoding[J]. Biology Letters, 2010, 6(6): 819-822.
- [20] Leray M, Yang J Y, Meyer C P, 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[J]. Frontiers in Zoology, 2013, 10: 34.
- [21] Zhang C, Hu S M, Lin X Z, et al. Diet and trophic level analysis of triggerfish (*Balistapus undulatus*) in coral reefs of Nansha[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2022, 41(1): 7-14. [张琛, 胡思敏, 林先智, 等. 南沙珊瑚礁区波纹钩鳞鲀(*Balistapus undulatus*)食性和营养级分析[J]. 热带海洋学报, 2022, 41(1): 7-14.]
- [22] Bootsma H A, Hecky R E, Hesslein R H, et al. Food partitioning among lake Malawi nearshore fishes as revealed by stable isotope analyses[J]. Ecology, 1996, 77(4): 1286-1290.
- [23] Post D M. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions[J]. Ecology, 2002, 83(3): 703-718.
- [24] Chen W, Ren X M, Xu B D, et al. Understanding the feeding ecology of *Cynoglossus joyneri* in Haizhou Bay based on stable isotope analysis[J]. Chinese Journal of Applied

- Ecology, 2021, 32(3): 1080-1086. [陈皖, 任晓明, 徐宾铎, 等. 基于稳定同位素研究海州湾短吻红舌鳎的摄食生态[J]. 应用生态学报, 2021, 32(3): 1080-1086.]
- [25] Phillips D L, Gregg J W. Source partitioning using stable isotopes: Coping with too many sources[J]. *Oecologia*, 2003, 136(2): 261-269.
- [26] Newsome S D, Yeakel J D, Wheatley P V, et al. Tools for quantifying isotopic niche space and dietary variation at the individual and population level[J]. *Journal of Mammalogy*, 2012, 93(2): 329-341.
- [27] Gannes L Z, O'Brien D M, del Rio C M. Stable isotopes in animal ecology: Assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments[J]. *Ecology*, 1997, 78(4): 1271-1276.
- [28] McMahon K W, McCarthy M D. Embracing variability in amino acid $\delta^{15}\text{N}$ fractionation: mechanisms, implications, and applications for trophic ecology[J]. *Ecosphere*, 2016, 7(12): 1-26.
- [29] Naman S M, Greene C M, Rice C A, et al. Stable isotope-based trophic structure of pelagic fish and jellyfish across natural and anthropogenic landscape gradients in a fjord estuary[J]. *Ecology and Evolution*, 2016, 6(22): 8159-8173.
- [30] Dixon H J, Dempson J B, Sheehan T F, et al. Assessing the diet of North American Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) off the West Greenland coast using gut content and stable isotope analyses[J]. *Fisheries Oceanography*, 2017, 26(5): 555-568.
- [31] Divine L M, Bluhm B A, Mueter F J, et al. Diet analysis of Alaska Arctic snow crabs (*Chionoecetes opilio*) using stomach contents and $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ stable isotopes[J]. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2017, 135: 124-136.
- [32] Park H J, Park T H, Lee C I, et al. Ontogenetic shifts in diet and trophic position of walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, in the western East Sea (Japan Sea) revealed by stable isotope and stomach content analyses[J]. *Fisheries Research*, 2018, 204: 297-304.
- [33] Marais J F K. Aspects of food intake, food selection, and alimentary canal morphology of *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1958), *Liza tricuspidens* (Smith, 1935), *L. richardsoni* (Smith, 1846), and *L. dumerili* (Steindachner, 1869)[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1980, 44(2): 193-209.
- [34] Asif A K, Masroor F. Feeding Ecology of the Grey Mullet, *Rhinomugil corsula* (Hamilton) from the River Yamuna, North India[J]. *Asian Fish Science*, 1994, 7: 259-266.
- [35] Miljutin D M, Gad G, Miljutina M M, et al. The state of knowledge on deep-sea nematode taxonomy: How many valid species are known down there? [J]. *Marine Biodiversity*, 2010, 40(3): 143-159.
- [36] Kouakou I, Kone T, Kouato F, et al. Food and Feeding Habit of Two Mugilidae from Lagoon of Grand Lahou (Cte d'Ivoire) : *Liza dumerili* (Steindachner, 1870) and *Liza falcipinnis* (Valenciennes, 1836)[J]. *Asian Journal of Applied Sciences*, 2021, 9(1): 75-86.
- [37] Wang M, Yang X P, Kong L J, et al. Study on the development of digestive organs and the sense of taste in baby and young grass carps[J]. *Journal of Huazhong Agricultural*, 1993, 12(1): 64-68. [王敏, 杨秀萍, 孔令杰, 罗玉双. 草鱼仔、稚鱼消化器官与味蕾发育的研究[J]. 华中农业大学学报, 1993, 12(1): 64-68.]
- [38] Feng X W, Cai R Y, Jin T Z, et al. Development of the sucking disc of *Discogobio yunnanensis* larvae and juveniles[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(6): 69-76. [冯兴无, 蔡瑞钰, 靳天志, 等. 云南盘鮠仔稚鱼口吸盘发育[J]. 渔业科学进展, 2021, 42(6): 69-76.]
- [39] Braford M R Jr. De gustibus non est disputandum: A spiral center for taste in the brain of the teleost fish, *Heterotis niloticus*[J]. *Science*, 1986, 232(4749): 489-491.
- [40] Harvey R, Batty R S. Cutaneous taste buds in cod[J]. *Journal of Fish Biology*, 1998, 53(1): 138-149.
- [41] Ma Y W, Zhang R M, Tu E X, et al. Preliminary Study on the Biological of *Schizothorax biddulphi* Günther in Aksu River[J]. *Journal of Hydroecology*, 2009, 30(2): 148-153. [马燕武, 张人铭, 吐尔逊, 等. 阿克苏河塔里木裂腹鱼生物学初步研究[J]. 水生态学杂志, 2009, 30(2): 148-153.]
- [42] Nie Z L, Wei J, Cheng Y. The study on *Schizothorax biddulphi* Günther in biology[J]. *Journal of Tarim University*, 2010, 22(3): 113-116. [聂竹兰, 魏杰, 程勇. 塔里木裂腹鱼生物学研究初探[J]. 塔里木大学学报, 2010, 22(3): 113-116.]
- [43] Ye S M, Li X J, Li X C, et al. Influence of tashkurgan river reservoir construction on fish resources in Xinjiang[J]. *Reservoir Fisheries*, 2004, 25(4): 63-65. [叶尚明, 李兴玖, 李晓春, 等. 新疆塔什库尔干河水库建设对鱼类资源的影响[J]. 水利渔业, 2004, 25(4): 63-65.]
- [44] Leul T. Sex ratio, length-weight relationship, condition factor and the food habit of catfish *Clarias gariepinus* (Burchell) in Lake Langeno, Ethiopia[D]. Addis Ababa: Addis Ababa University, 2001.
- [45] Chen S G, Yao N, Wang Z C, et al. Study on feeding habits and growth of *Triplophysa (Hedinichthys) yarkandensis* (Day)[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2014, 23(3): 374-381. [陈生熬, 姚娜, 王智超, 等. 塔里木河叶尔羌高

- 原鳅摄食和生长的研究[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(3): 374-381.]
- [46] Giorgis Y T, Wagaw S, Dadebo E. The food and feeding habits of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) (Pisces: Clariidae) in lake Hawassa and Shallo swamp, Ethiopia[J]. Ethiopian Journal of Biological Sciences, 2016, 15(1): 1-18.
- [47] Elias D. Reproductive biology and feeding habits of catfish, *Clarias gariepinus* Burchell (Pisces: Clariidae) in Lake Awassa, Ethiopia[J]. Sinet Ethiopian Journal of Science, 2000, 23(2): 231-246.
- [48] Ma B S. Study on the biology and population dynamics of *Schizothorax o'connori*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011. [马宝珊. 异齿裂腹鱼个体生物学和种群动态研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.]
- [49] Chelapurath R, Roshni K, Kurup M. Food and feeding habits of the endemic fish, *Hypselobarbus thomassi* (Day, 1874) in the Kallada River, Kerala, India[J]. Iran Journal of Ichthyology, 2021, 8(2):76-82.
- [50] Nordhaus I, Wolff M. Feeding ecology of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Ocypodidae): Food choice, food quality and assimilation efficiency[J]. Marine Biology, 2007, 151(5): 1665-1681.
- [51] Slim F J, Hemminga M A, Ochieng C, et al. Leaf litter removal by the snail *Terebralia palustris* (Linnaeus) and sesarimid crabs in an East African mangrove forest (Gazi Bay, Kenya)[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1997, 215(1): 35-48.

Analysis of the diet of 5 indigenous fishes in Kizil River, Xinjiang

ZHAO He^{1,2,4}, ZHAO Nianhua^{1,2,4}, LI Li^{2,3,4}, QIANG Zhuang^{2,3,4}, WEI Jie^{1,2,4}, NIE Zhulan^{1,2,4}

1. College of Animal Science and Technology, Tarim University, Alaer 843300, China;
2. State Key Laboratory Breeding Base for The Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin Co-funded by Xinjiang Corps and The Ministry of Science and Technology, Tarim University, Alaer 843300, China;
3. School of Life Science and Technology, Tarim University, Alaer 843300, China;
4. Key Laboratory of Tarim Animal Husbandry Science and Technology, Xinjiang Production & Construction, Alaer 843300, China

Abstract: The Kizil River belongs to the Kashgar River system in the southern Xinjiang Uygur Autonomous Region. Inhabited by a variety of indigenous fishes, the food habits and trophic levels of the fish in the Kizil River have yet to be investigated. In this study, the food composition and trophic levels of five indigenous fish species from the Kizil River were determined. To this end, 46 samples of *Schizothorax biddulphi*, *Schizothorax eurystomus*, *Schizothorax irregularis*, *Triplophysa yarkandensis* and *Triplophysa tenuis* from the Kizil River were evaluated. The fish samples were analyzed for the morphological traits of the five feeding organs using traditional morphological methods. Furthermore, their intestinal food composition was analyzed using high-throughput sequencing techniques, and carbon and nitrogen stable isotopes were measured to analyze their trophic levels. $\delta^{15}N$ and $\delta^{13}C$ of *Schizothorax* and *Triplophysa* were used to construct the trophic structure and calculate the values of ecological indicators and parameters of the biotope. The results showed that the morphological differences of the feeding organs of the five indigenous fish species were comprised mainly of the intestinal length ratio and lip thickness. The two highland loaches had the same feeding organ morphology, a short intestinal length ratio, a small mouth cleft, and a slender body. A total of 4442842 valid sequence fragments were obtained from 46 samples using Illumina high-throughput sequencing. The lowest number of sequences in the samples was 60269, while the highest was 134,129, and the average number of sequences was 96583 ± 16515 . A total of 554 OTUs were obtained from 46 samples after clustering. The main bait organisms found in the stomach of the 46 specimens belonged to *Chordata*, *Streptophyta*, and *Nematoda*, among which the gut length ratio of *S. irregularis* was about 2.95. The main food source was primary producers, including *Tamarix hispida*, *Glycine soja*, and *Nitraria tangutorum*. During foraging in the riverbed substrate, the small individual benthic nematodes of *S. irregularis*

were accidentally ingested by *S. irregularis*, resulting in a higher abundance of nematodes in its intestine. *S. eurystomus* had a shorter intestinal length ratio of approximately 2.56, with the main food source being primary producers, such as *Brachypodium distachyon*, which also prey on some small fish. *S. eurystomus* scrapes attached plant debris by means of sharp cuticles and wider mouth fissures. Benthic nematodes passively enter the gut of the wide-mouthed *schizothorax* when feeding. *S. biddulphi* has a relatively short gut length, with a ratio of approximately 2.38, and feeds mainly on *Schizothorax* fish, followed by *Citrus latifolia*, *S. eurystomus* and *S. biddulphi* were dissected, and a large number of small *Schizothorax* fish were found in their intestines. The intestinal length ratio in *T. yarkandensis* and *T. tenuis* were both less than one, and the proportion of *Schizothorax* fish in the intestine was over 95% of the food contents. Large plants and sand particles were also found in the highland loach, most likely ingested while chasing prey, due to water disturbance, via accidental ingestion. The intestinal contents of the two types of highland loach and *S. biddulphi* were similar while those of *S. irregularis* and *S. eurystomus* were similar. *S. biddulphi*, *S. eurystomus*, *S. irregularis*, *T. yarkandensis*, and *T. tenuis* $\delta^{15}\text{N}$ ranged from 4.32‰ to 10.13‰, 1.94‰ to 9.78‰, 3.67‰ to 7.58‰, 2.22‰ to 11.78, and 4.61‰ to 11.88, respectively. Similarly, their $\delta^{13}\text{C}$ ranged from -27.36‰ to -14.89‰, -27.81‰ to -13.87‰, -26.09‰ to -17.64‰, -28.80‰ to -15.47‰, and -27.21‰ to -18.79‰, respectively. The trophic levels of *S. biddulphi*, *S. eurystomus*, and *S. irregularis* were 3.19, 2.78, and 2.52, respectively, while those of *T. yarkandensis* and *T. tenuis* were 3.44 and 3.55, respectively. The average trophic diversity and feeding sources of *Schizothorax* were higher than those of *Triplophysa*, while the trophic level, density of species aggregation, and evenness of species aggregation of *Triplophysa* were higher than those of *S. eurystomus*. *S. eurystomus* is an omnivorous bi-phytophagous fish, whereas *S. biddulphi* is an omnivorous bi-carnivorous fish. *T. yarkandensis* and *T. tenuis* are both carnivorous fish and the top predators of the Kizil River, associated with material endpoints and energy transfer in the basin. The findings presented in this study provide insights into the food web of the Kizil River by exploring the relationships and trophic levels of fish in this habitat. In this study, the mean trophic levels of *T. yarkandensis* and *T. tenuis*, among others, are estimated to evaluate their ecological roles in the river ecosystem, improving our understanding of their feeding ecology and providing fundamental data for the conservation and rational use of fish resources in the Kizil River.

Key words: *Schizothorax*; *Triplophysa*; feeding; high-throughput sequencing; stable isotopes

Corresponding author: WEI Jie. E-mail: weijiedky@126.com