

DOI: 10.12264/JFSC2024-0172

鄂陵湖近岸花斑裸鲤的食物组成及随其生长的摄食变化

周翹楚^{1,2}, 蒋海鹏², 匡箴², 梁翼东^{1,2}, 徐东坡^{1,2}, 段启轩³, 祁洪芳⁴

1. 上海海洋大学水产科学国家实验教学示范中心, 上海 201306;
2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业农村部长江下游渔业资源环境科学观测实验站, 江苏 无锡 214081;
3. 三江源国家公园管理局, 青海 西宁 810000;
4. 青海湖裸鲤救护中心, 青海 西宁 810000

摘要: 为了探究黄河源头鄂陵湖的土著鱼种花斑裸鲤(*Gymnocypris eckloni*)的食物组成, 本研究采用镜检分析法和 DNA 宏条形码技术对 2023 年 6 月采集自鄂陵湖的花斑裸鲤的摄食强度、食物组成、摄食习性及其随发育的变化进行了研究分析。通过镜检分析鉴定出 22 尾花斑裸鲤摄食的 7 个类群, 26 种饵料生物。同时, 利用 DNA 宏条形码技术检测出饵料生物 12 门 43 属。研究发现, 花斑裸鲤的食物种类及多样性指数随花斑裸鲤规格的增加而呈现显著变化。大规格花斑裸鲤肠含物中饵料生物多样性高于中等规格花斑裸鲤高于小规格花斑裸鲤, 其优势饵料生物为刺胞动物。本研究结合镜检分析法和 DNA 宏条形码技术, 增强了描述花斑裸鲤食性的准确性和全面性, 为花斑裸鲤的生物学特征研究提供了重要的基础数据和资料。这些发现不仅有助于更好地理解花斑裸鲤在自然环境中的食物来源和摄食策略, 也为开展花斑裸鲤人工养殖、营养需求评估、饵料投喂及繁育特性提供重要的科学依据和参考。

关键词: 鄂陵湖; 花斑裸鲤; 食物组成; 宏条形码技术; 摄食变化

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)09-1069-10

鄂陵湖(Ngoring Lake), 古称柏海, 又称鄂灵湖, 位于黄河源头, 海拔高度平均达 4200 m, 湖水面积为 651.08 km², 作为青藏高原第一大淡水湖泊^[1,2], 鄂陵湖不仅拥有独特的自然美景, 还承载着重要的科研、环境保护意义。

花斑裸鲤(*Gymnocypris eckloni*)隶属于鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、裂腹鱼亚科(Schizothoracinae)、裸鲤属(*Gymnocypris*), 又称大嘴湟鱼、大嘴花鱼、大嘴鱼等^[3], 属冷水性鱼类, 生长、发育缓慢, 性成熟较晚^[4], 是中国黄河及其支流上游具有开发前景的一种经济鱼种^[5]。近几十年来由于过度捕捞、水电站的建设, 其野生种群数量急剧下降^[6], 应加强保护力度, 扩大花斑

裸鲤的种群数量, 恢复黄河上游花斑裸鲤的渔业资源。目前, 关于花斑裸鲤的人工繁育^[6-8]、胚胎及仔鱼发育^[9]和基因组功能结构解析^[10]等方面均有研究并取得了重要成果。

鱼类的食性研究在生态学和资源管理中占据举足轻重的地位。在鱼类食性的研究中, 镜检分析法是最传统、最广泛的方法, 它通过显微镜对胃或肠内容物进行食物组成、饵料生物多样性及各种类重要性等方面的研究, 能提供鱼类近期所食用食物的详细分类信息, 直观地反映鱼类近期摄食行为^[11]。虽然该法操作简单, 直观、成本低, 但是也有弊端。针对消化程度较高、腐烂程度较严重的胃肠含物则难以鉴定甚至无法鉴定^[12-13],

收稿日期: 2024-06-08; 修订日期: 2024-09-09.

基金项目: 农业农村部财政专项“黄河渔业资源与环境调查”(HHDC-2022-05); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助(2023TD65).

作者简介: 周翹楚(1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向为渔业资源. E-mail: zqc13478699749@163.com

通信作者: 徐东坡, 研究员, 研究方向为渔业资源保护与利用. E-mail: xudp@ffrc.cn

从而低估食物多样性;且工作量大,对鉴定人员专业技术能力要求高^[13]。随着分子生物学技术的发展,高通量测序技术逐渐得到应用,并被扩展到水生生物食性分析领域^[14]。由 Taberlet 等^[15]于 2012 年研究提出的 DNA 宏条形码技术(DNA metabarcoding)结合 DNA 条形码和高通量测序技术,通过对大量样本进行处理和测序后,借助数据库序列比对实现物种水平上的食物种类鉴定,并通过比较所得物种序列的相对丰度来定量描述目标种的食物组成,从而实现食性研究的定性及定量分析^[16]。然而在食性分析中有时目标 DNA 种类繁多,通用引物对某些物种可能会失灵,在片段扩增时会导致数据丢失或失真等情况从而影响结果的完整性,研究较少的自然区域,可能存在较多未知物种,当地物种的数据库往往匮乏或不全从而影响物种鉴定^[17]。大量的研究表明每一种食性研究方法在实际应用中均存在局限性,将镜检分析法这种传统的食性研究方法 with 宏条形码技术这种新兴方法相结合,可以突破单种方法的局限性,提高对生物食性研究的可靠性^[18]。

此前关于花斑裸鲤的食性研究较少,特别是黄河上游两个湖泊——鄂陵湖和扎陵湖中的野生花斑裸鲤种群。目前已有的研究显示,自然水域中花斑裸鲤成鱼为杂食性,鄢思利^[5]采用镜检分析法发现四川省阿坝州红原县境内的花斑裸鲤食物组成主要为植物碎屑、藻类、水生昆虫及其幼虫、摇蚊幼虫和小型鱼类。而将宏条形码技术和镜检鉴定结合起来,对花斑裸鲤肠内容物组成进行定性及定量分析的研究尚未见报道。本研究选取真核生物 18S rDNA 的可变区 V8 区作为标记基因,结合高通量测序技术和镜检鉴别结果,对鄂陵湖水域内花斑裸鲤的食性进行研究,以期为开展人工养殖、营养需求、饵料投喂和繁育特性研究提供重要的基础数据和资料。

1 材料与方法

1.1 样本来源

鄂陵湖共设 3 个点位,每个点位放置 3 条刺网及 3 条定置串联笼壶,其中刺网网目均为 7 种网目的多网目复合刺网(1.2 cm、2 cm、4 cm、6 cm、

8 cm、10 cm、14 cm),长、高分别为 125 m、1.5 m;定置串联笼壶网目为 1.6 cm,长、宽、高分别为 10 m、0.4 m、0.4 m。刺网、定置串联笼壶均放置 2 小时后收集网具上所有渔获物,点位经纬度见表 1。

表 1 采样点位经纬度
Tab.1 Sampling site latitude and longitude

	点位 point	经度/(°) longitude	纬度/(°) latitude
1	多涌村 Duochong Village	97.4452 E	34.8216 N
2	吉合特昌尕玛 Jihete Changgama	97.6717 E	35.0399 N
3	扎陵湖乡 Zhalinghu Township	97.9103 E	35.1060 N

1.2 食性镜检分析法

于 2023 年 6 月进行采样,将采自鄂陵湖的 22 尾花斑裸鲤样本经生物学测定,解剖鱼体,鉴别性别、肠充塞度以及性腺发育时期后,用剪刀从鱼体肛门处沿腹部剪开,使用镊子取出肠道后用 10%的福尔马林液固定保存。分析时先用针管冲出肠道内含物,滤去水分后使用 METTLER TOLEDO 分析天平称量食团重,然后将称重后的食团浸泡于 75%的乙醇溶液中充分摇匀。鉴别饵料生物种类并分别计数。浮游植物、浮游动物等小型饵料生物使用 LEICA DM500 显微镜进行观察计数并鉴定到属(种);底栖动物使用 OLYMPUS SZX16 体视显微镜进行观察计数鉴定,被消化的则根据残留的头部、附肢等不同生物特征进行鉴别;鱼类等大型饵料生物用肉眼观察并称重。本研究中,食物种类鉴定依据《淡水微型生物与底栖动物图谱》^[19]、《水生生物学》^[20]和《中国流域常见水生生物图集》^[21],种类鉴定时尽可能鉴定到最小的分类单元。

1.3 食性高通量测序法

根据花斑裸鲤样本体型大小(按规格分 3 组,平均值±标准偏差分别为 H.S: 254.08±17.04 mm、H.M: 307.38±17.90 mm、H.L: 413.05±53.93 mm)选取肠道充塞度在 3 级以上且肠道饱满的 11 尾花斑裸鲤肠内容物用于高通量测序。用无菌解剖刀切除花斑裸鲤整个肠道,切取所需肠段的内容物,随后将肠段中的内容物分装在 15 mL 的无菌离心管中,确保样本的纯净与完整后,加入无水乙醇摇匀保存并标记。使用方舟生物科技公司的

ALFA 土壤 DNA 小量提取试剂盒对花斑裸鲤肠道内容物样品进行基因组 DNA 的提取, 并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性, 同时利用 NanoDrop 和 Qubit 检测 DNA 的浓度和纯度。

PCR 扩增引物选用指定的引物针(引物序列为: V8F, 5'-ATAACAGGTCTGTGATGCCCT-3', 1510R, 5'-CCTTCYGCAGGTTCACCTAC-3') 对 18S rRNA 基因的目标区域进行扩增, 并带有 Barcode 序列。PCR 扩增体系: 2×高保真性聚合酶 25 μL, 正反引物各 2 μL, DNA 模板 3 μL, 添加无核酸酶水至 50 μL。反应程序: 95 °C 预变性 3min, 95 °C 变性 20 s, 56 °C 退火 30s, 72 °C 延伸 30s; 进行 32 个循环, 最后 72 °C 延伸 5min。PCR 产物通过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳的检测。利用 GeneTools Analysis Software (Version 4.03.05.0, SynGene) 对 PCR 产物进行浓度对比后, 按照等质量原则计算各样品所需体积, 将各 PCR 产物进行混合。使用 E.Z.N.A.® Gel Extraction Kit (Omega, USA) 凝胶回收试剂盒回收 PCR 混合产物, TE 缓冲液洗脱回收目标 DNA 片段。建库按照 ALFA-SEQ DNA Library Prep Kit 标准流程进行建库操作, NanoDrop 和 QSEP400 高通量核酸蛋白分析系统对文库质量进行评价, 完成后在 Illumina NovaSeq 6000 平台上对文库进行测序。

1.4 数据处理与分析

肠道充塞度判断标准参考殷名称^[22]的方法划分。

摄食强度用空肠率表示^[23], 计算公式如下:

$$\text{空肠率}(\%) = \frac{\text{空肠样本数}}{\text{总样本数}} \times 100 \quad (1)$$

用于评价饵料重要性的指标^[24]包括出现频率($F\%$)、重量百分比($W\%$)、数量百分比($N\%$)、相对性重要指数(IRI)和相对重要性指数百分比(%IRI), 公式如下:

$$F\% = \frac{\text{某种饵料出现的花斑裸鲤标本数}}{\text{用于食物组成分析的标本总数}} \quad (2)$$

$$W\% = \frac{\text{某种饵料重量}}{\text{饵料总重量}} \quad (3)$$

$$N\% = \frac{\text{某种饵料数目}}{\text{总饵料数目}} \quad (4)$$

$$\text{IRI} = (W\% + N\%)F\% \quad (5)$$

$$\% \text{IRI} = \left(\frac{\text{IRI}}{\sum \text{IRI}} \right) \times 100 \quad (6)$$

通过 Fastp 软件(version 0.14.1)对原始下机数

据进行 reads 质量过滤, 去除低质量的 reads。质控后的 reads 通过 USEARCH 软件(v11.0.667)对双端序列进行拼接, 并去除低质量的拼接序列。拼接后的序列利用 VSEARCH 软件(v2.5.2)进行质控, 最终得到有效的拼接片段(Clean Tags)。利用 VSEARCH 软件(v2.5.2)对所有样品的全部 Clean tags 进行聚类, 默认以 98% 的一致性将序列聚类^[25], 认为一个 OTU (operational taxonomic unit) 可能表示一个物种, 出现同一 OTU 对应多种物种的情况, 如果结果的相似度大于 98%, 覆盖率(coverage)为 100%, 且仅对应一个物种, 则取该结果; 当一个 OTU 对应多个物种时, 则记为能够涵盖所有相似度最高的当地物种的最低分类单元^[26], 默认算法为 centroids。通过 BLAST 方法将代表序列与目标基因宏条形码数据库的数据库比对, 分别将 98%, 95%, 90%, 85% 作为种, 属, 科, 目, 纲 5 个分类水平的阈值^[27], 获得物种注释信息。

2 结果与分析

2.1 花斑裸鲤的摄食强度与性腺发育时期

本次调查共采集到花斑裸鲤 101 尾, 重 17746.86 g, 样本的规格分布范围为 130.9~467.03 mm, 体重分布范围为 25.66~1662.12 g。统计分析结果显示, 样本的采集过程随机且具有代表性, 因此能够反映不同生长阶段花斑裸鲤肠内含物组成的共性特征。其中, 空肠率为 32.35%, 肠道充塞度达到 5 级的花斑裸鲤个体最多占比达到 39.71%; 鄂陵湖花斑裸鲤渔获样品中无性腺尚未发育个体(I 期), 性腺发育 V 期个体最多占比达到 47.06%。

2.2 镜检分析花斑裸鲤肠道内容物食物组成

花斑裸鲤 22 个样本用于镜检分析食物组成, 从肠道内含物分析看(表 2), 花斑裸鲤肠道中鉴定出饵料生物 26 种(属), 其中硅藻门(Bacillariophyta)种类最多, 有 17 种(属), 其次是水生植物 3 种(属)、桡足类(Copepods)2 种(属)、绿藻门(Chlorophyta)、黄藻门(Xanthophyta)、轮虫(Rotifera)以及水生昆虫均鉴定到 1 种(属)。解剖发现, 花斑裸鲤的肠道里主要食物是藻类与水生植物, 如异极藻(*Gomphonema*)、桥弯藻(*Cymbella*)、舟形藻(*Navicula*)、脆杆藻(*Fragilaria*)、针杆藻(*Synedra*)、

眼子菜(*Potamogeton*)等, 以及包含有机碎屑与残肢的食糜。

除去碎屑及残肢, 从数量百分比来看, 肠道中舟形藻数量最多, 占比为 17.19%, 其次为针杆藻(16.77%)、异极藻(14.28%)和桥弯藻(10.97%); 从重量百分比来看, 眼子菜占比最高为 10.64%, 其次是水毛茛(*Batrachium*), 占比 9.31%, 和不可辨认水生植物, 占比为 1.33%; 从出现频率来看,

肠道中舟形藻最高, 为 100%, 其次为针杆藻(出现频率为 90.91%)、异极藻(72.73%)和桥弯藻(54.55%); 从相对重要性指数百分比来看, 肠道中舟形藻最高为 24.23%, 其次为针杆藻(21.45%)、异极藻(14.59%), 最低为窗纹藻(*Epithemia*)、螺形龟甲轮虫(*Keratella cochlearis*)、猛水蚤(*Harpacticoida*)以及前突摇蚊(*Procladius*), 均小于 0.01% (表 2)。

表 2 基于镜检分析的花斑裸鲤食物组成
Tab. 2 Food composition of *Gymnocypris eckloni* based on microscopic analysis

饵料种类 Prey type	N/%	W/%	F/%	IRI
硅藻 Bacillariophyta				
异极藻 <i>Gomphonema</i> spp.	14.28	0.01	72.73	1039.23
桥弯藻 <i>Cymbella</i> sp.	10.97	0.02	54.55	599.25
脆杆藻 <i>Fragilaria</i> spp.	6.99	+	45.45	317.80
针杆藻 <i>Synedra</i> spp.	16.77	0.03	90.91	1527.54
舟形藻 <i>Navicula</i> spp.	17.19	0.06	100.00	1725.43
双菱藻 <i>Surirella</i> spp.	6.44	0.01	45.45	293.14
卵形藻 <i>Cocconeis</i> sp.	8.20	+	54.55	447.52
双壁藻 <i>Diploneis</i> sp.	0.73	+	27.27	19.99
棒杆藻 <i>Rhopalodia</i> sp.	1.09	0.04	27.27	30.91
窗纹藻 <i>Epithemia</i> sp.	0.02	+	9.09	0.23
小环藻 <i>Cyclotella</i> sp.	4.70	+	54.55	256.78
胸膈藻 <i>Mastogloia</i> sp.	0.50	+	9.09	4.51
直链藻 <i>Aulacoseira</i> sp.	3.10	+	9.09	28.16
羽纹藻 <i>Pinnularia</i> sp.	1.01	0.04	18.18	18.97
菱形藻 <i>Nitzschia</i> sp.	4.69	+	27.27	127.97
波缘藻 <i>Cymatopleura</i> sp.	0.25	+	9.09	2.25
曲壳藻 <i>Achnanthes</i> sp.	0.78	+	9.09	7.14
绿藻 Chlorophyta				
转板藻 <i>Mougeotia</i> sp.	0.31	+	9.09	2.81
黄藻 Xanthophyta				
黄丝藻 <i>Tribonema</i> sp.	0.58	+	9.09	5.26
轮虫类 Rotifera				
螺形龟甲轮虫 <i>Keratella cochlearis</i>	+	+	18.18	0.01
桡足类 Copepoda				
近邻剑水蚤 <i>Cyclops vicinus</i>	+	0.04	18.18	0.79
猛水蚤一种 <i>Harpacticoida</i> sp.	+	+	9.09	0.03
水生昆虫 Aquatic insects				
前突摇蚊 <i>Procladius</i> sp.	+	0.01	9.09	0.09
水生植物 Aquatic plants				
眼子菜 <i>Potamogeton</i> sp.	+	10.64	36.36	386.91
水毛茛 <i>Batrachium</i> sp.	+	9.31	27.27	253.91
不可辨认水生植物 Unidentified	+	1.33	18.18	24.18
食糜等其他 other prey				
有机碎屑 organic crumbs	0.78	54.50	100.00	/
残肢 stump limb	0.61			

注: +代表<0.01%, / 代表未鉴定到或无法计算。
Note: + indicate the value was smaller than 0.01%, / represents not identified or cannot be calculated.

2.3 花斑裸鲤肠含物真核生物物种组成

基于 Illumina NovaSeq 6000 二代测序平台双端测序, 从 11 尾花斑裸鲤食的肠道内含物中提取并扩增出的 DNA 经碱基识别分析转化为原始测序序列(raw reads)。通过对 raw reads 进行剪切过滤, 经过质控, 平均得到 28563 条有效数据。以 98%的一致性将序列聚类成为 OTUs, 共得到 52 个 OTUs。得到的 OTU 序列与目标基因参考数据库的序列进行比对, 根据最佳比对的相似度确定目标序列的分类层级, 最终获得物种注释。舍弃序列数低于该样品总序列数的 0.01%, 真菌、细菌、捕食者序列及可能来自实验污染的人序列不计入食物类群。经过筛选之后一共获得 12 门, 43 属饵料生物。

测序结果表明: 本次共检测到了包括链形植物门(Streptophyta)、顶复动物亚门(Apicomplexa)、脊索动物门(Chordata)、节肢动物门(Arthropoda)、刺胞动物门(Cnidaria)、绿藻门、硅藻门等在内的 12 门。在门水平上, 占有优势地位的生物类群是链形植物门, 占比为 28.54%, 其次是顶复动物亚门, 占比 20.81%, 线虫动物门占比 14.04%, 脊索动物门占比 10.16%, 节肢动物门占比 7.91%, 绿藻门与硅藻门占比最低, 分别为 2.83%和 2.19%。各门水平食物类群所占比例见表 3。

在属水平上共检测到了眼子菜属(*Potamogeton* L.)、狐尾藻属(*Myriophyllum*)、根枝藻属(*Rhizoclonium*)、果蝇属(*Drosophila*)、桥弯藻属、舟形藻属、前突摇蚊属、拟长跗摇蚊属等在内的 43 属(图 1)。其中, 占有优势地位的是眼子菜属(20.18%), 其次为狐尾藻 16.32%, 果蝇属 8.67%, 麦可属 3.64%, 具晶泡绿藻 2.59%、根枝藻属 2.33%、桥弯藻属 2.29%、轮藻属 2.24%、前突摇蚊属 2.22%(图 1)。

2.4 花斑裸鲤体长大小对其食性的影响

从图 2 可以看出, 三种规格花斑裸鲤的肠含物样品共有的核心 OTU 数有 21 条; 共有饵料生物 9 门, 此外小规格花斑裸鲤与中等规格大小花斑裸鲤独有 3 门类, 分别是软体动物门(Mollusca)、纤毛门(Ciliophora)和轮虫(Rotifera); 共有饵料生物 19 属, 不同规格大小花斑裸鲤间肠道内饵料物种数差异较大。可以看出, 大规格花斑裸鲤中肠道内含物的饵料生物种类最高。

丰富度、香农及 Chao1 多样性指数显示, 花斑裸鲤肠含物中的饵料生物物种多样性指数由高到低依次为大规格>中等规格>小规格; 辛普森多样性指数等均匀度指数显示, 小规格花斑裸鲤肠含物的饵料生物物种分布更加均匀, 高于中规格花斑裸鲤肠含物的饵料生物物种分布, 高于大规格花斑裸鲤肠含物中的饵料生物物种分布(图 3)。

表 3 基于 DNA 宏条形码测序技术分析的花斑裸鲤门水平食物所占百分比
Tab. 3 Percentage of *Gymnocypris eckloni*'s food compositions based on DNA metabarcoding technology at the phylum level %

门 Phylum	H.Jun.1	H.Jun.2	H.Jun.3	H.Jun.4	H.Jun.5	H.Jun.6	H.Jun.7	H.Jun.8	H.Jun.9	H.Jun.10	H.Jun.11
顶复动物亚门 Apicomplexa	45.45	6.33	6.24	5.05	7.01	8.70	40.10	0.58	17.31	97.83	11.73
链形植物门 Streptophyta	0.24	7.15	88.58	33.74	15.03	23.81	3.01	8.17	24.63	0.39	9.62
线虫动物门 Nematoda	0.87	39.11	0.09	0.64	1.18	2.11	0.13	0.54	30.08	0.00	0.77
脊索动物门 Chordata	52.37	10.42	4.77	45.07	57.10	38.22	16.93	42.83	1.61	0.00	8.29
节肢动物门 Arthropoda	0.24	2.03	0.09	7.09	18.67	0.70	36.31	47.39	0.65	0.37	34.74
刺胞动物门 Cnidaria	0.29	0.22	0.13	0.45	0.55	0.62	0.16	0.19	25.45	0.00	0.00
未鉴定 unclassified	0.48	33.37	0.05	0.45	0.46	9.58	0.11	0.23	0.02	0.41	0.67
绿藻门 Chlorophyta	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.70	13.74
硅藻门 Bacillariophyta	0.05	1.37	0.04	7.50	0.00	16.08	3.25	0.08	0.00	0.24	16.26
纤毛门 Ciliophora	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	2.52
软体动物门 Mollusca	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	1.60
轮虫门 Rotifera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05

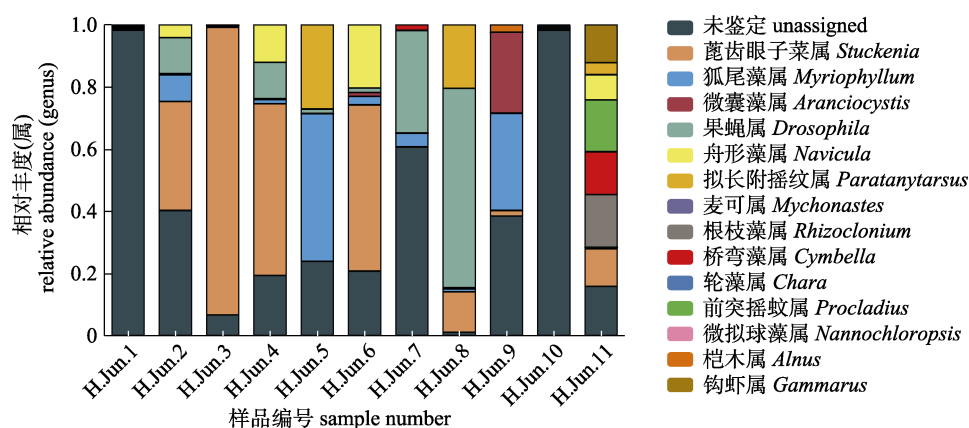


图 1 花斑裸鲤肠内含物基于属分类水平的真核生物 zuoheng

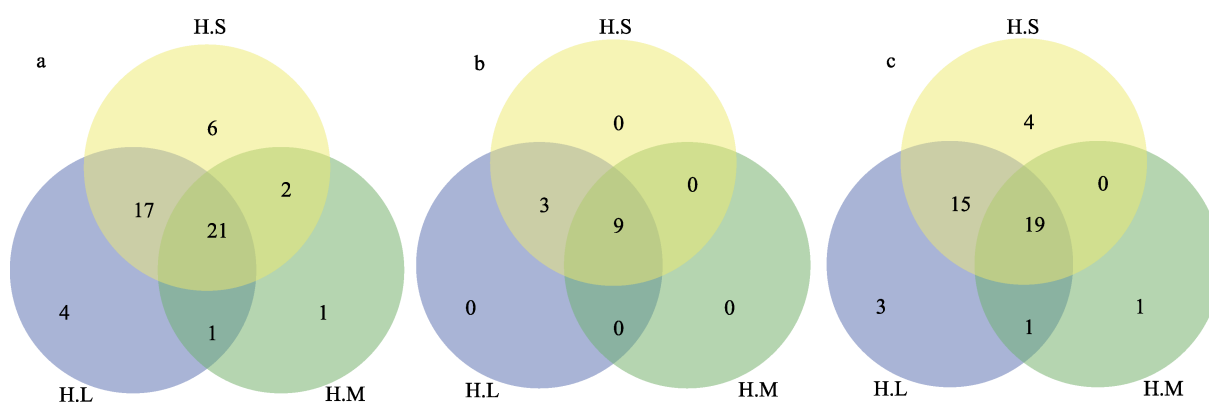
Fig. 1 Intestinal contents evaluated at the genus level in *Gymnocypris eckloni*

图 2 基于 DNA 宏条形码技术 OTU(a)、门(b)、属(c)三个水平不同规格花斑裸鲤肠内含物真核生物数量韦恩图

H.S: 小规格花斑裸鲤, H.M: 中等规格花斑裸鲤, H.L: 大规格花斑裸鲤.

Fig. 2 Venn diagrams of the number of eukaryotic organisms in the intestinal contents of different size *Gymnocypris eckloni* at OTU(a), phylum(b), and genus(c) levels based on DNA metabarcoding comparisonH.S: small size *Gymnocypris eckloni*, H.M: medium size *Gymnocypris eckloni*, H.L: large size *Gymnocypris eckloni*.

3 讨论

3.1 基于镜检分析法和 DNA 宏条形码技术花斑裸鲤食性分析

本研究运用镜检分析法和宏条形码技术对鄂陵湖近岸花斑裸鲤的肠道内容物进行分析, 经鉴定, 花斑裸鲤肠道中共鉴定出饵料生物 26 种(属), 数量百分比最高的饵料类群为硅藻, 达到 97.71%, 重量百分比最高的类群为水生植物, 达到 21.28%。此前, 鄢思利^[5]对四川省阿坝州红原县境内的黄河上游流域花斑裸鲤进行食性研究, 其研究表明花斑裸鲤主要以植物碎屑、藻类、水生昆虫及其幼虫、摇蚊幼虫和小型鱼类为食的杂食性鱼类。但在鄂陵湖花斑裸鲤的肠道中并未观察鉴定

到小型鱼类, 推测原因有两个, 首先本研究的自然水域花斑裸鲤样本采集于青海省玛多县境内, 与前者研究的花斑裸鲤样本生活环境不同, 可能导致其食性不完全一致。另外, 花斑裸鲤肠道内容物中的食糜部分可能存在消化程度较高的鱼类组织, 无法通过形态学鉴定, 仅通过宏条形码测序技术检测到脊索动物门, 不能进一步确定是否摄食鱼类。

通过 DNA 宏条形码技术对花斑裸鲤肠内含物进行高通量测序鉴定, 共鉴定出真核生物 12 门 43 属, 揭示花斑裸鲤多样化的食物组成。通过测序鉴定发现, 主要的食物来源是眼子菜和狐尾藻, 还有部分摇蚊、钩虾以及藻类等, 与前文镜检结果互为补充, 表明仅使用单一的方法进行鱼类食

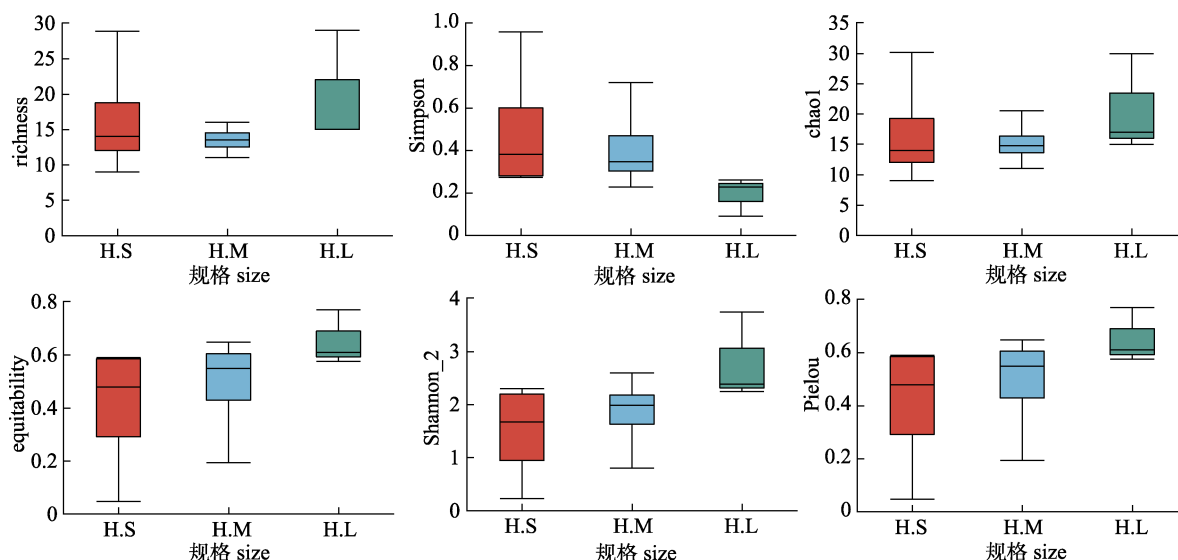


图 3 基于 DNA 宏条形码技术的不同规格花斑裸鲤肠含物真核生物多样性指数差异箱形图

H.S: 小规格花斑裸鲤, H.M: 中等规格花斑裸鲤, H.L: 大规格花斑裸鲤.

Fig. 3 Box plots of differences in eukaryotic diversity indices of intestinal contents of *Gymnocypris eckloni* with different sizes based on DNA metabarcoding technology

H.S: small size *Gymnocypris eckloni*, H.M: medium size *Gymnocypris eckloni*, H.L: large size *Gymnocypris eckloni*.

性分析较难得到完整的食物组成。然而测序未鉴定到物种(属)水平的达 20%, 其原因是现代分子生物学技术虽可以不受鉴定对象的限制, 但需先建立一个比较完整的基因数据库, 才能满足后期序列比对的要求, 这也体现出该技术的不足^[28]。其次将测序结果与镜检结果对比发现, 存在形态学鉴定到而测序未鉴定到的物种, 如藻类中的窗纹藻、曲壳藻等, 推测为 DNA 含量过低。因此仅通过镜检分析或 DNA 宏条形码技术单一的方法对花斑裸鲤食性进行分析, 容易产生误差, 通过两种方法结合, 可以使结果更加准确、全面。将传统形态学鉴定与分子技术结合, 用于研究鱼类食性是高效且准确的方法, 这两种技术各自的优势可以互相补充和印证, 从而提供更全面、深入的鱼类摄食习性的信息。

3.2 不同规格花斑裸鲤的食物组成以及摄食选择

大规格花斑裸鲤[(413.05±53.93) mm]肠含物中饵料生物多样性高于中等规格花斑裸鲤[(307.38±17.90) mm]高于小规格花斑裸鲤[(254.08±17.04) mm], 小规格花斑裸鲤肠含物样品中优势饵料生物为顶复动物, 中等规格花斑裸鲤肠含物样品中优势饵料生物为链形植物和脊索动物, 大规格花斑裸鲤

肠含物样品中优势饵料生物为刺胞动物。贺舟挺等^[29]在对黄海南部、东海北部和东海南部 3 个区域黄鲛鰈的摄食习性进行研究时发现, 黄鲛鰈摄食强度变化不显著, 而食物组成具有显著差异, 食物种类随黄鲛鰈规格的增加有显著的变化, 且食物多样性指数、食物种类和食物重量范围都随规格的增加而变化。本研究中随花斑裸鲤规格的增大, 其肠含物中饵料生物组成也随之发生变化。

分析其原因: 首先, 花斑裸鲤口裂也随其规格的增长而变大, 以至可进食的饵料生物种类增加, 因此大规格花斑裸鲤肠含物中的饵料生物多样性较中规格与小规格更为丰富, 食物组成也更倾向于刺胞动物门等; 另外, 在进食过程中随花斑裸鲤的规格增加, 其运动能力和对于饵料生物的捕食能力增加, 导致花斑裸鲤规格越大, 其摄食选择范围越广, 食物组成越多样; 裸裂尻鱼属杂食性偏藻类食性, 但体长 280 mm 以上的较大个体因摄食器官的生长完善, 采用吞食的方式摄食高原鳅幼体, 扩大摄食范围来适应高海拔资源匮乏的环境条件^[30]; 同样, 大规格的花斑裸鲤通过利用更多的饵料资源, 增强了花斑裸鲤对食物的竞争优势。

4 结论

本研究以 2023 年 6 月鄂陵湖中采集的野生花斑裸鲤个体为研究对象, 采用镜检分析法和 DNA 宏条形码技术相结合的方法, 对花斑裸鲤的摄食强度、食物组成及其随发育的变化进行了研究, 为花斑裸鲤的食物组成及其摄食变化的研究进行了补充。本研究和其他研究可以表明宏条形码技术可以检出主要的食物成分以及肉眼无法鉴定的食糜部分。镜检分析法可以直观地反映鱼类近期摄食行为, 但在很大程度上取决于鉴定人员专业技术能力以及食物的消化程度。DNA 宏条形码技术虽能克服这些问题, 但无法根据检测到的 DNA 分析出食物的体积和重量, 只能进行多样性分析。关于这一点本研究结合镜检分析法和 DNA 宏条形码技术, 从花斑裸鲤肠道内含物组成进行分析, 了解了其食物组成和摄食强度, 极大增强了描述花斑裸鲤食性的能力, 可为花斑裸鲤野生资源保护提供重要的基础数据和资料。

参考文献:

- [1] Gou Z J, Liu F G. Ngoring Lake[J]. Journal of Global Change Data & Discovery, 2019, 3(1): 91-92, 200-201. [苟照君, 刘峰贵. 鄂陵湖[J]. 全球变化数据学报, 2019, 3(1): 91-92, 200-201.]
- [2] Zhang Z. Zhaling Lake and Eling Lake[J]. Earth, 2005(6): 28. [张珍. 扎陵湖和鄂陵湖[J]. 地球, 2005(6): 28.]
- [3] YANG L Z. Study on the morphometrical parameters and enzymatic activity of digestive tract in male *Gymnocypris eckloni* Herzenstein[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2016. [杨丽珠. 雄性花斑裸鲤消化道形态学参数及消化酶活性的测定[D]. 成都: 四川农业大学, 2016.]
- [4] Shen D Z, He C L, Song Z B. Age determination of *Schizopygopsis malacanthus*[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2007(1): 124-125, 241. [沈丹舟, 何春林, 宋昭彬. 软刺裸裂尻鱼的年龄鉴定[J]. 四川动物, 2007(1): 124-125, 241.]
- [5] Yan S L. Study on the Biology of *Gymnocypris eckloni* and the research of reproductive property, embryo and artificial cultivation[D]. Nanchong: China West Normal University, 2016. [鄯思利. 花斑裸鲤的生物学特性、繁殖特性、胚胎发育及人工培育的研究[D]. 南充: 西华师范大学, 2016.]
- [6] Shen Z X, Wang S D, Wang G J, et al. The experiment of domestication and artificial breeding of Piebald Naked Carp in three circumstances[J]. Journal of Hydroecology, 2011, 32(1): 149-152. [申志新, 王思德, 王国杰, 等. 花斑裸鲤在 3 种环境中的驯化养殖试验[J]. 水生生态学杂志, 2011, 32(1): 149-152.]
- [7] Yang L Z, Fang J, Peng X, et al. Study on the morphology, histology and enzymatic activity of the digestive tract of *Gymnocypris eckloni* Herzenstein[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2017, 43(4): 1175-1185.
- [8] Tang W J, Zhao S M, Yuan J, et al. Artificial breeding technology of *Gymnocypris eckloni*[J]. Scientific Fish Farming, 2013(7): 9-10. [唐文家, 赵淑梅, 袁军, 等. 花斑裸鲤人工繁育技术[J]. 科学养鱼, 2013(7): 9-10.]
- [9] Dong Y Z, Deng S H, Xiao W Y. Observation on embryonic development of *Gymnocypris eckloni*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(6): 142-144. [董艳珍, 邓思红, 肖文渊. 花斑裸鲤的胚胎发育观察[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(6): 142-144.]
- [10] Wang F Y. Genomic structure and spatiotemporal expression of functional differentiation of hemoglobin in *Gymnocypris eckloni*[D]. Xining: Qinghai University, 2022. [王发艳. 花斑裸鲤血红蛋白基因组结构及其功能分化的时空表达调控[D]. 西宁: 青海大学, 2022.]
- [11] Xue Y, Jin X S. Review of study on feeding habits of fishes and food webs[J]. Marine Fisheries Research, 2003(2): 76-87. [薛莹, 金显仕. 鱼类食性和食物网研究评述[J]. 海洋水产研究, 2003(2): 76-87.]
- [12] Zheng G M, Zhao X R, Song J, et al. Study on the feeding habits of *Tragopan caboti*[J]. Acta Ecologica Sinica, 1986(3): 283-288. [郑光美, 赵欣如, 宋杰, 等. 黄腹角雉的食性研究[J]. 生态学报, 1986(3): 283-288.]
- [13] Wu Z J, Li Y M, Wang Y P. A comparison of stomach flush and stomach dissection in diet analysis of frog species[J]. Acta Zoologica Sinica, 2007(2): 364-372. [武正军, 李义明, 王彦平. 洗胃法与剖胃法在四种蛙食性分析中的对比[J]. 动物学报, 2007(2): 364-372.]
- [14] Xu J J, Feng G P, Zhang T, et al. Diet composition and Feeding Habits of female *Eriocheir sinensis* in Yangtze River estuary based on high-throughput sequencing[J]. Fisheries Sciences, 2023, 42(1): 1-10. [徐静静, 冯广朋, 张涛, 等. 基于高通量测序的长江口中华绒螯蟹雌蟹食性分析[J]. 水产科学, 2023, 42(1): 1-10.]
- [15] Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, et al. Towards next generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding [J]. Molecular ecology, 2012, 21(8): 2045-2050.
- [16] Li Y L, Chen B L, Bao X B, et al. Preliminary dietary analysis of *Hyporhamphus sajori* juveniles based on DNA metabarcoding[J]. Journal of Fisheries Sciences of China, 2023, 30(4): 393-405. [李玉龙, 陈百灵, 鲍相渤, 等. 基于

- DNA 宏条形码技术的沙氏下鱚幼鱼食性分析[J]. 中国水产科学, 2023, 30(4): 393-405.]
- [17] Wang X Q, Wang G H, Qiao F, et al. Progress on high-throughput sequencing and its application in food web analysis[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(8): 2530-2539. [王雪芹, 王光华, 乔飞, 等. 高通量测序及其在食物网解析中的应用进展[J]. 生态学报, 2017, 37(8): 2530-2539.]
- [18] Xue M, Zhu G P. Stomach contents analysis and feeding habit of *Euphausia superba*: A review[J]. Chinese Journal of Aquatic Sciences, 2021, 28(9): 1238-1250. [薛梅, 朱国平. 南极磷虾胃含物分析进展及其在食性研究中的应用[J]. 中国水产科学, 2021, 28(9): 1238-1250.]
- [19] Zhou F X, Chen J H. Atlas of Freshwater Microfauna and Benthic Organisms[M]. 2nd edition. Beijing: Chemical Industry Press, 2011: 274-388. [周凤霞, 陈剑虹. 淡水微型生物与底栖动物图谱[M]. 第2版. 北京: 化学工业出版社, 2011: 274-388.]
- [20] Zhao W. Hydrobiology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005:503-520. [赵文. 水生生物学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 503-520]
- [21] Wang Y Y. Atlas of Common Aquatic Organisms in Chinese River Basins[M]. Beijing: Science Press, 2020: 773-846. [王业耀. 中国流域常见水生生物图集[M]. 北京: 科学出版社, 2020: 773-846.]
- [22] Yin M C. Fish Ecology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995. [殷名称. 鱼类生态学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.]
- [23] Dou S Z, Yang J M. Seasonal changes of feeding habits and feeding intake of *Cynoglossus semilaevis* in the southern Bohai Sea[J]. Acta Ecologica Sinica, 1992(4): 368-376. [窦硕增, 杨纪明. 渤海南部半滑舌鳎的食性及摄食的季节性变化[J]. 生态学报, 1992(4): 368-376.]
- [24] Hyslop E J. Stomach contents analysis: A review of method and their application[J]. Journal of Fish Biology, 1980, 17: 411-429.
- [25] Zhou C H, Wang R R, Wang S, et al. Fish diversity in Nachang section of the lower Ganjiang river based on environmental DNA metabarcoding[J]. Journal of Lake Sciences, 2023, 35(4): 1426-1440. [周春花, 王蓉蓉, 王生, 等. 基于环境 DNA 宏条形码技术的赣江下游(南昌段)鱼类多样性[J]. 湖泊科学, 2023, 35(4): 1423-1440.]
- [26] Shao X N, Song D Z, Huang Q W, et al. Fast surveys and molecular diet analysis of carnivores based on fecal DNA and metabarcoding[J]. Biodiversity Science, 2019, 27(5): 543-556. [邵昕宁, 宋大昭, 黄巧雯, 等. 基于粪便 DNA 及宏条形码技术的食肉动物快速调查及食性分析[J]. 生物多样性, 2019, 27(5): 543-556.]
- [27] McClenaghan B, Fahner N, et al. Harnessing the power of eDNA metabarcoding for the detection of deep-sea fishes[J]. PloS one, 15(11), e0236540.
- [28] Xi X Q, Bao B L, Zhang S Y. Application of DNA barcoding in analyzing food composition *Johnius belangerii* in Ma'an Archipelago[J]. Journal of fishes of China, 2017, 41(10): 1533-1541. [席晓晴, 鲍宝龙, 章守宇. DNA 条形码在马鞍列岛海域皮氏叫姑鱼胃含物鉴定中的应用[J]. 水产学报, 2017, 41(10): 1533-1541.]
- [29] He Z T, Zhang Y Z, Xu K D, et al. Analysis of the diet of 5 indigenous fishes in Kizil River, Xinjiang[J]. Progress in Fisheries Sciences, 2012, 33(2): 9-18. [贺舟挺, 张亚洲, 徐开达, 等. 东、黄海黄鲂的摄食习性及其随发育的变化[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(2): 9-18.]
- [30] Wang Q, Liu M D, Zhu F Y, et al. Comparative study of three species of Schizothoracine on feeding and digestive organs in upper Nujiang River[J]. Chinese Journal of Zoology, 2019, 54(2): 207-221. [王起, 刘明典, 朱峰跃, 等. 怒江上游三种裂腹鱼类摄食及消化器官比较研究[J]. 动物学杂志, 2019, 54(2): 207-221.]

Food composition and feeding changes of *Gymnocypris eckloni* with growth in the coastal area of Eling Lake, Qinghai, China

ZHOU Qiaochu^{1,2}, JIANG Haipeng², KUANG Zhen², LIANG Yidong^{1,2}, XU Dongpo^{1,2}, DUAN Qixuan³,
QI Hongfang⁴

1. Nanjing Agricultural University, Wuxi Fisheries College, Wuxi 214081, China;
2. Scientific Observation and Experimental Station of Fishery Resources and Environment in the Lower Reaches of the Yangtze River, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;
3. Sanjiangyuan National Park Administration Qinghai Xining 810000, China;
4. Rescue Center of *Gymnocypris przewalskii* Qinghai Xining 810000, China

Abstract: The food composition of *Gymnocypris eckloni*, an indigenous fish species of Eling Lake at the source of the Yellow River, can lay a foundation for its biology. In the present study, feeding intensity, food composition, feeding habits, and their changes with the growth of *Gymnocypris eckloni* collected in June 2023 from Eling Lake were studied and analyzed by using microscopic analysis and DNA metabarcoding. A total of 7 taxa and 26 primary dietary groups were identified from the intestinal contents of 22 *Gymnocypris eckloni* using microscopic analysis. Metabarcoding technology detected 12 phyla and 43 genera of bait organisms. The food diversity index value and food species varied with the increase in size of *Gymnocypris eckloni*, and the dominant dietary group was *Cnidaria*. The diversity of bait organisms in the intestinal contents was higher for large *Gymnocypris eckloni* individuals than for medium-sized and small-sized *Gymnocypris eckloni* individuals. The present study, combining microscopic analysis and DNA metabarcoding, has greatly enhanced the ability to characterize the dietary habits of the *Gymnocypris eckloni*. This study provides important basic data and information for conducting artificial culture and determining the nutritional requirements and bait feeding and breeding characteristics of *Gymnocypris eckloni*.

Key words: the Eling Lake; *Gymnocypris eckloni*; food composition; metabarcoding technique; diet variation

Corresponding author: XU Dongpo. E-mail: xudp@ffrc.cn