

doi: 10.7541/2016.107

饵料对鳊肠道微生物多样性的影响

钟蕾¹ 向建国¹ 曾丹¹ 李宁求²

(1. 湖南农业大学动物科学技术学院, 长沙 410128; 2. 水产动物免疫重点实验室, 广州 510380)

摘要: 通过PCR-DGGE指纹分析并结合克隆、测序对饲喂人工配合饲料和冰鲜鱼两种不同饵料的鳊肠道微生物群落结构及多样性差异进行了比较研究。摄食配合饲料和冰鲜鱼的鳊肠道样品中分别检测到21条和17条清晰的DGGE指纹条带; 进一步的克隆、测序及BLAST比对分析表明, 21条测序谱带与GenBank数据库中已知微生物的同源性为98%—100%。配合饲料饲养鳊肠道微生物特有条带代表种群主要为魏斯氏菌(*Weissella koreensis*)等, 冰鲜鱼饲养鳊特有条带代表种为威斯康星米勒菌(*Moellerella wisconsensis*)等。从PCR-DGGE指纹相似性来看, 不同饵料饲养鳊的肠道细菌组成差异较为明显, 相似性仅为11.9%—42.6%。鳊肠道菌群的DGGE指纹图谱中条带的 H' 指数(Shannon-Weiner指数)最高为配合饲料饲养鳊第V组样本, 达到2.84, 最低的为冰鲜鱼饲喂下的鳊第VI组样本, 为2.46。研究结果表明, 投喂人工配合饲料和冰鲜鱼会对鳊肠道菌落产生影响, 可为鳊饲料的开发提供一定的基础依据。此外, 两类鳊的肠道群落PCR-DGGE指纹图谱有助于这两种鳊产品的跟踪和肠道益生菌研究。

关键词: 鳊; 肠道微生物; 变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE); 16S rDNA

中图分类号: S829.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2016)04-0830-06

鳊(*Elopichthys bambusa*)是我国少有的大型名贵鱼类之一, 自然条件下主要以麦穗鱼、鲫、鲮类等幼鱼为食, 人工放养主要投喂鲢、鳙等家鱼或冰鲜鱼, 近年来改用驯化饲料饲喂^[1]。该鱼具有生长快、个体大、肉味鲜美、病害少、市场价格高等特点, 目前是我国淡水鱼类中优良的养殖对象, 具有广阔的发展前景^[2]。动物肠道微生物在宿主生长、营养和健康等方面起到重要的作用, 肠道内的微生物类型、数量及分布比例受到摄食方式和种类的影响, 动物体内肠道菌群结构合理有助于加快生长, 改善肉质和减少疾病发生。郁二蒙等^[3]通过PCR-DGGE技术比较分析了投喂不同饵料对大口黑鲈肠道微生物种类的影响, 发现投喂不同饵料的大口黑鲈肠道微生物种类相似度较低, 认为鱼类肠道菌群与宿主食性息息相关。王琴等^[4]通过PCR-DGGE技术比较分析了3种不同混养模式下鱼类肠道菌群, 结果表明3种混养模式下同种鱼的肠道菌群存在差异且生长率也出现显著性的差异。

Uchii等^[5]研究发现鱼类肠道菌群随鱼类的生长和食物的改变而发生改变。目前大量研究均认为水产动物肠道细菌群落与其生长和免疫均有紧密关系^[6]。我国鳊养殖已逐步过渡到集约化生产, 饲喂饲料改变鳊的食性和生活习性, 这是否会引起鳊肠道菌群结构的变化, 国内外还未见研究报道。本研究拟通过采集不同配比的豆粕替代鱼粉组驯化饲料和冰鲜鱼饲喂的鳊肠道内容物, 进行菌群优势菌种的PCR-DGGE(聚合酶链反应-变性梯度凝胶电泳)鉴定与分析, 研究鳊肠道菌群的组成和分布特点, 以期驯化饲料饲养鳊的肠道疾病、生长摄食和消化特性等研究积累基础资料, 也为进而筛选出肠道益生菌并开发出高效且针对性强的微生态制剂提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与驯化

实验用鳊均采自湖南省慈利县某养殖场的同

收稿日期: 2015-09-06; 修订日期: 2016-01-20

基金项目: 国家级星火计划重大项目(S2012D200021); 农业部渔用药物创制重点实验室开放课题(201307)资助 [Supported by the China Spark Program (S2012D200021); Open Project of Key Laboratory of Fishery Drug Discovery in Agriculture Ministry (201307)]

作者简介: 钟蕾(1976—), 女, 湖南桃江人; 博士; 主要从事水产动物疾病研究。E-mail: zhonglei-5@163.com

通信作者: 向建国(1968—), 男, 湖南石门人; 硕士; 主要从事水产生态学研究。E-mail: xjg68102000@aliyun.com

一批鱼种。实验前于驯化养殖池投喂基础饲料暂养2周, 后养于室外水泥池(6.0 m×1.5 m×2 m)中, 上午8:00和下午16:00分别饱食投喂配合饲料, 日换水量每次为总体积的1/3。暂养期间, 溶解氧含量保持在5.0 mg/L以上, pH 7.00±0.2, 水温(25±1)℃, 总氮氮值不超过0.2 mg/L。

1.2 实验设计

参照商品饲料配方, 在人工配合饲料组(总能约18.0 kJ/g, 表 1)中分别添加0、10%、20%、30%和40%豆粕替代鱼粉组的基础饲料, 配制等氮等能的5种试验用配合饲料, 原料经粉碎后用40目筛过滤, 用逐级扩大法混合微量成分, 后用双螺旋压条机制粒, 粒径1.5 mm左右, 自然风干后-20℃保存备用。

随机挑选健康、规格一致的实验鳃于室内水族箱暂养驯化, 2周后挑选规格均匀的鳃(25.27±0.40) g随机分配到21个水族箱, 每箱放养30尾, 每组3个重复, 日投饵量为体质量的3%—5%, 养殖持续32周。在养殖实验结束后, 按照无菌操作法采集各试验组和对照组鳃的肠道壁和肠道内容物样品, 放于灭菌后的1.5 mL EP管中, 置-80℃保存备用。

1.3 肠道菌群总DNA的提取及16S rDNA V3区扩增

肠道菌群总DNA的提取采用粪便基因组DNA提取试剂盒(北京TIANGEN)参照说明进行。然后利用引物357F (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3')和517R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')进行

PCR扩增, 其中正向引物5'端添加GC-clamp (5'-CGCCCCCGCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGG-3')。PCR体系为10×Buffer 5 μL、dNTP 4 μL、MgCl₂ 4 μL、引物(10 μmol/L)各1 μL、Ex Taq (大连TaKaRa) 1.5 U、模板DNA 20—50 ng、灭菌超纯水补齐至50 μL。

扩增程序: 94℃ 预变性5min、变性1min, 48℃复性1min, 72℃延伸1min, 30个循环; 72℃延伸10min。后经1.0%琼脂糖凝胶电泳产物鉴定。采用PCR纯化试剂盒(大连TaKaRa)将100 μL PCR产物浓缩至30 μL, -20℃保存。

1.4 变性梯度凝胶电泳及克隆测序

采用Dcode通用突变检测系统(Bio-Rad, 美国)进行变性梯度凝胶电泳(DGGE), 变性梯度40%—70%, 胶浓度为6%—12% (m/v), 上样量为15 μL, 60℃下65 V电泳16h, SYBR Green染色。用Gel Doc XR凝胶成像仪(美国Bio-Rad)拍照。

将DGGE图谱上明显的特异条带和共有条带使用TaKaRa MiniBEST DNA 纯化试剂盒(大连TaKaRa)进行PCR产物纯化。使用Tiangen pGM-T连接克隆试剂盒与TOP10感受态细胞(北京TIANGEN)进行克隆。每个样品挑选上一步骤克隆得到的白色菌落各3个, 摇菌, 提质粒, 使用T7引物(5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3')测序(测序仪为美国ABi3730xL DNA Analyzer)。

1.5 数据分析

用Quantity One 4.6.3分析软件对PCR-DGGE图

表 1 试验用配合饲料的配方

Tab. 1 Formulation of compound feed in the experimental diet

原料Ingredient	含量Contents (%)				
	0替代组	10%替代组	20%替代组	30%替代组	40%替代组
鱼粉Fish meal ¹	58	52	46	40	34
豆粕Soybean meal ²	0	9.07	10.78	12.48	15.50
其余	3	3.42	7.72	12.02	15
豆油Soybean oil	2	2.8	2.8	2.8	2.8
面粉Wheat meal	34.3	30	30	30	30
预混料(无V _C 和V _E) Premix (Not contain V _C and V _E)	1	1	1	1	1
胆碱Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
磷酸二氢钙Monocalcium phosphate	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
粗蛋白Crude protein	42.07	42	42	42	41.68
粗脂肪Crude lipid	8.43	8.78	8.80	8.80	8.67
赖氨酸Lysine	2.82	2.78	2.67	2.57	2.45
蛋氨酸Methionine	0.95	1.00	0.96	0.93	0.91

注: ¹ 鱼粉来源, 蛋白含量(60.2%)等; ² 豆粕来源, 蛋白含量(43%)等

Note: ¹ Fish meal sources, protein content (60.2%) etc.; ² Soybean meal sources, protein content (43%) etc

谱进行条带记数及分析,多样性指数用Shannon-Weiner指数(H')表示^[9], H' 指数按照如下公式进行计算:

$$H' = -\sum P_i \log P_i$$

其中, P_i 为泳道中*i*条带出现的可能性; $P_i = ni/H$, ni 为某一条带的峰高, H 为泳道密度曲线所有的峰高的总和。采用UPGMA (Unweighted pair-group method with arithmetic averages)法进行相似性聚类分析^[10]。用DNAMAN6.0.3软件编辑测定的序列,并输入GenBank数据库进行比对,分析基因相似性并构建系统发育树。

2 结果

2.1 肠道微生物DGGE指纹图谱分析

不同饵料(人工配合饲料、冰鲜鱼)饲养鳃,肠道内容物菌群的16S rDNA V3区PCR-DGGE指纹

图谱(图1左)显示,配合饲料饲养鳃DGGE图谱上共检测到21条可鉴别的条带,冰鲜鱼饲养的鳃可鉴别的条带为17条,两者之间的共性带有11条。在特异条带中,谱带7、8、10、12、17和20为配合饲料饲养鳃的优势特异条带,谱带2、7、8和20为冰鲜鱼饲养鳃的优势特异条带。从泳道相似性来看(图1右),以Ⅶ号样品为标准样,Ⅰ—Ⅴ号为配合饲料饲喂下鳃肠道细菌条带,其相似性最高达77.8%,Ⅵ、Ⅶ号为冰鲜鱼饲喂下鳃肠道细菌条带,其相似性最高为66.5%,表明在同种养殖模式下,鳃肠道细菌条带的数量、位置和亮度差异不很显著,但在不同养殖模式下鳃的肠道细菌DGGE差异较为显著,相似性为11.9%—42.6%。

2.2 肠道内容物细菌的DGGE显著条带的测序结果分析

从DGGE指纹图谱中选取22条显著条带切胶

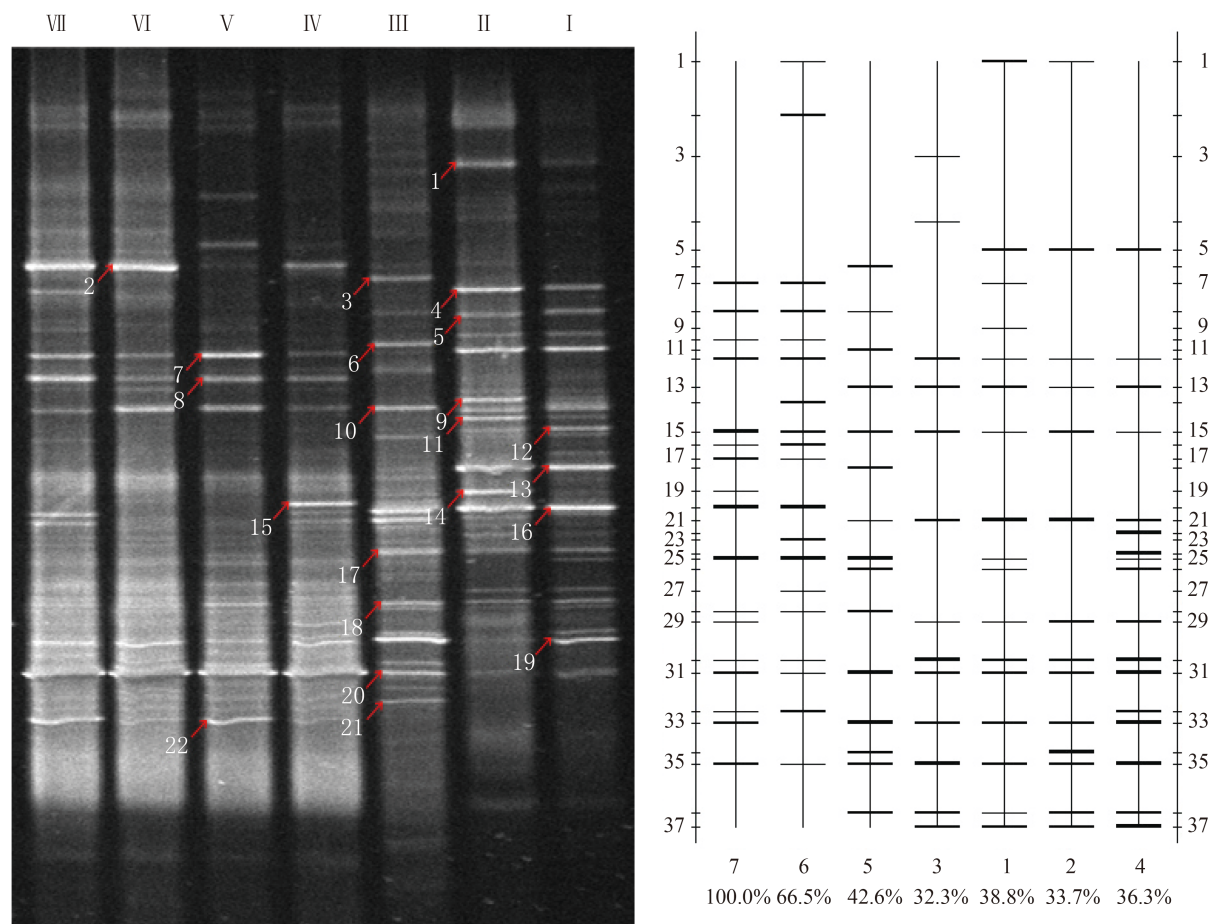


图1 配合饲料和冰鲜鱼饲养鳃的肠道微生物DGGE图谱及泳道相似性

Fig. 1 Compound feed and ice fresh fish breeding *bambusa* intestinal bacteria content of similarity in the DGGE profiles and lane I - V: 配合饲料饲养鳃肠道微生物DGGE图谱; VI-VII: 冰鲜鱼饲养鳃肠道微生物DGGE图谱(左图); I - V: 配合饲料饲养鳃肠道微生物泳道相似性; VI-VII: 冰鲜鱼饲养鳃肠道微生物泳道相似性(右图)

I - V: DGGE profiles in Compound feed feeding *bambusa* (Left picture); VI-VII: DGGE profiles in ice fresh fish breeding *bambusa* (Left picture); I - V: Similarity in lane in Compound feed feeding *bambusa* (Right picture); VI-VII: Similarity in lane in ice fresh fish breeding *bambusa* (Right picture)

回收,第18条带异常,无法回收测序,其余21条回收成功,得到200 bp左右条带,挑取阳性克隆子进行测序。通过BLAST比对,在21个测序结果中,与GenBank数据库中微生物的同源性为98%—100%。其中配合饲料饲养鳃特异条带代表种为*Uncultured bacterium* (KF031440.1)、*Bacillus subtilis* (KF835839.1)、*Staphylococcus* sp. (KF828860.1)、*Uncultured Caldisericum* sp.(JN806348.1)和*Plesiomonas shigelloides* (KF698726.1)等,冰鲜鱼饲养鳃特异条带代表种为*Moellerella wisconsensis* (NR_104939.1)、*Bacillus subtilis* (KF835839.1)和*Uncultured bacterium* (HM821403.1)等。

2.3 肠道内容物细菌的多样性和相似性分析

通过计算不同养殖模式下鳃肠道菌群的DGGE指纹图谱中条带的*H'*指数(表 2),发现配合饲料饲喂鳃肠道菌群的多样性指数偏高,最高为第V组样本,达到2.84,其次为第IV组样本,为2.77,最低的为冰鲜鱼饲喂下的鳃样本第VI组,为2.46。Simpson指数结果显示各组差异不大,最高为第V组样本0.093,最低的为第VI组样本0.065。Pielou均匀度指数呈现一定的规律性,配合饲料饲喂鳃肠道菌群均匀度指数为0.159—0.189,从第I组到第V组依次升高,冰鲜鱼饲喂下的鳃两组数据较为接近,分别为0.159和0.160。通过相似性聚类分析,结果显示不同饲喂状态下鳃肠道菌群的相似性范围值为30%—80%,两种饲喂模式下的菌群相似性差异较大,同一饲喂状态下的样本之间也存在差异(图2)。

3 讨论

3.1 摄食对鳃肠道菌群种类和数量的影响

鱼类肠道菌群的种类和数量反映出与宿主间

表 2 配合饲料和冰鲜鱼饲喂鳃的肠道菌群DGGE图谱的多样性指数

Tab. 2 Shannon diversity index *H'* of bacterial DGGE profile of compound feed and ice fresh fish feeding *Elopichthys bambusa*

Lane	条带数目 Number of bands	Shannon-Wiener 多样性指数 Shannon- Wiener diversity index	Simpson 指数 Simpson index	Pielou均匀度 指数 Pielou evenness index
1	17	2.71	0.075	0.159
2	14	2.56	0.082	0.163
3	13	2.72	0.078	0.175
4	17	2.77	0.066	0.183
5	15	2.84	0.093	0.189
6	19	2.46	0.065	0.159
7	17	2.62	0.074	0.160

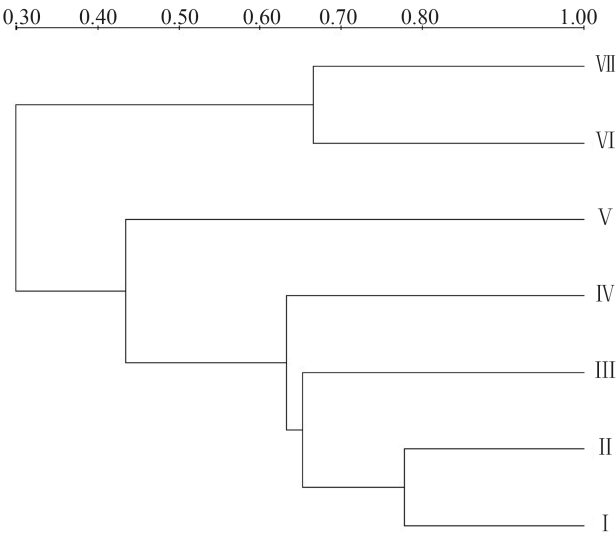


图 2 配合饲料和冰鲜鱼饲喂鳃的肠道内容物细菌DGGE聚类分析
Fig. 2 Cluster analysis of DGGE profiles for bacterial community in the intestinal contents from compound feed and ice fresh fish feeding *Elopichthys bambusa*

相互依赖、相互制约的微生态关系,在鱼类的生长发育、营养水平和免疫防疫等方面也发挥着重要的作用。鱼类食性不同,肠道菌群组成会有所差异。郁二蒙等^[7]通过对摄食不同饵料草鱼肠道菌群PCR-DGGE指纹图谱构建及分子鉴定,发现脆化草鱼和叟仔草鱼肠道内容物细菌群落差异显著。McIntosh等^[8]发现,在大西洋鳕(*Gadusmorhua* L.)最初的生长期,分别喂养轮虫和小虾的幼鱼,其肠道微生物群落结构发生明显变化,呈现截然不同的两种菌落结构。Bakke等^[9]也对鳕的幼鱼饲喂三种不同的活饲料,研究组之间肠道菌群亦存在不同的差异。本研究发现,摄食冰鲜鱼的鳃肠道内以*Uncultured bacterium*、*Moellerella wisconsensis strain*和*Bacillus subtilis*为主,而摄食人工配合饲料饲养鳃肠道内以*Weissella koreensis*、*Uncultured bacterium*、*Bacillus subtilis*、*Moellerella wisconsensis*、*Staphylococcus* sp.、*Staphylococcus gallinarum*等为优势菌群。这一结果表明,鱼类肠道菌群结构和相似性与食物有着密切的关系,细菌可以通过摄食进入鱼的消化道,使消化道内细菌的种类和数量增加。

3.2 不同摄食状态下鳃肠道菌群差异性

摄食配合饲料鳃和摄食冰鲜鱼鳃间的肠道菌群相似性存在差异。Pielou均匀度指数呈现一定的规律性,配合饲料饲喂鳃肠道菌群均匀度指数从第一组到第V组依次升高,而冰鲜鱼饲喂下的鳃两组数据较为接近。相似性聚类分析显示两种饲喂模

式下的菌群相似性差异较大,同一饲喂状态下的样本之间也存在差异。李可俊等^[10]对8种野生鱼的肠道菌群的结构分析,也表明了食性差异大的鱼类之间肠道菌群差异也更为明显。

肠道内容物DGGE图谱显示,配合饲料与冰鲜鱼饲养鳃分别有21条和17条可鉴别的条带,通过BLAST比对,配合饲料饲养鳃特异条带代表种为魏斯氏菌该菌产酸速度快、耐算能力强,其产酸、产细菌素能力对饲料添加剂行业发展具有重要意义^[11-13]。另一种优势菌枯草杆菌,目前国内外已广泛应用于制作饲料添加剂和水质改良剂,该菌耐酸碱和抗菌性较强,对水生动物益生作用明显,能有效改善水质,增强动物肠道消化酶活性,以及提高机体免疫力^[14-16]。冰鲜鱼饲养鳃特异条带代表种中也有枯草杆菌,但未见魏斯氏菌。从实验发现,益生菌群主要出现在人工配合饲料豆粕替代冰鲜鱼试验组的前三组中,说明饲料中蛋白质含量对胃肠道中益生菌的存在有一定的影响。研究者认为益生菌在胃肠道微生物多样性生态系统功能中起着重要的作用^[17]。Yang等^[18]采用DGGE技术研究了益生菌对石斑鱼肠道菌群的影响,发现肠道细菌能选择性地刺激利用益生菌,而一些潜在的有害菌种被抑制生长。本研究从实验鳃肠道中分离纯化出两种益生菌,为鳃肠道益生菌制剂的研制提供了一些基础依据。

参考文献:

- [1] Zhang P, Wang Y H, Li S F, *et al.* Fish in the Changjiang River Estuary [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press. 2006, 73—74 [庄平, 王幼槐, 李圣法, 等. 长江口鱼类. 上海: 上海科学技术出版社. 2006, 73—74]
- [2] Khalid A, Zhou X Y, Li Y, *et al.* Microsatellite diversity and population genetic structure of yellowcheek, *Elopichthys bambusa* (Cyprinidae) in the Yangtze River [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2010, **38**(4): 806—812
- [3] Yu E M, Zhang Z N, Xia Y, *et al.* Effects of different diets on intestinal microflora of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, **39**(1): 118—126 [郁二蒙, 张振男, 夏耘, 等. 摄食不同饵料的大口黑鲈肠道菌群分析. 水产学报, 2015, **39**(1): 118—126]
- [4] Wang Q, Xiong B X, Zhu Y T, *et al.* Comparative on fish intestinal microbiota from three polyculture patterns in mainly cultural grass carp pond by PCR-DGGE [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2012, **20**(3): 308—315 [王琴, 熊邦喜, 朱玉婷, 等. 主养草鱼池塘三种混养模式下鱼类肠道菌群PCR-DGGE比较. 农业生物技术学报, 2012, **20**(3): 308—315]
- [5] Uchii K, Matsui K, Yonekura R, *et al.* Genetic and physiological characterization of the intestinal bacterial microbiota of bluegill (*Lepomis macrochirus*) with three different feeding habits [J]. *Microbial Ecology*, 2006, **51**(3): 277—283
- [6] Kim D H, Brunt J, Austin B. Microbial diversity of intestinal contents and mucus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, **102**(6): 1654—1664
- [7] Yu E M, Yu D G, Bi X M, *et al.* Fingerprinting and diversity of the intestinal bacterial community of crisp grass carp and Dang-zai grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) with PCR-DGGE [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2012, **20**(10): 11184—11191 [郁二蒙, 余德光, 毕香梅, 等. 脆化草鱼与巫仔草鱼的肠道细菌群落PCR-DGGE指纹图谱及多样性分析. 农业生物技术学报, 2012, **20**(10): 1184—1191]
- [8] McIntosh D, Ji B, Forward B S, *et al.* Forward Culture independent characterization of the bacterial populations associated with cod (*Gadus morhua* L.) and live feed at an experimental hatchery facility using denaturing gradient gel electrophoresis [J]. *Aquaculture*, 2008, **275**: 42—50
- [9] Bakke I, Skjermo J, Vo T A, *et al.* Live feed is not a major determinant of the microbiota associated with cod larvae (*Gadus morhua*) [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2013, **5**(4): 537—548
- [10] LI K J, Guan W B, Xu J L, *et al.* PCR-DGGE analysis of bacterial diversity of the intestinal system in eight kintis of wild fishes from the Changjiang river estuary [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2007, **19**(3): 268—269 [李可俊, 管卫兵, 徐晋麟, 等. PCR-DGGE对长江河口八种野生鱼类肠道菌群多样性的比较研究. 中国微生态学杂志, 2007, **19**(3): 268—269]
- [11] Choi H, Kim Y W, Hwang I, *et al.* Evaluation of *Leuconostoc citreum* HO12 and *Weissella koreensis* HO20 isolated from kimchi as a starter culture for whole wheat sourdough [J]. *Food Chemistry*, 2012, **134**(4): 2208—2216
- [12] Moon Y J, Soh J R, Yu J J, *et al.* Intracellular lipid accumulation inhibitory effect of *Weissella koreensis* OK1—6 isolated from Kimchi on differentiating adipocyte [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2012, **113**(3): 652—658
- [13] Lee J H, Bae J W, Chun J. Draft genome sequence of *Weissella koreensis* KCTC 3621T [J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, **194**(20): 5711—5712
- [14] He Z H, Chen C F, Gao Y, *et al.* Phylogenetic analysis and identification of probiotics HY-136 from Ricefield eel (*Monopterus albus*) intestine [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2009, **28**(6): 715—718 [贺中华, 陈昌福, 高宇, 等. 黄鳝肠道益生菌HY-136的鉴定与系统发育分析. 华中农业大学学报, 2009, **28**(6): 715—

- 718]
- [15] Sallen B, Rajoharison A, Desvarenne S. Comparative analysis of 16S and 23S rRNA sequences of listeria species [J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1996, **46**(3): 669—674
- [16] Shen B Q, Chen J M, Guo J L, *et al.* Effect of adding *Bacillus subtilis* to diets on growth performance, digestive enzymes activity and body composition of fingerling black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, **37**(1): 48—53 [沈斌乾, 陈建明, 郭建林, 等. 饲料中添加枯草芽孢杆菌对青鱼生长、消化酶活性和鱼体组成的影响. 水生生物学报, 2013, **37**(1): 48—53]
- [17] He S X, Zhou Z G, Liu Y C, *et al.* Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product (DVAQUA) on growth performance, intestinal autochthonous bacterial community and non-specific immunity of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) cultured in cages [J]. *Aquaculture*, 2009, **294**(1—2): 99—107
- [18] Yang H L, Sun Y Z, Ma R L, *et al.* PCR-DGGE analysis of the autochthonous gut microbiota of grouper *Epinephelus coioides* following probiotic *Bacillus clausii* administration [J]. *Aquaculture Research*, 2012, **43**(4): 489—497

EFFECTS OF DIFFERENT DIETS ON INTESTINAL MICROBIOTA OF *ELOPICHTHYS BAMBUSA*

ZHONG Lei¹, XIANG Jian-Guo¹, ZENG Dan¹ and LI Ning-Qiu²

(1. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Key Laboratory of Aquatic Animal Immune Technology, Guangzhou 510380, China)

Abstract: In the present study, the sample of intestinal contents of *Elopichthys bambusa* which was feed by artificial diet and ice fish was collected to construct PCR-DGGE fingerprinting, the population structure and the diversity of intestinal bacteria in *Elopichthys bambusa* was investigated by cloning and sequencing the purposes binding strips. The DGGE fingerprints of intestinal contents showed that 21 and 17 bands were observed from *Elopichthys bambusa* which was feed by artificial diet and ice fish; through BLAST comparison, the sequencing results revealed that the similarity between sequencing gained and GenBank was 98%—100%. The representative species of *Elopichthys bambusa* which was feed by artificial diet were *Weissella korensi*, etc. And the representative species of *Elopichthys bambusa* which was feed by ice fish were *Moellerella wisconsensi*, etc. From the similarity of lanes and bands, there were more significant difference between intestinal bacteria in different *Elopichthys bambusa* culture pattern, and the similarity was 11.9%—42.6%. The highest band *H'* index in DGGE fingerprint of *Elopichthys bambusa* intestinal bacteria was the fifth set of samples which was feed by artificial diet, and to 2.84, the lowest was the sixth set of samples which was feed by ice fish, and under 2.46. The results of this study suggested that, feeding artificial feed and iced trash fish affected the composition of fish intestinal microflora, and this provided basic references to diets development. Furthermore, the PCR-DGGE fingerprinting of intestinal bacteria in two types of *Elopichthys bambusa* was benefit to product tracking and probiotics research.

Key words: *Elopichthys bambusa*; Gut microbes; PCR-DGGE; 16S rDNA