

池塘浮游生物优势种组成与DNA指纹的关系*

张文静^{1, 2**} 魏继雨¹ 罗会涛¹ 田野¹

(¹中国地质大学环境学院, 生物地质与环境地质教育部重点实验室, 生态环境研究所 武汉 430074)

(²厦门大学海洋与环境学院 厦门 361005)

摘要 研究中国地质大学(武汉)校区3个池塘7个样点浮游生物群落的优势种组成和DNA指纹多态性. 利用15种随机引物分别扩增, 其中7种引物获得多态性片段. 电泳共得到47条带, 谱带平均多态率为96.4%. 根据Nei's遗传距离矩阵构建3个池塘7个样点的遗传关系聚类树. 通过优势种群组成聚类分析比较探讨浮游生物优势物种组成和DNA指纹遗传关系聚类树结构的关系. 结果表明, 同一池塘样点的优势种组成和DNA指纹遗传多样性相似性较高; 西区池塘样点的优势种组成和遗传关系最近, 其次是东区池塘的3个样点, 差别最大的是北区池塘的两个样点. 其原因可能是生境的隔离和差异. 提示尽管池塘浮游生物优势种组成与DNA指纹结构表示的遗传关系会存在较小差异, 但是分析结果基本一致. 因此, 利用DNA指纹技术研究池塘浮游生物生态学是可行的. 图5 表3 参12

关键词 浮游生物; 优势种; 遗传关系; RAPD; DNA指纹; 多态性; 池塘
CLC Q178.1

Relations Between DNA Fingerprinting Data and Dominant Species Composition of Pond Plankton Communities*

ZHANG Wenjing^{1, 2**}, WEI Jiyu¹, LUO Huitao¹ & TIAN Ye¹

(¹Institute of Eco-environment, Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology of Ministry of Education, School of Environmental Studies, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China)

(²College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract Seven plankton community samples were collected from three ponds in the campus of China University of Geosciences in Wuhan, Hubei, China. All the samples were analyzed with RAPD fingerprinting polymorphism and the dominant species of plankton communities were identified. 15 random primers were amplified and 7 primers obtained RAPD polymorphic fragments. 47 bands were obtained after the electrophoresis and average band polymorphism rate was 96.4%. The genetic relation trees of the seven points in the three ponds were constructed according to the matrix of Nei's genetic distances. Relations between cluster trees of DNA fingerprinting topological structure and dominant species of plankton communities in the three ponds were discussed. The results showed that each pool had the similar plankton dominant species community and genetic relationship. The dominant plankton species community and genetic relations from the sampling sites in the west pond were most similar, and followed by the three sites in the east pond were followed. Those from the two sites in the north pond were most different. The reason might be that their living environments were different. Genetic similarity results based on DNA fingerprinting topological structure were in accord with the clustering results of dominant plankton species community except a small difference. Therefore, DNA fingerprinting technique is feasible to study the plankton ecology of ponds. Fig 5, Tab 3, Ref 12

Keywords plankton; dominant species; genetic relations; RAPD; DNA fingerprinting; polymorphism; pond
CLC Q178.1

浮游生物是水生态系统中的重要功能类群, 具有种类多、分布广、丰度高等特点, 对于维持生态系统的结构与功

能, 特别是物质循环和能量流动发挥着承上启下的关键作用. 浮游生物群落生态学一直是淡水生态学的核心问题之一, 而且在水产养殖方面具有重要的应用价值. 因此, 在分子水平和群落水平研究浮游生物具有重要的科学意义和实践意义.

目前, DNA指纹分析技术在国际上已经成功地应用到群落生态研究. Antonovics在1992年首次提出“群落遗传学”(Community genetics)的概念, 开始探讨生物群落间复杂的遗传关系及其潜在的生态系统结果^[1]. 1993年, Muyzer等将DNA电泳技术借鉴到微生物生态学研究功能类群的区分^[2]. 2003年, Neuhauser等结合群落生态与群体遗传研究了遗传物质与高层次生命系统的关系^[3]. 显然, DNA指纹技术

收稿日期: 2009-11-19 接受日期: 2010-01-07

*国家自然科学基金项目(No. 30800097)、中国科学院知识创新工程重要方向项目(No. KZCX2-YW-QN401)、生物地质与环境地质教育部重点实验室开放课题(No. BGEG0810)、中国地质大学(武汉)优秀青年教师资助计划项目(No. CUGQNL0801)和中央高校基本科研业务费专项资金(No. CUG090103)资助. Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30800097), the Knowledge Innovation Program of the Chinese Academy of Sciences (No. KZCX2-YW-QN401), the Open Fund of Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology of Ministry of Education, China University of Geosciences (No. BGEG0810), the Research Foundation for Outstanding Young Teachers, China University of Geosciences, Wuhan, China (No. CUGQNL0801) and the Special Fund for Basic Scientific Research of Central Colleges of China (No. CUG090103)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: biology.species@gmail.com)

在生态学研究开始扮演重要的角色。

国内, 自余育和等在2004年研究DNA指纹分析技术在群落级生命系统应用的可能性开始, 已经进行了一些湖泊与河流浮游生物群落DNA指纹结构与物种组成及理化因子的相关关系研究^[5-7]。因此, DNA指纹技术逐渐应用到淡水浮游生物群落多样性的研究中来。本研究在前人的工作基础上选取池塘生境为实验区, 运用RAPD (Random amplified polymorphic DNA) 分子指纹技术研究池塘浮游生物群落的遗传多样性, 并与优势种组成进行比较分析。

1 材料与方法

1.1 样品采集

采样点选取位于中国地质大学(武汉)校园内3个校区池塘(图1), 用25号浮游生物网采集表层水样, 水样剔除大型的生物, 如水草、鱼、虾等后带回实验室进行分析。样品编号分别为: N1、N2、W1、W2、E1、E2、E3。3个池塘的经纬度分别是: 东区池塘: 30°31'15" N, 114°23'58" E; 西区池塘: 30°31'30" N, 114°23'34" E; 北区池塘: 30°31'45" N, 114°23'41" E。

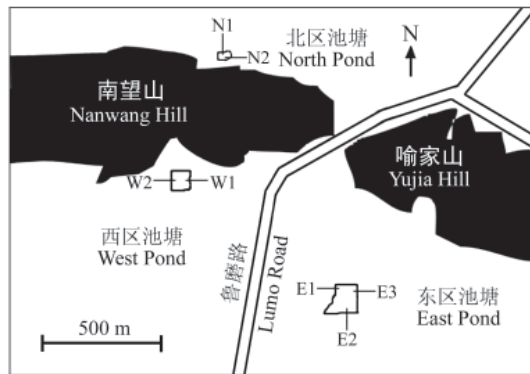


图1 中国地质大学(武汉)3个池塘采样点(N1、N2、W1、W2、E1、E2、E3)位置图

Fig. 1 Location of the sampling sites (N1, N2, W1, W2, E1, E2, E3) in three ponds of China University of Geosciences

1.2 种类鉴定

将样品充分摇匀后吸取0.1 mL注入计数框内, 在显微镜下进行鉴定与数量统计, 每个样品计数3片。根据所鉴定物种的相对丰度确定各采样点优势种类组成。种类鉴定主要参考文献^[8]。

1.3 群落DNA提取

水样充分混匀后, 取5 mL离心(8 000 r/min) 5 min, 沉淀加入终浓度1 mg/mL的溶菌酶于37 °C水浴0.5 h。然后, 用去离子水清洗3次(每次清洗后8 000 r/min离心3 min)以去除黏附与浮游生物表面的水溶性杂质。处理完后置于4 °C冰箱保存。样品中加入500 μL裂解液, 100 μL 0.5% SDS和12 μL 20mg/mL蛋白酶K置于50 °C过夜。酚-氯仿法抽提3次去蛋白。加入2倍体积于裂解液的乙醇和0.2倍体积于裂解液的乙酸钠(pH 5.2, 3 mol/L), 置于-20 °C过夜沉淀。加入70%乙醇振荡、清洗两次。加入50 μL无菌水溶解后, 4 °C保存。

1.4 RAPD扩增

首先以池塘浮游生物群落DNA为模板用15种RAPD引物(表1)进行扩增, 其中8种引物的扩增条带过少, 无多态性, 故选用其余7种引物的扩增结果作为分析数据。DNA扩增在

PTC-100型PCR仪(BioRAD公司)上进行, PCR条件为: 25 μL反应体系中加入模板DNA 1 μL(50 ng)、随机引物1 μL(约5 pmol)、10xPCR Buffer 2.5 μL、MgCl₂ 2 μL、dNTP 2 μL、Taq酶 1单位(U), 加ddH₂O至25 μL混匀后, 加一滴矿物油。放入PCR仪中预变性94 °C 2 min, 然后40个循环: 94 °C 1 min, 36 °C 1 min, 72 °C 1 min。循环结束后, 72 °C 10 min, 4 °C保存。

DNA样品扩增后进行电泳, UVP凝胶成像系统拍照、分析。

1.5 数据分析

RAPD扩增重复两次, 选取稳定、清晰的谱带用于数据分析。取多态性和稳定性高的7个RAPD引物所扩增图谱, 对同一位上的DNA带有无进行统计, 有带的(包括弱带)的标记为“1”, 无带的标记为“0”。计算Nei氏遗传距离^[9]: $D = 1 - 2N_{AB} / (N_A + N_B)$ 。利用软件MEGA version 4.0进行UPGMA (Unweighted pair-group method using arithmetic averages)、NJ (Neighbor-joining)、ME (Minimum evolution) 和MP (Maximum parsimony) 聚类分析^[10]。

对优势种的数据分析同样应用软件MEGA version 4.0进行UPGMA、NJ、ME和MP聚类分析。利用软件SPSS 13.0对每个样点的浮游生物群落DNA指纹和优势种组成进行多维尺度分析, 比较两者之间的联系。

2 结果

2.1 浮游生物优势种

本研究中共鉴定优势种31种, 其中东区池塘13种, 西区池塘13种, 北区池塘16种。各样点的优势种群分布情况见表2。

2.2 浮游生物群落DNA指纹

15个RAPD引物中8个引物扩增条带极少, 无多态性。7个RAPD引物具有多态性, 共计47条带, 部分结果见图2。谱带多态率都在85.7%以上(表1)。

表1 15种RAPD引物序列及扩增结果

Table 1 15 Random primers sequences and amplified results

引物名称 Primer names	引物序列 Primer sequences	谱带条数 Number of bands	谱带多态率 Polymorphic rate
S461	GTAGCACTCC	7	85.7%
S462	TCGGCACGCA		
S463	CTGATACGCC	9	88.9%
S464	GTGTCTCAGG		
S465	CCCCGGTAAC		
S466	GTGGGCTGAC	8	100%
S467	GTCCATGCCA		
S468	ACATCGCCCA		
S469	GTGGTCCGCA		
S470	TCCCGCCTAC	5	100%
S471	AACGCGTCGG	5	100%
S472	AAGGCGAGT	5	100%
S473	GGAGTGGCCTC	8	100%
S474	CCAGCCGAAC		
S475	GGAAGCCAAC		
总计 Total		47	96.4%

2.3 遗传距离

3个池塘各个样点的遗传距离列于表3。其中西区池塘的两个样点W1、W2的遗传距离最小(0.013), 西区W2和北区N1的遗传距离最大(0.385)。

2.4 遗传关系聚类树

基于ME、NJ和UPGMA方法作出的聚类树显示了同样

表2 3个池塘中的优势种组成比较
Table 2 Dominant species composition of plankton community in three ponds

	种名 Species name	N1	N2	W1	W2	E1	E2	E3
藻类 Algae	铜绿微囊藻 <i>Microcystis aeruginosa</i>			+	+	+	+	+
	曲膝裸藻 <i>Euglena geniculata</i>	+	+	+	+	+	+	+
	尖尾裸藻 <i>Euglena oxyuris</i>			+	+			
	美洲拟黄团藻 <i>Uroglenopsis americana</i>			+	+			
	纤细裸藻 <i>Euglena gracilis</i>			+	+			
	盘藻 <i>Gonium pectorale</i>			+	+			
	杂球藻 <i>Pleodorina californica</i>			+	+			
	空球藻 <i>Eudorina elegans</i>	+	+					
	美丽盘藻 <i>G. formosum</i>	+	+					
	莱哈衣藻 <i>Chlamydomonas reinhardi</i>	+	+					
	布朗衣藻 <i>Chlamydomonas braunii</i>	+	+					
	具角角甲藻 <i>Ceratium cornutum</i>	+	+			+	+	+
	长尾扁裸藻 <i>Phacus longicauda</i>	+				+	+	+
	微囊藻 <i>Microcystis</i> sp.	+				+	+	+
	具尾蓝隐藻 <i>Chroomonas caudata</i>			+	+			
	素衣藻 <i>Polytoma</i> sp.			+	+			
原生动物 Protozoa	阿氏波豆虫 <i>Bodo alexeieffii</i>			+	+			
	微小无吻虫 <i>Clautriavia parva</i>		+	+	+			
	冠帆口虫 <i>Pleuronema coronatum</i>		+					
	珍珠映毛虫 <i>Cinetochilum margaritaceum</i>		+					
	多态喇叭虫 <i>Stentor polymorphus</i>	+				+	+	
	僧帽肾形虫 <i>Colpoda cucullus</i>	+				+	+	+
	球波豆虫 <i>Bodo globosus</i>	+				+	+	+
轮虫 Rotifera	咽拟斜管虫 <i>Chilodontopsis vorax</i>					+	+	+
	角突臂尾轮虫 <i>Brachionus Angularis</i>			+	+			
	螺形龟甲轮 <i>Keratella cochelearis</i>			+	+			
	晶囊轮虫 <i>Asplanchna amphora</i>		+					
	萼花臂尾轮虫 <i>Brachionus calyciflorus</i>		+			+	+	+
	蛭形轮虫 <i>Bdelloid rotifers</i>					+	+	+
	壶状臂尾轮虫 <i>Brachionus urceus</i>					+	+	+
枝角类 Cladocera	象鼻溞 <i>Bosmina</i> sp.					+	+	+
总计 Total		11	11	13	13	13	13	12

“+” 代表存在该优势种 “+” indicates existence of the dominant species

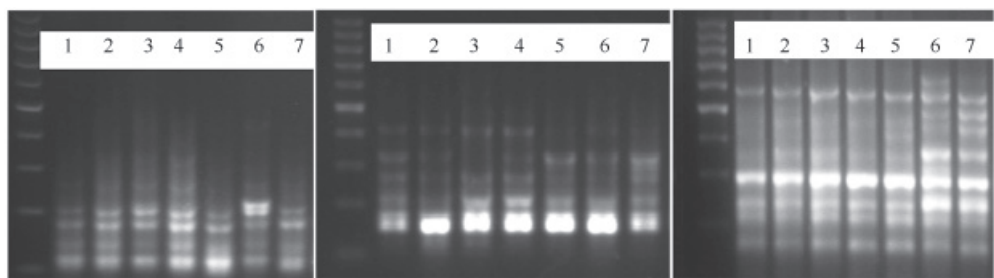


图2 引物S466、S471、S463 (从左到右) RAPD扩增电泳图谱

Fig. 2 RAPD profile generated using primers S466, S471, S463

电泳图中的1、2、3、4、5、6、7分别表示样点N1、N2、W1、W2、E1、E2、E3, 最左侧的为200 bp分子标记
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 indicate samples N1, N2, W1, W2, E1, E2, E3, respectively. The bands on the left side are 200 bp DNA ladder

表3 7个样品间的遗传距离矩阵
Table 3 The distance matrix of 7 samples

	N1	N2	W1	W2	E1	E2	E3
N1	—						
N2	0.241	—					
W1	0.250	0.143	—				
W2	0.385	0.155	0.013	—			
E1	0.200	0.286	0.323	0.333	—		
E2	0.236	0.344	0.373	0.382	0.132	—	
E3	0.208	0.288	0.354	0.364	0.137	0.071	—

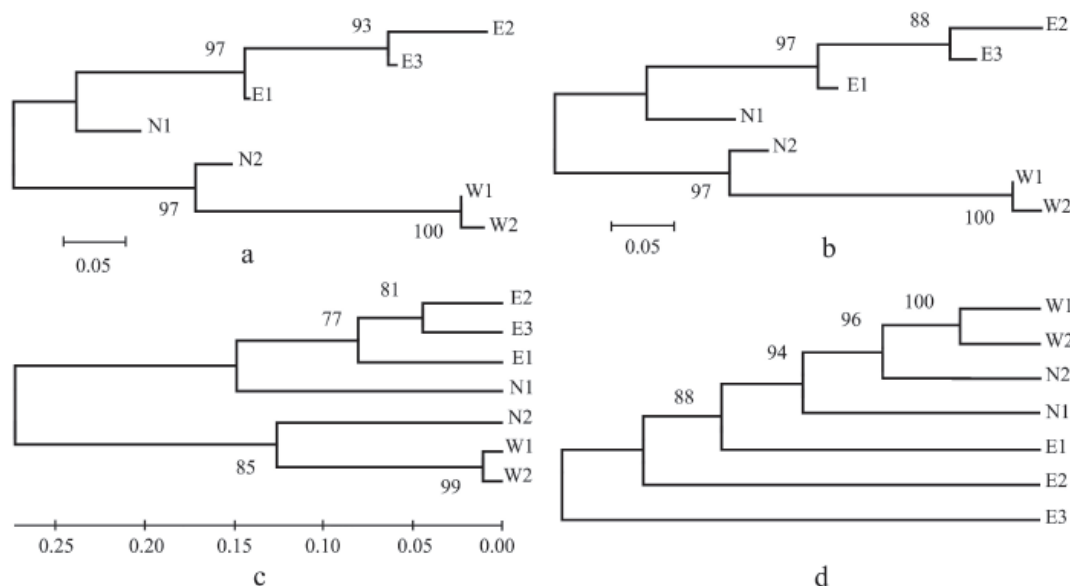


图3 基于DNA指纹的遗传关系聚类(a: ME法; b: NJ法; c: UPGMA法; d: MP法)

Fig. 3 Genetic similarity clustering of samples based on DNA fingerprinting (a: ME method; b: NJ method; c: UPGMA method; d: MP method)

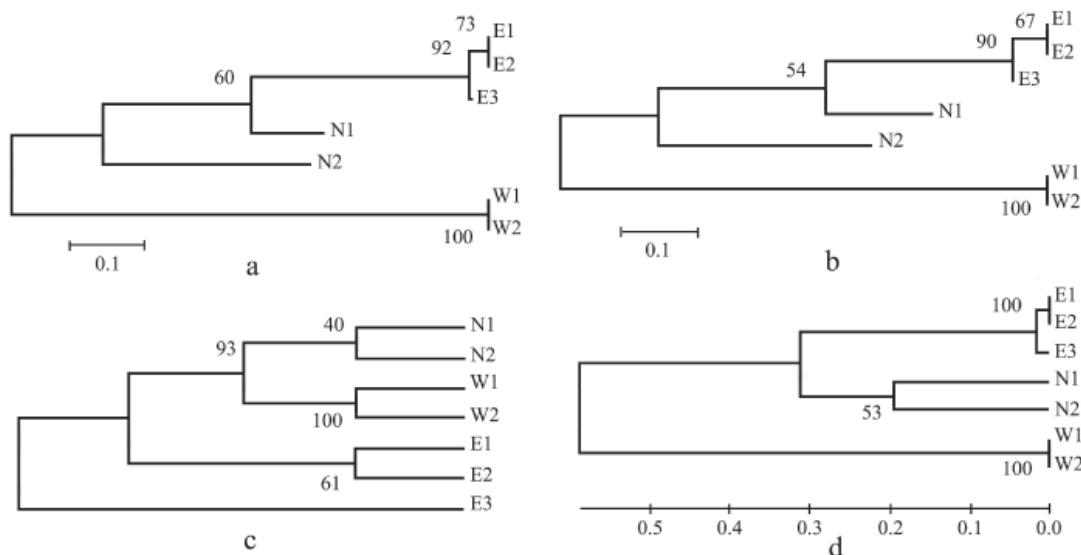


图4 基于优势种类组成的相似性聚类(a: NJ法; b: ME法; c: MP法; d: UPGMA法)

Fig. 4 Similarity clustering of samples based on the dominant species composition (a: NJ method; b: ME method; c: MP method; d: UPGMA method)

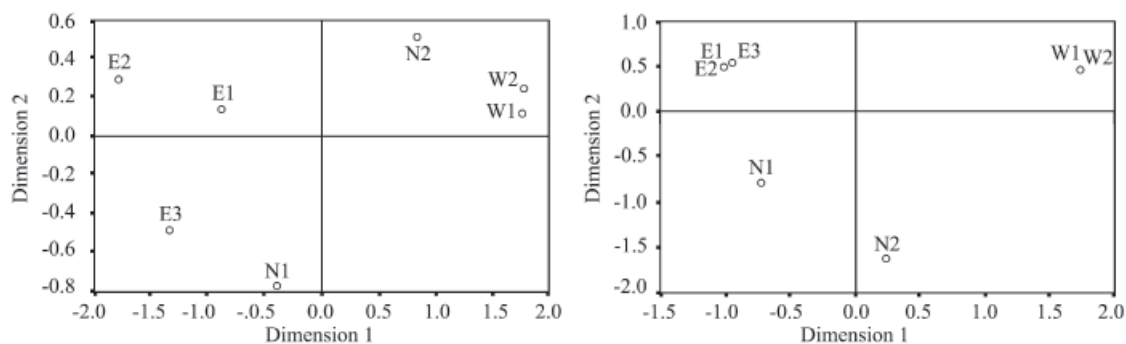


图5 样品间RAPD分子指纹(左)和优势种组成(右)的多维尺度分析

Fig. 5 Multidimensional scaling (MDS) analysis of RAPD molecular fingerprinting (left) and dominant plankton species (right) among different samples

的拓扑结构(图3-a、b、c): 都是东区E2、E3、E1首先聚在一起, 然后是N1。西区池塘的W1和W2聚在一起后, 与N2汇为一支。

MP方法获得的聚类树与其它聚类树拓扑结构不同(图3-d): W1、W2先聚在一起, 随后依次与N2、N1、E1、E2、E3聚

在一起。

2.5 优势种类组成相似性树

基于NJ、ME、UPGMA方法构建的聚类树具有很高的相似性(图4-a、b、d): 东区池塘E1、E2、E3三个样点聚为一枝后, 再依次北区池塘N1和N2聚一起; 西区池塘W1和W2单独成为一枝, 但是UPGMA聚类树与NJ、ME聚类树不同之处是北区池塘N1、N2先聚在一起, 然后再与东区池塘E1、E2、E3聚为一枝。基于MP方法构建的聚类树与其它聚类树差别最大: 其中, 东区E3采样点从所有样品中单列出来(图4-c)。

2.6 多维尺度(MDS)分析

浮游生物群落RAPD扩增指纹的多维尺度图(图5)显示: 东区池塘的采样点E1、E2相距比较近, E3与他们相距较近且在一类中; 西区池塘的两个采样点W1和W2相距近; 北区池塘的N1和N2采样点之间相距最远。浮游生物的优势种组成的多维尺度图(图5)显示: 西区两个采样点W1和W2完全重合; 东区的E1、E2、E3三个样点也非常近, 其中E1和E2重合; 北区差别最大。

3 讨论

3.1 浮游生物优势种

西区池塘两个样点的浮游生物只有前3位优势种的顺序有差别, 在物种组成上完全相同。因此, 优势种组成最为相近。

东区3个样点浮游生物存在着个别物种的差别和顺序差别, 但总体上来说优势物种的组成基本相近。样点E1和E2的优势种组成相同, 只是优势种群的顺序上有些差别。比如, 铜绿微囊藻 *Microcystis aeruginosa* 在E1是第1优势种, 在E2是第6位优势种。样点E3和前两个样点相比较, 只是缺少多态喇叭虫 *Stentor polymorphus*, 其他的物种组成相同, 但是有顺序上的差别。比如, 在E3处在第11位的优势种咽拟斜管虫 *Chilodontopsis vorax*, 在E1和E2中都是第12位。

尽管北区池塘两个样点浮游生物优势种前3位优势种相同, 但是其群落相差较大: N1特有长尾扁裸藻 *Phacus longicauda*、微囊藻 *Microcystis* sp.、多态喇叭虫 *Stentor polymorphus*、僧帽肾形虫 *Colpoda cucullus*、球波豆虫 *Bodo globosus*, N2特有微小无吻虫 *Clautriavia parva*、冠帆口虫 *Pleuronema coronatum*、珍珠映毛虫 *Cinetochilum margaritaceum*、晶囊轮虫 *Asplanchna amphora*、萼花臂尾轮虫 *Brachionus calyciflorus*; 而且N1和N2共有种的相对丰度在顺序也有较大差异。

3.2 遗传关系聚类树与优势种组成相似性聚类树

基于4种方法所构建的遗传关系树, ME、NJ和UPGMA法的树型类似, MP与前三者有明显差异。根据前人研究MP方法的聚类树并不适合遗传距离数据的分析, 与真实情况偏差较大^[10]。因此, 其余3种遗传关系树型进行各样点之间的遗传相似性分析可靠性更强。

在遗传关系聚类树中, 西区池塘的两个样点W1和W2最先聚到一起, 说明两者的遗传信息最为相近。紧接着是东区池塘3个样点E1、E2和E3聚在一起, 表明这3个样点的遗传信息也十分相近。以上结果与基于优势种所做的聚类树型结构(图4-a、b、d)都是一致的。提示, 池塘浮游生物优势种组成

与DNA指纹具有相关性。

北区池塘的两个样点N1和N2并没有最先聚为一枝, 而是分别和东区池塘、西区池塘的样点相聚, 说明这两个样点的遗传距离比较远。主要原因是两个样点浮游生物优势种差别较大。基于优势种所做的聚类树略有不同, ME和NJ法中虽然N1、N2也没有聚在一起, 但是N1、N2和东区3个样点聚在一起, 而没有与西区样点聚在一起; UPGMA法中N1和N2首先汇为一枝, 然后再与东区样点聚在一起。

总之, 基于DNA指纹图谱构建的遗传关系聚类树与根据优势种类组成构建的相似性聚类树存在相似的聚类结果, 而且多维尺度分析也证实二者之间具有明显的相关性。

3.3 综合分析

比较各个池塘样点的浮游生物种群结构, 不难发现西区池塘的两个样点浮游生物优势种只是在顺序上有差别, 在种类上没有根本的差异, 而且西区池塘两个样点的遗传距离最小为0.013。聚类分析和多维尺度分析的结果相同。主要原因是西区池塘的面积相对来说较小, 样点生境相同, 水中长满了菹草, 池塘周围生长有桂花树、法国梧桐、泡桐、樟树。因此, 西区池塘两个样点具有相似的浮游生物优势种组成以及遗传关系。

东区池塘3个样点的优势浮游生物种类组成只有个别的差异, 虽然差别比较小, 但相对于西区池塘两个样点间的差别还是比较大的。因此, 东区池塘样点间的遗传差异较西区池塘样点间大。东区池塘E1和E2两个样点在浮游生物优势种方面只是顺序有些差异, 在遗传距离方面也很相近。而E2和E3的区别也仅限于E2优势种组成中含有多态喇叭虫, 其它优势种群只是顺序不同, 故这两个样点的遗传距离也较相近, 但相对于E1、E2应该较远。E1和E3的差别与E2和E3的差别相似, E3和E1、E2之间分别的差别应该是相似的。

北区池塘面积最小, 可两个样点所含的浮游生物优势种的差别最大, 即使是相同的物种, 其顺序也差别较大, 其遗传距离也相对较大。原因可能在于北区池塘的采样点N2处有一个污水口。从污水排放管释放出来的污水含有复杂的化学及营养成分, 改变了污水口周围的生境, 对生物类群产生胁迫效应, 进而使浮游生物物种组成和群落结构发生变化。

遗传距离最大的为北区池塘N1和西区池塘W2(0.385), 同样两者之间的优势种组成也有明显的差别。西区池塘和北区池塘中间隔着一座南望山, 特别是北区池塘位于距南望山阴面, 其采光度和西区池塘有很大的差距, 导致生境存在较大的差别。

因为各物种在同一反应体系中对引物和反应底物有竞争作用, 而相对优势的种类往往在竞争中获胜^[4]。因此, 基于遗传标记和优势种类组成的聚类显示它们的分枝关系是一致的。本研究对浮游生物优势种、遗传距离和遗传关系树的分析时, 得出基本一致的结果。由此可见, DNA指纹主要揭示相对优势类群DNA的多态性, 能够反映浮游生物群落与环境的关系。因此可以用池塘DNA指纹结构来揭示浮游生物优势种群的组成。颜庆云等对河流(松花江)和湖泊(洞庭湖)生境浮游生物群落DNA指纹与物种组成比较研究得出了一致结论^[6, 11]。综上所述, 在河流、湖泊、池塘的研究表明浮

游生物群落DNA指纹结构与优势物种组成具有对应关系, 通过DNA指纹分析揭示其群落结构是可行的。

但邓文娜等通过对三峡库区浮游生物群落结构与DNA多态性比较分析, 发现物种组成与所揭示的遗传多样性并未完全吻合, 差别较大^[12]。他们分析原因是物种信息的缺失如藻类与细菌, 或者是技术的缺陷。通常, 藻类在池塘浮游生物中占有很大的比例。本研究的种类鉴定中包括了藻类, 并对样品进行了溶菌酶的前期处理。但东区池塘的3个样点在遗传关系树和优势种组成方面还是有些许差别。推测是因为只选取了优势种进行分析, 引起一些误差。虽然理论上讲, 各物种在同一反应体系中对引物和反应底物有竞争作用, 而相对优势的物种往往在竞争中获胜^[4]。但如只分析优势种组成, 仍可能导致信息的遗漏。建议在以后此类研究中应结合尽量多的物种信息来分析。

总之, 利用DNA指纹技术研究池塘浮游生物生态学是可行的。DNA指纹和整体群落物种多样性比较分析, 能够真正反映浮游生物群落与环境的关系。

References

- 1 Antonovics J. Toward community genetics. In: Frite RS, Simms EL eds. *Plant Resistance to Herbivores and Pathogens: Ecology, Evolution, and Genetics*. Chicago, Illinois, USA: University of Chicago Press, 1992. 426~449
- 2 Muyzer G, de Waal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microb*, 1993, **59** (3): 695~700
- 3 Neuhauser C, Andow DA, Heimpel GE. Community genetics: Expanding the synthesis of ecology and genetics. *Ecology*, 2003, **84** (3): 545~558
- 4 Yu YH (余育和), Zhang WJ (张文静), Yan QY (颜庆云). The feasibility for application of DNA fingerprinting to community level life system. *Acta Hydrobiol Sin* (水生生物学报), 2004, **28** (5): 457~463
- 5 Yan QY (颜庆云), Yu YH (余育和), Zhang WJ (张文静). The DNA polymorphism of plankton community and eutrophication in Lake Donghu, Wuhan. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2005, **25** (3): 461~465
- 6 Yan QY (颜庆云), Yu YH (余育和), Feng WS (冯伟松), Liu YD (刘永定), Hu CX (胡春香), Tang HY (唐辉远), Peng L (彭亮), Qiu ZJ (邱子健). DNA fingerprinting and species composition of the plankton communities in the Songhuajiang River, China. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2008, **14** (1): 59~63
- 7 Song XH (宋晓红), Yu YH (余育和), Yan QY (颜庆云), Feng WS (冯伟松), Deng WN (邓文娜). DNA fingerprinting structure of plankton community and its relations to environmental physical-chemical factors in Donghu Lake. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 2007, **18** (12): 2860~2864
- 8 沈韞芬, 章宗涉, 龚循矩主编. 微型生物监测新技术. 北京: 中国建筑工业出版社, 1990
- 9 Nei M, Li WH. Mathematical model for studying genetic variation in term of restriction endonuclease. *Proe Natl Acad Sci USA*, 1979, **76**: 5269~5273
- 10 Zhang WJ (张文静), Yu YH (余育和), Shen YF (沈韞芬). Genetic relationships of five ciliate strains inferred from ISSR analysis. *Acta Hydrobiol Sin* (水生生物学报), 2005, **29** (6): 633~638
- 11 Yan QY (颜庆云), Yu YH (余育和), Feng WS (冯伟松). Corresponding relations between DNA fingerprinting topological structure and species composition of plankton community in Dongting Lake. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2005, **25** (9): 2221~2226
- 12 Deng WN (邓文娜), Yu YH (余育和), Feng WS (冯伟松), Yan QY (颜庆云), Song XH (宋晓红), Liu ZX (刘志新). Comparative analysis between species composition and DNA polymorphism of plankton community in the Three-Gorges Reservoir region. *J Lake Sci* (湖泊科学), 2007, **19** (3): 333~339