

基于 DNA 条形码研究中国枪乌贼和鸢乌贼的食物种类组成*

刘梦娜^{1,3,4}, 徐磊^{3,4}, 王雪辉^{3,4}, 刘玉⁵, 王淼娣^{1,3,4}, 邱永松³, 朱江峰¹, 何映霖², 贝伟烈², 杜飞雁^{3,4}

1. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;
2. 海南智渔可持续科技发展研究中心, 海南 海口 570208;
3. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300;
4. 广东省渔业生态环境重点实验室, 广东 广州 510300;
5. 中国科学院南海海洋研究所, 广东 广州 510301

摘要: 中国枪乌贼(*Uroteuthis chinensis*)和鸢乌贼(*Sthenoteuthis oualaniensis*)作为中国南海头足类的关键种, 对海洋生态系统的物质流动与能量循环具有重要影响, 其摄食生态的研究将对海洋食物网的构建具有重要意义。由于传统胃含物分析法难以准确鉴定糜状饵料生物的组成, 本研究利用 DNA 条码技术, 针对中国枪乌贼和鸢乌贼不可辨认的食物糜提取组织 DNA, 选用线粒体基因细胞色素 C 氧化酶亚基 I(Mitochondrial cytochrome oxidase subunit I, COI)作为分子标记, 获得的序列在 Genbank 中进行比对分析, 并使用 GMYC(Generalized Mixed Yule Coalescent)模型进行物种界定和构建系统进化关系。结果成功鉴定出中国枪乌贼饵料物种有 13 种, 鸢乌贼饵料物种有 8 种, 共 20 种(其中 1 种为共有饵料)。比较发现, 汕头-台湾浅滩渔场的中国枪乌贼主要摄食鱼类、甲壳类和头足类, 而南海中部海域鸢乌贼则主要摄食鱼类和头足类。两物种均存在同类相食现象, 但鸢乌贼表现更明显。

关键词: 中国枪乌贼; 鸢乌贼; 摄食; COI 基因; DNA 条形码; 南海; 汕头-台湾浅滩渔场

中图分类号: P735; Q178.53 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2020)04-0061-09

Study on food contents of *Uroteuthis chinensis* and *Sthenoteuthis oualaniensis* based on COI sequence

LIU Mengna^{1,3,4}, XU Lei^{3,4}, WANG Xuehui^{3,4}, LIU Yu⁵, WANG Miaodi^{1,3,4}, QIU Yongsong³, ZHU Jiangfeng¹, HE Yinglin², BEI Weilie², DU Feiyan^{3,4}

1. College of Marine Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. China Blue Sustainability Institute, Haikou 570208, China;
3. South China Sea Fisheries Research Institute, China Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;
4. Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology and Environment, Guangzhou 510300, China;
5. South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China

Abstract: *Uroteuthis chinensis* and *Sthenoteuthis oualaniensis* are key species of the cephalopods in the South China Sea, which have important effects on the material flow and energy circulation in the marine ecosystem. The study of feeding

收稿日期: 2019-10-29; 修订日期: 2020-01-19。姚衍桃编辑

基金项目: 国家科技基础资源调查专项(2017FY201405); 中国水产科学研究院基本科研业务费资助(2019HY-JC0203); 广东省渔业生态环境重点实验室开放基金(FEEL-2019-9)

作者简介: 刘梦娜(1992—), 女, 河南省焦作市人, 在读硕士, 研究方向为海洋生物学。E-mail: monarliu@163.com

通信作者: 杜飞雁。E-mail: feiyanegg@163.com

*课题组陈盟基、柯兰香、符丽雅、王守信共同参与完成生物学测定实验, 黄德练博士、林琳博士在实验处理和数据分析中提供了中肯建议, 特此致谢!

Received date: 2019-10-29; **Revised date:** 2020-01-19. Editor: YAO Yantao

Foundation item: The Science and Technology Project of Basic Resources of China (2017FY201405); Basal Research Fund of Chinese Academy of Fishery Sciences (2019HY-JC0203); Open Foundation of Key Laboratory of Fishery Ecology Environment of Guangdong Province (FEEL-2019-9)

Corresponding author: DU Feiyan. E-mail: feiyanegg@163.com

ecology of these two cephalopods will be great significant to the construction of marine food web. Because of the sharp tooth decay, the stomach contents are all scorpion-like, and it is difficult to accurately identify them by traditional morphological methods. And the effectiveness of molecular techniques in feeding analysis of these two species has not been fully validated. In this study, we identified the species (or genus) in the stomach contents of *U. chinensis* and *S. oualaniensis* based on the mitochondrial COI gene, and used the Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) model for species definition and phylogenetic tree building. The results showed that of a total of 41 stomach contents sequences (28 from *U. chinensis* and 13 from *S. oualaniensis*), 30 (73%) were identified as species, and the rest were determined as genus (all are crustaceans). The diets of *U. chinensis* in Shantou-Taiwan Shoal fishing ground included fish, cephalopods, and crustaceans; and the diets of *S. oualaniensis* in the Central South China Sea were fish and cephalopods. Cannibalism occurred in both species, but was more pronounced in *S. oualaniensis*.

Key words: *Uroteuthis chinensis*; *Sthenoteuthis oualaniensis*; diet; COI; DNA barcoding; South China Sea; Shantou-Taiwan Shoal fishing ground

头足类作为掠食性海洋动物, 在海洋食物网中处于重要环节, 其摄食对海洋生态系统的能量流动和物质循环产生重要影响。准确测定头足类的摄食率和食物组成, 有助于理解头足类与其他海洋生物之间的营养关系, 也是深入了解其在海洋食物网所处生态地位的关键(唐启升, 1999)。中国枪乌贼(*Uroteuthis chinensis*)和鸢乌贼(*Sthenoteuthis oualaniensis*)分别是南海海域枪乌贼科(Loliginidae)和柔鱼科(Ommastrephidae)的代表物种, 也是我国产量较大、经济价值较高的头足类物种。鸢乌贼为暖水大洋性物种, 隶属于枪形目开眼亚目柔鱼科鸢乌贼属, 广泛分布于印度洋、太平洋的赤道和亚热带海域(陈新军等, 2009), 在我国南海中部资源量达 2.36×10^6 t, 约占声学评估对象资源总量的 73.19%(李斌等, 2016)。而中国枪乌贼为暖水性大陆架海域物种(董正之, 1988), 隶属于枪形目闭眼亚目枪乌贼科枪乌贼属(陈新军等, 2009), 主要分布于南海至东海一带, 尤其是我国南海大陆架、台湾海峡中南部(戴泉水等, 2004), 其产量约占世界枪乌贼科产量的 60%(陈新军等, 2009), 以汕头-台湾浅滩渔场最为丰富, 平均年产量为 $2.0 \times 10^4 \sim 2.5 \times 10^4$ t(张壮丽等, 2008)。

作为南海头足类的代表物种, 有关中国枪乌贼和鸢乌贼摄食生态学的研究已有诸多报道(龚金科, 1981; 黄美珍, 2004; 张壮丽等, 2008; 颜云榕等, 2012; 张宇美等, 2013; 龚玉艳等, 2016, 2018), 其主要以鱼类、头足类和甲壳类为摄食对象。由于头足类为掠食性游泳动物, 具有发达的颚齿, 所摄食的饵料生物多成糜状或碎块状, 因而对于消化程度较高的食物组织, 使用传统形态学方法进行辨别的困难极大。上述关于中国枪乌贼和鸢乌贼的食物组成分析, 主要还是采用传统的形态学观察法, 对

于多数饵料的鉴定仅能到纲或目(龚金科, 1981; 黄美珍, 2004; 张壮丽等, 2008; 颜云榕等, 2012)。DNA 条形码技术可以避开传统形态学中的缺点和局限, 在摄食生态学研究中具有明显优势(Symondson, 2002)。近年来, 已有学者开始探索将 DNA 条形码技术应用于头足类摄食分析中。如龚玉艳等(2016; 2018)在胃含物分析法的基础上, 利用 DNA 条形码技术在鸢乌贼中鉴定出安达曼钩腕乌贼(*Abralia andamanica*), 在鸢乌贼微型群中鉴定出了安达曼钩腕乌贼、菱鳍乌贼(*Thysanoteuthis rhombus*)及柔鱼科(Ommastrephidae), 表明分子技术对于消化程度较高的食物组织具有较高的分辨能力。

本研究采用 DNA 条形码技术, 对夏季中国枪乌贼与鸢乌贼胃含物中不可辨认的食物组织进行种类鉴定, 并结合摄食强度对摄食生态学进行比较研究, 为深入了解两种头足类在海洋食物网中的作用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集、处理及 DNA 提取

中国枪乌贼样品采自汕头-台湾浅滩渔场(23°05'46"N, 118°29'21"E)(表 1), 采集时间为 2018 年 7 月, 样本数量 80 尾; 鸢乌贼采自南海中部海域(9°30'53" — 14°58'04"N, 110°28'22" — 117°28'28"E), 采集时间为 2019 年 7 月, 样本数量 320 尾。现场进行急冻保存, 带回实验室解冻后进行生物学测量, 包括胴长、体重、纯体重和胃总重等, 并使用直观法对摄食等级进行测定。长度指标精确至 1mm, 重量指标精确至 0.01g(仪器: Y 型精密电子天平), 摄食等级按 5 级划分标准(陈新军, 2004)。

将胃从食道处剪断后置于盛有 95%酒精溶液的

离心管中，并于-20℃下保存作分析用。为避免交叉污染及捕食者自身 DNA 的污染，解剖取样全程使用的物品皆经过严格的清洁烘干处理。使用剪刀、镊子剪开胃囊，随机取适量胃含物碎块置于已灭菌的 PE 管中，并使用 100μL 枪头和-4℃无水乙醇进行多次抽吸冲洗。确保组织表面没有胃液沉积后，取 10mg 左右样品置于新的灭菌 PE 管中，重复冲洗一次后换入新 PE 管中，使用 8cm 剪刀将组织剪碎用于 DNA 提取。采用海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒(天根)提取胃含物基因组 DNA，利用 Nano Drop 2000 超微量分光光度计进行 DNA 浓度测试。

表 1 鸢乌贼和中国枪乌贼采样站位表
Tab. 1 Sanpling sites of *S. oualaniensis* and *U. chinensis* in the South China Sea

	站位	东经	北纬
鸢乌贼	S3	111°37'50"	14°58'04"
	S9	110°35'06"	14°02'10"
	S16	117°28'28"	13°00'00"
	S18	110°30'35"	11°02'09"
	S19	111°28'51"	10°59'30"
	S20	113°51'30"	11°02'17"
	S21	114°32'36"	11°06'13"
	S26	110°28'22"	9°30'53"
中国枪乌贼	SQ	118°29'21"	23°05'46"

1.2 COI 序列扩增及测序

使用 Leray 等(2013)设计改进的 mlCOIintF

表 2 PCR 引物信息
Tab. 2 Information of PCR primers

引物名称	序列(5'-3')	参考文献
HCO2198(下游)	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	Folmer et al, 1994
dgHCO2198(下游)	TAAACTTCAGGGTGACCAARAAYCA	Meyer, 2003
lgHCO2198(下游)	TAIACYTCIGGRTGICRAARAAYCA	Geller et al, 2013
mlCOIintF(上游)	GGWACWGGWTGAACWGTWTAYCCYCC	Leray et al, 2013

1.3.2 序列数据处理与分析

首先将测序获得的原始数据与对应测序峰图进行人工对比检查，排除错误，以确保数据的准确性。然后在 NCBI (National Center for Biotechnology Information)(Altschul et al, 1997)数据库中进行 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)搜索比对，以确保获取的是目的基因片段。对同一 DNA 模板用不同引物成功扩增的 COI 序列的比对结果进行比较，鉴定为同一物种则取相似度高的序列用于后续分析，鉴定结果为不同物种则将每种物种都纳入分析。对于鱼类及头足类目标序列，将 BLAST 最高匹配相

上游引物，结合 HCO2198(Folmer et al, 1994)、dgHCO2198(Meyer, 2003)、lgHCO2198(Geller et al, 2013) 3 对下游引物(见表 2)，对靶向线粒体基因细胞色素 C 氧化酶亚基 I 片段的基因组 DNA 进行 PCR (Polymerase Chain Reaction)扩增(每组实验使用新鲜中国枪乌贼肌肉组织 DNA 做阳性对照)。引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成，序列见表 2。

30μL PCR 反应体系包含 3μL 10×Buffer(含 Mg²⁺)、0.2μL dNTP Mixture 和 0.5μL Ex Taq 酶 (TaKaRa)，正反向引物各 0.5μM 以及 DNA 模板 6μL。反应条件为：95℃预变性 5min，95℃变性 10s，62℃退火 30s，72℃延伸 1min，退火温度以 1℃降序进行 16 次变性、退火、延伸循环，至退火温度为 46℃时，重复 25 次循环。72℃延伸 10min，4℃结束反应。在 1%的琼脂糖凝胶(含 EB，即 ethidium bromide)电泳之后，将 PCR 产物送天一辉远(广州)生物公司进行纯化、反向测序。

1.3 数据处理与分析

1.3.1 摄食强度与饵料重要性评价指标

本文采用物种出现频率(F%)来评价各类饵料的重要性，用摄食等级和平均胃饱满指数(RI%)及空胃率(VI%)等来评价摄食强度(陈新军, 2004):

$$VI(\%) = \frac{\text{空胃数}}{\text{总胃数}} \times 100 \tag{1}$$

$$RI(\%) = \frac{\text{饵料重}}{\text{纯体重}} \times 1000 \tag{2}$$

似度超过 99%的饵料生物确定到种，低于 99%并高于 90%的确定到属(Ward et al, 2005); 对于甲壳类目标序列，将超过 90%的饵料生物确定到种，低于 90%并高于 80%的确定到属(Costa et al, 2007; Xu et al, 2019)。

将获取的 COI 序列在 BioEdit 软件中进行同源比对，删除两端不齐序列，将获得的 COI 基因序列用于后续分析。比对后的数据利用贝叶斯法构建系统进化关系，首先使用 Mrmodeltest 2.3 软件对序列数据进行 AIC(Akaike information criterion)最适核苷酸替换模型筛选(Posada et al, 2001)。贝叶斯系统进

化树的构建使用 MrBayes v3.12 软件(Posada et al, 2001)中马尔科夫链的蒙特卡洛方法(Markov Chain Monte Carlo, MCMC)完成。参数设置如下: 同时起始 4 条马尔科夫链, 即 3 条热链和 1 条冷链, 以随机树为起始树, 共运行 2000000 代, 每 100 代抽样 1 次, 重复 1 次。在舍弃老化样本(burnin sample)后, 根据剩余的样本构建一致树(consensus tree)。以后验概率(posterior probability, PP)来表示各分支的可信度, 当后验概率为 95%以上时认为该支可靠。

为进一步界定饵料生物种类组成, 判别是否存在隐种或姐妹种, 使用 GMYC(Generalized Mixed Yule Coalescent)模型(Fujisawa et al, 2013)来推定 COI 基因数据集的物种界限。对 GMYC 模型, 需要没有重复序列的完全二分和有根的超度量树。我们使用软件 BEAST 1.8.0(Drummond et al, 2012)将比对后的序列建树后输入至 R3.2.2 软件包“splits1.0-19”(Ezard et al, 2009)中运行 GMYC。对 BEAST 软件 BEAUti 1.8.0 的模型设置为假设具有恒定种群大小的 Yule 模型、不相关的放松分子钟模型(uncorrelated relaxed clock models)、GTR 碱基替代模型和 γ 分布位点模型, 马尔可夫链(MCMC)的迭代次数设置为 100000000。所有运算完成后的系统树均由 Treeview 1.6.6 (Page, 1996)展示并编辑。

2 研究结果

2.1 摄食强度

80 尾中国枪乌贼中, 非空胃个体 57 尾, 空胃率为 28.75%。中国枪乌贼胴长范围为 73~260mm, 平均胴长 89.36mm, 体重范围为 20.05~218.61g, 平均体重 53.35g。320 尾鸢乌贼中, 非空胃个体 297 尾, 空胃率为 7.19%。鸢乌贼胴长范围为 70~207mm, 平均胴长 110.46mm, 体重范围为 10.62~421.2g, 平均体重 60.28g。

根据直观法, 中国枪乌贼 57 尾非空胃个体中(空胃个体的摄食等级为 0 级), 摄食等级 1~4 级所占比例分别为 57.89%、24.56%、15.79%和 1.75%, 摄食等级占比呈依次递减趋势。摄食等级随胴长组的分布见图 1a, 夏季中国枪乌贼摄食等级主要以 1、2 级为主, 在小于 170mm 的胴长组中, 中国枪乌贼摄食等级比例整体上随胴长的增加而呈上升趋势。空胃率及平均胃饱满指数随胴长组的分布见图 1b, 中国枪乌贼空胃率呈现出 2 个波峰, 由先增长后缓慢下降到再增长再下降的趋势。在超过 210mm 的胴长组中, 空胃率全为 0, 即没有空胃。平均胃饱满指数从胴长为 90mm 以上开始缓慢增长, 但在 170~190mm 和 210~230mm 胴长组的 2 个高峰之间, 也就是 190~210mm 胴长组却存在 1 个波谷。

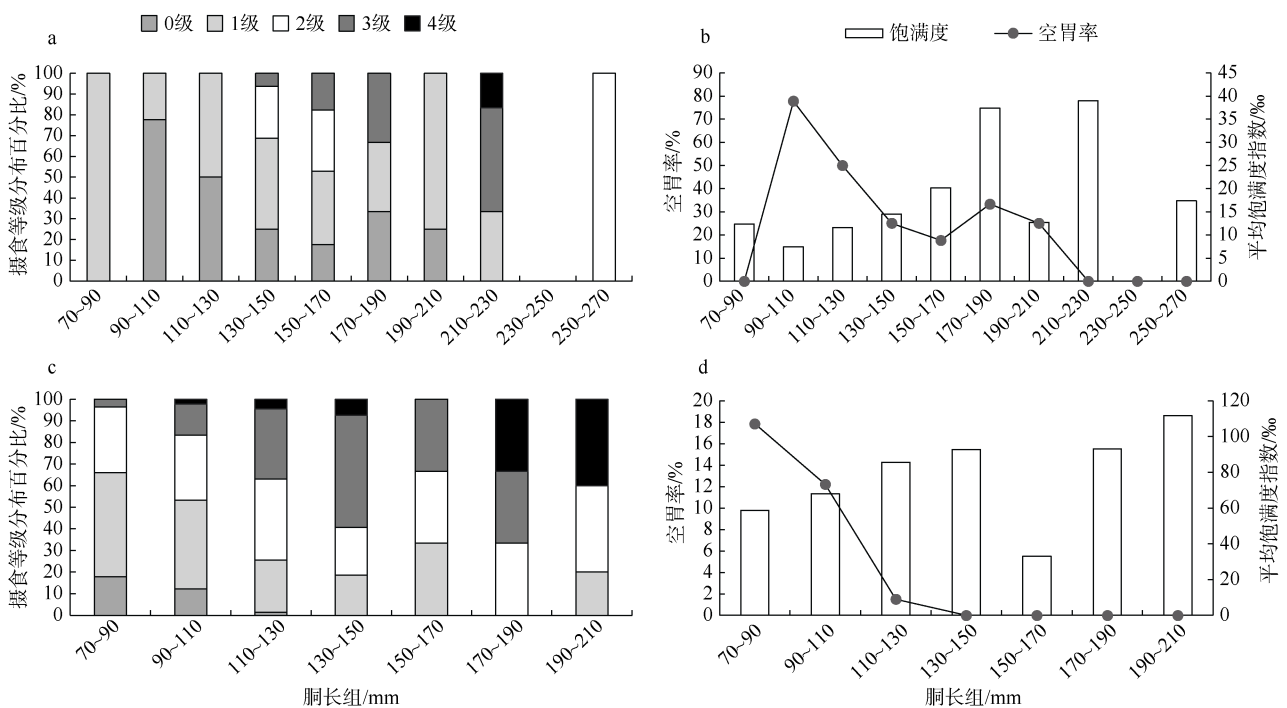


图 1 中国枪乌贼(a、b)与鸢乌贼(c、d)摄食等级百分比、空胃率及平均饱满度指数随胴长组的分布

Fig. 1 Percentage of feeding intensity, percentage of empty stomach and stomach fullness index of *U. chinensis* (a, b) and *S. oualaniensis* (c, d) in different mantle length groups

在鸢乌贼的 297 尾非空胃个体中, 摄食等级 1~4 级所占比例分别为 32.50%、32.81%、23.44%和 4.06%, 各摄食等级的分布较中国强乌贼略均匀, 2~4 级亦呈明显递减趋势。夏季鸢乌贼摄食等级随着胴长的增加存在明显的上升趋势(图 1c)。鸢乌贼的空胃率则随胴长的增长而呈下降趋势, 且在超过 130mm 的胴长组中空胃率全为 0, 即没有空胃(图 1d)。与中国枪乌贼相似, 平均胃饱满指数同样在 2 个波峰之间出现 1 个波谷, 为 150~170mm 胴长组。

2.2 胃含物 DNA 鉴定

汕头-台湾浅滩渔场夏季中国枪乌贼 57 个胃含物样品中, 基于 COI 引物扩增共获得 28 条有效序列(表 3)。通过同源性比对, 构建的贝叶斯系统进化树见图 2, 贝叶斯后验概率置信度和 GMYC 节点位置标注于树分支上。由图可以看出, 从种间阶元可将中国枪乌贼饵料来源划分为 13 个似然实体, 似然值为 94.45(显著优于零假设似然值 78.99, $p=1.94\times 10^{-7}$)。28 条有效序列中有 1 条为中国枪乌贼, 剩余 27 条分属于鱼类和甲壳类, 鱼类全部确定到种(相似度均>99%), 共 6 种; 甲壳类只有 2 条确定到种(相似度>97%), 其余确定到属(相似度>80%)。从饵料出现频率看, 中国枪乌贼主要摄食鱼类(50%)和甲壳类(46.2%), 鱼类饵料组成主要来自鲭科 Carangidae、鲷科 Terapontidae、圆鲳科 Nomeidae 和鲱科 Clupeidae。

南海中部鸢乌贼样品 45 个胃含物样本中, 基于 COI 引物扩增共获得 13 条有效序列(表 4), 构建的贝叶斯系统进化树见图 3, 贝叶斯后验概率置信度和 GMYC 节点位置标注于树分支上。根据进化树显示, 从种间阶元划分为 8 个似然实体, 似然值为 31.49(显著优于零假设似然值 25.18, $p=1.8\times 10^{-3}$)。鸢乌贼主要摄食鱼类(53.8%)和头足类(46.4%), 鱼类饵料组成主要来自鲭科 Scombridae、鲹科 Carangidae、金鳞鱼科 Holocentridae 和灯笼鱼科 Myctophidae。值得注意的是, 鸢乌贼存在明显的同类相食现象, 根据其胃含物扩增样本的同源性比对发现, 有 6 条序列为鸢乌贼和鸢乌贼微型群。

3 讨论

3.1 DNA 分子鉴定

头足类与其食物之间的营养关系研究是构建海洋食物网, 理解海洋生态系统和营养动力学的基础(Markaida et al, 2003), 也是为保护南海头足类资源提供合理化建议的基础。在传统的食物组成鉴定方法受到局限时, DNA 条码技术提供了一种准确认识头足类食物组成的新方法(King et al, 2008)。本研究利用鱼类和甲壳类的通用引物对不可辨认的糜状食物组成进行了 COI 序列扩增, 获得了食物糜中的序列信息, 避开了传统方法对鉴定对象形态特征的严格要求, 因此在小型、软体和高度消化的饵料生物

表 3 2018 年 7 月汕头-台湾浅滩渔场海域中国枪乌贼食物组成
Tab. 3 Taxonomic distribution of diets of *U. chinensis* in Shantou-Taiwan shoal fishing ground in July, 2018

最佳匹配物种	相似度	序列号	样品号
克氏副葉鰺 <i>Alepes Swainson</i>	99.90%	KY371115.1	N0709、N0711、N0752、N0759、N0767、N0771、N0772
蓝圆鰺 <i>Decapterus maruadsi</i>	100.00%	MK264594.1	N0718
金带细鰺 <i>Selaroides leptolepis</i>	99.64%	JX261038.1	N0740、N0742、N0779
三线鲷 <i>Terapon puta</i>	100.00%	KY372209.1	N0722
怀氏方头鲳 <i>Cubiceps whiteleggii</i>	100.00%	KY371367.1	N0743
黄泽小沙丁鱼 <i>Sardinella lemuru</i>	100.00%	MK264430.1	N0758
角突仿对 <i>Kishinouyepenaepsis amicus</i>	98.71%	KR349255.1	N0720、N0723
赤虾属 <i>Metapenaepsis</i> sp.	87.05%	KR150460.1	N0753
刺铠虾属 <i>Munida</i> sp.	86.58%	AY350938.1	N0749、N0754、N0757、N0761、N0768、N0769、N0775
招潮蟹属 <i>Uca</i> sp.	84.40%	AB813678.1	N0735
团扇蟹属 <i>Ozius</i> sp.	87.45%	HM638053.1	N0770
梭子蟹属 <i>Portunus</i> sp.	88.67%	JX398096.1	N0777
中国枪乌贼 <i>Uroteuthis chinensis</i>	100.00%	MG192385.1	N0736

注: 重复出现的饵料物种(属)的相似度为平均取值。

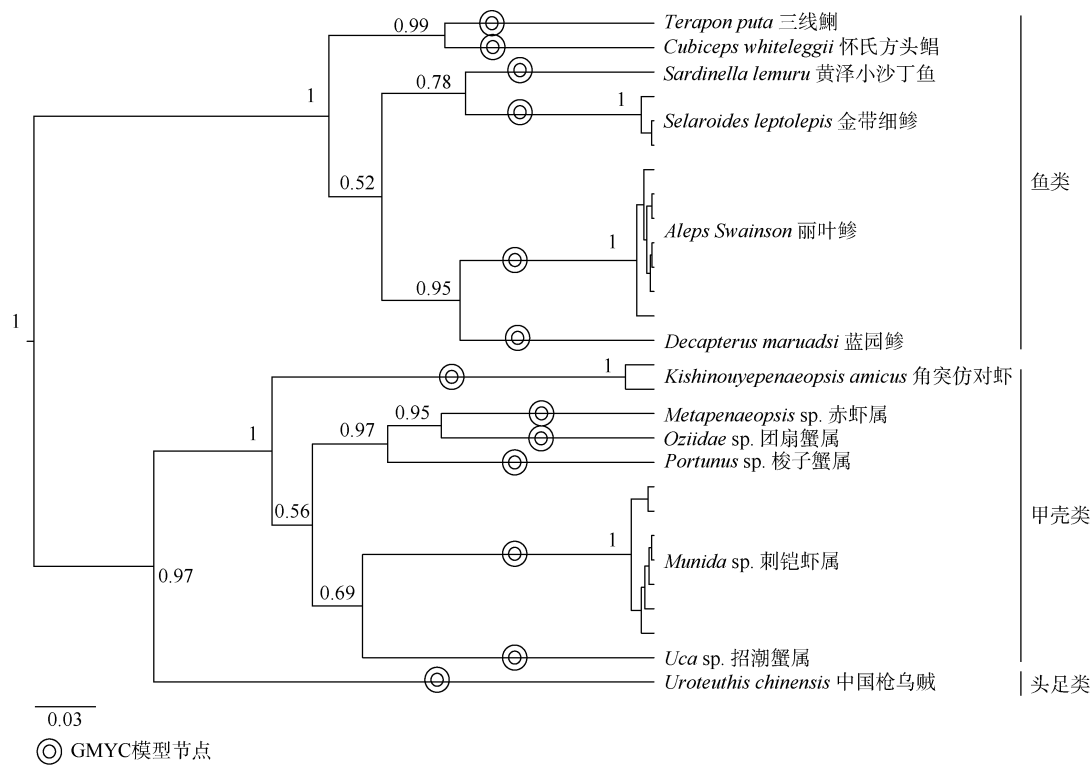


图 2 基于 COI 基因序列构建的中国枪乌贼饵料生物贝叶斯系统进化树
Fig. 2 Bayes phylogenetic tree of diet species (genus) of *U. chinensis* base on mitochondria COI gene sequences

鉴定中更具优势。然而，该方法对样本的保存提出了新的要求，DNA 条码技术是基于 PCR 的分子生物学技术。由于胃含物采样过程需解冻样品，样本野外采集过程中恒定低温条件难以达到，反复冻融过程也可能导致已被消耗一定程度的胃含物组织 DNA 进一步降解(Deagle et al, 2006)。此外，不同物种的 COI 序列在引物的保守位点上也存在变化，使得不同引物的扩增效率有一定差别。龚玉艳(2018)使用 DNA

条形码技术成功鉴定出传统胃含物分析法未能鉴定出的虾类样品，并认为乌贼的通用引物较差可能是导致该技术难以将鸢乌贼微型群体胃含物鉴定到最低阶元的主要原因。本研究中每个 DNA 模板均以 3 对引物同时进行扩增，但成功率相差较大，对同源对比结果比较之后，发现主要以引物 jgHCO2198 的扩增效率和匹配度最高。这进一步表明了 DNA 条形码技术的使用中，引物的选取或设计至关重要。

表 4 2019 年 7 月南海中部海域鸢乌贼食物组成
Tab. 4 Taxonomic distribution of diets of *S. oualaniensis* in the South China Sea in July, 2019

最佳匹配物种	相似度	序列号	样品号
孔锯鳞鱼 <i>Myripristis kuntzei</i>	99.53%	MK658063.1	S20-41-2
尾斑棘鳞鱼 <i>Sargocentron caudimaculatum</i>	100.00%	MF409503.1	S19-44-4
克氏副叶鲔 <i>Alepes Swainson</i>	100.00%	MK264421.1	S3-23-3
脂眼凹肩鲔 <i>Selar crumenophthalmus</i>	100.00%	MH638727.1	S26-14-2
鲳鱼 <i>Katsuwonus pelamis</i>	99.78%	MH638766.1	S19-44-3、S16-24-3
金焰灯笼鱼 <i>Myctophum aurolaternatum</i>	100.00%	KJ555427.1	S20-28-3
鸢乌贼微型群 <i>Sthenoteuthis oualaniensis</i>	100.00%	MF411130.1	S18-1、S18-14、S19-31-2
鸢乌贼 <i>Sthenoteuthis oualaniensis</i>	100.00%	MF411105.1	S21-45-1、S3-25、S9-22

注：重复出现的饵料物种(属)的相似度为平均取值。由于目前尚未通过分子生物学方法对鸢乌贼进行物种区分命名，表中仅采用形态学上普遍使用的名称对鸢乌贼的中文名称进行了区分，而拉丁文名称则未进行区分。

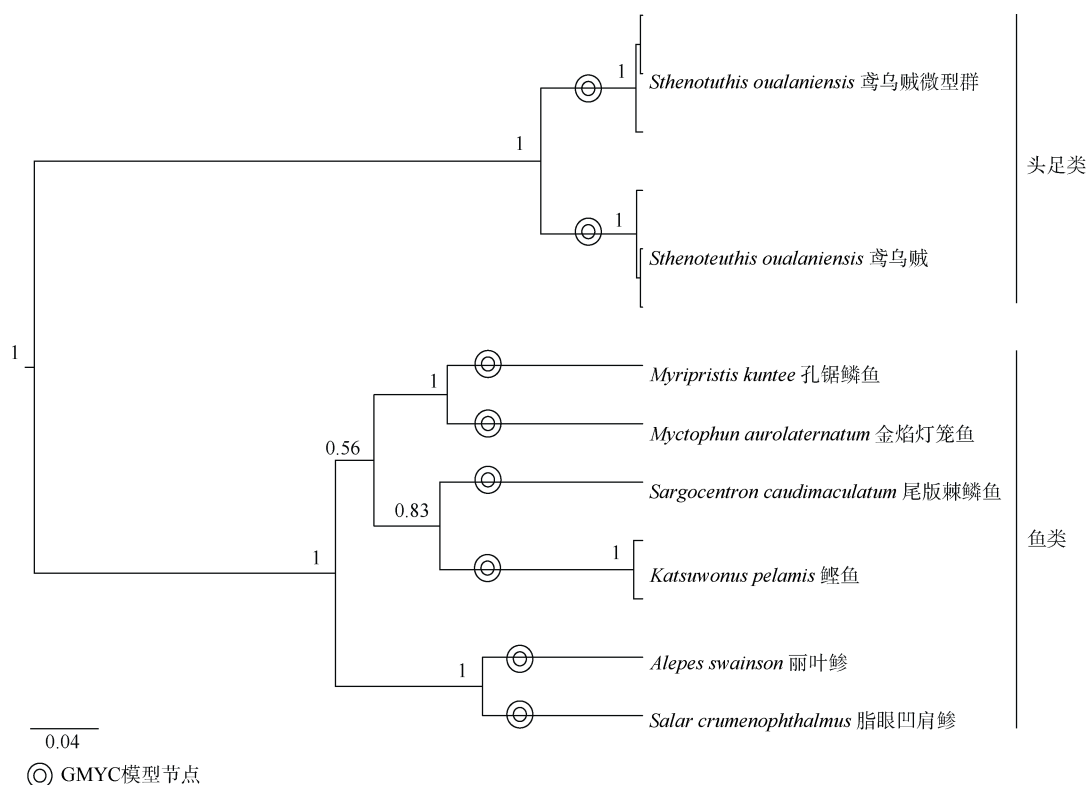


图3 基于 COI 基因序列构建的鸢乌贼饵料生物贝叶斯系统进化树

Fig. 3 Bayes phylogenetic tree of diet species (genus) of *S. oualaniensis* base on mitochondria COI gene sequences

本次研究中, 73%的序列通过 Genbank 比对可以确定到种, 其余全部确定到属(皆属甲壳纲), 证明在选用合适引物的情况下, DNA 条形码技术可以将多数饵料物种准确鉴定到种, 且在鉴定效率和准确性方面较传统形态学方法具有明显的优势。但目前需要解决两个问题: 一是建立一个比较完整的物种序列数据库, 尤其是无脊椎动物序列数据库, 才能满足后期序列比对分析的要求, 进而获得准确的食性分析结果; 二是饵料的定量问题。DNA 条形码技术的原理决定了其在食物网的构建中具有极大的帮助, 但在对单一物种的摄食进行定量分析时, 无法像传统分析方法一样使用多种评价指数对饵料进行相对全面的评价, 因此目前两种方法的结合使用可能是较佳的解决方式。

3.2 摄食分析

本研究发现, 不同于鸢乌贼的明显下降趋势, 中国枪乌贼的空胃率(VI%)随胴长的生长呈现 2 个波峰, 空胃率在大于 90mm 的胴长组整体呈下降趋势, 但在 170~190mm 的胴长组中出现明显的高峰。张壮丽等(2008)在对闽南-台湾浅滩渔场中国枪乌贼生物学特性的研究中发现, 中国枪乌贼繁殖活动期间不甚摄食, 空胃率高, 产卵期为 4—9 月, 且发现春季产卵群体的个体大部分为 180~200mm。结合以

上结果, 可推测空胃率在 170~190mm 胴长组出现波峰是由于该胴长组的多数个体处于繁殖活动期间而不甚摄食所致。

在鸢乌贼所摄食的鱼类中, 鲷科包括丽叶鲷和脂眼凹肩鲷; 中国枪乌贼摄食的鱼类以鲷科为主, 丽叶鲷出现频率最高, 其次是金带细鲷、蓝园鲷。出现的鲷科饵料中, 只有脂眼凹肩鲷为暖水性中下层鱼类, 栖息水深达 170m, 其他多为暖水性中上层鱼类, 分布于我国东海、南海、台湾岛附近海域, 以及日本南部海域和印度-西太平洋暖水域。丽叶鲷主要栖息于水深小于 60m 的水域; 金带细鲷主要栖息于沿岸泥沙底质海区; 蓝园鲷栖息于沿岸内湾水域(陈大纲 等, 2015)。除鲷科之外, 中国枪乌贼摄食的黄泽小沙丁鱼亦属中上层鱼类, 而鸢乌贼摄食的孔锯鳞鱼和尾斑棘鳞鱼同属岩礁鱼类, 金焰灯笼鱼为热带深海小型鱼类, 鰹鱼则为近海洄游鱼类(陈大纲 等, 2015)。可以看出, 中国枪乌贼基本以中上层小型鱼类为主要饵料, 而南海中部鸢乌贼则摄食包含栖息深度范围更广阔的中下层鱼类、深海鱼类、岩礁鱼类以及近海洄游性鱼类, 两者摄食选择具有一定差异。从摄食频率看, 中国枪乌贼以鱼类和甲壳类为主要食物。黄美珍(2004)研究发现, 中国枪乌贼摄食中鱼类和甲壳类的相对重要性指标均大于 100,

说明鱼类和甲壳类是其主要食物,这一结论与本文研究结果相同。对于在中国枪乌贼饵料中占较大比重的甲壳类物种(46.2%),在鸢乌贼中却未有发现,表明南海中部鸢乌贼主要以鱼类和头足类为摄食对象。龚玉艳等(2016)研究发现,鸢乌贼胃含物中头足类和鱼类的相对重要性指数百分比分别为 54.38% 和 41.39%,而甲壳类则仅占 4.22%,与本文研究结果也较为接近。可见,中国枪乌贼主要摄食中上层小型鱼类和甲壳类,而鸢乌贼则摄食运动范围更广的鱼类及头足类,这主要与两者的分布范围和生活习性有关。中国枪乌贼夏季主要活动于水深 60m 以内的浅水区(郑玉水等, 1988),该区域的甲壳类分布较多;而鸢乌贼为暖水大洋种,成体的纵深活动范围更广,从表层到 150m 水深都有分布(范江涛等, 2013),主要集中于水深为 50~100m 的水层,此区域内极少有底栖性的甲壳类分布。因而,两者生

存环境中可获饵料种类有较大差异。

另外,本研究发现中国枪乌贼和鸢乌贼均存在自食现象,以鸢乌贼更为显著,出现频率达 45%。有学者指出,同类相食现象可能是群体在数量过多或食物缺乏的情况下的一种限制策略(Shchetinnikov, 1992)。这对中国枪乌贼和鸢乌贼的资源量及生存状况可能有一定指示作用。鸢乌贼资源量丰富,目前并未充分利用。而张壮丽等(2008)在对闽南-台湾浅滩渔场中国枪乌贼生物学特性的研究中发现,中国枪乌贼的最小胴长为 103mm,比以往都小,性早熟现象也较为明显,已经处于过度利用状态,应对中国枪乌贼资源进行合理利用和保护。本文的研究发现中国枪乌贼的平均胴长为 89.36mm,比过去的研究更小。由此可以推测,中国枪乌贼小型化趋势仍在持续,资源利用处于紧张状态,这可能是其自食现象比鸢乌贼较少的原因之一。

参考文献 References

- 陈大纲, 张美昭, 2015. 中国海洋鱼类[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社: 280–1883 (in Chinese).
- 陈新军, 2004. 渔业资源与渔场学[M]. 北京: 海洋出版社: 51–52 (in Chinese).
- 陈新军, 刘必林, 王尧耕, 2009. 世界头足类[M]. 北京: 海洋出版社: 312–313 (in Chinese).
- 戴泉水, 卢振彬, 洪明进, 等, 2004. 台湾海峡南部海域游泳生物区系组成和渔业资源现状[J]. 中国水产科学, 11(4): 360–366. DAI QUANSHUI, LU ZHENBIN, HONG MINGJIN, et al, 2004. Fauna composition of necton and fishery resources in the southern waters of Taiwan Strait[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 11(4): 360–366 (in Chinese with English abstract).
- 董正之, 1988. 中国动物志, 软体动物门, 头足纲[M]. 北京: 科学出版社: 88–95 (in Chinese).
- 范江涛, 冯雪, 邱永松, 等, 2013. 南海鸢乌贼生物学研究进展[J]. 广东农业科学, 40(23): 122–128. FAN JIANGTAO, FENG XUE, QIU YONGSONG, et al, 2013. Review on the biology of purpleback flying squid in South China Sea[J]. Guangdong Agricultural Science, 40(23): 122–128 (in Chinese with English abstract).
- 龚金科, 1981. 闽南-台湾浅滩渔场台湾枪乌贼的洄游分布和生物学特性的探讨[J]. 福建水产科技, (2): 15–26 (in Chinese).
- 龚玉艳, 詹凤娉, 杨玉滔, 等, 2016. 南海鸢乌贼摄食习性的初步研究[J]. 南方水产科学, 12(4): 80–87. GONG YUYAN, ZHAN FENGPIING, YANG YUTAO, et al, 2016. Feeding habits of *Symplectoteuthis oualaniensis* in the South China Sea[J]. South China Fisheries Science, 12(4): 80–87 (in Chinese with English abstract).
- 龚玉艳, 孔啸兰, 杨玉滔, 等, 2018. 南海鸢乌贼微型群体的摄食习性研究[J]. 海洋渔, 40(4): 394–403. GONG YUYAN, KONG XIAOLAN, YANG YUTAO, et al, 2018. Feeding habits of dwarf-form *Sthenoteuthis oualaniensis* population in the South China Sea[J]. Marine Fisheries, 40(4): 394–403 (in Chinese with English abstract).
- 黄美珍, 2004. 台湾海峡及邻近海域 4 种头足类的食性和营养级研究[J]. 台湾海峡, 23(3): 331–340. HUANG MEIZHEN, 2004. Study on feeding habits and nutrient level of four cephalopod species from Taiwan Strait and its adjacent areas[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 23(3): 331–340 (in Chinese with English abstract).
- 李斌, 陈国宝, 郭禹, 等, 2016. 南海中部海域渔业资源时空分布和资源量的水声学评估[J]. 南方水产科学, 12(4): 28–37. LI BIN, CHEN GUOBAO, GUO YU, et al, 2016. Hydroacoustic assessment of spatial-temporal distribution and biomass of fishery resources in the central South China Sea[J]. South China Fisheries Science, 12(4): 28–37 (in Chinese with English abstract).
- 唐启升, 1999. 海洋食物网与高营养层次营养动力学研究策略[J]. 海洋水产研究, 20(2): 1–6. TANG QISHENG, 1999. Strategies of research on marine food web and trophodynamics between high trophic levels[J]. Marine Fisheries Research, 20(2): 1–6 (in Chinese with English abstract).
- 颜云榕, 冯波, 卢伙胜, 等, 2012. 南沙群岛北部海域鸢乌贼 (*Sthenoteuthis oualaniensis*) 夏季渔业生物学研究[J]. 海洋与湖沼, 43(6): 1177–1186. YAN YUNRONG, FENG BO, LU HUOSHENG, et al, 2012. Fishery biology of purpleback flying squid *Sthenoteuthis oualaniensis* in northern sea areas around Nansha islands in summer[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 43(6): 1177–1186 (in Chinese with English abstract).
- 张宇美, 颜云榕, 卢伙胜, 等, 2013. 西沙群岛海域鸢乌贼摄食与繁殖生物学初步研究[J]. 广东海洋大学学报, 33(3):

- 56-64. ZHANG YUMEI, YAN YUNRONG, LU HUOSHENG, et al, 2013. Study on feeding and reproduction biology of purple flying squid, *Sthenoteuthis oualaniensis* in the western south china sea[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 33(3): 56-64 (in Chinese with English abstract).
- 张壮丽, 叶孙忠, 洪明进, 等, 2008. 闽南—台湾浅滩渔场中国枪乌贼生物学特性研究[J]. 福建水产, 3(1): 1-5. ZHANG ZHUANGLI, YE SUNZHONG, HONG MINGJIN, et al, 2008. Biological characteristics of the Chinese squid (*Loligo chinensis*) in Minnan-Taiwan shallow fishing ground[J]. Journal of Fujian Fisheries, 3(1): 1-5 (in Chinese with English abstract).
- 郑玉水, 杨甘霖, 曾建忠, 等. 台湾海峡枪乌贼资源探捕调查报告[J]. 福建水产. 1988: 8-16.
- ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHAFER A A, et al, 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs[J]. Nucleic Acids Research, 25(17): 3389-3402.
- COSTA F O, DEWAARD J R, BOUTILLIER J, et al, 2007. Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea[J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 64(2): 272-295.
- DEAGLE B E, EVESON J P, JARMAN S N, 2006. Quantification of damage in DNA recovered from highly degraded samples--a case study on DNA in faeces[J]. Frontiers in Zoology, 3: 11.
- DRUMMOND A J, SUCHARD M A, XIE D, et al, 2012. Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7[J]. Molecular Biology and Evolution, 29(8): 1969-1973.
- EZARD T, FUJISAWA T, BARRACLOUGH T G, 2009. splits: SPecies' Limits by Threshold Statistics. R package version 1.0-14/r31. <http://R-Forge.R-project.org/projects/splits/>.
- FOLMER O, BLACK M, HOEH W, et al, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Mol Mar Biol Biotechnol, 3(5): 294-299.
- FUJISAWA T, BARRACLOUGH T G, 2013. Delimiting species using single-locus data and the generalized mixed Yule coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets[J]. Systematic Biology, 62(5): 707-724.
- GELLER J, MEYER C, PARKER M, et al, 2013. Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys[J]. Molecular Ecology Resources, 13(5): 851-861.
- KING R A, READ D S, TRAUGOTT M, et al, 2008. INVITED REVIEW: Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches[J]. Molecular Ecology, 17(4): 947-963.
- LERAY M, YANG J Y, MEYER C P, et al, 2013. 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, 10(1): 34.
- MARKAIDA U, SOSA-NISHIZAKI O, 2003. Food and feeding habits of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) from the Gulf of California, Mexico[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 83(3): 507-522.
- MEYER C P. 2003. Molecular systematics of cowries (Gastropoda: Cypraeidae) and diversification patterns in the tropics[J]. Biological Journal of the Linnean Society, 79(3): 401-459.
- PAGE R D M, 1996. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers[J]. Computer Applications in the Biosciences: CABIOS, 12(4): 357-358.
- POSADA D, CRANDALL K A, 2001. Selecting the best-fit model of nucleotide substitution[J]. Systematic Biology, 50(4): 580-601.
- SHCHETINNIKOV A S, 1992. Feeding spectrum of squid *Sthenoteuthis oualaniensis* (Oegopsida) in the eastern Pacific[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 72(4): 849-860.
- SYMONDSON W O C, 2002. Molecular identification of prey in predator diets[J]. Molecular Ecology, 11(4): 627-641.
- WARD R D, ZEMLAK T S, INNES B H, et al, 2005. DNA barcoding Australia's fish species[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 360(1462): 1847-1857.
- XU LEI, WANG LIANGGEN, NING JIAJIA, et al, 2019. Diversity of marine planktonic ostracods in South China Sea: a DNA taxonomy approach[J]. Mitochondrial DNA Part A, 30(1): 118-125.