

吴本丽, 黄龙, 吴仓仓, 等. 投喂水平对稻田养殖中华鳖摄食生态的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2024, 45(6): 929-938.

WU Benli, HUANG Long, WU Cangcang, et al. Effect of feeding level on feeding ecology of *Pelodiscus sinensis* cultured in rice field[J]. Journal of South China Agricultural University, 2024, 45(6): 929-938.

投喂水平对稻田养殖中华鳖摄食生态的影响

吴本丽, 黄龙, 吴仓仓, 陈静, 陈夏君, 梅耀萍, 何吉祥

(水产增殖安徽省重点实验室/安徽省农业科学院水产研究所, 安徽合肥 230031)

摘要:【目的】调查不同投喂水平条件下中华鳖 *Pelodiscus sinensis* 在稻田摄食天然饵料的种类和强度, 探索稻鳖共作模式下中华鳖的摄食生态, 为优化稻田综合种养投喂策略、揭示生态效益形成过程和机制提供依据。【方法】在大田稻鳖共作模式中设置 0.7%、1.4% 和 2.1%(w) 3 个投喂水平, 运用胃含物形态学分析以及胃含物和环境 DNA 高通量测序分析方法, 获得各组中华鳖对天然饵料和人工饲料的摄食习性, 分析不同饵料在不同处理组中的相对重要性指数等。【结果】中华鳖摄食率随投喂水平的提高有所上升。胃含物形态学分析中共识别出鱼类 8 种、虾类 2 种、软体动物 2 种、昆虫和轮虫等 9 种, 出现率较高的物种包括棒花鱼、麦穗鱼、日本沼虾、中华圆田螺、多肢轮虫、摇蚊幼虫和水丝蚓等。随着投喂水平的上升, 胃含物中饲料出现率和相对重要性指数占比 (IRIP) 均上升, 天然饵料 IRIP 下降; 当投喂水平为 2.1% 时, 饲料 IRIP 高达 91.97%, 天然饵料 IRIP 之和仅为 8.03%。环境 DNA 高通量测序分析结果显示, 在某一或多个样本中 DNA 相对丰度大于 0.5% 的鱼类有 16 种, 其中, 棒花鱼、麦穗鱼、中华鲮、张氏鲮、泥鳅、大鳞副泥鳅、鲫和短吻银鱼与胃含物形态学分析结果吻合; 共注释大型水生脊椎动物 36 种, 胃含物中 DNA 相对丰度大于 1.0% 的物种主要包括寄蝇、秀丽白虾、中国圆田螺、摇蚊幼虫、水丝蚓、轮虫等。【结论】中华鳖在稻田摄食的天然饵料主要包括小型鱼类、软体动物、节肢动物以及轮虫等。高投喂水平导致天然饵料的摄食率和 IRIP 更低, 可能降低稻田共作的生态效益。

关键词: 稻鳖共作; 投喂水平; 摄食生态; 胃含物; 环境 DNA

中图分类号: S966.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2024)06-0929-10

Effect of feeding level on feeding ecology of *Pelodiscus sinensis* cultured in rice field

WU Benli, HUANG Long, WU Cangcang, CHEN Jing, CHEN Xiajun, MEI Yaoping, HE Jixiang

(Anhui Key Laboratory of Aquaculture and Stock Enhancement/Fishery Institute, Anhui

Academy of Agricultural Sciences, Hefei 230031, China)

Abstract: 【Objective】The purpose of this study was to investigate the species and abundance of natural food for Chinese soft-shelled turtles (*Pelodiscus sinensis*) cultured in paddy fields under different feeding levels, explore the feeding ecology of *P. sinensis* in the rice-turtle co-culture mode, and provide a basis for optimizing the feeding strategy of comprehensive planting and breeding in rice fields and revealing the formation process

收稿日期: 2024-05-17 网络首发时间: 2024-09-18 16:19:13

首发网址: <https://link.cnki.net/urlid/44.1110.S.20240918.1502.006>

作者简介: 吴本丽, 副研究员, 博士, 主要从事水产动物营养代谢与环境互作研究, E-mail: wubenli5555@163.com; 通信作者: 何吉祥, 研究员, 硕士, 主要从事水产健康养殖研究, E-mail: hejixiang813@126.com

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (32101305); 安徽省农业科学院青年英才计划 (QNYC-202215); 安徽省水产产业技术体系 (皖农科 [2021]711 号)

and mechanism of ecological benefits. 【Method】 The field feeding experiment was conducted with three feeding levels of 0.7%, 1.4% and 2.1%(w) for studying rice-turtle co-culture. Morphological analysis of stomach contents and environmental DNA analysis were conducted to determine the feeding habit of the natural food and commercial feeds for *P. sinensis* in different treatment groups. The relative importance index of different foods in treatments was also analyzed. 【Result】 The feeding rate of *P. sinensis* increased with the increase of feeding level. In morphological analysis of stomach contents, 8 species of fish, 2 species of shrimp, 2 species of molluscs, 9 species of insects and rotifers were identified. The species with high occurrence rate included *Abbottina rivularis*, *Pseudorasbora parva*, *Macrobrachium nipponense*, *Cipangopaludina chinensis*, *Polyarthra* sp., Chironomidae larvae and *Limnodrilus* sp.. The occurrence rate and relative importance index proportion (IRIP) of commercial feeds increased with the increase of feeding level, while the IRIP of natural food decreased. The IRIP of commercial feeds was 91.97% when the feeding level was 2.1%, and the added IRIP of multiple natural foods was only 8.03%. In environmental DNA analysis, there were 16 species of fish with DNA relative abundance higher than 0.5%, and among them, *A. rivularis*, *P. parva*, *Rhodeus sinensis*, *Hemiculter tchangi*, *Misgurnus anguillicaudatus*, *Paramisgurnus dabryanus*, *Carassius auratus* and *Hemisalanx brachyrostralis* were also identified in morphology analysis of stomach contents. A total of 36 species of large aquatic vertebrates were identified, and the species with DNA relative abundance higher than 1.0% in stomach content samples mainly included *Pseudochaeta* sp. Janzen14, *Palaemon modestus*, *Cipangopaludina chinensis*, Chironomidae larvae, *Limnodrilus* sp., rotifer, etc. 【Conclusion】 The natural food of *P. sinensis* includes small fish, molluscs, arthropods and rotifers, etc. Higher feeding level of commercial feeds results in lower feeding rate and IRIP of natural food, which may reduce the ecological benefits of co-culture.

Key words: Rice-turtle co-culture; Feeding level; Feeding ecology; Stomach content; Environmental DNA

近年来,在经济、生态效益和政策驱动下,稻渔综合种养迅猛发展,截至 2023 年,我国稻渔综合种养面积 280 余万公顷,生产稻谷约 2 150 万 t、水产品 387 万 t; 稻虾、稻鱼、稻鳖、稻蟹、稻鳅、稻蛙等模式均形成了一定产业规模^[1]。随着养殖规模的不断扩大,制约产业持续健康发展的问题也日益显现,绿色循环、稳粮高效是稻渔综合种养产业可持续发展的基础要求^[2]。

稻田生物多样性非常丰富,可为水产动物提供广阔的活动空间、种类丰富的天然饵料和遮蔽物,可减少群体竞争压力和配合饲料投入,降低水资源消耗和污染^[3]。水产动物田间活动可影响稻田土壤结构、理化性质和微生物群落结构功能^[4-7]; 水产动物饲料、粪便和残饵等增加了营养投入,可提高稻田土壤营养水平^[8]; 养殖动物摄食稻田中天然饵料,对病虫害有一定防控作用,可减少养分消耗,提高稻田营养元素转化和利用效率^[9-10]。综合看来,稻渔综合种养是基于共作互利、生态位和食物链等生态学原理实现生态效益^[11-13]。综合种养使稻田营养层次增多,食物链延长,其对生产者、消费者和分解者均会产生不同影响^[14]。但种养品种间的耦合关系、生态效益形成机制还需要进一步深化

研究。

水产动物的摄食活动在生态效益形成过程中起到关键作用,但水产动物对稻田生态系统中天然饵料和饲料的摄食尚缺乏量化研究,摄食种类和数量难以评估,另外,外源饲料投喂策略,包括投喂水平、投喂时间等也可能导致其摄食生态适应性改变^[15]。中华鳖 *Pelodiscus sinensis*, 即甲鱼,属水陆两栖的爬行动物,肉食性为主,具有较高的营养价值和药用价值。随着野生甲鱼资源逐渐衰退,加上温室集约化养殖鳖品质不佳,鳖健康养殖模式亟待发展优化。稻鳖共作可有效缓解中华鳖野生资源衰减和集约化养殖带来的品质及环境问题^[16], 是一种稳定、生态效益显著的综合种养模式,稻田鳖品质和风味与野生鳖相似,受到广大消费者的喜爱,经济效益突出,目前主要在湖北、安徽、广西等地区广泛发展。

目前,关于稻鳖共作的生态效益研究多集中在共作模式对稻田水质、土壤环境、养殖品质等的影响,基于稻田鳖摄食产生的生态效益有待进一步量化^[17]。本研究以期通过胃含物分析和高通量测序的手段更加精确地判断不同投喂水平下中华鳖对天然饵料的摄食种类和丰度,为科学评价稻鳖共作的

生态效益提供一定依据, 也为其他稻渔综合种养模式生态效益提升提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 稻鳖共作模式

养殖监测试验在安徽省农业科学院水产研究所太湖县稻鳖共作基地开展。单块试验田面积约 2 000 m², 每块稻田一侧设置 200 m² 鳖池。水稻品种为‘徽两优 688’, 移栽时间为 2022 年 6 月 15 日, 行株距 25 cm×20 cm。甲鱼养殖品种为中华鳖日本品系, 投放时间为 2022 年 7 月 10 日, 采用较大规格苗种, 规格为 600~700 g/只, 每块试验田投放 80 只。每天 09:00 和 16:00 分别投喂 1 次专用配合饲料(浙江金甲水产饲料有限公司, 粗蛋白质质量分数为 45%), 投喂水平按照甲鱼投放质量的 0、0.7%、1.4% 和 2.1% 设置, 分别标记为 F0、F1、F2、F3, 每组设置 3 个平行试验田块。

1.2 取样时间和方法

分别在 7 月 29 日、8 月 25 日和 9 月 23 日采集中华鳖样本, 每块试验田采集 6 只, 采样前一天下午暂停投喂。中华鳖快速断头致死解剖, 完整剥离消化道, 擦拭表面后, 用剪刀剪开胃肠部, 观察充塞度, 依据消化道内含物的含量将充塞度分为 6 级(0~5 级), 用于分析摄食强度, 胃肠道无明显内含物计为 0 级, 内含物空间占比 [0, 10%], (10%, 20%], (20%, 35%], (35%, 50%], > 50% 依次计为 1~5 级。称量所有胃含物, 将肉眼可辨的残体、残肢、种子等未完全消化的食物置于纱绢上, 用纯水冲洗, 将肉眼可辨别的物种分类、计数、称重后用甲醛固定, 其余匀质弥散食团称重, 80% 计为饲料质量。同时, 收集同一采样时间、同一试验田的甲鱼弥散食团, 混合后置于冻存管, 液氮速冻用于后续 DNA 提取。另外, 采集稻田表层土壤(0~5 cm)、稻田水体等环境样本。土壤样本按照 S 形取样方式, 每块稻田取 10 个点土样, 去除石砾、植物根系等杂质, 等量混合均匀后取 5~10 g 保存于无菌管中, 冷冻保存至 DNA 提取; 田面水体也按照 S 形取样方式, 每块稻田取 10 个点的水样, 每点取样 300 mL, 混合均匀后取 1 L 置于无菌广口瓶; 鳖池水样用采水器分别取上、中、下层水体各 1 L, 混合后均匀后取 1 L 置于无菌广口瓶。所有水样用 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 将滤膜冷冻保存至 DNA 提取。

1.3 环境和胃含物 DNA 提取及高通量测序分析

依照相关试剂盒说明书对所制备的稻田表面土壤样本、稻田水体样本及甲鱼胃含物样本进行

DNA 提取(QIAamp tissue extraction kit, Qiagen)。完成基因组 DNA 抽提后, 利用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组。参考中华鳖的天然食性, 本试验采用淡水鱼类(Tele02_F: 5'-AAACTCGTGCCAGCCACC-3', Tele02_R: 5'GGGTATCTAATCCCAGTTTG-3')和大型水生脊椎动物(BF1:5'-ACWGGWTGRACWGTNTAYCC-3', BR1:5'-ARYATDGTRATDGHCCDGC-3') 两对特异性引物进行扩增(TransStart FastPfu DNA Polymerase, ABI GeneAmp[®] 9700 型), 引物合成及测序委托上海凌恩生物科技有限公司完成。每个样本 3 个重复, 将同一样本的 PCR 产物混合后用 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测, 使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒(AXYGEN 公司)切胶回收 PCR 产物, Tris-HCl 洗脱; 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测。参照电泳初步定量结果, 将 PCR 产物用 QuantiFluor[™]-ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公司)进行检测定量, 之后按照每个样本的测序量要求, 进行相应比例的混合。构建 Illumina 文库, 进行 Illumina 测序。基于测序数据进行 OTU 聚类, 对高于 97% 序列相似度的 OTU 进行生物信息统计分析, 获得 OTU 信息(Usearch, V10), 进行物种注释(Blastn, v2.5.0), 开展物种多样性分析(Mothur, v1.35.1)、物种组成分析(R, v3.6.3)和差异分析(LEfSe, v1.0)。

1.4 数据统计分析

基于胃含物中天然饵料出现率、数量百分比、质量百分比分析稻田甲鱼摄食生态, 主要计算公式如下:

摄食率=(含有食物肠道数/解剖的肠道数)×100%,

出现率=(胃含物中出现某种饵料的肠道数/含有食物总肠道数)×100%,

数量百分比=(某种饵料数量/胃含物中饵料总数量)×100%,

质量百分比=(某种饵料质量/胃含物中饵料总质量)×100%,

饵料相对重要性指数=(某种饵料数量百分比+某种饵料质量百分比)×出现率,

饵料相对重要性指数占比(Relative importance index proportion, IRIP)=IRI/∑IRI×100%。

2 结果与分析

2.1 不同投喂水平下中华鳖胃含物分析

2.1.1 基于形态学的中华鳖胃含物种类组成分析 所有胃含物样本中共识别出动物种类 21 种, 其中鱼

类 8 种, 虾类 2 种, 软体动物 2 种, 昆虫、轮虫等 9 种, 另外, 少数个体中还存在一些植物残渣和种子。出现率较高的物种包括棒花鱼、麦穗鱼、日本沼虾、中华圆田螺、多肢轮虫、摇蚊幼虫和水丝蚓等。

随着投喂水平的上升, 胃含物中饲料出现率和 IRIP 均上升; 当投喂水平为 2.1% 时, 饲料的 IRIP 高达 91.97%, F1、F2 和 F3 不同投喂水平组天然饵料的 IRIP 之和分别为 51.82%、23.24% 和 8.03%(表 1)。

表 1 不同投喂水平下稻田中华鳖饵料生物出现率 (OR) 及不同饵料相对重要性指数占比 (IRIP)¹⁾

Table 1 The feed occurrence rate (OR) and relative important index proportion (IRIP) for *Pelodiscus sinensis* under different feeding levels in rice field

%

物种 Species	F0		F1		F2		F3	
	OR	IRIP	OR	IRIP	OR	IRIP	OR	IRIP
棒花鱼 <i>Abbottina rivularis</i>	15.63	8.10	14.28	5.81	11.91	3.14	8.20	0.98
麦穗鱼 <i>Pseudorasbora parva</i>	21.87	15.41	9.53	4.62	9.53	2.65	6.15	0.81
中华鲮 <i>Rhodeus sinensis</i>	9.38	4.83	7.15	1.76	4.76	0.77	2.05	0.13
张氏鲮 <i>Hemiculter tchangi</i>	6.24	1.74	7.15	1.92	4.76	0.68	0	0
鲫 <i>Carassius auratus</i>	3.12	1.03	4.76	1.34	2.38	0.40	2.05	0.12
短吻银鱼 <i>Hemisalanx brachyrostralis</i>	3.12	0.66	2.38	0.36	0	0	0	0
泥鳅 <i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	3.12	0.50	4.76	1.18	7.15	1.05	2.05	0.10
大鳞副泥鳅 <i>Paramisgurnus dabryanus</i>	6.24	1.25	2.38	0.62	2.38	0.46	2.05	0.13
日本沼虾 <i>Macrobrachium nipponense</i>	18.75	6.84	11.91	2.92	9.53	1.26	6.15	0.52
秀丽白虾 <i>Palaemon modestus</i>	12.50	4.04	9.53	2.46	4.76	0.50	2.05	0.10
中国圆田螺 <i>Cipangopaludina chinensis</i>	18.75	4.82	16.66	6.57	11.91	2.76	6.15	0.60
背角无齿蚌 <i>Anodonta woodiana</i>	12.50	4.50	4.76	1.18	4.76	0.74	4.09	0.27
寄蝇 <i>Pseudochaeta</i> sp. Janzen14	15.63	6.01	14.28	5.97	11.91	1.57	8.20	0.47
台湾温剑水蚤 <i>Thermocyclops taihokuensis</i>	9.38	3.89	4.76	1.86	7.15	1.35	4.09	0.28
中剑水蚤属 <i>Mesocyclops</i> sp. 1MYL-2014	6.24	2.49	4.76	2.35	2.38	0.16	2.05	0.06
多肢轮虫 <i>Polyarthra</i> sp.	18.75	10.02	11.91	4.01	9.53	1.99	10.24	1.46
褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i>	12.50	4.86	7.15	0.96	7.15	0.83	4.09	0.34
摇蚊幼虫 <i>Chironomidae</i> larvae	24.99	11.13	9.53	3.22	7.15	1.39	6.15	0.75
水丝蚓 <i>Limnodrilus</i> sp.	18.75	6.30	9.53	2.39	7.15	1.40	6.15	0.90
点斑美铃 <i>Metomelus punctatus</i>	6.24	1.26	4.76	0.34	2.38	0.09	2.05	0.03
长颊茧蜂属 <i>Dolichogenidea</i> sp. BOLD: AAA3918	3.12	0.32	0	0	2.38	0.05	0	0
饲料 Commercial feeds	0	0	52.38	48.18	69.04	76.76	75.80	91.97

1) 对各组不同时间样本合并计算得到OR和IRIP; F0、F1、F2和F3分别表示投喂水平为中华鳖投放质量的0、0.7%、1.4%和2.1%。

1) The OR and IRIP are calculated by merging samples from different time for each group; F0, F1, F2, and F3 represent the feeding levels are 0, 0.7%, 1.4% and 2.1% of the release weight of *P. sinensis*, respectively.

2.1.2 消化道充塞度 同一采样时期, 充塞度为 0 级的个体占比随着投喂水平的提升有所下降, 摄食率随投喂水平的提升有所上升。无饲料投喂组中华鳖胃肠充塞度整体较低, 未见 5 级; 高投喂水平组充塞度 5 级个体占比不高于 16.67%, 其中, 9 月下旬高投喂水平组充塞度 0 级个体占比可达到 22.22%(表 2)。

2.2 环境和胃含物 DNA 组成及天然饵料分析

2.2.1 鱼类 所有样本有效序列计 5 519 639 个, 对比获得 OTU 6 687 种, 共有种 2 142 种, 其中饲料、胃含物、土样和水样的特有 OTU 数量分别为 680、119、306 和 265 种。土样和水样共有 OTU 4 798 种, 特有 OTU 分别为 489 和 501 种; 饲料和胃含物共有 OTU 2324 种, 特有 OTU 分别为 931 和 2137 种(图 1)。

Alpha 多样性指数单因素方差分析和 Duncan's 多重比较结果显示, 饲料样本 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数与土样、水样和胃含物样本均有显著差异 ($P<0.05$), 胃含物样本 ACE 指数显著高于土

表 2 不同投喂水平下稻田中华鳖胃肠道各级充塞度的个体占比¹⁾

Table 2 Proportion of individuals with varying gastrointestinal fullness grades in *Pelodiscus sinensis* under different feeding levels in rice field

充塞度 Fullness grade	7月 July				8月 August				9月 September				%
	F0	F1	F2	F3	F0	F1	F2	F3	F0	F1	F2	F3	
0	27.78	16.67	11.11	5.56	44.44	22.22	27.78	0	50.00	27.78	27.78	22.22	
1	27.78	22.22	27.78	22.22	22.22	27.78	22.22	22.22	22.22	22.22	22.22	27.78	
2	22.22	27.78	22.22	33.33	22.22	27.78	22.22	27.78	11.11	16.67	22.22	11.11	
3	16.67	27.78	16.67	11.11	11.11	11.11	11.11	16.67	11.11	11.11	5.56	11.11	
4	5.56	16.67	11.11	11.11	0	5.56	5.56	22.22	5.56	11.11	11.11	11.11	
5	0	11.11	11.11	16.67	0	5.56	11.11	11.11	0	11.11	11.11	16.67	
摄食率 Feeding rate	72.22	83.33	88.89	94.44	55.56	77.78	72.22	100.00	50.00	72.22	72.22	77.78	

1) F0、F1、F2和F3分别表示投喂水平为中华鳖投放质量的0、0.7%、1.4%和2.1%。
1) F0, F1, F2, and F3 represent the feeding levels are 0, 0.7%, 1.4% and 2.1% of the release weight of *P. sinensis*, respectively.

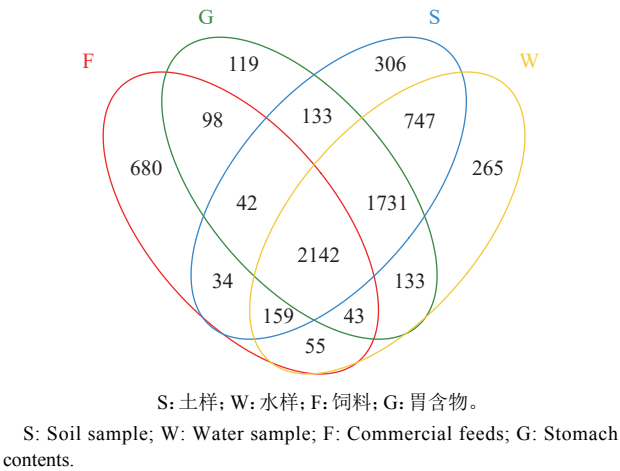
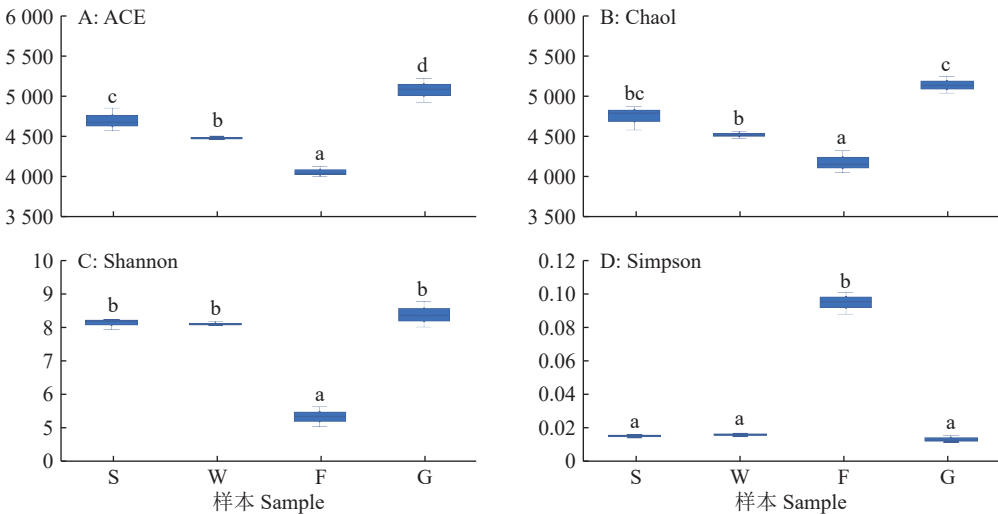


图 1 不同样本 DNA 片段注释到的共有和特有 OTU 数目
Fig. 1 Numbers of common and unique OTU annotated by DNA fragments of different samples

样和水样 ($P<0.05$), 水样、土样和胃含物样本的 Shannon 和 Simpson 指数无显著差异 (图 2)。

根据主坐标分析结果分析不同样本间的 Beta 多样性, 不同样本间有明显的距离, 其中水样和土样间距离较近, 表明它们在物种组成上较相似; 饲料样本与其他样本距离较远, 说明饲料样本中物种组成与其他样本差异较大 (图 3)。

经过数据比对, 合并同物种 OTU, 去除重复注释物种, 共注释鱼类 184 种。其中海水或半咸水种类为 49 种, 在我国未见分布的有 23 种, 在某一或多个样本中 DNA 相对丰度大于 0.5% 的鱼类有 16 种 (图 4), 其中, 棒花鱼、麦穗鱼、中华鲮、张氏鲮、泥鳅、大鳞副泥鳅、鲫和短吻银鱼在胃含物形态学分析中均有发现 (表 3)。



S: 土样; W: 水样; F: 饲料; G: 胃含物。各图中, 柱子上的不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$, Duncan's 法)。
S: Soil sample; W: Water sample; F: Commercial feeds; G: Stomach contents. In each figure, different lowercase letters on bars indicate significant differences ($P<0.05$, Duncan's method).

图 2 不同样本物种 Alpha 多样性指数
Fig. 2 The Alpha diversity of species in different samples

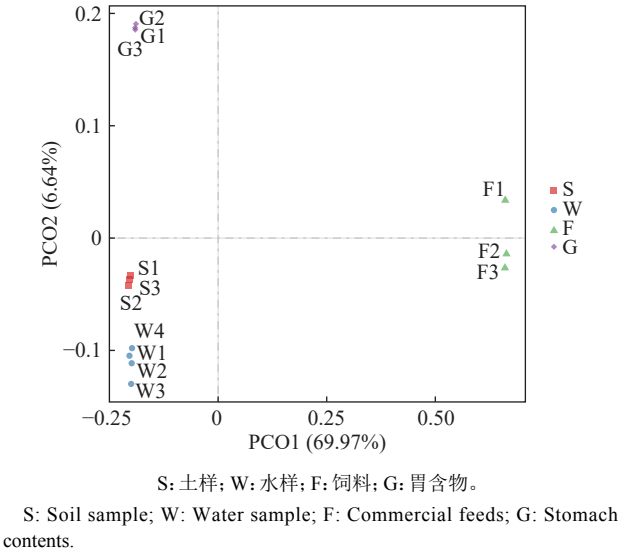


图 3 基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析 (PCoA)
Fig. 3 The principal coordinates analysis (PCoA) based on Bray-Curtis distance

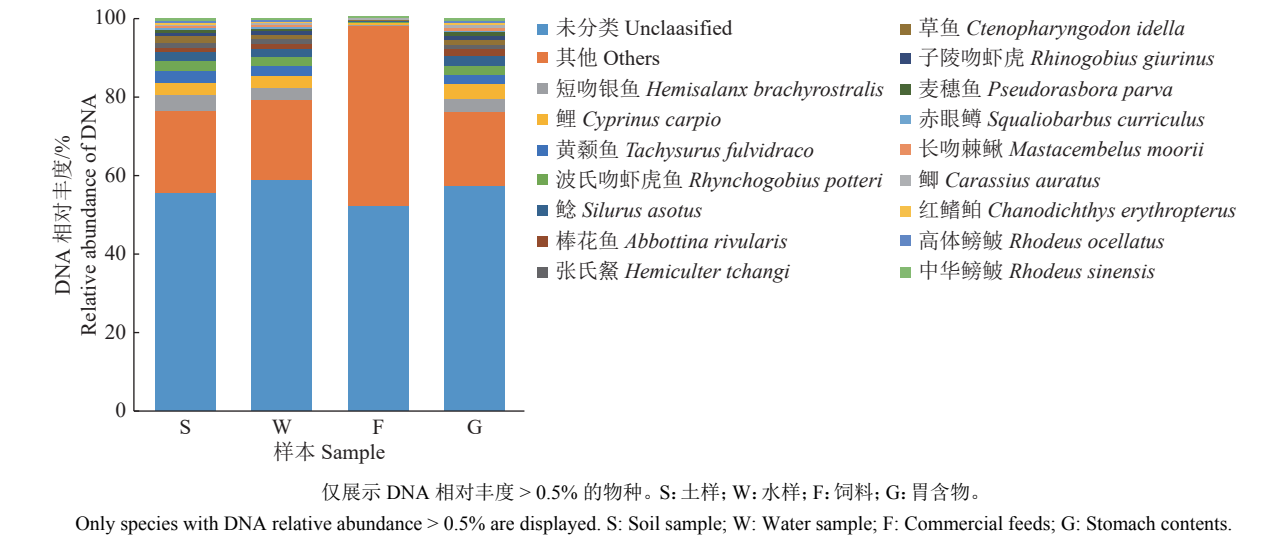


图 4 不同样本淡水鱼类 DNA 相对丰度
Fig. 4 The relative abundance of freshwater fish DNA for different samples

表 3 稻鳖共作生态系统不同样本中淡水鱼类的 DNA 信息出现频次及相应物种在胃含物形态学观察中的出现率 (OR)
Table 3 The occurrence frequency of DNA information of freshwater fish in different samples and the occurrence rate (OR) of the species in the morphological observation of stomach contents in rice-turtle co-culture ecosystem

物种 Species	DNA检测 ¹⁾ DNA detection			OR/%
	胃含物 Stomach contents	水样 Water sample	土样 Soil sample	
棒花鱼 <i>Abbottina rivularis</i>	+++	++	+++	37.04
麦穗鱼 <i>Pseudorasbora parva</i>	+++	+++	+++	33.34
中华鲮 <i>Rhodeus sinensis</i>	+++	+++	++	16.67
张氏鲮 <i>Hemiculter tchangii</i>	++	+++	++	12.96
泥鳅 <i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	+++	+++	++	12.96
大鳞副泥鳅 <i>Paramisgurnus dabryanus</i>	+++	+++	+++	9.25
鲫 <i>Carassius auratus</i>	+++	+++	+++	9.25
短吻银鱼 <i>Hemisalanx brachyrostralis</i>	+++	+++	+++	3.70

1) +++表示在3个平行样本中均出现, ++表示在2个样本中出现, 表中仅列出胃含物形态分析中出现的物种。
1) +++ represents appearance in all three parallel samples, ++ represents appearance in two samples, and only the species that appear in the morphological analysis of stomach contents are listed in the table.

表 4 稻鳖共作生态系统不同样本中水生无脊椎动物的 DNA 信息出现频次及相应物种在胃含物形态学观察中的出现率 (OR)

Table 4 The occurrence frequency of DNA information of aquatic vertebrates in different samples and the occurrence rate (OR) of the species in the morphological observation of stomach contents in rice-turtle co-culture ecosystem

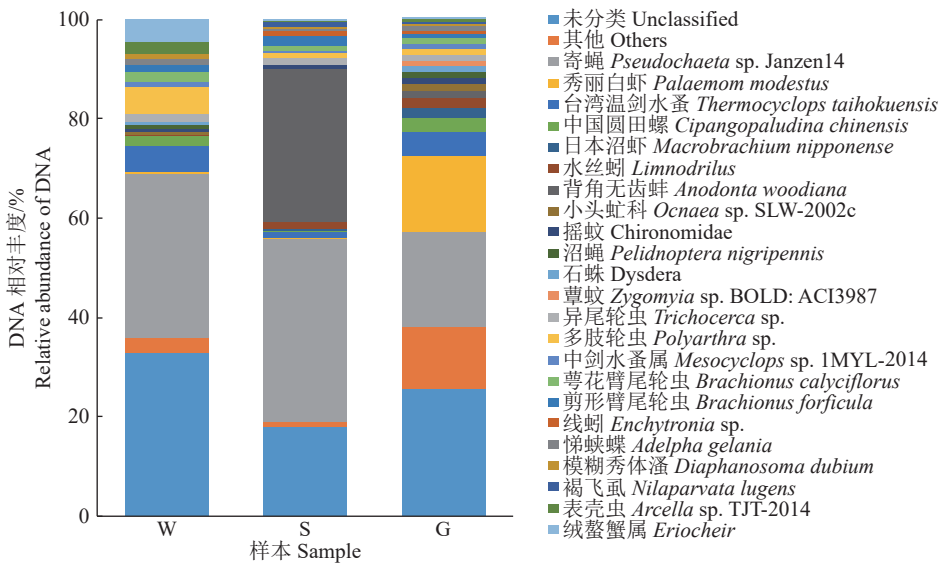
物种 Species	DNA检测 ¹⁾ DNA detection			OR/%
	胃含物 Stomach contents	水样 Water sample	土样 Soil sample	
日本沼虾 <i>Macrobrachium nipponense</i>	+++	+++	+	33.34
秀丽白虾 <i>Palaemom modestus</i>	+++	+++	+	20.37
中国圆田螺 <i>Cipangopaludina chinensis</i>	+++	+++	+++	38.89
背角无齿蚌 <i>Anodonta woodiana</i>	++	++	++	18.51
寄蝇 <i>Pseudochaeta</i> sp. Janzen14	+++	+++	+++	37.04
中剑水蚤属 <i>Mesocyclops</i> sp. 1 MYL-2014	+++	+++	++	16.66
台湾温剑水蚤 <i>Thermocyclops taihokuensis</i>	+++	+++	+	18.51
多肢轮虫 <i>Polyarthra</i> sp. (WM-2017b、WM-2017e)	+++	+++	++	37.04
褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i>	++	++	+	22.23
摇蚊幼虫 <i>Chironomidae</i> larvae	+++	+++	+++	33.34
水丝蚓 <i>Limnodrilus</i>	+++	+++	++	29.64
点斑美铃 <i>Polystoechotes punctata</i>	++	++	+	11.10
长颊茧蜂 <i>Dolichogenidea</i> sp.	++	++	+	3.70

1) +++表示在3个平行样本中均出现, ++表示在2个样本中出现, +表示在1个样本中出现, 表中仅列出胃含物形态分析中出现的物种。

1) +++ represents appearance in all three parallel samples, ++ represents appearance in two samples, + represents appearance in one sample, and only the species that appear in the morphological analysis of stomach contents are listed in the table.

较高的物种包括寄蝇、轮虫、台湾温剑水蚤、绒螯蟹、表壳虫、中国圆田螺、溠类等；土壤样本

DNA 相对丰度较高的物种包括寄蝇、背角无齿蚌、轮虫、水丝蚓、台湾温剑水蚤、线蚓、摇蚊等 (图 5)。



仅展示 DNA 相对丰度 > 1.0% 的物种。S: 土样; W: 水样; G: 胃含物。

Only species with DNA relative abundance >1.0% are displayed. S: Soil sample; W: Water sample; G: Stomach contents.

图 5 不同样本水生无脊椎动物 DNA 相对丰度

Fig. 5 The relative abundance of aquatic vertebrates DNA for different samples

3 讨论

3.1 投喂水平对稻田中华鳖摄食生态的影响

稻鳖共作系统是一个相对封闭的小型生态系统, 稻田饵料生物丰度与水源资源条件、农田施肥

用药管理方式等均密切相关, 稻田生态系统可提供的生物资源量虽可满足一定数量的共作生物生存和生长, 但天然饵料数量有限, 难以获得高产。稻鳖共作生产中, 一般将温室培育的较大规格苗种投

入到稻田进行生态养殖, 常见的稻田养殖主要有两种形式, 一种是低密度放养, 种养期间不投喂商品饲料或仅补充少量杂鱼、螺蛳等天然饵料的仿野生养殖; 另一种是放养一定密度, 同时进行外源补充投喂饲料或天然饵料的生态养殖^[18-20]。食物是影响动物生存、行为、生长、生理代谢的重要因子, 一般饱食条件下可获得机体最大生长^[21-22]。投喂水平直接影响动物的生长率和饲料转化效率, 过低的投喂水平可能导致营养不良、生长迟缓、免疫力下降, 过高的投喂水平可能导致消化压力, 饲料转化率下降, 从而造成浪费和环境污染^[23]。投喂水平还可能影响动物的摄食行为模式, 投喂不足可能导致群体内部竞争加剧, 而过量投喂可能导致厌食等异常行为, 影响群体的活跃程度^[24]。

前期研究结果显示, 综合生长、饲料效率、生理状态等指标, 稻田养殖大规格中华鳖适宜的投喂水平为 1.4%, 综合种养降低了中华鳖适宜的投喂水平。低投喂水平天然饵料的贡献率较高, 随着投喂水平的上升, 饲料对中华鳖的摄食贡献显著上升, 当投喂水平达到 1.4% 以上, 饲料的贡献率可达 90% 以上。天然饵料贡献率较低, 这可能与中华鳖适应投喂方式相关, 当配合饲料充足时, 中华鳖偏向于摄食易于获得的配合饲料, 而减少对天然饵料的捕食, 鳖的活动性相对减弱。基于天然饵料丰度优化投喂水平可以提高养殖的经济效益, 减少饲料浪费, 实现成本节约^[25-26]。适当减少投喂可以在保持一定产量的前提下, 提高稻田饵料生物及空间资源利用效率, 有利于达到生态养殖的目的, 稻田鳖从形态、习性和口感上更接近于野生群体, 商品性能进一步提高, 高投喂水平会削弱综合种养的生态效益, 对集约化水产养殖、温室气体排放的缓解作用下降^[27]。

3.2 稻田鳖摄食对稻田生物资源及环境的潜在影响

养殖动物在稻田的活动强度影响了稻田环境, 综合种养模式更有利于提高稻田生物多样性。鳖在稻田中的捕食活动, 促进了稻田生态系统物质间的内在循环, 提高了稻田环境的多元化水平, 对土壤的松动作用、排泄物等均有利于水稻生长; 鳖在稻田活动还可改善田间温度、光照、小气候、土壤肥力状况、氧化还原电位等, 减少甲烷、二氧化碳等温室气体的排放, 进一步提高生态效益^[28-29]。鳖的存在有助于维持稻田生态系统的平衡, 通过食物链的营养循环, 综合种养延长了能量传递途径, 可增强稻田生态系统的稳定性、提高能量利用效率和稻田生

态系统服务功能, 有助于实现生态平衡和农业可持续发展^[30]。

节肢动物是农田中最多的类群, 其中步甲、蜘蛛、蝴蝶、蜜蜂、瓢虫和食蚜蝇常被作为生物多样性指示类群^[31]。本试验食性分析结果显示, 鳖对节肢动物的摄食量以饵料的可获得性决定, 以摄食水生幼虫为主, 飞虫个体出现率较低。养殖动物对稻田有害生物有一定防控作用, 鳖在稻田中摄食可以减少害虫的数量, 如稻飞虱, 这有助于减少对化学农药的依赖, 增加生物多样性, 并通过自然捕食者控制害虫数量^[32-33]。虫害、草害发生与农药施用次数呈负相关, 稻田综合种养在减少农药施用次数的情况下, 水稻产量和病害发生频率未受到显著影响, 间接说明了综合种养对虫害、草害的控制作用^[34]。鳖对天然饵料的摄食未造成稻田生物多样性的下降, 甚至可能丰富田间生物多样性, 但其对害虫的控制作用及对稻田生物多样性的影响还需结合生物调查进一步量化。

3.3 环境和胃含物 DNA 对监测稻鳖共作生态系统生物多样性和中华鳖摄食生态的可行性

环境 DNA 高通量测序的方法会导致很多实际不存在于稻鳖共作系统的物种被检出, 有些是监测分析方法导致的, 比如非特异性的片段被检出, 从而被识别为不同物种; 另外一些 DNA 信息可能是被捕食者带入稻田系统中而被检出; 还有一些是可能短暂经过或停留在稻鳖共作系统留下 DNA 信息^[35-36]。本试验稻鳖共作系统中田面土壤样本、水体样本、鳖胃含物样本和饲料样本被用作环境 DNA 分析, 在水样、土样和鳖胃含物中广泛存在而在饲料中不存在或丰度较低的物种, 可能是本试验稻鳖共作生态系统中客观存在的物种。水样中丰度较高、土样中丰度低的物种, 可能是随水源水体流动的物种; 土样中丰度高、水中丰度低的物种可能是土壤表层物种或在稻田中长期停留活动的物种; 土样和水样中丰度均较高的物种可能普遍存在于稻田生态系统。

本试验土样、水样和胃含物样本高通量测序所获得丰度较高的种类在野外调查中均有发现 (排除饲料中检测出的特种类), 但并非所有观测的物种在土样、水样或胃含物样本显示较高丰度, 甚至有一些偶然出现的物种, 如蛇类, 并未检测到有效的 DNA 信息, 说明稻田中客观存在的生物, 复杂的环境样本中未必能采集到有效的 DNA 信息, 这可能与样本采集尺度、DNA 提取技术及样本自身 DNA 降解等有关, 其他 DNA 的干扰也可能会影响分析

结果。鳖主要摄食稻田中的鱼类、节肢动物 (或幼虫)、环节动物、软体动物、轮虫等, 稻田生态系统中鱼类的丰度主要来源于水源地, 丰度与来源直接相关。水样和土样中一些物种 DNA 丰度较低却在胃含物样本中丰度较高, 这可能与个体偶然摄食相关^[37-38]。综合看来, 稻田捕食性生物胃含物及环境样本高通量测序对稻田生态系统物种组成和多样性评估可起到一定补充作用。

4 结论

稻田的生态容量有限, 要在养殖期获得目标产量, 仍需补充一定外源饲料。稻田甲鱼的天然饵料主要包括棒花鱼、麦穗鱼、泥鳅等小型鱼类, 螺类、蚌类等软体动物, 沼虾、白虾、寄蝇、摇蚊等节肢动物, 轮虫、水蚤等; 胃含物形态学分析可大致获得不同饵料的相对重要性指数, 高通量测序可相对准确地确定所摄食天然饵料种类。稻田养殖中华鳖投喂水平会影响稻田天然饵料的摄食, 投喂水平越高, 天然饵料的相对重要性指数越低; 但当投喂足够的饲料, 鳖会优先选择摄食配合饲料, 降低鳖进入稻田捕食天然饵料的积极性, 进而可能降低共作的生态效益。

参考文献:

[1] 于秀娟, 郝向举, 党子乔, 等. 中国稻渔综合种养产业发展报告 (2023)[J]. 中国水产, 2023, 573(8): 19-26.

[2] WANG C, SHI X, QI Z, et al. How does rice-animal co-culture system affect rice yield and greenhouse gas? A meta-analysis[J]. Plant and Soil, 2023, 493: 325-340.

[3] 何志刚. 稻渔综合种养生态系统中生物多样性, 营养与食物[J]. 湖南饲料, 2018(4): 13-17.

[4] SIG H, PENG C L, YUAN J F, et al. Changes in soil microbial community composition and organic carbon fractions in an integrated rice-crayfish farming system in subtropical China[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 2856.

[5] 刘其根, 李丰, 罗衡, 等. 引入养殖鳖对稻田土壤固氮菌的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2018, 24: 483-492.

[6] 罗衡, 赵良杰, 李丰, 等. 养殖鳖的引入对稻田土壤细菌群落结构的影响[J]. 水产学报, 2018, 42: 720-732.

[7] CAI S M, LV W G, ZHU H T, et al. Effect of nitrogen application rate on soil fungi community structure in a rice-fish mutualistic system[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 16188.

[8] HU L L, REN W Z, TANG J J, et al. The productivity of traditional rice-fish co-culture can be increased without increasing nitrogen loss to the environment[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2013, 177: 28-34.

[9] KOIZUMI N, MORI A, MINETA T, et al. Plant species identification using fecal DNAs from red-eared slider and Reeves' pond turtle in agricultural canals for rural eco-

system conservation[J]. Paddy and Water Environment, 2017, 15(4): 723-730. .

[10] 盛赢. 稻鳖共作对稻飞虱的防控效果[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(6): 933-934.

[11] WAN N F, LI S X, LI T, et al. Ecological intensification of rice production through rice-fish co-culture[J]. Journal of Cleaner Production, 2019, 234: 1002-1012.

[12] XIE J, HU L L, TANG J J, et al. Ecological mechanisms underlying the sustainability of the agricultural heritage rice-fish coculture system[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(50): 1381-1387.

[13] GE L, SUN Y, LI Y, et al. Ecosystem sustainability of rice and aquatic animal co-culture systems and a synthesis of its underlying mechanisms[J]. Science of the Total Environment, 2023, 880: 163314.

[14] 梁玉刚. 垄作稻鱼鸡共生系统水稻产量形成及其生态学效应研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2020.

[15] SUN C X, ZHANG D D, LIU W B, et al. Growth performance, digestion and metabolism to fish meal replacement by rice protein concentrate in Chinese soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis*[J]. Aquaculture, 2018, 492: 321-326.

[16] ZHANG J, HU L, REN W, et al. Rice-soft shell turtle co-culture effects on yield and its environment[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2016, 224: 116-122.

[17] GUO L, ZHAO L F, YE J L, et al. Using aquatic animals as partners to increase yield and maintain soil nitrogen in the paddy ecosystems[J]. eLife, 2022, 11: 73869.

[18] ZHAO J, ZOU Y, CHEN H, et al. Effects of stocking density of Chinese soft-shelled turtle and interactions between cultivated species on growth performance and the environment in a turtle-rice coculture system[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2020, 51(3): 788-803.

[19] WU B L, CHEN J, HUANG L, et al. Dynamics of soil fertility and microbial community response to stocking density in rice-turtle co-culture[J]. Aquaculture Reports, 2021, 20: 100765.

[20] WU B L, HUANG L, WU C C, et al. Comparative analysis of the growth, physiological responses, and gene expression of Chinese soft-shelled turtles cultured in different modes[J]. Animals, 2024, 14(6): 962.

[21] ASSAN D, HUANG Y, MUSTAPHA U F, et al. Fish feed intake, feeding behavior, and the physiological response of apelin to fasting and refeeding[J]. Frontiers in Endocrinology, 2021, 12: 798903.

[22] KAUSSHIK S J. Feed management and on-farm feeding practices of temperate fish with special reference to salmonids[J]. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 2013, 583: 519-551.

[23] LUO L, LI T L, XING W, et al. Effects of feeding rates and feeding frequency on the growth performances of juvenile hybrid sturgeon, *Acipenser schrenckii* Brandt♀×*A.*

- baeri* Brandt♂[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 229-233.
- [24] 李笑天, 刘宝良, 费凡, 等. 投喂策略对水产动物生长生理及行为特征影响研究进展[J]. *渔业现代化*, 2020, 47(2): 7-15.
- [25] 魏凤. 秸秆还田和投食对稻虾共作系统小龙虾食源和水生生物多样性的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2023.
- [26] PARK J C, KODAMA K, OYAMA M, et al. Changes in feeding habits of the star-spotted smooth-hound, *Mustelus manazo*, in Tokyo Bay between periods with different stock size levels[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 152: 110863.
- [27] HU Y, YANG T, LIU Y, et al. High fish stocking density weakens the effects of rice-fish co-culture on water eutrophication and greenhouse gas emissions[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2022, 233(6): 222.
- [28] 周勇, 李皓轩, 董洪瑞, 等. 基于小龙虾田间分布的稻虾共生机制探究[J]. *华中农业大学学报*, 2022, 41(4): 202-209.
- [29] 刘雯, 李娜, 鞠民, 等. 在不同稻渔共作模式下中小型土壤动物群落特征研究[J]. *江西师范大学学报 (自然科学版)*, 2021, 45(2): 188-193.
- [30] ZHANG K, PENG H H, XIA Y, et al. Evaluating ecological mechanisms and optimization strategy of rice-fish co-culture system by ecosystem approach[J]. *Aquaculture*, 2022, 560: 738561.
- [31] DUAN M C, HU W H, LIU Y H, et al. The influence of landscape alterations on changes in ground beetle (Carabidae) and spider (Araneae) functional groups between 1995 and 2013 in an urban fringe of China[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 689: 516-525. .
- [32] 申祺, 李蔚然, 于小彭, 等. 稻蟹共作对稻田生物影响的研究进展[J]. *北方水稻*, 2021, 51(5): 59-62.
- [33] 桑海旭, 马晓慧, 王井士, 等. 稻蟹共养对水稻有害生物控制效果评价[J]. *北方水稻*, 2021, 51(2): 17-20.
- [34] 蔡羽娟. 江汉平原稻农施药次数的影响因素及其对稻田节肢动物的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2023.
- [35] 陈炼, 吴琳, 刘燕, 等. 环境 DNA metabarcoding 及其在生态学研究中的应用[J]. *生态学报*, 2016, 36(15): 4573-4582.
- [36] ZHANG S, ZHENG Y T, ZHAN A B, et al. Environmental DNA captures native and non-native fish community variations across the lentic and lotic systems of a megacity[J]. *Science Advances*, 2022, 8(6): eabk0097.
- [37] MÉHEUST E, ALFONSI E, LE MÉNEC P, et al. DNA-barcoding for the identification of soft remains of prey in the stomach contents of grey seals (*Halichoerus grypus*) and harbour porpoises (*Phocoena phocoena*)[J]. *Marine Biology Research*, 2015, 11(4): 385-395.
- [38] MORAN Z, ORTH D J, SCHMITT J D, et al. Effectiveness of DNA barcoding for identifying piscine prey items in stomach contents of piscivorous catfishes[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2016, 99(1): 161-167.

【责任编辑 庄 延】