

南沙群岛珊瑚礁区黑斑鹦嘴鱼(*Scarus globiceps*)食性分析

林先智¹, 周岩岩¹, 林皓晔^{1,2}, 胡思敏^{1,3}, 黄晖^{1,3,4}, 张黎^{1,5}, 刘胜^{1,3}

1. 中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室, 广东省应用海洋生物学重点实验室, 中国科学院南海海洋研究所, 广东 广州 510301;
2. 中国科学院大学, 北京 100049;
3. 三亚海洋科学综合(联合)实验室; 海南省热带海洋生物技术重点实验室, 三亚中科海洋研究院, 海南 三亚 572000;
4. 中国科学院海南热带海洋生物实验站, 海南三亚海洋生态系统国家野外科学观测研究站, 海南 三亚 572000;
5. 三亚海洋生态环境工程研究院, 海南 三亚 572025

摘要: 鹦嘴鱼科(Scaridae)鱼类参与珊瑚礁生态系统诸多关键生态过程, 在维持珊瑚礁生态系统稳定与平衡中发挥着重要作用。由于以往研究手段的限制, 对鹦嘴鱼的食物来源及生态功能价值认识不足, 在其功能定位方面存在较多争议。本研究选择珊瑚分布的典型区域—南沙群岛中的东门礁和南薰礁为研究海域, 对该海域鹦嘴鱼优势种类黑斑鹦嘴鱼(*Scarus globiceps*)摄食的藻类多样性进行全面分析。通过 18S rDNA 和 16S rDNA 多基因条形码技术, 分别对黑斑鹦嘴鱼肠含物的真核藻类和原核藻类 DNA 进行高通量测序分析。18S rDNA 的测序结果发现, 黑斑鹦嘴鱼类的肠含物中真核藻类以甲藻(Dinoflagellata)、红藻(Rhodophyta)、绿藻(Chlorophyta)、褐藻(Ochrophyta)为主, 共计 77 个 OTU(operational taxonomic units)。甲藻相对序列丰度和多样性较高, 序列比例占真核藻类序列总数的 51.42%, 其中网甲藻科(Suessiaceae)OTU_5 在东门礁和南薰礁的样品中均超过 20%。16S rDNA 测序鉴定发现肠含物含有原核藻类(蓝藻)的序列, 共计 21 个 OTU, 其中以念珠藻目(Nostocales)的相对序列丰度最高, 达到 39.33%。本研究表明, 黑斑鹦嘴鱼在摄食过程中会摄入一定量大型藻类, 但微藻(甲藻)序列占据优势地位, 蓝藻在肠含物中也有较高的检出率, 说明需要重新考虑微藻(甲藻和蓝藻)在鹦嘴鱼食源中的重要贡献以及对珊瑚礁生态系统结构与功能的影响。

关键词: 鹦嘴鱼; 食性分析; 高通量测序; 18S rDNA; 16S rDNA; 甲藻; 蓝藻

中图分类号: Q958.8 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2024)03-0100-09

Diet analysis of the parrotfish (*Scarus globiceps*) in coral reefs of the Nansha Islands

LIN Xianzhi¹, ZHOU Yanyan¹, LIN Haoye^{1,2}, HU Simin^{1,3}, HUANG Hui^{1,3,4}, ZHANG Li^{1,5}, LIU Sheng^{1,3}

1. CAS Key Laboratory of Tropical Marine Bio-resources and Ecology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Applied Marine Biology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China;
2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;
3. CAS-HKUST Sanya Joint Laboratory of Marine Science Research, Key Laboratory of Tropical Marine Biotechnology of Hainan Province, Sanya Institute of Oceanology, SCSIO, Sanya 572000, China;
4. Sanya National Marine Ecosystem Research Station, Tropical Marine Biological Research Station in Hainan, Chinese Academy of Sciences, Sanya 572000, China;
5. Sanya Institute of Ocean Eco-Environmental Engineering, Sanya 572025, China

Abstract: The parrotfish (Scaridae) plays an important role in maintaining the stability and balance of coral reef ecosystems,

收稿日期: 2023-07-27; 修订日期: 2023-08-28。林强编辑

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFC3102001); 国家自然科学基金项目(42106150、41806188); 海南省自然科学基金创新研究团队项目(423CXTD392); 广州市科技计划项目(2023A04J0199); 广东省应用海洋生物学重点实验室运行经费(2023B1212060047)

作者简介: 林先智(1990—), 男, 安徽省定远县人, 助理研究员, 从事珊瑚礁鱼类生态学研究。email: linxianzhi@scsio.ac.cn

通信作者: 张黎, email: zhangli@scsio.ac.cn; 刘胜, email: shliu@scsio.ac.cn。

Received date: 2023-07-27; Revised date: 2023-08-28. Editor: LIN Qiang

Foundation item: National Key Research and Development Project of China (2022YFC3102001); National Natural Science Foundation of China (42106150, 41806188); Hainan Provincial Natural Science Foundation of China (423CXTD392); Science and Technology Planning Project of Guangzhou, China (2023A04J0199); Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, China (2023B1212060047)

Corresponding author: ZHANG Li, email: zhangli@scsio.ac.cn; LIU Sheng, email: shliu@scsio.ac.cn.

participating in many key ecological processes. Due to limitations in previous research methods, there is insufficient understanding of the food sources and ecological functional value of parrotfish, leading to controversies regarding their functional role. In this study, the typical areas of coral distribution, the Dongmen Reef and the Nanxun Reef in the Nansha Islands, were selected as the study sites, and the algal diversity consumed by the dominant species of parrotfish, *Scarus globiceps*, in this region was comprehensively analyzed. High-throughput sequencing analysis of the DNA in the intestinal contents of *S. globiceps* was conducted using both 18S rDNA and 16S rDNA. The sequencing results of 18S rDNA revealed that the intestinal contents of *S. globiceps* consisted mainly of several types of eukaryotic algae, including Dinoflagellata, Rhodophyta, Chlorophyta, and Ochrophyta, with a total of 77 operational taxonomic units (OTUs). Dinoflagellata had relatively high sequence abundance and diversity, accounting for 51.42% of the total eukaryotic algae sequences, with one species from the family Suessiaceae exceeding 20% in both the Dongmen Reef and Nanxun Reef samples. The sequencing of 16S rDNA identified sequences of prokaryotic algae (cyanobacteria) in the intestinal contents, with a total of 21 OTUs, and the relative sequence abundance of the order Nostocales was the highest, reaching 39.33%. This study indicates that although *S. globiceps* consumes a certain amount of macroalgae during feeding, microalgae (dinoflagellates and cyanobacteria) still dominate, suggesting the need to reconsider the important contribution of microalgae to the diet of parrotfish and their impact on the structure and function of coral reef ecosystems.

Key words: parrotfish; dietary analysis; high-throughput sequencing; 18S rDNA; 16S rDNA; dinoflagellata; cyanobacteria

鹦嘴鱼科(Scaridae)鱼类广泛分布于全球热带及亚热带珊瑚礁海域(Comeros-Raynal et al, 2012), 是植食性鱼类中的优势类群(Mumby, 2009)。鹦嘴鱼是珊瑚礁的关键类群, 其摄食信息对于了解珊瑚礁生态系统的结构、物能流通过程及恢复能力至关重要(Bellwood et al, 2004; Mumby, 2006; Hughes et al, 2007)。但由于以往研究方法和研究区域的限制, 对鹦嘴鱼的食物来源及生态功能价值认识不足, 在其功能定位方面存在较多争议(Clements et al, 2017)。

鹦嘴鱼科鱼类口型酷似鹦鹉喙部, 其特殊口器刮食珊瑚礁石表面, 或直接啃下珊瑚礁体, 以获取其附生的藻类、有机质或其他生物(Clements et al, 2017; Hoey et al, 2008)。独特的口器可以让鹦嘴鱼在几乎所有珊瑚礁底质类型上进行觅食, 并参与珊瑚礁生态系统的许多关键生态过程, 如生物蚀礁、沉积物的产生与转移及捕食珊瑚等(Bruggemann et al, 1996; Alwany et al, 2009)。室内实验和野外观察的研究表明, 鹦嘴鱼的植食行为对藻类能起到有效的下行控制作用(Williams et al, 2001; Mumby, 2006; Burkepile et al, 2008)。但也有研究人员发现, 鹦嘴鱼取食的礁石上没有或只有少量的丝状藻类和大型藻类, 而蓝藻则较为丰富, 因此认为鹦嘴鱼可能不是以丝状藻类为食, 而是珊瑚礁石表面内生的微藻等(Bruggemann et al, 1994b; Afeworki et al, 2011; Bonaldo et al, 2014; Nicholson et al, 2020)。

鹦嘴鱼通常在咽部对食物进行物理研磨(Clements et al, 2017), 经充分研磨后的肠含物多数无法辨识, 食物种类难以准确鉴定(Choat et al, 2002)。营

养学分析发现, 鹦嘴鱼肠含物蛋白质含量比其他植食性鱼类高(Crossman et al, 2005), 鹦嘴鱼的脂肪酸组成与其他植食性鱼类也存在明显不同(Clements et al, 2017)。鹦嘴鱼的单不饱和癸二酸(18:1n-7)含量更高(Piché et al, 2010), 该脂肪酸是海洋底栖食物网中细菌来源的标记物(Cnudde et al, 2015), 也是蓝藻的生化标记物(Yang et al, 2016)。碳氮稳定同位素分析发现鹦嘴鱼 $\delta^{15}\text{N}$ 缺乏, $\delta^{13}\text{C}$ 富集, 这可能是鹦嘴鱼摄食并同化蓝藻的结果(Clements et al, 2017)。虽然通过肠含物鉴定、野外观察和生化分析等方法可以为鹦嘴鱼食性及生态功能研究提供许多重要依据(Clements et al, 2017; Nicholson et al, 2020), 但在食物种类鉴定精准度上仍有不足, 限制了对鹦嘴鱼食性及生态功能的准确定位。

近年来高通量测序技术(high throughput sequencing, HTS)在动物食性分析方面表现出巨大潜力(林先智等, 2018; 张琛等, 2022)。相对于以形态学鉴定为基础的传统食性分析方法, 对肠道或粪便中残存 DNA 进行测序分析能够获取更为精确的物种信息(林先智等, 2018), 往往能发现之前容易忽视的食物来源(Lin et al, 2018)。相比于选用单一基因组区域作为条形码的单基因条形码测序分析, 多基因条形码测序分析可以克服单基因条形码的局限性, 更能全面覆盖物种信息(Pompanon et al, 2012)。本研究以南沙群岛典型珊瑚礁海域中的鹦嘴鱼优势种类黑斑鹦嘴鱼(*Scarus globiceps*)为研究对象, 运用多条形码(18S rDNA 和 16S rDNA)高通量测序技术对其肠含物种类及组成进行鉴定和分析, 获取摄入藻类的分类学信息, 了解黑斑

鹦嘴鱼对底栖藻类的摄食作用, 探讨鹦嘴鱼类在珊瑚礁生态系统中的功能地位。

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

本研究于 2016 年春季分别在南沙群岛南薰礁(10°12'46"N, 114°13'8"E)和东门礁(9°54'31"N, 114°30'10"E)的典型珊瑚礁区(造礁石珊瑚平均覆盖率>30%)进行了调查与采样。在水深 3~8m 的礁坪或外礁坡放置 50m 长三重流刺网, 放置 1h 后回收流刺网并获取鱼类样品。将采集获得的黑斑鹦嘴鱼样品带回至母船, 立即测量并记录其体长、体重等指标(表 1), 接着解剖取出鱼肠道, 保存于 95%酒精。

表 1 黑斑鹦嘴鱼采样信息

Tab. 1 The sampling information of parrotfish

编号	站点	取样数	体重/g	体长/cm
Scagl. D	东门礁	8	60.33±17.04	11.91±1.15
Scagl. N	南薰礁	8	55.03±26.33	11.61±2.11

实验室内取出鱼肠道内含物。使用 MP 粪便 DNA 快速提取试剂盒(FastDNA® Spin Kit for Feces, MP Biomedicals, Santa Ana, USA)从肠含物中提取总 DNA, 溶于 30μL Tris-HCl(10mmol·L⁻¹, pH 8.0)。DNA 纯度和含量使用分光光度法检测(Thermo NanoDrop ND-2000; Gene Company Limited, Waltham, Massachusetts, USA)。DNA 保存于-20℃。

1.2 18S rDNA 高通量测序

使用扩增片段约为 380bp 的通用引物 TAReuk454FWD1-TAReukREV3(TAReuk454FWD1: 5'-CCAGCASCYGCAGTAATTCC-3'; TAReukREV3: 5'-ACTTTCGTTCTTGATYRA-3')(Stoeck et al, 2010; 周天成等, 2020), 对 18S rDNA V4 区域进行扩增。扩增在 20μL 体系中进行: 4μL 5×FastPfu 缓冲液, 2μL 2.5mmol·L⁻¹ dNTPs, 5μmol·L⁻¹ 的正反引物各 0.8μL, 0.4μL FastPfu 聚合酶, 10ng DNA 模板。PCR 程序为: 95℃预变性 5min; 95℃变性 30s, 55℃退火 30s, 72℃延伸 45s, 进行 27 个循环; 最后 72℃延伸 10min。PCR 产物经 2%琼脂糖电泳检测后, 在 Illumina HiSeq 测序平台(Illumina, San Diego, CA, USA)进行测序。测序得到的正反向 reads 首先进行两两拼接, 过滤拼接结果, 保留序列长度大于 300bp 的序列。经过质量过滤, 去除嵌合体序列, 获得原始序列数据。

1.3 16S rDNA 高通量测序

使用上游引物“CCTACGGRRBGCASCAGKVRVGAAT”和下游引物“GGACTACNVGGGTWTCTAAT

CC”扩增原核生物 16S rDNA 上包括 V3 及 V4 的 2 个高度可变区, 扩增长度约为 440bp。扩增在 25μL 体系中进行: 2.5μL TransStart Buffer, 2μL 2.5mmol·L⁻¹ dNTPs, 1μmol·L⁻¹ 的正反引物各 1μL, 0.5μL TransStart Taq DNA, 20ng DNA 模板。PCR 程序为: 94℃预变性 3min; 94℃变性 5s, 57℃退火 90s, 72℃延伸 10s, 进行 24 个循环; 最后 72℃延伸 5min。PCR 产物经 1.5%琼脂糖电泳检测后, 在 Illumina HiSeq 测序平台(Illumina, San Diego, CA, USA)进行测序。双端测序得到的正反向 reads 首先进行两两组装连接, 保留序列长度大于 200bp 的序列。经过质量过滤, 去除嵌合体序列, 得到原始序列数据。

1.4 数据分析

对原始有效序列使用 VSEARCH(1.9.6)进行序列聚类(序列相似性设为 97%)。18S rDNA 测序获得原始序列选取 OTU 代表序列与 Silva_132 18S rRNA 数据库(<http://www.arb-silva.de/>)进行比对获得物种信息。比对的 16S rRNA 参考数据库是 Silva_132 16S rRNA 数据库(<http://www.arb-silva.de/>)。然后用 RDP classifier (Ribosomal Database Program)贝叶斯算法对 OTU 的代表性序列进行物种分类学分析, 并在不同物种分类水平(门、纲、目、科、属、种)下统计每个样本的群落组成。依据物种注释结果, 18S rDNA 测序数据剔除掉鱼类自身序列, 仅保留红藻、褐藻、绿藻、甲藻、硅藻等真核藻类序列, 16S rDNA 测序数据则仅保留蓝藻等原核藻类序列。选取 18S rDNA 测序数据中相对序列丰度最高的 20 个 OTU 及代表序列用于构建系统进化树, 16S rDNA 测序数据则使用注释为蓝藻的 OTU 用于构建系统进化树。使用 MEGA X 中的 Maximum Likelihood 法构建系统进化树, Bootstrap 值设置为 1000 次, 使用 Kimura 2-parameter Model 进行建树。丰度热图使用 R 语言(R i386 4.2.2)“heatmap2”包构建。

2 结果与分析

2.1 高通量测序数据

18S rDNA 测序共获取原始序列 113511 条, 其中有效真核藻类序列 18651 条, 占原始序列的 16.4%, 分属于 77 个 OTU。16S rDNA 测序共获取原始序列 81130 条, 其中有效原核藻类(蓝藻)序列 5689 条, 占原始序列的 7.01%, 分属于 21 个 OTU。稀释曲线显示 18S rDNA 和 16S rDNA 获取的有效藻类序列已达到平台期, 测序结果能够覆盖所测样品的藻类物种多样性(图 1)。

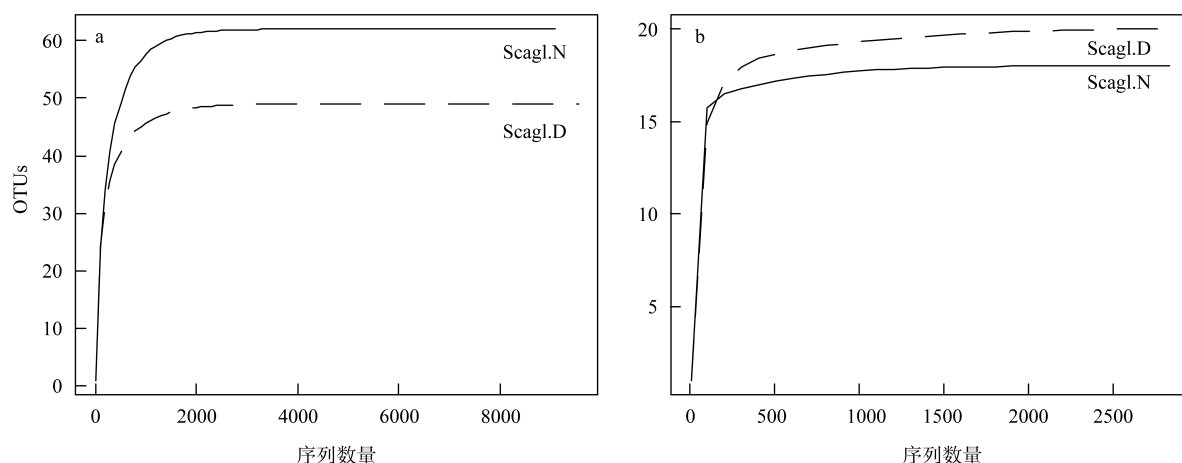


图1 黑斑鹦嘴鱼肠含物序列 OTU 与序列数量稀释曲线

a. 18S rDNA 高通量测序; b. 16S rDNA 高通量测序

Fig.1 Rarefaction curves between sequences and OTUs in the gut contents of *S. globiceps*. (a) 18S rDNA metabarcoding; (b) 16S rDNA metabarcoding

根据物种比对结果, 有效真核藻类序列中有 10 个 OTU 鉴定到门/纲水平, 序列数量占真核藻类序列数量的 12.99%, 6 个的 OTU 鉴定到目水平, 序列数量占比 7.79%, 2 个的 OTU 鉴定到科水平, 序列数量占比 2.60%, 11 个的 OTU 鉴定到属水平, 序列数量占比 14.29%, 48 个的 OTU 鉴定到种水平, 序列数量占比

62.34%(图 2a)。有效原核藻类序列中有 8 个的 OTU 鉴定到目水平, 序列数量占原核藻类序列数量的 38.10%, 1 个的 OTU 鉴定到科水平, 序列数量占比 4.76%, 9 个的 OTU 鉴定到属水平, 序列数量占比 42.86%, 3 个的 OTU 鉴定到种水平, 序列数量占比 14.29%(图 2b)。

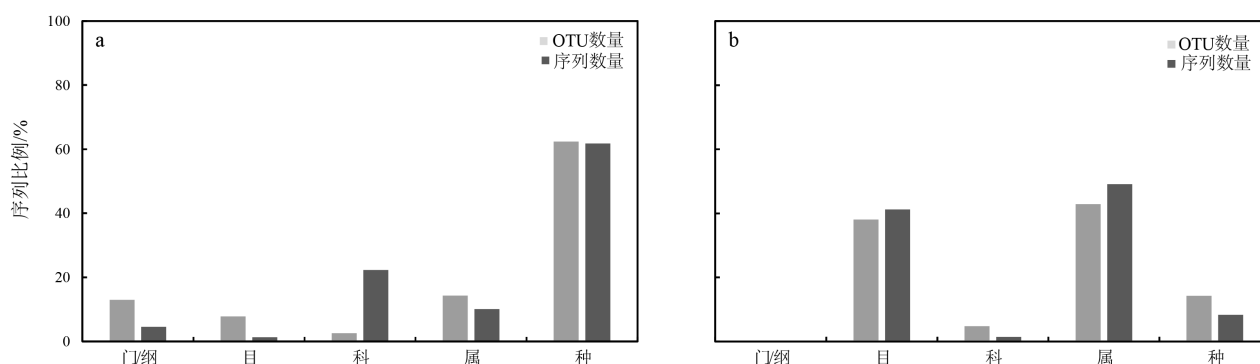


图2 黑斑鹦嘴鱼肠含物藻类序列和 OTU 在各分类水平丰度比例

a. 18S rDNA 高通量测序; b. 16S rDNA 高通量测序

Fig. 2 The proportion of algal sequence and OTU in different taxonomic levels identified in the gut contents of *S. globiceps*. (a) 18S rDNA metabarcoding; (b) 16S rDNA metabarcoding

2.2 肠含物藻类序列组成

黑斑鹦嘴鱼肠含物 18S rDNA 测序获取的真核藻类序列包含甲藻(Dinoflagellata)、褐藻(Ochrophyta)、红藻(Rhodophyta)、绿藻(Chlorophyta)和硅藻(Bacillariophyta)。甲藻序列数量最为丰富, 占真核藻类序列数量的 51.42%, 其次为褐藻、绿藻和红藻, 占比分别为 20.47%、16.89%和 11.13%, 硅藻序列最少, 仅为 0.09%(图 3a)。16S rDNA 测序获取的原核藻类(蓝藻 Cyanobacteria)中, 念珠藻目(Nostocales)序列数量最为丰富, 占原核藻类序列数量的 39.66%,

其次为 Chloroplast、聚球藻目(Synechococcales)和 Leptolyngbyales, 占比分别为 32.62%、11.92%和 8.02%, Eurycoccales、Phormidesmiales 和 Oxyphotobacteria 序列较少, 分别为 4.18%、1.83%和 1.78%(图 3b)。

2.3 肠含物藻类物种多样性及相对序列丰度

黑斑鹦嘴鱼肠内含物中真核藻类种类主要来自于红藻、褐藻、甲藻和绿藻 4 个门类(图 4a)。甲藻种类不仅优势明显, 且物种多样性最高, 包含 8 个 OTU 种类, 8 个 OTU 分属于的网甲藻目(Suessiales)、Peridiniales 目、原甲藻目(Prorocentrales)和裸甲藻目

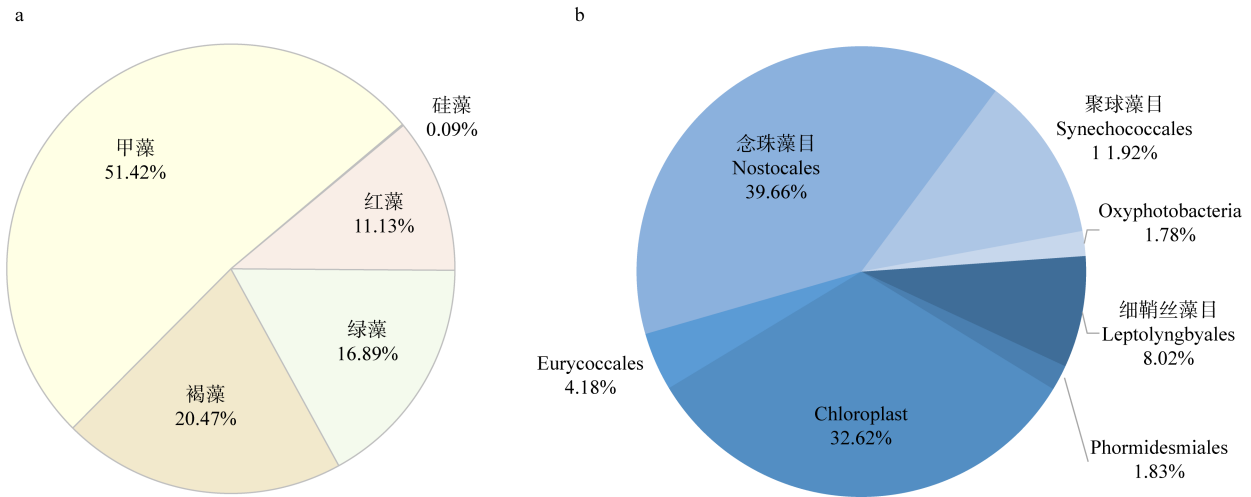


图3 黑斑鹦嘴鱼肠含物中藻类组成

a. 18S rDNA 真核藻类; b. 16S rDNA 蓝藻

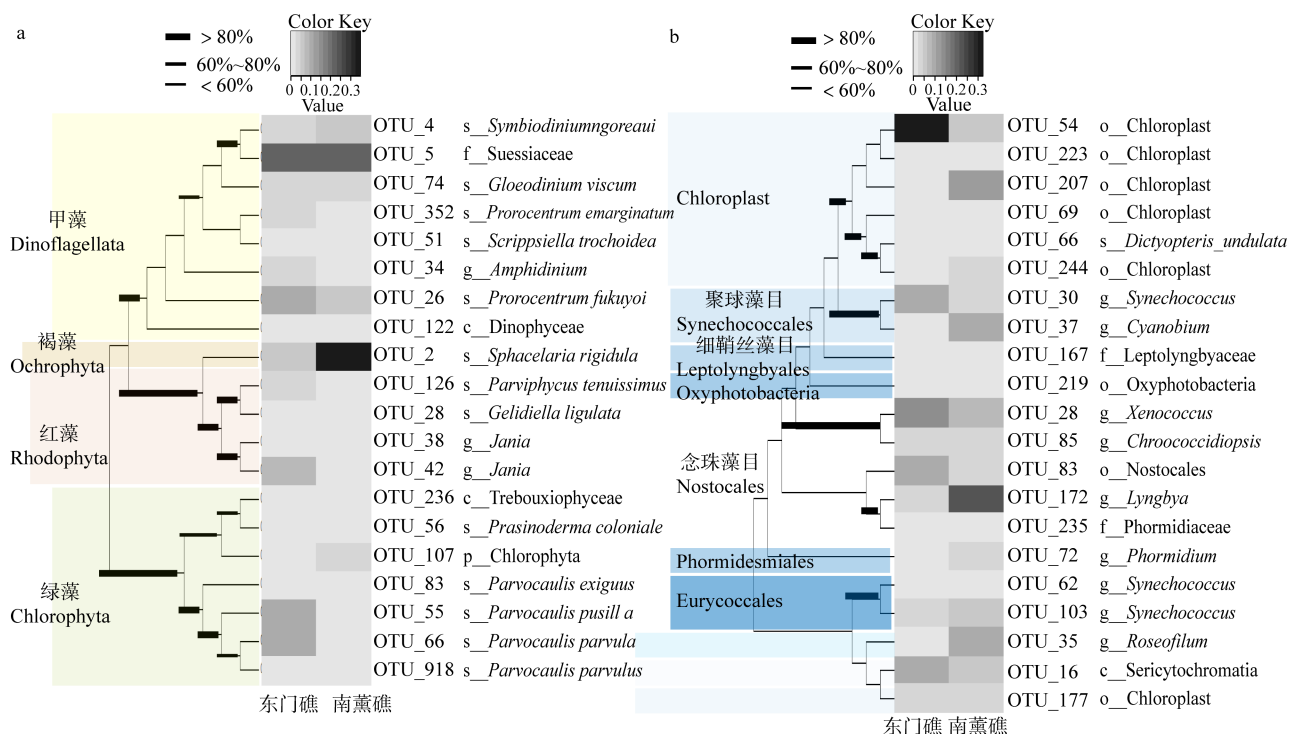
Fig. 3 Algal composition detected in the gut content of *S. globiceps*. (a) 18S rDNA eukaryotic algae; (b) 16S rDNA cyanobacteria

图4 黑斑鹦嘴鱼肠含物中藻类物种多样性及相对序列丰度

a. 18S rDNA 真核藻类; b. 16S rDNA 蓝藻

Fig. 4 Species diversity and relative read abundance of algae detected in the gut content of *S. globiceps*. (a) 18S rDNA eukaryotic algae; (b) 16S rDNA cyanobacteria

(Gymnodiniales)。其中以网甲藻科(Suessiaceae)中的 OTU_5 优势最为显著,在两个岛礁中相对序列丰度均超高 20%,并与同为网甲藻科的虫黄藻(*Symbiodinium goreau*, OTU_4)相似度高(相似性>99%)。原甲藻目中的原甲藻(*Prorocentrum fukuyoi*, OTU_26)、裸甲藻目中的双甲藻(*Amphidinium* sp., OTU_34)以及 Peridiniales 目中的 *Gloeodinium viscum*(OTU_74)丰度在所有鹦嘴鱼肠内含物样品中普遍存在。褐藻种类的

多样性低,仅以颇硬黑顶藻(*Sphacelaria rigidula*)丰度较高,在南薰礁中丰度最高达 34.77%,但在东门礁的样品中仅为 4.71%。红藻种类在所有肠含物样品中均检测到一定丰度,叉珊藻(*Jania* sp., OTU_38 和 OTU_42)丰度较高,最高可达 7.82%,其次为石花菜目(Gelidiales)中的 *Parviphycus tenuissimus*(OTU_126)和凝花菜(*Gelidiella ligulata*, OTU_28),相对序列丰度分别为 0.9%~2.5%和 0.6%~2.3%。绿藻仅在东门礁的样

品中检测到较高的物种数量和丰度, 多为绒枝藻目(Dasycladales)下的伞藻(*Parvocaulis* spp., OTU_55、OTU_66、OTU_918 和 OTU_83), 丰度最高的为小伞藻(*P. parvula*, OTU_66), 相对序列丰度为 10.89%。

黑斑鹦嘴鱼肠内含物中原核藻类(蓝藻)多数种类在两个岛礁样品中均有所检出(图 4b)。Chloroplast 包含 7 个 OTU, 但仅有一个 OTU 鉴定到种波状网翼藻(*Dictyopteris undulata*, OTU_66), OTU_54 丰度最高, 在东门礁的样品中丰度达到 32.23%。聚球藻目(Synechococcales)中的聚球藻(*Synechococcus*)和 *Cyanobium* 在两个岛礁的样品中均有检测出, 相对序列丰度分别为 2.68%~10.22% 和 1.36%~9.57%。Leptolyngbyales 目的种类(OTU_167)丰度低(<1%), Oxyphotobacteria 目的种类(OTU_219)在两个岛礁样品中均有检测出, 但丰度不高, 均小于 2%。念珠藻目(Nostocales)包含 6 个 OTU, 多样性和丰度均较高, 并且在两个岛礁的样品中均有所检出, 其中以 *Lyngbya* (OTU_172)丰度最高, 在南薰礁样品中的丰度达到 22.00%, 东门礁样品中丰度较高的则为 *Xenococcus*(OTU_28, 14.91%)。Phormidiales 目仅含 1 个 OTU(*Phormidium*, OTU_72), 虽然在两个岛礁中均有检出, 但丰度不高, 小于 5%。Euryococcales 目包含 2 个 OTU, 均为 *Synechococcus*, 丰度最高时也仅为 4.73%。

3 讨论

由于传统方法在物种鉴定方面的限制, 只能简单地将鹦嘴鱼摄入的成分分为不同类群, 如大型藻类、钙化藻类、丝状藻类以及无法鉴定的碎屑等(Choat et al, 2002; Mumby, 2006), 通常未具体到食物种类。加上鹦嘴鱼特殊的摄食及消化过程, 许多生物种类经研磨后无法辨识(Clements et al, 2017)。因此, 本研究利用多条形码高通量测序技术对黑斑鹦嘴鱼的肠内含物进行鉴定, 获得黑斑鹦嘴鱼摄入的真核藻类和原核藻类准确的物种分类学信息, 拓展了对黑斑鹦嘴鱼食物来源的认识, 有助于深入了解鹦嘴鱼食性特征及生态功能。

3.1 鹦嘴鱼食性

采取刮食或啃食的鹦嘴鱼通过“打包”式的摄食方式连同藻类附着的基质一同摄入体内(Clements et al, 2017; Tebbett et al, 2019), 因此往往会带入较多其他生物, 如生活于藻席(algal turfs)中的甲壳类等(Kramer et al, 2013)。此种特殊的摄入方式可能会影响对鹦嘴鱼真正摄食对象的判别(Clements et al, 2017)。有研究表

明, 鹦嘴鱼属鱼类多以藻席、壳状珊瑚藻和珊瑚礁石内生的藻类为取食目标, 而尽量避免大型藻类(Bonaldo et al, 2008; Adam et al, 2015)。本研究中对黑斑鹦嘴鱼肠内含物 18S rDNA 的检测结果显示, 大型藻类相对序列丰度较低。虽然 18S rDNA 引物在 PCR 过程中可能存在偏向性, 导致定量数据存在一定偏差, 但大型藻类的序列丰度不足真核藻类序列总数的一半, 在原始序列组成中的占比更低, 说明黑斑鹦嘴鱼可能并不倾向于摄食大型藻类本身。一般来说, 鹦嘴鱼对于蛋白质和脂质的同化效率(>90%)要高于碳水化合物(<70%)(Crossman et al, 2005), 会更倾向于去觅食富含更多蛋白质成分的食物(Hanmer et al, 2017)。藻席中含有丰富的碎屑成分, 其蛋白质能量比、C/N 比和总水解氨基酸含量都要高于大型藻类(Wilson et al, 2003)。故黑斑鹦嘴鱼在摄食藻席或其他基质可能是为获取其中的其他营养成分, 而在摄食过程中带入了大型藻类或丝状藻类等。

Clements 等(2017)基于鹦嘴鱼饲养实验、形态特征、生化分析、组织成分和消化机制等方面的证据, 提出大多数鹦嘴鱼以蓝藻为食的观点。蓝藻生长于珊瑚礁石表层、大型藻类或海草表面, 或与固着生长的无脊椎动物共生, 鹦嘴鱼把以上种类作为刮食或啃食对象, 可能是为获取其中生长的蓝藻或其他微藻(Clements et al, 2017)。Nicholson 等(2020)通过对 5 种鹦嘴鱼的觅食基质进行显微观察发现, 所有鹦嘴鱼摄食的基质内都长有高密度的丝状蓝藻, 而大型藻类几乎没有或并不优势, 其结果证明了鹦嘴鱼以微藻为食的观点。虽然 16S rDNA 在测序过程中同时会检测出肠道微生物, 影响对蓝藻的测序效力, 但本研究通过 16S rDNA 高通量测序在黑斑鹦嘴鱼肠内含物中仍然检测出一定量的蓝藻序列(约占原始序列数的 7.01%)。Scott 等(2020)对包括 1 种鹦嘴鱼(*Scarus taeniopterus*)在内的 5 种植食性鱼类肠道微生物进行 16S rDNA 高通量测序发现, 蓝藻序列约占鹦嘴鱼肠内含物测序序列总数的 2%, 但在其他植食性鱼类肠内含物中并未检测出相关蓝藻序列。不仅如此, 本研究 18S rDNA 高通量测序检测出丰富的甲藻序列(图 2a)。这些结果都说明了鹦嘴鱼可能以微藻为主要取食对象。另外, 本研究检测到硅藻序列相对丰度低, 可能是由于硅藻在鹦嘴鱼咽部研磨破碎后, DNA 经消化过程后降解严重所致, 但也有可能是来源于 PCR 过程中引物偏向性所导致的误差, 因此, 并不能排除硅藻是鹦嘴鱼的食物来源之一。

3.2 鹦嘴鱼对不同藻类的移除作用

黑斑鹦嘴鱼肠内含物中原核藻类(蓝藻)种类在本研究调查的两个岛礁样品中均有所检出,且岛礁间的差异较小。蓝藻是珊瑚礁区中重要的初级生产者之一,也是活珊瑚死亡后附着于珊瑚骨骼上的先锋物种,但由于传统监测手段的限制,其在珊瑚礁生态系统中的重要地位往往容易被忽视(Clements et al, 2017)。本研究发现黑斑鹦嘴鱼摄食的蓝藻种类来自于 Chloroplast 目、聚球藻目、念珠藻目等,表明黑斑鹦嘴鱼对上述藻类可能起到一定的下行控制作用,其摄食信息对于准确理解鹦嘴鱼的生态功能具有重要帮助。

本研究中黑斑鹦嘴鱼肠内含物检测出的真核藻类以甲藻序列丰度和多样性均最为优势,而其他藻类相对序列丰度较低。甲藻种类以原甲藻属和网甲藻科为主。原甲藻在珊瑚礁区广泛分布(Sakka et al, 2000),附生于大型藻类或丝状表面,常会被刺尾鱼科(Acanthuridae)、雀鲷科(Pomacentridae)和鹦嘴鱼科的鱼类摄入(Kohler et al, 1992)。本研究检测出的网甲藻科(OTU_5)优势明显,并与虫黄藻(OTU_4)之间进化关系较近,相似性高(图 4a),推测可能同为虫黄藻种类。虫黄藻为珊瑚礁区特有的甲藻种类,是可进行光合作用进行自养的单细胞藻类(Muscatine et al, 1981; Hatcher, 1988)。虫黄藻可自由生活,也与包括造礁石珊瑚在内的多种无脊椎动物宿主共生,在珊瑚礁区普遍存在(Huang et al, 2013),故也有可能被黑斑鹦嘴鱼随附着基质一同摄入,但是否是作为黑斑鹦嘴鱼的主要取食仍需要进一步的确认和研究。

虽然鹦嘴鱼在珊瑚礁区摄食藻席或其他钙化基质,可能是为获取其中的微藻,如甲藻和蓝藻等,但在摄食过程中也不可避免会移除部分大型藻类和丝状藻类。本研究中,黑斑鹦嘴鱼肠内含物中肉质和叶状大型藻类的种类和丰度均较少,而珊瑚藻(叉珊瑚)和丝状藻类(黑顶藻)较为优势(图 4a)。丝状藻类是藻席的重要组成部分(Purcell et al, 2001; Tebbett et al, 2019)。虽然南薰礁和东门礁的采样站位具有相似的珊瑚礁生境特征(造礁石珊瑚覆盖率>30%),但两个岛礁黑斑鹦嘴鱼肠内含物中大型藻类和丝状藻类的种类组成差异较

大,检出的大型藻类和丝状藻类可能来源于摄食过程中的随机带入。因此,由于特殊的取食方式,鹦嘴鱼在摄食过程中可能会对某些藻类起到一定的移除效力。

3.3 存在的不足及未来研究方向

采取不同摄食方式的鹦嘴鱼类因对食物偏好不同(Bruggemann et al, 1994a),在口器形态及摄食习性上存在一定差异,如刮食者(scrappers)和啃食者(excavators)(Clements et al, 2017)。不同种类的鹦嘴鱼类在珊瑚礁生态系统中可能具有不同的功能地位(Nanami, 2016),产生的生态效应也会不同(Bonaldo et al, 2011)。因此,在未来的研究中需要对采取不同摄食方式的鹦嘴鱼类开展比较研究,以便更为全面地了解鹦嘴鱼类这一功能群体在珊瑚礁生态系统中的重要地位。其次,本研究使用的检测方法是基于鹦嘴鱼肠内含物 DNA,无法区分藻类或其他生物的不同生长阶段,鹦嘴鱼也可能摄入同一藻类但处于不同生长阶段的营养体、组织或碎屑,故也需要甄别。最后,珊瑚礁生境的差异也可能会影响鹦嘴鱼的摄食行为(Gordon et al, 2016),未来可开展鹦嘴鱼在不同珊瑚礁生境下的摄食差异研究,以了解人为活动下珊瑚礁鱼类生存状况及生态功能的相应变化。

4 结论

本研究采用多条形码高通量测序技术对南沙群岛珊瑚礁优势鱼类黑斑鹦嘴鱼进行食性分析,获取其摄入的真核和原核藻类高分辨率物种信息。18S rDNA 的测序结果发现,黑斑鹦嘴鱼检测出较多种类的大型真核藻类,包括红藻、绿藻、褐藻等,但甲藻种类更为丰富,且相对序列丰度较高(尤其是虫黄藻)。16S rDNA 的测序也发现较为丰富的蓝藻种类及序列丰度。以往研究多集中于鹦嘴鱼对大型藻类和藻席的移除作用,而忽视以甲藻、蓝藻为代表的微藻对鹦嘴鱼食源的贡献及其由此可能产生的生态学效应。考虑到目前对珊瑚礁鱼类的过度捕捞以及珊瑚礁的生境退化,都可能直接影响鹦嘴鱼类在珊瑚礁中的生存状况,人类活动对鹦嘴鱼类生态功能的影响仍需要进一步的研究和探讨。

参考文献 References

林先智, 胡思敏, 刘胜, 等, 2018. 传统测序与高通量测序在稚鱼食性分析中的比较[J]. 应用生态学报, 29(9): 3093–3101.
LIN XIANZHI, HU SIMIN, LIU SHENG, et al, 2018. Comparison between traditional sequencing and high-throughput sequencing on the dietary analysis of juvenile

fish[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 29(9): 3093–3101 (in Chinese with English abstract).

张琛, 胡思敏, 林先智, 等, 2022. 南沙珊瑚礁区波纹钩鳞(Balistapus undulatus)食性和营养级分析[J]. 热带海洋学报, 41(1): 7–14. ZHANG CHEN, HU SIMIN, LIN XIANZHI, et

- al, 2022. Diet and trophic level analysis of triggerfish (*Balistapus undulatus*) in coral reefs of Nansha[J]. Journal of Tropical Oceanography, 41(1): 7–14 (in Chinese with English abstract).
- 周天成, 胡思敏, 林先智, 等, 2020. 基于 18S rDNA 条形码技术的珊瑚礁区塔形马蹄螺(*Tectus pyramis*)食性分析[J]. 海洋科学, 44(2): 99–107. ZHOU TIANCHENG, HU SIMIN, LIN XIANZHI, et al, 2020. Study on the feeding habits of *Tectus pyramis* in the coral reef ecosystem based on 18S rDNA barcoding[J]. Marine Sciences, 44(2): 99–107. (in Chinese with English abstract).
- ADAM T C, KELLEY M, RUTTENBERG B I, et al, 2015. Resource partitioning along multiple niche axes drives functional diversity in parrotfishes on Caribbean coral reefs[J]. Oecologia, 179(4): 1173–1185.
- AFEWORKI Y, BRUGGEMANN J H, VIDELER J J, 2011. Limited flexibility in resource use in a coral reef grazer foraging on seasonally changing algal communities[J]. Coral Reefs, 30(1): 109–122.
- ALWANY M A, THALER E, STACHOWITSCH M, 2009. Parrotfish bioerosion on Egyptian Red Sea reefs[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 371(2): 170–176.
- BELLWOOD D R, HUGHES T P, FOLKE C, et al, 2004. Confronting the coral reef crisis[J]. Nature, 429(6994): 827–833.
- BONALDO R M, BELLWOOD D R, 2008. Size-dependent variation in the functional role of the parrotfish *Scarus rivulatus* on the Great Barrier Reef, Australia[J]. Marine Ecology Progress Series, 360: 237–244.
- BONALDO R M, KRAJEWSKI J P, BELLWOOD D R, 2011. Relative impact of parrotfish grazing scars on massive *Porites* corals at Lizard Island, Great Barrier Reef[J]. Marine Ecology Progress Series, 423: 223–233.
- BONALDO R M, HOEY A S, BELLWOOD D R, 2014. The Ecosystem roles of parrotfishes on tropical reefs[M]/HUGHES R N, HUGHES D J, SMITH I P, Oceanography and marine biology: An annual review. Boca Raton: CRC Press: 81–132.
- BRUGGEMANN J H, KUYPER M W M, BREEMAN A M, 1994a. Comparative-analysis of foraging and habitat use by the sympatric Caribbean parrotfish *Scarus vetula* and *Sparisoma viride* (Scaridae)[J]. Marine Ecology Progress Series, 112: 51–66.
- BRUGGEMANN J H, VAN OPPEN M J H, BREEMAN A M, 1994b. Foraging by the stoplight-parrotfish *Sparisoma-viride*. I. food selection in different, socially determined habitats[J]. Marine Ecology Progress Series, 106: 41–55.
- BRUGGEMANN J H, VAN KESSEL A M, VAN ROOIJ J M, et al, 1996. Bioerosion and sediment ingestion by the Caribbean parrotfish *Scarus vetula* and *Sparisoma viride*: Implications of fish size, feeding mode and habitat use[J]. Marine Ecology Progress Series, 134(1–3): 59–71.
- BURKEPILE D E, HAY M E, 2008. Herbivore species richness and feeding complementarity affect community structure and function on a coral reef[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105(42): 16201–16206.
- CHOAT J H, CLEMENTS K D, ROBBINS W D, 2002. The trophic status of herbivorous fishes on coral reefs - I: Dietary analyses[J]. Marine Biology, 140(3): 613–623.
- CLEMENTS K D, GERMAN D P, PICHE J, et al, 2017. Integrating ecological roles and trophic diversification on coral reefs: multiple lines of evidence identify parrotfishes as microphages[J]. Biological Journal of the Linnean Society, 120(4): 729–751.
- CNUUDE C, MOENS T, WERBROUCK E, et al, 2015. Trophodynamics of estuarine intertidal harpacticoid copepods based on stable isotope composition and fatty acid profiles[J]. Marine Ecology Progress Series, 524: 225–239.
- COMEROS-RAYNAL M T, CHOAT J H, POLIDORO B A, et al, 2012. The likelihood of extinction of iconic and dominant herbivores and detritivores of coral reefs: The Parrotfishes and Surgeonfishes[J]. PLoS One, 7(7): e39825.
- CROSSMAN D J, CHOAT J H, CLEMENTS K D, 2005. Nutritional ecology of nominally herbivorous fishes on coral reefs[J]. Marine Ecology Progress Series, 296: 129–142.
- GORDON S E, GOATLEY C H R, BELLWOOD D R, 2016. Low-quality sediments deter grazing by the parrotfish *Scarus rivulatus* on inner-shelf reefs[J]. Coral Reefs, 35(1): 285–291.
- HANMER J, WHITE J W, PAWLIK J R, 2017. Application of diet theory reveals context-dependent foraging preferences in an herbivorous coral reef fish[J]. Oecologia, 184(1): 127–137.
- HATCHER B G, 1988. Coral reef primary productivity: a beggar's banquet[J]. Trends in Ecology & Evolution, 3(5): 106–111.
- HOEY A S, BELLWOOD D R, 2008. Cross-shelf variation in the role of parrotfishes on the Great Barrier Reef[J]. Coral Reefs, 27(1): 37–47.
- HUANG H, ZHOU G W, YANG J H, et al, 2013. Diversity of free-living and symbiotic *Symbiodinium* in the coral reefs of Sanya, South China Sea[J]. Marine Biology Research, 9(2): 117–128.
- HUGHES T P, RODRIGUES M J, BELLWOOD D R, et al, 2007. Phase shifts, herbivory, and the resilience of coral reefs to climate change[J]. Current Biology, 17(4): 360–365.
- KOHLER S T, KOHLER C C, 1992. Dead bleached coral provides new surfaces for dinoflagellates implicated in ciguatera fish poisonings[J]. Environmental Biology of Fishes, 35(4): 413–416.
- KRAMER M J, BELLWOOD O, BELLWOOD D R, 2013. The trophic importance of algal turfs for coral reef fishes: the crustacean link[J]. Coral Reefs, 32(2): 575–583.
- LIN X Z, HU S M, LIU S, et al, 2018. Unexpected prey of juvenile spotted scat (*Scatophagus argus*) near a wharf: The prevalence of fouling organisms in stomach contents[J]. Ecology and Evolution, 8(16): 8547–8554.
- MUMBY P J, 2006. The impact of exploiting grazers (scaridae) on the dynamics of Caribbean coral reefs[J]. Ecological Applications, 16(2): 747–769.

- MUMBY P J, 2009. Herbivory versus corallivory: are parrotfish good or bad for Caribbean coral reefs? [J]. *Coral Reefs*, 28(3): 683–690.
- MUSCATINE L, MCCLOSKEY L R, MARIAN R E, 1981. Estimating the daily contribution of carbon from zooxanthellae to coral animal respiration[J]. *Limnology and Oceanography*, 26(4): 601–611.
- NANAMI A, 2016. Parrotfish grazing ability: interspecific differences in relation to jaw-lever mechanics and relative weight of adductor mandibulae on an Okinawan coral reef[J]. *PeerJ*, 4(9):e2425.
- NICHOLSON G M, CLEMENTS K D, 2020. Resolving resource partitioning in parrotfishes (Scarini) using microhistology of feeding substrata[J]. *Coral Reefs*, 39(5): 1313–1327.
- PICHÉ J, IVERSON S J, PARRISH F A, et al, 2010. Characterization of forage fish and invertebrates in the Northwestern Hawaiian Islands using fatty acid signatures: species and ecological groups[J]. *Marine Ecology Progress*, 41: 81–15.
- POMPANON F, DEAGLE B E, SYMONDSON W O C, et al, 2012. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing[J]. *Molecular Ecology*, 21(8): 1931–1950.
- PURCELL S W, BELLWOOD D R, 2001. Spatial patterns of epilithic algal and detrital resources on a windward coral reef[J]. *Coral Reefs*, 20(2): 117–125.
- SAKKA A, LEGENDRE L, GOSSELIN M, et al, 2000. Structure of the oligotrophic planktonic food web under low grazing of heterotrophic bacteria: Takapoto Atoll, French Polynesia[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 197: 1–17.
- STOECK T, BASS D, NEBEL M, et al, 2010. Multiple marker parallel tag environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in marine anoxic water[J]. *Molecular Ecology*, 19(S1): 21–31.
- TEBBETT S B, BELLWOOD D R, 2019. Algal turf sediments on coral reefs: what's known and what's next[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 149: 110542.
- WILLIAMS I D, POLUNIN N V C, HENDRICK V J, 2001. Limits to grazing by herbivorous fishes and the impact of low coral cover on macroalgal abundance on a coral reef in Belize[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 222: 187–196.
- WILSON S K, BELLWOOD D R, CHOAT J H, et al, 2003. Detritus in the epilithic algal matrix and its use by coral reef fishes[M]// GIBSON R N, ATKINSON R J A, *Oceanography and marine biology: an annual review*. London: Taylor & Francis: 279–309.
- YANG D, NAM S, HWANG S J, et al, 2016. Fatty acid biomarkers to verify cyanobacteria feeding abilities of herbivorous consumers[J]. *Journal of Freshwater Ecology*, 31(1): 77–91.