

文章编号: 1674-5566(2024)04-0900-11

DOI: 10.12024/jsou.20240404472

基于高通量测序的西北太平洋柔鱼食性初步分析

王欣¹, 刘必林^{1,2,3,4}, 何俊杰¹, 宋林玮¹

(1. 上海海洋大学海洋生物资源与管理学院, 上海 201306; 2. 国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室, 上海 201306; 4. 农业农村部大洋渔业可持续利用重点实验室, 上海 201306)

摘要: 为深入了解柔鱼食性, 探明其在食物网中的位置和生态功能价值, 根据2022年6—8月于西北太平洋公海采集的15尾柔鱼样本, 采用高通量测序技术分析其食物组成。结果显示, 15尾样品的高通量序列为646 980条, 通过聚类分析共得到624个运算分类单元(OTU), 经筛选比对检测到的饵料共计65种, 分属6门11纲22目37科51属。研究表明, 柔鱼主要摄食头足类、鱼类以及多种浮游动物(包括磷虾类、介形类、水母类等)。优势饵料包括拟沙丁鱼、日本爪乌贼、北方拟贻乌贼、萤乌贼、尾棘背灯鱼等。柔鱼摄食范围广, 饵料物种与海区的天然饵料有关; 不同胴长组柔鱼表现出不同的摄食偏好。通过柔鱼胃含物的全组成分析, 对深度挖掘摄食与柔鱼生长、洄游、繁殖等生活史的关系有重要作用, 同时为基于生态系统角度的柔鱼资源可持续开发和养护提供科学依据。

关键词: 柔鱼; 食性; 高通量测序; 西北太平洋; 胃含物

中图分类号: S 931.1 **文献标志码:** A

柔鱼(*Ommastrephes bartramii*)是一种重要的海洋经济头足类, 目前对于柔鱼的开发集中在北太平洋海域^[1]。头足类在生态系统中具有重要地位, 其在连接海洋食物网中第三营养级生物和顶级捕食者方面发挥着关键作用^[2]。在北太平洋海域, 柔鱼是海豹、鲸等海洋哺乳动物及剑鱼(*Xiphias gladius*)等大型中上层鱼类的重要饵料^[3], 且柔鱼捕食浮游动物甲壳类、鱼类和头足类等多种海洋生物^[4-5]。摄食作为柔鱼的基本生命活动之一, 与其昼夜垂直分布、洄游、生长等密切相关。通过研究柔鱼摄食生态可获得柔鱼全面的食物组成, 揭示柔鱼与其他海洋生物的营养级关系, 确定柔鱼在食物网中的位置, 从而深入了解海洋生态网络^[6]。探明柔鱼食物组成信息是摄食生态研究的基础, 是构建高分辨率食物网的重要环节和依据^[7-8]。明确柔鱼与饵料生物的营养关系可进一步探究其相互作用及直接或间接的

数量变动情况, 为从海洋生态系统角度上管理和养护柔鱼资源及其他海洋生物提供基础资料。

柔鱼的食性研究方法有胃含物形态学鉴定法、稳定同位素分析法、脂肪酸标记法、高通量测序技术等。胃含物形态学鉴定法主要依赖胃肠道中未被完全消化的组织器官的形态学特征进行鉴定, 对鉴定人员的专业能力要求较高, 且无法获取相对完整的饵料种类信息^[9]。稳定同位素分析法和脂肪酸标记法可定性食物来源的范围, 但难以确定具体的食物组成^[10]。随着分子生物学技术的发展, 高通量测序技术具有高灵敏度、所需样本量少、精确度高、检测范围大等优点而逐渐被应用到食性分析领域^[11]。在高通量测序中出现次数较少的DNA序列也能被检测到, DNA序列数的多少反映生物对饵料取食的偏好和相对量的大小^[12]。运用高通量测序技术可获得柔鱼较为全面的食物组成, 高通量测序在食性分析

收稿日期: 2024-04-01 修回日期: 2024-05-24

基金项目: 农业农村部全球渔业资源调查监测评估(公海渔业资源综合科学调查)专项(D-8025-23-1002); 上海市高校特聘教授“东方学者”岗位跟踪计划(GZ2022011)

作者简介: 王欣(2002—), 女, 研究方向为渔业资源学。E-mail: xinwang0302@163.com

通信作者: 刘必林, E-mail: bl-liu@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

方面具有巨大的应用潜力。因此,本研究通过高通量测序技术对西北太平洋柔鱼的食性进行研究,以期揭示其食物种类组成,掌握不同胴长组柔鱼的饵料组成差异特征,为柔鱼资源养护和管理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集

柔鱼样本于2022年6—8月由上海海洋大学“淞航”号渔业资源科考船在执行农业农村部公海渔业资源综合科学调查期间,在西北太平洋公海海域(157°22′22″E~164°01′16″E,38°00′18″N~44°12′16″N)采集。样本在船上-20℃条件下冻存,待船靠岸后立即运往实验室进行后续研究。

1.2 样本处理

所有样本采集、实验流程、研究方法均严格按照《上海海洋大学实验室动物伦理规范》和上海海洋大学伦理委员会制定的规章制度执行。

柔鱼样本在实验室解冻清洗后,测定胴长、体质量、性别、性成熟度等基础生物学数据。其中,长度精确至1 mm,质量精确至1 g。随机选取15尾柔鱼样本取出胃并称取胃质量和胃净质量(精确至0.000 1 g)。采用DNA研磨仪(Tube Mill 100 control)将胃含物研磨均匀,移入无菌离心管中,-80℃保存待测。

1.3 高通量测序

将胃含物充分匀浆并离心后,提取基因组DNA,使用引物COIintF(GGWACWGGWTGAACWGTWTAYCCYCC)和jgHCO2198R(TANACYTCNGGRTGNCRAARAAYCA)进行目的基因扩增,利用1×TAE的2%琼脂糖凝胶电泳检测。PCR扩增体系:2×proTaq DNA聚合酶10 μL,正反引物(5 μmol)各0.8 μL,DNA模板10 ng/μL,补ddH₂O至20 μL。PCR程序:95℃预变性5 min,95℃变性60 s,47℃退火120 s,72℃延伸60 s,反应循环数为35,最后72℃延伸5 min。PCR产物用2%琼脂糖凝胶电泳检测,使用AxyPrepDNA凝胶回收试剂盒(AXYGEN公司)进行纯化,Tris-HCl洗脱。利用QuantiFluor™-ST蓝色荧光定量系统(Promega公司)将PCR产物检测定量。利用

TruSeq™ DNA Sample Prep Kit试剂构建Illumina文库,在Illumina MiSeq测序平台进行双端测序(由上海美吉生物医药科技有限公司完成)。

1.4 数据分析

针对测序所得到的原始数据进行拼接、质控和过滤,对所得到的优化序列提取非重复序列从而降低分析中间过程冗余计算量,去除没有重复的单序列后,按照序列相似性97%对非重复序列(不包括单序列)进行OTU聚类,并在聚类过程中去除嵌合体,从而得到OTU代表序列。采用RDP classifier贝叶斯算法对97%相似水平的OTU代表序列进行分类分析,并使用Sliva数据库进行比对及物种注释分析后进行人工校对。

为分析不同胴长组柔鱼的摄食差异特征,计算每个胴长组中所有样本摄食强度的平均值为平均摄食强度,并利用相似性分析检验(ANOSIM)分析不同胴长组柔鱼饵料生物差异特征的显著性。

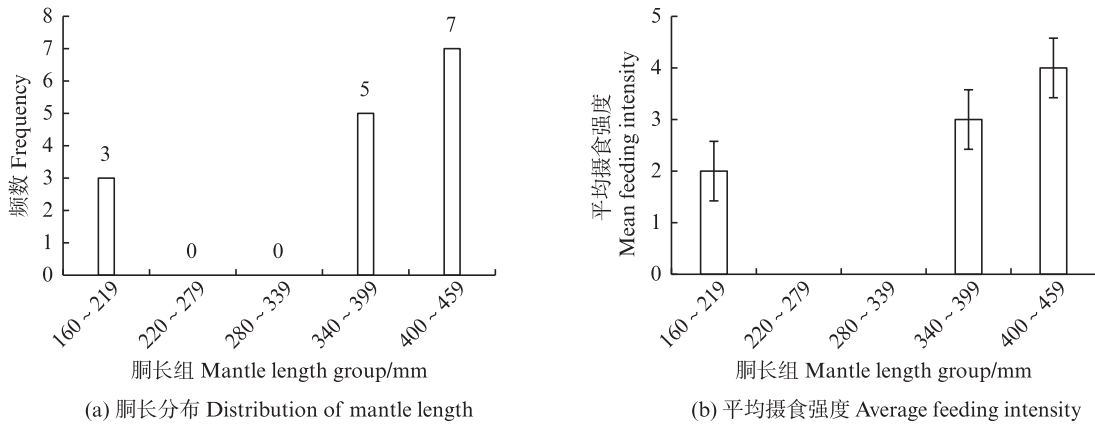
2 结果

2.1 柔鱼胴长分布及平均摄食强度

将柔鱼样本依据胴长大小按照一定的组间距划分为不同的胴长组,根据统计结果,将15尾柔鱼样本分为3个胴长组,分别为160~219 mm、340~399 mm和400~459 mm(图1a);且柔鱼胴长组的平均摄食强度随着胴长的增加而增大(图1b)。

2.2 高通量测序序列

15尾柔鱼样本的高通量测序统计结果:共获得平均长度为312 bp的序列723 721条,其中有效序列为646 980条,分属624个OTU。样品序列数最高为55 556条,最低为43 152条,平均序列数为(48 248±3 946)条。去除注释结果中浮游植物、细菌、病毒、寄生虫等,剩余序列数为59 220,分属80个OTU。稀释曲线可说明样本的测序数量是否合理,且可用来比较测序量不同的样本中物种的丰富度、均一性和多样性。稀释曲线(图2)显示获取的有效序列数量已达平台期,且所测样品物种覆盖度指数均在99.9%以上,表明测序结果能够真实反映柔鱼的主要饵料物种。



(a) 胴长分布 Distribution of mantle length

(b) 平均摄食强度 Average feeding intensity

图1 柔鱼样本胴长分布和平均摄食强度

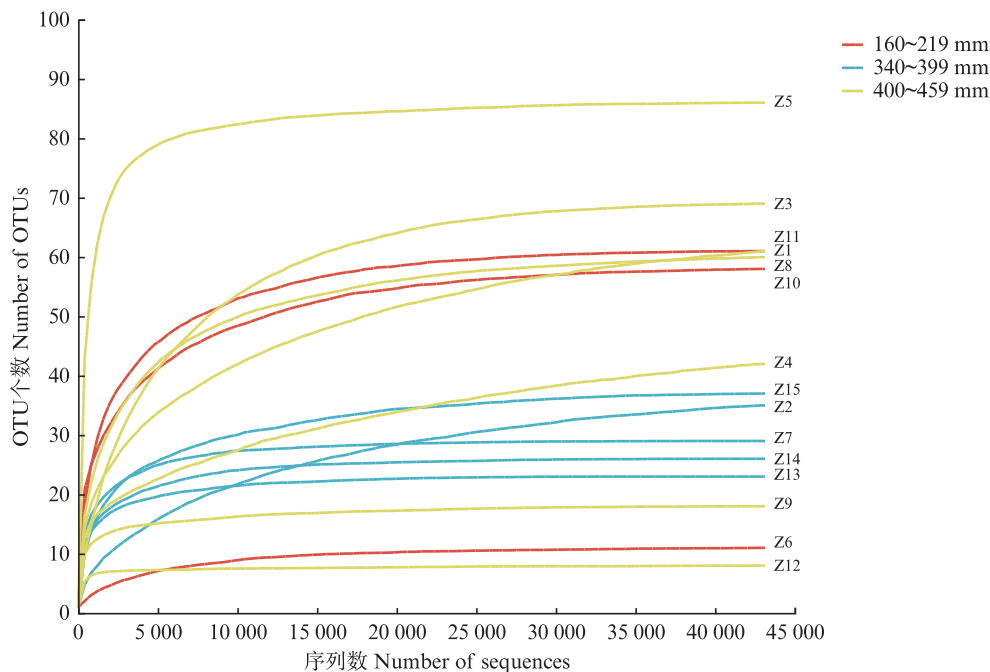
Fig. 1 Distribution of mantle length and average feeding intensity of *Ommastrephes bartramii*

图2 各样本的稀释曲线

Fig. 2 Rarefaction curve of each sample

2.3 柔鱼的食物组成

柔鱼的食物组成包括鱼类、头足类、浮游动物等,经过高通量测序共检测到饵料物种65种,分属6门11纲22目37科51属。门分类水平上,软体动物门和脊索动物门的相对丰度较高,总和高达90.60%,其余占比大小依次为节肢动物门>刺胞动物门>栉水母动物门>毛颚动物门。在属水平上,除Z10样本的优势饵料为细足磷虾属(*Nematoscelis*)以外,单个样本的优势饵料通常为某一种鱼类或头足类(图3)。从种水平来看,拟

沙丁鱼(*Sardinops sagax*)、日本爪乌贼(*Onychoteuthis borealijaponica*)、北方拟贻乌贼(*Gonatopsis borealis*)、萤乌贼(*Watasenia scintillans*)是优势饵料物种,相对丰度和出现频率都较高;太平洋磷虾(*Euphausia pacifica*)虽相对丰度较低,但出现频率却为53.33%;尾棘背灯鱼(*Notoscopelus caudispinosus*)、大西洋大梭蜥鱼(*Magnisudis atlantica*)相对丰度较高,但仅存在于单个样本中(表1)。

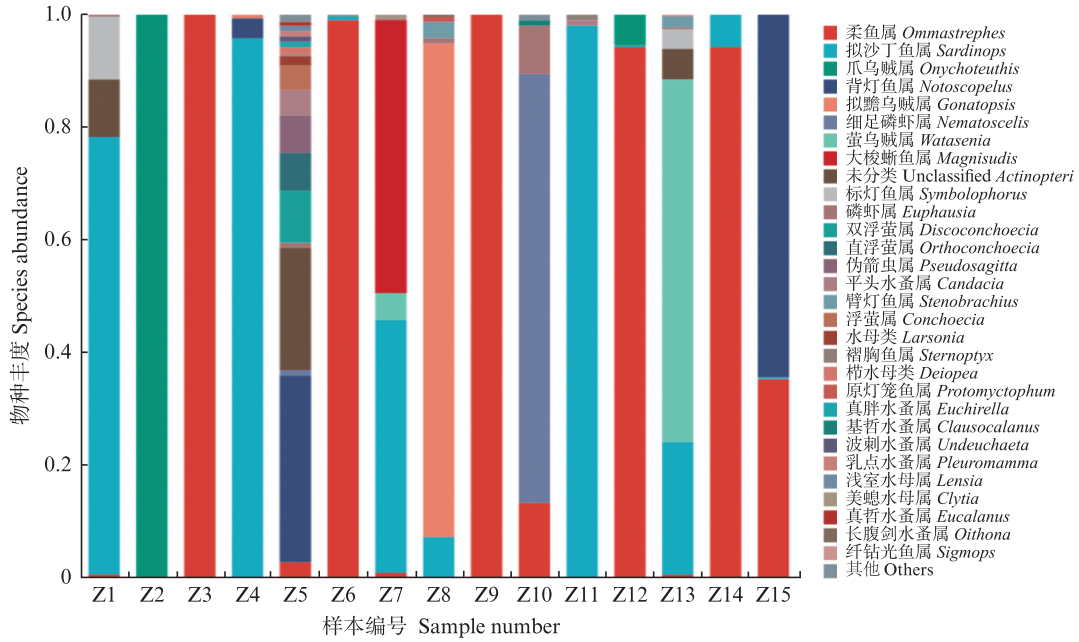


图3 单个样本中饵料组成情况(属水平上)
Fig. 3 Food composition in a single sample (on Genus level)

表1 柔鱼胃含物中相对丰度百分比为前20的饵料物种

Tab. 1 Top 20 prey species with percentage of relative abundance in the stomach contents of *Ommastrephes bartramii*

饵料物种 Prey species	相对丰度百分比 Percentage of abundance/%	出现频率 Occurrence rate/%	排序 Rank
拟沙丁鱼 <i>Sardinops sagax</i>	24.900	73.33	1
日本爪乌贼 <i>Onychoteuthis borealijaponica</i>	7.678	13.33	2
北方拟髯乌贼 <i>Gonatopsis borealis</i>	6.490	13.33	3
萤乌贼 <i>Watasenia scintillans</i>	5.115	20.00	4
瘦细足磷虾 <i>Nematoscelis gracilis</i>	4.862	6.67	5
尾棘背灯鱼 <i>Notoscopelus caudispinosus</i>	4.558	6.67	6
大西洋大梭蜥鱼 <i>Magnisudis atlantica</i>	3.747	6.67	7
日本背灯鱼 <i>Notoscopelus japonicus</i>	2.639	13.33	8
长体标灯鱼 <i>Symbolophorus californiensis</i>	1.091	13.33	9
双浮萤属 <i>Discoconchoecia</i> spp.	0.735	6.67	10
哈氏直浮萤 <i>Orthoconchoecia haddoni</i>	0.648	6.67	11
长额磷虾 <i>Euphausia diomedea</i>	0.507	6.67	12
琴型伪箭虫 <i>Pseudosagitta lyra</i>	0.384	6.67	13
太平洋磷虾 <i>Euphausia pacifica</i>	0.351	53.33	14
白身臂灯鱼 <i>Stenobrachius leucopsarus</i>	0.349	13.33	15
大浮萤 <i>Conchoecia magna</i>	0.336	6.67	16
细足磷虾属 <i>Nematoscelis</i> spp.	0.327	6.67	17
双翼平头水蚤 <i>Candacia bipinnata</i>	0.317	13.33	18
<i>Nematoscelis difficilis</i>	0.193	13.33	19
卷叶磷虾 <i>Euphausia recurva</i>	0.163	13.33	20

柔鱼摄食的鱼类主要为灯笼鱼科 (Myctophidae)、鲱科 (Clupeidae)、褶胸鱼科 (Sternoptychidae)等,其中拟沙丁鱼相对丰度占比

最高,其次是尾棘背灯鱼、大西洋大梭蜥鱼、日本背灯鱼 (*Notoscopelus japonicus*)、长体标灯鱼 (*Symbolophorus californiensis*)。此外还有相对丰

度较低的细盗目鱼(*Lestidiops ringens*)、日本乌鲂(*Brama japonica*)、日本鲭(*Scomber japonicus*)、柔身纤钻光鱼(*Sigmops gracilis*)等物种。柔鱼的头足类饵料主要是日本爪乌贼、北方拟贻乌贼、萤乌贼等,其次是发光柔鱼(*Eucleoteuthis luminosa*)、班乌贼属(*Onykia* spp.)等。柔鱼广泛摄食浮游动物饵料,本研究共检测到桡足类、介形类、翼足类、水母类、栉水母类、磷虾类、毛颚类、端足类等8种浮游动物类群(表2),基本囊括西北太平洋所有浮游动物类群^[13]。桡足类包括鹰嘴水蚤科(*Aetideidae*)、丽哲水蚤科(*Calocalanidae*)、平头水蚤科(*Candaciidae*)、真哲水蚤科(*Eucalanidae*)、基哲水蚤科(*Clausocalanidae*)、长腹水蚤科(*Metridinidae*)、拟哲水蚤科(*Calanidae*)等共12属19种。双翼平头水蚤(*Candacia bipinnata*)、纽氏伪哲水蚤(*Pseudocalanus newmani*)出现频率相对较高。介形类主要为吸海萤科(*Halocyprididae*),包含尖额齿浮萤(*Conchoecilla daphnoides*)等6个物种。水母类包含面具水母科(*Pandaeidae*)、双生水母科(*Diphyidae*)、球水母科(*Sphaeronectidae*)、棍手水母科(*Rhopalonematidae*)、钟螅水母科(*Campanulariidae*)、口冠水母科(*Stomolophidae*),其中口冠水母科的出现频率(20%)最高。栉水母类包括长瓣水母科(*Eurhamphaeidae*)、蛾水母科(*Bolinopsidae*)和侧腕水母科(*Pleurobrachiidae*)。翼足类饵料有蛞蝓(*Limacina helicina*)、翼菱螺(*Clio cuspidata*)2个物种。头足类、鱼类、浮游动

物饵料的总相对丰度分别为48.28%、41.59%和9.95%(图4左)。在浮游动物饵料中,磷虾类和介形类相对丰度较高,依次为6.24%、2.05%(图4右)。

2.4 不同发育状态柔鱼饵料差异特征

2.4.1 不同胴长组柔鱼的摄食偏好

研究发现,160~219 mm 胴长组柔鱼主要摄食浮游动物和鱼类(图5),其中软甲纲占据优势地位(图6)。随着胴长的增加,柔鱼饵料组成中鱼类和头足类的比例增加。340~399 mm 胴长组柔鱼主要摄食鱼类;400~459 mm 胴长组柔鱼优势饵料是头足类,头足类平均相对丰度大于鱼类(图5),自食率较高。此外,400~459 mm 胴长组柔鱼食物中包含多种浮游动物(图5),其中水螅纲、甲壳纲和腹足纲占据较高的平均相对丰度(图6)。

2.4.2 OTU水平差异

选用相似水平为97%的OTU分析统计,得到饵料物种分属80个OTU。为了直观体现不同发育状态柔鱼胃含物中饵料物种丰富程度的差异和交叉特点^[10],采用Venn图对3个胴长组OTU的差别和重叠情况进行分析,结果显示:3个胴长组柔鱼共有OTUs 4个;400~459 mm 胴长组柔鱼特有OTUs最多,占总OTUs的50%;340~399 mm 胴长组和400~459 mm 胴长组柔鱼共有OTUs多于160~219 mm 胴长组和340~399 mm 胴长组柔鱼的共有OTUs,340~399 mm 胴长组和400~459 mm 胴长组柔鱼处于相近的营养状态(图7)。

表2 西北太平洋柔鱼主要饵料物种

Tab. 2 Summary of prey species of *Ommastrephes bartramii* in Northwest Pacific Ocean

饵料物种 Prey species	饵料物种 Prey species
桡足类 Copepod	瘦乳点水蚤 <i>Pleuromamma gracilis</i>
鹰嘴水蚤科 Aetideidae	比氏乳点水蚤 <i>Pleuromamma piseki</i>
短尾真胖水蚤 <i>Euchirella curticauda</i>	哲水蚤科 Calanidae
大波刺水蚤 <i>Undeuchaeta major</i>	达氏筛哲水蚤 <i>Cosmocalanus darwinii</i>
丽哲水蚤科 Calocalanidae	基齿哲水蚤科 Clausocalanidae
短缩丽水蚤 <i>Calocalanus contractus</i>	弓角基齿哲水蚤 <i>Clausocalanus arcuicornis</i>
细长丽哲水蚤 <i>Calocalanus tenuis</i>	蓝基齿哲水蚤 <i>Clausocalanus lividus</i>
平头水蚤科 Candaciidae	尖基齿哲水蚤 <i>Clausocalanus parapergens</i>
双翼平头水蚤 <i>Candacia bipinnata</i>	纽氏伪哲水蚤 <i>Pseudocalanus newmani</i>
真哲水蚤科 Eucalanidae	拟哲水蚤科 Paracalanidae
加州真哲水蚤 <i>Eucalanus californicus</i>	小拟哲水蚤 <i>Paracalanus parvus</i>
长腹水蚤科 Metridinidae	拟哲水蚤属 <i>Paracalanus</i> spp.
腹突乳点水蚤 <i>Pleuromamma abdominalis</i>	<i>Paracalanus tropicus</i>

·续表 2·

饵料物种 Prey species	饵料物种 Prey species
隆水蚤科 Oncaeidae	<i>Larsonia pterophylla</i>
<i>Oncaea scottodicarloi</i>	双生水母科 Diphyidae
长腹剑水蚤科 Oithonidae	锥体浅室水母 <i>Lensia conoidea</i>
拟长腹剑水蚤 <i>Oithona similis</i>	球水母科 Sphaeronectidae
磷虾类 Euphausiacea	<i>Sphaeronectes koellikeri</i>
磷虾科 Euphausiidae	棍手水母科 Rhopalonematidae
太平洋磷虾 <i>Euphausia pacifica</i>	宽膜棍手水母 <i>Rhopalonema velatum</i>
卷叶磷虾 <i>Euphausia recurva</i>	钟螅水母科 Campanulariidae
长额磷虾 <i>Euphausia diomedea</i>	<i>Campanularia tulipifera</i>
细足磷虾属 <i>Nematoscelis</i> spp.	单囊美螅水母 <i>Clytia folleata</i>
瘦细足磷虾 <i>Nematoscelis gracilis</i>	口冠水母科 Stomolophidae
<i>Nematoscelis difficilis</i>	口冠水母属 <i>Stomolophus</i> spp.
端足类 Amphipoda	栉水母类 Ctenophora
Hyperiididae	蛾水母科 Bolinopsidae
太平洋拟长脚螯 <i>Parathemisto pacifica</i>	蛾水母属 <i>Bolinopsis</i> spp.
饵料物种 Prey species	侧腕水母科 Pleurobrachiidae
长体标灯鱼 <i>Symbolophorus californiensis</i>	风球水母属 <i>Hormiphora</i> spp.
高体电灯鱼 <i>Electrona risso</i>	长瓣水母科 Eurhamphaeidae
褶胸鱼科 Sternoptychidae	<i>Deiopea</i> spp.
拉氏烛光鱼 <i>Polyipnus ruggeri</i>	翼足类 Pteropoda
褶胸鱼属 <i>Sternoptyx</i> spp.	蛎螺科 Limacinidae
钻光鱼科 Gonostomatidae	蛎螺 <i>Limacina helicina</i>
柔身纤钻光鱼 <i>Sigmops gracilis</i>	驼螺科 Cliidae
鲱科 Clupeidae	翼菱螺 <i>Clio cuspidata</i>
拟沙丁鱼 <i>Sardinops sagax</i>	鱼类 Fish
乌鲂科 Bramidae	灯笼鱼科 Myctophidae
日本乌鲂 <i>Brama japonica</i>	汤氏原灯笼鱼 <i>Protomyctophum thompsoni</i>
鲭科 Scombridae	白身臂灯鱼 <i>Stenobrachius leucopsarus</i>
日本鲭 <i>Scomber japonicus</i>	饵料物种 Prey species
鲟鱼科 Paralepididae	大西洋大梭鲟鱼 <i>Magnisudis atlantica</i>
细盗目鱼 <i>Lestidiops ringens</i>	头足类 Cephalopoda
介形类 Ostracoda	武装乌贼科 Enoploteuthidae
吸海萤科 Halocyprididae	萤乌贼 <i>Watasenia scintillans</i>
尖额齿浮萤 <i>Conchoecilla daphnoides</i>	发光柔鱼 <i>Eucleoteuthis luminosa</i>
双浮萤属 <i>Disconchoecia</i> spp.	黯乌贼科 Gonatidae
大浮萤 <i>Conchoecia magna</i>	北方拟黯乌贼 <i>Gonatopsis borealis</i>
尖后浮萤 <i>Metaconchoecia acuta</i>	柔鱼科 Ommastrephidae
长后浮萤 <i>Metaconchoecia longiseta</i>	柔鱼 <i>Ommastrephes bartramii</i>
哈氏直浮萤 <i>Orthoconchoecia haddoni</i>	爪乌贼科 Onychoteuthidae
毛颚类 Chaetognatha	日本爪乌贼 <i>Onychoteuthis borealijaponica</i>
箭虫科 Sagittidae	班乌贼属 <i>Onykia</i> spp.
琴型伪箭虫 <i>Pseudosagitta lyra</i>	其他 Others
水母类 Medusa	三段海鞘科 Polyclinidae
面具水母科 Pandeidae	褶胃海鞘属 <i>Aplidium</i> spp.

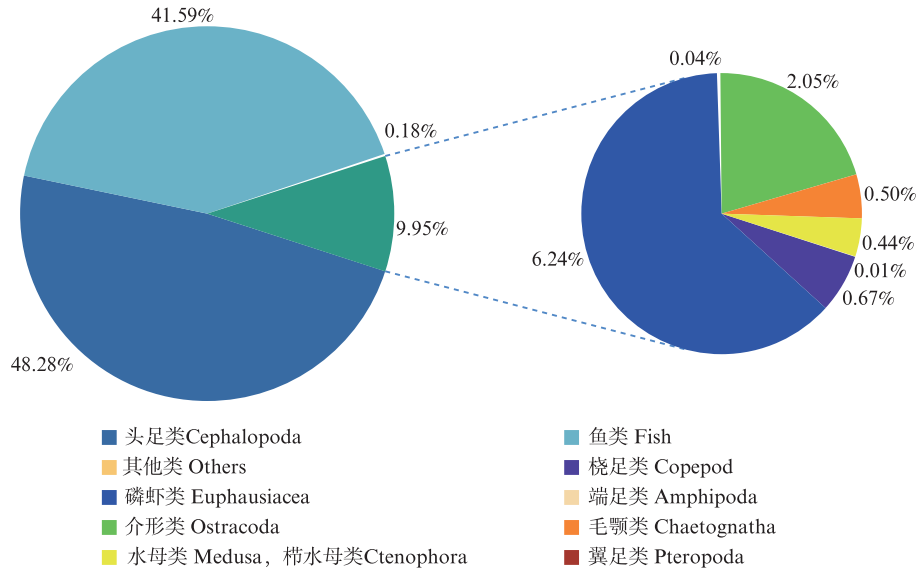


图4 各饵料类群的相对丰度占比

Fig. 4 Proportion of relative abundance of each prey group

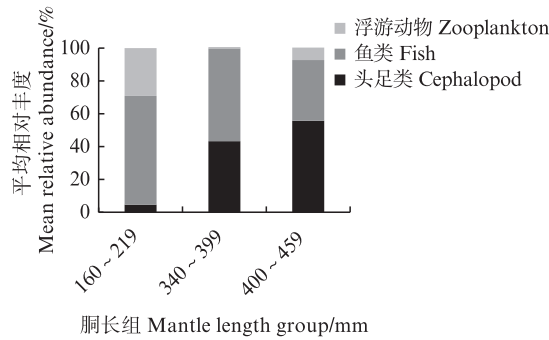
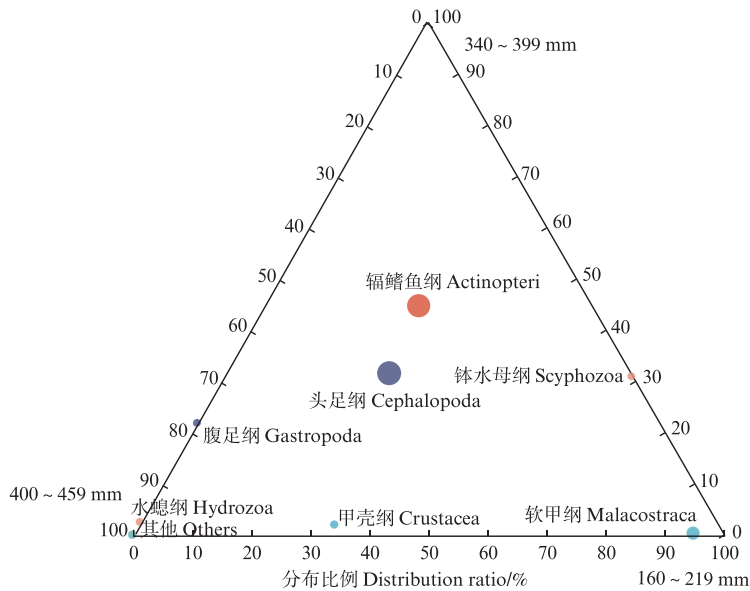


图5 不同胴长组各种饵料平均相对丰度占比

Fig. 5 Mean relative abundance ratio of various preys items in different mantle length groups



实心圆代表纲水平下的物种,圆的大小代表物种的平均相对丰度。

The solid circles represent the species of Class level, the size of the circles represents the average relative abundance of the species.

图6 饵料物种在不同胴长组间的分布比例(纲水平上)

Fig. 6 Distribution ratio of prey species among different groups (on Class level)

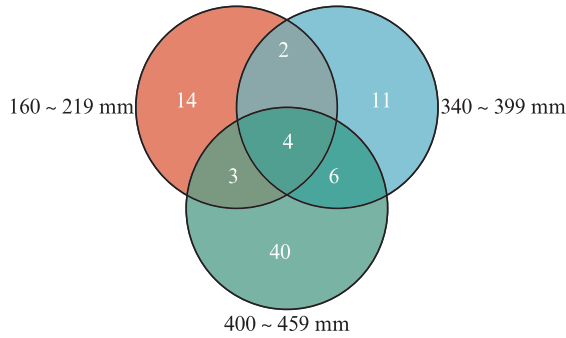


图7 不同胴长组中 OTUs 数量分布情况(韦恩图)

Fig. 7 Distribution of OTUs in mantle length groups (Venn diagram)

3 讨论

3.1 食性分析

研究表明西北太平洋柔鱼主要摄食鱼类、头足类及多种浮游动物。根据相对丰度占比和出现频率判断,柔鱼表现出对拟沙丁鱼和灯笼鱼科鱼类显著的摄食选择,拟沙丁鱼的相对丰度占比(24.90%)和出现频率(73.33%)最高,灯笼鱼科鱼类的出现频率为53.33%。此外,日本爪乌贼、北方拟贻乌贼、萤乌贼和磷虾类也是柔鱼的主要摄食对象。这与WATANABE等^[5]对北太平洋柔鱼食性分析结果一致,研究发现柔鱼主要摄食鱼类、头足类及甲壳类,柔鱼冬春生群体7月主要以褶胸鱼科为食物来源;秋生群体7月主要饵料是长体标灯鱼、日本爪乌贼以及亚北极贻乌贼科(Gonatidae)的两种鱿鱼。此外,PARRY^[14]也发现夏威夷附近海域柔鱼的鱼类饵料在科水平上主要是灯笼鱼科,头足类优势饵料是武装乌贼科(Enoploteuthidae)和爪乌贼科(Onychoteuthidae)。拟沙丁鱼在柔鱼饵料生物中占优势最大,这与以往的研究结果不同。王良明^[15]和王雪华等^[16]对西北太平洋灯光围网及敷网调查分析显示,拟沙丁鱼是西北太平洋夏季游泳动物的主要种类,在数量和出现频率上占比都较高。PEARCY等^[17]使用降趋对应分析方法将西北太平洋中上层海域群落分为4种,其中柔鱼、拟沙丁鱼及金枪鱼类等分属于同一群落。在本研究中,柔鱼表现出对拟沙丁鱼显著的摄食选择,这与西北太平洋海域拟沙丁鱼较高的资源丰度以及柔鱼、拟沙丁鱼栖息空间的一致性有关。灯笼鱼科被认为是柔鱼最常见的鱼类饵料^[18],本研究结果显示,灯笼鱼科总相对丰度占比为8.589%,在鱼类饵料中占比

突出。灯笼鱼科鱼类白天在水深200 m以下的各个水层活动,在夜间则洄游至海水表层^[19-20]。柔鱼和灯笼鱼科鱼类昼夜垂直移动范围的高度相似可能是柔鱼摄食灯笼鱼科鱼类的主要原因之一。北方拟贻乌贼是北太平洋亚北极物种,在冬季和春季产卵前会从亚北极迁移至温暖的南部过渡水域^[21]。柔鱼和北方拟贻乌贼的捕食关系也间接体现了北方拟贻乌贼的迁移分布特点。

本研究结果显示,磷虾类饵料总相对丰度占比(6.24%)在浮游动物饵料中最大(图4),介形类总相对丰度(2.05%)占比第二(图4),桡足类再次之。磷虾类在浮游动物饵料中具有一定的优势地位,这与已有的研究^[22]结果一致。此外,检测到海鞘纲的褶胃海鞘属(*Aplidium* spp.),被柔鱼捕食时可能处于幼体时期。灯笼鱼科鱼类、萤乌贼、发光柔鱼、栉水母及磷虾类等饵料生物的发光特性是柔鱼选择其摄食的重要原因。特别的是,一些特定种类的寄生虫在柔鱼胃含物中被检测到,深入研究后可将高通量测序作为判别柔鱼群体的辅助方法。

3.2 摄食偏好的转变

本研究发现浮游动物饵料主要出现在160~219 mm 胴长组柔鱼中,340~399 mm、400~459 mm 胴长组柔鱼摄食鱼类和头足类的比例大于160~219 mm 胴长组柔鱼,这与以往的研究^[5]结果一致。幼年期的柔鱼大量捕食浮游动物甲壳类^[22],这与海洋甲壳类生物能提供头足类(尤其是幼体阶段)生长代谢所需的营养物质及对氧有运输作用的铜元素^[23-24]有关。随着胴长的增加,柔鱼倾向于捕食营养状态更高的食物以满足其生长代谢需求。柔鱼生命周期较短,在柔鱼的整个生命阶段,其需实现捕食者到被捕食角色的迅速转变,从而将营养物质和能量转移到更高的营养级水平^[7]。在选择压力下,柔鱼进行个体摄食结构的调节^[25]。OTU分析表明,400~459 mm 胴长组柔鱼的独有 OTUs 最多,说明400~459 mm 胴长组柔鱼的饵料物种较丰富,这与体型较大的鱿鱼能够捕食更大范围的猎物,并在某种程度上造成生态位分离^[26-27]的相关研究结果一致。

在本研究中,胴长大于400 mm的柔鱼胃含物中存在多种浮游动物饵料,这与IVANOVIC等^[22]对西南大西洋柔鱼食性分析结果不同。

IVANOVIC 等^[22]研究发现胴长大于 290 mm 的柔鱼胃含物中浮游动物甲壳类比例急剧下降,胴长大于 300 mm 的柔鱼食物中并未发现浮游动物甲壳类饵料。结果的差异可能是柔鱼被动摄食或由于高通量测序的高灵敏度将次级饵料计算进去所致的。在后续研究中,可进一步通过采集环境样本对照分析以确定食物来源。此外,关于柔鱼最主要饵料是头足类还是鱼类一直是被争议和探究的问题^[22]。在本研究中,头足类饵料总相对丰度占比大于鱼类饵料,但由于柔鱼严重的同类相食现象难以说明头足类饵料相对于鱼类饵料的明显优势。运用相似性分析检验 (ANOSIM),结果显示不同胴长组柔鱼饵料差异并未达到显著性水平 ($R=0.106, P=0.755$),这可能与所用的柔鱼样本量较少有关。

3.3 高通量测序的应用

高通量测序技术的应用使食性分析完成了从粗略的定性化描述到半量化表达的关键突破^[12,28]。传统胃含物分析法根据浮游动物残肢鉴别种类,胃含物消化程度高时辨认难度大从而无法完整确定浮游动物饵料信息,且镜检下水母类等透明生物难以被发现。在本研究中,检测到桡足类及水母类等饵料类群中的多个物种,高通量测序技术可通过 DNA 测序和物种注释弥补传统胃含物分析法的缺点从而完善柔鱼的食物谱。但高通量测序技术只可进行多样性分析而无法确定胃含物中饵料的尺寸大小或计算某一饵料物种的生物量^[29],可平行开展传统胃含物形态学鉴定、稳定同位素分析等方法全面揭示柔鱼的食物信息及营养生态位。本研究中,瘦细足磷虾 (*Nematoscelis gracilis*) 相对丰度占比为 4.862%,但只在单个样本中出现。在这种情况下,考虑到偶然摄食的因素,可能会高估部分类群所占的比例,具体应以营养相关性判断^[30]。

4 结论

本研究通过高通量测序对柔鱼食性进行初步分析,发现柔鱼主要摄食头足类、鱼类和多种类浮游动物。且不同发育状态柔鱼的摄食偏好不同,小型个体柔鱼摄食浮游动物较多,大型个体柔鱼饵料中头足类和鱼类的比例增加。运用高通量测序技术共检测筛选得到柔鱼饵料物种 65 种,表明柔鱼摄食范围广泛。柔鱼是机会主义

摄食者,所选择摄取的饵料与海区资源组成和丰度有关^[31]。此外,时间、空间的差异以及产卵季节的不同也会造成柔鱼食性的差异^[32-34]。在今后的研究中,可通过采集不同季节或不同空间区域的柔鱼样本探究其摄食组成差异从而获得柔鱼全面的食性资料。

参考文献:

- [1] MURATAM. Oceanic resources of squids [J]. *Marine Behaviour and Physiology*, 1990, 18(1): 19-71.
- [2] WATANABE H, KUBODERA T, ICHII T, et al. Diet and sexual maturation of the neon flying squid *Ommastrephes bartramii* during autumn and spring in the Kuroshio - Oyashio transition region [J]. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2008, 88(2): 381-389.
- [3] BOWER J R, ICHII T. The red flying squid (*Ommastrephes bartramii*): a review of recent research and the fishery in Japan [J]. *Fisheries Research*, 2005, 76(1): 39-55.
- [4] SINCLAIR E H. Review of the biology and distribution of the neon flying squid (*Ommastrephes bartrami*) in the North Pacific Ocean [J]. *NOAA Technical Report NMFS*. (105), 1991: 57-67.
- [5] WATANABE H, KUBODERA T, ICHII T, et al. Feeding habits of neon flying squid *Ommastrephes bartramii* in the transitional region of the central North Pacific [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2004, 266: 173-184.
- [6] PIATKOWSKI U, PIERCE C J, DA CUNHA M M. Impact of cephalopods in the food chain and their interaction with the environment and fisheries: an overview [J]. *Fisheries Research*, 2001, 52(1/2): 5-10.
- [7] BERRY O, BULMAN C, BUNCE M, et al. Comparison of morphological and DNA metabarcoding analyses of diets in exploited marine fishes [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2015, 540: 167-181.
- [8] 王雪芹, 王光华, 乔飞, 等. 高通量测序及其在食物网解析中的应用进展 [J]. *生态学报*, 2017, 37(8): 2530-2539.
WANG X Q, WANG G H, QIAO F, et al. Progress on high-throughput sequencing and its applications in food web analysis [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(8): 2530-2539.
- [9] 陈晓雷, 李敏, 陈作志, 等. 基于宏条形码技术的南海亮眶灯鱼食性初步分析 [J]. *南方水产科学*, 2022, 18(3): 22-29.
CHEN X L, LI M, CHEN Z Z, et al. Preliminary metabarcoding dietary analysis of *Diaphus splendidus* in South China Sea [J]. *South China Fisheries Science*, 2022, 18(3): 22-29.

- [10] 李凤雪, 杜美荣, 高亚平, 等. 长牡蛎食物组成的高通量测序分析[J]. 渔业科学进展, 2021, 42(5): 86-96.
LI FX, DUMR, GAO YP, et al. Analysis of food sources of *Crassostrea gigas* using high-throughput sequencing techniques [J]. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(5): 86-96.
- [11] POMPANON F, DEAGLE B E, SYMONDSON W O C, et al. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing [J]. Molecular Ecology, 2012, 21(8): 1931-1950.
- [12] 刘刚, 宁宇, 夏晓飞, 等. 高通量测序技术在野生动物食性分析中的应用[J]. 生态学报, 2018, 38(9): 3347-3356.
LIU G, NING Y, XIA X F, et al. The application of high-throughput sequencing technologies to wildlife diet analysis [J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(9): 3347-3356.
- [13] 付菲雨. 西北太平洋海域浮游动物群落结构研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.
FU F Y. Community structure of zooplankton in the Northwestern Pacific Ocean [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022.
- [14] PARRY M. Feeding behavior of two ommastrephid squids *Ommastrephes bartramii* and *Sthenoteuthis oualaniensis* off Hawaii [J]. Marine Ecology Progress Series, 2006, 318: 229-235.
- [15] 王良明. 西北太平洋游泳动物种类组成及主要优势种的生物学特征[D]. 厦门: 国家海洋局第三海洋研究所, 2017.
WANG L M. The composition of nekton and biological characteristic of main dominant species in Northwestern Pacific Ocean [D]. Xiamen: Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, 2017.
- [16] 王雪华, 李海, 李渊, 等. 西北太平洋公海海域秋季灯光敷网渔获率及物种多样性[J]. 渔业研究, 2021, 43(5): 443-450.
WANG X H, LI H, LI Y, et al. Nekton species composition and biodiversity in high seas of the Northwestern Pacific Ocean in autumn [J]. Journal of Fisheries Research, 2021, 43(5): 443-450.
- [17] PEARCY W G, FISHER J P, ANMA G, et al. Species associations of epipelagic nekton of the North Pacific Ocean, 1978 - 1993 [J]. Fisheries Oceanography, 1996, 5(1): 1-20.
- [18] ARIMOTO Y. Characteristics of the fish prey of neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, in the central North Pacific [J]. Rep. Annu. Mtg Res. Fish. Squids, 1998: 70-80.
- [19] PEARCY W G, LORZ H V, PETERSON W. Comparison of the feeding habits of migratory and non-migratory *Stenobrachius leucopsarus* (Myctophidae) [J]. Marine Biology, 1979, 51(1): 1-8.
- [20] EDUARDO L N, BERTRAND A, MINCARONE M M, et al. Distribution, vertical migration, and trophic ecology of lanternfishes (Myctophidae) in the Southwestern Tropical Atlantic [J]. Progress in Oceanography, 2021, 199: 102695.
- [21] WATANABE H, KUBODERA T, MOKU M, et al. Diel vertical migration of squid in the warm core ring and cold water masses in the transition region of the western North Pacific [J]. Marine Ecology Progress Series, 2006, 315: 187-197.
- [22] IVANOVIC M L, BRUNETTI N E. Diet of red squid (*Ommastrephes bartramii*) in the Southwest Atlantic [J]. Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero, 2004, 16: 67-75.
- [23] MONROIG Ó, TOCHER D R, NAVARRO J C. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in marine invertebrates: recent advances in molecular mechanisms [J]. Marine Drugs, 2013, 11(10): 3998-4018.
- [24] LEITE T S, BATISTA A T, LIMA F D, et al. Geographic variability of *Octopus insularis* diet: from oceanic island to continental populations [J]. Aquatic Biology, 2016, 25: 17-27.
- [25] RODHOUSE P G, NIGMATULLIN C M. Role as consumers [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 1996, 351(1343): 1003-1022.
- [26] ROSAS-LUIS R, SÁNCHEZ P, PORTELA J M, et al. Feeding habits and trophic interactions of *Doryteuthis gahi*, *Illex argentinus* and *Onykia ingens* in the marine ecosystem off the Patagonian Shelf [J]. Fisheries Research, 2014, 152: 37-44.
- [27] 周敏华, 张虎, 刘必林. 基于稳定同位素的江苏近海金乌贼摄食生态分析[J]. 上海海洋大学学报, 2024, 33(1): 202-210.
ZHOU M H, ZHANG H, LIU B L. Feeding ecology of *Sepia esculenta* in Jiangsu coastal waters based on stable isotopes analysis [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2024, 33(1): 202-210.
- [28] 林先智, 胡思敏, 刘胜, 等. 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, 2018, 29(9): 3093-3101.
LIN X Z, HU S M, LIU S, et al. Comparison between traditional sequencing and high-throughput sequencing on the dietary analysis of juvenile fish [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, 29(9): 3093-3101.
- [29] 张灿灿, 张丹丹, 王志强, 等. 基于镜检和高通量测序技术的铜锈环棱螺胃含物分析[J]. 淡水渔业, 2023, 53(2): 84-93.
ZHANG C C, ZHANG D D, WANG Z Q, et al. Microscope combined with high-throughput sequencing to analyze the stomach content of *Bellamyia aeruginosa* [J].

- Freshwater Fisheries, 2023, 53(2): 84-93.
- [30] SIEGENTHALER A, WANGENSTEEN O S, BENVENUTO C, et al. DNA metabarcoding unveils multiscale trophic variation in a widespread coastal opportunist[J]. *Molecular Ecology*, 2019, 28(2): 232-249.
- [31] ROSAS-LUIS R, SALINAS-ZAVALA C A, KOCH V, et al. Importance of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Orbigny, 1835) in the pelagic ecosystem of the central Gulf of California [J]. *Ecological Modelling*, 2008, 218 (1/2) : 149-161.
- [32] MURATA M. Seasonal migration and diel vertical migration of the neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, in the North Pacific [J]. *Large Pelagic Squids*, 1998.
- [33] YATSU A, TANAKA H, MORI J. Population structure of the neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, in the North Pacific [M]//OKUTANI T. *Contributed Papers to International Symposium on Large Pelagic Squids*. Tokyo: Japan Marine Fishery Resources Research Center, 1998.
- [34] 马金, 陈新军, 刘必林, 等. 北太平洋柔鱼渔业生物学研究进展[J]. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(4): 563-570.
- MA J, CHEN X J, LIU B L, et al. Review of fisheries biology of neon flying squid (*Ommastrephes bartramii*) in the North Pacific Ocean [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, 20(4): 563-570.

Preliminary analysis of the feeding habits of *Ommastrephes bartramii* in the high sea of Northwest Pacific Ocean based on high-throughput sequencing

WANG Xin¹, LIU Bilin^{1,2,3,4}, HE Junjie¹, SONG Linwei¹

(1. College of Marine Living Resource Sciences and Management, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. National Engineering Research Center for Oceanic Fisheries, Shanghai 201306, China; 3. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306, China; 4. Key Laboratory of Sustainable Utilization of Oceanic Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to understand the feeding habits of *Ommastrephes bartramii* and explore its position in the food web and ecological function, we analyzed the food composition of 15 *Ommastrephes bartramii* samples which were collected in the high sea of Northwest Pacific Ocean using high-throughput sequencing. The results showed that there were 646 980 high-quality sequences in 15 samples, a total of 624 operational taxonomic units (OTUs) were obtained through cluster analysis. A total of 65 food species, belonging to 6 phyla, 11 classes, 22 orders, 37 families and 51 genera, were detected by screening and comparison. *Ommastrephes bartramii* fed mainly on cephalopods, fishes, and a variety of zooplanktons (including Euphausiid, Ostracod, Medusae, etc.). The dominant prey species included *Sardinops sagax*, *Onychoteuthis borealijaponica*, *Gonatopsis borealis*, *Watasenia scintillans*, *Notoscopelus caudispinosus*, etc. In conclusion, the feeding range of *Ommastrephes bartramii* was wide, and the food species were related to the natural preys in the sea area. Furthermore, *Ommastrephes bartramii* showed different feeding preferences among different mantle length groups. The analysis of the whole composition of stomach contents of *Ommastrephes bartramii* plays an important role in digging out the relationship between feeding and life history, such as growth, migration and reproduction. This provides a scientific basis for the sustainable development and conservation of *Ommastrephes bartramii* resources from the perspective of ecosystem.

Key words: *Ommastrephes bartramii*; feeding habits; high-throughput sequencing; Northwest Pacific Ocean; stomach content