

文章编号: 1674-5566(2025)06-1240-11

DOI: 10.12024/jsou.20240904626

## 基于18S rDNA的3种投喂模式与食性分析下中华绒螯蟹扣蟹对池塘饵料生物利用的差异比较

徐广伟<sup>1</sup>, 鹿珍珍<sup>1</sup>, 孙云飞<sup>1,2,3,4</sup>, 成永旭<sup>1,2,3,4</sup>

(1. 上海海洋大学 农业农村部稻渔综合种养生态重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 农业农村部鱼类营养和环境生态研究中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306; 4. 上海海洋大学 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306)

**摘要:**为研究不同投喂模式对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)扣蟹对池塘中饵料生物的利用,在不同养殖池塘中分别投喂传统饵料(小麦、麸皮和豆粕)、配合饲料和混合饵料(传统饵料和配合饲料1:1混合),于8月中旬采集不同投喂模式下扣蟹的胃内含物,通过18S rDNA高通量测序技术测定主要潜在食物成分。结果显示:(1)传统饵料模式下扣蟹胃内含物食物组成的Chao指数显著高于混合饵料模式,Simpson指数则相反。(2)传统投喂模式下扣蟹胃内含物中相对丰度最高的门类依次是以绿藻纲和共球藻纲为主的轮藻门、以纤毛虫纲为主的纤毛亚门和以眼点藻纲和金藻纲为主的褐藻门;配合饲料投喂模式为轮藻门、以软甲纲为主的节肢动物门和褐藻门;混合投喂模式为轮藻门、节肢动物门和以鱼纲为主的脊椎动物亚门。(3)3种投喂模式下雌性和雄性扣蟹的胃内含物食物组成没有显著差异。(4)3种投喂模式扣蟹胃内含物食物组成在纲水平上共有的种类有207种。配合饲料模式下的扣蟹胃内含物的主要成分完全涵盖了混合饵料模式和传统饵料模式中的主要成分。综上,不同投喂模式下扣蟹胃内含物中食物组成的多样性和丰度不同,扣蟹胃内含物主要是以绿藻纲和共球藻纲为主的轮藻门饵料,3种投喂模式下雌性和雄性扣蟹的胃内含物食物组成无显著差异。

**关键词:**中华绒螯蟹扣蟹;投喂模式;胃内含物;18S rDNA;食物组成

中图分类号:S 966.16 文献标志码:A

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*),俗称河蟹,是我国主要的经济养殖蟹类<sup>[1]</sup>。目前,我国扣蟹的养殖模式主要是池塘养殖<sup>[2]</sup>,豆粕、麸皮和小麦的传统饵料投喂模式是我国中华绒螯蟹池塘养殖的主要投喂方式。随着中华绒螯蟹配合饲料的研发,目前我国中华绒螯蟹池塘养殖主要存在3种投喂模式,包括全程配合饲料模式、传统饵料模式和混合饲料模式(传统饵料和配合饲料1:1混合)<sup>[3]</sup>。而扣蟹第二年养成早期的成活率、增重率和第一次蜕壳时间与投喂的饵料质量有直接关系<sup>[2]</sup>,3种投喂模式中,配合饲料投喂模式可以提高扣蟹在成蟹早期的养殖性能、免疫性能和攻毒后的成活率<sup>[4-5]</sup>。因此进一步明确扣蟹养殖阶段的营养需求尤为重要。

扣蟹胃内容物的鉴定是确定其食物组成和营养需求的重要方式<sup>[6]</sup>。目前,确定食物组成的主要方法包括胃内含物观察法<sup>[7]</sup>、稳定同位素法<sup>[8]</sup>和DNA测序技术<sup>[9]</sup>。胃内含物观察法通过形态识别食物成分来了解食物信息,但无法检测到快速消化的食物,因此仍需进行大量的后续工作<sup>[6,10-11]</sup>。与观察法鉴定相比,DNA测序技术的方法鉴定具有一系列的优点:更高的特异性和灵敏度,可以检测和鉴定食物的DNA;方法更加标准化;通过DNA序列验证检测到的食物和寄生虫;使高通量分析变为可能<sup>[12]</sup>。随着分子生物学技术的发展,越来越多的学者使用高通量测序技术来研究甲壳动物的食性<sup>[13-17]</sup>。基于DNA测序技术鉴定食物组成的方法(如:DNA条形码技术)

收稿日期: 2024-09-06 修回日期: 2025-02-27

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(31802320); 国家现代农业产业技术体系(CARS-48)

作者简介: 徐广伟(1995—),男,博士研究生,研究方向为甲壳动物营养生态学。E-mail:xgw95117@126.com

通信作者: 孙云飞,E-mail:yfsun@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.shhydxxb.com>

已被证明是研究水生生物食性的强有力的方法,如对南极深海螯虾(*Metanephrops challenger*)<sup>[15]</sup>的食性分析时发现其高度依赖底栖物种,O'RORKE等<sup>[13]</sup>发现龙虾(*Panulirus cygnus*)食物组成中含有放射虫(*Colonial radiolaria*),长牡蛎(*Crassostrea gigas*)<sup>[17]</sup>在浒苔过境前后食性无显著性变化,主要以链形植物门为主。

本实验采用18S rDNA技术测定8月份扣蟹的胃内含物中食物组成的多样性指数以及在门、纲水平上的组成,鉴别了3种投喂模式下雌性和雄性扣蟹胃内含物中食物组成的差异。研究结果对了解池塘养殖中华绒螯蟹扣蟹的营养生态学具有重要意义,可为扣蟹池塘养殖过程中高效配合饲料的研发优化提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 养殖管理

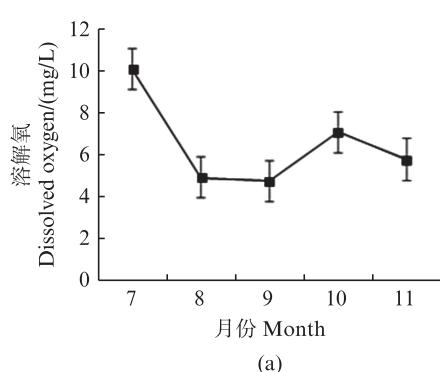
该实验于2018年7~8月在上海市崇明区道宏水产养殖科技有限公司东滩养殖基地(31.62°N,121.40°E)进行,选取9个面积相等的池塘(长×宽×深=7.8 m×7.8 m×1.5 m),均拥有相同的水源。围隔四周设有双层防逃网,防逃网上缘设置25 cm防逃塑料板。实验于7月初在每个池塘中投放6 000只平均体质量为(1.67±0.03)g扣蟹,分为3种投喂模式:传统饵料模式(小麦、麸皮和豆粕)、

配合饲料模式(购买于浙江澳华饲料有限公司)和混合饵料模式(传统饵料和配合饲料按1:1混合),其中配合饲料的原料组成见表1。实验期间,9个实验池塘每日的投喂量和投喂次数均一致,每天下午16:00左右投喂扣蟹饵料,投喂量约占扣蟹体质量的3%~5%。每个池塘设置1个小型食台,投喂后3 h后观察喂料台饵料剩余情况,观察并记录水温、投喂量和残饵情况,据此调整次日投喂量。在每个池塘中用毛竹架设一个40目的网箱(长×宽×高:2 m×2 m×1 m)便于采样和回捕扣蟹。每种投喂模式设置3个重复,养殖过程中水体溶解氧、温度与pH情况如图1所示。

表1 配合饲料的原料组成

Tab. 1 Raw material composition of formulated feed

| 原料种类 Raw material composition       | 占比 Proportion/% |
|-------------------------------------|-----------------|
| 鱼粉 Fish meal                        | 20.0            |
| 豆粕 Soybean meal                     | 24.0            |
| 虾壳粉 Shrimp shell meal               | 14.0            |
| 乌贼膏 Squid paste                     | 5.0             |
| 花生饼 Peanut cake                     | 14.0            |
| 面粉 Flour                            | 13.0            |
| 鱼油 Fish oil                         | 3.0             |
| 啤酒酵母粉 Brewer yeast powder           | 4.5             |
| 微生态制剂 Micro-ecological preparations | 0.2             |
| 矿物质和微量元素 Mineral trace elements     | 2.0             |
| 维生素 Vitamin                         | 0.2             |
| 防霉剂 Anti-molding agents             | 0.1             |



(a)

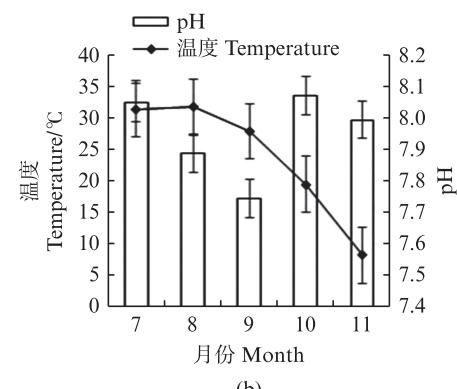


图1 养殖过程中池塘养殖水体溶解氧、温度和pH的变化情况

Tab. 1 Variation of dissolved oxygen, temperature and pH in pond water during culture

### 1.2 样品采集

8月从每个池塘中采集挑选附肢健全且活力较好的雌、雄扣蟹各10只用于实验,按性别将10个扣蟹胃内含物样本混合为1个样本。取胃内含物混合样本一部分转移至做标记的2.0 mL冻存

管中,投入液氮罐中带回实验室放于-80 °C冰箱保存,以备后续进行18S rDNA分析。

### 1.3 基因组DNA提取、PCR扩增、Illumina PE文库构建和上机测序

采用E.Z.N.A. Soil DNA试剂盒(Omega Bio-

tek, Norcross, GA, U.S.)对中华绒螯蟹扣蟹胃内含物的基因组DNA进行提取,利用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的纯度和浓度。以稀释后的基因组DNA为模板,使用特异引物扩增目的基因。引物序列为TAReF(5'-CCAGCASCYGCCTTAATTCC-3')和 TAReR (5'-ACTTCGTTCTGATYRA-3')。使用ABI GeneAmp® 9700型PCR仪,PCR采用TransGen AP221-02, TransStart FastPfu DNA聚合酶<sup>[15]</sup>。PCR反应体系和程序(20 μL): FastPfu Buffer (5×) 4 μL, 每种引物 (5 μmol/L) 0.4 μL, FastPfu 聚合酶 0.4 μL; 10 ng 模板DNA, 2 μL dNTPs (2.5 mmol/L)。反应程序: 95 °C 预变性 2 min; 25 个循环包括(95 °C, 30 s; 55 °C, 30 s; 72 °C, 30 s); 72 °C, 5 min。PCR产物使用2%浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测,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。根据PCR产物浓度进行相应比例混合,充分混匀后使用1×TAE浓度2%的琼脂糖凝胶电泳纯化PCR产物,选择主带大小在300~400 bp的序列,使用AxyPrep DNA凝胶回收试剂盒(AXYGEN公司)切胶回收PCR产物,利用Tris-HCl洗脱。

纯化的聚合酶链反应产物用Qubit 3.0定量,每24个条形码不同的扩增子均匀混合。按照 Illumina 的基因组DNA文库制备程序,将汇集的DNA产物用于构建 Illumina 对端文库。在 Illumina MiSeq 平台(上海凌恩生物科技有限公司)进行测序(2×250)。

#### 1.4 数据分析

使用UPASE(7.1版)将序列在97%的相似性水平上分类为OTUs,并使用UCHIME识别和删除嵌合序列基于有效数据进行OTUs聚类和物种分类分析,得到对应的物种信息及其丰度分布情况。此外,进行物种组成和 $\alpha$ -多样性等分析,得到中华绒螯蟹扣蟹体内真核生物的组成和丰富度信息。

采用SPSS 22.0 (SPSS, Chicago, IL, USA)分析所获得的数据并进行主成分分析。使用Shapiro-Wilk检验对扣蟹胃内含物样品的Chao、

Simpson指数以及在门水平不同投喂模式下扣蟹胃内含物食物组成进行正态性检验。用Levene法对扣蟹胃内含物样品的Chao、Simpson指数以及在门水平不同投喂模式下扣蟹胃内含物食物组成进行方差齐性检验,当数据不满足齐性方差时对百分比数据进行反正弦或者平方根处理,然后进行单因素方差分析(One-way ANOVA),采用Tukey s-b (K)法进行多重比较。取P<0.05为差异显著,结果以平均值±标准差(Mean±SD)表示。

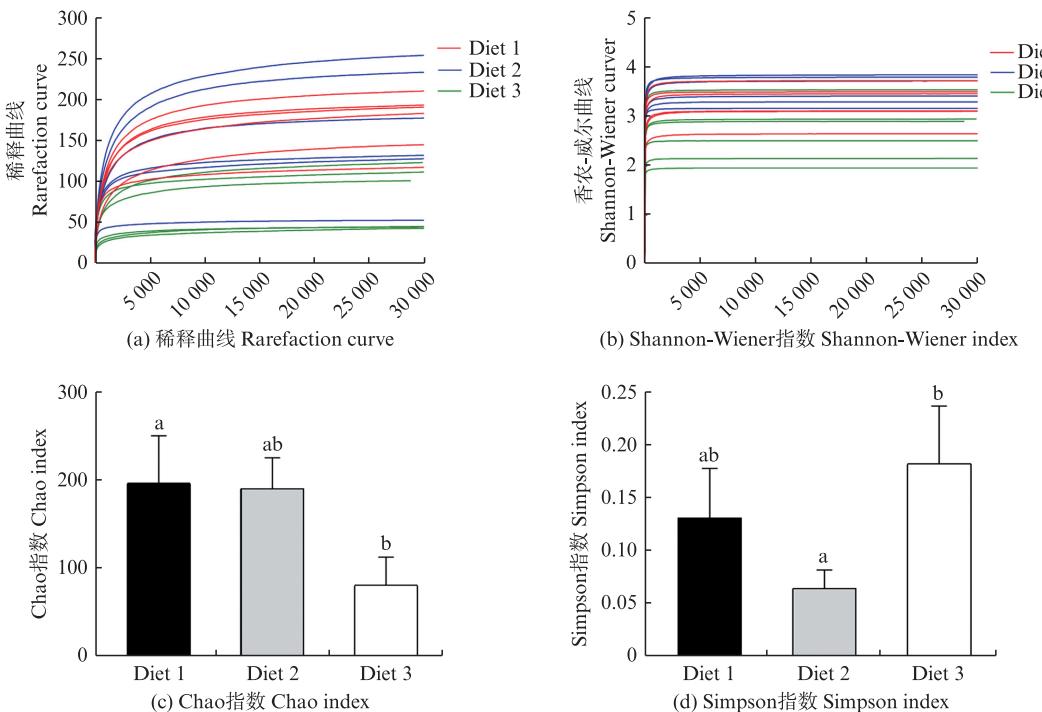
## 2 结果与分析

### 2.1 3种投喂模式下扣蟹胃内含物 $\alpha$ -多样性指数

根据OTUs的数目做稀释曲线(图2a)和Shannon-Wiener多样性指数曲线(图2b),稀释曲线和Shannon-Wiener曲线均趋于平坦,表明所取扣蟹胃内含物样品的质量满足测序的要求。传统饵料模式、配合饲料模式和混合饵料模式扣蟹胃内含物的Chao指数分别为196.40±53.80、190.39±34.83和80.75±32.00,传统饵料模式显著高于混合饵料模式(图2c,P<0.05)。传统饵料模式、配合饲料模式和混合饵料模式扣蟹胃内含物的Simpson指数分别为0.13±0.05, 0.06±0.01和0.18±0.05,其中,传统饵料模式显著低于混合饵料模式(图2d,P<0.05)。

### 2.2 3种投喂模式下扣蟹胃内含物在门水平上的食物组成

3种投喂模式下扣蟹胃内含物食物组成丰度较高的10个门的UPGMA聚类树和丰度比如图3和4所示。不同投喂模式下扣蟹胃内含物样品分为3组,3种投喂的雌性和雄性扣蟹各自分为一组。混合饵料投喂模式扣蟹胃内含物中褐藻门所占比例显著高于配合饲料模式和传统饵料模式(P<0.05),配合饲料模式和混合饵料模式扣蟹胃内含物中纤毛亚门所占比例显著高于传统饵料模式(P<0.05),传统饵料模式和混合饵料模式在扣蟹胃内含物中子囊菌门所占比例显著高于配合饲料模式(P<0.05)。3种投喂模式下雌性和雄性扣蟹的胃内含物食物组成没有显著差异(P>0.05)。

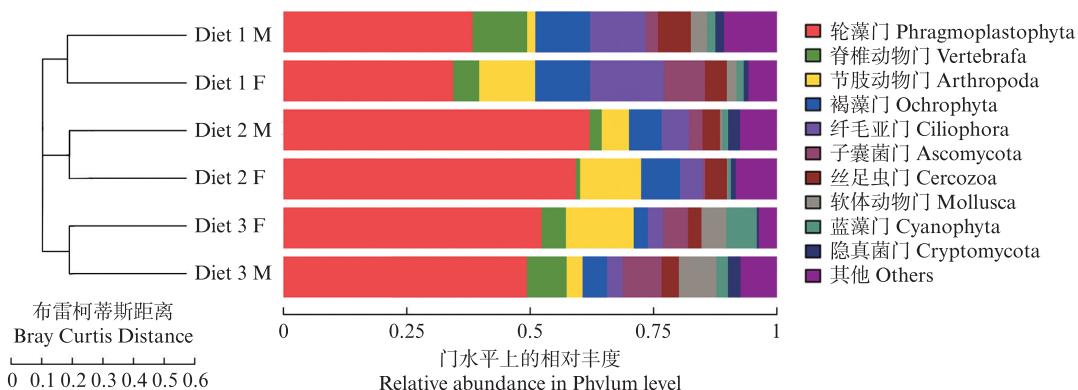


Diet 1、2 和 3 分别代表传统饵料、配合饲料和混合饵料投喂模式,柱形图上方不同小写字母代表有显著性差异( $P<0.05$ ),误差线代表标准差( $n=3$ )。

Diet 1, 2 and 3 represent the traditional, formulated and mixed diets, respectively. Different lowercase letters above the bar represent significant differences ( $P<0.05$ ). Error bars indicate SD ( $n=3$ ).

图2 3种投喂模式下中华绒螯蟹扣蟹胃内含物 $\alpha$ -多样性指数

Fig. 2 Analysis of  $\alpha$ -diversity comparisons of juvenile *Eriocheir sinensis* stomach content in different diets



Diet 1、2 和 3 分别代表传统饵料、配合饲料与混合饵料投喂模式,F 和 M 分别代表雌、雄性扣蟹胃内含物。

Diet 1, 2 and 3 represented traditional, formulated, and mixed diets, respectively. F and M represent stomach content of female and male juvenile crabs, respectively.

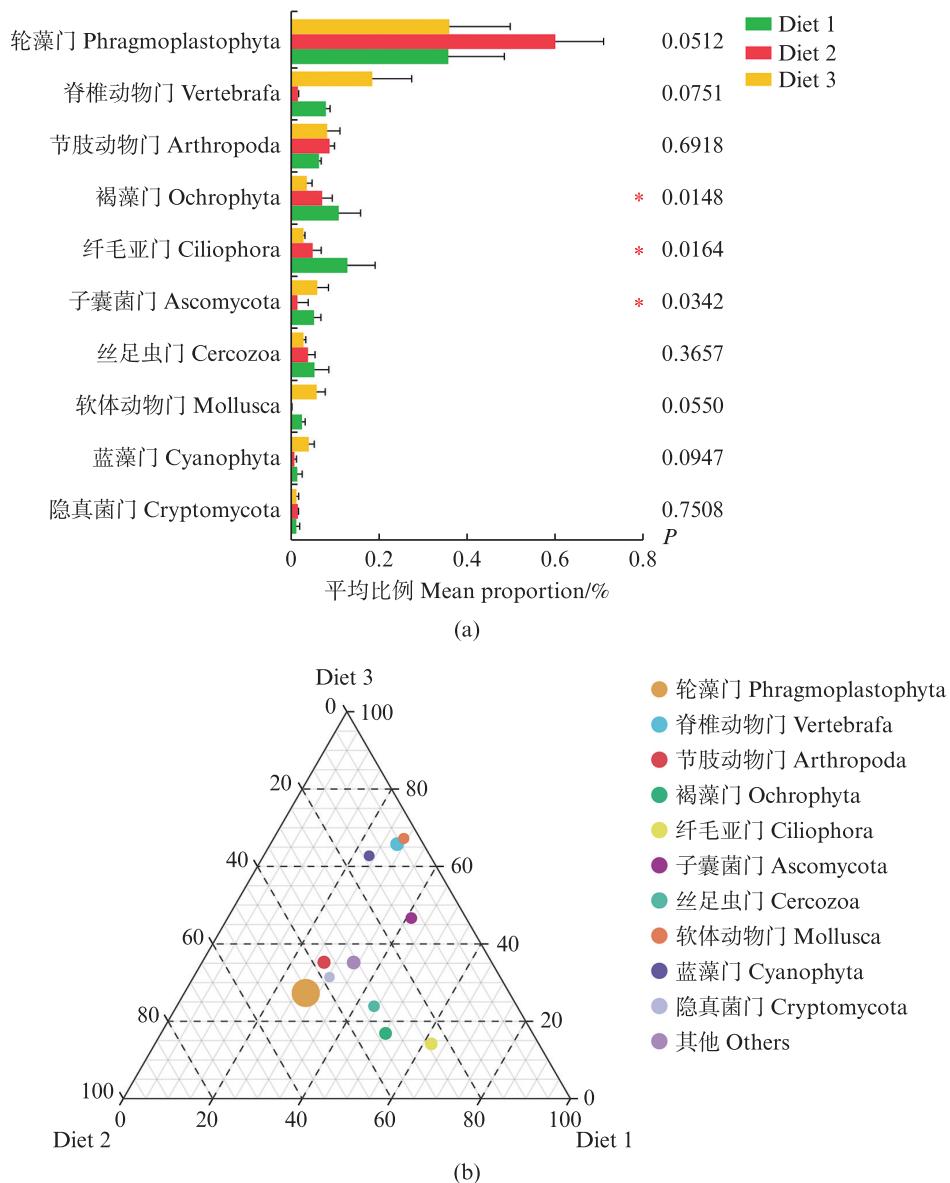
图3 3种投喂模式下雌、雄中华绒螯蟹扣蟹胃内含物在门水平上组成的UPGMA聚类树

Fig. 3 UPGMA clustering tree of different diets at the phylum level

### 2.3 3种投喂模式下扣蟹胃内含物在纲水平上的食物组成

基于所有扣蟹胃内含物样本中丰度最高的20个纲,进行了聚类热图分析,对具有相似内容物组成的胃内含物样本进行聚类分析,如图5所示。双层次树状图说明了扣蟹胃内含物的食物组成。采用邻接法计算系统发育树,通过Bray-

Curtis距离确定不同样品间的亲缘关系并完成了聚类方法。3种投喂模式下扣蟹胃内含物中均有以绿藻纲、共球藻纲(均属于轮藻门)为主的植物性饵料和以软甲纲(属于节肢动物门)和鱼纲(属于脊椎动物亚门)为主的动物性饵料。样本可以分成3组,3种投喂模式雌、雄扣蟹各自为一组。



(a) 平均相对丰富度最高的10个门在3种投喂模式下的中华绒螯蟹扣蟹胃内含物的差异; (b) 平均相对丰富度最高的10个门在3种投喂模式下中华绒螯蟹扣蟹胃内含物中所占的比例。\*为 $0.01 < P < 0.05$ 。

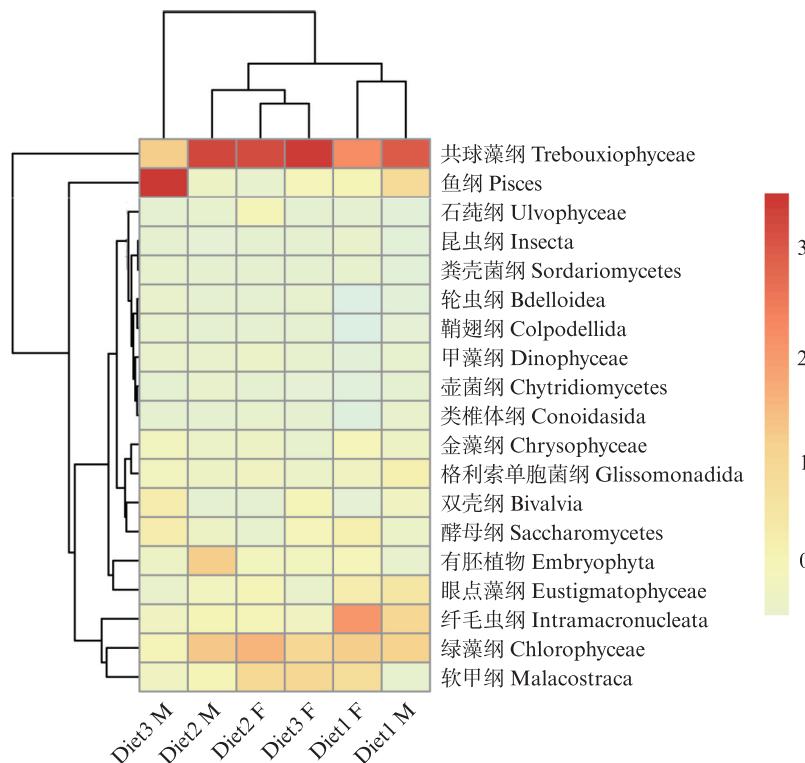
(a) Average relative abundance of the 10 phyla with the highest abundance and the differences in the abundance of stomach contents in juvenile *Eriocheir sinensis* under three diets; (b) Composition and distribution ratio of the 10 phyla with the highest abundance in the three diets. \* represents significant differences ( $0.01 < P < 0.05$ ).

图4 3种投喂模式下中华绒螯蟹扣蟹胃内含物中10个丰度最高门的比较

Fig. 4 Comparison of the 10 phyla with the highest abundance in the three diets

图6a结果显示传统饵料模式、配合饲料模式和混合饵料模式扣蟹胃内含物食物种类在纲水平上分别有451种、525种和340种。其中3种投喂模式下扣蟹胃内含物中共有的种类有207个,传统饵料模式和配合饲料模式、传统饵料模式和混合饵料模式、配合饲料模式和混合饵料模式共有的种类分别为47个、58个和26个。图6b采用主

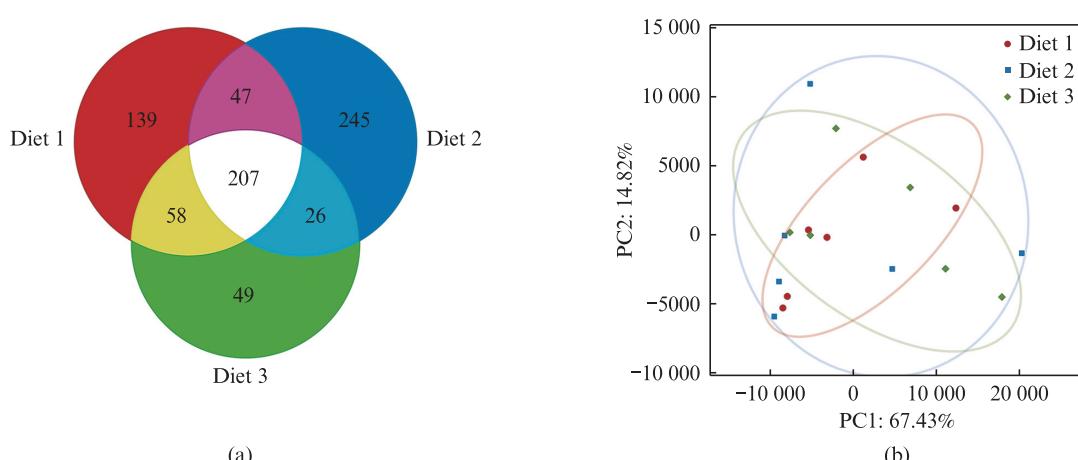
成分分析法对扣蟹胃内含物的食物组成进行相似性比较。PCA 主成分分析表明,配合饲料模式下扣蟹胃内含物组成与混合饵料模式和传统饵料模式的食物组成相似性较高,而传统饵料模式和混合饵料模式有一定程度的聚类,有一定重复。



The heatmap plot depicts the relative abundance of each OTU (vertical-axis clustering) within each sample (horizon-axis clustering). The color scale represents the normalized values of relative abundances by  $\log_{10}$ .

图5 3种投喂模式下扣蟹胃内含物食物组成的层次聚类热图

Fig. 5 Hierarchically clustered heatmap of the eukaryotic composition of different samples in three diets



Diet 1、2 和 3 分别代表传统饲料、配合饲料和混合饲料投喂模式。

Diet 1, 2 and 3 represented traditional, formulated and mixed diets, respectively.

图6 3种投喂模式下扣蟹胃内含物食物组成的维恩图分析和PCA主成分分析

Fig. 6 Venn diagram analysis and PCA plots of stomach contents in crabs in different diets

### 3 讨论

#### 3.1 3种投喂模式下雌、雄中华绒螯蟹扣蟹食物组成的差异

本研究采用18S rDNA测定了传统饲料模式、配合饲料模式和混合饲料模式下雌雄中华绒

螯蟹扣蟹的胃内含物的食物组成情况。实验中投喂的饵料(小麦、麸皮、豆粕和配合饲料)在18S rDNA分子鉴定中没有体现。原因如下:为增加饵料的适口性和可消化率,小麦、麸皮在投喂前进行100 °C高温蒸煮。在豆粕产出过程中会经受最高130 °C的高温处理<sup>[18-19]</sup>。为提高配合

饲料的可消化性和耐水性,其生产过程中会经受100 °C以上的高温<sup>[20-21]</sup>。由于以上投喂饵料都经过高温处理,而DNA的变性温度在70~95 °C<sup>[22]</sup>,均超过DNA的变性温度,所以饲料成分在18S rDNA分子鉴定中没有体现。

稀释曲线和Shannon-Wiener曲线最终趋于平坦,表明测序数据覆盖了池塘养殖扣蟹的所有食物源,可以较好地反映出不同投喂模式下扣蟹食物组成的多样性。Simpson指数和Chao指数分别代表扣蟹胃内含物中食物组成的多样性和丰度,Simpson指数表示物种的丰富度和均匀度,值越小表示物种分布越均匀,群落多样性越高<sup>[23-24]</sup>。Chao指数是群落物种丰富度的指标,代表群落或栖息地中物种聚集的数量<sup>[25]</sup>。结果表明,传统饵料投喂模式下扣蟹胃内含物中的食物组成的丰度和配合饲料模式扣蟹胃内含物中的生物多样性均显著高于混合饵料投喂模式;在门水平传统饵料投喂模式扣蟹胃内含物中褐藻门所占比例显著低于其他两种投喂模式;韦恩图进一步表明配合饲料模式扣蟹胃内含物中食物组成的种类最多。出现这种现象的主要原因是饵料能否满足扣蟹的生长需求,扣蟹除摄取饵料外是否还需要大量摄取池塘中潜在食物源<sup>[26-27]</sup>。混合饵料投喂模式下既投喂了配合饲料又含有传统饵料,其营养成分可以满足扣蟹生长发育所需<sup>[28-29]</sup>,扣蟹减少摄食养殖池塘中的潜在食物,对养殖环境中提供的食物的依赖性最低,因此混合饵料投喂模式下扣蟹胃内含物中食物组成的丰度和多样性最低。而传统饵料作为饵料营养单一不能满足幼蟹正常的生长发育,需要摄入更多的水生动植物来满足其生长发育。同时除了满足自身生长发育,扣蟹胃含物中的饵料生物差异还可能由投喂的不同饲料对池塘中饵料生物多样性造成影响而导致的<sup>[30-34]</sup>。在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)养殖池塘中,投喂苏丹草池塘中浮游植物种类多于投喂人工饲料的池塘,更利于浮游植物和浮游动物的生长,但没有显著差异<sup>[30]</sup>。在鲤(*Cyprinus carpio*)养殖池塘中,投喂以鱼粉和鱼油为基础、大豆油和豆粕为基础和谷物3种不同饲料未对浮游动物群落的整体组成产生显著变化,植物性饲料对浮游动物多样性没有负面影响<sup>[31]</sup>。本研究中未对水体的饵料生物组成进行分析,在后续的研究中可以对此

进行补充完善。

3种投喂模式下扣蟹胃内含物中均有以绿藻纲、共球藻纲(均属于轮藻门)为主和以眼点藻纲和金藻纲为主的褐藻门的植物性饵料和以软甲纲(属于节肢动物门)、纤毛虫纲(属于纤毛亚门)和鱼纲(属于脊椎动物亚门)为主的动物性饵料,这与扣蟹是杂食性动物的结论相同<sup>[35-36]</sup>。3种投喂模式下扣蟹胃内含物中动物性食物源(节肢动物门、纤毛亚门和脊椎动物亚门)的贡献率均低于同时期的植物性食物源(轮藻门和褐藻门),朱晓鸣等<sup>[37]</sup>也研究发现扣蟹更喜食水生植物,两者结果基本一致。节肢动物门主要由扣蟹摄食空间范围内的受伤或者刚蜕壳的同类以及处于稚虫阶段的水生昆虫组成<sup>[38-39]</sup>。在8月份的扣蟹胃内含物中还发现了以鱼纲为主的脊椎动物亚门食物,这是因为池塘环境中存在野杂鱼,例如鲫(*Carassius auratus*)和泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)等,扣蟹食物中的鱼类主要为鱼卵、鱼苗和鱼类尸体,并不会摄食成年健康鱼类。这与PANNING<sup>[28]</sup>和RUDNICK等<sup>[40]</sup>的研究相符合,将中华绒螯蟹和成年鱼类放到同一水族箱中,没有观察到对其中成年鱼类有不良影响。

SPOONER等<sup>[41]</sup>研究发现,雄性和雌性欧洲岸蟹(*Carcinus maenas*)食物组成上没有差异,这与本研究的结论相同。但是与本研究结论不同的是YOUNG等<sup>[42]</sup>对大西洋巴塔哥尼亚的岸蟹(*Carcinus maenas*)的食性研究发现,雌、雄岸蟹螯足形态特征的差异会导致雌雄个体食物组成的差异。本研究并没有测量中华绒螯蟹扣蟹的形态性状,后续研究可以结合形态性状研究进一步分析扣蟹食性的性别差异。

在扣蟹池塘养殖过程中,配合饲料相比于传统饵料为扣蟹提供的营养更全面,养殖推广过程中要优先选择配合饲料。另外,在选择投喂配合饲料的同时投喂传统饵料,可以减少养殖成本,提高养殖收益。

### 3.2 采用18S rDNA测定中华绒螯蟹扣蟹胃内含物中食物组成的局限性

虽然18S rDNA测序技术目前在水产动物食性研究中有广泛应用<sup>[13-17,43-45]</sup>,但在实际应用中仍然存在一些技术层面的问题<sup>[46-47]</sup>。其中主要问题是数据库缺失,测序数据对比过程中,有些物种的命名信息不全。这可能致使研究中水生动

物胃内含物的食物组成的鉴定出现误差,致使食物组成的信息不够完整。18S rDNA技术应用在食性分析时仅能检测短时期扣蟹胃内含物的食物组成<sup>[48]</sup>。后续我们会采用稳定同位素的方法进行补充,研究扣蟹养殖阶段长期的食物组成变动,进而完整把握扣蟹在池塘养殖阶段的营养需求,为高效配合饲料的研发优化提供理论基础。

#### 4 结论

中华绒螯蟹扣蟹在传统饵料投喂模式下胃内含物中食物组成的多样性最高。传统投喂模式下扣蟹胃内含物中相对丰度最高的门类依次是以绿藻纲和共球藻纲为主的轮藻门、以纤毛虫纲为主的纤毛亚门和以眼点藻纲和金藻纲为主的褐藻门;配合饲料投喂模式为轮藻门、以软甲纲为主的节肢动物门和褐藻门;混合投喂模式为轮藻门、节肢动物门和以鱼纲为主的脊椎动物亚门。褐藻门、纤毛亚门和子囊菌门所占比例在3种投喂模式之间存在显著差异。3种投喂模式下雌性和雄性扣蟹的胃内含物食物组成没有显著差异。

本研究获得了宿迁市黄墩湖实业发展有限公司产业发展部葛永春和上海市道宏水产养殖科技有限公司工作人员的大力支持,在此特表谢忱!

作者声明本文无利益冲突。

#### 参考文献:

- [1] 王武,王成辉,马旭洲. 河蟹生态养殖[M]. 2版. 北京:中国农业出版社,2013.  
WANG W, WANG C H, MA X Z. Ecological culture of Chinese mitten crab [M]. 2nd ed. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2013.
- [2] CHENG Y X, WU X G, YANG X Z, et al. Current trends in hatchery techniques and stock enhancement for Chinese mitten crab, *Eriocheir japonica sinensis* [J]. Reviews in Fisheries Science, 2008, 16(1/3): 377-384.
- [3] 付龙龙,李跃华,陆全平,等. 1龄蟹种培育几种模式对比分析[J]. 水产养殖, 2014, 35(12): 39-42.  
FU L L, LI Y H, LU Q P, et al. Comparative analysis of several breeding modes of 1st age crab species [J]. Journal of Aquaculture, 2014, 35(12): 39-42.
- [4] 姜晓东,吴旭干,张金彪,等. 三种饵料模式对中华绒螯蟹蟹种早期养殖性能、非特异免疫性能及抗病力的影响[J]. 动物学杂志, 2017, 52(1): 85-96.  
JIANG X D, WU X G, ZHANG J B, et al. Effects of three feeding modes on early culture performance, non-specific immunity and disease resistance of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Chinese Journal of Zoology, 2017, 52(1): 85-96.
- [5] 王少兵,姜晓东,张金彪,等. 两种投饲模式下中华绒螯蟹扣蟹池塘养殖效果比较[J]. 水产科技情报, 2018, 45(3): 162-166.  
WANG S B, JIANG X D, ZHANG J B, et al. Culture effect of different feeding modes on pond-reared juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Fisheries Science & Technology Information, 2018, 45(3): 162-166.
- [6] 席晓晴,鲍宝龙,章守宇. DNA条形码在鱼类胃含物种类鉴定中的应用[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(2): 203-210.  
XI X Q, BAO B L, ZHANG S Y. Application of DNA barcoding in species analysis of fish stomach content [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2015, 24(2): 203-210.
- [7] 洪巧巧,庄平,杨刚,等. 长江口中国花鲈食性分析[J]. 生态学报, 2012, 32(13): 4181-4190.  
HONG Q Q, ZHUANG P, YANG G, et al. Feeding habits of *Lateolabrax maculatus* in Yangtze River Estuary [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(13): 4181-4190.
- [8] 莫宝霖,秦传新,陈丕茂,等. 基于碳、氮稳定同位素技术的大亚湾紫海胆食性分析[J]. 中国水产科学, 2017, 24(3): 566-575.  
MO B L, QIN C X, CHEN P M, et al. Feeding habits of the purple sea urchin *Heliocidaris crassispina* based on stable carbon and nitrogen isotope analysis [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(3): 566-575.
- [9] LIU K M, LIN Y H, CHANG S K, et al. Examining an ontogenetic shift in the diet of the whitespotted bamboo shark *Chiloscyllium plagiosum* in northern Taiwanese waters [J]. Regional Studies in Marine Science, 2020, 35: 101234.
- [10] 薛莹,金显仕,张波,等. 黄海中部小黄鱼的食物组成和摄食习性的季节变化[J]. 中国水产科学, 2004, 11(3): 237-243.  
XUE Y, JIN X S, ZHANG B, et al. Diet composition and seasonal variation in feeding habits of small yellow croaker *Pseudosciaena polyactis* bleeker in the central Yellow Sea [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2004, 11(3): 237-243.
- [11] 徐静静,耿智,冯广朋,等. 长江口中华绒螯蟹雌蟹的食性和摄食强度[J]. 海洋渔业, 2019, 41(4): 397-407.  
XU J J, GENG Z, FENG G P, et al. Dietary and feeding intensity of female *Eriocheir sinensis* in the Yangtze River Estuary during migratory period [J]. Marine Fisheries, 2019, 41(4): 397-407.

- [12] TRAUGOTT M, THALINGER B, WALLINGER C, et al. Fish as predators and prey: DNA-based assessment of their role in food webs [J]. *Journal of Fish Biology*, 2021, 98(2): 367-382.
- [13] O'RORKE R, LAVERY S, CHOW S, et al. Determining the diet of larvae of western rock lobster (*Panulirus cygnus*) using high-throughput DNA sequencing techniques [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (8) : e42757.
- [14] HO T W, HWANG J S, CHEUNG M K, et al. Dietary analysis on the shallow-water hydrothermal vent crab *Xenograpus testudinatus* using Illumina sequencing [J]. *Marine Biology*, 2015, 162(9): 1787-1798.
- [15] VAN DER REIS A L, LAROCHE O, JEFFS A G, et al. Preliminary analysis of New Zealand scampi (*Metanephrops challengeri*) diet using metabarcoding [J]. *PeerJ*, 2018, 6: e5641.
- [16] CORDONE G, LOZADA M, VILACOBA E, et al. Metabarcoding, direct stomach observation and stable isotope analysis reveal a highly diverse diet for the invasive green crab in Atlantic Patagonia [J]. *Biological Invasions*, 2022, 24(2): 505-526.
- [17] 王先锋, 林承刚, 许强, 等. 利用18S rDNA分子方法分析浒苔绿潮过境期间长牡蛎摄食情况的变化[J]. 海洋与湖沼, 2017, 48(6): 1362-1370.
- WANG X F, LIN C G, XU Q, et al. Impact of *Enteromorpha prolifera* green tide on oyster feeding using 18S rDNA molecular method [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2017, 48(6): 1362-1370.
- [18] 左青, 左晖. 大豆压榨厂先进装置及工艺[J]. 中国油脂, 2023, 48(1): 125-130.
- ZUO Q, ZUO H. Advanced devices and process of soybean press plant [J]. *China Oils and Fats*, 2023, 48 (1): 125-130.
- [19] SERRATO A G. Extraction of oil from soybeans [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1981, 58 (3): 157-159.
- [20] CUZON G, GUILLAUME J, CAHU C. Composition, preparation and utilization of feeds for Crustacea [J]. *Aquaculture*, 1994, 124(1/4): 253-267.
- [21] 尚元富. 河蟹的营养需求与配合饲料制作[J]. 水产养殖, 2006, 27(2): 24-26.
- SHANG Y F. Nutritional requirements of Chinese mitten crab and the production of its formulated feed [J]. *Journal of Aquaculture*, 2006, 27(2): 24-26.
- [22] MARMUR J, DOTY P. Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its thermal denaturation temperature [J]. *Journal of Molecular Biology*, 1962, 5(1): 109-118.
- [23] MUELLER R C, PAULA F S, MIRZA B S, et al. Links between plant and fungal communities across a deforestation chronosequence in the Amazon rainforest [J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(7): 1548-1550.
- [24] SIMPSON E H. Measurement of diversity [J]. *Nature*, 1946, 163: 688.
- [25] CHAO A. Non-parametric estimation of the classes in a population [J]. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1984, 11(4): 265-270.
- [26] WU X G, CHENG Y X, ZENG C S, et al. Reproductive performance and offspring quality of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) females fed an optimized formulated diet and the razor clam *Sinonovacula constricta* [J]. *Aquaculture Research*, 2009, 40(12): 1335-1349.
- [27] ZHUANG K J, WU N, WANG X C, et al. Effects of 3 feeding modes on the volatile and nonvolatile compounds in the edible tissues of female Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Journal of Food Science*, 2016, 81(4): S968-S981.
- [28] PANNING A. The Chinese mitten crab [R]. Washington: Annual Report of the Smithsonian Institution, 1938: 361-375.
- [29] VEILLEUX E, DE LAFONTAINE Y. Biological synopsis of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [R]. Nanaimo: Fisheries and Oceans Canada Science Branch, 2007: 1-45.
- [30] 王龙升, 周琼, 谢从新, 等. 两种营养源对主养草鱼池塘浮游生物群落结构与碳/氮转化的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(8): 1286-1297.
- WANG L S, ZHOU Q, XIE C X, et al. The effects of two nutrient sources on the plankton community structure and C/N trophic shift in *Ctenopharyngodon idella* poly-culture ponds [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41 (8) : 1286-1297.
- [31] TÓTH F, ZSUGA K, KEREPECKI É, et al. The effect of feed composition on the structure of zooplankton communities in fishponds [J]. *Water*, 2020, 12 (5) : 1338.
- [32] ĆIRIĆ M, SUBAKOV - SIMIĆ G, DULIĆ Z, et al. Effect of supplemental feed type on water quality, plankton and benthos availability and carp (*Cyprinus carpio* L.) growth in semi-intensive monoculture ponds [J]. *Aquaculture Research*, 2015, 46(4): 777-788.
- [33] COMAN F E, CONNOLLY R M, PRESTON N P. Zooplankton and epibenthic fauna in shrimp ponds: factors influencing assemblage dynamics [J]. *Aquaculture Research*, 2003, 34(5): 359-371.
- [34] KIØRBOE T. How zooplankton feed: mechanisms, traits and trade-offs [J]. *Biological Reviews*, 2011, 86 (2) : 311-339.
- [35] RUDNICK D, RESH V. Stable isotopes, mesocosms and gut content analysis demonstrate trophic differences in two

- invasive decapod crustacea [J]. Freshwater Biology, 2005, 50(8): 1323-1336.
- [36] 金刚, 谢平, 李钟杰. 湖泊放流二龄河蟹的食性[J]. 水生生物学报, 2003, 27(2): 140-146.
- JIN G, XIE P, LI Z J. Food habits of 2-year-old Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*, stocked in Lake Bao'an [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27 (2) : 140-146.
- [37] 朱晓鸣, 崔奕波, 光寿红. 中华绒螯蟹对三种天然饵料的选食性及消化率[J]. 水生生物学报, 1997, 21(1): 94-96.
- ZHU X M, CUI Y B, GUANG S H. Food selection and digestibility of three natural diets for the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1997, 21(1): 94-96.
- [38] 李晓东. 北方河蟹养殖新技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- LI X D. New technology of crab culture in northern China [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006.
- [39] 陈炳良, 堵南山, 叶鸿发. 中华绒螯蟹的食性分析[J]. 水产科技情报, 1989(1): 2-5.
- CHEN B L, DU N S, YE H F. Analysis on the feeding habit of the mitten crab *Eriocheir sisensis* [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 1989(1): 2-5.
- [40] RUDNICK D A, HALAT K M, RESH V H. Distribution, ecology and potential impacts of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) in San Francisco Bay [D]. Berkeley: University of California Water Resources Center, 2000.
- [41] SPOONER E H, COLEMAN R A, ATTRILL M J. Sex differences in body morphology and multitrophic interactions involving the foraging behaviour of the crab *Carcinus maenas* [J]. *Marine Ecology*, 2007, 28 (3) : 394-403.
- [42] YOUNG A M, ELLIOTT J A. Life history and population dynamics of green crabs (*Carcinus maenas*) [J]. *Fishes*, 2019, 5(1): 4.
- [43] WU X G, LIU M M, PAN J, et al. The ovarian development pattern of pond-reared Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* H. Milne-Edwards, 1853 [J]. *Crustaceana*, 2017, 90(4): 449-470.
- [44] 王欣, 刘必林, 何骏杰, 等. 基于高通量测序的西北太平洋柔鱼食性初步分析[J]. 上海海洋大学学报, 2024, 33 (4): 900-910.
- WANG X, LIU B L, HE J J, et al. Preliminary analysis of the feeding habits of *Ommastrephes bartramii* in the high sea of Northwest Pacific Ocean based on high-throughput sequencing [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2024, 33(4): 900-910.
- [45] NALLEY E M, DONAHUE M J, TOONEN R J. Metabarcoding as a tool to examine cryptic algae in the diets of two common grazing surgeonfishes, *Acanthurus triostegus* and *A. nigrofasciatus* [J]. *Environmental DNA*, 2022, 4(1): 135-146.
- [46] 孙丽慧, 李倩, 张海琪, 等. 澳洲淡水龙虾受精卵到仔虾营养物质变化分析[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32 (2): 348-356.
- SUN L H, LI Q, ZHANG H Q, et al. Analysis of change of nutrients from fertilized eggs to newly hatched shrimp of *Cherax quadricarinatus* [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2023, 32(2): 348-356.
- [47] 张宇洋, 董建宇, 孙昕, 等. 基于DNA分子生物学食性研究领域的文献计量分析[J]. 水产科学, 2022, 41 (1): 160-172.
- ZHANG Y Y, DONG J Y, SUN X, et al. A review of bibliometric analysis of feeding habits on DNA-based molecular dietary research [J]. *Fisheries Science*, 2022, 41(1): 160-172.
- [48] 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.

## Comparative analysis of the utilization of pond food organisms by juvenile Chinese mitten crab under three diets based on 18S rDNA and diet analysis

XU Guangwei<sup>1</sup>, LU Zhenzhen<sup>1</sup>, SUN Yunfei<sup>1,2,3,4</sup>, CHENG Yongxu<sup>1,2,3,4</sup>

(1.Key Laboratory of Integrated Rice-Fish Farming Ecosystem, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2.Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3.National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 4.Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** To investigate the growth and feeding conditions of the juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) under different diets, traditional (wheat, bran, and soybean meal, Diet 1), formulated(Diet 2), and mixed feeds (1:1 mixture of traditional and formulated feeds, Diet 3) were fed in different crab ponds in the study. During the experiment, the stomach contents of juvenile crabs under the different feeding modes were collected in August. The main potential eukaryotic food components were studied using 18S rDNA sequencing. The results showed that the Chao index of food composition under Diet 1 was significantly higher than Diet 3, while the Simpson index was opposite. The phyla with the highest relative abundance in the stomach contents of juvenile crabs for Diet 1 are, in order: Phragmoplastophyta (mainly Chlorophyceae and Trebouxiophyceae) , Ciliophora (mainly Intramacronucleata) , and Ochrophyta (mainly Eustigmatophyceae and Chrysophyceae). Diet 2 is Phragmoplastophyta, Arthropoda (mainly Malacostraca) , and Ochrophyta. Diet 3 is Phragmoplastophyta, Arthropoda, and Vertebrata (mainly Pisces). The abundance of Ascomycota in Diet 2 and 3was significantly higher than Diet 1. There was no significant difference in the food composition in the stomach contents between male and female juvenile crabs. There was a total of 207 types of food components in the stomach contents of crabs in three diets. The main components of the stomach content of juvenile crabs in Diet 2 completely encompass the main components found in other diets. In summary, the diversity and abundance of food in the stomach contents were different under different diets. The main contents of the stomach contents in the juvenile crabs were Phragmoplastophyta, which were mainly composed of Chlorophyceae and Trebouxiophyceae. There was no significant difference in the food composition in the stomach contents between male and female juvenile crabs.

**Key words:** juvenile *Eriocheir sinensis*; diets; stomach content; 18S rDNA; food composition