

荣成俚岛大泷六线鱼摄食生态研究

纪东平¹, 卞晓东², 宋娜¹, 高天翔^{1*}

(1. 中国海洋大学海洋生物多样性与进化研究所, 山东 青岛 266003;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 为研究荣成俚岛大泷六线鱼的摄食生态, 于 2010 年 3 月—2011 年 2 月逐月采集荣成俚岛近海 482 尾大泷六线鱼, 对其进行胃含物分析。结果发现, 大泷六线鱼为底栖生物食性鱼类摄食的饵料生物有 10 个类群, 主要摄食鱼类, 其次是多毛类、虾类、海藻类、蟹类和口足类等。食物组成随季节和体长而变化: 除四季均大量摄食虾类外, 春季还摄食蟹类和多毛类, 夏季和秋季主要摄食鱼类, 冬季摄食多毛类的比例最高; 体长 < 80 mm 的大泷六线鱼喜食虾类和端足类, 体长 80 ~ 119 mm 个体喜食多毛类、口虾蛄幼体和虾类等, 而体长 > 119 mm 个体主要摄食鱼类、虾蟹类。摄食强度也随季节和体长而变化: 夏季摄食强度最高, 冬季最低(不停食); 体长 < 80 mm 个体摄食强度最高, 随体长增加摄食强度逐渐下降, 体长 > 180 mm 以上的个体又随体长、年龄的增大而逐渐升高。通过 DNA 条形码对大泷六线鱼的 6 个饵料生物样品进行鉴定, 其中, 4 个饵料生物样品鉴定到种, 1 个样品鉴定到属, 1 个样品鉴定到科。

关键词: 大泷六线鱼; 摄食生态; 胃含物分析; DNA 条形码; 荣成俚岛

中图分类号: S 931.1

文献标志码: A

大泷六线鱼 (*Hexagrammos otakii*) 隶属于鲷形目 (Scorpaeniformes)、六线鱼科 (Hexagrammidae)、六线鱼属 (*Hexagrammos*), 分布于朝鲜半岛、日本、俄罗斯远东海域以及中国的渤海、黄海和东海, 是近海冷温性底栖鱼类^[1-3]。大泷六线鱼常栖息于岩礁海藻区或岛屿周边, 为近海垂钓、底拖网及定置网渔获物中的常见种, 具有重要的经济价值^[4-5]。大泷六线鱼为典型恋礁性鱼类, 荣成俚岛岩礁区的藻类生长茂盛, 为其提供了良好的栖息地和饵料场, 使其成为荣成俚岛海域的优势种之一^[6], 并在底栖食物链中扮演着重要的角色。迄今, 国内外学者已对大泷六线鱼食性开展了一些研究^[7-14], 但尚未见荣成俚岛大泷六线鱼摄食生态的相关研究报道。

DNA 条形码 (DNA barcoding) 是一种基于分子生物学技术进行物种鉴定的新方法。随着分子生物学技术的不断发展, 不同物种的 DNA 序列得

到大量积累, 可以进行物种的鉴定和分类^[15-16]。在胃含物传统形态学分析过程中, 利用 DNA 条形码技术进行有针对性的鉴定, 其应用潜力巨大。近年来, 国外学者将 DNA 分子标记技术应用用于胃含物鉴定研究, 并取得较好的效果^[17-19], 目前国内应用 DNA 技术鉴定胃含物的研究则很少^[20]。

鱼类食性研究是了解鱼类群落或整个生态系统结构和功能的基础, 是实施渔业管理的重要前提^[21]。本实验采用形态学分析法和 DNA 条形码技术对荣成俚岛大泷六线鱼的摄食生态进行了研究, 分析其食物组成和摄食强度以及随季节和生长发育的变化, 旨在阐明其摄食习性和变化特征, 为其资源的合理利用与保护提供基础依据。

1 材料与方 法

1.1 样品采集

实验样品取自 2010 年 3 月—2011 年 2 月, 通

收稿日期: 2014-03-18 修回日期: 2014-05-27

资助项目: 海洋公益性行业科研专项 (201305043; 201405010)

通信作者: 高天翔, E-mail: gaozhang@ouc.edu.cn

过地笼网逐月采集山东省荣成俚岛人工鱼礁区海域(37°13' N, 122°36' E)的大泷六线鱼 482 尾(表 1)。取样调查时,地笼网在海中投放 24 h,于次日相同时间段收取。为分析食物组成和摄食强度随季节变化,将采样时间划分为 4 个季节:春季(2010 年 3 月—5 月)、夏季(2010 年 6 月—8 月)、秋季(2010 年 9 月—11 月)和冬季(2010 年 12 月—2011 年 2 月),各季节样品数均 > 30 尾;为分析食物组成和摄食强度随体长变化,以 20 mm 为间隔分为 11 个体长组: < 60、60 ~ 79、80 ~ 99、100 ~ 119、120 ~ 139、140 ~ 159、160 ~ 179、180 ~ 199、200 ~ 219、220 ~ 239 和 > 239 mm 组。

表 1 荣成俚岛大泷六线鱼的样本信息
Tab. 1 Sampling information of *H. otakii* in

Lidao Rongcheng			
月份 month	数量 number	体长/mm standard length	
		平均值 ± 标准差 mean ± SD	体长范围 range
2010-03	5	158.7 ± 44.6	118 ~ 227
2010-04	15	135.9 ± 20.1	103 ~ 170
2010-05	18	110.8 ± 7.0	95 ~ 121
2010-06	21	146.8 ± 39.0	99 ~ 215
2010-07	75	110.3 ± 32.0	57 ~ 245
2010-08	69	119.4 ± 31.5	63 ~ 198
2010-09	70	118.0 ± 33.5	69 ~ 182
2010-10	78	133.1 ± 25.6	80 ~ 192
2010-11	90	123.5 ± 30.4	75 ~ 192
2010-12	23	96.5 ± 31.9	72 ~ 174
2012-02	18	88.8 ± 12.8	67 ~ 111
总计 total	482	120.3 ± 32.3	57 ~ 245

1.2 胃含物分析

主要参考 Hyslop^[22] 和陈大刚^[23] 进行胃含物分析,具体实验步骤如下:

(1) 样品带回实验室后,进行体长(L ,精确到 1.0 mm)和体质量(W ,去除内脏的重量,精确到 0.1 g)等常规生物学测定,剪取完整胃装袋并编号,冷冻保存。

(2) 胃含物分析时,依据胃的饱满程度将摄食等级分为 0 ~ 4 级:0 级,胃中无食物;1 级,胃中有少量(< 1/2)食物;2 级,胃中有适量(≥ 1/2)食物;3 级,胃中充满食物,但胃壁不膨大;4 级,胃中充满食物,并且胃壁膨大。去除胃壁,取全部胃含物称总质量。

(3) 置于 Motic 双筒解剖镜下进行观察,尽可

能将饵料种类鉴定到最低分类阶元,分类依据主要为鱼类耳石、骨骼、虾类额剑等不易或未被消化部分。个体较大或消化程度较低的食物种类,对其直接鉴定、计数,并在 Sartorius BT125D 精密电子天平(精确到 0.000 01 g)上称量,称量前将饵料生物表面的水分尽可能吸干。部分饵料生物消化较完全或只剩残骸,采用更正重量计算,并鉴定到大类。对所有饵料生物进行拍照,形态上不能准确鉴定的置于 95% 乙醇溶液中冷冻保存,以用于 DNA 条形码鉴定。

1.3 定量分析指标

评价饵料重要性的指标有饵料重量百分比($M\%$)、个数百分比($N\%$)、出现频率($F\%$)和相对重要性指数百分比($IRI\%$)^[22,24],各计算公式如下:

$$\text{重量百分比}(M\%) = \frac{\text{某饵料生物重量}}{\text{饵料生物总重量}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{个数百分比}(N\%) = \frac{\text{某饵料生物个数}}{\text{饵料生物总个数}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{出现频率}(F\%) = \frac{\text{某饵料生物出现次数}}{\text{总胃数}} \times 100 \quad (3)$$

$$IRI = F\% \times (N\% + M\%) \quad (4)$$

$$IRI\% = \frac{IRI}{\sum IRI} \times 100 \quad (5)$$

摄食强度用摄食等级(0 ~ 4 级)和胃饱满系数来表示,胃饱满系数的计算公式如下:

$$\text{胃饱满系数}(\%) = \frac{\text{食物团实际质量}}{\text{鱼体质量}} \times 100 \quad (6)$$

1.4 DNA 条形码鉴定饵料生物

DNA 提取与序列扩增 取相对完整的样品组织约 100 mg,经蛋白酶 K 消化后,使用传统酚—氯仿法提取基因组 DNA,4 °C 冰箱中保存待用。

扩增测定线粒体 DNA *CO I* 基因片段序列,其中鱼类和鱼卵样品使用引物 F1、R1 和 F2、R2,虾蟹类样品使用引物 Lco1490、Hco2198(表 2)。

25 μL PCR 反应体系: *Taq* 酶 0.25 μL, DNA 模板 1 μL,正反向引物各 1 μL, dNTP 2 μL, 10 × PCR buffer 2.5 μL,去离子水 17.25 μL。PCR 反应条件:94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 45 s,52 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 45 s,循环 35 次,然后 72 °C 延伸 10 min。

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

饵料种类 prey items	引物名称 primer names	引物序列 primer sequences
鱼类 pisces	F1	TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC
	R1	TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA
	F2	TCGACTAATCATAAAAGATATCGGCAC
	R2	ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA
虾、蟹类 decapoda and crabs	Lco1490	GGTCAAATCATAAAGATATTGG
	Hco2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA

取 2 μ L PCR 产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,使用回收试剂盒对目的条带进行回收和纯化,之后送生物公司进行正反链测序。

序列分析 使用 DNASTAR 软件包 (DNASTAR Inc., Madison, USA) 对测得序列进行编辑和人工校正;通过 NCBI 的 BLAST 进行序列比对分析,使用 MEGA 4.0^[25] 构建邻接关系树(碱基替代模型为 K2P 模型),并计算遗传距离。

1.5 数据分析

采用 Primer 5.0 软件对不同体长组的食物组成进行聚类分析^[26],以饵料重量百分比($M\%$)作为标准,分析前将数据作平方根转换,得到 Bray-Curtis 相似性矩阵^[27]。显著性水平设为 $\alpha = 0.05$ 。

采用 SPSS 17.0 软件分别进行 Kruskal-Wallis 非参数秩次检验(nonparametric rank test)和卡方检验(chi-square test)来分析摄食强度随季节和体长的变化^[28-29]。

2 结果

2.1 食物组成

结果表明,大泷六线鱼摄食的饵料生物有 10 个类群,其中鱼类是最主要的食物来源($IRI\% = 55.61\%$),其次为多毛类($IRI\% = 28.56\%$)、虾类($IRI\% = 8.04\%$)、海藻类($IRI\% = 2.86\%$)、蟹类($IRI\% = 1.28\%$)和口足类($IRI\% = 1.25\%$),其他饵料生物类群的 $IRI\% < 1\%$;从摄食种类看,能鉴定到种的饵料生物有 25 种,其中沙蚕最多($IRI\% = 24.83\%$),其次为日本鳀(*Engraulis japonicus*)、口虾蛄(*Oratosquilla oratoria*)、石花菜(*Gelidium amansii*)和真江蓠(*Gracilaria*

asiatica)等(表 3)。

按重量百分比($M\%$)进行排序,鱼类在食物中所占比例最大,为 47.69%,其次为多毛类(22.46%)、虾类(14.01%)和蟹类(8.31%),其他饵料生物类群的重量百分比 $< 5\%$ 。按个数百分比($N\%$)进行排序,多毛类最多,为 29.87%,其次是鱼类(26.42%)、海藻类(14.47%)和虾类(11.01%),其他饵料生物类群的个数百分比 $< 5\%$ 。

按出现频率($F\%$)进行排序,鱼类的出现频率最高,为 43.53%,其次为多毛类、海藻类、虾类、蟹类、海草类、口足类和腹足类,其他饵料生物类群的出现频率 $< 5\%$ 。

食物组成的季节变化 研究结果表明,大泷六线鱼摄食的饵料生物类群存在明显的季节变化。虾类在四季中均是最主要的饵料生物类群, $M\%$ 的范围为 11.46%~43.11%,春季最高,秋季最低。此外,大泷六线鱼在春季还摄食蟹类(29.08%)和多毛类(19.21%),蟹类所占比例为全年最高;夏季还摄食大量的鱼类(49.10%);秋季摄食鱼类的百分比达到全年最大值(59.72%);在冬季,摄食多毛类的百分比达到最大值(50.15%),还摄食一些蟹类(12.53%)(表 4)。

食物组成随体长的变化 大泷六线鱼的食物组成随体长不同而变化。体长 < 80 mm 的大泷六线鱼主要摄食虾类(36.98%)和端足类(2.65%);80~119 mm 的大泷六线鱼主要摄食多毛类(23.76%~30.20%)、口足类(24.72%~34.42%)和虾类(15.07%~25.39%)等;体长 > 119 mm 的大泷六线鱼主要摄食鱼类(26.30%~52.34%),虾类和蟹类等也占一定比例(表 5)。

表 3 荣成俚岛大泷六线鱼的食物组成
Tab.3 Dietary composition of *H. otakii* in Lidao Rongcheng

饵料种类 prey items	IRI%	M%	N%	F%
海藻类 algae	2.86	0.53	14.47	22.35
石花菜 <i>Gelidium amansii</i>	1.20	0.15	4.72	8.24
真江蓠 <i>Gracilaria asiatica</i>	1.11	0.15	4.72	7.65
角叉菜 <i>Chondrus ocellatus</i>	0.14	0.05	1.89	2.35
海黍子 <i>Sargassum kjellmanianum</i>	0.41	0.18	3.14	4.12
海草类 seagrass	0.98	0.32	4.72	6.47
大叶藻科 Zosteraceae	0.98	0.32	4.72	6.47
鱼类 pisces	55.61	47.69	26.42	43.53
狮子鱼属 <i>Liparis</i> sp.	0.04	1.88	0.31	0.59
暗缟虾虎鱼 <i>Tridentiger obscurus</i>	0.03	1.56	0.31	0.59
大泷六线鱼 <i>Hexagrammos otakii</i>	0.03	1.44	0.31	0.59
日本鳀 <i>Engraulis japonicus</i>	4.35	9.16	6.29	9.41
不可辨认鱼类 unidentified fishes	51.17	33.65	19.18	32.35
虾类 decapoda	8.04	14.01	11.01	17.06
巨指长臂虾 <i>Palaemon macrodactylus</i>	0.25	3.74	0.94	1.76
脊腹褐虾 <i>Crangon affinis</i>	0.07	1.44	0.63	1.18
不可辨认虾类 unidentified decapoda	7.72	8.82	9.43	14.12
口足类 stomatopoda	1.25	3.96	3.14	5.88
口虾蛄 <i>Oratosquilla oratoria</i>	1.25	3.96	3.14	5.88
端足类 amphipoda	0.01	0.07	0.63	0.59
藻钩虾 <i>Ampithoe</i> sp.	0.01	0.07	0.63	0.59
蟹类 crabs	1.28	8.31	4.40	7.06
海绵寄居蟹 <i>Pagurus pectinatus</i>	0.02	0.75	0.31	0.59
四齿矶蟹 <i>Pugettia quadridens</i>	0.01	0.26	0.31	0.59
锯足软腹蟹 <i>Hapalogaster dentata</i>	0.04	1.82	0.31	0.59
扇蟹科 Xanthidae sp.	0.01	0.07	0.31	0.59
不可辨认蟹类 unidentified crabs	1.20	5.40	3.14	4.71
腹足类 gastropoda	0.71	0.58	3.46	5.88
锈凹螺 <i>Chlorostoma rustica</i>	0.71	0.58	3.46	5.88
多毛类 polychaeta	28.56	22.46	29.87	34.12
索沙蚕 <i>Lumbrineris</i> sp.	3.73	20.42	3.14	5.29
不可辨认沙蚕 unidentified sandworms	24.83	2.04	26.73	28.82
鱼卵 fish eggs	0.72	3.63	2.20	4.12
大泷六线鱼 <i>Hexagrammos otakii</i>	0.58	2.90	1.75	3.29
斑头鱼 <i>Hexagrammos agrammus</i>	0.14	0.74	0.45	0.82

表 4 荣成俚岛大泷六线鱼饵料生物类群重量百分比 (M%) 的季节变化
Tab.4 Seasonal variations in mass percentage (M%) of prey groups for *H. otakii* in Lidao Rongcheng

饵料类群 prey group	春季 spring	夏季 summer	秋季 autumn	冬季 winter
海藻类 algae	0.11	0.56	0.65	0.27
海草类 seagrass	-	0.56	0.07	1.34
鱼类 pisces	5.15	49.10	59.72	-
虾类 decapoda	43.11	31.45	11.46	34.10
口足类 stomatopoda	3.34	8.34	-	-
端足类 amphipoda	-	-	-	1.60
蟹类 crabs	29.08	2.53	7.90	12.53
腹足类 gastropoda	-	1.11	0.25	-
多毛类 polychaeta	19.21	6.35	11.10	50.15
鱼卵 fish eggs	-	-	8.85	-

注：“-”代表无(下同)

Notes:“-”indicates the ratio is zero(same as below)

表 5 荣成俚岛大泷六线鱼饵料生物类群重量百分比 ($M\%$) 随体长的变化
 Tab. 5 Ontogenetic variations in mass percentage ($M\%$) of prey groups for *H. otakii* in Lidao Rongcheng

饵料类群 prey group	体长组/mm size classes										
	<60	60 ~ 79	80 ~ 99	100 ~ 119	120 ~ 139	140 ~ 159	160 ~ 179	180 ~ 199	200 ~ 219	220 ~ 239	> 239
海藻类 algae	2.02	1.07	0.43	0.39	0.37	0.58	1.06	0.29	0.39	-	-
海草类 seagrass	0.98	-	-	0.66	0.26	0.31	0.20	0.62	-	-	-
鱼类 pisces	-	-	29.57	10.45	44.96	52.34	43.60	46.35	46.00	48.77	70.08
虾类 decapoda	16.35	36.98	15.07	25.39	12.89	17.50	16.65	15.18	13.40	20.34	8.85
口足类 stomatopoda	-	-	24.72	34.42	3.52	4.10	-	-	-	-	-
端足类 amphipoda	-	2.65	-	-	-	-	-	-	-	-	-
蟹类 crabs	-	-	-	3.00	6.16	7.17	9.56	14.51	18.73	5.61	9.82
腹足类 gastropoda	-	-	-	1.93	0.26	0.60	0.40	-	-	-	-
多毛类 polychaeta	80.65	59.30	30.20	23.76	29.27	12.03	21.37	12.17	21.48	25.28	11.25
鱼卵 fish eggs	-	-	-	-	2.31	5.37	7.16	10.88	-	-	-

聚类分析将大泷六线鱼的 11 个体长组分为 3 大组。第 1 组为体长 < 80 mm 个体, 相似性系数为 80.53%; 第 2 组体长 80 ~ 119 mm, 相似性系数为 75.60%; 第 3 组为体长 > 119 mm 个体, 相似性系数为 80.82% (图 1)。

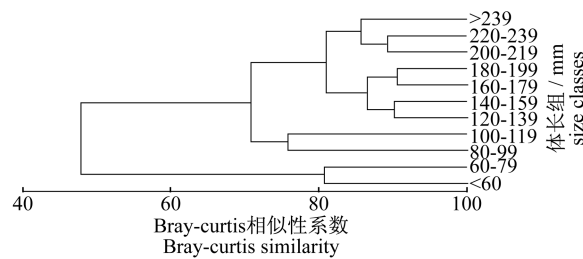


图 1 荣成俚岛大泷六线鱼各体长组食物组成的聚类分析

Fig. 1 Cluster analysis by each size class of dietary composition for *H. otakii* in Lidao Rongcheng

2.2 摄食强度

大泷六线鱼的全年摄食强度以 3 级所占比例最高, 为 22.2%, 其余依次为 2 级 (21.5%)、1 级 (20.3%)、4 级 (19.3%) 和 0 级 (16.8%), 全年平均胃饱满系数为 5.76%。

摄食强度的季节变化 大泷六线鱼摄食强度的季节变化明显, 春季摄食等级为 0 级的比例最高 (33.33%), 夏季 4 级的比例最高 (34.00%), 秋季 3 级最高 (27.73%), 冬季 0 级最高 (48.78%), 4 个季节中 1 级所占比例均超过 15%。空胃率 (0 级) 的季节变化差异不显著 ($\chi^2 = 3.615, P > 0.05$), 平均胃饱满系数随季节的变化差异极显著 ($\chi^2 = 65.882, P < 0.05$)。平均胃饱满系数与摄食强度呈正比, 夏季的摄食强度最高, 秋季和春季次之, 冬季最低 (图 2)。

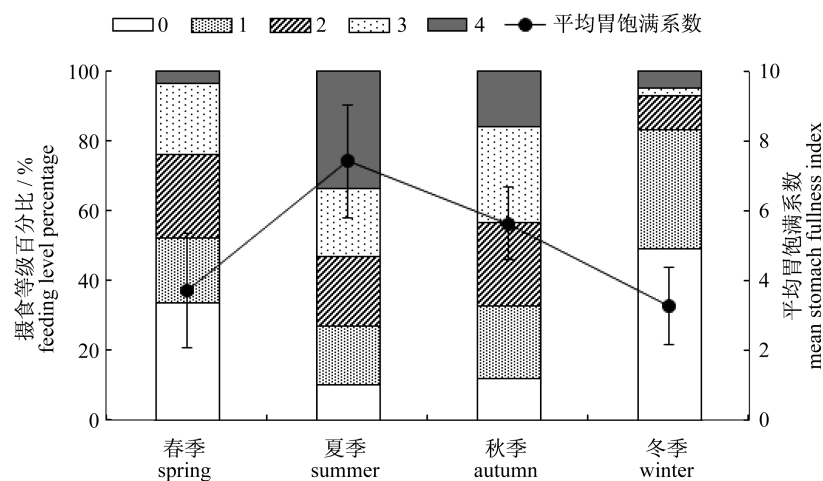


图 2 荣成俚岛大泷六线鱼平均胃饱满系数和摄食等级百分比的季节变化

Fig. 2 Seasonal variations in mean stomach fullness index and feeding level percentage of *H. otakii* in Lidao Rongcheng

摄食强度随体长的变化 大泷六线鱼摄食强度随体长变化明显, <80 mm 体长组的 0 级比例最高(39.02%), 80~99 mm 体长组的 1 级比例最高(43.53%), 100~119 mm 体长组的 2 级比例最高(29.25%), 而 180~199 mm 体长组的 3 级和 4 级比例最高, 均为 46.15%。空胃率随体长变化差异不显著($\chi^2 = 8, P > 0.05$), 平均胃饱满系数随体长的变化差异极显著($\chi^2 = 52.251,$

$P < 0.05$), <80 mm 体长组的摄食强度最高, 160~179 mm 体长组的摄食强度最低(图 3)。

2.3 基于 DNA 条形码的大泷六线鱼饵料生物种类鉴定

利用形态学分析法对胃含物进行分析鉴定后, 得到 6 种不可辨认饵料生物样品, 包括 3 种鱼、2 种鱼卵和 1 种蟹壳(表 6)。利用 DNA 条形码进行鉴定的结果如图 4 所示。

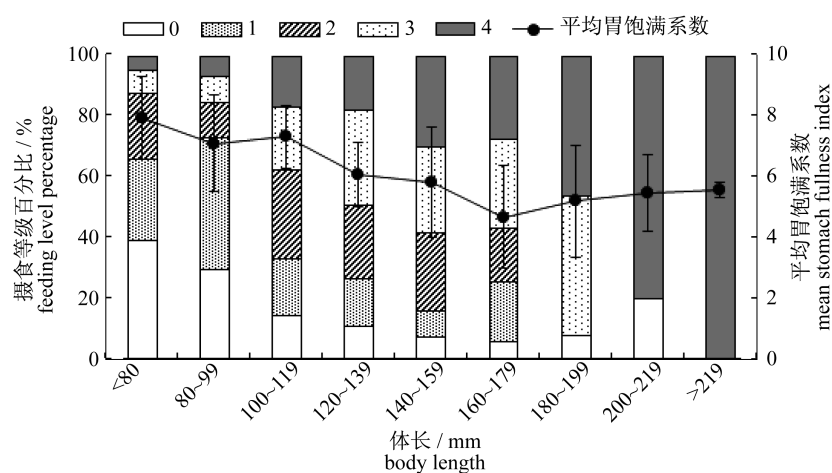








图 3 荣成俚岛大泷六线鱼平均胃饱满系数和摄食等级百分比随体长的变化

Fig. 3 Ontogenetic variations in mean stomach fullness index and feeding level percentage of *H. otakii* in Lidao Rongcheng

表 6 基于形态学分析法和 DNA 条形码的鉴定结果

Tab. 6 The results of identification based on morphological analysis and DNA barcoding

编号 number	形态学分析法 morphological analysis	DNA 条形码 DNA barcoding
1	 不可辨认鱼 unidentified fish	狮子鱼属 (<i>Liparis</i> sp.)
2	 不可辨认鱼 unidentified fish	大泷六线鱼 (<i>Hexagrammos otakii</i>)
3	 不可辨认鱼 unidentified fish	暗缟虾虎鱼 (<i>Tridentiger obscurus</i>)
4	 不可辨认鱼卵 unidentified fish eggs	斑头鱼 (<i>Hexagrammos agrammus</i>)
5	 不可辨认鱼卵 unidentified fish eggs	大泷六线鱼 (<i>Hexagrammos otakii</i>)
6	 不可辨认蟹壳 unidentified crab	扇蟹科 (<i>Xanthidae</i> sp.)

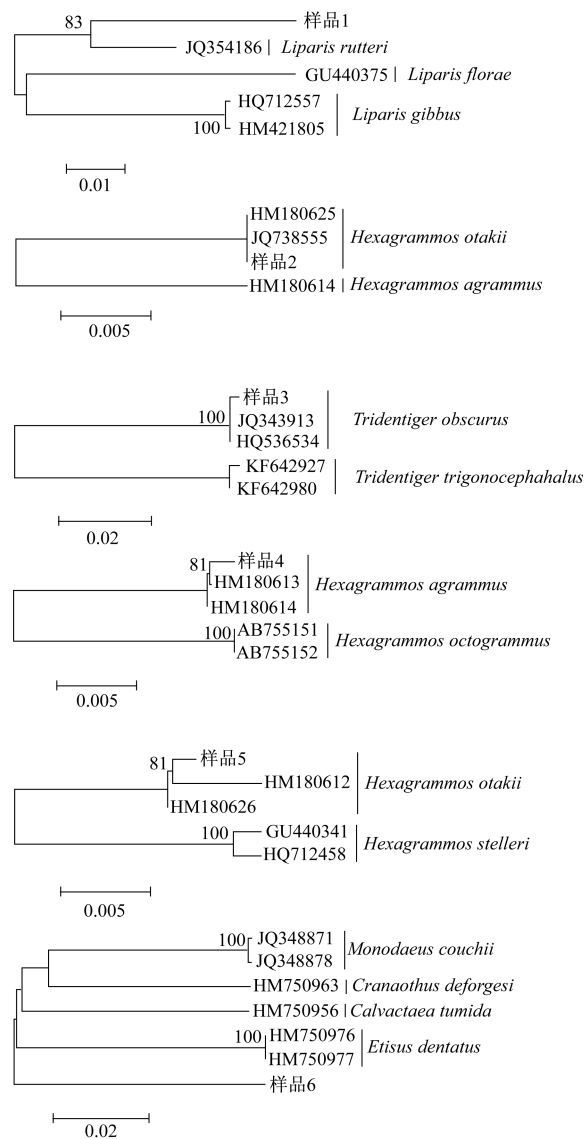


图 4 基于 COI 序列构建样品 1~6 和相近种的邻接关系树

各分支上数字为 1 000 次重抽样分析得到的大于 50% 的支持率

Fig. 4 Neighbor-joining tree for COI sequences of samples 1-6 and related species

Bootstrap supports of >50% from 1000 replicates are shown

对样品 1 扩增得到 CO I 序列长 578 bp, BLAST 分析相似性最高 (91%) 的是 *Liparis rutteri*。下载序列 JQ354186 (*L. rutteri*)、GU440375 (*L. florum*)、HQ712557 和 HM421805 (*L. gibbus*) 进行比对,与样品 1 的遗传距离分别为 0.102、0.144、0.155 和 0.155。邻接关系树显示,样品 1 与 JQ354186 先聚为一支,再与 GU440375 和 HQ712557、HM421805 的分支聚为一支。综上,样品 1 应该是一种狮子鱼

(*Liparis* sp.)。

对样品 2 扩增得到 CO I 序列长 652 bp, BLAST 分析相似性最高 (100%) 的是 *Hexagrammos otakii*。下载序列 HM180625 和 JQ738555 (*H. otakii*)、HM180614 (*H. agrammus*) 进行比对,与样品 2 的遗传距离分别为 0、0 和 0.043。邻接关系树显示,样品 2 与 HM180625 和 JQ738555 聚为一支。因此认定样品 2 是大泷六线鱼。

对样品 3 扩增得到 CO I 序列长 657 bp, BLAST 分析相似性最高 (99%) 的是暗缟虾虎鱼 (*Tridentiger obscurus*)。下载序列 JQ343913 和 HQ536534 (*T. obscurus*)、KF642979 和 KF642980 (*T. trignocephalus*) 比对,与样品 3 的遗传距离分别为 0、0.002、0.161 和 0.159。邻接关系树显示,样品 3 先与 JQ343913 和 HQ536534 聚为一支。因此认定样品 3 是暗缟虾虎鱼。

对样品 4 扩增得到 CO I 序列长 652 bp, BLAST 分析相似性最高 (99%) 的是 *Hexagrammos agrammus*。下载序列 HM180613 和 HM180614 (*H. agrammus*)、AB755151 和 AB755152 (*H. octogrammus*) 比对,与样品 4 的遗传距离分别为 0.002、0.002、0.048 和 0.048。邻接关系树显示,样品 4 与 HM180613 和 HM180614 聚为一支。因此认定样品 4 是斑头鱼。

对样品 5 扩增得到 CO I 序列长 655 bp, BLAST 分析相似性最高 (99%) 的是 *Hexagrammos otakii*。下载序列 HM180612 和 HM180626 (*H. otakii*)、GU440341 和 HQ712458 (*H. stelleri*) 进行比对,与样品 5 的遗传距离分别为 0.006、0.002、0.041 和 0.041。邻接关系树显示,样品 5 与 HM180612 和 HM180626 聚为一支。因此认定样品 5 是大泷六线鱼。

对样品 6 扩增得到 CO I 序列长 578 bp, BLAST 分析相似性最高 (86%) 的是 *Cranaothus deforgesii*。下载序列 JQ348871 和 JQ348878 (*Monodaeus couchii*)、HM750963 (*C. deforgesii*)、HM750956 (*Calvactaea tumida*)、HM750976 和 HM750977 (*Etisus dentatus*) 进行比对,与样品 6 的遗传距离分别为 0.176、0.176、0.163、0.167、0.171 和 0.171。邻接关系树显示,样品 6 与它们聚为一支。因此,认定样品 6 是扇蟹科的一种 Xanthidae sp.。

3 讨论

3.1 食物组成

大泷六线鱼是中国沿海岩礁生境中主要的底栖生物食性鱼类^[10-11,30-31],本实验中荣成俚岛大泷六线鱼主食鱼类、多毛类、虾类、海藻类、蟹类和口足类等饵料生物。Kwak等^[12]研究发现,韩国镇东湾的大泷六线鱼主要以甲壳类为食,此外还多摄食多毛类和鱼类。王凯等^[14]研究发现,枸杞岛岩礁生境中,大泷六线鱼的饵料生物种类有28种,鱼类[褐菖鲉(*Sebastes marmoratus*)]和端足类[麦秆虫(*Caprellidea* sp.)]为其主要饵料生物。渤海的大泷六线鱼主要摄食虾蟹类、小型鱼类和桡足类等,但年间变化较大^[8-9,11]。可见,大泷六线鱼摄食饵料生物的种类较广泛,鱼类为主要饵料生物,其他优势饵料生物的种类和比例会随时间、栖息地饵料生物的种类和丰度而变化,其摄食习性也会有所不同^[7]。

本研究中,大泷六线鱼的食物组成存在显著的季节变化。虾类在四季中均是最主要的饵料生物,但是在不同季节里,大泷六线鱼所摄食的饵料生物存在不同程度的更替现象。例如,对蟹类的摄食主要集中在春季;之后随着水温的不断升高,饵料生物开始逐渐增多,因此对鱼类的摄食主要集中在夏季和秋季;而对多毛类的摄食主要集中在冬季。叶青^[10]发现青岛的大泷六线鱼春夏季以虾类、鱼类、端足类和等足类为主,秋冬季以蟹、虾和鱼为主,多毛类在秋季以外均是常见种类。韩国镇东湾的大泷六线鱼在1—2月多为多毛类和鱼类,3—5月多为端足类^[12]。大泷六线鱼较贪食,有喜食鱼卵的习性,故有些地方渔业用鱼卵诱钓大泷六线鱼^[32]。本研究结果显示,繁殖季节的大泷六线鱼不停食,雌、雄个体在繁殖季节均摄食了大量鱼卵,包括大泷六线鱼鱼卵和斑头鱼鱼卵。雌鱼啄食卵粒会被雄鱼所驱逐,而护巢雄鱼不论是自残还是偶然性地摄食卵粒,都会给其能量供给提供帮助^[33-34]。

大泷六线鱼的食性随体长不同而变化,幼鱼主食端足类、等足类和幼蟹等,成鱼则主食鱼类等^[10,12]。在本研究中,小个体的大泷六线鱼主要摄食端足类、虾类和口足类等小型饵料生物,随体长增加,其栖息区域不断扩大,能够捕食不同水层的饵料生物,因此摄食鱼类、虾类和蟹类等较大饵

料生物比例增加。这符合Gerking^[35]提出的“最佳摄食理论”:随着鱼类体长不断增加,其捕食能力随之增强,会尽可能捕食更大的饵料生物以获得更多的能量,同时也有利于减小不同体长个体间的食物竞争。

3.2 摄食强度

大泷六线鱼全年均摄食,在繁殖期,摄食量虽然下降,但不停食。摄食动作比斑头鱼更加敏捷,经常快速跃起主动掠食表、中层饵料,而斑头鱼会等食物下降到中下层后才去摄食^[4]。荣成俚岛大泷六线鱼的摄食强度较高,全年的空胃率为16.8%,3级摄食比例最高,平均胃饱满系数达5.76%。

荣成俚岛大泷六线鱼的摄食强度随季节和体长而发生变化。春夏季水温升高,饵料生物资源丰富,大泷六线鱼生长十分迅速,所以摄食强度在夏季最高;秋冬季则相反,随着水温降低,饵料生物逐渐减少,所以摄食强度在冬季最低,此时大泷六线鱼处于繁殖期,但并未停食,这可能与大泷六线鱼的繁殖活动需要补充能量有关,繁殖期后摄食强度又开始上升^[10]。幼鱼生长发育旺盛,索饵活动比较强,摄食强度较大^[29]。本研究中,小个体大泷六线鱼(体长<80 mm)摄食强度最高,并随体长增加稍微下降,体长160~179 mm时摄食强度最低,之后随体长和年龄增加又逐渐增高。这表明早期发育阶段的大泷六线鱼新陈代谢旺盛,需要不断摄食饵料生物以快速生长,而高龄鱼需要更多的饵料生物维持生存活动,故摄食强度又会增高。由此可见,大泷六线鱼摄食强度的变化,不但与不同季节的变化有关,而且受其自身不同生长发育阶段的影响。

3.3 DNA条形码在胃含物分析中的应用

Hebert等^[36]对包括脊椎动物和无脊椎动物13320个物种的CO I基因序列进行比较分析,发现除刺胞动物们以外,98%的物种遗传距离差异在种内0~2%,种间平均差异可达11.3%。Ward等^[37]在鱼类DNA条形码研究中应用了3.5%作为种上分化水平的界限。

通过DNA条形码对大泷六线鱼6个饵料生物样品进行鉴定,4个鉴定到种、1个鉴定到属、1个鉴定到科。对样品2~5的CO I序列进行BLAST分析,均可得出相似性Ident \geq 99%的相近种,邻接关系树也都与近缘种聚为一支,其遗传距离均满足

定种条件,可成功鉴定到种。与样品 1 相似性最高的物种为 *L. rutteri* (Ident = 91%), 邻接关系树中它与 *L. rutteri* 先聚为一支,再与 *L. floriae* 和 *L. gibbus* 聚为一支,其与 *L. rutteri* 的遗传距离为 0.102,而 *L. rutteri* 与 *L. floriae* 和 *L. gibbus* 的种间遗传距离分别为 0.135 和 0.112,说明样品 1 为一种狮子鱼 *Liparis* sp.。与样品 6 相似性最高物种为 *C. deforgesii* (Ident = 86%), 其与 *C. deforgesii* 的遗传距离为 0.163,而 *C. deforgesii* 与 *C. tumida* 和 *E. dentatus* 的种间遗传距离分别为 0.168 和 0.166,说明样品 6 为扇蟹科的一种 *Xanthidae* sp.。

DNA 条形码在胃含物分析中有诸多优势:第一,需要的样品量较少,取残缺部分样品组织即可鉴定种类;第二,CO I 片段足够保守,有足够的变异来区分不同物种的 DNA 序列;第三,鉴定适用范围广,运用 CO I 基因可以对超过 95% 的物种进行准确鉴定^[38-39];第四,实验原理简单,操作简便,容易获得鉴定结果。但是,鱼类饵料生物种类繁多,确定目标种是基于与 DNA 数据库已知序列的比对完成,需要准确信息和序列数据积累,因此 DNA 条形码也存在一定局限性。

感谢张磊、吴忠鑫和闫文华帮助采集样品,感谢韦晟老师和曾晓起教授为胃含物分析鉴定提供的指导。

参考文献:

- [1] Nakabo T. Fishes of Japan with pictorial keys to the species [M]. Second Edition. Tokyo: Tokai University Press, 2000: 624 - 625. [中坊徹次. 日本産魚類検索全種の同定. 第二版. 东京: 東海大学出版社, 2000: 624 - 625.]
- [2] Mecklenburg C W, Eschmeyer W N. Family Hexagrammidae Gill 1889 - greenlings [J]. California Academy of Sciences, Annotated Checklists of Fishes, 2003, 3(1): 1 - 11.
- [3] Jin X B. Fauna Sinica, Osteichthyes, Scorpaeniformes [M]. Beijing: Science Press, 2006: 550 - 561. [金鑫波. 中国动物志硬骨鱼纲鲷形目. 北京: 科学出版社, 2006: 550 - 561.]
- [4] Lei J L. Marine fish culture theory and techniques [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005: 731 - 744. [雷霖. 海水鱼类养殖理论与技术. 北京: 中国农业出版社, 2005: 731 - 744.]
- [5] Pan L, Hu F W, Gao F X, et al. Study of artificial breeding and seedling culture technique for greenling *Hexagrammos otakii* [J]. Marine Sciences, 2012, 36(12): 39 - 44. [潘雷, 胡发文, 高凤祥, 等. 大泷六线鱼人工繁殖及育苗技术初步研究. 海洋科学, 2012, 36(12): 39 - 44.]
- [6] Wu Z X, Zhang L, Zhang X M, et al. Nekton community structure and its relationship with main environmental variables in Lidao artificial reef zones of Rongcheng [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(21): 6737 - 6746. [吴忠鑫, 张磊, 张秀梅, 等. 荣成俚岛人工鱼礁区游泳动物群落特征及其与主要环境因子的关系. 生态学报, 2012, 32(21): 6737 - 6746.]
- [7] Kanamoto Z. On the ecology of Hexagrammid fish V. Food items of *Agrammus agrammus* (Temminck et Schlegel) and *Hexagrammos otakii* Jordan et Starks sampled from different habitats around a small reef [J]. Japanese Journal of Ecology, 1979, 29: 265 - 271.
- [8] Deng J Y, Jiang W M, Yang J M, et al. Species interaction and food web of major predatory species in the Bohai Sea [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 1997, 4(4): 1 - 7. [邓景耀, 姜卫民, 杨纪明, 等. 渤海主要生物种间关系及食物网的研究. 中国水产科学, 1997, 4(4): 1 - 7.]
- [9] Deng J Y, Meng T X, Ren S M. Food web of fishes in Bohai Sea [J]. Acta Ecologica Sinica, 1986, 6(4): 356 - 364. [邓景耀, 孟田湘, 任胜民. 渤海鱼类食物关系的初步研究. 生态学报, 1986, 6(4): 356 - 364.]
- [10] Ye Q. Feeding habits of greenling from coastal waters off Qingdao [J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 1992, 4(7): 50 - 55. [叶青. 青岛近海欧氏六线鱼食性的研究. 海洋湖沼通报, 1992, 4(7): 50 - 55.]
- [11] Yang J M. A study on food and trophic levels of Bohai Sea fish [J]. Modern Fisheries Information, 2011, 16(10): 10 - 19. [杨纪明. 渤海鱼类的食性和营养级研究. 现代渔业信息, 2011, 16(10): 10 - 19.]
- [12] Kwak S, Baeck G, Klumpp D. Comparative feeding ecology of two sympatric greenling species, *Hexagrammos otakii* and *Hexagrammos agrammus* in eelgrass *Zostera marina* beds [J]. Environmental Biology of Fishes, 2005, 74(2): 129 - 140.
- [13] Tong Y H, Guo X W. Feeding competition between two rockfish *Sebastes schlegeli* and *Hexagrammos otakii* [J]. Journal of Fishery Sciences of China,

- 2009,16(4):541-549. [童玉和,郭学武.两种岩礁鱼类的食物竞争实验.中国水产科学,2009,16(4):541-549.]
- [14] Wang K, Zhang S Y, Wang Z H, *et al.* Dietary composition and food competition of six main fish species in rocky reef habitat off Gouqi Island [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(2): 536-544. [王凯,章守宇,汪振华,等.枸杞岛岩礁生境主要鱼类的食物组成及食物竞争.应用生态学报,2012,23(2):536-544.]
- [15] Tautz D, Arctander P, Minelli A, *et al.* DNA points the way ahead in taxonomy [J]. Nature, 2002, 418(6897):479.
- [16] Zhang H, Zhang Y, Zhang Z H, *et al.* DNA barcodes of eight species in genus *Sebastes* [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2013, 48:45-50.
- [17] Höss M, Kohn M, Pääbo S, *et al.* Excrement analysis by PCR [J]. Nature, 1992, 359(6392):199.
- [18] Reed J, Tollit D. Microsatellite markers allow species discrimination from faecal and recognizable manatees on the Atlantic coast of Florida [M] // O'shea T J, Ackerman B B, Percival H F. eds. Population Biology of the Florida Manatee. Washington, D C: Information and Technology Report 1, 1995:289.
- [19] Deagle B E, Tollit D J, Jarman S N, *et al.* Molecular scatology as a tool to study diet; Analysis of prey DNA in scats from captive Steller sea lions [J]. Molecular Ecology, 2005, 14(6):1831-1842.
- [20] Hong Q Q. Feeding habits of *Lateolabrax maculatus* in Yangtze River estuary. [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2012: 34-39. [洪巧巧.长江口中国花鲈的食性及分子生物学在食性分析上的应用.上海:华东理工大学, 2012:34-39.]
- [21] Su J X. Ichthyology and marine fish aquaculture [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005:271-323. [苏锦祥.鱼类学与海水鱼类养殖.北京:中国农业出版社, 2005:271-323.]
- [22] Hyslop E J. Stomach contents analysis—a review of methods and their application [J]. Journal of Fish Biology, 1980, 17(4):411-429.
- [23] Chen D G. Fisheries resource in biology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997:1-100. [陈大刚.渔业资源生物学.北京:中国农业出版社, 1997:1-100.]
- [24] Cortés E. A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents; application to elasmobranch fishes [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1997, 54(3):726-738.
- [25] Tamura K, Dudley J, Nei M, *et al.* MEGA 4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24(8):1596-1599.
- [26] Clarke K R, Gorley R N. PRIMER v5: User Manual/Tutorial [M]. Plymouth Marine Laboratory, UK: Primer-E Limited, 2001.
- [27] Schafer L N, Platell M E, Valesini F J, *et al.* Comparisons between the influence of habitat type, season and body size on the dietary compositions of fish species in nearshore marine waters [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2002, 278(1):67-92.
- [28] Williams A, Koslow J A, Terauds A, *et al.* Feeding ecology of five fishes from the mid-slope micronekton community off southern Tasmania [J]. Marine Biology, 2001, 139(6):1177-1192.
- [29] Lin L S. Study on feeding habit and trophic level of redlip croaker in Changjiang estuary [J]. Marine Fisheries, 2007, 29(1):44-48. [林龙山.长江口近海小黄鱼食性及营养级分析.海洋渔业, 2007, 29(1):44-48.]
- [30] Fujita T, Kitagawa D, Okuyama Y, *et al.* Diets of the demersal fishes on the shelf off Iwate, northern Japan [J]. Marine Biology, 1995, 123(2):219-233.
- [31] Zhang B, Li Z Y, Jin X S. Functional groups of fish assemblages and their major species in the Bohai Sea [J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(1):64-72. [张波,李忠义,金显仕.渤海鱼类群落功能群及其主要种类.水产科学, 2012, 36(1):64-72.]
- [32] Chen D G. Fishery ecology in Yellow Sea and Bohai Sea [M]. Beijing: China Ocean Press, 1991:373-376. [陈大刚.黄渤海渔业生态学.北京:海洋出版社, 1991:373-376.]
- [33] Munehara H, Miura T. Non-intentional filial egg cannibalism by the guarding male of *Hexagrammos otakii* (Pisces: Hexagrammidae) [J]. Journal of Ethology, 1995, 13(2):191-193.
- [34] Munehara H, Kanamoto Z, Miura T. Spawning behavior and interspecific breeding in three Japanese greenlings (Hexagrammidae) [J]. Ichthyological Research, 2000, 47(3):287-292.
- [35] Gerking S D. Feeding ecology of fish [M]. San Diego: Academic Press, 1994:416.
- [36] Hebert P D N, Ratnasingham S, de Waard J R.

- Barcoding animal life: Cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. Proceedings of the Royal Society of London Series B, 2003, 270(Suppl.): 96 – 99.
- [37] Ward R D, Hanner R, Hebert P D N. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL [J]. Journal of Fish Biology, 2009, 74(2): 329 – 356.
- [38] Ratnasingham S, Hebert P D N. BOLD: The barcode of life data system (www. barcodinglife. org) [J]. Molecular Ecology Notes, 2007, 7(3): 355 – 364.
- [39] Ward R D, Costa F O, Holmes B H, *et al.* DNA barcoding of shared fish species from the North Atlantic and Australasia: Minimal divergence for most taxa, but *Zeus faber* and *Lepidopus caudatus* each probably constitute two species [J]. Aquatic Biology, 2008, 3(1): 71 – 78.

Feeding ecology of *Hexagrammos otakii* in Lidao Rongcheng

JI Dongping¹, BIAN Xiaodong², SONG Na¹, GAO Tianxiang^{1*}

(1. Institute of Evolution and Marine Biodiversity, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;
2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: The studies on feeding ecology of fish are the basis for understanding the function of the whole community and ecosystem, and they will also contribute to the fisheries management. DNA barcoding is a new way to study the stomach contents, and it will also improve accuracy of the results on dietary composition by combining with morphological analysis. *Hexagrammos otakii* is an important commercial fish and possesses potential in aquaculture industry. Stomach contents analysis of *H. otakii* was investigated based on 482 individuals collected monthly from the shore reef of Lidao Rongcheng between March 2010 and February 2011. The main results were as follows: *H. otakii* was the demersal-feeding fish. Among the 10 prey groups, fish was the dominant prey group, and they also included polychaeta, decapoda, algae, crabs and stomatopoda, etc. The dietary composition had obvious seasonal variations: decapoda was the important prey group in every season, crabs and polychaeta in spring, fish in summer and autumn, and polychaeta were mostly in winter. The dietary composition also had obvious ontogenetic variations: < 80 mm *SL* preyed on decapoda and amphipoda; 80 – 119 mm *SL* preyed on polychaeta, stomatopoda larvae and decapoda; > 119 mm *SL* preyed on fish, decapoda and crabs. The feeding intensity had obvious seasonal variations, with highest in summer and lowest in winter. The feeding intensity also had obvious ontogenetic variations, reached the highest feeding intensity in < 80 mm *SL*, then decreased with increasing standard length, and gradually increased after > 180 mm *SL*. Six samples could be identified based on DNA barcoding, among which, four samples were identified as species, other two samples were identified as genus and family respectively.

Key words: *Hexagrammos otakii*; feeding ecology; stomach contents analysis; DNA barcoding; Lidao Rongcheng

Corresponding author: GAO Tianxiang. E-mail: gaozhang@ouc.edu.cn