

DOI: 10.12264/JFSC2023-0326

桑沟湾底播养殖青蛤与魁蚶的食物来源

李兵^{1,2}, 张继红², 吴文广², 刘毅², 王新萌², 康秦梓², 陈杜宇², 官雪², 徐豪²

1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室, 崂山实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071

摘要: 为了解底播养殖经济贝类青蛤(*Cyclina sinensis*)和魁蚶(*Anadara broughtonii*)的食物来源, 本研究通过稳定同位素技术和高通量测序技术测定了桑沟湾贝类区与贝藻区中底播养殖青蛤和魁蚶的食物组成, 分析了食物来源差异性的影响因素。结果显示: (1) 青蛤和魁蚶的食物来源主要是浮游植物(占比 40.4%~79.6%), 其次是浮游动物(13.3%~37.3%)。贝类生物沉积物和海带碎屑对青蛤与魁蚶的食物贡献率存在区域性差异。贝类养殖区生物沉积物和海带碎屑对青蛤的食物贡献率为 2.7% (贝类生物沉积物 2.0%, 海带碎屑 0.7%), 对魁蚶的食物贡献率为 10.3% (贝类生物沉积物 7.4%, 海带碎屑 2.9%); 贝藻养殖区青蛤为 8.5% (贝类生物沉积物 5.1%, 海带碎屑 3.4%), 魁蚶为 7.4% (贝类生物沉积物 4.3%, 海带碎屑 2.1%)。(2) 青蛤胃含物中的主要成分是绿藻门(占比达 56.55%), 其次是链形植物门(44.35%), 魁蚶胃含物中的主要成分是绿藻门(47.27%), 其次是脊索动物门(30.3%)。两种贝类胃含物中的真核生物组成主要是浮游植物, 且主要来自于底层海水中, 与稳定同位素结果一致。(3) 在贝类区和贝藻区, 筏式养殖产生的有机物(生物沉积物和海带碎屑)对魁蚶的贡献率高于青蛤; 贝藻区海带碎屑对青蛤的贡献率高于魁蚶。从食源结构的角度比较分析, 魁蚶和青蛤均可作为桑沟湾综合养殖区域的底播贝类, 青蛤更适宜底播在有藻类养殖的区域。

关键词: 双壳贝类; 食物来源; 稳定同位素技术; 高通量测序技术; 多营养层次综合养殖

中图分类号: S968

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)12-1468-11

双壳贝类是我国的主要养殖海产品, 2022 年贝类养殖约占全国海水养殖产量的 68.97%, 其中双壳贝类约占贝类养殖产量的 96.49%^[1], 通常成为浅海底栖生物的优势群体^[2]。青蛤(*Cyclina sinensis*)属帘蛤目(Venerida)、帘蛤科(Veneridae)、青蛤属, 是一种埋栖型贝类, 兼具食用与药用价值^[3]。魁蚶(*Anadara broughtonii*)属于列齿目(Arcoida)、蚶科(Arcidae)、毛蚶属, 是一类高蛋白、低脂肪、综合营养价值较高的海珍品, 是北方沿海重要的底栖双壳经济贝类^[4]。双壳贝类从水体中过滤大量细小的颗粒物质, 从而起到净化水质

的作用, 产生的生物沉积物对底栖生物和环境起到营养补充和改善作用, 是联系浮游生物和底栖生物的重要纽带^[5]。

双壳贝类的食物来源广泛, 包括海洋中的浮游植物、有机碎屑(如大型藻类碎屑)、浮游动物、陆源有机颗粒等。贝类食物来源一方面受海水中食物颗粒的浓度和质量的影响, 包括颗粒大小、形状、毒性、营养成分和膜组成等^[6-10], 另一方面, 受贝类个体生理结构的影响, 不同种类的贝类在摄食调节机制以及食物选择方面存在差异^[11]。比如在同一养殖区域毛蚶对蓝藻门和硅藻门有优先

收稿日期: 2023-11-29; **修订日期:** 2023-12-18.

基金项目: 国家自然科学基金项目(42376160); 国家重点研发计划项目(2020YFA0607603); 国家自然科学基金委员会-山东省人民政府联合基金项目(U1906216); 山东省自然科学基金项目(ZR2022QD035); 中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费专项(20603022022012); 渔业科学数据基础性长期监测项目(20603022022024).

作者简介: 李兵(1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产养殖生态学. E-mail: 1374416047@qq.com

通信作者: 张继红, 女, 研究员, 研究方向为养殖生态学与容量评估. E-mail: zhangjh@ysfri.ac.cn

选择作用, 文蛤却优先选择黄藻门、蓝藻门和绿藻门^[12]。而不同的食物来源会影响贝类的生长、存活和生理代谢等活动^[13]。因此探究贝类食物来源有助于了解其在养殖区的摄食选择性, 可为进一步研究海水养殖生态系统中物种间的相互作用提供理论基础。

分析海洋生物食源结构有多种方法。最初采用显微镜镜检法(胃含物分析法)分析食物来源, 可以直观地反映出生物短期内的摄食情况, 但对其长期摄食情况以及一些易消化的食物无法判断, 在物种鉴别上也有一定的局限性^[14]。随着技术的发展, 脂肪酸标志法、稳定同位素比值法以及高通量测序等方法受到越来越多的关注。脂肪酸标志法对食物来源的定性范围较宽, 难以确定具体食物组成^[15-16]。稳定同位素比值法可以用来指示生物的食物来源及营养位置, 反映出生物的长期食物来源, 常用于进行食物网结构等方面的研究, 但无法确定具体食物来源种类^[17]。高通量测序技术可比较全面、准确地判断生物的食物来源的种类, 但不能反映生物的长期摄食情况^[18]。因此, 目前已有多位学者采用两种或 3 种方法相结合的方式, 来探究生物的食物来源^[19-20]。本研究综合以上几种方法的优缺点, 选择将稳定同位素比值法和高通量测序技术相结合探究青蛤和魁蚶在短期及长期的摄食信息。

多营养层次综合养殖模式(integrated multi-trophic aquaculture, IMTA)是一种健康可持续发展海水养殖方式, 是由不同营养级生物组成的养殖系统^[21]。IMTA 不仅可充分利用海域空间, 而且通过对有机物的高效利用, 可减轻养殖活动对环境的压力。山东省桑沟湾养殖区开展了“浅海多营养层次综合养殖模式”, 包括贝-藻筏式综合养殖、贝-藻-鱼筏式综合养殖以及鲍-海参-菲律宾蛤仔-大叶藻底播综合养殖等^[22]。在贝藻筏式综合养殖模式中, 会在底层养殖一些海参、鲍鱼等海珍品, 但还没有将青蛤或魁蚶作为底层养殖生物加入到综合养殖中。青蛤和魁蚶是我国主要底播增殖种类, 为筛选适宜的综合养殖品种, 本研究以我国主要筏式养殖海湾——桑沟湾的筏式贝类养殖区和贝藻综合养殖区为实验海区, 采用稳定同位素比值

法与高通量测序相结合, 测定底播青蛤和魁蚶的食物来源, 以期建立立体综合养殖模式的建立提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 样品采集及预处理

桑沟湾以贝藻筏式养殖为主, 养殖的种类主要包括长牡蛎、栉孔扇贝、海带等。栉孔扇贝和长牡蛎通常在 4—5 月开始养殖, 海带在 11 月夹苗, 次年 5 月左右开始收获^[23]。2020 年 10 月在桑沟湾贝类区(bivalves area, BA, 范围 37°02.565'N、122°32.635'E 附近水域)和贝藻区(bivalves-kelp area, BKA, 范围 37°02.772'N、122°33.184'E 附近水域)开展青蛤和魁蚶的底播养殖实验, 海湾平均水深 7.5 m, 两区域间隔 1.1 km, 底质类型均为粉砂。本研究中青蛤的底播密度为 120 粒/m², 魁蚶的底播密度为 15 粒/m²。2021 年 9 月, 依据《海洋调查规范》(GB 12763—2007) 分别在两区域采集海水样品与沉积物样品, 同时采集贝类及潜在食物源样品, 采样站位如图 1 所示。

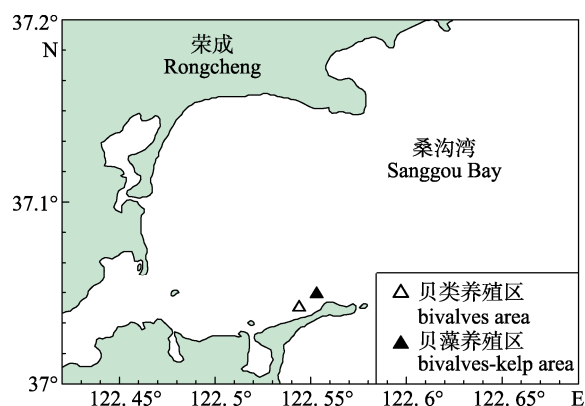


图 1 山东省桑沟湾实验研究海区及采样站位

Fig. 1 Location of sampling station in Sanggou Bay, Shandong Province

具体采样方法为: 采集 1 L 底层海水(距海底 0.5 m), 用 0.45 μm 醋酸纤维滤膜进行过滤, 抽滤后的滤膜用于高通量测序。采用“浅 II、浅 III”型浮游生物网采集浮游动植物样品, 垂直拖网, 浮游植物样品通过浮游动物网过滤, 静置 1 h, 抽滤到 0.7 μm 孔径 WhatmanTM 滤膜(450 $^{\circ}\text{C}$ 预处理 4 h)上。使用箱式采泥器采集养殖区底部表层沉积

物。现场采取贝类的闭壳肌以及胃含物样品, 稳定同位素样品冷冻带回实验室-20 ℃保存, 高通量测序样品液氮保存带回-80 ℃保存, 为了减少贝类个体间的摄食结构差异性, 将 10 只贝类样品的胃含物样品作为单一的复合样本。贝类样品均测生理指标。采样时用多参数水质监测仪现场测定牡蛎养殖区环境参数, 并记录测量时间。

1.2 稳定同位素样品处理

将所有样品于烘箱内 60 ℃烘干至恒重, 贝类闭壳肌经石英研钵充分研磨后用脱脂溶液(甲醇:氯仿:水=2:1:0.8)浸泡除脂^[24]。将所有待测样品烘干研磨后用 1 mol/L 盐酸酸化以去除碳酸盐, 避免对 δ¹³C 产生干扰。所有样品经超纯水水洗后, 再次烘干, 研磨, 存放于密封袋中, 干燥保存。所有样品的稳定同位素比值(δ¹³C、δ¹⁵N)测定分析在中国水产科学研究院黄海水产研究所进行, 由稳定同位素质谱仪(IsoPrime100)测得, 每测定 10 个样品后加测一个标准样品以保证结果的准确性。δ¹³C、δ¹⁵N 表示样品与标准物质间的差异千分比, 即:

δ¹³C or δ¹⁵N(‰)=((R_{sample}/R_{standard})-1)×10³

式中, R_{sample} 为样品实际测得的同位素比值(R=¹³C/¹²C 或 ¹⁵N/¹⁴N), R_{standard} 为国际通用标准物(V-PDB 标准物或标准大气氮气)的同位素比值。δ¹³C 和 δ¹⁵N 值的测试精度分别小于 0.1‰和 0.2‰。运用 IsoSource 模型计算不同食物源对贝类的相对贡献率, 该模型按照质量平衡方程式进行计算, 适用于 n 个同位素和>n+1 种源, 界面易操作且结果易提取分析^[25]。每种食物来源比例增量(increment)设为 1%, 质量平衡忍受差参数(mass balance tolerance)设为 0.01‰。

1.3 高通量测序样品处理

使用试剂盒(Omega Bio-Tek)提取样本的基因组 DNA。采用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, 使用 NanoDrop2000 (美国 Thermo Scientific 公司)测定 DNA 浓度和纯度。采用引物 454F(CCAGCASCYGCGGTAATTCC)-V3R(ACTTTCTTCTTGATYRA)^[26]扩增 18S rDNA V4 区。PCR 产物经 2%琼脂糖凝胶电泳鉴定, 并用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒回收。采用 NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq Kit 对纯化后的 PCR 产物建库, 构建的文库经定量和文库检测, 合格后利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。对原始数据进行拼接、过滤, 得到有效数据。基于有效数据按 97%的序列相似度进行归并和 OTU 划分, 选取每个 OTU 中丰度最高的序列作为该 OTU 的代表序列, 与 NCBI 数据库比对, 通过 GenBank 鉴定 OTU 代表性序列的微生物分类地位。同时, 根据序列数计算样品的 Alpha 多样性指数, 以得到样品内物种丰富度和均匀度信息、不同样品或分组间的共有和特有 OTUs 信息等。

1.4 数据分析

采用 Excel、SPSS 27.0.1 和 origin2018 工具进行数据统计分析和作图。采用单因素方差分析比较贝类样品与食物源样品的同位素值差异性, 以 P<0.05 为差异显著, P<0.01 为差异极显著。高通量测序数据分析均在美吉生物云平台上进行。

2 结果与分析

2.1 采样区域环境特征

采样时贝类区与贝藻区环境参数如表 1 所示。两区域沉积物底质类型均以粉砂为主, 但贝

表 1 采样点水文参数及沉积物底质类型
Tab. 1 Hydrological parameters and sediment type of sampling points

n=3; $\bar{x} \pm SE$

区域 area	水温/℃ water temperature	盐度 salinity	pH	底质类型 sediment type	中值粒径/mm median grain size
贝类区 bivalves area	22.35±0.13	30.44±0.03	8.29±0.01	粉砂(T)	16.18±3.85 ^a
贝藻区 bivalves-kelp area	22.63±0.09	30.35±0.02	8.27±0.01	粉砂(T)	10.47±1.80 ^b

注: 同列数据不同小写字母表明组间存在显著差异(P<0.05).
Note: Values in each column with different lowercase letters are significantly different (P<0.05).

类区沉积物平均中值粒径显著高于贝藻区沉积物平均中值粒径($P<0.05$)。

2.2 稳定同位素及贝类食物来源组成

青蛤和魁蚶的平均壳高分别为(25.68±1.21) mm 和 (26.81±1.80) mm, 平均软体部干重分别为 (0.18±0.04) g 和(0.32±0.07) g。贝类及其潜在食物源碳、氮同位素值($\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值)的测定结果见图 2。同一区域两种贝类样品 $\delta^{13}\text{C}$ 值差异显著 ($P<0.05$), 但 $\delta^{15}\text{N}$ 差异不显著($P>0.05$), 同一种贝类在两区域间 $\delta^{13}\text{C}$ 与 $\delta^{15}\text{N}$ 差异性均不显著 ($P>0.05$)。贝类区食物源的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值的变幅更窄, 两区域浮游动物与浮游植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$

没有显著差异($P>0.05$)。

食物源对贝类的饵料贡献率以及底层海水颗粒有机物(particular organic matter, POM)的组成见图 3, 底层海水 POM 与贝类的食物来源有很好的一致性。浮游植物对贝类的贡献率最高, 为 40.4%~79.6%, 是两种贝类的主要食物来源。其次为浮游动物, 浮游动物对魁蚶的贡献率(35.6%~37.3%)显著高于青蛤(13.3%~15.9%)($P<0.05$)。浮游植物和浮游动物也是贝类区和贝藻区 POM 的主要组成部分。贝类生物沉积物和海带碎屑对青蛤与魁蚶的食物贡献率存在区域性差异, 贝类区青蛤为 2.7% (贝类生物沉积物 2.0%, 海带碎屑

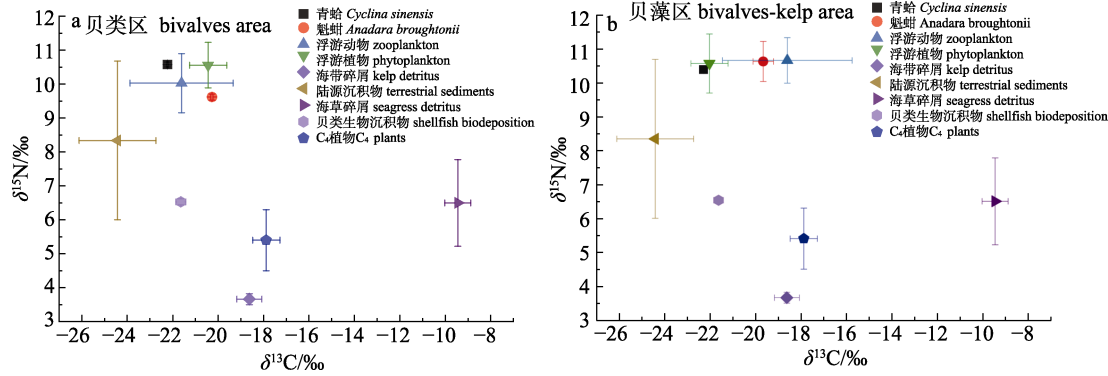


图 2 贝类样品与食物源的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值

海带碎屑、陆源沉积物、海草碎屑、贝类生物沉积物和 C_4 植物数据来自参考文献[27-28].

Fig. 2 $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of shellfish and food sources

The date of kelp detritus, terrestrial sediments, seagrass detritus, shellfish biodeposition and C_4 plants are from references [27-28].

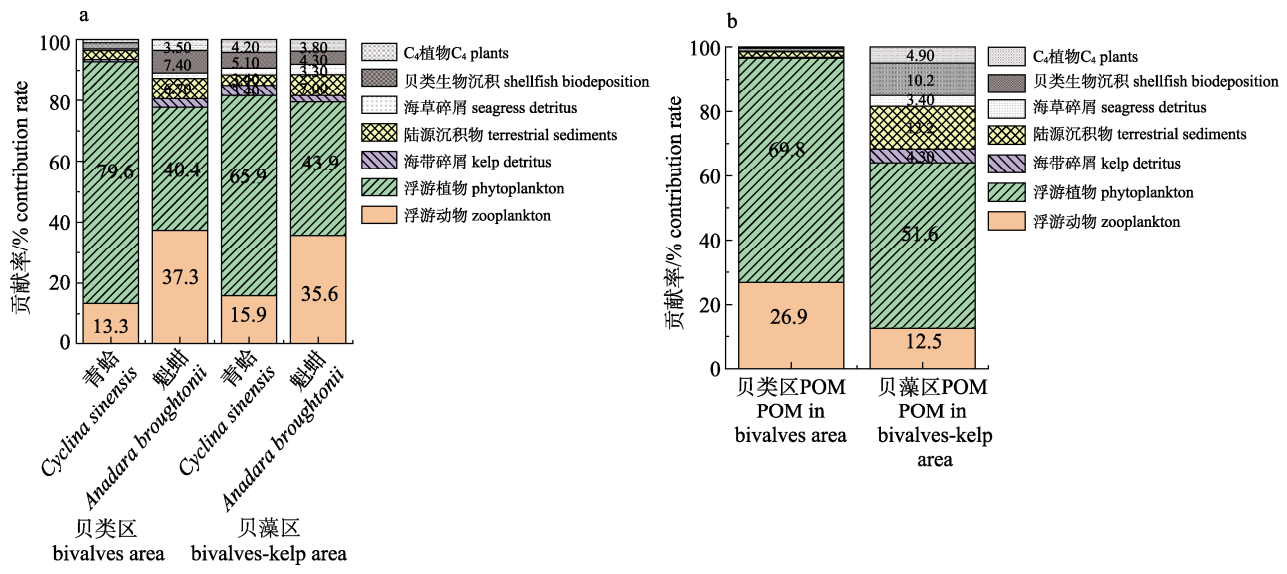


图 3 贝类的食物来源以及底层海水 POM 的组成

Fig. 3 The food sources of shellfish and the composition of POM in bottom seawater

0.7%), 魁蚶为 10.3% (贝类生物沉积物 7.4%, 海带碎屑 2.9%); 贝藻区青蛤为 8.5% (贝类生物沉积物 5.1%, 海带碎屑 3.4%), 魁蚶为 7.4% (贝类生物沉积物 4.3%, 海带碎屑 2.1%)。贝类生物沉积物和海带碎屑对魁蚶的贡献率(17.7%)高于青蛤(11.2%)。在贝类区和贝藻区, 对于青蛤和魁蚶的食物贡献率, 均是贝类生物沉积物的贡献率高于海带碎屑的贡献率($P>0.05$)。海带碎屑对贝藻区贝类的贡献率显著高于对贝类区贝类的贡献率($P<0.05$), 其他碎屑对贝藻区贝类的贡献也都比对贝类区高($P>0.05$)。贝类区底层海水 POM 中主要为浮游动物和浮游植物, 其他碎屑物质占比较少, 仅为 3.3%, 而贝藻区底层海水中其他碎屑物

质占比达到 35.9%。

2.3 不同养殖区域贝类胃含物及环境中真核生物多样性

2.3.1 贝类胃含物及环境中真核生物组成 对青蛤和魁蚶的胃含物及海水、沉积物中浮游生物 18S rDNA 进行 Illumina 测序, 共获得优化序列 423015 条, 平均序列长度 376 bp。微生物群落的丰度和多样性可通过 Alpha 多样性来反映(表 2)。所有样本的 Coverage 指数均达到 0.99 以上, 表明测序结果完全具有代表性。贝类区环境样本的 Shannon 指数相较于贝藻区较低, 同时环境样本的 Shannon 指数高于贝类样本, 表明环境样本中真核生物多样性高于贝类样本。

表 2 不同样品的真核生物群落多样性指数
Tab. 2 Alpha-diversity indexes for eukaryote community in different samples

区域 area	样品 sample	Ace	Chao1	覆盖率 good coverage	香农指数 Shannon index
贝类区 bivalves area	青蛤 <i>Cyclina sinensis</i>	53.30811	53	0.999982	1.681357
	魁蚶 <i>Anadara broughtonii</i>	25.23432	23	0.999947	1.012575
	海水 seawater	217.7785	218.7727	0.999316	2.094591
	沉积物 sediment	610.3389	602.2113	0.999219	3.935396
贝藻区 bivalves-kelp area	青蛤 <i>Cyclina sinensis</i>	89	89	0.999933	1.849468
	魁蚶 <i>Anadara broughtonii</i>	58	58	0.999921	1.248492
	海水 seawater	295.6262	298.6897	0.998894	3.079603
	沉积物 sediment	410.2637	407.1163	0.999209	3.187144

贝类胃含物与环境样本中真核生物组成见图 4。海水中主要类群有绿藻门、甲藻门、脊索动物门、纤毛虫门等, 浮游植物占比较高。其中, 贝类区海水中甲藻门占比最高, 贝藻区海水中绿藻门占比最高。两区域海水样品中真核生物组成相似, 但物种所占比例存在显著差异($P<0.05$)。沉积物样品中主要真核生物有顶复动物门、节肢动物门、链形植物门、绿藻门等, 浮游动物占比较高。贝类区沉积物中主要优势门为顶复动物门, 而贝藻区沉积物中主要优势门为节肢动物门, 两个区域沉积物的真核生物所占比例差异显著($P<0.05$)。贝类胃含物中主要真核生物有绿藻门、链形植物门、脊索动物门、硅藻门和顶复动物门等。其中, 绿藻门丰度最高, 分别占青蛤和魁蚶样品中总真核生物的 56.55%和 47.27%。在青蛤胃含物中, 链形植物门是第二大门类, 占总真核生物的 44.35%; 在魁蚶胃含物中, 脊索动物门是第二大门类, 占

总真核生物的 30.3%。同一种贝在两区域内的真核生物组成有显著差异($P<0.05$), 两区域青蛤相比较, 贝藻区青蛤胃含物中未检测到甲藻门、脊索动物门以及顶复动物门, 两区域魁蚶相比较, 贝类区魁蚶胃含物中未检测到链形植物门。在同一区域两种不同贝的胃含物中, 物种组成以及所占比例明显不同。

贝类胃含物中群落组成的差异性和相似性见图 5。两区域青蛤胃含物内真核生物总共有 114 个 OTUs, 其中, 贝类区青蛤胃含物中特有的 OTUs 有 25 个, 约占总 OTUs 的 21.93%; 贝藻区青蛤胃含物中特有的 OTUs 有 61 个, 占总 OTUs 的 53.51%; 两区域魁蚶样品共有 OTUs 有 10 个, 约占总 OTUs 的 25.64%, 贝藻区显著高于贝类区($P<0.01$)。

2.3.2 贝类胃含物与养殖环境中真核生物组成的比较 贝类与所处养殖水体和沉积物中群落组成的差异性和相似性见图 6。贝类胃含物中 OTUs

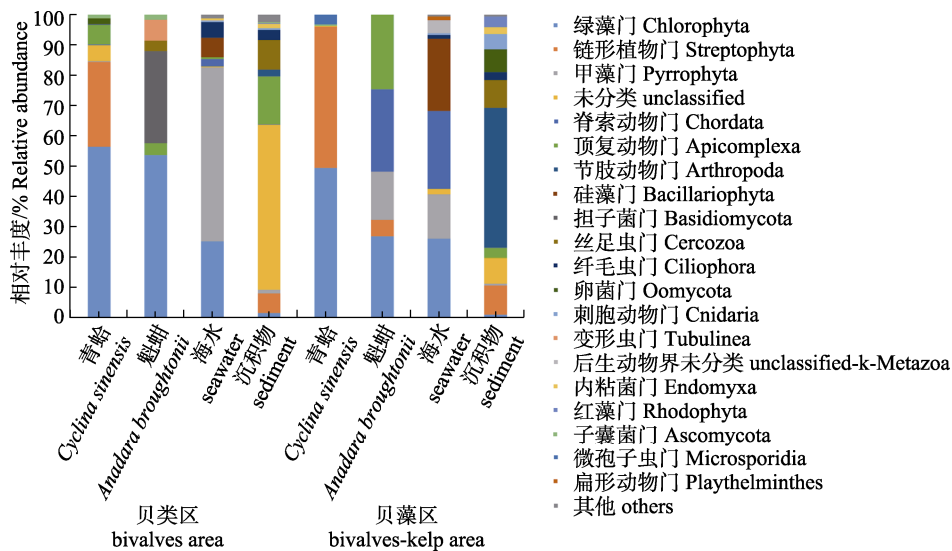


图 4 贝类胃含物及所处养殖环境样本中真核生物的物种组成(门水平)
Fig. 4 Eukaryote composition in the stomach of shellfish and aquaculture area (Phylum level)

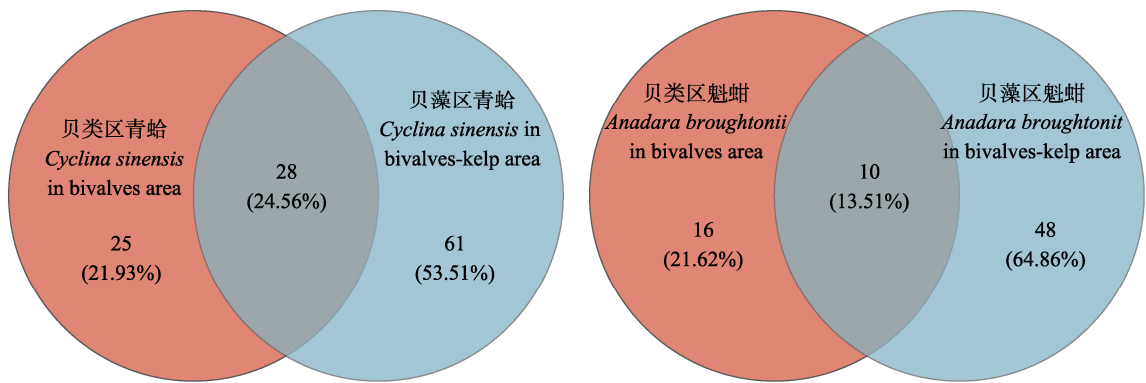


图 5 不同养殖区青蛤和魁蚶 OTUs 韦恩图
Fig. 5 Veen diagram showing the OTUs of *Cyclina sinensis* and *Anadara broughtonii* in the two areas

有 37.74%~60.34%与沉积物中 OTUs 重合,有 43.40%~82.02%与养殖水体中 OTUs 重合。和水体共有物种中,在门水平上相对丰度较高的物种主要分属于绿藻门、甲藻门和脊索动物门;和沉积物共有物种中,相对丰度较高的物种主要分属于链形植物门、顶复动物门和丝足虫门。贝类胃含物中真核生物主要来自于养殖水体中,与稳定同位素结果一致。

3 讨论

3.1 两种贝类食物来源组成分析

贝类的潜在食物来源包括浮游动物、浮游植物、海带碎屑、陆源沉积物、海藻碎屑、贝类生物沉积物和 C₄ 植物。本研究中浮游植物的贡献率

(40.4%~79.6%)在两种贝类中均属最高,是两种贝类的主要食物来源,这与大多数研究者的结论一致^[12,29]。浮游植物中绿藻门为优势门,这一结果与李凤雪等^[30]和 Huang 等^[31]分别对长牡蛎和泥蚶的胃含物检测结果一致。魁蚶的食物来源中,浮游动物的贡献率(35.60%~37.30%)与浮游植物(40.40%~43.90%)的差距很小,牛亚丽^[32]的调查结果也显示浮游动物是虾夷扇贝的主要食物来源之一。另外,在贝类胃含物中检测到原生动物,包括顶复动物门、丝足虫门、变形虫门等。已有多项研究表明,在长期高密度养殖滤食性贝类的地区,细胞较大的优势浮游植物物种逐渐被较小的物种所取代^[33-34],原生动物逐渐在微型浮游生物与滤食性贝类之间充当着重要的桥梁作用^[35]。

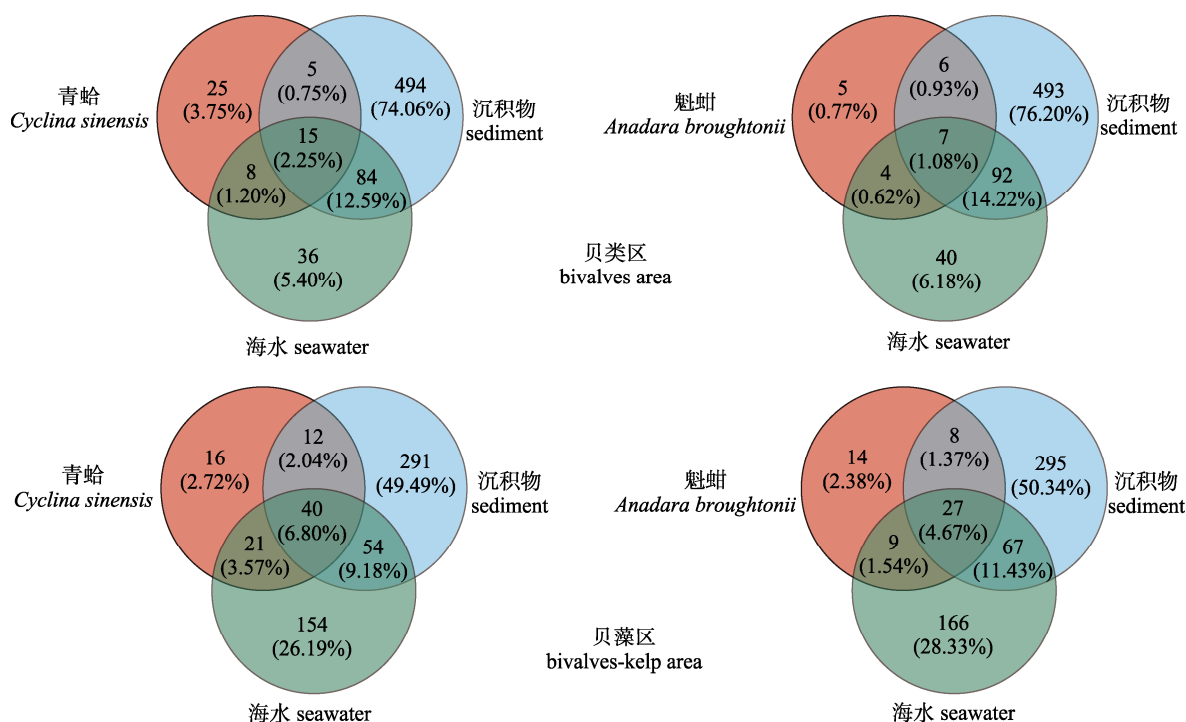


图 6 两区域贝类样本与环境样本 OTUs 对比分布韦恩图

Fig. 6 The veen diagram showing the unique and shared OTUs in shellfish and environment samples in two areas

除浮游动物和浮游植物外,其他碎屑物质的贡献率也不可忽略。Pleadin 等^[36]研究发现贝类在浮游植物繁盛时期不仅摄食浮游植物,还会摄食浮游动物和碎屑。本研究中稳定同位素分析结果显示海带碎屑对两种贝类的贡献率为 0.7%~3.4%,但高通量测序结果中并未发现海带碎屑的存在。由于稳定同位素方法得到的结果是贝类长期摄食的结果,采样时并没有进行海带养殖。因此本研究认为可能在冬季海带养殖期间,贝类会选择海带碎屑作为补充食物来源。同时许强^[27]、Both 等^[37]的研究结果也表明,大型藻类碎屑会给双壳贝类提供一些必需氨基酸。本研究中贝类生物沉积物对两种贝类的贡献率为 2.0%~7.4%,高于海带碎屑的贡献率,这表明此次调查海域中筏式养殖贝类产生的生物沉积物可为底播贝类提供有机物质。Sakamaki 等^[38]研究也表明牡蛎生物沉积物会给底栖生物提供脂肪酸,可以促进底栖消费者的生长。在养殖区域附近有大量海草床,稳定同位素的结果表示海草碎屑的贡献率为 0.5%~3.3%,高通量测序结果显示在贝类胃含物中也检测到了大叶藻属(*Zostera*),说明海草碎屑和其他碎屑物

质同样是青蛤和魁蚶的食物来源。同时在高通量测序结果中发现有玉米属(*Zea mays* L.)的存在,这可能是由于采样区域靠近岸边,附近有农作物种植, C₄ 植物会随着风和海流进入海洋碳循环,从而在贝类中能检测到玉米属的存在,与李凤雪等^[30]的调查结果一致。

3.2 青蛤与魁蚶的摄食差异性分析

尽管在相同的养殖区域,不同贝类对食物的选择也存在显著差异($P<0.05$)。浮游动物对魁蚶的贡献率显著高于青蛤($P<0.05$),虽然青蛤与魁蚶胃含物中的主要真核生物均为绿藻门,但是青蛤的第二大门类为链形植物门,魁蚶的第二大门类为脊索动物门。本研究分析认为这与两种贝类的摄食机制有关,滤食性贝类的摄食机制有主动机制和被动机制两种,两种作用的发生均与摄食器官有关^[39]。生理结构的不同导致贝类对不同大小的颗粒物产生不同的截留效率^[40]。青蛤有水管,在未干露的情况下,足和水管伸出,靠进水管和出水管来摄食和排泄,魁蚶没有水管,通过鳃丝部进行选择摄食,两种贝的鳃部结构也存在差异^[41-43],因此不同的生理结构导致两种贝类在同

一养殖区域存在摄食差异。

滤食性贝类养殖属于不投饵型养殖,其食物来源基本取决于所处环境中的有机物,因此养殖区域对贝类食物来源具有重要影响。稳定同位素结果表明底层海水 POM 与贝类食物来源有很好的一致性,并且高通量测序结果显示贝类胃含物中主要真核生物来自于养殖水体中,两种方法得到的结果一致。IMTA 作为一种公认的环境友好型养殖模式,实现了在不同营养级生物间的传递和再循环。该养殖模式的核心是在同一水体中按适当比例养殖不同生态位的物种,其中,部分生物的排泄物可作为另一生物的饵料,既减少废物排放,又提高物质与空间利用率^[44]。筏式养殖贝类产生的大量生物沉积物沉降到海底会增加底层的需氧量,可能导致缺氧或无氧的环境,对底质环境造成一定的负面影响^[45]。本研究采用在养殖区域增加青蛤和魁蚶底播养殖以改善养殖环境,通过稳定同位素和高通量测序分析发现,在两个养殖区域中底播贝类均能摄食筏式养殖产生的生物沉积物以及海带碎屑,但两种物质对魁蚶的贡献率高于青蛤,这表明魁蚶更能有效利用筏式养殖产生的废物,从而减轻筏式养殖对底层的负面影响,改善底质环境,并提升空间利用率。Yuan 等^[46]表示在综合养殖系统中加入底播贝类可以降低水体中营养物质的浓度,有利于沉积物表面微生物群落中的硝化和反硝化。另一方面,贝藻区 POM 中海带碎屑、海草碎屑等碎屑物质的含量显著高于贝类区,海带碎屑对贝藻区青蛤的贡献率也高于贝类区青蛤,然而在高通量测序结果中未发现海带碎屑的存在。高通量测序技术是贝类短期的摄食结果,因此本研究认为后续可尝试进行多个季节的分析来判断青蛤对海带碎屑的摄食偏好,从而判断青蛤的适宜性。综合上述结果与分析,本研究认为从食物源的角度考虑,青蛤和魁蚶作为桑沟湾综合养殖区中的底播贝类有利于资源的合理利用。青蛤可能更适宜于底播在有藻类养殖的区域。后续将进一步从环境适宜性、底栖物种共生等多因素判断物种适宜性,从而更好地为立体综合养殖提供数据支撑。

4 结论

青蛤和魁蚶的食物来源包括:浮游动物、浮游植物、海带碎屑、贝类生物沉积物、海草碎屑、C₄ 植物和陆源沉积物,浮游植物是两种贝类的主要食物来源,贝类生物沉积物和海带碎屑对青蛤和魁蚶的贡献率存在区域性差异。贝类胃含物中的主要真核生物为绿藻门,青蛤胃含物中第二大门类为链形植物门,魁蚶胃含物中第二大门类为脊索动物门,贝类胃含物中的真核生物主要来源于养殖水体。高通量测序结果与稳定同位素结果一致。养殖环境和贝类生理结构共同影响贝类的食物来源,筏式养殖产生的生物沉积物与海带碎屑对魁蚶的贡献率较高。两个区域的底质类型、水深等环境因素相似,从食物源的角度来看,魁蚶和青蛤均适宜作为综合养殖区的底播贝类,青蛤可能更适宜于底播在有藻类养殖的区域。

参考文献:

- [1] Fisheries and Fisheries Administration of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. 2023 China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2023: 15-46. [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2023 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2023: 15-46.]
- [2] Tian Y, Jin Y, Chen W, et al. Comparison in growth and nutrition of new manila clam breed "ZC II" cultured in raft hanging and bottom sowing models[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2021, 52(6): 1496-1505. [田园, 金燕, 陈炜, 等. 菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)“斑马蛤 2 号”筏式和底播养殖模式比较研究[J]. 海洋与湖沼, 2021, 52(6): 1496-1505.]
- [3] Dong Z G, Duan H B, Zheng H F, et al. Research progress in genetic resources assessment, culture technique and exploration utilization of *Cyclina sinensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(12): 2083-2098. [董志国, 段海宝, 郑汉丰, 等. 青蛤的种质、养殖及其开发利用研究进展[J]. 水产学报, 2021, 45(12): 2083-2098.]
- [4] Xue S Y, Wang J Y, Li J Q, et al. Effects of temperature on energy metabolism and antioxidant enzyme activities of *Scapharca broughtonii*[J]. Journal of Fisheries of China, 2019, 43(3): 573-583. [薛素燕, 王金叶, 李加琦, 等. 温度对魁蚶能量代谢及抗氧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2019, 43(3): 573-583.]

- [5] Hulot V, Saulnier D, Lafabrie C, et al. Shellfish culture: a complex driver of planktonic communities[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12(1): 33-46.
- [6] Fan S, Feng S, Gan S, et al. Clam challenges high concentrations of algae diet environment: Growth performance, metabolism physiology, and related gene expression characteristics[J]. *Aquaculture Reports*, 2023, 30(6): 101586.
- [7] Rosa M, Ward J E, Holohan B A, et al. Physicochemical surface properties of microalgae and their combined effects on particle selection by suspension-feeding bivalve molluscs [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2017, 486: 59-68.
- [8] Tan K S, Ransangan J. Feeding behaviour of green mussels, *Perna viridis* farmed in Marudu Bay, Malaysia[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(3): 1216-1231.
- [9] Pales Espinosa E P, Cerrato R M, Wikfors G H, et al. Modeling food choice in the two suspension-feeding bivalves, *Crassostrea virginica* and *Mytilus edulis*[J]. *Marine Biology*, 2016, 163(2): 40.
- [10] Jiang Z, Du M, Fang J, et al. Size fraction of phytoplankton and the contribution of natural plankton to the carbon source of Zhikong scallop *Chlamys farreri* in mariculture ecosystem of the Sanggou Bay[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2017, 36: 97-105.
- [11] Rahman M A, Henderson S, Millerezzy P, et al. Analysis of the seasonal impact of three marine bivalves on seston particles in water column[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2020, 522: 151251.
- [12] Qiao L, Ren C, Sun X, et al. Selective feeding of two bivalve species on the phytoplankton community in an aquaculture pond revealed by high-throughput sequencing[J]. *Applied Ecology and Environmental Research*, 2021, 19(6): 4477-4491.
- [13] Liao X, Sun Z, Cui Z, et al. Effects of different sources of diet on the growth, survival, biochemical composition and physiological metabolism of clam (*Cyclina sinensis*)[J]. *Aquaculture Research*, 2022, 53(10): 3797-3806.
- [14] Cai X Y, Zhang X M, Liu X X, et al. Comparative study of food sources of *Anadara broughtonii* in raft mariculture and bottom sowing proliferation[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2016, 23(6): 1368-1379. [蔡星媛, 张秀梅, 刘旭绪, 等. 筏式和底播增殖养殖模式下魁蚶食物来源的比较研究[J]. *中国水产科学*, 2016, 23(6): 1368-1379.]
- [15] Zhang J, Wang Y X, Feng H M, et al. Analysis of feeding habits of cultured jellyfish (*Rhopilema esculentum*) in Tongzhou Bay based on fatty acid and stable carbon and nitrogen isotopic analysis[J]. *South China Fisheries Science*, 2021, 17(1): 25-31. [张健, 王佚兮, 冯慧敏, 等. 基于脂肪酸标记法和稳定同位素技术的通州湾养殖水域海蜇食性分析[J]. *南方水产科学*, 2021, 17(1): 25-31.]
- [16] Aghana M, Chakraborty R D, Chakraborty K, et al. Trophic ecology and diet of the deep-sea penaeid shrimp *Metapenaeopsis andamanensis* (Wood-Mason in Wood-Mason and Alcock, 1891) by fatty acid signatures and stomach content analysis[J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2023, 200: 104135.
- [17] Wang B, Tian J S, Zhou Z C. Food web in jellyfish-shrimp-shellfish polyculture pond[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, 32(6) : 2028-2034. [王摆, 田甲申, 周遵春. 海蜇-对虾-蛤仔综合养殖池塘的食物网[J]. *应用生态学报*, 2021, 32(6): 2028-2034.]
- [18] Zhang H, Xu Q, Zhao Y, et al. Sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) eukaryotic food source composition determined by 18S rDNA barcoding[J]. *Marine Biology*, 2016, 163: 1-11.
- [19] Lu Z, Sun Y, Xiao C, et al. Dietary analysis based on 18S rDNA, and stable carbon and nitrogen isotopes in *Juvenile Eriocheir sinensis* crabs reared under three feeding modes[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2021, 8: 741780.
- [20] Divine L M, Bluhm B A, Mueter F J, et al. Diet analysis of Alaska Arctic snow crabs (*Chionoecetes opilio*) using stomach contents and $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ stable isotopes[J]. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2017, 135: 124-136.
- [21] Sun L, Liu H, Gao Y, et al. Food web structure and ecosystem attributes of integrated multi-trophic aquaculture waters in Sanggou Bay[J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 16: 100279.
- [22] Tang Q S, Fang J G, Zhang J H, et al. Impacts of multiple stressors on coastal ocean ecosystems and Integrated Multi-trophic Aquaculture[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2013, 34(1):1-11. [唐启升, 方建光, 张继红, 等. 多重压力胁迫下近海生态系统与多营养层次综合养殖[J]. *渔业科学进展*, 2013, 34(1): 1-11.]
- [23] Yang Y Y. Assessment of the influence of large-scale aquaculture on benthic environment in Sanggou Bay[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2018. [杨艳云. 桑沟湾规模化养殖对底质环境的影响评价[D]. 大连: 大连海洋大学, 2018.]
- [24] Post D M, Layman C A, Arrington D A, et al. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses[J]. *Oecologia*, 2007, 152: 179-189.
- [25] Phillips D L, Gregg J W. Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources[J]. *Oecologia*, 2003, 136(2): 261-269.
- [26] Stoeck T, Bass D, Nebel M, et al. Multiple marker parallel

- tag environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in marine anoxic water[J]. *Molecular Ecology*, 2010, 19: 21-31.
- [27] Xu Q. Evaluation of food sources of bivalve in seaweed and filter-feeding bivalve polyculture ecosystem[D]. Qingdao: Graduate School of Chinese Academy of Sciences(Institute of Oceanology), 2007: 37-77. [许强. 贝藻混养系统中贝类食物来源的定量分析[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2007: 37-77.]
- [28] Sui J J, Zhang J H, Ren S J, et al. Organic carbon in the surface sediments from the intensive mariculture zone of Sanggou Bay: Distribution, seasonal variations and sources [J]. *Journal of Ocean University of China*, 2019, 18: 985-996.
- [29] Asaduzzaman M, Akter S, Hoque N F, et al. Multifaceted linkages among eco-physiological factors, seasonal plankton dynamics and selective feeding behavior of the green mussel (*Perna viridis*) in the south-east coast of the Bay of Bengal[J]. *Journal of Sea Research*, 2020, 164: 101933
- [30] Li F X, Du M R, Gao Y P et al. Analysis of food sources of *Crassostrea gigas* using high-throughput sequencing techniques [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(5): 86-96. [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.]
- [31] Huang H, Chen S, Xu Z, et al. Comparative metabarcoding analysis of phytoplankton community composition and diversity in aquaculture water and the stomach contents of *Tegillarca granosa* during months of growth[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2023, 187: 114556.
- [32] Niu Y L. Study on seasonal variation of the C、N、P、Si budget of the bivalves in Sungo Bay[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2014. [牛亚丽. 桑沟湾滤食性贝类碳、氮、磷、硅元素收支的季节变化研究[D]. 舟山: 浙江海洋学院, 2014.]
- [33] Mo Y, Li A, Luo Z, et al. Inapparent decrease in phytoplankton biomass accompanied by significant size composition succession in the shellfish aquaculture farm in the western Taiwan strait[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2023, 10: 2296-7745.
- [34] Frau D, Molina F R, Mayora G. Feeding selectivity of the invasive mussel *Limnoperla fortunei* (Dunker, 1857) on a natural phytoplankton assemblage: what really matters? [J]. *Limnology*, 2016, 17: 47-57.
- [35] Stoecker D, Pierson J. Predation on protozoa: its importance to zooplankton revisited[J]. *Journal of Plankton Research*, 2019, 41(4): 367-373.
- [36] Pleadin J, Kvirgić K, Zrnčić S, et al. Variations in nutritive composition of three shellfish species[J]. *Italian Journal of Food Sciences*, 2019, 31(4): 716-730.
- [37] Both A, Byron C J, Costa-Pierce B, et al. Detrital subsidies in the diet of *Mytilus edulis*; macroalgal detritus likely supplements essential fatty acids[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2020, 7: 561073.
- [38] Sakamaki T, Hayashi K, Zheng Y, et al. Effects of oyster age on selective suspension-feeding and the chemical composition of biodeposits: insights from fatty acid analysis[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2020, 644: 75-89.
- [39] Rosa M, Ward J E, Shumway S E. Selective capture and ingestion of particles by suspension-feeding bivalve molluscs: a review[J]. *Journal of Shellfish Research*, 2018, 37(4): 727-746.
- [40] Xie B, Lin Z H, He L. Effects of particle concentration on the retention efficiency of *Meretrix meretrix*, *Mercenaria mercenaria* and *Ruditapes philippinarum*. *Progress in Fishery Sciences*, 2022, 43(4): 190-198. [谢彬, 林志华, 何琳. 颗粒浓度对文蛤、硬壳蛤和菲律宾蛤仔保留效率的影响[J]. *渔业科学进展*, 2022, 43(4): 190-198.]
- [41] Wang X Q, Cao M, Yan B L, et al. Biology and reproduction of clam *Cyclina sinensis*[J]. *Fisheries Science*, 2006, 25(6): 312-316. [王兴强, 曹梅, 阎斌伦, 等. 青蛤的生物学及其繁殖[J]. *水产科学*, 2006, 25(6): 312-316.]
- [42] Wang R C, Wang Z P. *Aquaculture of Marine Shellfish*[M]. Qingdao: China Ocean University Press, 2008. [王如才, 王昭萍. *海水贝类养殖学*[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2008.]
- [43] Yokoyama H, Ishihi Y. Variation in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among different tissues of three estuarine bivalves: implications for dietary reconstructions[J]. *Plankton and Benthos Research*, 2006, 1(4): 178-182.
- [44] Wu W G, Zhang J H, Liu Y, et al. Analysis of the effectiveness of the polyculture of shellfish and alga and influencing factors in the Xuejiadao sea cage aquaculture area. *Progress in Fishery Sciences*, 2022, 43(3): 146-155. [吴文广, 张继红, 刘毅, 等. 薛家岛海水网箱养殖海域贝藻综合养殖效果及其影响因素分析[J]. *渔业科学进展*, 2022, 43(3): 146-155]
- [45] Zieritz A, Chan W N, McGowan S, et al. High rates of biodeposition and N-excretion indicate strong functional effects of mussels (Bivalvia: Unionida) in certain anthropogenic tropical freshwater habitats[J]. *Hydrobiologia*, 2021, 848: 3153-3166.
- [46] Yuan S Y, Zhu W J, Neori A, et al. Benthic suspension-feeding clams affect sedimentary microbial communities and nitrogen cycling in seawater pond IMTA[J]. *Aquaculture*, 2023, 563: 738907.

Study on the food sources of bottom-sowing cultured *Cyclina sinensis* and *Anadara broughtonii* in Sanggou Bay

LI Bing^{1,2}, ZHANG Jihong², WU Wenguang², LIU Yi², WANG Xinmeng², KANG Qinzi², CHEN Duyu², GONG Xue², XU Hao²

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. State Key Laboratory of Mariculture Biobreeding and Sustainable Goods, Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production, Laoshan Laboratory, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

Abstract: *Cyclina sinensis* and *Anadara broughtonii* are economically important bottom-sowing farming shellfish in China. Understanding their food sources can help quantify the interaction between shellfish and shallow sea aquaculture ecosystems and provide data support for the construction and screening of suitable bottom-sowing shellfish varieties for shallow sea comprehensive aquaculture models. In the present study, stable isotope and high-throughput sequencing technologies were used to determine the food composition characteristics of *C. sinensis* and *A. broughtonii* cultured in bottom sowings, and the differences and influencing factors of the food sources of the two shellfish were analyzed. Samples were collected from the bivalve culture area (BA) and bivalve kelp polyculture area (BKA) in Sanggou Bay in September 2021. The results showed the following: (1) The food sources of *C. sinensis* and *A. broughtonii* include phytoplankton, zooplankton, kelp detritus, shellfish biodeposition, seagrass detritus, C₄ plants, and terrestrial sediments. Among them, phytoplankton were the main food source of *C. sinensis* and *A. broughtonii* (accounting for 40.4%–79.6%). Zooplankton are the second food source and the contribution rate of zooplankton to *A. broughtonii* (35.6%–37.3%) was significantly higher than that of *C. sinensis* (13.3%–15.9%). There were regional differences in the contribution rates of shellfish biodeposition and kelp detritus to the food of *C. sinensis* and *A. broughtonii*. The contribution rates of shellfish biodeposition to *C. sinensis* and *A. broughtonii* in the BA were 2.0% and 7.4%, respectively. The contributions of shellfish biodeposition to *C. sinensis* and *A. broughtonii* in the BKA were 5.1% and 4.3%, respectively. The contribution rates of kelp detritus to *C. sinensis* and *A. broughtonii* in BA were 0.7% and 2.9%, respectively, and those to *C. sinensis* and *A. broughtonii* in BKA were 3.4% and 2.1%, respectively. (2) The main component in the stomach contents of *C. sinensis* was chlorophyta (the proportion reached 56.55%), followed by streptophyta (44.35%); the main component in the stomach contents of *A. broughtonii* was chlorophyta (47.27%), followed by chordata (30.3%). This was closely related to the feeding mechanisms of the two shellfish species and their physiological structures. The feeding mechanism of filter-feeding shellfish includes active and passive mechanisms, both of which are related to feeding organs. However, *C. sinensis* have water pipes that extend their feet and pipes before they are exposed, relying on the inlet and outlet pipes for feeding and excretion. *A. broughtonii* does not have water pipes and is selectively fed through gill filaments. There were also differences in the gill structures of the two shellfish. Different physiological structures lead to differences in feeding behavior between two shellfish species in the same culture area. The eukaryotic composition of the stomach contents of the two shellfish species was predominantly phytoplankton and came mainly from the bottom seawater; this was in agreement with the stable isotope results. (3) In BA and BKA, the contribution of organic matter (biodeposition and kelp detritus) produced by the raft culture to *A. broughtonii* was higher than that to *C. sinensis*. The contribution of kelp detritus to *C. sinensis* in BA was higher than that to *A. broughtonii*. From the perspective of food source structure, both *A. broughtonii* and *C. sinensis* can be used as bottom-sown shellfish in the comprehensive aquaculture area of Sanggou Bay, and *C. sinensis* is more suitable for bottom sowing in areas with algal cultures.

Key words: shellfish; food source; stable isotopes; high-throughput sequencing; integrated multitrophic aquaculture (IMTA)

Corresponding author: ZHANG Jihong. E-mail: zhangjh@ysfri.ac.cn