

基于肠道内容物 DNA 分析长棘海星的潜在鱼类捕食者

邢家杰^{1#}, 李忠炉², 余秋玉³, 何春龙¹, 周 智^{3*}, 刘兆群³

(1. 海南大学 海洋生物与水产学院, 海南 海口 570228 中国; 2. 广东海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524088 中国; 3. 海南大学 海洋科学与工程学院, 海南 海口 570228 中国)

摘 要: 为了解西沙礁区长棘海星(*Acanthaster cf. solaris*)的潜在鱼类捕食者种类, 本研究根据形态学特征与 18S 分子标签鉴定了在西沙礁区 23 个站点采捕(2023 年 4 月)的鱼类样品, 并采用 PCR 技术检测了鱼类肠道内容物 DNA 中长棘海星线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I (mitochondrial cytochrome oxidase subunit I, CoTS-mtCO I) 的基因片段。研究结果为 1) 330 尾鱼样经鉴定隶属于 9 目 24 科 37 属 42 种。2) 在 6 种鱼类(珠蝴蝶鱼 *Chaetodon kleinii*、三间火箭 *Chelmon rostratus*、弓月蝴蝶鱼 *Chaetodon lunulatus*、红裸颊鲷 *Lethrinus haematopterus*、东方尖唇鱼 *Oxycheilinus orientalis* 和蜂巢石斑鱼 *Epinephelus merra*)的肠道内容物 DNA 中扩增到 CoTS-mtCO I 片段。其中, 在珠蝴蝶鱼的肠道内容物 DNA 中均检测出 CoTS-mtCO I 基因片段, 而其他 5 种鱼类仅部分样品检出。3) 6 种鱼类均为首次报道的长棘海星潜在鱼类捕食者。4) 基于 18S 序列的系统进化树中, 珠蝴蝶鱼、三间火箭与弓月蝴蝶鱼先聚到蝴蝶鱼科亚支, 再归到刺尾鱼目分支, 而红裸颊鲷、东方尖唇鱼与蜂巢石斑鱼均聚到鲈形目分支。本研究结果有助于了解中国西沙珊瑚礁生态系统中长棘海星的潜在鱼类捕食者, 以期为防控南海长棘海星暴发提供理论依据与科学指导。

关键词: 长棘海星; 捕食者; 肠道内容物; 分子标签; 线粒体基因

中图分类号: Q958.8 文献标志码: A 文章编号: 1674-7054(2026)01-0155-10

邢家杰, 李忠炉, 余秋玉, 等. 基于肠道内容物 DNA 分析长棘海星的潜在鱼类捕食者[J]. 热带生物学报(中英文), 2026, 17(1): 155–164. DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20250101 CSTR: 32425.14.j.cnki.rdswwb.20250101



珊瑚礁生态系统是重要的热带海洋生态系统之一, 因其具有较高的生物多样性而被誉为“海洋中的热带雨林”^[1]。长棘海星(*Acanthaster spp.*)喜食珊瑚礁生态系统的框架生物造礁珊瑚。长棘海星群体暴发被认为是近年来全球珊瑚礁生态系统退化的重要原因之一^[2-3]。2009 年长棘海星群体暴发导致西沙群岛部分礁区的活珊瑚覆盖率降至不足 1%^[4-5], 珊瑚生物多样性显著降低^[6]。此外, 遭受长棘海星啃食后留下的珊瑚骨骼会因生物侵蚀和海水运动而塌陷, 从而降低珊瑚礁结构的复杂性, 并致使礁栖生物的种类和密度及生物多样性下降^[7-9]。

礁栖鱼类可以捕食不同生长阶段的长棘海星, 进而能抑制长棘海星群体暴发^[10]。用于解释长

棘海星群体暴发机理的“捕食者移除假说”认为, 当长棘海星捕食者大幅减少时, 长棘海星群体将可能因上行控制降低而发生暴发^[11]。Cowan 等^[12]研究发现, 常见的雀鲷科和蝴蝶鱼科鱼类会主动地摄食长棘海星的配子和幼虫, 鲈形目的纹腹叉鼻鲷(*Arothron hispidus*)等鱼类可直接捕食长棘海星成体^[13-14]。这些鱼类捕食者在控制长棘海星群体数量和种群动态等方面发挥着重要作用^[15]。近年来有研究者运用环境 DNA 技术来探究长棘海星捕食者的种类和数量。如 Kroon 等^[11]通过 ddPCR 技术和特异性引物^[16](F: 5'-CCGGACGCCTATA C-3'; R: 5'-AGTGGTTCGCTGGGAAGTGAAGG-3')检测了澳大利亚大堡礁海洋公园鱼类肠道内容物中的长棘海星线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I



收稿日期: 2025-08-02

修回日期: 2025-10-04

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFC3106302)

*第一作者: 邢家杰(1999—), 男, 海南大学 2021 级硕士研究生。E-mail: xingjiatie1818@126.com

*通信作者: 周智(1983—), 男, 博士, 研究员。研究方向: 海洋生物学。E-mail: zhouchi@hainanu.edu.cn

(mitochondrial cytochrome oxidase subunit I, CoTS-mtCO I) 基因片段, 发现豹纹鳃棘鲈 (*Plectropomus leopardus*)、星斑裸颊鲷 (*Lethrinus nebulosus*)、宅泥鱼 (*Dascyllus aruanus*)、黑斑盘雀鲷 (*Dischistodus melanotus*) 4 种长棘海星潜在鱼类捕食者。张颖等^[17]采用 PCR 技术检测了鱼肠道内容物中的长棘海星 DNA, 发现了颊吻鼻鱼 (*Naso lituratus*)、网纹宅泥鱼 (*Dascyllus reticulatus*)、三叶唇鱼 (*Cheilinus trilobatus*) 和赤鳍裸颊鲷 (*Lethrinus erythropterus*) 4 种长棘海星潜在鱼类捕食者。尽管“捕食者移除假说”难以解释全球发生的所有长棘海星群体暴发事件^[13, 18], 但对长棘海星的鱼类捕食者种类进行全面了解将有利于控制长棘海星群体数量, 减少长棘海星暴发风险, 并提高珊瑚礁生态系统的自然恢复力^[19]。

中国南海礁区自 2020 年开始新一轮的长棘海星 (*Acanthaster cf. solaris*) 群体暴发。为解析中国南海长棘海星的群体暴发机理和防控长棘海星群体暴发提供理论依据与科学指导, 本研究根据形态学特征与 18S 分子标签鉴定了在西沙礁区 23 个站点采捕的鱼类, 然后采用 PCR 技术检测了其肠道内容物 DNA 中的 CoTS-mtCO I 基因片段, 进而分析中国西沙礁区长棘海星的潜在鱼类捕食者及其摄食能力。

1 材料与方法

1.1 样品采集和形态学鉴定 2023 年 4 月 8~26 日在 23 个西沙海域站点(表 1)网捕鱼类, 将全部渔获置于 -20 °C 冰箱暂存。待渔获运抵实验室后, 根据 FishBase (<http://fishbase.org/>) 的形态学特征鉴定样品的所属物种。首先从每种鱼类中选取 1 尾样品, 取米粒大的肌肉组织样置于含有 500 mL DNA lysis buffer (10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl (pH 8.0), 0.5% SDS, 100 mmol·L⁻¹ EDTA, 200 μg·mL⁻¹ Protease K) 的离心管中, -80 °C 冰箱中保存至 DNA 提取, 用于进一步的样品鉴定。然后对每个站点中的每种鱼类随机挑选 3 尾(不足 3 尾时取全部), 参考 Kroon 等^[11]的方法取样肠道内容物, 即解剖鱼体后取出肠道, 在前端剪取 1~3 cm 长的肠道, 置于装有 2 mL DNA lysis buffer 的离心管中, -80 °C 保存, 用于后续的 DNA 提取。

1.2 18S 分子标签鉴定鱼类物种 采用 18S 分子

表 1 取样站点与经纬度

Tab. 1 Sampling sites and latitude/longitude

站点 Station	邻近岛礁 nearby reefs	经度(E) longitude	纬度(N) latitude
S1	北礁Beijiao	111°26.316 8'	17°02.0614'
S2	西沙洲Xishazhou	112°10.171 8'	16°56.107 6'
S3	南沙洲Nanshazhou	112°24.712 3'	16°56.506 3'
S4	永兴岛 Yongxingdao	112°17.741 1'	16°47.515 2'
S5	东岛Dongdao	112°54.397 6'	16°47.022 5'
S6	银砾滩Yinlitan	112°13.056 9'	16°42.521 7'
S7	高尖石Gaojianshi	112°41.505 2'	16°34.847 1'
S8	石屿Shiyu	111°50.864 2'	16°30.349 2'
S9	珊瑚岛Shanhudao	111°35.153 9'	16°34.962 5'
S10	金银岛Jinyindao	111°28.331 8'	16°27.881 5'
S11	华光礁 Huaguangjiao	111°35.290 2'	16°15.814 3'
S12	华光礁 Huaguangjiao	111°32.518 0'	16°06.193 5'
S13	华光礁 Huaguangjiao	111°53.459 8'	16°11.357 0'
S14	盘石屿Panshiyu	111°52.196 0'	16°02.394 1'
S15	滨湄滩Binmeitan	112°36.432 0'	16°16.606 1'
S16	浪花礁Langhuajiao	112°29.884 0'	16°06.438 6'
S17	玉琢礁Yuzhuojiao	112°08.874 5'	16°20.376 9'
S18	玉琢礁Yuzhuojiao	112°08.411 8'	16°05.560 9'
S19	湛涵滩Zhanhantan	112°50.786 1'	16°20.225 3'
S20	永兴岛 Yongxingdao	112°20.864 9'	16°36.265 0'
S21	石屿Shiyu	111°58.692 7'	16°30.677 6'
S22	西沙洲Xishazhou	111°57.777 4'	17°00.357 1'
S23	盘石屿Panshiyu	111°38.511 1'	16°01.024 0'

标签进一步鉴定鱼类物种。首先, 取出冻存的肌肉样品, 解冻后依次加入 500 μL 裂解液 (10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl (pH=8.0), 10 mmol·L⁻¹ EDTA (pH=8.0), 10 mmol·L⁻¹ NaCl, 1% 2-巯基乙醇, 10 μL 蛋白酶 k (10 mg·mL⁻¹)、65 μL 的 10% SDS), 56 °C 温浴 1 h, 每隔 15 min 颠倒摇动数次, 使样品充分裂解。室温下 8 000 g 离心 3 min, 吸取 500 μL 上

清液, 加入 500 μL 的 $V_{\text{苯酚}}:V_{\text{氯仿}}:V_{\text{异戊醇}}=25:24:1$ 混合液。颠倒混匀后, 室温 13 000 g 离心 10 min , 吸取 400 μL 上清液, 加入 400 μL 的 $V_{\text{氯仿}}:V_{\text{异戊醇}}=24:1$ 混合液。再次颠倒混匀后, 室温 13 000 g 离心 10 min , 吸取 200 μL 上清液至新的离心管中, 加入 400 μL 无水乙醇。混匀后静置 15 min , 室温 3 000 g 离心 10 min , 倒去上清液, 加入 1 mL 70% 乙醇。室温 13 000 g 离心 5 min , 倒去上清液后, 室温干燥 15 min。最后加入 100 μL TE 溶解 DNA 沉淀, 用于后续的 PCR 实验。

以提取的肌肉组织 DNA 为模板, 采用 18S 通用引物对(F : 5'-GCCAGTAGTCATATGCTTGTCT-

3' ; R: 5'-GGAGCTGGAATTACCGC-3')PCR 扩增 18S 分子标签序列。扩增体系: 2.5 μL 10 $\times$ PCR Buffer, 2 μL dNTP(各 2.5 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$), 1 μL 引物 F(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 1 μL 引物 R(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 1 μL DNA 模板, 0.15 μL rTaq, 17.35 μL DEPC 水。扩增条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳确定为特异性扩增后, 送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行核酸测序。将获得的 18S 序列(表 2)比对至 NCBI 的 nt 数据库, 根据序列同源性进一步确定样品的所属物种^[20]。

表 2 鱼样物种、分类地位和 18S 序列号

Tab. 2 Fish species, taxonomic status and 18S sequence numbers

序号 ID	种名 Species	分类地位 Taxonomy	18S序列号 18S Accession Number
1	珠蝴蝶鱼 <i>Chaetodon kleinii</i>	刺尾鱼目 Aanthuriformes 蝴蝶鱼科 Chaetodontidae	EF616825.1
2	三间火箭 <i>Chelmon rostratus</i>	刺尾鱼目 Acanthuriformes 蝴蝶鱼科 Chaetodontidae	EF616876.1
3	弓月蝴蝶鱼 <i>Chaetodon lunulatus</i>	刺尾鱼目 Acanthuriformes 蝴蝶鱼科 Chaetodontidae	OP035277.1
4	角镰鱼 <i>Zanclus cornutus</i>	刺尾鱼目 Acanthuriformes 镰刀鱼科 Zanclidae	NC_009852.1
5	黄斑篮子鱼 <i>Siganus canaliculatus</i>	刺尾鱼目 Acanthuriformes 篮子鱼科 Siganidae	AF055600.1
6	银篮子鱼 <i>Siganus argenteus</i>	刺尾鱼目 Acanthuriformes 篮子鱼科 Siganidae	PP140670.1
7	少鳞燕鲙 <i>Cypselurus oligolepis</i>	颌针鱼目 Beloniformes 飞鱼科 Exocoetidae	LC458117.1
8	黑背圆颌针鱼 <i>Tylosurus melanotus</i>	颌针鱼目 Beloniformes 颌针鱼科 Belonidae	MH248221.1
9	青翼须唇飞鱼 <i>Cheilopogon cyanopterus</i>	颌针鱼目 Beloniformes 飞鱼科 Exocoetidae	NC_036721.1
10	小鳍针飞鱼 <i>Oxyporhamphus micropterus</i>	颌针鱼目 Beloniformes 鲻科 Hemiramphidae	LC715466.1
11	花鳍燕鲙 <i>Cypselurus poecilopterus</i>	颌针鱼目 Beloniformes 飞鱼科 Exocoetidae	OP035088.1
12	六带鲹 <i>Caranx sexfasciatus</i>	鲹形目 Carangiformes 鲹科 Carangidae	OP035090.1
13	脂眼凹肩鲹 <i>Selar crumenophthalmus</i>	鲹形目 Carangiformes 鲹科 Carangidae	NC_023954.1
14	长颌似鲹 <i>Scomberoides commersonnianus</i>	鲹形目 Carangiformes 鲹科 Carangidae	LC672493.1
15	细鳞圆鲹 <i>Decapterus macarellus</i>	鲹形目 Carangiformes 鲹科 Carangidae	NC_026718.1
16	单棘豹魮 <i>Daicocus peterseni</i>	豹魮目 Dactylopteriformes 豹魮科 Dactylopteridae	NC_003194.1
17	无斑拟羊鱼 <i>Mulloidichthys vanicolensis</i>	羊鱼目 Mulliformes 羊鱼科 Mullidae	NC_024188.1
18	圆口副绯鲤 <i>Parupeneus cyclostomus</i>	羊鱼目 Mulliformes 羊鱼科 Mullidae	PP140669.1
19	条斑副绯鲤 <i>Parupeneus barberinus</i>	羊鱼目 Mulliformes 羊鱼科 Mullidae	NC_082530.1
20	奈氏眶灯鱼 <i>Diaphus knappi</i>	灯笼鱼目 Myctophiformes 灯笼鱼科 Myctophidae	LC146181.1
21	犬牙锥齿鲷 <i>Pentapodus caninus</i>	鲈形目 Perciformes 金线鱼科 Nemipteridae	LC036827.1
22	红裸颊鲷 <i>Lethrinus haematopterus</i>	鲈形目 Perciformes 裸颊鲷科 Lethrinidae	LC640073.1
23	黑带鳞鳍梅鲷 <i>Pterocaesio tile</i>	鲈形目 Perciformes 乌尾鲷科 Caesionidae	NC_004408.1
24	宝石大眼鲷 <i>Priacanthus hamrur</i>	鲈形目 Perciformes 大眼鲷科 Priacanthidae	LC649119.1

续表 2 Tab. 2 Continued

序号ID	种名 Species	分类地位 Taxonomy	18S序列号 18S Accession Number
25	灰鳍异大眼鲷 <i>Heteropriacanthus cruentatus</i>	鲈形目 Perciformes 大眼鲷科 Priacanthidae	OP035148.1
26	白边侧牙鲈 <i>Variola albigmarginata</i>	鲈形目 Perciformes 鲈科 Serranidae	NC_022139.1
27	六带线纹鱼 <i>Grammistes sexlineatus</i>	鲈形目 Perciformes 线纹鱼科 Grammistidae	AP006794.1
28	东方尖唇鱼 <i>Oxycheilinus orientalis</i>	鲈形目 Perciformes 隆头鱼科 Labridae	LC104664.1
29	蜂巢石斑鱼 <i>Epinephelus merra</i>	鲈形目 Perciformes 石斑鱼科 Epinephelidae	NC_022509.1
30	鲭 <i>Euthynnus affinis</i>	鲭形目 Scombriformes 鲭科 Scombridae	NC_025934.1
31	鲣 <i>Katsuwonus pelamis</i>	鲭形目 Scombriformes 鲭科 Scombridae	KM605252.1
32	黄鳍金枪鱼 <i>Thunnus albacares</i>	鲭形目 Scombriformes 鲭科 Scombridae	NC_014061.1
33	沙氏刺鲃 <i>Acanthocybium solandri</i>	鲭形目 Scombriformes 鲭科 Scombridae	NC_067731.1
34	圆舵鲣 <i>Auxis rochei</i>	鲭形目 Scombriformes 鲭科 Scombridae	MK548578.1
35	蛇鲭 <i>Gempylus serpens</i>	鲭形目 Scombriformes 蛇鲭科 Gempylidae	OP035147.1
36	扁舵鲣 <i>Auxis thazard</i>	鲭形目 Scombriformes 鲭科 Scombridae	MK801690.1
37	棘鲷 <i>Coryphaena equiselis</i>	鲷形目 Carangiformes 鲷科 Coryphaenidae	MH576916.1
38	琉璃玉鲷 <i>Psenes cyanophrys</i>	鲷形目 Scombriformes 圆鲷科 Nomeidae	NC_082747.1
39	鳞首方头鲷 <i>Cubiceps squamiceps</i>	鲷形目 Scombriformes 圆鲷科 Nomeidae	PQ492202.1
40	细斑前孔鲀 <i>Cantherhines pardalis</i>	鲀形目 Tetraodontiformes 单棘鲀科 Monacanthidae	OR499746.1
41	兔头鲀 <i>Lagocephalus</i>	鲀形目 Tetraodontiformes 四齿鲀科 Tetraodontidae	LC738765.1
42	暗鳍兔头鲀 <i>Lagocephalu gloveri</i>	鲀形目 Tetraodontiformes 四齿鲀科 Tetraodontidae	NC_059716.1

1.3 检测鱼类肠道内容物 DNA 中的 CoTS-mtCO I 基因片段 采用 CTAB 法提取鱼类肠道内容物中的总 DNA^[21], 通过琼脂糖凝胶电泳法和 Nanodrop 微量分光光度计分别检测鱼类肠道内容物总 DNA 的质量和浓度。使用长棘海星 CoTS-mtCO I 片段的特异性扩增引物对(F: 5'-TCCGACT ACCCGGACGCCTATAC-3' ; R: 5'- AGTGGTTCG CTGGGAAGTGAAGG-3'), 以鱼类肠道内容物总 DNA 作为模板, 进行 PCR 扩增。扩增体系: 2.5 μL 10×PCR Buffer、2 μL dNTP(各 2.5 mmol·L⁻¹)、1 μL 引物 F(10 μmol·L⁻¹)、1 μL 引物 R(10 μmol·L⁻¹)、1 μL DNA 模板、0.15 μL rTaq, 17.35 μL DEPC 水。扩增条件 95 ℃ 5 min; 95 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 35 个循环; 72 ℃ 10 min, 4 ℃ 保存。同时, 提取长棘海星腕中部皮下肌肉的 DNA 并扩增 CoTS-mtCO I 基因片段作为阳性对照组。

1.4 生物信息学与数据分析 根据 18S 分子标签序列和邻接法 (Neighbor joining), 采用 MEGA5.0 软件构建鱼类物种的分子系统进化树, 并经 1 000 次重复抽样 (Bootstraps) 检测其置信度。计算每种

鱼类肠道内容物样品中的 CoTS-mtCO I 基因片段检出率, 并采用 Origin 8.0 软件绘制圆锥图。采用卡方检验分析不同鱼类肠道内容物中 CoTS-mtCO I 基因片段检出率的差异。以 $P<0.05$ 代表差异具有统计学意义。

CoTS-mtCO I 基因片段检出率=CoTS-mtCO I 检出次数/检测样品总数

2 结果与分析

2.1 18S 分子标签鉴定鱼类物种结果 鉴定结果表明, 所获鱼类隶属于 1 纲 9 目 24 科 37 属 42 种 (表 2)。形态学与 18S 分子标签二种方法鉴定出的鱼类物种基本一致, 仅有一种经形态学鉴定为黑背圆颌针鱼 (*Tylosurus melanotus*), 而经 18S 鉴定为鳄形圆颌针鱼 (*T. crocodilus*)。根据已有研究^[22] 分析, 黑背圆颌针鱼为鳄形圆颌针鱼的亚种, 本研究将此鱼归为鳄形圆颌针鱼。在所有捕获鱼类中, 细鳞圆鲹 (*Decapterus macarellus*) 渔获数量最多, 且在大部分站点均有捕获; 最少的种类为犬牙锥齿鲷 (*Pentapodus caninus*), 仅在华光礁捕获

1 条。

2.2 长棘海星潜在鱼类捕食者的确定 本研究通过从鱼肠道内容物总 DNA 中 PCR 扩增 CoTS-mtCO I 基因片段来鉴定西沙礁区长棘海星的潜在鱼类捕食者。在无模板对照和单引物对照中, 未见明显条带。在阳性对照中检测到单一条带, 表明 CoTS-mtCO I 基因片段的特异性扩增。进一步检测发现, 在 6 种鱼类的肠道内容物 DNA 中存在 CoTS-mtCO I 基因片段的阳性扩增, 分别是珠蝴蝶鱼(*Chaetodon kleinii*)、三间火箭(*Chelmon rostratus*)、弓月蝴蝶鱼(*Chaetodon lunulatus*)、红裸颊鲷(*Lethrinus haematopterus*)、东方尖唇鱼(*Oxycheilinus orientalis*)和蜂巢石斑鱼(*Epinephelus merra*)(图 1)。

这 6 种鱼主要采集于西沙洲、永兴岛、石屿和

金银岛附近礁区。其中, 珠蝴蝶鱼采集于西沙洲附近礁区; 三间火箭采集于西沙洲、永兴岛、石屿和金银岛附近礁区; 弓月蝴蝶鱼采集于石屿附近礁区; 红裸颊鲷采集于永兴岛和石屿附近礁区; 东方尖唇鱼采自西沙洲附近海域; 蜂巢石斑鱼源自西沙洲和金银岛附近礁区。

2.3 CoTS-mtCO I 基因片段的检出率分析 在珠蝴蝶鱼、弓月蝴蝶鱼的肠道内容物 DNA 中均检测到 CoTS-mtCO I 基因片段。三间火箭和弓月蝴蝶鱼的 CoTS-mtCO I 基因片段检出率在各个站点均大于 50%, 而蜂巢石斑鱼和红裸颊鲷的检出率较低, 分别为 33.4% 和 50%(图 2)。在西沙洲, 珠蝴蝶鱼的检出率显著高于蜂巢石斑鱼($P<0.05$)(图 3)。在石岛、晋卿岛和金银岛, 这些鱼类的检出率之间无显著差异。

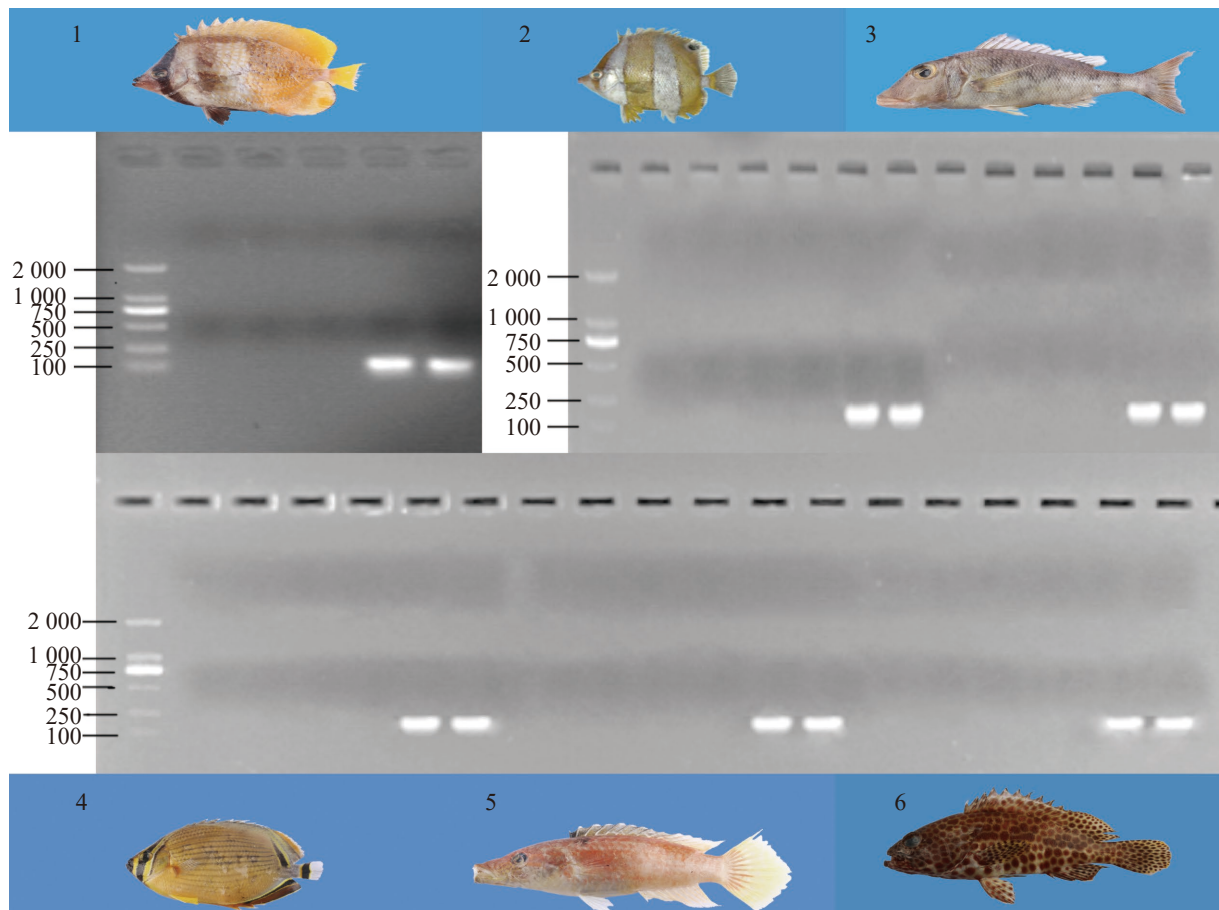


图 1 6 种鱼肠道内容物总 DNA 的 CoTS-mtCO I 基因片段扩增和琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 1 CoTS-mtCO I gene fragment amplification for total DNA of intestinal contents in six fish species and agarose gel electrophoresis

注: M, 2000 bp maker; B, 空白对照; F, 正向单引物对照; R, 反向单引物对照; N, 无模板对照; P, 阳性对照; 1, 珠蝴蝶鱼 (*Chaetodon mertensii*); 2, 三间火箭 (*Chelmon rostratus*); 3, 红裸颊鲷 (*Lethrinus haematopterus*); 4, 弓月蝴蝶鱼 (*Chaetodon lunulatus*); 5, 东方尖唇鱼 (*Oxycheilinus orientalis*); 6, 蜂巢石斑鱼 (*Epinephelus merra*)。

Note: M, 2000 bp maker; B, blank control; F, forward single primer control; R, reverse single primer control; N, no template control; P, positive control; 1, *Chaetodon mertensii*; 2, *Chelmon rostratus*; 3, *Lethrinus haematopterus*; 4, *Chaetodon lunulatus*; 5, *Oxycheilinus orientalis*; 6, *Epinephelus merra*.

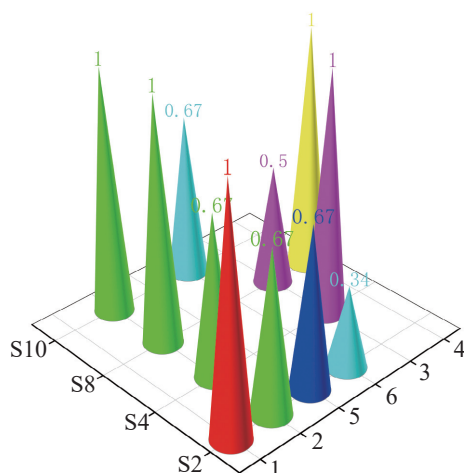


图2 在4个站点6种鱼类的肠道内容物DNA中CoTS-mtCO I基因片段的检出率

Fig. 2 The detection rate of the CoTS-mtCO I gene fragment in the intestinal contents of six fish species at four stations

注: S2, 西沙洲; S4, 永兴岛; S8, 石屿; S10, 金银岛; 1, 珠蝴蝶鱼 (*Chelmon mertensii*); 2, 三间火箭 (*Chelmon rostratus*); 3, 红裸颊鲷 (*Lethrinus haematopterus*); 4, 弓月蝴蝶鱼 (*Chelmon lunulatus*); 5, 东方尖唇鱼 (*Oxycheilinus orientalis*); 6, 蜂巢石斑鱼 (*Exycheilinus merra*)。未在某站点出现的鱼类表示未捕获此种鱼类。

Note: S2, Xishazhou; S4, Yongxingdao; S8, Shiyu; S10, Jinyindao; 1, *Chelmon mertensii*; 2, *Chelmon rostratus*; 3, *Lpinophelus haematopterus*; 4, *Chelmon lunulatus*; 5, *Oxycheilinus orientalis*; 6, *Exycheilinus merra*. The absence of a certain fish species at a particular site indicates that such fish was not caught.

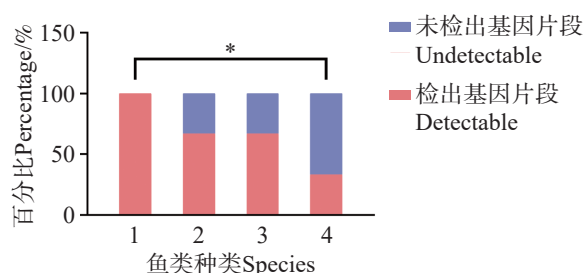


图3 西沙洲鱼类肠道内容物CoTS-mtCO I基因片段的检出率差异分析

Fig. 3 Detection rate analysis of CoTS-mtCO I gene fragment in fish intestinal contents at Xishazhou station.

注: 1, 珠蝴蝶鱼 (*Chaetodon mertensii*); 2, 三间火箭 (*Chelmon rostratus*); 3, 东方尖唇鱼 (*Oxycheilinus orientalis*); 4, 蜂巢石斑鱼 (*Epinephelus merra*)。*表示珠蝴蝶鱼与蜂巢石斑鱼中CoTS-mtCO I基因片段的检出率具有显著差异。

Note: 1, *Chaetodon mertensii*; 2, *Chelmon rostratus*; 3, *Opinephelus orientalis*; 4, *Epinephelus merra*. The asterisk indicates a significant difference in the detection rate of CoTS-mtCO I gene fragment between *Chaetodon mertensii* and *Epinephelus merra*.

2.4 系统进化分析 根据42种捕获鱼类的18S基因片段序列,利用邻接法构建系统发育树(图4)。在该进化树中,所有的同科鱼类均能汇聚为一支,如蝴蝶鱼科、飞鱼科、鲹科、羊鱼科和鲳科等。珠

蝴蝶鱼、三间火箭与弓月蝴蝶鱼先聚到蝴蝶鱼科亚支,再归于刺尾鱼目分支。红裸颊鲷、东方尖唇鱼与蜂巢石斑鱼最终聚到鲈形目分支。

3 讨论

长棘海星群体暴发已导致珊瑚礁的生态系统退化及生物多样性下降,鱼类捕食者可控制长棘海星群体数量,从而降低长棘海星群体暴发频率及破坏程度^[23]。因此,查明长棘海星的鱼类捕食者对珊瑚礁生态系统的保护很重要。本研究选择正遭受长棘海星暴发的西沙群岛礁区调查长棘海星的潜在鱼类捕食者物种及其摄食能力,以期更好地防控南海长棘海星暴发进而保护珊瑚礁生态系统。

至今已发现的长棘海星捕食者种类已达到132种,包括珊瑚礁鱼类和底栖无脊椎动物等^[11, 14, 24-26],它们可摄食长棘海星配子、幼虫、幼体(亚成体)或成体^[14]。本研究首先结合形态学与18S分子标签鉴定了网捕礁栖鱼类的种类,然后采用长棘海星特异性引物检测了鱼类肠道内容物中的CoTS-mtCO I基因片段,以此来鉴别中国南海西沙岛礁中的长棘海星鱼类捕食者。在珠蝴蝶鱼、三间火箭、弓月蝴蝶鱼、红裸颊鲷、东方尖唇鱼和蜂巢石斑鱼等6种鱼的肠道内容物中均检测到CoTS-mtCO I基因片段,表明它们具有长棘海星捕食能力。珠蝴蝶鱼、三间火箭和弓月蝴蝶鱼同隶属于蝴蝶鱼科,红裸颊鲷隶属于裸颊鲷科,东方尖唇鱼隶属于隆头鱼科,蜂巢石斑鱼隶属于石斑鱼科。

已有研究表明,蝴蝶鱼科鱼类能摄食长棘海星成体、配子或幼虫^[24, 27-28],如丝蝴蝶鱼(*Chaetodon auriga*)、胡麻斑蝴蝶鱼(*C. citrinellus*)和斜纹蝴蝶鱼(*C. vagabundus*)喜捕食受伤和濒死的长棘海星成体^[13, 24, 27-31]。在本研究中,西沙礁区珠蝴蝶鱼和弓月蝴蝶鱼肠道内容物DNA中CoTS-mtCO I基因片段的检出率为100%,三间火箭肠道内容物DNA中检出率均66%以上。前两者的摄食能力明显高于已报道的叉纹蝴蝶鱼(*C. auripes*),这表明珠蝴蝶鱼和弓月蝴蝶鱼可能具有长棘海星摄食偏好性。三间火箭的摄食能力低于珠蝴蝶鱼和弓月蝴蝶鱼,这种差异可能源自它们的食性差异。珠蝴蝶鱼是杂食性鱼类,弓月蝴蝶鱼是珊瑚虫食性鱼类,三间火箭是利用延长的管状吻在珊瑚礁

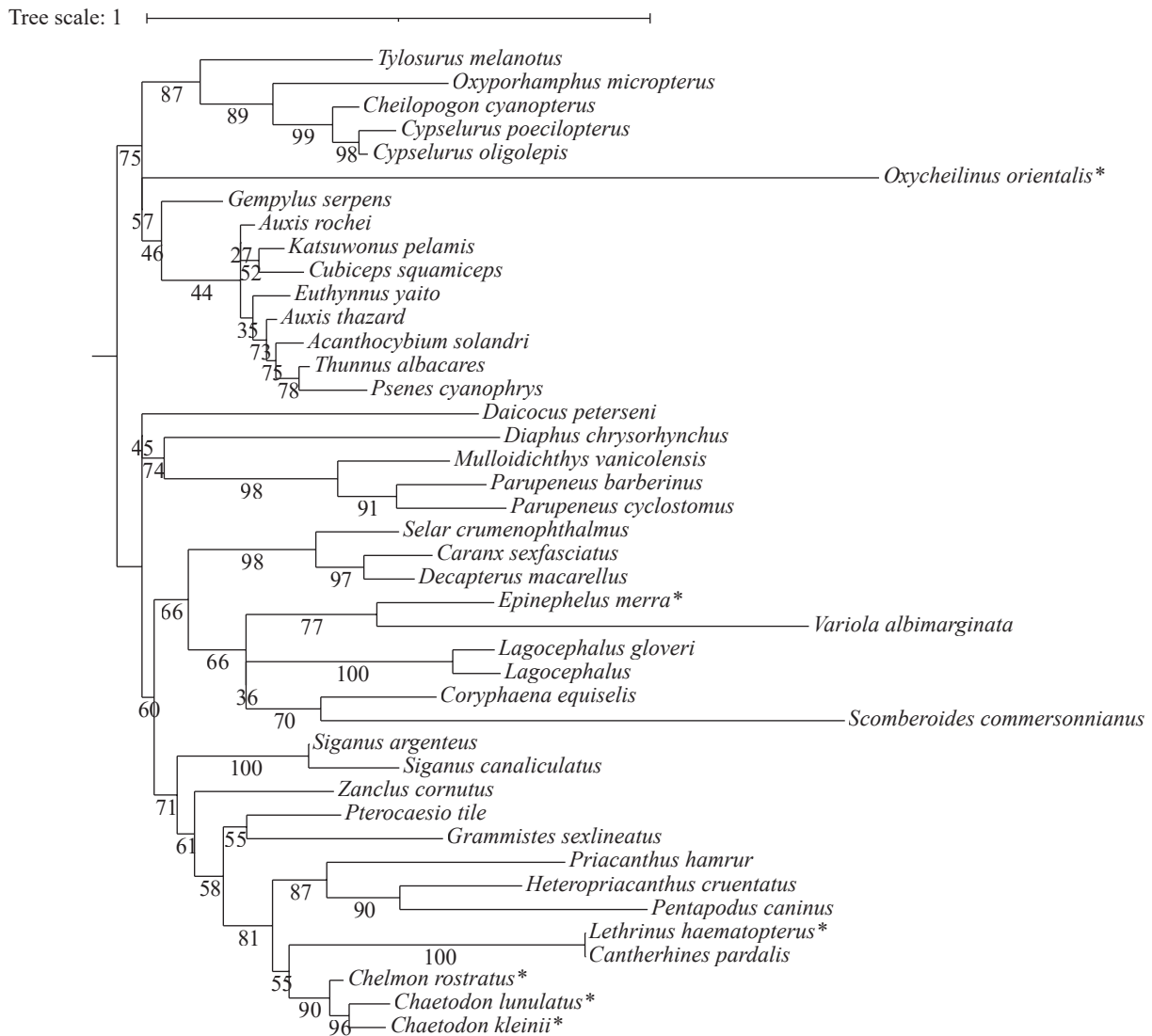


图 4 采用 18S 基因片段和邻接法构建的 42 种西沙鱼类分子系统发育树

Fig. 4 Molecular phylogenetic trees of 42 fish from Xisha island based on 18S gene fragment sequences constructed using Neighbor-Joining method

区进行捕食的肉食性鱼类^[32-34]。由此可见, 尽管蝴蝶鱼科鱼类能摄食不同生长阶段的长棘海星, 但其摄食方式和能力存在明显差异。

本研究在西沙礁区红裸颊鲷、东方尖唇鱼和蜂巢石斑鱼肠道内容物 DNA 中的 CoTS-mtCO I 基因片段检出率均 $\geq 50\%$ 。红裸颊鲷、东方尖唇鱼和蜂巢石斑鱼三者都是典型的礁区肉食性鱼类, 同科的鱼类均已发现具有长棘海星摄食能力。如太平洋裸颊鲷(*Lethrinus atkinsoni*)、长吻裸颊鲷(*L. miniatus*)、星斑裸颊鲷(*L. nebulosus*)三种裸颊鲷科鱼类对长棘海星幼体和成体的摄食^[25, 29, 35]; 横带唇鱼(*Cheilinus fasciatus*)、波纹唇鱼(*C. undulatus*)和黑尾海猪鱼(*Halichoeres melanurus*)等隆头鱼科鱼类对长棘海星成体的摄食^[36-38]; 鞍带

石斑鱼对长棘海星幼体的摄食^[26]。这些研究多是通过室内模拟观察到, 且未评估鱼类的长棘海星摄食能力。

本研究首次在中国南海西沙礁区发现 6 种长棘海星潜在鱼类捕食者, 包括珠蝴蝶鱼、三间火箭、弓月蝴蝶鱼、红裸颊鲷、东方尖唇鱼和蜂巢石斑鱼。这 6 种鱼类的平均摄食水 $\geq 50\%$, 其中珠蝴蝶鱼和弓月蝴蝶鱼可能对长棘海星具有摄食偏好性。后续研究应着眼于解析捕食者的捕食效率及其对长棘海星种群的调控机制, 为制定预防中国南海长棘海星暴发的策略提供重要科学指导。

参考文献:

- [1] Connell J H. Diversity in tropical rain forests and coral reefs [J]. *Science*, 1978, 199(4335): 1302-1310. <https://>

- doi.org/10.1126/SCIENCE.199.4335.1302
- [2] 吴钟解, 王道儒, 涂志刚, 等. 西沙生态监控区造礁石珊瑚退化原因分析[J]. 海洋学报, 2011, 33(4): 140–146.
- [3] 施祺, 严宏强, 张会领, 等. 西沙群岛永兴岛礁坡石珊瑚覆盖率的空間变化[J]. 热带海洋学报, 2011, 30(2): 10–17. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1009-5470.2011.02.002>
- [4] 黄晖, 尤丰, 练健生, 等. 西沙群岛海域造礁石珊瑚物种多样性与分布特点[J]. 生物多样性, 2011, 19(6): 710–715. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1003.2011.06132>
- [5] 赵焕庭, 王丽荣, 袁家义. 南海诸岛珊瑚礁可持续发展[J]. 热带地理, 2016, 36(1): 55–65. <https://doi.org/10.13284/j.cnki.rddl.002800>
- [6] Pratchett M S, Schenk T J, Baine M, et al. Selective coral mortality associated with outbreaks of *Acanthaster planci* L. in Bootless Bay, Papua New Guinea [J]. *Marine Environmental Research*, 2009, 67(4/5): 230–236. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2009.03.001>
- [7] Kayal M, Vercelloni J, De Loma T L, et al. Predator crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) outbreak, mass mortality of corals, and cascading effects on reef fish and benthic communities [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47363. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047363>
- [8] Leray M, Béraud M, Anker A, et al. *Acanthaster planci* outbreak: decline in coral health, coral size structure modification and consequences for obligate decapod assemblages [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35456. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035456>
- [9] Fabricius K E, Okaji K, De'ath G. Three lines of evidence to link outbreaks of the crown-of-thorns seastar *Acanthaster planci* to the release of larval food limitation [J]. *Coral Reefs*, 2010, 29(3): 593–605. <https://doi.org/10.1007/s00338-010-0628-z>
- [10] Pratchett M S, Caballes C F, Rivera-Posada J A, et al. Limits to understanding and managing outbreaks of crown-of-thorns starfish (*Acanthaster* spp.) [M]// Hughes R N, Hughes D J, Smith I P. *Oceanography and marine biology: an annual review*. Boca Raton: CRC Press, 2014: 133–200.
- [11] Kroon F J, Lefèvre C D, Doyle J R, et al. Author correction: DNA-based identification of predators of the coral-livorous Crown-of-Thorns Starfish (*Acanthaster* cf. *solaris*) from fish faeces and gut contents [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 18807. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75953-2>
- [12] Cowan Z L, Dworjanyn S A, Caballes C F, et al. Predation on crown-of-thorns starfish larvae by damselfishes [J]. *Coral Reefs*, 2016, 35(4): 1253–1262. <https://doi.org/10.1007/s00338-016-1491-3>
- [13] Rivera-Posada J, Caballes C F, Pratchett M S. Size-related variation in arm damage frequency in the crown-of-thorns sea star, *Acanthaster planci* [J]. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2014, 2(3): 187–195. <https://doi.org/10.12980/JCLM.2.2014J52>
- [14] Cowan Z L, Pratchett M, Messmer V, et al. Known predators of crown-of-thorns starfish (*Acanthaster* spp.) and their role in mitigating, if not preventing, population outbreaks [J]. *Diversity*, 2017, 9(1): 7. <https://doi.org/10.3390/d9010007>
- [15] Chesson P. Mechanisms of maintenance of species diversity [J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2000, 31: 343–366. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.31.1.343>
- [16] Doyle J R, Mckinnon A D, Uthicke S. Quantifying larvae of the coralivorous seastar *Acanthaster* cf. *solaris* on the Great Barrier Reef using qPCR [J]. *Marine Biology*, 2017, 164(8): 176. <https://doi.org/10.1007/s00227-017-3206-x>
- [17] 张颖, 杨栎潼, 苏南, 等. 西沙海域长棘海星潜在鱼类捕食者鉴定[J]. 海洋学报, 2024, 46(7): 73–87. <https://doi.org/10.12284/hyxb2024086>
- [18] Moran P J. The *Acanthaster* phenomenon [M]// Barnes H. *Oceanography and marine biology: an annual review*. London: CRC Press, 1988: 379–480.
- [19] Babcock R C, Dambacher J M, Morello E B, et al. Assessing different causes of crown-of-thorns starfish outbreaks and appropriate responses for management on the great barrier reef [J]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0169048. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169048>
- [20] Pochon X, Bott N J, Smith K F, et al. Evaluating detection limits of next-generation sequencing for the surveillance and monitoring of international marine pests [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e73935. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073935>
- [21] Yuan J, Li M Z, Lin S J. An improved DNA extraction method for efficient and quantitative recovery of phytoplankton diversity in natural assemblages [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0133060. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133060>
- [22] COLlette B B. Family belonidae [M]// Fischer W, Bianchi G. *FAO species identification sheets for fishery purposes*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1984.
- [23] Kroon F J, Barneche D R, Emslie M J. Fish predators control outbreaks of Crown-of-Thorns Starfish [J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 6986. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26786-8>
- [24] Rivera-Posada J, Pratchett M S, Aguilar C, et al. Bile salts and the single-shot lethal injection method for killing crown-of-thorns sea stars (*Acanthaster planci*) [J]. *Ocean & Coastal Management*, 2014, 102: 383–390. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2014.08.014>
- [25] Birdsey R. Large reef fishes as potential predators of *Acanthaster planci*: a pilot study by alimentary tract analysis of predatory fishes from reefs subject to *Acanthaster* feeding [R]. Townsville: The Great Barrier Mar-

- ine Park Authority, 1988.
- [26] Endean R. Destruction and recovery of coral reef communities [M]// Jones O A, Endean R. Biology and geology of coral reefs. New York: Academic Press, 1976: 215–254. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395527-2.50014-7>
- [27] Keesing J, Halford A R. Importance of postsettlement processes for the population dynamics of *Acanthaster planci* (L.) [J]. *Marine & Freshwater Research*, 1992, 43(3): 635–651. <https://doi.org/10.1071/MF9920635>
- [28] Boström-Einarsson L, Rivera-Posada J. Controlling outbreaks of the coral-eating crown-of-thorns starfish using a single injection of common household vinegar [J]. *Coral Reefs*, 2016, 35(1): 223–228. <https://doi.org/10.1007/s00338-015-1351-6>
- [29] Moran P J. Preliminary observations of the decomposition of crown-of-thorns starfish, *Acanthaster planci* [J]. *Coral Reefs*, 1992, 11(2): 115–118. <https://doi.org/10.1007/BF00357432>
- [30] Glynn P W. An amphinomid worm predator of the crown-of-thorns sea star and general predation on asteroids in eastern and western pacific coral reefs [J]. *Bulletin of Marine Science*, 1984, 35(1): 54–71.
- [31] Yang L T, Zhang Y, Su N, et al. Laboratory study on the relative predation rates of crown-of-thorns starfish (CoTS) larvae by five fish species [J]. *Scientific Reports*, 2025, 15(1): 23935. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-07990-8>
- [32] 左晓燕. 中国蝴蝶鱼科鱼类的系统分类[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
- [33] 左晓燕, 唐文乔. 中国蝴蝶鱼科鱼类的分类整理[J]. *动物分类学报*, 2011, 36(4): 1000–1005.
- [34] Wood S A, Biessy L, Latchford J L, et al. Release and degradation of environmental DNA and RNA in a marine system [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 704: 135314. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135314>
- [35] Sweatman H P A. A field study of fish predation on juvenile crown-of-thorns starfish [J]. *Coral Reefs*, 1995, 14(1): 47–53. <https://doi.org/10.1007/BF00304071>
- [36] Ormond R F, Campbell A C. Formation and breakdown of *Acanthaster planci* aggregations in the Red Sea [C]// Proceedings of the 2nd International Coral Reef Symposium. Brisbane: the Great Barrier Reef Committee, 1974: 595–620.
- [37] Chesher R H. *Acanthaster planci*: impact on pacific coral reefs [R]. Pittsburgh, PA: Westinghouse Electric Corporation, 1969.
- [38] Randall J E, Head S M, Sanders A P L. Food habits of the giant humphead wrasse, *Cheilinus undulatus* (Labridae) [J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1978, 3(2): 235–238. <https://doi.org/10.1007/BF00691948>

Potential fish predator analysis of crown-of-thorns starfish *Acanthaster planci* in the Xisha reef area using intestinal content DNA

Xing Jiajie^{1#}, Li Zhonglu², Yu Qiuyu³, He Chunlong¹, Zhou Zhi^{3*}, Liu Zhaoqun³

(1. Hainan University, College of Marine Biology and Fisheries, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Guangdong Ocean University, College of Fisheries, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 3. Hainan University, College of Marine Science and Engineering, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: To understand the fish predators of crown-of-thorns starfish *Acanthaster cf. solaris* in the Xisha Islands, this study utilized 18S rRNA sequencing and morphological characteristics to identify the fish species collected in April 2023, and then detected the crown-of-thorns starfish mitochondrial cytochrome-C-oxidase subunit I (CoTS-mtCO I) gene fragments in fish intestinal content DNA. Analysis of 330 fish revealed 42 species across 37 genera, 24 families and 9 orders. The CoTS-mtCO I fragment was detectable in the intestinal content DNA of six fish species, including *Chaetodon kleinii*, *Chelmon rostratus*, *Chaetodon lunulatus*, *Lethrinus haematopterus*, *Oxycheilinus orientalis*, and *Epinephelus merra*. The detection rate of CoTS-mtCO I gene fragment was 100% in *Chaetodon kleinii*, while it was only detected in partial samples of the other five species. The six species were firstly reported fish predators of the crown-of-thorns starfish. Phylogenetic analysis based on 18S sequences grouped *Chaetodon kleinii*, *Chelmon rostratus*, and *Chaetodon lunulatus* within the family Chaetodontidae, and placed *L. haematopterus*, *O. orientalis*, and *E. merra* within the order Perciformes. This study contributes to understanding the fish predators of the crown-of-thorns starfish in the coral reef ecosystem of the Xisha Islands, providing a theoretical basis and scientific guidance for the prevention and control of the outbreak of the crown-of-thorns starfish in the South China Sea.

Keywords: *Acanthaster cf. solaris*; predator; intestinal content; molecular markers; mitochondrial gene

(责任编辑:叶 静)