

海带组织降解过程中定殖微型生物群落的特征

许 强¹, 高 菲², 杨红生^{1*}

(1. 中国科学院海洋研究所, 海洋生态与环境科学重点实验室, 山东 青岛 266071;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 运用脂肪酸标志法分析了海带新鲜组织、降解组织及脱落碎屑中定殖微型生物群落的组成特征。研究结果显示, 降解组织和脱落碎屑的总脂含量显著提高, 单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸相对含量降低。降解组织和脱落碎屑中细菌脂肪酸标志 18:1(*n*-7) 和奇数碳及支链脂肪酸含量相比于新鲜叶片有大幅度的提高, 表明碎屑中定殖了繁盛的细菌群落; 海带碎屑的硅藻脂肪酸标志 16:1(*n*-7)/16:0 比值最高, 降解组织中该比值也显著高于新鲜叶片, 表明硅藻类也大量定殖于海带降解组织和碎屑中。鲜海带组织中不含原生动动物脂肪酸标志——DHA, 而在降解叶片和脱落碎屑中都检测到一定含量的该标志物(0.65% 和 1.57%), 指示了原生动物在海带降解组织和碎屑中的定殖。各种微型生物的定殖与生物降解作用显著改变了降解海带叶片及海带碎屑的有机碳氮特征, 新鲜海带叶片组织碳、氮比值高达 17.32, 而降解组织和海带碎屑有机氮含量有较大幅度的升高, 碳、氮比值则分别下降为 6.61 和 6.48。研究结果表明, 海带脱落碎屑并非单一成分, 而是以海带降解残片为主体, 同时混杂有硅藻类、细菌和原生动物群落的混合体。海带碎屑通过各种微型生物的定殖与生物降解作用, 其有机氮含量升高, 碳、氮比值显著下降, 使其更适宜作为基于海带的养殖生态系统中其它生物的食物来源。

关键词: 海带; 脂肪酸标志; 降解; 定殖; 微型生物

中图分类号: Q 547; Q 948.12⁺2.3; S 917.1

文献标识码: A

海带 (*Laminaria japonica*) 在我国具有悠久的栽培历史, 是我国北方海域重要的藻类养殖种类之一, 养殖面积和产量均居世界前列。2008 年我国海带养殖面积已达 $3.35 \times 10^4 \text{ hm}^2$, 产量近 $80 \times 10^4 \text{ t}$ (中国渔业年鉴, 2009)。海带养殖区已成为我国北方沿海典型的人为构建的大型藻类生态系统。

大型藻类生长过程中的一个重要生态学现象是藻体会释放大量的脱落有机碎屑。已有研究表明, 海带属的大型藻类形成的海底森林释放的脱落碎屑是水体颗粒态有机质 (particulate organic matter, POM) 的重要来源, 其在 POM 中的全年比例最高可稳定地维持在 65% 左右^[1]。大型海藻脱落碎屑在浅海生态系统中具有重要作用: 碎屑脱落是大型海藻初级生产力参与海洋物质循环的

主要形式之一, 它可为许多大型水层、底栖生物 (包括滤食性生物、沉积食性生物等) 提供食物来源^[2]; 另一方面, 海藻脱落碎屑通过微型生物降解也参与海洋微食物网的物质循环。海藻脱落碎屑降解过程中, 大量微型生物会定殖其上并依赖其提供的有机碳、氮和栖息空间生存, 这势必会改变海带脱落残片的生化组成及营养结构。我国海带养殖区域多设在潮流平缓、水交换较少的内湾。大面积的海带养殖所释放的脱落碎屑势必在海湾生态系统宏观食物网及微食物网中起到重要作用。组织降解是在细菌等各种微型生物共同作用下完成的复杂生态过程, 因此深入研究海带碎屑脱落降解过程中定殖微型生物组成特征有助于揭示海带碎屑降解的微生态学, 也将为评估大面积海带养殖区中海带碎屑作为其它混养生物或海域

收稿日期: 2010-05-30 修回日期: 2010-09-27

资助项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目 (2006BAD09A02); 国家“八六三”高技术研究发展计划 (2006AA100304); 国家自然科学基金项目 (40906071)

通讯作者: 杨红生, Tel: 0532-82898620, E-mail: hshyang@qdio.ac.cn

自然栖息生物的食物来源的价值提供数据支持。

脂肪酸标志法属于生物标志法的一种,主要是通过检测特定化合物在某一类样品中的组成或含量情况来指示其可能来源的方法。不同的生物或微生物类群具有某一种或某一类脂肪酸,称之为特征脂肪酸。脂肪酸指示混合体中复杂的有机质来源具有较大的优势,特别是在进行微观研究方面,能够克服样品过于微小无法采用常规方法分析的缺点,采用脂肪酸标志示踪法可以实现对细菌(革兰氏阳性菌、阴性菌)^[3-5]、原生动物^[6]、微型藻类(绿藻门、金藻门等)^[4-6]的区分,而且可以指示并评估其作为其它生物有机质来源的贡献^[6-8]。本文采用脂肪酸标志分析法,在室内模拟实验系统中比较研究了海带碎屑形成及释放不同阶段定殖微型生物的组成特征,研究结果以期揭示海带降解及碎屑形成的微生态学过程,同时评估了其作为其它生物的食物来源的价值。

1 材料与方法

1.1 模拟系统构建

本研究采用室内微宇宙(microcosm)实验模式,实验设施为玻璃钢水槽(115 cm×80 cm×70 cm),实验水体 600 L。实验用海带成体取自山东威海桑沟湾贝藻养殖海区,加冰冷藏带回。海带 [$n=2$,长(3.58±0.28) m,总湿重 3.16 kg]用砂滤海水彻底清洗干净后布放入缸中,加水至满。实验时间从 2006 年 4 月 30 日至 6 月 12 日(共 42 d),全程采用自然光照,期间水温控制在(17.8±2.3)℃,系统持续充氧并使水体保持流动,实验全程不换水以降低对碎屑定殖微型生物群落的影响。

1.2 取样方法

实验采用终点对比取样法。实验结束时,称量剩余海带重量,同时采集三类海带样品以代表海带碎屑脱落的不同时期:新鲜海带叶梢组织;梢部及叶边正在衰老降解的组织;沉降的海带碎屑。新鲜叶梢及衰老降解的海带组织用剪刀仔细剪下并分别收集到烧杯中。海带碎屑用虹吸法从缸中吸出,过 200 μm 筛网去除大的颗粒后收集到 40 μm 筛绢上。每类样本设 3 个取样平行。三类样品均用纯水(Milli-Q)小心冲洗后冷冻干燥并研磨成粉,密封后置-20℃保存以备脂肪酸标志分析及有机碳氮含量测定。

1.3 样品测定

脂肪酸组成分析 脂肪酸分析参考文献[2,9]的方法并略作改进。具体步骤如下:

(1) 总脂抽提。在螺口玻璃离心管中(盖子加 Teflon 内垫)加入 0.5 g 干样、10 mL 体积比为 2:1 的二氯甲烷与甲醇的混合液和 2.5 mL 超纯水,漩涡混合 30 s,超声(冰浴)提取 5 min。离心 5 min (3 000 r/min),取下层相。将离心管中加入二氯甲烷 5 mL,重复提取一次,下层相与第一次提取相合并。40℃水浴下氮气吹干,称重得到总脂质量;加入 0.5 mL 二氯甲烷重溶,置 4℃冰箱保存,待下一步分析。

(2) 脂肪酸甲酯(FAME)制备。吸取 1~5 mg 的脂肪样品至色谱瓶中,用氮气吹干溶剂,加入 500 μL 质量体积分数为 2% 的硫酸/甲醇溶液,250 μL 正己烷,充氮气拧紧盖子后振荡,80℃水浴 2 h。加入 250 μL 正己烷,125 μL 超纯水,充分振荡后静置,吸取上层相至小试管中。加 500 μL 正己烷于下层相,重复提取一次,上层相与第一次的合并。吹氮气浓缩至合适体积待气相色谱测定。

(3) 气相色谱分析。选用 DB-FFAP 毛细管色谱柱(30 m×0.32 mm i. d.);载气为氮气,流速 1.2 mL/min;进样口温度 250℃;进样体积为 1 μL。单个色谱峰对照 Cod Liver Oil (Sigma Co., USA)标准品定性。

脂肪酸标志体系 本研究所选择的脂肪酸标志如表1所示,主要指示5类生物类群。需要

表 1 脂肪酸标志种类及指示来源
Tab.1 Fatty acid biomarkers and their indicated food sources

脂肪酸标志 fatty acid biomarkers	指示来源 potential sources	参考文献 references
16:1/16:0; 20:5(n-3)(EPA)	硅藻类 diatoms	[5,10]
18:1(n-7)/18:1(n-9)	细菌类 bacteria 变形细菌 proteobacteria 革兰氏阴性菌类 gram-negative bacteria	[3,5,10]
奇数碳及支链脂肪酸 odd & branched fatty acids	细菌类 bacteria 噬纤维菌-黄杆菌类 cytophaga-flavobacteria 革兰氏阳性菌类 gram-positive bacteria	[3,5,10]
22:6(n-3)(DHA)	原生动物 protozoa	[6]
20:4(n-6); 20:5(n-3)(EPA)	新鲜海带组织 fresh kelp tissue	[4]

说明的是,EPA 是广泛被认可的硅藻特征脂肪酸,但是它在鲜海带组织中含量也很高。本文同样测定了 EPA 含量,并且对结果进行了讨论。

1.4 有机碳、氮含量分析

有机碳、氮含量采用热导法测定^[11],仪器采用 Perkin Elmer 240c CHN 元素分析仪(PerkinElmer Co.,USA),结果表示为 mg C(N)/g · dw。

1.5 数据分析

不同样品数据显著性差异用单因子方差分析(One-Way ANOVA, Tukey 检验)进行检验。置信水平取 95%。分析软件用 SPSS 13.0。

2 结果

2.1 海带组织不同降解阶段脂类含量及脂肪酸组成差异

海带新鲜组织的总脂含量及脂肪酸组成与国内前期研究结果相近,个别脂肪酸含量有一定差异^[12]。本研究中,海带新鲜叶片组织总脂含量为(16.83 ± 1.23) mg/(g · dw),而降解组织和脱落碎屑总脂含量分别为(32.66 ± 2.88) mg/(g · dw)

和(21.40 ± 2.32) mg/(g · dw)。新鲜及不同降解阶段的海带组织脂肪酸详细组成情况见表 2。三类海带组织中不同饱和度脂肪酸含量差异显著。降解叶片和脱落碎屑中单不饱和与多不饱和脂肪酸(MUFA & PUFA)含量显著低于新鲜叶片组织,特别是 PUFA 仅为新鲜叶片组织的一半左右。在所有样品中,16:0 均为饱和脂肪酸(SFA)中含量最高的组分,占到脂肪酸总量的 17.56% ~ 24.38%。鲜海带叶片单不饱和脂肪酸中 18:1(*n*-9)为主要成分,含量达 17.51%,与已有的研究报道结果一致^[12],而在降解组织和脱落碎屑中,其相对含量则降至 5.62% 和 8.53%,与此同时,18:1(*n*-7)和 16:1(*n*-7)的比例则升高,特别是 16:1(*n*-7),其在碎屑中的含量高达 14.73%。20:4(*n*-6)是新鲜叶片中含量最高的多不饱和脂肪酸,占到脂肪酸总量的 9.10%,而在降解组织和脱落碎屑中,其含量骤降至 3.42% 和 1.96%。20:5(*n*-3)(EPA)在降解组织中的含量也显著低于新鲜叶片。另外,新鲜叶片中未检测到 22:6(*n*-3)(DHA),而在降解叶片和脱落碎屑中,其含量分别为 0.65% 和 1.57%。

表 2 海带新鲜叶片、降解叶片、脱落碎屑的脂肪酸组成
Tab.2 Fatty acid composition of fresh, decomposing frond and detritus % (SD), *n* = 3

脂肪酸 fatty acid	新鲜叶片 fresh frond	降解叶片 decomposing frond	海带碎屑 kelp detritus	脂肪酸 fatty acid	新鲜叶片 fresh frond	降解叶片 decomposing frond	海带碎屑 kelp detritus
14:0	6.79(0.15)	5.75(0.47)	4.22(0.16)	18:3(<i>n</i> -3)	2.42(0.04)	2.01(0.01)	1.48(0.03)
15:0	0.55(0.01)	0.57(0.04)	0.56(0.02)	18:4(<i>n</i> -3)	5.58(0.14)	4.82(0.33)	0.96(0.16)
16:0	24.38(0.07)	17.56(0.62)	19.91(0.58)	20:2(<i>n</i> -6)	0.18(0.01)	—	0.23(0.00)
17:0	—	0.19(0.00)	1.53(0.02)	20:3(<i>n</i> -6)	0.23(0.02)	0.17(0.01)	0.15(0.02)
18:0	0.52(0.01)	0.93(0.04)	1.75(0.05)	20:4(<i>n</i> -6)	9.10 ^a (0.06)	3.42 ^b (0.13)	1.96 ^c (0.03)
20:0	0.44(0.01)	0.26(0.01)	0.28(0.01)	20:4(<i>n</i> -3)	0.43(0.00)	0.51(0.02)	0.23(0.01)
14:1(<i>n</i> -5)	0.14(0.00)	0.28(0.01)	0.16(0.01)	20:5(<i>n</i> -3)(EPA)	8.83 ^a (0.17)	4.55 ^b (0.32)	5.90 ^c (0.66)
16:1(<i>n</i> -9)	2.59(0.02)	6.64(0.39)	2.63(0.08)	22:4(<i>n</i> -6)	—	0.48(0.04)	0.30(0.01)
16:1(<i>n</i> -7)	4.66(0.07)	8.62(0.36)	14.73(0.20)	22:5(<i>n</i> -3)	—	—	0.22(0.01)
16:1(<i>n</i> -5)	0.26(0.04)	0.89(0.08)	1.03(0.11)	22:6(<i>n</i> -3)(DHA)	—	0.65(0.07)	1.57(0.13)
18:1(<i>n</i> -9)	17.51(0.09)	5.62(0.24)	8.53(0.31)	14-isobr	0.69(0.02)	5.55(0.14)	3.04(0.09)
18:1(<i>n</i> -7)	0.60(0.05)	9.15(0.12)	8.43(0.14)	15-isobr	0.34(0.18)	0.64(0.29)	0.66(0.00)
18:1(<i>n</i> -5)	—	1.10(0.06)	0.54(0.07)	16-isobr	0.54(0.02)	0.78(0.02)	1.03(0.07)
20:1(<i>n</i> -9)	—	0.24(0.01)	0.36(0.02)	16-anteiso	—	0.65(0.06)	1.03(0.06)
20:1(<i>n</i> -7)	—	—	0.16(0.02)	合计(%)total	95.93(0.37)	89.39(0.74)	92.78(0.07)
16:2(<i>n</i> -4)	—	0.36(0.03)	1.66(0.03)	饱和脂肪酸(%)SFA	32.68 ^a (0.18)	25.26 ^b (1.16)	28.26 ^c (0.78)
16:3(<i>n</i> -3)	0.46(0.02)	0.69(0.02)	1.63(0.11)	单不饱和脂肪酸 (%)MUFA	25.76 ^a (0.10)	32.55 ^b (0.68)	36.56 ^c (0.63)
16:4(<i>n</i> -3)	—	—	0.32(0.07)	多不饱和脂肪酸 (%)PUFA	34.55 ^a (0.35)	19.17 ^b (0.87)	18.14 ^b (1.06)
18:2(<i>n</i> -6)	5.38(0.04)	1.74(0.04)	3.05(0.04)				
18:3(<i>n</i> -6)	1.95(0.03)	0.91(0.02)	0.56(0.01)				

注:“—”表示相对含量低于 0.1%;不同上标字母表示差异显著(*P* < 0.05)。
Notes: “—” indicates that relative amount is below 0.1%; and different superscripts are significantly different(*P* < 0.05)。

2.2 海带组织不同降解阶段脂肪酸标志含量

海带组织降解 3 个阶段代表性样品细菌脂肪酸标志物含量具有较大差异(图 1):新鲜叶片组织中 18:1(*n*-7)和奇数碳/支链脂肪酸含量较低,仅为 0.6% 和 2.12%,而在降解叶片和碎屑中,两种脂肪酸标志含量显著升高,18:1(*n*-7)在两种样品中的含量分别达到 9.15% 和 8.43%,奇数碳及支链脂肪酸含量达到 8.38% 和 7.86%。对于硅藻脂肪酸标志,海带碎屑的 16:1(*n*-7)/16:0 比值为 0.74,显著高于降解叶片(0.49)和新鲜叶片(0.19)。新鲜海带组织中不含原生动物脂肪酸标志——DHA,而在降解叶片和脱落碎屑中都检测到一定含量的该标志物(0.65% 和 1.57%)。EPA 在降解组织中的含量仅为新鲜叶片中的一半,而碎屑中含量又高于降解组织(图 2)。新鲜海带组织中富含 20:4

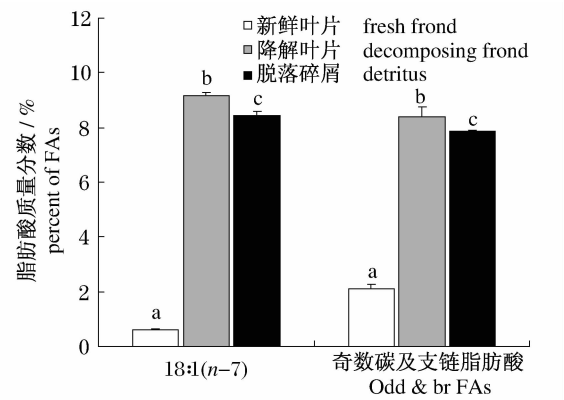


图 1 海带新鲜、降解叶片及碎屑中细菌脂肪酸标志含量比较

Fig. 1 Bacterial fatty acid biomarker level in fresh, decomposing frond and detritus

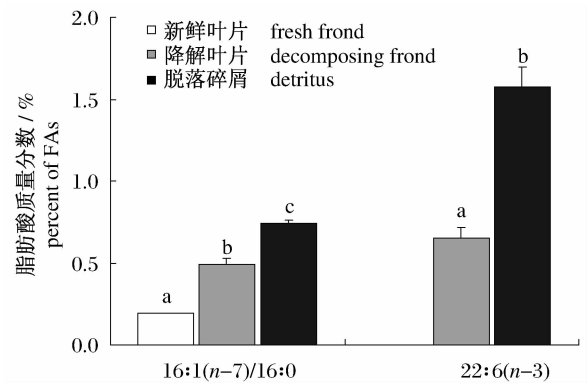


图 2 海带新鲜、降解叶片及碎屑中硅藻、原生动物脂肪酸标志相对百分含量

Fig. 2 Diatom, protozoa fatty acid biomarker level in fresh, decomposing frond and detritus

(*n*-6),而在降解组织和脱落碎屑中,其含量显著降低,仅为 3.42% 和 1.96%。

2.3 海带组织碳、氮比值

实验结束时,共剩余新鲜海带 2.3 kg,为初始湿重的 73%。碳氮元素分析结果表明,降解叶片组织和脱落碎屑的碳、氮含量均显著高于新鲜叶片组织,其中总氮含量是新鲜组织的三倍多。新鲜海带叶片组织碳、氮比值高达 17.32,而降解组织和海带碎屑的碳、氮比值则分别下降为 6.61 和 6.48(表 3)。

表 3 海带新鲜、降解叶片及碎屑有机碳、氮含量

Tab. 3 Organic carbon and nitrogen content in fresh, decomposing frond

样品 sample	and detritus means ± SD, n = 2		
	C[mg/ (g · dw)]	N[mg/ (g · dw)]	碳、氮比值 C: N
新鲜叶片 fresh frond	19.22	1.11	17.32
降解叶片 decomposing frond	23.43 (0.39)	3.55 (0.12)	6.61
脱落碎屑 detritus	23.09 (0.11)	3.57 (0.26)	6.48

3 讨论

相对于海洋维管束植物,大型海藻含氮丰富而纤维素含量很低。在温度适宜的自然情况或室内实验条件下,其自身酶解速率和微生物降解速率都相当快^[13],通过这些过程,海藻初级生产量便以溶解态有机质(dissolved organic matter, DOM)和组织碎屑的形式进入生态系统,其中以碎屑形式释放的约 70%^[14]。本研究实验过程共进行了 42 d,海带组织碎屑释放脱落比例约为 27%。Kristensen^[15]的室内研究发现两种海藻 *Ulva lactuca* 和 *Fucus vesiculosus* 经过 70 d 降解,损失了 40% ~ 44% 的碳。该降解速率与本研究的结果相近。

脂肪酸标志分析结果较为清楚地反映了海带碎屑脱落降解过程中定殖微型生物群落的组成特征。降解海带组织和碎屑中较高水平的硅藻脂肪酸标志表明,海带碎屑中定殖了大量的底栖硅藻。在海藻组织脱落降解过程中,储存于藻体中的营养盐类会缓慢溶释,进而支持了其中底栖硅藻类的生长^[16]。同时,海藻碎屑的多孔结构也为底栖硅藻和其它的原生动物的定殖提供了充足的空

间。需要说明的是,本研究中三类海带组织中 EPA 脂肪酸标志的含量呈现出先下降后上升的趋势,由于 EPA 可同时指示海带新鲜组织和硅藻类,因此出现该趋势的原因很可能是首先海带酶解导致自身 EPA 降解,之后随着底栖硅藻类的定殖导致海带碎屑中的 EPA 相对含量提高。

海带降解组织和碎屑中高含量的细菌特征脂肪酸表明,海带碎屑形成伴随着旺盛的细菌定殖过程。降解组织和碎屑中指示革兰氏阴性菌和阳性菌的两类脂肪酸标志都显著升高,说明在其中定殖的细菌类群较为丰富。同时,降解组织较高的总脂含量和较低的碳、氮比值很可能与碎屑中繁盛的细菌群落有关。Mfilinge 等^[17]的研究结果表明,细菌的大量繁殖使得处于降解过程中的红树叶片总脂含量升高,碳、氮比值降低。细菌降解过程可以使海带碎屑更适宜被生物利用。新鲜的海带组织其碳、氮比值高达 17(表 3),这对于绝大多数底栖生物来说属贫氮饵料,长期摄食将造成生物生长受氮的限制。在生物组织碳、氮比值恒定的情况下,氮限制将同时限制该生物对 C 的利用,因此生物将增加对低质食物的摄食率以满足生物体的需要,这必然会增加生物摄食能耗,提高了其基础代谢水平^[18]。而通过微生物降解和碎屑中定殖细菌群落的繁盛,补充了大量的氮源,海带碎屑的碳、氮比值可以降到 6.48,这使得海带碎屑在氮含量方面更适宜作为各种底栖生物的饵料。另一方面,海带组织中普遍存在的有毒次级代谢产物(如多酚类物质)也可以通过微生物降解而去除,这进一步增加了海带碎屑作为生物饵料的适口性^[15,19-20]。许强等^[21]前期在我国北方典型的海带、滤食性贝类混养海区桑沟湾的研究也证实,在夏季高温季节,混养扇贝体内细菌脂肪酸标志含量显著升高,表明其摄入了大量细菌来源有机质,究其原因,很可能是由于海带收获时有大量脱落沉入海底的海带叶片,夏季大量腐解进入水中后各种微型生物定殖其上并被扇贝所摄食。

除此之外,海带降解组织和脱落碎屑中也检测到 DHA 含量升高,这指示了其中原生动物群落的发展。显微镜镜检发现,降解的海带组织上有大量的纤毛虫和鞭毛虫(数据未显示),这与脂肪酸标志分析结果相吻合。Armstrong 等^[22]的研究也发现,原生动物如阿米巴虫等能够在损伤的

海藻叶片上大量繁殖。繁盛的原生动物以海带碎屑有机质、细菌以及底栖硅藻为食,从而成为碎屑中定殖的另一大微型生物类群。

本研究成果进一步印证了海带脱落碎屑并非单一成分,而是以海带降解残片为主体,同时混杂有硅藻类、细菌和原生动物等物质的混合物。海带碎屑通过各种微型生物的定殖与生物降解作用,其有机氮含量升高,碳氮比值显著下降,使其更适宜作为其它生物的食物来源。海带养殖的管理过程中以及收获季节,都会有大量的海带叶片脱落沉入海底并经历生物降解过程,形成的碎屑连同定殖微型生物进入底栖及水体碎屑食物链,支持了更多消费者的生长。因此,未来贝类、刺参的养殖模式中如引入海带或其他能产生较多脱落碎屑的大型藻类将能为养殖生物补充提供碳氮比值适宜、富含生物有机氮源的食物来源,从而保证养殖生物能够更为健康地生长。

需要指出的是,本研究中发现,常被用作海带来源有机质的脂肪酸标志 20:4(*n*-6)在生物降解过程中大量损失,已无法指示海带碎屑食物来源,因此,笔者认为该标志仅适用于牧食性生物(如海胆、鲍)的食性分析,并不适用于沉积食性生物食物来源研究。

参考文献:

- [1] Bustamante R H, Branch G M. The dependence of intertidal consumers on kelp-derived organic matter on the west coast of South Africa [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1996, 196 (1-2): 1-28.
- [2] 许强. 贝藻混养系统中贝类食物来源的定量分析 [D]. 青岛:中国科学院海洋研究所, 2007.
- [3] Pace M L, Carpenter S R, Cole J J, *et al.* Does terrestrial organic carbon subsidize the planktonic food web in a clear-water lake? [J]. *Limnology and Oceanography*, 2007, 52(5): 2177-2189.
- [4] Dalsgaard J, St John M, Kattner G, *et al.* Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment [J]. *Advances in Marine Biology*, 2003, 46: 225-340.
- [5] Budge S M, Parrish C C. Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland. II. fatty acids [J]. *Organic Geochemistry*, 1998, 29(5-7): 1547-1559.
- [6] Desvillettes C, Bourdier G, Amblard C, *et al.* Use of

- fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae [J]. *Freshwater Biology*, 1997, 38: 629–637.
- [7] Bachok Z, Mfilinge P L, Tsuchiya M. The diet of the mud clam *Geloina coaxans* (Mollusca, Bivalvia) as indicated by fatty acid markers in a subtropical mangrove forest of Okinawa, Japan [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2003, 292 (2): 187–197.
- [8] Ju S J, Harvey H R. Lipids as markers of nutritional condition and diet in the Antarctic krill *Euphausia superba* and *Euphausia crystallorophias* during austral winter [J]. *Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography*, 2004, 51 (17–19): 2199–2214.
- [9] Parrish C C. Determination of total lipid, lipid classes, and fatty acids in aquatic samples [M] // Arts M T, Wainman B C. *Lipids in freshwater ecosystems*. New York: Springer-Verlag, 1999: 4–20.
- [10] Budge S M, Parrish C C, McKenzie C H. Fatty acid composition of phytoplankton, settling particulate matter and sediments at a sheltered bivalve aquaculture site [J]. *Marine Chemistry*, 2001, 76 (4): 285–303.
- [11] 周毅, 杨红生, 张福绥. 栉孔扇贝生理生态学特征的研究 [J]. *应用生态学报*, 2003, 14 (2): 227–233.
- [12] 李宪瑾, 范晓, 韩丽君等. 中国黄、渤海常见大型海藻的脂肪酸组成 [J]. *海洋与湖沼*, 2002, 33 (2): 215–224.
- [13] Mann K H. Production and use of detritus in various fresh-water, estuarine, and coastal marine ecosystems [J]. *Limnology and Oceanography*, 1988, 33 (4): 910–930.
- [14] Newell R C, Field J G. The contribution of bacteria and detritus to carbon and nitrogen flow in a benthic community [J]. *Marine Biology Letters*, 1983, 4 (1): 23–36.
- [15] Kristensen E. Decomposition of macroalgae, vascular plants and sediment detritus in seawater-use of stepwise thermogravimetry [J]. *Biogeochemistry*, 1994, 26 (1): 1–24.
- [16] Hanisak M D. Nitrogen release from decomposing seaweeds-species and temperature effects [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1993, 5 (2): 175–181.
- [17] Mfilinge P L, Meziane T, Bachok Z, *et al.* Fatty acids in decomposing mangrove leaves: microbial activity, decay and nutritional quality [J]. *Marine Ecology-Progress Series*, 2003, 265: 97–105.
- [18] Cruz-Rivera E, Hay M E. Prey nutritional quality interacts with chemical defenses to affect consumer feeding and fitness [J]. *Ecological Monographs*, 2003, 73 (3): 483–506.
- [19] Duggins D O, Eckman J E. Is kelp detritus a good food for suspension feeders? Effects of kelp species, age and secondary metabolites [J]. *Marine Biology*, 1997, 128 (3): 489–495.
- [20] Norderhaug K M, Fredriksen S, Nygaard K. Trophic importance of *Laminaria hyperborea* to kelp forest consumers and the importance of bacterial degradation to food quality [J]. *Marine Ecology-Progress Series*, 2003, 255: 135–144.
- [21] 许强, 杨红生, 王红, 等. 桑沟湾养殖栉孔扇贝食物来源研究——脂肪酸标志法 [J]. *海洋科学*, 2007, 31 (9): 78–84.
- [22] Armstrong E, Rogerson A, Leftley J W. The abundance of heterotrophic protists associated with intertidal seaweeds [J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2000, 50 (3): 415–424.

Micro organism colonization in different decomposing phases of kelp(*Laminaria japonica*)

XU Qiang¹, GAO Fei², YANG Hong-sheng^{1*}

(1. The Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: The micro organism communities which colonized on fresh blade, decomposing blade and detritus of kelp *Laminaria japonica* were analyzed using fatty acid biomarkers. Results showed that the total crude lipid contents of decomposing blade and kelp detritus were significantly higher than those in fresh kelp blade, whereas monounsaturated and polyunsaturated fatty acids contents were less than those in fresh blade. Bacterial biomarkers 18:1(*n*-7) and odd/branched fatty acids were more abundant in decomposing tissue and detritus than fresh kelp, indicating the colonization of bacteria in the kelp decomposing process. The diatom biomarker 16:1(*n*-7)/16:0 ratio exhibited the highest in kelp detritus, and it was also higher in decomposing tissue than in fresh blade, indicating the adherence of large amount of diatoms. No protozoa fatty acid biomarker(DHA) was detected in fresh kelp blade; however, it existed in decomposing tissue and detritus at a relative concentration of 0.65% and 1.57% respectively, indicating the colonization of protozoa. Due to the colonization of complex micro organism community, decomposing kelp blade and kelp detritus showed different carbon and nitrogen components. Fresh kelp blade had a high C/N ratio of 17.32, but in decomposing tissue and detritus, the organic nitrogen content increased remarkably, which resulted in the decline of the C/N ratio to 6.61 and 6.48. Results confirmed that kelp detritus is a mixture of decomposing kelp debris, diatoms, bacteria and protozoa. Through the colonization of different kinds of micro organisms and biodegradation, kelp debris became organic nitrogen abundant and more nutritious, hence much more suitable as the food source of other consumers in a kelp-based polyculture area.

Key words: *Laminaria japonica*; fatty acid biomarker; degradation; colonization; micro organism

Corresponding author: YANG Hong-sheng. E-mail: hshyang@qdio.ac.cn