

池塘底泥生物组成的季节性变化对刺参食物来源的影响

温彬^{1,2}, 高勤峰^{1,2*}, 张乘^{1,2}, 董双林^{1,2},
于海波^{1,2}, 李卫东^{1,3}, 李泽明⁴

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东青岛 266003;

2. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东青岛 266235;

3. 唐山海都海洋食品有限公司研发中心, 河北唐山 063506;

4. 日照市万泽丰渔业有限公司, 山东日照 276800)

摘要: 为分析刺参养殖池塘底泥生物组成的季节变化及其对刺参食物来源的影响, 本研究于2012年5—12月以16:1(*n*-7)/16:0及EPA作为硅藻的特征脂肪酸标志, 20:4(*n*-6)作为褐藻的特征脂肪酸标志, DHA及DHA/EPA作为鞭毛藻或原生动物的特征脂肪酸标志, 18:1(*n*-7)及奇数碳和支链脂肪酸(odd & br FAs)作为细菌的特征脂肪酸标志调查了荣成靖海湾刺参养殖池塘底泥和刺参脂肪酸组成的季节性变化特征。结果显示, 硅藻、褐藻、多种异养细菌及鞭毛藻或原生动物为底泥的主要组成生物, 且各类生物组成的季节变化显著, 其中硅藻的特征脂肪酸16:1(*n*-7)/16:0及EPA最高值出现在冬季, 褐藻的特征脂肪酸20:4(*n*-6)含量为秋季最高, 细菌的特征脂肪酸18:1(*n*-7)及(odd & br FAs)最高值出现在夏季, 鞭毛藻或原生动物的特征脂肪酸DHA含量为冬季最高。相关性分析显示, 刺参食物中的硅藻、鞭毛藻或原生动物和细菌主要来源于底泥。研究表明, 刺参养殖池塘底泥中主要生物组成季节性变化显著, 进而引起刺参食物来源的季节性变化。

关键词: 刺参; 底泥; 脂肪酸标志法; 食物来源

中图分类号: S 968.9

文献标志码: A

脂肪酸是所有生物体的重要组分, 是迄今所知的细菌体、微藻类、陆地高等植物、海洋动物区系中含量最高的脂类物质, 主要以三羧酸甘油酯和磷脂的形式存在^[1]。作为生物标志物, 脂肪酸具有以下优越性: ①生物体脂肪酸的组成和累积是长期摄食活动的结果, 因而以脂肪酸作为示踪物判断生物食性可以有效降低偶食性造成的偏差; ②脂肪酸在生物体新陈代谢过程中比较稳定, 经生物消化吸收后其结构基本保持不变; ③动物自身无法合成必需脂肪酸, 其体组织内的必需脂肪酸只能依赖于其所摄入的食物, 从而提高了以必需脂肪酸作为营养标志物进行食性溯源的可信度^[2-3]。

目前, 脂肪酸标志法已广泛应用于研究生

态系统食物网结构和营养关系^[4-5], 高菲等^[6]通过分析刺参(*Apostichopus japonicus*)体组织脂肪酸的变化, 运用脂肪酸标志法研究了刺参食物来源的季节性变化, 但未分析其食物环境脂肪酸组成的变化。本研究同时分析了刺参养殖池塘底泥和刺参体组织脂肪酸组成的季节性变化及二者间的相关关系, 以阐明食物环境的变化对刺参食物来源的影响, 揭示池塘养殖刺参食性的季节性变化。

1 材料与方法

1.1 样品采集

实验于2012年5—12月在山东好当家海洋发

收稿日期: 2015-10-07 修回日期: 2016-05-10

资助项目: 国家自然科学基金(31672657, 31372549)

通信作者: 高勤峰, E-mail: qfgao@ouc.edu.cn

展股份有限公司靖海湾刺参养殖基地进行。采样池塘位于37°17'N, 122°42'E, 面积约33 hm², 水深约1.7 m。实验期间刺参和底泥样品采集4次, 采样时间为2012年5月20日、8月10日、10月12日和12月23日, 分别代表春季、夏季、秋季和冬季样品, 每次采样均设4个相同站点。样品采集时, 从每个站点随机选取刺参10~15头, 用无菌纱布擦干并去除石灰环后, 剪取体壁组织。每2~3头刺参的体壁组织合并作为一个样本置于-80 °C冷冻保存, 每个站点刺参样品设置5个重复; 使用100 mL注射器从每个站点采集表层5 cm底泥, 然后切取靠近表面1 cm泥样保存于-80 °C, 每个站点底泥样品设置4个重复。刺参和底泥样品冷冻干燥至恒重, 用组织粉碎机粉碎后, 于-80 °C密封保存备用。实验器具均用10%盐酸浸泡, 并用去离子水冲洗。

1.2 样品处理

称取80 mg冷冻干燥后的刺参样品以及2 g冷冻干燥后的泥样, 置于10 mL试管中。加入1 mol/L KOH-甲醇溶液3 mL(泥样另加1 mL氯仿)后, 超声波处理30 min以破碎细胞壁。处理后的溶液于75~80 °C水浴中加热15~20 min, 然后放置冷却至室温; 加2 mol/L HCl-甲醇溶液3 mL, 于75~80 °C水浴中加热20 min, 冷却至室温; 加正己烷1 mL, 振荡萃取, 静置分层(需要时稍加水有助分层); 将上清液转移至1 mL塑料离心管中, 1000 r/min离心5 min。取上清液并转移至GC小瓶中待测。

1.3 脂肪酸测定

实验仪器 色谱仪为日本岛津公司GC2010型气相色谱仪。

色谱条件 使用RTX-wax型毛细管柱, 长度30 m, 内径0.25 mm, 膜厚0.25 μm, 温度上限250 °C。升温程序设置: 120 °C保持1 min, 经10 °C/min到190 °C, 再经2 °C/min升至236 °C, 平衡2 min。汽化室温度260 °C, 检测器温度260 °C, 分流比15:1, 使用FID检测器, 载气为氢气, 进样体积为1 μL。

选用的脂肪酸标记物 细菌特征脂肪酸——18:1(*n*-7)、奇数碳/支链脂肪酸(odd & br FAs)^[7-9]; 硅藻特征脂肪酸——16:1(*n*-7)/16:0、EPA^[9-10]; 鞭毛藻或原生动物特征脂肪酸——DHA、DHA/EPA^[11-12]; 褐藻特征脂肪酸——20:4(*n*-6)^[13-14]。

1.4 数据分析

本实验结果中, 数据以平均值±标准差(mean±SD)表示。采用SPSS 13.0软件进行方差分析比较细菌特征脂肪酸、硅藻特征脂肪酸、鞭毛藻或原生动物特征脂肪酸及褐藻特征脂肪酸在不同季节之间的差异显著性, 并用Tukey检验法进行多重比较, 以 $P=0.05$ 或 0.01 作为方差分析的显著水平^[15]; 采用主成分分析(PCA)对底泥生物组成和刺参不同季节的食物组成进行综合评价, 对底泥和刺参体壁的脂肪酸含量进行相关性分析。

2 结果

2.1 底泥脂肪酸组成的季节变化

底泥样品中检测到的脂肪酸碳原子数目主要在12到22之间, 共26种。其中饱和直链脂肪酸(SFA)检测到6种, 分别为12:0、14:0、15:0、16:0、17:0和18:0。单不饱和脂肪酸(MUFA)中16:1(*n*-7)、18:1(*n*-9)和18:1(*n*-7)为主要成分。多不饱和脂肪酸(PUFA)中DHA、EPA和20:4(*n*-6)为主要成分。支链脂肪酸(BFA)检测到4种, 包括i14:0、i15:0、ai15:0和i16:0。

底泥中硅藻特征性脂肪酸标志的季节变化

底泥中硅藻类特征性脂肪酸标志16:1(*n*-7)/16:0与EPA的变化规律一致, 且季节性变化显著($P<0.05$), 冬季最高, 显著高于其他季节(图1)。实验期间, 16:1(*n*-7)/16:0为1.12~1.62, 均值为1.31±0.19, EPA的相对百分含量为6.55%~14.21%, 均值为9.38%±2.93%。

底泥中褐藻特征性脂肪酸标志的季节变化

底泥中褐藻类特征性脂肪酸标志20:4(*n*-6)的百分含量为6.42%~9.99%, 均值为8.44%±1.27%, 季节性差异显著($P<0.05$), 最高值出现在秋季, 显著高于其他季节($P<0.05$)(图2)。

底泥中鞭毛藻或原生动物脂肪酸标志的季节变化

实验期间鞭毛藻或原生动物脂肪酸DHA在底泥中的百分含量为8.12%~14.18%, 均值为10.87%±2.15%。DHA的季节变化显著($P<0.05$), 最高值在12月出现(图3-a)。底泥中的DHA/EPA为0.99~1.26, 年均值为1.19±0.12, 季节变化显著($P<0.05$)(图3-b)。

底泥中细菌脂肪酸标志的季节变化

细菌特征性脂肪酸18:1(*n*-7)和odd & br FAs的含量在全年均较高, 且在夏季达到最大值, 冬季较低,

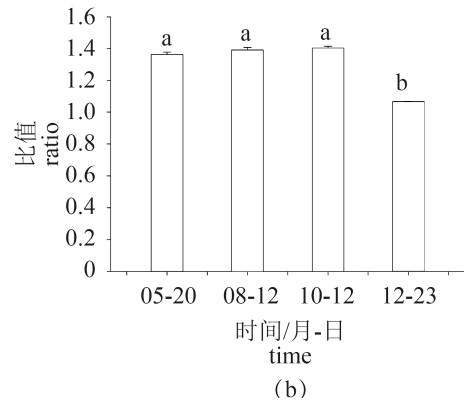
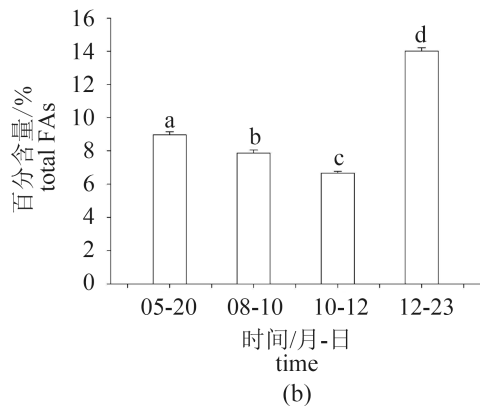
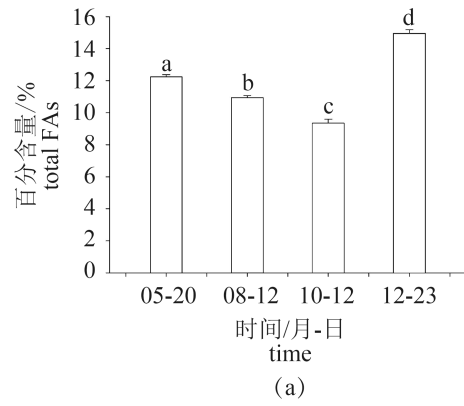
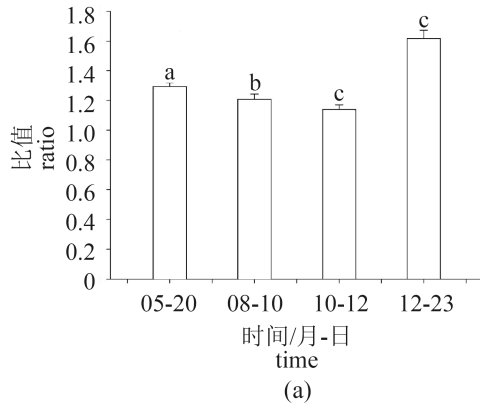


图1 底泥中硅藻特征性脂肪酸标志16:(1n7)/16:0(a)和EPA百分含量(b)的季节变化

不同英文字母表示该脂肪酸的相对含量在不同季节差异显著 ($P < 0.05$), 下同

Fig. 1 Seasonal changes in 16:(1n7)/16:0 (a) and EPA content (b) of sea mud

Different lower case letters indicate the significant difference ($P < 0.05$) of the relative content among different seasons, the same below

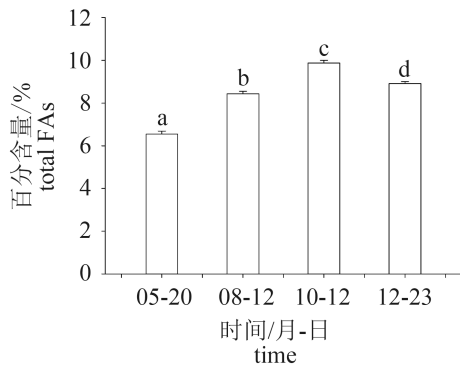


图2 底泥中褐藻类特征性脂肪酸标志20:4(n-6)百分含量的季节变化

Fig. 2 Seasonal changes in 20:4(n-6) content of sea mud

季节变化显著 ($P < 0.05$) (图4)。18:1(n-7)夏季的百分含量为7.76%±0.21%，冬季的百分含量为6.09%±0.12%。odd & br FAs夏季的百分含量为12.07%±

图3 底泥中的DHA百分含量(a)和DHA/EPA(b)的季节变化

Fig. 3 Seasonal changes in DHA content (a) and DHA/EPA (b) of sea mud

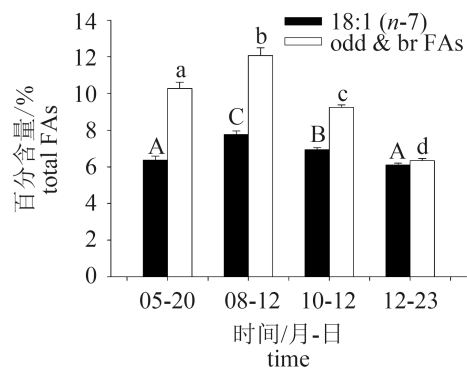


图4 底泥中细菌脂肪酸标志的季节变化

不同大写和小写英文字母分别表示18:1(n-7)和odd & br FAs的相对含量在不同季节间差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 4 Seasonal changes in contents of bacteria fatty acid biomarkers of sea mud

Different uppercase and lowercase indicate significant differences in the relative contents of 18:1(n-7) and odd & br FAs, respectively, between different seasons ($P < 0.05$)

0.42%，冬季的百分含量较低，为6.33%±0.13%。

底泥中特征性脂肪酸的综合分析 以7种脂

肪酸标志 16:1(*n*-7)/16:0、EPA、20:4(*n*-6)、DHA、DHA/EPA、18:1(*n*-7)和 odd & br FAs 在底泥中的百分含量或比值为变量, 对不同时期采集的底泥样品进行主成分分析, 综合分析底泥特征性脂肪酸的季节性变化规律(表1)。第一、第二主成分对生物组成季节变化的贡献率之和达到 91.3%, 表明这两个主成分基本能反映底泥

生物组成在不同季节的差异。第一主成分的贡献率达 72.7%, 特征值较高的为硅藻特征性脂肪酸 EPA 和 16:1(*n*-7)/16:0、细菌性特征性脂肪酸 18:1(*n*-7)、odd & br FAs 和鞭毛藻或原生动物的特征性脂肪酸 DHA 和 DHA/EPA; 第二主成分的贡献率为 18.6%, 特征值较大的为褐藻特征性脂肪酸 20:4(*n*-6)。

表 1 底泥中脂肪酸标记物的特征值

Tab. 1 The characteristic values of fatty acid biomarkers in sea mud

主成分 principal component	16:1(<i>n</i> -7)/16:0	EPA	20:4(<i>n</i> -6)	DHA	DHA/EPA	18:1(<i>n</i> -7)	odd & br FAs
1	0.978	0.975	-0.011	0.930	-0.956	-0.792	-0.882
2	-0.063	-0.065	0.997	-0.290	-0.227	0.168	-0.336

2.2 刺参体壁脂肪酸组成的季节变化

刺参体壁中主要脂肪酸组成的季节变化

刺参体壁的脂肪酸碳链较长, 其碳原子数为 14~22, 共 30 种(表 2)。其中饱和脂肪酸(SFA)检测出 8 种, 4 个季节中 16:0 均为 SFA 中含量最高的组分, 占脂肪酸总含量的 6.33%~14.21%。单不饱和脂肪酸(MUFA)检测到 8 种, 4 个季节中 16:1(*n*-7)、18:1(*n*-9)和 18:1(*n*-7)均为主要组分。多不饱和脂肪酸(PUFA)检测到 10 种, 其中 DHA、EPA 和 20:4(*n*-6)为其主要组分。除夏季以外, PUFA 所占比例均较大。SFA 在夏季百分含量最高, 但与秋季差异不显著, 在冬季百分含量最低。PUFA 变化规律与 SFA 相反。

刺参体壁特征性脂肪酸的综合分析 以 7 种脂肪酸标志 16:1(*n*-7)/16:0、EPA、20:4(*n*-6)、DHA、DHA/EPA、18:1(*n*-7)和 odd & br FAs 在刺参体壁的百分含量或比值为变量, 对不同时期采集的刺参样品进行主成分分析, 综合分析刺参食物组成的季节变化。各脂肪酸标志在第一、第二主成分上的分值见表 3。第一、第二主成分对食物来源季节变化的贡献率达 95.2%, 表明这 2 个主成分基本能反映刺参食物来源在不同季节的差异。第一主成分的贡献率达 78.3%, 特征值较高的为硅藻特征性脂肪酸 EPA 和 16:1(*n*-7)/16:0、细菌性特征性脂肪酸 18:1(*n*-7)和 odd & br FAs 以及鞭毛藻或原生动物的特征性脂肪酸 DHA, 其中 odd & br FAs 与其他的脂肪酸标志物呈负相关。第二主成分的贡献率为 16.9%。

2.3 底泥和刺参体壁的特征性脂肪酸的相关分析

底泥和刺参体壁的硅藻特征性脂肪酸 16:1(*n*-7)/16:0、EPA 呈极显著正相关($P < 0.01$), 底泥与刺参体壁的褐藻特征性脂肪酸 20:4(*n*-6)未达到显著水平, 底泥和刺参体壁的鞭毛藻或原生动物的特征性脂肪酸 DHA 呈极显著正相关($P < 0.01$), DHA/EPA 呈显著正相关($P < 0.05$), 底泥和刺参体壁的细菌特征性脂肪酸 18:1(*n*-7)呈极显著负相关($P < 0.01$), odd & br FAs 呈极显著负相关($P < 0.01$) (表 4)。

3 讨论

刺参为沉积食性动物^[16], 食物成分复杂, 目前有关刺参食物来源的研究通常采用消化道内含物分析法^[17], 但此法只能反映生物被采集时所摄取的食物, 且刺参还可以通过表皮从海水中吸收部分溶解的有机质^[18-19]。相比之下, 脂肪酸标志法可以通过分析生物体经消化作用后所吸收的食物成分的脂肪酸构成, 反映较长时期内生物的食物来源^[20-22]。Cook 等^[14]用脂肪酸标志法成功分析了不同生境中海胆的食物组成情况, 并发现海胆的食物来源与其栖息环境有密切关系。同样地, 本实验选用脂肪酸标志法分析底泥的生物组成及其对刺参食物来源的影响。

实验期间刺参养殖池塘底泥中硅藻特征性脂肪酸 16:1(*n*-7)/16:0 和 EPA^[9-10]的百分含量在冬季和春季较高, 显著高于其他季节, 结合底泥的

表 2 刺参体壁脂肪酸组成的季节变化
Tab. 2 Seasonal change in fatty acid composition of *A. japonicus*

%(SD), n=4

	脂肪酸 fatty acid	5月 May	8月 Aug.	10月 Oct.	12月 Dec.
饱和脂肪酸 SFA	14:0	1.12±0.02 ^a	1.15±0.03 ^a	1.24±0.04 ^b	0.72±0.03 ^c
	15:0	0.22±0.02 ^a	0.22±0.01 ^a	0.22±0.03 ^a	0.08±0.01 ^b
	16:0	11.47±0.26 ^a	14.21±0.24 ^b	13.34±0.21 ^c	6.33±0.13 ^d
	17:0	0.59±0.05 ^a	0.52±0.04 ^a	0.57±0.03 ^a	0.11±0.01 ^b
	18:0	3.92±0.18 ^a	3.60±0.07 ^b	3.79±0.09 ^a	1.86±0.08 ^c
	20:0	1.41±0.06 ^a	1.24±0.08 ^b	1.42±0.09 ^a	1.31±0.06 ^b
	21:0	0.28±0.03 ^a	0.25±0.02 ^a	0.29±0.03 ^a	0.05±0.02 ^b
	22:0	0.42±0.04 ^a	0.37±0.02 ^a	0.37±0.02 ^a	0.05±0.00 ^b
单不饱和脂肪酸 MUFA	14:1(n-5)	0.25±0.04 ^a	0.26±0.02 ^a	0.22±0.02 ^a	0.37±0.04 ^b
	15:1(n-9)	0.18±0.01 ^a	0.21±0.01 ^b	0.22±0.02 ^b	0.33±0.02 ^c
	16:1(n-7)	20.53±0.39 ^a	24.90±0.32 ^b	20.13±0.55 ^a	13.83±0.53 ^c
	17:1(n-9)	0.22±0.01 ^a	0.14±0.01 ^b	0.13±0.01 ^b	0.18±0.02 ^c
	18:1(n-9)	7.42±0.14 ^a	6.18±0.08 ^b	6.83±0.17 ^c	6.16±0.18 ^b
	18:1(n-7)	4.84±0.11 ^a	4.21±0.15 ^b	4.36±0.12 ^b	5.21±0.18 ^c
	20:1(n-9)	4.56±0.19 ^a	3.04±0.12 ^b	3.96±0.15 ^b	2.48±0.09 ^c
	22:1(n-9)	0.41±0.02 ^a	0.41±0.03 ^a	0.44±0.03 ^a	0.42±0.04 ^a
多不饱和脂肪酸 PUFA	18:2(n-6c)	0.34±0.02 ^a	0.33±0.01 ^a	0.45±0.03 ^b	0.91±0.02 ^c
	18:3(n-6)	0.11±0.01 ^a	0.45±0.05 ^b	0.90±0.06 ^c	0.60±0.04 ^d
	18:3(n-3)	0.14±0.02 ^a	0.25±0.01 ^b	0.17±0.02 ^a	0.09±0.01 ^c
	18:2(n-6t)	0.84±0.05 ^a	0.77±0.03 ^a	0.79±0.03 ^a	0.23±0.01 ^b
	20:2(n-6)	0.36±0.03 ^a	0.31±0.03 ^a	0.40±0.02 ^a	0.27±0.02 ^a
	20:3(n-6)	0.18±0.01 ^a	0.29±0.03 ^b	0.34±0.04 ^b	0.05±0.02 ^c
	20:4(n-6)	7.64±0.16 ^a	8.60±0.25 ^b	10.88±0.30 ^c	15.49±0.51 ^d
	20:3(n-3)	0.38±0.01 ^a	0.37±0.02 ^a	0.52±0.05 ^b	0.77±0.07 ^c
	20:5(n-3)	16.57±0.54 ^a	14.59±0.35 ^b	15.51±0.41 ^c	25.64±0.68 ^d
	22:6(n-3)	13.44±0.40 ^a	10.51±0.42 ^b	10.22±0.35 ^b	14.83±0.36 ^c
	ΣSFA	19.42±0.43 ^a	21.53±0.58 ^b	21.27±0.49 ^b	10.48±0.34 ^c
ΣMUFA	38.41±0.54 ^a	39.34±0.43 ^a	36.27±0.47 ^b	28.86±0.39 ^c	
ΣPUFA	40.00±0.67 ^a	36.48±0.46 ^b	40.17±0.62 ^a	58.88±0.72 ^c	

注: 同一行数据中不同字母代表数据之间差异显著($P<0.05$)Notes: the different letters at the same row mean significant differences ($P<0.05$)

特征性脂肪酸主成分分析结果可见, 硅藻是底泥的主要组成生物, 且冬季硅藻在底泥生物中的百分含量高, 其原因可能是冬季水温低, 适合硅藻生长。底泥和刺参体壁的脂肪酸标记物之间的相关矩阵显示, 底泥和刺参体壁的硅藻

特征性脂肪酸16:1(n-7)/16:0、EPA呈极显著正相关($P<0.01$), 说明底泥中的硅藻是刺参的重要食物来源, 尤其冬、春季食物贡献更大。这与高菲等^[6]发现硅藻是刺参冬、春季重要食物组分的研究结果一致。

表 3 刺参体壁脂肪酸标记物的特征值

Tab. 3 The characteristic values of fatty acid biomarkers in *A. japonicus*

主成分 principal component	16:1(n-7)/16:0	EPA	20:4(n-6)	DHA	DHA/EPA	18:1(n-7)	odd & br FAs
1	0.883	0.998	0.867	0.855	-0.694	0.886	-0.979
2	0.262	-0.045	-0.453	0.506	0.703	0.385	0.081

表 4 底泥和刺参体壁的脂肪酸标记物的相关矩阵

Tab. 4 Correlation matrix of fatty acids between sea mud and *A. japonicus*

刺参 <i>A. japonicus</i>	16:1(n-7)/16:0	EPA	20:4(n-6)	DHA	DHA/EPA	18:1(n-7)	odd & br FAs
底泥 sea mud 16:1(n-7)/16:0	0.955**						
EPA		0.961**					
20:4(n-6)			0.562				
DHA				0.927**			
DHA/EPA					0.755*		
18:1(n-7)						-0.872**	
odd & br FAs							0.938**

注: *.显著相关($P<0.05$), **.极显著相关($P<0.01$)

Notes: *. significant correlation ($P<0.05$), **. extremely significant correlation ($P<0.01$)

DHA为鞭毛藻类(主要包括金藻门、裸藻门、隐藻门和甲藻门中的种类)及原生动物体^[11-12]的特征性脂肪酸。实验期间刺参体壁中有高含量的DHA,且底泥中DHA的百分含量在冬季最高,夏、秋季较低,这与刺参体壁的DHA变化规律一致。结合底泥与刺参体壁脂肪酸标记物之间的相关矩阵以及刺参的沉积食性可以得出,刺参体内DHA可能主要来自于底泥中的原生动体^[6]。

18:1(n-7)和odd & br FAs可作为细菌的特征脂肪酸,18:1(n-7)主要指示变形细菌(proteobacteria)^[7],而odd & br FAs主要指示噬纤维菌—黄杆菌类(cytophaga-flavobacteria)^[8-9]。实验期间底泥中18:1(n-7)和odd & br FAs含量均较高,其中18:1(n-7)的相对百分含量为5.98%~7.97%,均值为6.79%±0.68%,odd & br FAs的相对百分含量为6.21%~12.49%,均值为9.48%±2.19%,结合底泥特征脂肪酸主成分分析结果,可见底泥中细菌生物量全年均较高。底泥和刺参体壁的脂肪酸标记物间的相关矩阵显示,底泥和刺参体壁的细菌特征脂肪酸odd & br FAs呈极显著正相关而与18:1(n-7)呈极显著负相关关系($P<0.01$),说明实验期间刺参体壁中的odd & br FAs主要由底泥中

的噬纤维菌—黄杆菌类贡献,这与高菲等^[6]发现噬纤维菌—黄杆菌类是刺参重要食物来源的研究结果一致。

实验期间底泥中褐藻的特征性脂肪酸20:4(n-6)最高值出现在秋季,而20:4(n-6)在刺参体壁中的最高值出现在冬季,高菲等^[6]也发现刺参20:4(n-6)含量在冬季最高。相关性分析显示底泥与刺参体壁的20:4(n-6)未达到显著水平,这说明除了来源于其摄食的底泥生物外,刺参中的20:4(n-6)可能还有其他重要来源。一方面,棘皮动物包括刺参普遍具有积累20:4(n-6)的能力^[23-24];另一方面,由于多不饱和脂肪酸有助于提高细胞膜的流动性^[25],冬季水温低,刺参可通过增加自身的20:4(n-6)等多不饱和脂肪酸的含量来维持细胞膜的流动性,以适应外界环境的变化,这可能是冬季刺参体壁多不饱和脂肪酸含量显著高于其他季节的重要原因。因此,刺参体壁中冬季较高的20:4(n-6)含量可能是食物、自身积累和环境变化共同作用的结果。

综上所述,刺参养殖池塘底泥中主要食物组分可能为硅藻、褐藻、细菌及鞭毛藻或原生动体,且组分的季节性变化引起刺参食性的季节性变化。

参考文献:

- [1] Bergé J P, Barnathan G. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects[M]//Ulber R, Le Gal Y. Marine Biotechnology I. Berlin: Springer, 2005, 96: 49-125.
- [2] Dalsgaard J, John M S, Kattner G, *et al.* Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment[J]. *Advances in Marine Biology*, 2003, 46: 225-340.
- [3] Baylin A, Campos H. The use of fatty acid biomarkers to reflect dietary intake[J]. *Current Opinion in Lipidology*, 2006, 17(1): 22-27.
- [4] Ju S J, Harvey H R. Lipids as markers of nutritional condition and diet in the Antarctic krill *Euphausia superba* and *Euphausia crystallophias* during austral winter[J]. *Deep Sea Research Part II: topical Studies in Oceanography*, 2004, 51(17): 2199-2214.
- [5] Gao Q F, Shin P K S, Lin G H, *et al.* Stable isotope and fatty acid evidence for uptake of organic waste by green-lipped mussels *Perna viridis* in a polyculture fish farm system[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2006, 317: 273-283.
- [6] 高菲, 许强, 杨红生. 运用脂肪酸标志法分析刺参食物来源的季节变化[J]. *水产学报*, 2010, 34(5): 760-767.
Gao F, Xu Q, Yang H L. Seasonal variations of food sources in *Apostichopus japonicus* indicated by fatty acid biomarkers analysis[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(5): 760-767 (in Chinese).
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Kharlamenko V I, Zhukova N V, Khotimchenko S V, *et al.* Fatty acids as markers of food sources in a shallow-water hydrothermal ecosystem (Kraternaya Bight, Yankich Island, Kurile Islands)[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1995, 120: 231-241.
- [10] Meziane T, Tsuchiya M. Fatty acids as tracers of organic matter in the sediment and food web of a mangrove/intertidal flat ecosystem, Okinawa, Japan[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2000, 200: 49-57.
- [11] Wong W H, Gao Q F, Cheung S G, *et al.* Field observations on correlation of fatty acid profiles between suspended particulate matter and green-lipped mussels in subtropical waters of Hong Kong[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2008, 57(6): 662-671.
- [12] Stübing D, Hagen W, Schmidt K. On the use of lipid biomarkers in marine food web analyses: an experimental case study on the Antarctic krill, *Euphausia superba*[J]. *Limnology and Oceanography*, 2003, 48(4): 1685-1700.
- [13] Graeve M, Kattner G, Wiencke C, *et al.* Fatty acid composition of Arctic and Antarctic macroalgae: indicator of phylogenetic and trophic relationships[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2002, 231: 67-74.
- [14] Cook E J, Bell M V, Black K D, *et al.* Fatty acid compositions of gonadal material and diets of the sea urchin, *Psammechinus miliaris*: trophic and nutritional implications[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2000, 255(2): 261-274.
- [15] Zar J H. *Biostatistical Analysis*[M]. 4th ed. New Delhi: Pearson Education, 1999.
- [16] Slater M J, Jeffs A G, Sewell M A. Organically selective movement and deposit-feeding in juvenile sea cucumber, *Australostichopus mollis* determined in situ and in the laboratory[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2011, 409(1): 315-323.
- [17] 张宝琳, 孙道元, 吴耀泉. 灵山岛浅海岩礁区刺参 (*Apostichopus japonicus*) 食性初步分析[J]. *海洋科学*, 1995(3): 11-13.
Zhang B L, Sun D Y, Wu Y Q. Preliminary analysis on the feeding habit of *Apostichopus japonicus* in the rocky coast waters off Lingshan Island[J]. *Marine Science*, 1995(3): 11-13 (in Chinese).
- [18] Pequignat E. 'Skin Digestion' and epidermal absorption in irregular and regular urchins and their probable relation to the outflow of spherule-coelomocytes[J]. *Nature*, 1966, 210(5034): 397-399.
- [19] Péquignat E. Some new data on skin-digestion and absorption in sea urchins and sea stars (*Asterias* and *Henricia*)[J]. *Marine Biology*, 1972, 12(1): 28-41.
- [20] Fukuda Y, Naganuma T. Potential dietary effects on the fatty acid composition of the common jellyfish *Aurelia aurita*[J]. *Marine Biology*, 2001, 138(5): 1029-1035.

- [21] Kirsch P E, Iverson S J, Don Bowen W, *et al.* Dietary effects on the fatty acid signature of whole Atlantic cod (*Gadus morhua*)[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1998, 55(6): 1378-1386.
- [22] Pazos A J, Sánchez J L, Román G, *et al.* Seasonal changes in lipid classes and fatty acid composition in the digestive gland of *Pecten maximus*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 134(2): 367-380.
- [23] Howell K L, Pond D W, Billett D S M, *et al.* Feeding ecology of deep-sea sea stars (Echinodermata: Asteroidea): a fatty-acid biomarker approach[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 255: 193-206.
- [24] Hasegawa N, Sawaguchi S, Tokuda M, *et al.* Fatty acid composition in sea cucumber *Apostichopus japonicus* fed with microbially degraded dietary sources[J]. *Aquaculture Research*, 2014, 45(12): 2021-2031.
- [25] Nano J L, Nobili C, Girard-Pipau F, *et al.* Effects of fatty acids on the growth of Caco-2 cells[J]. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2003, 69(4): 207-215.

Effects of seasonal changes in the composition of pond sediment on food sources of cultured sea cucumber *Apostichopus japonicus* indicated by fatty acid biomarkers

WEN Bin^{1,2}, GAO Qinfeng^{1,2*}, ZHANG Cheng^{1,2}, DONG Shuanglin^{1,2},
YU Haibo^{1,2}, LI Weidong^{1,3}, LI Zeming⁴

(1. Key Laboratory of Mariculture of Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Function Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes,

Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266235, China;

3. Department of Research and Development, Haidu Aquatic Food Corporation Limited, Tangshan 063506, China;

4. Wanzefeng Fishery Corporation Limited, Rizhao 276800, China)

Abstract: In the present study, to examine seasonal changes in the compositions of pond sediment and the subsequent effects on the food sources of cultured sea cucumber *Apostichopus japonicus* using fatty acid biomarkers, seasonal variations in the fatty acid profiles of sediment samples and *A. japonicus* were investigated in Jinghai Bay mariculture zone from May 2012 to December 2012. In the present experiment, ratio of 16:1(*n*-7)/16:0 and EPA were selected as the trophic markers for diatoms, DHA and DHA/EPA for dinoflagellates or protozoa, 20:4(*n*-6) for brown algae and odd-chain and branched-chain fatty acids (odd & br FAs) along with 18:1(*n*-7) for heterotrophic bacteria. The results showed that the sediment samples were mainly composed of diatoms, brown algae, dinoflagellates or protozoa and bacteria and their compositions showed significantly seasonal variations as evidenced by the fatty acid trophic markers. The highest ratios of 16:1(*n*-7)/16:0 and contents of EPA (diatoms) were observed in winter, the highest concentrations of 20:4(*n*-6) (brown algae) were found in autumn, the highest levels of bacterial markers (odd & br FAs) and 18:1(*n*-7) were detected in summer and the highest proportions of DHA (dinoflagellates or protozoa) were observed in winter. Correlation analysis showed that the food sources of *A. japonicus* were significantly and positively correlated with the diatoms, dinoflagellates or protozoa and bacteria. Results of present study suggested that the food sources of *A. japonicus* were significantly influenced by the seasonal changes in the compositions of sediment.

Key words: *Apostichopus japonicus*; pond sediment; fatty acid biomarker; food source

Corresponding author: GAO Qinfeng. E-mail: qfgao@ouc.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31672657, 31372549)