# 热带珊瑚礁区红腹海参及绿刺参食物来源分析——脂肪酸标 志法

# 吴沛霖,黄端杰,马文刚,高 菲,王爱民,许 强

(海南大学 海洋学院 南海海洋资源利用国家重点实验室, 海南 海口 570228)

摘要: 沉积食性海参通过大量摄取沉积物在热带珊瑚礁生态系统中发挥重要的生态功能,但其食物来 源组成尚不清楚。本文研究了海南三亚近岸典型珊瑚礁海域红腹海参(Holothuria edulis)及绿刺参 (Stichopus chloronotus)脂肪酸组成,利用脂肪酸标志法探讨了夏季和冬季两种海参的食物来源异同。结 果表明, 红腹海参与绿刺参的脂肪酸组成存在显著种间和季节差异。7月份时,鞭毛藻及原生动物是绿 刺参的重要食物来源,而12月份绿刺参的食物来源较为广泛,涵盖鞭毛藻及原生动物、异养细菌、褐 藻和红藻等。红腹海参7月份的主要食物来源包括褐藻和红藻等,12月份异养细菌和绿藻在红腹海参 的食物组成中比例相对较高。研究结果可为揭示红腹海参及绿刺参摄食活动的生态功能提供数据支持。

关键词: 红腹海参; 绿刺参; 脂肪酸标志; 食物来源 中图分类号: S917.4; Q547 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2021)09-0058-11 DOI: 10.11759/hykx20210318002

近几十年来,随着国际市场对海参产品需求量的 持续提高,海参捕捞在热带海域得到了迅速发展<sup>[1-2]</sup>。 在市场需求和海参自身存在易于捕捞, 且资源恢复 速度较慢等特点的影响下,大多数具有较高经济价 值的海参种类资源面临着被过度开发的问题<sup>[3-4]</sup>。世 界各地热带海参资源也已经显现出枯竭的迹象[5-6]。 因此, 迫切需要采取适当的种群保护和恢复措施, 以确保这些物种的可持续利用。红腹海参(Holothuria edulis)及绿刺参(Stichopus chloronotus)分别属于楯手 目(Aspidochirotida)的海参科(Holothuriidae)及刺参科 (Stichopododae), 是印度洋-太平洋区域大部分地区分 布非常广泛的海参种类[7-8]。它们多栖息于珊瑚礁浅水 区域的海草床和砂质海底,以及具有藻类和海草分布 的岩礁区<sup>[9]</sup>。红腹海参和绿刺参皆为沉积食性海参, 它 们以沉积物中的动植物有机质碎屑、小型底栖生物、 微生物等为食,在珊瑚礁生态系统的物质循环中发挥 着重要的作用。但是目前对两种海参详细的食物组成 及其季节差异知之甚少。与此同时, 我国热带海域海参 资源衰退趋势日益严峻<sup>[10]</sup>,特别是海南岛周边海域的 红腹海参和绿刺参资源日趋稀少, 对其摄食生态及食 物来源的了解也有助于开展资源恢复工作。

生活在珊瑚礁中的热带海参,它们通过摄食和 埋栖等行为对其生活环境产生影响,进而影响到动 物的营养环境等<sup>[11]</sup>,对海洋生态系统产生十分重要 的影响<sup>[12]</sup>。海洋动物所需的大多数脂肪酸都是从食物中获得的,然后被相对保守地同化至消费者的组织中<sup>[13]</sup>,食物中的脂肪酸特征得以保留。而海洋食物网中的脂肪酸主要来源于海洋自养藻类的合成。每种海洋藻类因其不同的脂肪酸合成途径而具有自己的特征性脂肪酸<sup>[14-17]</sup>。Zhang等<sup>[18]</sup>人利用脂肪酸标志法调查研究了不同海域内刺参(Apostichopus japonicus)的脂肪酸组成和食物来源,发现不同海域内的同种海参在食物来源上存在较大差异,Xu等<sup>[19]</sup>人的研究结果也证实了环境会对海参脂肪酸组成造成影响。因此,海参的脂肪酸组成不同,不仅受其自身生理生态特性、季节、纬度和个体生长发育阶段的影响<sup>[18-19]</sup>,还会受食物来源影响。

本研究以海南三亚蜈支洲岛珊瑚礁海域的红腹海 参及绿刺参为研究对象,分析了这2种海参夏季和冬季 的脂肪酸组成情况,并利用脂肪酸标志法探讨2种海参

收稿日期: 2021-03-18; 修回日期: 2021-04-24

基金项目:国家重点研发专项课题(2019YFD0901304),国家自然科学基金(41766005,31760757),海南省自然科学基金(2019RC070)

Level 17 (2000), 17 (2015), 14 (2015), 14 (2015), 14 (2015), 14 (2015), 14 (2015), 14 (2015), 16 (

的食物来源异同,揭示其种间及季节差异,研究结果可 为揭示红腹海参及绿刺参生态功能提供数据支持。

# 1 材料与方法

#### 1.1 研究区域概况

蜈支洲岛位于海南岛南部(18°18′30″N, 109°45′40″E)

(图 1), 面积 1.48 km<sup>2 [9]</sup>, 是典型的近岸热带岛礁。该地 区属于热带季风气候, 11 月至 4 月为旱季, 5 月至 10 月 为雨季。在夏季和冬季, 该海域受季风的影响比较明 显<sup>[20]</sup>。在夏季, 海南岛东南部沿海区域会出现上升流 (QDU)<sup>[21]</sup>。实验区域位于蜈支洲岛北部(图 1)。该海区 覆盖着细沙、石块、珊瑚碎枝以及人工增殖礁。



图 1 取样区域 Fig. 1 Sampling area 注: "P"代表取样地点。

## 1.2 样品采集及温度、盐度的测定

在 2019 年,利用多参数水质分析仪(YSI-Model 6600v2, Xylem,美国)监测了蜈支洲岛海域水深 1 m 处的水温和盐度。

红腹海参及绿刺参样品采集于 2019 年 7 月 25 日 与 12 月 21 日,采集地点位于蜈支洲岛北部海域(图 1)。 由潜水员在实验区域内采集红腹海参和绿刺参,每 种海参每次采集 3~5 头,采集后半小时内运到实验 室进行取样。每次采集的个体大小如表 1 所示。

表1 不同月份采集海参的个体大小(mean±SD)

 Tab. 1
 Individual size of sea cucumbers collected in different months (mean±SD)

样品	7 月	12 月
绿刺参	515.42±176.99 g	196.24±134.79 g
红腹海参	109.52±22.22 g	55.18±36.84 g

由于消化道组织对食物脂肪酸组成的变化响应 最快<sup>[22]</sup>,因此本研究选择海参肠道组织作为脂肪酸 组成及标志物的分析对象。将采集到的红腹海参和 绿刺参放置在暂养箱(40 cm × 30 cm)中,待海参状态 稳定后,立即注射 3~5 mL 的 KCl 溶液(0.35 mol/L) 刺激红腹海参和绿刺参排出内脏<sup>[23]</sup>。将海参肠道从 排出的内脏团中分离,小心去除肠道含物,利用蒸馏 水清洗干净后,放置于-20 ℃冰柜中冷冻保存备用。

#### 1.3 样品预处理与脂肪酸测定

海参肠道样品经冷冻干燥 48 h 后,研磨成粉末 状。取约 0.5 g 左右的样品进行总脂提取,过程参考 Floch 等<sup>[24]</sup>的方法。经二氯甲烷:甲醇(2:1)提取总脂 后,可保存至二氯甲烷中。在温和的氮气流下将提取 的总脂蒸发至接近干燥,然后加入 2%的浓硫酸甲醇 溶液并在氮气的保护下于 80 ℃水浴中甲酯化 2 h,利 用酯化反应制备脂肪酸甲酯(FAME)<sup>[25]</sup>。冷却后用正 己烷萃取脂肪酸甲酯,样品定容至 1 mL 后上机测定。 脂肪酸组成利用气相色谱仪(Agilent Technologies 6890N)进行分析。以鱼肝油脂肪酸甲酯(Cod liver oil fatty acid methyl esters(C2294-5G), Sigma-Aldrich,德 国)作为标准,通过比对保留时间对脂肪酸进行定性 分析。脂肪酸的相对含量用峰面积归一法进行计算。

#### 色谱条件如下:

毛细管色谱柱: DB-FFAP(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);

载气:氦气(纯度为 99.999%); 进样口温度:250 ℃:

检测器温度: 250 ℃;

柱温:初始温度为 100 ℃,并在 100 ℃下保持 5 min,以 4 ℃/min 的速度升至 240 ℃,然后在 240 ℃ 下保持 15 min。

#### 1.4 脂肪酸标志物的选择

综合以往的研究结果与海区内实际情况选用以下 脂肪酸标志: 硅藻、鞭毛藻及原生动物、褐藻、绿藻、 红藻、异养细菌以及陆源有机质等几类(详见第3节)。

#### 1.5 统计分析

采用数据分析软件 SPSS (PASW Statistics 23, 美国)进行数据分析,利用独立样本 t 检验(Independent-Samples T Test)分析不同月份、不同物种是否有显著差异性。数据在进行分析前利用 Levene 检验进行均匀性检验。在 RStudio 1.3.1093 软件中利用相关矩阵对不同月份、不同物种的脂肪酸标志物数据进行标准化,然后进行主成分分析(PCA)。

## 2 结果

#### 2.1 水温与盐度

2019年, 实验区域盐度为 32.58 至 34.44, 温度为 23.76 ℃至 29.31 ℃。7 月份时, 受海南岛东部上升流

的影响,海水温度下降了3℃(图2)。



图 2 取样地点水温与盐度随时间的变化 Fig. 2 Temporal variations in the water temperature and salinity of the study site

#### 2.2 绿刺参及红腹海参的脂肪酸组成

本研究对绿刺参及红腹海参中 14—22 碳的脂肪酸进行了测定,并分离出 33 种脂肪酸(表 2),发现 2 种海参在不同月份的脂肪酸相对含量均以多不饱和脂肪酸(PUFA)为主(图 3)。2 种海参 TFA 的含量在 12 月份较高,但饱和脂肪酸(SFA)、单不饱和脂肪酸(MUFA)以及 PUFA 含量均表现出相反的季节差异。绿刺参的 PUFA 在 12 月份较高(P>0.05), SFA 和 MUFA 含量较低(P>0.05), 红腹海参则相反。

表 2 绿刺参、红腹海参肠道组织脂肪酸相对含量(%, mean±SD) Tab. 2 Relative content of fatty acids in the gut of *H. edulis* and *S. chloronotus* (%, mean ± SD)

脂肪酸	绿束	间参	红腹海参		
	7月份	12 月份	7月份	12月份	
C14:0	$1.65 \pm 0.48$	$1.69 \pm 0.86^{b}$	$1.65 \pm 0.61^*$	$3.22{\pm}0.05^{a^*}$	
C14-isobr	$0.42{\pm}0.04$	$0.41 {\pm} 0.07^{b}$	$0.61{\pm}0.24^{*}$	1.19±0.03 <sup>a*</sup>	
C14-antiso	$0.10{\pm}0.03$	$0.09 {\pm} 0.02^{b}$	$0.14{\pm}0.07^{*}$	$0.36 \pm 0.02^{a^*}$	
C15 : 0	$0.24{\pm}0.04$	$0.20{\pm}0.07^{b}$	$0.42 \pm 0.11$	$0.68 {\pm} 0.01^{a}$	
C15-isobr	$0.19{\pm}0.01^{*}$	$0.30 \pm 0.04^{b^*}$	0.31±0.16	$0.55 {\pm} 0.01^{a}$	
C16:0	6.72±1.45	$6.17 \pm 2.24^{b}$	$6.97{\pm}2.03^{*}$	$13.70 \pm 0.25^{a^*}$	
C16 : 1( <i>n</i> -7)	2.66±0.53	3.22±1.25 <sup>b</sup>	$3.25 \pm 0.15^*$	$9.61{\pm}0.37^{a^*}$	
C16-isobr	$0.26 \pm 0.02$	$0.20{\pm}0.04^{b}$	$0.34{\pm}0.14^{*}$	$0.71{\pm}0.03^{a^*}$	
C16-antiso	$0.20{\pm}0.06^{*}$	$0.47 \pm 0.15^{b^*}$	$0.22{\pm}0.03^{*}$	$0.88 {\pm} 0.01^{a^*}$	
C17:0	$0.57{\pm}0.04^{b}$	$0.50 \pm 0.08$	$0.77{\pm}0.05^{a^*}$	$0.63 {\pm} 0.01^*$	
C17 : 1( <i>n</i> -9)	$0.34{\pm}0.10$	$0.38 \pm 0.12^{b}$	$0.38 \pm 0.26$	$0.90{\pm}0.04^{a}$	
C16 : 4( <i>n</i> -3)	6.15±2.34	$8.36{\pm}1.28^{a}$	4.28±3.72	$4.38 {\pm} 0.32^{b}$	
C18:0	5.95±0.91	5.53±0.81	6.94±1.85	6.15±0.31	
C18 : 1( <i>n</i> -9)	1.39±0.14	1.30±0.12	1.17±0.35	1.28±0.15	
C18 : 1( <i>n</i> -7)	$1.61 \pm 0.05$	$1.51{\pm}0.22^{b}$	$1.81{\pm}0.48$	$2.46{\pm}0.05^{a}$	
C18 : 2( <i>n</i> -6)	$0.80 \pm 0.30$	$1.65 \pm 0.64$	$1.62 \pm 0.83$	1.14±0.19	

				续表		
形時素	绿束	则参	红腹	红腹海参		
	7月份	12月份	7月份	12月份		
C18 : 2( <i>n</i> -4)	0.41±0.01	0.82±0.12	9.21±8.07	1.02±0.12		
C18 : 3( <i>n</i> -3)	$0.40 \pm 0.11$	1.34±0.64	$0.32{\pm}0.12^*$	$1.62{\pm}0.09^{*}$		
C18 : 4( <i>n</i> -3)	$0.97{\pm}0.13^{a}$	0.68±0.32	$0.47{\pm}0.19^{b^*}$	$0.90{\pm}0.06^{*}$		
C20 : 0	2.23±0.19	$1.97{\pm}0.17^{a}$	$2.35 \pm 0.77$	$1.50{\pm}0.08^{b}$		
C20 : 1(n-9)	$10.05 \pm 0.46$	8.52±1.24 <sup>a</sup>	$10.38 \pm 3.91$	$5.57 \pm 0.46^{b}$		
C20 : 2(n-6)	$1.50 \pm 0.09$	1.55±0.18	1.33±0.30	$1.45 \pm 0.10$		
C20: 4(n-6)	15.17±1.42	17.31±3.69	12.03±3.37	12.18±0.18		
C20 : 4(n-3)	$0.10{\pm}0.02$	0.15±0.08	0.10±0.12	0.11±0.10		
C20 : 5(n-3)	13.51±1.18	14.74±3.11	7.47±6.35	10.85±0.82		
C22 : 1(n-11)	$0.88 \pm 0.78$	1.85±0.29	1.38±0.36	1.41±0.05		
C22 : 1(n-1)	$1.43 \pm 0.13^{b}$	$1.37{\pm}0.10^{b}$	$2.06{\pm}0.27^{a^*}$	$1.60{\pm}0.04^{a^*}$		
C22 : 3(n-9)	$1.82{\pm}0.21^{a^*}$	$0.49{\pm}0.21^{*}$	$0.62{\pm}0.24^{b}$	$0.45 \pm 0.04$		
C22 : 1( <i>n</i> -9)	4.24±0.18	3.59±1.00	$4.45{\pm}0.87^{*}$	$2.29{\pm}0.17^{*}$		
C22 : 3(n-6)	0.98±0.11*	$0.62{\pm}0.09^{b^*}$	0.78±0.14	$0.96{\pm}0.06^{a}$		
C22 : 4(n-6)	$0.09{\pm}0.05^{*}$	$0.85{\pm}0.09^{*}$	$0.20{\pm}0.22^{*}$	$1.00{\pm}0.02^{*}$		
C22 : 5(n-3)	$0.69{\pm}0.09^{*}$	$3.77{\pm}0.18^{a^*}$	$1.88 \pm 2.18$	$1.97 \pm 0.13^{b}$		
C22 : 6(n-3)	6.50±0.51*	$1.40{\pm}0.32^{*}$	5.92±1.29*	$1.27{\pm}0.05^{*}$		
SFA	17.37±1.00	16.07±3.72 <sup>b</sup>	19.10±5.05	25.88±0.54ª		
MUFA	22.60±1.24	$21.74 \pm 1.02^{b}$	24.88±5.18	$25.12{\pm}0.59^{a}$		
PUFA	49.09±3.54	$53.74 \pm 3.34^{a}$	46.22±9.66	$39.31 {\pm} 0.30^{b}$		
BFA	1.16±0.15	$1.46 \pm 0.24^{b}$	$1.61{\pm}0.56^{*}$	$3.69{\pm}0.04^{a^*}$		
TFA	90.23±1.52*	93.01±0.51 <sup>b*</sup>	91.81±1.80	$94.00{\pm}0.18^{a}$		

注: 使用独立样本 t 检验对不月份、不同物种进行多重比较; a, b 表示相同月份的不同物种之间存在显著性差异; \*表示相同物种的不同月份之间存在显著性差异





2种海参的 SFA 主要由 16:0和 18:0组成,均占 SFA 含量的 50%以上。2种海参的 18:0含量在 12月份时较低(P>0.05)。绿刺参 16:0的含量是 7月份高于 12月份,与红腹海参相反,红腹海参明显 7月份时较低(P>0.05)。2种海参 MUFA 的主要成分 20:1(n-9)和 22:1(n-9)含量均是 7月份较高。

绿刺参与红腹海参的 PUFA 含量较高,占 TFA 的 40%以上。在 2 种海参组织中含量最高的脂肪酸 为 C20:4(*n*-6),在 12 月份时较高(*P*>0.05)。在 7 月 份时,DHA[C22:6(*n*-3)]含量在绿刺参中最高(6.5%), 红腹海参 DHA 的含量为 5.92%;在 12 月份时,绿刺参 与红腹海参的 DHA 含量均明显低于 7 月份(*P*>0.05)。

红腹海参与绿刺参组织中的 EPA[C20:5(n-3)]含量在 12 月份最高,7 月份较低。

# 2.3 绿刺参及红腹海参的脂肪酸标志物季节差异

红腹海参与绿刺参的硅藻脂肪酸标志物 C16:

1/C16:0 比值均小于 1(图 4a), 这表明硅藻不是两种 海参的食物来源组成部分。根据表 3, EPA 还可以作为 红藻的特征脂肪酸。因此, 12 月份时两种海参体内有 较高的 EPA 含量可能摄入环境中更多的红藻有机质 碎屑。7 月份时红腹海参的 EPA 含量较低, 且存在较 大的个体差异(图 4b)。



图 4 绿刺参与红腹海参脂肪酸标志的月份变化

Fig. 4 Fatty acid biomarkers of S. chloronotus and H. edulis in different months

红腹海参与绿刺参的鞭毛藻及原生动物脂肪酸标志物 DHA 含量分别为 5.92%和 6.5%。同时绿刺参和红腹海参中 DHA 的含量存在明显的季节差异,且2 种海参都表现出 7 月份较高,12 月份较低(图 4c)。

红腹海参和绿刺参组织中的褐藻脂肪酸标志物 C20:4(n-6)含量较其他生物标志物均具有较高水平, 分别为 12.03%~12.18%和 15.17%~17.31%,且无明 显的季节差异。这表明褐藻类食物来源在不同月份 均是 2 种海参的重要食物来源(图 4d)。

绿刺参与红腹海参体内的绿藻脂肪酸标志物 C18:1(n-7)/C18:1(n-9)比值在不同季节均大于 1 (图 4e),且无明显的季节差异(P>0.05),这表明绿藻 也是 2 种海参的食物来源之一。另一种绿藻脂肪酸 标志18:3(n-3)在2种海参体内表现出相似的季节差 异,7月份的含量较低。12月份时绿刺参的18:3(n-3) 含量较高,也表现出较大的个体差异。

Odd FAs & Br FAs 与 C18: 1(*n*-7)是异养细菌的 脂肪酸标志物。绿刺参体内的 Odd FAs & Br FAs 与 C18: 1(*n*-7)的含量在不同季节均无明显的差异(*P*> 0.05)(图 4g, 4h)。红腹海参体内的 Odd FAs & Br FAs 与 C18: 1(*n*-7)的含量均为 12 月份较高,且 Odd FAs & Br FAs 含量有明显的季节差异(*P*<0.05)。

C18:2(n-6)+C18:3(n-3)是陆源有机质的脂肪 酸标志物。与7月份相比,12月份2种海参体内的 含量均较高,且大于2.5(图4i),这表明陆源有机质 在12月份时是2种海参的食物来源。7月份红腹海 参和12月份绿刺参的陆源有机质脂肪酸标志含量均 存在个体差异。

在 2 种海参食物来源组成中,褐藻、绿藻、红藻 均是重要的食物来源,同时还有异养细菌、陆源有机 质、鞭毛藻以及原生动物等。2 种海参表现出摄食大 型藻类有机质碎屑的情况,同时也有对其他食物来 源的需求。

#### 2.4 脂肪酸标志物种间及季节差异性分析

以 2 种海参肠道中 8 种脂肪酸标志物[C20: 4(n-6)、C20:5(n-3)、C22:6(n-3)、C18:1(n-7)、 C18:3(n-3)、C18:1(n-7)/C18:1(n-9)>1,Odd FAs& Br FAs,C18:2(n-6)+C18:3(n-3)]的含量或比值为 变量,对不同季节采集的海参样品数据进行主成分 分析,以期得出 2 种海参食物组成的种间与季节差 异(图 5)。研究结果发现,不同季节的 2 种海参形成 显著的聚类区系。7 月份时,绿刺参以鞭毛藻及原 生动物为主要食物来源;12月份绿刺参的食物来源 较为广泛,涵盖鞭毛藻及原生动物、异养细菌褐藻 和红藻等。红腹海参7月份的食物来源显现出典型 的褐藻和红藻类特征,而12月份则主要为异养细 菌和绿藻特征。



图 5 绿刺参及红腹海参不同月份脂肪酸标志物主成分分 析因子载荷图

Fig. 5 PCA of food resources component in *H. edulis* and *S. chloronotus* in different months

注: x 轴(PC1)和 y 轴(PC2)上的数字是由主成分1和 2 解释的两种 海参脂肪酸标志物含量差异。不同月份及物种聚集为相对独立的 群,示其食物来源的种间及季节差异。

# 3 讨论

海参的食物组成会受到海区天然饵料环境的 影响,例如,大型藻类的有机碎屑,微型藻类,以 及细菌等等通常具有不同的物理结构和生物化学 组成,这都会影响海参的食物偏好<sup>[26-28]</sup>。以往的研 究表明,红腹海参可栖息于沙底,活珊瑚以及礁 石上,它们对于生境的选择没有明显的偏向性<sup>[9]</sup>。 绿刺参偏向选择活珊瑚及礁石等硬质底的生境, 其肠道内含物中也多以泥砂为主,混有大型藻类 有机质碎屑、细菌、原生动物等<sup>[29]</sup>。本研究根据 海区实际情况,以及以往的研究结果选择了几类 脂肪酸标志物对海南三亚海域的红腹海参及绿刺 参食物来源分析发现(表 3),它们的食物来源可能 包括鞭毛藻及原生动物、褐藻、绿藻、红藻以及异 养细菌等。

as markers for a food source										
Tab.	3	Fatty	acids	and	fatty	acid	ratios	that	were	used
表 3	作	为食物	勿来源	标志	的脂肌	方酸利	口脂肪酶	睃比值	1	

脂肪酸	食物来源	参考文献	
20:5(n-3)	硅藻, 红藻	[30-31]	
22:6(n-3)	鞭毛藻类及原生动物	[32-33]	
20:4(n-6)	褐藻	[17, 34]	
18 : 3( <i>n</i> -3)	绿藻	[35]	
Odd FAs& Br FAs	巳羊细帯	[36-38]	
18 : 1( <i>n</i> -7)	开介细困		
18 : 2( <i>n</i> -6)+18 : 3( <i>n</i> -3)>2.5	陆源有机质	[39]	
比值			
16:1/16:0(>1.6)	硅藻	[30]	
18 : 1( <i>n</i> -7)/18 : 1( <i>n</i> -9)(>1)	绿藻	[40]	

#### 3.1 绿刺参食物来源组成

根据特征脂肪酸分析发现,绿刺参脂肪酸组成 中表现出明显的鞭毛藻及原生动物、绿藻、褐藻、 红藻、异养细菌以及陆源有机质的特征。在7月份 时,鞭毛藻及原生动物在绿刺参的食物来源中占据 较大比例。12月份时、绿刺参食物组成复杂、包括 鞭毛藻及原生动物、异养细菌、褐藻和红藻等。红 藻、褐藻、陆源有机质等在绿刺参的食物来源中占 据的比例与 7 月份相比较高(P>0.05), 鞭毛藻及原 生动物脂肪酸标志则明显低于7月份(P<0.05)。DHA 是鞭毛藻及原生动物类的脂肪酸标志物<sup>[32]</sup>,同时, 也可以指示原生动物<sup>[33]</sup>等。以前的研究表明<sup>[29]</sup>、沉 积物有机质主要由底栖微藻、原生动物及有机质碎 屑组成。绿刺参为沉积食性,同时其食物来源在不 同季节均包括鞭毛藻及原生动物。因此,绿刺参体 内的 DHA 可能更多的来自沉积物中的原生动物。 在12月份时,根据现场调查[41]的结果,各类大型藻 类会由于水温的下降变得繁盛。大型藻类产生的大 量生物碎屑最终可能被沉积食性的底栖动物(包括 海参)摄取<sup>[42-43]</sup>。因此,其他食物来源变得更加丰富 可能是原生动物对海参的贡献明显低于7月份的原 因。沿海地区是海洋和陆地环境之间的动态过渡区 域。该区域大型底栖无脊椎动物受到陆地来源的影 响非常明显<sup>[44]</sup>。另一方面,选择不同外源性食物的 海洋动物会取决于食物来源的可获得性和自体食 物的偏好<sup>[45]</sup>。陆地有机物的输入是复杂的, 它不构 成海参稳定的食物来源。这可能是绿刺参体内陆源 有机质的脂肪酸标志物具有季节差异的原因。

#### 3.2 红腹海参食物来源组成

在 7 月份时, 红腹海参的食物来源显现出典型的褐藻和红藻类来源有机物特征。12 月份时, 红腹海参的食物来源组成中异养细菌与绿藻占据较大比例。红腹海参体内的褐藻脂肪酸标志物 20:4(*n*-6)的相对含量(12.03%~12.18%)在实验期间内比其他脂肪酸标志含量较高。绿藻脂肪酸标志[18:1(*n*-7)]/[18:1(*n*-9)]比值在不同月份均大于 1, 表现出典型的绿藻脂肪酸特征。绿藻的生物量在不同季节没有明显的变化<sup>[41]</sup>, 可作为海参稳定的食物来源。红腹海参以多种来源的有机物为食, 包括有机颗粒物和生物碎片, 其中含有大量异养细菌, 它们也是红腹海参的重要食物来源。

#### 3.3 两种海参食物来源的异同

红腹海参的食物来源组成与绿刺参相似, 涵盖了 鞭毛藻及原生动物、异养细菌、褐藻、绿藻、红藻、 陆源有机质等。7月份时,红腹海参与绿刺参体内各 类食物来源的脂肪酸标志的含量或比值均无明显的 种间差异(P>0.05), 但根据主成分分析发现, 绿刺参 是以沉积物中的鞭毛藻及原生动物为主要食物来源. 红腹海参则是以褐藻及红藻有机质碎屑为重要的食 物来源。红腹海参与绿刺参体内的红藻、褐藻、陆源 有机质等脂肪酸标志的含量或比值均是 12 月份高于 7月份, 鞭毛藻及原生动物则显著低于7月份。12月 份时,绿刺参的食谱较为丰富,以鞭毛藻及原生动 物、异养细菌、褐藻和红藻等有机质来源为主要食物 来源, 红腹海参则主要为异养细菌和绿藻。根据 Li 等人[41]对蜈支洲岛海域藻类调查,结果显示:在实验 区有大量的绿藻、褐藻以及红藻镶嵌分布。同时,红 藻类是实验海域内生物量及种类最为丰富的藻类, 主要包括紫杉状海门冬(Asparagopsis Taxiformi)、巢 沙菜(Hypnea pannosa)、矮型石叶藻(Lithophyllum pvgmaeum)等。褐藻类为低温类群,在冬春季水温较 低时繁盛,其中主要藻类包括加勒比海褐藻 (Lobophora variegata), 半叶马尾藻(Sargassum hemiphyllum)等。由于沉积食性生物可以通过摄食大型藻 类脱落碎屑获得有机质来源,因此,实验海域内大型 藻类产生的有机质碎屑很有可能是绿刺参的重要食 物来源组分, 红腹海参很可能也是通过这种方式获得 了较多的藻类食物来源。异养细菌也是海参的重要食 物来源<sup>[18, 46]</sup>。Moriarty 等<sup>[47]</sup>认为绿刺参和黑海参 (Holothuria atra)对细菌的同化效率(32%~44%)要高 于沉积物中的有机质,同时,其结果也表明海参肠道 中较高的胞壁酸值是由于海参消化了大量细菌,而不 是由于摄入较多的底栖微藻。

根据实验结果,在不同月份中2种海参个体间存 在的脂肪酸标志含量差异,可能与热带海参在自然生 境中活动范围较小,常呈现不均匀或斑块分布<sup>[48-49]</sup>, 不同个体生存区域提供的饵料会有一定的差异有 关。因此,所采海参不同个体间食物来源的可获得性 会有所不同,导致海参的体内脂肪酸标志含量存在 个体差异。

尽管脂肪酸标志法已广泛运用到海洋营养关系的研究中<sup>[22]</sup>,但该方法仍是无法对海洋生物的食物 来源进行精确地定量定性,只能对可能食物来源进 行示踪。为改进或弥补这些缺点,一方面,可以根据 实验区域内野外调查的结果,合理地选择脂肪酸标 志物,并根据特定生物特定时期的代谢特点选择合 适的组织进行脂肪酸组成分析<sup>[50]</sup>。另一方面,可以联 合运用脂肪酸标志法和 DNA 条形码技术<sup>[51]</sup>或稳定 同位素技术<sup>[52]</sup>提升对食物来源分析的精度。

## 4 结论

在自然条件下,鞭毛藻及原生动物、褐藻、红藻、 大型绿藻、异养细菌,以及陆源有机质等均是红腹海 参与绿刺参的潜在食物来源。但不同季节,2种海参 的主要食物来源存在差异。7月份时,鞭毛藻及原 生动物在绿刺参的食物来源组成中占据较大比例; 12月份,绿刺参食物组成复杂,主要以鞭毛藻及原 生动物、异养细菌、褐藻和红藻等为食物来源。大 型藻类是红腹海参在不同季节的主要食物来源。7月 份,红腹海参的主要食物来源组分为红藻和褐藻, 异养细菌和绿藻是12月份时红腹海参食物组成中主 要组分。本研究结果可为揭示海参摄食活动产生的 生态功能提供数据支持,以及为热带海参经济种的 大规模底播增养殖提供参考。

#### 参考文献:

- ERIKSSON H, CLARKE S. Chinese market responses to overexploitation of sharks and sea cucumbers[J]. Biological Conservation, 2015, 184: 163-173.
- [2] PAKOA K, BERTRAM I. Management state of Pacific sea cucumber fisheries[J]. SPC Beche-de-mer Information Bulletin, 2013, 33: 49-52.
- [3] PLAGÁNYI É E, MURPHY N, SKEWES T, et al. Development of a data-poor harvest strategy for a sea cu-

cumber fishery[J]. Fisheries Research, 2020, 230: 105-135.

- [4] ZULFAQAR S, RAHMAN M A, YUSOFF F M. Trends, prospects and utilizations of sea cucumber fisheries in Malaysia[J]. Int'l Journal of Advances in Agricultural & Environmental Engg, 2016, 3(1): 114-116.
- [5] CONAND C. Tropical sea cucumber fisheries: Changes during the last decade[J]. Marine Pollution Bulletin, 2018, 133: 590-594.
- [6] BELLCHAMBERS L, MEEUWIG J, EVANS S, et al. Modelling habitat associations of 14 species of holothurians from an unfished coral atoll: implications for fisheries management[J]. Aquatic Biology, 2011, 14(1): 57-66.
- [7] CHOO P S. Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in Asia[C]//Toral-Granda V, Lovatelli A and Vasconcellos M. Sea Cucumbers. A Global Review of Fisheries and Trade[M]. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 516, FAO: Rome, Italy, 2008: 81-118.
- [8] CONAND C. Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in Africa and the Indian Ocean[M]// TORAL-GRANDA V, LOVATELLI A, VASCONCELLOS M. Sea Cucumbers. A Global Review of Fisheries and Trade[M]. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 516, FAO: Rome, Italy, 2008: 143-193.
- [9] 黄端杰,许强,李秀保,等. 三亚蜈支洲岛珊瑚礁-沙 质底复合区棘皮动物群落结构[J]. 海洋与湖沼, 2020, 51(1): 103-113.
  HUANG Duanjie, XU Qiang, LI Xiubao, et al. The community structure of echinoderms in sandy coral reef area in Wuzhizhou Island, Sanya, China[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2020, 51(1): 103-113.
- [10] PURCELL S W, WILLIAMSON D H, NGALUAFE P. Chinese market prices of beche-de-mer: Implications for fisheries and aquaculture[J]. Marine Policy, 2018, 91: 58-65.
- [11] 于子山,王诗红,张志南,等.紫彩血蛤的生物扰动 对沉积物颗粒垂直分布的影响[J]. 青岛海洋大学学 报(自然科学版), 1999, 29(2): 279-282.
  YU Zishan, WANG Shihong, ZHANG Zhinan, et al. Studies on the genetic diversity of marine organisms: A review[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 1999, 29(2): 279-282.
- [12] DUNNE J A, WILLIAMS R J, MARTINEZ N D. Network structure and robustness of marine food webs[J]. Marine Ecology Progress Series, 2004, 273: 291-302.
- [13] DENIRO M J, EPSTEIN S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1978, 42(5): 495-506.
- [14] ALFARO A C. Diet of Littoraria scabra, while verti-

cally migrating on mangrove trees: gut content, fatty acid, and stable isotope analyses[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2008, 79(4): 718-726.

- [15] ZHUKOVA N V, AIZDAICHER N A. Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae[J]. Phytochemistry, 1995, 39(2): 351-356.
- [16] VISO A C, MARTY J C. Fatty acids from 28 marine microalgae[J]. Phytochemistry, 1993, 34(6): 1521-1533.
- [17] 李宪璀, 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.
  LI Xiancui, FAN Xiao, HAN Lijun, et al. Fatty acids of common marine macrophytes from the Yellow and Bohai Seas[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2002, 33(2): 215-224.
- [18] ZHANG X F, CHENG J P, HAN D M, et al. Regional differences in fatty acid composition of sea cucumber (Apostichopus japonicus) and scallop (Patinopecten yesoensis) in the coastal areas of China[J]. Regional Studies in Marine Science, 2019, 31: 100-182.
- [19] XU Q, XU Q, ZHANG X, et al. Fatty acid component in sea cucumber *Apostichopus japonicus* from different tissues and habitats[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2016, 96(1): 197.
- [20] ZHANG Q M, SHI Q, CHEN G, et al. Status monitoring and health assessment of Luhuitou fringing reef of Sanya, Hainan, China[J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(S2): 81-88.
- [21] LI X B, WANG D R, HUANG H, et al. Linking benthic community structure to terrestrial runoff and upwelling in the coral reefs of northeastern Hainan Island[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2015, 156: 92-102.
- [22] 许强,杨红生.脂肪酸标志物在海洋生态系统营养关系研究中的应用[J].海洋学报,2011,33(1):1-6.
  XU Qiang, YANG Hongsheng. Fatty acid biomarker and its application in marine trophic relation studies[J]. Haiyang Xuebao, 2011, 33(1):1-6.
- [23] 缪婷, 孙丽娜, 杨红生, 等. HMG (High-Mobility Group Box Protein) 在刺参(Apostichopus japonicus) 肠道再生期间的表达情况分析[J]. 渔业科学进展, 2017, 38(6): 148-154.
  MIU Ting, SUN Lina, YANG Hongsheng, et al. Expression analysis of HMG (High-Mobility Group Box Protein) during the intestine regeneration of sea cu-

cumber *Apostichopus japonicus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(6): 148-154.

- [24] FLOCH J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues[J]. Journal of Biological Chemistry, 1957, 22(226): 497-509.
- [25] 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.

XU Qiang. Evaluation of food sources of bivalve in seaweed and filter-feeding bivalve polyculture ecosystem[D]. Qingdao: The Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2007.

- [26] XIA S D, ZHAO P, CHEN K, et al. Feeding preferences of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) on various seaweed diets[J].Aquaculture.2012, 344: 205-209.
- [27] 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 Fei, XU Qiang, YANG Hongsheng. 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.
- [28] YOKOYAMA H. Growth and food source of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* cultured below fish cages—potential for integrated multi-trophic aquaculture[J]. Aquaculture, 2013, 372: 28-38.
- [29] MORIARTY D. Feeding of Holothuria atra and Stichopus chloronotus on bacteria, organic carbon and organic nitrogen in sediments of the Great Barrier Reef[J]. Marine and Freshwater Research, 1982, 33(2): 255-263.
- [30] ACKMAN R G, TOCHER C, MCLACHLAN J. Marine phytoplankter fatty acids[J]. Journal of the Fisheries Board of Canada, 1968, 25(8): 1603-1620.
- [31] 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.
- [32] SARGENT J R, PARKES R J, MUELLER-HARVEY I, et al. Lipid biomarkers in marine ecology[M]//SLEIGH M A. Microbes in the sea[M]. Ellis Horwood, Chichester, 1987: 119-138.
- [33] ZHUKOVA N V, KHARLAMENKO V I. Sources of essential fatty acids in the marine microbial loop[J]. Aquatic Microbial Ecology, 1999, 17(2): 153-157.
- [34] 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.
- [35] KAYAMA M, ARAKI S, SATO S, et al. Lipids of marine plants[C]//ACKMAN R G. Marine biogenic lipids, fats, and oils, Vol.2, CRC Press, Florida, 1989: 3-48.
- [36] 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.

- [37] FINDLAY R H, TREXLER M B, GUCKERT J B, et al. Laboratory study of disturbance in marine sediments: response of a microbial community[J]. Marine Ecology Progress Series, 1990, 62(1): 121-133.
- [38] VOLKMAN J K, JOHNS R B, GILLAN F T, et al. Microbial lipids of an intertidal sediment—I. Fatty acids and hydrocarbons[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1980, 44(8): 1133-1143.
- [39] NAPOLITANO G E, POLLERO R J, GAYOSO A M, et al. Fatty acids as trophic markers of phytoplankton blooms in the Bahia Blanca estuary (Buenos Aires, Argentina) and in Trinity Bay (Newfoundland, Canada)[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 1997, 25(8): 739-755.
- [40] KHOTIMCHENKO S V, VASKOVSKY V E, TITLYANOVA T V. Fatty acids of marine algae from the Pacific coast of North California[J]. Botanica Marina, 2002, 45(1): 17-22.
- [41] LI X B, TITLYANOV E A, TITLYANOVA T V, et al. An inventory and seasonal changes in the recent benthic Flora of coral reefs of Wuzhizhou island, Haitang Bay, South China Sea (China)[J]. Russian Journal of Marine Biology, 2020, 46(6): 485-492.
- [42] NADON M O, HIMMELMAN J H. Stable isotopes in subtidal food webs: Have enriched carbon ratios in benthic consumers been misinterpreted?[J]. Limnology and Oceanography, 2006, 51(6): 2828-2836.
- [43] SUN Z, GAO Q, DONG S, et al. Seasonal changes in food uptake by the sea cucumber *Apostichopus japonicus* in a farm pond: evidence from C and N stable isotopes[J]. Journal of Ocean University of China, 2013, 12(1): 160-168.
- [44] LANGE G, HAYNERT K, DINTER T, et al. Adaptation of benthic invertebrates to food sources along marine-terrestrial boundaries as indicated by carbon and nitrogen stable isotopes[J]. Journal of Sea Research, 2018, 131: 12-21.

- [45] MANGION P, TADDEI D, FROUIN P, et al. Feeding rate and impact of sediment reworking by two deposit feeders *Holothuria leucospilota* and *Holothuria atra* on a fringing reef (Reunion Island, Indian)[M]//NEBELSICK J H, HEINZELLER T. Echinoderms: München. Taylor and Francis, London, UK: 2004: 311-317.
- [46] WEN B, GAO Q F, DONG S L, et al. Uptake of benthic matter by sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka): Insights from carbon stable isotopes and fatty acid profiles[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2016, 474: 46-53.
- [47] MORIARTY D, POLLARD P, HUNT W, et al. Productivity of bacteria and microalgae and the effect of grazing by holothurians in sediments on a coral reef flat[J]. Marine Biology, 1985, 85(3): 293-300.
- [48] DISSANAYAKE D, STEFANSSON G. Habitat preference of sea cucumbers: *Holothuria atra* and *Holothuria edulis* in the coastal waters of Sri Lanka[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2012, 92(3): 581.
- [49] PURCELL S W, PIDDOCKE T P, DALTON S J, et al. Movement and growth of the coral reef holothuroids Bohadschia argus and Thelenota ananas[J]. Marine Ecology Progress Series, 2016, 551: 201-214.
- [50] BUDGE S M, IVERSON S J, KOOPMAN H N. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: a primer on analysis and interpretation[J]. Marine Mammal Science, 2006, 22(4): 759-801.
- [51] 彭居俐, 王绪桢, 何舜平. DNA 条形码技术的研究进展及其应用[J]. 水生生物学报, 2008, 32(6): 916-919.
  PENG Juli, WANG Xuzhen, HE Shunping. The progress and application of DNA barcoding[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(6): 916-919.
- [52] VANDER ZANDEN M J, CLAYTON M K, MOODY E K, et al. Stable isotope turnover and half-life in animal tissues: a literature synthesis[J]. PLoS One, 2015, 10(1): e0116182.

# Determination of the food sources of two tropical coral reef sea cucumbers *Holothuria edulis* and *Stichopus chloronotus* using a fatty acid biomarker analysis

WU Pei-lin, HUANG Duan-jie, MA Wen-gang, GAO Fei, WANG Ai-min, XU Qiang (State Key Laboratory of Marine Resource Utilization in the South China Sea, College of Ocean Sciences, Hainan University, Haikou 570228, China)

Received: Mar. 18, 2021

Key words: Holothuria edulis; Stichopus chloronotus; fatty acid biomarker; food source

Abstract: Sediment-feeding sea cucumbers play an essential ecological role in the tropical coral reef ecosystem through their large sediment-intake capacity. However, the composition of their food sources is not clear. In this study, the fatty acid composition of *Holothuria edulis* and *Stichopus chloronotus* in a typical coral reef off the coast of Sanya, Hainan was determined. The results showed significant interspecific and seasonal differences between the fatty acid composition of *H. edulis* and that of *S. chloronotus*. In July, flagellate algae and protozoa were important food sources of *S. chloronotus*. In December, *S. chloronotus* had a wide range of food sources, including flagellate algae and protozoa, heterotrophic bacteria, brown algae, and red algae. The main food sources of *H. edulis* were brown algae and red algae in July, whereas heterotrophic bacteria and green algae were relatively higher in December. These results can provide data for revealing the ecological functions of *H. edulis* and *S. chloronotus* in feeding activities.

(本文编辑: 赵卫红)