

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20190221002

http://www.yyqxjz.cn/

耿倩倩, 陈晶, 李鸿妹, 杨茹君, 张永雨. 温度对浒苔降解过程中溶解有机物释放及其组成的影响. 渔业科学进展, 2020, 41(2): 27–34

Geng QQ, Chen J, Li HM, Yang RJ, Zhang YY. Release dynamics and composition of dissolved organic matter from the macroalgae *Ulva prolifera* under different temperature regimes. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(2): 27–34

## 温度对浒苔降解过程中溶解有机物 释放及其组成的影响\*

耿倩倩<sup>1,2</sup> 陈晶<sup>2</sup> 李鸿妹<sup>2①</sup> 杨茹君<sup>1①</sup> 张永雨<sup>2</sup>

(1. 中国海洋大学化学化工学院 青岛 266100; 2. 中国科学院青岛生物能源与过程研究所  
中国科学院生物燃料重点实验室 山东省能源生物遗传资源重点实验室 青岛 266101)

**摘要** 2007~2019 年浒苔(*Ulva prolifera*)绿潮在我国南黄海连续 13 年大规模暴发, 每年上百万吨浒苔来不及打捞而沉降至海底。在浒苔绿潮消亡期, 大量来不及打捞的浒苔藻体在微生物降解作用下释放丰富的碳、氮等生源要素。本研究探讨了温度对浒苔降解向水体释放溶解有机物(主要包括溶解有机碳和溶解有机氮)及其组成的影响。结果显示, 不同温度(15℃、20℃和 25℃)对 0~7 d 浒苔降解过程中溶解有机碳(DOC)的释放有显著影响( $P<0.05$ ): 20℃条件下, DOC 浓度显著高于 15℃和 25℃条件下, 而 7~30 d 不同温度下水体的 DOC 浓度没有显著差异( $P>0.05$ )。对于溶解有机氮(DON)而言, 温度对 0~7 d 浒苔释放 DON 的影响不显著( $P>0.05$ ), 而 7~30 d 不同温度下, DON 浓度呈现显著差异。其中, 25℃条件下, DON 浓度显著低于 15℃和 20℃( $P<0.05$ ), 这主要是由于在实验中后期, 微生物将浒苔释放的 DON 部分转化为无机氮形式, 而 25℃条件下, 微生物丰度较高, 进而导致较多的 DON 发生转化。另外, 利用三维荧光光谱—平行因子分析技术(EEMs-PARAFAC)对浒苔降解过程中荧光溶解有机物(FDOM)的组成和荧光特性进行探究, 共鉴别出 3 个荧光组分: 类色氨酸组分(C1 和 C2)和类腐殖质组分(C3)。不同温度下, 3 个组分的相对含量表明, 温度对 FDOM 的组成并没有显著影响( $P>0.05$ ), 而对 C2 和 C3 组分的荧光强度具有显著影响( $P<0.05$ ), 这可能由不同温度下微生物的分解速率不同所导致。

**关键词** 浒苔; 降解; 溶解有机物; 温度; 平行因子分析

**中图分类号** S968 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2020)02-0027-08

2007 年以来, 中国黄海连续 13 年暴发以浒苔(*Ulva prolifera*)为肇事藻种的绿潮灾害, 对该海域和沿岸地区的生态环境、滨海景观、旅游和海水养殖业造成了严重影响(Li *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2016; Zhou

*et al.*, 2015)。尽管浒苔藻体自身对于人和海洋动物是无毒的, 但浒苔大面积覆盖在沿岸表体会阻碍光照并且消耗水中的氧气, 对水质和当地的生态系统造成恶劣影响, 尤其对底栖生物群落(Liu *et al.*, 2010;

\* 国家自然科学基金青年基金(41606092)和国家海洋局海洋生态环境科学与工程重点实验室 2016 年度开放基金(MESE-2016-02)共同资助[This work was supported by the National Natural Science Foundation of China for Young Scholars (41606092), and Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science and Engineering SOA (MESE-2016-02)].

耿倩倩, E-mail: 17806234510@163.com

①通讯作者: 李鸿妹, 副研究员, E-mail: lihm@qibebt.ac.cn; 杨茹君, 副教授, E-mail: yangrj@ouc.edu.cn

收稿日期: 2019-02-21, 收修改稿日期: 2019-06-04

Zhang *et al.*, 2017; 夏斌等, 2009)。

王宗灵等(2018)研究表明, 每年暴发的浒苔并不能全部被打捞起来(), 均有超过百万吨的浒苔来不及打捞而沉降到海平面以下(Zhou *et al.*, 2015)。在绿潮消亡阶段, 来不及打捞的浒苔在微生物降解作用下, 向海水中释放大量的溶解有机物(DOM)(Zhang *et al.*, 2017)。Duarte 等(2017)研究表明, 大藻降解是近海 DOM 的重要来源之一。温度是控制河口植物和海洋藻类降解的重要因素(Lemley *et al.*, 2014; Carpenter *et al.*, 1979; Best *et al.*, 1990; Kotta *et al.*, 2010)。Valiela 等(1985)指出, 水温显著影响盐沼生态系统的降解过程; Lønborg 等(2018)指出, 海洋温度的升高将会影响生物可利用性较低的溶解有机碳(DOC)的微生物降解。

近年来, 科研人员对浒苔绿潮的成因和起源、发生发展过程以及浒苔的生理生态特点等进行了广泛研究(Li *et al.*, 2016、2017; Wang *et al.*, 2015), 但针对浒苔在微生物作用下降解释放有机碳、氮的动态变化以及 DOM 组成的研究相对较少。本研究针对浒苔衰亡过程, 研究不同温度对浒苔降解释放 DOC、氮及其组成的影响, 以期初步反映浒苔释放 DOC、溶解有机氮(DON)动态变化过程以及温度对荧光溶解有机物(FDOM)组成的影响, 为绿潮的治理和受绿潮影响海域的生态修复提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验所用浒苔于 2017 年 7 月采自山东青岛沿岸海域, 现场用海水冲洗数遍, 带回实验室储存于 4℃ 冰箱。实验前用高压灭菌后的海水清洗浒苔, 然后加入 0.5 mg/ml 的二氧化锆溶液抑制硅藻的生长, 并加入 0.5% 卡那霉素杀菌(Li *et al.*, 2016)。处理之后的浒苔仍呈鲜绿色, 此时浒苔仍然存活。

### 1.2 实验设计

将 0.2 g 处理后的浒苔(湿重)加入 3 L 玻璃烧瓶中, 然后加入 2 L 过滤(2 μm)海水, 密封瓶口, 置于 3 个不同温度(15℃、20℃和 25℃)的光照培养箱中, 每个温度条件设置 2 个平行样, 黑暗条件培养 30 d。于第 0、1、3、5、7、15、20、25、30 天取样。衰亡的浒苔在海流作用下经历不同水温的海层进而沉入海底, 浒苔绿潮在 7~8 月开始消亡也即是水温较高的夏季, 一直持续到每年的 11~12 月也即是水温较低的秋季, 对浒苔大量聚集海域的影响时间会更长(丁月旻, 2014)。搜

集文献资料(辛明, 2011; 胡莹英, 2013; 孙涛, 2014)总结出, 南黄海夏季和秋季表、底的水温分别约为 25℃(表层)、14℃(底层)和 18℃(表层)、14℃(底层), 因此, 本研究设置 15℃、20℃和 25℃共 3 个温度。

取样前充分摇匀玻璃烧瓶, 静置约 5 min 后, 用移液管移取上层水样于小烧杯中, 充分摇匀。取 1.8 ml 未过滤水样用于微生物丰度分析, 加入戊二醛固定(终浓度为 0.5%), 液氮中冷冻, 最后储存于 -80℃ 冰箱中(Brusgaard, 2004)。水样用预烧过的(450℃, 5 h) 0.7 μm GF/F 膜过滤, 滤液分别转移至 15 ml 灭菌离心管, 40 ml、20 ml 预烧过的(450℃, 5 h)棕色玻璃瓶分别用于营养盐、DOC、FDOM 分析, 样品储存于 -20℃。

### 1.3 样品分析

用于微生物丰度分析的样品于 37℃ 水浴中解冻, 用 SYBR Green I 荧光染料在室温下黑暗静置染色 15 min, 向染色好的样品中加入标准荧光小球作为内参, 采用流式细胞仪(BD FACS Aria II)进行检测, 具体方法参照 Marie 等(1999)方法。

用带有 ASI-L 自动进样器的岛津总有机碳分析仪 TOC-L<sub>CPH</sub> 测定 DOC 浓度, 以邻苯二甲酸氢钾(KHP)为标准溶液, 采用高温催化氧化的方法进行测定。检出限为 4 μg/L, 重现性 CV 在 1.5% 以内。

水样充分解冻并在室温下平衡后用营养盐自动分析仪(BRAN and LUEBBE QuAAtro, 德国)测定营养盐 NO<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的浓度, 溶解无机氮(DIN)浓度为 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>浓度之和。用过硫酸氧化法测定总溶解氮(TDN)浓度(Valderrama, 1981), DON 为 TDN 减去 DIN。

三维荧光光谱结合平行因子分析(EEMs-PARAFAC)技术表征浒苔降解过程中释放 FDOM 的化学组成以及荧光特性。水样避光解冻并在室温下平衡后, 通过 0.22 μm 聚醚砜膜滤膜过滤。滤液用 Hitachi F-4600 荧光分光光度计测定 FDOM 的激发-发射矩阵光谱(EEM)。激发波长设为 200~480 nm, 发射波长设为 250~650 nm, 间隔为 5 nm, 扫描速率为 1200 nm/min, 积分时间为 0.05 s。

进行平行因子分析前, 需扣除拉曼散射和瑞利散射的影响, 运用 MATLAB 和 Statistics Toolbox 结合 DOM Fluor toolbox (R2016a; The MathWorks, Inc., 美国)进行平行因子分析辨别荧光组分(Stedmon *et al.*, 2008)。通过平行因子分析可以得到每种组分的相对荧光强度, 每种组分的荧光强度  $I_n$  按照下式计算:

$$I_n = Score_n \times Ex_n(\lambda_{max}) \times Em_n(\lambda_{max})$$

式中,  $Score_n$  代表第  $n$  种成分的相对荧光强度,  $Ex_n(\lambda_{max})$  代表第  $n$  种成分激发负载的最大值,  $Em_n(\lambda_{max})$  代表第  $n$  种成分发射负载的最大值。总荧光强度  $I_{TOT}$  和各组分的相对含量  $P_n$  计算公式如下:

$$I_{TOT} = \sum_1^n I_n$$

$$P_n = I_n / I_{TOT}$$

各组分的百分贡献率表示 FDOM 的组成、性质变化(Kowalczyk *et al.*, 2005)。

## 1.4 统计分析

利用双因素方差(Two-way ANOVA)分析实验数据, 其中, DOC、DON数据分为0~7 d和7~30 d 2个时间段进行分析。2个因素分别为培养时间和温度。用 Spearman 相关分析成对的变量间是否存在显著的单调关系。用 SigmaPlot 12.0 软件进行统计分析, 显著性水平为 0.05。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同温度下溶解有机物的动态变化

不同温度下浒苔降解过程中 DOC 浓度变化特征如图 1 所示。3 个温度下的 DOC 浓度在前 7 d 呈现先增加后减少的趋势, 7 d 之后维持相对稳定(图 1)。DOC 最快的释放速率出现在前 24 h, 分别为 1.13 (15°C)、3.31(20°C)和 0.94  $\mu\text{mol/h}$ (25°C)。在前 7 d 20°C 条件下, DOC 浓度显著高于 15°C 和 25°C ( $P < 0.05$ ), 而 7~30 d 3 个温度下 DOC 浓度没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。培养时间对 DOC 浓度也有显著影响 ( $P < 0.05$ )。

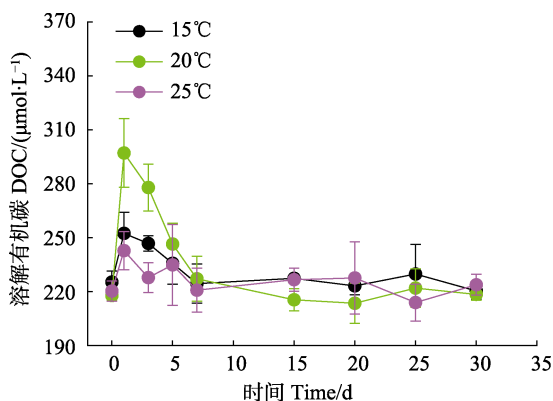


图 1 不同温度下溶解有机碳浓度变化

Fig.1 Concentration changes of dissolved organic carbon (DOC) at different temperatures

不同温度下浒苔降解过程中溶解态氮浓度变化趋势与 DOC 不同(图 2)。3 个温度下的 DON 浓度随

着培养时间的增长而增加, 至第 7 天达到最高值(图 2a)。此时, DON 的释放速率分别为 3.64(15°C)、4.22(20°C)和 3.48  $\mu\text{mol/d}$ (25°C)。之后, DON 浓度开始减少。0~7 d 3 个温度下 DON 浓度没有显著差异 ( $P > 0.05$ ), 而 7 d 之后, 25°C 条件下 DON 浓度明显低于 15°C 和 20°C ( $P < 0.05$ )。培养时间对 DON 浓度也有显著影响 ( $P < 0.05$ )。DIN 浓度分别在第 20 天(15°C)、第 15 天(20°C)和第 7 天(25°C)开始明显增加, 直到实验末期均保持增加趋势(图 2b)。培养实验结束时, 3 个温度下 DIN 的释放速率分别为 0.49(15°C)、1.68(20°C)和 3.55  $\mu\text{mol/d}$ (25°C)。温度对 DIN 释放有显著影响 ( $P < 0.05$ )。总的来看, 25°C 条件下的 DIN 浓度明显高于 20°C 和 15°C, 20°C 条件下的 DIN 浓度明显高于 15°C ( $P < 0.05$ ), 随着温度升高, DIN 浓度显著增加。培养时间对 DIN 浓度也有显著影响 ( $P < 0.05$ )。3 个温度下的 DIN 浓度与培养时间存在显著正相关关系 ( $R_{15^\circ\text{C}} = 0.883$ 、 $R_{20^\circ\text{C}} = 0.950$ 、 $R_{25^\circ\text{C}} = 0.983$ ,  $P < 0.05$ )。

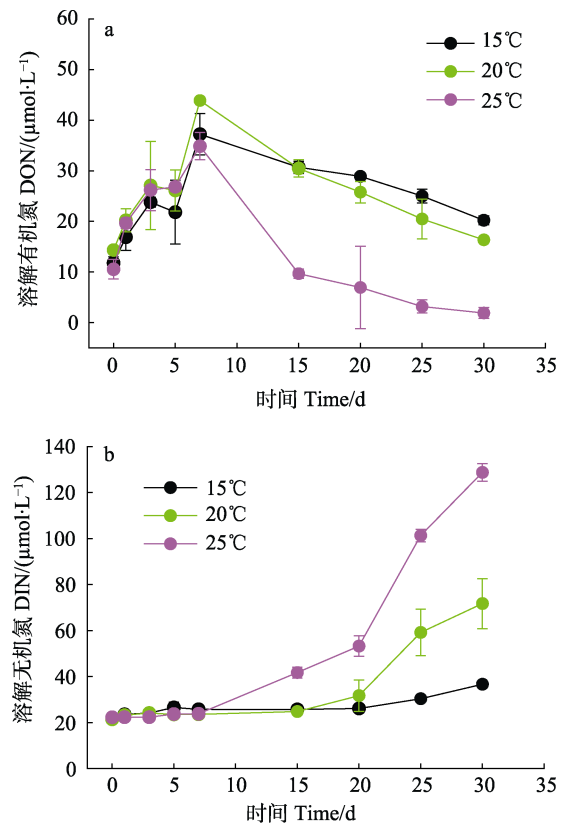


图 2 不同温度下溶解有机氮(a)和溶解无机氮(b)浓度变化

Fig.2 Concentration changes of dissolved organic nitrogen (DON) (a) and dissolved inorganic nitrogen (DIN) (b) at different temperatures

不同温度下, 浒苔降解过程中微生物丰度变化特征如图 3 所示。在整个实验过程中, 15°C 条件下的微

生物丰度呈现小幅度波动变化。对于 20℃ 和 25℃ 而言, 微生物丰度在前 3 d 小幅度减少, 之后呈现先增加后减少的趋势, 15 d 之后呈现小幅度波动变化, 第 0 天和第 30 天的微生物丰度分别为  $2.36 \times 10^5$  (20℃)、 $2.42 \times 10^5$  (20℃) 和  $2.83 \times 10^5$  (25℃)、 $2.85 \times 10^5$  cells/ml (25℃)。总的来看, 25℃ 条件下的微生物丰度明显高于 20℃ 和 15℃ ( $P < 0.05$ )。培养时间对微生物丰度也有显著影响 ( $P < 0.05$ )。

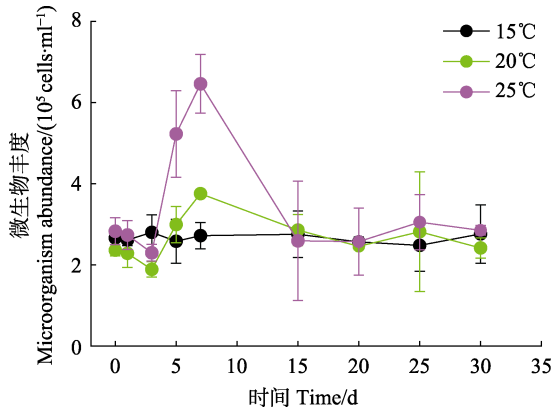


图3 不同温度下微生物丰度的变化  
Fig.3 Microorganism abundance changes at different temperatures

早期的研究指出, 盐沼植物 DOM 的释放和降解可以分为 3 个阶段(Hicks *et al.*, 1991; Valiela *et al.*, 1985; White *et al.*, 1994): 第一阶段是溶解有机物质在数天内释放; 第二阶段是微生物作用下生物高分子在数月内发生降解, 进一步释放溶解有机物质; 第三阶段经历的时间更长, 需要数年, 只有像纤维素和木质素这类的惰性物质未被完全降解。

本研究结果显示, DOM 的释放是一个快速的过程。3 个温度下 DOC 最快的释放速率出现在前 24 h, DON 在前 7 d 快速释放。Litz(2006)在以新鲜的 *Spartina* 茎和叶为研究对象的实验中, 于实验前 24 h 也发现了 DOC 的快速释放。Zhang 等(2017)指出, DOC 的快速释放可能是由化学过程(比如水解和溶解作用)控制的, 之后化学作用减弱, 细菌起着重要的作用。微生物丰度(图 3)以及 DOC 的结果显示, 释放的 DOC 在第 1 天之后被微生物快速消耗之后维持相对稳定, 这表明微生物选择性利用活性有机物质, 惰性有机物质以更慢的速率发生降解。2.2 章节中的荧光结果也能说明此问题。

Wang 等(1995)研究指出, 脂肪族甲胺, 比如一甲胺(MMA)、二甲胺(DMA)和三甲胺(TMA)是互花米草(*Spartina alterniflora*)释放到海水中主要的含氮有

机物。在有氧条件下, 狐米草(*Spartina patens*)和宽叶香蒲(*Typha latifolia*)在前几天快速释放胺类化合物, 然后被微生物所利用(Wang *et al.*, 2007)。微生物在降解 DOM 过程中会把一些有机形式的氮转化为无机形式的氮, 在 7~30 d 减少的 DON 和增加的 DIN 表明有机氮转变为无机形式(图 2a 和图 2b)。温度对该过程具有显著影响: 25℃ 条件下 DON 浓度明显低于 15℃ 和 20℃ ( $P < 0.05$ ), 可能是由于 25℃ 条件下微生物丰度呈现显著高值 ( $P < 0.05$ ) (图 3)。15 d 之后 DON 减少的趋势变缓(尤其是 25℃), 可能是由于此时体系处于缺氧状态, 降解作用较慢(Wang *et al.*, 2007)。DIN 结果显示, 浒苔降解向海水中释放大量的无机营养盐, 与 Lemley 等(2014)针对 Great Brak Estuary 3 种大型植物分解过程的研究结果相似。在生长阶段, 大型海藻吸收利用溶解无机氮, 在降解过程中, 氮被释放并参与循环(Wang *et al.*, 2012)。结果显示, 温度对大型海藻降解过程中的 DOM 起着重要作用。

## 2.2 不同温度下荧光溶解有机物荧光强度以及组分特征变化

典型的 PARAFAC 模型能将 EEMs 中复杂的混合物分解为单个的荧光组分(Osburn *et al.*, 2015)。如表 1 所示, 利用 PARAFAC 鉴别出 3 个荧光组分: C1 和 C2 为类色氨酸组分(也称为类蛋白组分), C3 为类腐殖质组分。类腐殖质荧光组分不易被生物或微生物利用而被认为是水体中惰性溶解有机物质(RDOC)的重要组成部分, 通常作为海水中 RDOC 的指示剂(Murphy *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2017)。不同温度下组分 C1、C2 和 C3 的相对含量  $P_1$ 、 $P_2$  和  $P_3$  随时间变化的特征如图 4a~图 4c 所示。其中,  $P_1$  和  $P_2$  均于第 20 天达到最大值。3 个温度下,  $P_3$  在 0~20 d 均呈现先增加后减少的趋势, 在实验后期有所增加。不同温度下的  $P_1$ 、 $P_2$  和  $P_3$  均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 表明温度对 FDOM 组成并没有显著影响。图 4d~图 4f 分别为 3 个组分在不同温度下的荧光强度变化图。3 个温度下类蛋白组分 C1 和 C2 的荧光强度  $I_1$  和  $I_2$  呈现相似的变化特征: 整体来看实验前期呈现减少的趋势, 之后逐渐增加, 分别在第 20 天(15℃)、第 20 天(20℃)和第 15 天(25℃)达到最大值, 在实验后期, 荧光强度有所减少(图 4d~图 4e)。如图 4f 所示, 15℃ 下类腐殖质组分 C3 的荧光强度  $I_3$  在 0~20 d 呈增加趋势, 20 d 后开始减少。20℃ 和 25℃ 时的变化趋势相似: 在 0~20 d  $I_3$  呈现先增加后减少的趋势, 20 d 之后,  $I_3$  逐渐增加。温度对  $I_2$  和  $I_3$  具有显著影响 ( $P < 0.05$ ): 25℃ 条件下,  $I_2$  和  $I_3$  明显大于 15℃, 可能是由于温度较高条件下微生物的

表 1 PARAFAC 鉴别出的 3 个 FDOM 荧光组分及其特征  
Tab.1 Fluorescent component characteristics of FDOM

组分 Components	激发波长/发射波长 Ex <sub>max</sub> /Em <sub>max</sub> (nm)	类型 Style	参考文献 References
1	225, 275/325	类色氨酸 Tryptophan-like	Murphy 等(2008); Li 等(2018)
2	235, 300/345	类色氨酸 Tryptophan-like	Zhang 等(2014); Murphy 等(2008)
3	270, 330/445	类腐殖质 Humic-like	Coble(1996); Stedmon 等(2005)

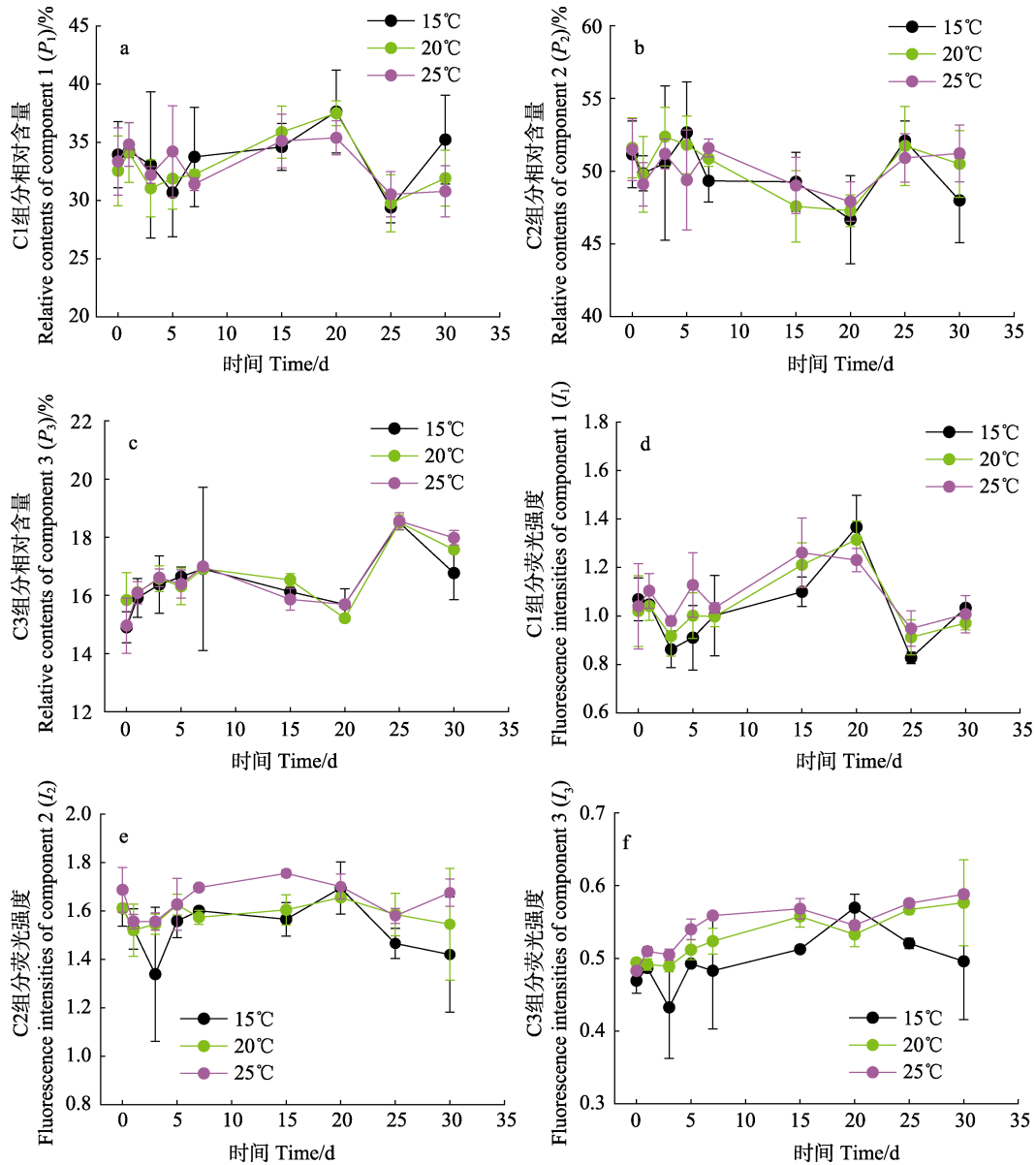


图 4 不同温度下各组分相对含量和荧光强度变化

Fig.4 Relative contents and fluorescence intensity changes of three organic components at different temperatures

分解速率较快, 导致 FDOM 含量增加进而引起荧光强度值增大, 而温度未显著影响同样是类蛋白组分 C1 的荧光强度。培养时间对 C2 和 C3 组分的荧光强度也有显著影响( $P < 0.05$ )。

温度在调节 DOM 的荧光特性方面起着重要作用。在高温下, 浒苔降解过程中的类蛋白组分和类腐殖质

组分更多。20 d 后, 类蛋白组分荧光强度的减少以及类腐殖质组分荧光强度的增加, 表明在浒苔的微生物降解过程中, 微生物选择性利用活性有机物, 以更低的速率降解惰性有机物。这些荧光数据结果也支持前面讨论的 DOC 结果。而温度对 FDOM 的组成并没有显著影响。

### 3 结 论

通过研究不同温度下浒苔降解过程中 DOC、DON 和 FDOM 的动态变化特征,指出温度对浒苔降解过程中的 DOM 起到重要作用。温度显著影响前 7 d DOC 的释放: 20℃ 条件下 DOC 浓度明显高于 15℃ 和 25℃。微生物在降解 DOM 过程中把部分有机氮转变为无机氮,温度对此过程有显著影响: 25℃ 条件下 DON 浓度明显低于 15℃ 和 20℃。3 个组分的相对含量在不同温度条件下并没有显著差异,表明温度并未显著影响 FDOM 的组成,而较高温度下(如 25℃),类蛋白组分 C2、类腐殖质组分 C3 的荧光强度表现出显著高值,可能是由于温度升高加快微生物的分解速率进而导致 FDOM 含量的增加。

### 参 考 文 献

- Best EPH, Dassen JHA, Boon JJ, *et al.* Studies on decomposition of *Ceratophyllum demersum* litter under laboratory and field conditions: Losses of dry mass and nutrients, qualitative changes in organic compounds and consequences for ambient water and sediments. *Hydrobiologia*, 1990, 194(2): 91–114
- Brussaard CP. Optimization of procedures for counting viruses by flow cytometry. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(3): 1506–1513
- Carpenter SR, and Adams MS. Effects of nutrients and temperature on decomposition of *Myriophyllum spicatum* L. in a hard-water eutrophic lake. *Limnology and Oceanography*, 1979, 24(3): 520–528
- Coble PG. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 1996, 51(4): 325–346
- Ding YM. Impacts of *Ulva (Enteromorpha) prolifera* in the green tide on the Yellow Sea ecological environment—Implications from migration and transformation of biogenic elements. Doctoral Dissertation of University of Chinese Academy of Sciences, Institute of Oceanology, 2014 [丁月旻. 黄海浒苔绿潮中生源要素的迁移转化及对生态环境的影响. 中国科学院研究生院(海洋研究所)博士研究生学位论文, 2014]
- Duarte CM, Wu J, Xiao X, *et al.* Can seaweed farming play a role in climate change mitigation and adaptation? *Frontiers in Marine Science*, 2017, 4, DOI: 10.3384/fmars.2017.00100
- Hicks RE, Lee C, Marinucci AC. Loss and recycling of amino acids and protein from smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*) litter. *Estuaries*, 1991, 14(4): 430–439
- Hu YY. Seasonal and interannual variations of the water temperature in the Yellow Sea and East China Sea. Master's Thesis of Ocean University of China, 2013 [胡莹英. 黄、东海水温季节和年际变化特征分析. 中国海洋大学硕士研究生学位论文, 2013]
- Kotta J, Orav-Kotta H, Paalme T. *In situ* evidence on the role of benthic invertebrates on the decomposition of drifting algal mats in a brackish water ecosystem. *International Conference on Biosciences, IEEE*, 2010
- Kowalczyk P, Stonegiert J, Cooper WJ, *et al.* Characterization of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the Baltic Sea by excitation emission matrix fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry*, 2005, 96(3): 273–292
- Lemley DA, Snow GC, Human LRD. The decomposition of estuarine macrophytes under different temperature regimes. *Water SA*, 2014, 40(1): 117
- Li HM, Zhang YY, Han XR, *et al.* Growth responses of *Ulva prolifera* to inorganic and organic nutrients: Implications for macroalgal blooms in the southern Yellow Sea, China. *Scientific Reports*, 2016, 6: 26498
- Li HM, Zhang YY, Liang YT, *et al.* Impacts of maricultural activities on characteristics of dissolved organic carbon and nutrients in a typical raft-culture area of the Yellow Sea, North China. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 137: 456–464
- Li HM, Zhang YY, Tang HJ, *et al.* Spatiotemporal variations of inorganic nutrients along the Jiangsu coast, China, and the occurrence of macroalgal blooms (green tides) in the southern Yellow Sea. *Harmful Algae*, 2017, 63: 164–172
- Litz L. CDOM and DOC production by the salt marsh cordgrass *Spartina alterniflora*. University of Massachusetts Boston, 2006
- Liu DY, Keesing JK, Dong ZJ, *et al.* Recurrence of the world's largest green-tide in 2009 in Yellow Sea, China: *Porphyra yezoensis* aquaculture rafts confirmed as nursery for macroalgal blooms. *Marine Pollution Bulletin*, 2010, 60(9): 1423–1432
- Liu XQ, and Wang ZL. A review of the green tides in the Yellow Sea, China. *Marine Environmental Research*, 2016, 119: 189–196
- Lønborg C, Álvarez-Salgado XA, Letscher RT, *et al.* Large stimulation of recalcitrant dissolved organic carbon degradation by increasing ocean temperatures. *Frontiers in Marine Science*, 2018, 4: 436
- Marie D, Partensky F, Vaultot D, *et al.* Enumeration of phytoplankton, bacteria, and viruses in marine samples. *Current Protocols in Cytometry*, 1999, 11: 1–15
- Murphy KR, Stedmon CA, Waite TD, *et al.* Distinguishing between terrestrial and autochthonous organic matter sources in marine environments using fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry*, 2008, 108(1–2): 40–58
- Osburn CL, Mikan MP, Etheridge JR, *et al.* Seasonal variation in the quality of dissolved and particulate organic matter exchanged between a salt marsh and its adjacent estuary. *Journal of Geophysical Research Biogeosciences*, 2015, 120(7): 1430–1449

- Stedmon CA, Bro R. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: A tutorial. *Limnology and Oceanography Methods*, 2008, 6(11): 572–579
- Stedmon CA, Markager S. Resolving the variability of dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis. *Limnology and Oceanography*, 2005, 50(2): 686–697
- Sun T. Distribution characteristics of silica in Bohai and Yellow Seas. Master's Thesis of the First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, 2014 [孙涛. 渤海与黄海水体和沉积物中硅的分布特征与影响因素. 国家海洋局第一海洋研究所硕士研究生学位论文, 2014]
- Valderrama JC. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry*, 1981, 10(2): 109–122
- Valiela I, Teal JM, Allen SD, *et al.* Decomposition in salt marsh ecosystems: The phases and major factors affecting disappearance of above-ground organic matter. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1985, 89(1): 29–54
- Wang C, Yu RC, Zhou MJ. Effects of the decomposing green macroalga *Ulva (Enteromorpha) prolifera* on the growth of four red-tide species. *Harmful Algae*, 2012, 16: 12–19
- Wang XC, Lee C. Decomposition of aliphatic amines and amino acids in anoxic salt marsh sediment. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1995, 59(59): 1787–1797
- Wang XC, Litz L, Chen RF, *et al.* Release of dissolved organic matter during oxic and anoxic decomposition of salt marsh cordgrass. *Marine Chemistry*, 2007, 105(3–4): 309–321
- Wang ZL, Fu MZ, Xiao J, *et al.* Progress on the study of the Yellow Sea green tides caused by *Ulva prolifera*. *Haiyang Xuebao*, 2018, 40(2): 1–13 [王宗灵, 傅明珠, 肖洁, 等. 黄海浒苔绿潮研究进展. *海洋学报*, 2018, 40(2): 1–13]
- Wang ZL, Xiao J, Fan SL, *et al.* Who made the world's largest green tide in China?—An integrated study on the initiation and early development of the green tide in Yellow Sea. *Limnology and Oceanography*, 2015, 60(4): 1105–1117
- White DS, Howes BL. Long-term <sup>15</sup>N-nitrogen retention in the vegetated sediments of a New England salt marsh. *Limnology and Oceanography*, 1994, 39: 1878–1892
- Xia B, Ma SS, Cui Y, *et al.* Distribution of temperature, salinity, dissolved oxygen, nutrients and their relationships with green tide in *Enteromorpha prolifera* outbreak area of the Yellow Sea. *Progress in Fishery Sciences*, 2009, 30(5): 94–101 [夏斌, 马绍赛, 崔毅, 等. 黄海绿潮(浒苔)暴发区温度、溶解氧和营养盐的分布特征及其与绿潮发生的关系. *渔业科学进展*, 2009, 30(5): 94–101]
- Xin M. Distribution characteristics of biogenic elements in the Yellow Sea and comparison of properties between the southern and northern Yellow Sea cold water masses. Master's Thesis of the First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, 2011 [辛明. 黄海生源要素的分布特征及南、北黄海冷水团性质比较. 国家海洋局第一海洋研究所硕士研究生学位论文, 2011]
- Zhang T, Wang XC. Release and microbial degradation of dissolved organic matter (DOM) from the macroalgae *Ulva prolifera*. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 125(1–2): 192–198
- Zhang YL, Gao G, Shi K, *et al.* Absorption and fluorescence characteristics of rainwater CDOM and contribution to Lake Taihu, China. *Atmospheric Environment*, 2014, 98: 483–491
- Zhao Z, Gonsior M, Luek J, *et al.* Picocyanobacteria and deep-ocean fluorescent dissolved organic matter share similar optical properties. *Nature Communications*, 2017, 8: 15284
- Zhou MJ, Liu DY, Anderson DM, *et al.* Introduction to the special issue on green tides in the Yellow Sea. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2015, 163(2015): 3–8

(编辑 马瑾艳)

## Release Dynamics and Composition of Dissolved Organic Matter from the Macroalgae *Ulva prolifera* under Different Temperature Regimes

GENG Qianqian<sup>1,2</sup>, CHEN Jing<sup>2</sup>, LI Hongmei<sup>2①</sup>, YANG Rujun<sup>1①</sup>, ZHANG Yongyu<sup>2</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100;

2. Key Laboratory of Biofuels, Shandong Provincial Key Laboratory of Energy Genetics, Qingdao Institute of Bioenergy and Bioprocess Technology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266101)

**Abstract** Large green tides of *Ulva prolifera* had become an annual event from 2007 to 2019 in the southern Yellow Sea and millions of tons of *U. prolifera* which were not salvaged settled to the bottom every year, releasing a large amount of biogenic elements such as C and N through degradation by microorganisms. This study discusses the effect of different temperature regimes on the release and the composition of dissolved organic matter (DOM) during the decomposition of *U. prolifera*. The results indicated that temperature significantly influenced the release of dissolved organic carbon (DOC) during 0~7 days ( $P<0.05$ ): the DOC concentration at 20°C was significantly higher than that at 15°C and 25°C. There was no significant difference in DOC concentration at different temperatures from day 7 to day 30 ( $P>0.05$ ). For dissolved organic nitrogen (DON), temperature did not significantly affect the release of DON during the first 7 days ( $P>0.05$ ). There were significant differences in DON concentration at different temperatures after 7 days ( $P<0.05$ ): the concentration of DON was significantly lower at higher temperature (i.e. 25°C). The reason for this was that some organic nitrogen was converted to inorganic forms of nitrogen by microorganism during day 7 to day 30 and a higher microorganism abundance at 25°C led to the transformation of more DON. The composition and fluorescence characteristics of fluorescent dissolved organic matter (FDOM) were evaluated by an excitation-emission matrix combined with parallel factor analysis (EEMs-PARAFAC). Three distinct dissolved organic matter fluorescent components (i.e. C1, C2, and C3) were identified using parallel factor analysis. C1, C2, and C3 were considered as tryptophan-like substances (also called protein-like substances), tryptophan-like substances and humic-like substances, respectively. The results showed that temperature had no significant impact on the composition of FDOM through comparing the relative content of three fluorescent components at different temperatures ( $P>0.05$ ). While the fluorescence intensities of C2 and C3 were larger with the higher temperature (i.e. 25°C). Temperature affecting the fluorescence intensity markedly ( $P<0.05$ ) may be caused by quicker microorganism decomposition rate under the higher temperature.

**Key words** *Ulva prolifera*; Decomposition; Dissolved organic matter; Temperature; Parallel factor analysis

① Corresponding author: LI Hongmei, E-mail: lihm@qibebt.ac.cn; YANG Rujun, E-mail: yangrj@ouc.edu.cn