

刘博,陈琳琳,李宝泉,等. 碳氮稳定同位素比值在潮间带大型底栖动物组织间差异性研究[J]. 海洋学报,2019,41(4):74—82, doi:10.3969/j.issn.0253-4193.2019.04.007

Liu Bo, Chen Linlin, Li Baoquan, et al. Carbon and nitrogen stable isotopes variations in different tissues of macrobenthos in the intertidal zone [J]. Haiyang Xuebao, 2019, 41(4):74—82, doi:10.3969/j.issn.0253-4193.2019.04.007

碳氮稳定同位素比值在潮间带大型底栖动物组织间差异性研究

刘博^{1,2}, 陈琳琳², 李宝泉², 侯西勇², 冯光海³, 李晓炜², 李秉钧^{1*}, 王玉珏^{2*}

(1. 烟台大学 海洋学院, 山东 烟台 264005; 2. 中国科学院 烟台海岸带研究所, 山东 烟台 264003; 3. 黄河三角洲国家级自然保护区大汶流管理站, 山东 东营 257500)

摘要: 近年来, 稳定同位素技术已被广泛应用于食物网研究中。然而, 生物样品取样部位对食物网构建的影响的研究相对少见。大型底栖动物作为潮间带食物网的重要组成部分, 在食物网研究中有必要对其采样部位进行统一, 以增加研究结果的准确性及可比较性。本研究选取黄河三角洲和烟台潮间带 10 种代表性的大型底栖动物, 比较 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 在不同采样部位中的差异。结果显示, 对于大多数底栖动物而言, 采样部位将直接影响到 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 的测定结果。当底栖动物作为摄食者, 需分析其食性和营养级时, 应统一采用肌肉组织, 如贝类的闭壳肌或足部肌肉, 蟹类的鳌足肌肉, 鱼类的背部肌肉; 当底栖动物作为被摄食者, 需分析次级消费者的食性和营养级时, 除多毛类采用去除消化道内容的体壁外, 其他种类应选取整体(难以被消化的组织除外), 如贝类的软体部, 蟹类肌肉与鳃等的混合组织。

关键词: 潮间带; 大型底栖动物; 碳氮稳定同位素; 食源和营养级分析; 采样部位选取

中图分类号: Q958.8

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2019)04-0074-09

1 引言

稳定同位素技术自 20 世纪 50 年代引入生态学领域以来, 在示踪食物来源^[1-2]、研究营养动力学^[3-4]、构建食物链和食物网^[5]等领域得到了广泛应用。常用作分析的稳定同位素 C ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) 和 N ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$), 在食物链中以一种可预测的方式传递^[6]; ^{13}C 在摄食者体内的富集因子很小, 因此常被用来追溯食源^[7]; ^{15}N 在摄食者体内富集因子较大, 常被

用来估算营养级^[8]。

同位素以不同的比值分配到两种新合成的物质中的现象称为同位素分馏(Isotope Fractionation), 食物经动物摄入并同化时, 同一机体内不同组织的碳、氮稳定同位素的富集因子存在差异^[9], 发生同位素分馏。食源类型^[10-11]、组织中新陈代谢效率^[12]、物质结构(蛋白质、脂肪的含量)^[13]等方面的差异均会导致同位素分馏。依据不同食源和消费者样品中的碳、氮稳定同位素值来构建食性分析的混合模型(Mixing

收稿日期: 2018-04-16; 修订日期: 2018-12-05。

基金项目: 美丽中国生态文明建设科技工程专项(XDA23050202, XDA23050304); 国家自然科学基金项目(41776126); 中国科学院烟台海岸带研究所自主部署项目(YICY755021012); 中国科学院前沿科学重点研究项目(QYZDB-SSW-DQC041)。

作者简介: 刘博(1993—), 湖北省孝感市人, 主要从事水生生物学研究。E-mail: Liu718311@163.com

* 通信作者: 李秉钧, 教授, 主要从事水生生物学研究。E-mail: Li6234307@163.com; 王玉珏, 副研究员, 主要从事海洋生态学。E-mail: yjwang@yic.ac.cn

Models)^[14-15]和构建连续营养图谱^[16]是研究食物网的重要手段。因为同位素的测定值在很大程度上取决于选取生物样的组织类型,这种组织间差异是可预测的,由此可依据不同的研究目的选取适宜的组织^[17-18]。如对于大多数鱼类而言,用其肌肉组织中的稳定同位素值构建的混合模型相比于其它组织更为准确^[19]。目前的研究中,各物种有经验性的取样部位,如虾类一般取其肌肉,对于蟹类,则取其大螯肌肉。

虽然部分生物采样部位是固定的,但仍有很多种类采样部位不统一。贝类取样部位常为闭壳肌或去壳后的软体部分,如 Linnebjerg 等^[5]在研究西格陵兰岛的食物网时,冰岛扇贝 *Chlamys islandica* 和紫贻贝 *Mytilus edulis* 的碳、氮稳定同位素分析部位分别为闭壳肌和整个软体部,最终计算出的营养级分别为 2.0 和 1.5;头足类的取样部位常为外套膜或吻部等,如 Cherel 等^[20]在 Kerguelen 岛附近海域捕获南洋力士钩鱿 *Moroteuthis ingens* 和七星鱿 *Martialia hysidesi*,两者 $\delta^{15}\text{N}$ 分析部位分别为外套膜和吻部,最终计算出营养级分别为 4.1 和 3.4。我们可以认为,组织间氮稳定同位素分馏是导致营养级差距的原因之一^[21]。此外,当生物作为食源时,由于摄食者的不选择性,如蟹类,仅选取大螯内的肌肉分析未必能代表其实际的碳氮同位素值。且目前文献中缺乏对物种

作为食源和摄食者时不同部位同位素指示作用的方法学研究,基于此,本研究选取黄河三角洲大汶流潮间带和烟台牟平潮间带具有代表性的 10 种消费者,测定其不同组织中的碳、氮稳定同位素值,比较组织间差异,藉此探讨在潮间带食物网研究中,选取适宜的组织部位进行稳定同位素分析的重要性。

2 材料与方法

2.1 样品采集及处理

2017 年 8 月和 2018 年 9 月在黄河三角洲自然保护区大汶流潮间带(37°44'4.62"~37°47'59.00"N, 119°9'32.86"~119°15'6.76"E)和烟台牟平潮间带(37°26'20.71"N, 121°36'58.01"E)采集大型底栖动物。现场冲洗干净生物表面的泥沙,置于-20℃冷冻保存。带回实验室进行物种鉴定,用解剖刀和手术剪解剖,分离出以下组织或混合组织(表 1)。其中,日本刺沙蚕 *Neanthes japonica* 需在显微镜下以解剖刀和镊子剔除消化道内沉积物颗粒,即为体壁;鲶 *Planiliza haematocheila* 整体需去除内脏组织。将同一物种 5~9 个个体的组织或混合组织合并为一个样品,所有样品冷冻干燥后研磨成细粉,过 100 目筛网。日本刺沙蚕和鲶的组织样被分为两份,其中一份以 1 mol/L HCl 酸化去除无机碳后,待测定碳稳定同位素,另一份待测定氮稳定同位素。

表 1 大型底栖动物及其相应的同位素分析取样部位

Tab.1 Macrobenthos and sampling parts for stable isotope analysis

采样时间	物种	采集地	取样部位	样品数
2017 年 8 月	泥螺 <i>Bullacta exarata</i>	黄河三角洲大汶流潮间带	软体部分	9
			足部肌肉	5
	菲律宾蛤仔 <i>Ruditapes philippinarum</i>	烟台牟平潮间带	软体部分	6
			闭壳肌	6
	日本刺沙蚕 <i>Neanthes japonica</i>	黄河三角洲大汶流潮间带	整体	6
			体壁	6
	日本大眼蟹 <i>Macrophthalmus japonicus</i>	黄河三角洲大汶流潮间带	鳃	6
肌肉			6	
2018 年 9 月	脊尾白虾 <i>Exopalaemon carinicauda</i>	黄河三角洲大汶流潮间带	虾球	6
			背部肌肉	6
	鲶 <i>Planiliza haematocheila</i>	黄河三角洲大汶流潮间带	整体	6
			背部肌肉	6
日本蜆 <i>Charybdis japonica</i>	烟台牟平潮间带	鳃	6	
		肌肉	6	

续表 1

采样时间	物种	采集地	取样部位	样品数
2018 年 9 月	单齿螺 <i>Monodonta labio</i>	烟台牟平潮间带	软体部分	6
			足部肌肉	6
	纵肋织纹螺 <i>Nassarius variciferus</i>	烟台牟平潮间带	软体部分	6
			足部肌肉	6
	海湾扇贝 <i>Argopecten irradians</i>	烟台牟平潮间带	软体部分	6
			闭壳肌	6

2.2 组织中有有机碳、氮含量及同位素组成的测定

每个待测样品取 0.5~1 mg,用 4 mm×6 mm 锡杯包样后,在 Mat253 同位素质谱仪(Thermo Fisher, 美国)中测定碳、氮稳定同位素,Flash 2000 元素分析仪(Thermo Fisher, 美国)中测定样品中的有机碳、氮含量(TOC、TN)。各样品中的 C/N 比由 TOC 和 TN 的比值计算得出。同位素含量测定采用国际上通用的 δ 值表达式,即

$$\delta X(\%) = [(R_{\text{样}}/R_{\text{标}}) - 1] \times 1000, \quad (1)$$

式中, X 为 ^{13}C 或 ^{15}N ; $R_{\text{样}}$ 和 $R_{\text{标}}$ 分别为样品和标准的同位素比值,对于 C 同位素, $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$,以 VPDB 为标准物;对于 N 同位素, $R = ^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$,以空气中的 N_2 为标准物。分析精度 $\delta^{13}\text{C} < 0.20\%$, $\delta^{15}\text{N} < 0.40\%$ 。

2.3 数据分析

采用 SPSS 18.0 统计软件进行不同组织间同位素水平的显著性差异分析,若两组数据方差不齐,则将数据进行 $\lg X$ 置换后再做方差分析。

3 结果与讨论

3.1 底栖动物体内碳、氮稳定同位素特征

各样品中 $\delta^{13}\text{C}$ 最低值和最高值分别为 $(-27.85 \pm 0.98)\%$ (鲛整体)和 $(-11.66 \pm 0.33)\%$ (泥螺软体部分), $\delta^{15}\text{N}$ 最低值和最高值分别为 $(4.81 \pm 0.61)\%$ (泥螺软体部分)和 $(13.05 \pm 0.21)\%$ (纵肋织纹螺腹足肌肉)。泥螺 $\delta^{13}\text{C}$ 值高,分析与其喜刮食底栖硅藻有关^[22]。日本刺沙蚕和菲律宾蛤仔的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相近 $(-19.73\% \sim -18.16\%)$,但这并不能说明两者食性相似,因为两者来自于不同的生态系统,实际上它们确实存在很大的食性差异:前者为沉积食性,后者为滤食性。鲛属腐屑食性鱼类^[23],可将沉积物中的营养物质重新流通到生态系统进行再循环,与沙蚕在生态系统中的作用类似,因此两者 $\delta^{13}\text{C}$ 值均偏低(图 1)。同理,考虑到生态系统的差异,用 $\delta^{15}\text{N}$ 值的大小

无法准确指示底栖动物的营养级差异。基于本文研究目的,下面将重点讨论各底栖动物组织间碳、氮同位素差异。

3.2 底栖动物组织间碳、氮稳定同位素差异

对底栖动物各物种不同采样部位 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 进行方差分析(表 2)。纵肋织纹螺、海湾扇贝、日本刺沙蚕、脊尾白虾和鲛相应取样部分间 $\delta^{13}\text{C}$ 值均无显著差异($P > 0.05$),另 5 种底栖动物组织间 $\delta^{13}\text{C}$ 值存在显著差异($P < 0.05$),泥螺和单齿螺的足部肌肉 $\delta^{13}\text{C}$ 值显著高于整体水平,均值分别相差 0.86% 和 1.89%;菲律宾蛤仔闭壳肌中 $\delta^{13}\text{C}$ 值显著低于整体水平,均值相差 0.56%;日本大眼蟹和日本蟳的肌肉中 $\delta^{13}\text{C}$ 值均显著高于鳃中 $\delta^{13}\text{C}$ 值,均值分别相差 1.99% 和 1.23%。

泥螺、单齿螺、纵肋织纹螺、菲律宾蛤仔和脊尾白虾等生物的肌肉与整体之间的 $\delta^{15}\text{N}$ 值无显著差异($P > 0.05$),表明当它们作为摄食者,需依据 $\delta^{15}\text{N}$ 值来计算其营养级时,肌肉组织可以代替整体组织进行 $\delta^{15}\text{N}$ 分析。另 5 种底栖动物组织间 $\delta^{15}\text{N}$ 值存在显著差异($P < 0.05$)且均值相差较大。海湾扇贝闭壳肌中 $\delta^{15}\text{N}$ 值显著高于整体,均值相差 1.05%;日本刺沙蚕体壁中 $\delta^{15}\text{N}$ 值显著高于整体,均值相差 3.97%;日本大眼蟹和日本蟳的肌肉中 $\delta^{15}\text{N}$ 值显著高于鳃组织,均值分别相差 1.71% 和 1.43%;鲛背部肌肉 $\delta^{15}\text{N}$ 值显著高于整体,均值相差 1.71%(表 2)。

由于生物各组织对营养物质的同化效率不同,组织间同位素丰富度往往存在差异^[24],这些差异往往会造成捕食者食源或营养级分析偏差。张妙等研究发现,相比于肝脏,通过鳃中 $\delta^{15}\text{N}$ 值估算的营养级更加接近世界鱼类数据库(Fishbase)中的黄颡鱼营养级^[25],不同部位中的碳、氮稳定同位素特征可以反映摄食者食性或营养级在时间/空间尺度上的变化,如在利用碳同位素示踪食物来源时,鸟类的羽毛、爪指

甲和血液分别可以反映 9 个月、3 个月和 8 天以内的 食物来源^[26]。

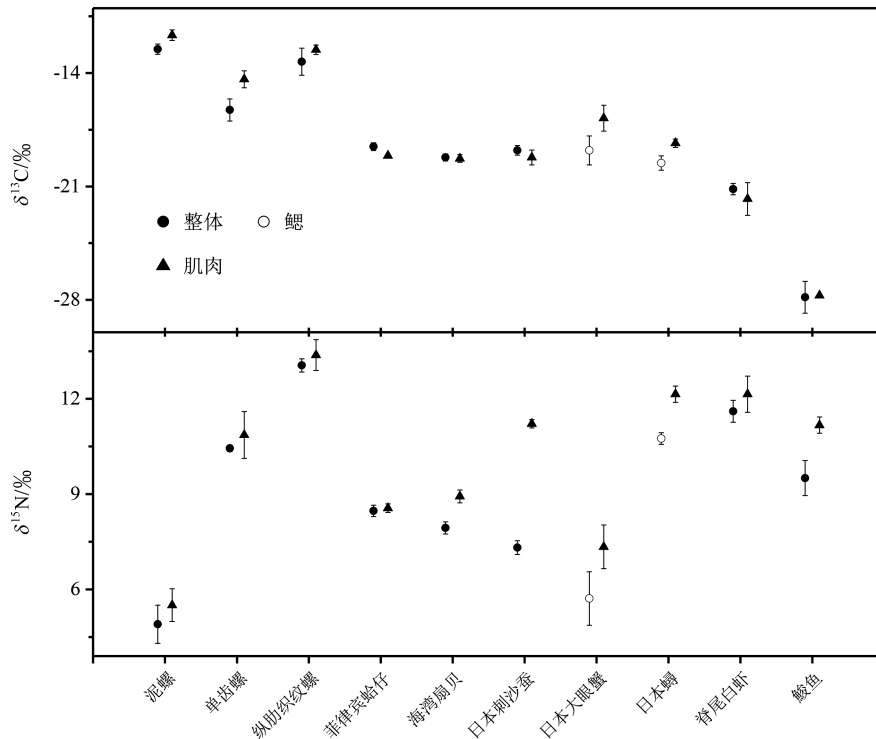


图 1 大型底栖动物不同组织中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值(平均值 \pm 标准偏差)

Fig.1 $\delta^{13}\text{C}$ / $\delta^{15}\text{N}$ values in different tissues of macrobenthos(Mean \pm SD)

为叙述方便,软体动物整体指软体部分,脊尾白虾整体指虾球,鲛整体不包括内脏组织,日本刺沙蚕肌肉实为去除消化道内容物后的体壁
For convenience, whole bodies of mollusks refer to the soft parts; whole bodies of *Exopalaemon carinicauda* refer to shrimp balls; whole bodies of *Planiliza haematocheila* refer to the body parts without viscera; muscles of *Neanthes japonica* refer to the body parts without digestive tract contents

表 2 大型底栖动物组织间 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 单因素方差分析结果

Tab.2 One-way analysis of variance results of $\delta^{13}\text{C}$ / $\delta^{15}\text{N}$ in tissues of macrobenthos

物种	样品	自由度	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$		$\delta^{15}\text{N}/\text{‰}$		
			F	P	F	P	
泥螺	软体部分	足部肌肉	12	23.083	<0.001*	4.625	0.053
单齿螺	软体部分	足部肌肉	10	28.863	<0.001*	2.267	0.163
纵肋织纹螺	软体部分	足部肌肉	10	4.172	0.068	2.421	0.151
菲律宾蛤仔	软体部分	闭壳肌	10	29.446	<0.001*	2.421	0.151
海湾扇贝	软体部分	闭壳肌	10	0.255	0.625	84.800	<0.001*
日本刺沙蚕	整体	体壁	10	3.769	0.081	1 418.096	<0.001*
日本大眼蟹	鳃	肌肉	10	14.833	0.004*	14.666	0.003*
日本蛸	鳃	肌肉	10	33.853	<0.001*	122.838	<0.001*
脊尾白虾	虾球	背部肌肉	10	1.897	0.198	4.252	0.066
鲛	整体	背部肌肉	10	0.094	0.765	46.732	<0.001*

注:“*”表明 $P < 0.05$, 两者有显著差异。

目前关于组织间同位素分馏的研究主要针对鱼类^[27]、鸟类^[28],以及家畜^[29-30]等脊椎动物,极少涉及除了虾类之外的无脊椎动物^[13,31]。食物网调查中根据不同研究目的对同位素的分馏要求不同,如食源分析中需要碳同位素具备的低/固定分馏作用,而营养级别分析中则更要求氮同位素分馏明显。因此,选择适于分析同位素的组织部位是提高研究结果可靠性的重要依据^[21]。本研究中,有 8 种大型底栖动物体内出现 $\delta^{13}\text{C}$ 或 $\delta^{15}\text{N}$ 值的分布差异,进一步强调了潮间带食物网研究中选取适合组织作为分析对象的必要性。

3.3 C/N 比对稳定同位素测定结果的影响

底栖动物各采样部位中 C/N 比值如表 3 所示,大多数动物肌肉中 C/N 比值低于整体水平。泥螺软体部分的 C/N 比为 6.60 ± 1.17 ,为各样品中最高,均值高于肌肉 1.83。脊尾白虾和鮫等底栖动物肌肉中 C/N 比与相应整体差值不大,鮫背部肌肉 C/N 比为 2.93 ± 0.25 ,为各样品中最低。日本刺沙蚕整体、日本大眼蟹鳃组织和日本蛄鳃组织中,C/N 比分别为 4.51 ± 2.85 、 5.45 ± 2.70 和 4.65 ± 1.39 ,标准差较大。

机体内 C/N 比可以反映脂质和蛋白质含量,生

物某组织 C/N 值越大,该组织中脂质含量越高而蛋白质含量越低^[32]。由于机体在合成脂质时,倾向于使用原子质量较小的 ^{12}C ^[33],脂质中 ^{13}C 发生贫化(depletion)^[34-35],本研究中部分样品 $\text{C/N} > 3.5$ (表 3),表明组织中脂质含量差异是造成机体内碳同位素分馏的原因之一。日本大眼蟹和日本蛄肌肉中 $\delta^{13}\text{C}$ 值均显著高于鳃,鳃中 C/N 值变化范围分别为 2.65~10.46 和 2.35~6.12,稳定性很差,且均值高出肌肉 44.18%、72.22%,可推断鳃中脂质含量较高,C/N 值变化范围较大是由于鳃中脂质分布不均匀^[36],由此可见蟹类的肌肉较鳃组织更为稳定。

鮫肌肉组织中的脂质和蛋白质含量与整体水平相近(C/N 比差值为 0.66)(表 3),但肌肉中 $\delta^{15}\text{N}$ 值显著高于整体组织,可能是由于肌肉中的必需氨基酸含量低于整体水平,因为新合成的蛋白质中必需氨基酸含量越低, ^{15}N 的富集因子越大^[37]。摄食者体内的必需氨基酸全部来自于食物,此类氨基酸中的 ^{15}N 由食物传递至摄食者的过程中将不发生富集^[38-39]。摄食者组织中的必需氨基酸与食源中对应氨基酸中氮同位素分馏不明显,无法用于区分营养级,因此不适用于营养级别的研究。

表 3 大型底栖动物不同组织中的 C/N 比

Tab.3 C/N ratios in different tissues of macrobenthos

物种	样品	样品数	C/N
泥螺	软体部分	9	6.60 ± 1.17
	足部肌肉	5	4.77 ± 0.81
单齿螺	软体部分	6	4.01 ± 0.54
	足部肌肉	6	3.17 ± 0.25
纵肋织纹螺	软体部分	6	3.70 ± 0.27
	足部肌肉	6	3.18 ± 0.41
菲律宾蛤仔	软体部分	6	3.73 ± 0.27
	闭壳肌	6	3.32 ± 0.34
海湾扇贝	软体部分	6	3.22 ± 0.47
	闭壳肌	6	2.68 ± 0.10
日本刺沙蚕	整体	6	4.51 ± 2.85
	体壁	6	4.80 ± 0.35
日本大眼蟹	鳃	6	5.45 ± 2.70
	肌肉	6	3.78 ± 0.70
日本蛄	鳃	6	4.65 ± 1.39
	肌肉	6	2.70 ± 0.15

续表 3

物种	样品	样品数	C/N
脊尾白虾	虾球	6	3.51±0.14
	背部肌肉	6	3.08±0.12
鮫	整体	6	3.59±0.92
	肌肉	6	2.93±0.25

3.4 适用于碳、氮稳定同位素分析的组织

3.4.1 组织间 $\delta^{13}\text{C}$ 差异在食物网研究中的意义

纵肋组织纹螺腹足肌、海湾扇贝闭壳肌、日本刺沙蚕的体壁、脊尾白虾和鮫的肌肉与各自整体之间的 $\delta^{13}\text{C}$ 无显著差异 ($P > 0.05$), 表明这些底栖动物在物质同化过程中的组织间 $\delta^{13}\text{C}$ 分馏效应可以忽略, 在食物网研究中, 用肌肉或整体进行 $\delta^{13}\text{C}$ 分析均可。另 5 种底栖动物组织间 $\delta^{13}\text{C}$ 值有显著差异, 作为食源和摄食者, $\delta^{13}\text{C}$ 分析的组织应视情况而定。

利用 $\delta^{13}\text{C}$ 值分析次级消费者食源, 即底栖动物作为被摄食者时, 采样分析部位需是可被次级消费者同化的组织。曾庆飞等^[40]认为, 因为壳中同位素也来自于食物, 故当带壳生物作为捕食者时, 同位素分析应该保留其壳, 然而鉴于贝类壳体中 $\delta^{13}\text{C}$ 值常出现负漂移^[41-42], 我们在未知漂移规律的情况下, 应慎用壳体中的同位素信息指示动物任何时期的食性。其它壳体, 如甲壳动物的外壳, 其中含有大量不能被摄食者消化的甲壳素(虾蟹壳内占 20%~30%)^[43], 不能用做同位素分析。动物的所有可被摄食者消化的组织都应被考虑在内, 且不需要进行人工脱脂处理^[44]。由于肌肉中的 $\delta^{13}\text{C}$ 值无法代表整体 $\delta^{13}\text{C}$ 水平, 故必需采用整体, 可将底栖动物所有软体组织充分混合。

利用 $\delta^{13}\text{C}$ 值分析初级消费者食源, 即底栖动物作为摄食者时, 我们优选脂质含量较低的组织。如分析泥螺食性时, 不可用 C/N > 6 的整体作为 $\delta^{13}\text{C}$ 分析对象, 用 C/N 比较低 (4.77±0.81) 的肌肉组织更为合适。日本大眼蟹和日本蛄的肌肉较鳃组织更稳定, 更适用于做 $\delta^{13}\text{C}$ 分析。

3.4.2 组织间 $\delta^{15}\text{N}$ 值差异在食物网研究中的意义

食物网营养结构的研究中, 有学者依据生物样本的个体大小选取稳定同位素分析组织, 对于个体大的物种, 如鱼类, 一般仅取肌肉, 个体小的物种如多毛类和小型蟹类则取整体^[45], 也有学者无论个体大小均只取肌肉^[46]。泥螺、单齿螺、纵肋组织纹螺、菲律宾蛤

仔和脊尾白虾等生物的肌肉与整体之间的 $\delta^{15}\text{N}$ 值无显著差异 ($P > 0.05$), 表明它们在食物网研究中, 用肌肉或整体进行 $\delta^{15}\text{N}$ 分析均可。然而另 5 种底栖动物肌肉中的 $\delta^{15}\text{N}$ 值显著区别于整体水平, 则需考虑肌肉和整体整合了不同的营养信息, 当它们作为被摄食者和摄食者, $\delta^{15}\text{N}$ 分析的组织应视情况而定。

计算生态系统中各消费者的营养级时, 常采用常见的初级消费者作为基线 (baseline) 生物^[7,47], 底栖动物常充当此角色, 此时采样分析部位需是所有可被次级消费者同化的组织。此处与 $\delta^{13}\text{C}$ 值道理相同, 廖建基等^[48]采用菲律宾蛤仔闭壳肌中的 $\delta^{15}\text{N}$ 平均值作为营养级研究的基线值, 可以代表菲律宾蛤仔整个软体部分的 $\delta^{15}\text{N}$ 水平。用 $\delta^{15}\text{N}$ 值分析初级消费者营养级, 即底栖动物作为摄食者时, 可优先选择同食源相比, $\delta^{15}\text{N}$ 分馏明显的组织, 最终计算出的营养级才能同食源之间有更明显的区分。因此就鮫而言, 背部肌肉的 $\delta^{15}\text{N}$ 分析优于整体分析。本研究中多数物种肌肉中的 $\delta^{15}\text{N}$ 值均略高于整体, 蟹类肌肉 $\delta^{15}\text{N}$ 值也高于鳃, 表明当动物作为摄食者, 研究其营养级时, 可优先考虑采用肌肉作为 $\delta^{15}\text{N}$ 分析样品。

日本刺沙蚕体壁与其整体之间 $\delta^{15}\text{N}$ 值有差异显著, 然而由于其具有特殊的摄食习性, $\delta^{15}\text{N}$ 分馏的原因与其他底栖动物不同。研究发现, 沙蚕日吞食沉积物的量超过其体重值(干重)^[49]。在解剖过程中, 我们也发现其消化道内存有大量沉积物颗粒, 由于这些沉积物中含有大量未被同化的氮元素, 并影响到 $\delta^{15}\text{N}$ 分析结果, 因此食物网研究中, 沙蚕应去除消化道内容物后再进行同位素分析。

4 结论

(1) 本研究选取的 10 种潮间带常见大型底栖动物, 除纵肋组织纹螺和脊尾白虾外, 体内均出现了不同程度的 $\delta^{13}\text{C}$ 或 $\delta^{15}\text{N}$ 值分布差异, 表明采样部位将直接影响到碳、氮稳定同位素的测定结果。因此在食物网研究中, 应选取大型底栖动物的适宜的部位进行分

析,以增加溯源和营养级评估的准确性。

(2)底栖动物处于食物链的中间环节,既是摄食者又是被摄食者,应根据研究目的,选取合适的稳定同位素分析部位。当底栖动物作为摄食者,分析其食性和营养级时,应统一采用肌肉组织中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和

$\delta^{15}\text{N}$ 值;当底栖动物作为被摄食者,分析次级消费者的食性和营养级时,除多毛类采用去除消化道内容物的体壁外,其他种类统一采用整体(难以被消化的组织除外) $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值更为合适。

参考文献:

- [1] Ramírez F, Navarro J, Afán I, et al. Adapting to a changing world: unraveling the role of man-made habitats as alternative feeding areas for Sander-Billed Gull (*Chroicocephalus Genei*)[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47551.
- [2] Park H J, Kang H Y, Park T H, et al. Comparative trophic structures of macrobenthic food web in two macrotidal wetlands with and without a dike on the temperate coast of Korea as revealed by stable isotopes[J]. Marine Environmental Research, 2017, 131: 134–145.
- [3] Boecklen W J, Yarnes C T, Cook B A, et al. On the use of stable isotopes in trophic ecology[J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2011, 42: 411–440.
- [4] Willis T V, Wilson K A, Johnson B J. Diets and stable isotope derived food web structure of fishes from the inshore Gulf of Maine[J]. Estuaries and Coasts, 2017, 40(3): 889–904.
- [5] Linnebjerg J F, Hobson K A, Fort J, et al. Deciphering the structure of the West Greenland marine food web using stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) [J]. Marine Biology, 2016, 163: 230.
- [6] 陈展彦, 武海涛, 王云彪. 基于稳定同位素的湿地食物源判定和食物网构建研究进展[J]. 应用生态学报, 2017, 28(7): 2389–2398.
Chen Zhanyan, Wu Haitao, Wang Yunbiao, et al. Research progress on food sources and food web structure of wetlands based on stable isotopes [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(7): 2389–2398.
- [7] Post D M. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions[J]. Ecology, 2002, 83(3): 703–718.
- [8] Bond A L, Jones I L. A practical introduction to stable-isotope analysis for seabird biologists: approaches, cautions and caveats[J]. Marine Ornithology, 2009, 37(3): 183–188.
- [9] Chérel Y, Connan M, Jaeger A, et al. Seabird year-round and historical feeding ecology: Blood and feather $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values document foraging plasticity of small sympatric petrels[J]. Marine Ecology Progress Series, 2014, 505: 267–280.
- [10] Robbins C T, Felicetti L A, Sponheimer M. The effect of dietary protein quality on nitrogen isotope discrimination in mammals and birds[J]. Oecologia, 2005, 144(4): 534–540.
- [11] Montanari S, Amato G. Discrimination factors of carbon and nitrogen stable isotopes from diet to hair and scat in captive tigers (*Panthera tigris*) and snow leopards (*Uncia uncia*)[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2015, 29(11): 1062–1068.
- [12] Storm-Suke A, Wassenaar LI, Nol E, et al. The influence of metabolic rate on the contribution of stable-hydrogen and oxygen isotopes in drinking water to quail blood plasma and feathers[J]. Functional Ecology, 2012, 26(5): 1111–1119.
- [13] Devries M S, Del Rio C M, Tunstall T S, et al. Isotopic incorporation rates and discrimination factors in mantis shrimp crustaceans[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0122334.
- [14] Ben-David M, Schell D M. Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a response[J]. Oecologia, 2001, 127(2): 180–184.
- [15] Phillips D L, Inger R, Bearhop S, et al. Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies[J]. Canadian Journal of Zoology, 2014, 92(10): 823–835.
- [16] 宁加佳, 杜飞雁, 李亚芳, 等. 红海湾远海梭子蟹 *Portunus pelagicus* 的食物组成及营养位置分析[J]. 海洋学报, 2016, 38(10): 62–69.
Ning Jiajia, Du Feiyan, Li Yafang, et al. Dietary composition and trophic position of blue swimmer crab (*Portunus pelagicus*) in Honghai Bay[J]. Haiyang Xuebao, 2016, 38(10): 62–69.
- [17] Britton J R, Busst G M A. Stable isotope discrimination factors of omnivorous fishes: influence of tissue type, temperature, diet composition and formulated feeds[J]. Hydrobiologia, 2018, 808(1): 219–234.
- [18] Grey J, Graham C T, Britton J R, et al. Stable isotope analysis of archived roach (*Rutilus rutilus*) scales for retrospective study of shallow lake responses to nutrient reduction[J]. Freshwater Biology, 2009, 54(8): 1663–1670.
- [19] Tronquart N H, Mazeas L, Reuilly-Manenti L, et al. Fish fins as non-lethal surrogates for muscle tissues in freshwater food web studies using stable isotopes[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2012, 26(14): 1603–1608.
- [20] Chérel Y, Ducatez S, Fontaine C, et al. Stable isotopes reveal the trophic position and mesopelagic fish diet of female southern elephant seals breeding on the Kerguelen Islands[J]. Marine Ecology Progress, 2008, 370: 239–247.
- [21] Guelinckx J, Maes J, Van Den Driessche P, et al. Changes in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in different tissues of juvenile sand goby *Pomatoschistus minutus*: a laboratory diet-switch experiment[J]. Marine Ecology Progress, 2007, 341: 205–215.
- [22] 蔡德陵, 洪旭光, 毛兴华, 等. 崂山湾潮间带食物网结构的碳稳定同位素初步研究[J]. 海洋学报, 2001, 23(4): 41–47.
Cai Deling, Hong Xuguang, Mao Xinghua, et al. Preliminary studies on trophic structure of tidal zone in the Laoshan Bay by using carbon stable isotopes[J]. Haiyang Xuebao, 2001, 23(4): 41–47.

- [23] 康斌, 线微微, 武云飞. 不同摄食水平条件下鲮的碳收支研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2007, 37(2): 247—250.
Kang Bin, Xian Weiwei, Wu Yunfei. Carbon budget of Redlip Mullet (*Liza haematocheila* T. & S.) under different feeding rates[J]. Periodical of Ocean University of China, 2007, 37(2): 247—250.
- [24] 孙丰梅, 于洪侠, 石光雨, 等. 牛组织中稳定性同位素碳、氮随饲料变化的研究[J]. 分析测试学报, 2009, 28(3): 310—314.
Sun Fengmei, Yu Hongxia, Shi Guangyu, et al. Variational regularities of carbon and nitrogen stable isotopes in cattle tissues with feedstuff composition[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2009, 28(3): 310—314.
- [25] 张妙, 陈新军, 陈亚, 等. 黄颡鱼不同组织碳氮稳定同位素的周转与分馏研究[J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(6): 822—830.
Zhang Miao, Chen Xinjun, Chen Ya, et al. Turnover and fractionation of carbon and nitrogen stable isotopes in tissues of *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2016, 25(6): 822—830.
- [26] Gómez C, Larsen T, Popp B, et al. Assessing seasonal changes in animal diets with stable— isotope analysis of amino acids: a migratory boreal songbird switches diet over its annual cycle[J]. Oecologia, 2018, 187(1): 1—13.
- [27] Matley J K, Fisk A T, Tobin A J, et al. Diet—tissue discrimination factors and turnover of carbon and nitrogen stable isotopes in tissues of an adult predatory coral reef fish, *Plectropomus leopardus*[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2016, 30(1): 29—44.
- [28] Barquete V, Strauss V, Ryan P G. Stable isotope turnover in blood and claws: A case study in captive African Penguins[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2013, 448: 121—127.
- [29] Nardoto G B, De Godoy P B, De Barros Ferraz E S, et al. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and swine tissues[J]. Scientia Agricola, 2006, 63(6): 579—582.
- [30] De S S, Balcaen A, Claeys E, et al. Stable carbon isotope analysis of different tissues of beef animals in relation to their diet[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2004, 18(11): 1227—1232.
- [31] Suring E, Wing S R. Isotopic turnover rate and fractionation in multiple tissues of red rock lobster (*Jasus edwardsii*) and blue cod (*Parapercis colias*): consequences for ecological studies[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2009, 370(1/2): 56—63.
- [32] Post D M, Layman C A, Arrington D A, et al. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses[J]. Oecologia, 2007, 152(1): 179—189.
- [33] Deniro M J, Epstein S. Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis[J]. Science, 1977, 197(4300): 261—263.
- [34] Pinnegar J K, Polunin N V C. Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues: implications for the study of trophic interactions[J]. Functional Ecology, 1999, 13(2): 225—231.
- [35] Focken U, Becker K. Metabolic fractionation of stable carbon isotopes: implications of different proximate compositions for studies of the aquatic food webs using $\delta^{13}\text{C}$ data[J]. Oecologia, 1998, 115(3): 337—343.
- [36] 佟蕊, 成永旭, 吴旭干, 等. 3种不同栖息环境下蟹鳃的超微结构、脂类组成及含量的比较[J]. 水产学报, 2011, 35(9): 1426—1435.
Tong Rui, Chen Yongxu, Wu Xugan, et al. Ultrastructure and lipid profile of gills in three crabs living in different habitats[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(9): 1426—1435.
- [37] Reich K J, Bjorndal K A, Del Rio C M. Effects of growth and tissue type on the kinetics of ^{13}C and ^{15}N incorporation in a rapidly growing ectotherm[J]. Oecologia, 2008, 155(4): 651—663.
- [38] Gerrerger M E, Popp B N, Linley T D, et al. Comparative feeding ecology of abyssal and hadal fishes through stomach content and amino acid isotope analysis[J]. Deep Sea Research Part I Oceanographic Research Papers, 2017, 121: 110—120.
- [39] Memahon K W, Mccarthy M D. Embracing variability in amino acid $\delta^{15}\text{N}$ fractionation: mechanisms, implications, and applications for trophic ecology[J]. Ecosphere, 2016, 7(12): e01511.
- [40] 曾庆飞, 孔繁翔, 张恩楼, 等. 稳定同位素技术应用于水域食物网的方法学研究进展[J]. 湖泊科学, 2008, 20(1): 13—20.
Zeng Qingfei, Kong Fanxiang, Zhang Enlou, et al. Assessment of sample processing methods for stable isotope analysis of aquatic food webs[J]. Journal of Lake Sciences, 2008, 20(1): 13—20.
- [41] Gillikin D P, Lorrain A, Meng L, et al. A large metabolic carbon contribution to the $\delta^{13}\text{C}$ record in marine aragonitic bivalve shells[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2007, 71(12): 2936—2946.
- [42] 闫慧, 侯刚. 双壳类壳体碳同位素的负漂移现象: 生命效应存在的证据[J]. 热带地理, 2011, 31(6): 545—548.
Yan Hui, Hou Gang. Ontogenic decreases of $\delta^{13}\text{C}$ in bivalve shells: evidence of vital effect[J]. Tropical Geography, 2011, 31(6): 545—548.
- [43] 李彦艳, 张闪闪, 任国栋. 甲壳动物、昆虫、真菌中甲壳素的提取进展[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(7): 122—126.
Li Yanyan, Zhang Shanshan, Ren Guodong. The progress of chitin extracted from crustaceans, insect and Fungi[J]. Food Research and Development, 2015, 36(7): 122—126.
- [44] Wolf N, Newsome S D, Peters J, et al. Variability in the routing of dietary proteins and lipids to consumer tissues influences tissue—specific isotopic discrimination[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2015, 29(15): 1448—1456.
- [45] Andrade C, Ríos C, Gerdes D, et al. Trophic structure of shallow—water benthic communities in the sub—Antarctic Strait of Magellan[J]. Polar Biology, 2016, 39(12): 2281—2297.
- [46] 王萃, 杜双成, 杨婷越, 等. 应用稳定同位素技术评价大连近岸海域食物网营养结构[J]. 生态学杂志, 2017, 36(5): 1452—1457.
Wang Luo, Du Shuangcheng, Yang Tingyue, et al. Using stable isotopes to evaluate food web structure in Dalian coastal water[J]. Chinese Journal of Ecology, 2017, 36(5): 1452—1457.

- [47] Vander Zanden M J, Rasmussen J B. Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies[J]. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46(8): 2061–2066.
- [48] 廖建基, 郑新庆, 杜建国, 等. 基于氮稳定同位素的九龙江口鱼类营养级研究[J]. *海洋学报*, 2015, 37(2): 93–103.
Liao Jianji, Zheng Xinqing, Du Jianguo, et al. Study on trophic level of main fishes in the Jiulong River Estuary based on stable nitrogen isotope [J]. *Haiyang Xuebao*, 2015, 37(2): 93–103.
- [49] Lopez G R, Levinton J S. Ecology of deposit-feeding animals in marine sediments[J]. *Quarterly Review of Biology*, 1987, 62(3): 235–260.

Carbon and nitrogen stable isotopes variations in different tissues of macrobenthos in the intertidal zone

Liu Bo^{1,2}, Chen Linlin², Li Baoquan², Hou Xiyong², Feng Guanghai³, Li Xiaowei,
Li Bingjun¹, Wang Yujue²

(1. *School of Ocean, Yantai University, Yantai 264005, China*; 2. *Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China*; 3. *Dawenliu Station of the River Delta National Nature Reserve, Dongying 257500, China*)

Abstract: The technique of stable isotope analysis has been widely applied for the field of food web studies in recent years. However, few researches concerned about the impacts of different tissues used for analysis on the food web building. With the purpose of accuracy and comparability in the food web studies, the sampling tissues should be standardized. In this study, 10 macrobenthic species from the intertidal zone of the Yellow River Delta and Yantai were chosen as the target object to test the isotopic characteristic variations of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ at different body parts (whole bodies, muscles and gills). Our results show that $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values vary in different sampling tissues for most species, which indicates the different tissues used for analysis impact the food web building. To achieve a more accuracy and comparability result, suitable tissue should be primarily chosen for their food sources and trophic levels analysis. Namely, when the organism as predator, their muscles should first be chosen, for examples, adductor and foot muscles of mollusks, leg muscles of crabs and back muscles of fishes; when the organism as prey, most of their tissues, except for indigestible part (for polychaetes, the digestive tract contents should be removed) should be chosen for analysis on food sources and trophic levels of the secondary consumer, for example, whole soft parts of mollusks, the mixture of muscles and gills of crabs.

Key words: intertidal zone; macrobenthos; carbon and nitrogen stable isotopes; food sources and trophic levels study, sampling parts