

## 鳙 (*Aristichthy nobilis*)、鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 鱼鳞 作为稳定同位素研究非致命采样替代物的有效性\*

王玉玉<sup>1</sup>, 徐 军<sup>2</sup>, 雷光春<sup>1</sup>

(1: 北京林业大学自然保护区学院, 北京 100083)

(2: 中国科学院水生生物研究所, 东湖湖泊生态系统试验站, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072)

**摘 要:** 稳定同位素分析技术已成为食物网研究中的关键技术, 通用方法是取鱼类背部白色肌肉, 在实际应用过程会导致鱼类的死亡, 因而有所局限. 使用非致命组织作为稳定同位素研究中的替代组织越来越得到关注, 但是目前国内尚未开展相关研究. 比较鳙 (*Aristichthy nobilis*)、鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 鱼鳞与肌肉组织中  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  比值, 发现鳙、鲢的鱼鳞与肌肉组织中  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  比值均有显著差异. 鱼鳞  $\delta^{13}\text{C}$  比值比肌肉更富集, 平均高 2.54‰, 而  $\delta^{15}\text{N}$  比值比肌肉平均低 0.7‰. 对鳙、鲢的鱼鳞与肌肉组织  $\delta^{15}\text{N}$  比值含量进行相关分析发现, 通过构建线性模型, 可用校正后的鱼鳞  $\delta^{15}\text{N}$  比值替代肌肉组织  $\delta^{15}\text{N}$  比值. 鲢的鱼鳞与肌肉组织  $\delta^{13}\text{C}$  比值存在显著线性相关, 而鳙的鱼鳞与肌肉组织  $\delta^{13}\text{C}$  比值无显著相关关系.

**关键词:** 碳稳定同位素; 氮稳定同位素; 鱼鳞; 肌肉; 食物网; 鳙; 鲢

## Scale tissue of bighead carp and silver carp as nonlethal surrogates for muscle tissues in freshwater food web studies using stable isotopes

WANG Yuyu<sup>1</sup>, XU Jun<sup>2</sup> & LEI Guangchun<sup>1</sup>

(1: School of Nature Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, P. R. China)

(2: Donghu Experimental Station of Lake Ecosystems, State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology of China, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, P. R. China)

**Abstract:** Stable isotope analyses of carbon and nitrogen are now widely used in food web studies. Stable isotope analysis of fishes is often performed using muscle that require sacrificing animals. Nonlethal sampling provides an alternative way for evaluating isotopic composition for species of concern or individuals of exceptional value. In this research we compared stable carbon and nitrogen isotope values of white muscle with those from scales (nonlethal) in bighead carp (*Aristichthy nobilis*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) from Lake Poyang. Scale derived  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  differed significantly with muscle derived isotope values. Averaged scale  $\delta^{13}\text{C}$  value was 2.54‰ higher than muscle, while scale  $\delta^{15}\text{N}$  value was 0.7‰ lower than muscle. Both fish showed strong linear correlation in  $\delta^{15}\text{N}$  values between their nonlethal sampled scale and their muscle tissue, support the use of nonlethal sampled tissues for stable isotope analyses of fish. Strong correlation in  $\delta^{13}\text{C}$  only found between *H. molitrix* scale and muscle. Estimating muscle  $\delta^{13}\text{C}$  values from scale was not suggest for *A. nobilis*.

**Keywords:** Stable carbon isotope; stable nitrogen isotope; scale; muscle; food web; *Aristichthy nobilis*; *Hypophthalmichthys molitrix*

碳、氮稳定同位素分析技术是定量研究动物营养关系和食物来源的可靠方法<sup>[1-5]</sup>. 消费者体内碳稳定同位素的比值( $\delta^{13}\text{C}$ )通常与其食物来源相近, 仅有 <1‰ 的富集, 可以反映其同化吸收的物质来源<sup>[1]</sup>. 与碳稳定同位素不同, 氮稳定同位素比值( $\delta^{15}\text{N}$ )在生物体内随着营养级的增加而逐渐增高, 营养级间富集值平均为 3.4‰, 反映了消费者在食物网中的营养级位置<sup>[1]</sup>. 自 Pinnegar 等<sup>[6]</sup> 提出建议以来, 取鱼类背部白色肌肉

\* 国家自然科学基金项目(41301077, 31370473)资助. 2014-02-21 收稿; 2014-03-17 收修改稿. 王玉玉(1984~), 女, 博士, 讲师; E-mail: yuyuwang0407@gmail.com.

是相关研究通用的标准方法. 但是这一方法的缺陷是取背部白色肌肉意味着将鱼类杀死, 可能会对鱼类种群数量产生不利影响, 特别是对于濒危物种无法适用<sup>[7-8]</sup>. 且在对小种群和小型生态系统长时间的监测中, 避免鱼类的死亡可以减小实验偏差.

因此在食物网稳定同位素研究中使用非致命组织越来越受到人们的关注<sup>[7-8]</sup>. 鱼类常见的非致命取样方法中常采集的组织有血液<sup>[9]</sup>、粘液<sup>[10]</sup>、鱼鳞<sup>[11-13]</sup>和鱼鳍<sup>[7,14]</sup>. 鱼鳞是渔业资源调查中研究渔获物群落结构中判断鱼类年龄的常规采样组织. 不同种类鱼类对比研究表明非致命采样的组织鱼鳞与致命采样的组织白色肌肉  $\delta^{13}\text{C}$  或  $\delta^{15}\text{N}$  之间是高度相关的<sup>[7-8, 12-13]</sup>, 然而不同组织之间的同位素周转率并不相同<sup>[15]</sup>, 鱼鳞的同位素周转率比白色肌肉慢. 因此非致命和致命采样组织稳定同位素分析结果提供的信息并不一致<sup>[7-8, 12]</sup>. 开展鱼鳞等组织碳、氮稳定同位素含量与肌肉碳、氮稳定同位素含量之间关系的研究, 有着重要的应用意义. 对北美和欧洲多种淡水鱼类<sup>[7,11]</sup>以及海洋鱼类<sup>[12-13]</sup>的研究已经证明了可通过简单回归模型实现用非致命采样组织中的稳定同位素含量估算肌肉组织稳定同位素含量, 从而将历史数据和当前数据联系起来使用<sup>[11]</sup>. 但是关于我国鱼类的相关研究尚未开展.

为了更好地理解鱼类不同组织间碳、氮稳定同位素比值的差异以及为今后研究选择适合的组织提供建议, 本文选择了养殖产量分别位于中国淡水产品第 2 和第 4 位<sup>[16]</sup>, “四大家鱼”中的鳊 (*Aristichthy nobilis*) 和鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 作为研究对象, 目的是: (1) 比较鱼鳞与肌肉组织中  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  比值差异; (2) 分析二者  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  比值之间的关系, 探讨非致命采样组织替代致命采样组织的可行性.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

鳊和鲢样品均购于江西省九江市星子县临近鄱阳湖通江水道的渔市, 购买后立即带回实验室处理. 用蒸馏水清洗鱼身后, 首先测量个体体长, 刮取背部至侧线之间的鱼鳞, 使用手术刀切去鱼皮, 取侧线以上白色肌肉. 鱼类样品情况见表 1.

表 1 用于稳定同位素分析的鱼类样品数量、体长范围、肌肉和鱼鳞 C:N 均值

Tab. 1 Sample number, body length range, mean muscle C:N, mean scale C:N of stable isotope analyses

种名	数量	体长/cm	肌肉 C:N	鱼鳞 C:N
鳊	15	34.3 ~ 41.0	3.4	2.9
鲢	15	35.2 ~ 38.0	3.5	2.8

### 1.2 碳、氮稳定同位素含量测定

每份鱼鳞样品均使用 1 mol/L 盐酸浸泡后捞出, 用去离子水再次冲洗, 在 60°C 下烘干至恒重. 背部肌肉同样在 60°C 下烘干至恒重. 以上样品使用研钵研成均匀粉末, 干燥保存. 所有样品  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  比值均使用美国 Thermo 公司的 MAT 253 稳定同位素比值分析仪(中国科学院地理科学与资源研究所)测定.

### 1.3 数据分析

分别测定了 15 条鳊和鲢肌肉与鱼鳞的  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  比值. 首先使用配对样本  $t$  检验对 2 种鱼类肌肉和鱼鳞碳、氮稳定同位素比值的差异显著性进行分析, 之后分别构建肌肉与鱼鳞的碳、氮稳定同位素比值线性回归模型, 以上分析均使用 SPSS Statistics 19.0 软件.

## 2 结果与讨论

鳊的肌肉样品  $\delta^{13}\text{C}$  比值变化范围为  $-25.50\text{‰} \sim -24.54\text{‰}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  比值变化范围为  $7.39\text{‰} \sim 10.80\text{‰}$ ; 鱼鳞样品  $\delta^{13}\text{C}$  比值变化范围为  $-23.87\text{‰} \sim -22.96\text{‰}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  比值变化范围为  $7.58\text{‰} \sim 10.86\text{‰}$ . 鲢的肌肉样品  $\delta^{13}\text{C}$  比值变化范围为  $-23.87\text{‰} \sim -22.96\text{‰}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  比值变化范围为  $7.16\text{‰} \sim 9.28\text{‰}$ ; 鱼鳞样品  $\delta^{13}\text{C}$  比值变化范围为  $-29.48\text{‰} \sim -22.64\text{‰}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  比值变化范围为  $5.96\text{‰} \sim 8.31\text{‰}$ . 鳊与鲢的肌肉和鱼鳞样品中  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  比值均有显著差异 ( $P < 0.001$ ), 与之前对淡水和海洋鱼类的研究结果一致<sup>[7-8, 11-12]</sup>. 鱼鳞  $\delta^{13}\text{C}$  比值均比肌肉更富集, 平均高  $2.54\text{‰}$ , 与前人的研究结果相一致<sup>[7-8, 11]</sup> (表 2), 这可能与鱼鳞中脂类含量较肌肉少有关<sup>[12]</sup>. 而鱼鳞  $\delta^{15}\text{N}$  比值比肌肉平均低  $0.7\text{‰}$ , 也在已报道的变化范围内 (表 2). 此外, 鳞片与肌肉组织中稳定同位素含量的差异也有可能来自于不同组织间周转率的差异<sup>[15]</sup>. 尽管鱼鳞会在鱼类的生活史中持

续增长,但是它的化学成分相对稳定<sup>[7,11]</sup>. 而代谢周转和快速生长会在较短时间内改变肌肉的化学成分. 这一结果说明在用鱼鳞  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  比值替代肌肉  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  比值之前需要校准.

表2 文献记载的鱼鳞与肌肉  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  比值差值

Tab.2 Literature results on the differences between  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values in scale and muscle tissues of fish

物种	数量	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$	$\delta^{15}\text{N}/\text{‰}$
蓝鳃太阳鱼 ( <i>Lepomis macrochirus</i> )、驼背太阳鱼 ( <i>Lepomis macrochirus</i> )、 红胸太阳鱼 ( <i>Lepomis auritus</i> ) <sup>[7]</sup>	38	2.70	-1.30
玻璃梭鲈 ( <i>Sander vitreus</i> ) <sup>[8]</sup>	95	2.40	-0.20
真白鲢 ( <i>Coregonus lavaretus</i> ) <sup>[11]</sup>	144	2.70	-1.50
细点牙鲷 ( <i>Dentex dentex</i> ) <sup>[12]</sup>	20	3.02	-0.91
大西洋白姑鱼 ( <i>Argyrosomus regius</i> ) <sup>[12]</sup>	9	2.27	-1.69
条尾连鳍唇鱼 ( <i>Xyrichtys novacula</i> ) <sup>[12]</sup>	70	2.52	-0.96

尽管存在这些差异,但鱼鳞和肌肉同位素比值间有非常强的相关性. 对鳙、鲢肌肉和鱼鳞样品的  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  比值分别构建线性模型(图1)发现,除了鳙的鱼鳞和肌肉  $\delta^{13}\text{C}$  外,其余线性模型均非常显著( $P < 0.001$ )且有着非常高的相关系数( $R^2 > 0.8$ ). 因此,认为在应用稳定同位素分析技术研究鳙和鲢在食物网中的营养级位置时可采用非致命采样的鱼鳞组织,使用时需要校正  $\delta^{15}\text{N}$  比值. 而在需要通过  $\delta^{13}\text{C}$  比值分析研究食性相关的问题时则不适合使用鳙的鱼鳞作为替代组织.

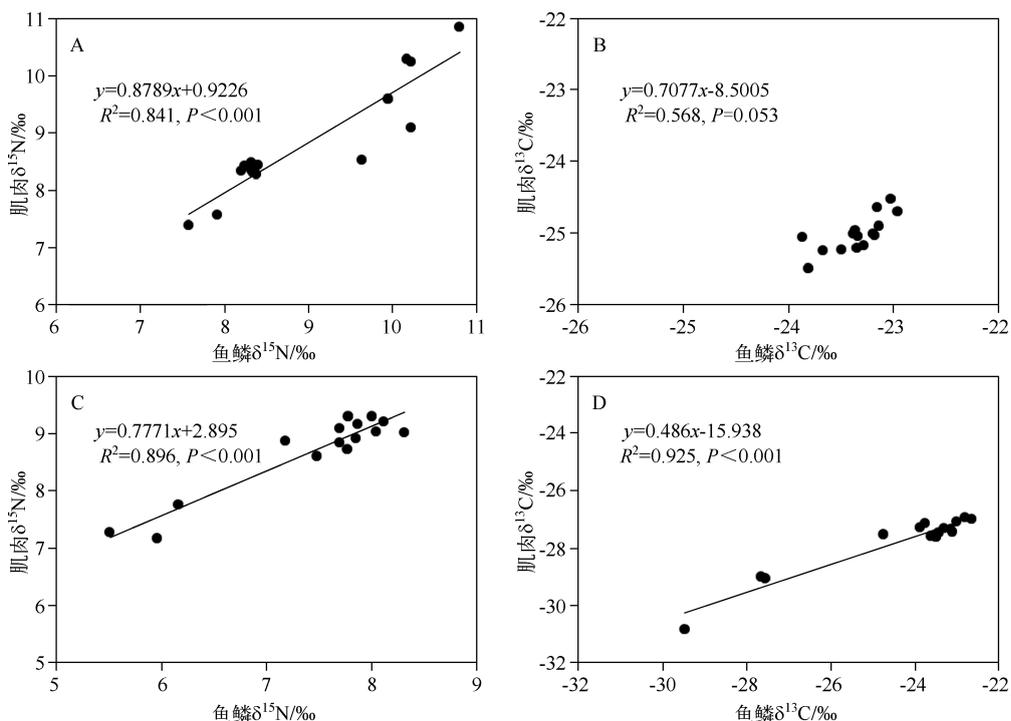


图1 鳙(A、B)和鲢(C、D)的鱼鳞与肌肉  $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$  比值线性模型

Fig.1 Linear models between scale and muscle  $\delta^{15}\text{N}$  values, scale and muscle  $\delta^{13}\text{C}$  values of bighead carp (A, B) and silver carp (C, D)

由于同位素周转率在不同组织中不同,需要根据所研究的目标来确定是否可以选择鱼鳞做为替代组织. 目前的研究还没有得出鱼鳞和肌肉碳、氮稳定同位素比值关系全球普适的校准公式,研究者们正在进行

不同种类、食性鱼类非致命采样组织和致命采样组织碳、氮稳定同位素校准方法的研究<sup>[14]</sup>。对于未研究过的物种在利用鱼鳞替代肌肉组织前仍需要牺牲一部分鱼类来获得该物种的同位素比值校准关系<sup>[7-8]</sup>。

### 3 结论

使用鱼鳞等组织作为稳定同位素分析的替代物对于研究珍稀物种和观赏鱼类有着特别重要的意义<sup>[7]</sup>。本研究构建了鳙、鲢鱼鳞与肌肉  $\delta^{15}\text{N}$  线性关系模型以及鲢鱼鳞与肌肉  $\delta^{13}\text{C}$  线性关系模型,为有效修正非致命法采集的鱼鳞碳、氮稳定同位素含量,开展鱼类食性、营养级位置、食物网能量流动路径等问题的研究提供了应用依据。在今后研究中应进一步探讨中国不同地区不同种类常见淡水鱼非致命法采集的组织与肌肉样品稳定同位素含量的关系,通过避免鱼类的死亡,为水生食物网、鱼类营养学等方面的研究提供更多帮助。

致谢:中国科学院南京地理与湖泊研究所鄱阳湖湿地观测研究站为本研究提供了样品前处理的实验室和相关器材,在此表示衷心感谢。

### 4 参考文献

- [ 1 ] Post DM. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. *Ecology*, 2002, **83**(3): 703-718.
- [ 2 ] 徐 军, 张 敏, 谢 平. 氮稳定同位素基准的可变性及对营养级评价的影响. 湖泊科学, 2010, **22**(1): 8-20.
- [ 3 ] Wang YY, Yu XB, Li WH *et al.* Potential influence of water level changes on energy flows in a lake food web. *Chinese Science Bulletin*, 2011, **56**(26): 2794-2802.
- [ 4 ] 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. 湖泊科学, 2008, **20**(1): 13-20.
- [ 5 ] Layman CA, Araujo MS, Boucek R *et al.* Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews*, 2012, **87**(3): 545-562.
- [ 6 ] Pinnegar JK, Polunin NVC. Differential fractionation of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. *Functional Ecology*, 1999, **13**(2): 225-231.
- [ 7 ] Kelly MH, Hagar WG, Jardine TD *et al.* Nonlethal sampling of sunfish and slimy sculpin for stable isotope analysis: how scale and fin tissue compare with muscle tissue. *North American Journal of Fisheries Management*, 2006, **26**(4): 921-925.
- [ 8 ] Fincel M, Vandehey J, Chipps S. Non-lethal sampling of walleye for stable isotope analysis: a comparison of three tissues. *Fisheries Management and Ecology*, 2012, **19**(4): 283-292.
- [ 9 ] Matich P, Heithaus MR, Layman CA. Size-based variation in intertissue comparisons of stable carbon and nitrogen isotopic signatures of bull sharks (*Carcharhinus leucas*) and tiger sharks (*Galeocerdo cuvier*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2010, **67**(5): 877-885.
- [ 10 ] Church MR, Ebersole JL, Rensmeyer KM *et al.* Mucus: a new tissue fraction for rapid determination of fish diet switching using stable isotope analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2009, **66**(1): 1-5.
- [ 11 ] Perga ME, Gerdeaux D. Using the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  of whitefish scales for retrospective ecological studies: changes in isotope signatures during the restoration of Lake Geneva, 1980-2001. *Journal of Fish Biology*, 2003, **63**(5): 1197-1207.
- [ 12 ] Blanco A, Deuder OS, Box A. Muscle and scale isotopic offset of three fish species in the Mediterranean Sea: *Dentex dentex*, *Argyrosomus regius* and *Xyrichtys novacula*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2009, **23**(15): 2321-2328.
- [ 13 ] Sinnatambay RN, Dempson JB, Power M. A comparison of muscle-and scale-derived  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  across three life-history stages of Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2008, **22**(18): 2773-2778.
- [ 14 ] Hette-Tronquart N, Mazeas L, Reuilly-Manenti L *et al.* Fish fins as non-lethal surrogates for muscle tissues in freshwater food web studies using stable isotopes. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2012, **26**(14): 1603-1608.
- [ 15 ] Heady WN, Moore JW. Tissue turnover and stable isotope clocks to quantify resource shifts in anadromous rainbow trout. *Oecologia*, 2013, **172**(1): 21-34.
- [ 16 ] 农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴 2013. 北京: 中国农业出版社, 2013: 145.