

稳定同位素技术在水域生态系统研究中的应用

李忠义^{1,2}, 金显仕^{1,*}, 庄志猛¹, 唐启升¹, 苏永全²

(1. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;
2. 厦门大学 海洋与环境学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 稳定同位素作为一种天然的示踪物, 应用十分广泛, 其在水域生态学中的应用也日益受到重视。生物同位素组成总是与其食物同位素组成相一致, 能随食物的改变而相应地发生改变, 是生物生存状况的理想指示物, 为水域生态系统食物网结构与功能、物质流与能量流的研究提供了有力的技术支撑。在综评稳定同位素技术原理与方法的基础上, 较为详细地对其应用于水域生态研究的理论基础与进展进行了总结。该方法的应用以水域中生产者同位素组成差异为前提, 主要涉及确定食物来源、食物的贡献比例、营养级的确定、食物网结构的构建及鱼类等水生生物的洄游及迁移路线等方面, 这些研究对了解生态系统的动态变化与外界环境对其影响具有重要意义。并对我国此类研究的前景和存在问题进行了探讨。

关键词: 稳定同位素; 同位素营养富集度; 食物网; 食性; 栖息地

文章编号: 1000-0933(2005)11-3052-09 中图分类号: Q 148 文献标识码: A

Applications of stable isotope techniques in aquatic ecological studies

LIZHONG-YI^{1,2}, JIN XIAN-SHI^{1,*}, ZHUAN ZHIMENG¹, TANG QISHENG¹, SU YONGQUAN² (1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resource, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071, China; 2. Department of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China). Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(11): 3052~3060

Abstract Stable isotopes have been used in many research areas as natural labels and are becoming an important tool in aquatic ecological research. The theoretical basis and application of stable isotope analysis in aquatic ecology as well as its principle and method are reviewed in this paper. An organism's stable isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ etc.) are an integration of the isotopic signatures of prey items that have been assimilated through time, the organism will come into isotopic equilibrium with its diet with the time to equilibrium depending on growth and tissue turnover rates. Stable nitrogen isotope ratios increase with trophic level by approximately 3‰ to 4‰; this provides a powerful analytical tool to quantify relative trophic position. In contrast, stable carbon isotope ratio changes very little with trophic level (0 to 1‰ enrichment per trophic level). Instead, stable carbon isotope values of organisms reflect the average $\delta^{13}\text{C}$ of their diets. When an organism moves to a different habitat, its stable isotope ratios will change. From the stable ratios of the different habitats and the organism, we can judge the migration routine of the organism. Stable isotopes are often used to quantify the contributions of multiple sources to an organism. In general, the proportional contributions of $n+1$ different sources can be uniquely determined by the use of n isotope groups with linear mixing models based on mass balance equations. When there are n isotope groups and $>n+1$ sources, all possible combinations of each sources contribution can be obtained by a computer program (IsoSource), but the proportional contributions aren't unique. The above two cases presume that the proportional contribution of a source to an organism is the same for all isotope elements, while not all cases are so. An isotope element concentration-weighted linear mixing model was developed, whose quantified results are more reasonable, but only determined the proportional contributions of $n+1$ sources.

基金项目: 国家自然科学基金重大资助项目(30490233)

收稿日期: 2004-11-03; **修订日期:** 2005-07-10

作者简介: 李忠义(1974~), 男, 湖南永州人, 博士生, 主要从事海洋生态学研究 E-mail: zhoyil@126.com

* 通讯作者 Author for correspondence E-mail: jin@ysfri.ac.cn

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 30490233)

Received date: 2004-11-03; **Accepted date:** 2005-07-10

Biography: LIZHONG-YI, Ph. D. candidate, mainly engaged in marine ecology E-mail: zhoyil@126.com

with isotope groups. Prey sources, trophic level and prey proportional contributions etc. are basic information needed to construct aquatic ecosystem food web patterns and functions and material and energy flows, which are fundamental to understand the dynamic of ecosystems and effects of environment to the ecosystems. The prospect of such studies in China and some existing problems are also discussed.

Key words: stable isotope; isotope trophic fractionation; food web; feeding habits; habitat

自物理学家发现了原子核的质子和中子以后,人们就开始了稳定同位素的研究工作。稳定同位素是指无可测放射性的原子核内质子数相同而中子数不同的一类核素。20世纪40年代Nier^[1]发明的Nier型质谱仪和Urey^[2]提出“同位素物质的热力学性质”的经典论文奠定了现代同位素地球化学的基础。McKinney等^[3]对Nier型质谱仪的改进和对操作的巧妙安排最终使稳定同位素方法成为一种行之有效的分析方法。尤其是20世纪80年代以后,随着同位素质谱测试技术的改进,大大拓宽了稳定同位素的应用领域。稳定同位素技术是利用同位素分馏效应,用质谱仪进行分析确定同位素比值进而解释相关问题的方法。稳定同位素的应用十分广泛,包括起步时的气候学、地球化学及随后的植物生理学、古人类学、考古学。在陆地生态上的应用是从20世纪70年代晚期80年代初期开始的,对水域生态的研究是紧随在陆地生态研究之后。自然稳定同位素从生物体内部特征反映物理、化学及生物作用对生物的作用过程,随着研究的深入,能大幅度减小使用外部标志和人工示踪物带来的误差和麻烦。

1 稳定同位素技术在水域生态中的研究现状

不同生物同位素比值不同,生物的同位素比值由其食物决定,食物不同同位素比值也不同,从生物体不同组织器官的同位素比值可判定该生物在长期和短期内的主要食物是什么^[4~6]。沿食物链传递,各营养级生物间的同位素比值变化趋势基本一致^[7]。目前,在水域生态系统的应用中应用了 $\delta^{2}D/H$ 、 $\delta^{13}C/^{12}C$ 、 $\delta^{15}N/^{14}N$ 、 $\delta^{18}O/^{16}O$ 、 $\delta^{34}S/^{32}S$ 和 $\delta^{87}Sr/^{86}Sr$ 等同位素,主要为 $\delta^{13}C/^{12}C$ 、 $\delta^{15}N/^{14}N$ 、 $\delta^{34}S/^{32}S$ 三种同位素。消费者的碳同位素比值与其食物较接近,所以碳同位素常用来确定消费者的食物来源^[4];而消费者的氮同位素比值较其食物有明显分化,故氮同位素用来确定食物网的结构和营养级^[7,8];因在控制条件下硫同位素的分化实验研究得较少,且其富集度常可忽略不计,故硫同位素常用作碳氮同位素的辅助工具^[9,10];环境因子对生物氢同位素比值的影响比生物间的氢同位素分化值还要大^[11,12],所以目前氢同位素主要用在海鸟的迁徙研究方面^[13],还没用于营养关系的研究。同时应用多种同位素,如碳与氮、碳氮与硫等,或其三者组合,可确定不同食物对消费者的贡献比例^[14,15]。

用稳定同位素研究生态系统中生物资源的变化及其相互关系,成为了解生态系统动态变化主要研究手段之一。稳定同位素技术在水域生态学研究中得到较多的应用。

1.1 同位素营养富集度的研究

生态系统食物网结构与营养级的确定及不同营养元素或各种食物对消费者的贡献比例等各种生态关系的建立是通过同位素营养富集度进行的。在生态系统中,同位素营养富集度意指生物与其食物间的某种同位素比值的差值,是由同位素分馏引起得,是研究生态系统的关键所在。多数食物网研究以食物网中多种消费者与其已知饵料同位素比值差值的平均值作为同位素营养富集度^[7],但多数生物的食性不是单一固定的,所以有的研究选择某一食性简单的生物与其饵料的同位素比值的差值或食物网中简单食物链上的生物与其饵料同位素比值差值的平均值作同位素营养富集度^[16]。生物对食物的同位素分化主要有吸收分化和代谢分化,其中主要以代谢分化为主。在早期的研究中,是将浮游植物或水生植物等一些生产者与草食动物间同位素比值的差值作为同位素营养富集度^[17~19]。研究者发现生产者的营养来源,特别是碳来源较复杂,同位素比值变化较大,同批样品的误差范围可达1.1‰^[7,20]。Van Donk^[21]发现水生植物中有些含氮物质草食动物并不能吸收。另外生产者营养成分单一,含量相差幅度大,草食动物须自身合成更多的营养物质以满足需要,也使同位素营养富集度产生较大的偏差^[22]。相对于前者,肉食动物与草食动物之间的同位素营养富集度偏差要少^[23]。草食动物生活周期较浮游植物要长许多,食物来源也较固定,因而同位素比值相对生产者,特别是浮游植物变化幅度要少。另外草食动物能为肉食性动物提供基本的营养需要,肉食动物不用合成太多的营养物质,代谢分化的变化也少^[24]。一般采用生态系统中常年存在、食性较简单的浮游动物或底栖动物与其食性同样简单的捕食者作为同位素营养富集度测定或实验对象。相应地以生产者同位素比值作为同位素基线值计算营养级所带来的计算误差较以消费者同位素比值作基线值的计算级误差要大^[24]。这些动物的钙质外壳与其它组织的同位素元素浓度相差较大且通常粘附有外源物质,是否去掉外壳及当保留时是否要酸化对同位素比值及富集度都有较大的影响^[25,26]。Bunn等^[26]提出当以带壳生物作为食物时,在测量其同位素比值时应去掉外壳,因外壳较难被捕食者吸收;当作为捕食者时应保留,因外壳同位素元素同样来自食物。Goering等^[27]发现北太平洋海湾的几种生物在经酸洗后 $\delta^{15}N$ 值发生明显改变。Bunn等^[26]在样品干燥磨碎前,对加酸后的样品进行了蒸馏水洗涤与非洗涤的对比,发现洗涤后,沙栖新对虾(*Metapenaeus moyebi*)和海草(*Enhalus acoroides*)的 $\delta^{15}N$ 较未洗涤时有明显的变化,而 $\delta^{13}C$ 却没有变化,于是他提出测量生物的 $\delta^{15}N$ 不可酸洗,测 $\delta^{13}C$ 时应酸洗。Keith^[28]将酸直接加在锡燃烧器中,发现无论是浓盐酸还是IN盐酸对美洲拟鲽(*Pseudopleuronectes americanus*)和七刺褐虾(*Crangon*

sep ten sp inosa) 的 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 都没显著影响。对于生物的酸洗问题, 各研究者的意见不一, 普遍认为是否酸洗不仅存在生物种类及同位素特异性, 而且与酸洗的程序有关。

除消费者食性对同位素营养富集度有影响外, 消消费者的代谢机能及其所处的环境状况和食物质量对同位素营养富集度也有较大的影响^[29, 30]。McCutchan 等^[30]通过综合他人及自己的研究检验了这些因子对同位素营养富集度的影响(见表 1), 发现各种因子对不同同位素的影响大小不一, 其中硫同位素比值受消费者机能、环境因子、取样方式、食物质量等各种因子的影响最大, 碳同位素其次, 氮同位素受的影响最小。

表 1 C、N、S 的同位素营养富集度(平均值 \pm 标准误差) (引自 McCutchan 等 2003)

Table 1 Mean (\pm SE) estimates of isotope fractionation for C, N and S (after McCutchan et al. 2003)

消费者 Consumer	$\Delta\delta^{13}\text{C}$	$\Delta\delta^{15}\text{N}$		$\Delta\delta^{34}\text{S}$	
	同位素营养富集度 Isotope trophic fractionation	t 检验 t-test	同位素营养富集度 Isotope trophic fractionation	t 检验 t-test	同位素营养富集度 Isotope trophic fractionation
全部生物 All animals	+ 0.5 ± 0.13(102)		+ 2.3 ± 0.18(73)		+ 0.5 ± 0.56(12)
食物类型 Diet type					
维管束植物 Vascular plants	+ 0.4 ± 0.28(34)	t = 0.39	+ 2.4 ± 0.42(19)	t = 0.34	- 0.9 ± 0.61(6)
其它食物 All other diets	+ 0.5 ± 0.14(68)	p = 0.70	+ 2.2 ± 0.20(54)	p = 0.73	+ 1.9 ± 0.42(6)
食物蛋白质含量 Protein content					
高 High	+ 0.6 ± 0.16(44)	t = 1.10	+ 2.4 ± 0.22(38)	t = 0.61	+ 1.9 ± 0.51(5)
低 Low	+ 0.5 ± 0.19(58)	p = 0.27	+ 2.2 ± 0.30(35)	p = 0.54	- 0.5 ± 0.65(7)
动物代谢类型 Metabolism					
变温动物 Poikilotherms	+ 0.4 ± 0.14(91)	t = 1.13	+ 2.3 ± 0.2(65)	t = 0.45	+ 0.5 ± 0.56(12)
恒温动物 Homeotherms	+ 0.9 ± 0.37(11)	p = 0.26	+ 2.0 ± 0.38(8)	p = 0.66	
蛋白质代谢成分					
Nitrogenous waste					
氨 Ammonia	+ 0.4 ± 0.18(49)	t = 0.71	+ 2.3 ± 0.28(32)	t = 0.14	+ 1.9 ± 0.51(5)
尿酸或尿素 Urea/uric acid	+ 0.5 ± 0.19(53)	p = 0.48	+ 2.3 ± 0.24(41)	p = 0.89	- 0.5 ± 0.65(7)
栖息环境 Environment					
水生 Aquatic	+ 0.4 ± 0.17(50)	t = 0.58	+ 2.3 ± 0.28(33)	t = 0.12	+ 1.9 ± 0.51(5)
陆地 Terrestrial	+ 0.5 ± 0.19(52)	p = 0.56	+ 2.3 ± 0.24(40)	p = 0.90	- 0.5 ± 0.65(7)
取样部位 Analysis					
整个个体 Whole organism	+ 0.3 ± 0.14(84)	t = 2.93	+ 2.1 ± 0.21(58)	t = 1.92	- 0.5 ± 0.65(7)
肌肉 Muscle	+ 1.3 ± 0.30(18)	p = 0.004*	+ 2.9 ± 0.32(15)	p = 0.090	+ 1.9 ± 0.51(5)
是否去脂处理(肌肉样) Lipid removal (muscle)					
去脂处理 Lipid removal	+ 1.8 ± 0.29(5)	t = 1.17	+ 3.2 ± 0.43(3)	t = 0.46	
不去脂 No treatment	+ 1.1 ± 0.35(13)	p = 0.26	+ 2.8 ± 0.40(12)	p = 0.65	+ 1.9 ± 0.51(5)
是否酸化处理(整个样) Acidification (whole)					
酸化处理 No treatment	+ 0.5 ± 0.17(62)	t = 2.11	+ 2.4 ± 0.24(36)	t = 2.82	- 0.8 ± 0.81(5)
不酸化 Acidified	- 0.2 ± 0.21(22)	p = 0.038*	+ 1.1 ± 0.29(15)	p = 0.007	+ 0.2 ± 1.25(2)

高蛋白食物为动物和微生物, 低蛋白食物为植物和藻类物质; t 检验, $p < 0.05$ 表示差异显著 High-protein diets include animal and microbial diets; low-protein diets include plant and algal diets. Student's t-test, statistically significant differences $p < 0.05$ are indicated by *

同位素营养富集度的这些变化主要是由生物的栖息地不同所引起, 一些研究者将已研究过的生物碳氮硫同位素营养富集度进行平均, 发现相邻营养级间碳硫平均富集度接近于零, 氮大约为 + 3‰^[9]。但不同生态系统生物间的同位素营养富集度不同, 地区差异较明显^[7], 所以在比较不同生态系统中生物的营养级、营养元素及各种食物对消费者的贡献比例时, 须将这种差异整合进去。

1.2 研究水生生物的食性

研究食性的传统方法是消化道内含物法, 通过生物在被捕前所摄食物即消化道内未被消化的食物来确定生物的食性, 优点

与其在食物网结构和营养级分析中一样是较直观, 而缺点是测量的只是被捕前所摄食物, 不能代表生物长期的食性, 且许多水域生物存在偶食性。另一方面它不能区分所摄食物消化吸收的难易程度, 而且往往偏向于较难消化的食物。稳定同位素法是根据消费者稳定同位素比值与其食物相应同位素比值相近的原则来判断此生物的食物来源, 进而确定食物贡献, 所取样品是生物体的一部分或全部, 能反映生物长期生命活动的结果。稳定同位素还能对低营养级或个体较小生物的营养来源进行准确测定, 进而为确定生物种群间的相互关系及对整个生态系统的能量流动进行准确定位。越来越多的研究证明许多水生生物其碳源来自沿岸滨水植物和陆地植物, 受人类活动干扰较大。

因测量技术的限制, 早期对生物食物来源的测定只采用了一种同位素对两种食物进行定量测定^[31]。计算公式为:

$$K_{\text{carbon}} = 1 - \frac{\delta^{13}\text{C}_A - \delta^{13}\text{C}_{\text{consumer}} + \Delta\delta^{13}\text{C}}{\delta^{13}\text{C}_A - \delta^{13}\text{C}_B}$$

式中, K_{carbon} 为食物 A 对消费者的贡献比例, $\delta^{13}\text{C}_A$ 和 $\delta^{13}\text{C}_B$ 分别为食物 A 和 B 的碳同位素比率, $\Delta\delta^{13}\text{C}$ 为同位素碳的同位素营养富集度, $\delta^{13}\text{C}_{\text{consumer}}$ 为消费者的碳同位素比率。 $K_{\text{nition}}, K_{\text{sulfur}}$ 的计算公式形同 K_{carbon} 。

Fry^[32]利用此公式用 $\delta^{13}\text{C}$ 确定了德克萨斯海湾暖水性棕虾 (*P. annaeus aztecus*) 在成熟之前的生物为海草并无浮游植物, Carlos 等^[33]等用 $\delta^{13}\text{C}$ 测定了亚马逊河中脂鲤 (*Characinus gibbosus L. innaeus*) 的初级能量主要来自河中的浮游植物, 而 C4 大型植物比例不超过 5%。

随着新仪器的出现, 如连续流体同位素质谱仪, 对同一生物的多种同位素同时进行测定成为可能。通常生物的食物种类要超过 2 种, 为 3 种或 3 种以上, 可采用几种同位素 ($\delta\text{D}, \delta^{13}\text{C}, \delta^{15}\text{N}, \delta^{18}\text{O}, \delta^{34}\text{S}$ 和 $\delta^{87}\text{Sr}$ 等中的二者或更多) 对生物多种食物的贡献比例进行范围定量 (n 种同位素, $> n+1$ 种食物) 或精确定量 (n 种同位素, $n+1$ 种食物)。Harrigan 等^[34]用 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 对红树林区和海草区的灰笛鲷 (*Lutjanus griseus L. innaeus*) 的三大类初级能量来源进行了准确的定量计算。Whitledge^[35]研究发现, 单纯用胃含物法分析, 淡水螯虾 (*Orcinocetes luteus*) 的动物性食物占 5%~11%, 如用同位素法或食物间不同消化状况矫正过的胃含物法分析, 动物性食物都上升为 23%~42%。

多同位素法主要有质量守恒模型和欧几里得距离模型^[15]。

欧几里得距离模型是用食物的同位素比值与消费者的相应值在坐标轴上的直线距离, 即欧几里得距离来计算食物的贡献比例。常用的方法有 3 种^[35~38]:

$$\begin{aligned} \% X \text{ in diet} &= \left\{ \frac{(DX)}{DA + DB + DC} \right\} \times 100 \\ \% X \text{ in diet} &= \left\{ 1 - \frac{1/DX}{1/DA + 1/DB + 1/DC} \right\} \times 100 \\ \% X \text{ in diet} &= \left\{ \frac{1/DX}{1/DA + 1/DB + 1/DC} \right\} \times 100 \end{aligned}$$

式中, X 代表食物 A, B, C, DX 代表相应的线距 DA, DB, DC , DA, DB, DC 分别为食物 A, B, C 修正后的同位素比值与生物的相应值在坐标上的直线距离, 即欧几里得距离。

Ben-David 等^[37, 38]和 Szepanski 等^[39]发现欧几里得距离模型会低估消费者常食性食物的比例, 高估偶食性食物的比例。

质量守恒模型是利用食物的质量守恒原理来计算食物的贡献比例^[40]:

$$\begin{aligned} \delta I_D &= f_A \delta I_A + f_B \delta I_B + f_C \delta I_C \\ \delta K_D &= f_A \delta K_A + f_B \delta K_B + f_C \delta K_C \\ 1 &= f_A + f_B + f_C \end{aligned}$$

式中, $\delta I, \delta K$ 为两种同位素的比值, A, B, C, D 为食物和消费者, f 为食物对消费者的贡献比例, 其它同上。

Phillips^[15]对这两大类 4 种模型进行了比较, 发现欧几里得距离模型较质量守恒模型测量误差要大。

在食性的定量分析中, 食物和消费者同位素比值的标准偏差、样品数量大小、食物间同位素比值的差异大小及分析误差等因素对计算结果都有一定的影响, Phillips^[41]研究发现前 3 种因子是主要的影响因子, 影响程度从大到小依次为: 食物间同位素比值的差异大小、食物和消费者同位素比值的标准偏差和样品数量大小, 并编写了电子制表软件依次计算在单同位素双食物来源和双同位素 3 食物来源时这 3 种因子在不同影响程度时食物贡献比例的方差大小、标准误差和 95% 的置信区间。

因有机体中许多元素的同位素现在还不能准确测定, 所以同时对消费者的多种食物贡献比例进行准确定量测定还不大可能 (n 种同位素, $> n+1$ 种食物)。于是 Phillips^[42]通过质量守恒方程的反复迭代编写了 IsoSource 程序, 用 n 种同位素能确定 $> n+1$ 种食物食物比例的可能联合, 但每种食物的贡献比例是个大致范围, 而不是具体值。

上述质量守恒模型和多种欧几里得距离模型都是假定某种同位素的元素浓度在所有食物中都相等。然而事实并非如此, 特别是植物性食物和动物性食物的氮元素浓度相差较大, 从而造成植物性食物组成比例的增大和动物性食物比例减少。

Phillip s^[43]将各种食物的每种营养元素浓度整合入质量守恒混合模型,并编写了该方法的电子制表软件。因方程变量的增多,该方法同早期的质量守恒模型一样,还只能做到用n种同位素定量测定n+1种食物,还不能测定>n+1种食物的贡献比例。计算公式为:

$$\begin{aligned} & \left[\begin{array}{c} (\delta^{13}C_X - \delta^{13}C_M) [C_X] (\delta^{13}C_Y - \delta^{13}C_M) [C_Y] (\delta^{13}C_Z - \delta^{13}C_M) [C_Z] \\ (\delta^{15}N_X - \delta^{15}N_M) [N_X] (\delta^{15}N_Y - \delta^{15}N_M) [N_Y] (\delta^{15}N_Z - \delta^{15}N_M) [N_Z] \end{array} \right] = A \\ & \begin{bmatrix} f_{X,B} \\ f_{Y,B} \\ f_{Z,B} \end{bmatrix} = F \quad \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix} = B \quad AF = B \end{aligned}$$

式中,X、Y、Z和M分别代表3种食物和所研究的消费者,f_{X,B}为食物X的吸收生物量,δ¹³C_X、δ¹⁵N_X为食物X修正后的碳氮同位素比值,C_X、N_X为C、N在食物X中的浓度,其余同上。

Pillip s^[43]用采食鲑鱼、瘦牛肉和富碳寡氮牛油的笼养水貂对此公式进行了验证,发现水貂实际采食的各食物比例与用整合元素浓度的质量守恒模型计算的食物比例非常接近,两者间没有显著差异。虽然稳定同位素技术的发展为揭示食物对消费者间的定量关系提供了重要技术手段,而且在研究上取得了巨大进步,即便在应用整合元素浓度的质量守恒模型计算食物对生物的贡献比例时,也还有许多潜在的问题值得注意,并有待于进一步的研究^[44]:

(1)首先,在计算不同食物对生物的贡献比例时,各食物的同位素组成必须有明显差异。否则计算的各食物贡献比例会产生较大的误差^[41]。

(2)目前所有定量计算食物贡献比例的公式都没有整合食物的吸收转化效率,很多食物特别是富含纤维的食物其采食量与吸收转化率之间存在很大差别^[46]。食物的营养吸收率、营养物质在生物不同组织的分配以及同位素分馏等对贡献比例的差异尚需深入的实验证明。

(3)另外,生物存在“同位素印迹(isotopic routing)”的现象^[46],即不同食物被消化吸收时是直接进入生物的特定组织或部位,并不是先进行充分混合,然后平均分配到生物的不同组织或组织的不同组分中去^[47]。虽然同位素印迹现象还没有得到更多研究的确认,但有研究表明同位素印迹现象确实存在^[48, 49],这可能导致生物组织并不能反映其整体的食物组成,要使生物组织同位素组成能更准确地反映其食物组成,还需要更深入地从分子层次上研生物组织同位素组成与其食物成分同位素组成间的关系^[30, 50]。

1.3 水域食物网结构和生物营养级的确定

在特定的生态系统中,各种生物种群之间的摄食关系、营养物质和能量流动是生态学研究的一个难题。用以研究生态系统中有机碳和氮稳定同位素组成动态变化的稳定同位素技术为解决这一生态学难题提供了新的研究手段。早期对水域食物网结构和生物营养级的确定是采用胃含物分析法,胃含物法比较直观,但也存在许多缺陷,如样品数量大、分析过程长、需详细的生物种群资料及对许多浮游动物营养级的不准估测而导致测量误差的层层相叠等。也正是这些缺点,使得食物网中低营养级的研究较少。同位素比值反映生物体的内部特征,能克服胃含物法的许多缺陷。研究者对这两种方法进行了对比研究,发现同位素法确实较胃含物法精确^[51, 35]。Vender Zanden等^[51]用加拿大36个湖区已研究的342种鱼的营养级反推了一些浮游动物的营养级,并以此计算了8种鱼的营养级,发现同位素法的结果与其无显著差异。同位素法营养级计算公式为^[23]:

$$\begin{aligned} TL &= (\delta^{15}N_{\text{consumer}} - \delta^{15}N_{\text{baseline}}) / \Delta \delta^{15}N + 2 \\ TL &= (\delta^{13}C_{\text{consumer}} - \delta^{13}C_{\text{baseline}}) / \Delta \delta^{13}C + 2 \end{aligned}$$

式中,δ¹⁵N_{consumer}、δ¹³C_{consumer}为消费者的氮碳同位素比值,其余类同,baseline为该系统的同位素基线值,Δδ¹³C为消费者与其饵料间的同位素营养富集度。

通过测定生态系统中不同生物的同位素比值能较准确地测定食物网结构和生物营养级,在此基础上还能很好地评估从初级生产者直至顶级捕食者的转换效率,准确寻找功能群、评估气候及外界人工干扰对水域生态系统的影响,进而为水域生态系统的管理提供科学依据。国外在此方面的研究较多,采用了多种稳定同位素,如δ¹³C、δ¹⁵N、δ¹⁸O、δ³⁴S等对水域食物网结构和生物营养级进行测定和校正,并对食物网结构中的许多功能群进行了细分,为其它生态系统模型提供了准确的依据。Fry^[52]用碳氮硫3种同位素对北美乔治浅滩食物网结构进行了研究,发现碳源是维持该复杂系统的主要原因。Hewig等^[53]用碳氮同位素测定了密西西河和伊利诺斯河静水区的食物网结构,发现并不是大型水生植物,可能是浮游植物和源自一些C₃植物的碎屑是该系统的主要直接碳源。Connolly^[54]用碳氮同位素比较了澳大利亚昆士兰州自然湿地与人工水道两个生态系统食物网结构的异同,发现人工水道中鱼类基本上处于同一营养级,并从食物来源上解释了这一现象,提出了人工水道的一些综合管理措施。

1.4 研究水生生物的洄游和分布

在准确测定了水生生物的同位素比值和食物的贡献比例后, 对水生生物的洄游和分布及食性转换就较容易了。

在不同季节进行栖息地的转换是许多水生生物避开不良环境常用的方法, 不同种类的水生生物在不同季节进行各种各样的洄游, 以寻找适宜的食物、产卵场和越冬场。早期对水生生物的洄游研究是依靠外部标志对生物的活动进行跟踪, 此法误差较大, 需要大量样品, 费时费力, 而且对小型非聚群水生生物不适用。现已采用多种内部标志, 如脂肪酸、DNA 及稳定同位素等, 对水生生物的洄游进行研究。稳定同位素相对前两种方法要来得简便。该方法基于以下原理: 食物网同位素比值反映在生物体组织中, 能随不同的生物化学作用而改变, 在两个同位素比值有显著差异的食物网间洄游的生物能将前一食物网的同位素比值带入后食物网。现已对水生生物在近海与外海、咸水与淡水、海洋与陆地、海洋与沼泽地间的洄游进行了研究^[32, 55]。Fry^[32]首次用 $\delta^{13}\text{C}$ 对暖水性棕虾(*Penaeus aztecus*)在富 $\delta^{13}\text{C}$ 的近海海草区与贫 $\delta^{13}\text{C}$ 的外海浮游植物区间的洄游进行了研究。Killingley^[56]用 $\delta^{18}\text{O}$ 研究了加利福尼亚灰鲸(*Eschrichtius gibbosus* Eschleben)在不同海域的生活情况, 随后 Killingley^[57]又用 $\delta^{18}\text{O}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 对端龟(*Caretta caretta*)在河口区与沿海区的洄游进行了探讨。随着研究的深入, 越来越多的水生生物的季节性洄游被进行了研究, 如溯河产卵与不溯河产卵的美洲红点鲑^[58](*Salvelinus fontinalis* M itchill)、灰鹱^[59](*Puffinus griseus* Gmelin)、似石首鱼^[55](*Sciaenops ocellatus* L innaeus)等。Personn^[60]用碳氮同位素研究了拟鲤(*Rutilus rutilus* L innaeus)、河鲈(*Perca fluviatilis* L innaeus)及乌鲂(*Brama brama* Bonnaterre)被引种后, 其食物种类的变化情况。

1.5 研究水生生物的食物转换

水生生物在进行栖息地转换时, 同时进行食物的转换。对有些水生生物而言, 其栖息地不发生改变, 但食性也会随季节改变, 摄食对象从底栖生物转换为浮游生物或从浮游生物转换为底栖生物。对一些大型水生生物而言, 用胃含物法通过对大量样品的研究可获得较准确的结果, 然而对一些小型水生生物, 特别是刚开口摄食的仔稚鱼等生物, 用该法研究不仅存在样品数量的问题, 对一般研究人员而言也存在一定的观察困难。另外, 用胃含物法和形态学观察法研究水生生物, 特别是仔稚鱼等小型水生生物, 何时开始食物的转换存在一定困难, 且准确度太低。稳定同位素法可以弥补上述缺陷, 通过生态转换效率估测开口摄食的时间及准确地测定仔稚鱼在刚开口摄食时和随后各段时期内的食物组成。如Vander Zanden 等^[61]通过野外的连续采样, 用碳氮稳定同位素法研究了小口黑鲈(*Micropodus dolomieu* Lacepede)仔鱼期、仔鱼后期、稚鱼期、幼鱼期各时间段可能食物来源, 发现仔鱼开始利用外源性营养物质的时间较前人的研究结果可能要早。Johnston 等^[62]则用碳同位素研究了往湖中施加外源无机磷源和氮源后, 虹鳟(*Oncorhynchus mykiss* Walbaum)的食物种类和及其贡献比例的变化情况。Gaines 等^[63]用碳氮同位素对马萨诸塞州一个浅滩区的鲨(*Lamulus polyphemus*)在整个生长发育过程中食性的改变进行了研究。Stephen 等^[64]从外来种长鳍鮰(*Ictalurus furcatus*)及其饵料鱼蓝背西鲱(*Alosa aestivalis*)、美洲西鲱(*A. sapidissima*)和灰背西鲱(*A. pseudoharengus*)的 $\delta^{34}\text{S}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 的关系判断此外来种对鲱鱼各种属的影响。

测定水体与底栖环境中各种生物的同位素比值, 分析生物在不同环境水层中的食性与变化及栖息地的转变, 判断生物间的物质流和能量流, 进而可对水体中底栖环境与水体间的耦合等复杂生态学问题进行探索性研究。Hobson 等^[65]用各种生物的碳氮同位素比值关系发现格陵兰的一个冰间湖的水体与底栖是通过微食物循环耦合。

1.6 其它方面的应用

稳定同位素在水域生态中的应用十分广泛, 除上述应用外, 还有其它的一些应用, 如污染物的示踪剂、污染物的生物放大作用的研究及生态系统稳定性变化的研究等。由于不同来源的物质可以具有不同的氮、磷、硫等同位素组成, 因此同位素也是一种有效的污染物示踪剂, 它可以作为水域中陆源污染物分布的示踪剂及生物对多氯联苯(PCBs)、滴滴涕(DDT)、氯丹(CHL)等有机氯污染物和Hg、Cd、Zn 等重金属的生物放大作用的研究。因生态系统结构和功能的变化可以反映在其组分种属的营养级中, 通过测定生态系统在时间尺度和空间尺度上其功能群稳定同位素的变化情况, 间接了解此系统的结构和功能的变化。

随着研究的深入, 稳定同位素与其它方法的联合使用, 其用途将更加广泛。

2 国内研究中待解决的问题及展望

目前, 国内用稳定同位素对水域生态系统进行研究还较少。洪阿实等^[66]用添加法研究了养殖生态系统中氮同位素在食物链中的传递规律; 蔡德陵等^[67, 68]用 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 同位素对 1992~1995 年崂山湾海洋植物碳同位素组成的季节性变化及各类生物的营养级作了 5 个季度月的研究, 并将崂山湾水体食物网和底栖食物网的碳同位素组成分布与全球其它海区生态系统做了比较。随后又对渤海悬浮体、浮游生物、底栖生物和沉积物样品的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 值及其营养位置进行了测定^[69]。陈绍勇等^[70]对南沙群岛海域珊瑚礁生态系生物的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 进行了测定与比较。这些研究局限于一些生物同位素比值的测定和食物网结构的初步研究, 还未对食物网中生物的食性、栖息地及不同水体的耦合等进行系统的研究。在研究方法上与国外存在较大差距, 除蔡德陵等^[71]用碳氮两种同位素探讨了不同生态因子对受控条件下花鲈(*Lateolabrax japonicus* Cuvier)不同组织的碳氮稳定同位素组成的影响, 其余研究大都仅采用了碳一种稳定同位素, 另外对稳定同位素法中的关键因子同位素营养富集度及酸洗问题进行详细研究。

还未见报道。

唐启升等^[72]在国家自然科学基金重大项目“渤海生态系统动力学与生物资源持续利用”及国家重点基础研究发展规划项目“东、黄海生态系统动力学与生物资源可持续利用”中提出将稳定同位素技术 ECO PATH (生态通道模型)、ECO SM (生态通道时间动态模型)、ECO SPACE (生态通道空间动态模型) 及粒径谱 (Particle-Size Spectra) 等生态学手段作为主要的研究方法。稳定同位素技术的发展前景非常广阔, 其应用为研究生态系统中各组分对大气中 CO₂ 的贡献、水利工程对生态系统的影响、赤潮的产生、环境污染的监测与综合治理及最终建立生态系统动力学模式及探讨气候变化与环境的相互关系等提供了巨大帮助。这些实际问题的解决依赖稳定同位素技术的发展, 目前, 有几方面的问题需要进一步研究: 在研究方法方面, 参考国外的研究, 对不同方法所得同位素营养富集度进行分析, 比较何种方法计算营养级的误差要少, 并在此基础上寻找确定同位素营养富集度的近标准生物; 另外在有足够的样品数量的情况下, 将多元素稳定同位素技术与消化道内含物法结合起来作比较分析研究, 相互校正, 提高研究结果的准确性。在研究内容方面, 不仅要研究食物网结构、生物食性与栖息地转换等关键内容, 还应加强同位素技术的应用扩大研究: (1) 对影响基本同位素营养富集度的各种因子, 如生物体的代谢状况、去壳、酸洗等问题的研究, 尝试建立各种生物的标准稳定同位素方法; (2) 借鉴 Phillips 编写的 IsoSource 程序确定生物所有可能食物种类, 试图将生物对各种食物的吸收转化率整合入食物贡献比例中, 并进行生理状况的系数校正, 建立整合同位素元素浓度、食物吸收转化效率和生理状况的质量守恒模型, 扩编 IsoSource 程序, 以准确快捷地测定各种食物对生物的贡献大小, 为生态系统研究中的生物食性、栖息地转换、食物网结构及定量物质流和能量流等关键内容提供可靠依据; (3) 研究分析系统中的关键种及一些经济种的鳞片、耳石及骨骼稳定同位素值在不同生长期或年际的变化, 建立它们的摄食历史并寻找其变化规律及探讨环境气候变化和人类活动对其影响; (4) 进行保存样与历史样同位素值的关系研究, 充分利用我国保存的历史生物资源; (5) 在我国渤海、东海和黄海(分属全球 50 个大洋生态系中的第 41 和 42 区)^[72]及长江、黄河两个河口生态系的典型水域建立稳定同位素监测平台, 对生态系统进行不同时间尺度, 如年、季度或月的研究, 为环境污染的综合治理、赤潮的预防及其对生态系统的影响等生态系统动力学研究提供准确的生态模型; (6) 进行生物必需氨基酸及标志性氨基酸等一些分子物质的稳定同位素分析, 从分子层次上分析一些生态问题。相信通过这些研究, 必将推动和提高我国水域生态系统的研究水平。

References

- [1] Nier A O. A mass spectrometer for isotope and gas analysis. *Rev Sci Instr*, 1947, **18**: 398~ 411.
- [2] Urey H C. The thermodynamic properties of isotope substance. *Chem Soc*, 1947, Pt, **1**: 562~ 581.
- [3] McKinney C R, Mcrea J M, Epstein S, et al. Improvements in mass spectrometers for the measurement of small differences in isotope abundance ratio. *Rev Sci Instr*, 1950, **21**: 724~ 730.
- [4] DeNiro M J, Epstein S. Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science*, 1978, **197**: 261~ 263.
- [5] Haines E B, Montague C L. Food sources of estuarine invertebrates analyzed using ¹³C/¹²C ratios. *Ecology*, 1979, **60**(1): 48~ 56.
- [6] McConaughey T, Mccoy C P. Food web structure and the fraction of carbon isotope in the Bering Sea. *Marine Biology*, 1979, **53**(2): 257~ 262.
- [7] Minagawa M, Wada E. Stepwise enrichment of ¹⁵N along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochim Cosmochim Acta*, 1984, **48**(5): 1135~ 1140.
- [8] DeNiro M J, Epstein S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta*, 1981, **45**(3): 341~ 351.
- [9] Peterson B, Fry B. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu Rev Ecol Syst*, 1987, **18**: 293~ 320.
- [10] Hesslein R H, Capel D M, Fox D E, et al. Stable isotope of sulfur carbon and nitrogen as indicators of trophic level and fish migration in the lower Mackenzie River Basin. *Can J Fish Aquat Sci*, 1992, **48**: 2258~ 2265.
- [11] Estep M F, Dabrowski H. Tracing food webs with stable hydrogen isotopes. *Science*, 1980, **209**: 1537~ 1538.
- [12] Macko S A, Estep M L F, Lee W Y. Stable hydrogen isotope analysis of food webs on laboratory and field populations of marine amphipods. *Exp Mar Biol Ecol*, 1983, **72**(3): 243~ 249.
- [13] Hobson K A, Wassenaar L. Linking breeding and wintering grounds of neotropical migrant songbirds using stable hydrogen isotope analysis of feathers. *Oecologia*, 1997, **109**(1): 142~ 148.
- [14] Peterson B, and Howarth R W. Surfer, carbon and nitrogen isotopes used to trace organic matter flow in the salt-marsh estuaries of Sapelo Island Georgia. *Limnol Oceanogr*, 1987, **32**: 1195~ 1213.
- [15] Phillips D L. Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotope: a critique. *Oecologia*, 2001, **127**(2): 166~ 170.
- [16] Tieszen L L, Fagre T. Effect of diet quality and composition on the isotopic composition of respiratory CO₂, bone collagen, bioapatite, and soft tissues. In: Lambert J B, Gruber G, eds. *Prehistoric human bone: archaeology at the molecular level*. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1993. 121~ 155.
- [17] Angerdi T R. Trophic linkages in the lower Colorado River: multitude stable isotope evidence. *North Am Benthol Soc*, 1994, **13**(4): 479~ 495.

- [18] Cabana G, Rasmussen J B. Modelling food chain structure and contaminant bioaccumulation using stable nitrogen isotopes *Nature (Lond)*, 1994, **372**(6503): 255~ 275.
- [19] Gu B, Schell D M, Alexander V. Stable carbon and nitrogen isotope analysis of the plankton food web in a subarctic lake *Can J Fish Aquat Sci*, 1994, **51**: 1338~ 1344.
- [20] Rau G H, Theyssie R E, Kaplan IR, et al. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ variations among size-fractionated marine particles: implications for their origin and trophic relationships *Mar Ecol Prog Ser*, 1990, **59**: 33~ 38.
- [21] Van Donk. Defenses in phytoplankton against grazing induced by nutrient limitation UV-B stress and infochemicals *Aquat Ecol*, 1997, **31**(1): 53~ 58.
- [22] Deniro M J, Epstein S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals *Geochim Cosmochim Acta*, 1978, **42**(5): 495~ 506.
- [23] Cabana G, Rasmussen J B. Comparing aquatic food chains nitrogen isotopes *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, **93**(20): 10844~ 10847.
- [24] Vender Zanden M J, Joseph B R. Variation in the $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies *Limnol Oceanogr*, 2001, **46**(8): 2061~ 2066.
- [25] Rau G H, AJ Mearns, DR Young, et al. Animal $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ correlates with trophic level in pelagic food webs *Ecology*, 1983, **64**(5): 1314~ 1318.
- [26] Bunn S E, Lomeragan N R, Kempster M A. Effects of acid washing on stable isotope ratios of C and N in penaeid shrimp and seagrass: Implications for food-web studies using multiple stable isotopes *Limnol Oceanogr*, 1995, **40**(3): 622~ 625.
- [27] Goering J V, Alexander, Haubensack N. Seasonal variability of organism in a North Pacific bay *Estuarine Coastal Shelf Sci*, 1990, **30**(3): 239~ 260.
- [28] Keith L B, Sam C W. Effects of preservatives and acidification on the stable isotope ratios of two species of marine animals *Can J Fish Aquat Sci*, 1999, **56**(11): 2181~ 2185.
- [29] Thomas S A, Robert W A. The effect of dietary nitrogen on trophic level ^{15}N enrichment *Limnol Oceanogr*, 2000, **45**(3): 601~ 607.
- [30] McCutchan Jr J H, Lewis V M, Kendall C, et al. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur *OIKIS*, 2003, **102**(2): 378~ 390.
- [31] Fry B, Sherr E B. $\delta^{13}\text{C}$ measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems *Contrib Mar Sci*, 1984, **27**(1): 15~ 47.
- [32] Fry B. Natural stable carbon isotope tag traces Texas shrimp migrations *Fish Bull US*, 1981, **79**(2): 337~ 345.
- [33] Carlos A R M A, Bruce R F, Reynaldo V, et al. Energy sources for Detritivorous Fishes in the Amazon *Science*, 1986, **234**(4781): 1256~ 1258.
- [34] Harrigan P H, Zieman J C, Macko S A. The base of nutrition support for the gray snapper: an evaluation based on a combined stomach content and stable isotope analysis *Bulletin of Marine Science*, 1989, **44**(1): 65~ 77.
- [35] Whittlestone G W, Rabeni C F. Energy sources and ecological role of crayfishes in an Ozark stream: insights from stable isotopes and gut analysis *Can J Fish Aquat Sci*, 1997, **54**(11): 2555~ 2563.
- [36] Kline T C Jr, Goering JJ, Mathisen OA, et al. Recycling of elements transported upstream by runs of Pacific salmon II. $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ evidence in the Kvichak River watershed, Bristol Bay, southwestern Alaska *Can J Fish Aquat Sci*, 1993, **50**(11): 2350~ 2365.
- [37] Ben-David M, Flynn R W, Schell D M. Annual and seasonal changes in diets of martens: evidence from stable isotope analysis *Oecologia*, 1997, **111**(2): 280~ 291.
- [38] Ben-David M, Hanley T A, Klein D R, et al. Seasonal changes in diets of coastal and riverine mink: the role of spawning Pacific salmon *Can J Zool*, 1997, **75**(5): 800~ 811.
- [39] Szepanski M M, Ben-David M, Van B V. Assessment of anadromous salmon resources in the diet of the Alexander Archipelago wolf using stable isotope analysis *Oecologia*, 1999, **120**(3): 327~ 335.
- [40] Schwarcz H P. Some theoretical aspects of isotope paleodiet studies *J Archaeol Sci*, 1991, **18**(3): 261~ 275.
- [41] Phillips D L, Jillian W Gregg. Uncertainty in source partitioning using stable isotopes *Oecologia*, 2001, **127**(2): 171~ 179.
- [42] Phillips D L, Jillian W Gregg. Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources *Oecologia*, 2003, **136**(2): 261~ 269.
- [43] Phillips D L, Paul L Koch. Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models *Oecologia*, 2002, **130**(1): 114~ 125.
- [44] Rubenstein D R, Hobson K A. From birds to butterflies: Animal movement patterns and stable isotopes *Trends Ecol Evol*, 2004, **19**(5): 256~ 263.
- [45] Schoeller DA. Isotope fractionation: Why aren't we what we eat? *J Archaeol Sci*, 1999, **26**(6): 667~ 673.
- [46] Schwarcz H P. Some theoretical aspects of isotope paleodiet studies *J Archaeol Sci*, 1991, **18**(3): 261~ 275.
- [48] Gannes L Z, Martínez del Rio C, Koch P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. *Camp Biochem Physiol*, 1998, **119A**(3): 725~ 737.
- [47] Tieszen L L, Boutton T W, Tesdahl K G, et al. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: Implications for $d^{13}\text{C}$ analysis of diet *Oecologia*, 1983, **57**(1): 32~ 37.
- [49] Bearhop S, Waldron S, Votier S C, et al. Factors that influence assimilation rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian blood and feathers *Physiol Biochem Zool*, 2002, **75**(5): 451~ 458.

- [50] Wassenaar L I, Hobson K A. A stable-isotope approach to delineate geographical catchment areas of avian migration monitoring stations in North America. *Environ Sci Technol*, 2001, **35**(9): 1845~ 1850.
- [51] Vender Zanden M J, Gilbert Cabana, Joseph B Rasmussen. Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios and literature dietary data. *Can J Fish Aquat Sci*, 1996, **54**(5): 1142~ 1158.
- [52] Fry B. Food web structure on Georges Bank from stable C, N, and S isotopic compositions. *Limnol Oceanogr*, 1988, **33**(5): 1182~ 1190.
- [53] Herwig B R, Herwig D A, Soluk J M D, et al. Trophic structure and energy flow in backwater lakes of two large floodplain rivers assessed using stable isotopes. *Can J Fish Aquat Sci*, 2003, **61**(1): 12~ 22.
- [54] Connolly Rod M. Differences in trophodynamics of commercially important fish between artificial waterways and natural coastal wetlands. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2003, **58**(4): 929~ 936.
- [55] Sharon Z H, John G, Holt. Change in isotopic composition of red drum larvae in response to dietary shifts: potential applications to settlement studies. *Can J Fish Aquat Sci*, 2000, **57**(1): 137~ 147.
- [56] Killingley J S. Migrations of California gray whales tracked by oxygen-18 variations in their epizoic barnacles. *Science*, 1980, **207**(438): 759~ 760.
- [57] Killingley J S, Lutcavage M. Loggerhead turtle movements reconstructed $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{13}\text{C}$ profiles from commensal barnacle shells. *Estuarine Coastal Shelf Sci*, 1983, **16**(3): 345~ 349.
- [58] Richard R D, William H, Geoff P. Identification of anadromous and nonanadromous adult brook trout and their progeny in the Tabusinatac River, New Brunswick, by means of multiple-stable-isotope analysis. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1999, **122**(2): 278~ 288.
- [59] Minami H, Minagawa M, Ogi H. Changes in stable carbon and nitrogen isotope ratios in sooty and short-tailed shearwaters during their northward migration. *Condor*, 1995, **97**(2): 565~ 574.
- [60] Persson A, Lars-Anders H. Diet shift in following competitive release. *Can J Fish Aquat Sci*, 1998, **56**(1): 70~ 78.
- [61] Vender Zanden M J, Menno H, Mark S R, et al. Application of stable isotope techniques to trophic studies of age-0 smallmouth bass. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1998, **127**(5): 729~ 739.
- [62] Johnston N T, Stamford M D, Ashley K L, et al. Responses of rainbow trout and their prey to inorganic fertilization of and oligotrophic montane. *Can J Fish Aquat Sci*, 1999, **56**(6): 1011~ 1025.
- [63] Gaines E F G, Ruth H C, Sara P G, et al. Stable isotope evidence for changing nutrition sources of juvenile horseshoe crabs. *Biol Bull*, 2002, **203**(2): 228~ 230.
- [64] Stephen E M, Stephen A M, Greg C G. Isotope turnover in aquatic predators: quantifying the exploitation of migratory prey. *Can J Fish Aquat Sci*, 2000, **58**(5): 923~ 932.
- [65] Hobson K A, Ambrose W G Jr, Renaud P E. Sources of primary production, benthic-pelagic coupling and trophic relationships within the Northeast Water Polynya: Insights from $\delta^{13}\text{C}$ and analysis. *Mar Ecol Prog Ser*, 1995, **128**(1-3): 1~ 10.
- [66] Hong A SH, Li W Q, Wang M L. Application of N stable isotope technique in marine culture researches. *Acta Oceanologica Sinica*, 1994, **16**(4): 73~ 81.
- [67] Cai D L, Mao X H, Han Y B. Application of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios to studies of trophic relation in a marine ecosystem - preliminary inquiry into isotope compositions of marine plant and their influence factors. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1999, **30**(3): 306~ 314.
- [68] Cai D L, Meng F, Han Y B, et al. Studies on $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios as a trace for food web in a marine ecosystem - the trophic relations in pelagic food webs in Lao shan Bay. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1999, **30**(6): 671~ 678.
- [69] Cai D L, Wang R, Bi H S. Trophic relationships in the Bohai ecosystem: preliminary investigation from $\delta^{13}\text{C}$ analysis. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, **21**(8): 1354~ 1359.
- [70] Chen S Y, Zhou W H, Wu Y H, et al. The distribution of stable isotope $\delta^{13}\text{C}$ in the coral ecosystem in the district of Nansha Islands, South China Sea. *Marine Sciences*, 2001, **25**(6): 4~ 7.
- [71] Cai D L, Zhang S F, Tang Q S, et al. Stable Carbon and Nitrogen Isotope Fractionation in Metabolic Process of W eever (*Lateolabrax japonicus*). *Advances in Marine Science*, 2003, **21**(3): 308~ 317.
- [72] Tang Q S, Su J L. *Marine ecosystem dynamics study in China*. I. Beijing: Science Press, 2000.

参考文献:

- [66] 洪阿实, 李文权, 王明亮. N 稳定同位素技术在海水养殖研究中的应用. *海洋学报*, 1994, **16**(4): 73~ 81.
- [67] 蔡德陵, 毛兴华, 韩贻华. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比值在海洋生态系统营养关系研究中的应用-海洋植物的同位素组成及其影响因素的初步探讨. *海洋与湖沼*, 1999, 306~ 314.
- [68] 蔡德陵, 孟凡, 韩贻兵, 等. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比值作为海洋生态系统食物网示踪剂的研究-崂山湾水体生物食物网的营养关系. *海洋与湖沼*, 1999, **30**(6): 671~ 678.
- [69] 蔡德陵, 王荣, 毕洪生. 渤海生态系统的营养关系: 碳同位素研究的初步结果. *生态学报*, 2001, **21**(8): 1354~ 1359.
- [70] 陈绍勇, 周伟华, 吴云华, 等. 南沙珊瑚礁生态系生物体中 $\delta^{13}\text{C}$ 的分布. *海洋科学*, 2001, **25**(6): 4~ 7.
- [71] 蔡德陵, 张淑芳, 唐启升, 等. 鲈鱼新陈代谢过程中的碳氮稳定同位素分馏作用. *海洋科学进展*, 2003, **21**(3): 308~ 316.
- [72] 唐启升, 苏纪兰, 等. 中国海洋生态系统动力学研究. I. 北京: 科学出版社, 2000.