

中华绒螯蟹幼蟹碳稳定同位素周转速率与 碳、氮分馏系数的测定

鹿珍珍^{1,2}, 徐广伟^{1,2}, 孙云飞^{1,2,3,4*}, 肖昌伦^{1,2}, 唐伯平⁵, 成永旭^{1,2,3,4}

(1. 上海海洋大学, 农业农村部鱼类营养和环境生态研究中心, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业农村部稻渔综合种养生态重点实验室, 江苏 无锡 214081;

3. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;

4. 上海海洋大学, 上海水产养殖工程中心, 上海 201306;

5. 盐城师范学院, 江苏 盐城 224002)

摘要: 为测定生长与新陈代谢对不同规格中华绒螯蟹幼蟹和不同组织碳稳定同位素周转速率的影响及分馏系数, 本实验在水族箱 (0.2 m × 0.2 m × 0.3 m) 中分别养殖 EA 组 [(4.0 g ± 0.5) g] 和 EB 组 [(15.5 g ± 0.5) g] 2 组中华绒螯蟹幼蟹, 分别于 0、7、14、21 和 28 d 时采集幼蟹的肝胰腺、肌肉和鳃组织, 探究其碳稳定同位素周转过程, 并测定了幼蟹对食物碳、氮稳定同位素的分馏系数。结果显示, EA 组幼蟹碳稳定同位素的周转速率大于 EB 组, 周转速率随着幼蟹规格的增大而减小。幼蟹肝胰腺的周转速率最快, 其次是肌肉, 最后是鳃, 其中 EA 组幼蟹肝胰腺、肌肉和鳃的半衰期分别为 20.88、29.37 和 34.14 d, EB 组分别为 21.73、35.18 和 66.01 d。新陈代谢是驱动幼蟹体内碳稳定同位素周转的主要因子, 幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉中新陈代谢占碳稳定同位素周转的贡献百分比分别为 79.82%~94.04%、67.00%~81.90% 和 71.61%~90.36%。幼蟹对饵料碳、氮稳定同位素的分馏系数分别为 0.98‰ ± 0.19‰ 和 3.01‰ ± 0.02‰。本研究不仅对中华绒螯蟹幼蟹的营养生态学研究提供参考, 还为中华绒螯蟹养殖过程中的饵料选择提供了科学依据。

关键词: 中华绒螯蟹; 碳周转速率; 生长; 新陈代谢; 分馏系数; 稳定同位素

中图分类号: S 966.16

文献标志码: A

碳稳定同位素是一种天然示踪剂^[1-2], 运用稳定同位素技术可以确定不同食物源对消费者食物的贡献比例^[3]。李聪等^[4]发现当投喂的饲料的碳/氮值为 8、12 和 16 时, 克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 胃含物中饲料贡献率分别为 38.03%~44.17%、22.13%~25.35% 和 18.85%~19.93%; 宁佳加等^[5]发现, 红海湾海域口虾蛄 (*Oratosquilla oratoria*) 的主要食物来源有贝类、蟹类、桡足类、虾类和鱼

类, 平均贡献率分别为 38.6%、22.9%、16.0%、13.6% 和 8.9%; Rudnick 等^[6]发现, 加利福尼亚中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 更倾向于摄食藻类 (18.1%~33.8%) 以及无脊椎动物 (2.6%~5.6%), 而克氏原螯虾更倾向于摄食陆生碎屑 (70.0%~72.0%)。但采用稳定性同位素技术确定食物来源的贡献需要考虑饵料的同位素组成与被测组织之间的关系^[7], 这种关系主要由稳定同位素的周转速率 (即

收稿日期: 2022-05-27 修回日期: 2022-11-25

资助项目: 现代农业产业技术体系专项 (CARS-48); 国家自然科学基金青年基金 (31802320)

第一作者: 鹿珍珍 (照片), 从事河蟹营养生理研究, E-mail: zlzshou@163.com

通信作者: 孙云飞, 从事甲壳动物生态养殖研究, E-mail: yfsun@shou.edu.cn



食物改变时, 稳定同位素信号反映新食物的稳定同位素信号^[7-8]和分馏系数(即较重或较轻的同位素在消费者即动物组织中不同程度积累的过程)影响^[9-10]。

稳定同位素周转速率主要受生物体生长速率和新陈代谢速率的影响^[11-14]。研究表明同一种生物体内不同组织其碳稳定同位素周转速率也不同。新陈代谢活跃的组织(如肝脏、血液等)比新陈代谢缓慢的组织(如骨头、毛发等)稳定同位素周转速率更高^[3, 15-16]。仿刺参(*Apostichopus japonicus*)肠道碳稳定同位素的周转速率要大于体壁, 且新陈代谢因素为刺参体内碳稳定同位素周转的主要驱动因子^[3]。纽澳多刺岩龙虾(*Jasus edwardsii*)肌肉(半衰期 147 d)和血淋巴(半衰期 117 d)的周转速率没有显著差异, 但比新西兰拟鲈(*Paraperchias colias*)组织的周转速率快, 且在龙虾组织和新西兰拟鲈组织中, 新陈代谢占同位素周转速率的 90% 和 30%~60%。无脊椎动物食物的碳稳定同位素分馏系数在相邻营养级之间通常为 1‰左右^[17], 但其取样部位及样品处理方法的不同也会造成其与食物之间的碳、氮稳定同位素分馏系数的改变^[9, 18-19], 如 Vanderklif 等^[18]研究发现, 腐食性动物的氮稳定同位素分馏系数通常小于肉食性或者植食性动物的氮稳定同位素分馏系数。

中华绒螯蟹是典型的杂食性动物, 是我国主要的水产养殖动物^[6]。近些年来, 已有较多的学者采用稳定同位素技术来进行中华绒螯蟹的摄食生态学的研究^[6, 20], 然而, 有关中华绒螯蟹幼蟹稳定同位素周转速率及其对食物碳、氮稳定同位素分馏系数的研究仍未见报道。本实验研究了 2 种规格中华绒螯蟹幼蟹的肝胰腺、鳃和肌肉组织碳稳定同位素的周转速率情况, 并测定了中华绒螯蟹幼蟹对食物碳、氮稳定同位素的分馏系数, 以确定幼蟹在更换新食物后体内碳稳定同位素重新达到平衡状态所需要的时间; 估算生长和新陈代谢对幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉碳稳定同位素周转的贡献比例; 比较不同规格幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉碳稳定同位素的周转速率; 确定幼蟹体内碳、氮稳定同位素分馏系数。

1 材料与方法

1.1 养殖管理与样品采集

生长与新陈代谢对中华绒螯蟹不同组织碳稳定同位素周转速率的影响 本实验于 2020

年 12 月 — 2021 年 1 月在上海海洋大学滨海基地进行, 实验用中华绒螯蟹幼蟹购于上海海洋大学崇明基地(31.62° N, 121.40° E)。幼蟹运回实验室后暂养 10 d, 暂养条件和养殖基地一致, 即水温为(17.0 ± 1.0) °C。幼蟹暂养适应实验室养殖条件之后, 按体重分为 2 个处理组, 分别为 EA 组(4.0 g ± 0.5 g)和 EB 组(15.5 g ± 0.5 g)。每个处理组 45 只幼蟹分别放入 45 个水族箱(长、宽和高: 0.2 m × 0.2 m × 0.3 m)中, 即每个水族箱 1 只幼蟹。相同处理组水族箱内幼蟹体重无显著差异($P > 0.05$)。实验期间, 每个水族箱每天换水一半, 水温维持在(17.0 ± 1.0) °C, 溶解氧为(10.5 ± 1.0) mg/L, PH 为 8.0 ± 0.5, 光照周期为 12 : 12(L : D)。不同水族箱均被带孔的 PVC 板隔开使其处于相同的水环境中。实验期间, 每天 16: 00 投喂与养殖场所投喂配合饲料的碳稳定同位素值(-23.19‰ ± 0.12‰)有着显著差异的传统饲料(小麦、玉米和麸皮等, -26.04‰ ± 0.19‰), 20 h 后利用虹吸作用吸取残饵和粪便。

实验期间, 分别在第 0、7、14、21 和 28 天每个处理组各取幼蟹 9 只, 3 个幼蟹样本混合为 1 个样本。将采样的幼蟹放置在冰上麻醉, 并用 70% 乙醇消毒, 沿蟹壳侧面将蟹壳与躯体分离, 去除头胸甲, 将幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉冷冻干燥粉碎(粒径 < 0.1 mm)并于 -40 °C 冷冻保存以备后续稳定同位素分析, 实验过程中操作人员严格遵守实验动物伦理规范, 并按照上海海洋大学伦理委员会制定的规章制度执行。

中华绒螯蟹幼蟹碳、氮稳定同位素分馏系数测定 该实验于 2018 年 7 — 11 月在上海道宏水产养殖科技有限公司东滩养殖基地的池塘中进行。幼蟹的食物改为与原来的配合饲料碳稳定同位素值(-23.19‰ ± 0.12‰)有显著性差异的传统饲料(主要以小麦、玉米、麸皮和豆粕为主, -26.04‰ ± 0.19‰), 设置 3 个重复。养殖期间, 每天 16:00 投喂饲料, 各池塘的投喂比例一致。11 月从 3 个养殖池塘中分别挑选附肢健全且活力较好的中华绒螯蟹幼蟹(4.0~5.0) g 各 9 只用于实验, 3 个幼蟹样本混合为 1 个样本。将幼蟹放置在冰上麻醉, 并用 70% 乙醇消毒, 沿蟹壳侧面将蟹壳与躯体分离, 去除头胸甲、肝胰腺、鳃和肌肉, 取其肌肉进行冷冻干燥并粉碎(粒径 < 0.1 mm), 于 -40 °C 冷冻保存以备后续稳定同位素分析。

1.2 稳定同位素测定

处理完毕的样品经冷冻干燥机 (ILShin FD5508 Floor-Model Freezedryer) 处理后研磨, 过 80 目筛, 保存备用。将样品用铝箔包被, 其中, 肝胰腺、肌肉和鳃的样品分别包被 1.00 mg。采用稳定同位素质谱仪 (ISOPRIME100, Isoprime Corporation, Cheadle, 英国) 进行样品碳稳定同位素 ($\delta^{13}\text{C}$) 分析, 碳稳定同位素值以国际通用的标准物质美洲拟箭石 (PDB) 作为参考标准, 碳稳定性同位素值以 $\delta^{13}\text{C}$ 形式来表示。 $\delta^{13}\text{C}$ 计算公式:

$$\delta X (100\%) = [R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}} - 1] \times 1000 \quad (1)$$

式中, X 为 ^{13}C ; R_{sample} 是样品的同位素比值 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$; R_{standard} 是标准品的同位素比值^[19]。为保证实验结果的准确性和仪器的稳定性, 每测试 10 个样品穿插 1 个标样进行校正。样品 $\delta^{13}\text{C}$ 值分析精度为 0.05‰。

1.3 同位素周转模型和数据计算

本研究采用的稳定同位素周转模型基于 Hesslein 等^[11] 的同位素周转模型, 该模型将生物同位素周转动力分为生长和新陈代谢 2 种因素, 具体:

$$C = C_n + (C_0 - C_n) \times e^{-(k+m) \times t} \quad (2)$$

式中, C 是幼蟹在实验结束时组织的碳稳定同位素值, C_n 是幼蟹在新食物条件下组织达到稳定同位素平衡状态时的碳稳定同位素值, C_0 实验开始时幼蟹组织的碳稳定同位素值, k 是幼蟹实验期间的特定生长率 (%/d), m 是幼蟹的新陈代谢速率 (%/d), t 是时间 (d)。特定生长率 (k) 通过公式计算:

$$k = \frac{\ln M_f / M_0}{t} \quad (3)$$

式中, M_f 是取样时幼蟹的体重 (g), M_0 是实验开始时幼蟹的体重 (g), t 是从实验开始到幼蟹取样的时间 (d)。单由生长因素导致的幼蟹组织碳稳定同位素值变化的预测值由 (2) 计算, m 值设为 0^[11]。由生物新陈代谢因素驱动的稳定同位素周转速率 (m) 则为实验所观察到的碳稳定同位素周转速率 ($k+m$) 减去由生长因素所驱动的稳定同位素周转速率 (k)。式 (2) 拟合实验测得的幼蟹组织随时间变化的碳稳定同位素值, 利用 SPSS 软件 (SPSS, Chicago, IL, 美国) 分析可得 m ^[13]。生长和新陈代谢对幼蟹组织碳稳定同位素周转的贡献比例即为 k

值和 m 值与 $k+m$ 的比值^[22]。

幼蟹体内碳稳定同位素周转的百分比 (α) 所需的时间 (t) 按照公式计算:

$$t = \frac{-\ln(1 - \alpha/100)}{k + m} \quad (4)$$

取幼蟹体内碳稳定同位素周转 50% 时所需的时间为碳稳定同位素周转的半衰期 (HL), 单位为 d。

1.4 数据分析

数据处理所有数据均采用平均值 \pm 标准差表示。使用 SPSS 26.0 软件 (SPSS, 美国) 对相同规格幼蟹不同采样时间下的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的差异, 不同规格幼蟹和其肝胰腺、肌肉和鳃组织的新陈代谢速率、同位素周转速率和新陈代谢贡献百分比的数据进行单因素方差分析 (Oneway ANOVA) 及多重比较 (Duncan's 法), 分别以 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 表示差异显著或极显著。

2 结果

2.1 碳稳定同位素值的迁移

不同取样时间幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉的碳稳定同位素值见表 1。当幼蟹食物改变后, 不同规格幼蟹鳃、肝胰腺和肌肉碳稳定同位素值均逐渐向新食物的碳稳定同位素值迁移。EA 组幼蟹肝胰腺和肌肉碳稳定同位素值在实验开始 14 d 后出现了显著差异, 而鳃稳定同位素值在实验开始 21 d 后才出现显著差异。EB 组幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉的碳稳定同位素值分别在实验开始 7、14 和 21 d 后开始出现显著差异。

2.2 生长和新陈代谢对中华绒螯蟹不同组织碳稳定同位素周转的影响

不同规格中华绒螯蟹幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉的特定生长速率 (k)、新陈代谢速率 (m)、碳稳定同位素周转速率 ($k+m$) 以及碳稳定同位素周转的半衰期 (half-life) 见表 2, EA 组幼蟹的特定生长率 (0.006 7/d + 0.001 7/d) 高于 EB 组 (0.001 9/d + 0.000 2/d)。不同规格幼蟹或不同幼蟹组织间 m 值均显著高于 k 值 ($P < 0.05$)。此外, EA 组幼蟹鳃 (0.020 3/d + 0.005/d) 和肌肉 (0.023 6/d + 0.004/d) 的同位素周转速率显著高于 EB 组 (0.010 5/d + 0.006/d 和 0.019 7/d + 0.006/d)。新陈代谢速率 (m) 与碳稳定同位素周转速率 ($k+m$) 的比值表示新陈代谢对碳稳定同位素周转速率的贡献比例。计算

表 1 不同规格中华绒螯蟹幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉碳稳定同位素值的变化

Tab. 1 Carbon stable isotope values of hepatopancreas, gills and muscles of *E. sinensis* with different specifications

时间/d time	肝胰腺 hepatopancreas		肌肉 muscle		鳃 gill	
	EA	EB	EA	EB	EA	EB
0	-26.26 ± 0.01 ^a	-24.58 ± 0.02 ^a	-25.88 ± 0.41 ^a	-23.96 ± 0.33 ^a	-28.87 ± 0.78 ^a	-27.50 ± 0.46 ^a
7	-26.26 ± 0.01 ^a	-23.95 ± 0.03 ^b	-26.55 ± 0.35 ^a	-23.73 ± 0.21 ^a	-29.47 ± 0.35 ^a	-27.14 ± 0.37 ^{a^b}
14	-25.92 ± 0.76 ^b	-24.13 ± 0.02 ^c	-24.84 ± 0.03 ^b	-23.96 ± 0.41 ^a	-28.84 ± 0.57 ^a	-27.71 ± 0.15 ^d
21	-22.51 ± 0.01 ^c	-21.71 ± 0.06 ^d	-23.49 ± 0.32 ^c	-22.20 ± 0.08 ^b	-25.92 ± 0.76 ^b	-26.16 ± 0.74 ^{bc}
28	-22.67 ± 0.01 ^d	-21.87 ± 0.23 ^d	-23.25 ± 0.20 ^c	-22.40 ± 0.05 ^b	-24.95 ± 0.78 ^b	-25.38 ± 0.45 ^c

注: 数据用平均数±标准差(mean ± SD)表示; 同列不同字母表示差异性显著($P < 0.05$); 下同。

Notes: Data in the table are expressed as mean ± standard deviation (mean ± SD), values with different small letters mean significant differences in the same row ($P < 0.05$); the same below.

表 2 不同规格中华绒螯蟹幼蟹的不同组织初始和终末稳定同位素值 ($\delta^{13}\text{C}$)、特殊生长率 (k)、新陈代谢 (m)、同位素周转速率 ($k + m$)、新陈代谢贡献百分比 (100%) 以及同位素周转半衰期 (mean ± SD)Tab. 2 Summary of initial and final stable isotope values ($\delta^{13}\text{C}$), special growth rate (k), metabolism (m), isotope turnover rate ($k + m$), percentage of metabolic contribution (100%) and isotope turnover half-life (mean ± SD) of different sizes of *E. sinensis*

组织 tissue	规格 body size	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$		特定 生长率/(%/d) k	新陈代谢 速率/(%/d) m	同位素周转 速率/(%/d) $k + m$	新陈代谢 贡献百分比/ % %	半衰期/d half-life
		初始 initial	终末 final					
鳃 gill	EA	-28.87 ± 0.63	-24.95 ± 0.63	0.006 7 + 0.001 7	0.013 6 + 0.000 2 ^b	0.020 3 ± 0.005 ^b	67.00 ^a	34.14
	EB	-27.50 ± 0.37	-25.38 ± 0.37	0.001 9 + 0.000 2	0.008 6 + 0.000 1 ^a	0.010 5 ± 0.006 ^a	81.90 ^c	66.01
肌肉 muscle	EA	-25.88 ± 0.34	-23.25 ± 0.17	0.006 7 + 0.001 7	0.016 9 + 0.000 2 ^{bc}	0.023 6 ± 0.004 ^c	71.61 ^{ab}	29.37
	EB	-23.96 ± 0.27	-22.40 ± 0.04	0.001 9 + 0.000 2	0.017 8 + 0.000 1 ^c	0.019 7 ± 0.006 ^b	90.36 ^c	35.18
肝胰腺 hepatopancreas	EA	-26.26 ± 0.01	-22.67 ± 0.01	0.006 7 + 0.001 7	0.026 5 + 0.000 2 ^d	0.033 2 ± 0.003 ^d	79.82 ^b	20.88
	EB	-24.58 ± 0.02	-21.87 ± 0.19	0.001 9 + 0.000 2	0.030 0 + 0.000 1 ^c	0.031 9 ± 0.004 ^d	94.04 ^c	21.73

结果表明, 在幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉中, 新陈代谢对碳稳定同位素周转的贡献比例分别高达 79.82%~94.04%、67%~81.9% 和 71.61%~90.36%。由于幼蟹不同组织的生长速率和新陈代谢速率存在差异性, 幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉碳稳定同位素表现出不同的变化时程。具体而言, 幼蟹的肝胰腺对食物稳定同位素的变化更为敏感(图 1)。幼蟹肝胰腺碳稳定同位素周转半衰期低于鳃和肌肉碳稳定同位素周转半衰期, 且 EA 组稳定同位素周转半衰期低于 EB 组碳稳定同位素周转半衰期。

2.3 中华绒螯蟹幼蟹碳、氮分馏系数的测定

幼蟹、配合饲料碳、氮稳定同位素值以及幼蟹-饲料碳、氮稳定同位素分馏系数如表 3 所示, 中华绒螯蟹幼蟹 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 $\delta^{15}\text{N}$ 值分别为 $-25.06\text{‰} \pm 2.11\text{‰}$ 和 $3.50\text{‰} \pm 0.75\text{‰}$, 配合饲料的 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 $\delta^{15}\text{N}$ 值分别为 $-26.04\text{‰} \pm 0.19\text{‰}$ 和 $0.49\text{‰} \pm 0.02\text{‰}$ 。碳稳定同位素的分馏系数为 $0.98\text{‰} \pm 0.19\text{‰}$, 氮稳定同位素的分馏系数为 $3.01\text{‰} \pm 0.02\text{‰}$ 。

3 讨论

3.1 中华绒螯蟹幼蟹肝胰腺、鳃与肌肉的周转速率

当生物更换食物时, 其身体组织碳稳定同位素值也将向新食物的碳稳定同位素值迁移^[3]。本实验测定了中华绒螯蟹幼蟹的肝胰腺、鳃和肌肉组织的碳稳定同位素周转速率, 发现 EA 组、EB 组中幼蟹肝胰腺、肌肉和鳃的碳稳定同位素周转速率依次降低。已有研究表明, 生物体不同组织的新陈代谢速率越快, 则其相应组织的碳稳定同位素周转速率越快^[3, 15-16], 因此, 本研究中华绒螯蟹的肝胰腺、肌肉和鳃的周转速率依次降低可能是由于其新陈代谢速率依次降低所导致的^[23-26]。另外一个影响有机体碳稳定同位素周转速率的因素是有机体组织的脂肪含量。已有研究发现, 脂肪含量较高的组织其碳稳定同位素分馏作用弱于脂肪含量较低的组织碳稳定同位素分馏作用^[15, 27], 从而导致脂肪含量较高的组织拥有更为

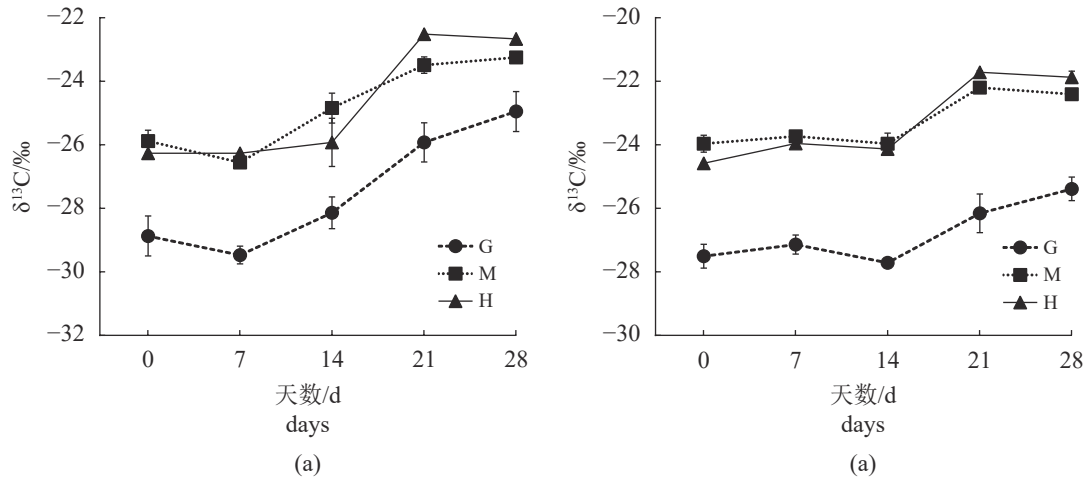


图1 EA组(a)和EB组(b)中华绒螯蟹幼蟹肝胰腺、肌肉和鳃碳稳定同位素值随时间的变化

H. 肝胰腺, M. 肌肉, G. 鳃。

Fig. 1 Time courses for the shifts in the $\delta^{13}\text{C}$ values for the EA(a) and EB groups (b) of *E. sinensis*

H. hepatopancreas, M. muscles and, G. gills.

表3 幼蟹与配合饲料碳、氮稳定同位素值以及幼蟹-饲料碳、氮稳定同位素分馏系数

Tab. 3 Carbon and nitrogen stable isotope values of *E. sinensis*, artificial feed and trophic fractionation for carbon and nitrogen stable isotopes

		‰	
		$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
中华绒螯蟹幼蟹	<i>E. sinensis</i>	-25.06 ± 2.11	3.50 ± 0.75
配合饲料	formulated feed	-26.04 ± 0.19	0.49 ± 0.02
分馏系数	fractionation	0.98 ± 0.19	3.01 ± 0.02

高的稳定同位素周转速率^[28]。本研究中幼蟹肝胰腺脂肪含量要显著高于肌肉和鳃, 因此幼蟹肝胰腺碳稳定同位素周转速率最高。

3.2 规格对中华绒螯蟹幼蟹的周转速率的影响

本实验测定了不同规格幼蟹的碳稳定同位素周转速率, 结果表明, 规格对幼蟹碳稳定同位素的周转速率有显著的影响。在幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉组织中, 均是规格小的幼蟹具有较高的碳稳定同位素周转速率。且小规格幼蟹肝胰腺(20.88 d)、鳃(34.14 d)和肌肉(29.37 d)组织的半衰期均小于大规格幼蟹的对应组织(21.73 d、66.01 d和35.18 d)。在仿刺参的研究中^[3]也有类似发现, 无论是肠道组织还是体壁组织, 小规格仿刺参相对于大规格仿刺参来说均具有较高的碳稳定同位素周转速率, 与Tieszen等^[15]提出的“体重越大的动物其碳稳定同位素周转速率越慢”的观点一致。

3.3 生长与新陈代谢对中华绒螯蟹幼蟹同位素周转的贡献

生物体生长阶段, 体组织稳定同位素的更新和周转与其蛋白质、脂肪和碳水化合物化合物的分解与合成有关。因此, 生物体的生长速率和新陈代谢速率会影响其稳定同位素的周转速率^[13]。本研究发现, 新陈代谢在中华绒螯蟹幼蟹肝胰腺、鳃和肌肉中的贡献百分比分别达到79.82%~94.04%、67%~81.9%和71.61%~90.36%, 说明新陈代谢是驱动幼蟹体组织碳稳定同位素周转的主要因子。这与Tarboush等^[29]发现新陈代谢作用对斑马鱼(*Danio rerio*)肌肉组织碳稳定同位素周转的贡献比例高达74%的结果一致。但Hesslein等^[11]、Fry等^[30]和Herzka等^[31]认为生长才是驱动变温水生动物稳定同位素周转的主要因子。结论不同的原因可能是由于生长和新陈代谢对生物组织碳稳定同位素周转的贡献作用取决于该生物能量学分配比例^[3]。生长速率较慢的生物, 会分配更多的能量用于体内新陈代谢来维持正常的生理活动, 而生长速率较快的生物, 通常分配大量能量来保证快速生长^[3]。幼蟹未蜕壳时生长相对较慢, 因此在幼蟹肝胰腺、肌肉与鳃碳稳定同位素周转中, 生长因素的贡献率远小于新陈代谢因素的贡献率。

3.4 中华绒螯蟹幼蟹碳、氮稳定同位素的分馏系数

本研究测定了幼蟹整体的碳、氮稳定同位素值来计算河蟹对饵料的稳定同位素分馏系数。研

究发现, 碳稳定同位素分馏系数为 $0.98‰ \pm 0.19‰$, 这与 McCutchan 等^[9] 研究得出的消费者肌肉的分馏系数为 $1.3‰ \pm 0.3‰$ 的结果相似, 氮稳定同位素分馏系数为 $3.01‰ \pm 0.02‰$, 这与 Post^[32] 对 25 个北温带湖泊以及湖泊内近海和远洋食物网的水生食物链结果, 即相邻营养级的氮稳定同位素分馏系数在 3.4‰ 左右相近。也与 Vizzini 等^[33]、Vander 等^[34] 研究发现地中海西部沿海地区和丹麦 27 个湖泊中生物氮稳定同位素分馏系数在 3‰ 左右结果相似。

本研究中, 幼蟹食物稳定, 摄食同一种人工配合饲料超过 5 个月, 体内碳稳定同位素与食物碳稳定同位素达到了平衡状态, 因此本研究得出的中华绒螯蟹幼蟹对食物碳和氮稳定同位素的分馏系数是准确和可靠的。

4 结论

本研究分别养殖 EA 组 [(4.0 g \pm 0.5) g] 和 EB 组 [(15.5 g \pm 0.5) g] 2 组中华绒螯蟹幼蟹, 分别于 0、7、14、21 和 28 d 时采集幼蟹的肝胰腺、肌肉和鳃组织, 探究其碳稳定同位素周转速率, 并测定了幼蟹对食物碳、氮稳定同位素的分馏系数。结果显示, 碳稳定同位素的周转速率随着幼蟹规格的增大而减小。幼蟹肝胰腺的周转速率最快, 其次是肌肉, 最后是鳃。在幼蟹肝胰腺、肌肉与鳃碳稳定同位素周转中, 生长因素的贡献率远小于新陈代谢因素的贡献率。幼蟹对饵料碳、氮稳定同位素的分馏系数分别为 $0.98‰ \pm 0.19‰$ 和 $3.01‰ \pm 0.02‰$ 。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Zhang C, Li Q Q, Wu X G, *et al.* Genetic diversity and genetic structure of farmed and wild Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) populations from three major basins by mitochondrial DNA *COI* and *Cytb* gene sequences[J]. *Mitochondrial DNA Part A*, 2018, 29(7): 1081-1089.
- [2] de Abreu D C, Paula J, Macia A. Tropical seascapes as feeding grounds for juvenile penaeid shrimps in southern Mozambique revealed using stable isotopes[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2017, 198: 21-28.
- [3] 孙侦龙. 刺参养殖主要营养要素代谢过程的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- [4] Sun Z L. Study on the main nutrient metabolism of the farming sea cucumber[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012 (in Chinese).
- [4] 李聪, 成永旭, 管勤壮, 等. 用稳定性同位素技术分析稻—虾系统中不同“碳/氮”投喂方式对克氏原螯虾食性的影响[J]. *水产学报*, 2018, 42(11): 1778-1786.
- Li C, Cheng Y X, Guan Q Z, *et al.* Using stable isotopes to estimate the effects of different carbon/nitrogen feeds on feeding habit of *Procambarus clarkii* in the rice-crayfish co-culture system[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(11): 1778-1786 (in Chinese).
- [5] 宁加佳, 杜飞雁, 王雪辉, 等. 基于稳定同位素的口虾蛄食性分析[J]. *水产学报*, 2016, 40(6): 903-910.
- Ning J J, Du F Y, Wang X H, *et al.* Feeding habits of mantis shrimp based on stable isotope analysis[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(6): 903-910 (in Chinese).
- [6] Rudnick D, Resh V. Stable isotopes, mesocosms and gut content analysis demonstrate trophic differences in two invasive decapod crustacea[J]. *Freshwater Biology*, 2005, 50(8): 1323-1336.
- [7] 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.
- [8] O'Reilly C M, Hecky R E, Cohen A S, *et al.* Interpreting stable isotopes in food webs: recognizing the role of time averaging at different trophic levels[J]. *Limnology and Oceanography*, 2002, 47(1): 306-309.
- [9] McCutchan J H Jr, Lewis W M Jr, Kendall C, *et al.* Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur[J]. *Oikos*, 2003, 102(2): 378-390.
- [10] Michener R H, Kaufman L. Stable isotope ratios as tracers in marine food webs: an update[M]//Michener R H, Lajtha K. *Stable isotopes in ecology and environmental Science*. 2nd ed. Malden: Blackwell Publishing Ltd., 2007: 238-282.
- [11] Hesslein R H, Hallard K A, Ramlal P. Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by $\delta^{34}\text{S}$, $\delta^{13}\text{C}$, and $\delta^{15}\text{N}$ [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1993, 50(10): 2071-2076.
- [12] MacAvoy S E, Arneson L S, Bassett E. Correlation of 中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- metabolism with tissue carbon and nitrogen turnover rate in small mammals[J]. *Oecologia*, 2006, 150(2): 190-201.
- [13] MacAvoy S E, Macko S A, Arneson L S. Growth versus metabolic tissue replacement in mouse tissues determined by stable carbon and nitrogen isotope analysis[J]. *Canadian Journal of Zoology*, 2005, 83(5): 631-641.
- [14] Traugott M, Thalinger B, Wallinger C, *et al.* Fish as predators and prey: DNA-based assessment of their role in food webs[J]. *Journal of Fish Biology*, 2021, 98(2): 367-382.
- [15] Tieszen L L, Boutton T W, Tesdahl K G, *et al.* Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet[J]. *Oecologia*, 1983, 57(1): 32-37.
- [16] Hobson K A, Welch H E. Determination of trophic relationships within a high Arctic marine food web using $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1992, 84: 9-18.
- [17] Peterson B J, Fry B. Stable isotopes in ecosystem studies[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1987, 18: 293-320.
- [18] Vanderklift M A, Ponsard S. Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: a meta-analysis[J]. *Oecologia*, 2003, 136(2): 169-182.
- [19] Caut S, Angulo E and Courchamp F. Variation in discrimination factors ($\Delta^{15}\text{N}$ and $\Delta^{13}\text{C}$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2009, 46(2): 443-453.
- [20] 俞雅文, 徐东坡. 运用碳氮稳定同位素技术探究中华绒螯蟹与无齿螳臂相手蟹的营养生态位特征[J]. *长江流域资源与环境*, 2019, 28(9): 2092-2099.
- Yu Y W, Xu D P. Trophic niche on eriocheir sinensis and chiromantes dehaani through stable-isotope analysis[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2019, 28(9): 2092-2099 (in Chinese).
- [21] Logan J, Haas H, Deegan L, *et al.* Turnover rates of nitrogen stable isotopes in the salt marsh mummichog, *Fundulus heteroclitus*, following a laboratory diet switch[J]. *Oecologia*, 2006, 147(3): 391-395.
- [22] Buchheister A, Latour R J. Turnover and fractionation of carbon and nitrogen stable isotopes in tissues of a migratory coastal predator, summer flounder (*Paralichthys dentatus*)[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2010, 67(3): 445-461.
- [23] Zar J H. *Biostatistical Analysis*[M]. 5th ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2010.
- [24] Arneson L S, MacAvoy S E. Carbon, nitrogen, and sulfur diet-tissue discrimination in mouse tissues[J]. *Canadian Journal of Zoology*, 2005, 83(7): 989-995.
- [25] Ogden L J E, Hobson K A, Lank D B. Blood isotopic ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) turnover and diet-tissue fractionation factors in captive dunlin (*Calidris alpina pacifica*)[J]. *The Auk*, 2004, 121(1): 170-177.
- [26] 韩羽嘉, 田甲申, 李多慧, 等. 黄条鲷不同组织碳稳定同位素的转化率与分馏[J]. *水产学杂志*, 2017, 30(6): 34-40.
- Han Y J, Tian J S, Li D H, *et al.* Conservation rate and fractionation of carbon stable isotope from different tissues in yellow tail seriola aureovittata[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2017, 30(6): 34-40 (in Chinese).
- [27] DeNiro M J, Epstein S. Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis[J]. *Science*, 1977, 197(4300): 261-263.
- [28] Nelson J, Chanton J, Coleman F, *et al.* Patterns of stable carbon isotope turnover in gag, *Mycteroperca microlepis*, an economically important marine piscivore determined with a non-lethal surgical biopsy procedure[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2011, 90(3): 243-252.
- [29] Tarboush R A, MacAvoy S E, Macko S A, *et al.* Contribution of catabolic tissue replacement to the turnover of stable isotopes in *Danio rerio*[J]. *Can. J. Zool.*, 2006, 84: 1453-1460.
- [30] Fry B, Arnold C. Rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*)[J]. *Oecologia*, 1982, 54(2): 200-204.
- [31] Herzka S Z, Holt G J. Changes in isotopic composition of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae in response to dietary shifts: potential applications to settlement studies[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2000, 57(1): 137-147.
- [32] Post D M. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions[J]. *Ecology*, 2002, 83(3): 703-718.
- [33] Vizzini S, Mazzola A. Seasonal variations in the stable carbon and nitrogen isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) of primary producers and consumers in a western Medi-

- terranean coastal lagoon[J]. *Marine Biology*, 2003, 142(5): 1009-1018.
- [34] Vander Zanden M J, Vadeboncoeur Y, Diebel M W, *et al.* Primary consumer stable nitrogen isotopes as indicators of nutrient source[J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(19): 7509-7515.

Determination of carbon stable isotope turnover rate and carbon and nitrogen fractionation factor in juvenile *Eriocheir sinensis*

LU Zhenzhen^{1,2}, XU Guangwei^{1,2}, SUN Yunfei^{1,2,3,4*}, XIAO Changlun^{1,2},
TANG Boping⁵, CHENG Yongxu^{1,2,3,4}

(1. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Integrated Rice-Fish Farming Ecology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Fresh water Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;

3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

5. Yancheng Teachers University, Yancheng 224002, China)

Abstract: To determine the effects of growth and metabolism on carbon stable isotope turnover rates and fractionation factor of juvenile *Eriocheir sinensis* and different tissues, the hepatopancreas, muscle and gill tissues of juvenile *E. sinensis* in EA group [(4.0 g ± 0.5) g] and EB group [(15.5 g ± 0.5) g] were collected at 0, 7, 14, 21 and 28 days, respectively, in an aquarium of 0.2 × 0.2 × 0.3 m. The turnover process of stable carbon isotopes was investigated, and the fractionation factor of stable carbon and nitrogen isotopes were determined. The results showed that (1) The turnover rate of carbon stable isotopes in EA group was greater than that in EB group, and the turnover rate decreased with the increase of juvenile crab size. (2) The turnover rate of hepatopancreas was the fastest, followed by muscle and gills. The half-lives of hepatopancreas, muscle and gills in EA group were 20.88, 29.37 and 34.14 days, respectively, and those in EB group were 21.73, 35.18 and 66.01 days, respectively. (3) Metabolism was more principal for driving the turnover of carbon stable isotope with the contribution ranging from 79.82% to 94.04% for hepatopancreas, from 67.00% to 81.90% for gills, and from 71.61% to 90.36% for muscle. (4) The fractionation factors of carbon and nitrogen stable isotopes were 0.98‰ ± 0.19‰ and 3.01‰ ± 0.02‰, respectively. This study not only provided a reference for the nutritional ecology of juvenile *E. sinensis*, but also provided a scientific basis for bait selection in the breeding process of *E. sinensis*.

Key words: *Eriocheir sinensis*; carbon turnover rate; grow; metabolism; fractionation factor; stable isotope

Corresponding author: SUN Yunfei. E-mail: yfsun@shou.edu.cn

Funding projects: China Agriculture Research System (CARS-48); National Natural Science Foundation of China (31802320)