

人工食物对高原鼠兔稳定性碳和氮同位素组成的影响

易现峰, 李来兴*, 张晓爱, 赵亮, 李明财

(中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001)

摘要: 以玉米面、小米面和绿豆粉(质量比为 5:3:2)的混合食物饲喂青藏高原地区特有种高原鼠兔, 40 d 后断头杀死, 取其后腿肌肉测定稳定性碳和氮同位素组成。结果表明, 用混合食物饲喂后, 高原鼠兔的稳定性碳同位素比值显著升高, 由对照的 $(-24.66 \pm 0.25) \text{‰}$ 上升为 $(-19.05 \pm 0.09) \text{‰}$; 稳定性氮同位素的组成变化较小, 仅由对照的 $(3.28 \pm 0.13) \text{‰}$ 增加为饲喂后的 $(3.61 \pm 0.32) \text{‰}$ 。经人工食物饲喂后, 高原鼠兔与其食物间稳定性碳同位素的分馏效应为 4.73‰ , 稳定性氮同位素的分馏效应为 2.79‰ 。C₄ 组分食物的加入影响高原鼠兔的稳定性同位素(特别是氮同位素)代谢模式, 其稳定性同位素代谢周转率可能高于原来预测的 40 d。

关键词: 人工食物; 稳定性碳、氮同位素; 高原鼠兔; 同位素代谢

中图分类号: Q958.12; Q959.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254 - 5853(2004)03 - 0232 - 04

Influence of Artificial Food on Stable Carbon and Nitrogen Isotope Composition of Plateau Pikas

YI Xian-feng, LI Lai-xing*, ZHANG Xiao-ai, ZHAO Liang, LI Ming-cai

(Northwest Institute of Plateau Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

Abstract: To better understand stable isotope enrichment and metabolism of small mammals and to provide alternative for their dietary information analysis, a controlled feeding experiment was conducted on plateau pikas (*Ochotona curzoniae*) with mixture of flours of corn (C₄ plant), millet (C₄ plant) and mung bean (C₃ plant). Muscles of back legs were collected from plateau pikas for stable isotope analyses after 40 days' artificial feeding. The results demonstrated that stable carbon and nitrogen isotopes showed great variations after introduction of artificial food. Stable carbon isotope ratios of treatment groups became less negative compared with the control [$(-19.05 \pm 0.09) \text{‰}$ to $(-24.66 \pm 0.42) \text{‰}$] and showed great differences ($t = -31.528$, $df = 6$, $P = 0.000$). Stable nitrogen isotope ratios of treatment groups were a little bit positive compared with the control [$(3.61 \pm 0.32) \text{‰}$ to $(3.28 \pm 0.13) \text{‰}$] ($t = 1.427$, $df = 7$, $P = 0.197$). Fractionations of stable carbon and nitrogen isotopes between plateau pikas' muscles and their diets were 4.73‰ and 2.79‰ respectively. Introduction of C₄ food had strong effect on stable isotope metabolism (especially for stable nitrogen isotope) of plateau pikas. Turnover rate of stable carbon and nitrogen isotopes for plateau pikas might be much more than forty days as respected.

Key words: Controlled feeding; Stable carbon and nitrogen isotope; Plateau pika; Isotope metabolism

动物的食性信息通常以直接观察、胃(肠)内容物分析、抗原-抗体反应测定、放射性同位素和生物色素示踪等方法(Hobson, 1999)来获得。稳定性同位素(生物体内天然存在的不具有放射性的同位素, 如¹³C、¹²C、¹⁴N和¹⁵N等)技术应用于食性分

析是基于生物体内天然存在的同位素比值与其食物间密切相关这一原理建立起来的(DeNiro & Epstein, 1978, 1981), 而且已经被广泛应用于生态学的诸多研究领域。通过比较消费者组织与其食物间稳定性碳同位素的差异可以用来研究动物的食性

* 收稿日期: 2003 - 12 - 31; 接受日期: 2004 - 03 - 19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30270217)

通讯作者 (Corresponding author), Tel: 0971 - 6102096, E-mail: llee58@126.com

第一作者简介: 易现峰, 男, 1975年3月生, 博士研究生, 从事生态系统生态学; Tel: 0971 - 6163687, E-mail: yxfeng1975@sohu.com

(Hobson & Clark, 1992; Ben-David et al, 1997a, b; Szepanski et al, 1999) 和食物网结构 (Kwak & Zedler, 1997; Whitledge & Rabeni, 1997)。与传统的研究食性的方法相比, 稳定性同位素方法可获得消费者在较长时间内的食性信息, 有时甚至可以获得动物终生的食性和取食行为信息 (Peterson & Fry, 1987)。利用稳定性同位素技术研究动物食性, 其关键是弄清消费者在代谢过程中对同位素的分馏 (fractionation) 和富集 (enrichment) 效应。稳定性碳和氮同位素的比值 (^{13}C 和 ^{15}N) 在动物的肌肉组织和食物间的富集效应 (即肌肉组织相对于食物 ^{13}C 和 ^{15}N 的比值分别上升的幅度) 分别在 1‰~2‰ 和 2‰~3‰ 之间 (Hobson & Clark, 1992; Hilderbrand et al, 1996)。不同的食物组成将影响消费者的同位素模式, 而且同位素代谢还存在时间上的代谢周转率。不同的物种和不同的组织内, 同位素的代谢周转率也有所不同。本文将分布于青藏高原的高原鼠兔为研究对象, 以已知稳定性碳和氮同位素组成的人工混合食物饲喂, 探讨对其稳定性碳和氮同位素代谢以及同位素代谢周转率的影响, 为研究青藏高原小型哺乳类及其它大型哺乳类的食性和物质代谢奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 样品来源及处理

高原鼠兔 (*Ochotona curzoniae*) 捕获于中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站, 以玉米面、小米面和绿豆粉 (质量比为 5:3:2) 的混合食物饲喂。饲喂 40 d 后断头杀死, 取其后腿肌肉作样品; 同时从野外捕捉高原鼠兔, 取其后腿肌肉作空白对

照。在饲喂 35 d 后收集高原鼠兔的粪便, 用于稳定性同位素测定。所有肌肉样品在 70℃ 恒温下干燥 48 h 至恒重, 充分研磨过 200 目筛备用。

1.2 稳定性碳和氮同位素比值的测定

过筛后的样品用 Finnigan MAT DELTA^{PLUS} XL 同位素质谱仪和元素分析仪进行测定, 二者的操作界面为 ConF。制备条件: 氧化炉温度为 900℃, 还原炉温度为 680℃, 柱温为 40℃。产生的 CO_2 和 N_2 在真空中经纯化注入比集运量 602E 质谱仪 (Finnegan Mat, Bremen, Germany) 进行测定。测定结果分别以 ^{13}C 和 ^{15}N 表示:

$$^{13}\text{C} = [(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{sample}} / (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{standard}} - 1] \times 1000$$

$$^{15}\text{N} = [(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{sample}} / (^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{standard}} - 1] \times 1000$$

式中 $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{sample}}$ 和 $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{standard}}$ 分别是样品和标准品 (PDB) 的碳同位素比率; $(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{sample}}$ 和 $(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{standard}}$ 分别是样品和标准品 (大气中的氮气) 的氮同位素比率。整个分析过程 (包括样品处理和分析) 的精度为 $\pm 0.2\text{‰}$ 。

1.3 数据分析

以 SPSS (Statistical Package for Social Scientists) 11.0 进行显著性检验。数据以 Mean \pm SD 表示。稳定性碳、氮同位素之间的差异以独立样本 t 检验 (Levene's 检验) 进行检验。

2 结果与分析

在饲喂人工食物后, 高原鼠兔肌肉组织中稳定性碳和氮同位素组成与对照相比, 发生了较大变化 (表 1)。稳定性碳同位素比值明显提高, 由对照的

表 1 高原鼠兔和人工食物的稳定性碳和氮同位素组成

Table 1 Stable carbon and nitrogen isotope compositions of artificial foods and plateau pika

项目 Items	^{13}C (‰)	^{15}N (‰)
人工食物 Artificial food		
玉米面 Corn flour	- 12.48	- 0.13
小米面 Millet flour	- 13.38	1.22
绿豆粉 Mung bean flour	- 24.87	0.47
混合食物 Mixed food	- 14.30	0.82
高原鼠兔 Plateau pika		
腿肌 (人工饲喂组) Leg muscles (treated)	- 19.05 \pm 0.09 [*] (4)	3.61 \pm 0.32 ^{ns} (5)
腿肌 (对照组) Leg muscles (untreated)	- 24.66 \pm 0.25 [*] (4)	3.28 \pm 0.13 ^{ns} (4)
粪便 (人工饲喂组) Feces (treated)	- 23.70	4.08

* $P < 0.01$; ^{ns} 无显著差异 (* Significant at $P < 0.01$ level; ^{ns} non-significant at $P > 0.05$ level); 括号中的数字为样本数 (Data in parentheses mean sample sizes)。

(- 24.66 ± 0.25) ‰富集为 (- 19.05 ± 0.09) ‰ ($t = - 31.528$, $df = 6$, $P = 0.000$)。稳定性氮同位素则较对照富集程度小, 由对照的 (3.28 ± 0.13) ‰富集为 (3.61 ± 0.32) ‰ ($t = 1.427$, $df = 7$, $P = 0.197$)。高原鼠兔与其食物间稳定性碳同位素的分馏效应为 4.73 ‰, 稳定性氮同位素的分馏效应为 2.79 ‰。

3 讨论

在本研究中, 我们以玉米面、小米面和绿豆粉的混合食物饲喂高原鼠兔。其中玉米面和小米面是 C₄ 植物的产物 (稳定性碳同位素值较高), 而绿豆粉是 C₃ 植物的产物 (稳定性碳同位素比值较低) (表 1)。然而, 分布于青藏高原海北高寒草甸地区的高原鼠兔, 其食物主要 (几乎全部) 由 C₃ 植物所组成 (Yi et al, 2003)。食物的突然改变, 尤其是 C₄ 食物的加入, 影响高原鼠兔对混合食物的消化、吸收和同化, 进而影响稳定性同位素的代谢模式。在本实验中, 如果高原鼠兔完全消化并吸收我们所提供的人工食物 (即其稳定性同位素代谢不受人工食物的影响), 那么其肌肉组织的 ¹³C 比值应该介于 - 13.30 ‰和 - 12.30 ‰之间。已有研究 (Hobson et al, 2000) 表明, 小型哺乳类对稳定性碳和氮同位素的代谢周转率为 1 个月左右, 此时消费者组织 (肌肉) 与其食物间的稳定性碳和氮同位素的富集效应 (肌肉与食物之间的差异) 分别为 1 ‰~ 2 ‰和 2 ‰~ 3 ‰ (DeNiro & Epstein, 1978, 1981)。我们的实验表明, 饲喂人工食物的高原鼠兔稳定性碳同位素比值 ¹³C 与自然取食间存在显著差异, 由 - 24.66 ‰富集为 - 19.05 ‰。然而, 高原鼠兔肌肉组织和其食物间的稳定性碳同位素富集效应则为 4.73 ‰, 明显高于 1 ‰~ 2 ‰的范围 (DeNiro & Epstein, 1978, 1981)。研究发现 (Yi et al, 2004), 野外捕获的高原鼠兔的富集效应介于 1 ‰~ 2 ‰, 说明高原鼠兔的本底稳定性碳同位素组成在本实验持续期内还没得到完全更新 (turnover)。因此, 我们认为高原鼠兔对稳定性碳同位素的代谢周转率应高于 40 d。另外, 由高原鼠兔后腿肌肉组织、玉米面和小米面的碳同位素组成 (表 1) 可以看出, 在饲喂人工食物的过程中, 高原鼠兔不能完

全消化并吸收混合食物中的 C₄ 组分。高原鼠兔与 C₃ 和 C₄ 组分间稳定性碳同位素组成的差异, 说明高原鼠兔在人工饲喂条件下可能主要依赖混合食物中的 C₃ 组分。基于稳定性碳同位素的质量平衡原理 [$^{13}\text{C}_{\text{肌肉}} = ^{13}\text{C}_{\text{绿豆粉}} \times X\% + ^{13}\text{C}_{\text{玉米面+小米面}} \times (1 - X\%)$]; X% 为 C₃ 组分的比例; ¹³C_{肌肉} 在原有基础上下降 1 ‰, 以抵消同位素代谢过程中的富集效应], 我们粗略估算出玉米面和小米面占高原鼠兔同化吸收量的 48.95 ‰, 而总质量仅占混合食物 20% 的绿豆粉对高原鼠兔营养供应却达到了 51.05 ‰左右。也就是说, 高原鼠兔不能完全消化和吸收玉米面和小米面, 因为它们是 C₄ 植物的产物。

经人工饲喂后, 高原鼠兔肌肉组织稳定性碳同位素仍然遵循同位素的质量平衡原理, 即高原鼠兔粪便的稳定性碳同位素比值最低, 肌肉组织中明显富集, 食物最高。然而, 稳定性氮同位素却偏离了这一原理, 说明高原鼠兔的稳定性碳和氮同位素在代谢上可能存在分割现象 (segregation), 或者是高原鼠兔的氮同位素代谢更容易受到食物改变 (C₄ 食物的引入) 的影响。人工饲喂高原鼠兔粪便中的稳定性氮同位素比值明显高于肌肉组织和混合食物, 那么肌肉组织中氮同位素的富集源又在哪里? 我们推断, 慢性、间断的饥饿 (营养胁迫) 可能是造成这种稳定性氮同位素分布模式的原因。已有研究 (Webb et al, 1998a, b; Hobson et al, 1993; Lajtha & Michener, 1994; Adams & Sterner, 2000) 表明, 低质量的食物以及营养胁迫常常会引起哺乳动物肌肉组织稳定性氮同位素的富集 (贫¹⁵N 的尿液引起同位素比值的上升)。作为世代以 C₃ 植物为食的高原鼠兔, C₄ 食物对其来说是一种消化和吸收功能上都不适应的食物。换句话说, 混合食物中的 C₄ 组分在一定程度上可能对高原鼠兔构成了营养胁迫 (也可以说是低质量的食物)。除此之外, 低质量食物还会影响到哺乳动物对氮素的同化和利用效率 (Adams & Sterner, 2000; Katja & Stefan, 2002)。因此, 我们认为食物组成的突然改变, 尤其是 C₄ 食物的加入更容易影响到高原鼠兔对氮素以及稳定性氮同位素的代谢, 因而形成了这种稳定性同位素的分布模式。

参考文献:

- Adams TS, Sterner RW. 2000. The effect of dietary nitrogen content on trophic level ^{15}N enrichment [J]. *Limnology and Oceanography*, **45**: 601 - 607.
- Ben-David M, Flynn RW, Schell DM. 1997a. Annual and seasonal changes in diets of martens: Evidence from stable isotope analysis [J]. *Oecologia*, **111**: 280 - 291.
- Ben-David M, Hanley TA, Klein DR, Schell DM. 1997b. Seasonal changes in diets of coastal and riverine mink: The role of spawning Pacific salmon [J]. *Can. J. Zool.*, **75**: 803 - 811.
- DeNiro MJ, Epstein S. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals [J]. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **42**: 495 - 506.
- DeNiro MJ, Epstein S. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals [J]. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **45**: 341 - 351.
- Hilderbrand GV, Farley SD, Robbins CT, Hanley TA, Titus K, Servheen C. 1996. Use of stable isotope to determine diets of living and extinct bears [J]. *Can. J. Zool.*, **74**: 2082 - 2088.
- Hobson KA. 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: A review [J]. *Oecologia*, **120**: 314 - 326.
- Hobson KA, Clark RW. 1992. Assessing avian diets using stable isotopes: I. Turnover of carbon-13 [J]. *Condor*, **94**: 181 - 188.
- Hobson KA, Alisauskas RT, Clark RG. 1993. Stable nitrogen isotope enrichment in avian tissue due to fasting and nutritional stress: Implication for isotopic analyses of diet [J]. *Condor*, **95**: 388 - 394.
- Hobson KA, McLellan BN, Woods JG. 2000. Using stable carbon and nitrogen isotopes to infer trophic relationships among black and grizzly bears in the upper Columbia River basin, British Columbia [J]. *Can. J. Zool.*, **78**: 1332 - 1339.
- Katja O, Stefan S. 2002. Stable isotope enrichment (^{15}N and ^{13}C) in a generalist predator (*Pardosa lugubris*, Araneae: Lycosidae): Effects of prey quality [J]. *Oecologia*, **130**: 337 - 344.
- Kwak TJ, Zedler JB. 1997. Food web analysis of southern California coastal wetlands using multiple stable isotopes [J]. *Oecologia*, **110**: 262 - 277.
- Lajtha K, Michener RH. 1994. Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science [M]. London: Blackwell Scientific.
- Peterson BJ, Fry B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies [J]. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **18**: 293 - 320.
- Szepanski MM, Ben-David M, van Ballenberghe V. 1999. Assessment of anadromous salmon resources in the diet of the Alexander Archipelago wolf using stable isotope analysis [J]. *Oecologia*, **120**: 327 - 335.
- Webb SC, Hedges REM, Simpson SJ. 1998a. Diet quality influences the ^{13}C and ^{15}N of locusts and their biochemical components [J]. *J. Exp. Biol.*, **201**: 2903 - 2911.
- Webb SC, Simpson SJ, Hedges REM. 1998b. The effect of diet quality on ^{13}C and ^{15}N in the tissues of locusts, *Locusta migratoria* L [J]. *Isotopes. Environ. Health Stud.*, **34**: 43 - 51.
- Whitledge GW, Rabeni CF. 1997. Energy sources and ecological role of crayfishes in an Ozark stream: Insights from stable isotopes and gut analysis [J]. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **54**: 2555 - 2563.
- Yi XF, Yang YQ, Zhang XA, Li LX, Zhao L. 2003. No C_4 plants found at the Haibei Alpine Meadow Ecosystem Research Station in Qinghai, China: Evidence from stable carbon isotope studies [J]. *Acta Bot. Sin.*, **43**: 1291 - 1296.
- Yi XF, Zhang XA, Li LX, Li MC, Zhao L. 2004. Analysis on food web structure in alpine meadow ecosystem: Evidence from stable carbon isotope signatures [J]. *Zool. Res.*, **25** (1): 1 - 6. [易现峰, 张晓爱, 李来兴, 李明财, 赵亮. 2004. 高寒草甸生态系统食物链结构分析——来自稳定性碳同位素的证据. 动物学研究, **25** (1): 1 - 6.]

说明

发表于本刊第 25 卷第 1 期 1—6 页标题为“高寒草甸生态系统食物链结构分析——来自稳定性碳同位素的证据”一文的通讯作者为李来兴。

勘误

本刊第 25 卷第 2 期第 122 页英文题目中 City 应为 City, 第 162 页英文题目中 Alanalysis 应为 Analysis; 封三英文目次相应修改, 特此更正。

本刊编辑部