

文章编号: 1674-5566(2019)03-0402-07

DOI:10.12024/jsou.20181202470

茎柔鱼氨基酸氮稳定同位素特征及营养位置估算

贡 艺^{1,2}, 汪惠琼², 李云凯^{2,3,4,5}, 陈新军^{2,3,4,5}

(1. 同济大学海洋与地球科学学院, 上海 200092; 2. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306; 3. 农业农村部大洋渔业开发重点实验室, 上海 201306; 4. 国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306; 5. 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室, 上海 201306)

摘要: 生物的营养位置(trophic position, TP)是评价和描述食物网结构的基础。相较于传统的营养位置研究方法,氨基酸氮稳定同位素分析法能够更加准确地估算海洋生物 TP,特别是高度洄游的大洋性物种。茎柔鱼(*Dosidicus gigas*)是一种广泛分布于东太平洋的大洋性头足类。研究以采集自 3 个海域的茎柔鱼为研究对象,对其肌肉氨基酸氮稳定同位素比值($\delta^{15}\text{N}$)进行测定、分析和比较,并估算其营养位置。结果显示,各海域茎柔鱼肌肉氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值存在显著差异,但苏氨酸在不同海域均具有最低的 $\delta^{15}\text{N}$ 值,可能与苏氨酸的特殊氮分馏机制有关。氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值的空间异质性主要是由脯氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、丝氨酸和赖氨酸导致,说明茎柔鱼肌肉的 $\delta^{15}\text{N}$ 值同时受食物来源和同位素基线影响。此外,应用多种氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值估算营养位置的准确性可能高于仅利用谷氨酸和苯丙氨酸。本研究可为进一步开展大洋性头足类摄食生态学研究提供有益参考。

关键词: 茎柔鱼; 同位素分析; 氨基酸; 营养位置

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

营养位置(trophic position, TP)是食物网科学的核心概念之一,TP 的准确估算可量化生物间的营养关系,是了解生态系统结构和功能的基础。传统的 TP 研究方法有胃含物分析法(stomach content analysis, SCA)和“整体”稳定同位素分析法(bulk stable isotope analysis, BSIA)。前者是基于对生物胃肠中近期摄食的未消化食物的观察结果,可能因低估易消化的食物组分而造成 TP 估算误差^[1]。BSIA 是生态学家在 SCA 基础上引入的最常见的 TP 分析方法,但该方法在估算 TP 时需要测定氮稳定同位素基线值($\delta^{15}\text{N}_{\text{base}}$)^[2]。而基线生物或物质的选取需要考虑其分布范围和所能反映的时间尺度等多方面因素,这在大洋生态系统研究中尤为困难。

茎柔鱼(*Dosidicus gigas*)是一种高度洄游的大洋性头足类,在栖息环境发生变化或洄游到一个新栖息地时,其机体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值会受到食物来源

和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{base}}$ 变化的共同影响^[3-4]。在缺少基线生物或物质时,利用 BSIA 较难区分食性变化和洄游行为对机体 $\delta^{15}\text{N}$ 值的影响,难以准确估算其 TP^[2]。氨基酸特定化合物氮稳定同位素技术(amino acid compound specific stable nitrogen isotope analysis, AA-CSIA)是近年来兴起的新方法^[5]。研究发现:谷氨酸(Glu)等氨基酸在机体内会发生转氨(transamination)和脱氨(deamination)作用,其 $\delta^{15}\text{N}$ 值在 TP 间具有稳定的富集现象($>5\%$),被归类为“营养”氨基酸(trophic amino acid, Tro-AA);苯丙氨酸(Phe)等氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值在 TP 间基本不发生变化,能够反映初级生产者的 $\delta^{15}\text{N}$ 值,被称为“源”氨基酸(source amino acid, Src-AA)^[6]。据此,通过分析茎柔鱼机体氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值,可更本质地揭示其机体 $\delta^{15}\text{N}$ 值变化的原因,并估算其 TP^[7]。

本研究以采集自东太平洋赤道海域、秘鲁和

收稿日期: 2018-12-14 修回日期: 2019-02-08

基金项目: 国家自然科学基金(31872573);上海市自然科学基金(17ZR1413000);青岛国家海洋科学与技术国家实验室开发课题(2017-1A03)

作者简介: 贡 艺(1990—),男,博士,研究方向为摄食生态学。E-mail: ygong@shou.edu.cn

通信作者: 李云凯, E-mail: ykli@shou.edu.cn

智利外海的茎柔鱼为研究对象,对其肌肉氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值进行测定和比较,分析各海域茎柔鱼氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值的潜在差异,探讨造成 $\delta^{15}\text{N}$ 值空间差异的主要氨基酸种类和可能原因,利用氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值测定结果估算茎柔鱼 TP,并对比不同 TP 模型的计算结果。

1 材料与方法

1.1 实验材料

茎柔鱼样品来自东太平洋 3 个海域,分别是

东太平洋赤道海域 (EEP)、秘鲁 (PER) 和智利外海 (CHI),样品经冷冻保存 ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) 运回实验室。样品在实验室解冻后进行基础生物学参数测量。选取个体大小相近的 24 尾茎柔鱼进行氨基酸氮稳定同位素分析,每个海域各 8 尾 (表 1)。取茎柔鱼胴体漏斗锁软骨处的肌肉 4 cm^2 ,去除表皮,并用去离子水 (Milli-Q-Water) 清洗,置于冷冻干燥机 (Christ Alpha 1-4, Martin Christ) 内 $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥 24 h,取出后用混合型球磨仪 (Mixer mill MM440, Retsch) 研磨呈均匀的细粉末状。

表 1 茎柔鱼采样点和基础生物学参数比较

Tab. 1 Sampling locations and biological parameters of *Dosidicus gigas*

项目 Item	东太平洋赤道海域 Equatorial eastern Pacific	秘鲁外海 Off Peru	智利外海 Off Chile
采样时间 Sampling date	2013-04 ~ 2013-06	2015-09	2015-11
采样范围 Coordinates	115°45'W ~ 119°00'W 1°11'N ~ 1°00'S	79°45'W ~ 80°21'W 14°53'S ~ 15°22'S	79°00'W ~ 83°00'W 37°06'S ~ 38°30'S
样品数量 Number/尾	8	8	8
胴长 Mantle length/cm	33.8 ± 0.9	28.9 ± 6.5	34.4 ± 0.7

1.2 氨基酸氮稳定同位素分析

称取干燥的肌肉粉末 2 mg 加入配有聚四氟乙烯瓶盖的玻璃瓶,而后缓慢加入 0.5 ml 的 HCl (6 mol/L),充入 N_2 后封口,在 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温干燥箱中水解 70 min。水解结束后,样品根据 YARNES 等^[8]的方法进行衍生化,即氨基酸 N-乙酰基异丙酯衍生化法 (N-Acetyl Methyl Ester Derivatization)。使用异亮氨酸 (L-Norleucine) 作为内标。

氨基酸氮稳定同位素分析是采用气相色谱仪 (Trace Ultra GC, Thermo Scientific) 与质谱仪联用 (Thermo Delta V Plus, Thermo Scientific)。毛细管柱型号为 Agilent DB-1301 ($60\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 1\text{ }\mu\text{m}$)。进样口温度为 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。升温程序:初始温度为 $125\text{ }^{\circ}\text{C}$,以 $15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 $140\text{ }^{\circ}\text{C}$,然后以 $8\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 $255\text{ }^{\circ}\text{C}$ 并保持 35 min。每个样品测定 2 次以计算标准偏差。所有样品氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值的平均标准偏差为 $0.37\text{ }^{\circ}\text{‰}$ 。氨基酸氮稳定同位素分析在美国加州大学戴维斯分校下属的稳定同位素分析实验室进行。

1.3 营养位置

根据现有研究成果,本研究选取了 2 种常见的计算模型估算茎柔鱼 TP。

第 1 种模型形式是基于 CHIKARAISHI 等^[7]

提出的计算公式,仅根据 Glu 和 Phe 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值计算茎柔鱼 TP:

$$T_1 = (\delta^{15}N_{\text{Glu}} - \delta^{15}N_{\text{Phe}} - \beta_{\text{Glu-Phe}}) / E_{\text{Glu-Phe}} + 1 \quad (1)$$

式中: T_1 为第 1 种模型估算的茎柔鱼 TP; $\delta^{15}N_{\text{Glu}}$ 和 $\delta^{15}N_{\text{Phe}}$ 分别是 Glu 和 Phe 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值; $\beta_{\text{Glu-Phe}}$ 是初级生产者 Glu 和 Phe 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值的差值,对于水生生态系统,取值 $3.4\text{ }^{\circ}\text{‰}$; $E_{\text{Glu-Phe}}$ 是 Glu 和 Phe 在营养级 (trophic level) 之间富集度的差值,取值 $7.6\text{ }^{\circ}\text{‰}$ ^[7]。

第 2 种模型是 BRADLEY 等^[9]提出的基于 3 种 Tro-AA (Ala, Leu 和 Glu) 和 3 种 Src-AA (Phe, Lys 和 Gly) 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值计算 TP,计算公式如下:

$$T_2 = (\delta^{15}N_{\text{Tro-AA}} - \delta^{15}N_{\text{Src-AA}} - \beta_{\text{Tro-Src}}) / E_{\text{Tro-Src}} + 1 \quad (2)$$

式中: T_2 为第 2 种模型估算的茎柔鱼 TP; $\delta^{15}N_{\text{Tro-AA}}$ 和 $\delta^{15}N_{\text{Src-AA}}$ 分别是上述 Tro-AA 和 Src-AA 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值的均值; $\beta_{\text{Tro-Src}}$ 是 Tro-AA 和 Src-AA 在海洋自养生物中 $\delta^{15}\text{N}$ 值的均值差,参考有关文献^[9],取值 $3.6\text{ }^{\circ}\text{‰}$; $E_{\text{Tro-Src}}$ 是 Tro-AA 和 Src-AA 在营养级间富集度的差值,取值 $5.7\text{ }^{\circ}\text{‰}$ ^[9-10]。

1.4 数据统计

应用 Kruskal-Wallis 非参数检验或单因素方差分析 (one-way ANOVA) 对组间数据进行差异显著性分析。由于不同物种机体内氨基酸氮分馏机制存在差异,有学者提出在 MCCLELLAND

等^[6]与 CHIKARAISHI 等^[7]对 Tro-AA 和 Src-AA 的分类基础上,针对特定的物种,需要首先排除部分具有特殊氮分馏机制的氨基酸^[5, 11-12]。据此,利用主成分分析(principal component analysis, PCA)对测定出的氨基酸进行筛选^[13],特征向量相似的氨基酸将用于后续分析。利用逐步判别分析(stepwise discriminant analysis, SDA)检验造成茎柔鱼氨基酸氮稳定同位素空间差异的主要氨基酸种类。统计分析使用 SPSS 25.0 软件进行。

2 结果与分析

2.1 茎柔鱼肌肉氨基酸氮稳定同位素比值

利用上述样品处理和分析方法,茎柔鱼肌肉

共测得 12 种氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值(表 2)。EEP 茎柔鱼肌肉的氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值范围为 $-21.17\text{‰} \sim 26.55\text{‰}$, PER 个体的范围为 $-16.20\text{‰} \sim 33.27\text{‰}$,而 CHI 的样品为 $-26.53\text{‰} \sim 39.73\text{‰}$ 。苏氨酸(Thr)是茎柔鱼肌肉中 $\delta^{15}\text{N}$ 值最低的氨基酸,而各海域 $\delta^{15}\text{N}$ 值较高的氨基酸存在差异。来自 EEP 和 PER 的茎柔鱼 Ala 和 Val 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值较高,而 CHI 个体 Leu 和 Val 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值较高(表 2)。根据 MCCLELLAND 等^[6]与 CHIKARAISHI 等^[7]的研究结果,12 种氨基酸可分为 6 种 Src-AA (Met、Ser、Thr、Gly、Lys 和 Phe) 和 6 种 Tro-AA (Ala、Glu、Leu、Pro、Val 和 Asp)。

表 2 茎柔鱼肌肉氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值(均值 \pm 标准偏差)

Tab. 2 The $\delta^{15}\text{N}$ values of amino acids (mean \pm standard deviation) of *Dosidicus gigas* muscle tissues ‰

类别 Category	氨基酸 Amino acid (Abbreviation)	东太平洋赤道 Equatorial eastern Pacific	秘鲁外海 Off Peru	智利外海 Off Chile
“源”氨基酸 Source amino acid	苏氨酸 threonine (Thr)	-19.85 ± 1.48^a	-13.04 ± 2.03^b	-20.08 ± 3.49^a
	甘氨酸 glycine (Gly)	-5.46 ± 0.26^a	1.11 ± 1.03^b	-3.27 ± 3.81^a
	赖氨酸 lysine (Lys)	0.97 ± 0.66^a	8.20 ± 0.87^b	9.49 ± 2.55^b
	苯丙氨酸 phenylalanine (Phe)	1.28 ± 1.28^a	7.11 ± 1.01^b	7.99 ± 2.86^b
	蛋氨酸 methionine (Met)	7.75 ± 0.44^a	14.23 ± 1.00^b	18.39 ± 3.21^c
	丝氨酸 serine (Ser)	6.14 ± 0.78^a	10.20 ± 1.39^b	10.53 ± 3.64^b
“营养”氨基酸 Trophic amino acid	天冬氨酸 aspartic acid (Asp)	16.26 ± 0.69^a	22.34 ± 0.99^b	25.84 ± 2.83^c
	脯氨酸 proline (Pro)	16.63 ± 0.88^a	23.70 ± 1.11^b	30.69 ± 2.43^c
	丙氨酸 alanine (Ala)	23.82 ± 0.98^a	31.36 ± 1.22^b	33.83 ± 3.59^b
	谷氨酸 glutamic acid (Glu)	21.31 ± 0.78^a	27.49 ± 1.13^b	32.85 ± 3.13^c
	亮氨酸 leucine (Leu)	22.30 ± 1.50^a	29.83 ± 1.15^b	35.56 ± 3.31^c
	缬氨酸 valine (Val)	23.82 ± 1.58^a	30.89 ± 1.69^b	36.02 ± 2.70^c

注:具有不同字母(a、b 或 c)的列数据表示存在显著差异(Kruskal-Wallis 检验, $P < 0.05$)

Notes: Values in each row followed by different alphabetic characters were statistically different (Kruskal-Wallis test, $P < 0.05$)

2.2 茎柔鱼肌肉氨基酸组成的空间差异

对 3 个海域茎柔鱼肌肉的 12 种氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值进行主成分分析。结果发现,有 2 个主成分初始特征值大于 1,方差贡献率依次为 82.11% 和 14.48%,累计 96.59%。从图 1 可以看出,除 Thr 和 Gly 外,其余氨基酸(特征向量)的权重均接近于 1 (>0.9),说明这些氨基酸具有较高的相似度,因此这 10 种氨基酸将用于后续分析。

以 3 个海域茎柔鱼样品为分组单元,10 种氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值作为逐步判别分析的输入因子。SDA 结果显示,第一个判别函数解释了总判别率

81.3% 的方差,有 5 种氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值可用于区分茎柔鱼地理来源,即 Pro、Glu、Asp、Ser 和 Lys,并且判别正确率达 100% (图 2)。

2.3 营养位置

2 种计算模型的计算结果显示,各海域茎柔鱼的 TP 存在显著差异(表 3)。CHI 个体的营养位置显著高于来自 EEP 和 PER 的个体,而后两者无显著差异($P > 0.05$,表 3)。并且,模型 2 (4.38 ± 0.35) 计算出的茎柔鱼 TP 显著高于模型 1 (3.42 ± 0.32) 的计算结果($P < 0.01$)。

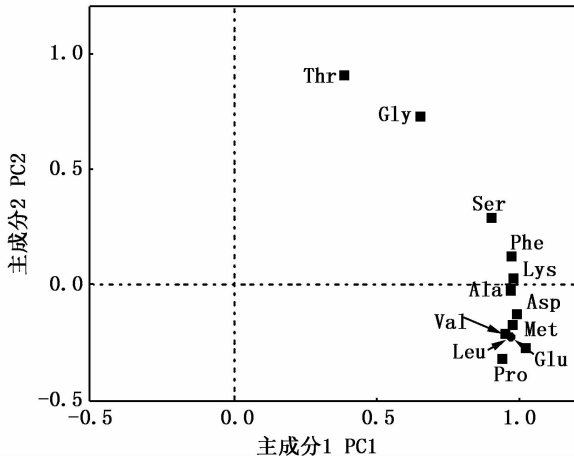


图 1 茎柔鱼肌肉氨基酸主成分载荷图

Fig.1 Loading diagram for the principal component of amino acids of *Dosidicus gigas* muscle tissues

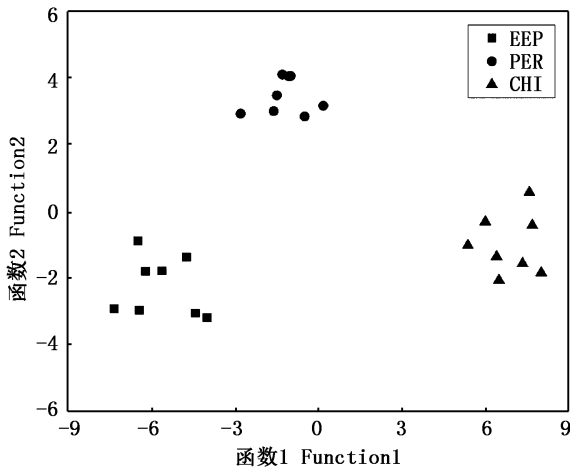


图 2 来自 3 个海域的茎柔鱼逐步判别分析散点图

Fig.2 Stepwise discriminant analysis plots of *Dosidicus gigas* from three regions

表 3 来自 3 个海域的茎柔鱼营养位置

Tab.3 The trophic position of *Dosidicus gigas* from three regions

营养位置 Trophic position	东太平洋赤道海域 Equatorial eastern Pacific	秘鲁外海 Off Peru	智利外海 Off Chile
T_1	3.18 ± 0.20 ^a	3.23 ± 0.06 ^a	3.82 ± 0.10 ^b
T_2	4.11 ± 0.17 ^a	4.21 ± 0.11 ^a	4.81 ± 0.18 ^b

注:具有不同字母(a或b)的列数据表示存在显著差异($p < 0.05$)

Notes: Values in each row followed by different alphabetic characters were statistically different ($p < 0.05$)

3 讨论

大洋性头足类具有高度洄游特性,其机体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值会受到不同栖息地食物来源差异和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{base}}$ 值变化的共同影响^[3-4],单纯利用 BSIA 较难对其食性变化和洄游行为进行准确判断。AA-CSIA 的发展将稳定同位素技术扩展到了分子水平^[5]。MCCLELLAND 等^[6]对海洋浮游生物氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值的研究发现,伴随着 TP 的升高,生物体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值变化是其体内氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值变化的加权平均结果。不同氨基酸在合成和代谢过程中存在不同的氮分馏机制。随 TP 升高,谷氨酸(Glu)等 Tro-AA 的 ^{15}N 存在稳定的富集现象,而苯丙氨酸(Phe)等 Src-AA 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值基本不发生变化,能够表征初级生产者的 $\delta^{15}\text{N}$ 值^[5, 7, 13]。因此,通过分析生物机体氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值,可以区分食性和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{base}}$ 值的变化,从而更有效地开展大洋性头足类的生态学研究。

3.1 氨基酸氮稳定同位素特征

本研究对东太平洋 3 个海域茎柔鱼肌肉中 12 种氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值分析发现,苏氨酸(Thr)在不同海域均具有最低的 $\delta^{15}\text{N}$ 值。该结果与 HETHERINGTON 等^[14]对哥斯达黎加外海茎柔鱼肌肉氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值分析结果一致。Thr 的这种现象也出现在其他海洋生物的氨基酸氮稳定同位素研究中,例如头足纲(Cephalopoda)的鸢乌贼(*Sthenoteuthis oualaniensis*)^[14],哺乳纲(Mammalia)的绿海龟(*Chelonia mydas*)^[15]和抹香鲸(*Physeter macrocephalus*)^[16],硬骨鱼纲(Osteichthyes)的黄鳍金枪鱼(*Thunnus albacares*)和大眼金枪鱼(*Thunnus obesus*)^[14]。研究发现,Thr 具有特殊的氮分馏机制^[5],其 $\delta^{15}\text{N}$ 值与 TP 呈

负相关,并且捕食者 Thr 的 ^{15}N 富集度会受到食物 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Thr}}$ 值的潜在影响^[17],因此,有研究^[5]认为 Thr 可能不适合作为 Src-AA。本研究 PCA 结果也反映出 Thr 的异质性,但 Thr 的归类还需根据其在生物机体中的氮分馏机制做进一步论证。除 Thr 以外,Gly 也具有特殊的氮稳定同位素特征,这可能与其受微生物降解有关^[5]

对比各海域茎柔鱼肌肉氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值发现,相同氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值存在空间异质性(表2)。根据 SDA 结果,氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值的空间差异主要是来自3种 Tro-AA (Pro、Glu 和 Asp) 和2种 Src-AA (Ser 和 Lys)。这些氨基酸表明茎柔鱼肌肉的 $\delta^{15}\text{N}$ 值同时与各海域食物来源和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{base}}$ 值差异有关。茎柔鱼食性的空间差异已得到广泛验证,PARDO-GANDARILLAS 等^[18]对智利外海(CHI)采集的茎柔鱼胃含物分析发现,超过80%比例为鱼类,而秘鲁海域(PER)个体的胃含物主要包括头足类和灯笼鱼(*Vinciguerria lucetia*)^[19]。虽然对 EEP 茎柔鱼食性分析的研究还未见报道,但 Tro-AA 的空间差异反映出该海域个体食物组成的特异性。这种现象在茎柔鱼肌肉的脂肪酸组成分析中也有发现^[20]。相对于初级生产力较低的离岸海域(EEP),近岸海域一般具有较高的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{base}}$ 值,例如营养盐含量较高的秘鲁寒流和上升补偿流海域(PER 和 CHI)^[21]。 $\delta^{15}\text{N}_{\text{base}}$ 值的空间差异亦会通过捕食关系传递到茎柔鱼机体中,使得 Src-AA 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值出现空间异质性。此外,SDA 结果表明,利用 Pro、Glu、Asp、Ser 和 Lys 这5种氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值可准确追溯茎柔鱼地理来源,说明 AA-CSIA 在大洋性头足类地理溯源中具有潜在作用。

3.2 茎柔鱼营养位置

Src-AA 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值可以反映 $\delta^{15}\text{N}_{\text{base}}$ 值,因此通过测定某些或特定 Tro-AA 和 Src-AA 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值,结合数学函数可估算消费者的 TP^[7, 13]。OHKOUCHI 等^[22]测定了1种旋壳乌贼(*Spirula spirula*)和3种乌贼(*Sepia officinalis*, *S. latimanus* 和 *S. esculenta*)肌肉和钙质内壳的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ 值,利用模型1估算各物种 TP,结果表明旋壳乌贼 TP 为 2.5~2.8,低于乌贼的 TP(3.4~3.6)。CHOY 等^[10]选取了23种北太平洋中上层鱼类肌肉组织,基于模型2估算出 TP,进而分析各鱼种营养关系和生态功能。选取多个 Tro-AA

和 Src-AA 估算 TP 可以降低因 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ 测量误差造成的潜在影响。

本研究利用这2种常见的基于 AA-CSIA 的计算模型估算茎柔鱼 TP。对比发现,模型1($T_1=3.4$)和2($T_2=4.4$)的计算结果存在显著差异,且模型2的结果与其他学者对茎柔鱼的 SCA 或 BSIA 的结果更为接近。利用 SCA, FIELD 等^[23]发现加利福尼亚海域和东太平洋热带海域的茎柔鱼 TP 分别为 4.4 和 4.1。TAM 等^[24]和 ESPINOZA 等^[25]对秘鲁海域茎柔鱼的 BSIA 结果表明,其 TP 范围为 3.9~4.2。模型1和2都已广泛用于海洋生物营养级估算,但多数研究在计算时仅利用1种模型。本研究结果表明,在分析数据时,需要考虑不同计算方法可能导致的结果差异。有学者^[9]认为模型1的计算仅利用 Glu 和 Phe 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值,其估算出的 TP 易受测量误差的影响,而基于6种氨基酸的模型2在一定程度上可以降低这种潜在影响。尽管如此,两种计算模型都显示出 CHI 个体具有最高的 TP,这与前期对3个海域茎柔鱼肌肉 BSIA 的结果一致^[26]。从两种计算模型可以看出,TP 的估算与富集度有关。氨基酸 ^{15}N 的富集度会受食物蛋白质含量和质量的影响^[17, 27]。本研究中 CHI 个体所处纬度最高,海水温度相对最低,该海域个体摄食的冷水性鱼类较多,而栖息于热带海域的 EEP 和 PER 个体可能主要摄食头足类和暖水性鱼类^[17-18]。各海域茎柔鱼的食性差异会引起其摄入的蛋白质含量存在差别,进而影响富集度。这可能是造成 CHI 个体 TP 最高,而 EEP 和 PER 个体 TP 相近的原因。因此,在应用模型估算消费者 TP 时,针对研究对象选取富集度将进一步提高 TP 估算的准确性。

参考文献:

- [1] RUIZ-COOLEY R I, MARKAIDA U, GENDRON D, et al. Stable isotopes in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) beaks to estimate its trophic position: comparison between stomach contents and stable isotopes [J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2006, 86 (2): 437-445.
- [2] 贡艺, 陈玲, 李云凯. 海洋生态系统稳定同位素基线的选取[J]. 应用生态学报, 2017, 28(7): 2399-2404.
GONG Y, CHEN L, LI Y K. Selection of isotopic baselines in marine ecosystems [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(7): 2399-2404.

- [3] LI Y K, GONG Y, ZHANG Y Y, et al. Inter-annual variability in trophic patterns of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) off the exclusive economic zone of Peru, implications from stable isotope values in gladius [J]. *Fisheries Research*, 2017, 187: 22-30.
- [4] RUIZ-COOLEY R I, VILLA E C, GOULD W R. Ontogenetic variation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ recorded in the gladius of the jumbo squid *Dosidicus gigas*: geographic differences [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2010, 399: 187-198.
- [5] MCMAHON 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.
- [6] MCCLELLAND J W, MONTOYA J P. Trophic relationships and the nitrogen isotopic composition of amino acids in plankton [J]. *Ecology*, 2002, 83(8): 2173-2180.
- [7] CHIKARAISHI Y, OGAWA N O, KASHIYAMA Y, et al. Determination of aquatic food-web structure based on compound-specific nitrogen isotopic composition of amino acids [J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2009, 7 (11): 740-750.
- [8] YARNES C T, HERSZAGE J. The relative influence of derivatization and normalization procedures on the compound-specific stable isotope analysis of nitrogen in amino acids [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2017, 31(8): 693-704.
- [9] BRADLEY C J, WALLSGROVE N J, CHOY C A, et al. Trophic position estimates of marine teleosts using amino acid compound specific isotopic analysis [J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2015, 13(9): 476-493.
- [10] CHOY C A, POPP B N, HANNIDES C C S, et al. Trophic structure and food resources of epipelagic and mesopelagic fishes in the north Pacific Subtropical Gyre ecosystem inferred from nitrogen isotopic compositions [J]. *Limnology and Oceanography*, 2015, 60(4): 1156-1171.
- [11] RUIZ-COOLEY R I, GERRODETTE T, FIEDLER P C, et al. Temporal variation in pelagic food chain length in response to environmental change [J]. *Science Advances*, 2017, 3(10): e1701140.
- [12] NIELSEN J M, POPP B N, WINDER M. Meta-analysis of amino acid stable nitrogen isotope ratios for estimating trophic position in marine organisms [J]. *Oecologia*, 2015, 178 (3): 631-642.
- [13] CHIKARAISHI Y, STEFFAN S A, OGAWA N O, et al. High-resolution food webs based on nitrogen isotopic composition of amino acids [J]. *Ecology and Evolution*, 2014, 4(12): 2423-2449.
- [14] HETHERINGTON E D, OLSON R J, DRAZEN J C, et al. Spatial food-web structure in the eastern tropical Pacific Ocean based on compound-specific nitrogen isotope analysis of amino acids [J]. *Limnology and Oceanography*, 2017, 62 (2): 541-560.
- [15] VANDER ZANDEN H B, ARTHUR K E, BOLTEN A B, et al. Trophic ecology of a green turtle breeding population [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2013, 476: 237-249.
- [16] ZUPCIC-MOORE J R, RUIZ-COOLEY R I, PALIZA O, et al. Using stable isotopes to investigate foraging variation and habitat use of sperm whales from northern Peru [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2017, 579: 201-212.
- [17] MCMAHON K W, THORROLD S R, ELSDON T S, et al. Trophic discrimination of nitrogen stable isotopes in amino acids varies with diet quality in a marine fish [J]. *Limnology and Oceanography*, 2015, 60(3): 1076-1087.
- [18] PARDO-GANDARILLAS M C, LOHRMANN K B, GEORGE-NASCIMENTO M, et al. Diet and parasites of the jumbo squid *Dosidicus gigas* in the Humboldt Current System [J]. *Molluscan Research*, 2014, 34(1): 10-19.
- [19] ALEGRE A, MÉNARD F, TAFUR R, et al. Comprehensive model of jumbo squid *Dosidicus gigas* trophic ecology in the northern Humboldt Current System [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (1): e85919.
- [20] 贡艺, 李云凯, 陈玲, 等. 东太平洋不同海区茎柔鱼肌肉脂肪酸组成分析与比较 [J]. *渔业科学进展*, 2018, 39 (6): 147-154.
- GONG Y, LI Y K, CHEN L, et al. A comparative analysis of fatty acid profiles in muscle of *Dosidicus gigas* from different harvest locations in the Eastern Pacific Ocean [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(6): 147-154.
- [21] ANDERSON C I, RODHOUSE P G. Life cycles, oceanography and variability: ommastrephid squid in variable oceanographic environments [J]. *Fisheries Research*, 2001, 54(1): 133-143.
- [22] OHKOUCHI N, TSUDA R, CHIKARAISHI Y, et al. A preliminary estimate of the trophic position of the deep-water ram's horn squid *Spirula spirula* based on the nitrogen isotopic composition of amino acids [J]. *Marine Biology*, 2013, 160 (4): 773-779.
- [23] FIELD J C, BALTZ K, PHILLIPS A J, et al. Range expansion and trophic interactions of the jumbo squid, *Dosidicus gigas*, in the California Current [J]. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Report*, 2007, 48: 131-146.
- [24] TAM J, TAYLOR M H, BLASKOVIC V, et al. Trophic modeling of the northern Humboldt Current Ecosystem, part I: comparing trophic linkages under La Niña and El Niño conditions [J]. *Progress in Oceanography*, 2008, 79(2/4): 352-365.
- [25] ESPINOZA P, LORRAIN A, MÉNARD F, et al. Trophic structure in the northern Humboldt Current system: new perspectives from stable isotope analysis [J]. *Marine Biology*, 2017, 164(4): 86.
- [26] GONG Y, LI Y K, CHEN X J, et al. Potential use of stable isotope and fatty acid analyses for traceability of geographic origins of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2018, 32(7): 583-

- 589.
- [27] NUCHE-PASCUAL M T, LZAO J P, RUIZ-COOLEY R I, et al. Amino acid-specific $\delta^{15}\text{N}$ trophic enrichment factors in fish fed with formulated diets varying in protein quantity and quality[J]. *Ecology and Evolution*, 2018, 8(18): 9192-9217.

Amino acid nitrogen isotopic composition and trophic position estimation of jumbo squid *Dosidicus gigas*

GONG Yi^{1,2}, WANG Huiqiong², LI Yunkai^{2,3,4,5}, CHEN Xinjun^{2,3,4,5}

(1. School of Ocean and Earth Science, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Key Laboratory of Oceanic Fisheries Exploration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China; 4. National Engineering Research Center for Oceanic Fisheries, Shanghai 201306, China; 5. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306, China)

Abstract: Trophic position (TP) of organisms is fundamental for assessing and describing food web structure. Compound-specific nitrogen isotope analysis of amino acids (AA-CSIA) may be a promising tool to estimate more precisely and accurately the TP of marine organisms than the traditional methods, specifically the highly migratory pelagic species. The jumbo squid (*Dosidicus gigas*) is a pelagic cephalopod endemic to the eastern Pacific Ocean. In this study, AA nitrogen isotopic values ($\delta^{15}\text{N}$) of squid muscle tissues were identified and compared among three sampling locations, and the TPs were also evaluated. Results showed significant differences in AA $\delta^{15}\text{N}$ values among squid muscle tissues from different areas. The threonine, however, had lowest $\delta^{15}\text{N}$ values, which might be due to its special nitrogen isotope fractionation mechanisms. The spatial heterogeneity of AA $\delta^{15}\text{N}$ values was mainly influenced by proline, glutamic acid, aspartic acid, serine and lysine, indicating the variety of dietary habits and isotopic baseline values. In addition, utilizing the isotopic differences between three and more AAs to estimate TP might be more accurate than only using glutamic acid and phenylalanine. The present study provided a beneficial reference for further research on foraging ecology in pelagic cephalopod.

Key words: *Dosidicus gigas*; isotope analysis; amino acid; trophic position