中国北方沿海 3 种养殖扇贝碳、氮稳定同位素的组成特征

张旭峰[1], 刘　瑀[1], 李　颖[2], 赵新达[1], 王海霞[2]

(1. 大连海事大学 环境科学与工程学院, 辽宁 大连 116026; 2. 大连海事大学 航海学院, 辽宁 大连 116026)

摘要: 应用元素分析和稳定同位素质谱联用技术(EA-IRMS)对中国北方不同养殖地区的虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)和海湾扇贝(*Argopecten irradians*)闭壳肌的碳、氮稳定同位素进行了测定, 分析 3 种养殖扇贝的碳、氮稳定同位素组成特征。结果显示, 青岛和獐子岛虾夷扇贝闭壳肌的δ^{13}C 和δ^{15}N 均差异性显著, 长岛和旅顺栉孔扇贝闭壳肌的δ^{15}N 差异性显著, 莱州、牟平和旅顺海湾扇贝闭壳肌的δ^{13}C 和δ^{15}N 均差异性显著。闭壳肌的碳、氮稳定同位素组成能有效区分不同产地来源的 3 种养殖扇贝。

关键词: 虾夷扇贝; 栉孔扇贝; 海湾扇贝; 稳定同位素; 产地溯源

中图分类号: S917.4　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3096(2017)02-0111-06

DOI: 10.11759/hykx20160517002

扇贝隶属于软体动物门(Mollusca)、瓣鳃纲(Lamellibranchia)、珍珠贝目(Pterioida)、扇贝科(Pectinidae), 是我国重要的海产经济贝类。其中, 虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)和海湾扇贝(*Argopecten irradians*)是分布于我国北方海域的 3 种主要的扇贝品种, 分属于扇贝科的不同属。虾夷扇贝自然分布于日本海、俄罗斯远东海域, 于 1982 年引入中国, 现已在辽宁和山东沿海进行大规模养殖, 成为北方沿海重要的养殖经济贝类之一[1-2]。栉孔扇贝是我国北方沿海重要的经济养殖贝类, 主要分布于辽宁和山东沿海地区[3]。海湾扇贝原产于美国大西洋沿岸和墨西哥湾沿岸, 自 1982 年以来, 经过数次引种, 已将北部和南部两个亚种成功引入中国, 目前已分别成为我国北方海域和南方海域的重要养殖贝类[4]。扇贝养殖在国内获得了长足发展, 已成为海洋经济的重要组成部分, 但是, 贝类安全问题一直困扰着产业的持续发展和升级, 特别是贝类质量安全管理体系存在的结构性缺陷[5]。1996 年 12 月 17 日, 欧盟委员会的 97/20/EC 号决议中列出的双壳软体动物、棘皮动物等海产品的生产和投放市场履行等效条件的第三国清单中, 中国未被纳入[6]。同时, 1997 年 9 月 16 日, 欧盟实行的 97/368/EC 号决议正式确定, 不再从中国进口贝类产品, 一直延续至今[7]。我国现行的海产品质量安全管理体系无法满足发达国家的政策要求, 致使贝类等海产品无法进入国际市场。实际上, 我国海水贝类生产企业已具备了较为完善的可追溯体系, 目前广泛实行的是编码技术, 是将育苗、养殖、加工、销售等各个环节编入条形码, 以记录产品的相关信息, 便于对产品进行追溯。但在实际应用中, 常会出现标签丢失或信息不准确等问题, 同时, 不法生产者也可以通过做假来获得非法利益。因此, 通过这些技术对产品进行追溯存在缺陷。国内的很多扇贝品种, 例如虾夷扇贝和海湾扇贝, 均由国外引进, 主要通过养殖获得产量, 中国海域并未存在自然种群, 因此, 通过 DNA 分子技术等手段来鉴别扇贝的原产地无法实现。

稳定同位素作为一种天然的示踪物, 是生物生存环境的理想指示物, 从原子构成层面上区分不同地理条件下生长的生物个体。稳定同位素技术已在蜂蜜[8]、果汁[9]、葡萄酒[10]、乳肉品[11]、水产品[12]、谷物[13]等的产地溯源方面得到了广泛的应用。对海产品的研究已有了相关报导, Ortea 和 Gallardo[14]通过研究表明稳定同位素技术能鉴别虾的不同地理

收稿日期: 2016-05-17; 修回日期: 2016-09-15

基金项目: 国家科技支撑计划(2015BAD17B05); 国家海洋公益类专项(201305002)

[Foundation: National Science & Technology Pillar Program of the Twelfth Five-Year Plan Period, No.2015BAD17B05; National Marine Public Welfare Research Project of China, No.201305002]

作者简介: 张旭峰(1987-), 男, 浙江嘉兴人, 博士研究生, 主要研究方向为海洋环境化学与生物学, E-mail: zjzhangxufeng@163.com; 刘瑀(1965-), 通信作者, 男, 陕西西安人, 教授, 博士, 主要从事海洋环境化学领域的研究, E-mail: ylsibo@foxmail. com

产地。Kim 等[15]的研究表明，稳定同位素技术能对鱼类的产地来源和品种鉴定起到很好效果。但是，尚未发现关于不同海域扇贝稳定同位素组成特征的相关研究。

本研究通过对中国北方沿海 3 种养殖扇贝(虾夷扇贝、栉孔扇贝、海湾扇贝)闭壳肌的碳、氮稳定同位素组成进行测定，了解不同沿海地区 3 种扇贝碳、氮稳定同位素组成特征，评价稳定同位素技术对 3 种扇贝产地鉴别的有效性，旨在为扇贝的产地鉴别和质量追溯提供依据，为扇贝的质量安全提供技术支持。

1 材料和方法

1.1 样品采集

3 种扇贝样品的采集时间为 2015 年 11 月，采样点分布于辽宁和山东沿海的扇贝养殖区，虾夷扇贝的采样点为青岛(QD)和獐子岛(ZZD)；栉孔扇贝的采样点为长岛(CD)和旅顺(LS)；海湾扇贝的采样点是莱州(LZ)、牟平(MP)和旅顺(LS)。如图 1 所示。

3 种扇贝样品共采集 184 个个体，其中，虾夷扇贝 27 个，栉孔扇贝 65 个，海湾扇贝 92 个，具体信息见表 1。

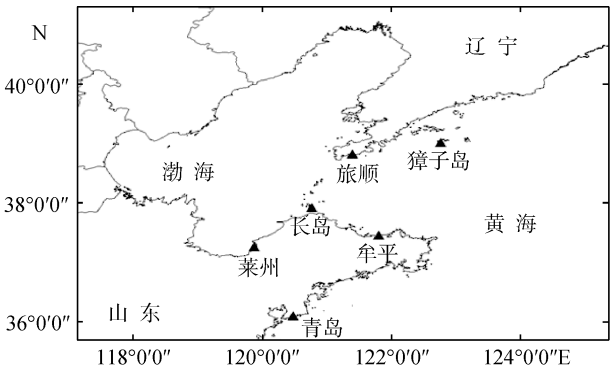

图 1 3 种扇贝采样点位置

Fig. 1 Geographical position of scallop sampling points

表 1 不同采样点扇贝样品的体长和体重

Tab. 1 Body length and weight of scallops from different sampling points

扇贝种类	地点	数量	壳长(cm)	壳高(cm)	体重(g)
虾夷扇贝	青岛(QD)	17	9.3±0.2	9.2±0.2	83.74±9.18
	獐子岛(ZZD)	10	9.0±0.4	9.0±0.4	72.47±7.70
栉孔扇贝	长岛(CD)	31	5.7±0.5	6.2±0.5	21.77±3.75
	旅顺(LS)	34	5.5±0.5	6.1±0.5	23.51±5.20
海湾扇贝	莱州(LZ)	31	4.8±0.5	4.6±0.5	16.50±4.75
	牟平(MP)	12	5.5±0.4	4.8±0.2	26.68±6.00
	旅顺(LS)	49	5.7±0.2	5.4±0.3	19.39±2.92

1.2 样品处理

将采集的扇贝样品立即进行解剖，获得闭壳肌部分，用超纯水洗净，然后放入–20℃冰箱冷冻 24 h。将完全冷冻的扇贝闭壳肌于–50℃冷冻干燥 48 h，然后用玻璃研钵研磨成粉末状，过 80 目网筛，干燥保存。

1.3 样品测定

用锡杯包 0.3~0.5 mg 样品，经过元素分析仪(Flash EA 1112, Thermo Fisher Scientific)和稳定同位素比质谱仪(Delta V Advantage, Thermo Fisher Scientific)测定δ^{13}C、δ^{15}N 值。碳、氮稳定同位素的自然丰度表示为：

$$\delta X=[(R_{样品}/R_{标准})-1]\times 10^3$$

式中：X 代表 ^{13}C 或 ^{15}N；R 代表 ^{13}C/^{12}C 或 ^{15}N/^{14}N。δ^{13}C 值是相对于 PDB 标准的自然丰度，δ^{15}N 值是相对空气中 N_2 的丰度。分析精度δ^{13}C＜0.10‰，δ^{15}N＜0.20‰。

1.4 数据分析

通过散点图对不同采样点 3 种扇贝样品的δ^{13}C 和δ^{15}N 值范围进行分析比较，得出不同海域不同扇贝品种碳、氮稳定同位素组成特征。

2 结果

2.1 虾夷扇贝碳、氮稳定同位素组成

青岛和獐子岛两个采样点虾夷扇贝样品的δ^{13}C 值和δ^{15}N 值测定结果如图 2 所示。青岛样品的δ^{13}C 值范围为–20.039~ –19.046，δ^{15}N 值范围为 5.730~6.362；獐子岛样品的δ^{13}C 值范围为–19.115~ –18.123，δ^{15}N 值范围为 8.984~9.887。由图可知，獐子岛样品的δ^{13}C 值和δ^{15}N 值相对于青岛样品均偏正。结果表

明，δ^{13}C 和δ^{15}N 均能有效区分两个不同海域的虾夷扇贝。

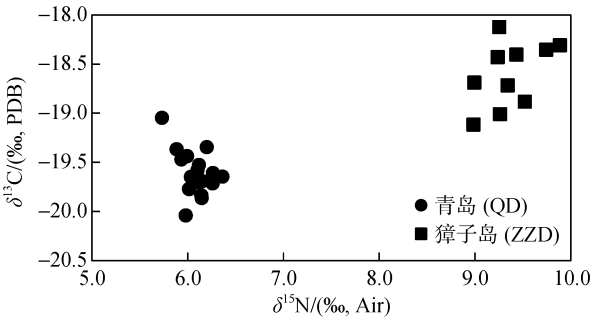

图 2　不同采样点虾夷扇贝的δ^{13}C 值和δ^{15}N 值

Fig. 2　δ^{13}C and δ^{15}N values of *Patinopecten yessoensis* from different sampling points

2.2　栉孔扇贝碳、氮稳定同位素组成

长岛和旅顺两个采样点栉孔扇贝样品的δ^{13}C 值和δ^{15}N 值测定结果如图 3。长岛样品的δ^{13}C 值范围为–19.151~ –18.821，δ^{15}N 值范围为 8.621~10.046；旅顺样品的δ^{13}C 值范围为–19.660~ –18.559，δ^{15}N 值范围为 6.856~8.556。由图可知，两海域样品的δ^{13}C 值无法得到分离，而δ^{15}N 值能明显得到区分，并且长岛样品的δ^{15}N 值相对于旅顺样品偏正。结果表明，δ^{15}N 能有效区分两个不同海域的栉孔扇贝。

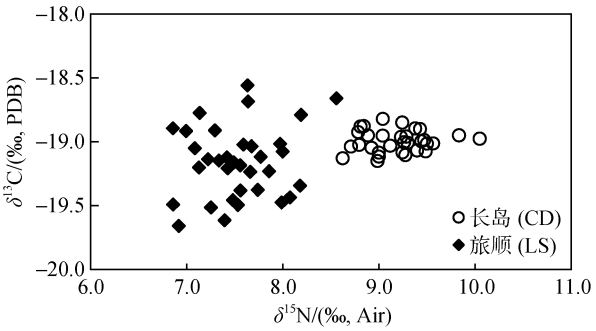

图 3　不同采样点栉孔扇贝的δ^{13}C 值和δ^{15}N 值

Fig. 3　δ^{13}C and δ^{15}N values of *Chlamys farreri* from different sampling points

2.3　海湾扇贝碳、氮稳定同位素组成

莱州、牟平和旅顺 3 个采样点海湾扇贝样品的δ^{13}C 值和δ^{15}N 值测定结果如图 4。莱州样品的δ^{13}C 值范围为–19.310~ –18.526，δ^{15}N 值范围为 8.920~9.670；牟平样品的δ^{13}C 值范围为–18.789~–18.074，δ^{15}N 值范围为 8.618~10.142；旅顺样品的δ^{13}C 值范围为–18.170~–17.209，δ^{15}N 值范围为 6.444~7.992。由图可知，莱州样品的δ^{13}C 值相对于牟平偏负，而δ^{15}N 值区分程度不明显，原因是两采样点均位于烟台地区，地理位置较近。旅顺与其他两地区之间区分程度明显，δ^{13}C 值偏正，而δ^{15}N 值偏负。结果表明，δ^{13}C、δ^{15}N 能有效区分不同海域的海湾扇贝。

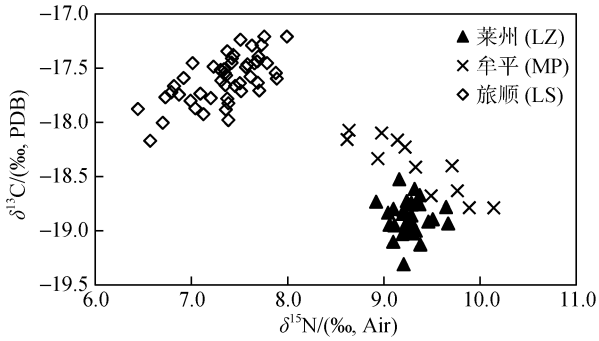

图 4　不同采样点海湾扇贝的δ^{13}C 值和δ^{15}N 值

Fig. 4　δ^{13}C and δ^{15}N values of *Argopecten irradians* from different sampling points

通过研究表明，碳、氮稳定同位素组成能有效区分不同产地来源的 3 种扇贝。

2.4　3 种扇贝碳、氮稳定同位素组成比较

3 种扇贝的δ^{13}C 值和δ^{15}N 值测定结果汇总于图 5，由图可知，不同地区同种扇贝的碳、氮稳定同位素组成不同；相同地区不同种扇贝的碳、氮稳定同位素组成不同(旅顺的海湾扇贝和栉孔扇贝)；然而，不同地区不同种扇贝的碳、氮稳定同位素组成存在重叠现象，例如莱州的海湾扇贝，长岛的栉孔扇贝及獐子岛的虾夷扇贝之间重叠在一起。结果可以推测，生物的碳、氮稳定同位素组成与其物种种类和生长环境有关。

3　讨论

稳定同位素组成分析技术作为一种有效的水产品产地溯源技术，已在国内外得到了广泛的研究[14-15]。Turchini 等[16]通过研究表明，碳、氮稳定同位素组成能够区分澳大利亚墨瑞鳕鱼的不同养殖产地。Chaguri 等[17]通过研究发现，不同产地黄花鱼(*Micropogonias furnieri*)的δ^{13}C、δ^{15}N 值存在显著性差异，表明碳、氮稳定同位素组成能有效鉴定黄花鱼的产地来源。本研究显示，不同产地扇贝的碳、氮稳定同位素组成存在显著性差异，表明碳、氮稳定同位素组成在扇贝的产地鉴定中可能是一种潜在有效的技术。

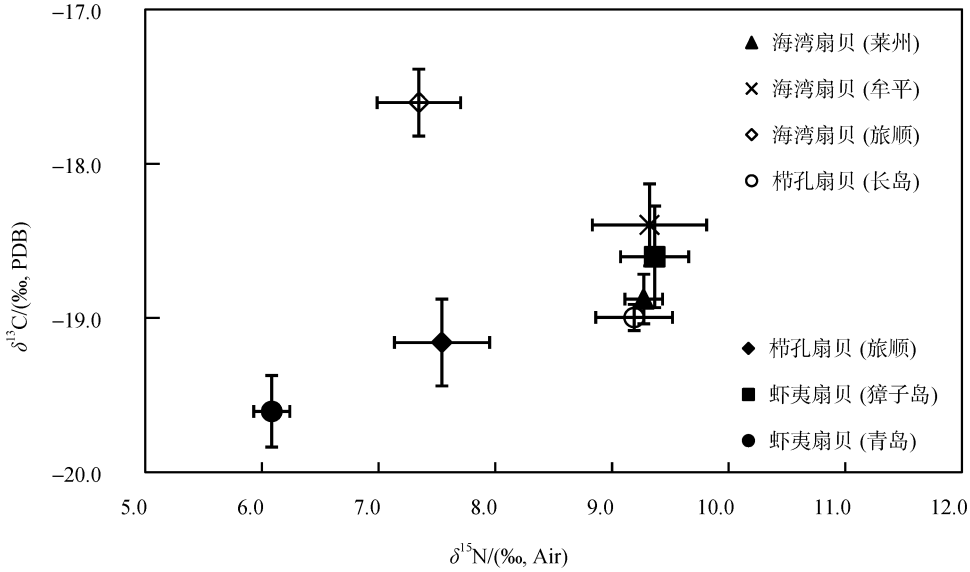

图 5　不同采样点 3 种扇贝的碳、氮稳定同位素组成

Fig. 5　Stable carbon and nitrogen isotope composition of three types of scallop from different sampling points

生物的稳定同位素组成主要受食物来源的影响。生物的生长环境不同，食物来源组成和稳定同位素组成不同，导致生物的碳、氮稳定同位素组成存在差异。Shimoda 等[18]通过研究发现，由于生存环境的不同，日本九州岛 3 种虾(Decapoda, Thalassinidea, Callianassidae)的食物来源不尽相同，导致它们的碳、氮稳定同位素组成存在差异。Suh 和 Shin[19]研究表明，由于摄食食物的不同，不同大小和季节的蛤仔碳、氮稳定同位素组成存在差异。Sun 等[20]研究显示，刺参碳稳定同位素受季节影响显著，原因是食物源不同所致。本研究结果显示，不同地区同种扇贝的碳、氮稳定同位素组成存在显著性差异，是因为环境不同，扇贝摄食的食物组成不同，以及食物的碳、氮稳定同位素组成不同所致。滤食性贝类的食物来源主要为浮游生物、悬浮有机质及微生物等，来源较为复杂，很大程度上依赖于环境条件[21]。由于不同海域扇贝的食物来源组成可能不同，或是由于其食物来源的碳、氮稳定同位素组成不同，最终导致扇贝的碳、氮稳定同位素组成存在差异，这为应用碳、氮稳定同位素组成区分扇贝的不同产地提供了依据。研究结果表明，相同地区不同种扇贝的碳、氮稳定同位素组成存在差异，是因为不同种扇贝摄食习性不同，导致摄食食物的组成不同。生物的摄食习性存在物种差异性，即使亲缘关系较近，摄食方式相同，但是不同物种对食物的喜好和选择不同，因此，导致同一区域不同种扇贝的碳、氮稳定同位素组成存在差异。然而，研究发现，不同地区不同种扇贝的碳、氮稳定同位素组成存在重叠现象，这是因为在多重因素的影响下，碳、氮稳定同位素组成可能存在相似的情况。通过这一结论可以表明，应用碳、氮稳定同位素组成鉴定扇贝的不同产地时，要确保扇贝的品种一致。

本研究的相关结论能用于评价稳定同位素技术对扇贝产地鉴别的有效性，为扇贝的产地鉴别和质量追溯提供依据。

参考文献:

[1] 沈妍，刘伟，湛垚垚，等. 虾夷扇贝性腺和闭壳肌蛋白质双向电泳分析[J]. 海洋科学, 2014, 38(6): 10-16.
Shen Yan, Liu Wei, ZhanYaoyao, et al. Establishment of two-dimensional electrophoresis system and analysis of two-dimensional electrophoresis map for gonad and muscle of scallop *Patinopecten yessoensis*[J]. Marine Sciences, 2014, 38(6): 10-16.

[2] 庞云龙，丁君，田莹，等. 不同生长时期虾夷扇贝壳质的超微结构观察及表面 5 种元素组成分析[J]. 海洋科学, 2015, 39(8): 28-34.
Pang Yunlong, Ding Jun, Tian Ying, et al. Analysis of shell microstructure and five surface elements of *Patinopecten yessoensis* at different ages[J]. Marine Sciences, 2015, 39(8): 28-34.

[3] 刘亚军，孔晓瑜，喻子牛. 栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)自然群体遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 海洋与湖沼, 2006, 37(4): 289-296.
Liu Yajun, Kong Xiaoyu, YuZiniu. Investigation of ge-

netic diversity in wild populations of scallop *Chlamys farreri* using RAPD analysis[J]. Chinese Journal of Oceanography and Limnology, 2006, 37(4): 289-296.

[4] 李宏俊, 刘晓, 杜雪地, 等. 海湾扇贝微卫星标记开发及其分离方式分析[J]. 海洋科学, 2009, 33(12): 4-8.
LiHongjun, Liu Xiao, DuXuedi, et al. Development of microsatellite markers in bay scallop and their inheritance patterns in an F_1hybrid family[J]. Marine Sciences, 2009, 33(12): 4-8.

[5] 刘俊荣, 章超桦, 蒋海山, 等. 欧盟食品安全管理体系给中国贝类产业健康发展的启示[J]. 大连海洋大学学报, 2010, 25(5): 442-449.
Liu Junrong, Zhang Chaohua, Jiang Haishan, et al. EU food safety management system, special reference to Chinese marine bivalve industry[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2010, 25(5): 442-449.

[6] Commission decision of 17 December 1996 establishing the list of third countries fulfilling the equivalence conditions for the production and placing on the market of bivalve molluscs, echinoderms, tunicates, and marine gastropods(97/20/EC)[EB/OL]. http: //eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX: 31997D0020: EN: NOT.

[7] 于笛, 刘俊荣, 杨君德, 等. 海水养殖虾夷扇贝供应链可追溯管理体系的探讨[J]. 水产科学, 2013, 32(2): 117-124.
Yu Di, Liu Junrong, Yang Junde, et al. The supply chain traceability management system for Yesso Scallop *Patinopecten yessoensis* culture[J]. Fisheries Science, 2013, 32(2): 117-124.

[8] Elflein L, Raezke K P. Improved detection of honey adulteration by measuring differences between 13C/12C stable carbon isotope ratios of protein and sugar compounds with a combination of elemental analyzer—isotope ratio mass spectrometry and liquid chromatography—isotope ratio mass spectrometry (δ13C-EA/LC-IRMS)[J]. Apidologie, 2008, 39(5): 574-587.

[9] Kornexl B E, Roßmann A, Schmidt H L. Improving fruit juice origin assignment by combined carbon and nitrogen isotope ratio determination in pulps[J]. Zeitschriftfür Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 1996, 202(1): 55-59.

[10] Raco B, Dotsika E, Poutoukis D, et al. O–H–C isotope ratio determination in wine in order to be used as a fingerprint of its regional origin[J]. Food chemistry, 2015, 168: 588-594.

[11] Heaton K, Kelly S D, Hoogewerff J, et al. Verifying the geographical origin of beef: The application of multi-element isotope and trace element analysis[J]. Food Chemistry, 2008, 107(1): 506-515.

[12] Molkentin J, Lehmann I, Ostermeyer U, et al. Traceability of organic fish–Authenticating the production origin of salmonids by chemical and isotopic analyses[J]. Food Control, 2015, 53: 55-66.

[13] Wu Y, Luo D, Dong H, et al. Geographical origin of cereal grains based on element analyser-stable isotope ratio mass spectrometry (EA-SIRMS)[J]. Food chemistry, 2015, 174: 553-557.

[14] Ortea I, Gallardo J M. Investigation of production method, geographical origin and species authentication in commercially relevant shrimps using stable isotope ratio and/or multi-element analyses combined with chemometrics: An exploratory analysis[J]. Food chemistry, 2015, 170: 145-153.

[15] Kim H, Kumar K S, Shin K H. Applicability of stable C and N isotope analysis in inferring the geographical origin and authentication of commercial fish (Mackerel, Yellow Croaker and Pollock)[J]. Food chemistry, 2015, 172: 523-527.

[16] Turchini G M, Quinn G P, Jones P L, et al. Traceability and discrimination among differently farmed fish: a case study on Australian Murray cod[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2008, 57(1): 274-281.

[17] Chaguri M P, Maulvault A L, Nunes M L, et al. Different tools to trace geographic origin and seasonality of croaker (*Micropogonias furnieri*)[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 61(1): 194-200.

[18] Shimoda K, Aramaki Y, Nasuda J, et al. Food sources for three species of *Nihonotrypaea* (Decapoda: Thalassinidea: Callianassidae) from western Kyushu, Japan, as determined by carbon and nitrogen stable isotope analysis[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2007, 342(2): 292-312.

[19] Suh Y J, Shin K H. Size-related and seasonal diet of the manila clam (*Ruditapes philippinarum*), as determined using dual stable isotopes[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2013, 135: 94-105.

[20] Sun Z, Gao Q, Dong S, et al. Seasonal changes in food uptake by the sea cucumber *Apostichopus japonicus* in a farm pond: Evidence from C and N stable isotopes[J]. Journal of Ocean University of China, 2013, 12(1): 160-168.

[21] 许强, 杨红生, 王红, 等. 桑沟湾养殖栉孔扇贝食物来源研究——脂肪酸标志法[J]. 海洋科学, 2007, 31(9): 78-84.
Xu Qiang, Yang Hongsheng, Wang Hong, et al. Food sources of cultured scallop *Chlamys farreri* in Sanggou Bay: indicated by fatty acid biomarkers[J]. Marine Sciences, 2007, 31(9): 78-84.

Characteristics of stable carbon and nitrogen isotope compositions of three scallops in the northern coast of China

ZHANG Xu-feng[1], LIU Yu[1], LI Ying[2], ZHAO Xing-da[1], WANG Hai-xia[2]
(1. College of Environmental Science and Engineering, Dalian Maritime University, Dalian 116026, China; 2. Navigation College, Dalian Maritime University, Dalian 116026, China)

Received: May 17, 2016
Key words: *Patinopecten yessoensis*; *Chlamys farreri*; *Argopecten irradians*; stable isotope; origin traceability

Abstract: In this research, we study the characteristics of stable carbon and nitrogen isotope compositions of three scallops from different growing areas on the northern coast of China. Isotopic measurements and analysis of the adductor muscles of three scallops (*Patinopecten yessoensis*, *Chlamys farreri*, and *Argopecten irradians*) were performed using an elemental analyzer-isotopic ratio mass spectrometer (EA-IRMS). The results show that δ^{13}C and δ^{15}N in the adductor muscles of *P. yessoensis* from Qingdao and Zhangzidao were significantly different and can be used to clearly distinguish between scallops from these two sea areas. δ^{15}N in the adductor muscles of *C. farreri* from Changdao and Lüshun exhibited a significant difference, which can be used to distinguish between the scallops from these two regions. δ^{13}C and δ^{15}N in the adductor muscles of *A. irradians* from Laizhou, Muping, and Lüshun showed significant differences, which can be used to distinguish between the scallops from these sea areas. In addition, the results indicate that stable carbon and nitrogen isotope compositions of adductor muscles can effectively distinguish scallop origin.

(本文编辑: 康亦兼)