

## کاربرد ایزوتوپ های پایدار در مطالعات اکولوژی

آزمایشگاه مرکزی دانشگاه اراک، آزمایشگاه تحقیقاتی ایزوتوپ های پایدار

### چکیده

آنالیز ایزوتوپ پایدار اخیراً در تحقیقات بوم شناختی (اکولوژی) مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. این روش نه تنها به منظور بررسی و تشخیص تغییرات رژیم غذایی موجودات زنده و ردیابی منابع تغذیه ای آن ها به کار می رود، بلکه برای شناسایی منشا و الگوهای (حرکات) مهاجرتی حیات وحش نیز استفاده می شود. امروزه آنالیز ایزوتوپ پایدار به عنوان یک ابزار مفید در بازسازی<sup>۱</sup> و تفسیر رژیم های غذایی گذشتگان، مشخص کردن روابط تغذیه ای<sup>۲</sup>، تشریح الگوهای تخصیص منابع غذایی<sup>۳</sup> و ساخت شبکه های غذایی<sup>۴</sup> پذیرفته شده است. به طوری که تعداد مطالعات گزارش شده با استفاده از آنالیز ایزوتوپ پایدار در زمینه اکولوژی تغذیه ای<sup>۵</sup> در دهه گذشته افزایش یافته است.

**واژگان کلیدی:** ایزوتوپ های پایدار، انگشت نگاری ایزوتوپی، مطالعات اکولوژی

### مقدمه

نسبت ایزوتوپی کربن در گیاهان ممکن است دچار تغییرات بسیاری شود: (الف) در قسمت های مختلف یک گیاه، (ب) در گیاهان مختلف از یک گونه، (پ) در گونه های مختلف گیاهان، (ت) در زیستگاه های مختلف گیاهان و (ث) در یک گیاه یا بافت گیاهی به عنوان تابعی از زمان. بسیاری از این تغییرات ایزوتوپی به علت تفاوت در ترکیب ایزوتوپی منابع استفاده شده توسط گیاه و جدایش بیولوژیکی ایزوتوپهای موجود در گیاهان ایجاد می شوند. بنابراین، یک بافت گیاهی معین در یک زمان معین ممکن است یک "اثر انگشت"<sup>۶</sup> منحصر بفرد با توجه به ترکیب ایزوتوپی خاص خود داشته

---

<sup>1</sup>Reconstructing diets

<sup>2</sup>Trophic relationships

<sup>3</sup>Elucidating patterns of resource allocation

<sup>4</sup>Food web

<sup>5</sup>Trophic

<sup>6</sup>Fingerprint

باشد [1-3]. حیواناتی که از این گیاهان تغذیه می کنند، با ایزوتوپ های موجود در مواد غذایی مصرف شده نشان دار<sup>۱</sup> می شوند، زیرا در واقع حیوانات مواد شیمیایی موجود در رژیم غذایی را به بافت های بدن خود وارد می کنند. در این مرحله جدایش ایزوتوپی بیشتری ممکن است رخ دهد و اثر این جدایش در نسبت های ایزوتوپی تحت تاثیر فیزیولوژی حیوان قرار دارد. این عوامل متنوع موثر در ترکیب ایزوتوپی حیوانات نشان می دهد که اندازه گیری نسبت های ایزوتوپی در حیوانات می تواند اطلاعات بسیار مفیدی درباره روابط تروفیکی، اکولوژی تغذیه<sup>۲</sup> و فیزیولوژی فراهم کند. این اطلاعات عبارتند از: بررسی رژیم غذایی حیوان (سطح تروفیک<sup>۳</sup>، موقعیت شبکه غذایی<sup>۴</sup>)، تخمین منطقه تغذیه حیوان و چگونگی استفاده حیوان از مواد شیمیایی (شکار) در بدن خود. همچنین **زمان تغییرات** نیز می تواند با اندازه گیری های متوالی بر روی نمونه هایی از حیوانات از یک جمعیت، بر روی نمونه های بافت یک حیوان، یا برخی از بافتها، مانند مو، ناخن، یا بال نهنگ، که به طور مداوم در طول زمان سنتز شده اند، تعیین شود. تعیین زمان امکان بررسی مواردی مانند الگوهای مهاجرت، سن حیوانات مختلف، تغییر زیستگاه و رژیم غذایی در زمان بلوغ را امکان پذیر می سازد. بافت های مختلف در حیوانات با سرعت های مختلف، تغییر می کنند، بنابراین اندازه گیری نسبت ایزوتوپی در بافت های مختلف در یک گونه می تواند جنبه های پویای بوم شناسی و فیزیولوژی آن را نمایان سازد. همچنین با اندازه گیری های ایزوتوپی مناسب بر روی چندین گونه مهم از حیوانات در یک اکوسیستم، شبکه های غذایی و سرعت جریان کربن و انرژی در اکوسیستم مورد نظر را می توان برآورد کرد. اندازه گیری نسبت ایزوتوپی در فسیل های حیوانات و گیاهان، می تواند جنبه های جذاب از بوم شناسی دیرین<sup>۵</sup> حیوانات و همینطور انسان را نشان دهد [1-3].

#### - ایزوتوپ های پایدار

متداول ترین ایزوتوپ های پایدار مربوط به عناصر هیدروژن (H)، کربن (C)، نیتروژن (N)، اکسیژن (O) و سولفور (S) می باشد. جدول ۱ میانگین فراوانی برخی از ایزوتوپ های پایدار را نشان می دهد.

---

<sup>1</sup>Labeling feeding ecology

<sup>2</sup>Feeding ecology

<sup>3</sup>Trophic level

<sup>4</sup>Food web position

<sup>5</sup>Paleoecology

جدول ۱: فراوانی طبیعی متداول ترین ایزوتوپهای پایدار

هیدروژن	کربن	نیتروژن	اکسیژن	سولفور
$^1\text{H} : 99.984\%$	$^{12}\text{C} : 98.89\%$	$^{14}\text{N} : 99.64\%$	$^{16}\text{O} : 99.763\%$	$^{32}\text{S} : 95.02\%$
$^2\text{H} : 0.0156\%$	$^{13}\text{C} : 1.11\%$	$^{15}\text{N} : 0.36\%$	$^{18}\text{O} : 0.1995\%$	$^{34}\text{S} : 4.21\%$

نسبت ایزوتوپی یک نمونه (R) بصورت نسبت تعداد اتم های یک ایزوتوپ (سنگین تر) به تعداد اتم های ایزوتوپ دیگر (سبکتر) همان عنصر شیمیایی (مثلا  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) تعریف می شود [4]. نسبت این ایزوتوپ ها از زمان پیدایش زمین تاکنون تغییر نکرده است ولی تغییرات محلی به دلیل بسیاری از فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی ایجاد می شود. برای ثبت یک اثر انگشت ایزوتوپی نیاز به اندازه گیری بسیار دقیق نسبت ایزوتوپی (مثلا  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) در نمونه مورد نظر می باشد. نسبت های ایزوتوپ های پایدار (R) ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) بطور دقیق و صحیحی توسط تکنیک های اختصاصی مانند IR-MASS قابل اندازه گیری هستند. شکل پذیرفته شده برای گزارش ترکیب ایزوتوپی یک نمونه، نماد دلتا ( $\delta$ ) می باشد. در واقع تفاوت در نسبت های ایزوتوپی اغلب با نماد دلتا نشان داده شده و نسبت به یک استاندارد بین المللی محاسبه می شود. برای مثال، مقدار دلتا ( $\delta$ ) برای ترکیب ایزوتوپی کربن در یک نمونه بصورت زیر نشان داده می شود [5]:

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = \left( \frac{R_{\text{نمونه}} - R_{\text{استاندارد}}}{R_{\text{استاندارد}}} \right) \times 1000$$

تغییرات فراوانی ایزوتوپها (نسبت های ایزوتوپی) برای اغلب عناصر مورد مطالعه معمولاً کوچک هستند و مقادیر به صورت قسمت درصد (% یا percent)، قسمت در هزار (% یا per mil) یا قسمت در میلیون (ppm) گزارش شده است.

## – کاربرد ایزوتوپ های پایدار در مطالعات اکولوژی گیاهان

در سالهای اخیر استفاده از روش های آنالیز ایزوتوپی (پایدار) در علوم زیستی و غیرزیستی رشد قابل توجهی داشته است. در علم بوم شناسی یا اکولوژی نیز کاربردهای مختلفی از تکنیک های ایزوتوپی پایدار مورد بررسی قرار گرفته اند. از جمله کاربردهای ایزوتوپ های پایدار می توان به موارد زیر اشاره کرد:

➤ مطالعه مکانیسم های موثر بر جدایش<sup>1</sup> ایزوتوپی کربن در مسیر های مختلف فتوسنتز گیاهان

جدایش ایزوتوپهای کربن ضمن فتوسنتز نتیجه چندین فرآیند بیوشیمیایی و فیزیکی متفاوت می باشد که در کنترل جذب CO<sub>2</sub> شرکت دارند. این فرآیندها تمایلات مختلفی برای تمایز <sup>13</sup>C و <sup>12</sup>C دارند و تمایز کلی یک گیاه خاص، به مکانیسم تثبیت CO<sub>2</sub> در گیاه و فرایندهای موثر بر فتوسنتز وابسته می باشد. تا کنون مطالعات بسیاری به منظور بررسی اثر عوامل محیطی و بیولوژیکی بر ترکیب ایزوتوپی کربن گیاهان گزارش شده است [6, 7].

مسیرهای مختلف متابولیسم گیاهان شامل C<sub>3</sub> (اکثر گیاهان)، C<sub>4</sub> (ذرت) و CAM (Sukculents) باعث ایجاد نسبت های ایزوتوپی متفاوت کربن (<sup>13</sup>C یا <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C) در بافت گیاه و فرآورده های گیاهی می شوند. به عنوان مثال، محصولاتی که از ذرت ساخته شده اند، از نظر ترکیب ایزوتوپی به طور واضحی متفاوت از فرآورده های حاصل از سایر مواد گیاهی می باشند. این تفاوت های ایزوتوپی می توانند در سایر موجودات زنده نیز شناسایی شوند، زیرا این موجودات، از بافت های گیاهی تغذیه می کنند [6, 7].

با توجه به **جدول ۱**، کربن دارای دو ایزوتوپ پایدار و طبیعی است <sup>13</sup>C (98.89 %) و <sup>12</sup>C (1.11%). نسبت این ایزوتوپها (<sup>13</sup>C یا <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C) نسبت به VPDB استاندارد (Vienna Pee Dee Belemnite) گزارش شده است. مقدار <sup>13</sup>C δ (اتم سفر) % -7 است. ضمن فتوسنتز، کربن در بافت گیاه تثبیت شده و <sup>13</sup>C در بافت گیاه نسبت به اتمسفر به طور قابل توجهی کاهش می یابد. به دلیل تفاوت در واکنش های فتوسنتز استفاده شده توسط گیاه، توزیعی در مقادیر <sup>13</sup>C δ در گیاهان خشکی<sup>۲</sup> وجود دارد. بیشتر گیاهان خشکی گیاهان C<sub>3</sub> هستند و دارای مقادیر <sup>13</sup>C δ بین -24 تا % -34 می باشند. رده دوم گیاهان (گیاهان C<sub>4</sub>) که شامل گیاهان آبی، گیاهان بیابانی، گیاهان نمکی و

<sup>1</sup> Fractionation

<sup>2</sup> Terrestrial plants

گیاهان گرمسیری هستند، دارای مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  در حدود 6- تا ۱۹- % هستند. یک گروه هم (گیاهان CAM) شامل جلبک ها و گل‌سنگ ها دارای مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  بین ۱۲- تا ۲۳- % می باشند [6 - 10]. تعیین مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  در گیاهان و ارگانیزم ها به ویژه هنگامی که با آنالیز  $\delta^{15}\text{N}$  و یا  $\delta^{34}\text{S}$  ترکیب شده باشند، می تواند اطلاعات بسیار مفیدی در مورد منابع تغذیه ای آن ها و روابط شبکه های غذایی، فراهم کند.

➤ مطالعه جدایش ایزوتوپی کربن و بررسی کارایی مصرف آب<sup>۱</sup> توسط گیاه

در ابتدا تعیین نسبت ایزوتوپی کربن در گیاهان برای بررسی انواع مسیرها ی فتوسنتزی مورد استفاده قرار گرفت . اخیراً آنالیز ایزوتوپی در مطالعات مربوط به بررسی کارایی مصرف آب در گیاهان  $\text{C}_3$  توسعه یافته است [11]. بررسی کارایی مصرف آب فراورده های کشاورزی به علت محدودیت های کمی و کیفی این نهاده ارزشمند از جایگاه خاصی برخوردار می باشد.

➤ مطالعه نسبت ایزوتوپی کربن به عنوان شاخص کارایی مصرف آب در هالوفیت ها<sup>۲</sup> (گیاهان آب شور) - احتمال

ارتباط با روش های تنظیم اسمزی

نتایج برخی مطالعات نشان داده است که مقدار  $\delta^{13}\text{C}$  در برخی هالوفیت های  $\text{C}_3$  بسیار وابسته به شوری محیطی می باشد [12].

➤ استفاده از نسبت ایزوتوپ کربن برای درک فرآیندهای اکوفیزیولوژی در گیاهان زمین های بسیار خشک (بایر)

۳

نسبت ایزوتوپی کربن یک شاخص قابل اعتماد برای درک مسیر فتوسنتزی در گیاهان نواحی بسیار خشک می باشد. بررسی نسبت ایزوتوپ کربن در گیاهان بیابانی نشان می دهد که توزیع مسیرهای فتوسنتزی به شدت با شرایط محیط زیست ارتباط دارد . به طوری که، در برگ گیاهان  $\text{C}_3$  نواحی بسیار خشک، تغییرات قابل توجهی در نسبت ایزوتوپی کربن دیده می شود . این تغییرات مربوط به تفاوت در غلظت  $\text{CO}_2$  بین سلولی می باشد . بررسی

<sup>1</sup>Plant Water-Use Efficiency

<sup>2</sup>Halophytes

<sup>3</sup>Aridland Plants

ایزوتوپهای کربن پایدار در این گیاهان بیابانی دیدگاه های جدیدی در مورد تغییر الگوهای مصرف آب گیاه با تغییر زیستگاه و برهمکنش بین متابولیسم مواد معدنی و مصرف آب ارائه می دهد [7].

➤ تغییر مقادیر  $\delta^{13}\text{C}$  در حلقه های رشد سالانه درختن<sup>1</sup>

مدل های اخیر جدایش ایزوتوپ کربن در گیاهان نشان داده است که عوامل محیطی مانند نور و مواد مغذی ممکن است به تغییرات ترکیب ایزوتوپی کربن در حلقه های درختن منجر شود [13].

➤ مطالعه جدایش ایزوتوپی هیدروژن در بافت های گیاهی

منبع اصلی دوتریم در مواد آلی موجود در یک گیاه اتوتروپیک، آب محیط و در گیاهان خشکی آب موجود در خاک (آب به عنوان منبع هیدروژنی) می باشد. محتوای دوتریم آب موجود در خاک عمدتاً به غلظت آن در بارش بستگی دارد. ضمن میعان (تراکم) بخار آب، دوتریم نسبت به بخار اولیه غنی شده و در نتیجه بخار باقی مانده به طور فزاینده ای نسبت به دوتریم تهی می شود. تغییرات در مقدار دوتریم آبهای طبیعی بواسطه میعان و تبخیر بین ۱۰۰%+ و ۴۰۰% - نسبت به محتوای دوتریم اقیانوس (SMOW) قرار دارد.

عوامل زیر بر محتوای دوتریم بارش و در نتیجه بر مقدار دوتریم آب موجود در خاک تاثیر می گذارند [14]:

- اثر عرض جغرافیایی

- اثر ارتفاع

- اثر قاره ای

- مجموع بارش

از آنجا که نسبت ایزوتوپی هیدروژن ( $^2\text{H}/^1\text{H}$  یا  $\delta\text{D}$ ) و اکسیژن ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  یا  $\delta^{18}\text{O}$ ) آب سطحی، به عرض جغرافیایی، ارتفاع و فاصله از اقیانوس بستگی دارد، گیاهان مشابه در مناطق مختلف گاهی می توانند بر اساس ترکیب ایزوتوپی هیدروژن و اکسیژن در بافتهای سازنده شان متمایز شوند. زیرا آب باران پس از فرونشست، وارد بافت های گیاهی شده و به بخشی از بافت بدن موجودات زنده دیگر تبدیل می شود. این فرآیند به طور بالقوه یک امضای ایزوتوپی مشخص را

---

<sup>1</sup>Tree Rings

برای تعیین منطقه ای که بافت گیاهی یا حیوانی مورد نظر در آنجا رشد کرده است (به عنوان مثال پره‌های پرنده)، ایجاد می‌کند.

➤ مطالعه نسبت ایزوتوپهای اکسیژن و هیدروژن در سلولز گیاهی: مکانیسم و کاربردها

ژئوشیمی دان‌ها معتقدند از آنجا که نسبت ایزوتوپهای اکسیژن و هیدروژن آب در دسترس برای شرکت در بافت گیاهان متأثر از شرایط آب و هوایی<sup>1</sup> است، در نتیجه نسبت ایزوتوپ‌های هیدروژن و اکسیژن در مواد گیاهی نیز باید با توجه به شرایط آب و هوایی تعیین شود. برای تعیین آب و هوا، تنها مسئله کشف مراحل جدایش ایزوتوپ‌ها از مرحله ورود آب به ریشه‌ها تا سنتز سلولز در برگ‌ها می‌باشد [15, 16].

➤ اندازه‌گیری مقادیر  $\delta^{13}C$  به عنوان شاخص‌های جریان کربن در اکوسیستم‌های دریایی و آب شیرین

➤ استفاده از ایزوتوپهای پایدار در ارزیابی تأثیر کشاورزی در خاک‌های خشک و نیمه خشک

➤ برآورد میزان تثبیت  $N_2$  در اکوسیستم‌ها

➤ کوددهی سولفات و تغییرات ایزوتوپی گوگرد در ترکیب رسوبات دریاچه‌ها

➤ استفاده از ایزوتوپ‌های پایدار نیتروژن و سولفور در مطالعه پاسخ گیاهان به آلودگی هوا

ترکیبات گوگرد و نیتروژن در بارش، ارسول‌ها و گازهای جوی وجود دارند. فرآیندهای اتمسفری منجر به ترسیب مقادیر بسیاری از گوگرد و نیتروژن در مناطق صنعتی می‌شود. مطالعه ایزوتوپهای پایدار برای بررسی جذب آلودگی هوا توسط پوشش‌های گیاهی استفاده شده است. مطالعات ایزوتوپ‌های نیتروژن و سولفور به درک اثرات آلودگی هوا بر گیاهان کمک زیادی می‌کند. تحقیقات آینده پتانسیل گوگرد و نیتروژن را در نفوذ به کوتیکولها (پوست گیاهان) و ورود به مسیرهای متابولیک، و تأثیر آن‌ها بر متابولیسم عناصر دیگر و جابه‌جایی آن‌ها در سراسر گیاه را روشن می‌سازد [7].

---

<sup>1</sup>Climate

## - کاربرد ایزوتوپ های پایدار در مطالعات اکولوژی حیوانات

تاکنون روش آنالیز نسبت طبیعی ایزوتوپ های پایدار به منظور بررسی فرآیندهای زیست شناختی و فیزیولوژیکی در پژوهش های مربوط به اکولوژی گیاهان بسیار مورد استفاده قرار گرفته است. این روش همچنین می تواند ابزاری بسیار توانمند در بررسی اکولوژی حیوانات باشد. اکولوژیست های پرندگان، با انجام مطالعات متعددی در زمینه بررسی رژیم های غذایی پرندگان و نیز در زمینه ی مهاجرت آن ها، نقش مهمی در توسعه کاربردهای مختلف روش های آنالیز ایزوتوپی در اکولوژی حیوانات ایفا کرده اند. به عنوان مثال، عوامل موثر بر میزان جذب و جدایش ایزوتوپهای نیتروژن و کربن در بافت پرندگان مانند خون و پر پرندگان مورد بررسی قرار گرفته است [17, 18].

همچنین ایزوتوپهای پایدار نیتروژن ( $\delta^{15}\text{N}$ ) و کربن ( $\delta^{13}\text{C}$ ) اطلاعات ارزشمندی برای تخمین موقعیتهای تروفی و بررسی جریان کربن به مصرف کنندگان در شبکه های غذایی در اختیار می گذارند. به این منظور دو گونه آبی مورد بررسی ایزوتوپی قرار گرفتند [19, 20].

➤ استفاده از ردیاب های ایزوتوپ طبیعی در بررسی شبکه غذایی آبزیان

یکی از مهمترین کاربردهای ایزوتوپ های پایدار، بررسی سلامت آبزیان و ارتباط آن با مقادیر ایزوتوپ پایدار نیتروژن موجود در بافت عضله بدن جاندار می باشد و نهایتاً میزان سلامت جاندار و ارتباط آن با مواد غذایی موجود در اکوسیستم تعیین می گردد. کاربرد دیگر آنالیز ایزوتوپ های پایدار، تعیین میزان صید استاندارد در اکوسیستم ها با تعیین نژاد ماهی ها از نظر وحشی یا اهلی بودن می باشد که در این روش میزان کربن پایدار موجود در بدن ماهیان (مربوط به مراکز توزیع به صورت تصادفی) با یکدیگر مقایسه می شود. با توجه به اینکه زندگی میلیون ها نفر در حاشیه دریاها متأثر از فعالیت های شریلاتی است و ذخایر آبزیان آن از روابط پیچیده اکولوژی برخوردار هستند، بنابراین استفاده از تکنیک ایزوتوپ های پایدار کربن و نیتروژن در بررسی میزان صید ماهیان مناطق مختلف و طول زنجیره غذایی، اهمیت زیادی دارد. همچنین، از آنجاکه مقادیر این ایزوتوپ ها با انرژی مو جود در رژیم غذایی معمول مصرفی جاندار رابطه مستقیم دارد، آنالیز



ایزوتوپی به عنوان بهترین و قابل اطمینان ترین شاخص میزان جریان انرژی در بدن موجودات، انرژی جریان یافته در طول سطوح تروفی و در نهایت ارزیابی توان تولیدی مناطق مختلف اکوسیستم مطرح می شود.

## نتیجه گیری

بررسی تغییرات رژیم غذایی موجودات زنده و ردیابی منابع تغذیه ای آن ها اهمیت بسیاری در مطالعات بوم شناختی دارد. طیف سنجی جرمی نسبت ایزوتوپی<sup>1</sup> (IRMS)، امکان آنالیز ایزوتوپ های پایدار ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ،  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ،  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) را در بافت های گیاهی و حیوانی فراهم کرده است. ترکیب ایزوتوپی این بافت ها می تواند به عنوان اثر انگشت برای تعیین منابع تغذیه ای آن ها استفاده شود. همچنین با انجام اندازه گیری های ایزوتوپی مناسب بر روی چندین گونه مهم از حیوانات در یک اکوسیستم، شبکه های غذایی و مقدار و سرعت جریان کربن و انرژی در اکوسیستم مورد نظر را می توان برآورد نمود. علاوه براین، روش آنالیز ایزوتوپی به منظور شناسایی منشا و الگوهای مهاجرتی حیات وحش نیز به کار گرفته شده است. استفاده از روش های آنالیز ایزوتوپی و تعیین دقیق نسبت های ایزوتوپی، اطلاعات ارزشمندی در زمینه تحقیقات اکولوژی گیاهان و حیوانات فراهم می آورد.

## منابع

- [1] LL Tieszen, TW Boutton, KG Tesdahl, NA Slade, Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for  $\delta^{13}\text{C}$  analysis of diet. *Oecologia*, 57(1983)32-37.
- [2] LL Tieszen, D Hein, AA Ovortrup, JH Troughton, SK Imbamba, Use of  $\delta^{13}\text{C}$  values to determine vegetation selectivity in East African herbivores. *Oecologia*, 37(1979) 351-359.
- [3] YV Schirnding, NJ Van der Merwe, JC Vogel Influence of diet and age on carbon isotope ratios in ostrich eggshell. *Archaeometry*, 24 (1982) 3-20.

---

<sup>1</sup>Isotope ratio mass spectrometry

- [4] LA Chesson, BJ Tipple, and JD Howa, GJ Bowen, JE Barnette, TE Cerling, JR Ehleringer, *Stable Isotopes in Forensics Applications*, Elsevier, 2014.
- [5] M Elsner, G Imfeld, Compound-specific isotope analysis (CSIA) of micropollutants in the environment — current developments and future challenges, *Current Opinion in Biotechnology* 41(2016) 60–72.
- [6] B Fry, *Stable Isotope Ecology*, New York: Springer, 2006.
- [7] PW Rundel, J .R. Ehleringer, K. A. Nagy, *Stable isotopes in ecological research*, Springer-Verlag, New York, 1989.
- [8] JC Vogel, *Fractionation of Carbon Isotopes During Photosynthesis*. Springer- Verlag, Berlin, 1980.
- [9] JH Troughton, KA Card, CH Hendy, Photosynthetic pathways and carbon isotope discrimination by plants. *Carnegie Inst. Wash. Yearb.* 73 (1974) 768-780.
- [10] JC Vogel, *Fractionation of Carbon Isotopes During Photosynthesis*. Springer-Verlag, Berlin (1980).
- [11] GD Farquhar, RA Richards, Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Aust. J. Plant Physiol.* II, (1984) 539-552.
- [12] RD Guy, DM Reid, HR Krouse, Shifts in carbon isotope ratios of two C<sub>3</sub> halophytes under natural and artificial conditions. *Oecologia*, 44(1980)241-247.
- [13] RJ Francey, GD Farquhar, An explanation of <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C variations in tree rings. *Nature* 297(1982):28-31.
- [14] W-G Schiegl, *Natural deuterium in biogenic materials. Influence of environment and geophysical applications*. Ph.D. thesis, University of South Africa, Pretoria, 1970.
- [15] S Epstein, P Thompson, CJ Yapp, Oxygen and hydrogen isotopic ratios in plant cellulose. *Science*, 198(1977)1209-1215.
- [16] S Epstein, CJ Yapp, JH Hall, The determination of the D/H ratio of non-exchangeable hydrogen in cellulose extracted from aquatic and land plants. *Earth*

Planet. Sci. Lett. 30 (1976) 241-251.

[17] S Bearhop, S Waldron, SC Votier, RW Furness. Factors that influence assimilation rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian blood and feathers. *Physiol Biochem Zool.* 75(5) (2002)451-8.

[18] LZ Gannes, DM O'Brien, C. Rio, M. O'Brien, Stable isotopes in animal ecology: Assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments, *Ecology* 78(4) (1997) 1271-1276.

[19] David M. Post, Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions, *Ecology.* 83 (3) (2002) 703-718.

[20] HB Vander Zanden, DX Soto, GJ Bowen, KA Hobson, Expanding the Isotopic Toolbox: Applications of Hydrogen and Oxygen Stable Isotope Ratios to Food Web Studies Review *Front. Ecol. Evol.* (2016).