

УДК 594.1(3):591.5:575.857(262)

Ж. А. АНТИПУШИНА, А. Р. КОСЬЯН

Институт проблем экологии и эволюции имени А. Н. Северцова РАН,
Ленинский проспект, 33, Москва, 119071, Россия

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ УГЛЕРОДА И АЗОТА В ОРГАНИЧЕСКОМ ВЕЩЕСТВЕ РАКОВИН ЧЕРНОМОРСКИХ МОЛЛЮСКОВ

В работе приводятся предварительные результаты анализа стабильных изотопов углерода и азота в органическом веществе раковин и крышечки черноморских двустворок *Chamelea gallina* и рапаны *Rapana venosa*. Изотопный анализ раковин венерок и рапаны обнаруживает уменьшение содержания более «легкого» изотопа углерода ^{13}C в белке раковины с глубиной обитания. Самое высокое содержание $\delta^{15}\text{N}$ зафиксировано в раковинах с косы Тузла и берегов Азовского моря, что предположительно связано с привносом органики пресными водами. По результатам анализа крышечки рапаны обнаружена разница в содержании $\delta^{13}\text{C}$ в разных зонах прироста, указывающая на то, что ювенильные особи обитали на большей глубине, чем взрослые.

Ключевые слова: стабильные изотопы, углерод, азот, *Rapana venosa*, *Chamelea gallina*, ракуша, экология, Черное море

Анализ стабильных изотопов в органогенных карбонатах и органическом веществе скелетов беспозвоночных и костей животных и человека широко применяется в археологии и палеоэкологии [1–5 и др.]. При изучении экологии ныне живущих видов этот метод все еще не нашел достаточно широкого применения, как в силу высокой стоимости, так и из-за сложности выявления влияния конкретных факторов на изотопный состав организма. Тем не менее, полученные результаты [6–10 и др.] доказывают необходимость дальнейших исследований в этой области.

Наибольшее число работ по изотопному анализу моллюсков приходится на область палеоэкологии, в первую очередь, для выявления колебаний температурного режима в четвертичном периоде по изменению концентраций стабильного изотопа кислорода в карбонатах раковин. Наиболее часто этот метод применяется к субфоссильным и современным двустворчатым моллюскам [11, 12]. Единичные работы посвящены определению индивидуального возраста гастропод [13–15]. Исследование рациона современных брюхоногих моллюсков по содержанию стабильных изотопов углерода и азота в мягких тканях проводилось, в основном, для растительноядных видов (наземных – [2], и пресноводных – [16]). Морские брюхоногие моллюски, по сравнению с двустворчатыми, гораздо более подвижны и способны в течение жизни совершать вертикальные миграции. Кроме того, рапана, питаясь несколькими видами двустворок, способна изменять свои пищевые предпочтения в течение жизни. Все это необходимо учитывать при интерпретации результатов.

В настоящей работе мы приводим предварительные результаты анализа стабильных изотопов углерода и азота в органическом веществе раковин и крышечки черноморских двустворок *Chamelea gallina* и рапаны *Rapana venosa* и строим предположения относительно экологических факторов, вызывающих изменения в концентрации изотопов.

Материал и методы исследований

Для анализа использовались прижизненно собранные венерки из 5 географических точек российского и украинского секторов Черного моря: в районе г. Анапа на станциях 5 м, 7 и 10 м, с Донузлавской косы (морская сторона) на глубине 5-8 м (Крым) и на мысе Тарханкут на глубине 17-20 м (Крым). Сбор живых двустворок проводился вместе с грунтом с площади $0,25 \text{ м}^2$ при помощи легководолазного снаряжения. Грунт просеивали через сито с ячейками $5 \times 5 \text{ мм}$, сортировали оставшихся двустворок и отбирали венерок. Створки венерок очищали от мяса, обсушивали; для приготовления одного образца отбирали по 25-30 г чистых створок. Живые рапаны были собраны в районе Анапы на глубинах 5 и 10 м, на косе Тузла с глубины 2-3 м и в Орленке с глубины 1-2 м. Раковины также очищали от мягкого тела и обрастаний. Образцы ракуши были собраны из 6 географических точек: в районе Анапы (пансионат «Солнечный берег»), в устье р. Анапка, в районе

косы Тузла, пос. Витязево, с Донузлавской косы (морская сторона) и из Азовского моря в окрестностях с. Кучугуры.

Химическая обработка образцов и выделение белка для анализа проводились по модифицированной методике [3, 17]. Для получения одного образца мы помещали целую раковину в 1М HCl до полного растворения карбоната, осадок переносили в пластиковую пробирку (объемом 50 мл), центрифугировали, отмывали от кислоты дистиллированной H₂O, заливали HCl (pH 2,5) до 25 мл и помещали в термостат при 85°C на сутки. Затем аккуратно сливали жидкость с растворенным белком в стеклянные пробирки и помещали в термостат до полного высыхания. Крышечку рапаны предварительно разрезали по зонам роста на три разновозрастные части; каждую готовили для анализа отдельно. Средний вес навески сухого белка составил 500 мкг. Анализ проводили на масс-спектрометре Thermo Finnigan Delta-VPlus (ИПЭЭ РАН, Москва).

Результаты исследований и их обсуждение

В предыдущих работах установлено, что динамика изотопной подписи углерода морских организмов может отражать изменение глубины обитания [7], а азота и углерода – изменение пищевых предпочтений [1, 4, 16]. Мы обнаружили следующие закономерности между изотопным составом белка раковин черноморских моллюсков и их местообитанием.

Chamelea gallina. При изотопном анализе венерок обнаружено уменьшение содержания более «легкого» изотопа углерода ¹³C в белке раковины с глубиной обитания (табл.). Так, у венерок, обитающих на 5 м, значение $\delta^{13}\text{C}$ составило -19,55‰; на 7 м – -20,13‰; на 10 м – -20,29‰; на 17-20 м – -20,75‰. В органическом веществе ракуши, собранной в районе Анапы и в устье р. Анапка, содержание $\delta^{13}\text{C}$ составило -18,44 и -18,53‰, соответственно. Следует отметить, что, по данным Косьян с соавт. [18], доля карбонатов в песках анапских пляжей, достигает 50%, а их главный поставщик – сообщество *Chamelea gallina* прибрежной зоны. Это позволяет предположить, что пополнение биогенной составляющей пляжных наносов в районе Анапской пересыпи, пос. Витязево и косы Тузла происходит преимущественно за счет двустворчатых моллюсков, обитающих на глубине 4-5 м. В органическом веществе раковин, собранных на Донузлавской косе, значение $\delta^{13}\text{C}$ составило -19,67‰. Скорее всего, здесь основная роль в пополнении биогенной составляющей пляжных наносов принадлежит двустворкам, обитающим несколько глубже – на глубине 5-6 м.

Таблица

Содержание стабильных изотопов углерода и азота в органическом веществе раковин моллюсков из разных биотопов и в ракуши

Объект	Место сбора	Прижизненно собранные		Ракуша	
		$\delta^{13}\text{C}$ ‰vpdb	$\delta^{15}\text{N}$ ‰air	$\delta^{13}\text{C}$ ‰vpdb	$\delta^{15}\text{N}$ ‰air
Венерки <i>Chamelea gallina</i>	1. Анапа:				
	5м	-19,55	5,95	-	-
	7м	-20,13	5,34	-	-
	10м	-20,29	9,52	-	-
	Солнечный берег	-	-	-18,44	5,62
	Устье р. Анапки	-	-	-18,53	4,94
	2. Донузлав:				
	Морская сторона песчаной косы – пляж	-	-	-19,67	5,00
	Морская сторона песчаной косы – 5-8м	-19,49	5,26	-	-
	3. Гарханкут – 17-20м	-20,75	5,82	-	-

	4. Витязево	-	-	-19,08	6,34
	5. Тузла	-	-	-18,83	9,93
	6. Азовское море в окрестностях с. Кучугуры	-	-	-19,10	11,53
Рапаны <i>Rapana venosa</i>	1. Анапа:				
	5м	-15,11	7,12	-	-
	10м	-17,94	7,62	-	-
	Солнечный берег	-	-	-20,5	6,79
	2. Тузла 2-3м	-16,26	12,32	-	-
	3. Орленок (часть крышечки, соотв. ювенильному моллюску)	-19,32	5,48	-	-
	Орленок (средняя часть крышечки)	-19,34	5,27	-	-
Орленок (часть крышечки, соотв. взрослому моллюску)	-18,71	5,91	-	-	

В целом содержание $\delta^{15}\text{N}$ в белках раковин прижизненно собранных венерок и ракуши не сильно отличается. Исключение из этого составляют ракуш с косы Тузла (9,93‰) и ракуша из Азовского моря в окрестностях с. Кучугуры, где зафиксировано самое высокое содержание $\delta^{15}\text{N}$ - 11,53‰. Мы предполагаем, что это связано с привнесом органики пресными водами, за счет которого происходит обогащение вод ^{15}N . Также высокое содержание $\delta^{15}\text{N}$ обнаружено в белках раковин прижизненно собранных венерок с 10 м в районе Анапы. Но эти данные нуждаются в дополнительной проверке.

***Rapana venosa*.** Согласно результатам изотопного анализа крышечки, существует разница в содержании $\delta^{13}\text{C}$ в разных зонах прироста. Так, в более старой зоне, соответствующей ювенильному возрасту моллюска, содержание $\delta^{13}\text{C}$ меньше, чем в молодой зоне, соответствующей более старому моллюску, -19,32‰ и -18,71‰, соответственно (табл.). Это может свидетельствовать о том, что ювенильные особи обитают на большей глубине, чем взрослые. Косвенное указание на эту возможность дают и результаты анализа содержания стабильного изотопа кислорода: в самых верхних оборотах раковины, синтезированных в первые 1-2 года жизни, содержание $\delta^{18}\text{O}$ не изменяется по сезонам, что говорит о пребывании молодых моллюсков в малоизменчивых температурных условиях, которые существуют уже на глубине 30 м [13].

При изотопном анализе раковин анапских рапан также обнаружено уменьшение содержания более «легкого» изотопа углерода ^{13}C в белке раковины с глубинами обитания – -15,11‰ на 5 и -17,94‰ на 10 м (табл.). Раковина рапаны из ракуши содержит наименьшее количество углерода; возможно, ее вынесло на берег с большой глубины (более 10 м). Раковина с косы Тузла добыта на глубине 2-3 м, но содержание $\delta^{13}\text{C}$ соответствует глубине 5-6 м; возможно, на мелководье особь мигрировала недавно. По содержанию $\delta^{15}\text{N}$ она сильно отличается от анапского материала, что может указывать на питание другим пищевым объектом (на косе Тузла обнаружено много двустворок *Anadara sp.*) и/или привнос органики из Азовского моря. В пользу последнего предположения свидетельствуют еще и результаты анализа стабильных изотопов азота венерок из Азовского моря и косы Тузла.

1. DeNiro M. J. Postmortem preservation and alteration of *in vivo* bone collagen isotope ratios in relation to palaeodietary reconstruction / M. J. DeNiro // Nature – 1985. – № 317. – P. 806–809.
2. Goodfriend G. L. The use of land snail shells in paleoenvironmental reconstruction / G. L. Goodfriend // Quaternary Science Reviews. – 1992. № 11. – P. 665–685.
3. Goodfriend G. A. Stable carbon isotope record of middle to late Holocene climate changes from land snail shells at Hinds Cave, Texas. / G. A. Goodfriend, G. L. Ellis// Quaternary International. – 2000. № 67. – P. 47–60.
4. Schöninger M. J. Bone Stable Isotope Studies in Archaeology. / M. J. Schöninger, K. Moore // Journal of World Prehistory. – 1992. № 6(2). – P. 247–296.
5. Lee-Thorp J. A. Stable Carbon Isotope Ratio Differences Between Bone Collagen and Bone Apatite, and their Relationship to Diet. / J. A. Lee-Thorp, J. C. Sealy, N. J. van de Merwe // Journal of Archaeological Science. – 1989. № 16. – P. 585–599.
6. DeNiro M. J. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals / M. J. DeNiro, S. Epstein // Geochimica et Cosmochimica Acta. – 1981. № 45. – P. 341–351.
7. France R. L. Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: foodweb implications. / R. L. France // Marine Ecology Progress Series. – 1995. № 124. – P. 307–312.
8. Goodfriend G. L. Stable isotope composition of land snail body water and its relation to environmental waters and shell carbonate. / G. L. Goodfriend, M. Magaritz, J. R. Gat // Geochimica et Cosmochimica Acta. – 1989. № 53. – P. 3215–3221.
9. Goodfriend G. A. Stable carbon and oxygen isotopic variations in modern *Rabdotus* land snail shells in the southern Great Plains, USA, and their relation to environment. / G. A. Goodfriend, G. L. Ellis // Geochimica et Cosmochimica Acta. – 2002. № 66(11). – P. 1987–2002.
10. Thornton S. F. Application of organic carbon and nitrogen stable isotope and C/N ratios as source indicators of organic matter provenance in estuarine systems: evidence from the Tay estuary, Scotland. / S. F. Thornton, J. McManus // Estuarine, Coastal and Shelf Science. – 1994. № 38. – P. 219–233.
11. Золотарев В. Н. Склерохронология морских двустворчатых моллюсков. / В. Н. Золотарев. – К.: Наукова думка, 1989. – 112 с.
12. Kirby M. X. Stable isotope sclerochronology of Pleistocene and Recent oyster shells (*Crassostrea virginica*) / M. X. Kirby, T. M. Soniat, H. J. Spero // Palaios. – 1998. № 13. – P. 560–569.
13. Косьян А. Р. Определение индивидуального возраста *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) по динамике $\delta^{18}\text{O}$ в карбонатах раковины. / А. Р. Косьян, Ж. А. Антипушина // Океанология. – 2011. № 51(6). – P. 1–8.
14. Richardson C. A. Evaluation of the age of the red whelk *Neptunea antiqua* using statoliths, opercula and element ratios in the shell / C. A. Richardson, C. Saurela, C. M. Barroso, J. Thain // J. of Exp. Mar. Biol. and Ecol. – 2005. № 325(1). – P. 55–64.
15. Combined sclerochronologic and oxygen isotope analysis of gastropod shells (*Gibbula cineraria*, North Sea): life-history traits and utility as a high-resolution environmental archive for kelp forests / [B. R. Schöne, D. L. Rodland, A. Wehrmann et al.] // Marine Biology. – 2007. № 150(6). – P. 1237–1252.
16. Michel E. Phylogeny of a Gastropod Species Flock: Exploring Speciation in Lake Tanganyika in a Molecular Framework. In: *Advances in Ecological Research 31 Biology of Ancient Lakes Biodiversity, Ecology and Evolution* (A. Rossiter & H. Kawanabe, eds.) / E. Michel // Academic Press, London. – 2000. – P. 275–302.
17. Longin R. New method of collagen extraction for radiocarbon dating / R. Longin // Nature. – 1971. № 230(3). – P. 241–242.
18. Косьян А. Р. Роль раковинных моллюсков в балансе осадков Анапской пересыпи / А. Р. Косьян, Н. В. Кучерук, М. В. Флинт // Океанология, 2012 – Т 52, №1 (в печати).

Ж. А. Антипушина, А. Р. Косьян

Институт проблем экологии и эволюции имени О. М. Северцова РАН, Россия

ПОПЕРЕДНІ РЕЗУЛЬТАТИ АНАЛІЗУ СТАБІЛЬНИХ ІЗОТОПІВ КАРБОНУ І АЗОТУ В ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИНАХ ЧЕРЕПАШКИ ЧОРНОМОРСЬКИХ МОЛЮСКІВ

НАУКОВІ ЗАПИСКИ ТЕРНОПІЛЬСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО ПЕДАГОГІЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА. Серія :Біологія. – 2012. – №2(51). – С.17-21.

У роботі наводяться попередні результати аналізу стабільних ізотопів вуглецю і азоту в органічній речовині черепашок і кришечки чорноморських двостулок *Chamelea gallina* і рапани *Rapana venosa*. Ізотопний аналіз черепашок венерок і рапани виявляє зменшення вмісту більш «легкого» ізотопу вуглецю ^{13}C в білку черепашки з глибиною проживання. Найвищий вміст $\delta^{15}\text{N}$ зафіксовано в черепашках з коси Тузла і берегів Азовського моря, що ймовірно пов'язано з принесенням органіки прісними водами. За результатами аналізу кришечки рапани виявлена різниця у вмісті $\delta^{13}\text{C}$ в різних зонах приросту, що вказує на те, що ювенільні особини мешкали на більшій глибині, ніж дорослі.

Ключові слова: стабільні ізотопи, вуглець, азот, Rapana venosa, Chamelea gallina, ракуша, екологія, Чорне море

Zh. A. Antipushina, A. R. Kosyan

A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russia

PRELIMINARY RESULTS OF CARBON AND NITROGEN STABLE ISOTOP ANALYSIS OF THE SHELL ORGANIC MATTER OF THE BLACK SEA MOLLUSKS

Preliminary results of carbon and nitrogen stable isotope analysis of the shell organic matter and operculum of the Black Sea mollusks *Chamelea gallina* and *Rapana venosa* are given. Isotopic analysis displays decreasing of lighter ^{13}C content in the shell protein with depth. The highest content of $\delta^{15}\text{N}$ is found in the shells from Tuzla spit and the Sea of Azov coast, that is probably caused by infusion of organic material with the fresh waters. As to operculum analysis, there is a difference in $\delta^{13}\text{C}$ content between older and younger sections of the rapana operculum, revealing deeper habitation of juvenile whelks in comparison with mature ones.

Key words: stable isotopes, carbon, nitrogen, Rapana venosa, Chamelea gallina, shell material, ecology, Black Sea