

Stable carbon and nitrogen isotopes in shells organic matrix of alien mollusk *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758) from the Novosibirsk reservoir

L. V. Yanygina

D.D. Volgina

Institute for Water and Environmental Problems, Siberian Branch Russian Academy of Science, Altai State University
Institute for Water and Environmental Problems, Siberian Branch Russian Academy of Science

Analysis of stable carbon and nitrogen isotopes is widely used in environmental studies for exploring the structure of trophic networks, assess the role of various resources in the nutrition of individual specimens and determine the trophic level of consumers. The shell grows steadily over the lifetime of the mollusc and reflects the nutritional characteristics of individuals at different ages. Stable carbon and nitrogen isotopes in shells of alien mollusks *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758) collected in the Novosibirsk reservoir were examined in this study. Statistically significant differences in isotopic composition of shell fragments corresponding to annual growth in different years were noted. The assumption was made about significant role of interannual differences in trophic conditions of the reservoir in the formation of the isotopic signature of mollusk shells. The results of this work can be used in environmental and paleolimnological studies of mollusk nutrition, in the reconstruction of long-term changes in the ecological conditions of water bodies.

Л. В. Яныгина^{1,2}, Д. Д. Волгина¹

¹ ФГБУН Институт водных и экологических проблем СО РАН, Барнаул, Россия

² Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия

E-mail: yan_lv@mail.ru, zoo@iwer.ru

Ключевые слова: стабильные изотопы углерода, стабильные изотопы азота, *Viviparus viviparus*, речная живородка, Новосибирское водохранилище, раковины моллюсков

Введение

Разработка методов анализа стабильных изотопов (SIA) стала одним из главных методических достижений экологии второй половины XX века (Туннов 2007) и с тех пор широко используется в различных областях знаний. Например, соотношение $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ подземных и поверхностных вод отражает геологический и минералогический состав пластов в водосборных бассейнах и зонах подпитки (Jørgensen and Vanoenng-Yakubo 2001); соотношение изотопов $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде служит для оценки доли различных источников в питании рек (Dutton et al. 2005); различия в соотношениях изотопов ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ и D/H) в сочетании с метеорологическими наблюдениями могут использоваться для отслеживания круговорота воды, а также для характеристики и идентификации источников конденсированной воды, оценки годового прироста слоев льда (Jeffries et al. 1989; Christner et al. 2016). В настоящее время стабильные изотопы кислорода и водорода стали наиболее часто используемыми индикаторами для мониторинга

гидрологических циклов и водного баланса (Qian et al. 2014).

Особенности распределения стабильных изотопов различных элементов в неорганических веществах переносятся на живые организмы и могут быть использованы для отслеживания их миграций (Gladyshev 2009). В этой связи особый интерес представляет изучение долгоживущих организмов, исследование которых позволяет оценить особенности изменений стабильных изотопов за длительный период времени. Моллюски относятся к числу наиболее длительно живущих в пресноводных экосистемах беспозвоночных. Кроме того, они имеют твердую раковину, растущую в течение всей жизни моллюска и способную длительное время сохраняться после гибели животного. Благодаря этим особенностям раковины моллюсков стали популярными объектами палеолимнологических исследований.

Сохранение раковин моллюсков в ископаемом состоянии делает возможным их использование в решении многих проблем эволюции и палеоэкологии (Zaiko 2004). Исследования изотопного состава кислорода и углерода карбонатных скелетов ископаемых беспозвоночных служат для реконструкции условий водной палеосреды, применяются для палеоклиматических, палеоокеанологических и климатостратиграфических построений (Kiyashko 1984; Varol 2004; Antipushina et al. 2014).

Наибольшее распространение в водной экологии получило исследование стабильных изотопов углерода и азота. В современных водных экосистемах анализ стабильных изотопов обычно используется для изучения структуры трофических сетей, в том числе для оценки относительной роли в них автохтонных и аллохтонных органических веществ (Gladyshev 2009). Изменение содержания различных изотопов углерода и азота в тканях потребителей в первую очередь обусловлено особенностями фотосинтеза растительных организмов, лежащих в основе пищевых сетей, и трофическим уровнем потребителей, соответственно, и, таким образом, отражает сочетание среды обитания и использования ресурсов (Rader et al. 2016). Анализ доли тяжелых изотопов азота ^{15}N в органическом веществе раковин используется не только для определения трофического уровня вида, но и для оценки антропогенных воздействий на водную экосистему (Versteegh et al. 2011).

Несмотря на длинную историю применения метода стабильных изотопов для анализа трофических сетей, как в наземных, так и водных экосистемах, их использование при исследованиях инвазий чужеродных видов пока очень ограничено. Анализ стабильных изотопов может быть полезен для изучения трофических ниш чужеродных видов в водоемах-реципиентах, выявления возможных трофических конкурентных отношений вселенцев с аборигенными видами.

Особый интерес представляют исследования раковин чужеродных моллюсков, послынный анализ которых отражает особенности питания (включая сезонные изменения) на протяжении всей жизни (Chauvaud et al. 2011). Однако низкая концентрация тяжелых изотопов в раковинах создает методические трудности их использования для оценки особенностей питания моллюсков. Кроме того, известно, что органические вещества составляют только около 3% веса раковины (Ishikawa et al. 2017), что создает дополнительные сложности в подготовке и выполнении анализа.

Речная живородка *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758) – один из наиболее многочисленных чужеродных видов макробеспозвоночных Новосибирского водохранилища. Живородка была преднамеренно интродуцирована в водохранилище в 1990-х годах и к настоящему времени заселила большую часть средней и нижней зоны водохранилища, а также участок р. Обь ниже водохранилища. Вселение речной живородки вызвало существенную трансформацию среды обитания макробеспозвоночных в водохранилище, что привело к перестройкам структуры донных сообществ и снижению их разнообразия (Yanygina 2019).

Для анализа возможности использования информации об изотопном составе органического

вещества раковин при исследованиях питания моллюсков нами были изучены особенности распределения стабильных изотопов углерода и азота в раковинах чужеродных моллюсков *V. viviparus*, собранных в Новосибирском водохранилище.

Материалы и методы исследований

Новосибирское водохранилище было построено на верхнем участке р. Обь (54°38'с.ш. 82°38'в.д.) в 1957г. Это водоем сезонного регулирования имеет протяженность около 200 км, площадь зеркала при нормальном подпорном уровне 1070 км², объем 8,8 км³, среднюю глубину 9 м (Long-term dynamics ..., 2014). В соответствии с классификацией водных объектов (ГОСТ 17.1.102-77) по площади поверхности Новосибирское водохранилище относится к очень большим водоемам, по объему – к большим.

Разновозрастные особи речной живородки *V. viviparus* были собраны 26 июля 2018г. на глубине 4 м в средней части Новосибирского водохранилища на створе в районе п. Ордынское – п. Нижнекаменка. Раковины были тщательно очищены, промыты дистиллированной водой и разрезаны по меткам зимней остановки роста на фрагменты, соответствующие годовичному приросту. Затем фрагменты раковин были высушены в течение 2 суток в термостате при температуре 55 °С и измельчены с использованием мельницы.

Для выделения органического вещества раковины были обработаны 1м HCl, промыты дистиллированной водой и высушены. Анализ стабильных изотопов органического матрикса раковины выполнен с использованием изотопного масс-спектрометра ThermoFinniganDelta V Plus в Центре коллективного пользования при ИПЭЭ РАН, г. Москва.

Результаты анализа изотопного состава раковин (δ , ‰) представлены в виде тысячных долей отклонения от международного стандарта, в качестве которого для углерода принят «венский» эквивалент белемнита PeeDee формации (VPDB), для азота – N₂ атмосферного воздуха:

$$\delta^{\text{E}} = [(R_{\text{проба}} - R_{\text{стандарт}})/R_{\text{стандарт}}] * 1000,$$

где ^E – более тяжелый изотоп (15N или 13C); R_{проба} – его относительное обилие в пробе (15N/14N или 13C/12C, соответственно), R_{стандарт} – относительное обилие этого изотопа в стандарте. Ошибка измерения $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ составляет менее 0,2‰.

Средние величины в работе приведены со стандартной ошибкой. Для оценки особенностей изотопного состава раковин живородок был выполнен дискриминантный анализ. В качестве дискриминирующих переменных использовали $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ и соотношение концентраций углерода и азота (C/N) в органическом веществе раковин. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

Изотопный состав исследованных раковин *V. viviparus* изменялся в широких пределах: $\delta^{13}\text{C}$ варьировали от -28,35‰ до -31,58‰ (коэффициент вариации 3,8%), $\delta^{15}\text{N}$ – от 5,58‰ до 7,73‰ (коэффициент вариации 9,6%), что в целом характерно для многих видов брюхоногих моллюсков. Так, у представителей сем. *Valvatidae* оз. Байкал внутривидовые различия $\delta^{13}\text{C}$ достигали 3,4 ‰ (Sitnikova et al. 2011); у *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) – 12,1‰, в то время как у *Gammarus lacustris* (Sars, 1863) из этого же водоема – 0,2‰, у *Chironomus plumosus* (Linnaeus, 1758) – 1,1‰ (Doi et al. 2012). В озере Ледница (Западная Польша) амплитуда $\delta^{13}\text{C}$ для 8 представителей брюхоногих составила 3,4 ‰ (Apolinarska and Pelechaty 2017). Различия $\delta^{15}\text{N}$ у *L. stagnalis* в оз. Байкал достигали 7,4‰ (Doi et al. 2012).

Дискриминантный анализ показал статистически значимые различия изотопного состава раковин у живородок разного возраста (Лямбда Уилкса $\lambda=0,45$; $F=2,45$; $P<0,048$). При этом на диаграмме рассеяния канонических значений выделяются 2 группы, соответствующие моллюскам третьего (2+) и четвертого (3+) года жизни (Рис. 1). Раковины молодых моллюсков (0+) отдельной группы не образовали. Литературные сведения о возможных онтогенетических изменениях изотопного состава раковин противоречивы.

Ряд исследований, выполненных на двустворчатых моллюсках, показал, что изменения $\delta^{13}C$ в раковинах не проявляли статистически значимых различий у особей разного возраста (Aharon 1991; Elliot et al. 2009; Yamanashi et al. 2016). В то же время у многих как морских, так и пресноводных моллюсков было обнаружено отчетливое снижение $\delta^{13}C$ в течение жизни (McConnaughey and Gillikin 2008; Lartaud et al. 2011; Chauvaud et al. 2011). Снижение доли тяжелых изотопов углерода с возрастом может быть связано с увеличением количества доступного метаболического углерода по мере роста раковины. Быстрорастущие особи младшего возраста активнее включают в свое тело новые питательные вещества, чем медленнее растущие взрослые моллюски, в связи с этим изотопные различия между особями разных возрастов могут быть связаны с различиями скорости оборота питательных веществ (Casey et al. 2016).

Кроме того, на различных этапах жизни и в зависимости от наличия доступных трофических ресурсов моллюски могут переключаться на разные источники пищи, что также отражается на изотопных подписях. Так для некоторых моллюсков показано, что по мере увеличения размера тела они изменяют свои пищевые предпочтения в пользу более крупной добычи (Clements and Rawlings 2014). Кратковременное онтогенетическое снижение $\delta^{13}C$ может быть также приурочено к периодам высокой репродуктивной активности моллюсков (Lartaud et al. 2010). Изменение характера питания моллюсков и, соответственно их изотопной подписи, может быть вызвано паразитарными инвазиями, интенсивность которых с возрастом увеличивается (Michel 2007; Pavluchenko and Yermoshyna 2017).

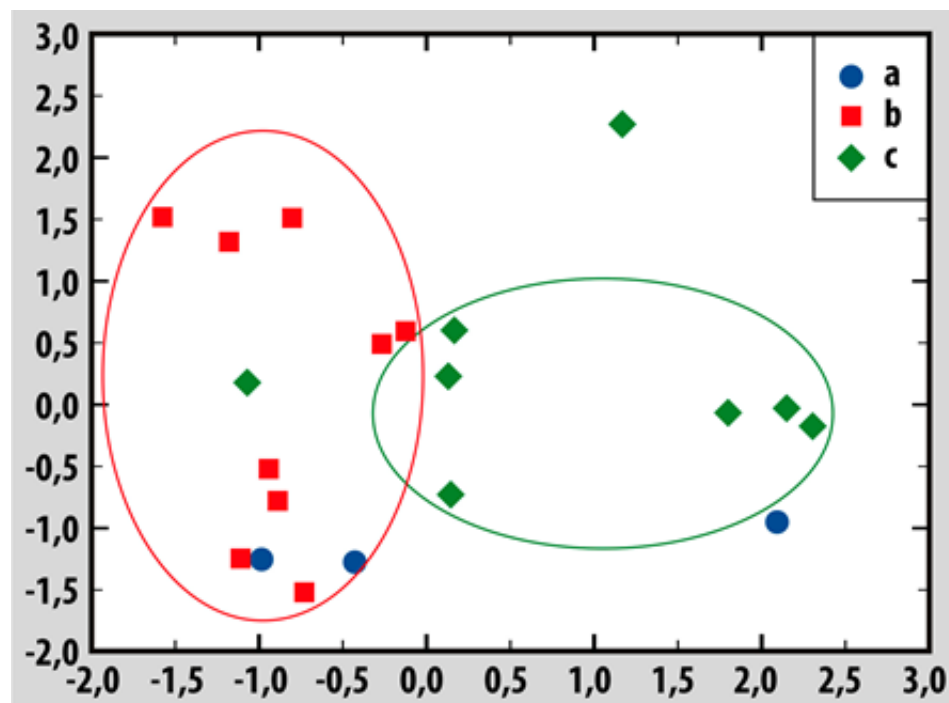


Figure 1. Дискриминантный анализ различий изотопного состава раковин *V. viviparus* разного возраста (a – возраст 0+, b – возраст 2+ и c – возраст 3+) Discriminant analysis of differences in the isotopic composition *V. viviparus* shells of different ages

Различия изотопного состава органического матрикса проявились не только при сравнении

раковин моллюсков разного возраста, но и при сравнительном анализе участков раковин разных лет прироста. Дискриминантный анализ показал, что участки раковин разновозрастных моллюсков, относящиеся к приросту 2018 г. (дистальная часть последнего оборота) статистически значимо отличались от прироста 2016 г. (Лямбда Уилкса $\lambda=0,37$; $F=3,17$; $P<0,016$) (Рис.2). Подобная изменчивость изотопного состава раковин у таких долгоживущих организмов, как моллюски, может быть связана с сезонными и межгодовыми изменениями продуктивности фитопланктона и состава доступного детрита, служащих основным источником пищи для моллюсков. Новосибирское водохранилище характеризуется сравнительно высокой проточностью (коэффициент внешнего водообмена в многоводные годы достигает 9,58 (Long-term dynamics ..., 2014)), что может приводить к изменениям количества фитопланктона и состава детрита, аккумулированного в донных отложениях. Все это создает динамичные трофические условия обитания моллюсков и может служить одной из причин существенных различий изотопного состава раковин у разновозрастных живородок Новосибирского водохранилища.

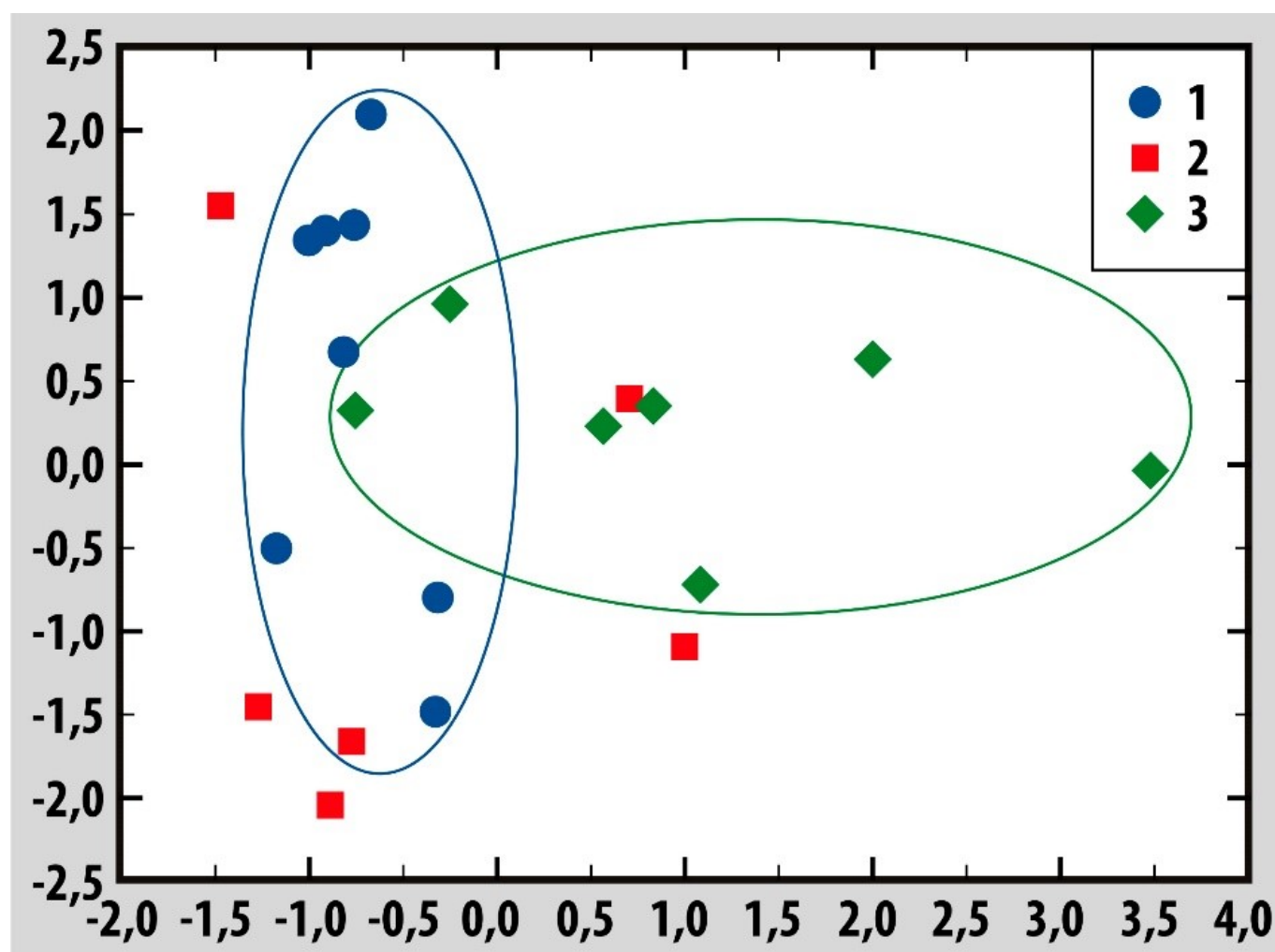


Figure 2. Дискриминантный анализ различий изотопного состава фрагментов раковин, соответствующих годовичному приросту разных лет (1 - прирост 2018 г., 2 - прирост 2017 г. и 3 - прирост 2016 г.) Discriminant analysis of differences in the isotopic composition of shell fragments corresponding to the annual growth in different years (1 - amount of growth in 2018, 2 - amount of growth in 2017 and 3 - amount of growth in 2016)

Выводы

Содержание различных изотопов углерода и азота в раковинах речной живородки Новосибирского водохранилища широко варьирует: амплитуда $\delta^{13}\text{C}$ достигает 3,23‰, $\delta^{15}\text{N}$ -

2,15‰. В различиях изотопного состава раковин *V. viviparus* прослеживается онтогенетический сигнал, что, возможно, связано с изменением метаболической и репродуктивной активности по мере роста моллюсков. Отмеченные различия изотопной подписи фрагментов раковин, относящихся к приросту разных лет, могут свидетельствовать о существенных межгодовых различиях трофических условий в водохранилище. В целом изотопный состав раковин является хорошим индикатором изменчивости трофических условий в водоеме и может быть использован в дальнейших исследованиях реализованной трофической ниши моллюсков, а также при реконструкции долговременных изменений экологических условий водоемов.

Работа выполнена в рамках бюджетного проекта ИВЭП СО РАН при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант №18-04-01001).

References

Aharon P. 1991. Recorders of reef environmental histories: stable isotopes in corals, giant clams, and calcareous algae. *Coral Reefs* 10: 71-90. Doi: 10.1007/BF00571826

Antipushina ZhA, Leonova EV, Tiunov AV. 2014. Analysis of stable carbon and nitrogen isotopes in the shells of terrestrial gastropod mollusks from the Mesolithic layers of the Double cave in the North-Western Caucasus. *Brief Communications of the Institute of Archeology* 234: 287-298.

Apolinarska K, Pełechaty M. 2017. Inter- and intra-specific variability in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values of freshwater gastropod shells from Lake Lednica, western Poland. *Acta Geologica Polonica* 67(3): 441-458. Doi: 10.1515/agp-2016-0028

Casey ST, Cohen MJ, Acharya S, Kaplan DA, Jawitz JW. 2016. Hydrologic controls on aperiodic spatial organization of the ridge-slough patterned landscape. *Hydrology and Earth System Sciences* 20: 4457-4467. Doi: 10.5194/hess-20-4457-2016

Chauvaud L, Thébaud J, Clavier J et al. 2011. What's Hiding Behind Ontogenetic $\delta^{13}\text{C}$ Variations in Mollusk Shells? New Insights from the Great Scallop (*Pectenmaximus*). *Estuaries and Coasts* 34: 211-220. Doi: 10.1007/s12237-010-9267-4

Clements JC, Rawlings TA. 2014. Ontogenetic Shifts in the Predatory Habits of the Northern Moonshell (*Lunatia heros*) on the Northwestern Atlantic Coast. Doi: 10.2983/035.033.0310

Doi H, Yurlova NI, Kikuchi E et al. 2010. Stable isotopes indicate individual level trophic diversity in the freshwater gastropod *Lymnaea stagnalis*. *Journal of Molluscan Studies* 76(4): 384-388. Doi: 10.1093/mollus/eyq020

Dutton A, Wilkinson BH, Welker JM, Bowen GJ, Lohmann KC. 2005. Spatial distribution and seasonal variation in $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ of modern precipitation and river water across the conterminous USA. *Hydrological Processes* 19: 4121-4146. Doi: 10.1002/hyp.5876

Elliot M, Welsh K, Chilcott C, McCulloch M, Chappell J, Ayling B. 2009. Profiles of trace elements and stable isotopes derived from giant long-lived *Tridacna gigas* bivalves: potential applications in paleoclimate studies. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 280(1-2): 132-142. Doi: 10.1016/j.palaeo.2009.06.007

Gladyshev MI. 2009. Stable Isotope Analyses in Aquatic Ecology (a review). *Journal of Siberian Federal University, Biology* 4: 381-402. Doi: 10.17516/1997-1389-0220

Ishikawa R, Bueno JT, Uitenbroek H et al. 2017. Indication of the Hanle Effect by Comparing the

Scattering Polarization Observed by CLASP in the Ly α and Si III 120.65 nm Lines. The Astrophysical Journal 841(1). Doi: 10.3847/1538-4357/aa6ca9

Jeffries MO, Krouse HR, Sckinger WM, Serson HV. 1989. Stable-isotope ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) tracing of fresh, brackish, and sea ice in multi-year land-fast sea ice, Ellesmere Island, Canada. Journal of Glaciology 35(119): 9-16. Doi: 10.3189/002214389793701473

Jørgensen NO, Banoeng-Yakubo BK. 2001. Environmental isotopes (^{18}O , ^2H , and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) as a tool in groundwater investigations in the Keta Basin, Ghana. Hydrogeology Journal 9: 190-201. Doi: 10.1007/s100400000122

Qian H, Wu J, Zhou Y, Li P. 2014. Stable oxygen and hydrogen isotopes as indicators of lake water recharge and evaporation in the lakes of the Yinchuan Plain. Hydrological Processes 28(10): 3554-3562. Doi: 10.1002/hyp.9915

Kiyashko SI. Isotopic composition of oxygen and carbon of carbonate skeletons of modern and fossil mollusks (its biological and paleo-oceanological significance): Abstract of cand. geol.-min. sci. diss. M.: PIN AN USSR.

Lartaud F, Emmanuel L, de Rafelis M, Pouvreau S, Renard M. 2010. Influence of food supply on the $\delta^{13}\text{C}$ signature of mollusk shells: implications for palaeoenvironmental reconstitutions. Geo-Marine Letters 30: 23-34. Doi: 10.1007/s00367-009-0148-4

Long-term dynamics of the water-ecological regime of the Novosibirsk reservoir. 2014. Novosibirsk, Russia: Publishing House of the Siberian Branch Russian Academy of Science (in Russian).

McConnaughey TA, Gillikin DP. 2008. Carbon isotopes in mollusk shell carbonates. Geo-Marine Letters 28: 287-299. Doi: 10.1007/s00367-008-0116-4

Michel E, McIntyre PB, Chan J. 2007. A snail's space sets a snail's pace: movement rates of *Lavigeria* gastropods in Lake Tanganyika, East Africa. Journal of Molluscan Studies 73(2): 195-198. Doi: 10.1093/mollus/eym013

Pavluchenko OV, Yermoshyna TV. 2017. Parasites of unionid molluscs (*Bivalvia*, Unionidae) and their effect on the body of molluscs. Regulatory Mechanisms in Biosystems 8(4): 482-488. Doi: 10.15421/021774

Rader JA, Newsome SD, Sabat P, Chesser RT, Dillon ME, del Rio CM. 2016. Isotopic niches support the resource breadth hypothesis. Journal of Animal Ecology 86(2). Doi: 10.1111/1365-2656.12629

Sitnikova T, Kiyashko SI, Maximova N, Pomazkina GV, Roepstorf P, Wada E, Michel E. 2011. Resource partitioning in endemic species of Baikal gastropods indicated by gut contents, stable isotopes and radular morphology. Hydrobiologia 682: 75-90. Doi: 10.1007/s10750-011-0685-5

Tiunov AV. 2007. Stable isotopes of carbon and nitrogen in soil ecological studies. Izvestiya Akademii Nauk, Seriya Biologicheskay 4: 475-489. Doi: 10.1134/S1062359007040127.

Varol B. 2004. Stable Isotopes (d^{18}O , d^{13}C) of Mollusk Shells in Environmental Interpretations; An Example From Sinop Miocene Succession (Northern Turkey). Bulletin of the Mineral Research and Exploration 128: 49-60.

Versteegh EAA, Gillikin DP, Dehairs F. 2011. Analysis of d^{15}N values in mollusk shell organic matrix by elemental analysis/isotope ratio mass spectrometry without acidification. Rapid Communications in Mass Spectrometry 25(5): 75-680. Doi: 10.1002/rcm.4905

Yamanashi J, Takayanagi H, Isaji A, Asami R, Iryu Y. 2016. Carbon and Oxygen Isotope Records from Tridacnaderasa Shells: Toward Establishing a Reliable Proxy for Sea Surface Environments. PLoS ONE 11(6): e0157659. Doi: 10.1371/journal.pone.0157659

Yanygina LV. 2019. Community-level effects of a *Viviparus viviparus* L. (Gastropoda, Viviparidae) invasion in the Novosibirsk reservoir. Limnology. Doi: 10.1007/s10201-019-00580-4

Zaiko VA. 2004. Ecological patterns of biogeochemical reconstruction on the example of bivalves (dissertation]. Makhachkala.

Citation:

Yanygina LV, Volgina DD. 2019. Stable carbon and nitrogen isotopes in shells organic matrix of alien mollusk *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758) from the Novosibirsk reservoir. Acta Biologica Sibirica 5(4): 60-65.

Submitted: 22.10.2019. **Accepted:** 10.12.2019

<http://dx.doi.org/10.14258/abs.v5.i4.7054>

© 2019 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).