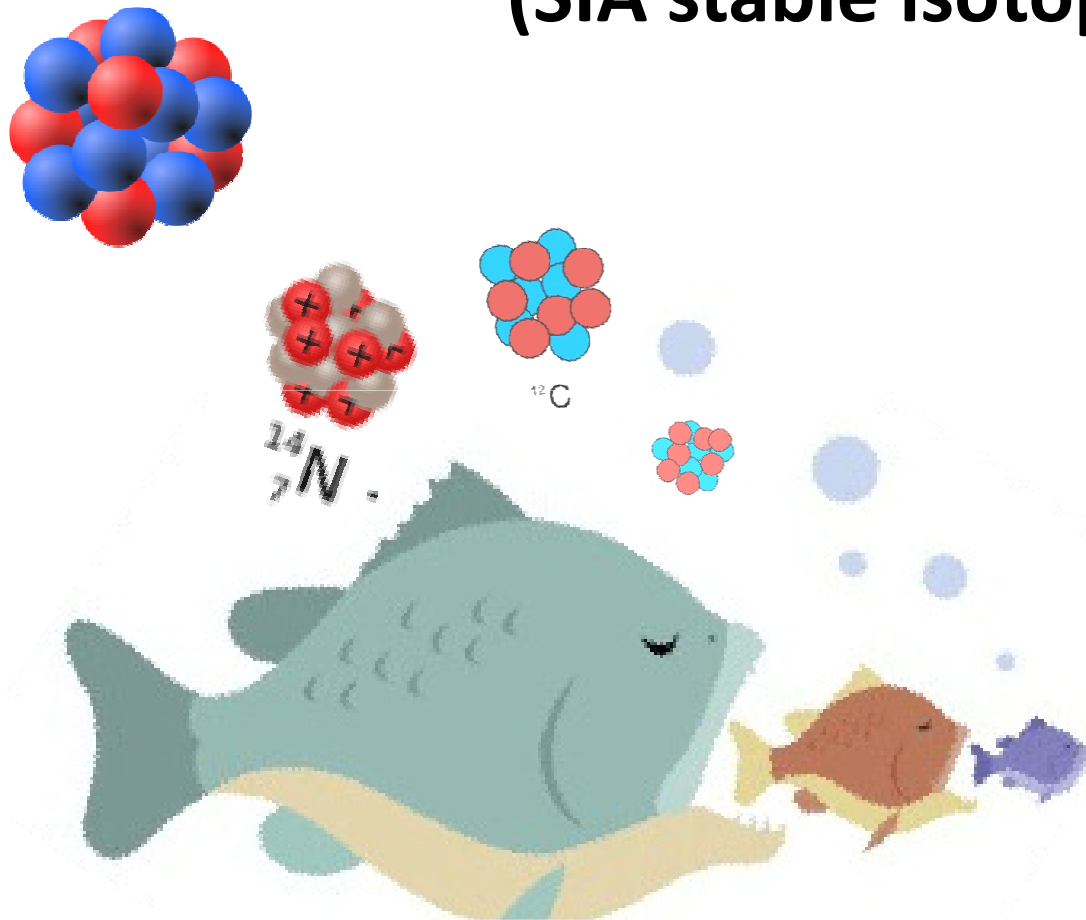


Изучение трофической структуры сообществ с помощью анализа стабильных изотопов (SIA stable isotope analysis)



Иван Яковлев

ivaniakovlev@gmail.com

лаб. поведенческой
экологии сообществ
ИСиЭЖ СО РАН

Трофические отношения в сообществах: понятия и проблемы

Сообщество (кого и с кем, а главное где, и насколько тесны их связи)

Трофический уровень – совокупность организмов, объединенных типом питания. Животные одного вида могут занимать несколько тр. уровней.

Трофическая структура – соотношение трофических уровней (пирамиды), состав и длина пищевых цепочек

Трофические сети – структура трофических связей (консорции); пастбищные (Р-Консм-Хищ1-Хищ2) и детритные (Д-Ред-Детф-Хищ1-Хищ2) сети питания.

Трофическая ниша – «профессия» животного в экосистеме

Ширина ниши – спектр и обилие пищевых объектов, их разнообразие

Особи



ВИДЫ

Семьи



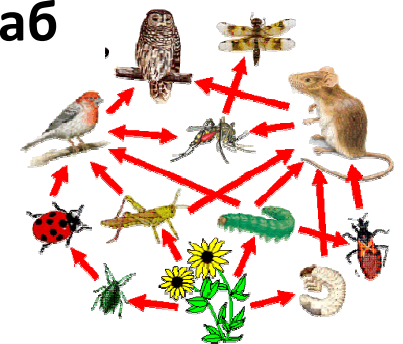
Экологические исследования

Популяции



СООБЩЕСТВА

- Терминология
- Масштаб
- Состав
- Связи



Аутэкология

Демэкология

Синэкология

1. Трофические связи на уровне сообществ

- Длина цепей питания, количество уровней
- Потоки энергии в детритных и пастбищных пищевых сетях
- Трофические каскады
- Обмен между наземными и водными экосистемами
- Механизмы поддержания разнообразия животных и трофическая дифференциация видов
- Всеядность (распространенность; сложно оценить статус)
- Широтные изменения в структуре трофических сетей
- Влияние инвазивных видов и антропогенной нагрузки

2. Трофические отношения отдельных видов

- Ширина и вариабельность трофической ниши
- Сезонные изменения в питании, миграции
- Индивидуальная трофическая специализация
- Симбиотические и паразитические организмы

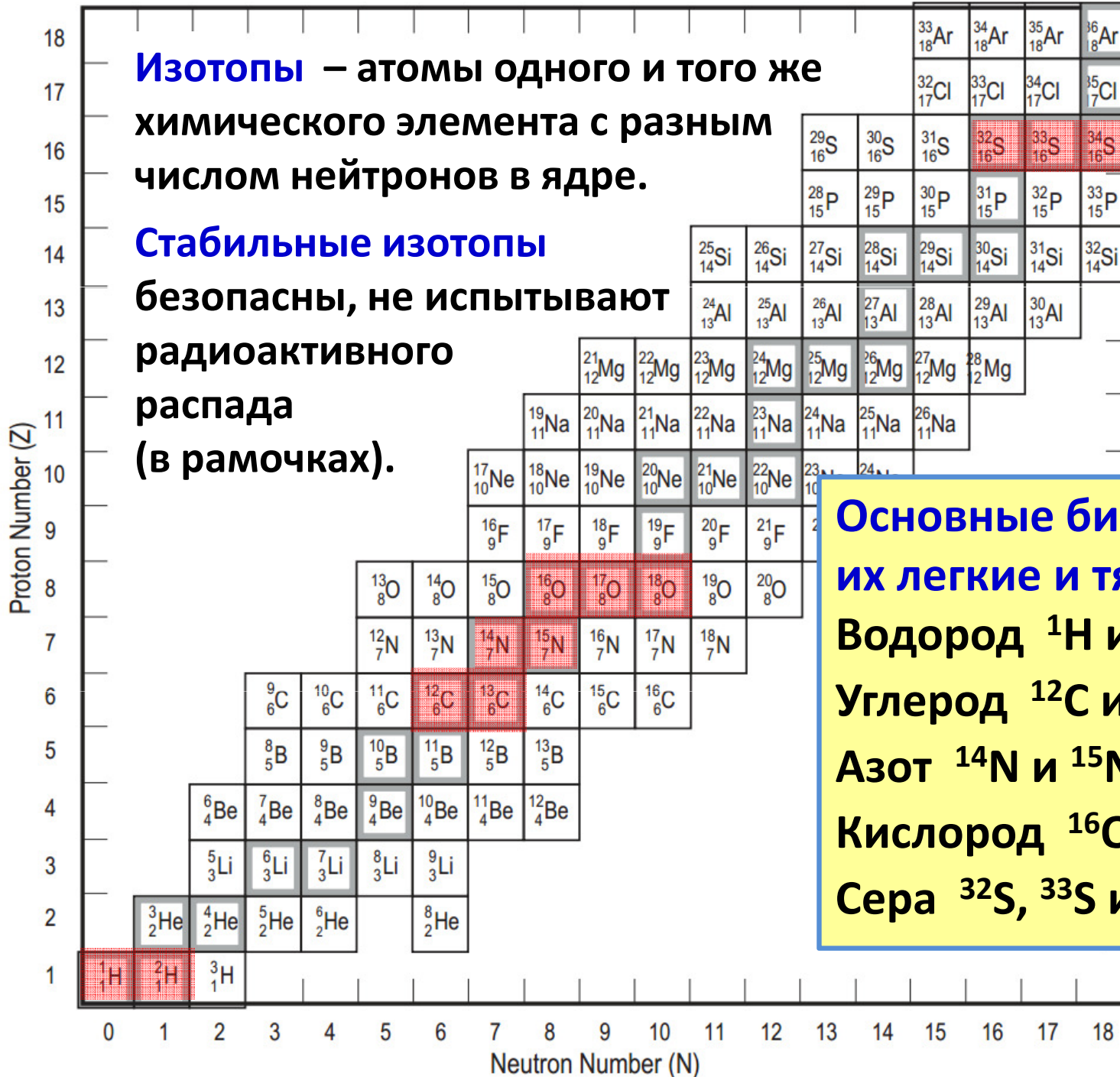


Трофическая сеть в Северной Атлантике, (в центре - треска:)

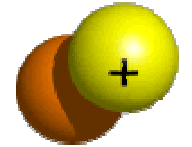
Методы исследования: классика и современность

1. Наблюдения в природе
2. Эксперименты (пищевые предпочтения, «кафетерий»)
3. Анализ содержимого кишечника (экскрементов)
4. Анализ морфологии ротового аппарата
5. Анализ спектра пищеварительных ферментов
6. Серологический анализ
7. Анализ кишечной микрофлоры
8. Молекулярные методы
9. Анализ профиля жирных кислот
10. Изотопные методы

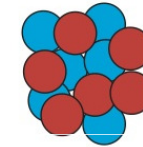
Стабильные изотопы



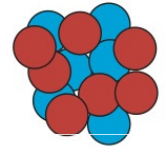
1 proton



1 proton
1 neutron



^{12}C
6 protons
6 neutrons
light



^{13}C
6 protons
7 neutrons
heavy

Встречаемость стабильных изотопов в природе

Element	Isotope	Abundance (%)	Relative mass difference (%)	International Standard
Hydrogen	^1H	99.985	100	Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW)
	^2H (also D)	0.0155		
Carbon	^{12}C	98.892	8.3	Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB)*
	^{13}C	1.108		
Nitrogen	^{14}N	99.635	7.1	Atmospheric nitrogen (air)
	^{15}N	0.365		
Oxygen	^{16}O	99.759	12.5 ($^{18}\text{O}:^{16}\text{O}$)	VSMOW in water, generally VPDB in CO_2 or carbonate
	^{17}O	0.037		
	^{18}O	0.204		

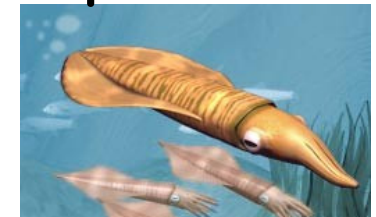
Международные и рабочие стандарты

Для азота – N_2 атмосферного воздуха.

Для углерода и кислорода – "венский" эквивалент белемнита Pee Dee формации, VPDB.

Для водорода – "венский" стандарт чистой океанической воды.

Чертов палец



Изотопная подпись

Изотопный состав вещества выражается в тысячных долях отклонения от международного стандарта, δ (‰):

$$\delta^nX_{\text{образец}} = \left[\left(\frac{R_{\text{образец}}}{R_{\text{стандарт}}} \right) - 1 \right] \times 1000, \text{‰}$$

где X – это элемент (азот или углерод), n – номер тяжелого изотопа,

R – молярное соотношение тяжелого и легкого изотопов элемента.

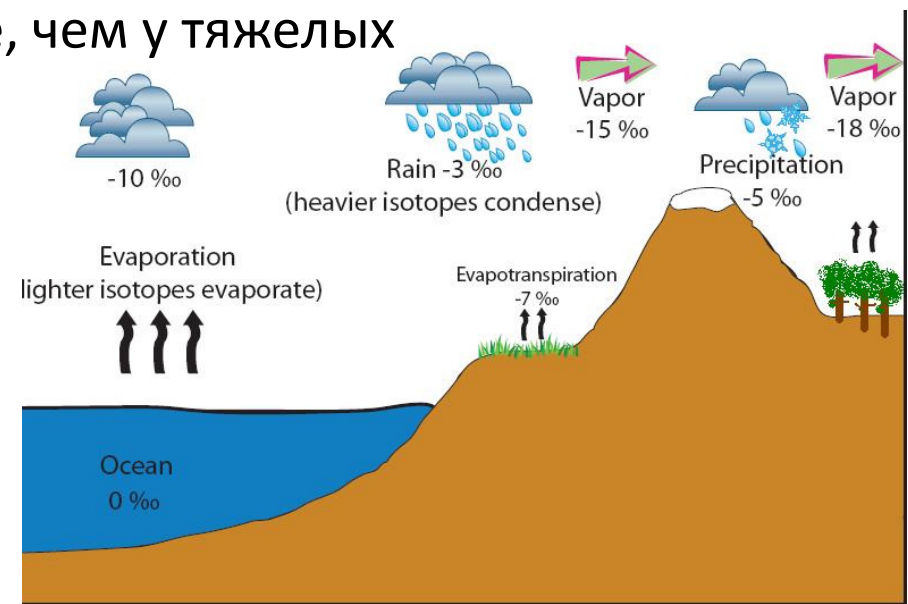
Химическое фракционирование

1. Кинетика. Различия в скорости химической реакции между изотопами

- Молекулам с легким изотопом легче образовать/разрушить связь
- Диффузия легких молекул идет быстрее, чем у тяжелых

2. Равновесное фракционирование

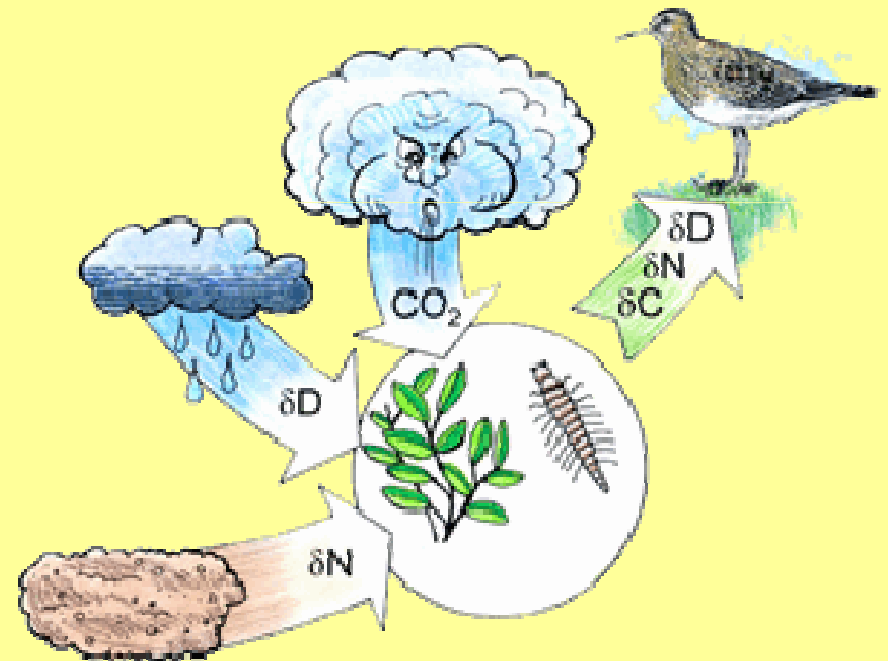
Например между фазами воды
в процессе испарения и конденсации



Два основных направления SIA-исследований

1. Использование стабильных изотопов в естественной концентрации

- Определение маленьких различий между компонентами системы. Единицы промилле.

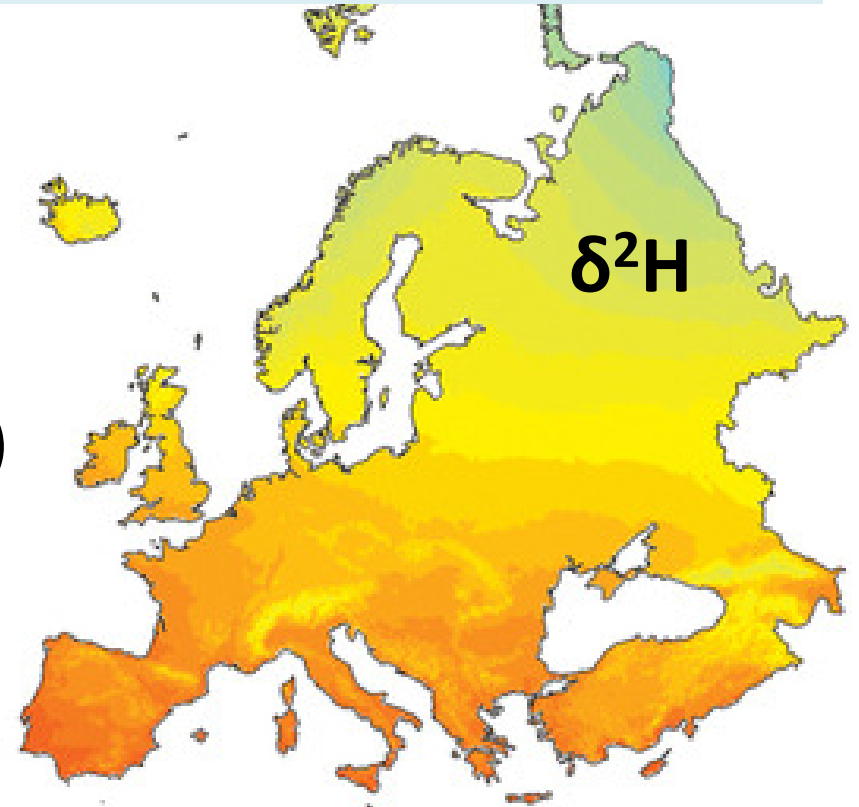


2. Применение искусственной метки или обогащения (tracer experiments)

- Внести в систему огромное количество редкого изотопа и пронаблюдать куда он пойдет (оценка потоков энергии в системе и пр.) Тысячи промилле!

СИА водорода и кислорода в экологии

Содержание ^2H в осадках на территории Европы



Чем больше осадков и выше температура, тем выше содержание тяжелых изотопов ^2H и ^{18}O в воде

$\delta^2\text{H}$ of Annual Precipitation



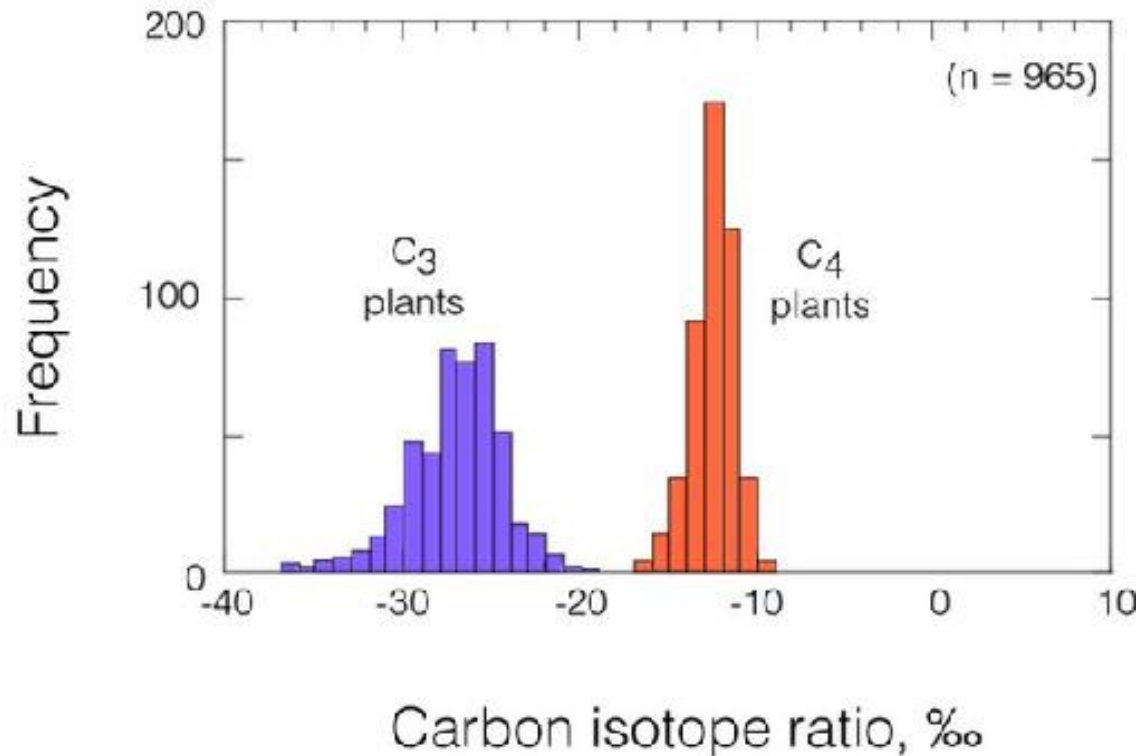
1. Круговорот воды
2. Климатические условия
 - годовое количество осадков и температура
 - «глобальное потепление»
1. Изотопные ландшафты (IsoScapes) моделирование по GIS-данным →
2. Миграции животных, популяционная динамика
3. Палеорекострукции (климата, местообитаний)

Фракционирование изотопов в биологических процессах

1. Фиксация CO_2 - C_3 и C_4 растения.

C_3 -фотосинтетики (85% видов) обеднены тяжелым изотопом углерода на $\sim 14\text{‰}$ по сравнению с C_4 -растениями

C_4 -фотосинтез менее энергетически выгоден, приспособлен для жизни в сухом и жарком климате.



- Кукуруза
- Просо
- Сахарный тростник
- Сорго

2. Фракционирование изотопов в трофических цепях

Дискриминацией тяжелого изотопа азота при формировании выводимых из организма продуктов азотного обмена.

Трофическое обогащение - увеличение соотношения изотопов при переходе на следующий трофический уровень

$$\Delta\delta^{15}\text{N} = \delta^{15}\text{N}_{\text{потребитель}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{пища}}$$

3. Различие между водными и наземными экосистемами* (* - химический процесс)

Содержание ^{13}C в океанической воде выше в океане на 7‰, чем в осадочной воде.

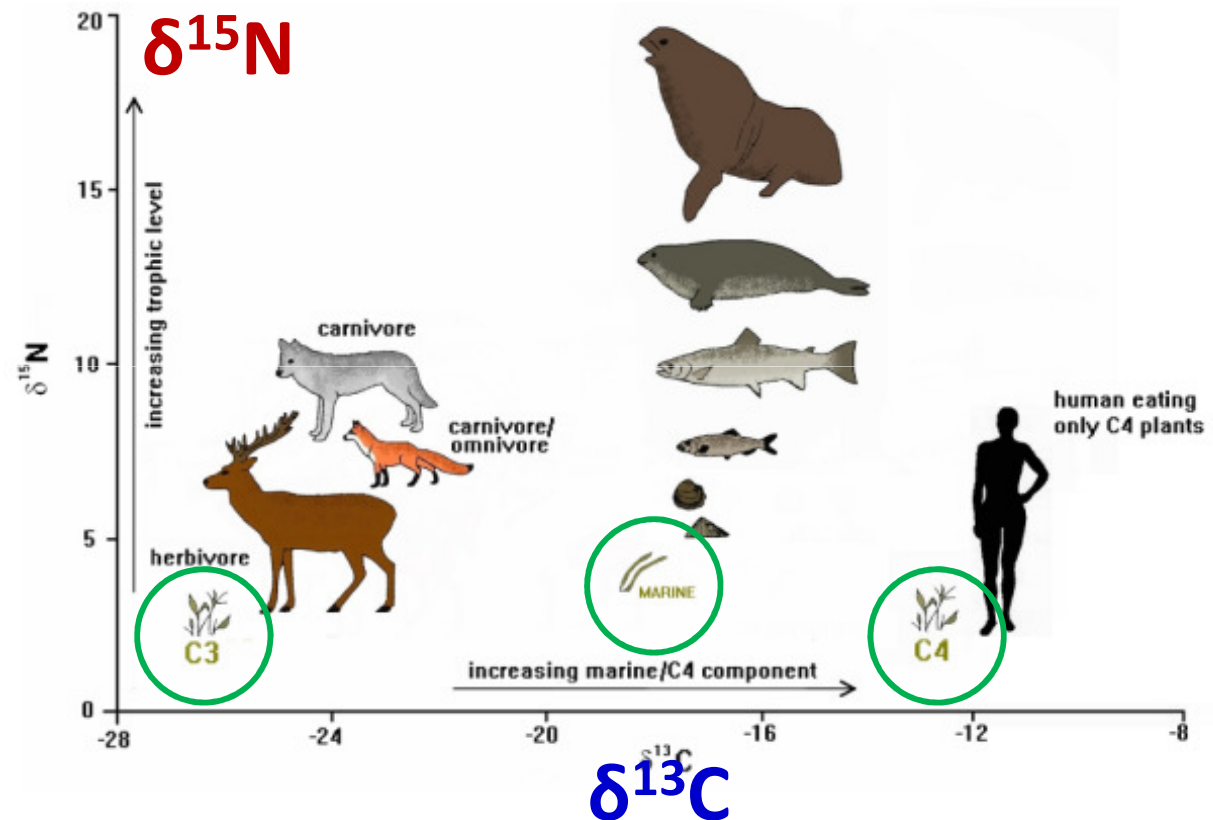
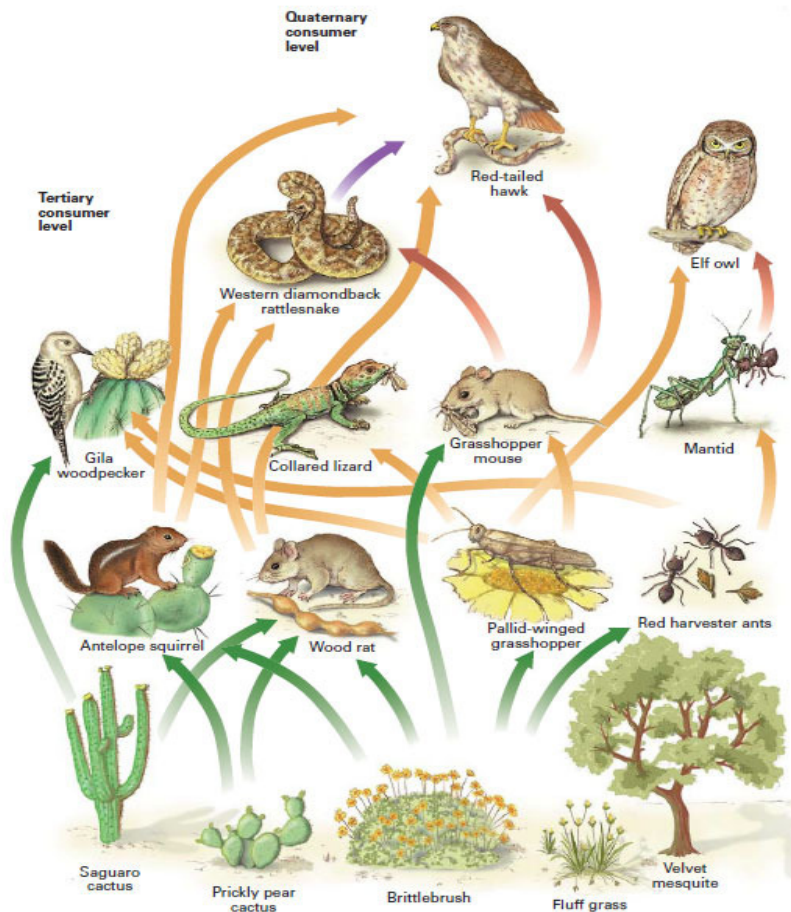
Анализ стабильных изотопов азота и углерода в исследованиях экологии сообществ

- **Позволяет выявить сообщества путем построения трофических сетей**
- **Дает точную и интегрированную во времени оценку трофического уровня животного и проясняет характер взаимодействий между видами**
- **Используется для изучения фуражировочного поведения и перемещений животных**
- **Позволяет оценить потоки вещества и энергии, пронизывающих экосистему**
- **Используется для оценки последствий воздействия природных явлений, климатических изменений, антропогенных факторов на трофическое состояние членов сообщества**

Изотопная подпись углерода $\delta^{13}\text{C}$

Тяжелый изотоп углерода ^{13}C

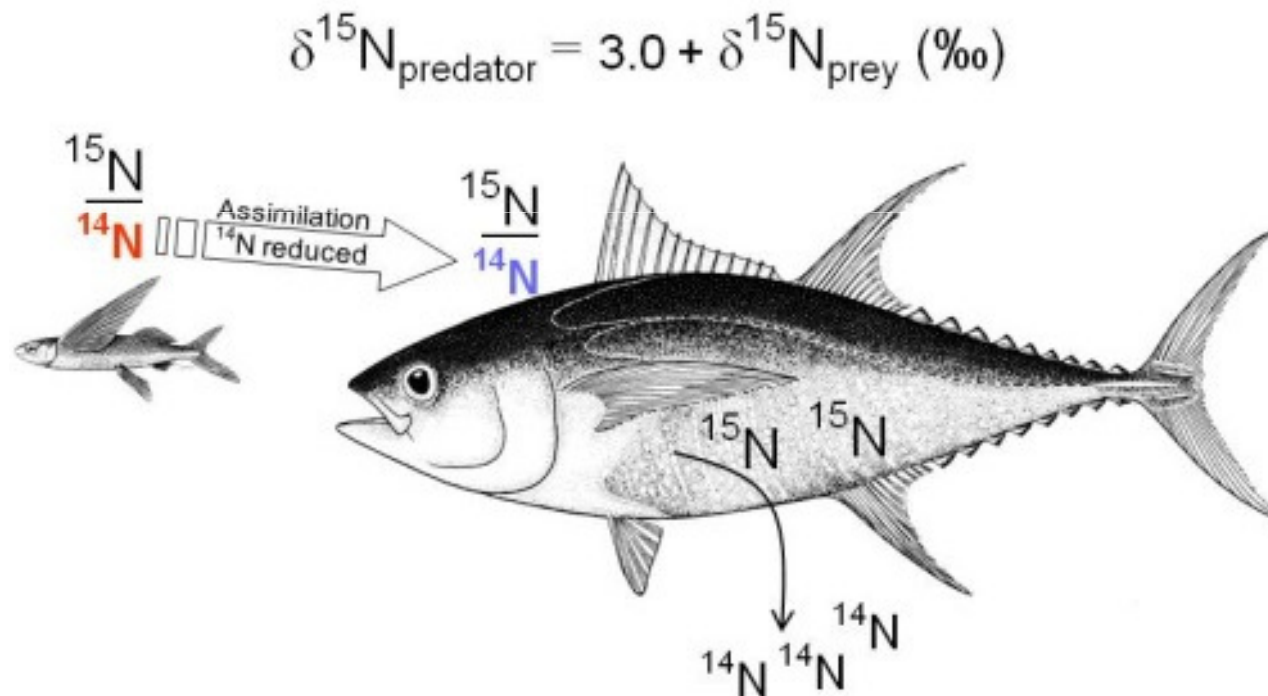
- Слабо накапливается в пищевой цепи
- Трофическое обогащение $\Delta\delta^{13}\text{C} = 0.5\text{-}1\text{‰}$
- Основные источники энергии
- Указывает на “растительное основание” пищевой сети



Изотопная подпись азота $\delta^{15}\text{N}$

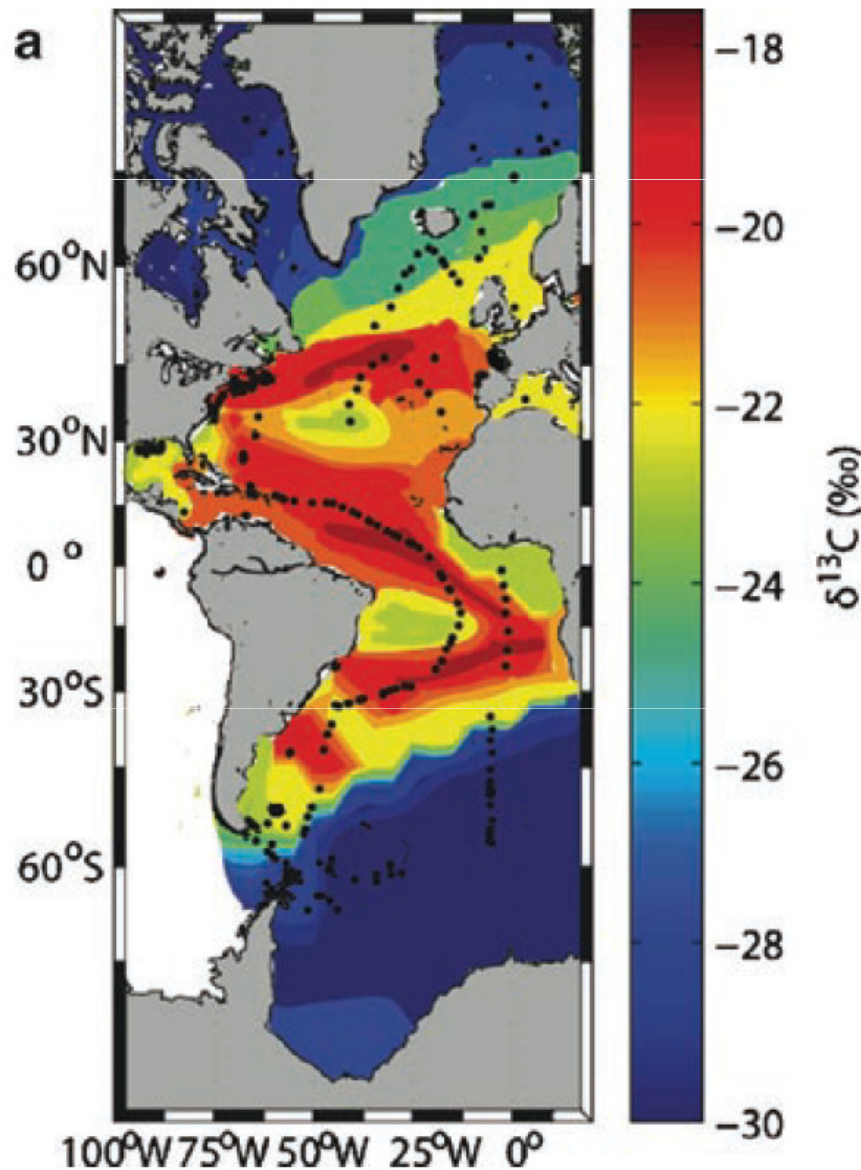
Тяжелый изотоп азота, $\delta^{15}\text{N}$

- Фракционируется в тканях животного
- Накапливается в пищевой цепи
- Трофическое обогащение $\Delta\delta^{15}\text{N} = 3\text{-}4\text{‰}$ на один трофический уровень
- Указывает на положение животного в трофической сети

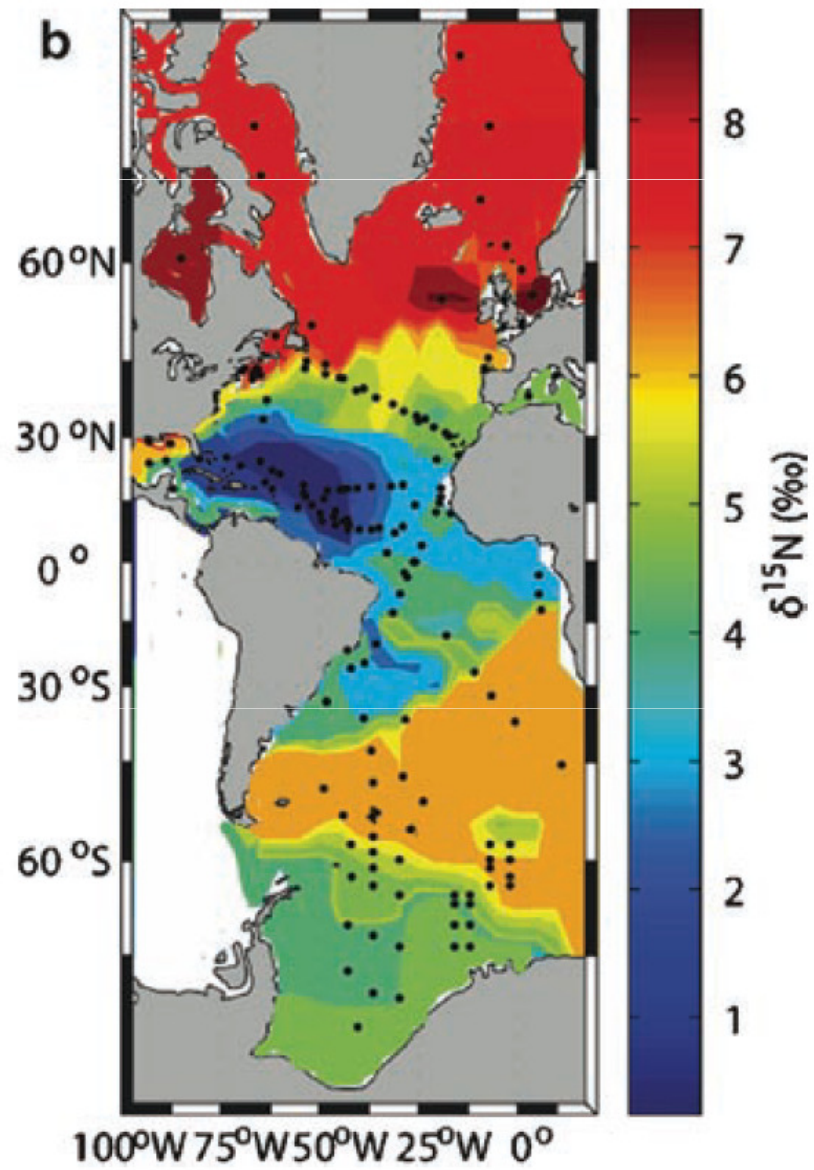


Изотопный ландшафт Атлантического океана для отслеживания миграций морских хищников

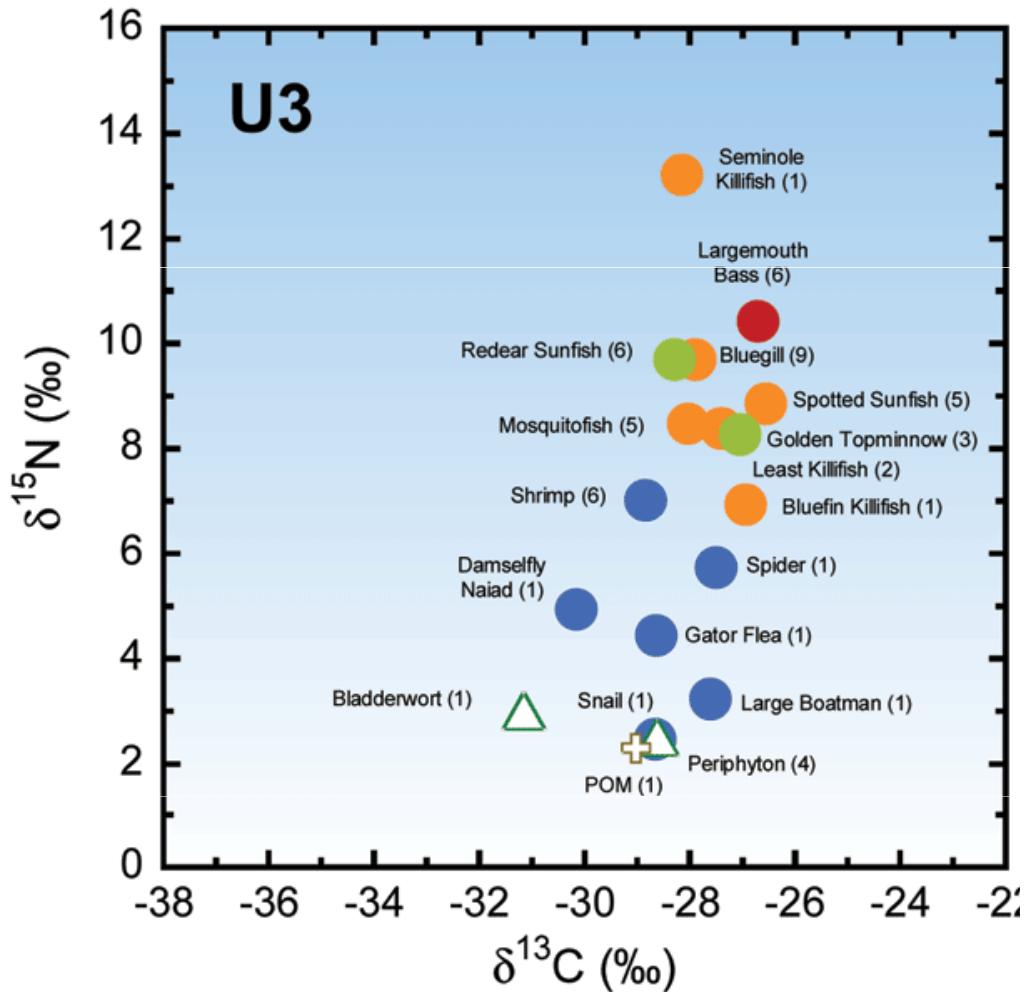
Фитопланктон



Зоопланктон

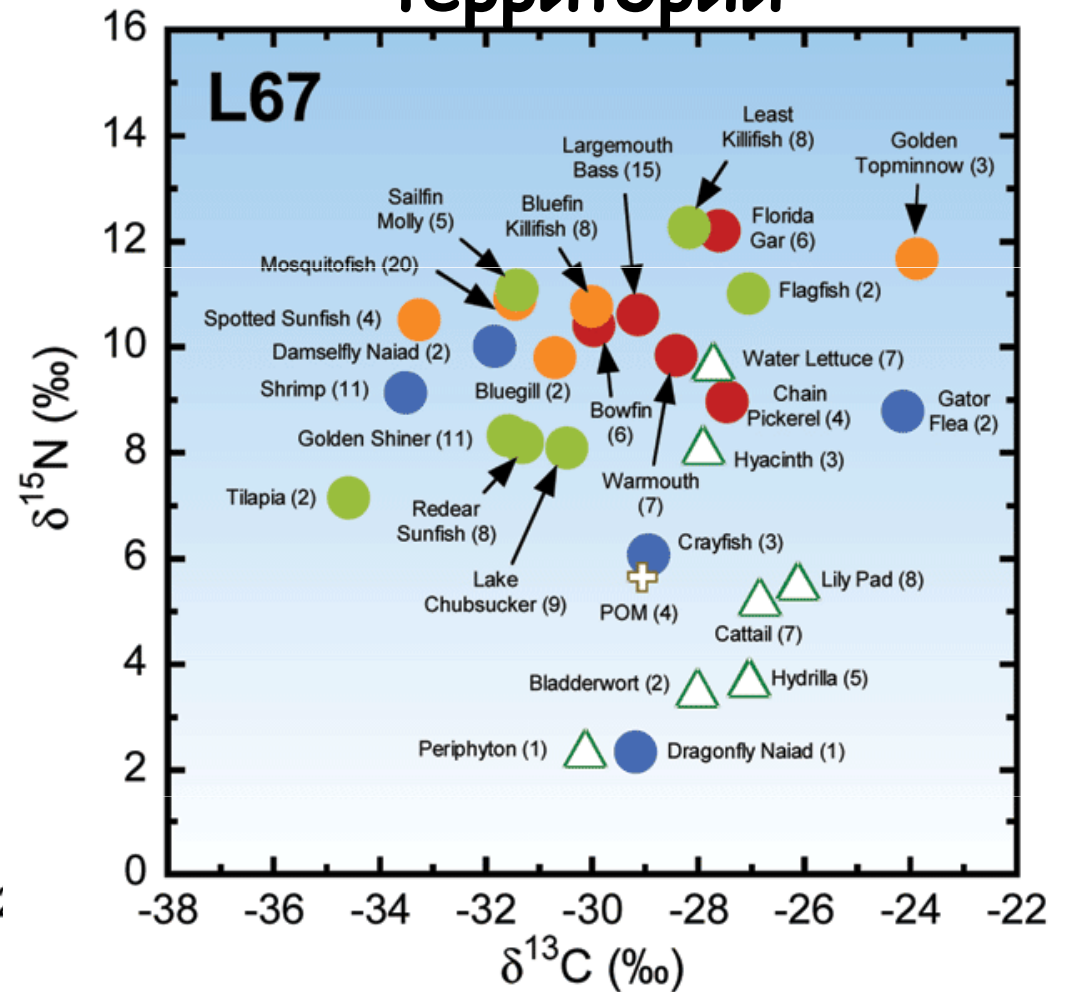


Пищевая сеть одного сообщества



- Mostly Carnivorous Fish (fish and decapods)
- Mostly Omnivorous Fish (<25% plants & algae)
- Herbivorous-Omnivorous Fish (>25% plants & algae)
- Invertebrates
- △ Plants & Algae
- ⊕ Particulate Organic Matter (POM) & Detritus

=> Некоторые хищники пришли из соседних территорий



- Mostly Carnivorous Fish (fish and decapods)
- Mostly Omnivorous Fish (<25% plants & algae)
- Herbivorous-Omnivorous Fish (>25% plants & algae)
- Invertebrates
- △ Plants & Algae
- ⊕ Particulate Organic Matter (POM) & Detritus

Определение (изотопного) трофического уровня животного

$$TP_{\text{ant}} = 1 + \frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{ant}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{base}}}{\overline{\Delta n}}$$



За основание пищевой сети взят березовый опад

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{BASE}} = 0.8\text{‰}$$

Среднее трофическое обогащение для данного сообщества

$$\overline{\Delta n} = 1.6\text{‰} \text{ (меньше ожидаемого значения)}$$

Обогащение у травоядных и хищных животных:

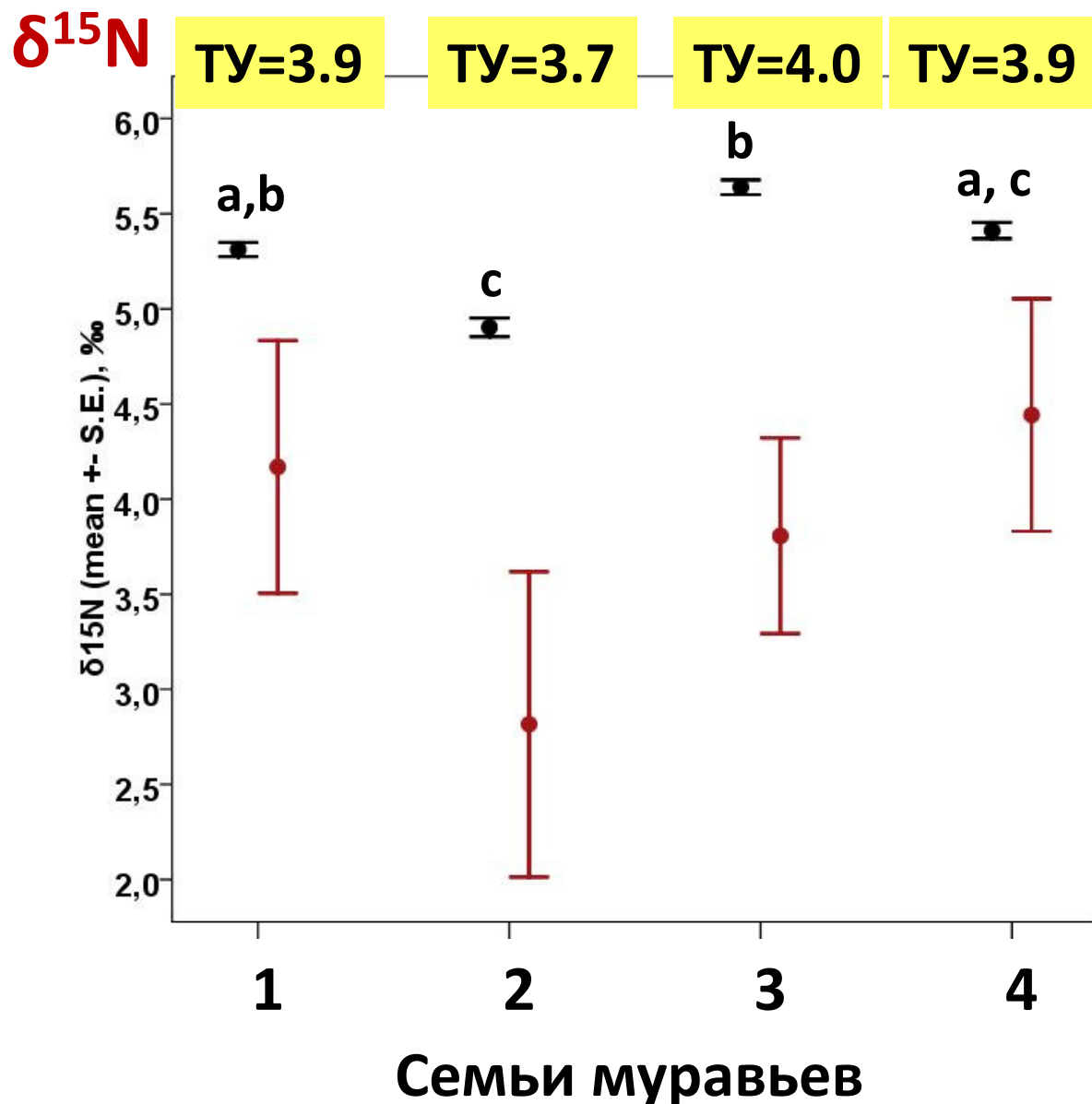
$$\Delta n \text{ тли - хищник} = 0.9\text{‰}$$

$$\Delta n \text{ тли - паразитоид} = 1.4\text{‰}$$

$$\Delta n \text{ травоядные - пауки} = 2.6\text{‰}$$

Трофическое положение муравьев

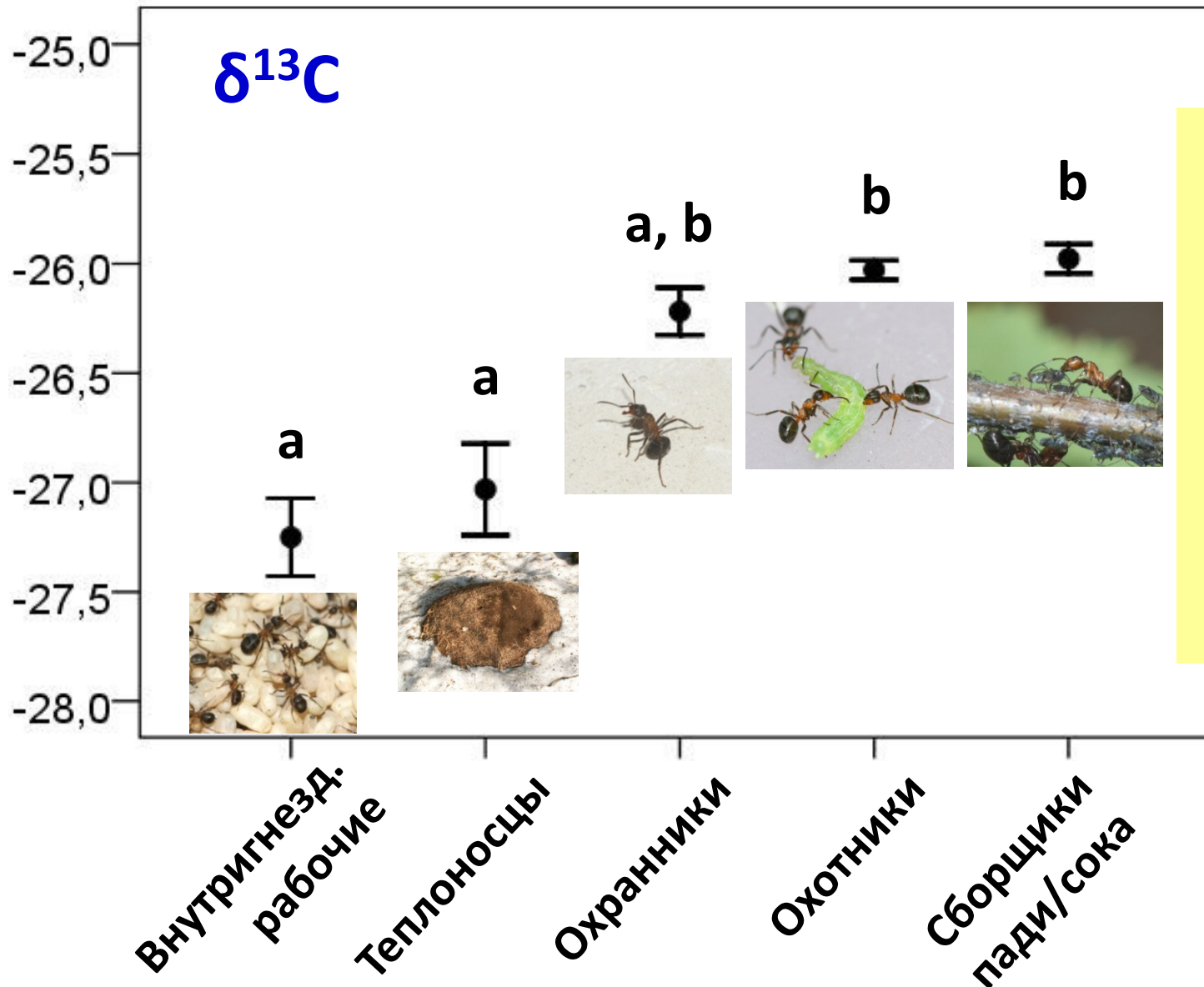
Formica aquilonia в сообществе смешанного леса



I Муравьи
I Добыча муравьев

- Трофическое положение рыжих лесных муравьев различается между семьями
- Соответствует уровню хищников 1-го и 2-го порядков, ближе к последним.

Различия в $\delta^{13}\text{C}$ между функциональными группами рабочих в семье муравьев

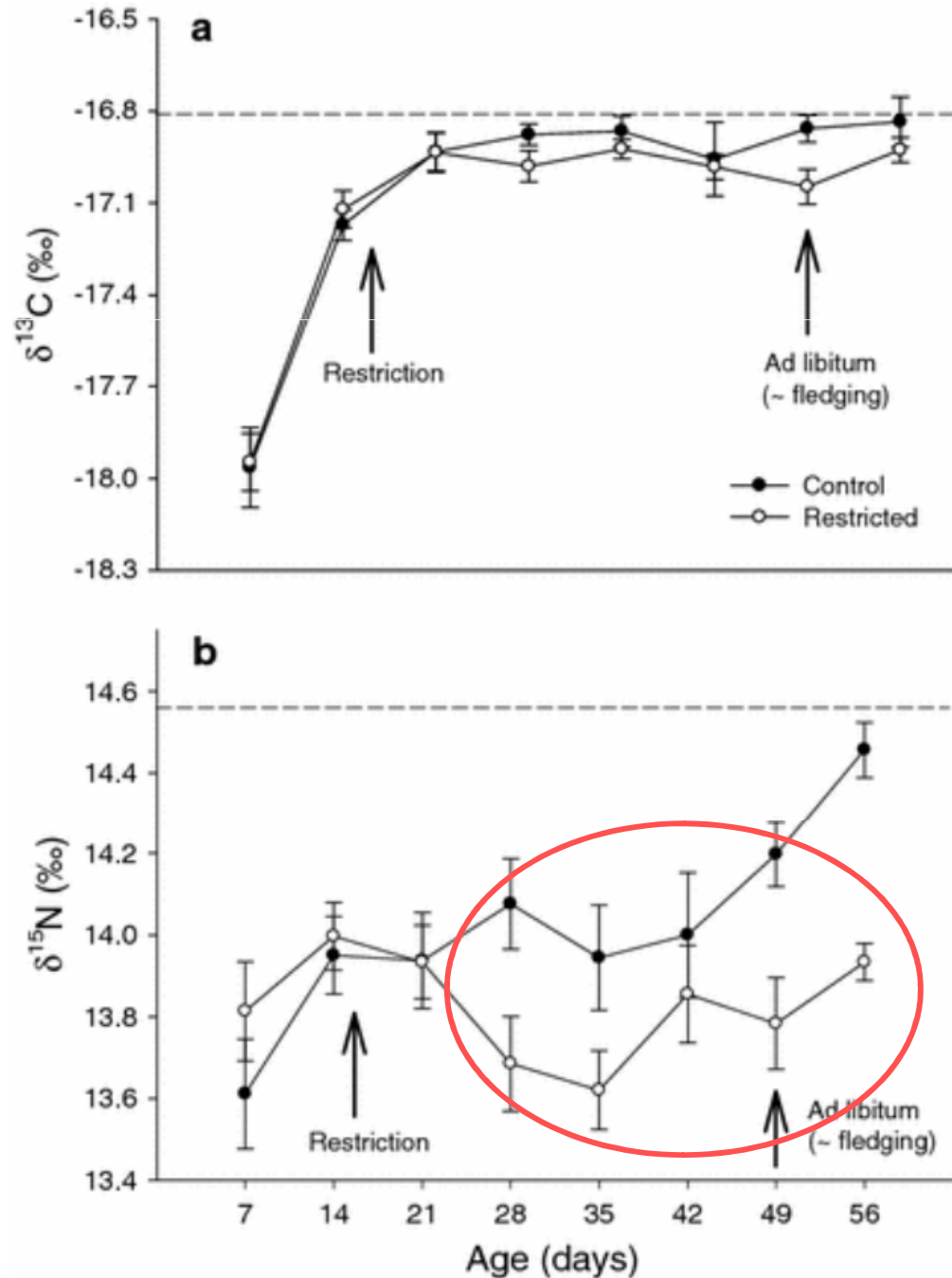


- Различия в уровне энергетических затрат между рабочими
- Возрастные изменения

**Правило "Ты это то, что ты ешь + 3%"
не всегда верно!**



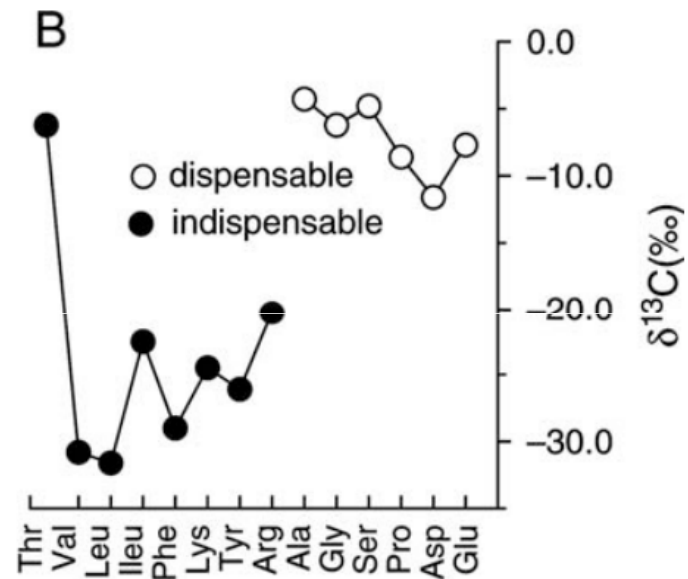
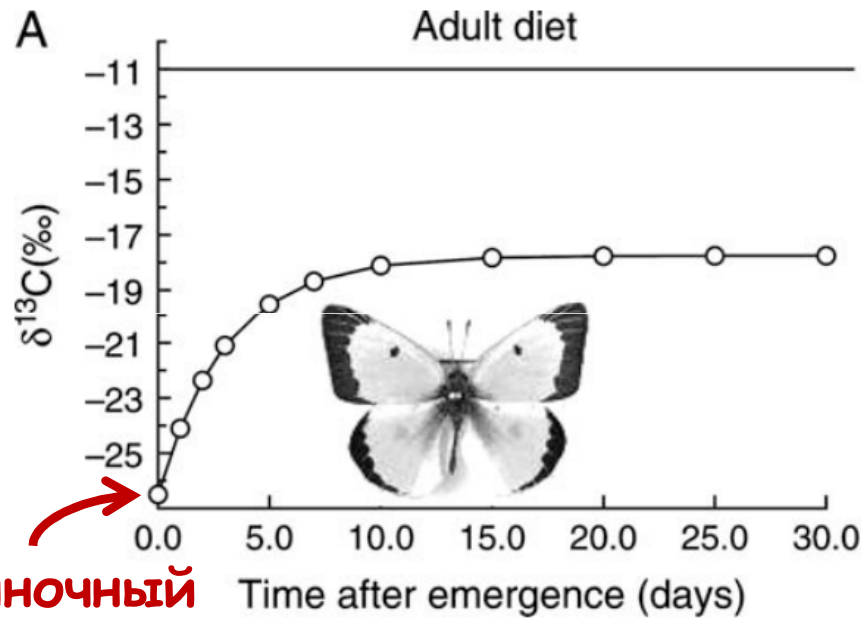
Изменения, связанные с пищевым статусом



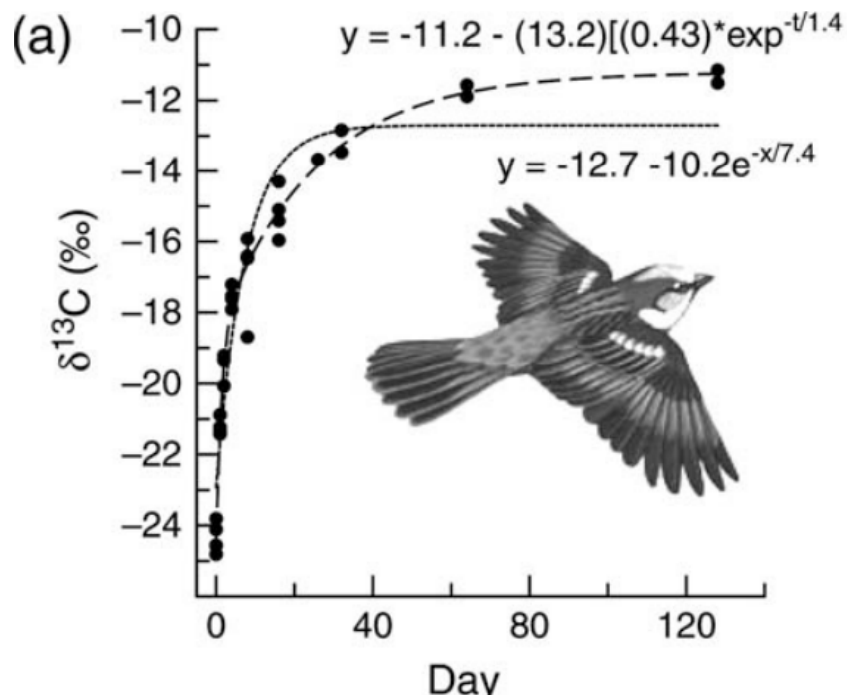
Птенцы морских птиц на разной диете

Ограничение в поступлении питательных веществ слабо влияет на изотопный состав углерода тканей и существенно изменяет изотопный состав азота – использование внутренних ресурсов приводит к меньшему фракционированию тяжелого изотопа и, следовательно, к снижению $\delta^{15}\text{N}$.

Изменения, связанные с развитием



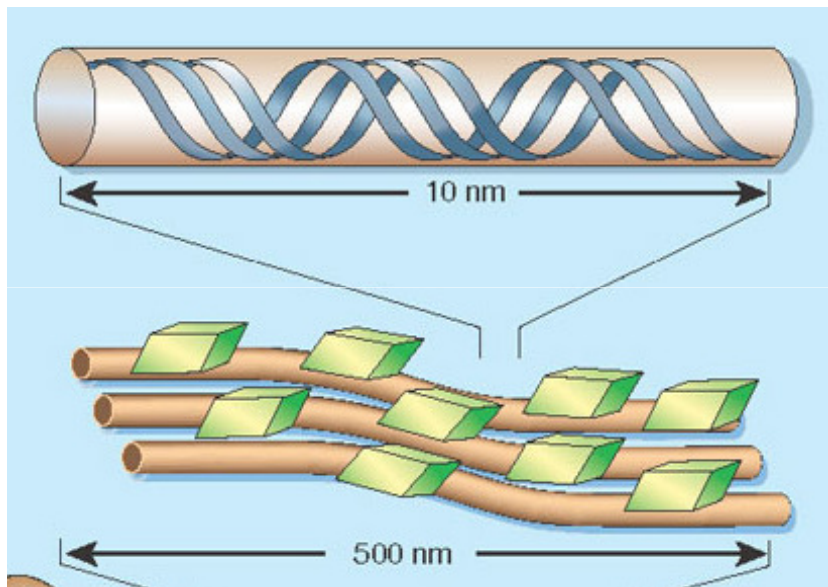
Личиночный
сигнал



Isotopic routing

Неравномерное распределение различающихся по изотопной подписи пищевых компонентов между разными тканями животного (особенно у всеядных).

Изотопный состав костного коллагена и гидроксиапатита существенно различается:



Белковые компоненты пищи

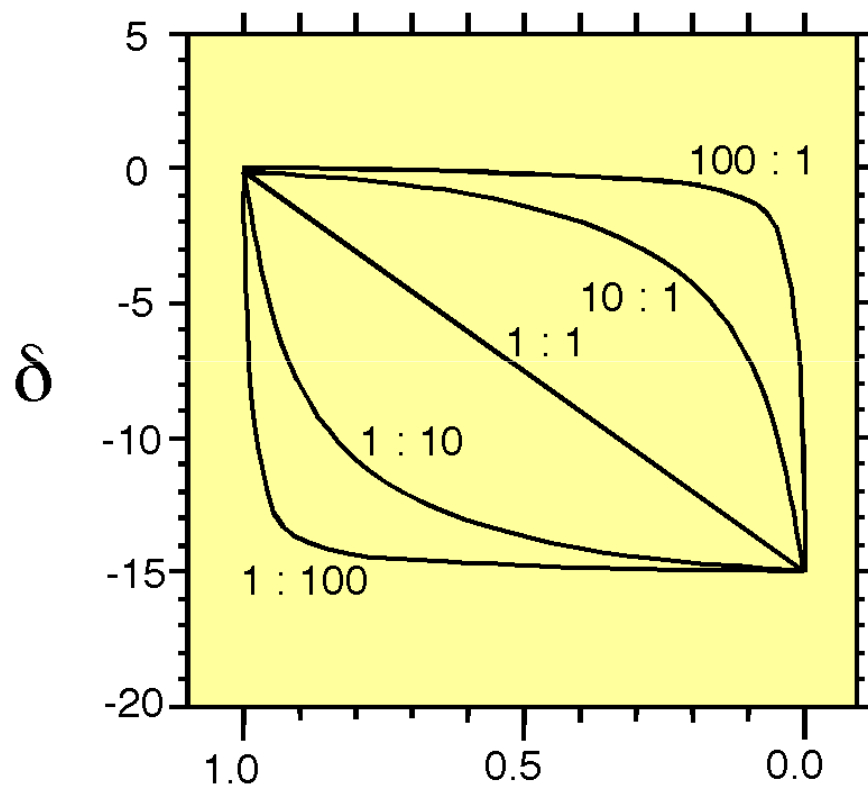
Углеводные и липидные компоненты

Модели смешивания (isotope mixing)

Позволяют по изотопным данным определить доленое соотношение нескольких источников пищи в диете животного.

При условии, что их изотопные подписи характерно различаются (0‰ и -15‰).

Требуется несколько элементов (C, N, S).



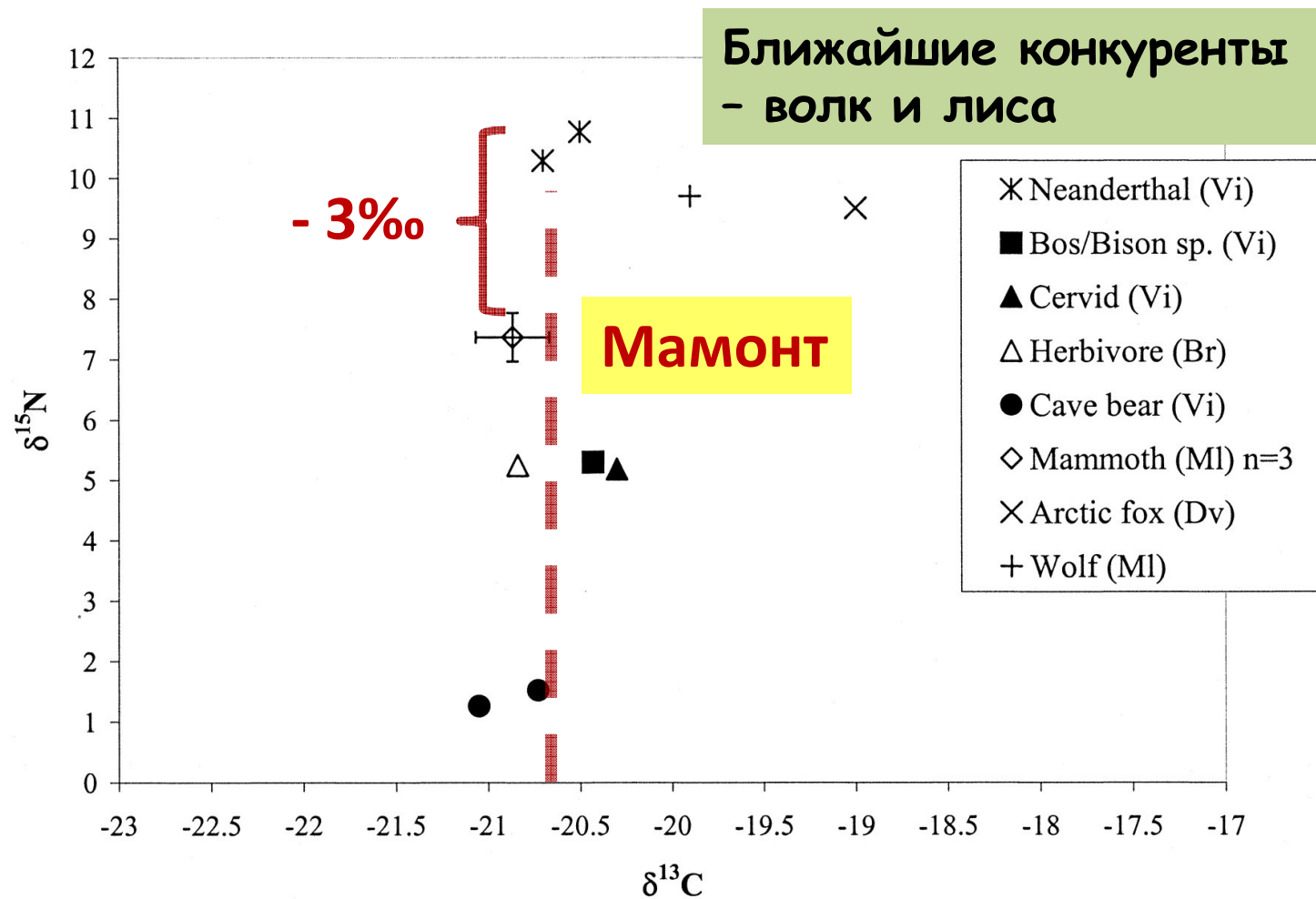
Линейная модель с двумя пищевыми источниками (A и B), взятых в равной концентрации:

$$\delta_{\text{образца}} = X \delta_A + (1-X) \delta_B$$

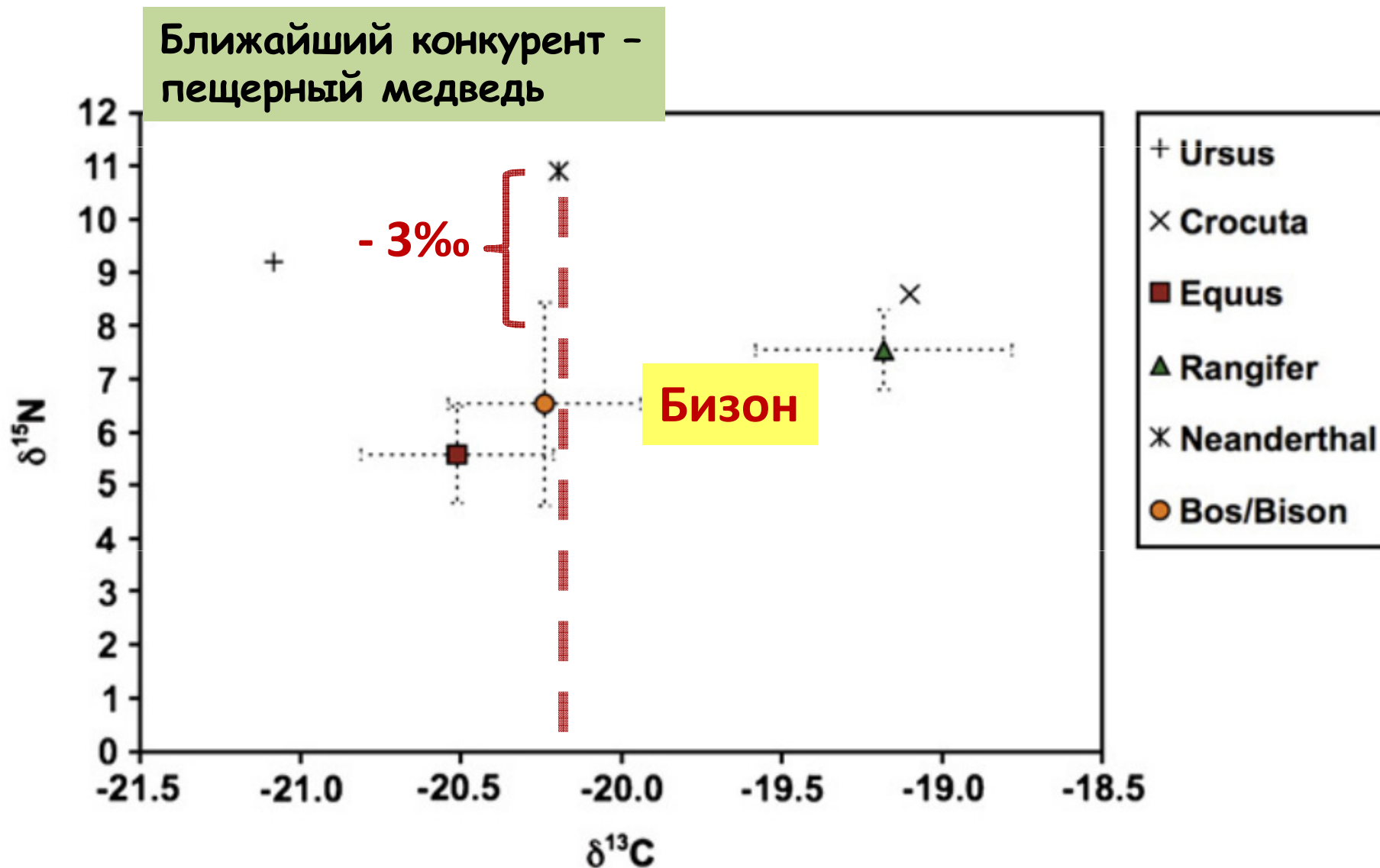
X - доля источника A в питании животного.

Палеореконструкция сообществ: пищевые привычки неандертальцев и *Homo sapiens*

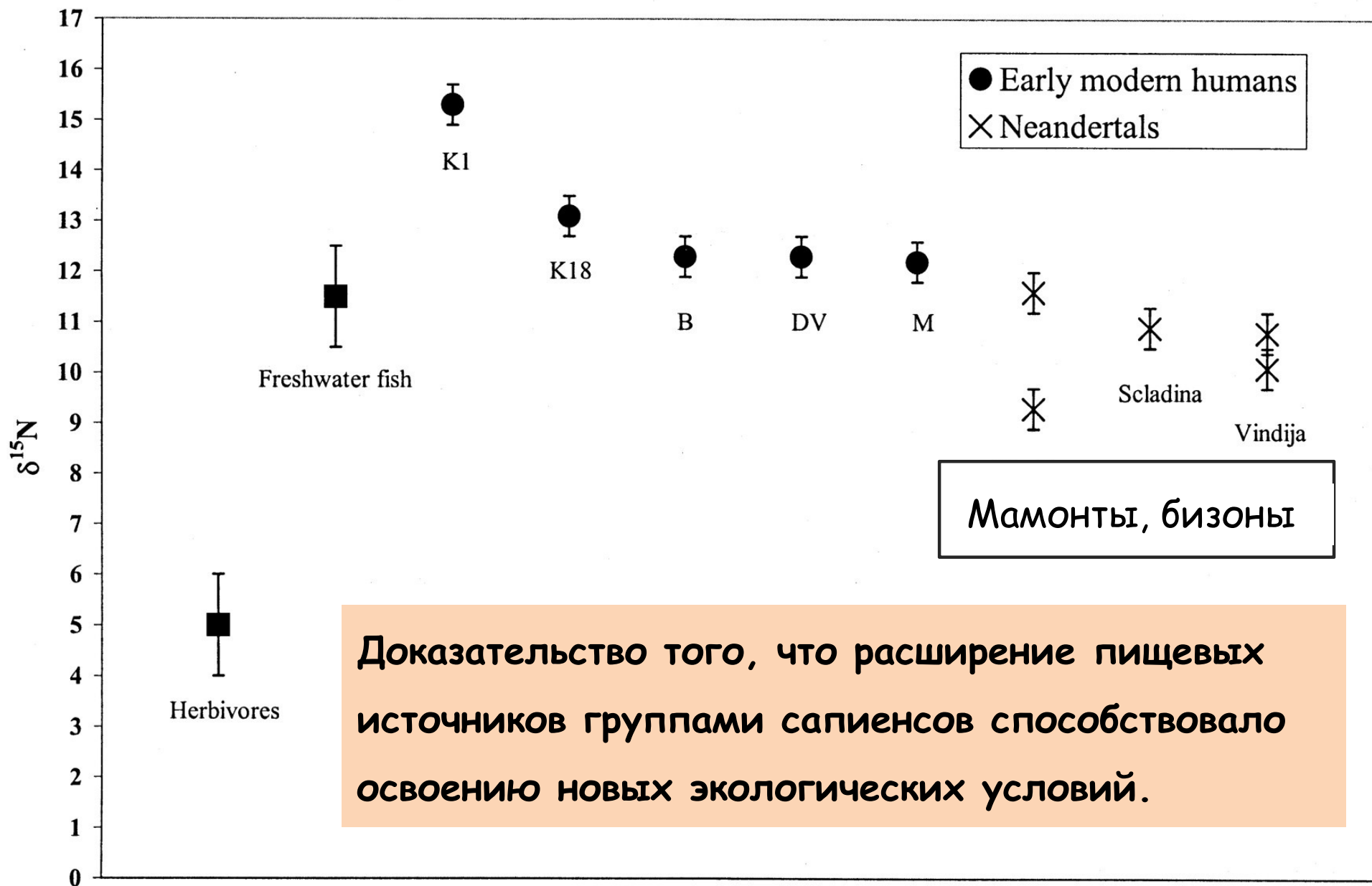
В разных местах и в разное время (120-28 тыс.л.н.) неандертальцы активно охотились на наиболее крупных травоядных млекопитающих (падальщиками не были).



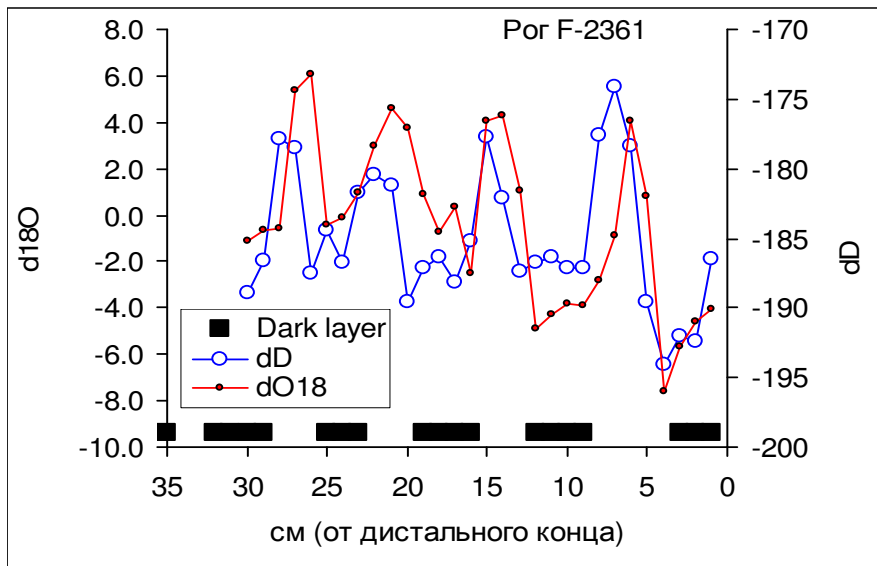
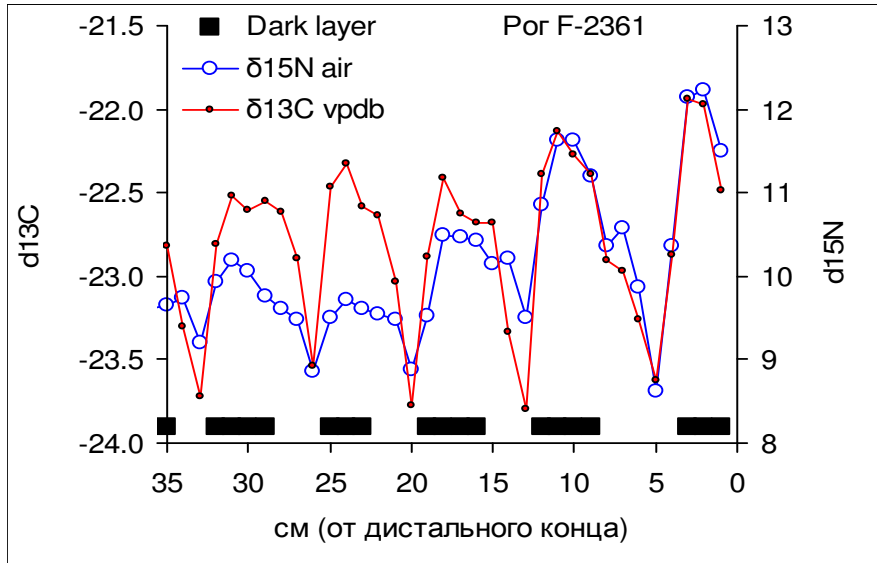
В течение десятков тысячелетий пищевые предпочтения неандертальцев не менялись. Однако при случае они питались моллюсками и рыбой.



Сапиенсы на постоянной основе питались рыбой и моллюсками в пресноводных водоемах. По оценке с помощью «моделей смешивания» - до 50% белковой пищи в K1 поступало из водоемов!



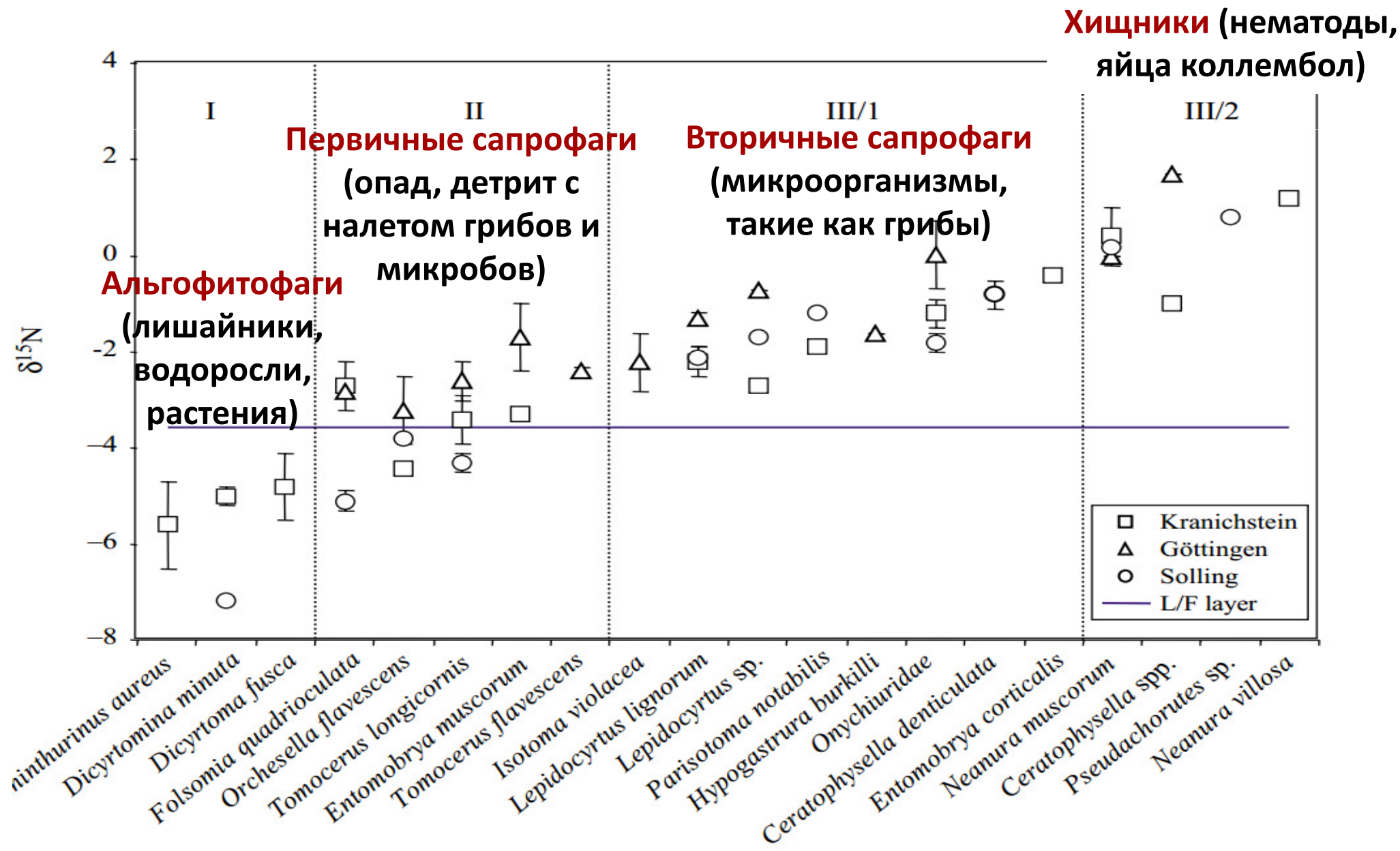
Сезонные изменения



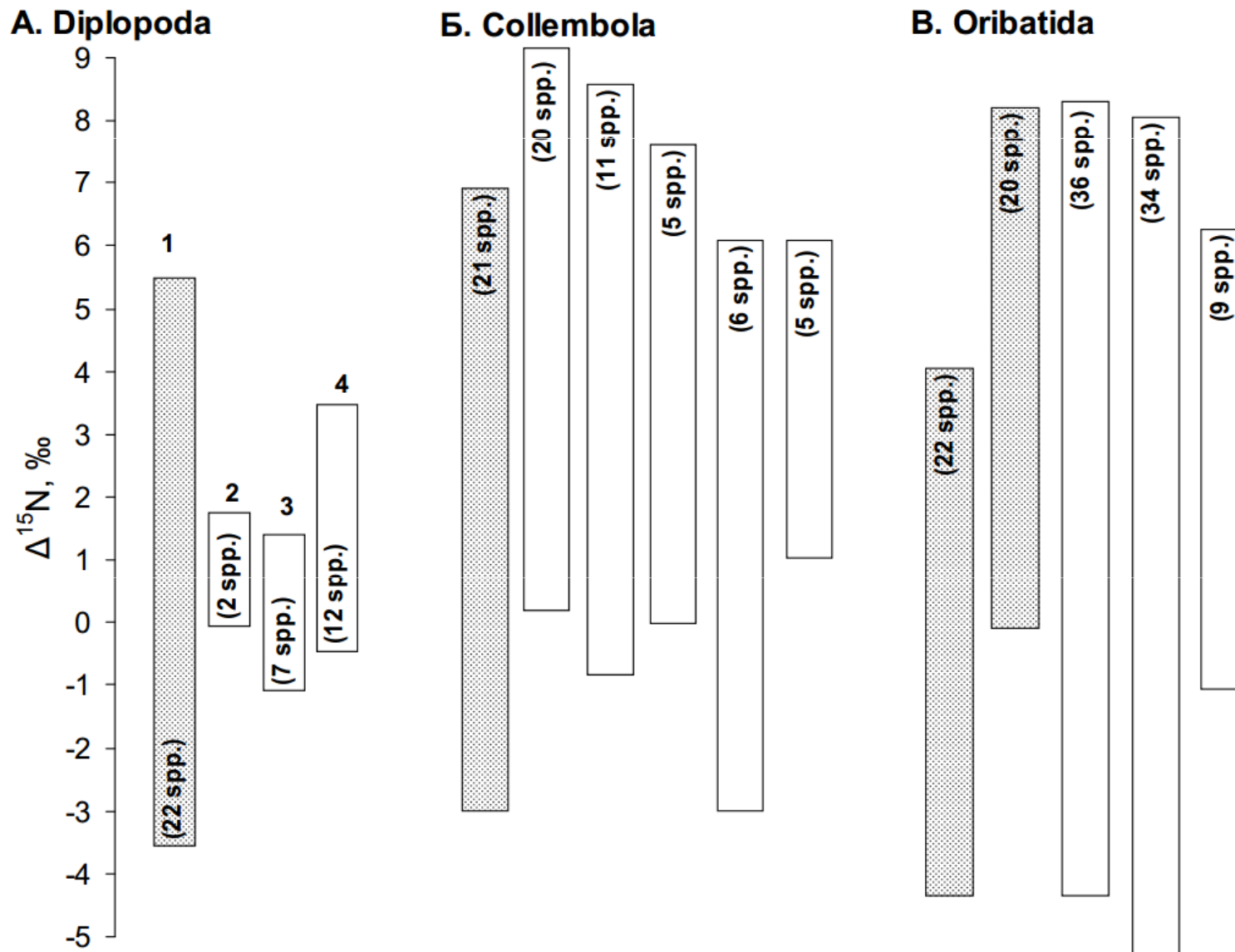
- Флуктуации изотопного состава H, O, N и C в роге шерстистого носорога (~30 000 лет): явные сезонные флуктуации (Тупов & Kirillova 2010)

Трофические механизмы поддержания разнообразия в сообществах

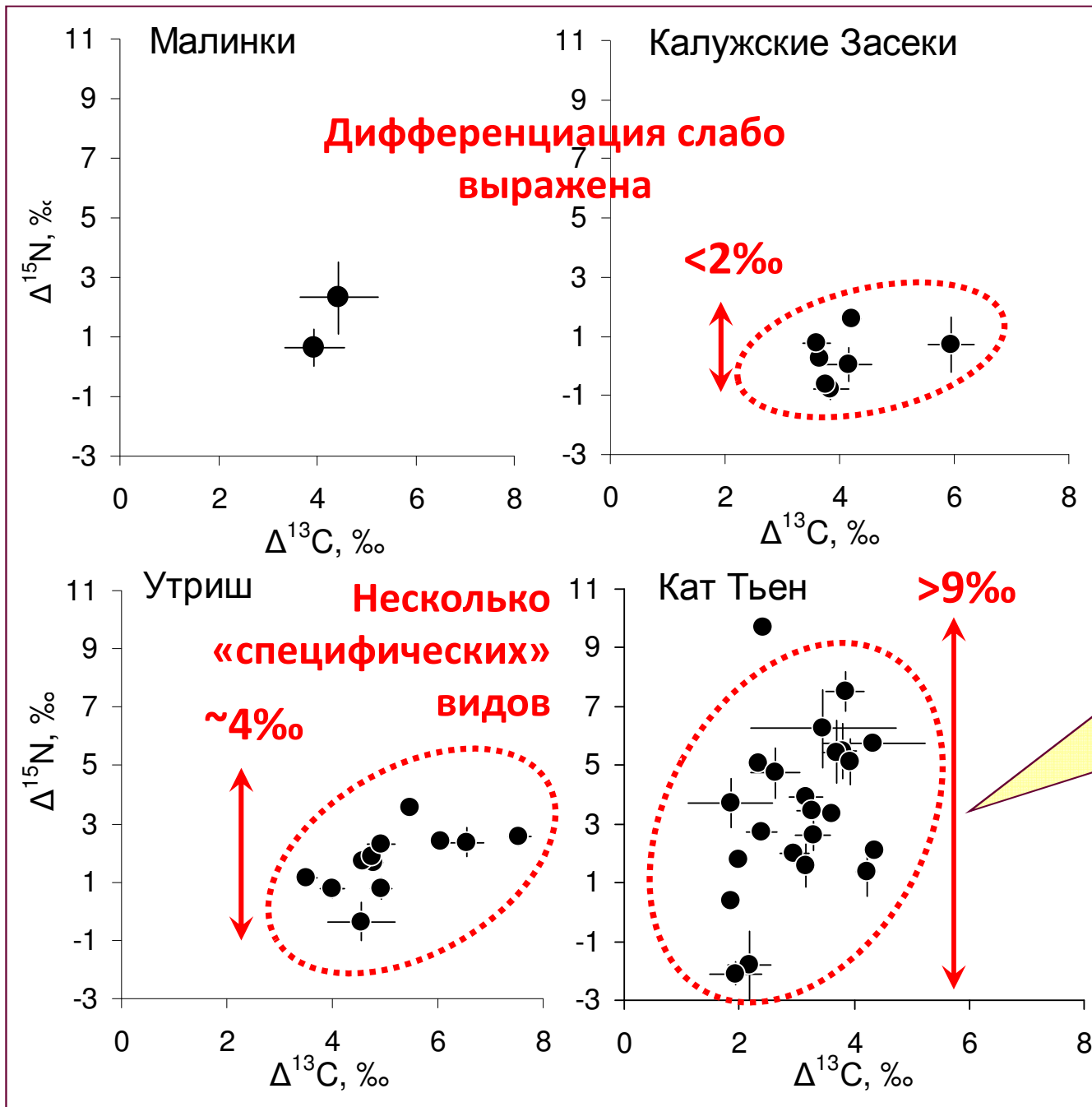
Трофические гильдии коллембол по данным $\delta^{15}\text{N}$



Диапазон изотопного состава азота тканей почвенных беспозвоночных в лесных экосистемах тропического и умеренного (серым) климата



Трофическая структура таксоценов диплопод



Широтная зональность!

Диапазон $\delta^{15}\text{N}$ достигает 10‰. Это соответствует трем трофическим уровням

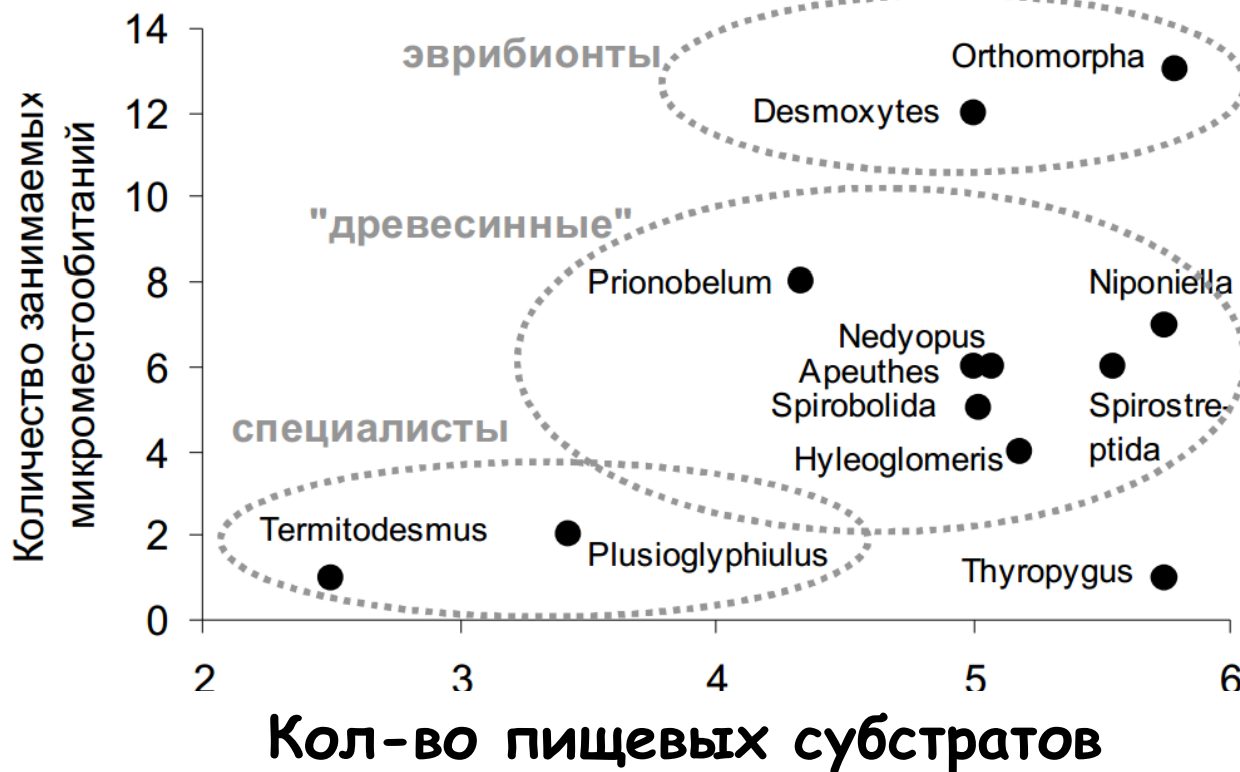
Работы И. Семенюк

Разнообразии микроместообитаний

Диплоподы
тропического
муссонного леса



Сочетание трофической и топической специализаций



- эврибионты

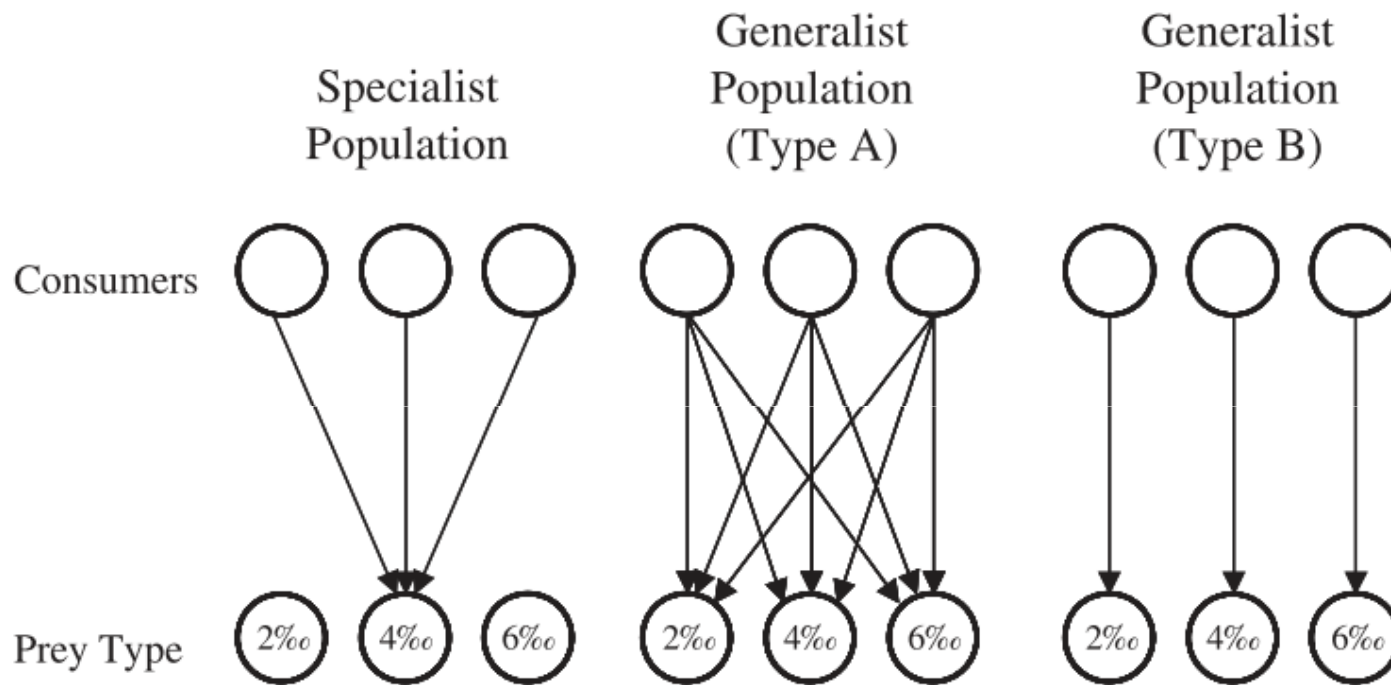
- «древесинные»

- специалисты

Оценка ширины трофической ниши популяции

Можно оценить по дисперсии изотопной подписи тканей животного, интегрирующей сигнал добычи в течение разного периода (недели – месяцы).

Повторные сборы **крови/перьев**
у одних и тех же особей трех популяций



$\delta^{15}\text{N}_{\text{крови}}$

$8\text{‰} \pm 0$

$8\text{‰} \pm 4$

6, 8 и $10\text{‰} \pm 0$

Костная ткань:

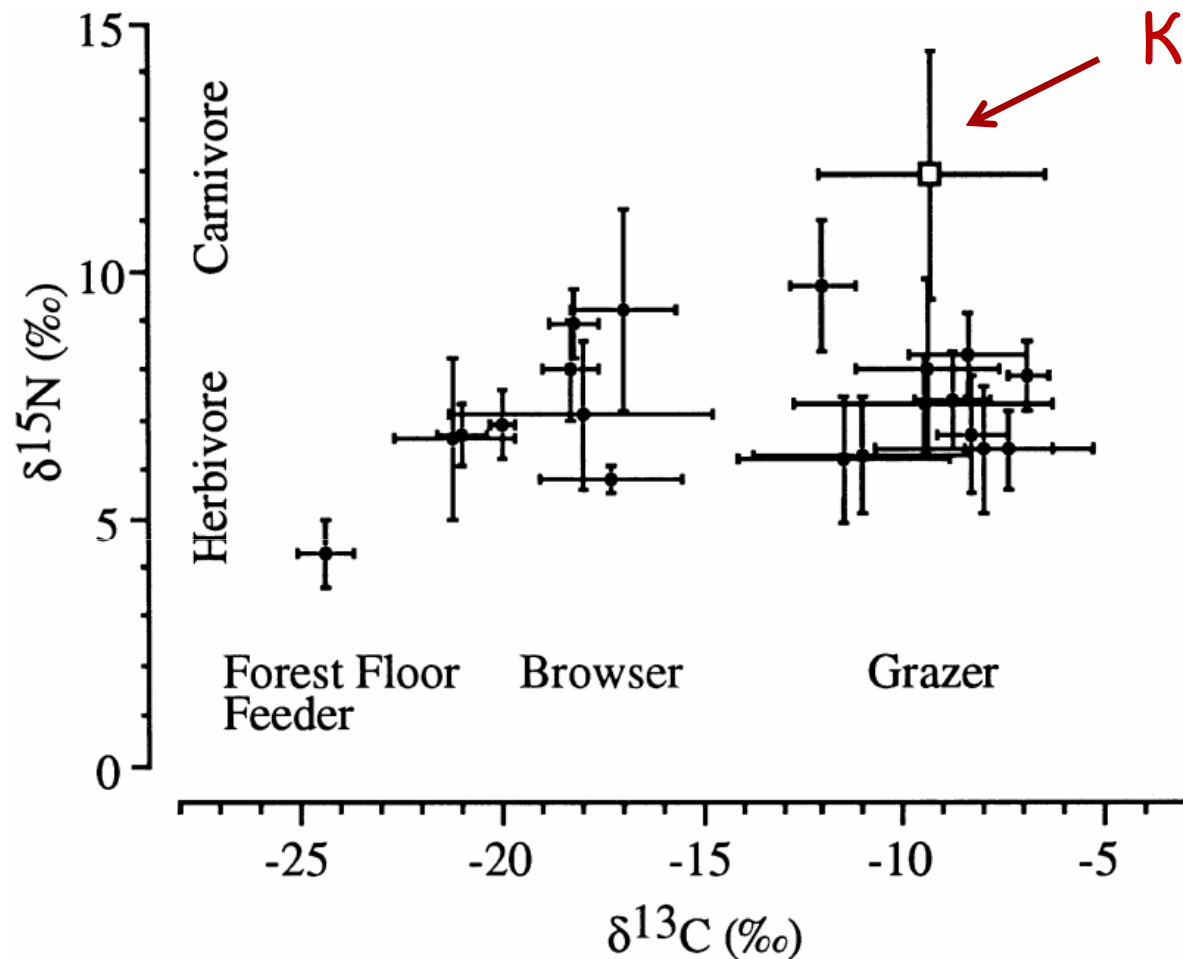
$8\text{‰} \pm 0$

$8\text{‰} \pm 4$

$8\text{‰} \pm 4$ **различий нет**

Разделение ниш между травоядными млекопитающими: grazers and browsers

Изотопные подписи животных африканской саванны



Кстати, кого ест хищник?

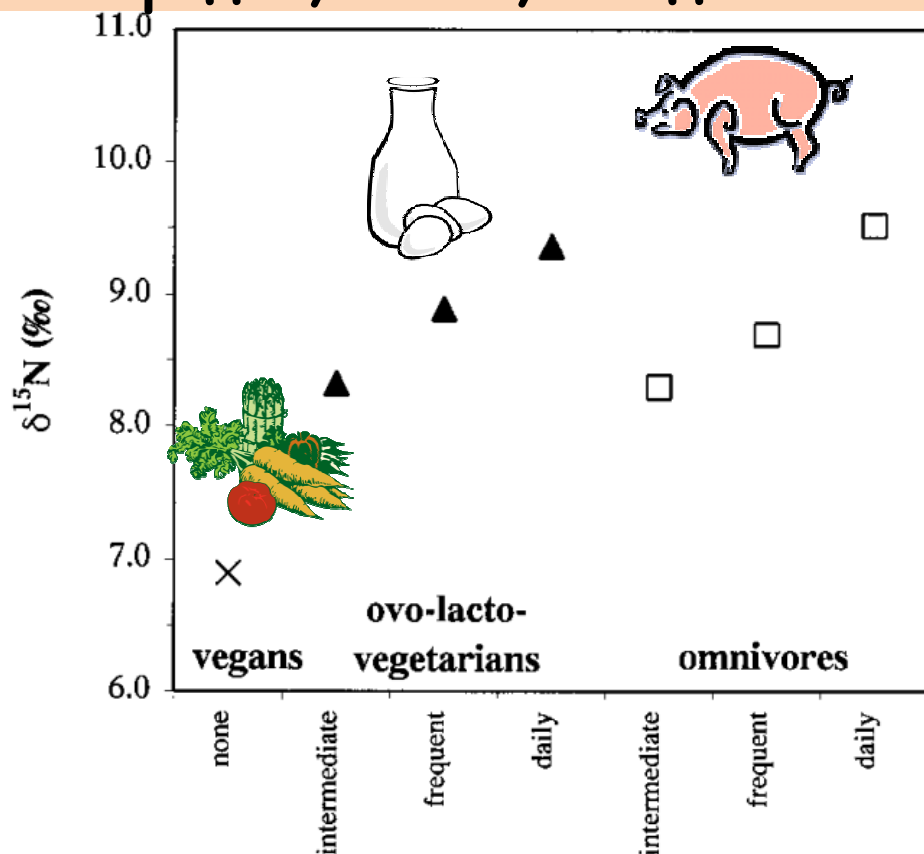


Мы тоже состоим из изотопов

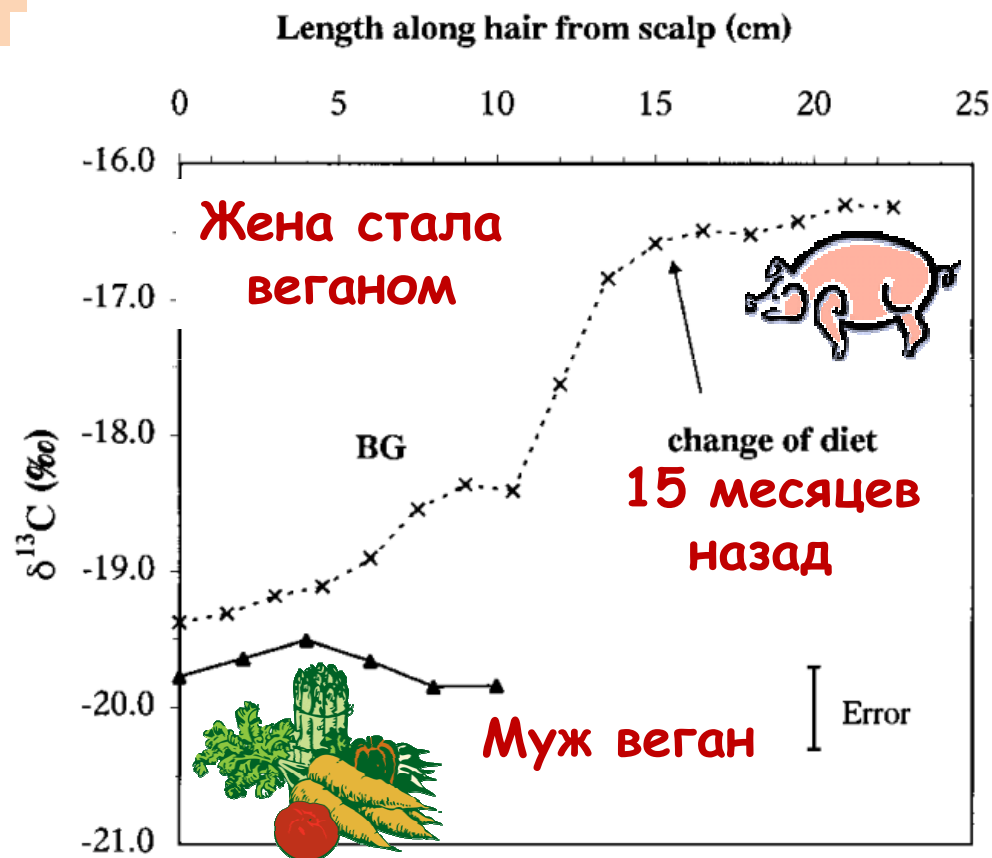
- C3 VS C4 растения (+9‰ $\delta^{13}\text{C}$)
- Растительная VS животная диета
- Наземная VS морская диета (+2‰ $\delta^{15}\text{N}$)
- Четкое разделение на трофич. группы: omnivores, ovo-lacto-vegetarians, vegans.

- Голодание, потеря веса
- Время отлучения от груди
- Состояние обмена веществ
- Диагностика заболеваний (анорексия, булемия,...)

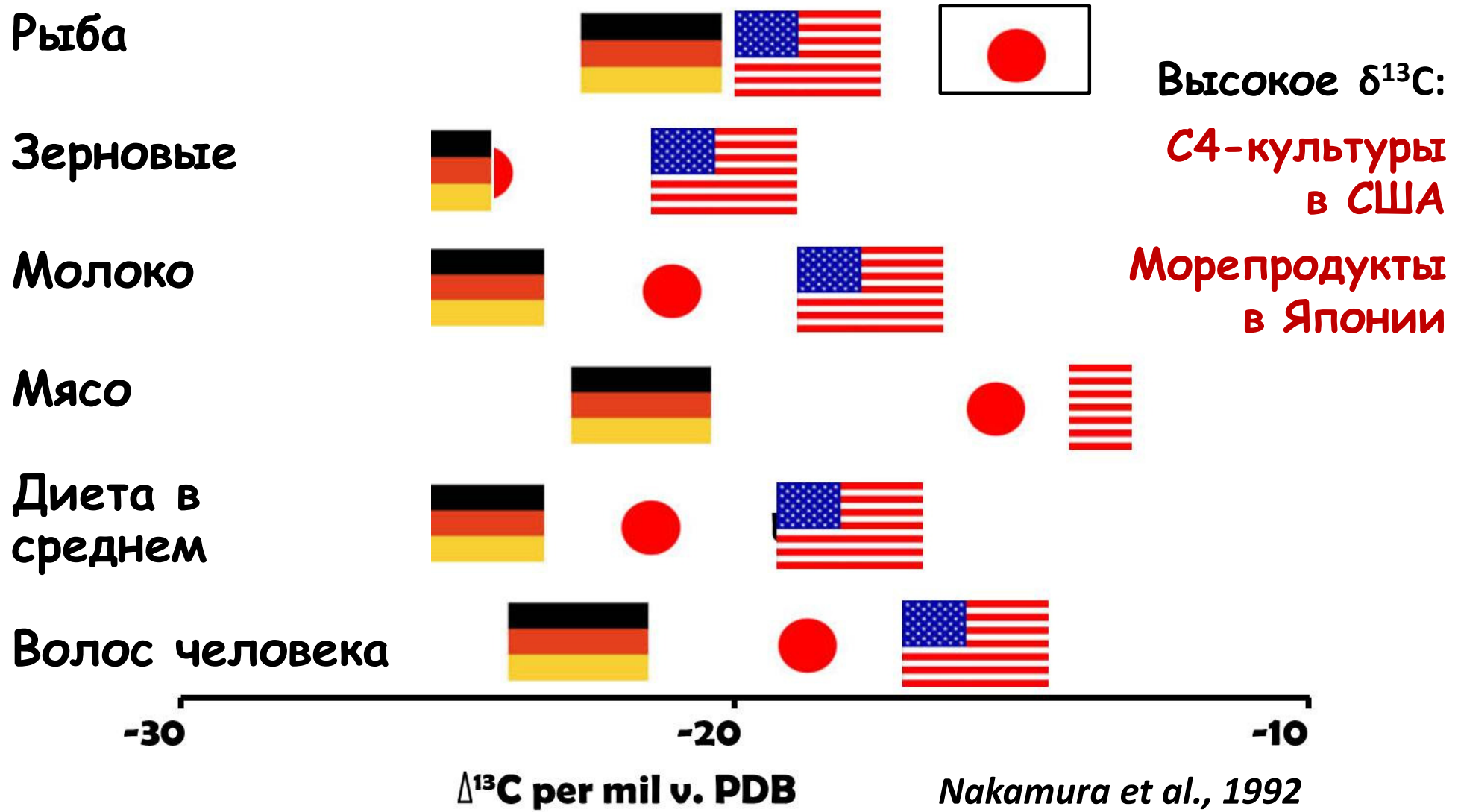
Как часто едят животную пищу:
редко, часто, ежедневно



Смена диеты



Различия в содержании ^{13}C в основных продуктах и волосах людей из Германии, Японии и США



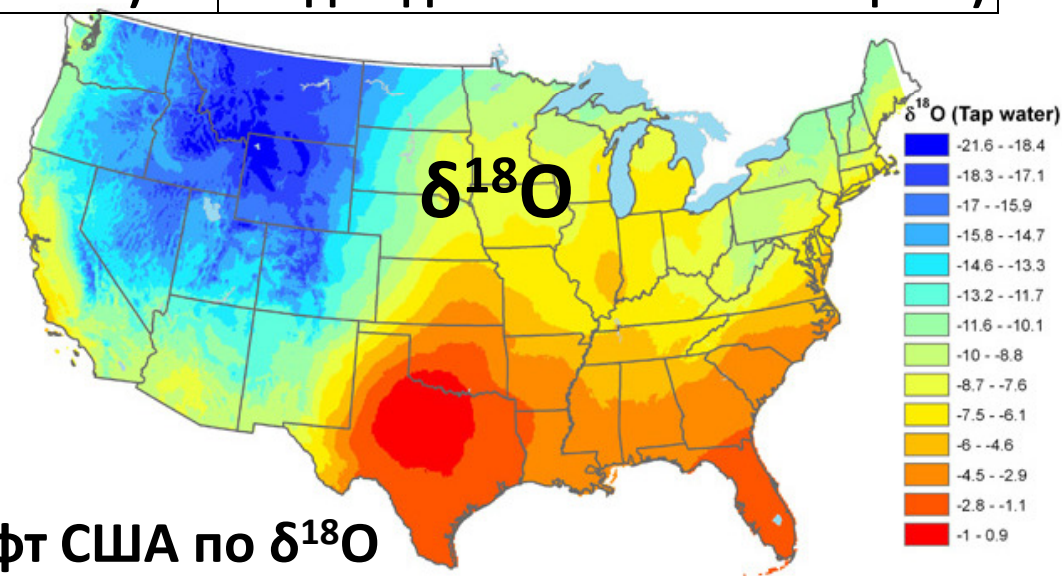
Современная судебная медицина и SIA

- Где человек жил в последнее время?
- Как часто, откуда и куда переезжал? (Н, О + Sn)
- Чем питался (веган или «активный мясоед»)? (С, N)



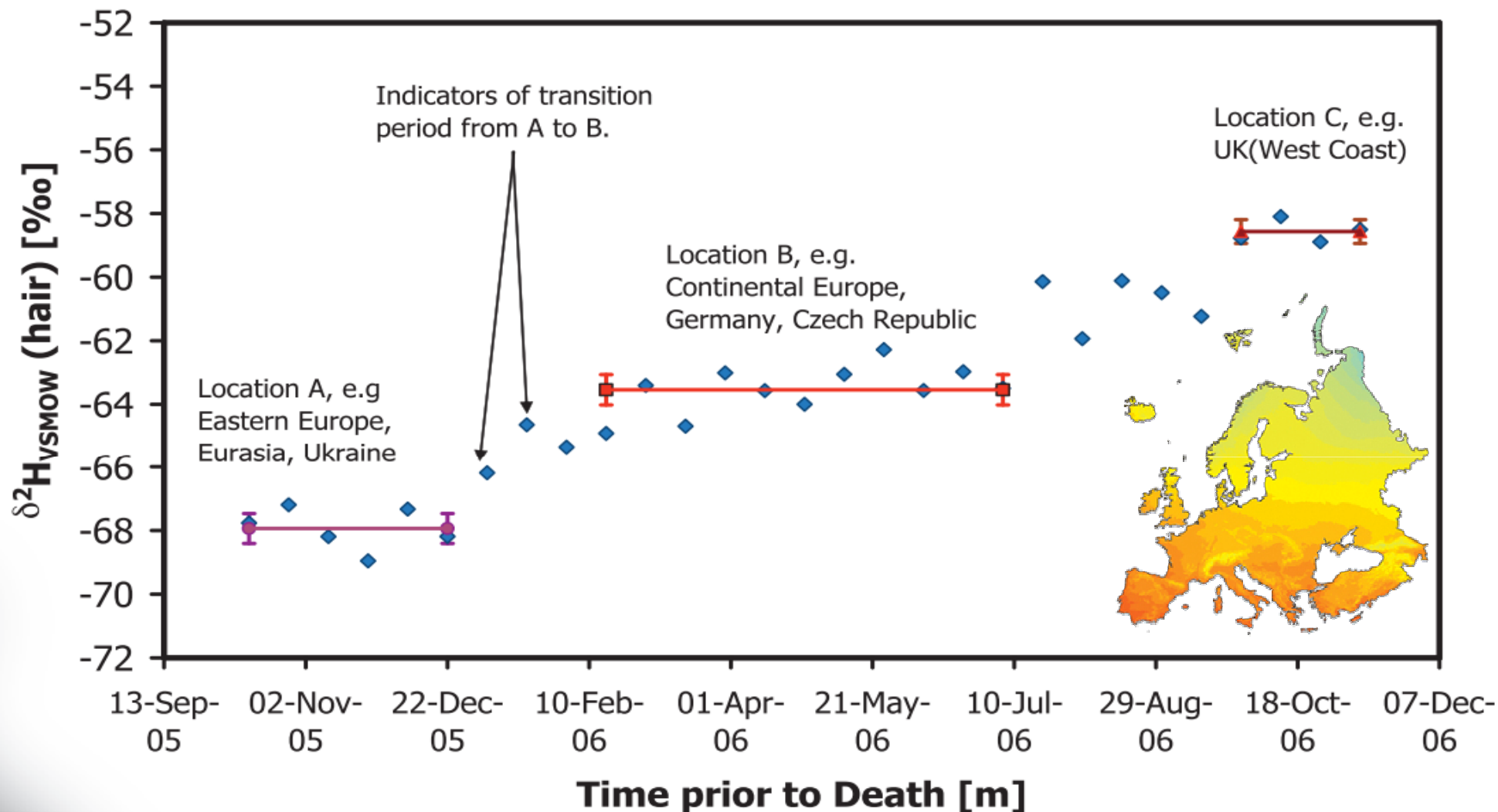
Ткань человека	Примечания	Ответ о локализации по ^2H и ^{18}O
Волосы, ногти	быстро обновляются, «временная нарезка»	последние несколько недель – месяцев (с точностью до 2 нед.)
Мышечная ткань	зависит от места	последние 3-6 месяцев
Кости	коллаген / гидроксиапатит	5-7 лет
Зубы	формируются быстро и не меняются (эмаль / дентин)	в возрасте 10-12 лет (до 20-25 лет для дентина – «по кольцам»)

Применение SIA сужает область поиска последнего местонахождения людей на 80-90%.



Изотопный ландшафт США по $\delta^{18}\text{O}$

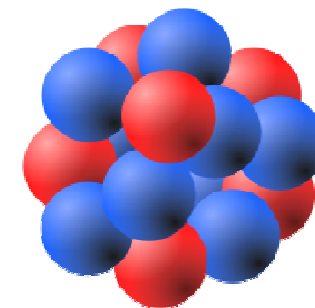
«Хозяин волос провел 2.5-3 месяца на Украине, затем переехал в Германию на 6-7 месяцев, после этого - в Уэльс, где провел оставшиеся 2.5 месяца» (из отчета об установлении личности)



Плюсы и минусы SIA: сравнение с другими методами

- + Количественная информация (-ДНК-анализ содержимого кишечника)
- + Интегрированная во времени (-ДНК)
- + Показывает трофический уровень
- + Нет проблем с экстракцией, хранением, загрязнением (-ДНК, -Жирные кислоты PLFA)
- + Не подвержен техническим ошибкам (-ДНК, -PLFA)
- + Можно использовать коллекционный материал

- Таксономическая точность определения диеты (+ДНК)
- Подвержен ошибкам в интерпретации (+PLFA, -ДНК)



Всё здорово, но как, где и почему?

- **Собрать и высушить** (+ очистить)

Спирт изменяет изотопную подпись

Насекомых лучше на вату или в солевой р-р

- **Взвесить и упаковать** в оловянные капсулы

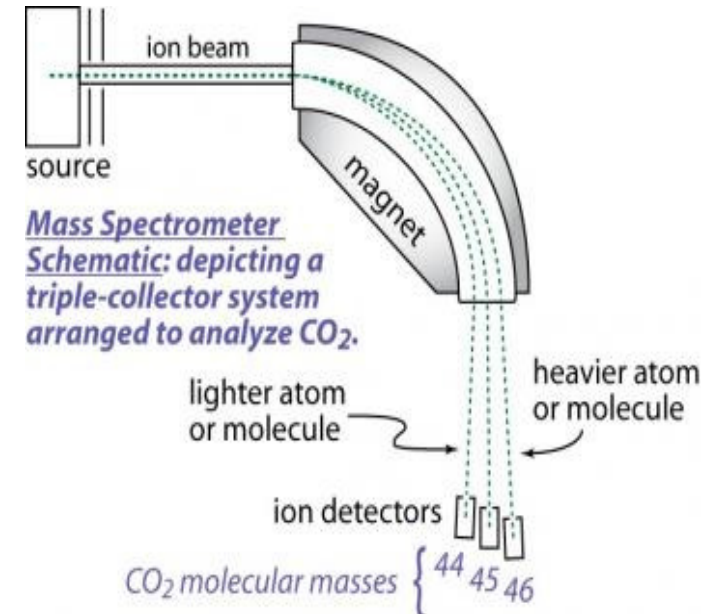
Размер навески зависит от %N и C:N

500 мкг для животных (мышцы, кровь, кость)

1500 мкг для растительных образцов

+ стандарты разного веса

- Сжечь до N_2 и CO_2 и **провести анализ** $^{12}C/^{13}C$ и $^{14}N/^{15}N$ на масс-спектрометре и элементном анализаторе с попутным определением общего содержания азота и углерода %N, %C.



Всё здорово, но как, где и почему?

- «Международный ценник» 10-15\$ за пробу
- Пробоподготовка своими руками сокращает затраты, но нужны микровесы
- Ближайшее место - **ЦКП СО РАН при Институте археологии и этнографии (Новосибирск)**

Центр коллективного пользования «Геохронология кайнозоя» (ЦКП "Геохронология Кайнозоя")

<http://www.ckp-rf.ru/ckp/3045/>

создан в 2007 году

АДРЕС

📍 Сибирский, Новосибирская область

📍 630128, г. Новосибирск, ул. Кутателадзе, 7/3

🌐 www.archaeology.nsc.ru

РУКОВОДИТЕЛЬ

👤 Зенин Василий Николаевич

☎ (383) 3165227

✉ vzenin@archaeology.nsc.ru

КОНТАКТНОЕ ЛИЦО

👤 Панов Всеволод Сергеевич

☎ (383) 3165430

✉ pvs7@yandex.ru

✉ pvs7zeitlos@gmail.com

