

## Biogeoquímica isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ ) del *Ursus Spelaeus* del yacimiento de Cova Eiros, Lugo.

### Isotopic Biogeochemistry ( $\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ ) of Cave Bear (*Ursus spelaeus*) from Cova Eiros Site, Lugo.

FERNANDEZ MOSQUERA, D.

The Cova Eiros site (Galicia, Spain) has been studied using the Stable Isotope Ratio Mass Spectrometry (SIRMS) technique. Bones from adult, juvenile and neonate bears have been analysed in order to measure their  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ . It has been observed great variability in that values, because of the sample characterization, can only be explained by physiological reasons. The palaeodietary and palaeoenvironmental results can be compared to others obtained for several Cave Bear european populations.

**Key words:**  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , collagen, Cave Bear, paleodiets.

FERNANDEZ MOSQUERA, D. (Instituto Universitario de Xeoloxía. Universidade da Coruña. Campus da Zapateira s/n, 15071. A Coruña. España. E-mail: xemos@mail2.udc.es.).

## 1. INTRODUCCION

La medida de abundancias de isótopos estables de carbono y nitrógeno en tejidos animales es una técnica habitual en la ecología con distintas aplicaciones en función del origen y los procesos de formación del tejido en cada caso.

Las moléculas portadoras del isótopo pesado de un elemento tienen distintas propiedades físicas y químico-físicas que las del isótopo ligero. Esto da lugar a un comportamiento distinto debido a la diferente masa en procesos físicos como difusión a través de membranas o tejidos, reacciones como respiración o fotosíntesis. Estos efectos se reflejan en el fraccionamiento isotópico, que explica la distinta abundancia relativa del isótopo pesado respecto al ligero al final del proceso. Para cuantificar este proceso, se utiliza la técnica de Espectrometría de Masas de Relaciones Isotópicas Estables (SIRMS). La relación atómica del isótopo pesado respecto al ligero ( $R_x = {}^mX/{}^nX$ ,  $m > n$ ) de la muestra se compara con la de un material estándar de referencia. La diferencia entre ambas se expresa en unidades «delta» ( $\delta$ ), que se calculan por la fórmula:

$$\delta(\%) = [(R_{\text{muestra}} - R_{\text{referencia}}) / R_{\text{referencia}}] \times 1000$$

Los isótopos  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$  pese a tener unas abundancias naturales muy bajas (1.15-0.99% y 0.3663% respectivamente) pueden ser medidos con esta técnica, cuya utilidad en estudios ecológicos abarca desde la determinación de ciclos biogeoquímicos de estos elementos hasta el seguimiento de cadenas tróficas en ecosistemas marinos y terrestres. Una revisión de las facetas de esta técnica en la ecología la podemos

encontrar en LAJTHA & MICHENER, 1994, donde no sólo se consideran las aplicaciones sino también los fundamentos y los distintos procedimientos instrumentales.

### 1.1. $^{13}\text{C}$ y $^{15}\text{N}$ en restos fósiles

La abundancia en  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$  en los tejidos animales está relacionada con la materia que ingieren y utilizan en su metabolismo (AMBROSE & DE NIRO, 1986, 1989). En los restos fósiles, el colágeno constituye el 90% de la materia orgánica y su concentración en estos isótopos refleja la media acumulada durante toda la vida del organismo (CORMIE & SCHWARTZ, 1994; LIBBY ET AL., 1964; NEUBERGER & RICHARDS, 1964).

En la base de la cadena trófica terrestre se encuentran las plantas fotosintéticas. Dependiendo de la ruta fotosintética que sigan, fijarán el  $^{13}\text{CO}_2$  atmosférico en mayor o menor medida. Así, en base a sus  $\delta^{13}\text{C}$  podemos distinguir entre plantas  $\text{C}_3$  o  $\text{C}_4$ . Las plantas  $\text{C}_3$  son básicamente árboles y plantas herbáceas que se distribuyen en climas templados y fríos y presentan un  $\delta^{13}\text{C}$  que varía entre  $-30\%$  y  $-21\%$  con una media de  $-26.5 \pm 2\%$ . Las plantas  $\text{C}_4$  se distribuyen principalmente en climas tropicales y su  $\delta^{13}\text{C}$  varía entre  $-15\%$  y  $-7\%$  con una media de  $-12.5 \pm 1\%$  (O'LEARY, 1981, 1988). Estos valores se reflejan en el colágeno óseo de los herbívoros consumidores de estas plantas con un enriquecimiento medio del 5% en  $^{13}\text{C}$  (LEE THORP ET AL., 1989; SCHÖNINGER & DE NIRO, 1984); de esta manera los herbívoros que consuman 100% plantas  $\text{C}_3$  tendrían una señal

$\delta^{13}\text{C} \approx -21.5\%$  y para los que consuman 100% plantas  $\text{C}_4$  sería  $\delta^{13}\text{C} \approx -7.5\%$  (VAN DER MERWE, 1982; VOGEL, 1978). Carnívoros y omnívoros tienen valores de  $\delta^{13}\text{C}$  influidos por la composición isotópica de los animales que son sus presas, aunque el enriquecimiento entre el  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno de presa y depredador es menor que en el caso de los herbívoros y ronda el 1‰ (SCHOENINGER & DE NIRO, 1984).

Por lo que al  $^{15}\text{N}$  se refiere, su concentración en las plantas depende principalmente del suelo y el mecanismo de incorporación del  $\text{N}_2$  que utilicen. El  $\delta^{15}\text{N}$  del suelo presenta un gran rango de variación (desde  $-7\%$  hasta  $20\%$ ) en función de las condiciones ambientales, acidez y edad entre otros factores (AMBROSE, 1993; AMBROSE & DE NIRO, 1986, 1989; WADA ET AL., 1975). Además según las plantas sean fijadoras de  $\text{N}_2$ , como las leguminosas, o no fijadoras presentarán valores de  $\delta^{15}\text{N}$  más reducidos o mayores respectivamente (DE NIRO & EPSTEIN, 1981; KOHL & SHEARER, 1980; RENNIE ET AL., 1976). El fraccionamiento isotópico que sufre el  $^{15}\text{N}$  en las sucesivas etapas de la cadena trófica varía entre el 3-4‰ (AMBROSE & DE NIRO, 1984; SCHOENINGER & DE NIRO, 1986; SEALY ET AL., 1987) para todas las especies en ecosistemas terrestres, aunque diversos factores pueden potenciar o disminuir este fraccionamiento.

Dada la localización de la muestra estudiada en este trabajo, un yacimiento pleistoceno de *Ursus spelaeus*, nos vamos a limitar a los datos existentes sobre fauna pleistocena europea. Así, podemos encontrar valores representativos de la distin-

ción entre herbívoros y carnívoros en los trabajos de BOCHERENS & FOGEL (1995) y BOCHERENS ET AL. (1997). En el primero de ellos, sobre restos procedentes de Kent Cavern (Gran Bretaña) obtuvieron  $\delta^{13}\text{C} = -19,5 \pm 0,9\%$  y  $\delta^{15}\text{N} = 6,3 \pm 1,6\%$  (n=33) para herbívoros y  $\delta^{13}\text{C} = -19,5 \pm 0,5\%$  y  $\delta^{15}\text{N} = 10,2 \pm 1,4\%$  (n=20) para carnívoros; en el segundo, en restos procedentes de Sclayn Cave (Bélgica) obtuvieron  $\delta^{13}\text{C} = -20,9 \pm 0,6\%$  (n=20) y  $\delta^{15}\text{N} = 5 \pm 0,8\%$  (n=10) en los herbívoros y  $\delta^{13}\text{C} = -19,5 \pm 0,3\%$  (n=11) y  $\delta^{15}\text{N} = 9,3 \pm 0,6\%$  (n=6) en los carnívoros.

### 1.2. Factores que afectan a la concentración de $^{13}\text{C}$ y $^{15}\text{N}$

Se ha observado que diversas condiciones ambientales pueden inducir cambios en la concentración de  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$  de los tejidos animales tanto de forma directa por los cambios fisiológicos que producen, como de forma indirecta a través de su influencia en suelos y plantas.

Para el  $^{13}\text{C}$  las medidas efectuadas sobre herbívoros africanos contemporáneos han demostrado que los que vivían en bosques cerrados presentaban un  $\delta^{13}\text{C}$  más negativo que los que vivían en ambientes más abiertos. Esto es debido al reciclaje de la materia orgánica (efecto «canopy») empobrecida en  $^{13}\text{C}$  que se produce en estos densos bosques tropicales (AMBROSE & DE NIRO, 1989; VAN DER MERWE ET AL., 1988).

La variación en  $^{15}\text{N}$  presenta más matices. Condiciones climáticas de aridez inhiben la fijación de  $\text{N}_2$  atmosférico en el suelo aumentando su  $\delta^{15}\text{N}$  (BATE, 1981; GRANHALL, 1981); además en especies

que necesitan beber agua, la falta de ésta provoca el reciclaje de la urea que también redundará en un aumento del  $\delta^{15}\text{N}$  en el organismo (AMBROSE & DE NIRO, 1986). Durante la lactancia de los mamíferos, el alimento que ingieren las crías está a un nivel trófico por encima del que ingiere la madre (FOGEL ET AL., 1989), por lo que su  $\delta^{15}\text{N}$  será un 3‰ aproximadamente más alto que el de su madre. Por último, rumiantes y no rumiantes presentan distintos  $\delta^{15}\text{N}$  en función del contenido protéico de las plantas que ingieren unos y otros, siendo menor para los rumiantes (SEALY ET AL., 1987).

### 1.3. *Preservación de las concentraciones originales de $^{13}\text{C}$ y $^{15}\text{N}$*

Para obtener información paleoambiental a partir de las concentraciones de los isótopos  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$  es necesario establecer que la señal que se obtiene del resto fósil es fiel reflejo de la que acumuló durante toda su vida. La alteración diagenética post-enterramiento del hueso puede modificar la señal isotópica del colágeno. La alteración microbiana puede cambiar los  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  según los aminoácidos que degradan preferencialmente (TUROSS ET AL., 1988; TURBAN-JUST & SCHRAMM, 1998). Los contaminantes húmicos del suelo donde ha sido enterrado reducen el  $\delta^{13}\text{C}$  (BOCHERENS ET AL., 1997). También se ve afectada por la propia estructura del hueso, así huesos con estructura más esponjosa como las vértebras son más susceptibles de sufrir alteración diagenética de la señal isotópica.

La relación C/N del colágeno de mamíferos actuales varía entre 2.9-3.6 (DE NIRO

ET AL., 1985) por lo que podemos utilizar este dato como indicador de la conservación de la señal isotópica; los restos fósiles cuya relación C/N colagénica se encuentren fuera de este rango serán descartados para la interpretación de los datos. Además se ha comprobado que existe una relación directa entre la cantidad de nitrógeno que existe en el hueso y la cantidad de colágeno que es posible extraer (IACUMIN ET AL., 1996). El porcentaje de nitrógeno para huesos de mamíferos actuales es  $4.4 \pm 0.5\%$  (BOCHERENS ET AL., 1997) por lo que un análisis elemental previo del polvo óseo permite comprobar el estado de conservación del colágeno de la muestra.

## 2. MATERIAL Y METODOS

El yacimiento de Cova Eiros ( $42^{\circ}\text{N}$   $16^{\circ}\text{W}$ ;  $7^{\circ}\text{N}$   $12^{\circ}\text{W}$ ) se halla en la Serra de Ouribio, al Este de la provincia de Lugo, a 780m de altura sobre el nivel del mar (ver fig. 1). Está situada sobre la caliza de

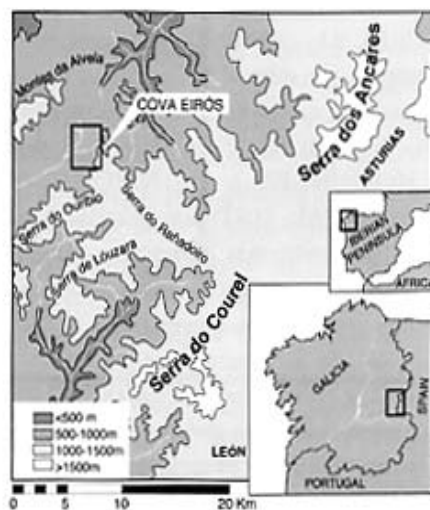


Fig. 1. Situación del yacimiento.

Candana, del Cámbrico Inferior (I.G.M.E., 1980). Es, hasta el momento el yacimiento más occidental de *Ursus spelaeus* de Europa y ha sido estudiado por GRANDAL ET AL., (1993, 1997a, 1997b).

Todas las muestras analizadas en este trabajo proceden del mismo nivel estratigráfico, de potencia 72 cm formado por alternancias de arcillas y suelos estalagmáticos. Se dató por <sup>14</sup>C AMS un hueso de este nivel en 24.090±440 años B.P., valor que aplicamos al resto de los huesos hallados en el mismo nivel.

Con el fin de comprobar si el tipo de hueso tenía influencia en la posibilidad de recuperar colágeno, se hizo un análisis preliminar del contenido en carbono y nitrógeno en vértebras, de tejido esponjoso, y huesos largos más compactos de la muestra que se iba a estudiar. Los resultados se presentan en la tabla 1:

**TABLA 1. Análisis elemental de muestras de diferente tejido óseo.**

	%C	%N	C/N
<b>Vertebras</b>			
F-1	4.10	0.04	119.8
F-3	1.05	0.04	30.62
F-9	2.14	0.05	50.65
F-10	1.89	0.05	44.1
<b>Hueso largo</b>			
F-2	7.3	2.15	3.96
F-4	5.81	1.61	4.21
F-6	6.14	1.75	4.04
F-7	3.83	0.91	4.91
F-8	2.5	0.46	6.34

Al conservar los huesos largos más compactos un porcentaje mayor de nitrógeno, se escogieron para el análisis defini-

tivo 30 costillas de individuos adultos y juveniles (serie EUSA) y 30 huesos largos de neonato (serie EUSJ).

Todos los huesos fueron lavados repetidas veces en baño de ultrasonidos con acetona y agua destilada, hasta que no se observó turbidez. Se pulverizó una cantidad aproximada de 1g de cada hueso en un molino de bolas de ágata hasta un tamaño mayor de 25 mm. Según IACUMIN ET AL. (1996), el contenido en nitrógeno del hueso es un indicador fiable de la recuperabilidad del colágeno óseo, por ello se analizaron 5 mg de polvo óseo de cada muestra en un Analizador Elemental (EA) Carlo-Erba 1108 con una reproducibilidad analítica mejor que el 0.1%. Para la



**Fig. 2. Protocolo analítico para la extracción del colágeno óseo. BOCHERENS ET AL., 1997.**

**TABLA 2. Resultados de los análisis SIRMS de las muestras cuya relación C/N oscila entre 2,9-3,6.**

número	muestra	%N óseo	rend(mg/gr)	%Ncol	%Ccol	$\delta^{15}\text{Ncol}$	$\delta^{13}\text{Ccol}$	C/Ncol
eusa-1	costilla	0,86	88	13,24	35,95	6,81	-21,64	3,2
eusa-3	costilla	1,25	80	11,21	28,17	6,00	-21,11	2,9
eusa-4	costilla	1,45	115,3	11,35	29,17	6,61	-21,08	3,0
eusa-6	costilla	2,59	92	12,54	32,32	5,88	-20,04	3,0
eusa-7	costilla	2,61	100	11,00	27,70	6,74	-20,68	2,9
eusa-8	costilla	3,20	82,75	12,62	32,27	5,72	-20,90	3,0
eusa-9	costilla	1,97	18,57	8,13	21,44	4,42	-20,78	3,1
eusa-10	costilla	3,04	120,4	12,86	32,41	6,01	-20,33	2,9
eusa-11	costilla	1,58	34,61	10,22	26,50	3,85	-22,22	3,0
eusa-12	costilla	1,29	29,2	11,31	28,07	6,44	-21,32	2,9
eusa-13	costilla	1,30	58,57	9,90	27,12	5,97	-20,68	3,2
eusa-14	costilla	2,32	104,4	11,68	31,65	6,94	-21,37	3,2
eusa-15	costilla	0,85	57,27	11,45	31,17	5,18	-21,30	3,2
eusa-16	costilla	2,31	73,6	3,24	8,19	5,28	-20,56	2,9
eusa-17	costilla	0,75	28,97	9,59	26,08	5,31	-21,27	3,2
eusa-18	costilla	2,75	142,3	12,53	33,65	6,13	-20,44	3,1
eusa-19	costilla	1,68	40,2	4,39	11,22	6,07	-21,20	3,0
eusa-22	costilla	2,88	172,59	12,64	33,65	6,43	-20,89	3,1
eusa-24	costilla	0,72	37,64	8,29	22,92	6,52	-21,44	3,2
eusa-29	costilla	1,06	37,58	8,35	22,34	5,13	-21,19	3,1
eusa-30	costilla	2,64	81,15	9,11	24,32	5,02	-21,03	3,1
eusa-31	costilla	2,27	95	8,42	21,00	5,53	-20,42	2,9
eusa-32	costilla	1,36	31,03	4,09	10,53	5,07	-21,23	3,0
eusj-2	húmero	2,88	82,92	5,92	16,06	9,15	-21,88	3,2
eusj-3	húmero	2,97	26,80	8,41	22,00	8,66	-21,62	3,1
eusj-5	húmero	2,61	64,58	7,65	19,26	9,04	-21,27	2,9
eusj-6	ulna	1,64	80,40	9,43	24,58	8,36	-21,06	3,0
eusj-7	ulna	1,31	71,67	4,01	11,11	7,52	-21,73	3,2
eusj-8	ulna	1,57	59,20	6,41	17,67	8,17	-21,70	3,2
eusj-9	ulna	3,17	194,80	9,64	26,31	8,33	-22,30	3,2
eusj-11	ulna	2,55	134,57	5,72	15,79	5,57	-21,30	3,2
eusj-13	fémur	3,04	95,77	8,00	22,35	8,86	-21,70	3,3
eusj-14	fémur	2,72	98,50	7,57	20,89	9,96	-21,88	3,2
eusj-15	tibia	0,52	36,97	3,38	10,50	9,09	-22,26	3,6
eusj-16	tibia	3,09	180,83	10,24	28,10	9,05	-22,45	3,2
eusj-17	tibia	1,93	114,06	8,28	23,67	9,23	-22,39	3,3
eusj-19	tibia	2,81	140,80	8,73	23,97	7,69	-21,79	3,2
eusj-20	tibia	2,52	115,00	8,09	22,67	8,27	-22,05	3,3
eusj-21	radio	2,56	101,92	5,35	16,20	6,73	-22,79	3,5
eusj-22	radio	2,51	161,79	9,66	26,40	9,18	-21,82	3,2
eusj-23	radio	3,36	146,40	8,61	24,02	6,67	-21,30	3,3
eusj-24	radio	3,05	114,07	8,64	23,57	7,25	-21,32	3,2
eusj-25	radio	2,26	88,00	7,85	21,84	7,85	-21,97	3,2
eusj-26	radio	1,77	67,20	4,00	11,91	9,04	-22,12	3,5
eusj-27	radio	3,1	127,92	8,53	23,32	8,47	-21,87	3,2
eusj-28	radio	3,01	97,60	7,35	20,29	8,52	-21,54	3,2
eusj-29	radio	3,15	125,00	7,64	21,34	9,13	-22,04	3,3
eusj-30	radio	2,43	114,44	8,36	22,99	5,16	-21,41	3,2

extracción del colágeno óseo se utilizaron entre 250 y 350 mg de polvo y se siguió el procedimiento de BOCHERENS ET AL., (1997), (ver figura 2). La señal isotópica del colágeno se midió en un Finigan Mat Delta Plus acoplado a un EA Carlo-Erba 1108, con una reproducibilidad analítica mejor que el 0.1‰ para el carbono y mejor que el 0.2‰ para el nitrógeno. Los resultados se refieren a los estándares PDB y N<sub>2</sub> atmosférico (MARIOTTI, 1984), respectivamente.

En el estudio estadístico de los datos, se utilizó el análisis cluster de K-medias. Se trata de un análisis exploratorio de los datos para formar grupos minimizando las distancias entre los miembros de un mismo grupo y maximizando las distancias entre grupos (MORRISON, 1990).

### 3. RESULTADOS

Los resultados de los análisis SIRMS de las series EUSA y EUSJ se muestran en la tabla 2. El colágeno que se considera (DE NIRO, 1985) isotópicamente bien conservado debe mostrar una relación C/N que oscile entre 2,9 y 3,6. De las muestras analizadas, 48 cumplieron este requisito y sus resultados se exponen en la tabla 2:

El porcentaje de nitrógeno en el hueso varía desde 0,72 hasta 3,2% en la serie EUSA y desde 0,52 hasta 3,36% en la serie EUSJ. Se observa una correlación significativa entre el porcentaje de nitrógeno y el rendimiento de la extracción del colágeno ( $r=0,6640$ ,  $p<0,0001$ ,  $n=48$ ; ver fig. 3).

El contenido en carbono y nitrógeno del colágeno extraído varía desde 8,19 hasta 35,95% y desde 3,24 hasta 13,24 respectivamente en la serie EUSA. En la

serie EUSJ estos porcentajes van desde 10,5 hasta 28,14% para el carbono y desde 3,38 hasta 10,24% para el nitrógeno. Existe una correlación muy significativa entre el porcentaje de carbono y el de nitrógeno para ambas series ( $r=0,9910$ ,  $p<0,0001$ ,  $n=48$ ; ver fig. 4).

Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  del colágeno están entre -22,79 y -21,06‰ y desde 5,16 hasta 9,96‰ respectivamente en la serie EUSJ. La variación en la serie EUSA es de -22,22 hasta -20,44‰ en el  $\delta^{13}\text{C}$  y de 3,85 hasta 6,94‰ en el  $\delta^{15}\text{N}$ . Se realizó un análisis cluster de K-medias sobre el  $\delta^{15}\text{N}$  de la serie EUSA obteniéndose 2 grupos ( $p<0,001$  al 95% de significación) en los que se hallaron los valores medios de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$ :

**TABLA 3. Distribución en grupos de la serie EUSA según el análisis cluster de K-medias.**

	nº muestras	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
Grupo 1	14	-20,93±0,46‰	6,30±0,38‰
Grupo 2	8	-20,97±0,34	5,11±0,32‰

### 4. DISCUSION

La gran variabilidad observada en el contenido en carbono y nitrógeno del colágeno extraído puede poner en duda que el resultado de la extracción sea realmente colágeno, pues la concentración de ambos tendría que venir determinada por su relación estequiométrica. Sin embargo el hecho de que la correlación sea tan alta (ver fig. 3) nos permite descartar que el carbono y el nitrógeno provengan de otras fuentes que no sean el

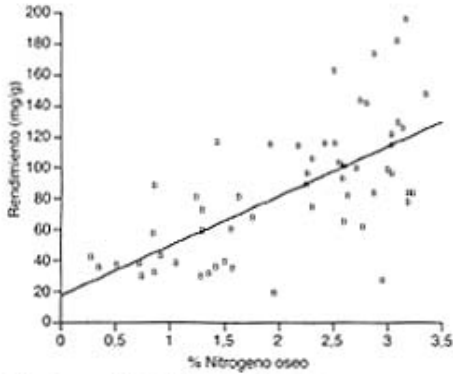


Fig. 3.  $\text{rend} = 17,825 + 31,812 * \% \text{Noseoso}$ ,  $r = 0,664$  ( $p < 0,0001$ ).

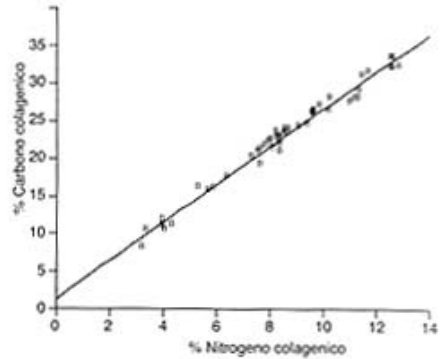


Fig. 4.  $\% \text{Ccol} = 1,402 + 2,52 * \% \text{Ncol}$ .  $r = 0,991$  ( $p < 0,0001$ ,  $n = 48$ ).

colágeno, pues en ese caso deberían guardar otra proporción distinta. La variabilidad podría deberse a la alteración post-enterramiento de los restos óseos, sin que se observen pérdidas preferenciales de uno u otro elemento. Además, el contenido medio en carbono y nitrógeno del colágeno recuperado de la serie EUSJ ( $\% \text{N} = 7,32 \pm 2,29$  y  $\% \text{C} = 20,84 \pm 9,55$ ) es menor que en el del recuperado en la serie EUSA ( $\% \text{N} = 9,92 \pm 2,87$  y  $\% \text{C} = 25,99 \pm 7,58$ ), lo que quizá tenga que ver con la estructura del hueso. Los huesos de una cría de edad tan temprana como la de un neonato tendrían una estructura más porosa que permitiría una alteración mayor de la materia orgánica del hueso.

La señal isotópica del colágeno fósil está condicionada fundamentalmente por dos factores: metabólicos y ambientales. Para delimitar el peso de uno y otro en la interpretación de los resultados es de suma importancia la caracterización paleontológica de los restos que

se van a estudiar. Todas las muestras estudiadas se encuentran en el mismo nivel estratigráfico y son contemporáneas, y podemos asumir que corresponden a las mismas condiciones climáticas. Al proceder todas del mismo yacimiento, variables como suelo y vegetación han debido influir en todas las muestras por igual. WANG & CERLING, 1994, proponen que la variación entre individuos de la misma especie procedentes de la misma zona no es mayor que  $\pm 0,5\%$  para el  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\pm 0,6\%$  para el  $\delta^{15}\text{N}$ . De esta manera, la variabilidad observada en estas medidas debería explicarse en función de factores metabólicos principalmente y no ambientales.

• *Serie EUSA:*

La variabilidad en el  $\delta^{15}\text{N}$  medido en esta serie es más que notable, hasta el punto de que la interpretación en base a los valores extremos da lugar conclusiones totalmente distintas. La distribución obte-



nida por el análisis cluster de K-medias divide la muestra en dos grupos claramente diferenciados en sus valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  integrados por un 63% y un 37% de las muestras estudiadas (Grupo 1 y 2 respectivamente; ver tabla 3). Esta relación coincide con la encontrada para individuos juveniles (65%) y adultos (35%) en este yacimiento (GRANDAL, 1993) y con la que se encuentra mayoritariamente en otros yacimientos europeos (KURTEN, 1958). Para el grupo de los juveniles (Grupo 1), el valor medio de  $\delta^{15}\text{N}$  (ver tabla 3) es superior al de los adultos (Grupo 2), lo que podría ser consecuencia de un lento reemplazo de la señal heredada de su etapa de lactancia. En cuanto al  $\delta^{13}\text{C}$ , el valor del grupo de juveniles es el mismo que en el grupo de los adultos, lo que se debe a 2 factores principalmente. El primero es la menor cuantía del fraccionamiento isotópico que sufre el carbono por lo que las diferencias entre los neonatos y los adultos son menores que en el caso del nitrógeno. El otro factor es que el reemplazo del carbono en los tejidos al ser más rápido explica que no existan diferencias entre juveniles y adultos.

Para este yacimiento, GRANDAL & VIDAL ROMANI (1997b), proponen que el periodo de ocupación de la cueva se habría producido durante un pequeña pulsación positiva durante la última deglaciación con temperaturas medias más bajas que en la actualidad. Por ello, los osos hibernarían durante más tiempo y se tendrían que refugiar en zonas de menor altitud, quedando además aislados respecto a otras poblaciones de la cordillera cantábrica. Siguiendo a los mismos autores, el periodo de hibernación sería más largo que

en el presente por lo que su influencia en la composición isotópica del colágeno fósil es más importante también. Durante la hibernación, el metabolismo de los lípidos (con un contenido en  $^{13}\text{C}$  menor que las demás fracciones del catabolismo energético) empobrece el contenido en  $^{13}\text{C}$  en el colágeno (BOCHERENS ET AL., 1994). Cuantas más hibernaciones hubiese soportado un animal, más apreciable sería este empobrecimiento y más negativo su  $\delta^{13}\text{C}$ .

A la hora de interpretar los resultados, el  $\delta^{15}\text{N}$  de los adultos reflejaría más fielmente las condiciones ambientales al no verse influido por la señal heredada de la lactancia. En el caso del  $\delta^{13}\text{C}$ , la diferencia entre adultos y juveniles no existe. De esta manera, podemos comparar los valores obtenidos para los osos de este yacimiento con los encontrados en otros estudios publicados hasta la fecha (ver tabla 4):

**TABLA 4.** Datos <sup>(1,2,3)</sup> de BOCHERENS ET AL., 1997.\* n=22 para  $\delta^{13}\text{C}$  y n=8 para  $\delta^{15}\text{N}$ .

Localidad	n	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
<sup>1</sup> Aldene (S Francia)	3	-20,8	3,1
<sup>2</sup> Mialet (S Francia)	5	-20,2	2,8
<sup>3</sup> Sclayn (Bélgica)	7	-22,1	4,9
Eiros (NW España)	*	-20,95	5,11

El resultado del  $\delta^{13}\text{C}$  en Eirós es comparable al de las dos primeras localidades y correspondería con una vegetación  $\text{C}_3$  en un ambiente distinto al de un bosque cerrado. También para Eirós, el  $\delta^{15}\text{N}$ , es sensiblemente superior y la diferencia podría estar en el distinto valor de partida para el  $^{15}\text{N}$  en los suelos del yacimiento

estudiado. La dieta sería estrictamente vegetariana, predominando las plantas leguminosas, fijadoras de nitrógeno, cuyo  $\delta^{15}\text{N}$  está en un rango de 0-3‰ (AMBROSE; 1993) que al sumarle el fraccionamiento del 3‰ daría cuenta del valor del  $\delta^{15}\text{N}$ .

Un caso especial es el EUSA-11. Las señales isotópicas tanto del  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  son notablemente distintas al resto de los de su serie. Su  $\delta^{15}\text{N}$  es más pequeño y el  $\delta^{13}\text{C}$  más negativo. En la literatura (WANG & CERLING, 1994) estos valores se consideran típicos de ambientes de bosque cerrado debido al efecto "canopy" de reciclaje de la materia orgánica. Así se explica la disminución del  $\delta^{13}\text{C}$  y la mayor fijación del  $\text{N}_2$  atmosférico en un suelo forestal húmedo, por lo que una interpretación posible podría ser el individuo pasó la mayor parte de su vida en un lugar distinto al de su muerte. La posible preferencia de microhabitats más cerrados por parte del *Ursus spelaeus* ha sido citada (BOCHERENS ET AL., 1997) como plausible explicación del valor más negativo del  $\delta^{13}\text{C}$  respecto a otros herbívoros. En este caso, todos los restos son de la misma especie que además estaría aislada de otras poblaciones. Otra explicación se basaría en el cambio en la señal isotópica ligada a la edad del individuo. En un individuo senil, el  $\delta^{13}\text{C}$  estaría más influenciado por las largas hibernaciones que otros más jóvenes, siendo por lo tanto más negativo. Respecto al  $\delta^{15}\text{N}$ , su diferencia respecto al valor medio que proponemos para los individuos adultos (mayor que 0.6‰ interindividuo) no estaría justificado por ningún efecto fisiológico que conozcamos ligado a la edad. Además, la renovación de los tejidos no se realiza a velocidad constante, sien-

do más intensa durante el crecimiento como vemos en el cambio de  $\delta^{15}\text{N}$  de neonatos a juveniles. En la madurez, esta tasa de renovación sería más pausada y los cambios en la composición isotópica del colágeno llevarían más tiempo. Esto, unido a que se desconocen las edades de los individuos a los que pertenecen los restos que se estudian, impide encontrar una relación cuantitativa que defina la magnitud de esta variación.

• *Serie EUSJ:*

Dada su condición de neonatos, la alimentación de los integrantes de esta serie debió ser exclusivamente la leche materna. Este alimento procede del metabolismo de los alimentos ingeridos por la madre, lo cual supone una etapa de fraccionamientos isotópicos adicional (BOCHERENS ET AL., 1994). El resultado es un nivel trófico superior para el lactante respecto a su madre. Los valores medios obtenidos en esta serie son  $\delta^{13}\text{C} = -21,84 \pm 0,36\text{‰}$  y  $\delta^{15}\text{N} = 8,61 \pm 0,66\text{‰}$  que un análisis t-Student encuentra significativamente distintos ( $p < 0,0001$ ) de los obtenidos en la serie EUSA.

La diferencia entre el  $\delta^{15}\text{N}$  de los neonatos y el  $\delta^{15}\text{N}$  del grupo de la serie EUSA identificado como adultos es de 3,5‰, valor que se corresponde con el esperado para un nivel trófico superior. Hay, sin embargo, valores claramente inferiores (eusj-11, eusj-21, eusj-23 y eusj-30; ver tabla 2) en esta serie que entran en el rango observado en la serie EUSA. Un hecho similar fue observado por FOGEL ET AL., 1984, en un estudio de la variación de  $\delta^{15}\text{N}$  en lactantes humanos; para

lactantes con una edad inferior a 2 meses no existían diferencias entre el  $\delta^{15}\text{N}$  de madre e hijo.

Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  son también más negativos (-0,86‰ entre los valores medios de  $\delta^{13}\text{C}$ ) que los de la serie EUSA. Al ser la leche materna un alimento muy rico en grasas y estar éstas empobrecidas en  $^{13}\text{C}$  respecto a las proteínas, una dieta como esta podría dar cuenta de los valores más negativos de  $\delta^{13}\text{C}$  respecto a una dieta más equilibrada en grasas y proteínas como la que tendrían los adultos.

## 5. CONCLUSIONES

Para abordar el estudio isotópico de restos fósiles es muy importante disponer de la mayor información posible acerca del yacimiento con el fin de minimizar otras variables que pueden influir en la interpretación de los datos isotópicos. Asimismo es importante disponer de un número suficiente de muestras para que la interpretación no se vea afectada por los datos anómalos.

En cuanto a nuestro yacimiento, los datos revelan un ambiente muy similar al de las poblaciones finipleistocenas de *Ursus spelaeus* estudiadas en el sur de

Francia. Esto correspondería a un ambiente distinto al de un bosque denso; la dieta sería vegetariana, de vegetación  $\text{C}_3$  con una proporción importante de plantas fijadoras de nitrógeno.

Cabe destacar que dadas las características de la muestra, las variaciones en las medidas de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  son probablemente debidas a causas fisiológicas. Caracterizando de esta manera la muestra, se llega al mismo resultado que WANG & CERLING (1994) en cuanto a que la variación entre individuos de la misma zona no es mayor que  $\pm 0,5\%$  para el  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\pm 0,6\%$  para el  $\delta^{15}\text{N}$ .

## 6. AGRADECIMIENTOS

Los análisis SIRMS del presente estudio han sido realizados en los SXAI de la Universidade da Coruña. Queremos agradecer especialmente el valioso apoyo y la dedicación inestimable recibida por parte de su equipo, encabezado por su Director, Dr Miguel Maestro Saavedra. Este trabajo ha sido subvencionado con cargo a los fondos de investigación proporcionados por el proyecto XUGA10308A97 y forma parte de la tesis doctoral del autor.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- AMBROSE, S. H. (1991). Effects of diet, climate and physiology on nitrogen isotope abundances in terrestrial foodwebs. *Journal of Archaeological Science* 18, pp.: 293-317
- AMBROSE, S. H. & DE NIRO, M. J. (1986). The isotopic ecology of East African mammals. *Oecologia* 69, pp.: 395-406.
- AMBROSE, S. H. & DE NIRO, M. J. (1989). Climate and habitat reconstruction using stable carbon and nitrogen isotope ratios of collagen in prehistoric herbivore teeth from Kenya. *Quaternary Research* 31, pp.: 407-422.
- BATE, G. C. (1981). Nitrogen cycling in savanna ecosystem. (In: *Terrestrial Nitrogen Cycles. Ecological Bulletins* 33. F. E. Clark & T. E. Rosswall, Eds). pp.: 463-475. Stockholm
- BOCHERENS, H.; FIZET, M.; MARIOTTI, A.; LANGE-BADRE, B.; VANDERMEERSCH, B.; BOREL, J. P. & BELLON, G. (1991). Isotopic biogeochemistry ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) of fossil vertebrate collagen: implications for the study of fossil food web including Neandertal Man. *Journal of Human Evolution* 20, pp.: 481-492.
- BOCHERENS, H. & FOGEL, M. L. (1995). Trophic structure and climatic information from isotopic signatures in Pleistocene cave fauna of Southern England. *Journal of Archaeological Science* 22, pp.: 327-340.
- BOCHERENS, H.; PACAUD, G.; LAZAREV, P. & MARIOTTI, A. (1996). Stable isotope abundances ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) in collagen and soft tissues from Pleistocene mammals from Yakutia. Implications for the paleobiology of the mammoth steppe. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 126, pp.: 31-44.
- BOCHERENS, H.; TRESSET, A.; WIEDEMANN, F.; GILIGNY, F.; LAFAGE, F.; LANCHON, Y. & MARIOTTI, A. (1997a). Diagenetic evolution of mammal bones in two French Neolithic sites. *Bull. Soc. geol. France* 168, pp.: 555-564.
- BOCHERENS, H.; BILLIOU, D.; PATOU-MATHIS, M.; BONJEAN, D.; OTTE, M. & MARIOTTI, A. (1997b). Paleobiological implications of the isotopic signatures ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) of fossil mammal collagen in Scladina Cave (Sclayn, Belgium). *Quaternary Research* 48, pp.: 370-380.
- CORMIE, A. B. & SCHWARTZ, H. P. (1994). Stable isotopes of nitrogen and carbon of North American white-tailed deer and implications for paleodietary and other food web studies. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 107, pp.: 227-241.
- DE NIRO, M. J. & EPSTEIN, S. (1981). Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42, pp.: 495-506.
- DE NIRO, M. J. (1985). Post-mortem preservation and alteration of *in vivo* bone collagen isotope ratios in relation to paleodietary reconstruction. *Nature* 317, pp.: 806-809.
- GRANDAL D'ANGLADE, A. (1993). *El oso de las cavernas en Galicia: el yacimiento de Cova Eirós*. Lab. Xeol. de Laxe. Serie Nova Terra, 8: 285pp.
- GRANDAL D'ANGLADE, A., LOPEZ GONZALEZ, F. & VIDAL ROMANI, J. R. (1997a). Condicionantes en la distribución de macromamíferos en Galicia (NW Península Ibérica) durante el Cuaternario superior. *Cadernos do Laboratorio Xeolóxico de Laxe* 22, pp.: 43-66.
- GRANDAL D'ANGLADE, A. & VIDAL ROMANI, J. R. (1997b). A population study on the cave bear (*Ursus spelaeus* Ros.-Hein.) from Cova Eirós (Triacastela, Galicia, Spain). *Geobios* 30, pp.: 723-731.
- GRANHALL, U. (1981). Biological nitrogen fixation in relation to environmental factors and functioning of natural ecosystems. (In: *Terrestrial Nitrogen Cycles. Ecological Bulletins* 33. F. E. Clark & T. E. Rosswall, Eds). pp.: 131-144. Stockholm.
- IACUMIN, P.; BOCHERENS, H.; MARIOTTI, A. & LONGINELLI, A. (1996). An isotopic palaeoenvironmental study of human skeletal remains from the Nile Valley. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 126, pp.: 15-30.
- I.G.M.E. (1980). Mapa geológico de España. Sarria. Hoja 124 (8-8).
- KOCH, P. L.; FOGEL, M. L. & TUROSS, N. (1994). Tracing the diets of fossil animals using stable isotopes. (In: *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Sciences. Serie Methods in Ecology*. K. Lajtha & R. H. Michener, Eds.. Blackwell Scientific Publications) pp.: 63-92. Oxford.
- KOHL, D. H. & SHEARER, G. (1980). Isotopic

- fractionation associated with symbiotic  $N_2$  fixation and uptake of  $NO_3^-$  by plants. *Plant Physiology* 66, pp.: 51-56.
- KURTEN, B. (1958). Life and death of the pleistocene Cave Bear. A study in paleoecology. *Acta Zoologica Fennica* 95, 59 pp.
- LAJTHA, K. & MICHENER, R. H. (1994). *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Serie Methods in Ecology. Blackwell Scientific Publications. pp.:316. Oxford.
- LEE-THORP, J. A.; SEALY, J. C. & VAN DER MERWE, N. J. (1989). Stable carbon isotope ratio differences between bone collagen and bone apatite and their relationship to diet. *Journal of Archaeological Science* 16, pp.: 585-599.
- LIBBY, W. F.; PANDOLFI, L. J.; PAYTON, P. H.; MARSHALL J. III; BECKER, B. & GIERTZ-SIEBENLIST, V. (1964). Replacement rates for human tissue from atmospheric radiocarbon. *Science* 146, pp.: 1170-1172.
- MORRISON, D. F. (1990). *Multivariate statistical methods*. McGraw-Hill Series in Probability and Statistics. McGraw-Hill. pp.495.
- MARIOTTI, A. (1984). Natural  $^{15}N$  abundance measurements and atmospheric nitrogen standard calibration. *Nature* 303, pp.: 251-252.
- NEUBERGER, A. & RICHARDSON, F. F. (1964). Protein turnover in mammalian tissues. (In: *Mammalian Protein Metabolism*. N. H. MUNRO & J.B. ALLISON, Eds. Academic Press). pp.: 243-290. New York.
- O'LEARY, M. H. (1981). Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry* 20, pp.: 553-567.
- O'LEARY, M. H. (1988). Carbon isotopes in photosynthesis. *Bioscience* 38, pp.: 328-336.
- RENNIE, D. A.; PAUL, E. A. & JOHNS, L. E. (1976). Natural nitrogen-15 abundance of soil and plant samples. *Canadian Journal of Soil Science* 56, pp.: 43-50.
- SCHOENINGER, M. J. & DE NIRO, M. J. (1984). Nitrogen and carbon isotope composition of bone collagen from marine and terrestrial animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48, pp.: 625-639.
- SEALY, J. C.; VAN DER MERWE, N. J.; LEE-THORP, J. A. & LANHAM, J. L. (1987). Nitrogen isotopic ecology in southern Africa: implications for environmental and dietary tracing. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51, pp.: 2707-2717.
- TURBAN-JUST, S. & SCHRAMM, S. (1998). Stable carbon and nitrogen isotope ratios of individual amino acids give new insights into bone collagen degradation. *Bull. Soc. geol. France* t. 169, 1. pp.: 109-114.
- TUROSS, N.; FOGEL, M. L. & HARE, P. E. (1988). Variability in the preservation of the isotopic composition of collagen from fossil bone. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52, pp.: 929-935.
- VAN DER MERWE, N. J. (1982). Carbon isotopes, photosynthesis and archaeology. *Am. Sci.* 70, pp.: 596-606.
- VAN DER MERWE, N. J., LEE-THORP, J. A. & BELL, R.H.V. (1988). Carbon isotopes as indicators of elephants diets and African environments. *African Journal of Ecology* 26, pp.: 163-172.
- VOGEL, J. C. (1978). Isotopic assesment of the dietary habits of ungulates. *South African Journal of Science*. 74, 298-301.