

Н. В. ПОСПЕЛОВА, М. В. НЕХОРОШЕВ

**СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ
В МЯГКИХ ТКАНЯХ КУЛЬТИВИРУЕМОЙ ЧЕРНОМОРСКОЙ МИДИИ
*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS***

Содержание каротиноидов в тканях коллекторной черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* варьирует в зависимости от сезона, определяется концентрацией пигментов в гепатопанкреасе и отражает изменение биомассы кормового фитопланктона. В гонадах мидий этот показатель не зависит от пола и стадии зрелости гонад.

Ключевые слова: черноморская мидия, каротиноиды, кормовая база, гепатопанкреас, гонады.

Каротиноиды играют важную роль в процессах размножения, роста и развития живых организмов, поэтому их исследование имеет как теоретическую, так и практическую ценность. Они широко используются в качестве трофодинамических индикаторов в пищевых цепях, а их содержание в тканях гидробионтов является важным биохимическим показателем состояния организмов в окружающей среде [2, 9]. В литературе накоплен обширный материал, касающийся изменения концентрации каротиноидов в организмах гидробионтов как одного из молекулярных механизмов адаптации организма к действию неблагоприятных факторов [2, 4, 9].

Черноморская мидия *Mytilus galloprovincialis* – один из ценнейших гидробионтов, содержащих широкий спектр биологически активных веществ, в том числе каротиноидных пигментов, содержание которых у данного вида превышает таковое у гидробионтов других систематических групп и является их специфической особенностью [9]. Известно, что моллюски не синтезируют каротиноиды *de novo*, а получают их с пищей, затем трансформируют и транспортируют в ткани [17]. Их динамика в тканях мидий связана с условиями обитания (загрязнением, характером питания, физиологическим состоянием). К сожалению, работ, посвященных связи этого показателя с кормовыми условиями, а также с физиологическими особенностями моллюсков (размер, созревание гонад), немного [10, 14, 15, 16].

В связи с этим представляет интерес изучение содержания каротиноидов в тканях мидий в зависимости от их физиологического состояния и от кормовых условий среды.

Материал и методы. Материал собран в 2001 – 2003 гг. на экспериментальной мидийно-устричной ферме, созданной на базе ИнБЮМ. Мидий размером 5 – 6 см (возраст – 1,5 – 2 года со времени установки экспериментального коллектора) отбирали с коллекторов фермы по 40 – 60 экз. для исследования гонад и по 10 – 15 экз. для исследования других тканей. Моллюсков выдерживали в профильтрованной морской воде с постоянной аэрацией не менее 4 ч (до опорожнения пищеварительного тракта – появления почти пустых перитрофических оболочек). Мидий препарировали и образцы тканей гонад, жабр, гепатопанкреаса экстрагировали 90 % ацетоном. Содержание каротиноидов в мягких тканях мидий анализировали по [6]. Концентрацию каротиноидов определяли по оптической плотности экстрактов в области 450 нм на спектрофотометре «Спекол-10». Содержание сухого веса проб определяли весовым методом после их высушивания при 105⁰С до постоянного веса. Данные по видовому составу и биомассе фитопланктона в районе мидийной фермы в период сбора материала предоставлены М.И. Сеничевой. Результаты исследований обработаны статистически. В таблицах и на рисунках результаты представлены как $\bar{x} \pm \Delta x$.

Результаты. Нами исследована динамика содержания каротиноидов в гонадах самцов и самок мидии, проходящих разные стадии репродуктивного цикла (табл. 1). Эти выборки были наиболее показательны по количеству моллюсков в пробах. В феврале 2002 г. (в период массового нереста мидий) различие в содержании пигментов в

© Н. В. Поспелова, М. В. Нехорошев, 2009

зависимости от пола было достоверным. Содержание каротиноидов в гонадах самок было в 2 раза больше, чем у самцов. В остальные периоды достоверных различий в содержании каротиноидов в гонадах самцов и самок не обнаружено. Ранее отмечено, что практически во все сезоны средние показатели содержания каротиноидов выше у самок [12].

Таблица 1. Содержание каротиноидов в гонадах мидий в зависимости от пола
Table 1. Carotenoid content in mussel gonads depending on state

Месяцы, стадии зрелости	Содержание каротиноидов, мг/100 г сухого веса						Достоверность различий t, P
	самки			самцы			
	n	$\bar{x} \pm \Delta x$	CV	n	$\bar{x} \pm \Delta x$	CV	
Декабрь 2001 Стадия зрелости 1-6	26	16,67±3,71	43,5	33	13,09±2,07	66,5	t=1,65< t _{табл} =2,00 P<0,05
Февраль 2002 Стадия зрелости 5	23	14,03±3,13	54,8	20	7,01±1,74	56,4	t=3,86> t _{табл} =2,02 P<0,05
Май 2002 Стадия зрелости 1, 2, 4	19	16,07±7,99	77,0	22	12,88±3,45	61,2	t=0,81< t _{табл} =2,02 P<0,05

Предполагают, что степень зрелости гонад также может влиять на уровень каротиноидов в генеративной ткани [14, 16].

В декабре 2001 г. хорошая кормовая база (доминировала кокколитофорид *Emiliania huxleyi* – кормовой объект моллюсков), а также благоприятная температура (+10°C) вызвали третий пик нереста на ферме, поэтому в пробах встречались моллюски, проходящие от 1-й до 6-й стадии репродуктивного цикла. Это позволило нам проанализировать концентрацию пигментов в гонадах в зависимости от стадии зрелости (рис. 1).

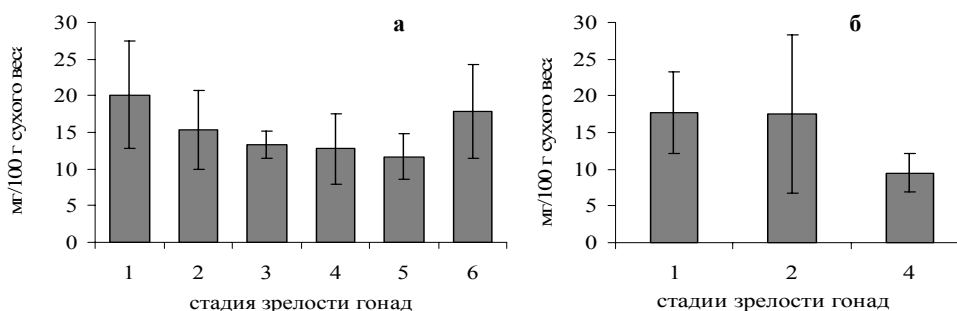


Рисунок 1. Содержание каротиноидов ($\bar{x} \pm \Delta x$) в гонадах мидий в зависимости от стадии зрелости (а – декабрь 2001 г., б – май 2002 г.)
Figure 1. Carotenoid content ($\bar{x} \pm \Delta x$) in gonads of mussels depending on a maturity stage (a – December, 2001, b – May, 2002)

Доля особей в декабре на 1-й стадии составила 15% выборки, 2 и 5-й – по 25%, 3-й – 21,6%, 4 и 6-й стадиях – по 6,7%. Также показательна выборка за май 2002 г., когда в пробах встречались мидии, проходящие 1, 2 и 4 стадии (1 и 2-я стадии составили по 26 % выборки, 4-я – 48 %) Достоверных различий в содержании каротиноидов в гонадах от 1-й до 6-й стадий зрелости не обнаружено (рис. 1). Таким образом, степень зрелости гонад не влияет на относительное содержание в них каротиноидов. В связи с тем, что нами не выявлены различия в содержании каротиноидов в гонадах в зависимости от пола и стадии зрелости, для оценки сезонной вариабельности исследуемого показателя в различных органах мидии и выделения влияния факторов среды отбирали мидий, про-

ходящих 3-4 стадии репродуктивного цикла (активный гаметогенез и преднерестовая стадия).

Основной вклад в сезонные изменения содержания каротиноидов в тканях вносит гепатопанкреас (табл. 2). Содержание этих соединений в пищеварительной железе в 10 – 28 раз превосходит таковое в гонадах и жабрах.

Таблица 2. Сезонная динамика содержания каротиноидов в мягких тканях мидии
Table 2. Seasonal dynamics of carotenoid content in soft tissues of mussel

Месяц	мг/100 г сухого веса, $\bar{x} \pm \Delta x$			
	гонады	жабры	гепатопанкреас	среднее для всей мидии
Сентябрь 2002	10,44 $\pm$ 3,03	9,75 $\pm$ 1,21	280,94 $\pm$ 14,13	76,61 $\pm$ 11,24
Февраль 2003	11,80 $\pm$ 4,03	7,10 $\pm$ 2,62	129,51 $\pm$ 24,70	46,40 $\pm$ 8,37
Апрель 2003	9,09 $\pm$ 2,36	8,87 $\pm$ 2,32	98,82 $\pm$ 20,91	30,35 $\pm$ 5,41
Август 2003	4,86 $\pm$ 1,97	6,40 $\pm$ 1,56	66,08 $\pm$ 13,52	20,28 $\pm$ 4,12
Ноябрь 2003	14,63 $\pm$ 5,28	7,46 $\pm$ 1,63	169,60 $\pm$ 23,94	52,93 $\pm$ 9,60

Изменения исследуемого показателя коррелируют с динамикой кормового фитопланктона ($r = 0,80$) и практически не зависят от его суммарной биомассы. На пики массового развития кормовых видов микроводорослей приходилось увеличение содержания каротиноидов в гепатопанкреасе моллюсков (рис. 2).

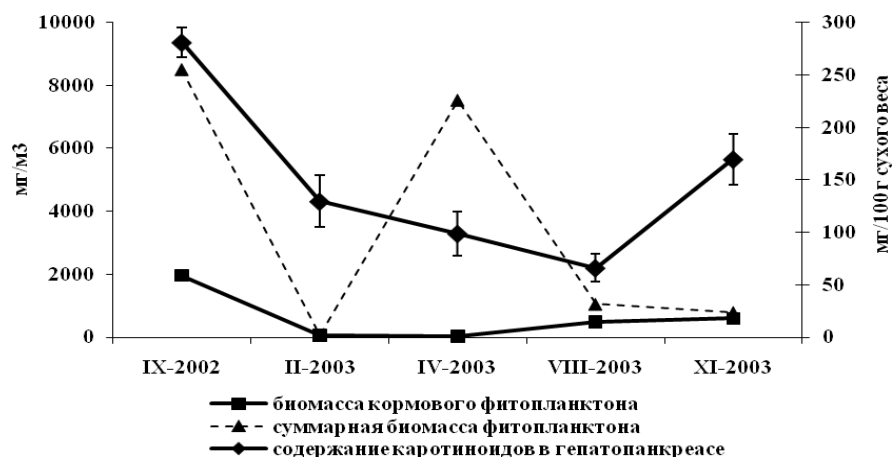


Рисунок 2. Динамика содержания каротиноидов в гепатопанкреасе мидий (мг/100 г сухого веса) и биомасса фитопланктона (мг·м⁻³) (Данные по биомассе фитопланктона предоставлены М.И. Сеничевой)

Figure 2. The dynamics of carotenoid content in mussel hepatopancreas (mg/100 g dry weight) and phytoplankton biomass (mg·m⁻³) (Data of phytoplankton biomass was given by M. I. Senicheva)

В сентябре 2002 г. биомасса кормового планктона, по сравнению с другими периодами, была максимальной (3 мг·м⁻³), равно как и содержание каротиноидов в гепатопанкреасе моллюсков (280,94 мг/100 г сухого веса). Зимой 2003 г. содержание каротиноидов в гепатопанкреасе составило 50% от сентябрьских показателей, а в апреле 2003 г. оно было в 2,8 раза ниже, чем в сентябре ($p > 0,05$). В летний период среднее содержание каротиноидов в гепатопанкреасе составило 66,08 мг/100 г сухого веса, что в 4 раза ниже, чем в сентябре, и в 2 раза ниже, чем в феврале. В ноябре 2003 г. зафиксирован второй сезонный пик концентрации каротиноидов в тканях мидии. В гонадах изменения концентрации пигментов не зависели ни от общей биомассы фитопланктона, ни от

биомассы кормовых видов микроводорослей. Только в августе отмечено значительное снижение содержания каротиноидов в генеративной ткани, несмотря на зрелые гонады (3-я стадия). В жабрах достоверных сезонных различий в содержании исследуемых соединений не отмечено.

Обсуждение. Полученные данные свидетельствуют о том, что содержание каротиноидов в гонадах мидий не зависит от половой принадлежности. Однако, в феврале 2002 г. содержание каротиноидов в гонадах самок было выше, чем у самцов. В этот период, в связи с теплой зимой, наблюдался массовый нерест коллекторных мидий, тогда как в другие месяцы в выборках встречались особи от 3-й стадии (активный гаметогенез) до 5-й (нерест). Возможно, зимний нерест 2002 г. происходил асинхронно – самцы уже отнерестились, а самки только приступили к выметыванию половых продуктов, что и привело к разнице в содержании каротиноидов, потери которых происходят при нересте.

Не выявлено различий в содержании каротиноидных пигментов и у мидий из бухты Ласпи в преднерестовый период [10]. Аналогичные результаты получены и для других беспозвоночных [3, 9]. Однако у некоторых видов морских беспозвоночных пол влияет на содержание пигментов в гонадах [14, 18].

На протяжении всего года в одной выборке могут встречаться мидии на разных стадиях развития гонад. Поэтому мы исследовали зависимость содержания пигментов в гонадах от стадии репродуктивного цикла «в чистом виде», вне зависимости от сезона. Нами показано, что степень зрелости гонад не влияет на содержание в них каротиноидов в данный сезон. По-видимому, моллюски поддерживают оптимальный уровень содержания пигментов в генеративной ткани во время всего репродуктивного цикла, что необходимо для нормального развития половых продуктов. Наши данные согласуются с результатами исследований мидий из б. Ласпи, выполненных ранее [10]. Авторы проводили исследования на особях, имеющих зрелые гонады (преднерестовая и нерестовая стадии), нами же показано, что гонады мидий на любой стадии репродуктивного цикла не отличаются по содержанию каротиноидов.

По нашим данным, гонады не являются основным депо каротиноидов у мидий, хотя некоторые авторы считают, что в генеративной ткани моллюсков накапливается максимальное количество этих пигментов [6, 10, 19]. Максимальное содержание суммарных каротиноидов характерно для пищеварительной железы – гепатопанкреаса. Та же тенденция выявлена у мидий, собранных на северо-западном шельфе Чёрного моря, а также у дальневосточных мидий [5, 8].

Каротиноиды поступают в организм гидробионтов с кормовыми объектами; в гепатопанкреасе происходит частичная трансформация поступивших пигментов и затем их распределение по органам и тканям. Однако количество пигментов, содержащихся в корме, подвержено сезонным изменениям, связанным с количественным развитием и качественным составом фитопланктона – одного из основных источников пищи моллюсков-фильтраторов. В литературе данные по сезонной динамике каротиноидов в тканях мидий противоречивы. Одни исследователи не отмечали сезонной вариации содержания каротиноидов у моллюсков [18], другие подтверждают связь этого показателя с развитием фитопланктона [10, 14, 15, 16], отмечая значительное увеличение содержания каротиноидов у моллюсков в периоды «цветения» микроводорослей.

Ранее показано, что в жабрах не наблюдалось значительных сезонных изменений в содержании каротиноидов [12]. Жабры непосредственно контактируют с окружающей средой, поэтому этот орган должен обладать устойчивой системой антиоксидантной защиты. Варьирование содержания каротиноидов в гонадах (в расчёте на орган) в течение года связано, в основном, с изменением массы гонад, а количество и состав пищи не оказывают значительного влияния на этот показатель [12]. Таким образом, основные сезонные изменения содержания пигментов происходят в гепатопанкреасе и связаны с динамикой кормового фитопланктона. По данным М. И. Сеничевой, состояние

кормовой базы мидий зависит не только от количества фитопланктона, но и от его таксономического состава [13]. На пики «цветения» кормовых видов микроводорослей приходится увеличение содержания каротиноидов в гепатопанкреасе моллюсков (рис. 2).

Когда в фитопланктоне преобладали диатомовые *Pseudonitzschia delicatissima*, *Cyclotella caspia* и динофитовые водоросли и их биомасса была высокой, это обеспечивало хорошую кормовую базу для мидий, что послужило причиной высокого содержания каротиноидов в их гепатопанкреасе в сентябре 2002 г. Второй пик высокой концентрации пигментов в мидиях совпал с развитием доступных по размеру и ценных в пищевом отношении клеток колониальной диатомеи *Skeletonema costatum* и цист динофитовых водорослей, биомасса которых составляла 0,5 г/м³. Желудки моллюсков в этот период (ноябрь 2003 г.) были наполнены клетками динофлагелят *Prorocentrum micans* и *Dinophysis caudate*, которые хорошо усваиваются мидиями [13]. Кроме кормовой базы на общее содержание каротиноидов в тканях мидий могло повлиять снижение температуры воды до +10⁰С (после летнего периода) и, как следствие, повышение фильтрационной активности моллюсков.

Содержание пигментов в пищеварительной железе было низким в периоды снижения биомассы фитопланктона, либо когда фитопланктон становился недоступным для питания моллюсков. Это наблюдалось в зимний период 2003 г. – биомасса микроводорослей не превышала 0,06 г/м³; весной в планктоне доминировала крупноклеточная диатомея *Proboscia alata* (биомасса 3,8 г/м³, составляя 88-99% суммарной биомассы микроводорослей). В августе минимальное содержание каротиноидов у мидий, возможно, связано с низкой пищевой активностью моллюсков в связи с высокой температурой морской воды (+24⁰С). Известно, что температура выше 20⁰С ингибирует скорость фильтрации воды мидиями [11]. Причиной низкого содержания пигментов, очевидно, является и недостаток корма в предшествующий период – в фитопланктоне преобладали мелкие зеленые и гетеротрофные криптофитовые водоросли – показатели органического загрязнения вод, и крупноклеточная диатомея *Pseudosolenia calcar-avis*, которые не являются кормовыми объектами мидий [7].

Так, по содержанию каротиноидов в гепатопанкреасе можно судить об обеспеченности пищей в исследуемый период, тогда как другие органы реагируют на изменение пищевых условий с некоторой задержкой. В периоды исследований моллюски не испытывали голода, и мы не отметили каких-либо изменений в гонадах, жабрах и остальных тканях в зависимости от биомассы кормового фитопланктона. Влияние недостатка пищи на содержание каротиноидов в тканях моллюсков исследовалось ранее. Было показано, что содержание каротиноидов в гонадах мидий не изменялось при голодании моллюсков в течение нескольких недель, в то время как в гепатопанкреасе быстро снижалось [14, 18].

Закключение. Изменение накопления каротиноидов в тканях моллюсков связано с сезонной динамикой фитопланктона, а именно, с концентрацией и составом микроводорослей, доступных для питания моллюскам – фильтраторам. Наиболее показательным в этом отношении содержание пигментов в пищеварительной железе – гепатопанкреасе: с увеличением количества кормовых видов микроводорослей содержание каротиноидов в гепатопанкреасе увеличивается. Таким образом, именно гепатопанкреас отражает содержание каротиноидов в потреблённой пище, а, следовательно, состояние кормовой базы животных. Концентрация каротиноидов в других органах не подвержена значительным изменениям, а в генеративной ткани также не связано с полом и созревaniem гонад.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность М.И. Сеничевой за любезно предоставленные данные по видовому составу и биомассе фитопланктона, за ценные советы и замечания, сделанные в процессе подготовки статьи.

1. Анцупова Л. В., Руснак Е.М. Каротиноиды мидий Одесского залива // Экология моря. – 1990. – Вып. 36. – С. 61 – 64.

2. Гостюхина О. Л. Особливості антиоксидантного статусу тканин двостулкового молюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. в умовах окислювального стресу: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.13 – Сімферополь, 2008. – 20 с.
3. Гудвин Т. Сравнительная биохимия каротиноидов. – М.: ИЛ, 1954. – 396 с.
4. Дивавин И. А., Копытов Ю. П. Динамика изменений биохимического состава отдельных органов мидии *Mytilus galloprovincialis* при интоксикации соляром // Экология моря. – 1988. – Вып. 28. – С. 80 – 86.
5. Кандюк Р. П. и др. Биохимическая характеристика беспозвоночных северо-западного шельфа Черного моря. – К.: Наук. думка, 1979. – 178 с.
6. Карнаузов В. Н. Биологические свойства каротиноидов – М.: Наука, 1988. – 240 с.
7. Куфтаркова Е. А. и др. Экологическая оценка современного состояния вод в районе взаимодействия Севастопольской бухты с прилегающей частью моря // Мор. экол. журн. – 2006. - 5, № 1 – С. 72 – 91.
8. Лисовская В. И. Изучение энергетических запасов культивируемых мидий Одесского залива // Экология моря. – 1990. – Вып. 36. – С. 64 – 68.
9. Лукьянова О. Н., Шмидт Т. Я. Концентрация каротиноидов у морских беспозвоночных в условиях загрязнений // Биология моря. – 1993. - № 2. – С. 92 – 101.
10. Минюк Г. С. и др. Индивидуальная вариабельность и сезонная динамика содержания каротиноидов коллекторных мидий *Mytilus galloprovincialis* // Гидробиол. журн. – 1996. – 6, № 3. – С. 51 – 57.
11. Печень-Финенко Г. А. Фильтрационная активность мидий в условиях Севастопольской бухты // Гидробиол. журн. – 1992. – 28, № 5. – С. 44 – 50.
12. Поспелова Н. В. Элементы баланса каротиноидов, α-токоферола и некоторых металлов в системе «взвешенное вещество – мидии – биоотложения»: автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.17 – Севастополь, 2008. – 24 с.
13. Сеничева М. И. Характеристика фитопланктона как объекта питания мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. в районе марихозяйства бухты Ласпи // Экология моря. – 1990. – Вып. 36. – С. 7–15.
14. Campbell S. A. Seasonal cycles in the carotenoid content in *Mytilus edulis* // Mar. Biol. – 1969. – 4, № 3. – P. 227 – 232.
15. Jensen A., Sakshaug E. Producer-consumer relationships in the sea. 1. // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1970. – 5, № 2. – P. 180 – 186.
16. Jensen A., Sakshaug E. Producer – consumer relationships in the sea. 11. Correlation between *Mytilus* pigmentation and the density and composition of phytoplanktonic populations in inshore waters // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1970. – 5, № 3. – P. 246 – 253.
17. Matsuno T. Aquatic animal carotenoids (Review article) // Fish. Sci. – 2001. – 67. – P. 771 – 783.
18. Scheer B. T. Some features of the metabolism of the carotenoid pigments in the California sea mussel (*Mytilus californianus*) // J. Biol. Chem. – 1940. – 136, № 3. – P. 275 – 299.
19. Tewari A. et al. Effect of heavy metal pollution on growth, carotenoid content and bacterial flora in the gut of *Perna viridis* (L.) in situ condition // Current Sci. – 2001. – 81, № 7. – P. 819 – 828.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 10.11.2009

Н. В. ПОСПЕЛОВА, М. В. НЕХОРОШЕВ

СЕЗОННА ДИНАМІКА НАКОПИЧЕННЯ КАРОТИНОЇДІВ У М'ЯКИХ ТКАНИНАХ КУЛЬТИВУЄМОЇ ЧОРНОМОРСЬКОЇ МІДІЇ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

Анотація

Вміст каротиноїдів в тканинах колекторної чорноморської мідії *Mytilus galloprovincialis* варіює в залежності від сезону, визначається концентрацією пігментів в гепатопанкреасі та відображує зміни біомаси кормового фітопланктону в районі маригосподарства.. В гонадах мідій цей показник не залежить від статі та стадії зрілості гонад.

Ключові слова: чорноморська мідія, каротиноїди, кормова база, гепатопанкреас, гонади

N. V. POSPELOVA, M. V. NEKHOROSHEV

SEASONAL DYNAMICS OF CAROTENOID ACCUMULATION IN SOFT TISSUES OF CULTURAL BLACK SEA MUSSEL *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

Summary

Carotenoid contents in tissues of cultural Black Sea mussel *Mytilus galloprovincialis* are varied depending on season, defined by carotenoid concentration in the hepatopancreas and reflects changes of a fodder phytoplankton biomass in a sea farm area. In mussel gonads this indicator doesn't depend on maturity stage and a sex.

Key words: *Mytilus galloprovincialis*, carotenoid, phytoplankton biomass, hepatopancreas, gonads