

УДК 594.124:577.1 (262.5)

*Г.С.Минюк, М.В.Нехорошев, З.А.Романова, Т.Н.Яницкая,
А.Ф.Козинцев***ИНДИВИДУАЛЬНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ И
СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ
КАРОТИНОИДОВ В ГОНАДАХ КОЛЛЕКТОРНЫХ
МИДИЙ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS**

На протяжении многих лет каротиноиды морских гидробионтов привлекают к себе внимание специалистов, работающих в различных областях науки. В литературе накоплен огромный фактический материал, касающийся структуры и функций этих соединений, их видовой специфичности, возможности практического применения. В последние годы каротиноиды все шире вовлекаются в сферу эколого-физиологических и эколого-биохимических исследований, направленных на выявление динамики важнейших метаболитов в тканях гидробионтов в связи с условиями их обитания (загрязнением, гидробиологическим режимом, характером питания).

Теоретической основой для работ такого плана служат представления о том, что, во-первых, каротиноиды являются ингибиторами перекисного окисления липидов, определяемого активными формами кислорода [13, 14]. Причем эффективность многих морских каротиноидов в этом смысле значительно превышает эффективность других антиоксидантов, включая α -токоферол [19]. Поэтому уровень каротиноидов в тканях, выполняющих функцию их депонирования, в определенной степени может характеризовать состояние системы антиоксидантной защиты и, следовательно, физическое состояние организма в целом.

Во-вторых, считается, что морские животные не могут синтезировать полиеновые пигменты, а получают их из пищи и после трансформации транспортируют в ткани, главным образом в созревающие гонады. Многие авторы расценивают гонады как основное (а иногда и единственное) депо каротиноидов у морских беспозвоночных [11, 12, 14, 15, 17]. Это дает основание предположить, что содержание каротиноидов в гонадах накануне нереста в норме (при отсутствии резких отрицательных воздействий) адекватно отражает кормовые условия организмов в период их созревания.

Все сказанное имеет прямое отношение к черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis*, которая по уровню каротиноидов, накапливаемых в генеративной ткани, а также по своему хозяйственному значению может составить конкуренцию в качестве объекта исследования такому классическому объекту, как лососевые рыбы [14, 17].

Исследование мидий, выращиваемых в экспериментальном марихозяйстве ИнБЮМ НАН Украины, расположенном в относительно чистом районе моря (бухта Ласпи-Батилиман) с благоприятным гидрологическим режимом, представляет двойной интерес — как с точки зрения установления естественного хода сезонной динамики содержания каротиноидов (при ко-

тором вклад антиоксидантной компоненты минимален), так и с точки зрения анализа возможности использования этого показателя в качестве индикатора состояния моллюсков в условиях промышленного разведения.

Материал и методика исследований. Объектом исследований служили коллекторные мидии средней размерной группы (45—90 мм) в возрасте 1—3 года. Материал собирали в 1992—1993 гг. в периоды массового нереста весной (в марте и мае) и осенью (в ноябре), а также летом (в июле) во время заметного снижения количества нерестящихся особей. Величина выборок составляла соответственно 40, 16, 15 и 80 экземпляров. Высоту створок измеряли с помощью штангенциркуля по наибольшему расстоянию от макушки до края раковины. Пол и стадию зрелости определяли по пятибалльной шкале: 1 — пустая неразвивающаяся гонада; 2 — начало формирования; 3 — сформированная; 4 — текущая; 5 — после нереста [8]. Возраст моллюсков устанавливали по слоям роста на радиальных спилах створок [4]. Содержание каротиноидов в индивидуальных пробах анализировали спектрофотометрическим методом [6], концентрацию общих липидов (для июльской выборки) — колориметрическим, основанным на сульфованилиновой реакции [10]. Результаты обработаны статистически на ПЭВМ при помощи прикладного пакета «Statgraph».

Результаты исследований и их обсуждение

Известно, что основными причинами, определяющими динамику содержания важнейших метаболитов в тканях животных в ходе их годовых циклов, являются сезонные изменения факторов окружающей среды, а также такие физиологические особенности, как состояние гонад, размеры и возраст животных. Поэтому для вычленения влияния факторов среды в «чистом виде» исследование сезонной динамики содержания каротиноидов проводили на особях, имеющих зрелые гонады (3—4-я стадии) и различающихся по длине раковины не более чем на 10—15 мм (лишь в марте для оценки размерно-возрастной вариабельности состав выборки был шире — от 60 до 90 мм).

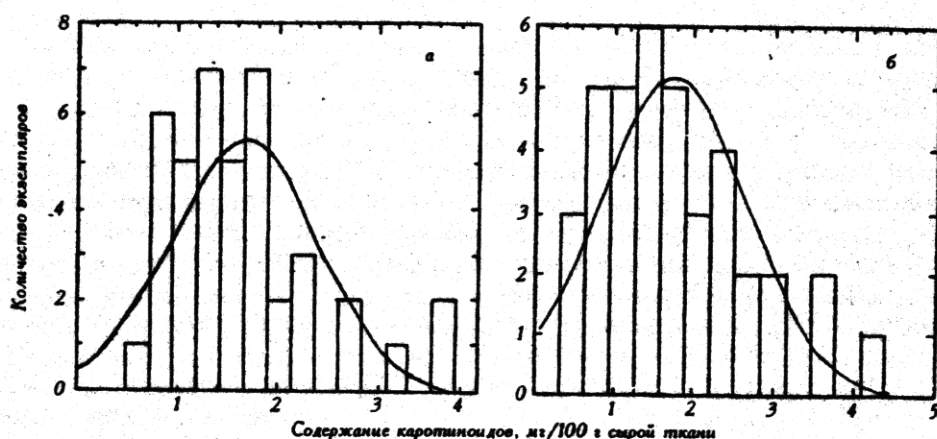
Полученные результаты (таблица), несмотря на относительную однородность материала по размерам особей и степени их подготовленности к размножению, свидетельствуют о высоком уровне индивидуальной изменчивости концентрации каротиноидов в гонадах мидий накануне нереста (CV в среднем составляет около 50 %), что, несомненно, указывает на физиологическую разнокачественность мидий в этот период. Многие авторы и ранее отмечали значительный размах вариации содержания этих соединений в тканях гидробионтов, в том числе и мидий [2, 11, 18]. Объяснения этому факту пока нет, и, видимо, поэтому он нередко игнорируется при определении объема выборок в экспериментальных работах, выполняемых часто на 3—5 экземплярах. По нашему мнению, такой подход может быть одним из источников многочисленных противоречий, встречающихся в литературе по динамике каротиноидов у гидробионтов.

Изменчивость биохимических показателей у одноразмерных мидий, взятых с одного коллектора, может определяться многими факторами, в том числе половым диморфизмом, возрастом (особи одного и того же размера довольно часто имеют разный возраст), индивидуальными особенностями генеративного цикла, а также различиями в кормовых условиях в зависимости от местоположения мидий на коллекторах. В связи с этим представляется целесообразным проанализировать влияние каждой из указанных причин на уровень пигментов в гонадах мидий.

Содержание каротиноидов в гонадах коллекторных мидий (мг/100 г сырой ткани)

Месяцы	Размер, мм	Самки				Самцы				Достоверность различий	
		n	min-max	$\bar{x} \pm m$	CV	n	min-max	$\bar{x} \pm m$	CV	t, P	F
Март	60—90	20	1,10—4,30	2,72 ± 0,21	34,5	20	0,79—3,62	2,00 ± 0,16	35,8	$t=0,23$, $P>0,05$	$F = 1,73 < F_{0,05} = 2,1$
Май	62—70	9	0,54—3,96	1,93 ± 0,37	57,5	7	0,17—6,33	2,16 ± 0,77	94,3	$t=0,29$, $P>0,05$	$F = 3,37 < F_{0,05} = 3,6$
Июль	55—63	7	0,41—1,78	0,97 ± 0,18	49,1	8	0,35—2,28	1,37 ± 0,26	53,7	$t=0,79$, $P>0,05$	$F = 2,38 < F_{0,05} = 4,2$
Ноябрь	45—60	42	0,67—3,64	1,66 ± 0,11	42,9	38	0,36—4,16	1,65 ± 0,13	48,6	$t=0,06$, $P>0,05$	$F = 1,26 < F_{0,05} = 1,7$

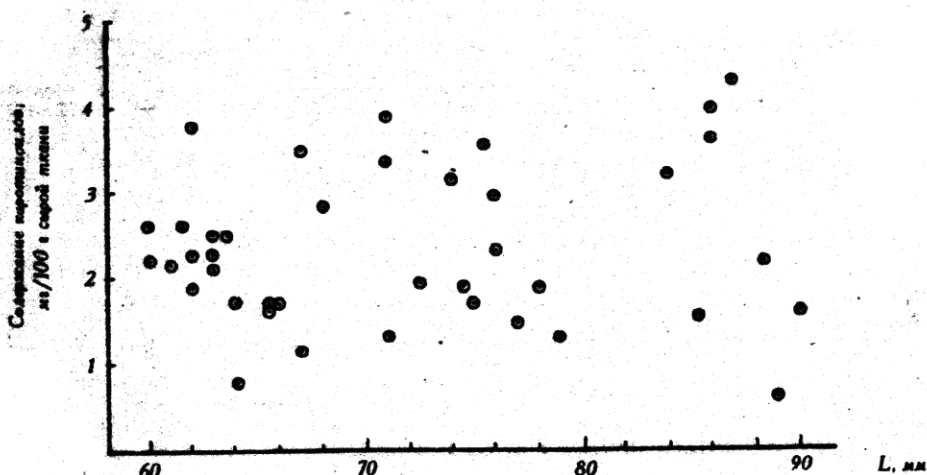
Для выявления полового диморфизма по исследуемому признаку было проведено сопоставление содержания каротиноидов в гонадах самок и самцов мидий по трем общепринятым статистическим показателям: характеру распределения, средним арифметическим и девиатам выборок. Различия оценивали соответственно по критериям хи-квадрат (χ^2), Стьюдента (t) и Фишера (F) (см. таблицу, рис. 1).



1. Распределение коллекторных мидий по содержанию каротиноидов в их гонадах в осенний период: а — самки ($n = 42$); б — самцы ($n = 38$).

Результаты показали, что распределение как самок, так и самцов в ноябре (численность остальных выборок для такого анализа была недостаточной) соответствовало нормальному с вероятностью 0,999, а различия в характере гистограмм распределения, а также различия между средними арифметическими ($\bar{x}$) и вариансами (σ^2) во всех случаях незначительны. Это позволяет сделать вывод о том, что содержание каротиноидов в гонадах черноморской мидии в преднерестовый период не зависит от пола.

Отсутствие корреляции между размером и возрастом моллюсков, с одной стороны, и содержанием каротиноидов в их гонадах, с другой (рис. 2, 3), свидетельствует о независимом варьировании указанных признаков. Другими словами, различия в размерах половозрелых мидий в пределах 15—30 мм, а также различия в возрасте от 1 года до 3 лет, по всей вероятности, мало сказываются на величине дисперсии данных в отдельных выборках.

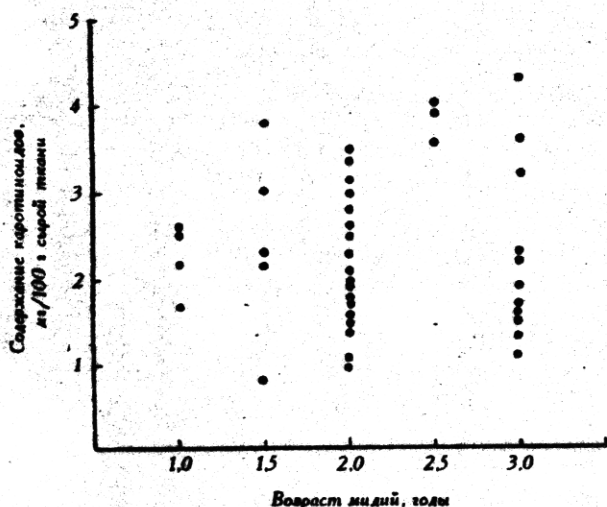


2. Содержание каротиноидов в гонадах половозрелых мидий различного размера.

Степень зрелости гонад (в рамках преднерестовой стадии) также не влияет на уровень каротиноидов в этом органе (рис. 4).

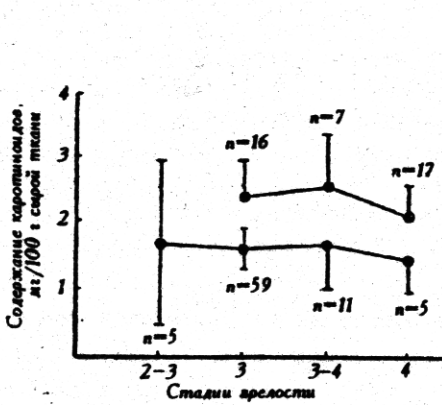
Принимая во внимание все сказанное, можно предположить, что решающим фактором, который определяет высокую вариабельность исследуемого признака, является неодинаковая обеспеченность пищей моллюсков, занимающих разное местоположение на коллекторах (по краю или внутри друз, в верхних или нижних горизонтах носителей).

В известной степени это предположение подтверждается наличием положительной корреляции ($r = 0,63$) между концентрацией каротиноидов и липидов в гонадах моллюсков (рис. 5). Липиды мидий в отличие от многих

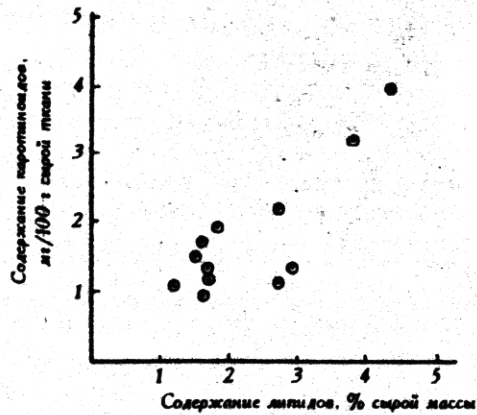


3. Содержание каротиноидов в гонадах половозрелых мидий различного возраста.

других животных не являются главным энергетическим субстратом, и их уровень в гонадах в большей мере отражает кормовые условия, чем интенсивность протекающих здесь биосинтетических процессов [3]. Прямая зависимость между содержанием липидов и каротиноидов предполагает однонаправленность их динамики и, следовательно, возможность суждения об обеспеченности моллюсков пищей по обоим показателям.



4. Содержание каротиноидов в гонадах мидий на разных стадиях развития: 1 — март; 2 — ноябрь ($\Delta\bar{x} = t_{p_j} \times m$; n — количество экземпляров).

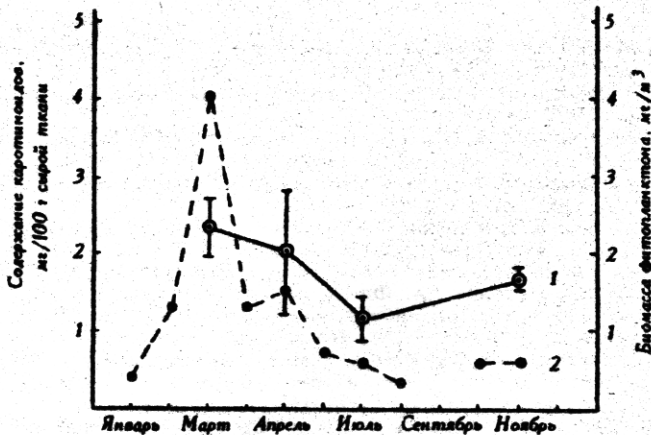


5. Связь между содержанием каротиноидов и липидов в гонадах мидий в летнее время.

О связи между уровнем каротиноидов и количеством утилизируемого корма свидетельствуют и данные Л.В.Анцуповой и Е.М.Руснак [2], согласно которым половозрелые мидии длиной 30—60 мм не различаются между собой по анализируемому признаку, у молоди концентрация каротиноидов значительно выше. Выше, как известно, у молоди и количество пищи, потребляемое на единицу массы тела [1].

И, наконец, ход сезонной динамики содержания каротиноидов в гонадах мидий повторяет ход динамики численности и биомассы фитопланктона в районе марихозияства ИнБЮМ [9] (рис. 6). Активное развитие фитопланктона здесь отмечается уже в феврале — марте. Вспышки «цветения» водорослей обычны в марте — апреле и октябре — ноябре. На эти же месяцы приходится и максимальные величины концентрации каротиноидов в гонадах мидий. В мае, по мере «выедания» биогенных веществ, биомасса и видовой состав водорослей сокращаются, и летом (в июне — августе) акватория бухты Ласпи характеризуется минимальным развитием фитопланктона.

Параллельно этим изменениям уменьшается и количество пигментов у мидий. Определенный вклад в летнее снижение каротиноидных запасов может вносить и изменение спектра питания животных в этот период в сторону преобладания в рационе растительного детрита; снижение скорости фильтрации моллюсков при



6. Сезонная динамика содержания каротиноидов в гонадах коллекторных мидий (1) и биомассы фитопланктона (2) в районе бухты Ласпи-Батилиман ($\Delta\bar{x} = t_{p_j} \times m$).

прогреве воды до 20 °C и выше [5, 7] в конечном итоге также приводит к ухудшению кормовых условий.

Аналогичная положительная корреляция между сезонной динамикой биомассы фитопланктона и динамикой уровня пигментов в гонадах отмечена и у *Mytilus edulis*, обитающей в проливе Ла-Манш [11]. У животных, взятых из того же биотопа, но выдерживавшихся в стационарных лабораторных условиях при ограниченном питании в течение одиннадцати месяцев, концентрация каротиноидов практически не менялась на протяжении всего опыта, что, очевидно, связано с отсутствием флуктуаций рациона мидий.

Заключение

Содержание каротиноидов в зрелых гонадах коллекторных мидий варьирует в широких пределах, отражая высокую степень физиологической разнокачественности особей, а также сезонные изменения в обеспеченности моллюсков пищей в период из созревания. По чувствительности и простоте определения и, следовательно, по возможности получения массового репрезентативного материала этот показатель отвечает требованиям, предъявляемым к эколого-биохимическим индикаторам состояния организмов и популяций, и может быть рекомендован для мониторинга мидийных марихозяйств.

Вміст каротиноїдів у зрілих гонадах колекторних мідій (L = 45–90 мм) в окремі сезони варіює у широких межах і не залежить від статі моллюсків, їх розміру та віку. Ступінь зрілості гонад (у межах переднерестової стадії) також не впливає на рівень пігментів у цьому органі. Сезонна динаміка вмісту каротиноїдів у гонадах мідій відбиває зміни чисельності та біомаси фітопланктону в районі марігосподарства.

The contain of carotenoids in mature gonads of collector's Mydias (L = 45–90 mm) varies in great scales in different seasons. It is not depended on the sex, size and age of Molluscs. Gonads mature degree (in prespawning stage) has no influence on pigments level in these organs. Seasonal dynamics of carotenoids contain in Mydia's gonads reflects the phytoplankton quantity and biomass changes in the region of the sea-husbandry.

1. Алимов А.Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков. — Л.: Наука, 1981. — 247 с.
2. Андрилова Л.В., Руснак Е.М. Каротиноиды мидий Одесского залива // Экология моря. — 1990. — Вып. 36. — С. 61–64.
3. Горомосова С.А., Шапиро А.З. Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. — М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1984. — 119 с.
4. Золотарев В.Н. Склеро-хронология черноморских двустворчатых моллюсков. — Киев: Наук. думка, 1989. — 125 с.
5. Иванов В.Н., Холодов В.И., Сеничева М.И. и др. Биология культивируемых мидий. — Киев: Наук. думка, 1989. — 100 с.
6. Карнаухов В.Н. Биологические функции каротиноидов. — М.: Наука, 1989. — 241 с.
7. Печень-Финенко Г.А. Фильтрационная активность мидий в условиях Севастопольской бухты // Гидробиол. журн. — 1992. — 28, № 5. — С. 44–49.
8. Равен Х. Оогенез. — М.: Мир, 1964. — 304 с.
9. Сеничева М.И. Характеристика фитопланктона как объекта питания мидий *Mytilus galloprovincialis* L а т. в районе марихозяйства бухты Ласпи // Экология моря. — 1990. — Вып. 36. — С. 7–15.
10. Barnes H., Blackstock J. Estimation of lipid in marine animals and tissues: detailed investigation of sulphophosphovanilin method for «total» lipids // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. — 1973. — 12, N 1. — P. 103–118.
11. Campbell S.A. Seasonal cycles in the carotinoid content in *Mytilus edulis* // Mar. Biol. — 1969. — 4, N 1. — P. 227–232.

12. DeBevoise A.E., Childress J.J., Withers N.W. Carotenoids indicate differences in diet of the hydrothermal vent crab *Bythograea thermydron* (Brachyura) // *Ibid.* — 1990. — 105, N 1. — P. 109—115.
13. Di Maascio P., Murphy M.E., Sies H. Antioxidant defense systems: The role of carotenoids, tokoferols and thiols // *Amer. J. Clin. Nutr.* — 1991. — 53. — P. 194—200.
14. Goodwin T.W. The biochemistry of the carotenoids. 2 nd. V. 2. Animals. — L.: Chapman and Hall, 1984. — 224 p.
15. Kleppel G.S. Plant and animal pigments as trophodynamic indicators. — New York: Springer-Verlag, 1988. — P. 73—90.
16. Krinsky N.I., Deneke S.M. Interaction of oxygen and oxy-radicals with carotenoids // *J. Nat. Can. Inst.* — 1982. — 69. — P. 205—209.
17. Liaanen-Jensen S. Marine carotenoids // *Marine natural products.* — L., New York: Acad. press, 1978. — 73 p.
18. Scheer B.T. Some features of the metabolism of the carotenoids pigments in the californis sea mussel *Mytilus californias* // *J. Biol. Chem.* — 1940. — 136, N 1. — P. 275—299.
19. Wataru M. Biological function and activities of animal carotenoids // *Pure and Appl. Chem.* — 1991. — 63, N 1. — P. 141—146.

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь

Поступила 27.04.94