



УДК 577.1:594.124:639.42(262.5)

Н. В. Поспелова, м. н. с.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Национальной академии наук Украины,  
Севастополь, Украина

### СОДЕРЖАНИЕ $\alpha$ -ТОКОФЕРОЛА ВО ВЗВЕШЕННОМ ВЕЩЕСТВЕ, ТКАНЯХ И БИООТЛОЖЕНИЯХ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

Проанализировано содержание витамина Е во взвешенном веществе, тканях и биоотложениях черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis*. Показано, что содержание  $\alpha$ -токоферола максимально в гепатопанкреасе моллюсков, в гонадах этот показатель зависит от стадии зрелости и возрастает от стадии гаметогенеза до стадии нереста. В сутки мидии потребляют 18% витамина Е от его абсолютного содержания в тканях, а выделяют только 6 – 10 % от потреблённого. Мидийное хозяйство «изымает» из среды до 387 г витамина Е.

**Ключевые слова:**  $\alpha$ -токоферол, *Mytilus galloprovincialis*, биоотложения, взвешенное вещество

В группе токоферолов  $\alpha$ -токоферол, или витамин Е, обладает самой высокой антиоксидантной активностью в организмах животных. В природе токоферолы синтезируются только фототрофными организмами и в организм других гидробионтов поступают с пищей. Пищевая потребность в витамине Е была показана в исследованиях на некоторых видах морских беспозвоночных. Так, с возрастанием концентрации  $\alpha$ -токоферола в пище увеличивалось выживание неполовозрелых моллюсков *Haliotis discus hannai* Ino [17], а у креветки *Penaeus vannamei* наблюдали более высокий прирост массы тела [13]. Исследования уровня содержания  $\alpha$ -токоферола в тканях и органах морских организмов позволяет выявить особенности внутриклеточного обмена, связанные со спецификой обитания в водной среде и дать объективную оценку витаминной и пищевой ценности моллюсков для человека [2].

До настоящего времени сведения о содержании  $\alpha$ -токоферола в различных гидробионтах недостаточны [4, 5, 13, 14, 16, 17]. Данные по содержанию витамина Е в естественной пище моллюсков и их биоседиментах отсутствуют, хотя такие исследования позво-

лят оценить как потребность в этом антиоксиданте, так и эффективность его использования тканями животных.

В данной работе впервые проанализировано содержание витамина Е в различных органах мидии *Mytilus galloprovincialis*, во взвешенном веществе (естественной пище двусторчатых моллюсков) и в биоотложениях мидий, рассчитана усвояемость  $\alpha$ -токоферола мидиями, что важно при оценке влияния мидийных ферм на бентосную фауну.

**Материал и методы.** Материал собран в августе 2003 г. на экспериментальном марихозяйстве ИнБЮМ НАН Украины, расположенном между бухтами Севастопольской и Карантинной, в 700 м от берега. Взвешенное вещество собирали путём фильтрации морской воды через стекловолоконные фильтры GF/C с диаметром пор 0.8 мкм. Мидий (размером 5 - 6 см, проходящих 3 или 4 стадию репродуктивного цикла) для освобождения содержимого их желудков и сбора фекалий помещали в фильтрованную морскую воду на 4 ч. Мягкие ткани моллюсков препарировали, разделяя на органы: жабры, гонады, гепатопанкреас (препарируются вместе с желудком, кишечником,

сердцем и частью гонады) и остальные ткани. Было использовано 60 проб мидий, по 8 проб взвешенного вещества и биоотложений. Для исследования содержания витамина Е в гонадах отбирали мидий на разных стадиях зрелости гонад. Стадию определяли по 6-бальной шкале на мазке гонад под микроскопом [8]. Содержание  $\alpha$ -токоферола определяли методом ВЭЖХ на Милихром-4 с УФ детектором после горячего омыления спиртовых экстрактов и их последующей экстракцией гептаном. Компоненты разделяли на стандартной колонке с силикагелем, используя 1.5 % раствор изопропанола в гептане в качестве элюента при длине волны 292 нм [11].

Для оценки уровня ассимиляции были проведены расчёты скоростей потребления и выделения  $\alpha$ -токоферола, его усвояемости. Скорость фильтрации рассчитывали по уравнениям связи скорости фильтрации с сухой массой мягких тканей моллюсков при заданной температуре [7]. Время прохождения пищи через кишечник определяли, добавляя в сосуды с голодными моллюсками взвесь зелёной микроводоросли *Tetraselmis suecica*. Отмечали время от начала раскрытия створок раковины до появления фекалий зелёного цвета. Частоту опорожнения пищеварительного тракта рассчитывали, разделив количество минут в сутках (1440 мин) на время прохождения пищи  $t$ , мин. Усвояемость  $\alpha$ -токоферола определяли прямым методом, основанным на измерении абсолютного содержания вещества в пище и в фекалиях [10]:

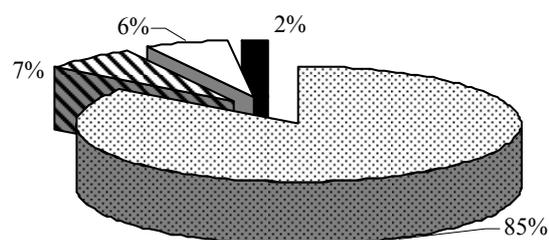
$$a = 1 - \frac{fv}{C},$$

где  $f$  – масса вещества в фекалиях, образующихся за время прохождения пищи через пищеварительный тракт,  $v$  – частота его опорожнения,  $C$  – количество вещества в съеденной пище за единицу времени.

Результаты исследований обработаны статистически. Определяли средние арифметические ( $M$ ), стандартные отклонения ( $\delta$ ), до-

верительные интервалы ( $m$ ), коэффициент вариации ( $CV$ ). Материал в таблицах представлен как  $M \pm m$  при уровне значимости 0.95.

**Результаты.** Показано, что у мидий, как и у большинства рыб и наземных животных [4], значительная доля  $\alpha$ -токоферола (около 85 %) сконцентрирована в пищеварительной железе (рис. 1, табл. 1). Распределение  $\alpha$ -токоферола между остальными тканями достоверно не отличается.



■ гепатопанкреас ■ остальные ткани □ гонады ■ жабры

Рис. 1 Распределение витамина Е в органах мидии, % от абсолютного содержания

Fig. 1 Vitamin E distribution in mussel organs, % from absolute content

Значительная вариация концентрации  $\alpha$ -токоферола в мягких тканях мидии накануне нереста (3 – 4-й стадии репродуктивного цикла) указывает на высокий уровень индивидуальной изменчивости содержания этого соединения в тканях моллюсков ( $CV$  32 – 65 %) (табл. 1).

Установлено, что содержание  $\alpha$ -токоферола в гонадах мидии зависит от стадии зрелости и достоверно увеличивается от 3-й стадии зрелости гонад до стадии нереста – 5-й (рис. 2). Максимальные концентрации витамина отмечены для моллюсков, гонады которых находились на 1-й и 5-й стадиях (5.0 и 5.6  $\text{мкг г}^{-1}$  сырой массы). К стадии начала гаметогенеза концентрация  $\alpha$ -токоферола снижается в 2.5 раза (до 2.0  $\text{мкг г}^{-1}$ ), и на 3-й стадии (активный гаметогенез) становится минимальной (1.5  $\text{мкг г}^{-1}$ ).

Органы	Содержание $\alpha$ -токоферола, мкг г <sup>-1</sup>	CV,%
Гонады	9.09±2.69	65
Жабры	10.75±6.72	65
Гепатопанкреас	221.09±75.83	32
Остальные ткани	5.89±1.61	33
Среднее по тканям	61.71±22.21	33

Табл. 1 Концентрация  $\alpha$ -токоферола в различных органах мидий, мкг г<sup>-1</sup> сухой массы  
Table 1  $\alpha$ -Tocopherol concentration in different organs of mussels,  $\mu\text{g g}^{-1}$  dry matter

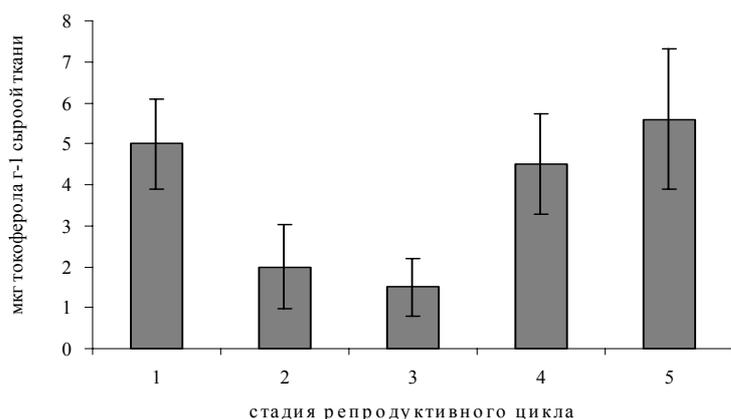


Рис. 2 Содержание витамина Е в гонадах мидии на разных стадиях зрелости, мкг г<sup>-1</sup> сырой ткани  
Fig. 2 Vitamin E content in mussel gonads of different maturation stages,  $\mu\text{g g}^{-1}$  wet tissue

Основные исследования проведены в августе 2003 г., когда у моллюсков были снижены пищевая и физиологическая активность вследствие высокой температуры морской воды (24<sup>0</sup>С). В фитопланктоне в этот период преобладали мелкие зеленые и гетеротрофные криптофитовые водоросли – показатели органического загрязнения вод, и крупноклеточная диатомея *Pseudosolenia calcar-avis*, которые не являются пищевыми объектами мидий (по данным Сеничевой М.И.). Установлено, что в сутки 1 особь мидии потребила 15.5 ± 1.9 мкг, а выделил с биоотложениями 1.24 ± 0.25 мкг витамина Е (табл. 2), что в пересчете на ферму

(1 га, 25 000 000 мидий с длиной раковины 50 – 60 мм) составило: потребление  $\alpha$ -токоферола около 387 г/сутки, а выделение – 31 г/сутки. При этом одновременно на мидийной ферме сконцентрировано 2.16 кг витамина Е, а ассимилируется около 355 г/сутки от потребленного. Таким образом, несмотря на неблагоприятные пищевые и температурные условия обитания моллюсков в этот период, усвояемость  $\alpha$ -токоферола мидиями была высокой и составила в августе 92.0 ± 2.2 % от общего содержания витамина в отфильтрованном взвешенном веществе

Табл. 2 Концентрация витамина Е в системе «взвесь – мидия – биоотложения», мкг/г сухой массы  
Table 2 Vitamin E concentration in system «suspended substance – mussel - biodeposits»,  $\mu\text{g/g}^{-1}$  dry matter

Источник	Средняя концентрация $\alpha$ -токоферола, мкг г <sup>-1</sup>	CV,%	Абсолютное значение содержания $\alpha$ -токоферола (для одной особи)
Взвешенное вещество	694.1±67.8	5	15.5±1.9 мкг/экз/сут (потреблено)
Ткани мидии	61.7±22.2	36	86.3±12.4 мкг
Биоотложения мидий	66.9±13.3	26	1.24±0.25 мкг/экз/сут (выделено)

Количество потреблённого за сутки витамина Е составляет примерно 18 % от содержащегося в тканях моллюска (около 14.3 мкг), выводится при этом около 6 – 10 % от потреблённого, т.е. более 95 % потреблённого антиоксиданта расходуется в процессе жизнедеятельности моллюска (табл. 2).

**Обсуждение.** Основным депо  $\alpha$ -токоферола является жировая ткань, а гепатопанкреас мидии – депо липидов [1, 3], что и объясняет высокое содержание витамина в пищеварительной железе моллюсков. Отметим, что общее содержание токоферола в мягких тканях мидии сопоставимо с количеством витамина в печени трески (80 – 140 мкг/г сухой массы) [4], что показано и в проведённых ранее исследованиях [5, 14]. Поскольку  $\alpha$ -токоферол является природным неферментным антиоксидантом, его достаточно высокое содержание в тканях черноморской мидии предполагает высокий уровень антиоксидантной защиты у этого моллюска. В *M. galloprovincialis* не раз определяли антиоксиданты липидной природы. Метанольный экстракт тканей мидий показал антиоксидантную активность, сравнимую с известным антиоксидантом ионолом [12]. В [12] и нашем исследовании использовались близкие по природе растворители и можно предположить, что в экстракт метанола мог перейти  $\alpha$ -токоферол.

Минимальное количество витамина в гонадах на стадии активного гаметогенеза, вероятно, связано с активизацией жизнедеятельности организма и интенсивным ростом генеративной ткани в преднерестовый период и, как следствие, повышенным расходом биологически активных веществ, необходимых для созревания половых продуктов, к которым относятся и токоферолы, в частности  $\alpha$ -токоферол. Так, преднерестовая стадия (4-я) характеризуется постепенным накоплением витамина Е и подготовкой половых продуктов к нересту. Известно, что  $\alpha$ -токоферол участвует в процессах, связанных с синтезом РНК [6], и таким образом играет определённую роль в

процессах размножения. Значительное снижение количества витамина после нереста связано с его потерей с половыми продуктами, при этом концентрация  $\alpha$ -токоферола (мкг/г сырого веса) сохраняется после нереста на уровне нерестовой стадии за счет снижения массы гонад. К началу гаметогенеза, несмотря на увеличение массы гонад, количество витамина Е оставалось неизменным, а затем снижалось. В период активизации генеративного роста либо гонады растут быстрее, чем идёт накопление этого соединения, либо это можно объяснить разницей накопления его соматическими и генеративными клетками.

Влияние возраста на содержание  $\alpha$ -токоферола у *M. galloprovincialis* мы не исследовали, но для *M. edulis* известно, что концентрация этого соединения в гепатопанкреасе мидии не меняется в возрастных группах от 2 до 8 лет (10-15 мкг/г сырой массы) после чего снижается на 40 % [16].

Ранее нами проводились исследования по ассимиляции каротиноидов [9]. Усвоение  $\alpha$ -токоферола превышает усвоение каротиноидов, что позволяет предположить высокую потребность мидий, проходящих преднерестовую стадию, в витамине Е, как и в каротиноидах. Мидии исследовались на стадии активного гаметогенеза, в период, когда беспозвоночные нуждаются в значительных количествах витамина Е для созревания половых продуктов, что отмечено и для морского ежа *Pseudocentropus depressus* [15].

Таким образом, мидийное хозяйство «изымает» из окружающей среды значительное количество витамина Е (около 387 г/сут), которое могло быть потреблено другими консументами. При этом с фекалиями выделяется незначительное количество этого соединения (до 31 г/сут), что не может приводить к накоплению его под фермой.

**Выводы.** Содержание  $\alpha$ -токоферола во всех органах мидий варьирует в широких пределах, причём в гонадах моллюсков зависит от

стадии зрелости. Наиболее богат витамином Е гепатопанкреас мидий. За сутки мидии потребляют 18 % витамина Е от его абсолютного содержания в тканях моллюсков, а выделяют

только 6 – 10 % от потреблённого, что свидетельствует о том, что для жизнедеятельности мидии нуждаются в больших количествах этого вещества.

1. 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.
2. Донченко Г. В., Паливода О. И. Методы определения и исследование содержания кофермента Q и жирорастворимых витаминов А и Е в тканях различных видов рыб и других морских организмов. // Биологически активные вещества гидробионтов – новые лекарственные, лечебно-профилактические и технические препараты: Всесоюзн. совещ. (Владивосток, 23-27 сентября 1991 г.) – Владивосток, 1991. – С. 52.
3. Кандюк Р. П., Степанюк И. А., Петкевич Т. А. и др. Биохимическая характеристика беспозвоночных северо-западного шельфа Черного моря. – К.: Наук. думка, 1973. – 180 с.
4. Кизеветтер И. В. Биохимия сырья водного происхождения. – М.: Пищ. пром-сть, 1973. – 424 с.
5. Нехорошев М. В., Иванов В. Н., Дробецкая И. В. Содержание биоантиоксидантов в черноморских мидиях // Биоантиоксидант: V Международная конф. (Москва, Россия, 18 – 20 ноября 1998 г.) – Москва, 1998. – С. 67 – 68.
6. Петрова Г. В., Капралов А. А., Донченко Г. В. Витамин Е и апоптоз // Укр. біохім. журн. – 2003. – 75, №6. – С. 25 – 34.
7. Печень-Финенко Г. А. Фильтрационная активность мидий в условиях Севастопольской бухты // Гидробиол. журн. – 1992. – 28, № 5. – С. 44 – 50.
8. Пиркова А. В., Столбова Н. Г., Ладыгина Л. В. Сезонная динамика нереста мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. в иловых поселениях разных районов Черного моря // Гидробиол. журн. – 1994. – 30, №2. – С. 22 – 27.
9. Поспелова Н. В., Нехорошев М. В. Содержание каротиноидов в системе: «взвешенное вещество – мидия (*Mytilus galloprovincialis* LMK.) – биотложения мидий» // Экология моря. – 2003. – Вып. 64. – С. 62 – 66.
10. Цихон-Луканина Е. А. Трофология водных моллюсков. – М.: Наука, 1987. – 176 с.
11. Якушина Л. М., Бендер Е. Д., Вещиков В. В., Рындакова И. А. Определение некоторых жирорастворимых витаминов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии // Теоретические и клинические аспекты науки о питании. – 1997. – 8. – С. 134 – 144.
12. Gorinstein S., Moncheva S., Katrich E., Toledo F. et al. Antioxidants in the black mussels (*Mytilus galloprovincialis*) as an indicator of Black Sea coastal pollution // Mar. Poll. Bull. – 2003. – 46. – P. 1317 – 1325.
13. Haiqi H., Lawrence A. L. Vitamin E requirement of *Penaeus vannamei* // Aquaculture. – 1993. – 118, no. 3-4. – P. 245 – 255.
14. Ribera D., Narbonne J. F., Michel X., Livingstone D. R., O'Hara S. Responses of antioxidants and lipid peroxidation in mussels to oxidative damage exposure // Comp. Biochem. Physiol. – 1991. – 100C, no. 1/2. – P. 177 – 181.
15. Tsushima M., Kawakami T., Mine M., Matsuno M. The role of carotenoids in the development of the sea urchin *Pseudocentropus depressus* // Invertebr. Reprod. Dev. – 1997. – 32, no.2. – P. 149 – 153.
16. Viarengo A., Pertica M., Canesi L. et al. Lipid peroxidation and level of antioxidant compounds (GSH, vitamin E) in the digestive gland of mussel of three different age groups exposed to anaerobic and aerobic conditions // Mar. Environm. Res. – 1989. – 28. – P. 291 – 295.
17. Zhou Q., Mai K., Tan B., Xu W. The effects of vitamin E on growth, survival and carcass composition of juvenile abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) // Oceanol. Limnol. Sin. – 2000. – 32, no. 2. – P. 125 – 131.

Поступила 22 декабря 2006 г.

После доработки 14 августа 2007 г.

**Вміст  $\alpha$ -токоферолу в зваженій речовині, тканинах та біовідкладеннях *Mytilus galloprovincialis*. Н. В. Поспелова.** Проаналізовано концентрацію вітаміну Е в м'яких тканинах мідії *Mytilus galloprovincialis*, зваженої речовині та біовідкладеннях. Показано, що вміст  $\alpha$ -токоферолу максимальний у гепатопанкреасі моллюсків, а в гонадах цей показник залежить від ступіні зрілості та зростає від стадії початку гаметогенезу до стадії нересту. За добу мідії споживають 18 % вітаміну Е від абсолютного вмісту його в тканинах, а виділяють тільки 6 – 10 % від споживаного. Мідійна ферма здатна «вилучати» із середовища до 387 г  $\alpha$ -токоферолу.

**Ключові слова:**  $\alpha$ -токоферол, *Mytilus galloprovincialis*, біовідкладення, зважена речовина

**The  $\alpha$ -tocopherol content in a suspension, tissues and biosediments of *Mytilus galloprovincialis*.** N. V. Pospelova. Vitamin E concentration in tissues of mussel *Mytilus galloprovincialis*, the suspension and biosediments was analyzed. The maximum content of tocopherol is in mollusc's hepatopancreas. In gonads this parameter depended on a degree of maturity and rised from a stage of the gametogenezes beginning to a spawning stage. For day the mussel consumes 18 % of vitamin E from absolute tissues contents, and deposits only 6 – 10 % from consumed one. Mussel farm is available withdraws from environment about 387 g tocopherol.

**Key words:**  $\alpha$ -tocopherol, *Mytilus galloprovincialis*, biosediments, suspension

### ЗАМЕТКА

**Первое нахождение у крымского побережья нового для Чёрного моря вида *Pachycordyle napolitana* Weismann, 1883 (Hydrozoa: Hydroidomedusae: Anthmedusae: Clavidae). [Перша знахідка в Чорном морі у кримського узбережжя *Pachycordyle napolitana* Weismann, 1883 (Hydrozoa: Hydroidomedusae: Anthmedusae: Clavidae). The first find in the Black Sea near Crimean coast *Pachycordyle napolitana* Weismann, 1883 (Hydrozoa: Hydroidomedusae: Anthmedusae: Clavidae)].** Гидранты обнаружены в мае 2007 г. в зоне заплеска бухты Ласпи, Южный берег Крыма. Полипы найдены на чёрном гладком круглом камне диаметром 12 см. Гидрориза верёвковидная с немногими ответвлениями, толщина (диаметр) гидроризы 0.17 мм; расстояние между полипчиками 2 мм. Подсчитано, что по одной линии гидроризы расположено 6 – 10 полипчиков. Высота полипчика (без щупалец) 0.7 – 1.0 мм, причем длина гофрированной ножки 0.5 мм, диаметр 0.1 – 0.15 мм. На снятом с камня полипчике (рис. 1) под микроскопом хорошо видна кольчатость (примерно 6 колец), более чётко заметная у места прикрепления полипа к гидроризе, причем диаметр колец уменьшается по направлению к месту прикрепления. Нижняя половина ножки покрыта мелкими частицами детрита или песчинками, что является важным систематическим признаком. Дистальная часть ножки гладкая и более широкая, чем узкая базальная, диаметром до 0.25 мм. Гипостом – дистальная часть гидранта с ротовым отверстием – оранжевой окраски диаметром 0.1 – 0.25 мм. Гипостом меняет форму в зависимости от состояния полипа: куполовидный в спокойном состоянии и шаровидный после захвата добычи. Это хорошо видно при кормлении гидранта кусочками мяса мидии с кончика иголки. Свою добычу гидрант полностью охватывает щупальцами, число которых более 12. Они расположены у основания гипостома на разном уровне, что является характерным для этого рода. При вытягивании в сторону жертвы щупальца сильно удлиняются, достигая длины 1.0 мм, при толщине 0.025 мм. Важное отличие *P. napolitana* от других видов заключается в строении щупалец, кончики щупалец никогда не бывают шаровидно вздуты, как, например, у *Sarsia tubulosa*. Примерно посередине ножки полипа, между вздутой проксимальной частью, диаметром 0.1 мм, и узкой базальной частью, диаметром 0.07 мм, у одного полипчика обнаружена половая почка (гонофор) размером 0.1 x 0.07 мм. По литературным данным (Bouillon et al., 2002), колонии этого вида часто обрастают поверхность мелких брюхоногих моллюсков. Гидранты из Средиземного моря имеют веретеновидную форму и несут 16 – 22 щупалец, которые расположены в трёх или четырёх чередующихся кольцах. Ножки полипа различной длины, но не более 1 мм, узкие базально, расширяющиеся дистально. Перисарк или хитиновая оболочка ножки, умеренной толщины, в то время как у близкого вида *Pachycordyle pusilla* (Motz-Kossowska, 1905) перисарк толстый и сморщен на всём протяжении, заканчиваясь у основании гидранта. Проксимальные щупальца часто короче дистальных. Гипостом куполовидной формы. Гонофоры отходят от ножки гидранта на коротком морщинистом стебельке, полностью одеты перисарком. В водах Крыма неполовозрелые формы *P. napolitana* найдены в Мартыновой бухте (Севастопольское взморье) в феврале в биоценозе обрастания и в районе Коктебеля (юго-восточный Крым) в июле в зоне заплеска.

**Благодарность.** Приносим глубокую благодарность С. Д. Степаньянц, Зоологический Институт РАН (г. Санкт-Петербург) за ценные консультации и помощь в определении данного вида. (В. В. Мурина, В. А. Гринцов, Институт биологии южных морей НАНУ, Севастополь, Украина).



Рис. 1 Общий вид (general view) *Pachycordyle napolitana*