

## СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА КАРОТИНОИДОВ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CHAMELEA GALLINA* (LINNAEUS, 1758) В ЧЕРНОМ МОРЕ

© 2021 г. А. В. Бородина<sup>1,\*</sup>, П. А. Задорожный<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ ИнБЮМ РАН, Севастополь, Россия

<sup>2</sup> Институт химии ДВО РАН, Владивосток, Россия

\*e-mail: borodinaav@mail.ru

Поступила в редакцию 25.11.2020 г.

После доработки 19.01.2021 г.

Принята к публикации 20.01.2021 г.

Представлены результаты исследований каротиноидов морского двустворчатого моллюска-фильтратора *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), аборигена Черного моря. Ежемесячная динамика содержания суммарных каротиноидов (ССК) имела два выраженных пика: март–апрель–май и сентябрь. Весенний рост ССК происходил в период “цветения” воды и сопровождался визуально отмеченным ростом гонад, его максимум приходился на апрель ( $1.5 \pm 0.5$  мг  $100$  г<sup>-1</sup>). Осенний, менее выраженный – на сентябрь ( $0.5 \pm 0.2$  мг  $100$  г<sup>-1</sup>). Всего в весенних и осенних пробах идентифицировано до 90% от суммы всех каротиноидов (11 свободных каротиноидов и 7 эфиров):  $\beta$ -каротин, диатоксантин, галоцинтиаксантин, амароциаксантин А, фукоксантин, гетероксантин, мактраксантин, аллоксантин, лютеин, зеаксантин, диадиноксантин и эфиры последних семи каротиноидов. Обсуждаются возможные пути трансформации растительных каротиноидов в тканях *Ch. gallina*.

**Ключевые слова:** каротиноиды, *Chamelea gallina*, метаболизм, мактраксантин, амароциаксантин А, сезонные изменения

DOI: 10.31857/S0044452921030049

### ВВЕДЕНИЕ

*Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), морской вид двустворчатых моллюсков-фильтраторов из семейства Veneridae, имеющий средиземноморское происхождение, но считающийся аборигеном Черного моря, обитает на илисто-песчаных грунтах крымского побережья [1]. Необходимо отметить, что его полный видовой аналог, обитающий в Средиземном море, имеет не только внешние морфологические отличия, вызванные иными условиями обитания, но и приобрел промысловое значение среди стран средиземноморья [2]. Последнее связано с массовым распространением моллюска, его размерами (длина ракушки до 4.5 см) и пищевыми характеристиками [2]. В черноморском регионе *Ch. gallina* достигает длины только 3.0–3.2 см, хотя и является доминирующим видом в сообществах моллюсков на илисто-песчаных грунтах Крыма [1, 3]. Их численность и биомасса в Черном море близки к потенциально промысловым видам зообентоса, однако добыча, кроме Турции, нигде не осуществляется по причине не востребоваемости [3]. Вероятнее всего, отличия средиземноморского и черноморского вида хамелей имеют не только внешний морфологический характер и требуют более детального анализа. Несмотря на популярность этого вида моллюсков в питании европейцев, подробных исследований состава каротиноидов *Ch. gallina* как одного из важ-

ных показателей биологической ценности моллюсков, нигде ранее не проводилось. Так, в конце прошлого века у *Venus gallina* (*Ch. gallina*) был идентифицирован только  $\beta$ -каротин, несмотря на то, что другие представители семейства Veneridae были изучены более подробно [4]. В более поздних работах японских и итальянских ученых представлены результаты исследований состава каротиноидов близкородственных видов, таких как *Paphia amabilis*, *Callista chione* [5, 6]. Отличия в составе каротиноидов между представителями одного семейства, но разных родов и видов очевидны [4].

Помимо малоизученного в целом вопроса о составе каротиноидов и их метаболизме у *Ch. gallina*, отличия средиземноморских и черноморских моллюсков этого вида также остаются малоосвоенными. Изучение адаптаций моллюсков к условиям Черного моря при сравнении их с видовыми аналогами из других регионов М.О. является важным для поиска новых каротиноидных соединений и их путей метаболизма, как это было показано нами ранее [7]. В более ранних работах было установлено, что среди факторов, влияющих на изменение качественного и количественного состава каротиноидов у моллюсков-фильтраторов, в первую очередь необходимо отметить спектр питания, который подвергается сезонным колебаниям, а также репродуктивный цикл моллюска [7]. Целью данной

работы было исследование динамики содержания суммарных каротиноидов в течение годового жизненного цикла и качественного состава каротиноидов моллюска *Ch. gallina*, обитающего у крымского побережья Черного моря.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись двустворчатые моллюски *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), обитающие в смешанном донном сообществе песчаной зоны верхней сублиторали (глубина 0–1 м) бухты Казачья, г. Севастополя. Пробы моллюсков *Ch. gallina* отбирали ежемесячно в количестве от 8 до 15 особей (с длиной раковины 10–20 мм). Исследования состава каротиноидов моллюсков проводились в течение двух лет (2018–2019 гг). Годовая динамика ССК *Ch. gallina* представлена данными за 11 мес, результат на графике соответствует среднему значению для выборки из 8–15 особей. Для изучения качественного состава каротиноидов были отобраны две выборки по 30 животных, одна весной (апрель, май 2019), другая осенью (сентябрь, октябрь 2019).

**Спектрофотометрические методы.** Мягкие ткани гомогенизировали в фарфоровой ступке с пестиком, затем проводили экстракцию 100%-ным ацетоном [8]. Определение ССК проводили спектрофотометрическим методом [8]. Для снятия спектров видимой области использовали спектрофотометр СФ-2000 и Shimadzu UV-1800. Суммарный экстракт каротиноидов для идентификации методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии (MS) [9] был герметично запаян в ампулы в атмосфере азота и транспортирован при низкой температуре в Институт химии ДВО РАН.

**Хроматографические методы и масс-спектрометрия.** Разделение пигментов проводилось методом ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu LC-20 с диодно-матричным детектором SPD-M20A; колонка Zorbax Sil 4.6 × 250 мм, скорость потока 1 мл · мин<sup>-1</sup>, в градиенте гексан-ацетон (0–20 мин, гексан-ацетон 8:2 изократические условия; с 20 до 25 мин линейный градиент от до 80% ацетона, 25–35 мин изократический режим гексан-ацетон 2:8). Фракции каротиноидов собирали после разделения (приблизительно 10–15 разделений), объединяли, упаривали досуха на роторном испарителе при 40°C, перерастворяли в метаноле и записывали масс-спектры с использованием масс-спектрометрического детектора низкого разрешения Shimadzu LCMS-2010EV, источник APCI, в режиме регистрации положительных ионов.

Омыление каротиноидов проводили повторным растворением их в 5%-ном растворе КОН в метаноле.

Оценка количественного содержания индивидуальных каротиноидов методом ВЭЖХ проводена методом внутренней нормализации, для фукоксантина использовали поправочный коэффициент 1.5. Отношение максимумов III/II% в спектрах

поглощения рассчитывали, как описано в [10, 11]. Количество каротиноидов в этерифицированном виде оценивали после щелочного гидролиза этерифицированной фракции.

**Статистический анализ.** Статистическую обработку и графическое оформление полученной информации проводили при помощи пакета “Grapher-7”. Результаты расчета суммарных каротиноидов представлены как среднее арифметическое ( $\bar{x}$ ) и стандартная ошибка средней ( $S\bar{x}$ ). Для сравнения содержания каротиноидов в течение года применяли U-критерий Манна–Уитни.

Все усилия были предприняты, чтобы использовать только минимальное количество животных, необходимое для получения надежных научных данных. Настоящая статья не содержит результатов каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям биоэтической комиссии ФИЦ ИнБЮМ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Внешний вид тканей моллюска *Ch. gallina* представлен на рис. 1. На фоне равномерно окрашенных серо-белых тканей моллюска выделяются ярко окрашенные в желтый цвет гонады. Такой внешний вид тканей с визуально различимыми гонадами наиболее часто встречается в весенние и осенние месяцы года. Малые размеры особей хамелий (длина раковины 15–20 мм) и ограниченное их количество в месте сбора затрудняют подробный анализ состава каротиноидов для каждой ткани.

Динамика суммарных каротиноидов моллюсков *Ch. gallina* представлена на рис. 2. Наиболее высокое содержание ССК приходится на весенние месяцы (пик в апреле). В этот период визуально был отмечен рост репродуктивной ткани (рис. 1).

**Качественный состав каротиноидов.** Методом ВЭЖХ были идентифицированы следующие каротиноиды и их эфиры (рис. 3, табл. 1).

Суммарный экстракт каротиноидов моллюска содержал значительное количество производных хлорофилла разной степени деструкции, что связано со сложностью удаления содержимого пищеварительного тракта животного при подготовке к экстракции. Кроме того, феофитин *a*, имеющий время удерживания 3 мин, не разделяется с эфирами каротиноидов, что делает необходимым процесс щелочного гидролиза (рис. 3). В этой фракции после омыления были идентифицированы лютеин, зеаксантин, аллоксантин и другие каротиноиды (табл. 1, 2). Хроматограмма омыленного суммарного экстракта пигментов представлена на рис. 3с. На ней видно увеличение относительной доли гетероксантина и мактраксантина, что указывает на их присутствие

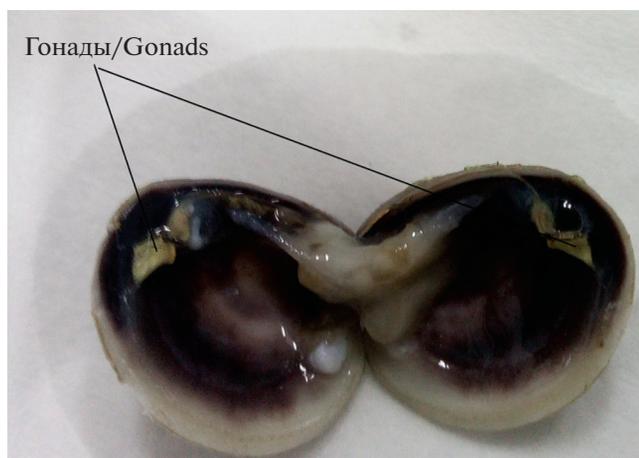


Рис. 1. Ткани моллюска *Ch. gallina* (май 2018).

в этерифицированном виде. Отметим достоверные различия в содержании  $\beta$ -каротина, свободных зеаксантина, диатоксантина, аллоксантина и гетероксантина в весенней и осенней выборках. Мактраксантин в свободном виде был обнаружен только весной.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее высокое ССК приходится на весенние месяцы (пик в апреле), что, с одной стороны, соответствует периоду массового развития фитопланктона, т.е. увеличению его количества и разнообразия в пищевом рационе моллюсков [12, 16]. С другой стороны, повышение среднесуточной температуры в прибрежной полуметровой зоне до 15–20°C и наличие обильного питания (фито- и микророзопланктона) способствуют не только общему росту ССК, но и активному созреванию гонад. По литературным данным, в более глубоких местах обитания (более 20 м) размножение *Ch. gallina* в Черном море у берегов Крыма происходит позднее, в более теплое время года (июль – сентябрь), и совпадает с началом прогрева водных масс до 20–21°C [13].

Как правило, моллюски *Ch. gallina* обитают в смешанных биоценозах, в которых встречаются другие двустворчатые моллюски-фильтраторы, например, такие как *Cerastoderma glaucum* и *Paphia aurea*. По результатам наших исследований, находясь в одном биотопе, эти три вида моллюсков имеют отличия как в годовой динамике ССК, так и в составе каротиноидов [14]. Объяснить это можно только различиями в наборе специфических ферментов, ответственных за трансформацию поступающих с пищей каротиноидов. Кроме того, очевидна связь между ССК и репродуктивным циклом, что также характерно и для других двустворчатых моллюсков-фильтраторов [16]. Особенности тканевого распределения ССК у *Cerastoderma glaucum* и *Paphia aurea* требуют дальнейших исследований.

По сравнению с другими распространенными двустворчатыми моллюсками Черного моря, та-

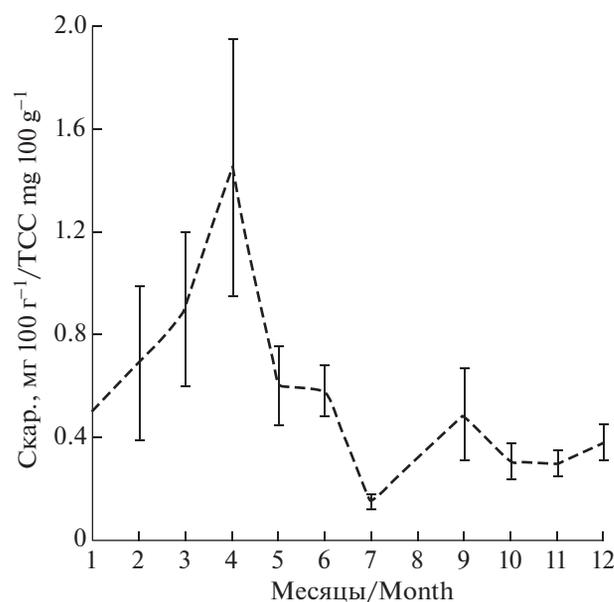


Рис. 2. Годовая динамика содержания суммарных каротиноидов (мг · 100 г<sup>-1</sup>) *Ch. gallina*.

кими как взрослые особи *Mytilus galloprovincialis* (3.6–8 мг · 100 г<sup>-1</sup>) [17], *Anadara kagoshimensis* (2–6 мг · 100 г<sup>-1</sup>) [7], *Cerastoderma glaucum* (2–8 мг · 100 г<sup>-1</sup>) [14], у *Ch. gallina* наблюдается более низкий уровень ССК. Этот факт, а также значительное количество производных хлорофилла в суммарном экстракте каротиноидов, являлись существенным препятствием для более подробного исследования сезонной динамики качественного состава каротиноидов. В связи с этим наша работа была ограничена исследованиями двух периодов максимального накопления ССК: весной и осенью. Качественный состав представлен 11 свободными и 7 этерифицированными соединениями, основными (61–68% ССК) являются  $\beta$ -каротин, диатоксантин, аллоксантин, фукоксантин и гетероксантин (табл. 1, 2). Большинство каротиноидов имеют растительное происхождение и могут накапливаться моллюсками непосредственно из фитопланктона фильтруемой взвеси. Сотрудниками нашего института на протяжении многих лет проводилась работа по изучению сукцессий фитопланктона Крымского побережья. Ими было установлено, что видовое разнообразие состава фитопланктона отличается год от года, тем не менее, по многолетним наблюдениям, наибольшим видовым разнообразием обладают весенний и осенний периоды [12]. Эти периоды совпадают с массовым развитием диатомовых водорослей в прибрежной зоне Крыма, которые вызывают “цветение” воды [12]. Различия между весенними и осенними выборками по составу каротиноидов у *Ch. gallina*, по нашему мнению, напрямую связаны с изменением в спектре питания моллюсков (составе планктона) и свето-температурными условиями обитания, которые связаны со сменой сезонов года.

Таблица 1. Идентификация каротиноидов *Chamelea gallina*

Название	Время удерживания ( $R_f$ ), мин	Максимумы поглощения в элюенте ( $\lambda_{\max}$ ), нм	Отношение %III/II	$m/z$ иона [M+H] <sup>+</sup>
$\beta$ -каротин	2.74	425, 448, 474,	15	537
Эфир мактраксантина	2.9–3.2/32.8*	418, 441, 471*	95*	637*
Эфир гетероксантина	2.9–3.2/30.1*	425, 448, 477*	58*	601*
Эфир аллоксантина	2.9–3.2/19.2*	452, 481*	46*	565*
Эфир лютеина	2.9–3.2/15.2*	448, 473*	44*	–
Эфир зеаксантина	2.9–3.2/15.6*	451, 475*	8*	–
Эфир диадиноксантина	2.9–3.2/19.4*	453, 480*	52*	583*
Лютеин	15.19	448, 473	44	569
Зеаксантин	15.6	451, 475	5	–
Диатоксантин	17.43	450, 476	17	567
Аллоксантин	19.22	452, 481	50	565
Диадиноксантин	19.35	453, 480	56	583
Фукоксантин	27.2**	448, (469)	0	659, 681 [M+Na] <sup>+</sup>
Галоцинтиаксантин	29.42	448	0	–
Гетероксантин	30.09	425, 448, 477	62	601
Амароциаксантин А	32.55	440	0	–
Мактраксантин	32.88	418, 442, 471	91	637

Примечание: \* – после омыления

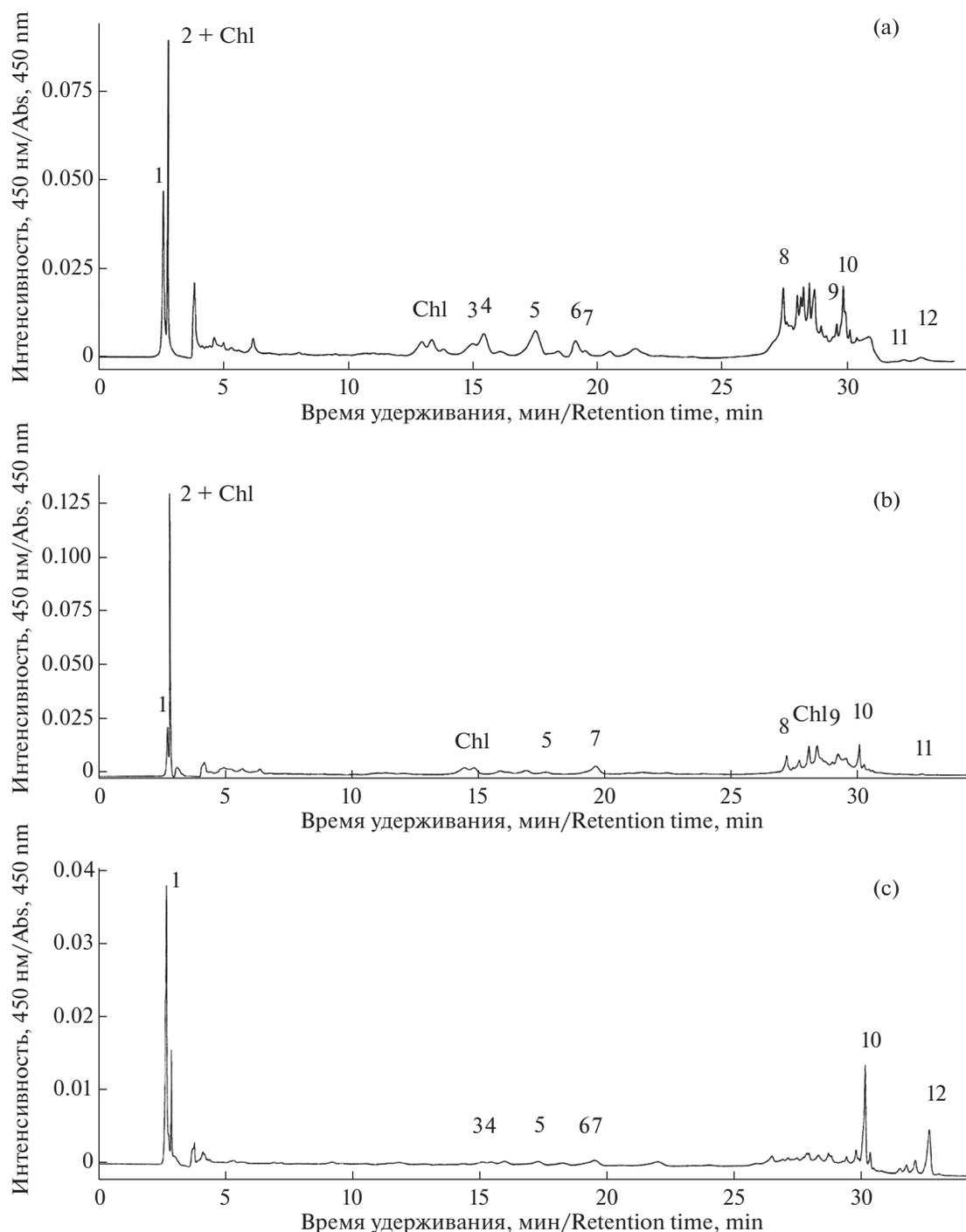
\*\* – Фракция неразделима со стандартом, выделенным из *Laminaria sp.*

Прочерк означает, что масс-спектр фракции записать не удалось из-за низкой концентрации.

Таблица 2. Состав и относительное содержание каротиноидов *Chamelea gallina*

Каротиноиды Carotenoids	Весенняя проба, %*, Spring sampling, %*	Осенняя проба, %*, Autumn sampling, %*
$\beta$ -каротин/ $\beta$ -carotene	26.3	42.5
Эфиры каротиноидов/Carotenoids Ester		
Мактраксантина/Mactraxanthin Ester	2	6.3
Гетероксантина/Heteroxanthin Ester	2	4.0
Аллоксантина/Alloxanthin Ester	3	3.0
Лютеина/Lutein Ester		0.3
Зеаксантина/Zeaxanthin Ester	1	0.3
Диадиноксантина/Diadinoxanthin Ester		4.0
Фукоксантина/Fucoxanthin Ester	3	
Лютеин/Lutein	0.5	3.5
Зеаксантин/Zeaxanthin	6.5	1.0
Диатоксантин/Diatoxanthin	12.4	2.5
Аллоксантин/Alloxanthin	8.5	3.0
Диадиноксантин/Diadinoxanthin	2	4.2
Фукоксантин/Fucoxanthin	8	7.0
Галоцинтиаксантин/Halocintiaxanthin	0.6	1.0
Гетероксантин/Heteroxanthin	12.9	6.2
Амароциаксантин А/Amarouciaxanthin A	1	1.5
Мактраксантин/Mactraxanthin	2.5	0
Неидентифицированные/Notidentified	10.8	9.7

\*Примечание – за 100% принято суммарное содержание каротиноидов.



**Рис. 3.** ВЭЖХ неомыленного (а – весенняя выборка, б – осенняя выборка) и омыленного (с – весенняя выборка) экстракта каротиноидов проб мягких тканей *Ch. gallina*. По оси ординат: интенсивность при 450 нм; по оси абсцисс – время, в минутах. Обозначения пиков: 1 –  $\beta$ -каротин, 2 – эфиры каротиноидов, Chl – хлорофилл, 3 – лютеин, 4 – зеаксантин, 5 – диатоксантин, 6 – аллоксантин, 7 – диадиноксантин, 8 – фукоксантин, 9 – галоцинтиаксантин, 10 – гетероксантин, 11 – амароциаксантин А, 12 – мактраксантин.

Ряд каротиноидов, поступая из пищи, подвергается трансформации в организме животного. К ним относятся амаруциаксантин А, галоцинтиаксантин, мактраксантин, которые не синтезируются автотрофами. В научной литературе описаны метаболические пути их получения у других двустворчатых моллюсков: фу-

коксантин  $\rightarrow$  фукоксантинол  $\rightarrow$  амаруциаксантин А; фукоксантин  $\rightarrow$  фукоксантинол  $\rightarrow$  галоцинтиаксантин [17]; образование мактраксантина у моллюсков-фильтраторов связано, скорее всего, с наличием в спектре питания микроводорослей, образующих в своем составе виолоксантин [18]. В составе каротино-

идов *Ch. gallina* имеется гетероксантин, который может накапливаться, которые поступают в биотоп как напрямую из некоторых видов динофлагеллят [19] вместе с потоком распресненных вод, так и посредством трансформации у двустворчатых моллюсков диациноксантин → гетероксантин [20].

Большое количество и разнообразие этерифицированных каротиноидов указывают на адаптивные способности моллюска *Ch. gallina*, так как эфиры выступают в роли депо для свободных каротиноидов и задействуются в случае необходимости при нехватке/отсутствии в спектре питания; этерификация каротиноидов характерна также и для двустворчатого моллюска *C. glaucum*, обитающего в тех же условиях [14]. В целом состав каротиноидов у *Ch. gallina* и *C. glaucum* сходен на 70–80%. Это может быть объяснено, с одной стороны, близостью этих видов на филогенетическом уровне: они принадлежат одному надотряду (Imparidentia), но разным отрядам: Venerida и Cardiida соответственно, а также сходством условий обитания и кормовой базы в одном биотопе.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены первые данные по качественному и количественному составу каротиноидов двустворчатого моллюска-фильтратора *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), обитающего у крымского побережья Черного моря. Динамика ССК в течение года имеет два выраженных пика: весенний и осенний. Весенний рост ССК происходил в период “цветения” воды и сопровождался визуально отмеченным ростом гонад, его максимум приходился на апрель ( $1.5 \pm 0.5 \text{ мг} \cdot 100 \text{ г}^{-1}$ ). Осенний, менее выраженный, — на сентябрь ( $0.5 \pm 0.2 \text{ мг} \cdot 100 \text{ г}^{-1}$ ). Всего в весенних и осенних пробах идентифицировано до 90% от суммы всех каротиноидов (11 свободных каротиноидов и 7 эфиров):  $\beta$ -каротин, диатоксантин, фукоксантин, галоцинтиаксантин, амароциаксантин А, гетероксантин, мактраксантин, аллоксантин, лютеин, зеаксантин, диациноксантин и эфиры последних каротиноидов. Это указывает на следующие возможные пути трансформации пигментов у этого вида: фукоксантин → фукоксантинол → амароциаксантин А; фукоксантин → фукоксантинол → галоцинтиаксантиин; диациноксантин → гетероксантин. Видоспецифичным является амароциаксантин А, отмеченный ранее как характерный для других Veneridae [4, 5].

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена по теме государственного задания ФГБУН ИМБИ РАН “Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом”. Рег. номер НИОКТР АААА-А 18-118021490093-4; дата рег. 14.02.2018 г. В ра-

боте использовали оборудование ЦКП “Дальневосточный центр структурных исследований” ИХ ДВО РАН.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Направление исследований, сбор материала, анализ на ССК, пробоподготовка для транспортировки и отправление для исследований методом ВЭЖХ и МС осуществлялось А.В. Бородиной. Анализ ВЭЖХ и МС, описание этих методов, подготовка таблицы и рисунка (ВЭЖХ) проводилось вторым автором: П.А. Задорожным. При совместном обсуждении двух авторов, написание манускрипта и его редактирование осуществлялось первым автором.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Невесская Л.А.* (1965) Позднечетвертичные двустворчатые моллюски Черного моря, их систематика и экология. М. Наука. [Nevevskaya L.A. (1965) Pozdnechetvertichnye dvustvorchatye mollyuski Chernogo moray, ikh sistematika i ekalogiya. [Late Quaternary bivalve molluscs of the Black Sea, their taxonomy and ecology]. M. Nauka. (in Russ)].
2. *Pinello D., Dimech M., Megahed A., Gazzar El.H.* (2020) Assessment of the commercial chain of bivalves in Egypt. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1196. Rome, FAO.
3. *Еремеев В.Н., Гаевская А.В., Шульман Г.Е., Загородняя Ю.А.* (2011) (ред). Промысловые биоресурсы Черного и Азовского морей. Севастополь: ЭКОСИ–Гидрофизика. [Eremeev V.N., Gaevskaya A.V., Shulman G.E., Zagorodnyaya Yu.A. (2011) (red). Promislovie biorekursy Chyornogo i Azovskogo morei. [Commercial biological resources of the Black and Azov seas.]. Sevastopol: EKOSI–Gidrofizika. (in Russ)].
4. *Goodwin T.W.* (1984) The biochemistry of the carotenoids: animals. London; New York: Chapman and Hall.
5. *Maoka T., Akimoto N., Yim M.J., Hosokawa M., Miyashita K.* (2008) New C37 skeletal carotenoid from the clam, *Paphia amabilis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56 (24):12069–12072. <https://doi.org/10.1021/jf802717b>
6. *Papaioannou Ch.D., Sinanoglou V.J., Strati I.F., Proestos Ch., Kyranou V.R., Lougovois V.P.* (2016) Impact of different preservation treatments on lipids of the smooth clam *Callista chione*. International Journal of Food Science and Technology. 51: 325–332. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12972>
7. *Бородина А.В., Солдатов А.А.* (2014) Каротиноиды тканей массовых видов черноморских моллюсков. С. 87–168. в кн. Черноморские моллюски: элементы сравнительной и экологической биохимии. Шульман Г.Е., Солдатов А.А. (2014) (ред.) Севастополь: ЭКОСИ-Гидро-физика. [Borodina A.V., Soldatov A.A. (2014) Carotinoidy tkanej massovykh vidov chernomorskih mollyuskov. S. 87–168. v kn. Chernomorskie mollyuski: element sravnitelnoj i ekologicheskoy biohimii.

- Shulman GE, Soldatov AA (2014) (red.) [Carotenoids of tissues of dominant species of Black Sea shellfish. p. 87–168. In book Black Sea clams: elements of comparative and ecological biochemistry. Shulman G.E., Soldatov A.A. (Eds.)]. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika. (in Russ)].
8. Карнаухов В.Н. (1988) Биологические функции каротиноидов. М.: Наука. [Karnaukhov V.N. (1988) Biologicheskie funkicii karotinoidov [Biological functions of carotenoids]. M.: Nauka. (in Russ)].
  9. Маока Т., Акimoto Н. (2008) Natural product chemistry in carotenoid some experimental techniques for structural elucidation and analysis of natural carotenoids. Carotenoid Science (Mini-review) 13: 10–17. <https://doi.org/10.3390/md9020278>
  10. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. (1995) (Eds.). Carotenoids. V. 1 A. Isolation and Analysis. Basel: Birkhauser Verlag.
  11. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. (1995) (Eds.). Carotenoids. V. 1B: Spectroscopy. Basel: Birkhäuser Verlag.
  12. Токарев Ю.Н., Финенко З.З., Шадрин Н.В. (2008) (ред). Микроводоросли Черного моря: проблемы биоразнообразия, сохранения и биотехнологического использования. Севастополь: ЭКОСИ–Гидрофизика. [Tokarev Yu.N., Finenko Z.Z., Shadrin N.V. (2008) (red). Mikrovodorosli Chyornogo morya: problemy bioraznoobraziya, sohraneniya i biotekhnologicheskogo ispol'zovaniya [Black Sea microalgae: biodiversity, conservation and biotechnology use issues]. Sevastopol: EKOSI–Gidrofizika. (in Russ)].
  13. Ревков Н.К., Тимофеев В.А., Лисицкая Е.В. (2014) Состав и сезонная динамика макрозообентоса локального биотического комплекса *Chamelea gallina* (западный Крым, Черное море). Экосистемы, их оптимизация и охрана 11: 247–259. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/eco00\\_2014\\_11\\_35](http://nbuv.gov.ua/UJRN/eco00_2014_11_35)
  14. Бородина А.В. (2017) Особенности накопления каротиноидов некоторыми черноморскими моллюсками-фильтраторами *in vivo*. Материалы научных мероприятий, приуроч. к 15-летию Южного научного центра Российской академии наук, г. Ростов-на-Дону, 13–16 декабря, 2017 г. Ростов-н/Д. 351–353. [Borodina A.V. (2017) Osobennosti nakopleniya karotinoidov nekotorymi chernomorskimi mollyuskami-filtratorami *in vivo*. Materialy nauchnyh meropriyatij, priuroch. k 15-letiyu Yuzhnogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk, g. Rostov-na-Donu, 13–16 dekabrya, 2017. [Features of carotenoid accumulation by some Black Sea filter-feeding bivalves *in vivo*. Materials of scientific events to the 15th anniversary of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, December 13–16, 2017] Rostov-n/D. 351–353. (in Russ)].
  15. Поспелова Н.В., Нехорошев М.В. (2009) Сезонная динамика накопления каротиноидов в мягких тканях культивируемой черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis*. Экология моря 79: 57–62. [Pospelova N.V., Nekhoroshev M.V. (2009) Sezonnaya dinamika nakopleniya karotinoidov v myagkih tkanyah kul'tiviruemoj chernomorskoj midii *Mytilus galloprovincialis*. Ekologiya morya 79: 57–62. (In Russ)].
  16. Маока Т., Етох Т., Бородина А.В., Солдатов А.А. (2011) A series of 19 or 19'-Hexanoyloxy carotenoids from the sea mussel, *Mytilus galloprovincialis*, grown in the Black sea of Ukraine. J Agric Food Chem 59: 13059–13064. <https://doi.org/10.1021/jf2035115>
  17. Маока Т. (2011) Carotenoids in Marine Animals. Mar Drugs 9: 278–293. <https://doi.org/10.3390/md9020278>
  18. Bridoux M.C., Sobiechowska M., Briggs R.G., Perez-Fuentetaja A., Alben K.T. (2017) Separation and Identification of Fatty Acid Esters of Algal Carotenoid Metabolites in the Freshwater Mussel *Dreissena bugensis*, by Liquid Chromatography with Ultraviolet/Visible Wavelength and Mass Spectrometric Detectors in series. J. Chromatogr A. 1513:93–106. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.07.021>
  19. Strain H.H., Svec W.A., Katz J.J. (1970) Structure of heteroxanthin, a unique xanthophyll from the Xanthophyceae (Heterokontae). J Chem Society D Chem Commun 876–877. <https://doi.org/10.1039/C29700000876>
  20. Partali V., Tangen K., Liaaen-Jensen S. (1989) Carotenoids in food chain studies – III. Resorption and metabolic transformation of carotenoids in *Mytilus edulis* (Edible mussel). Comp Biochem Physiol 92B (2):239–246. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(89\)90272-1](https://doi.org/10.1016/0305-0491(89)90272-1)

## SEASONAL DYNAMICS OF CAROTENOIDS IN THE BLACK SEA BIVALVE MOLLUSK *CHAMELEA GALLINA* (LINNAEUS, 1758)

A. V. Borodina<sup>a,#</sup> and P. A. Zadorozhny<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russia

<sup>b</sup> Institute of Chemistry, Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

<sup>#</sup>e-mail: borodinaav@mail.ru

The seasonal dynamics of the total carotenoid content (TCC) was studied in the indigenous Black Sea bivalve mollusk *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758). The TCC dynamics showed two distinct peaks: in spring (March–May) and fall (September). The spring elevation in the TCC coincided with phytoplankton blooming and was accompanied by a visually detected growth of the gonads that peaked in April ( $1.5 \pm 0.5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ). The fall elevation in the TCC, less pronounced, occurred in September ( $0.5 \pm 0.2 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ). Totally, in spring and fall samples, there were identified up to 90% of the TCC: 11 free carotenoids ( $\beta$ -carotene, diatoxanthin, halocintiaxanthin, amarouciaxanthin A, fucoxanthin, heteroxanthin, mastraxanthin, alloxanthin, lutein, diadinoxanthin, zaexanthin) and esters of the last seven carotenoids. Possible pathways of transformation of plant carotenoids in *Ch. gallina* tissues are discussed.

**Keywords:** carotenoids, *Chamelea gallina*, metabolism, amarouciaxanthin A, mastraxanthin, seasonal changes