БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 70–72

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 574.64

СЕЗОННОЕ НАКОПЛЕНИЕ АМНЕЗИОТОКСИНА (ДОМОЕВОЙ КИСЛОТЫ) У ПРОМЫСЛОВЫХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ *MYTILUS TROSSULUS* GOULD, 1850 И *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS* JAY, 1850 В ЗАЛИВЕ ВОСТОК ЯПОНСКОГО МОРЯ

© 2020 г. И. В. Стоник[1, *], Т. Ю. Орлова[1]

[1]*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия*

**e-mail: innast2004@mail.ru*

Поступила в редакцию 21.05.2019 г.
После доработки 07.09.2019 г.
Принята к публикации 03.10.2019 г.

Впервые проведена оценка сезонного накопления опасного амнезиотоксина – домоевой кислоты (ДК) в тканях двух промысловых видов двустворчатых моллюсков, обитающих в зал. Восток Японского моря. В тканях тихоокеанской мидии *Mytilus trossulus* концентрация ДК в октябре–феврале варьировала от 0.003 до 0.1 мг/кг. В тканях приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* содержание ДК в январе–марте изменялось от 0.003 до 0.09 мг/кг. Максимальное содержание амнезиотоксина в тканях обоих видов моллюсков зарегистрировано в январе. Рекомендовано проводить обязательный круглогодичный мониторинг содержания амнезиотоксина в двустворчатых моллюсках из района исследования.

Ключевые слова: амнезиотоксин, домоевая кислота, двустворчатые моллюски, залив Восток, Японское море

DOI: 10.31857/S0134347520010106

Нейротоксичная домоевая кислота (ДК), продуцентами которой являются диатомовые водоросли, способна накапливаться в моллюсках, рыбах и других гидробионтах, что приводит к отравлению и гибели рыб, птиц, а также морских млекопитающих. У людей ДК вызывает тяжелое отравление, известное как амнезическое отравление моллюсками (Trainer et al., 2012; Bates et al., 2018, и др.). Интоксикации, связанные с употреблением в пищу морепродуктов, содержащих амнезиотоксин, наносят вред здоровью населения многих стран и причиняют значительный экономический ущерб (Lelong et al., 2012; Trainer et al., 2012, и др.). Содержание фикотоксинов в морепродуктах – важнейший показатель их безопасности, который регламентируется во многих странах. В России содержание амнезиотоксина регламентируется СанПиН 2.3.2.2401-08 “Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов” (http://docs.cntd.ru/document/902112577), в которых указан предельный уровень содержания ДК в моллюсках (20 мг/кг). В полуфабрикатах, изготовленных из рыбы и нерыбных продуктов промысла, присутствие ДК не допускается.

Контролировать содержание фикотоксинов в морепродуктах особенно важно в районах расположения хозяйств марикультуры и рекреационных объектов. К числу таких районов относится зал. Восток (зал. Петра Великого, Японское море), где находятся участки марикультуры для выращивания тихоокеанской мидии, приморского гребешка, дальневосточного трепанга и ламинарии японской, а также объекты рекреации, которые в летний сезон посещают не менее 200 тыс. отдыхающих (Orlova et al., 2014). Информация о содержании фикотоксинов в моллюсках из зал. Петра Великого ограничена (Orlova et al., 2015; Stonik et al., 2019); содержание фикотоксинов в двустворчатых моллюсках из зал. Восток ранее не оценивали.

Цель настоящей работы – определить сезонное накопление опасного амнезического токсина (домоевой кислоты) в двух видах промысловых двустворчатых моллюсков из зал. Восток Японского моря.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал собирали в зал. Восток Японского моря в районе с координатами 42°53′ N, 132°44′ E. Тихоокеанскую мидию *Mytilus trossulus* Gould, 1850 (13 проб) отбирали с сентября 2009 г. по октябрь 2010 г. (табл. 1), приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* Jay, 1857 (6 проб) – с января по июнь 2010 г. с глубины около 10 м. У тихоокеанской мидии брали все мягкие ткани, у приморского гребешка – только мускул. В зависимости от размера особи, каждая проба – это материал от 5–10 животных; масса одной пробы составляла 50 г. До проведения анализа пробы хранили при тем-

Таблица 1. Концентрация домоевой кислоты (мг/кг) в тканях двустворчатых моллюсков из зал. Восток Японского моря

Дата сбора	*Mytilus trossulus*	*Mizuhopecten yessoensis*
15.09.2009	nd	–
2.10.2009	0.005	–
16.10.2009	**0.003**	–
27.01.2010	0.1 ± 0.04	0.09 ± 0.009
27.02.2010	0.02 ± 0.001	**0.003**
24.03.2010	nd	**0.003**
29.04.2010	nd	nd
12.05.2010	nd	nd
5.06.2010	nd	nd
4.07.2010	nd	–
3.08.2010	nd	–
28.09.2010	nd	–
22.10.2010	nd	–

Примечание. Приведены средние значения ± стандартное отклонение; “nd” – значения концентрации ниже предела обнаружения; “–“ данные отсутствуют. Жирным шрифтом выделены концентрации, соответствующие пределу обнаружения методом cELISA.

пературе –80°C. В лаборатории пробу гомогенизировали с помощью блендера, 4 г гомогената экстрагировали в 16 мл 50% раствора метанола, центрифугировали в течение 10 мин при 3000 оборотов при комнатной температуре и затем отбирали супернатант. Непосредственно перед проведением анализа аликвоту получившегося экстракта разбавляли буферным раствором (10% метанол в фосфатном буфере с твином 20, pH 7.4). Экстракт анализировали в трех повторностях (57 измерений). Содержание домоевой кислоты измеряли методом конкурентного иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов ASP direct cELISA kit (Biosense Laboratories AS, Norway, AOAC Official method 2006.02) в соответствии с рекомендациями производителя (https://stylab.ru/netcat_files/userfiles/Flyers/Algal_toxins/ASP_ELISA.pdf). Данная методика рекомендована международной Ассоциацией аналитических сообществ (AOAC International) в качестве официального метода при рутинных мониторинговых исследованиях количественного содержания домоевой кислоты в съедобных моллюсках (Kleivdal et al., 2007; AOAC International, 2012). Она отличается высокой селективностью и чувствительностью, а также легкостью выполнения измерений по сравнению с инструментальным методом ВЭЖХ-УФ (предел количественного определения 0.5 мг/кг). Оптическую плотность растворов измеряли с помощью микропланшетного фотометра BioTek ELx800 (BioTek, USA) при длине волны 450 нм. Предел обнаружения метода cELISA составляет 0.003 мг/кг, предел количественного определения – 0.011 мг/кг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате круглогодичных наблюдений было установлено, что ДК в тканях тихоокеанской мидии присутствовала с октября по февраль; весной, летом и в начале осени в тканях этого моллюска амнезиотоксин не найден (табл. 1). В тканях приморского гребешка ДК была обнаружена в январе–марте, а в апреле–июне токсин не найден. Концентрация ДК в тканях моллюсков была низкой: от 0.003 до 0.1 мг/кг в пробах *M. trossulus* и от 0.003 до 0.09 мг/кг в пробах *M. yessoensis*. Установлено, что ДК присутствовала в 37% изученных проб. Максимальная концентрация амнезиотоксина (около 0.1 мг/кг) в тканях обоих видов зарегистрирована в конце января (табл. 1). Полученные результаты изменили наше представление о сезонах, в течение которых в зал. Петра Великого возможно загрязнение двустворчатых моллюсков фикотоксинами. Ранее считали, что загрязнение происходит только в летне-осенний период (Orlova et al., 2015; Stonik et al., 2019).

Известно, что содержание фикотоксинов в моллюсках в большей степени связано с концентрацией токсичного фитопланктона, отмеченной ранее, чем с его концентрацией, установленной одновременно с измерением токсичности моллюсков (Bricelj, Shumway, 1998). Сезонные исследования фитопланктона, проведенные в зал. Восток в мае–октябре 2009 г., позволили выявить массовое развитие в сентябре–октябре токсичной диатомовой водоросли *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle, 2003, плотность которой составляла 50–96 тыс. кл/л (М.С. Селина, личное сообщение). Эти сведения, а также установленная ранее высокая токсичность клонов *P. calliantha* из зал. Петра Великого (Stonik et al., 2019) свидетельствуют о том, что данный вид водорослей можно рассматривать как потенциальный источник ДК в моллюсках из района исследования.

Интенсивные и масштабные токсичные “цветения” *Pseudo-nitzschia* и связанное с ними накопление ДК в моллюсках до экстремально высоких значений (более 300 мг/кг), а также многочисленные случаи гибели морских птиц и млекопитающих характерны для тихоокеанских прибрежных вод США (Lelong et al., 2012; Trainer et al., 2012). В северо-западной части Тихого океана отравления людей и морских животных, обусловленные “цветениями” *Pseudo-nitzschia*, не зарегистрированы. Однако и в этом районе возможны случаи существенного накопления амнезиотоксина в моллюсках. Так, содержание ДК выше утвержденного предельного допустимого уровня концентрации (20 мг/кг), при котором вводится запрет на добычу и употребление в пищу моллюсков (http://files.foodmate.com/2013/files_930.html), зарегистрировано в мидиях из прибрежных вод Кореи (Lee, Baik, 1997) и о-ва Сахалин, где концентрация токсина в трех пробах приморского гребешка превышала предельно допустимую в 3.0–5.5 раза (Могильникова и др., 2007). Максимальные концентрации ДК в

тканях *M. trossulus* и *M. yessoensis* из зал. Восток (около 0.1 мг/кг), а также из других районов северо-западной части Японского моря – от 0.01 до 0.3 мг/кг (Stonik et al., 2019) – оказались существенно ниже предельно допустимых показателей.

Несмотря на то, что концентрация ДК в изученных пробах была невысокой, можно предположить, что при формировании интенсивных "цветений" *Pseudo-nitzschia* (концентрация выше 1 млн кл/л), подобных тем, что наблюдались ранее в Амурском и Уссурийском заливах Японского моря (Стоник, Орлова, 2013), существует высокая вероятность накопления ДК в моллюсках, обитающих в зал. Восток, до опасных для человека и животных значений. Необходимо отметить, что длительное хроническое воздействие даже низких концентраций ДК может быть причиной неврологических нарушений (Lelong et al., 2012). Результаты нашей работы указывают на необходимость проведения круглогодичного мониторинга содержания амнезиотоксина в двустворчатых моллюсках из района исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке программы "Дальний Восток" № 18-5-074.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Могильникова Т.А., Мотылькова И.В., Коновалова Н.В. О развитии массовых токсичных видов фитопланктона и содержании фикотоксинов в тканях гребешка *Mizuhopecten yessoensis* Jay в прибрежных водах о. Сахалин // Тр. СахНИРО. 2007. Т. 9. С. 207–222.

Стоник И.В., Орлова Т.Ю. Видовой состав и количественное распределение диатомовых водорослей рода *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, 1900 в российских водах Японского и Охотского морей // Биол. моря. 2013. Т. 39. № 4. С. 246–253.

AOAC. Official methods of analysis of AOAC International: 19th ed. / Ed. G.W. Jr. Latimer. Gaithersburg, Md, USA: AOAC International. 2012.

Bates S.S., Hubbard K.A., Lundholm N. et al. Pseudo-nitzschia, Nitzschia, and domoic acid: new research since 2011 // Harmful Algae. 2018. V. 79. P. 3–43.

Bricelj V.M., Shumway S.E. Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence, transfer kinetics, and biotransformation // Rev. Fish. Sci. 1998. V. 6. P. 315–383.

Kleivdal H., Kristiansen S.-I., Nilsen M.V., Goksøyr A. Determination of domoic acid toxins in shellfish by Biosense ASP ELISA – a direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay: collaborative study // J. AOAC Int. 2007. V. 90. P. 1011–1027.

Lee J.H., Baik J.H. Neurotoxin-producing *Pseudonitzschia multiseries* (Hasle) Hasle, in the coastal waters of Southern Korea. II. Production of domoic acid // Korean J. Phycol. 1997. V. 12. P. 31–38.

Lelong A., Hégaret H., Soudant P., Bates S.S. Pseudo-nitzschia (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms // Phycologia. 2012. V. 51. P. 168–216.

Orlova T.Yu., Morozova T.Yu., Kameneva P.A., Schevchenko O.G. Harmful algal blooms on the Russian east coast and their possible economic impacts // PICES Sci. Rep. 2014. № 47. P. 41–58.

Orlova T.Yu., Kameneva P.A., Stonik I.V. et al. Diarrhetic shellfish toxins in Primorsky Krai, Russia // J. Shellfish Res. 2015. V. 34. № 3. P. 1151–1160.

Stonik I.V., Orlova T.Yu., Chikalovets I.R. et al. Pseudo-nitzschia species (Bacillariophyceae) and the domoic acid concentration in *Pseudo-nitzschia* cultures and bivalves from the northwestern Sea of Japan, Russia // Nova Hedwigia. 2019. V. 108. № 1–2. P. 73–93.

Trainer V.L., Bates S.S., Lundholm N. et al. Pseudo-nitzschia physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health // Harmful Algae. 2012. V. 14. P. 271–300.

Seasonal Accumulation of Amnesic Toxin (Domoic Acid) in Commercial Bivalves *Mytilus trossulus* Gould, 1850 and *Mizuhopecten yessoensis* Jay, 1850 in Vostok Bay, Sea of Japan

I. V. Stonik[a] and T. Yu. Orlova[a]

[a]*Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia*

The seasonal accumulation of the amnesic toxin domoic acid (DA) in the tissues of two commercial species of bivalves from Vostok Bay (the Sea of Japan) was assessed for the first time. The concentration of domoic acid in the tissues of the Pacific mussel *Mytilus trossulus* varied from 0.003 to 0.1 mg/kg during the period between October and February, and in the scallop *Mizuhopecten yessoensis* it varied from 0.003 to 0.09 mg/kg during the period between January and March. The maximum concentration of domoic acid in both species of mollusks was recorded in January. The results indicate the need for a year-round monitoring of amnesic toxin concentrations in bivalves from Vostok Bay.

Keywords: amnesic toxin, domoic acid, diatoms, bivalves, Vostok Bay, Sea of Japan