

УДК 591.124:575.17(262.5)

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЧЕТЫРЕХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM. (MYTILIDAE: MOLLUSCA) ИЗ ЧЕРНОГО МОРЯ

А. Д. Куликова, А. А. Солдатов

Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН
29011 г. Севастополь, пр-т Нахимова 2, e-mail: qulikova@gmail.com, alekssoldatov@yandex.ru

Исследованы генетические характеристики 4-х цветовых групп двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* (черная, переходная, темно- и светло-коричневая группы), идентифицированных методом компьютерной обработки фотографий. При помощи RAPD анализа было показано, что черноморской популяции мидии свойственно высокое генетическое разнообразие. Установлено наличие генетической обособленности моллюсков со светло-коричневой окраской раковины, что, по-видимому, обусловлено наличием экологической изоляции между скальной и иловой формами мидии.

Ключевые слова: *Mytilus galloprovincialis*, цветовой полиморфизм, генетическое разнообразие, RAPD, Черное море.

ВВЕДЕНИЕ

Морской двустворчатый моллюск *Mytilus galloprovincialis* Lam., или мидия, является массовым видом в умеренных климатических зонах обоих полушарий [Hilbish et al., 2000]. Он формирует свои поселения на различных биотопах (прибрежные конструкции, скальные субстраты, донные иловые отложения). Такой обширный ареал вида обеспечивается его пластичностью, в основе которого должно лежать генетическое разнообразие. Среди особей существенно варьируют форма и цвет створок [Жуковская, Кодолова, 2002 (Zhukovskaya, Kodolova, 2002)]. Исследования изоферментных спектров [Grant, Cherry, 1985; Quesada et al., 1995] и молекулярно-генетические работы [Ma et al., 2000; Diz, Presa, 2008] так же говорят о значительном внутривидовом разнообразии мидии.

Mytilus galloprovincialis вместе с другими представителями рода *Mytilus* формирует обширные гибридные зоны [Väinölä, Hvilson, 1991]. Такие гибриды способны к размножению, и к бэк-кросс скрещиванию [Suchanek et al., 1997], повышая, таким образом, уровень генетического разнообразия родительских видов.

Популяция *M. galloprovincialis* в Черном море неоднородна. Говорят о существовании двух экологических групп, приуроченных к местам обитания: скальной и иловой соответственно. В донных популяциях количественно

преобладают моллюски с коричневой окраской створок, на прибрежных субстратах выше частота встречаемости мидий черно-фиолетового цвета [Казанкова, 2008 (Kazankova, 2008)]. Показан наследственный характер признака окраски раковины у мидии, при чем коричневый цвет доминирует над черным [Stolbova et al., 1996]. Существует мнение, что цвет раковины является побочным проявлением функционального гена или ряда генов [Иванов, Булатов, 1989 (Ivanov, Bulatov, 1989)]. Это предположение получило подтверждение в работах, демонстрирующих наличие функциональных различий между мидиями с различной окраской раковины [Щербань, 2000; Александрова и др., 2001 (Tsherban, 2000; Aleksandrova et al., 2001); Kulikova et al., 2015]. Описанные выше особенности моллюсков, обладающих разным цветом створок, позволяют предположить наличие генетической неоднородности между ними.

На настоящий момент, исследования генетической структуры черноморской популяции мидии выполнены только на уровне белковых продуктов генов [Stolbova, Ladygina, 1994]. Анализ с использованием молекулярно-генетических методов не проводили. Этим аспектам проблемы и посвящена настоящая работа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований послужили половозрелые особи моллюска *M. galloprovincialis* (семейство Mytilidae) с различным характером пигментации створок. Длина раковины составляла 42–75 мм. Животных собирали разово с коллекторных установок мидийного хозяйства ООО "Яхонт ЛТД", расположен-

ных в б. Качивели (крымское побережье Черного моря) в 2010 г.

Моллюски были разделены на четыре цветовые группы (черную, переходную, темно- и светло-коричневую) по признаку окраски створок. Разделение осуществлялось методом компьютерной обработки фотографий, разрабо-

танной ранее [Куликова, 2012 (Kulikova, 2012)]. Особи, использованные в эксперименте, были условно обозначены как Черная 1–8, Переходная 1–8, Темно-коричневая 1–13 и Светло-коричневая 1–9.

ДНК выделяли по стандартной методике с использованием набора реактивов AmpliSens (Москва). Для выделения использовалась мышечная ткань ноги и аддукторов. ДНК амплифицировалось в присутствии пяти олигонуклеотидных праймеров (название и нуклеотид-

ная последовательность указаны в табл.1). Общая температурная схема для ПЦР состояла из: предварительной денатурации (93°, 3 мин.), 35 последовательных циклов амплификации, и финальной элонгации (72°, 6 мин.). Каждый из повторяющихся циклов имел следующий вид: денатурация (93°, 45 сек.), отжиг (температура варьировала в зависимости от используемого праймера, 45 сек., табл. 1) и элонгация (72°, 1 мин.).

Таблица 1. Характеристики праймеров, использованных при амплификации

Table 1. Characteristics of primers used for amplification

Праймер Primer	Нуклеотидная последовательность Nucleotide sequence	C-G,%	t отжига,°C Annealing t, °C
olig 10	TGTCCACCAG	60	36
olig 17	AGGCCGCTTA	60	32
olig 31	AGGCGTGCAA	60	32
olig 42	GGGATATCGC	60	32
olig43	CATGCAAGAC	50	30

Амплифицированную ДНК разделяли методом горизонтального электрофореза в агарозном геле. Окрашивание проводили раствором бромистого этидия, детекцию наработанных фрагментов осуществляли в ультрафиолетовом свете. Полученные электрофореграммы фотографировали и обрабатывали в специализированной программе TotalLab TL120 v2008. Каждый RAPD фрагмент рассматривается как отдельный локус. Количество обнаруженных локусов посчитали достаточным для расчета генетических дистанций [Kalinowski, 2002]. Учитывались все полосы, дающие четкие пики при анализе электрофореграммы в TotalLab. При статистической обработке использовали все результаты, полученные при амплификации олигонуклеотидных праймеров.

Для каждой цветовой группы определяли число проявивших себя локусов, а также долю полиморфных локусов [Nei, 1987]. Локус считали мономорфным, если частота одного из его аллелей превышала уровень 0.95. Частоту аллелей рассчитывали исходя из уравнения Харди-Вайнберга. Аналогично устанавливали

долю полиморфных локусов для выборки в целом и индивидуально для каждого праймера.

Расчет основных генетических параметров проводили с помощью программного обеспечения PopGene32 (1.32). Для каждого локуса определяли частоты аллелей (p, q) на основании которых рассчитывали среднюю ожидаемую гетерозиготность (H) (Nei, 1987), информационный индекс Шеннона-Уивера (I) [Lewontin, 1972]. Рассматривали, как целую выборку, так и каждую из цветковых групп по отдельности. Генетические расстояния между четырьмя цветовыми группами так же рассчитывали при помощи PopGene32. Для оценки степени совпадения/различия использовали оригинальную модель Нея (Nei, 1972).

Расчет генетических расстояний между отдельными особями проводили в программе MVSP (версия 3.22, Kovach Computing Services). Схожесть особей (S) оценивали, используя коэффициент простого совпадения. Деревья строили методом средней связи (UPGMA).

Уровень генетической подразделенности между цветовыми группами оценивали при помощи индекса фиксации F_{st} в интерпретации Нея [Nei, Chesser, 1983].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате амплификации ДНК мидии в присутствии пяти олигонуклеотидных праймеров было обнаружено 99 фрагментов (табл. 2), 75 из которых носили полиморфный характер ($P = 0.95$). Длина фрагментов варьировала в пределах 116–1500 п.н. Число локусов, наработанных с использованием каждого

из праймеров, было значительно. Наибольшее количество локусов было показано при амплификации ДНК в присутствии праймера olig 42 (25 фрагментов), наименьшее – olig 17 (16 фрагментов). При использовании праймеров olig 10, olig 31, olig 43 число обнаруженных

фрагментов составило 17, 23 и 18 соответственно.

Особый интерес представляю собой данные, полученные при амплификации в присутствии olig 43. Указанный праймер успешно инициировал реакцию амплификации ДНК большинства мидий светло-коричневой группы, но не давал наработанных фрагментов с ДНК мидий других групп. Исключения составили особи Черная 4, Переходная 1 и 2, Темно-коричневая 7 и 8 для которых были обнаружены соответствующие фрагменты, а также осо-

Таблица 2. Общая характеристика RAPD-фрагментов

Table 2. Total characteristics of the RAPD fragments

Праймер Primer	Кол-во локусов Number of loci	Длины ампликонов, п.н. Length of amplicons, p.n.	P95
olig 10	17	160–1180	0.82
olig 17	16	116–1346	0.56
olig 31	23	148–1034	0.91
olig 42	25	187–1500	0.72
olig43	18	231–1241	0.72

Таблица 3. Основные показатели генетического полиморфизма для черноморской мидии

Table 3. The main indicators of genetic polymorphism for the Black Sea mussels

Группа Group	N	Np	P ₉₅	H	I	S
Черная (Black)	71	70	0.71	0.20	0.31	0.72
Переходная (Transitional)	73	72	0.73	0.22	0.34	0.69
Темно-коричневая (Dark brown)	81	58	0.59	0.21	0.33	0.71
Светло-коричневая (Light brown)	82	77	0.78	0.21	0.34	0.69
Общее (Total)	99	75	0.76	0.23	0.37	0.69

Основные генетические характеристики между четырьмя цветовыми группами были распределены равномерно. Более низкое значение доли полиморфных локусов показано для мидий с темно-коричневой окраской створок. Для *M. galloprovincialis* черной группы значения средней ожидаемой гетерозиготности и информационный индекс Шеннона-Уивера были ниже, чем для других цветовых групп.

Используя расчетные данные ожидаемой гетерозиготности, определили индекс фиксации F_{st} . Обычно этот показатель рекомендуется к использованию с маркерами кодоминантного типа, однако в ряде статей показана возможность его использования и при анализе RAPD [Nadler et al., 1995; Jiménez et al., 2002; Mukherjee et al., 2013]. Индекс фиксации составил 0.1. Это означает, что 10% всей генетической изменчивости приходится на межгрупповые различия, что свидетельствует об уме-

ри Светло-коричневая 5, 7 и 8, которые в рамках своей группы не вступали в реакцию амплификации с olig 43. Такая избирательность отжига была показана в нескольких повторностях. Основываясь на данных, о наличии отсутствия фрагмента, были рассчитаны генетические характеристики как для четырех цветовых групп, так и для выборки в целом (табл. 3). Полученные данные указывают на высокий уровень генетического разнообразия в черноморской популяции *M. galloprovincialis*.

ренной генетической подразделенности черноморской популяции.

При построении дерева, все исследованные особи разделились на два кластера (рис. 1). В один кластер попали преимущественно мидии светло-коричневой группы и особи, для которых успешно протекала амплификация в присутствии праймера olig 43. Второй кластер был представлен мидиями всех четырех цветовых групп, в том числе сюда входил ряд *M. galloprovincialis* со светло-коричневой окраской (особи 1, 5, 7 и 8).

Такой характер кластеризации позволяет предположить генетическую обособленность светло-коричневой мидии. Для подтверждения данного предположения были рассчитаны генетические расстояния между четырьмя морфологическими группами. На соответствующем дереве светло-коричневая группа формирует отдельную ветвь (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что морские виды обладают большим генетическим разнообразием, чем пресноводные и, в особенности, наземные ор-

ганизмы [Feral, 2002]. В случае *M. galloprovincialis* высокий уровень полиморфизма обусловлен еще и особенностями биологии

вида. У мидии взрослые особи ведут прикрепленный образ жизни, в то время как на личиночной стадии они подвижны, и активно разносятся течениями. Дистанция распространения личинок при этом может достигать 10-50 км [McQuaid, Phillips, 2000; Gilg, Hilbish, 2003]. По-видимому, распределение *M. galloprovincialis* по всему бассейну Черного моря на личиночной стадии обеспечивает высокий

уровень генетического разнообразия, наблюдаемого в рамках изучаемой популяции. Высокие значения полиморфизма были получены также для средиземноморской популяции мидии [Diz, Presa, 2008], и других видов двустворчатых моллюсков, имеющих аналогичную стратегию расселения [Holmes, Witbaard, 2003; Apte et al., 2003].

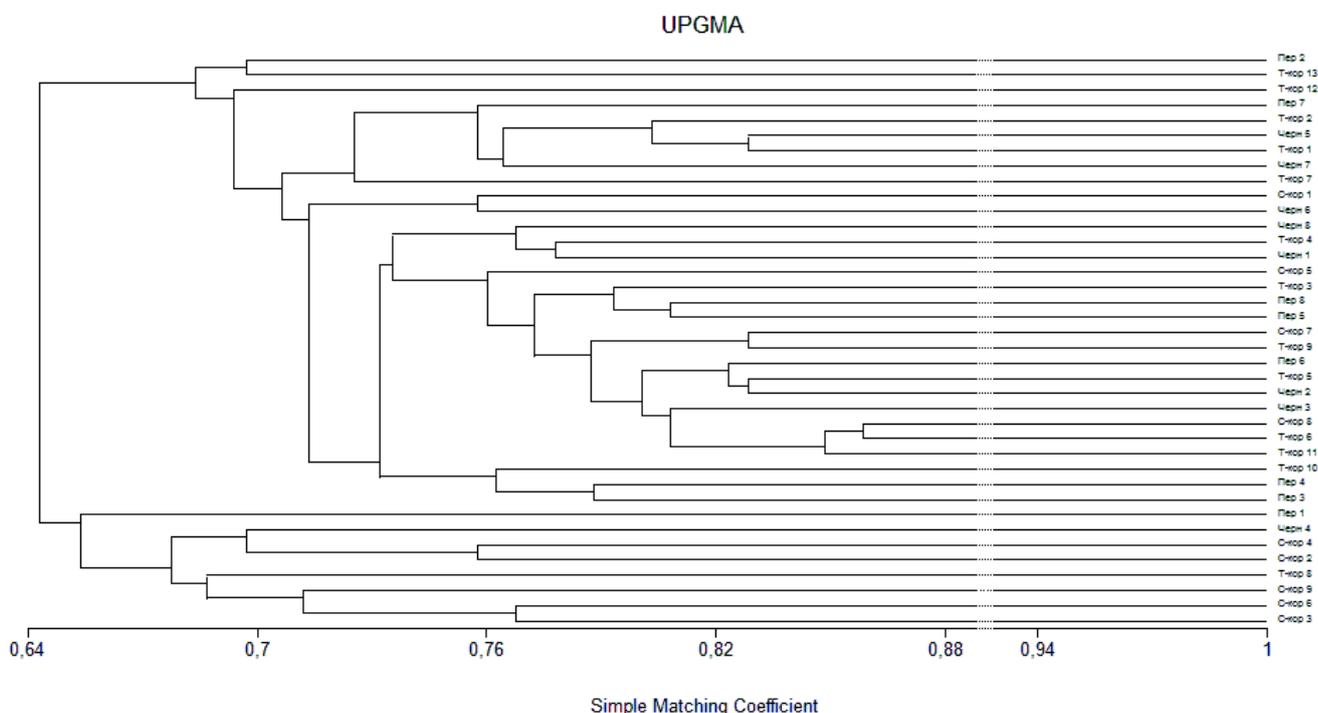


Рис. 1. Степень схожести особей *M. galloprovincialis* с различной окраской створок.

Fig. 1. The degree of similarity of individuals of *M. galloprovincialis* with different colored shells.

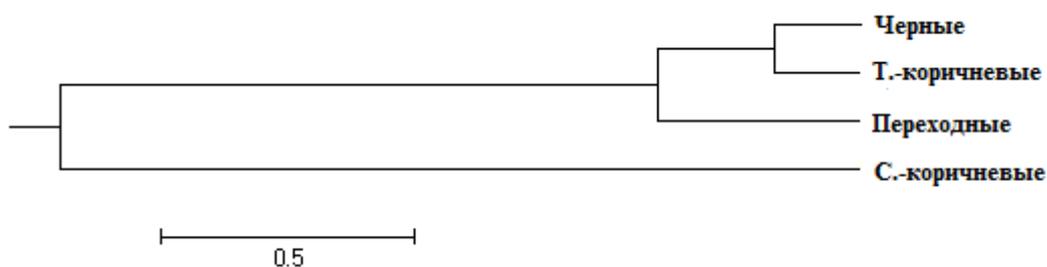


Рис. 2. Генетическое расстояние между четырьмя цветовыми группами *M. galloprovincialis*.

Fig. 2. The genetic distance between the four color groups of *M. galloprovincialis*.

Принято считать, что для прикрепленных морских видов, имеющих длительную личиночную стадию, должно быть свойственно высокое значение внутривидовой изменчивости по сравнению с межвидовой изменчивостью [Feral, 2002]. Это подтверждается, в настоящей работе, при сравнении генетических характеристик четырех цветных групп, которые существенно не разли-

чались. Однако при построении деревьев, как для отдельных особей, так и для выделенных групп, светло коричневые мидии были обособлены. Рассчитанный индекс фиксации так же свидетельствовал о наличии умеренной генетической внутривидовой подразделенности.

Шанс наличия географической изоляции существенно снижается для видов, которым

характерен широкий диапазон расселения на личиночной стадии [Palumbi, 1994]. При этом на практике для морских организмов показано наличие генетической неоднородности, которая часто распространяется по градиенту экологических факторов (соленость, температура, содержание кислорода и т.д.). Считается, что такая подразделенность может формироваться под воздействием отбора, обусловленного спецификой местообитания [Feral, 2002; Zardi et al., 2007]. Эта позиция получила подтверждение и в рамках рода *Mytilus*, не смотря на возможность широкого расселения и наличия межвидовой гибридизации, виды комплекса голубой мидии (*M. edulis*, *M. trossilus*, *M. galloprovincialis*) в значительной степени разнятся между собой генетически [KoeHN, 1991; McDonald et al., 1991]. При этом приспособленность видов к локальным условиям среды определяет ареалы их обитания [Suchanek et al., 1997; Fields et al., 2006]. Как упоминалось ранее, в Черном море выделяют несколько экологических групп *M. galloprovincialis*: скальную и иловую. Первая массово встречается на твердых субстратах в верхнем горизонте (до 10 м), последняя формирует массовые поселения на глубине 20–50 м и характеризуется преобладанием мидий со светлой окраской створок [Заика и др., 1990 (Zaika et al., 1990)]. С увеличением глубины значительно изменяются гидрохимические условия воды:

снижается средне годовая температура (7–9°C), начиная с 50 м, резко падает содержание кислорода (с 7–8 до 5 мл/л), увеличивается соленость. Различия условий среды в местах обитания моллюска могут стимулировать возникновение экологической изоляции между группами. Данные о нересте мидии показывают, что для скальной и иловой формы пик генеративной активности приходится на разные месяцы (скальная – весна, осень; иловая – конец весны, лето), что непосредственно связано с динамикой температурного режима в соответствующих местах обитания [Ревков, Шалыпин, 1999; Ревков, 2000 (Revkov, Shalyapin, 1999; Revkov, 2000)]. Далее личинки могут свободно перемещаться в толще воды, однако большая их часть остается на тех же глубинах, на которых прошел массовый нерест [Казанкова, Немировский, 2003 (Kazankova, Nemirovsky, 2003)], формируя новые поселения. Обособленность мидий со светло-коричневой окраской раковины может быть объяснено тем, что данная цветовая группа, количественно преобладающая в донных поселениях, сильнее подвержена отбору, направленному на соответствие жизненных функций моллюска условиям среды обитания. Закреплению различий способствует экологическая изоляция, обусловленная разнесенными во времени пиками нереста у скальной и иловой формы моллюска.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате RAPD анализа установлено, что для черноморской популяции характерен высокий уровень генетического разнообразия. Это соответствует данным, показанным для других морских двустворок, и объясняется особенностями биологии вида. При сравнении четырех цветовых групп *M. galloprovincialis*

была обнаружена генетическая обособленность мидии со светло-коричневой окраской раковины. Подразделенность внутри черноморской популяции, по-видимому, формируется вследствие экологической изоляции скальной и иловой мидии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александрова О.Л., Солдатов А.А., Головина И.В. Особенности глутатионпероксидной системы в тканях двух цветовых морф черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология моря. 2001. Вып. 58. С. 22–26.
- Жуковская Е.А., Кодолова О.П. Взаимосвязь цветового полиморфизма и морфологических признаков у раковин черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // ВІСНИК Житомирського державного університету імені Івана Франка. 2002. № 10. С. 43–46.
- Заика В.Е. и др. Митилиды Черного моря. Киев, Наукова думка, 1990. 208 с.
- Иванов В.Н., Булатов К.В. Об использовании цвета раковины как признака-маркера в изучении генетического состава популяции черноморских мидий // Фенетика популяций: Матер. III Всесоюз. совещ. М., 1989. С. 105–106.
- Казанкова И.И. Частота цветовых морф в поселениях *Mytilus galloprovincialis* в прибрежных водах южного и юго-западного Крыма // Экология моря. 2008. Вып. 75. Р. 38–41.
- Казанкова И.И., Немировский М.С. Пространственно-временная динамика численности личинок черноморских *Vivalvia* в весенний период и ее связь с гидрофизическими особенностями района // Морской экологический журнал. 2003. Т. 2, № 3. С. 94–101.
- Куликова А.Д. Выявления цветовых морф моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. с использованием компьютерной обработки фотографий // Мор. экол. журн. 2012. Т. 11, № 3. С. 63–67.

- Ревков Н.К. Годовая динамика меропланктона (*Bivalvia*, *Gastropoda*) и особенности пула личинок мидии (*Mytilus galloprovincialis*) в Каламитском заливе Черного моря // Гидробиологический журнал. 2000. Т. 36. № 1. С. 46–55.
- Ревков Н.К. Шаляпин В.К. Особенности вертикального распределения личинок *Mytilus galloprovincialis* и формирование поселений мидии в Черном море // Экология моря. 1999. Вып. 48. С. 58–62.
- Щербань С.А. Особенности соматического и генеративного роста у некоторых цветковых морф мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология моря. 2000. Вып. 53. С. 77–81.
- Apte S., Star B., Gardner J.P.A. A comparison of genetic diversity between cultured and wild populations, and a test for genetic introgression in the New Zealand greenshell mussel *Perna canaliculus* (Gmelin 1791) // Aquaculture. 2003. Vol. 219. №. 1. P. 193–220.
- Diz A.P., Presa P. Regional patterns of microsatellite variation in *Mytilus galloprovincialis* from the Iberian Peninsula // Mar. Biol. 2008. Vol. 154. №. 2. P. 277–286.
- Féral J. P. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2002. Vol. 268. №. 2. P. 121–145.
- Fields P.A., Rudomin E.L., Somero G.N. Temperature sensitivities of cytosolic malate dehydrogenases from native and invasive species of marine mussels (genus *Mytilus*): sequence-function linkages and correlations with biogeographic distribution // J. Exp. Biol. 2006. Vol. 209. №. 4. P. 656–667.
- Gilg M.R., Hilbish T.J. The geography of marine larval dispersal: coupling genetics with fine-scale physical oceanography // Ecology. 2003. Vol. 84. №. 11. P. 2989–2998.
- Grant W.S., Cherry M.I. *Mytilus galloprovincialis* Lam. in southern Africa // J. Exp. Marine. Biol. Ecol. 1985. 90. P. 179–191.
- Hilbish T.J. et.al. Origin of the antitropical distribution pattern in marine mussels (*Mytilus* spp.): routes and timing of transequatorial migration // Mar. Biol. 2000. Vol. 136. P. 69–77.
- Holmes S.P., Witbaard R., Van der Meer J. Phenotypic and genotypic population differentiation in the bivalve mollusk *Arctica islandica*: results from RAPD analysis // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2003. Vol. 254. P. 163–176.
- Jiménez J.F. et.al. Genetic variability in a narrow endemic snapdragon (*Antirrhinum subbaeticum*, *Scrophulariaceae*) using RAPD markers // Heredity. 2002. Vol. 89, №. 5. P. 387–393.
- Kalinowski S.T. How many alleles per locus should be used to estimate genetic distances? // Heredity. 2002. Vol. 88. №. 1. P. 62–65.
- Koehn R.K. The genetics and taxonomy of species in the genus *Mytilus* // Aquaculture. 1991. Vol. 94, №. 2. P. 125–145.
- Kulikova A. D., Soldatov A. A., Andreenko T. I. Tissue transaminase activities in the black-sea mollusc *Mytilus galloprovincialis* Lam. with different shell color // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2015. Vol. 51. №. 1. P. 23–31.
- Lewontin R.C. Testing the theory of natural selection // Nature. 1972. Vol. 236. P. 181–182.
- Ma X.L., Cowles D.L., Carter R.L. Effect of pollution on genetic diversity in the bay mussel *Mytilus galloprovincialis* and the acorn barnacle *Balanus glandula* // Mar. Environ. Res. 2000. Vol. 50. №. 1. P. 559–563.
- McDonald J.H., Seed R., Koehn R.K. Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres // Mar Biol. 1991. Vol. 111. №. 3. P. 323–333.
- McQuaid C.D., Phillips T.E. Limited wind-driven dispersal of intertidal mussel larvae: in situ evidence from the plankton and the spread of the invasive species *Mytilus galloprovincialis* in South Africa // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2000. Vol. 201. P. 211–220.
- Mukherjee A et.al. RAPD and ISSR analysis of some economically important species, varieties, and cultivars of the genus *Allium* (Alliaceae) // Turkish Journal of Botany. 2012. Vol. 37. P. 605–618.
- Nadler S.A., Lindquist R.L., Near T.J. Genetic structure of midwestern *Ascaris suum* populations: a comparison of isoenzyme and RAPD markers // The Journal of parasitology. 1995. Vol. 81, № 3. P. 385–394.
- Nei M. Genetic distance between populations // American naturalist. 1972. P. 283–292.
- Nei M. Molecular Evolutionary genetics. Columbia University Press, 1987. 512 p.
- Nei M., Chesser R.K. Estimation of fixation indices and gene diversities // Ann. Hum. Genet. 1983. Vol. 47, Pt 3. P. 253–259.
- Palumbi S.R. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation // Annu. Rev. Ecol. Syst. 1994. Vol. 25. P. 547–572.
- Quesada H., Zapata C., Alvarez G. A multilocus allozyme discontinuity in the mussel *Mytilus galloprovincialis*: the interaction of ecological and life-history factors // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1995. Vol. 116. P. 99–115.
- Stolbova N.G., Ladygina L. Vol. Genetic variability of mussels *Mytilus galloprovincialis* Lam. off the Crimea coast // Cytology and genetics. 1994. Vol. 28. P. 66–66.
- Stolbova N.G., Pirkova A. V., Ladygina L. V. Inheritance of shell color in mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam // Cytology and Genetics. 1996. Vol. 30. №. 6. P. 61–63.
- Suchanek T.H. et.al. Zoogeographic distributions of the sibling species *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* (*bivalvia: mytilidae*) and their hybrids in the north pacific // Biol Bull. 1997. Vol. 193. №. 2. P. 187–194.
- Väinölä R., Hvilson M.M. Genetic divergence and a hybrid zone between Baltic and North Sea *Mytilus* populations (*Mytilidae: Mollusca*) // Biol. J. Linnean Soc. 1991. Vol. 43, iss. 2. P. 127–148.

Zardi G.I. et al. Unexpected genetic structure of mussel populations in South Africa: indigenous *Perna perna* and invasive *Mytilus galloprovincialis* // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2007. Vol. 337. P. 135–144.

REFERENCES

- Aleksandrova O.L., Soldatov A.A., Golovina I.V. 2001. Osobennosti glutationperoksidnoi systemi v tkanyah dvuh tsvetovih morf chernomorskoj midii *Mytilus galloprovincialis* Lam. [Features of the glutathione peroxide system in the tissues of the two color morphs of Black Sea mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam] // Ekologiya morya. Vip. 58. S. 22–26. [In Russian]
- Apte S., Star B., Gardner J.P.A. 2003. A comparison of genetic diversity between cultured and wild populations, and a test for genetic introgression in the New Zealand greenshell mussel *Perna canaliculus* (Gmelin 1791) // Aquaculture. Vol. 219. No. 1. P. 193–220.
- Diz A.P., Presa P. 2008. Regional patterns of microsatellite variation in *Mytilus galloprovincialis* from the Iberian Peninsula // Mar. Biol. Vol. 154. No. 2. P. 277–286.
- Féral J. P. 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. Vol. 268. No. 2. P. 121–145.
- Fields P.A., Rudomin E.L., Somero G.N. 2006. Temperature sensitivities of cytosolic malate dehydrogenases from native and invasive species of marine mussels (genus *Mytilus*): sequence-function linkages and correlations with biogeographic distribution // J. Exp. Biol. Vol. 209. No. 4. P. 656–667.
- Gilg M.R., Hilbish T.J. 2003. The geography of marine larval dispersal: coupling genetics with fine-scale physical oceanography // Ecology. Vol. 84. No. 11. P. 2989–2998.
- Grant W.S., Cherry M.I. 1985. *Mytilus galloprovincialis* Lam. in southern Africa // J. Exp. Marine. Biol. Ecol. Vol. 90. P. 179–191.
- Hilbish T.J. 2000. Origin of the antitropical distribution pattern in marine mussels (*Mytilus* spp.): routes and timing of transequatorial migration // Mar. Biol. Vol. 136. P. 69–77.
- Holmes S.P., Witbaard R., Van der Meer J. 2003. Phenotypic and genotypic population differentiation in the bivalve mollusk *Arctica islandica*: results from RAPD analysis // Mar. Ecol. Prog. Ser. Vol. 254. P. 163–176.
- Ivanov V.N., Bulatov K.V. 1989. Ob ispolzovanii tsveta rakovin kak priznaka-markera v izuchenii geneticheskogo sostava populyatsii chernomorskoj midii [On the usage of shell color as a marker in the study of the genetic composition of the population of the Black Sea mussels] // Fenetika populatsiy: Mater. III Vsesoyuz. sovesch. M., S. 105–106. [In Russian]
- Jiménez J.F. et al. 2002. Genetic variability in a narrow endemic snapdragon (*Antirrhinum subbaeticum*, *Scrophulariaceae*) using RAPD markers // Heredity. Vol. 89, № 5. P. 387–393.
- Kalinowski S.T. 2002. How many alleles per locus should be used to estimate genetic distances? // Heredity. Vol. 88. No 1. P. 62–65.
- Kazankova I.I. 2008. Chastota tsvetovih morf v poseleniyah *Mytilus galloprovincialis* v pribreznih vodah yuznogo i yugo-zapadnogo Krima [The frequency of colour morphs in the settlements of *Mytilus galloprovincialis* in the coastal waters of the southern and south-western Crimea] // Ekologiya morya. Vip. 75. S. 38–41. [In Russian]
- Kazankova I.I., Nemirovskiy M.S. 2003. Prostranstvenno-vremenaya dinamika chislennosti lichinok chernomorskih Bivalvia v vesennyi period i eyo svyaz s gidrofizicheskimi osobennostyami raiona [Features of the vertical distribution of the larvae of *Mytilus galloprovincialis* and the formation of mussel settlements in the Black Sea] // Morskoy ekologicheskij zhurnal. T. 2. № 3. S. 94–101. [In Russian]
- Koehn R.K. 1991. The genetics and taxonomy of species in the genus *Mytilus* // Aquaculture. Vol. 94, No. 2. P. 125–145.
- Kulikova A.D. 2012. Viyavleniye tsvetovih morf molluska *Mytilus galloprovincialis* Lam. s ispolzovaniem kompyuterno obrabotki fotografii [Identification of colour groups of mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam. by digital photo computer processing] // Morskoy ekologicheskij zhurnal. T. 11. № 3. S. 63–67 [In Russian]
- Kulikova A. D., Soldatov A. A., Andreenko T. I. 2015. Tissue transaminase activities in the black-sea mollusc *Mytilus galloprovincialis* Lam. with different shell color // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. Vol. 51. No. 1. P. 23–31.
- Lewontin R.C. Vol. 236. Testing the theory of natural selection // Nature. 1972. P. 181–182.
- Ma X.L., Cowles D.L., Carter R.L. 2000. Effect of pollution on genetic diversity in the bay mussel *Mytilus galloprovincialis* and the acorn barnacle *Balanus glandula* // Mar. Environ. Res. Vol. 50. No 1. P. 559–563.
- McDonald J.H., Seed R., Koehn R.K. 1991. Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres // Mar. Biol. Vol. 111. No 3. P. 323–333.
- McQuaid C.D., Phillips T.E. 2000. Limited wind-driven dispersal of intertidal mussel larvae: in situ evidence from the plankton and the spread of the invasive species *Mytilus galloprovincialis* in South Africa // Mar. Ecol. Prog. Ser. Vol. 201. P. 211–220.
- Mukherjee A et al. 2012. RAPD and ISSR analysis of some economically important species, varieties, and cultivars of the genus *Allium* (Alliaceae) // Turkish Journal of Botany. Vol. 37. P. 605–618.
- Nadler S.A., Lindquist R.L., Near T.J. 1995. Genetic structure of midwestern *Ascaris suum* populations: a comparison of isoenzyme and RAPD markers // The Journal of parasitology. Vol. 81, No 3. P. 385–394.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations // American naturalist. P. 283–292.
- Nei M. 1987. Molecular Evolutionary genetics. Columbia University Press, 512 p.

- Nei M., Chesser R.K. 1983. Estimation of fixation indices and gene diversities // *Ann. Hum. Genet.* Vol. 47, Pt 3. P. 253–259.
- Palumbi S.R. 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* Vol. 25. P. 547–572.
- Quesada H., Zapata C., Alvarez G. 1995. A multilocus allozyme discontinuity in the mussel *Mytilus galloprovincialis*: the interaction of ecological and life-history factors // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 116. P. 99–115.
- Revkov N.K. 2000. Godovaya dinamika meroplanktona (Bivalvia, Gastropoda) i osobennosti pula lichinok midii (*Mytilus galloprovincialis*) v Kalamitskom zalive Chernogo moray [Annual dynamics of meroplankton (Bivalvia, Gastropoda) and larval pool features of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in Kalamit bay of Black Sea] // *Hydrobiol. Z. T.* 36. № 1. S. 46–55. [In Russian]
- Revkov N.K., Shalyapin V.K. 1999. Osobennosti vertikalnogo raspredeleniya lichinok *Mytilus galloprovincialis* i formirovanie poselenii midii v Chernom more [Features of the vertical distribution of the larvae of *Mytilus galloprovincialis* and the formation of mussel settlements in the Black Sea] // *Ekologiya moray. Vip.* 48. S. 58–62. [In Russian]
- Stolbova N.G., Ladygina L. V. 1994. Genetic variability of mussels *Mytilus galloprovincialis* Lam. off the Crimea coast // *Cytology and genetics.* Vol. 28. P. 66–66.
- Stolbova N.G., Pirkova A. V., Ladygina L. V. 1996. Inheritance of shell color in mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam // *Cytology and Genetics.* Vol. 30. No 6. P. 61–63.
- Suchanek T.H. et.al. 1997. Zoogeographic distributions of the sibling species *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* (*bivalvia: mytilidae*) and their hybrids in the north pacific // *Biol. Bull.* Vol. 193. No 2. P. 187–194.
- Tscherban S.A. 2000. Osobennosti somaticheskogo i generativnogo rosta u nekotoryh tsvetovih morf midii *Mytilus galloprovincialis* Lam. [Features of somatic and generative growth in some color morphs of mussels *Mytilus galloprovincialis* Lam.] // *Ekologiya morya. Vip.* 53. S. 77–81. [In Russian]
- Väinölä R., Hvilson M.M. 1991. Genetic divergence and a hybrid zone between Baltic and North Sea *Mytilus* populations (*Mytilidae*: *Mollusca*) // *Biol. J. Linnean Soc.* Vol. 43, iss. 2. P. 127–148.
- Zaika V.E. et.al. 1990. Mitilidi Chernogo moray [Mytilids of Black sea]. Kiiiv, Naukova dumka, 208 s. [In Russian]
- Zardi G.I. et.al. 2007. Unexpected genetic structure of mussel populations in South Africa: indigenous *Perna perna* and invasive *Mytilus galloprovincialis* // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 337. P. 135–144.
- Zhukovskaya E.A., Kodolova O.P. 2002. Vzaimosvyaz tsvetovogo polymorfizma i morfologicheskikh priznakov u rakovin chernomorskoï midii *Mytilus galloprovincialis* Lam. [The correlation of colour polymorphism and morphological characteristics in the Black Sea shells mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam.] // *Visnik Zhitomirskogo derzhavnogo universitetu imeni Ivana Franka.* № 10. S. 43–46. [In Russian]

GENETIC CHARACTERISTICS OF THE FOUR MORPHOLOGICAL GROUPS OF *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM. (MYTILIDAE: MOLLUSCA) FROM THE BLACK SEA

A. D. Kulikova, A. A. Soldatov

A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Studies RAS

29011 Sevastopol, Ave Nakhimov 2, e-mail: qulikova@gmail.com, alekssoldatov@yandex.ru

Investigated the genetic characteristics of the 4 color groups of the bivalve mollusk *Mytilus galloprovincialis* (black, transitional, dark and light brown groups) identified by a method of computer processing photos. Using RAPD analysis, it was shown that the black sea populations of mussels are characterized by high genetic diversity. The presence of genetic isolation of clams with a light brown coloration that appears to be due to the presence of environmental isolation between the rocky and silt forms the mussels.

Keywords: Mytilus galloprovincialis, color polymorphism, genetic diversity, RAPD, Black sea