

ОСОБЕННОСТИ СОМАТИЧЕСКОГО И ГЕНЕРАТИВНОГО РОСТА У НЕКОТОРЫХ ЦВЕТОВЫХ МОРФ МИДИЙ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM.

Исследованы особенности соматического и генеративного роста у черноморского полиморфного моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. Дана сравнительная оценка таких показателей, как содержание белка, суммарных РНК, ДНК и индекса РНК/ДНК, характеризующих "мгновенную" скорость роста моллюсков. Показано наличие различий в соматическом и генеративном росте мидий трех цветовых морф; в частности, мидиям черной морфы (фенотипа) свойственна наиболее выраженная "мгновенная" скорость роста.

Разнообразие цветовых вариантов раковины черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. привлекает внимание исследователей, в первую очередь, с точки зрения анализа множественных особенностей физиологических функций, проявляющихся в темпах роста, плодовитости, выживаемости, особенностях энергетического и пластического обменов у моллюсков разных морф. Весьма актуально, в связи с этим, выявление постоянных, "стойких", закономерностей основных жизненных функций, присущих определенному фенотипу мидий.

Изучение таких закономерностей возможно как при использовании экспресс-методик, так и при широкомасштабных мониторинговых исследованиях. Применение одной из таких экспресс-методик - оценки скорости роста в данный момент времени ("resent growth") - предполагает использование таких показателей, как содержание белка, РНК, ДНК и индекса РНК/ДНК.

Настоящее исследование является продолжением работ по оценке ростовых процессов у сеголеток и половозрелых форм полиморфного черноморского вида - мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam.

Материал и методика. Материал для данной работы получен в мае 1998 г. Мидии были собраны с коллекторов, расположенных в бухте Казачья (г. Севастополь). Обработка материала выполнена в лаборатории отдела биохимических адаптаций морских гидробионтов ИнБЮМ НАНУ.

Для работы отбирали одноразмерных половозрелых мидий с длиной раковины $40 \pm 1,5$ мм, одного срока оседания, с черной (Ч), коричневой (К) и темно-коричневой, с чередованием продольных полос, раковинной.

Стадию зрелости гонад оценивали по пятибалльной шкале. Для анализа отбирались моллюски с гонадами 3 - 4 стадий развития.

Из свежельвовленных мидий извлекали ткани, - соматическую (реснитчатый край мантии) и генеративную (мантийные лепестки).

У каждой особи первоначально измеряли длину, определяли общую сырую и сухую массу, сырую массу мантии и гонад в отдельности. Затем материал шел на определение биохимических показателей. Скорость роста оценивалась по содержанию белка, суммарного количества РНК, ДНК и индексу РНК/ДНК. Все пробы индивидуальны: каждому измерению соответствовал 1 экз. моллюска. Количество определений по каждому из фенотипов - 7, по виду ткани - 7. Общее количество проб - 42.

Для определения биохимических показателей навески сырой ткани массой 150-200 мг гомогенизировали, удаляли пигментные и липидные фракции (ацетон, смесь хлороформ-метанол в соотношении 2:1). Затем пробы обрабатывали 5%-ным раствором хлорной кислоты, осадок гидролизвали 1Н раствором едкого калия. Количественное определение нуклеиновых кислот проводили спектрофотометрически, применяя метод разностей экстинций [4], позволяющий избежать влияния неспецифических поглощающих примесей.

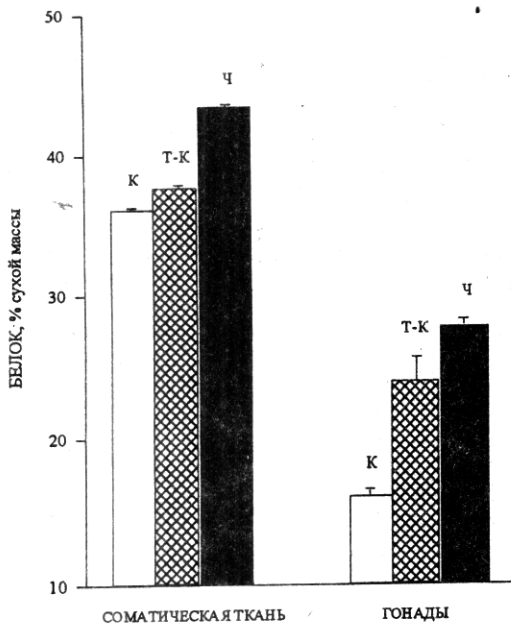


Рис.1 Содержание белка в соматической ткани и гонадах мидий трех фенотипических групп
Fig.1 Protein content in somatic and gonad tissues of three phenotypic groups of mussels

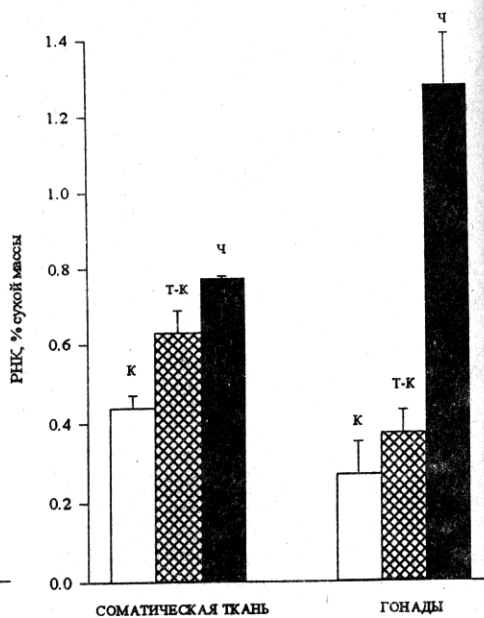


Рис.2 Содержание суммарных РНК в соматической ткани и гонадах мидий трех фенотипических групп
Fig.2 Total RNA content in somatic and gonad tissues of three phenotypic groups of mussels

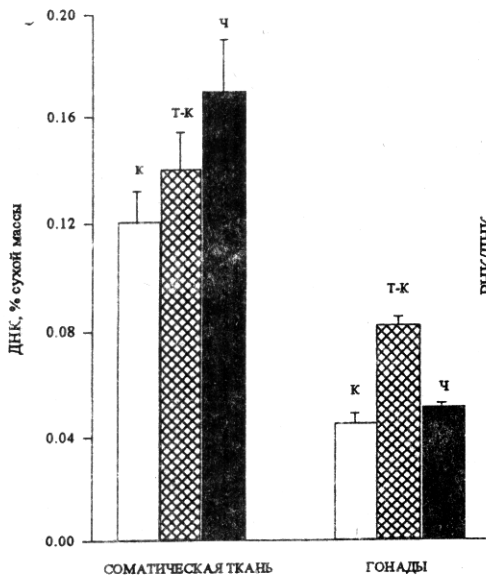


Рис.3 Содержание суммарных ДНК в соматической ткани и гонадах мидий трех фенотипических групп
Fig.3 Total DNA content in somatic and gonad tissues of three phenotypic groups of mussels

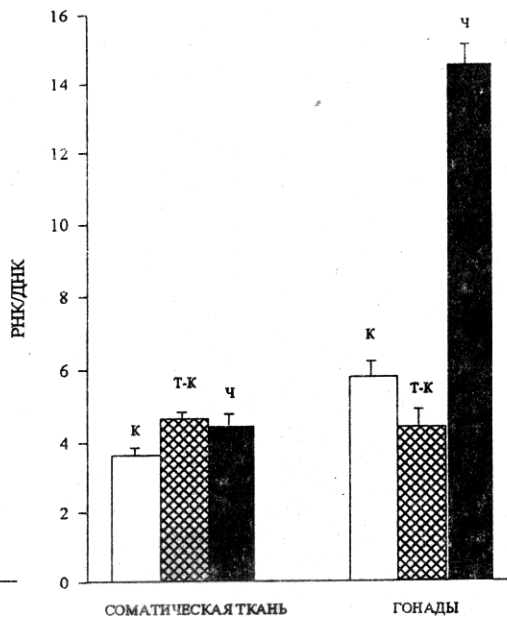


Рис. 4 Величина индекса РНК/ДНК в соматической ткани и гонадах мидий трех фенотипических групп
Fig. 4 Values of RNA/DNA index in somatic and gonad tissues of three phenotypic groups of mussels

Примечание. На рис. 1-4: К - коричневый, Т-К - темно-коричневый и Ч - черный фенотипы
K - brown phenotype; T-K - black-brown phenotype; Ч - black phenotype. (n=7).

Результаты. Основные цветовые морфы мидий по показателям генеративного роста имели статистически достоверные различия (рис. 1, 2, 3). Так, у мидий с раковиной черного цвета получены максимально высокие значения сум.РНК (рис.2) по сравнению с мидиями темно-коричневого и коричневого фенотипов: у первых содержание РНК составляло в среднем $1,27 \pm 0,12\%$ сухой массы; у вторых - $0,35 \pm 0,06\%$ и у последних - $0,26 \pm 0,01\%$. Само по себе значение $1,27\%$ (для РНК) является очень высоким как для мидий, так и для других моллюсков и свидетельствует об интенсивном наращивании белковой массы.

Содержание белка в гонадах мидий фенотипа "Ч" так же достоверно выше, чем у двух других групп, и составляет в среднем $27,83 \pm 0,38\%$ сухой массы. Для сравнения: темно-коричневый фенотип - $23,90 \pm 1,55\%$, коричневый - $16,08 \pm 0,45\%$.

Содержание сум. ДНК (рис.3) оказалось выше у мидий темно-коричневого фенотипа ($0,082 \pm 0,006\%$ сухой массы). Минимальные значения этого показателя, как и сум. РНК, отмечены у моллюсков с коричневой раковиной ($0,045 \pm 0,004\%$ сухой массы).

Уровень содержания белка в мантии несколько выше, чем в гонадах. Эта закономерность прослеживается по каждой из трех фенотипических групп (рис.1). Полученные нами ранее данные [8] свидетельствуют о том, что тканевые фенотипические особенности роста у половозрелых и неполовозрелых моллюсков сходны.

У коричневых и темно-коричневых моллюсков содержание РНК в мантийной ткани в 1,7-1,8 раза выше, чем в гонадах (рис.2), что говорит о более высокой синтетической активности мантии (исключение составляет показатель сум. РНК в гонадах мидий фенотипа "Ч").

В целом, уровень синтетической активности генеративной ткани, как и показатель содержания белка, у всех моллюсков оказался низким, особенно если учесть, что анализируемые особи находились в нерестовой стадии.

Следует отметить, что используемый в практике исследований индекс РНК/ДНК, из-за полученных нами больших разбросов в содержании ДНК, особенно в гонадах (рис.3), не дал четкой картины, отражающей уровень "мгновенной" скорости ростовых процессов. Причины больших колебаний в значениях ДНК не установлены. Для соматической ткани по двум фенотипам (темно-коричневый и черный) получены, к тому же, довольно высокие числовые значения ($0,139$ и $0,170$), что не могло не отразиться на величинах индекса РНК/ДНК (рис.4). Обычно величина сум. ДНК в тканях моллюсков находится в пределах $0,01 - 0,10\%$ от сухой массы. Более высокие значения редки. Однако общая тенденция, позволяющая разграничить фенотипические особенности ростовых процессов (за исключением двух полученных значений для фенотипа "К" и "Т-К" в гонадах), все же сохранена (рис.1-4).

Обсуждение. Изучение "мгновенной" скорости генеративного роста мидий в период их предполагаемого массового размножения не только выявило специфические фенотипические различия этого процесса, но и позволило получить сравнительную характеристику роста соматических и генеративных тканей.

Оказалось, что среди фенотипических групп черноморских мидий наблюдаются существенные различия по показателям "мгновенной" скорости роста. Эти фенотипические особенности свойственны как соматической, так и генеративной тканям, причем наиболее выраженной "мгновенной" скоростью обладают моллюски фенотипа "Ч", наименее - фенотипа "К". Ранее мы установили [6], что общий тканевой гомогенат, полученный из сегментов мидий сравниваемых цветовых морф, имеет те же фенотипические особенности, что и тканевые гомогенаты половозрелых моллюсков. Указанные закономерности дают основание сделать заключение о превосходстве черных цветовых морф мидий над коричневыми и темно-коричневыми.

Анализ по морфологическим критериям скорости роста черноморских мидий, растущих на различных субстратах [1, 7], а также особенностей дыхания эти моллюсков [2] показал высокую физиологическую устойчивость, степень прикрепления к субстрату, высокий темп роста спата и годовиков моллюсков черного фенотипа. Необходимо уточнить, что такими особенностями обладают моллюски, обитающие на жестких

субстратах (скалах, сваях, бетонных сооружениях, коллекторах и пр.). В иловых же поселениях мидии с таким окрасом раковины практически отсутствуют, а доминируют там мидии коричневой, светло-коричневой и темно-коричневой морф, среди которых преобладают особи светло-коричневого фенотипа.

Вместе с тем, гипотеза о непосредственной адаптивности цветового полиморфизма, как у мидии *Mytilus edulis*, так и у *M. galloprovincialis*, не подтвердилась [1, 8]. По-видимому, окраска черноморских мидий не носит адаптивного характера, а, скорее, наследуется, на что указывает и характер распределения фенотипов внутри поселений различных типов, их фактическое соответствие теоретически ожидаемому по [1]. Одним из объяснений доминирования коричневых морф в донных иловых поселениях может служить разная степень прикрепления биссусных нитей у спата к первичному субстрату, которая выше у черных морф, в результате чего и наблюдается "опадание" коричневых морф на дно [3].

Не так давно получены данные [5], свидетельствующие о том, что цвет раковины *M. galloprovincialis* обусловлен действием одного двухаллельного гена с полным доминированием коричневого аллеля. Эти результаты согласуются с выводами о характере наследования цвета раковины у родственного вида - *M. edulis* [8]. В целом, генетическая система вида *M. galloprovincialis* имеет характерные признаки системы "открытого" типа, а, следовательно, обладает высоким уровнем панмиксии и слабовыраженной генетической дифференциацией внутри популяции.

Ранее высказывалось предположение [6] о том, что сопряженность между физиологическими различиями особей и внешними признаками фенотипа имеет ряд объяснений, наиболее вероятным из которых является сцепление. В пользу сцепления говорит тот факт, что у моллюсков со сложным полиморфизмом окраски раковины, изученным генетически, большая часть локусов тесно сцеплена между собой [8]. Предполагается, что у мидий Черного моря существует два комплекса генов, контролирующих такие функции, как темп роста, резистентность к различным факторам среды и т.д. [1]. Именно эти комплексы коррелируют с алелями локуса окраски раковины у *M. galloprovincialis*.

Выводы. 1. У черноморских мидий с различной окраской раковины выявлены существенные различия в показателях "мгновенной" скорости роста. Эти фенотипические особенности свойственны как соматической, так и генеративной ткани. 2. Наиболее выраженной скоростью роста обладают моллюски черной цветовой морфы, наименее выраженной - коричневой. 3. У мидий всех трех фенотипических групп уровень содержания белка в мантии несколько выше, чем в гонадах. Содержание РНК у двух цветовых морф (коричневая и темно-коричневая) в 1,7-1,8 раза выше в мантийной ткани, чем в гонадах, что говорит о более высокой синтетической активности мантии (исключение составляет показатель сум. РНК в гонадах мидий фенотипа "Ч"). 4. Величины содержания сум. РНК отражают уровень "мгновенной" скорости роста в большей степени, нежели индекс РНК/ДНК.

1. Булатов К.В. Генетическая природа окраски раковин у черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam // ДАН УССР. - 1984. - Серия Б. - №6. - С. 54 - 56.
2. Сагайдачный А.Ю., Лучина Н.Т. Цветовой полиморфизм и дыхание черноморских мидий / Биология объектов марикультуры: Экология и культивирование беспозвоночных и водорослей. - М., 1987. - С. 49 - 51.
3. Сергеевский С.О. Фенотипическая структура природных популяций полиморфного литорального моллюска *Littorina obtusata* (L.) (Gastropoda: Prosobranchia) / Моллюски. Основные результаты их изучения. - Л.: Наука, 1989. - С. 71 - 73.
4. Спирин А.С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот // Биохимия. - 1958. - 23, №5. - С. 656 - 662.
5. Столбова Н.Г., Пиркова А.В., Ладынина Л.В. Наследование цвета раковины у мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Цитология и генетика. - 1996. - 30, №6. - С. 62 - 65.

6. Щербань С.А. Фенотипические различия показателей "мгновенной" скорости роста черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Тавр. Мед.-биол. вестник. - 1999. - Вып.3.
7. Щурова Н.М. Фенотипические различия показателей роста культивируемых черноморских мидий // Тез. докл. конф. "Науч.-техн. проблемы марикультуры в стране". Владивосток, 16-20 мая, 1990. - Владивосток. - 1990. - С. 138 - 140.
8. Innes D.L., Haley L.E. Inheritance of shell-color polymorphism in the mussel // Heredity. - 1977. - 68, №3. - P. 203 - 204.

Институт биологии южных морей НАНУ
г. Севастополь

Получено 18.05.2000

S. A. SHCHERBAN

THE CHARACTERS OF SOMATIC AND GENERATIVE GROWTH IN SOME COLOR

MORPHS OF MUSSELS, *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM.

Summary

The characters of somatic and generative growth of the Black Sea polymorphic mussels, *Mytilus galloprovincialis* Lam. have been studied. Comparative value of protein contain, RNA, DNA and index RNA/DNA, characterizing the present growth rate was given. The differences in somatic and generative growth in three color morphs of mussels are indicated. The mussels of black color morphs have the most expressive growth rate.