

На правах рукописи

ДЕХТА Владимир Александрович

РГБ ОД

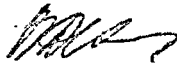
28 MAR 2000

**ПОЛИМОРФИЗМ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ
ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИДИИ MYTILUS
GALLOPROVINCIALIS LAM. АЗОВСКОГО МОРЯ**

Специальность: 03.00.16 - Экология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Краснодар
2000

Работа выполнена в Азовском научно-исследовательском институте р
ного хозяйства (АзНИИРХ)

Научный руководитель: доктор биологических наук Г.Г. Корниенко

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Ю.А. Волчек
доктор биологических наук М.С. Чебанов

Ведущее учреждение: Ростовский государственный университет

Защита состоится «20» апреля 2000 г. в 10 часов
на заседании Диссертационного Совета Д. 120.23.05 при Кубанском
сударственном аграрном университете по адресу:
350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Кубанского госуда
венного аграрного университета (350044, г. Краснодар, ул. Калинина,

Автореферат разослан 20 марта 2000 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета, доцент

А.Ф. Кудин

Е 691-969
Е 691-969 а) 0

Общая характеристика работы

Актуальность исследования. Популяция мидии в Азовском море формировалась сравнительно недавно, после зарегулирования речного стока и увеличения солености вод моря. При этом географический ареал и характер заселения свидетельствуют о том, что мидии Азовского моря представляют собой экологически краевую популяцию средиземноморской мидии (*Mytilus alprovincialis* Lam.). Ценность краевых популяций широко распространенных видов состоит в том, что они играют важную роль в видообразовании, которая определяется генетической дивергенцией в результате изоляции, дрейфа генов и естественного отбора (Lesica, Allendorf, 1995). Поэтому изучение белкового полиморфизма азовской мидии представляет общеприкладной интерес и позволяет получить сведения как о его уровне, так и о факторах популяционной динамики, характерных для экологических условий Азовского моря.

Кроме того, мидии являются объектом марикультуры, а при разработке теоретических и практических основ культивирования животных большое значение имеют методы биохимической и популяционной генетики (Алтухов, 1974, 1983). Их применение позволяет выявлять и использовать маркерные гены в селекционной работе, учитывая связь последних с компонентами приспособленности организмов и генетическим разнообразием популяций (Cataudella, Crosetti, 1993; Безруков, 1994).

Очевидно, что изучение белкового полиморфизма мидии Азовского моря идет не только способствовать углублению достигнутого нами понимания механизмов адаптации и эволюции популяций, но оно также актуально и с прикладной точки зрения. Ранее подобные исследования мидии в Азовском море не проводились, что делает этот объект еще более привлекательным для изучения.

Работа выполнялась в рамках КЦП «Марикультура», тематического плана НИИРХ, задания ГКНТ и Миннауки РФ по проекту «Марикультура».

Цель и задачи исследования. Основная цель настоящей работы состояла в изучении белкового полиморфизма мидии и его связи с условиями обитания в Азовском море. При этом необходимо было решить следующие задачи:

- оценить уровень генетической изменчивости азовской мидии;
- изучить пространственно-временную изменчивость популяции мидии по аллельным локусам;
- изучить связь аллельного полиморфизма с экологическими факторами;
- исследовать ассоцированность гетерозиготности по аллельным локусам с такими компонентами приспособленности мидии, как темп роста и выживаемость;
- выявить особенности полиморфизма азовской мидии как краевой по-

пуляции вида:

- дать рекомендации по применению полученных результатов для целей марикультуры мидии.

Научная новизна и теоретическая значимость. Исследование полиморфизма белков и его пространственно-временной динамики позволило впервые получить для азовской популяции средиземноморской мидии оценки уровня полиморфизма и средней гетерозиготности, показать роль экологических факторов в динамике частот аллозимных фенотипов, гетерозиготности, обнаружить новые сведения о преимуществе гетерозиготных фенотипов по некоторым компонентам приспособленности, а также выявить особенности полиморфизма, связанные экологией краевых популяций.

Практическая значимость. Ассоциированность гетерозиготности мидии по эстеразному локусу со скоростью роста и выживаемостью может быть использована в марикультуре мидии. Предложен способ выращивания, основанный на указанной закономерности (Дехта, 1985). Выявленная связь между характеристиками среды обитания и гетерозиготностью позволяют оценить стабильность экологических условий для выращивания мидии. Показано, что не все районы обитания мидии пригодны для ее культивирования.

Положения, выносимые на защиту. 1. Уровень полиморфизма и генетической изменчивости азовской популяции средиземноморской мидии соответствует аналогичным оценкам для представителей семейства митилид и в целом для беспозвоночных животных.

2. Пространственно-временная гетерогенность параметров аллозимной изменчивости в основном обусловлена действием естественного отбора на разных стадиях онтогенеза мидии, степень активности которого определяется лимитирующим влиянием таких экологических факторов, как соленость, концентрация кислорода и фитопланктона.

3. Отбор благоприятствует особям, гетерозиготным по изучаемым аллозимным локусам, что выражается в их ассоциированности с выживаемостью и скоростью роста.

4. Реверсией приспособленности гетерозигот во время смены онтогенетических стадий у мидии можно объяснить около трети наблюдаемого дефицита гетерозигот в популяции. Фактором отбора в период перехода от планктонной прикрепленной стадии жизни мидий является лимитирующее влияние солености в придонном горизонте.

5. Экологически краевая популяция мидии в Азовском море отличается от черноморских поселений более узким спектром аллозимной изменчивости, тенденцией к снижению полиморфизма по локусу лейцинаминопептидазы, что обусловлено более высокой нестабильностью факторов среды на периферии ареала вида.

Апробация работы. Результаты исследования доложены на III Всесоюзном совещании по генетике, селекции и гибридизации рыб (Тарту, 1986), на 9 совещании по эволюционной физиологии (Ленинград, 1986), на V Всесоюзном биохимическом съезде (Киев, 1986), на VII Всесоюзной конференции по экологической физиологии и биохимии рыб (Ярославль, 1989), на Всероссийской конференции "Экосистемы морей России в условиях антропогенного пресса" (Астрахань, 1994), на II международном конгрессе "Вода: экология и технология" (Москва, 1996), на ряде региональных конференций, посвященных проблемам Азовского моря.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 работ.

Объем и структура диссертации. Диссертация общим объемом 156 страниц включает 23 таблицы и 23 рисунка. Работа состоит из введения, 3 глав, выводов, списка литературы (338 источников, в том числе 221 иностранный).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Условия обитания мидии в исследуемый период. Средиземноморская лидия распространена от побережья Великобритании через Средиземное и Черное моря до Азовского моря. Условия обитания мидии определяются рядом факторов: соленостью, газовым режимом, кормовой базой, наличием подходящих субстратов. В Азовском море популяция мидии образовалась сравнительно недавно. После зарегулирования стока реки Дон в 1952 г., с повышением солености вод Азовского моря, численность и биомасса мидии резко возросли, образовав здесь самостоятельный биоценоз. С повышением солености до 4 ‰ наблюдался интенсивный рост мидии. Площадь биоценоза с 1970 по 1977 г. увеличилась с 3,8 до 5,8 тысяч км², а биомасса - с 66 до 246 г/м² (Некрасова, Якутский, 1979, 1981). Периоды опреснения, наоборот, сопровождались некоторым сокращением биомассы мидии и изменением возрастной структуры популяции. Наблюдаемая связь биомассы мидии с соленостью характеризует исследуемую как наиболее важный лимитирующий фактор в условиях Азовского моря. Коэффициенты вариации солености в районах взаимодействия речных и морских вод достигают порядка 70% (Бронфман и др., 1979; Куропаткин, 1998).

Повышение солености моря вызвало изменения продуктивности фитопланктона, который составляет важнейшую часть пищевого рациона мидии. Биомасса фитопланктона возросла в осенний период. При этом коэффициент вариации концентрации фитопланктона в летний период составляет 76%, среднегодовой - 90% (Алдакимова и др., 1977).

Не менее важным лимитирующим фактором для популяции мидии Азовского моря является концентрация растворенного кислорода в придонном горизонте. Одной из характерных особенностей Азовского моря являются периодически возникающий в теплый период года дефицит кислорода в при-

донном слое (Бронфман и др., 1979). Площадь зон с сублетальными для организмов концентрациями кислорода составляет в среднем около 10 тыс. км² (Александрова и др., 1998). Эти явления нередко сопровождаются гибелью донной фауны в том числе и мидий.

Перечисленные факты позволяют заключить, что колонизация Азовского моря черноморскими вселенцами привела к образованию экологически краевой популяции мидии, условия обитания которой характеризуются пространственно-временной неустойчивостью.

Структура и методы исследования. Исследование полиморфизма белков азовской мидии состояло из нескольких этапов.

Изучали выборки мидии, взятые из основных районов ее обитания в Азовском море. Всего исследовано более 1500 особей. В выборках моллюски были представлены особями одного возраста, который определяли по зонам роста на раковинах. Из экологических показателей в анализе использовались соленость, концентрация кислорода в придонном слое и концентрация фитопланктона.

При изучении белкового полиморфизма использовали ткани гепатопанкреаса и мускула-замыкателя мидии. Исследовали следующие белковые системы: эстеразы, лейцинаминопептидазу, супероксиддисмутазу, НАД-зависимую малатдегидрогеназу, кислую фосфатазу, β -глюкозидазу и мышечные белки. Электрофорез и гистохимическое выявление белковых зон в гелевых блоках проводили по общепринятым методикам (Корочкин и др., 1977; Луппа, 1980; Королешко, Дюхта, 1981).

Полученные результаты анализировали по следующим критериям генетической изменчивости: частота аллеля, аллозимного фенотипа (генотипа), гетерозиготность, дефицит гетерозигот (ДГ), уровень полиморфизма, уравнение Харди-Вайнберга, формула Валунда, индексы генетического подобия Джеффриса-Матуситы, тест χ^2 на гетерогенность и др. Кроме ряда биометрических методов для описания связей генотип-среда использовали корреляционный, регрессионный, факторный (метод главных компонент) и дискриминационный анализы.

Результаты исследования и их обсуждение.

Полиморфизм белков и генетическая изменчивость. Электрофоретическое исследование 7 белковых систем гепатопанкреаса и мускула замыкателя мидии позволило идентифицировать 33 локуса, кодирующих эти белки, что позволило оценить генетическую изменчивость азовской популяции средиземноморской мидии. Величины средней наблюдаемой и ожидаемой и уравнения Харди-Вайнберга гетерозиготности составили соответственно:

$$H = 0,068 \pm 0,028; \quad H_{ож} = 0,090 \pm 0,037;$$

уровень полиморфизма: $P_{0,99} = 33,3\%$; $P_{0,95} = 30,3\%$.

Приведенные нами оценки совпадают со средними значениями для восьми видов митилид и в целом для беспозвоночных. Сравнение аналогичных оце

юк у разных видов мидий показало, что их величины в некоторых случаях существенно различаются. Это может быть вызвано качественными и количественными различиями в составах изучаемых белковых локусов, а также использованием исследователями разных модификаций электрофореза. По этой причине сопоставительное сравнение уровней изменчивости как между отдельными видами, так и популяционных групп (краевые и центральные) затруднено.

Пространственно-временная изменчивость мидий по полиморфным локусам. Изучение 26 выборок мидий по локусам эстеразы (Est-3) и лейциланинопептидазы (Lap-1) выявило внутрипопуляционную неоднородность частот аллелей и фенотипов. Анализ гетерозиготности по локусу Est-3 показывает увеличение ее значений с возрастом моллюсков (0,431 у четырехлетних, 0,361 у трехлетних мидий, $p < 0,02$). При этом величина дефицита гетерозигот уменьшается.

Обнаружен различный уровень гетерогенности в двух возрастных группах мидий. Наиболее гетерогенной оказалась группа выборок 4-летних мидий. Значения χ^2 -критерия для частот аллелей эстеразного локуса составили 17,9 ($p < 0,01$), для частот фенотипов - 23,6 ($p < 0,01$). Величины χ^2 для частот аллелей фенотипов локуса Lap-1 соответственно равны 29,4 ($p < 0,005$) и 36,4 ($p < 0,1$). Для выборок трехлетних мидий критерий χ^2 не выявил существенной гетерогенности.

Таким образом, можно констатировать, что с увеличением возраста мидий снижается гетерогенность их поселений на ареале, уменьшается дефицит гетерозигот и возрастает гетерозиготность по исследуемым локусам.

Выявлена значительная неоднородность частот аллелей и фенотипов на халле азовской мидии. Для определения величины сходства между локальностями были вычислены индексы генетического подобия у обеих возрастных групп мидий и построены дендрограммы (рис.1), иллюстрирующие степень сходства изучаемых поселений. Очевидно, что группа четырехлетних моллюсков более изменчива, чем трехлетних. Однако, можно выделить и общие для обеих групп мидий черты пространственной изменчивости. Так, наибольшие отличия обнаруживают выборки из Обиточного залива (локальность №6). В обеих группах также местны явные различия между выборками из южной и северной акваториями моря.

Приведенные результаты свидетельствуют о высокой пространственной изменчивости обоих локусов в отношении их аллельных и фенотипических частот. При этом различные генерации мидий имеют разную степень гетерогенности, а сами локусы проявляют различный ее характер.

Влияние экологических факторов на гетерогенность популяции мидий. Принимая во внимание высокие миграционные возможности мидий (коло 200 км за 3 недели на стадии планктонной личинки), а также небольшую

частоту мутирования для генов, кодирующих белки, можно полагать, что наблюдаемая гетерогенность популяции мидии в Азовском море связана с действием отбора в локальных местообитаниях.

С целью оценки влияния среды обитания, как фактора отбора, анализировали связь между частотами аллелей, фенотипов и гетерозиготностью по локусам Est-3 и Lar-1 с одной стороны и соленостью, концентрацией кислорода и фитопланктона - с другой. Изучали влияние среды в период оседания личинок мидии и на протяжении всего прикрепленного периода жизни моллюсков. Для этого в первом случае использовали средние значения экологических параметров в локальностях, вычисленные за период, соответствующий времени оседания моллюсков данной генерации. Во втором случае для анализа брали коэффициенты вариации тех же параметров среды, вычисленные за период времени, соответствующий возрасту моллюсков в исследуемых выборках.

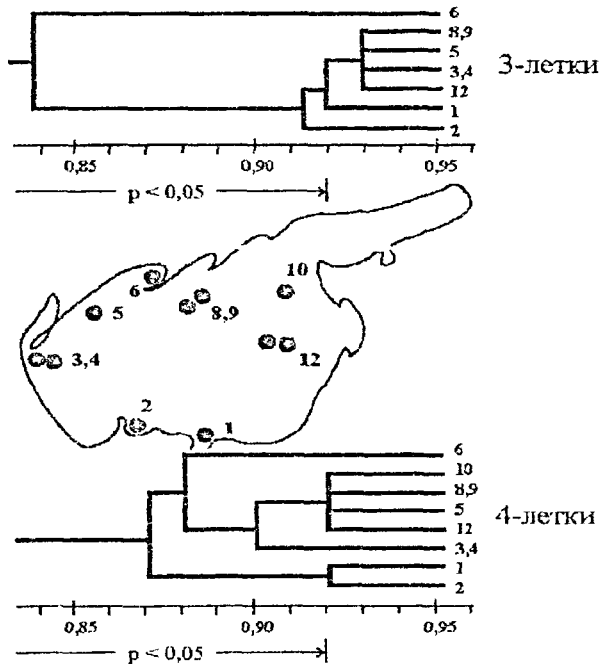


Рис. 1. Дендрограммы генетического сходства.

Период оседания личинок мидии. Корреляционный анализ (табл.1) выявил статистически значимые связи между частотами аллелей и фенотипов локуса Lar-1 с соленостью и концентрацией кислорода в этот период. Характ

вязи показывает, что при уменьшении концентрации кислорода гетерозиготность по этому локусу возрастает. Не обнаружено существенной корреляции экологических параметров с частотами аллелей и фенотипов эстеразного локуса. Выявляется лишь положительная связь гетерозиготности с соленостью на 5% уровне значимости, которую можно интерпретировать как отбор против гетерозигот. С концентрацией фитопланктона изучаемые генетические показатели практически не коррелируют.

Таблица 1.

Коэффициенты корреляции параметров аллозимной изменчивости и экологических характеристик.

Параметры	S	O ₂	F	CV S	CV O ₂	CV F
Lap-1 "a"	0.57	-0.31	-0.18	0.37	0.16	-0.48
Lap-1 "b"	-0.60	0.00	0.18	-0.22	-0.10	0.36
Lap-1 "c"	0.18	0.38	0.06	-0.11	0.00	0.27
Lap-1 H	0.11	-0.54	-0.08	0.42	0.27	0.21
Lap-1 CC	-0.06	0.54	0.02	-0.39	-0.28	-0.09
Lap-1 AC	0.67	-0.41	-0.19	0.53	0.41	-0.20
Lap-1 BC	-0.24	-0.13	0.04	0.09	0.13	0.51
Est-3 "a"	0.19	-0.03	-0.07	-0.02	-0.03	0.47
Est-3 AA	-0.11	0.13	-0.01	-0.35	-0.39	0.23
Est-3 AB(H)	0.48	-0.26	-0.09	0.54	0.58	0.43
Est-3 BB	-0.36	0.13	0.09	-0.23	-0.24	-0.55

Примечание: S, O₂, F - соленость, концентрации кислорода и фитопланктона соответственно, CV - коэффициент вариации. "a", "b", "c" - частоты аллелей; AA, AB, BB, CC, AC, BC - частоты аллозимных фенотипов, H - гетерозиготность. Значимые коэффициенты выделены жирным шрифтом.

В результате факторного анализа выделены четыре независимых фактора (с. 2А), которые объясняют 86,2% суммарной дисперсии параметров. При этом первые два фактора имеют значимые связи с генетическими и экологическими параметрами и объясняют 53,5% общей дисперсии. Они интерпретируются как факторы обеспеченности кислородом. При этом первый фактор отражает заморские явления в море, когда дефицит кислорода в придонном слое является следствием вертикальной температурно-солевой стратификации в отсутствие ветровой турбулентности. Третий фактор не связан с параметрами среды, а четвертый не имеет значимых нагрузок на генетические параметры.

Прикрепленный период жизни мидий. Анализ прикрепленного периода жизни мидий выявил статистически значимую положительную связь частот гете-

розиготных фенотипов обоих локусов с вариабельностью параметров среды обитания. При этом гомозиготные варианты имеют отрицательную связь. Очевидно, что наблюдаемые связи отражают более высокую приспособленность гетерозиготных фенотипов в неустойчивой среде обитания.

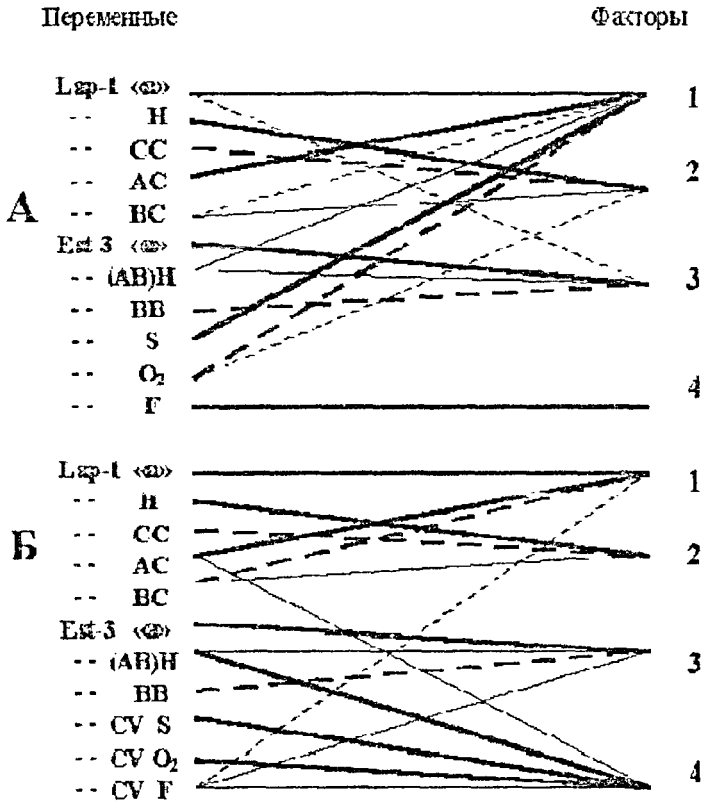


Рис. 2. Диаграммы факторных нагрузок.

А) период оседания личинок мидии, Б) прикрепленный период жизни; сплошные линии - положительная связь; пунктиры - отрицательная; жирные линии - нагрузки $> 0,7$; тонкие - нагрузки $0,4 - 0,7$.

Факторный анализ позволил выделить четыре независимых фактора, которые учитывают 89,3% суммарной дисперсии параметров (рис. 2Б). Три из них (I, III и IV) имеют значимые связи с экологическими и генетическими параме

ами и описывают 67,1% общей дисперсии. Второй фактор не связан с параметрами среды. Парное сравнение вторых и третьих факторов показывает, что ни представляют собой части дисперсии генетических параметров, являющиеся наиболее характерными для каждого из рассматриваемых периодов онтогенеза мидий.

Сопоставляя факторные структуры, можно также заметить, что исследуемые локусы проявляют разную селективную значимость в различные периоды жизни моллюсков. Если изменения гетерозиготности по локусу *Lar-1* в значительной мере связаны с давлением отбора в период оседания мидии (см. рис. 2А, фактор II), то по эстеразному локусу - и в период оседания, и на прикрепленной гадии (рис. 2А, фактор I; рис. 2Б, факторы III и IV). О том же свидетельствуют и величины коэффициентов множественной корреляции гетерозиготности по локусам *Lar-1* и *Est-3* с вариабельностью трех параметров среды: $r_{Lar} = 0,45$ ($p > 0,05$), $r_{Est} = 0,67$ ($p < 0,05$).

Еще одно важное обстоятельство заключается в наблюдаемом отборе в пользу гетерозигот. Из этого следует существенный вывод в связи с высказыванием Р. Левонтина (1978) о том, что для доказательства балансовой гипотезы мало обнаружить факт дифференциального отбора генотипов, необходим отбор, сохраняющий генетическую изменчивость. В частности, гетерозиготы должны быть более приспособленными, чем гомозиготы. Поэтому отбор в пользу гетерозигот, который мы обнаруживаем, может служить дополнительным доводом, подтверждающим балансовую гипотезу.

Дефицит гетерозигот и его причины. Недостаток гетерозигот в природных популяциях многих видов животных - довольно распространенное явление. Из двусторчатых моллюсков он отмечен у мидий, устриц и других видов, общее число которых более двух десятков (Zouros, Foltz, 1984; Sarver et al., 1992). Основными причинами ДГ могут быть: инбридинг, эффект Валунда и естественный отбор.

Инбридинг маловероятен в изучаемых районах обитания мидии в силу значительного обмена иммигрантами между ними. Наиболее частой причиной недостатка гетерозигот многие исследователи называют эффект Валунда, который связан с подразделенностью популяции на более или менее самостоятельные группы, обусловленной различного рода изолирующими механизмами. Формула Валунда для полиаллельного локуса имеет следующий вид:

$$H = H_{ож} - \sum \sigma_i^2,$$

где H - наблюдаемая, $H_{ож}$ - ожидаемая из уравнения Харди-Вайнберга гетерозиготность, σ_i^2 - дисперсия i -го аллеля (Ли, 1978; Пудовкин и др., 1981). Рассчитанные из этого выражения значения недостатка гетерозигот приведены в таблице 2. Очевидно, что эффект Валунда объясняет лишь очень небольшую часть наблюдаемого ДГ.

Вклад эффекта Валунда в дефицит гетерозигот.

Локус	Возраст (лет)	n	ДГ	$\Sigma\sigma^2$	% от ДГ
Est-3	3	302	0.083	0.0015	1.8
Est-3	4	730	0.062	0.0052	8.4
Lap-1	3	302	0.058	0.0010	1.7
Lap-1	4	730	0.047	0.0025	5.3

Одной из причин образования недостатка гетерозигот в популяции мидии Азовского моря может быть отбор против гетерозигот, который действует в период смены онтогенетических стадий. Фактом, свидетельствующим в пользу этого предположения, является довольно умеренная величина связи солености и гетерозиготности по локусу Est-3 в период оседания личинок мидии ($r = 0.48$, $p < 0.05$).

Изучение связи значений ДГ по локусу Est-3 и солености в период оседания позволило получить уравнение регрессии, объясняющее 39% дисперсии значений ДГ влиянием именно этого фактора. При этом коэффициент корреляции между параметрами составляет: $r = -0.63$ ($p < 0.01$).

Анализ связи значений ДГ по локусу Lap-1 с соленостью показывает, что зависимость, описываемая экспоненциальной функцией, объясняет 25% дисперсии значений ДГ влиянием солености. Коэффициент корреляции в этой модели составил: $r = -0.50$ ($p < 0.05$).

Можно заметить, что изучаемые экологические факторы не объясняют в полной мере наблюдаемого дефицита гетерозигот, а лишь некоторую его часть (от 39% до 25% дисперсии). Это может быть следствием того, что возникновение ДГ имеет многофакторную природу. Поэтому представляется проблематичным связывать возникновение ДГ в популяции мидии с давлением какого-либо одного фактора среды.

Особенности аллозимного полиморфизма мидии Азовского моря как красной популяции вида. Представляет существенный интерес вопрос о том, в какой мере экологические условия определяют специфичность наблюдаемого полиморфизма у мидии Азовского моря. С этой целью анализировали полиморфизм лейцинаминопептидазы 26 выборок мидии из Азовского моря (собственные данные) и 16 выборок из Черного моря (данные Е.А. Жуковской и соавторами, 1987).

Как видно из таблицы 3, сравнение средних значений и дисперсий частот аллелей обнаруживает более высокую вариабельность частоты аллеля "с" в чер

оморских выборках и различия по редкому аллелю "d", частота встречаемости которого 0,2% в Азовском и 1,7% в Черном море. Средняя наблюдаемая гетерозиготность несколько выше в черноморских выборках мидий, чем в азовских.

Таблица 3.

Средние значения наблюдаемых выборочных частот аллелей и гетерозиготности по локусу Lar-I.

Район обитания	Частота аллеля				Гетерозиготность
	"a"	"b"	"c"	"d"	H
Черное море	0.074 (0.027)	0.163 (0.027)	0.746 (0.042)	0.017 (0.009)	0.385 (0.066)
Азовское море	0.070 (0.026)	0.168 (0.030)	0.760 (0.024)	0.002 (0.006)	0.337 (0.038)

Примечание: в скобках указано стандартное отклонение.

В подавляющем большинстве выборок обнаружен дефицит гетерозигот. Дивысшие значения гетерозиготности, которые даже превышают теоретически ожидаемые, обнаруживаются у мидий в районе Керченского пролива, что подтверждается обоими источниками данных. Эта аномалия, по-видимому, обусловлена особенностями экологии проливной зоны связанными со смешением вод разной солености.

Для анализа различий между группами выборок использовали дискриминантный анализ по частотам аллелей и гетерозиготности. Распределения вычисленных значений дискриминантной функции достоверно различаются ($<0,001$). При этом области варьирования обеих групп совпадают, но азовские мидии почти в два раза менее вариабельны.

Сравнительный анализ полиморфизма азовских и черноморских мидий позволяет выделить общие черты, характерные для обеих популяций. Это количество аллелей в локусе и их соотношение в изучаемых сообществах. Постоянство числа аллелей и их наблюдаемые пропорции свидетельствуют о генетическом единстве этих сообществ, поддерживаемом обменом генетическим материалом посредством миграционных процессов. В то же время необходимо отметить и специфику различий между азовскими и черноморскими мидиями, которые обусловлены комплексом экологических факторов.

Если оценивать экологические условия с точки зрения факторов, определяющих характер отбора, то следует признать, что в данном случае мы наблюдаем последствия стабилизирующего отбора, который в более жестких условиях южного моря (низкая соленость, частые заморные явления, температурный режим и т.д.) формирует популяцию с более узким спектром изменчивости по ис-

следующим признакам. Факт уменьшения частоты редкого аллеля "d" на 88% и гетерозиготности на 12,5% в частном случае может свидетельствовать о снижении полиморфизма на периферии ареала. Однако для решения вопроса о снижении уровня генетической изменчивости в краевых популяциях необходимо изучение представительной выборки генов.

Гетерозиготность и скорость роста мидий. Выявление связей между размерно-весовыми характеристиками моллюсков и гетерозиготностью важно для оценки биологического значения полиморфизма ферментов, а также для практической селекционной работы. Исследованные нами выборки мидий представлены тремя возрастными группами из пяти различных акваторий моря. Выборки мидий ранжировали по весу мягких тканей, а затем каждую разделили на три класса, характеризующихся низким, средним и высоким весом мягких тканей. Для каждого класса вычислили значения гетерозиготности по обоим ферментным локусам. Результаты показывают, что гетерозиготность у мидий большим весом мягких тканей существенно выше (рис.3.). Эта зависимость наиболее выражена по эстеразному локусу.

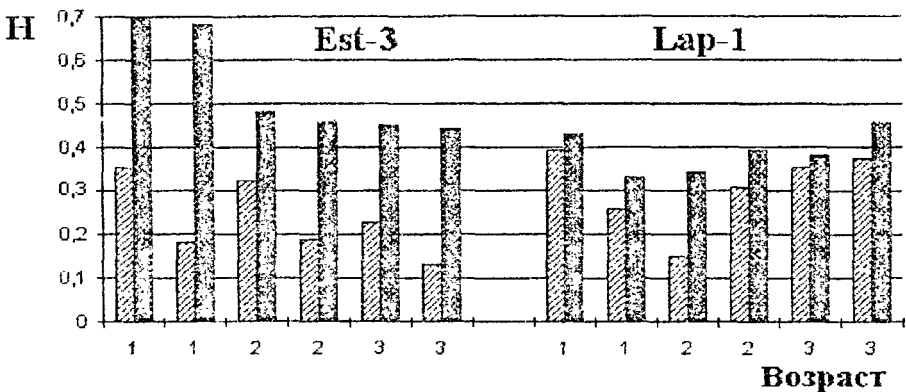


Рис.3.

Различия в гетерозиготности между крайними весовыми классами в шести выборках мидий. В парях: левая гистограмма соответствует наименьшему весовому классу, правая - наибольшему весовому классу.

Ассоциированность гетерозиготности со скоростью роста представляет существенный практический интерес, так как позволяет получать потомство заданной генетической структурой путем скрещивания гомозиготных линий. Более высокая скорость роста и устойчивость развития выращиваемых особей значительной мере обуславливают эффективность культивирования моллюско-

Поэтому необходимо знать, насколько стабильно преимущество гетерозигот в скорости роста во времени. На этот вопрос можно ответить, сопоставив различия средних весовых значений у гомо- и гетерозиготных особей разного возраста (табл. 4).

Очевидно, что с возрастом преимущество гетерозигот в скорости роста значительно снижается. К таким последствиям может приводить отбор, в частности, когда он направлен против медленно растущих особей. Распределение гетерозигот по скорости роста имеет большую дисперсию, чем гомозигот. Поэтому уменьшение некоторой доли медленно растущих гомозиготных особей приводит к уменьшению разницы между средними значениями скорости роста. Такое объяснение в нашем случае наиболее предпочтительно, так как его реализация должна сопровождаться увеличением гетерозиготности с возрастом моллюсков, что вполне согласуется с наблюдаемыми фактами.

Таблица 4.

Средние весовые различия между гомо- и гетерозиготными мидиями (в %)

Возраст (лет)	Est-3	Lap-1
1	26,6	16,8
2	6,8	4,6
3	6,8	0,0

Применение полученных данных в маринкультуре мидий. Обнаруженное преимущество в скорости роста и выживаемости мидий, гетерозиготных по эстеразному локусу, и возможное его использование в маринкультуре защищено авторским свидетельством (Дехта, 1985). С целью увеличения выхода жарной мидии рекомендуется проводить подбор родительских пар в популяции таким образом, чтобы получать 50-100% молоди моллюсков с гетерозиготными фенотипами. Этого можно достичь двумя способами: путем управления генетической структурой маточного стада и путем скрещивания гомозиготных линий, а способ предусматривают генетический контроль за маточным стадом и выращиваемым материалом.

Реализация преимуществ гетерозиготных мидий во многом будет определяться экологическими условиями культивирования. С целью оценки условий культивирования на основе регрессионных уравнений гетерозиготности уровня вариабельности параметров среды, возрастных различий в гетерозиготности и модели возрастного состава популяции были получены уравнения, позволяющие определить потери моллюсков при их выращивании в тех или иных акваториях моря. Значения оценок потерь колеблются от 25 до 72 % и определяются разной степенью нестабильности среды обитания в локальностях. Пока что далеко не все районы моря пригодны для культивирования мидий.

ВЫВОДЫ

1. Изучена генетическая изменчивость азовской популяции среды земноморской мидии (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) по 33 белковым локусам. Уровень полиморфизма составил 30,3%; средняя наблюдаемая гетерозиготность - $0,068 \pm 0,028$; средняя ожидаемая из уравнения Харди-Вайнберга гетерозиготность - $0,090 \pm 0,037$. Полученные результаты соответствуют аналогичным оценкам для других видов мидий и в целом для беспозвоночных животных.

2. Выявлена значительная пространственно-временная гетерогенность популяции мидии по аллозимным локусам Est-3 и Lap-1. Обнаружены различия по частотам аллелей и аллозимных фенотипов обоих локусов между поселениями из южного и северного районов моря, увеличение гетерозиготности по эстеразному локусу с возрастом моллюсков. Наблюдаемая гетерогенность аллельных и фенотипических частот увеличивается с возрастом, что связано с неоднородностью экологических условий на ареале.

3. В период оседания планктонной личинки мидии наибольшее влияние на изменчивость аллельных и фенотипических частот в популяции оказывает концентрация кислорода и соленость в придонном горизонте, в отличие от концентрации фитопланктона, которая не обнаруживает связей с изучаемыми параметрами.

4. В прикрепленный период жизни мидии естественный отбор благоприятствует особям, гетерозиготным по локусам эстеразы и лейцинаминопептидазы. При этом активность отбора прямо связана со степенью неустойчивости экологических факторов: солености, концентрации кислорода в фитопланктоне в локальных местообитаниях мидий.

5. В популяции мидии обнаружен дефицит гетерозигот. Показано, что одной из причин его образования в популяции мидии может быть отбор против гетерозигот в период смены онтогенетических стадий, при переходе личиночной к прикрепленной. При этом влиянием солености можно объяснить до 40% дисперсии значений ДГ по эстеразному локусу и 25% по локусу Lap-1.

6. Сравнение азовской популяции мидии с черноморской по полиморфизму лейцинаминопептидазы показало их генетическое единство. Различия, выражающиеся в снижении вариабельности параметров аллозимного полиморфизма у азовской мидии, можно объяснить более жесткими условиями обитания на периферии ареала.

7. Выявлено преимущество гетерозиготных по аллозимным локусам мидий в скорости роста. Наибольшая связь отмечена для эстеразного локуса. Преимущество гетерозигот в скорости роста непостоянно во времени и уменьшается с возрастом моллюсков. Одной из причин этого явления может быть действие таких форм отбора, которые нивелируют различия между гомо- и гетеро-

татами по компонентам приспособленности.

Практические предложения.

1. Обнаруженное преимущество гетерозигот в скорости роста и выживаемости предложено использовать в практике выращивания мидии. Для этого рекомендуется увеличивать гетерозиготность оседаемой молодежи моллюсков на искусственные субстраты с помощью селекционных мероприятий.

2. На основании зависимости между гетерозиготностью по эстеразному локусу и вариабельностью факторов среды обитания проведена сравнительная оценка мест размещения мидийных хозяйств. Показано, что не все районы Азовского моря, где обитают мидии, пригодны для ее культивирования. Предлагается использовать районы с наиболее устойчивыми характеристиками среды обитания.

Список публикаций по теме диссертации.

1. Короленко П.И., Дехта В.А. Усовершенствованный прибор для вертикального электрофореза // Гидрохимические материалы. -1981. -Т.82. -С.87-99.
2. Дехта В.А. Биохимический полиморфизм мидии Азовского моря // Комплексное использование биологических ресурсов Каспийского и Азовского морей. -М.,1983. -С.27-28.
3. Дехта В.А. Генетическая структура популяции мидии Азовского моря // Тез. докл. обл. научн. конф. по итогам работы АзНИИРХ за 25 лет. 30 сент.1983г. - Ростов н/Д, 1983. -С. 30-32.
4. Дехта В.А. Адаптивный характер биохимического полиморфизма мидии Азовского моря // Рукопись депонирована в ВИННИИ 3 сент.1985г. - № 6466-85 Дсп.
5. Дехта В.А. Популяционная генетика мидии Азовского моря // Тез. докл. обл. научн. конф. по итогам работы АзНИИРХ в XI пятилетке. 4-6 февр.1986. -Ростов н/Д, 1985. -С. 100-101.
6. Чихачев А.С., Цветненко Ю.Б., Дехта В.А., Борякин В.А., Сергеева С.Г., Хлобыстов В.В. Значение полиморфизма белков в процессах адаптации популяций // В кн. "V всесоюзный биохимический съезд". -Т.3. - 1985. - С.187-188.
7. Дехта В.А. Способ выращивания средиземноморской мидии (*Mytilus edulis galloprovincialis*) // А.С. № 1161045, 15.06.85, Бюллетень № 22.
8. Дехта В.А. Экологическая генетика мидии Азовского моря // Тез. докл. III всесоюзн. сов. по генетике, селекции и гибридизации рыб 9-11 сент.1986г. г. Таргу. -М.,1986. -С. 58-60.
9. Чихачев А.С., Дехта В.А., Цветненко Ю.Б. Сергеева С.Г. Наблюдение действия отбора в популяциях гидробионтов // В кн. Вопросы эволюционной физиологии. 9 совещ. по эволюц. физиологии. тез. сообщ. -"Наука". Л., 1986. -С.312.
10. Дехта В.А. Экологическая генетика мидии Азовского моря // Генетические исследования гидробионтов. - М.,1987. - С. 216- 227.
11. Дехта В.А., Чихачев А.С. Генетические аспекты выращивания мидии в

- Азовском море // Тез. докл. зональн. конф. мол. учен. и спец. по компл. и рациональн. использ. водных и биолог. ресурс. бассейн. Азовского и Каспийского морей. 14-15 янв. 1987г. - Ростов н/Д. 1987. - С. 32-33.
12. Дехта В.А. Влияние факторов среды обитания на генетическую гетерогенность популяции мидии в Азовском море // Тез. докл. зон. конф. мол. учен. и спец. по компл. и рац. использ. водн. и биол. ресурсов бассейнов Азовск. и Каспийск. морей 14-15 янв. 1987г. - Ростов н/Д. 1987. - С. 30-31.
 13. Чихачев А.С., Цветенко Ю.Б., Дехта В.А., Сергеева С.Г., Айнетдинов А.И., Борякина Т.Г. Характеристика уровней генетической изменчивости основных объектов промысла и марикультуры Азовского бассейна // Современное состояние и перспективы рационального использования и охраны рыбного хозяйства в басс. Азовского моря, ч.2.-Марикультура.- М.,1987. С.119-120.
 14. Цветенко Ю.Б., Дехта В.А. Применение генетических данных для повышения продуктивности марикультуры // Современное состояние и перспективы рационального использования и охраны рыбного хозяйства в басс. Азовского моря. Ч. 2. Марикультура.- М.,1987.-С.112-113.
 15. Чихачев А.С., Дехта В.А. Смена адаптивной роли полиморфных белков в популяциях гидробионтов // Экологическая физиология и биохимия рыб. т.2.- Ярославль, 1989.-С. 223-225.
 16. Дехта В.А. Прибор для электрофоретического обесцвечивания гелевых блоков // Ростовский межотрасл. территор. центр научн.-техн. информац. и пропаг., 1990, Информ. лист. № 150-90.
 17. Дехта В.А. Экологические особенности белкового полиморфизма мидии Азовского и Черного морей // Тез. всеросс. конф. "Экосистемы морей России в условиях антропогенного пресса (включая промысел)", 20-22 сентября, 1994г.- Астрахань, 1994.- С.243-244.
 18. Дехта В.А. Мониторинг техногенной нагрузки в прибрежной зоне Черного моря методом анализа изменчивости формы створок мидии (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) // Вода: экология и технология "ЭКВАТЕК-96" (Москва, 17-21 сент. 1996 г.): Тез. докл. II Междунар. конгр. М.: ВНИРО, 1996.- С.418-419.
 19. Dekhta V.A. Monitoring of the technogenic load in the off-shore area of the Black Sea based on an analysis of the variability of the shape of mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) // Water: Ecology and Technology "ECWATECH-96" (Moscow, 17-21 September 1996v.): Abstracts of I International Congress.- M.: VNIRO, 1996.-P.317.
 20. Дехта В.А. Дефицит гетерозигот и причины его образования в популяции мидий (*Mytilus galloprovincialis* L.) Азовского моря // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азовского бассейна / АЗНИИРХ.- Ростов-на-Дону, 1998.- С.307-311.