На правах рукописи

РГБ ОД
2 8 МАР 2000

ДЕХТА Владимир Александрович

ЛОЗИМНЫЙ 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. Корниен

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Ю.А. Волчко
доктор биологических наук М.С. Чебано

Ведущее учреждение: Ростовский государственный университет

Защита состоится «20» апреля 2000 г. в 10 часов
на заседании Диссертационного Совета Д. 120.23.05 при Кубанско
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 (1000 а) 0

Общая характеристика работы

Актуальность исследования. Популяция мидии в Азовском море формировалась сравнительно недавно, после зарегулирования речного стока и величения солености вод моря. При этом географический ареал и характер асселения свидетельствуют о том, что мидии Азовского моря представляют со-ой экологически краевую популяцию средиземноморской мидии (Mytilus alloprovincialis Lam.). Ценность краевых популяций широко распространенных идов состоит в том, что они играют важную роль в видообразовании, которая ределяется генетической дивергенцией в результате изоляции, дрейфа генов и тественного отбора (Lesica, Allendorf, 1995). Поэтому изучение белкового по-иморфизма азовской мидии представляет общебиологический интерес и по-воляет получить сведения как о его уровне, так и о факторах популяционной инамики, характерных для экологических условий Азовского моря.

Кроме того, мидии являются объектом марикультуры, а при разработке еоретических и практических основ культивирования животных большое значе-ие имеют методы биохимической и популяционной генетики (Алтухов, 1974, 983). Их применение позволяет выявлять и использовать маркерные гены в се-кционной работе, учитывая связь последних с компонентами приспособленно-и организмов и генетическим разнообразием популяций (Cataudella, Crosetti, 993; Безруков, 1994).

Очевидно, что изучение белкового полиморфизма мидии Азовского моря дет не только способствовать углублению достигнутого нами понимания меха-змов адаптации и эволюции популяций, но оно также актуально и с приклад-ой точки зрения. Ранее подобные исследования мидии в Азовском море не едпринимались, что делает этот объект еще более привлекательным для изу-ения.

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

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

- оценить уровень генетической изменчивости азовской мидии;
- изучить пространственно-временную изменчивость популяции мидии по аллозимным локусам;
- изучить связь аллозимного полиморфизма с экологическими факторами;
- исследовать ассоциированность гетерозиготности по аллозимным 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 полимор физма белков и его пространственно-временной динамики позволило впервы получить для азовской популяции средиземноморской мидии оценки уровня по лиморфизма и средней гетерозиготности, показать роль экологических факторо в динамике частот аллозимных фенотипов, гетерозиготности, обнаружить новы сведения о преимуществе гетерозиготных фенотипов по некоторым компонента приспособленности, а также выявить особенности полиморфизма, связанные экологией краевых популяций.

Практическая значимость. Ассоциированность гетерозиготности ми дии по эстеразному локусу со скоростью роста и выживаемостью может быт использована в марикультуре мидии. Предложен способ выращивания, основан ный на указанной закономерности (Дехта, 1985). Выявленная связь межд характеристиками среды обитания и гетерозиготностью позволяют оценить ста бильность экологических условий для выращивания мидии. Показано, что не вс районы обитания мидии пригодны для ее культивирования.

Положения, выносимые на защиту. 1. Уровень полиморфизма и гено тической изменчивости азовской популяции средиземноморской мидии соотве ствует аналогичным оценкам для представителей семейства митилид и в цело для беспозвоночных животных.

2. Пространственно-временная гетерогенность параметров аллозимно изменчивости в основном обусловлена действием естественного отбора на разны стадиях онтогенеза мидии, степень активности которого определяется лимити рующим влиянием таких экологических факторов, как соленость, концентраци кислорода и фитопланктона.

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

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

5. Экологически краевая популяция мидии в Азовском море отличается черноморских поселений более узким спектром аллозимной изменчивости тенденцией к снижению полиморфизма по локусу лейцинаминопептидазы, ч обусловлено более высокой нестабильностью факторов среды на периферии аре ла 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 мидия 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 км^2, а биомасса - с 66 до 246 г/м^2 (Некрасова, Закутский, 1979, 1981). Периоды опреснения, наоборот, сопровождались некоторым сокращением биомассы мидии и изменением возрастной структуры популяции. Наблюдаемая связь биомассы мидии с соленостью характеризует последнюю 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 эпизодически 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. км^2 (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; Короленко, Дехта, 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 дискриминантный 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 из уравнения Харди-Вайнберга гетерозиготности составили соответственно:

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

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 содержательное сравнение уровней изменчивости как между отдельными видами, ак и популяционных групп (краевые и центральные) затруднено.

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

Обнаружен различный уровень гетерогенности в двух возрастных группах идии. Наиболее гетерогенной оказалась группа выборок 4-летних мидий. Знаения 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 ($p<0,1$). ля выборок трехлетних мидий критерий χ^2 не выявил существенной гетерогенности.

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

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

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

Влияние экологических факторов на гетерогенность популяции мидии. 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 Lap-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.

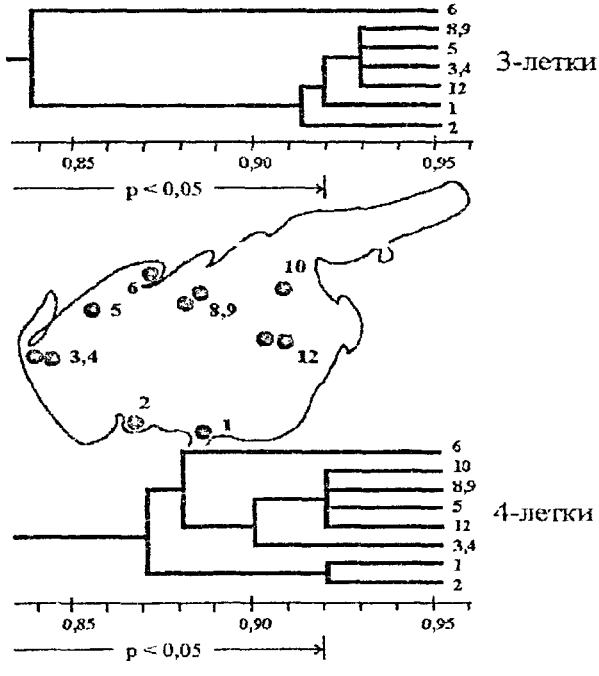

Рис.1. Дендрограммы генетического сходства.

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

вязи показывает, что при уменьшении концентрации кислорода гетерозиготность о этому локусу возрастает. Не обнаружено существенной корреляции экологических параметров с частотами аллелей и фенотипов эстеразного локуса. Выявлена 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 оррелируют.

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, O_2, 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 ис. 2A), которые объясняют 86,2% суммарной дисперсии параметров. При этом а первых фактора имеют значимые связи с генетическими и экологическими аметрами и объясняют 53,5% общей дисперсии. Они интерпретируются как кторы обеспеченности кислородом. При этом первый фактор отражает замор-е явления в море, когда дефицит кислорода в придонном слое является следст-м вертикальной температурно-солевой стратификации в отсутствии ветровой ивности. Третий фактор не связан с параметрами среды, а четвертый не имеет чимых нагрузок на генетические параметры.

Прикрепленный период жизни мидий. Анализ прикрепленного периода зни 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.

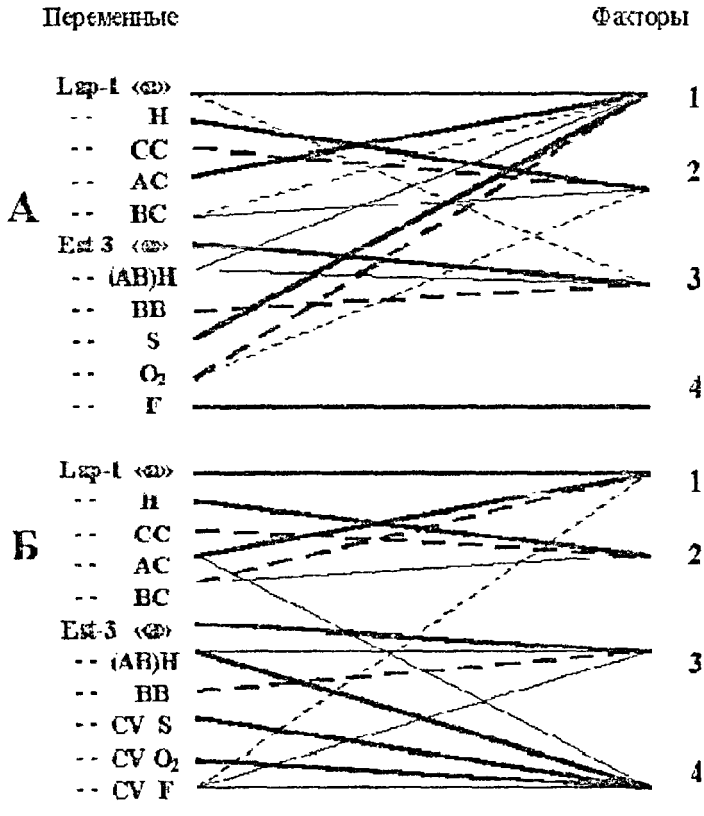

Рис. 2. Диаграммы факторных нагрузок.
А) период оседания личинок мидии, Б) прикрепленный период жизни; сплошные линии -положительная связь; пунктиры - отрицательная; жирные линии - нагрузки > 0,7; тонкие - нагрузки 0,4 - 0,7.

Факторный анализ позволил выделить четыре независимых фактора, кото рые учитывают 89,3% суммарной дисперсии параметров (рис. 2Б). Три из ни (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. Попарное сравнение вторых и третьих факторов показывает, что они 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 Lap-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 стадии (рис.2А, фактор I; рис.2Б, факторы III и IV). О том же свидетельствуют и величины коэффициентов множественной корреляции гетерозиготности по локусам Lap-1 и Est-3 с вариабельностью трех параметров среды: $r_{Lap} = 0,45$ ($p>0,05$), $r_{Est} = 0,67$ ($p<0,05$).

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 надо 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 двустворчатых 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:

$$H = H_{ож} - \Sigma\sigma^2_i ,$$

где H - наблюдаемая , $H_{ож}$ - ожидаемая из уравнения Харди-Вайнберга гетерозиготность, σ^2_i - 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.

Таблица 2.

Вклад эффекта Валунда в дефицит гетерозигот.

Локус	Возраст (лет)	n	ДГ	$\Sigma\sigma^2_i$	% 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 значении 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 краевой 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 с соавторами, 1987).

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

оморских выборках и различия по редкому аллелю "d", частота встречаемости оторого 0,2% в Азовском и 1,7% в Черном море. Средняя наблюдаемая гетеро-иготность несколько выше в черноморских выборках мидии, чем в азовских.

Таблица 3.

Средние значения наблюдаемых выборочных частот аллелей и гетерозиготности по локусу Lap-1.

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. аивысшие значения гетерозиготности, которые даже превышают теоретически кидаемые, обнаруживаются у мидий в районе Керченского пролива, что под-верждается обоими источниками данных. Эта аномалия, по-видимому, обуслов-на особенностями экологии проливной зоны, связанными со смешением вод изной солености.

Для анализа различий между группами выборок использовали дискри-инантный анализ по частотам аллелей и гетерозиготности. Распределения вы-исленных значений дискриминантной функции достоверно различаются <0,001). При этом области варьирования обеих групп совпадают, но азовские идии почти в два раза менее вариабельны.

Сравнительный анализ полиморфизма азовских и черноморских мидий зволяет выделить общие черты, характерные для обеих популяций. Это количе-во аллелей в локусе и их соотношение в изучаемых сообществах. Постоянство исла аллелей и их наблюдаемые пропорции свидетельствуют о генетическом инстве этих сообществ, поддерживаемом обменом генетическим материалом средством миграционных процессов. В то же время необходимо отметить и ецифику различий между азовскими и черноморскими мидиями, которые условлены комплексом экологических факторов.

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

следуемым 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 мидии представлены тремя возрастными группами из пяти различных акваторий моря. Выборки мидии 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 с большим весом мягких тканей существенно выше (рис.3.). Эта зависимость наиболее выражена по эстеразному локусу.

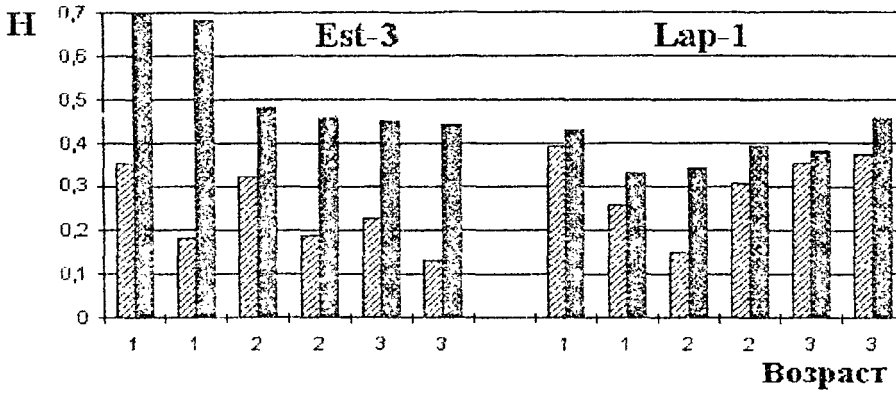

Рис.3.

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

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

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 гомозигот по скорости роста имеет бо́льшую дисперсию, чем гетерозигот. Поэтому элиминация 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 марикультуре мидии. Обнаруженное преимущество в скорости роста и выживаемости мидий, гетерозиготных по эстеразному локусу, и возможное его использование в марикультуре защищено авторским свидетельством (Дехта, 1985). С целью увеличения выхода товарной 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. Оба способа предусматривают генетический контроль за маточным стадом и выращиваемым материалом.

Реализация преимуществ гетерозиготных мидий во многом будет определяться экологическими условиями культивирования. С целью оценки условий районов культивирования на основе регрессионных уравнений гетерозиготности и 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. Показано, что далеко не все районы моря пригодны для культивирования мидий.

ВЫВОДЫ

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

2. Выявлена значительная пространственно-временная гетероге ность популяции мидии по аллозимным локусам Est-3 и Lap-1. Обнаружен различия по частотам аллелей и аллозимных фенотипов обоих локусов меж поселениями из южного и северного районов моря, увеличение гетерозиготност по эстеразному локусу с возрастом моллюсков. Наблюдаемая гетерогеннос аллельных и фенотипических частот увеличивается с возрастом, что связ но с неоднородностью экологических условий на ареале.

3. В период оседания планктонной личинки мидии наибольшее вли ние на изменчивость аллельных и фенотипических частот в популяции ок зывает концентрация кислорода и соленость в придонном горизонте , в о личие от концентрации фитопланктона, которая не обнаруживает связей с из чаемыми параметрами.

4. В прикрепленный период жизни мидии естественный отбор благ приятствует особям, гетерозиготным по локусам эстеразы и лейцинаминопе тидазы. При этом активность отбора прямо связана со степенью неустойчивос экологических факторов: солености, концентрации кислорода и фитопланкто в локальных местообитаниях мидий.

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

6. Сравнение азовской популяции мидии с черноморской по пол морфизму лейцинаминопептидазы показало их генетическое единство. Р личия, выражающиеся в снижении вариабельности параметров аллозимно полиморфизма у азовской мидии, можно объяснить более жесткими услови ми обитания на периферии ареала.

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

готами 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 молоди 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.

. 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.

. Дехта В.А. Адаптивный характер биохимического полиморфизма мидии Азовского моря // Рукопись депонирована в ВИНИТИ 3 сент.1985г.- № 6466-85 Деп.

. 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.

. 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.

. Дехта В.А. Способ выращивания средиземноморской мидии (Mytilus edulis galloprovincialis) // А.С. № 1161045, 15.06.85, Бюллетень № 22.

. Дехта В.А. Экологическая генетика мидии Азовского моря // Тез. докл. III всесоюзн. сов. по генетике, селекции и гибридизации рыб 9-11 сент.1986г, г. Тарту.-М.,1986.-С. 58-60.

. 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.

0. Дехта В.А. Экологическая генетика мидии Азовского моря // Генетические исследования гидробионтов.- М.,1987.- С. 216- 227.

1. 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.уч. 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. Цветнеко Ю.Б., Дехта В.А., Сергеева С.Г. Айнетдинова 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. Цветненко 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 mussels (Mytilus galloprovincialis Lam.) // Water: Ecology and Tecnology "ECWATECH-96" (Moscow, 17-21 September 1996y.): Abstracts of II International Congress.- M.: VNIRO, 1996.-P.317.
20. Дехта В.А. Дефицит гетерозигот и причины его образования в популяции мидии (Mytilus galloprovincialis L.) Азовского моря // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азовского бассейна / АзНИИРХ.- Ростов-на-Дону, 1998.- С.307-311.