

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

На правах рукописи

ЧЕЛЯДИНА НАТАЛЬЯ СТАНИСЛАВОВНА

УДК 582.232: 579.8

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ, БИОХИМИЧЕСКИЕ И ХИМИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM.,
КУЛЬТИВИРУЕМОЙ В ЧЁРНОМ МОРЕ**

03.02.10 – гидробиология

Диссертация на соискание научной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель

Иванов Валерий Николаевич

кандидат биологических наук

старший научный сотрудник

Севастополь - 2014

СОДЕРЖАНИЕ

	стр
ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
РАЗДЕЛ 1. ИЗУЧЕНИЕ ОСНОВНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МОЛЛЮСКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	11
1.1. Изменчивость мидий, обитающих в Чёрном море.....	11
1.2. Фенотипическая структура мидийных поселений.....	13
1.3. Половая структура поселений, стадии зрелости гонад и размеры яйцеклеток мидий	15
1.4. Особенности роста мидий на коллекторах.....	19
1.5. ДНК и РНК в органах и тканях мидий.....	22
1.6. Содержание тяжёлых металлов в моллюсках.....	24
РАЗДЕЛ 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	31
2.1. Характеристика районов исследований и объём материала.....	31
2.2. Методы исследований.....	34
2.2.1. Биологический анализ мидий.....	34
2.2.2. Определение морфометрических параметров.....	35
2.2.3. Определение содержания нуклеиновых кислот.....	36
2.2.4. Определение концентрации тяжёлых металлов.....	37
2.3. Статистический анализ полученных результатов.....	37
РАЗДЕЛ 3. ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ И ПОЛОВАЯ СТРУКТУРА ПОСЕЛЕНИЙ И СТАДИИ ЗРЕЛОСТИ ГОНАД КОЛЛЕКТОРНОЙ <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> Lam, 1819.....	42

РАЗДЕЛ 4. ИНДИВИДУАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОЛЛЕКТОРНОЙ <i>M. GALLOPROVINCIALIS</i> В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФЕНА, ПОЛА, И СТАДИИ ЗРЕЛОСТИ ГОНАД.....	56
4.1. Морфометрические характеристики и рост	56
4.2. Содержание нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) в гонадах.....	66
4.3. Диаметр яйцеклеток.....	71
4.4. Концентрация некоторых тяжёлых металлов в раковинах, мягких тканях и гонадах	87
4. 4. 1. Содержание Cu в раковинах.....	88
4. 4. 2. Содержание Cu в мягких тканях.....	95
4. 4. 3. Содержание тяжёлых металлов в гонадах	99
РАЗДЕЛ 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	109
ВЫВОДЫ	113
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	115
ПРИЛОЖЕНИЕ	141

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

Весы WT-2 (4000)	весы торсионные
ВЛР-200	весы аналитические
г*см ⁻²	грамм в сантиметре квадратном
ДА	дисперсионный анализ
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
E-TRIX	индекс эвтрофикации
МИКМЕД – 5	микроскоп медицинский
НК	нуклеиновые кислоты
нм	нанометр
ОВ	органическое вещество
ОСЧ	особо чистая
ПР	произведение растворимости
РНК	рибонуклеиновая кислота
СФ-26	спектрофотометр
ТМ	тяжёлые металлы
Т,°С	температура, градусы Цельсия
экз.	экземпляр
CV	коэффициент вариации
D	ширина раковины
D/L	сагитальная кривизна, выпуклость
H	высота раковины
H/L	вытянутость, или относительная высота
L	длина раковины
S,‰	соленость, в промилле

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Мидия *Mytilus galloprovincialis* Lam. образует в Чёрном море большие скопления и её относят к средообразующим видам. До 80 - х годов XX ст. мидия входила в число промысловых объектов на Чёрном море, а её запасы исчислялись миллионами тонн, однако в настоящее время её численность в этой акватории значительно снизилась [93, 131]. Несмотря на то, что существуют различные точки зрения о влиянии мидийных ферм на состояние окружающей среды, мировой опыт культивирования видов рода *Mytilus* свидетельствует об экономической целесообразности их выращивания.

Совершенствование биотехнологии выращивания мидии включает и селекционную работу, для которой важны знания об индивидуальной изменчивости её морфологических, биохимических и химических характеристик. Морфологические параметры моллюсков являются маркерными признаками, по которым можно судить об экологических условиях среды.

Биохимические и химические параметры тесно связаны с морфологическими признаками, в частности содержание НК отражает темпы соматического и генеративного роста моллюсков, а ионы тяжёлых металлов (Cu, Pb, Zn, Cd) включаются во многие биохимические процессы клетки и могут вызывать аномалии в развитии мидий.

Данные об индивидуальной изменчивости *M. galloprovincialis* позволят выделить как генетически детерминированные морфологические признаки, отражающие хозяйственную ценность мидий, так и признаки, которые могут быть индикатором качества среды.

Приведенные в литературе результаты [9, 38, 46, 73, 116, 154] морфологических и биохимических исследований мидий имеют, в основном,

усреднённый характер, к тому же отсутствуют данные об индивидуальной вариабельности.

В связи с этим актуальной задачей является оценка индивидуальной изменчивости некоторых морфологических (окраска раковины, весовые и размерные характеристики), биохимических (содержание нуклеиновых кислот) и химических (содержание тяжёлых металлов в органах моллюска) характеристик культивируемых моллюсков. Исследования такого направления могут быть полезны для оценки полиморфизма мидий, качества продукции фермы и возможности унификации продукции.

Связь работы с научными направлениями, планами, темами.

Работа выполнена в отделе марикультуры и прикладной океанологии, впоследствии преобразованный в отдел аквакультуры и морской фармакологии ИнБЮМ НАН Украины в рамках плановых исследований по госбюджетным темам: «Разработка научных основ биотехнологий воспроизводства и использования морских ресурсов» (№ держреєстрації 0101U001448, 2001 – 2005), «Изучение функционирования морских биотехнологических комплексов и их взаимодействие с окружающей средой» (держреєстрації 0106U001586, 2006 – 2010), «Экологические взаимодействия в биотехнологических комплексах (№ держреєстрації 0111U001546, 2011). Автор участвовал в перечисленных темах в качестве исполнителя.

Цель и задачи исследования. Цель работы – оценить индивидуальную изменчивость основных морфологических, биохимических и химических характеристик мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam., культивируемой в Чёрном море.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

- проанализировать фенотипическую структуру и соотношение полов поселений культивируемых мидий;
- выявить особенности индивидуальной изменчивости морфометрических показателей раковин мидий и роста моллюсков;

- исследовать содержание тяжёлых металлов (Cu, Pb, Zn, Cd) разной биологической значимости в гонадах мидий;
- исследовать содержание меди в мягких тканях и раковинах мидий в зависимости от их окраски, пола и стадии зрелости гонад;
- определить содержание нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) в генеративной ткани в зависимости от пола и стадии зрелости гонад у мидий с разной окраской раковин;
- определить размеры яйцеклеток у мидии с разной окраской раковин;
- на основе статистического анализа выявить основные морфометрические, биохимические и химические характеристики мидий, которые могут быть использованы в селекционной работе.

Объект исследования – двустворчатый моллюск *Mytilus galloprovincialis*, культивируемый на фермах крымского побережья Чёрного моря.

Предмет исследования – индивидуальная изменчивость некоторых морфологических, химических показателей (Cu в мягких тканях и раковинах моллюсков, а также концентрация Cu, Zn, Pb, Cd в гонадах), биохимических характеристик (содержание нуклеиновых кислот) *M. galloprovincialis*.

Методы исследования – стандартные гидробиологические методы сбора и учёта моллюсков; анатомо-морфологические методы исследования половой структуры поселений мидий и стадии зрелости гонад; метод Спирина, модифицированный Дивавиным [43], для определения нуклеиновых кислот; метод атомно-абсорбционной спектрофотометрии с электротермической атомизацией (ААС ЭТА); спектрофотометрический на Spresol-10 для определения содержания тяжёлых металлов. Для статистического анализа и построения графиков использованы пакеты компьютерных программ Excel, STATISICA, статистические методы (корреляционный, дисперсионный анализы).

Научная новизна полученных результатов. Впервые дана оценка индивидуальной изменчивости соматического роста и морфометрических

характеристик культивируемых мидий. Получены данные по индивидуальному содержанию тяжёлых металлов в гонадах и мягких тканях, а также ДНК и РНК в гонадах разноразмерных мидий с коллекторов в зависимости от окраски их раковины, пола и стадии зрелости гонад. Выявлены наиболее переменные (нестабильные) параметры у мидий при их культивировании (толщина раковины, концентрация некоторых тяжёлых металлов (Cu, Pb, Zn, Cd) в мягких тканях, гонадах, содержание ДНК и РНК в генеративной ткани, а также наиболее стабильные (размеры яйцеклеток мидий и содержание меди в створке), которые необходимо учитывать при выборе акватории для создания морских ферм.

Практическое значение полученных результатов. Данные по индивидуальной изменчивости некоторых морфометрических, биохимических и химических признаков коллекторных мидий можно использовать при оценке популяционной изменчивости (полиморфизма) этого моллюска. Сведения о фенотипической и половой структуре, сроках созревания гонад мидий разного размера необходимы для организации и рационального ведения процесса культивирования моллюсков. Низкая переменность некоторых морфометрических, биохимических и химических характеристик мидий, в изученных районах размещения морских ферм по культивированию моллюсков позволяет рекомендовать определённые акватории при организации марихозяйств. Предложено использовать показатель индивидуальной переменности толщины раковины мидий, как индикатор качества среды. Кроме того, при выращивании мидий следует учитывать фенотип мидий, поскольку моллюски с чёрной окраской раковины обладают более высоким темпом роста, а особи с коричневой окраской отличаются крупными яйцеклетками, что обеспечивает ферму жизнестойким потомством.

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа является самостоятельным научным исследованием. Пробы мидий, отобранные сотрудниками ИнБЮМ вед. инж. М. М. Шевченко и н. с. С. В Щуровым (2003 –

2011 гг.) в районах функционирования морских ферм, автор обрабатывал самостоятельно. Экспериментально исследованы некоторые морфологические, биохимические и химические особенности культивируемых мидий. Анализ содержания металлов в пробах выполнен совместно с Ю. П. Копытовым и Н. И. Бобко (ИнБЮМ). Постановка цели и задачи исследования, а также интерпритация полученных результатов выполнены при участии научного руководителя.

Апробация работы: Материалы диссертации были представлены на IV Гидроэкологическом съезде «Структурно-функциональное биоразнообразие и индикаторы состояния морских и пресноводных экосистем» (Карадаг, 2005), V Научной конференции «Ломоносовские чтения» (Севастополь 2006), Международной конференции памяти д. б. н. проф. Б. А. Флерова «Современные проблемы водной токсикологии» (Борок, Россия, 2005), III Международной конференции молодых учёных «Біологія: від молекули до біосфери» (Харьков, 2008), «Устойчивое развитие Азово-Черноморского региона» (Керчь 2009), Материалы международной научной конференции, посвященной 80-летию института рыбного хозяйства НААН Украины «Водные биоресурсы и аквакультура: современное состояние и перспективы научного обеспечения» (Киев, 2010), IV Всеукраинской научно-практической конференции молодых учёных по проблемам Чёрного и Азовского морей «Понт Эвксинский – 2005» (Севастополь, 2005); научных семинарах отдела марикультуры и прикладной океанологии ИнБЮМ НАН Украины (2004 – 2011 гг.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 19 работ (7 – без соавторов), из них 6 – статьи в специализированных научных изданиях, рекомендованных ВАК, 2 статья – в сборнике научных трудов, 1 – глава в монографии 9 публикаций – в материалах и тезисах докладов национальных и международных конференций, 2 – в электронных изданиях.

В работах, опубликованных в соавторстве, вклад соискателя состоял в постановке задач и обсуждении методических проблем исследований,

анализе обработанного материала и обобщении полученных результатов. В диссертации использованы данные, полученные автором. Права соавторов публикаций не нарушены.

Благодарности. Автор с особой теплотой и признательностью вспоминает научного руководителя В. Н. Иванова, которому принадлежит идея написания этой работы. Особая благодарность к.б.н. Л. Л. Смирновой за неизменный интерес и постоянную помощь в работе. Автор выражает глубокую благодарность зав. отделом аквакультуры и морской фармакологии ИнБЮМ д.б.н. Рябушко В. И. и всем сотрудникам отдела за всестороннюю помощь и критические замечания при написании данной работы. Соискатель считает приятным долгом поблагодарить за ценные советы и рекомендации акад., д.б.н., проф. В.Н. Егорова, д.б.н., проф. А.В. Гаевскую, к.б.н. И.К. Евстегнееву, д.б.н. Л.И. Рябушко, к.б.н. Н.Ю. Мирзоеву. Автор выражает благодарность Ю.П. Копытову и Н. И. Бобко за помощь в определении тяжёлых металлов и методические советы.

РАЗДЕЛ 1
ИЗУЧЕНИЕ ОСНОВНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ,
БИОХИМИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК
МОЛЛЮСКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Изменчивость мидий, обитающих в Чёрном море

Двустворчатые моллюски семейства митилид (*Mytilidae*) распространены практически во всех морях и океанах, а их современная мировая фауна насчитывает 33 рода. В Азово-Черноморском бассейне обитает всего 90 видов двустворчатых моллюсков, среди которых только 6 видов относятся к митилидам, из которых наиболее распространена средиземноморская *Mytilus galloprovincialis* Lam., населяющая различные донные биотопы от уреза воды до глубин 55 – 60 м [54, 147].

По современным представлениям [9, 50, 79], черноморские мидии обладают значительным потенциалом изменчивости, позволяющим им адаптироваться к различным условиям обитания и встречаться практически во всех биотопах этого водоёма. Они переносят высокую соленость, значительные колебания температуры и загрязнённости среды [14, 101]. «Способность организма переносить резкие, скачкообразные изменения во внешней среде, заселять экстремальные биотопы и выживать в более широком диапазоне изменений факторов среды, чем обитает вид, а тем более популяция, называется пластичностью» [79; стр. 78]. Пластичность мидий объясняется хорошей адаптивной способностью на уровне особи и популяции. Пластичность на уровне отдельных моллюсков обуславливается их индивидуальной изменчивостью и выражается в частоте встречаемости таких особей, являющихся основой для изучения индивидуальной variability признаков. Если речь идёт об изменчивости группы организмов в ряду поколений под действием факторов внешней среды, то

возможно говорить об изменчивости на уровне популяции, или полиморфизме. Главное различие между пластичностью и адаптивностью состоит в том, что первая помогает выживать особям в стрессовой экологической ситуации, в которой они не могут сформировать жизнестойкое потомство или формируют его за счёт угнетения других функций, вторая помогает выживать в изменившихся или меняющихся условиях среды с сохранением их морфо-биологических характеристик и воспроизводительной функции особей [79]. Одним из показателей изменчивости признака является коэффициент вариации CV, который не зависит от единиц измерения, поэтому удобен для сравнительной оценки различных выборочных совокупностей [87]. Само понятие изменчивость включает в себя разнообразие признаков и свойств у особей и групп особей любой степени родства. Различают изменчивость – генотипическую (наследственную) и фенотипическую (ненаследственную), индивидуальную (исследуют различия признаков отдельных особей) и групповую (сравнение между собой различных совокупностей особей) [145]. В основе любых межгрупповых различий лежит индивидуальная изменчивость. Даже в пределах близкородственных групп нет абсолютно идентичных и развивающихся в практически одинаковых условиях особей. Всегда можно обнаружить хотя бы незначительные морфофизиологические различия, связанные с неизбежными флуктуациями условий среды и процессов индивидуального развития [145].

Предполагается, что *M. galloprovincialis* составляет в Чёрном море единую панмиктичную популяцию [14]. Это мнение основано на данных о её огромной плодовитости [14], внешнем оплодотворении и продолжительности планктонных стадий развития [56, 73, 106]. До момента оседания личинки мидии разносятся течениями на десятки и сотни миль. Наличие в Чёрном море одного вида – *M. galloprovincialis* обеспечивается способностью этого моллюска свободно скрещиваться, перемешиванием гамет, формированием единого генофонда вида, а далее – единого пула личинок в меропланктоне.

Однако некоторые авторы выделяют в Чёрном море несколько вариантов, подвидов и даже видов мидий, обитающих в биотопах, различных по физико-географическим условиям [36, 37, 40, 154]. Из сказанного очевидно, что морфологические, физиологические и другие признаки черноморской мидии подвержены популяционной и индивидуальной изменчивости.

1.2. Фенотипическая структура мидийных поселений

Одной из актуальных проблем биологии моллюсков является наличие цветового полиморфизма, в частности изменчивости окраски раковины [9, 40, 47, 51, 52, 130, 155, 157, 199, 212]. Установление факта наследственной обусловленности полиморфизма окраски раковины принципиально важно, ибо подводит генетический фундамент под многочисленные популяционные исследования *M. galloprovincialis*, использующих признаки окраски раковины в качестве маркеров физиологических процессов. Принято считать, что данные по частной генетике окраски у *M. galloprovincialis* являются конкретным вкладом в развитие сравнительной генетики окраски её раковины [175, 176]. Различия, маркированные фенами окраски раковины, обнаружены у многих видов моллюсков [130]. Одним из следствий существования таких различий является пространственная неоднородность распределения особей разных цветовых морф, обусловленная характеристиками среды обитания. Выявлены основные факторы, определяющие пространственные изменения окраски раковины:

- Глубина – с увеличением глубины обитания доля мидий с коричневой окраской раковины возрастает [18, 47, 73, 116].
- Соленость – с уменьшением солёности воды возрастает процент мидий с чёрной окраской раковины [154].
- Освещённость – при подращивании мидий на свету у некоторых особей нарастающая часть раковины приобретает чёрный пигмент [74].

Как известно, чёрные мидии доминируют на скалах, коричневые – на илистых грунтах [18]. Различия, обусловленные полиморфизмом окраски, достаточно широко распространены среди других моллюсков и отражают особенности пространственной структуры их популяции. Выбрав фенотипические признаки-маркеры, с помощью которых проводится анализ, и имея данные о связи этих признаков-маркеров с жизненно важными функциями организма, можно выяснить, как отражаются различия у мидий разных фенотипов на структуре и процессах, происходящих в её популяции [130, 140, 141].

Во многих работах показана связь между окраской раковины и физиологическими особенностями организма. Установлено, что мидии – носители тёмно-фиолетового (чёрного) аллеля – образуют в единицу времени большее количество более прочных биссусных нитей, чем тёмно- и светло-коричневые мидии [18, 89, 212]. Предполагается, что коричневая форма более чувствительна к загрязнению, чем чёрная [17, 20]. Есть сведения о большем содержании каротиноидов и меньшем уровне энергетического обмена у чёрной мидии [12, 124]. У мидий с коричневой раковиной выявлен повышенный, по сравнению с чёрными моллюсками, уровень потребления кислорода, их организм лучше адаптирован к воде пониженной солености [154]. Установлено, что в северо-западной части Чёрного моря коричневая форма преобладает в опреснённых, а чёрно – фиолетовая – в осолонённых акваториях [153]. Можно предположить, что статистические различия между моллюсками соответствующих поселений проявляются как по морфо-физиологическим, так и по другим признакам.

Мнения относительно природы цветового полиморфизма довольно противоречивы. Одни авторы говорят о наследственной природе окраски раковины, основываясь на фенетическом и гибридологическом анализе, т. е. на совпадении фактических и теоретических частот встречаемости фенотипов мидий с коричневой и чёрной окраской створок [14, 19, 30, 138,

139, 155, 199]. Другие авторы считают, что цветовой полиморфизм носит адаптивный характер. Эта точка зрения не исключает генетической основы наследования, но в большей мере основывается на физиологических механизмах регуляции синтеза пигментов в различных экологических условиях. Предполагается способность мидий непосредственно реагировать на условия освещённости выработкой разных пигментов в различных соотношениях (освещённость – фактор отбора на ранних стадиях развития моллюска) [101]. Наличие двух точек зрения на полиморфизм окраски мидий может быть обусловлен не только существующей неопределённостью относительно её природы, но и трудностями, с которыми сталкиваются исследователи при генотипировании цветковых морф [36].

По-видимому, это обусловлено тем, что вариабельность одинаковых признаков у мидий в пределах каждого из местообитаний велика. Пока нет ясности, в какой мере статистические различия признаков мидий связаны с дифференциальным выживанием генетически разных внутривидовых групп или же с адаптацией к местообитанию (экологической пластичностью) [79].

1.3. Половая структура поселений, стадии зрелости гонад и размеры яйцеклеток мидий

Изучение половой структуры поселений мидий, репродукционного потенциала и ежегодного пополнения популяции молодью, выявление механизмов её формирования и изменчивости является важным этапом анализа структурно-функциональных характеристик поселений этого моллюска в Чёрном море [154].

Лабильность в формировании пола, свойственная многим морским беспозвоночным, не только влияет на репродуктивный потенциал, но и является отражением тех условий, в которых происходит оседание личинок, образование первичной гонады у молоди, реализация пола у взрослых моллюсков [44, 45, 83]. От половой структуры поселений зависят не только

количественные показатели популяции мидий, но и качественный состав продукции из них.

По аналогии с другими организмами [14, 154, 176, 220] считается, что соотношение самцов и самок в популяции мидий зависит как от генетических механизмов формирования пола, так и от экологических условий среды (солёность, расположение в друзе, интенсивность водообмена и т. д.) [154]. Генетические механизмы этого явления пока ещё неизвестны [179], хотя и есть данные о протандрической реализации пола у обыкновенной мидии *M. edulis*, когда гонада моллюсков изначально бисексуальна [45]. В первый сезон размножения среди молодежи преобладают самцы. Реализация женского пола происходит в результате протандрической смены пола у части подрастающих особей. Кроме выше сказанного, существует противоположная точка зрения [196, 213, 226]. При исследовании двойного монородительного наследования у мидий, в том числе у *M. galloprovincialis*, был выявлен другой важный феномен – соотношение полов в их потомстве определяется генотипом самок и не зависит от генотипа самца. При этом одни самки могут продуцировать только самок, другие - преимущественно самцов, в потомстве третьих возможны промежуточные соотношения полов. Однако информация о смене пола у черноморских мидий отсутствует, а данные о соотношении полов в мидийных сообществах противоречивы [78, 79, 116, 117, 154]. В большинстве случаев авторы описывают равное соотношение полов 1:1 при 1–2 % гермафродитов [4, 6, 7, 8, 66, 81, 103, 116], причём во все сезоны года [70]. Однако в отдельных размерных группах оно может меняться, при этом среди более старших моллюсков преобладают самки, что идет вразрез с данными В. П. Воробьева [29], но подтверждает более поздние исследования [103]. В 2003–2008 гг. появились публикации, в которых описывается сдвиг в соотношении полов в сторону снижения количества самок [75, 114, 117]. Современный анализ половой структуры черноморских мидий выполнен Н. М. Шуровой [154]. Её данные, в

основном, относятся к северо-западной части Чёрного моря, подверженной постоянному опреснению и высокой эвтрофикации. Автор выделяет в поселении мидий первичную и вторичную половую структуру. Первичная половая структура мидий определяет соотношение полов на момент их полового созревания, а её последующие состояния, связанные с факторами среды, рассматриваются как вторичная половая структура. В своей работе Н. М. Шурова говорит о том, что в первичной половой структуре популяции мидий преобладают самки, во вторичной – самцы. В условиях значительного опреснения вод в поселениях мидий формируются большое количество самок. При длительной аноксии в придонных водах выживаемость самцов выше, чем самок, что и приводит к их преобладанию в поселениях мидий в условиях замора. Отмечено также, что в условиях, неблагоприятных для роста моллюсков, в поселении формируется большое количество самок [83, 154, 156]. Авторы цитируемых публикаций утверждают, что потребность в большем количестве самок является адаптацией, направленной на поддержание численности мидий в неблагоприятных условиях, поскольку энергетические траты на оогенез выше, чем на сперматогенез.

Одним из элементов изучения репродуктивной стратегии мидий (набор адаптаций для успешного размножения, наряду с размерами яйцеклеток, плодовитостью, уровнем энергетических затрат на размножение) является изучение стадий зрелости её гонад [116]. На репродуктивный процесс моллюска влияет ряд факторов, однако ведущими являются температура [81, 116] и обеспеченность пищей. Принято считать, что репродуктивные циклы черноморских мидий в различных районах протекают аналогично, но с незначительным сдвигом во времени, связанным с наступлением температуры, благоприятной для нереста [14, 118]. Существует два пика размножения мидий – весенний и осенний. Мидии скального биотопа в различных районах моря начинают нереститься весной при повышении температуры до $8,0^{\circ}\text{C}$, а осенью – при её снижении до $18 - 15,5^{\circ}\text{C}$. [14, 118], хотя и возможны значительные колебания в сроках развития гамет и

размножении. При благоприятных температурных условиях вполне вероятно и зимняя вспышка нереста. Известно, что состав фитопланктона влияет на характер и продолжительность репродуктивного цикла моллюсков и на ход нереста.

В настоящее время технология культивирования мидий основана на сборе её спата (молоди) в природных условиях от естественно нерестящихся производителей. Переход на полноциклическое выращивание предполагает получение молоди в питомниках, что позволит придать процессу размножения регулируемый характер и осуществлять селекционную работу [147].

По современным оценкам, мидии обладают огромной плодовитостью: одна особь *M. galloprovincialis* вымётывает в сезон 2 – 3 млн яиц. Личинки до перехода на внешнее питание живут и развиваются за счёт энергетических запасов яиц [119]. Размеры яйцеклеток мидий являются важной характеристикой их успешного эмбриогенеза и выживаемости [116].

Сведения о средних размерах яйцеклеток мидий ограничены. По разным данным, средние размеры яйцеклеток у *M. galloprovincialis* составляют 64,8 – 79,2 [116], 55 [28, 80] и 62 – 70 мкм [55, 56]. До настоящего времени исследований индивидуальной вариабельности размеров яйцеклеток и её связи с окраской раковины моллюска не проводилось. Неизвестно, связаны ли размеры яйцеклеток с окраской раковины мидий, служащей маркером комплекса генов. Анализ изменчивости окраски раковины позволит оценить гетерогенность популяций мидий, обитающих в Чёрном море.

1.4. Особенности роста мидий на коллекторах

Скорость роста животных является важнейшим интегральным показателем степени благоприятности факторов среды для данного вида в конкретном биотопе [154]. Решение задач по оптимизации биотехнологии выращивания мидий, их эффективное использование в гидробиологической мелиорации и экологическом мониторинге в значительной степени зависят от знаний особенностей роста моллюсков. В данном случае рост рассматривается как увеличение размера и массы животного во времени [26]. Наибольший линейный прирост у мидий из естественных поселений отмечен в младших возрастных группах. С увеличением возраста мидий прирост уменьшается с 14 % у годовиков до 5,2 % у восьмигодовиков [14]. Авторы, изучавшие рост мидий на коллекторах, отмечали важность момента оседания личинок, поскольку скорость роста мидий за первый месяц прикрепленной жизни зависит от того, в каком месяце произошло оседание личинок.

В Чёрном море максимальное количество личинок в планктоне наблюдалось с июля по сентябрь, в холодное время они встречались единично. Прирост длины раковины из месяца в месяц подвержен значительному колебанию – от 0 до 14,5 мм. Наибольших размеров к концу первого года жизни достигают мидии, осевшие в период с мая по июль. С увеличением возраста мидий, а, следовательно, и их размеров прирост раковины в длину уменьшается [65, 134].

Результаты исследований показывают, что скорость роста *M. galloprovincialis* определяется экологическими факторами среды, генетическими механизмами регуляции и фенотипическими особенностями организма моллюска [154]. Имеются многочисленные исследования влияния экологических факторов среды на рост мидий [15, 67, 68]. К наиболее важным факторам относится температура морской воды [14]. Выделить чистое влияние температуры на рост мидий нелегко, так как температура воды тесно связана с сезонными явлениями и от неё зависит

физиологическая активность моллюсков (созревание гонад, при котором рост практически полностью прекращается) [14]. Благоприятной для роста мидии является температура + 12 +20 °С [1, 14, 59, 61].

Концентрация кислорода также влияет на рост мидий. Согласно данным некоторых исследователей [78], темпы роста мидий при понижении насыщения воды кислородом менее 80 % снижаются, а при понижении до 40 % рост замедляется в 2,5 раза.

Влияние пищи на рост определяется не только её количеством, но качественным составом. При питании смешанной пищей скорость роста выше, чем при питании монокультурой или детритом [225]. Существенную роль оказывает также наличие и концентрация кормового фитопланктона [60]. Фильтрационная активность черноморских мидий, а следовательно, и её питание зависят, помимо температуры и концентрации пищи, ещё и от солёности [154]. У мидий отсутствуют механизмы регуляции осмотического давления и концентрации ионов в гемолимфе [137], для них характерна способность переносить сравнительно широкие колебания солёности (эвригалинность). Оптимальный диапазон солёности для чёрноморской мидии: 12 –25 ‰ [135, 136, 147], при 8 или 40 ‰ происходит резкое замедление роста [190].

Наряду с основными факторами среды, влияющими на рост мидий, существуют другие, менее значимые. Рост коллекторных мидий зависит от плотности моллюсков в друзе, места расположения [135, 136], скорости течения воды, освещённости [190]. Для моллюсков северо-западного шельфа Чёрного моря существенную роль играет эвтрофирование вод, которое при достаточном количестве кислорода увеличивает темпы роста мидий [154]. Известно [154, 185], что внутривидовая конкуренция за ресурсы является важным источником межвидовых вариаций в росте, продукции организмов. В ряде работ о росте черноморских мидий разных фенотипов [18, 73, 67, 127, 125, 154] указывается на большие темпы роста мидий с чёрно-фиолетовой

окраской раковины. Однако следует учитывать, что темпы роста мидий на коллекторах в значительной мере отличаются от таковых моллюсков естественных поселений [14].

Совокупное действие факторов среды проявляется не только с ростом раковины мидии в длину, но и её увеличением в двух других основных измерениях – в ширину и высоту. Изменения соотношений между ними могут служить показателем влияния конкретных условий обитания на морфологические особенности животного. Существующее разнообразие форм мидий лишь доказывает роль индивидуальной изменчивости в формировании раковины черноморских мидий под влиянием факторов среды [24, 25, 26].

Морфологическая изменчивость раковин *M. galloprovincialis*, зависимость их формы от условий внешней среды неоднократно отмечалась рядом авторов [50, 51, 53, 92, 99, 108], а проведённые исследования показали превалирующую роль экологических условий в изменчивости формы раковины [52, 53].

Морфометрические параметры мидий имеют адаптивное значение, поэтому являются удобными маркерными признаками, учитывая которые можно судить о состоянии окружающей водной среды в условиях техногенного пресса. Показательными в этом отношении признаками являются аномалии роста и вариации формы раковин моллюсков. Известны данные об угнетении линейного роста мидий, увеличении частоты деформаций их раковин при повышенном содержании тяжёлых металлов и нефтепродуктов в среде обитания [42].

По мнению некоторых авторов [42], раковины мидий перспективно использовать для оценки состояния окружающей среды. Поскольку процессы морфогенеза раковины и накопления в них микроэлементов связаны с одним и тем же промежутком времени, равным возрасту моллюсков, то и полученная картина может интегрально отражать состояние среды за 2 – 3 года. Такие данные представляются весьма полезными для слежения за

пространственно-временными изменениями среды. Изучение накопления химических элементов в створках мидии показывает, что депонирование тяжёлых металлов в их структурах происходит, по-видимому, пропорционально их содержанию в водной среде [110], а изменение формы раковин в значительной мере обусловлено действием загрязняющих веществ [16, 42]. При изучении изменчивости раковин мидий выделены механизмы адаптации к техногенному прессингу: увеличение выпуклости (D/L), изменение относительной высоты (H/L) и толщины раковин [39].

1.5. ДНК и РНК в органах и тканях мидий

При описании процессов роста отдельных организмов и популяций в целом используют такие биохимические показатели, как содержание суммарной рибонуклеиновой (сум. РНК) и дезоксирибонуклеиновой (ДНК) кислот [2, 165, 187, 198, 217, 225]. Известно, что большинство видов РНК участвует в процессах синтеза белка, а ДНК детерминируется количеством клеток в исследуемых тканях [184, 186, 187]. Многие авторы утверждают, что содержание РНК в конкретный момент (период) жизни отражает скорость синтеза белка: чем выше содержание РНК, тем выше скорость синтеза [166, 183, 184, 186]. Однако другие исследователи [166, 193] пришли к выводу, что концентрация РНК не всегда может быть использована для определения скорости роста, так как наблюдается значительный разброс числовых значений этого показателя среди особей как одного, так и разных видов. Наиболее удачным представляется использование соотношения РНК/ДНК в качестве оценки белкового синтеза [166, 226]. Индекс РНК/ДНК отражает ростовые показатели во временном интервале от нескольких суток до момента определения. Его часто называют ещё показателем «мгновенной» скорости генеративного роста. Высокие значения индекса указывают на интенсивное протекание белкового синтеза в тканях, а низкие – на репродуктивные периоды, свидетельствуя о замедлении и приостановке

роста [167]. Благодаря этому индексу, облегчается нахождение корреляции между скоростью роста животных и условиями обитания. Наиболее чётко это проявляется у быстрорастущих или неполовозрелых организмов [169].

Результаты проведённых исследований [172] свидетельствуют о том, что гонады черноморских мидий в зависимости от готовности к репродукции, характеризуются разной интенсивностью белкового синтеза, достигая максимальных значений на нерестовой стадии зрелости. При изучении структурно-функционального разнообразия популяции гидробионтов важную роль играет изучение половых особенностей белкового синтеза в генеративной ткани, а также особенностей, связанных с принадлежностью к определённым фенотипическим группам [139, 169, 172, 192, 222]. Достоверные различия между суммарным содержанием РНК в гонадах самок и самцов на разных стадиях зрелости гонад мидий не обнаружены [171, 172].

Установлено, что особи с чёрной окраской раковины имеют большие показатели уровня белкового синтеза, чем особи с коричневой окраской [169]. Другие исследования этого же автора [172] свидетельствуют об отсутствии достоверных фенотипических отличий между мидиями различных цветовых морф; исключение составили мидии с коричневой окраской раковины на 5-й стадии зрелости гонад.

Индивидуальные особенности биохимических признаков у черноморских мидий и, в частности, содержание нуклеиновых кислот (НК) в гонадах могут использоваться в селекционной работе с культивируемыми моллюсками. Отмечено [172], что в гонадах как самок, так и самцов вариабельность значений содержания РНК была незначительной на ранних стадиях зрелости ($CV = 10 - 14 \%$). Далее авторы [172] объединяли 3 и 4-ю стадии зрелости гонад и получали более высокие значения CV . По мере роста моллюсков и созревания коэффициент вариации заметно увеличивался, достигая максимума 42% на 5-й стадии.

Существующие данные [168, 169, 170, 172] о содержании НК в гонадах черноморских мидий в зависимости от фенотипа имеют противоречивый характер, а данные о содержании НК по стадиям зрелости гонад в этих цитируемых работах не отражают точной и полной картины по показателям РНК, ДНК, РНК/ДНК, CV (%), так как в них имело место объединение 3 и 4-й стадий зрелости гонад. Для успешности селекционной работы необходимо пополнить базу данных исследованиями о вариабельности этих биохимических показателей в зависимости от фена, пола и стадии зрелости гонад моллюска.

1.6. Содержание тяжёлых металлов в моллюсках

Известно, что тяжёлые металлы – важный природный и антропогенный фактор морских экосистем. Поэтому процессам их накопления-выведения и действию на гидробионты посвящено значительное количество исследований [46, 57, 100, 144, 201, 223].

Возможны два пути поступления различных микроэлементов, в том числе тяжелых металлов, в ткани моллюсков – из воды и в составе пищи [69]. Механизмы этих путей сложны и до настоящего времени изучены недостаточно, что затрудняет реальную оценку значения растворённых и взвешенных форм соединений металлов.

Концентрирование тяжёлых металлов моллюсками может происходить за счёт сорбции на поверхности раковины, а в различных тканях – на поверхности клеточных мембран. В клетке происходит связывание металла с клеточными структурами и его последующее вовлечение в биохимические процессы [5, 32].

Принято считать, что тяжёлые металлы необходимы гидробионтам для нормальной физиологической деятельности как микроэлементы. Например, цинк, как катализатор, принимает участие в ферментативных процессах, входит в состав ферментов, регулирующих клеточный метаболизм [3]. Медь,

связываясь с азотом, кислородом, серой, входит в состав протеинов, обладает способностью стабилизировать серосодержащие радикалы [126]. Кадмий необходим для нормального углеводного обмена, влияет на синтез некоторых ферментов и гормонов [104, 203]. Однако многие из них, обладая биологической активностью, не подвергаются трансформации и попадая в организм гидробионтов в избыточном количестве накапливаются в нём [102]. В настоящее время ртуть, свинец, кадмий, медь и цинк рассматриваются как самые опасные в токсикологическом отношении элементы для гидробионтов [88]. Их токсическое действие заключается в блокировании многих биохимических реакций в результате связывания функциональных – SH-групп белков и вытеснения некоторых микроэлементов из активных центров ферментов [31, 32]. Такие взаимодействия могут быть причиной нарушения клеточного метаболизма, структуры и проницаемости клеточных мембран, усиления перекисного окисления липидов, ингибирования окислительного фосфорилирования [32].

Из десяти элементов (Pb, Cu, Hg, Cd, As, Te, Zn, Sn, Mn, Ni), токсическое действие которых проверялось на выживаемости эмбрионов мидий и устриц, медь занимает второе место по токсичности после ртути [142]. Поэтому основное внимание в нашей работе уделено изучению содержания меди в культивируемых мидиях.

По литературным данным, при концентрациях меди в морской среде $5,3 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ и выше наблюдается аномальное развитие эмбрионов [142]. Катионы меди способны ингибировать клеточный метаболизм и изменять скорость деления клеток [112]. В мидиях, как объектах марикультуры, содержание меди регламентируется санитарно-гигиеническими нормами. Её допустимый уровень по ГОСТ 269.31 (“Мидии черноморские живые”) – $30 \text{ мкг} \cdot \text{г}^{-1}$ сырой ткани. Поэтому информация об этом элементе, уровне накопления в различных тканях молоди и взрослых особей важна и сохраняет свою актуальность.

Считается, что основными источниками поступления соединений меди в Чёрное море являются сток рек, сточные воды, аварийные разливы нефтепродуктов, коррозия металлоконструкций и лакокрасочных покрытий в портовых акваториях [102, 107, 181], атмосферные осадки [98]. Окислительно-восстановительные условия морской среды определяют валентность меди (Cu^0 , Cu^{+1} , Cu^{+2}) и способы её миграции. Медь не накапливается в морской воде (кларк $3,0 \cdot 10^{-7}$ %), талассофильность низкая ($4,0 \cdot 10^{-4}$ %) [113]. Она легко адсорбируется отрицательно заряженными коллоидными частицами, глинами, гумусом, гидроксидами металлов, кремнезёмом (SiO_2), включается в биологические пищевые цепи или постепенно оседает в процессе седиментации на морское дно. В морской среде в результате жизнедеятельности организмов происходит эколого-физиологическая трансформация соединений меди. Благодаря высокой химической активности она быстро концентрируется в фитопланктоне, связываясь с полисахаридами и мембрано-связанными белками. Существенная роль планктона, как концентратора меди, подтверждается тем, что её содержание в планктоне может достигать от 10 до 50 % от общего загрязнения соединениями меди морской воды. После отмирания фитопланктона медь поступает в воду, в основном, в виде комплексных органических соединений [85, 102].

Многочисленные исследования показали, что токсическое действие меди на структуры, ответственные за физиологическое состояние, биохимический состав, транскрипцию и трансляцию генетической информации, зависит от формы её нахождения в морской воде – ионной или связанной органическими и неорганическими веществами-комплексообразователями (лигандами) в комплексные соединения [201, 202]. Наиболее распространёнными лигандами природного происхождения являются растворённые органические вещества, содержащие серные, азотные, кислородные лигандные атомы и неорганические – хлорид-ионы, аммиак и ионы аммония [133]. Считается, что медь, связанная в комплексы с

органическими соединениями, имеющими в составе липофильные группы, более токсична [90, 218]. Она легче проникает через биологические мембраны внутрь клетки и накапливается в тканях с высоким уровнем обменных процессов и повышенным содержанием липидов. Исследования последних лет показали, что содержание меди в поверхностных водах различных районов крымского побережья варьирует от 0,2 до 140,0 мкг*л⁻¹ [188]. В акваториях северо-западной части Чёрного моря (летний период) фоновые концентрации растворимых форм меди составляют 1,25 – 1,45 мкг*л⁻¹, а взвешенной фракции – 0,33 – 0,71 мкг*л⁻¹ [146]. Соединения меди обнаруживаются в печени, соединительной ткани, гемолимфе, жабрах, мантийной жидкости, гонадах, биссусе мидий [31, 210]. Они влияют на морфометрические показатели моллюсков [38, 39, 123]. При повышении содержания меди в печени и гемолимфе мидий наблюдается нарушение липидного обмена, что выражается в накоплении недоокисленных продуктов обмена и нарушении выведения липидов из печени [144]. Известно, что ионы меди влияют на структуру и функции нуклеиновых кислот, что, в свою очередь, отражается на интенсивности белкового синтеза [178]. Медь при повышенных концентрациях в морской среде провоцирует экскрецию азотсодержащих продуктов обмена – аминокислот и аммония [151].

Одновременно с Cu, в состав техногенного загрязнения морской среды входят Cd, Zn, Pb, которые также накапливаются морскими гидробионтами и способны усиливать или ослаблять токсичное действие друг друга [208]. Коэффициенты накопления Cu моллюсками составляют $(0,1 - 1,0) \cdot 10^{-4}$, Zn – $(0,7 - 7,0) \cdot 10^{-4}$, Cd – $(0,2 - 0,7) \cdot 10^{-4}$ и Pb – $(0,1 - 1,3) \cdot 10^{-4}$ [22]. Медь и цинк проникают через клеточные мембраны путем активного транспорта. Цинк благодаря высокой реакционной способности в большом количестве накапливается в тканях гидробионтов, однако медь образует более устойчивые органические соединения и способна вытеснять и замещать цинк [3, 107, 195]. Кадмий поступает в клетку путем диффузии через кальциевые каналы. В присутствии цинка и кадмия происходит усиление токсического

действия меди [94]. Известно о мутагенном и токсическом действии цинка и свинца (при концентрации в морской среде 200,0 и 0,1 мкг*л⁻¹ соответственно) на ранние стадии развития личинок, митотическую активность клеток и скорость роста мидии [57]. Совместное влияние цинка и меди при концентрации 0,1 – 3,3 мг/л приводит к разрушению структуры митохондрий, подавляет подвижность сперматозоидов [194], при возрастании концентрации кадмия до 0,4 мкг*л⁻¹ увеличивается частота гаметообразований [204]. Отмечено влияние сезонного фактора на накопление двустворчатыми моллюсками тяжёлых металлов, в том числе меди [57, 72, 76, 86, 122, 163, 164], при этом Zn, Cu, Pb, Cd накапливаются в мягких тканях мидий в большем количестве, чем в створке [77, 126, 188].

Аномальное увеличение выпуклости и толщины створок мидий может быть связано с замедлением их линейного роста и увеличением скорости осаждения карбоната кальция при длительном удержании створок в закрытом состоянии под влиянием ингредиентов техногенного загрязнения морской среды – Cu, Pb, Cd, Zn [38]. Основные процессы детоксикации металлов в тканях у моллюсков и их выведение происходят через пищеварительную железу и почки [77].

Экспериментальные работы с дальневосточными митидами *Modiolus kurilensis* и *Crenomytilus grayanus* показали, что способность моллюсков накапливать тяжёлые металлы и микроэлементы зависит от их физиологического состояния и репродуктивного цикла [77]. Аккумуляция тяжёлых металлов в генеративной ткани может оказывать мутагенное действие и вызывать аномалии в развитии мидии. В месте с тем одни авторы считают, что именно в гонадах сосредоточена большая часть всей аккумуляированной меди, которая оказывает патологическое влияние на их функционирование [215, 217], другие отмечают минимальное содержание этого металла в генеративной ткани [143, 144, 221]. Е. М. Карасёва показала [77], что в гонадах моллюсков из естественных поселений в период формирования половых продуктов уровни содержания как меди, так и цинка

увеличиваются, а содержание металлов зависело от пола моллюска и было значительно выше в яичниках мидий, чем в семенниках. Однако при высоком уровне загрязнения морской среды медью её концентрация была выше в семенниках. При определении меди и кадмия в яйцеклетках дальневосточных устриц показано, что их содержание отличалось постоянством и не зависело от пола [77].

Таким образом, работ по изучению концентрирования тяжелых металлов в мягкой ткани представителей рода *Mytilus* как в зарубежной, так и в отечественной литературе достаточно много, но основное внимание в них уделяется оценке влияния различных концентраций металлов в среде на жизнедеятельность, в том числе гаметогенез моллюсков.

Для мидии *M. galloprovincialis*, выращиваемой на фермах, такие данные фрагментарны. Кроме этого, при определении содержания микроэлементов в моллюсках обычно исследуют обобщённые пробы мягких тканей из нескольких особей, при этом индивидуальная способность отдельных организмов концентрировать микроэлементы не учитывалась.

Таким образом, к настоящему времени накоплен большой и разнообразный материал о фенетической и половой структуре поселений мидий в Чёрном море, особенностях роста этих моллюсков, физиологических процессах и содержанию тяжёлых металлов. Однако во многих работах приводятся усреднённые результаты полученных данных без оценки индивидуальной изменчивости, необходимой для сравнительного анализа различных характеристик мидий, важных при исследований общих закономерностей функционирования популяций моллюсков, а также для их культивирования. Кроме того, как правило, изучается популяционная изменчивость моллюсков в естественных поселениях, сведения же об индивидуальной изменчивости культивируемых моллюсков фактически

отсутствуют. Данные о вариабельности содержания тяжёлых металлов и НК в мидиях (особенно культивируемых) в зависимости от их пола, фена и стадии зрелости гонад представлены в литературе фрагментарно или вообще отсутствуют.

Следовательно, для дальнейшего изучения биологии черноморской мидии, а также для проведения успешной селекционной работы с этим моллюском необходимо исследовать индивидуальную вариабельность его морфологических, химических и биохимических характеристик, что и явилось основной целью наших исследований.

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальную часть работы проводили посезонно в течение 2003 – 2011 гг. Материал собирали с верёвочных коллекторов (на глубине 3–4 м) экспериментальных мидийных ферм, расположенных на внешнем рейде, в бухтах Мартынова и Ласпи (г. Севастополь) и созданных с участием ИнБЮМ. Исследовали моллюсков с длиной раковины $30,20 \pm 0,02$ и $50,30 \pm 0,04$ мм. Выбор указанных размеров моллюсков для исследования продиктован следующим. При длине раковины 30 мм мидии уже половозрелые, что позволяет получить объём материала от отдельных экземпляров, достаточный для биохимических и химических анализов. Вторая размерная группа (50 мм) – это моллюски, достигшие товарного размера, при котором на фермах уже можно собирать «урожай», т. е. исследования этих мидий представляют практический интерес. Данный выбор позволил исключить вариабельность по длине раковины, ограничившись строго заданными размерами моллюсков.

2.1. Характеристика районов исследования и объём материала

Ферма внешнего рейда (№ 8) мощностью 50 т в год занимает площадь 1 га и расположена на внешнем рейде Севастопольской бухты в 700 м между бухтами Карантинная и Севастопольская (рис. 2.1). Для этого района характерны скрытые, не выходящие на поверхность сгонные процессы (апвеллинги), которые наблюдаются при устойчивых ветрах восточной и северо-восточной составляющей [143, 174]. Ферма хорошо «вентилируется» даже при незначительных ветро-волновых перемешиваниях. Расчёты индекса эвтрофикации вод E-TRIX показали широкий диапазон варьирования значений: от 1,63 до 4,33, поэтому воды в районе фермы классифицированы как мезотрофные [174].

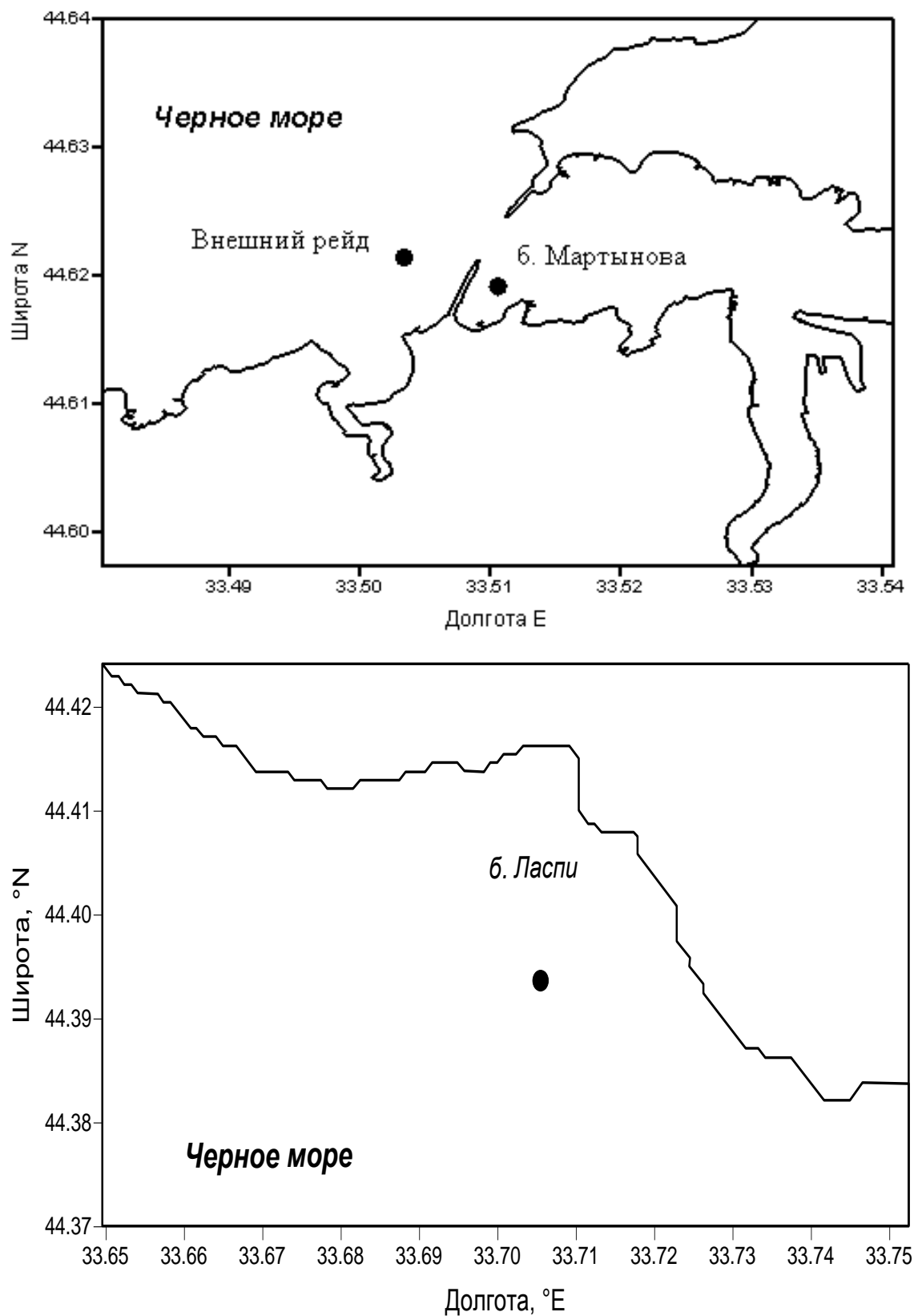


Рис. 2.1 Районы расположения мидийных ферм

Ферма в Мартыновой бухте (№18) расположена в полузамкнутой экологически напряжённой Севастопольской бухте (рис 2.1). Учитывая

небольшие глубины на акватории расположения фермы, по всей толще происходит перемещение вод практически в течении всего цикла выращивания моллюсков и обеспечивает, с одной стороны, равномерное поступление тепла, кислорода и питательных веществ по всей глубине размещения мидийных коллекторов, с другой – вынос продуктов жизнедеятельности за пределы фермы [84].

Ферма в бухте Ласпи расположена в шельфовой зоне южного побережья Крыма между мысами Айя и Сарыч. Большую часть года в прибрежной зоне этой полузамкнутой бухты формируются устойчивые вдольбереговые течения. Большое влияние на процесс мелиорации водной среды и экологическое состояние акватории оказывает водообмен с открытым морем. Воды бухты хорошо аэрированы по всей толще, а незначительные суточные колебания кислорода отражают хорошую сбалансированность продукционно–деструкционных процессов. Всё это свидетельствует о благоприятных для функционирования мидийного хозяйства условиях в районе бухты Ласпи [13].

За период исследования с 2003 по 2011 гг. общий объем собранного и проанализированного материала составил: 7670 экз. моллюсков и 43600 измерений (табл. 2.1).

Объём исследованного материала

Исследуемые характеристики мидий	Количество экз. мидий	Количество измерений
Морфометрические показатели (линейные, фен, масса)	3000	21000
Половая структура мидий и стадии зрелости гонад	3000	6000
Диаметр яйцеклеток	140	6350
Биохимические (содержание ДНК и РНК в гонадах)	460	2760
Содержание тяжёлых металлов (раковина, мягкие ткани, гонады)	1070	7490
Всего	7670	43600

2. 2. Методы исследований

2.2.1. Биологический анализ мидий. Мидий (6000 экз.), поднятых на поверхность, промывали морской водой, счищали обрастателей и при помощи пластмассового ножа срезали биссус. Длину, высоту и ширину раковины измеряли при помощи штангенциркуля с точностью до 0,1 мм.

В изучаемых выборках моллюсков с длиной раковины 30 и 50 мм определяли окраску раковины по методике, предложенной Л. В. Драголи [47]. Мидий взвешивали целиком, вскрывали, удаляли межстворчатую жидкость, мягкую ткань отделяли от раковины, предварительно определив в гонадах пол и стадию зрелости. Далее мягкую ткань обсушивали фильтровальной бумагой и взвешивали. Для определения пола и стадии

зрелости гонад использовали методику визуального изучения мазков гонад под биноклем МБИ-6, предложеную А.В. Пирковой и Н.Г. Столбовой [14, 116]. Стадию зрелости гонад и пол определяли по 6-бальной шкале: 1 – стадия относительного покоя, 2 – начало гаметогенеза, 3 – активный гаметогенез, 4 – преднерестовая стадия, 5 – нерест, 6 – посленерестовая перестройка. Сырую массу раковин, мягких тканей и гонад определяли индивидуально для каждого моллюска на торсионных весах WT-2 (4000) с точностью до 2 мг. Сухую массу раковин, мягких тканей, гонад и половых продуктов определяли после высушивания при температуре 105⁰ С до постоянного веса на аналитических весах ВЛР-200 с точностью до 0,5 мг [90]. Полученный материал для дальнейших исследований хранили в эксикаторе над СаСО₃, используемым в качестве сорбента.

Яйцеклетки получали методом температурной стимуляции нереста половозрелых мидий при температуре 17 – 18⁰С [191, 214], для чего по одному моллюску отсаживали в отдельные ёмкости объёмом 250 мл. Размеры яйцеклеток определяли с помощью микроскопа МИКМЕД–5 при увеличении х 200. Индивидуальную изменчивость диаметра яйцеклеток мидий с коричневой и чёрной окраской раковины изучали на материале, отобранном в б. Ласпи. Мидии были взяты осенью (сентябрь-октябрь) 2009 г и в течение 6 мес. подвешены в сетке (глубина 3 м) на ферме в б. Мартынова. Температура морской воды в осенне-зимний сезон в среднем составила 13,5, в весенний – 17,2⁰ С.

2.2.2. Определение морфометрических параметров. Для определения индивидуального роста моллюска использовали методику маркировки [62, 63]. Маркировку наносили тонкой иглой на каждую раковину мидии. Мидий помещали по пять экз. в отдельные фрагменты сетки, которые вешивали в б. Мартынова (глубина 3 м), и через каждый месяц рассчитывали прирост.

Для описания и идентификации раковин мидий проводили измерения следующих параметров согласно терминологии В. А. Дехты [38]: L – длина, мм; H – высота, мм; D – ширина, мм, (рис. 2.2).

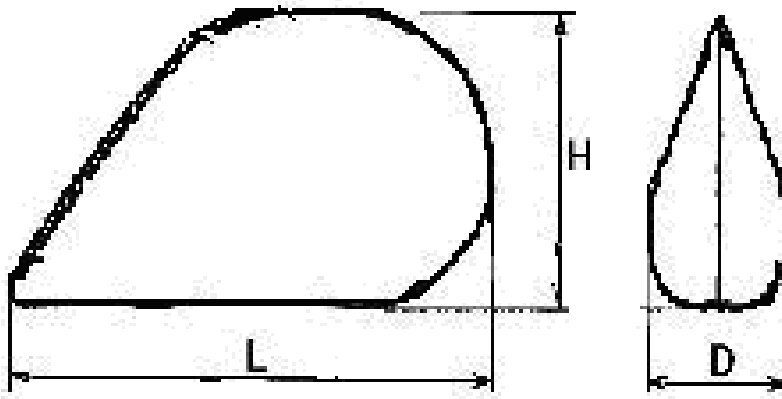


Рис. 2.2 Морфометрические параметры моллюска

Форму раковины определяли на основе морфометрических параметров по индексам отношений: высота створки к её длине H/L (вытянутость, или относительная высота), ширина к длине D/L (выпуклость или сагитальная кривизна) [39, 43, 123]. Толщину раковины мидии на единицу её поверхности рассчитывали по формуле [177]:

$$\text{Толщина раковины (г*см}^{-2}\text{)} = \frac{\text{Масса раковины (г)}}{\text{Площадь поверхности раковины (см}^2\text{)}} (\bar{a})$$

2.2.3 Определение содержания нуклеиновых кислот. Количественное определение нуклеиновых кислот (НК) проводили спектрофотометрически на СФ-26 на двух длинах волн – 270 и 290 нм с ходом луча 1 см. Количество ДНК и РНК выражали в процентах сухой массы тканей. Для устранения влияния неспецифических поглощающих примесей применяли метод разностей экстинций. Использовали методику Спирина, модифицированную И. А. Дивавиным [43, 96].

2.2.4 Определение концентрации тяжёлых металлов.

Количественное определение меди, цинка, свинца и кадмия в раковинах, мягких тканях, гонадах и половых клетках мидий определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии [121, 122]. Дополнительно спектрофотометрическим методом на Spacol-10 определяли содержание меди в мягких тканях и раковинах мидий.

Для изучения методом атомно-абсорбционной спектроскопии мягкие ткани, гонады мидий отделяли от раковин пластмассовым ножом и пинцетом. Кислотную минерализацию тканей проводили в концентрированной HNO_3 марки «ОСЧ». Кислотные экстракты выпаривали на песчаной бане до обесцвечивания окрашенного раствора. Полученный минерализат выпаривали досуха, остаток растворяли в бидистиллированной воде (4–5 мл) и использовали для анализа. Параллельно проводили минерализацию используемых реактивов для контроля их чистоты.

Для спектрофотометрического анализа навески мягких тканей и створок озоляли в муфельном шкафу при 250°C (2 ч) и при 550°C (4 ч). Зола переносили в стеклянные бюксы и растворяли в смеси концентрированных соляной и азотной кислот (2:1) при 100°C . Смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли 3 мл дистиллированной воды. Медь экстрагировали раствором диэтилдитиокарбоматом свинца в четырёххлористом углероде. Количественное содержание меди определяли по калибровочной кривой.

2.3. Статистический анализ полученных результатов

Математическая обработка данных выполнена с использованием пакетов компьютерных программ Excel 2003 и Statistica 6.0. Для оценки индивидуальной изменчивости некоторых морфологических, биохимических и химических характеристик мидий необходимо определить средние значения исследуемых характеристик, проанализировать их вариабельность и определить факторы, влияющие на изучаемые характеристики. Таким

образом были определены среднее арифметическое (\bar{x}), стандартное отклонение (S), стандартная ошибка среднего ($S_{\bar{x}}$), доверительный интервал ($\mu = \bar{x} \pm \Delta x$), размах вариации W ($x_{\max} - x_{\min}$). Рассчитаны коэффициенты корреляции (r), детерминации (R^2), вариации полученных данных ($CV \% \pm \Delta CV$). Достоверность различий (при $P < 0,05$) определяли по критерию Фишера (F), критерию Стьюдента (t), и приближенному критерию Стьюдента (t_1). Результаты представлены как $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$.

Постановку факторных экспериментов и обработку их результатов выполняли по схемам дисперсионного анализа [152]. Для изучения индивидуальной изменчивости размеров яйцеклеток использовали метод однофакторного дисперсионного анализа (ДА), в котором искомая модель имеет вид:

$$y_{im} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{im}$$

y_{im} – зависимая переменная (размеры яйцеклеток);

μ – генеральное среднее ;

α_i – эффект i -го уровня фактора A (мидии);

ε_{im} – остаточный член, с помощью которого оценивается ошибка эксперимента.

Общая (суммарная) дисперсия складывается из дисперсии, обусловленной уровнем фактора A и ошибкой эксперимента:

$$S^2_{\text{общее}} = S^2_a + S^2_{\text{ошибки}}.$$

Экспериментальный план на основе дисперсионного анализа (ДА) имеет вид, представленный в табл. 2.2.

Таблица 2.2

План эксперимента на основе ДА

Уровни фактора А (мидии)					
Повторы	1	2	i	k
1	y ₁₁	y ₂₁	y _{i1}	y _{k1}
2	y ₁₂	y ₂₂	y _{i2}	y _{k2}
·					
·					
m	y _{1m}	y _{2m}	y _{im}	y _{km}
·					
·					
n	y _{1n}	y _{2n}	y _{in}		y _{kn}
ΣA _i	A ₁	A ₂	A _i	A _k
A _i среднее	y' ₁	y' ₂	y' _i	y' _k

Столбцы – варианты опытов, строки – повторности.

Предварительная обработка данных.

По каждому столбцу вычисляем средние: y'₁, y'₂, y'₃, ... y'_k

Формулируется гипотеза H₀: Между столбцами нет различия, т.е. математические ожидания средних значений всех результатов равны между собой:

$$m\mu_1 = m\mu_2 = m\mu_3 = \dots = m\mu_k$$

1. Итоги: A_i сред = (Σ y_{im})/n (A_i сред это y'_i)
2. Общий итог: G = Σ Σ y_{im} (сумма результатов всех наблюдений) G = Σ A_i
3. Средний итог G_{средн} = (Σ Σ y_{im})/kn.

Вычислительная процедура для дисперсионного анализа отражена в табл. 2.3:

1. Подсчёт общей суммы квадратов:

$$SS_{\text{общ}} = \sum \sum y_{im}^2 - G^2/N \quad G^2/N - \text{корректирующий или поправочный}$$

член. $N=k*n$

2. Сумма квадратов итогов по столбцам:

$$SS_a = \sum ((A_i^2)/n) - G^2/N$$

3. Ошибка опыта:

$$SS_{\text{ошиб}} = SS_{\text{общ}} - SS_a$$

Таблица 2.3

Сводная таблица дисперсионного анализа

Источник дисперсии	Число степеней свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	Критерий Фишера
Фактор А α_i	$k - 1$	SS_a	$MS_a = SS_a / (k - 1)$	$F_{\text{эксп}} = MS_a / MS_{\text{ошиб}}$
Ошибка ϵ_{im}	$N - k = k(n - 1)$	$SS_{\text{ошиб}}$	$MS_{\text{ошиб}} = SS_{\text{ошиб}} / k(n - 1)$	$F_{\text{эксп}} > F_{\text{табл}}$
Итог	$kn - 1$	$SS_{\text{общ}}$		

Влияние окраски раковины и сезона года на изменчивость размеров яйцеклеток изучали методом двухфакторного ДА. В данном случае искомая зависимость размеров яйцеклеток (y_{ij}) описывается следующим уравнением:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i\beta_j + \epsilon_{ij},$$

где: μ – среднее арифметическое всех наблюдений;

α_i – эффект фактора А (фенотип мидии: чёрный, коричневый);

β_j – эффект фактора В (сезон: весна, осень);

$\alpha_i\beta_j$ – эффект межфакторного взаимодействия;

ϵ_{ij} – остаточная ошибка, величина которой не зависит от факторов

А и В.

Таким образом, методики, используемые в настоящей работе, являются современными, необходимыми и достаточными для проводимых нами исследований. Статистическая обработка анализируемого материала выполнена соответственно существующим в настоящее время требованиям математической обработки данных [145].

РАЗДЕЛ 3
ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ И ПОЛОВАЯ СТРУКТУРА ПОСЕЛЕНИЙ И
СТАДИИ ЗРЕЛОСТИ ГОНАД КОЛЛЕКТОРНОЙ
***MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* Lmk, 1819**

Анализ фенотипической структуры поселений мидий *M. galloprovincialis* Чёрного моря – важный аспект мониторинга состояния популяции моллюска в изменяющихся условиях среды [154]. Существует множество классификаций окраски раковин у *M. galloprovincialis* [141]. В своей работе мы выбрали классификацию Драголи, который среди разнообразных форм окраски раковины выделял мидий с чёрной (фиолетовой) и коричневой окраской [47].

Основными факторами, определяющими пространственные изменения окраски раковины мидий, были названы глубина, солёность, освещённость (см. Раздел 1.2). Мы исследовали процентное соотношение мидий с разной окраской раковины у разноразмерных коллекторных мидий, взятых из разных мест обитания (табл. 3.1, 3.2, 3.3). Количество мидий, взятых на анализ фенотипической и половой структуры, было одинаковым на всех фермах, во все сезоны года в обеих размерных группах (n = 330 экз. мидий).

При определении частоты встречаемости цветовых морф мидий из различных мест обитания в обеих размерных группах отмечен большой процент моллюсков с чёрной окраской раковины. Эта закономерность сохранялась для всех исследованных размерных групп мидий из различных ферм, независимо от сезона и года (табл. 3.1, 3.2, 3.3). У некоторых мидий с длиной раковины 30 мм фиолетовый пигмент в раковине присутствовал в виде точки, одной горизонтальной полоски либо в виде радиальных полос. Такие мидии составляли 10 и 15 % от общего количества мидий с чёрной окраской в б. Мартынова и в районе внешнего рейда, соответственно. В б. Ласпи на долю подобных мидий пришлось 30 – 40 %. Многие авторы [138,

141] таких мидий относят в особую фенотипическую группу – полосатые (рис. 3.1).



Рис. 3.1 Индивидуальная изменчивость окраски раковины *M.galloprovincialis*



Рис. 3.1, лист 42

По мере роста моллюсков на коллекторах доля особей с чёрной окраской раковины возрастала во всех изучаемых районах (табл. 3.1, 3.2, 3.3).

Таблица 3.1

Фенотипическая структура коллекторных *M. galloprovincialis* фермы внешнего рейда (n = 1000)

Сезон, год	Доля мидий с различной окраской раковин, %					
	30 мм		Соотноше- ние	50 мм		Соотноше- ние
	Коричне- вые	Чёр- ные		Коричне- вые	Чёр- ные	
Весна- лето, 2004	45	55	1 : 1,2	23	77	1 : 3,4
Осень, 2005	43	57	1 : 1,3	26	74	1 : 2,8
Осень, 2007	40	60	1 : 1,5	29	71	1 : 2,5

Как уже отмечалось [18, 20], в природных популяциях моллюски чёрного и коричневого фенотипов приурочены к различным биотопам, отличающимся по ряду параметров. Особи чёрной морфы населяют преимущественно твёрдые субстраты в прибойной зоне морских акваторий. Последние характеризуются интенсивным водообменом и высоким содержанием кислорода в среде, а также значительным уровнем механической нагрузки на биссусный аппарат моллюсков. Особи с коричневой раковиной населяют донные иловые биотопы, где интенсивность водообмена и уровень кислорода по сравнению с прибрежной зоной снижены [18, 20]. Механическая нагрузка на биссусные нити мидий данного фенотипа также ниже. В частности, установлено, что мидии чёрной морфы превосходят коричневых особей по числу и прочности биссусных нитей, образуемых в единицу времени [19, 20, 21].

Таблица 3.2

**Фенотипическая структура коллекторных *M. galloprovincialis*
из бухты Мартынова (n = 1000)**

Сезон, год	Доля мидий с различной окраской раковин, %					
	30 мм		Соотноше- ние	50 мм		Соотноше- ние
	Коричне- вые	Чёр- ные		Коричне- вые	Чёр- ные	
Весна– лето, 2004	27	73	1 : 2,7	22	78	1 : 3,6
Осень, 2005	25	75	1 : 3,0	21	79	1 : 3,7
Осень, 2007	22	78	1 : 3,6	20	80	1 : 4

**Фенотипическая структура коллекторных *M. galloprovincialis*
из бухты Ласпи (n = 1000)**

Сезон, год (п, экз.ми- дий)	Доля мидий с различной окраской раковин, %					
	30 мм			50 мм		
	Коричне- вые	Чёр- ные	Соотноше- ние	Коричне- вые	Чёр- ные	Соотноше- ние
Весна- лето, 2004	44	56	1 : 1,3	40	60	1 : 1,5
Осень, 2005	42	58	1: 1,4	38	62	1 : 1,6
Осень, 2007	41	59	1: 1,4	35	65	1 : 1,9

Приведённые в таблицах сведения (табл. 3.1, 3.2, 3.3) лишь подтверждают описанную выше закономерность о том, что мидии чёрной морфы крепче удерживаются на коллекторах и не опадают на дно.

Максимальный сдвиг фенотипической структуры в сторону мидий с чёрной окраской раковин обеих размерных групп отмечен в б. Мартынова. По-видимому, это связано с особенностями расположения данной фермы. Ферма в Мартыновой бухте расположена в полузамкнутой, экологически напряжённой Севастопольской бухте [84, 91]. В данной акватории в результате естественного отбора выживают только наиболее приспособленные к данному месту обитания особи. Данное свойство особенно проявляется с возрастом моллюска, что подтверждается сдвигом процентного соотношения частот фенотипов в зависимости от места обитания.

Сведения о закономерностях реализации пола в определённых условиях могут быть основой активного управления формированием поселений при культивировании моллюсков [82, 83].

Определённый интерес представляет анализ половой структуры в выборке коллекторных мидий двух размерных групп из разных районов обитания. Существующая литература о фенетической и половой структуре мидий в большинстве случаев касается мидий естественных поселений в Чёрном море [81], из районов с резкими флуктуациям окружающей среды (опреснение, эвтрофирование) [154] и, как правило, имеют отношение ко всему мидийному сообществу [117].

При исследовании половой структуры популяции культивируемых мидий на ферме в районе внешнего рейда г. Севастополя за период с 1995 по 2004 гг. отмечено равномерное распределение самцов и самок (1 : 1) [116].

Анализ соотношения полов в изучаемых нами выборках показал, что количество самцов преобладало над количеством самок независимо от размера моллюсков и места обитания (табл. 3.4, 3.5, 3.6), при этом доля гермафродитов достигала 1–3 %.

Количество самцов с размером створки 50 мм на фермах в бухтах Матрынова и Ласпинской в 2 раза выше, чем на ферме в районе внешнего рейда. В группе мидий с размером створки 30 мм самцы преобладали над самками в 2 – 7 раз. В в группе мидий товарного размера (50 мм) самцы преобладали над самками в 1,3 – 3,4 раза. Ранее отмечалось, что сдвиг половой структуры у мидий может быть связан с неблагоприятными факторами водной среды (повышением трофности вод, ограниченным водообменом и накоплением органического вещества в водной толще и донных отложениях) [83]. Наблюдаемые различия в соотношении полов, по-видимому, связаны с тем, что моллюски меньших размеров более чувствительны к загрязнению морской среды.

Таблица 3.4

**Соотношение полов мидии культивируемой
на ферме внешнего рейда (n = 1000)**

Сезон, год	Доля самок и самцов, %					
	30 мм			50 мм		
	♀	♂	Соотн. ♀ : ♂	♀	♂	Соотн. ♀ : ♂
Весна- лето, 2004	33	67	1 : 2,0	42	56	1 : 1,3
Осень, 2005	31	69	1 : 2,2	40	60	1 : 1,5
Осень, 2007	30	69	1 : 2,3	38	61	1 : 1,6

Таблица 3.5

**Соотношение полов мидии, культивируемой
в б. Мартынова (n = 1000)**

Сезон, год	Доля самок и самцов, %					
	30 мм		Соотн. ♀ : ♂	50 мм		Соотн. ♀ : ♂
	♀	♂		♀	♂	
Весна- лето, 2004	15	83	1 : 5,5	25	73	1 : 2,9
Осень 2005	17	82	1 : 4,8	24	75	1 : 3,1
Осень, 2007	12	87	1 : 7,1	22	75	1 : 3,4

**Соотношение полов мидии культивируемой
в б. Ласпи (n = 1000)**

Сезон, год	Доля самок и самцов, %					
	30 мм		Соотн. ♀ : ♂	50 мм		Соотн. ♀ : ♂
	♀	♂		♀	♂	
Весна- лето, 2004	24	74	1 : 3,1	48	52	1 : 1,1
Осень, 2005	23	76	1 : 3,3	38	61	1 : 1,6
Осень, 2007	18	80	1 : 4,4	21	64	1 : 3

У мидий с размером раковины 30 мм энергетические процессы и фильтрационная активность протекают быстрее, чем у мидий с размером раковины 50 мм, что приводит к более высокому содержанию токсических веществ, в частности тяжёлых металлов в теле моллюска [15, 31]. Такая маскулинизация популяции моллюсков, происходящая под воздействием загрязняющих веществ, становится причиной репрессии (или депрессии) части половых генов [116].

При выращивании мидий в марихозьяствах полициклического типа следует быть уверенными в наличии надёжного источника спата, которым является природная популяция мидий. Для этого необходимо располагать детальной информацией о закономерностях полового созревания мидий, стадиях развития гонад и вымета половых продуктов. Задачей наших исследований стала оценка вариабельности распределения стадий зрелости у самцов и самок коллекторных разноразмерных мидий, – уже упомянутых двух

групп (30 и 50 мм). Результаты таких исследований мидий, взятых из различных мест в осенний период 2007 г., наглядно иллюстрируют рис. 3.2, 3.3, 3.4.

Прежде всего, отметим более раннее созревание гонад мидии 30 мм размера, по сравнению с мидиями 50 мм размера, которое не зависело от места обитания мидий. При анализе стадий зрелости гонад у мидий из разных мест обитания отмечена асинхронность созревания гонад обеих полов, т.е. в одной и той же выборке находились мидии на разных стадиях половой зрелости, при этом самцы обеих размерных групп, взятые из разных мест обитания, имели большую вариабельность по стадиям зрелости, чем самки (рис. 3.2, 3.3, 3.4, табл. 3.7). Гонады самцов находились на более зрелой стадии репродуктивного цикла, чем гонады самок. Это подтверждалось тем, что самцы мидий обеих размерных групп, взятые из разных районов, быстрее переходили на последующие стадии, чем самки. Данные на рисунках (рис. 3.2, 3.3, 3.4) являются примером распределения стадий зрелости гонад у *M. galloprovincialis*, взятых из различных бухт в один и тот же год и сезон. В таблице 3.7 представлена более полная информация о закономерностях распределения стадий зрелости гонад у мидий, взятых из б. Мартынова, Ласпи и внешний рейд в весенний и осенний период 2004-2005 года, где подтверждается описанная выше закономерность. Аналогичная тенденция отмечена для *M. galloprovincialis* из Адриатического моря [192]. Более быстрое созревание самцов, по сравнению с гонадами самок, по-видимому, связано с физиологическими особенностями протекания процессов овогенеза и сперматогенеза у моллюсков разного пола. Овогенез – процесс более сложный, требующий больших энергетических затрат чем сперматогенез. На стадии активного гаметогенеза (3 стадия развития гонад) различают процессы малого и большого роста половых клеток. В период малого роста происходит увеличение размеров ядра. В период большого роста идёт накопление питательных веществ, и яйцеклетка увеличивается в размере. В процессе сперматогенеза эти процессы проще, что, по-видимому,

и ускоряют процессы созревания сперматозоидов и способствуют более раннему их созреванию [95].

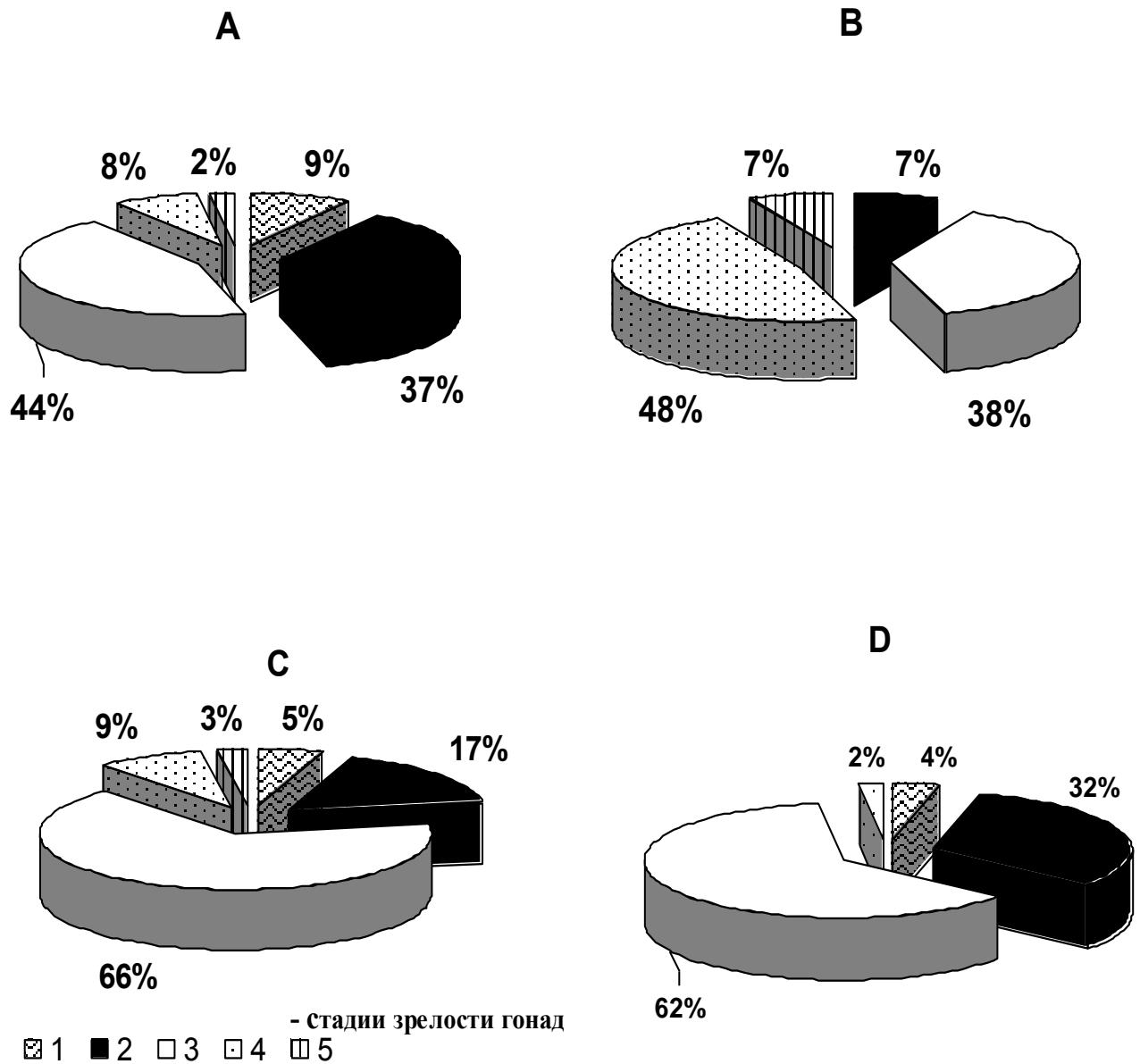


Рис. 3.2 Распределение стадий зрелости гонад у разноразмерных мидий из бухты Мартынова (А – самцы 30 мм, n = 210; В – самки 30 мм, n = 205; С – самцы 50 мм, n = 200; D – самки 50 мм, n = 180)

Параметр синхронности полового цикла мидий, как и количество половых стадий, одновременно отмечаемых в пробе, является чувствительным инструментом экологического мониторинга, позволяющим на малообъемных выборках статистически достоверно выявить влияние окружающей среды на физиологию мидий [148].

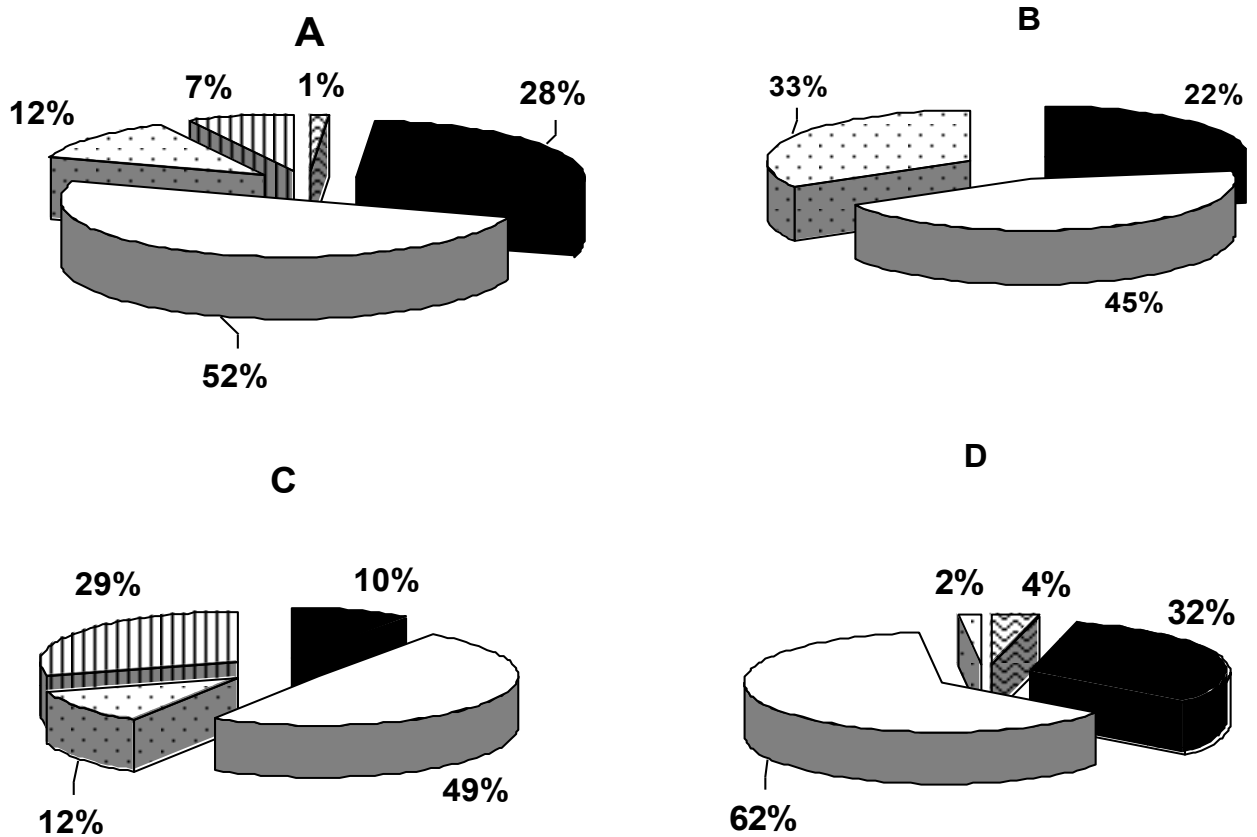


Рис. 3.3 Распределение стадий зрелости гонад у разноразмерных мидий район внешнего рейда (A – самцы 30 мм, n = 190; B – самки 30 мм, n = 230; C – самцы 50 мм, n = 210, D – самки 50 мм, n = 205)

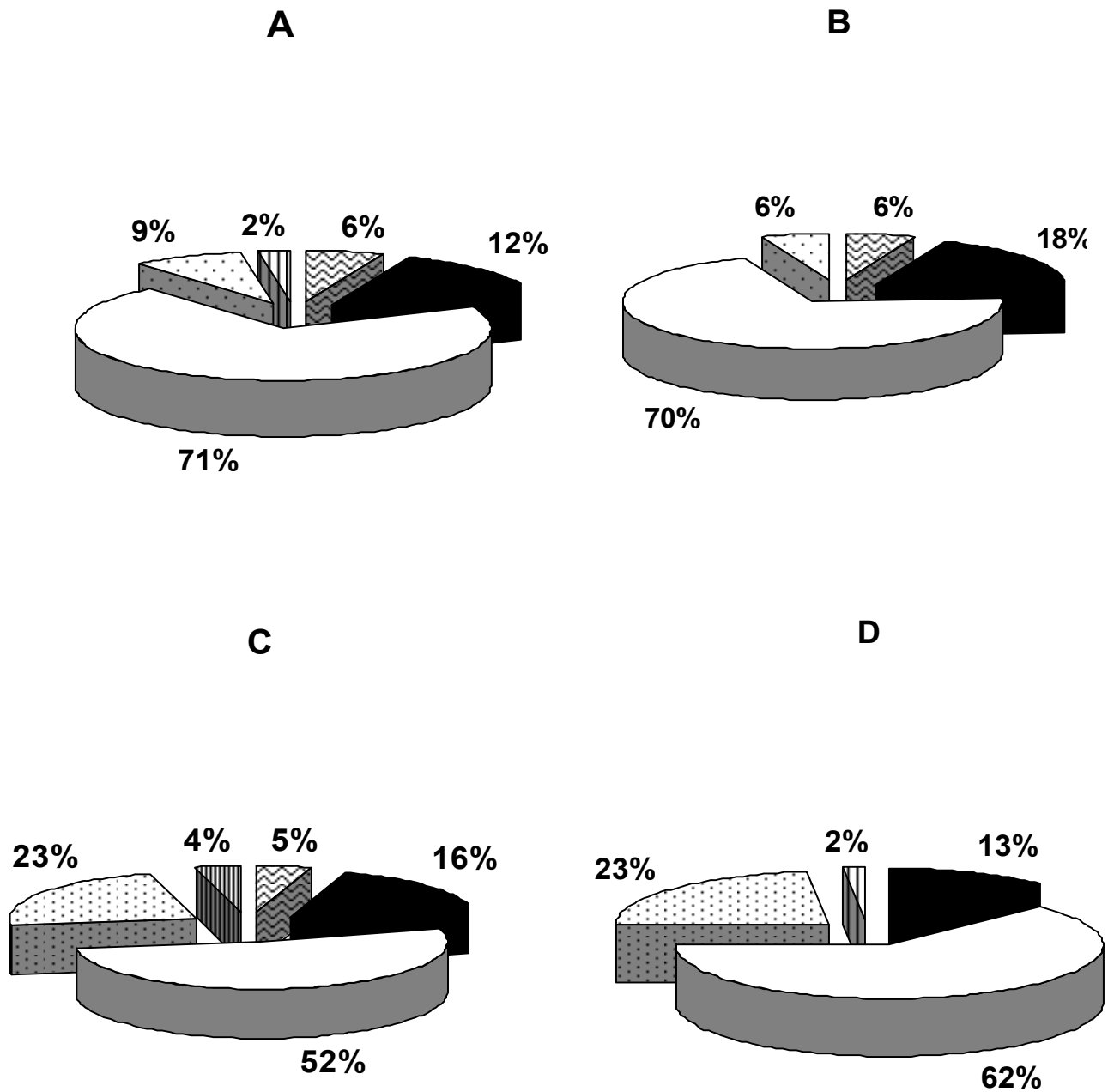


Рис. 3.4 Распределение стадий зрелости гонад у разноразмерных мидий из бухты Ласпи (А – самцы 30 мм, $n = 220$; В – самки 30 мм, $n = 220$; С – самцы 50 мм, $n = 220$, D – самки 50 мм, $n = 215$)

Таблица 3.7

Распределение стадий зрелости гонад у *M. galloprovincialis*

Бухты, год, месяц	30 мм												50 мм											
	Пол и стадии зрелости гонад																							
	Самцы, экз						Самки, экз						Самцы, экз						Самки, экз					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Мартынова, 2004, апрель	10	89	59	25	15	–	15	70	50	10	3	–	5	33	102	28	5	–	–	26	86	10	–	–
Мартынова, 2005, ноябрь	20	80	96	27	8	2	15	60	90	10	1	–	10	33	127	17	5	–	15	30	80	5	–	–
Внешний рейд, 2004, апрель	4	39	50	20	10	–	–	35	50	10	3	–	10	20	50	15	4	–	15	20	30	7	1	–
Внешний рейд, 2005, ноябрь	6	20	67	30	12	2	–	15	65	28	8	–	5	30	80	15	5	2	4	15	40	15	2	–
Ласпи, 2004, апрель	5	10	62	18	8	–	5	15	60	5	–	–	12	40	130	60	10	–	–	30	90	15	5	–
Ласпи, 2005, ноябрь	4	20	50	15	13	–	5	30	40	5	–	–	3	28	84	30	5	–	3	35	60	20	1	–

Таким образом, в результате морфофизиологического исследования коллекторной мидии отмечено:

– преобладание в выборках моллюсков с чёрной окраской раковины, независимо от принадлежности к размерным группам и районов обитания (в большей степени характерное для бухты Мартынова);

– сдвиг половой структуры в сторону самцов, наиболее выраженный у мидий с длиной раковины 30 мм из бухты Мартынова может свидетельствовать о неблагоприятных факторах среды в данной акватории;

– самцы обеих размерных групп имели большую вариабельность по стадиям зрелости, чем самки. Гонады самцов отличались более зрелой стадией развития.

РАЗДЕЛ 4

ИНДИВИДУАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОЛЛЕКТОРНОЙ МИДИИ
***M. GALLOPROVINCIALIS* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФЕНА, ПОЛА И**
СТАДИИ ЗРЕЛОСТИ ГОНАД

4.1. Морфометрические характеристики и рост

Некоторые исследователи отмечают различия в темпах роста черноморских мидий с чёрной и коричневой окраской раковины [14, 20, 73, 168]. Однако в этих работах приведены усреднённые данные о росте мидий как из естественных поселений [156], так и выращиваемых на коллекторах [14]. При анализе усреднённых данных линейного роста моллюсков нивелируются закономерности, свойственные динамике роста каждого исследуемого моллюска, которые необходимо учитывать в последующих теоретических обобщениях. В результате такого усреднения возникает несоответствие между индивидуальными характеристиками роста и обычно получаемыми популяционными показателями [64]. Мы оценивали индивидуальную вариабельность роста коллекторных разноразмерных черноморских мидий с чёрной и коричневой окраской створки из бухты Мартынова (табл. 4.1).

Мидии обеих цветовых морф с длиной раковины 30 мм достоверно превосходят по темпам роста мидий 50 мм размера (различия между средними размерами статистически достоверны для уровня значимости $P = 0,05$ и числа степеней свободы $k = 162 - 30$ мм мидии, $t_{\text{ф.}} - 6,14 > t_{\text{ст.}} - 2,59$; $k = 315 - 50$ мм мидии). Моллюски с чёрной окраской раковины обеих размерных групп достоверно превосходили по темпу роста мидий с коричневой окраской раковины, независимо от размера особей ($t_{\text{ф.}} - 3,0 > t_{\text{ст.}} - 2,6$ для уровня значимости $p = 0,05$ и числа степеней свободы $k = 84 - 30$ мм мидии чёрного фенотипа, $k = 78 - 30$ мм мидии коричневого фенотипа; $t_{\text{ф.}} -$

$5,76 > t_{st} - 1,97$ для уровня значимости $p = 0,05$ и числа степеней свободы $k = 162 - 50$ мм мидии чёрного фенотипа, $k = 153 - 50$ мм мидии коричневого фенотипа).

Таблица 4.1

Прирост раковины мидии в бухте Мартынова в 2009 г.

Времен- ной интервал	30 мм (n = 200)				50 мм (n = 205)			
	Прирост, мм · сут ⁻¹							
	Чёр- ные	CV%	Корич- невые	CV%	Чёр- ные	CV%	Кори- чне- вые	CV %
10.04 - 20.05	0,050 (0,010 – 0,100)	53 ± 5,6	0,039 (0,005– 0,100)	76 ± 11,5	0,040 (0,003 – 0,100)	63 ± 11,3	0,020 (0,010 – 0,086)	93 ±21 ,7
20.05 - 2.07	0,096 (0,018 – 0,233)	48 ± 4,9	0,073 (0,012– 0,128)	53 ± 6,6	0,066 (0,011 – 0,140)	45 ± 7,2	0,045 (0,006 – 0,110)	51 ± 8,9
2.07 - 11.08	0,072 (0,011 – 0,125)	41 ± 4,0	0,055 (0,010– 0,125)	51 ± 5,7	0,050 (0,013 – 0,125)	65 ± 11,6	0,043 (0,005 – 0,100)	68 ±13 ,3
Общий прирост	0,073 ± 0,04		0,056 ± 0,03		0,054 ± 0,03		0,036 ± 0,025	

В течение всего периода исследования прирост мидий изучаемых размерных групп и фенотипов был низким и неравномерным. С апреля по июль наблюдался более высокий темп роста, тогда как с июля по август происходило замедление темпов роста (табл. 4.1). Последнее обстоятельство было связано с недостатком доступного для моллюсков корма. В фитопланктоне в этот период преобладали крупные колониальные виды диатомовых водорослей (*Proboscia alata*, *Pseudosolenia calcar-avis*), а также

микроводоросли, не представляющие пищевой ценности для мидий (диатомовые водоросли рода *Chaetoceros*, криптофитовые, крупноклеточные динофитовые водоросли рода *Ceratium*) [128]. В июле – августе 2009 г. отмечено также снижение суммарной численности фитопланктона, в том числе кормового, в связи с аномально высокой температурой в этот период [128]. Анализ усредненных данных роста раковин моллюсков было равномерным и не показывало индивидуальных особенностей роста, связанных с условиями среды (рис 4.1).

Сравнение полученных данных скорости прироста мидий аналогичного размера для б. Мартынова с результатами более ранних исследований (1983 – 1985 гг.) из бухты Ласпи показало уменьшение скорости прироста мидий из б. Мартынова практически в 2 раза [14]. Это можно объяснить тем, что сравнивались мидии с ферм, расположенных в акваториях с различной гидрохимической структурой вод (см. раздел “Материал и методы исследований”), кормовой базой, а также с ухудшением экологической обстановки за последние года [34, 93, 148,]. Всесторонние исследования морской среды показали, что жизнеспособность Черного моря ухудшается. Одна из самых серьезных экологических проблем Черного моря заключается в том, что впадающие в него реки несут с собой не только пестициды или тяжелые металлы, но и азот и фосфор, в больших количествах смывающиеся с полей.

Около 160 обитающих в Черном море видов фауны находятся на грани вымирания из-за превышенного содержания нефтепродуктов в водах Черного моря. Активное использование траловых судов в последние года так же приводит к загрязнению поверхностных вод и к переносу ила в заповедные зоны. В результате снижается способность моря самоочищаться, а его экосистема уже перенасыщена загрязняющими веществами в пять раз [34, 49].

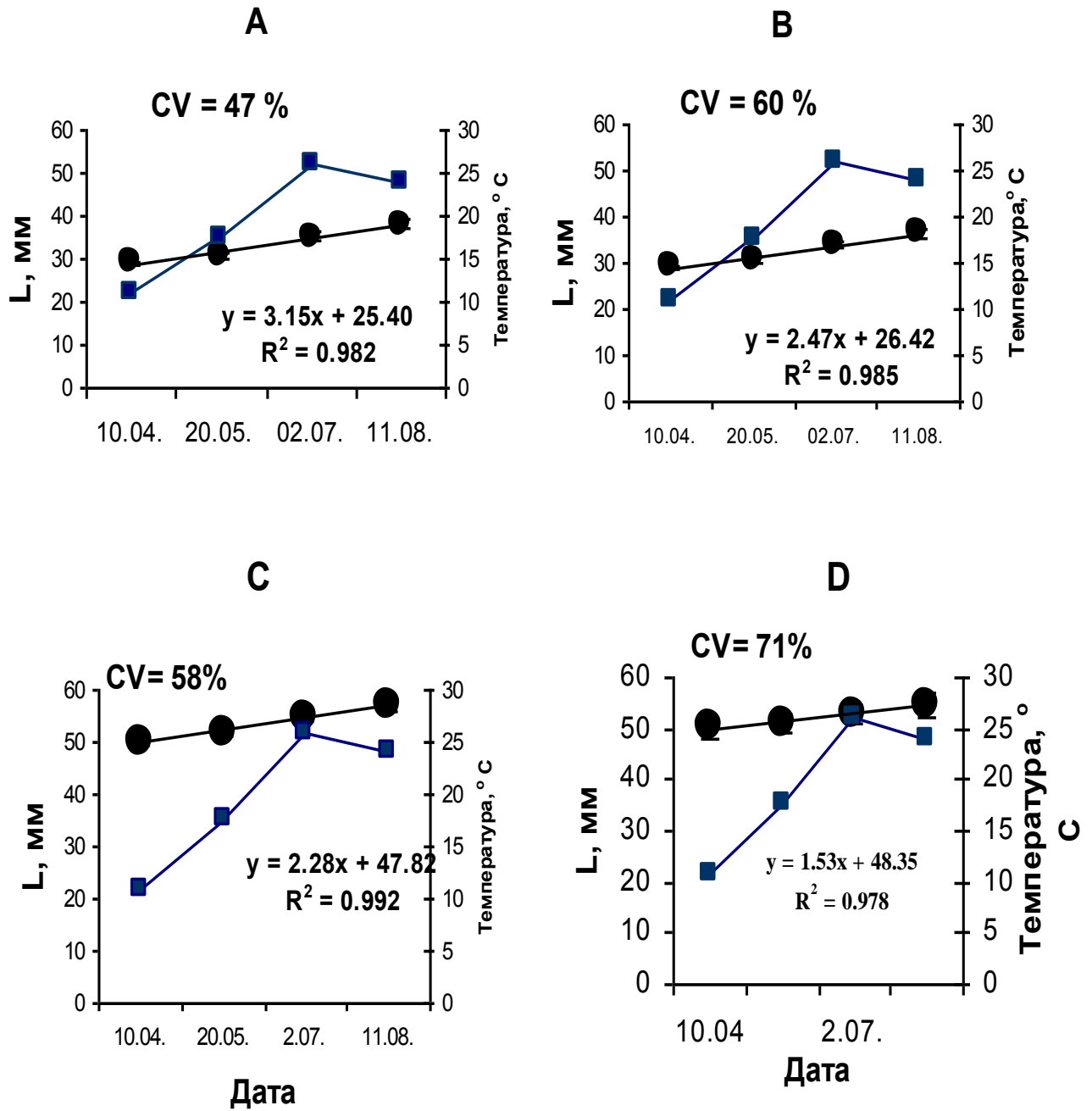


Рис. 4.1 Рост мидий с различной окраской раковины в бухте Мартынова в зависимости от температуры воды (А – 30 мм, чёрная окраска, $n = 100$; В – 30 мм, коричневая окраска, $n = 100$; С – 50 мм, чёрная окраска, $n = 100$; D – 50 мм, коричневая окраска, $n = 105$).

При изучении индивидуальной вариабельности роста моллюсков более информативным показателем является оценка индивидуальной

вариабельности морфометрических показателей. Структура поселений *M. galloprovincialis* определяется не только генетическими особенностями мидий, но и зависимостями их морфологических характеристик от условий среды. Изменения соотношений морфометрических параметров могут служить показателем влияния конкретных условий обитания на морфологические особенности животного. Есть данные не только об угнетении линейного роста мидий, увеличении деформаций раковин при повышенном содержании тяжёлых металлов и нефтепродуктов в среде, но и об уменьшении содержания кальция в створке мидий [42, 200].

При изучении черноморских мидий из различных биотопов, многие авторы выявили значительную вариабельность морфологических и морфометрических характеристик [9, 27, 29, 59, 99, 127]. Однако цитируемые работы были направлены на идентификацию черноморских мидий, как вида *M. galloprovincialis*. Существующее разнообразие форм мидий лишь доказывает роль индивидуальной изменчивости в формировании раковины черноморских мидий под влиянием факторов среды [24, 25, 26].

Перед нами стояла задача – оценить роль экологических факторов среды в индивидуальной изменчивости морфометрических параметров разноразмерных мидий с чёрной и коричневой окраской раковины, отобранных из разных районов обитания. Исследования выполнялись в 2007 г.

Каждому признаку свойственна определенная величина индивидуальной изменчивости, причем разные признаки одного генотипа варьируют под действием факторов среды неоднозначно, т.е. для каждого признака характерны свои пределы варьирования. Применение биоиндикационного критерия, а, следовательно, и его практическая значимость определяются в первую очередь изменчивостью признака. Одним из показателей изменчивости признака является коэффициент вариации CV, который не зависит от единиц измерения, поэтому удобен для сравнительной оценки различных выборочных совокупностей [87]. Прежде, чем оценить

индивидуальную изменчивость морфометрических параметров мидий нами предварительно были рассчитаны средние значения L, H, D, толщины, H/L, D/L (табл. 4.2 и 4.3). Из таблиц видно, что усреднение данных не выявило отличий по морфометрическим показателям и их соотношениям у мидий в исследуемых бухтах. Именно оценка индивидуальной вариабельности (CV, %) позволила выделить морфометрические параметры, которые отреагировали на различные условия среды (табл. 4.4 и 4.5).

Следует отметить вариабельность такого морфометрического показателя, как толщина створки во всех размерных группах и фенах. Коэффициент вариации толщины створки изменялся в зависимости от места обитания мидий. Мидии из б. Мартынова имели самый высокий CV, равный 30,3–37,1 %. Наибольшую вариабельность этого показателя проявила группа мидий с размером раковин 30 мм с чёрной окраской. Изменчивость по длине, ширине и высоте раковины также была выше в размерной группе мидий 30 мм, которые были взяты из различных ферм, и не зависела от окраски раковины моллюска. Как известно, показатель выпуклости раковины (D/L) является наиболее изменчивым признаком в определённых условиях техногенного загрязнения [39]. По результатам наших исследований, на изучаемых фермах вариабельность этого показателя была низкой и не зависела от окраски раковины и размера мидии.

Таблица 4.2

**Морфометрические характеристики мидий
с чёрной и коричневой окраской раковины (размерная группа 30 мм)**

Ферма/ год	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$											
	Коричневые						Чёрные					
	L	H	D	Тол- щина	H/L	D/L	L	H	D	Тол- щина	H/L	D/L
Внешний рейд	30,3	18,5	11,7	0,23	0,65	0,34	30,4	18,7	11,9	0,9	0,60	0,38
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,3	1,0	0,7	0,03	0,07	0,02	0,9	0,8	0,6	0,02	0,02	0,01
б.Мар- тынова	30,1	18,3	11,6	0,23	0,66	0,33	30,6	18,6	11,7	1,2	0,62	0,38
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,4	1,0	0,7	0,03	0,08	0,03	1,2	1,0	0,7	0,02	0,03	0,02
б.Ласпи	34,3	19,5	12,6	0,24	0,59	0,37	34,0	18,8	12,8	0,25	0,56	0,38
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,7	1,1	0,7	0,02	0,05	0,01	0,9	0,4	0,5	0,01	0,01	0,01

Таблица 4.3

**Морфометрические характеристики мидий
с чёрной и коричневой окраской раковины (размерная группа 50 мм)**

Ферма/ год	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$											
	Коричневые						Чёрные					
	L	H	D	Тол- щина	H/L	D/L	L	H	D	Тол- щина	H/L	D/L
Внешний рейд	48,9	28,6	19,1	0,36	0,59	0,39	49,6	29,3	19,5	0,41	0,59	0,39
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,0	0,9	0,5	0,01	0,02	0,01	0,6	0,6	0,4	0,2	0,01	0,01
б.Мар- тынова	51,2	28,9	20,0	0,38	0,56	0,39	51,9	28,8	20,3	0,34	0,56	0,39
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,0	0,8	0,7	0,02	0,01	0,01	0,7	0,6	0,6	0,01	0,01	0,01
б.Ласпи	51,1	25,7	18,4	0,37	0,51	0,36	50,2	25,7	19,9	0,37	0,51	0,36
	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,02	0,63	0,84	0,02	0,01	0,02	0,8	0,5	0,6	0,01	0,01	0,01

Таблица 4.4

**Вариабельность морфометрических характеристик мидий с чёрной и коричневой окраской раковины
(размерная группа 30 мм, n = 1200)**

Ферма/ год	CV±Δ CV, %											
	Коричневые						Чёрные					
	L	H	D	Тол- щина	H/L	D/L	L	H	D	Тол- щина	H/L	D/L
Внешний рейд	16,8	14,9	17,6	17,9	6,6	8,3	16,1	18,9	17,8	20,1	15,3	8,7
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,0	0,9	1,0	1,0	0,5	0,7	0,9	1,1	1,0	1,5	0,9	0,8
б.Марты- нова	13,1	15,6	16,3	30,3	13,8	8,6	12,7	17,4	19,2	37,2	14,8	14,9
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,7	0,8	0,8	1,6	0,7	0,7	0,8	1,0	1,2	2,4	0,9	0,9
б.Ласпи	12,9	15,3	14,5	20,1	11,0	7,0	8,5	7,2	11,9	23,4	5,5	8,5
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,8	1,0	1,0	1,8	0,7	0,5	0,6	0,4	0,8	1,6	0,4	0,7

Таблица 4.5

**Вариабельность морфометрических характеристик мидий с чёрной и коричневой окраской раковины
(размерная группа 50 мм, n = 1200)**

Ферма/ год	CV±Δ CV, %											
	Коричневые						Чёрные					
	L	H	D	Тол- щи-на	H/L	D/L	L	H	D	Тол- щи-на	H/L	D/L
Внеш-ний рейд	5,1 ± 0,3	7,1 ± 0,4	6,4 ± 0,4	16,3 ± 0,6	8,8 ± 0,6	6,5 ± 0,4	4,6 ± 0,2	6,7 ± 0,4	7,6 ± 0,4	18,1 ± 0,8	5,9 ± 0,4	6,2 ± 0,4
б.Мар- тынова	11,3 ± 0,7	11,8 ± 0,7	15,4 ± 0,9	19,3 ± 0,7	5,6 ± 0,3	11,5 ± 0,7	7,9 ± 0,4	9,7± 0,5	12,0 ± 0,7	22,3 ± 0,9	7,5 ± 0,4	9,1 ± 0,5
б.Ласпи	7,0 ± 0,4	8,6 ± 0,6	16,0 ± 0,8	17,2 ± 0,8	8,6 ± 0,6	15,7 ± 0,9	5,9 ± 0,4	7,9 ± 0,4	13,3 ± 0,7	19,5 ± 0,8	6,2 ± 0,4	13,0 ± 0,7

Проведенные исследования позволяют сделать следующие заключение:

- мидии с чёрной окраской створки, особенно длиной 30 мм, превосходят по индивидуальным темпам роста мидий с коричневой окраской створки этого же размера;
- отмечена высокая индивидуальная вариабельность ($CV=41-93\%$) скорости роста мидий исследованных размерных групп, как с чёрной, так и с коричневой окраской раковины;
- толщина раковин мидии является наиболее изменчивым морфометрическим параметром, которая в первую очередь отражает изменение условий среды, что особенно выражено у мидий с длиной раковины 30 мм из б. Мартынова с чёрной окраской, которые оказались особенно чувствительны по этому параметру.

4.2. Содержание нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) в гонадах

Ранее нами было показано отсутствие статистически достоверных различий в содержании НК в гонадах мидий разных фенотипов, отобранных на ферме в районе внешнего рейда [159]. Мы продолжили изучение индивидуального содержания ДНК и РНК и их соотношений в зависимости от пола и окраски раковин мидий на фермах, расположенных в районе внешнего рейда и б. Мартынова. Для исследований в летне-осенний период 2007 г отбирали мидий с длиной раковины 50 мм (табл. 4.6).

Коэффициент вариации веса гонад самцов и самок выше у особей с чёрной окраской раковины. Сравнение содержания ДНК и РНК в гонадах мидий из б. Мартынова не выявило достоверных различий этих показателей между мидиями с коричневой и чёрной окраской раковины. Следует уточнить, что сравнение содержания НК проводилось только для моллюсков с наиболее различающимися средними значениями (для уровня значимости $P = 0,05$ и числа степеней свободы $k = 178$, $t_{\phi.} - 1,6 < t_{st.} - 1,97$). Это

позволило не сравнивать моллюсков с менее различающимися значениями средних.

Таблица 4.6

**Изменение концентрации НК ($\text{мкг}\cdot\text{г}^{-1}$ сухой массы),
веса гонад и индекса РНК/ДНК
в зависимости от пола и окраски раковины мидии**

Окра- ска ракови- ны	n	РНК		ДНК		РНК/ДНК		W, г сух.	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Кори- чневая	80	4,3 ± 1,3 CV = 29,5± 3,8	6,3 ± 1,5 CV = 30,6± 4,1	0,44 ± 0,21 CV = 32,5± 2,4	0,59± 0,31 CV = 42,1± 3,6	9,3	13,5	0,16± 0,08 CV= 48,0 ±6,5	0,24 ± 0,09 CV = 45,5± 5,1
		4,7 ± 1,6 CV = 26,6± 3,3	5,9 ± 2,1 CV = 31,3 ± 2,3	0,41 ± 0,20 CV = 35,3 ± 3,0	0,53± 0,32 CV = 45,3± 4,8			10,2	15,4

При анализе вариабельности содержания НК в гонадах мидий разных фенотипов отмечено, что большая изменчивость по фенотипу характерна для содержания ДНК у самцов обеих цветовых морф. Высокий коэффициент вариации содержания ДНК можно объяснить высокой пролиферативной активностью клеток в тканях на 3 – 4-й стадиях зрелости гонад. У самцов по сравнению с самками коэффициент вариации был выше и в большинстве случаев достигал 45 % (табл. 4.6 4.7). Содержание ДНК, а, следовательно, и CV зависит от количества клеток в тканях [159], более высокий CV в гонадах самцов связан с большим количеством сперматозоидов по сравнению с

количеством яйцеклеток. Отсутствие достоверных отличий в содержании НК в генеративной ткани в зависимости от окраски раковины позволило проводить дальнейшие исследования без учёта фенотипа моллюсков.

Отмечены высокие коэффициенты вариации, как по содержанию ДНК, так и РНК, что по-видимому, обусловлено различным уровнем подготовки к нересту каждого из моллюсков, когда уровень белкового синтеза становится зависимым от физиологического состояния организма [172].

Анализ данных по суммарному содержанию НК показал, что гонады моллюсков характеризовались разным уровнем активности синтеза белка в зависимости от готовности к размножению. Содержание НК в гонадах мидий возрастало при переходе с 3 к 4-й стадии зрелости гонад (табл. 4.7), что свидетельствовало об увеличении уровня белкового синтеза в генеративной ткани. Отмечены достоверные отличия по содержанию ДНК и РНК в гонадах самцов, по сравнению с самками, у мидий из разных мест обитания (для уровня значимости $P = 0,05$ и числа степеней свободы $k = 138$, $t_{\phi.} - 2,63 > t_{st.} - 1,98$ – содержание РНК у мидий на 3-й стадии, б. Мартынова; при $k = 98$, $t_{\phi.} - 7,7 > t_{st.} - 1,98$ – содержание ДНК у мидий на 3-й стадии внешнего рейда) (табл. 4.7). Приведённые в скобках достоверные отличия между самцами и самками относятся к мидиям, которые имели наименее отличные числовые показатели по содержанию НК в гонадах. Исключение составило содержание ДНК у мидий, проходящих 3-ю стадию развития гонад, из б. Мартынова, где не отмечено достоверных отличий между самцами и самками. Как известно, мидии обладают наружным оплодотворением [14], при этом спермии менее жизнеспособны, чем яйцеклетки, и самцы вынуждены продуцировать их большее количество и в более растянутые сроки, чтобы обеспечить их оптимальную концентрацию в среде. Этот факт, по-видимому, и объясняет более высокие значения НК в гонадах самцов.

Изменение концентрации НК ($\text{мкг}\cdot\text{г}^{-1}$ сухой массы), веса гонад и индекса РНК/ДНК в зависимости от стадий зрелости гонад мидий из разных районов

Стадии зрелости гонад	Пол	n	РНК	CV%	ДНК	CV %	РНК/ДНК	W, г сух.	CV%
внешний рейд, 2007									
3	♀	100	3,4± 0,65	18,4± 2,2	0,35± 0,05	22,5± 2,6	11,1	0,33± 0,04	48,3± 6,3
	♂		7,67± 1,26	28,6± 4,5	0,45± 0,07	23,2± 3,3		18,2	0,38± 0,05
4	♀	110	5,2± 1,78	30,3± 4,1	0,58± 0,20	28,7± 3,8	15,2	0,45± 0,07	46,4± 5,9
	♂		9,4± 2,6	40,1± 5,1	0,88± 0,18	50,8± 8,1		16,8	0,41± 0,06
б. Мартынова, 2007									
3	♀	140	1,41± 0,45	18,4± 2,5	0,27± 0,09	45,6± 5,8	5,9	0,27± 0,03	67,6± 11,1
	♂		2,43± 0,81	27,6± 2,3	0,29± 0,09	53,1± 12,3		6,5	0,25± 0,03
4	♀	110	1,46± 0,51	16,5± 1,5	0,24± 0,09	30,4± 4,2	6,8	0,36± 0,04	36,0± 6,3
	♂		3,1± 0,72	36,4± 2,9	0,76± 0,21	46,1± 7,2		8,9	0,31± 0,04

Прирост мидий можно оценивать по уровню накопления белковых ресурсов, напрямую зависящих от биосинтетических процессов. Для оценки которых используют различные расчётные индексы, в том числе и соотношение РНК/ДНК [173]. Индекс РНК/ДНК «мгновенной» скорости

роста, как показатель стабильного белкового синтеза [11, 183, 207, 219], в гонадах самцов выше, по сравнению с самками (табл. 4.7). При сравнении коллекторных моллюсков из исследуемых районов более высокие темпы белкового синтеза у мидий отмечены в районе внешнего рейда. Возможно, это связано с тем, что мы сравнивали фермы, отличающиеся по гидрохимическим и кормовым условиям, а также районы с различной антропогенной нагрузкой (см. Раздел 2). По литературным данным известно, что индекс РНК/ДНК, помимо анаболической активности, отражает кратковременные изменения в доступности пищи. Голод, как основной фактор, влияющий на рост и метаболизм, наряду с тепловым стрессом, может приводить к снижению активности ферментов и величины РНК/ДНК у двустворчатых моллюсков *M. californias* и *N. ostrina* [173, 205, 206].

Наши исследования показали, что индекс РНК/ДНК выше в районе внешнего рейда (табл. 4.7), по сравнению с бухтой Мартынова, что может свидетельствовать о более благоприятных пищевых условиях в этом районе. Известно, что моллюски в условиях марихозяйства, обеспеченные полноценным кормом, растут значительно быстрее [93]. Это позволяет предположить, что акватория внешнего рейда более благоприятна для выращивания мидий.

Анализ полученного материала показал:

- отсутствие достоверных отличий в содержании НК у мидий обоих полов, с различной окраской раковины;
- высокую изменчивость массы гонад самцов и самок, особенно у мидий с чёрной окраской створки;
- содержание НК и индекс РНК/ДНК на 3 и 4-й стадиях развития гонад у самцов, характеризовались более высокой степенью изменчивости по сравнению с самками;
- наиболее вариабельный показатель – содержание ДНК в гонадах мидий на 3 и 4-й стадии зрелости (CV=59 %)

– высокий индекс РНК/ДНК в гонадах мидий в районе внешнего рейда позволяет предположить, что эта акватория более благоприятна для выращивания моллюсков по сравнению с бухтой Мартынова.

4.3. Диаметр яйцеклеток

Размеры яйцеклеток мидий являются важной характеристикой их успешного эмбриогенеза и выживаемости [116]. Чем больше размеры яиц, тем большее содержание в нём питательного вещества, что позволяет получать личинок с высокой выживаемостью [27].

В 2009 – 2010 гг. в периоды массового нереста мидий (весенний и осенний) была изучена индивидуальная изменчивость диаметра яйцеклеток у каждой особи с коричневой и с чёрной окраской раковины (табл. 4.8 – 4.11). Отметим, что осенний нерест моллюсков был растянут и сдвинут на зиму, т.к. 2009-й год отличался бедной кормовой базой [128]. В прибрежных водах Севастополя наблюдалось массовое развитие крупноклеточной диатомовой водоросли *Proboscia alata*, вызывающей «цветение» воды. В феврале её биомасса достигала $9 \text{ г} \cdot \text{м}^{-3}$, в марте – $2 \text{ г} \cdot \text{м}^{-3}$. Создавая высокую численность и биомассу во всем слое вод в течение 7 мес. в году, она ухудшала условия питания для многих гидробионтов. Мидии, как культивируемые на ферме в Севастопольской бухте, так и обитающие на прибрежных скалах, испытывали недостаток корма, о чем свидетельствовало слабое наполнение их пищеварительного тракта и неполное развитие гонад [128].

**Индивидуальные размеры яйцеклеток *M. galloprovincialis*
с коричневой окраской раковины, осенне-зимний сезон 2009 г.**

№ мидии	Количество измерений, n	Диаметр яйцеклеток, мкм \bar{x} ($x_{\max} - x_{\min}$)	Стандартное отклонение, δ	Ошибка среднего, m_x	CV, %
1	40	66,92 (63,50 – 69,85)	3,29	0,75	4,92
2	50	66,04 (63,50 – 69,85)	3,19	0,73	4,83
3	40	69,06 (63,5 – 76,2)	3,93	0,89	5,69
4	55	66,68 (57,15 – 76,2)	4,83	1,10	7,25
5	40	64,17 (63,5 – 69,85)	2,92	0,66	4,54
6	50	71,81 (63,50 – 82,55)	5,89	1,33	8,21
7	40	65,72 (63,50 – 69,85)	3,11	0,71	4,73
8	50	66,26 (63,5 – 69,85)	3,22	0,73	4,86
9	40	65,09 (57,15 – 76,2)	3,86	0,88	5,93
10	55	66,54 (63,5 – 69,85)	3,77	0,86	5,66
11	30	62,71 (57,15 – 63,50)	2,15	0,49	3,42
12	30	64,05 (63,50 – 63,50)	1,73	0,39	2,70
13	40	65,62 (63,5 – 69,85)	3,06	0,70	4,66
14	40	68,64 (63,5 – 69,85)	2,56	0,58	3,72
5	40	67,47 (63,50 – 76,20)	3,66	0,83	5,42
16	45	67,37 (63,50 – 69,85)	3,17	0,72	4,70
17	40	65,41 (63,50 – 69,85)	2,99	0,68	4,57
18	30	63,82 (63,50 – 69,85)	1,42	0,32	2,23
19	50	68,26 (63,50 – 76,2)	5,40	1,23	7,91

**Индивидуальные размеры яйцеклеток *M. galloprovincialis*
с чёрной окраской раковины, осенне-зимний сезон 2009 г.**

№ мидии	Количество измерений, n	Диаметр яйцеклеток, мкм \bar{x} ($x_{\max} - x_{\min}$)	Стандартное отклонение, δ	Ошибка среднего, m_x	CV, %
1	45	60,78 (57,15 – 63,50)	3,26	0,68	5,37
2	50	62,59 (57,15 – 69,85)	4,21	0,88	6,73
3	50	61,81 (57,15 – 69,85)	4,47	0,93	7,23
4	55	61,23 (57,15 – 63,5)	4,02	0,84	6,57
5	40	63,96 (57,15 – 69,85)	3,91	0,82	6,11
6	35	61,69 (57,15 – 63,50)	2,98	0,62	4,83
7	40	61,16 (57,15 – 69,85)	4,34	0,91	7,10
8	35	65,37 (63,5 – 69,85)	2,98	0,62	4,56
9	40	66,04 (57,15 – 69,85)	3,19	0,67	4,83
10	55	63,26 (57,15 – 69,85)	2,83	0,59	4,47
11	55	63,43 (63,50 – 69,85)	6,64	1,39	10,47
12	40	64,03 (57,15 – 69,85)	2,59	0,54	4,05
13	40	64,30 (63,5 – 69,85)	4,32	0,90	6,71
14	40	67,09 (63,5 – 69,85)	3,22	0,67	4,80
15	35	63,77 (57,15 – 69,85)	1,30	0,27	2,03
16	45	63,78 (57,15 – 76,20)	4,05	0,85	6,35
17	40	66,15 (57,15 – 69,85)	4,56	0,95	6,89
18	30	62,12 (57,15 – 63,50)	3,81	0,90	6,13
19	40	62,87 (57,15 – 69,85)	1,96	0,41	3,11
20	40	61,91 (57,15 – 69,85)	2,92	0,61	4,59
21	45	64,59 (57,14 – 69,85)	3,38	0,65	5,45
22	45	63,72 (57,15 – 69,85)	3,13	0,64	4,84
23	40	61,26 (57,15 – 69,85)	3,05	0,74	4,65

Таблица 4.10

**Индивидуальные размеры яйцеклеток *M. galloprovincialis*
с чёрной окраской раковины, весенний сезон 2010 г.**

№ мидии	Количество измерений, n	Диаметр яйцеклеток, мкм \bar{x} ($x_{\max} - x_{\min}$)	Стандартное отклонение, δ	Ошибка среднего, m_x	CV, %
1	45	68,58 (57,15 – 76,20)	4,83	1,47	7,05
2	40	66,68 (57,15 – 76,20)	4,27	1,29	6,40
3	45	67,87 (57,15 – 82,55)	7,29	2,21	10,75
4	40	65,14 (57,15 – 69,85)	4,00	1,21	6,15
5	50	73,13 (63,5 – 82,55)	6,93	2,10	9,48
6	55	64,53 (57,15 – 69,85)	3,32	1,00	5,14
7	50	66,37 (63,50 – 76,20)	3,96	1,20	5,97
8	50	66,29 (63,50 – 76,20)	3,93	1,19	5,93
9	50	74,22 (63,50 – 88,90)	9,04	2,74	12,19
10	55	67,87 (63,50 – 88,90)	7,29	2,21	10,75
11	55	65,14 (57,15 – 76,20)	4,00	1,21	6,15

У каждой особи отмечена низкая вариабельность индивидуального размера яйцеклеток. У мидий с коричневой окраской раковины, нерестящихся в осенне-зимний сезон, коэффициент вариации изменялся от 2,2 до 8,2 % и в среднем составил 5,0 %, у мидий с чёрной окраской раковины – соответственно от 2,0 до 10,5 %, в среднем 5,6 %.

**Индивидуальные размеры яйцеклеток *M. galloprovincialis*
с коричневой окраской раковины, весенний сезон 2010 г.**

№ мидии	Количество измерений, n	\bar{x} ($x_{\max} - x_{\min}$) диаметр яйцеклеток, мкм	Стандартное отклонение, δ	Ошибка среднего, m_x	CV, %
1	50	68,00 (63,50 – 82,50)	5,96	1,86	8,77
2	55	68,00 (57,15 – 76,20)	6,80	2,13	10,00
3	50	81,73(63,50 – 95,25)	8,32	2,60	10,18
4	50	92,63 (63,50 – 88,90)	7,98	2,49	8,61
5	45	67,39 (63,50 – 76,20)	4,24	1,32	6,29
6	45	71,28 (57,15 – 76,20)	5,37	1,68	7,53
7	50	67,39 (57,15 – 76,20)	5,36	1,68	7,95
8	55	68,00 (57,15 – 76,20)	6,80	2,13	10,00
9	55	81,73 (63,85 – 95,25)	8,32	2,60	10,18
10	55	92,63 (57,15 – 88,90)	7,98	2,50	8,61

Коэффициент вариации размеров яйцеклеток мидий с коричневой окраской раковины, нерестящихся весной, изменялся в относительно более узких пределах – 6,29 – 10,18 %, в среднем 8,8 %, для мидий с чёрной окраской раковины эти показатели составили соответственно 5,14 – 12,19 %, в среднем 7,8 %. Из полученных результатов следует, что вариабельность размеров яйцеклеток мидий, которые нерестились в весенний сезон, выше.

Мы проанализировали размеры яйцеклеток у 42 мидий в осенне-зимний сезон и у 21 особи в весенний сезон, предварительно выполнив проверку однородности дисперсий размеров яйцеклеток для сравниваемых

выборок. В каждый из изученных сезонов размеры яйцеклеток мидий с коричневой окраской раковины достоверно выше таковых моллюсков с чёрной окраской раковины. Различия между средними значениями размеров яйцеклеток культивируемых мидий с коричневой и чёрной окрасками раковины статистически достоверны: для уровня значимости $P = 0,05$ и числа степеней свободы $k = 39$ – осенне-зимний, $t_{\phi} - 8,4 > t_{st} - 2,02$; $k = 19$ – весенний сезон, $t_{\phi} - 3,1 > t_{st} - 2,09$, уровня значимости $P = 0,05$ и числа степеней свободы $k = 40$ – осенне-зимний сезон, $t_{\phi} - 2,69 > t_{st} - 2,02$; $k = 19$ – весенний сезон, $t_{\phi} - 3,1 > t_{st} - 2,09$.

Для более подробного изучения характера индивидуальных различий размеров яйцеклеток проанализировано 29 моллюсков обеих цветовых морф методом однофакторного дисперсионного анализа. В соответствии со схемой расчётов однофакторного ДА, диаметр яйцеклеток y (зависимая переменная) равняется генеральному среднему μ , плюс эффект фактора A , плюс ε – остаточный член, дающий представление об ошибке исследования: $y_{im} = \mu + \lambda_i + \varepsilon_{im}$

i – уровень фактора A (мидии);

m – текущий номер измеряемой яйцеклетки (или повторы от 1 до n);

k – количество мидий;

n – число повторов;

$N = kn$ – общее количество измерений.

Исходные данные представлены в виде таблицы плана эксперимента однофакторного дисперсионного анализа (прил. А, табл. 1), в которой в столбцах обобщены уровни качественного фактора A (различные мидии с номерами от 1 до 29), в строках повторы измерений диаметра яйцеклеток для каждой мидии.

Предварительная обработка данных:

По каждому столбцу вычисляем средние: $y'_1, y'_2, y'_3, \dots, y'_k$, (y) – размер яйцеклеток (см. приложение А). Формулируем гипотезу H_0 : Между столбцами нет различий, т.е. математические ожидания средних значений

всех результатов равны между собой (иными словами, размеры яиц у всех мидий одинаковы (индивидуальные различия мидий не влияют на размеры их яйцеклеток). Дальнейшие вычисления должны:

- 1) подтвердить или опровергнуть эту гипотезу;
- 2) Если гипотеза не верна, то определяем далее у каких мидий яйцеклетки достоверно крупнее, у каких мельче, а у каких они не различаются.

1. Итоги: $A_{i \text{ сред}} = (\sum y_{im})/n$ ($A_{i \text{ сред}}$ это y'_i) – (прил. А, табл. 1).

2. Общий итог: $G = \sum \sum y_{im}$ (сумма результатов всех наблюдений) $G = 35915,25$

3. Средний итог $G_{\text{средн}} = (\sum \sum y_{im})/kn$ (k – количество мидий; n – число повторов)

$$G_{\text{средн}} = 35915,25 / (29 * 19)$$

Вычислительная процедура для ДА:

1. Подсчёт общей суммы квадратов:

$$SS_{\text{общ}} = \sum \sum y_{im}^2 - G^2/N \quad G^2/N \text{ – корректирующий или поправочный}$$

член, $N = k * n$

Корректирующий член: $G^2/N = G^2 / kn = 35915,25^2 / (19 * 29) = 2341026$

$$SS_{\text{общ}} = 2349628 - 2341026 = 8602,653$$

2. Сумма квадратов итогов по столбцам:

$$SS_a = \sum ((A_i^2)/n) - G^2/N$$

$$SS_a = 1486449/19 - 2341026 = 2820,86177$$

3. Ошибка опыта:

$$SS_{\text{ошиб}} = SS_{\text{общ}} - SS_a$$

$$SS_{\text{ошиб}} = 8602,653 - 2820,86177 = 5781,791$$

Результаты вычислений представлены в итоговой таблице ДА (табл. 4.10).

**Сводная таблица однофакторного
дисперсионного анализа**

Источник дисперсии	Число степеней свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	Критерий Фишера
Фактор А a_i	$k - 1 = 29 - 1 = 28$	$SS_a = 44533085/19 - 2341026 = 2820,86$	$MS_a = SS_a/(k-1)$ $MS_a = 2821/28 = 100,8$	$F_{\text{эксп.}} = MS_a / MS_{\text{ошиб.}}$ $F_{\text{эксп.}} = 100,85/11,08 = 9,1$
Ошибка ϵ_{im}	$N - k = 551 - 29 = 522$	$SS_{\text{ошиб.}} = 8602,65 - 2820,86 = 5781,79$	$MS_{\text{ошиб.}} = SS_{\text{ошиб.}} / k(n-1)$ $MS_{\text{ошиб.}} = 5782/522 = 11,08$	$F_{\text{эксп.}} > F_{\text{табл.}}$ $9,1 > 1,9$
Итог	$kn - 1 = 551 - 1 = 550$	$SS_{\text{общ.}} = 2349628 - 2341026 = 8602,65$		

Из табл. 4.12 следует, что $F_{\text{эксп.}} > F_{\text{табл.}}$, поэтому гипотеза H_0 не подтвердилась (средний квадрат фактора А значительно отличается от среднего квадрата ошибки). Это позволяет определить все средние, которые отличаются друг от друга по ранговому критерию Дункана.

1. Подсчитываем нормированные ошибки:

$$S_H = \sqrt{(MS_{\text{ошиб.}}/n)}$$

$$S_H = \sqrt{10,87/19} = 0,7563$$

2. Обращаемся к табличным значениям (таблица Дункана)

$$F = k*(n - 1) = 532$$

$$k-1 = 28 \text{ значимых рангов}$$

3. Выписываем 28 чисел из нижней строки таблицы

2,8 2,95 3,05 3,12 3,18 3,22 3,26 3,29 3,32 3,36 3,4 3,42 3,45
3,47 3,53 3,53.

Умножаем эти значения рангов на нормированную ошибку $S_n = 0,76$ получаем:

2,2 2,3 2,4 2,4 2,4 2,5 2,5 2,5 2,5 2,6 2,6 2,6 2,6 2,6 2,7
2,7 2,7 2,7.

4. Наибольшее против наименьшего

Делаем ранжирование средних размеров яйцеклеток по каждой мидии индивидуально и присваиваем каждой мидии порядковый номер от 1 до 29. Сравниваем самую крупную мидию № 29 с размером яйцеклеток 72,5 мкм с остальными.

Мидия № 29 с размером яйцеклеток 72,5 мкм с №1, у которой размеры яйцеклеток самые мелкие (61,8 мкм): $72,5 - 61,8 = 10,7$; $10,7 > 2,64$ (яйца мидий различаются). Обнаруживается значимая разница между яйцеклетками мидии № 29 с яйцеклетками мидии № 1.

Сравниваем размеры яйцеклеток мидии № 28 (68,51 мкм) с размерами яйцеклеток мидии №29 (72,5 мкм); $72,5 - 68,51 = 4,01$; $4,01 > 2,64$

Мидия № 28 с размером яйцеклеток (68,5) превышает размеры яйцеклеток моллюсков с №1 по № 20 (61,8–65,8 мкм);

Мидия № 27 с размером яйцеклеток (68,5 мкм) превышает размеры яйцеклеток особей с №1 по № 20 (61,8–65,8 мкм)

Мидия № 26 с размером яйцеклеток (67,51) превышает размеры яйцеклеток моллюсков с №1 по №16 (61,8–64,5 мкм)

Мидия № 25 с размером яйцеклеток (67,51) превышает размеры яйцеклеток особей с №1 по №16 (61,8–64,5 мкм)

Мидия № 24 с размером яйцеклеток (66,8) превышает размеры яйцеклеток мидий с №1 по №14 (61,8–64,17 мкм)

Мидия № 23 с размером яйцеклеток (66,84) превышает размеры яйцеклеток мидий с №1 по №14 (61,8–64,17 мкм)

Мидия № 22 с размером яйцеклеток (66,84) превышает размеры яйцеклеток мидий с №1 по №14 (61,8–64,17 мкм)

Мидия № 21 с размером яйцеклеток (66,5) превышает размеры яйцеклеток мидий с №1 по №12 (61,8–63,8 мкм)

Мидия № 20 с размером яйцеклеток (65,8) превышает размеры яйцеклеток мидий с №1 по № 5 (61,8–63,2 мкм)

Мидия № 19 с размером яйцеклеток (65,5) превышает размеры яйцеклеток мидий с №1 по № 3 (61,8–62,8 мкм)

Мидия № 18 с размером яйцеклеток (65,5) превышает размеры яйцеклеток мидий с №1 по № 3 (61,8–62,8 мкм)

Мидия № 17 с размером яйцеклеток (65,5) превышает размеры яйцеклеток мидий №1 и № 2 (61,8–62,5 мкм)

Мидия № 16 с размером яйцеклеток (64,5) превышает размеры яйцеклеток мидий с №1 (61,8 мкм)

Мидии №1 – № 14 не имеют значимых отличий по размерам яйцеклеток. На основании полученных результатов построена гистограмма индивидуальных различий диаметров яйцеклеток у 29 мидий. Моллюски, получившие одинаковые ранги, производят яйцеклетки одинакового размера (рис. 4.2).

Анализ данных по схеме однофакторного ДА позволяет сделать следующие выводы:

- Эффект фактора А статистически значим, то есть диаметр яйцеклеток зависит от индивидуальных особенностей мидий.
- У 51% исследованных мидий диаметр яйцеклеток превосходил соответствующие диаметры яйцеклеток остальных мидий.
- Средний диаметр яйцеклеток мидии № 29 превосходил средние значения диаметров яйцеклеток остальных 28 мидий.
- Различия средних размеров диаметров яйцеклеток у 49 % мидий статистически не достоверны.

Изменчивость размеров яйцеклеток определяется, главным образом, влиянием факторов среды (температурой, наличием кормового фитопланктона) и наследуемыми признаками [116]. Размеры яйцеклеток культивируемых мидий зависят, в основном, от температуры, при которой

происходит созревание. Низкая температура обуславливает задержку вителлогенеза, определяющего конечные размеры яйцеклеток [116]. У мидий, культивируемых в бухте Ласпи, ранее уже отмечали достоверное различие в размерах их яйцеклеток в весенний и осенний сезоны размножения [116].

Нами получены достоверные различия в размерах яйцеклеток в зависимости от сезона и окраски раковины. Мидии обеих цветовых морф, нерестящиеся весной, производили яйцеклетки с большими размерами, чем особи, нерестящиеся в осенне-зимний сезон (для уровня значимости $P = 0,05$ и числа степеней свободы $k = 61$, $t_{\phi} - 5,9 > t_{st} - 2,0$. Разность между средними размерами яйцеклеток в весенний и осенне-зимний периоды достигала более 7 мкм (соответственно 71,8 и 64,8 мкм).

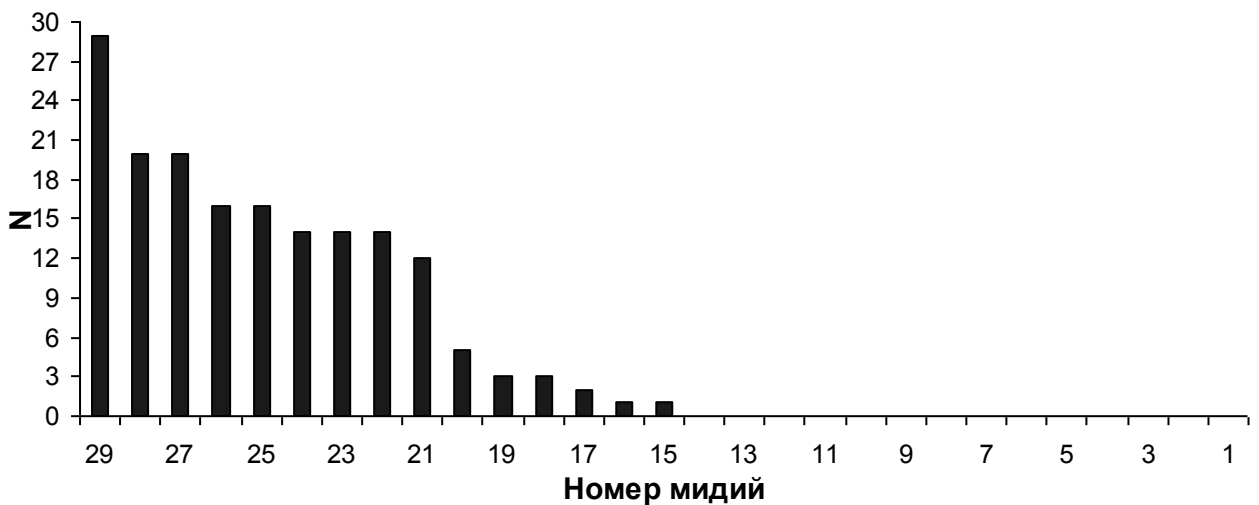


Рис. 4.2 Ранжирование мидий методом дисперсионного анализа по размерам их яйцеклеток (N – значение ранга, численно равное количеству мидий, размеры которых меньше размеров яйцеклеток данной мидии)

Для изучения степени влияния двух качественных факторов (окраска раковины и сезон года) на размеры яйцеклеток данные были проанализированы методом 2-факторного дисперсионного анализа. Следует

отметить, что оба фактора (окраска раковины и сезон сбора материала) являются качественными, а не количественными.

Исходные данные сведены в таблицу, представляющую собой квадрат 2×2 , то есть состоящий из четырёх ячеек, полученных из сочетания двух уровней фактора А (фенотип мидии: чёрный, коричневый) с двумя уровнями фактора В (сезон: весна, осень – зима); $y_1, y_2 \dots$ – размеры яйцеклеток. В каждой ячейке число повторов равнялось 10. Таким образом, общее число исходных данных равно 40 (табл. 4. 13).

Таблица 4.13

**План эксперимента на основе двухфакторного
дисперсионного анализа**

В/А	a_1		a_2		B_j	B'_j
b_1	66,92	$\Sigma 668,27$	66,78	$\Sigma 627,87$	1296,15	6,48
	66,04		62,59			
	69,06		61,81			
	66,68		61,23			
	64,17		63,95			
	71,81		61,69			
	65,72		61,16			
	66,26		65,37			
	65,09		66,04			
	66,54		63,26			
b_2	68,01	$\Sigma 758,81$	68,58	$\Sigma 680,64$	1439,45	7,20
	68,01		66,68			
	81,73		67,87			
	92,63		65,14			
	67,39		73,13			
	71,28		64,53			
	67,39		66,37			
	68,01		66,29			
	81,73		74,22			
	92,63		67,87			
ΣA_i	1427,08		1308,51		$G =$ 2735,59	
A_i среднее	71,36		68,06			

Вычислительная процедура подсчёта сумм квадратов отклонений:

$$\text{Количество сезонов: } n = a \cdot b = 10 \cdot 2 = 20$$

$$\text{Количество повторов: } m = 10$$

$$\text{Общее число наблюдений: } N = 10 \cdot 4 = 40$$

$$G = \sum A_i = 2735,592$$

$$G^2/N - \text{корректирующий или поправочный член, } N = k \cdot n$$

$$\text{Поправочный член: } G^2/N = G^2 / kn = 2735,59^2 / 40 = 187086,6$$

$$\text{Сумма квадратов итогов по столбцам: } SS_a = \sum (A_i^2 / n) - G^2 / N$$

$$SS_a = (3748760 / 20) - 187086,6 = 351,46$$

$$\begin{aligned} \text{Сумма квадратов итогов по строкам: } SS_b &= (1296,15^2 + 1439,45^2) / 20 - 187086,6 \\ &= 513,39 \end{aligned}$$

$$\text{Сумма итогов: } SS_a + SS_b = 351,46 + 513,39 = 864,86$$

$$\text{Сумма квадратов наблюдений: } \sum \sum y_{im}^2 = 189133,1$$

$$\text{Общий итог: } SS_{\text{общ}} = \sum \sum y_{im}^2 - G^2 / N$$

$$SS_{\text{общ}} = 189133,1 - 187086,6 = 2046,51$$

$$\begin{aligned} \text{Сумма квадратов итогов по испытаниям: } SS_{\text{испытаний}} &= \sum A_i^2 / m - G^2 / N = (668,27^2 + \\ &758,81^2 + 627,87^2 + 680,64^2) / 10 - 187086,6 = 900,54 \end{aligned}$$

$$\text{Остаток: } SS_{\text{остаток}} = SS_{\text{общ}} - SS_{\text{испытаний}} = 2046,51 - 900,54 = 1145,97$$

$$\text{Сумма квадратов взаимодействий: } SaSb = SS_{\text{испытаний}} - (SS_a + SS_b)$$

$$SaSb = 900,54 - (351,46 + 513,39) = 35,67283$$

Результаты обработки данных приведены в сводной таблице двухфакторного ДА (табл. 4.14).

Нами показано, что для исследуемых факторов (табл. 4.14) экспериментальные значения критерия Фишера превышают табличные (критические) значения, поэтому различия средних для обеих факторов статистически достоверны.

**Сводная таблица двухфакторного
дисперсионного анализа**

Источник дисперсии	Число степ. свободы	Сумма квадратов SS	Средний квадрат MS	$F_{\text{эксп.}}$	$F_{\text{табл.}}$	$a_i=0$ $b_i=0$ $a_i b_i=0$
А	2-1=1	351,46	351,46/1=351,46	351,46/57,3=6,13	$F = 4,4$ $f_1 = 1$ $f_2=20$	$F_{\text{эксп.}} > F_{\text{табл.}}$
В	2-1=1	513,4	513,4/1=513,4	513,4/57,3=8,96	$F = 4,4$ $f_1 = 1$ $f_2=20$	$F_{\text{эксп.}} > F_{\text{табл.}}$
АВ	1*1=1	35,67	35,67/1=35,67	35,67/57,3=0,62		$a_i b_i=0$
Ошибка	40-20=20	1145,97	1145,97/20=57,3			
Сумма	40-1=39	2046,51	2046,51			

В данном случае сравнение средних значений по ранговому критерию Дункана не проводилось, так как из сводной таблицы двухфакторного эксперимента следует, что размеры яйцеклеток мидий, выметанных весной, достоверно превосходят размеры яйцеклеток, выметанных в осенне-зимний сезон. Размеры яйцеклеток мидий с коричневой окраской раковины превосходят таковые мидий с чёрной окраской. Ранее было отмечено преимущество коричневой морфы в отношении интенсивности уровня белкового синтеза у самок на 5-й стадии зрелости гонад [172]. Установлено так же, что взаимодействие факторов «сезон» и «фенотип» отсутствует ($t_{\text{эксп.}} > t_{\text{табл.}}$) (рис. 4.3).

Рис. 4.3 иллюстрирует вклад рассматриваемых факторов в индивидуальную изменчивость анализируемого признака. Значительная роль

(56 %) в вариабельности принадлежит факторам, не изучаемым нами в рамках данного эксперимента. Предположительно, в их число входит наследственность, которая, по данным А. В. Пирковой [116], занимает 30 – 60 %. Следующим по значимости фактором (25 %), определяющим размеры яйцеклеток, является сезон (температура, кормовая обеспеченность и т. д.). Вклад окраски раковины в индивидуальную изменчивость также существенен – 17 %. Размеры яйцеклеток определяются, главным образом, факторами среды, среди которых особенно значима температура воды в период их созревания. Внутрисезонная вариабельность размеров яйцеклеток, обусловлена, предположительно, генотипическими особенностями особей.

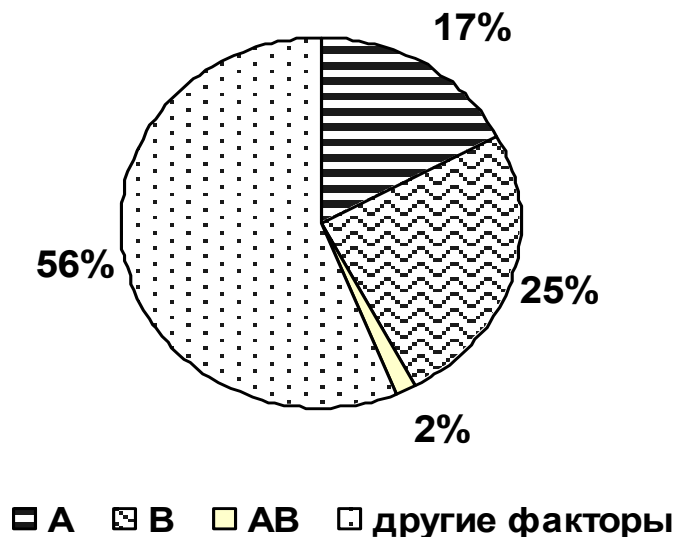


Рис. 4.3 Процентное соотношение качественных факторов, определяющих индивидуальную изменчивость диаметра яйцеклеток: А – фенотип, В – сезон, АВ – межфакторное взаимодействие

В осенне-зимний сезон модальную группу (85 %) составляли мидии с размером яйцеклеток от 60 до 67 мкм, в весенний сезон – от 60 до 75 мкм

(80 %) (рис. 4.4). Коэффициент асимметрии в осенне-зимний сезон (A_s) составлял 0,55. Весной наблюдался сдвиг в сторону увеличения размеров яйцеклеток и A_s составлял 1,68.

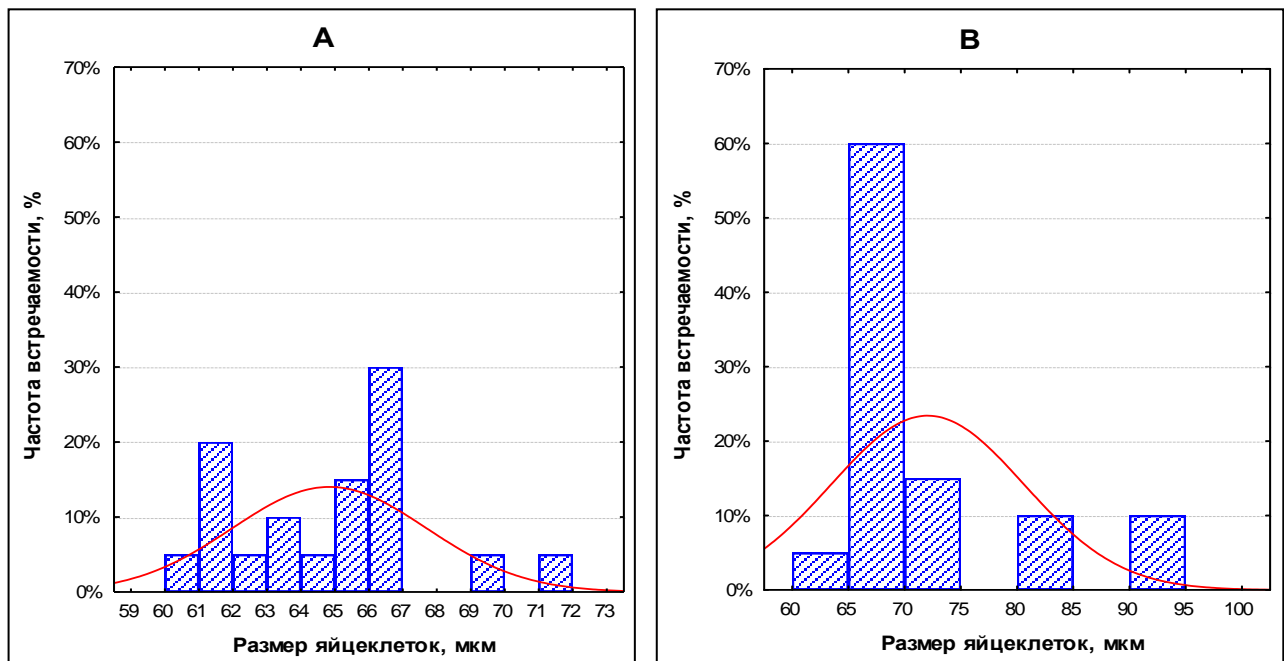


Рис. 4.4 Общее распределение яйцеклеток по размерам (А – осень-зима; В – весна)

Анализ полученных результатов позволяет сделать следующие выводы:

- весной мидии обеих цветовых морф производят более крупные яйцеклетки, чем в осенне-зимний сезон.
- у мидий, как с чёрной, так и с коричневой окраской раковины отмечена низкая индивидуальная вариабельность размеров яйцеклеток
- для селекционной работы целесообразно использовать мидии с коричневой окраской раковины, продуцирующие яйцеклетки более крупного размера, позволяющие получать личинок с высокой выживаемостью.

4.4. Концентрация некоторых тяжёлых металлов в раковине, мягких тканях и гонадах

Одним из основных компонентов техногенного загрязнения вод Чёрного моря, в том числе и севастопольских бухт, являются тяжелые металлы. Среди них ртуть, свинец, кадмий, медь и цинк – наиболее токсичны для гидробионтов [88]. Основное внимание в нашей работе уделено изучению содержания меди в организме культивируемых мидий, поскольку, в отличие от других перечисленных тяжёлых металлов, она способна переходить от окисленного в восстановленное состояние, изменяя свою валентность, благодаря чему может включаться во многие биохимические процессы клетки [112, 126, 178, 202, 218]. Учитывая, что мидии являются фильтраторами и, следовательно, в процессе жизнедеятельности могут накапливать в своём организме различные тяжёлые металлы, в том числе и медь, было интересно исследовать её содержание в створке, мягких тканях и генеративной ткани. Выбор перечисленных тканей связан с тем, что каждая из них характеризуется различными депонирующими возможностями.

Форма и элементный состав раковин моллюсков обладают максимальной консервативностью по сравнению с мягкими тканями [36, 37, 38, 39]. Микроэлементы и некоторые вещества, входящие в состав раковины, надолго сохраняются и являются носителями информации об изменениях окружающей среды. Поэтому раковина моллюсков используется при мониторинге морской среды, в стратиграфии и палеоэкологии [43]. Данные исследований раковин моллюсков могут быть полезны также при решении вопросов эволюции биосферы [62].

Благодаря высокому уровню обменных процессов и незамкнутой кровеносной системе, которая позволяет гемолимфе омывать все органы моллюска, мягкие ткани способны не только накапливать, но и быстро выводить микроэлементы. Изучение содержания Cu в мягких тканях

помогает оценить физиологическую активность отдельных особей в популяции коллекторных мидий.

Индивидуальная вариабельность содержания токсичных металлов (Cu, Zn, Cd, Pb) в генеративной ткани – необходимый этап в исследовании генотоксичности этих микроэлементов. Известно, что ионы Cu могут блокировать фосфатные и аминные группы в молекуле ДНК, изменять её структуру и быть потенциальным мутагеном [178]. Кроме того, медь входит в состав клеточного фермента цитохром-с-оксидаза и способна влиять на скорость синтеза ДНК и РНК, которые происходят по редокс-механизму [185].

4. 4. 1. Содержание Cu в раковинах. Раковина моллюска составляет значительную часть его массы и выполняет ряд функций – каркасную, защитную, биохимическую [10]. Известно, что её масса может достигать 45 % общей массы моллюска, незначительно изменяясь с возрастом [6, 7, 23]. По нашим расчётам, доля массы раковины в общей массе у коллекторных мидий размером 30 мм может достигать 39 %, а у особей длиной 50 мм – 37 %. Неорганическую часть створки (остракум) формируют карбонатные соединения Ca, Sr, Si, Fe, Al, Cu [40]. Основной компонент створки – CaCO₃ обычно представлен кальцитом или арагонитом, которые в большинстве случаев формируют отдельные слои. В органическую часть створки (периостракум) входят соединения белковой природы, углеводы [110], а также вещества, определяющие окраску раковины [40].

Наши исследования мидий товарного размера из бухты Мартынова в 2007 и 2008 гг. выявили различия в содержании органического вещества (ОВ) и зольности раковин у моллюсков с различной окраской раковины. Кроме того, отмечена тенденция к повышению содержания ОВ у самцов и самок с чёрной окраской раковины (табл. 4.15).

**Содержание органических и неорганических компонентов в раковинах
самцов и самок коллекторных мидий**

Окраска раковины	ОВ, %	Зольность, %
Самки		
Коричневая	5,40 ± 0,05	94,60 ± 0,90
Чёрная	6,30 ± 0,05	90,30 ± 0,80
Самцы		
Коричневая	6,00 ± 0,06	94,00 ± 0,85
Чёрная	6,50 ± 0,06	93,50 ± 0,90

Депонирование Cu в раковине происходит в процессе её роста и развития. Этот металл прочно связывается и накапливается в виде органических и неорганических компонентов в створках моллюсков обоих полов. Нами изучено содержания меди у мидий с длиной раковины 30 мм, которые характеризуются более интенсивным темпом роста, и у моллюсков товарного размера (50 мм) (рис. 4.5).

Индивидуальное содержание Cu в раковинах самок и самцов мелких мидий было различным и изменялось в диапазоне соответственно от 4 до 8 и от 4 до 12 мкг*г⁻¹ золы,. У мидий товарного размера оно сохранялось в диапазоне 4–9 мкг*г⁻¹ золы.

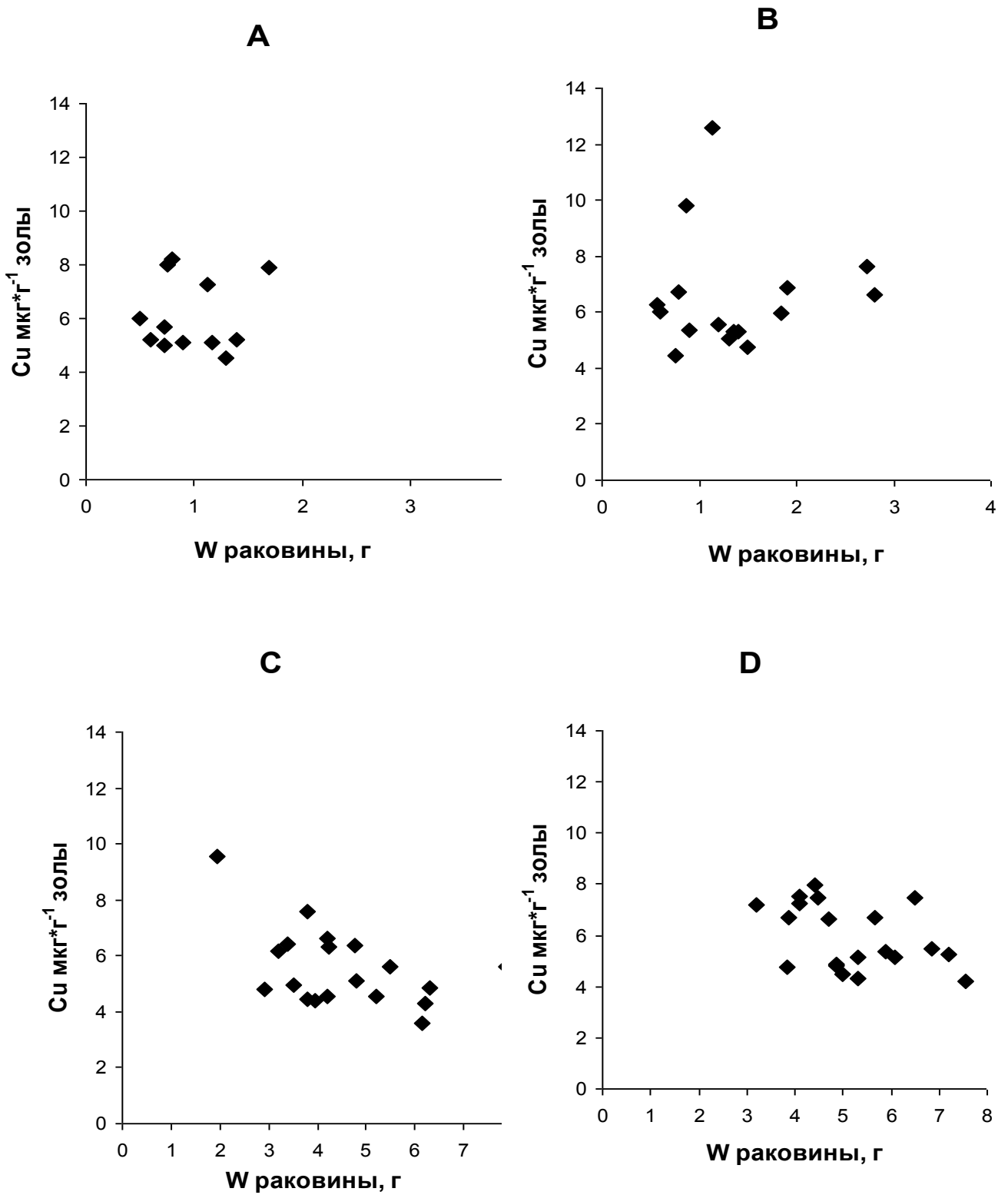


Рис. 4.5 Концентрация Cu в раковинах коллекторных мидий (А – 30 мм, самки, В – 30 мм, самцы, С – 50 мм, самки, D – 50 мм, самцы)

Рассчитанные коэффициенты вариации показывают, что содержание Cu в раковинах моллюсков товарного размера менее вариабельно, чем у мелких особей (табл. 4.14).

Таблица 4.14

**Вариабельность содержания Cu в раковинах *M. galloprovincialis*
в зависимости от размера, пола и окраски раковины
(бухта Мартынова 2007 – 2008 гг.)**

Cu, мкг·г ⁻¹ золы, CV±Δ CV, %				
Окраска раковины	Длина раковины 30 мм		Длина раковины 50 мм	
	♂	♀	♂	♀
Коричневая	6,8 (5,3 – 9,8) CV= 23,0±3,4	6,3 (4,6 – 9,6) CV= 35,1±5,8	5,5 (4,2 – 7,5) CV= 21,8±3,3	5,1 (3,6 – 6,4) CV= 18,8±2,6
Чёрная	6,7 (4,8 – 12,6) CV= 38,6±6,3	6,4 (5,0 – 8,2) CV= 23,4±3,6	6,2 (3,8 – 8,0) CV= 18,6±2,8	5,7 (4,4 – 7,6) CV= 19,7±2,9

По-видимому, с возрастом накопление меди в раковине первоначально замедляется, а затем стабилизируется, т. е. по мере увеличения размеров раковины этот элемент из нее практически не выводится. Полученные коэффициенты вариации позволяют считать раковину моллюсков консервативным органом по отношению к депонированной Cu . К настоящему времени достоверно неизвестно [216], где в большем количестве депонируется Cu – в остракуме или периостракуме. Выявленную корреляцию между содержанием меди, неорганической и органической составляющими раковины иллюстрирует рис. 4.6.

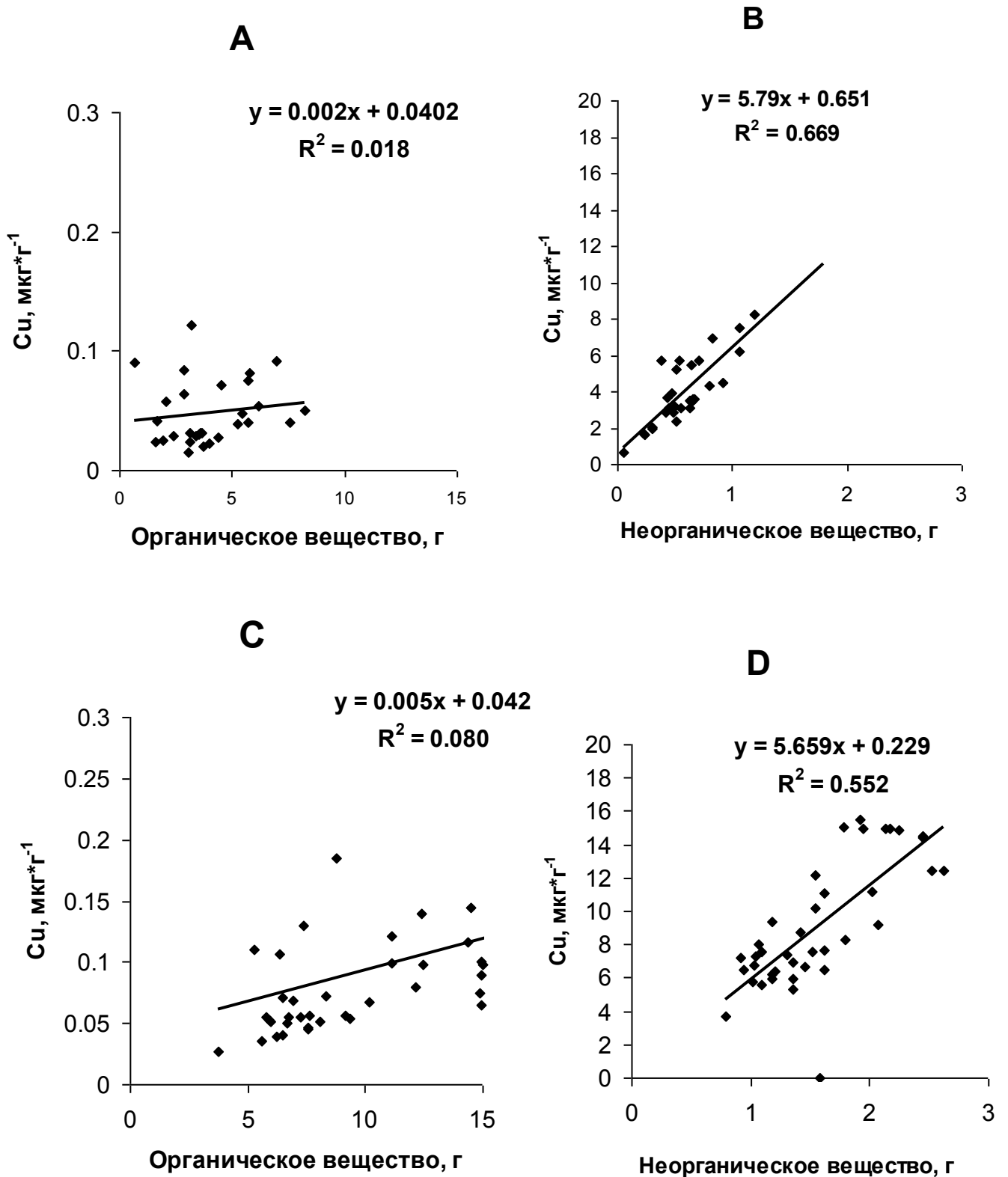


Рис. 4.6 Взаимосвязь индивидуального содержания Cu с органической и неорганической компонентами створок (А, В – длина раковины 30 мм; С, D – длина раковины 50 мм)

Полученные результаты позволяют отметить, что большая часть депонированной меди связана с неорганической компонентой створок моллюсков обеих размерных групп. Коэффициент детерминации составляет 0,65 – 0,67, что показывает заметную взаимосвязь этих параметров. Образование CuCO_3 может происходить одновременно с образованием CaCO_3 или в результате вытеснения ионов Ca из молекулы кальцита, т. к. известно, что CuCO_3 более устойчив и менее растворим: $\text{PP}_{\text{CuCO}_3}(2,5 \cdot 10^{-10}) < \text{PP}_{\text{CaCO}_3}(3,8 \cdot 10^{-9})$, где PP – произведение растворимости [33].

В работах В. А. Дехты [38, 41, 42] отмечено влияние тяжёлых металлов на морфометрические показатели мидий естественных поселений. Более высокие концентрации тяжёлых металлов в створках мидий обнаруживались в районах с их повышенным содержанием в воде. Это повлекло за собой аномалии роста моллюсков. Обнаружена также связь между формой раковины и уровнем развитости техногенных структур берега (порты, предприятия, транспорт и т. д.) [38, 42]. В частности, индекс выпуклости створок и его дисперсия увеличивались в акваториях причалов и портов, достигая максимума в крупных портах. Была получена корреляция между содержанием тяжёлых металлов в створке и выпуклостью. Изменчивость формы раковин мидии связана с накоплением комплекса элементов, в значительной мере представляющих техногенный фон [38, 41, 42]. При исследовании коллекторных моллюсков (б. Мартынова) нами показано, что к техногенному загрязнению морской среды более чувствительны мидии с длиной раковины 30 мм обеих цветовых морф. У таких моллюсков выявлено замедление линейного роста (увеличение индекса H/L до 0,62 – 0,68), изменение ширины и толщины раковины при накоплении в ней Cu [162]. По нашим данным получена тесная корреляция между содержанием Cu и толщиной створки ($r = 0,57-0,83$ при $p < 0,001$) (рис. 4.7). Более тесная корреляция отмечена для мидий с коричневой окраской раковины, что подтверждает данные [17, 20] о том, что моллюски данного морфа более чувствительны к загрязнению. К тому же, при равном содержании Cu в

раковинах мидий створки с чёрной окраской раковины толще, чем с коричневой окраской (рис. 4.7).

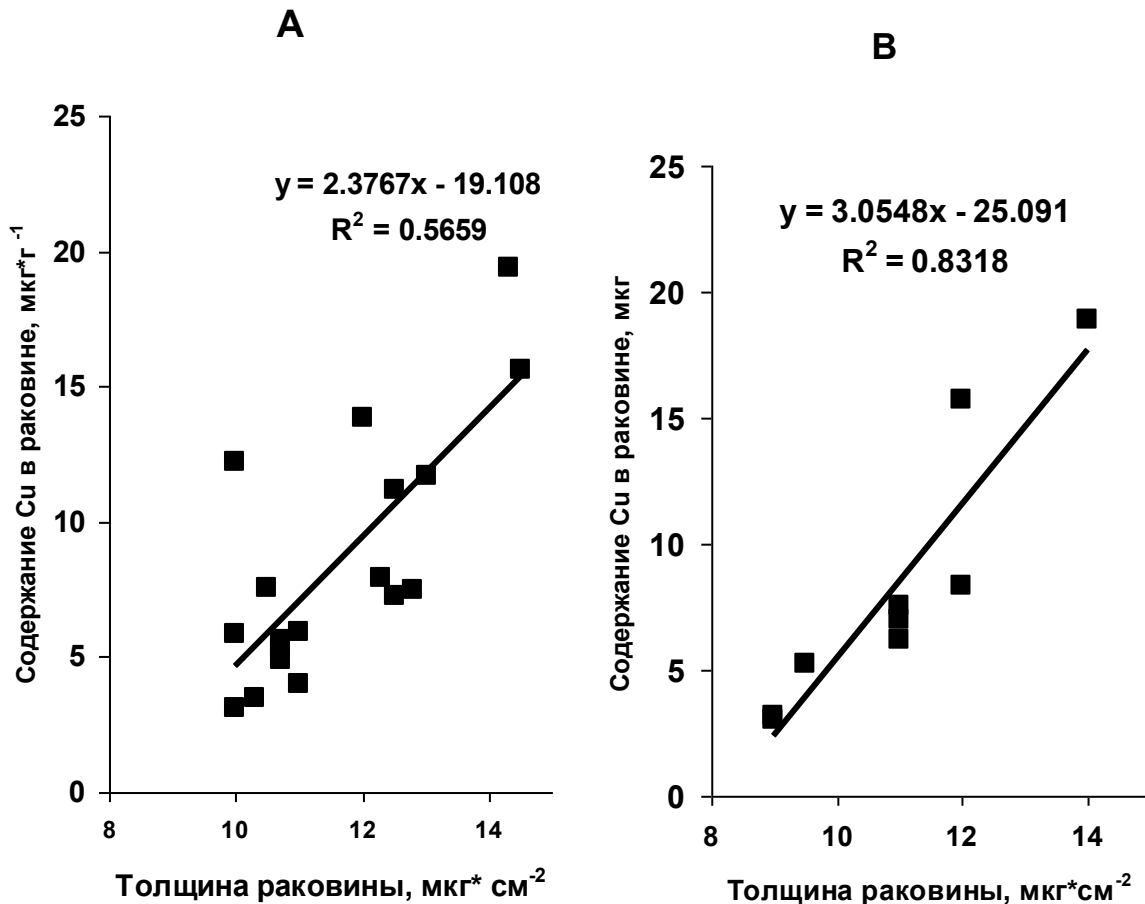


Рис. 4.7 Концентрация Си в раковинах мидий с различной толщиной (окраска раковин: А – чёрные; В – коричневые)

Для мидий обеих размерных групп выявлена корреляция между выпуклостью раковины и содержанием в ней Си. Коэффициент корреляции этих параметров у моллюсков размером 30 мм – положительный (+0,4), а у особей размером 50 мм – отрицательный.

Отрицательная корреляция этих параметров означает, что рост содержания Си в раковине мидий товарного размера лимитирует её выпуклость, что не согласуется с отмеченной другими исследователями закономерностью: увеличения выпуклости раковины с возрастом моллюсков [53]. Кстати, подобные явления ограничения выпуклости раковины могут

сказаться на массе мягких тканей выращиваемых мидий, а следовательно, и на экономических показателях ферм.

4. 4. 2. Содержание Cu в мягких тканях. Содержание Cu в мягких тканях мидий характеризуется высокой вариабельностью, зависит от различных факторов окружающей среды и физиологического состояния моллюска, что отмечено многими авторами [77, 126, 180, 204, 211, 222, 224]. В 2007 г. с целью оценки индивидуальной изменчивости содержания Cu в мягких тканях моллюсков двух размерных групп нами исследованы мидии, отобранные на ферме внешнего рейда Севастополя (табл. 4. 15).

Моллюски более интенсивно накапливали Cu в летний период, после весеннего нереста, в процессе последующего соматического роста. Отмеченная закономерность, по-видимому, связана с гидролого-гидрохимическими особенностями акватории расположения фермы. В летний период года на взморье г. Севастополя часто отмечаются сгонные явления, после чего наблюдаются «вспышки» развития фитопланктона (особенно мелкоклеточных диатомовых и кокколитофорид – доступного корма для моллюсков), который является аккумулятором соединений меди и других тяжёлых металлов, благодаря высокой площади поверхности организмов [132]. Сгонные явления способствуют переходу меди из донных отложений в водную толщу [102, 150], а при разложении высокой биомассы фитопланктона в воду выделяются растворённые ионы меди. В летний сезон антропогенная нагрузка на акватории г. Севастополя возрастает, это касается и токсичных металлов. Возможно, что и этот фактор внёс определённую роль в значительное содержание меди в тканях мидий. В осенний период происходило уменьшение содержания меди в мягких тканях, что связано с осенним пиком нереста у *M. galloprovincialis*. Медь, благодаря высокой химической активности, прочно связывается с белками половых клеток и выходит в процессе нереста наружу, что приводит к её общему уменьшению в теле моллюска [76, 105, 178].

Противоположная картина по содержанию тяжёлых металлов в мягких тканях моллюсков в зависимости от сезона года получена для *Mytilus edulis* [189]. Авторы отмечают минимальное содержание меди в мягких тканях летом и возрастание её содержания к зиме. Такие различия в концентрировании меди моллюсками рода *Mytilus* связаны, по-видимому, с различиями в сезонности размножения изучаемых объектов. Известно, что *Mytilus edulis* нерестится летом и основной пик нереста приходится на начало июля [35], когда авторы и отмечали минимальное содержание микроэлемента в теле моллюска. У черноморской *M. galloprovincialis* выделяют два пика размножения – весенний и осенний, иногда также отмечают наличие зимнего периода размножения. Таким образом, снижение концентрации меди мы наблюдали в течение осеннего нереста.

При сравнении содержания Cu в мягких тканях молодежи и взрослых особей отмечена более высокая способность мелких моллюсков накапливать Cu, что уже обсуждалось нами ранее [160]. У мидий с размером раковин 30 мм энергетические процессы и фильтрационная активность протекают быстрее, чем у более крупных 50 мм особей [15]. По данным С. А. Горомосовой [31], наибольшее увеличение количества белка («сырого протеина») наблюдалось у годовиков (мелких) мидий – 350 мг* год⁻¹. Всё это, по-видимому, и объясняет более высокое содержание меди в их мягких тканях. У самок обеих размерных групп прослеживается тенденция более высокого содержания Cu, как в летний, так и осенний периоды года.

Концентрация Cu в мягких тканях изменяется в зависимости от стадии гаметогенеза моллюсков и значительно увеличивается на 3 и 4-й стадиях зрелости гонад. На 5-й, нерестовой, стадии наблюдается тенденция небольшого увеличения или сохранения содержания Cu на одном уровне у самок и его незначительного уменьшения у самцов.

Концентрация Cu в мягких тканях *M. galloprovincialis*
в зависимости от пола и стадии зрелости гонад
в разные сезона года

Стадии гаметогенеза	Cu, мкг*г ⁻¹ сухой ткани			
	30 мм (n = 180)		50 мм (n = 170)	
	♂	♀	♂	♀
Лето				
2	95,6 ± 18,5 (45,6–110,3)	101,4 ± 34,4 (16,7–120,6)	79,2 ± 24,3 (35,9–94,4)	81,5 ± 29,3 (12,8–93,6)
3	135,6 ± 36,2 (49,4–176,3)	150,3 ± 38,5 (29,3–160,9)	88,1 ± 22,4 (24,3–90,9)	89,1 ± 39,5 (15,65–93,2)
4	120,9 ± 34,8 (60,3 – 174,3)	155,7 ± 45,4 (25,5–185,3)	90,7 ± 28,6 (47,4–130,3)	93,7 ± 31,1 (15,58–99,9)
5	131,2 ± 35,2 (60,1–186,7)	156,4 ± 48,1 (29,4–189,1)	94,4 ± 32,3 (27,8–112,1)	95,6 ± 38,4 (19,6–122,5)
Осень				
2	41,6 ± 16,2 (35,2–80,4)	44,9 ± 18,2 (28,3–98,4)	20,4 ± 5,1 (10,2–25,5)	21,8 ± 9,6 (2,9–49,0)
3	56,3 ± 17,4 (36,4–81,3)	60,21 ± 21,3 (28,4–97,6)	23,8 ± 5,9 (7,8–27,9)	23,6 ± 8,6 (4,7 – 48,5)
4	52,4 ± 17,2 (38,5–89,2)	62,7 ± 18,7 (27,3–99,4)	23,1 ± 7,2 (11,2–39,8)	24,9 ± 9,9 (8,8–39,5)
5	60,3 ± 17,6 (37,3–88,9)	63,8 ± 19,1 (29,4–98,3)	28,9 ± 8,6 (7,6–39,1)	25,1 ± 11,3 (8,7–51,5)

Стабильное увеличение содержания меди у самок при переходе от 2 к 4-й стадии репродуктивного цикла связано с ростом ооцитов в гонадах, в которых при этом возрастает содержание липидов, низкомолекулярных белков и углеводов, с которыми медь образует прочные связи [105].

Стабилизация содержания меди в мягких тканях мидий или её уменьшение к 5-й нерестовой стадии связаны с выведением тяжёлых металлов, в частности, меди, наружу вместе с половыми продуктами [76]. Как было указано ранее, ионы меди образуют с белковыми структурами прочные ковалентные связи. Поэтому различия в содержании этого микроэлемента в гонадах мидий на разных стадиях зрелости может быть связано с аналогичными количественными изменениями белка в процессе созревания гонад *M. galloprovincialis* [71]. Содержание белка находится в прямой зависимости от физиологического состояния моллюска: в периоды активного гаметогенеза, когда мантия наполнена половыми продуктами, количество суммарного белка в теле достигает максимальных значений (до 21 %), а в периоды покоя, когда мантийные доли свободны от половых клеток, содержание этого компонента минимально (5,4 – 10 % на сырую массу). Содержание белка в теле моллюска возрастает при созревании гонад. По литературным данным [71] содержание белка в мягких тканях *M. galloprovincialis* максимально в преднерестовый период – от 52,0 до 68,7 % сухой массы тела моллюска.

Для оценки индивидуальной изменчивости содержания Cu в мягких тканях мидий различного размера, пола и фена мы рассчитали коэффициенты CV (табл. 4.18).

Как видно, коэффициенты вариации содержания Cu у самцов и самок мидий изучаемых размерных групп высокие, но более вариабельны в мягких тканях самок, что объясняется большим количеством питательных веществ в яйцеклетках и большей, по сравнению со сперматозоидами зависимостью их от стадии зрелости гонад (табл. 4.15). Значения CV содержания меди не показали зависимости от окраски раковины в обеих размерных группах.

**Индивидуальная вариабельность содержания Cu
в мягких тканях мидий разного размера, пола и окраски раковины**

Cu, мкг*г ⁻¹ сух массы ткани, CV±Δ CV, %				
Окраска раковины	30 мм		50 мм	
	♂	♀	♂	♀
Коричневая	70,8 ± 19,1	76,1 ± 26,4	51,0 ± 10,2	55,2 ± 13,1
	CV=23,9±10,4	CV=52,9±19,1	CV=36,7±12,0	CV=58,5±21,7
Чёрная	81,9 ± 20,6	86,1 ± 29,8	56,1 ± 9,9	63,3 ± 13,5
	CV=25,5± 7,8	CV=52,3±18,7	CV=35,5±15,2	CV=54,9±19,7

Известно [126], что содержание тяжёлых металлов в гидробионтах зависит не только от экологических, но и от внутренних факторов организма, основной из которых – генетический контроль, Влияние этого фактора проявляется на уровне всех тканей организма. Однако генотоксичность тяжёлых металлов в большей степени может проявляться при их содержании в генеративной ткани и в половых продуктах, поскольку масса гонад наращивается в результате «чистой генеративной продукции», куда могут попасть лишь атомы элементов, которые вовлекаются в синтез физиологически и генетически значимых соединений.

4. 4. 3. Содержание тяжелых металлов в гонадах. Увеличение массы мягких тканей в процессе гаметогенеза происходит в основном, за счет развития гонад. Однако у самцов и самок 50 мм размера генеративная ткань формируется неравномерно, с различной индивидуальной интенсивностью (рис. 4.8).

В весенне-летний период у мидий, отобранных с фермы на внешнем рейде, доля массы гонад в мягких тканях, как у самцов, так и у самок на 3-й стадии гаметогенеза составляла 8,0 – 8,5 % , столь же равномерно

происходило увеличение этого показателя от 3 к 4-й стадии зрелости гонад (рис. 4.8).

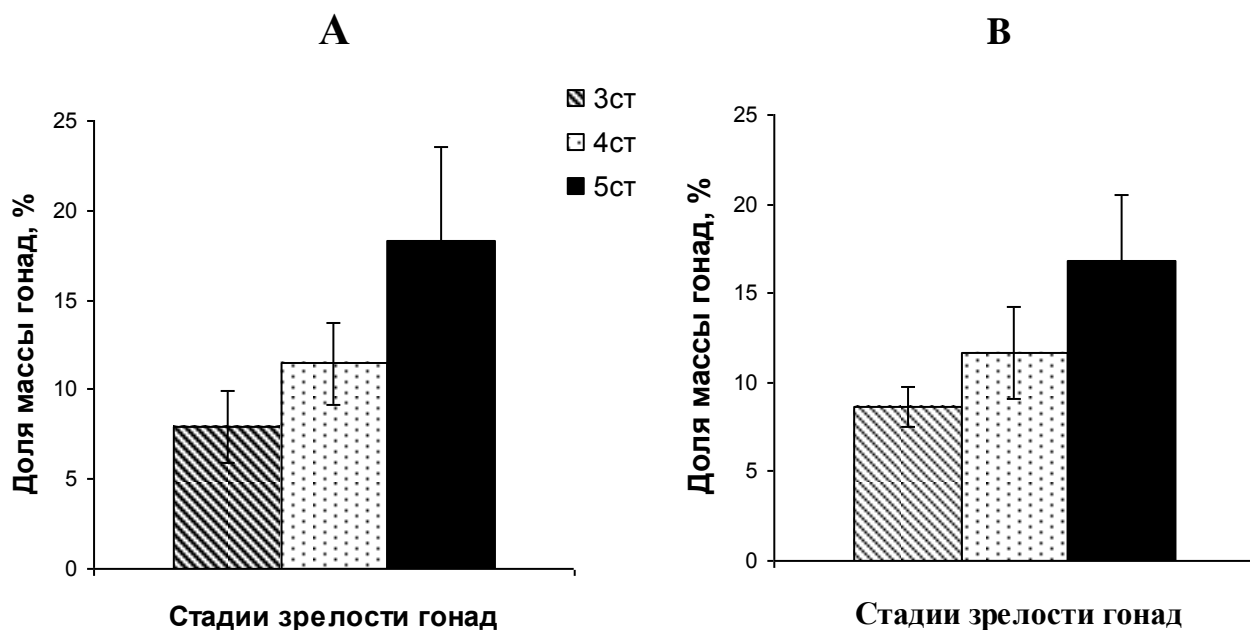


Рис. 4.8 Динамика доли массы гонад в мягких тканях мидий по стадиям гаметогенеза, 2004 г. (А – самки; В – самцы)

К нерестовой стадии доля массы гонад у самок возрастает в большей степени, чем у самцов, что может быть связано с массой и размером яйцеклеток [116].

При определении в гонадах мидий тяжёлых металлов Cu, Cd, Zn, Pb выявлена зависимость их содержания от стадии зрелости гонад и пола (табл. 4.19).

Содержание изучаемых металлов в гонадах мидий было различным. Медь и цинк содержатся в большем количестве, что объясняется биологической значимостью этих микроэлементов для гидробионтов. Цинк необходим для репродуктивной функции мидий, а также является катализатором многих ферментативных процессов [3, 107, 195]. Медь также важный микроэлемент для моллюсков, который, связываясь с азотом,

кислородом и серой, входит в состав протеинов, обладает способностью стабилизировать серосодержащие радикалы [126].

Таблица 4.19

Концентрация тяжёлых металлов в гонадах ($\mu\text{кг}^*\text{г}^{-1}$ массы сухой ткани) мидий различного пола, находящихся на разной стадии зрелости гонад

Тяжёлые металлы	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$			
	3 стадия		4 стадия	
	♀	♂	♀	♂
Zn	$88,38 \pm 13,2$	$90,0 \pm 21,9$	$40,7 \pm 6,9$	$20,4 \pm 3,1$
Cu	$26,5 \pm 17,1$	$38,4 \pm 14,2$	$21,2 \pm 6,3$	$20,7 \pm 4,3$
Pb	$8,9 \pm 2,1$	$8,8 \pm 1,5$	$10,5 \pm 6,7$	$16,4 \pm 2,5$
Cd	$1,9 \pm 1,1$	$1,9 \pm 0,4$	$0,5 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,03$

Кадмий и свинец в меньшей степени принимают участие в жизнедеятельности гидробионтов. Концентрация кадмия, который необходим для нормального углеводного обмена, влияет на синтез некоторых ферментов и гормонов [104], была незначительной. Роль свинца для двустворчатых неизвестна, однако его концентрация возрастает при переходе мидий от 3 к 4-й стадии зрелости гонад, что в большей степени выражено у самцов.

Содержание изучаемых металлов в гонадах мидий было вариабельно (табл. 4.20).

Большая изменчивость концентрации тяжёлых металлов в гонадах мидий связана, по-видимому, с тем, что у моллюсков существует особый механизм связывания ионов тяжелых металлов, обеспечивающий высокую пластичность и позволяющий им выживать в условиях, как природных геохимических аномалий, так и сильного антропогенного загрязнения вод этими токсикантами [120, 163, 164, 224]. Такой механизм обусловлен тем,

что в цитоплазме клеток возрастает количество водорастворимых низкомолекулярных белков-металлотионеинов, обладающих высоким сродством к ионам металлов. Металлотионеины синтезируются в организме в ответ на поступление ионов кадмия, цинка, меди и ртути [150, 151].

Таблица 4.20

Вариабельность содержания тяжёлых металлов ($\text{мкг} \cdot \text{г}^{-1}$) в гонадах мидий различного пола, находящихся на разной стадии зрелости гонад

Тяжёлые металлы	CV $\pm\Delta$ CV, %			
	3 стадия		4 стадия	
	♀	♂	♀	♂
Cu	73,6 \pm 37,2	42,3 \pm 17,4	33,6 \pm 13,1	26,7 \pm 4,8
Pb	25,8 \pm 9,8	19,3 \pm 5,2	72,3 \pm 36,6	19,7 \pm 10,7
Cd	66,2 \pm 32,0	21,6 \pm 7,9	30,7 \pm 11,8	13,6 \pm 7,2
Zn	17,0 \pm 6,2	27,7 \pm 10,5	19,2 \pm 7,0	19,3 \pm 7,0

Более высокие значения коэффициента вариабельности содержания тяжёлых металлов отмечены у самок на 3 – 4-й стадиях зрелости гонад (табл. 4.18). Среди изученных нами тяжёлых металлов в гонадах мидий более вариабельно содержание меди. Изменчивость в накоплении этого микроэлемента объясняется функциональными особенностями строения гонады, когда в ней при переходе с 3 к 4-й стадии развития начинается интенсивный рост белковых структур, с которыми связывается медь [107]. Одним из основных свойств меди, отличающих её от других металлов, является сильная и неспецифичная ассоциация почти со всеми лигандами. Кроме того, на этом этапе в ацинусах гонад двустворчатых моллюсков обнаруживаются питательные клетки, имеющие, в основном, белковую природу, с которыми медь образует более прочные связи [178].

Коэффициент вариации содержания Zn в культивируемых в Чёрном море мидиях выражен слабее, по сравнению с другими металлами, и характеризовался стабильностью. Zn, как и Cu, относится к биофильным элементам [85]. Однако, в отличие от меди, цинк в большей степени влияет на рост, развитие, гормональный метаболизм, стабилизацию рибосом и мембран клеток, воспроизводство и обменные процессы, и организм более строго регулирует его содержание [3, 107, 195, 224]. Так, при исследовании североморских мидий отмечено, что даже после вымета гамет значительного изменения концентрации цинка в мягких тканях мидий не происходило [163].

Результаты исследований индивидуального содержания тяжёлых металлов в гонадах мидий на разных стадиях зрелости гонад, иллюстрирует рис. 4.9. Прежде всего, обращает на себя внимание высокое содержание цинка в гонадах, а также отрицательная зависимость между его содержанием и массой гонад ($r = -0,51$, $P < 0,05$) (рис. 4.9, D). Отрицательную зависимость можно объяснить тем, что у мидий с меньшим весом гонад (моллюски более мелкого размера (активно растущие) или мидии, проходящие 1, 2 стадии зрелости гонад)) потребность в Zn возрастает в связи с его активной ролью в репродуктивных и ростовых процессах. Уровень содержания меди в генеративной ткани самцов и самок также различался. У самок, в отличие от самцов, с увеличением массы гонад при переходе от 3 к 4-й стадии гаметогенеза содержание меди изменялось незначительно (рис. 4.9, C). При расчете доли Cu в гонадах самцов и самок от общего содержания в мягких тканях выявлено, что у самок она изменялась от 1,5 до 2,1 %, у самцов – от 2,4 до 2,8 %.

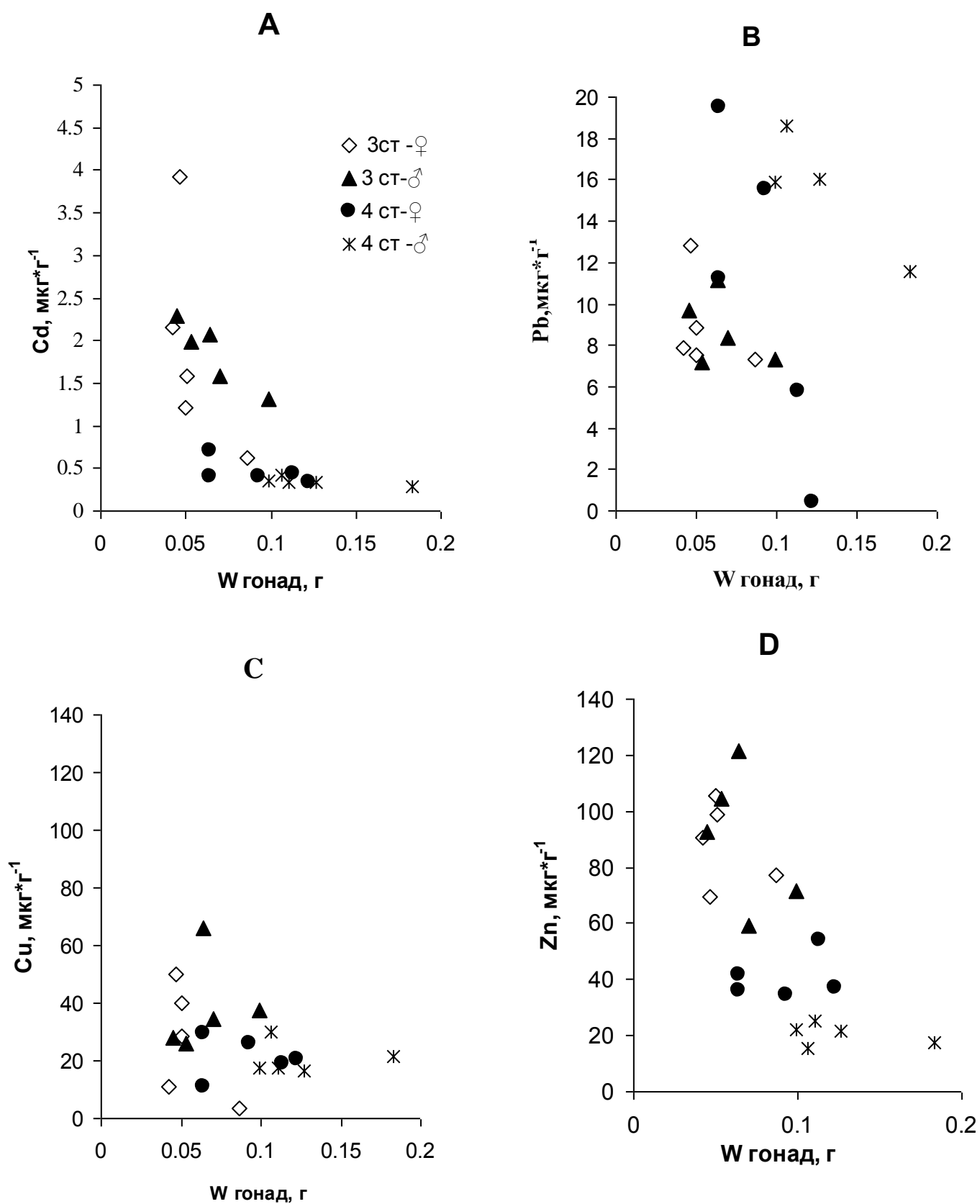


Рис. 4.9 Концентрации кадмия (А), свинца (В), меди (С) и цинка (D) в гонадах самок и самцов мидий на 3 и 4-й стадиях зрелости гонад (лето, 2004)

Содержание Zn, Cu, Cd в гонадах было максимальным на 3-й стадии и снижалось в несколько раз при переходе к 4-й стадии. Полученные результаты можно объяснить ограниченным поступлением металлов в генеративную ткань (генетическим контролем) на фоне значительного прироста массы гонад, особенно у самок на 4-й преднерестовой стадии (см. рис. 4.8). В отличие от перечисленных металлов, концентрация Pb постепенно увеличивалась с ростом массы генеративной ткани мидий в процессе репродуктивного цикла, причём с более выраженной индивидуальной вариабельностью у самок (рис. 4.9, В). Возможно, это связано с особенностями механизмов депонирования свинца на преднерестовой стадии зрелости гонад. Концентрационная способность культивируемой мидии в гонадах уменьшалась от цинка к кадмию: Zn → Cu → Pb → Cd.

Одновременное накопление Zn, Pb, Cd в гонадах сопровождается четкая положительная корреляция между содержанием Zn и Cd ($r = 0,73$, $P < 0,01$) и отрицательная – между содержанием Zn и Pb ($r = -0,60$, $P < 0,01$) (рис. 4.10).

По-видимому, присутствие Zn не лимитирует накопления в гонадах Cd, но ограничивает накопление Pb, что отмечалось авторами [197] при изучении этих процессов у обыкновенной мидии *Mytilus edulis*. Результаты наших исследований взаимосвязи содержания Zn, Cd и Pb с содержанием Cu в гонадах моллюсков приведены на рис. 4.11.

Для гонад самцов выявлена значимая отрицательная корреляция между содержанием Cu и Zn, которые являются конкурентами при взаимодействии с органическими азотсодержащими соединениями, и положительная между содержанием Cu – Pb и Cu – Cd. Возможно, Pb и Cd способны оказывать синергическое влияние на накопление Cu в гонадах моллюсков обоих полов.

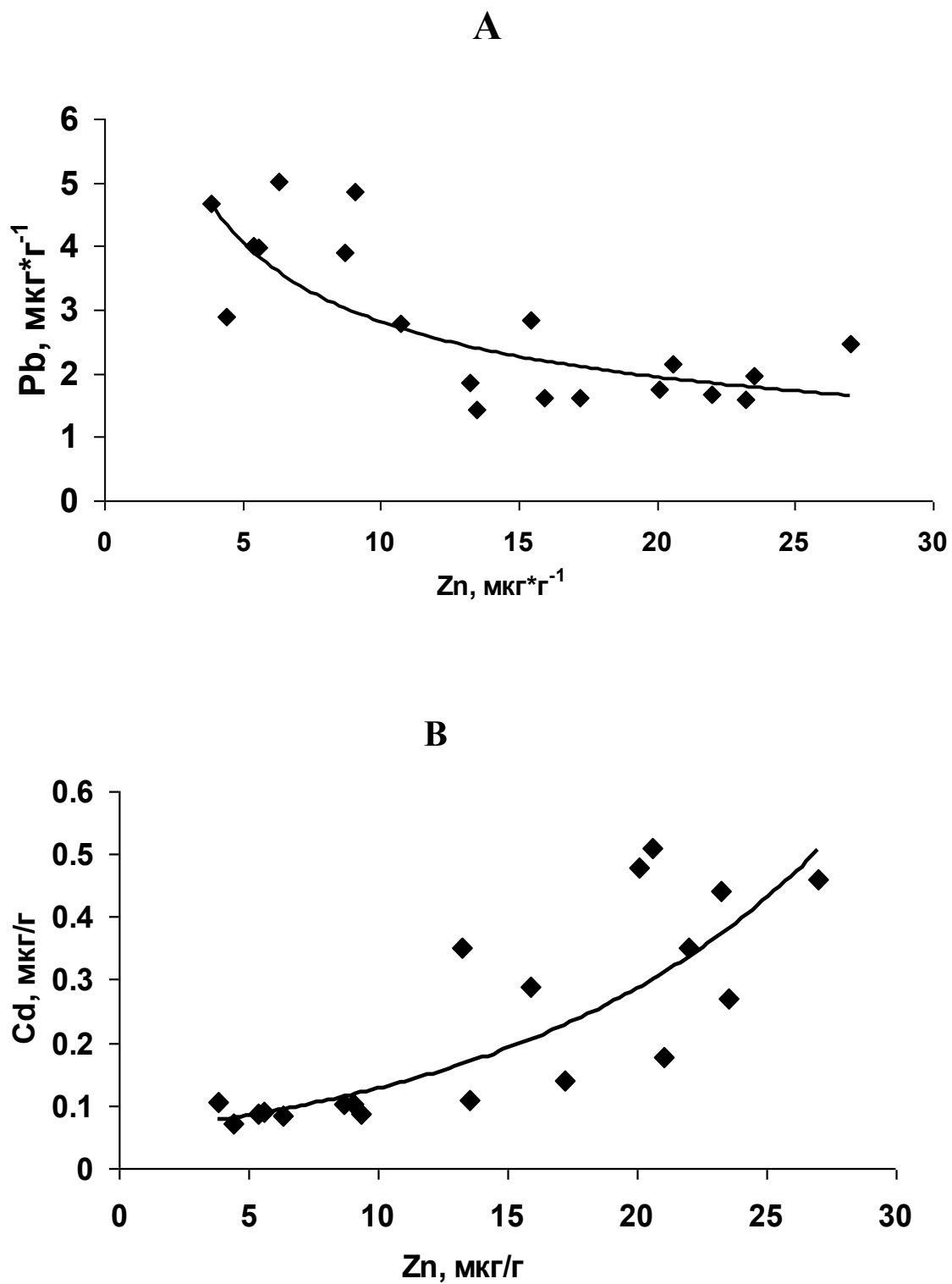


Рис. 4. 10 Взаимосвязь содержания Zn и Pb (A), Zn и Cd (B) в гонадах мидий

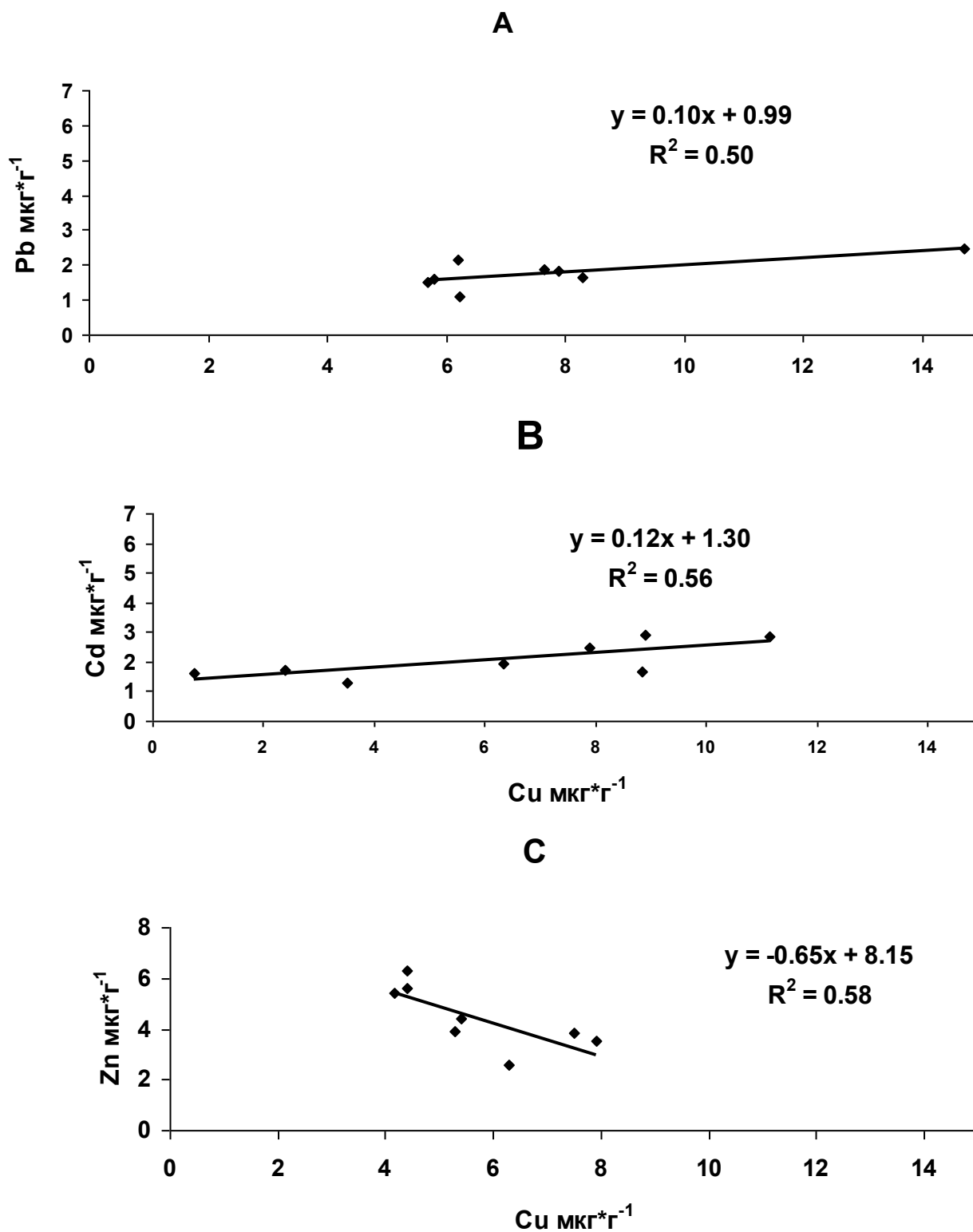


Рис. 4.11 Соотношение содержания Cu и некоторых тяжёлых металлов в гонадах мидий разного пола (А – самцы, В – самки на 3-й стадии зрелости гонад, С – самцы на 4-й стадии зрелости)

Таким образом, изучение концентрации Zn, Cu, Pb и Cd в организме мидий показало, что:

– при депонировании меди раковина моллюсков является консервативным органом, в котором содержание меди не превышает 6–8 мкгг⁻¹ золы, при этом с возрастом моллюска оно не увеличивается;

– содержание меди в мягких тканях может достигать 156 мкгг⁻¹ сух. ткани, особенно в летний сезон при интенсивном соматическом росте моллюсков и больше варьирует у самцов;

– концентрация тяжёлых металлов в генеративной ткани мидий уменьшается в последовательности: Zn → Cu → Pb → Cd, наиболее переменный показатель содержание Cu (CV > 60 %), наименее – Zn (CV < 30 %). Особенно чётко эта закономерность проявляется у самок, что может быть связано с функциональными особенностями строения гонад.

РАЗДЕЛ 5

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Важным аспектом выполненных исследований является практическая значимость полученных результатов, а именно, возможность применения знаний об индивидуальной изменчивости морфологических, биохимических и химических характеристик мидий в селекционной работе с ними.

Приведенные в литературе сведения о моллюсках основаны в основном на усреднённых данных, при которых делается акцент на исследовании генеральной совокупности. При подобном подходе фактически невозможно перейти к индивидуальным характеристикам организмов. Поэтому для оценки индивидуальной изменчивости мидии, культивируемой в Чёрном море, нами были исследованы и выбраны основные характеристики: морфологические, характеризующие форму раковины и размеры яйцеклеток; популяционные (фенотипическая и половая структура поселений мидий); физиологические (темпы роста мидий); биохимические (содержание нуклеиновых кислот в гонадах); химические (содержание тяжёлых металлов в мидиях). Определены средние значения и проанализирована вариабельность перечисленных характеристик. Выделены нестабильные характеристики с максимальным CV: среди морфометрических параметров - толщина раковины, которая, в первую очередь, реагирует на изменяющиеся условия среды, что особенно выражено у моллюсков чёрной окраски с длиной раковины 30 мм; скорость роста мидий с чёрной и коричневой окраской раковин у всех размерных групп моллюсков. Среди биохимических характеристик – содержание НК в гонадах самцов и самок с чёрной и коричневой окраской раковин на всех изучаемых стадиях репродуктивного цикла. Среди химических характеристик – содержание Cu в мягких тканях мидий, особенно выраженное у самок; содержание тяжёлых металлов в

гонадах. Вариабельность содержания тяжёлых металлов в гонадах уменьшалась в следующей последовательности $Cu \rightarrow Pb \rightarrow Cd \rightarrow Zn$.

К стабильным характеристикам с минимальным CV относятся размер яйцеклеток и содержание меди в раковинах моллюсков.

В рамках данной работы сделан акцент на выявление некоторых абиотических и биотических факторов для оценки их влияния на индивидуальную изменчивость мидии *M. galloprovincialis*, культивируемой в Чёрном море. Так, например, нами выявлены отдельные факторы, которые необходимо учитывать при исследовании содержания меди в мягких тканях моллюсков (размер и окраска раковины, сезон, пол, стадия зрелости гонады). С помощью двухфакторного ДА нами исследовано влияние двух факторов (сезон и окраска раковины) и показан процентный вклад влияния каждого из них на индивидуальную изменчивость размеров яйцеклеток мидий (25% – сезон, 17% – фенотип, 56% – предположительно наследственность). ДА требует огромного количества материала, что не всегда возможно при исследовании химических и биохимических параметров. Поэтому данная работа является лишь основой для более глубокого исследования морфологических, биохимических и химических характеристик *M. galloprovincialis*.

Таким образом, собственные результаты исследования индивидуальной изменчивости основных характеристик мидии из Чёрного моря показали, что наши данные могут быть востребованы при оценке полиморфизма изучаемого объекта, так как оценка индивидуальной изменчивости важна и для характеристики генеральной совокупности; а от величины (CV) зависит каков объём выборки достаточен для достижения необходимой точности исследования.

Пример 1. Была оценена индивидуальная изменчивость диаметра яйцеклеток у мидий с коричневой окраской раковины в осенне-зимний сезон: $CV = 4,92\%$ при $n = 40$ (табл. 4.8, стр. 72). Используем зависимость коэффициента вариации от объёма выборки (рис. 5.1). По оси X откладываем

4,92, по оси Y – 40, на пересечении получаем < 5 . Иными словами, при $CV = 4,92\%$ и $n = 40$ ошибка определения среднего генеральной совокупности оценивается в $< 5\%$. В результате мы можем сделать заключение, что количество определений является достаточным для оценки генеральной совокупности.

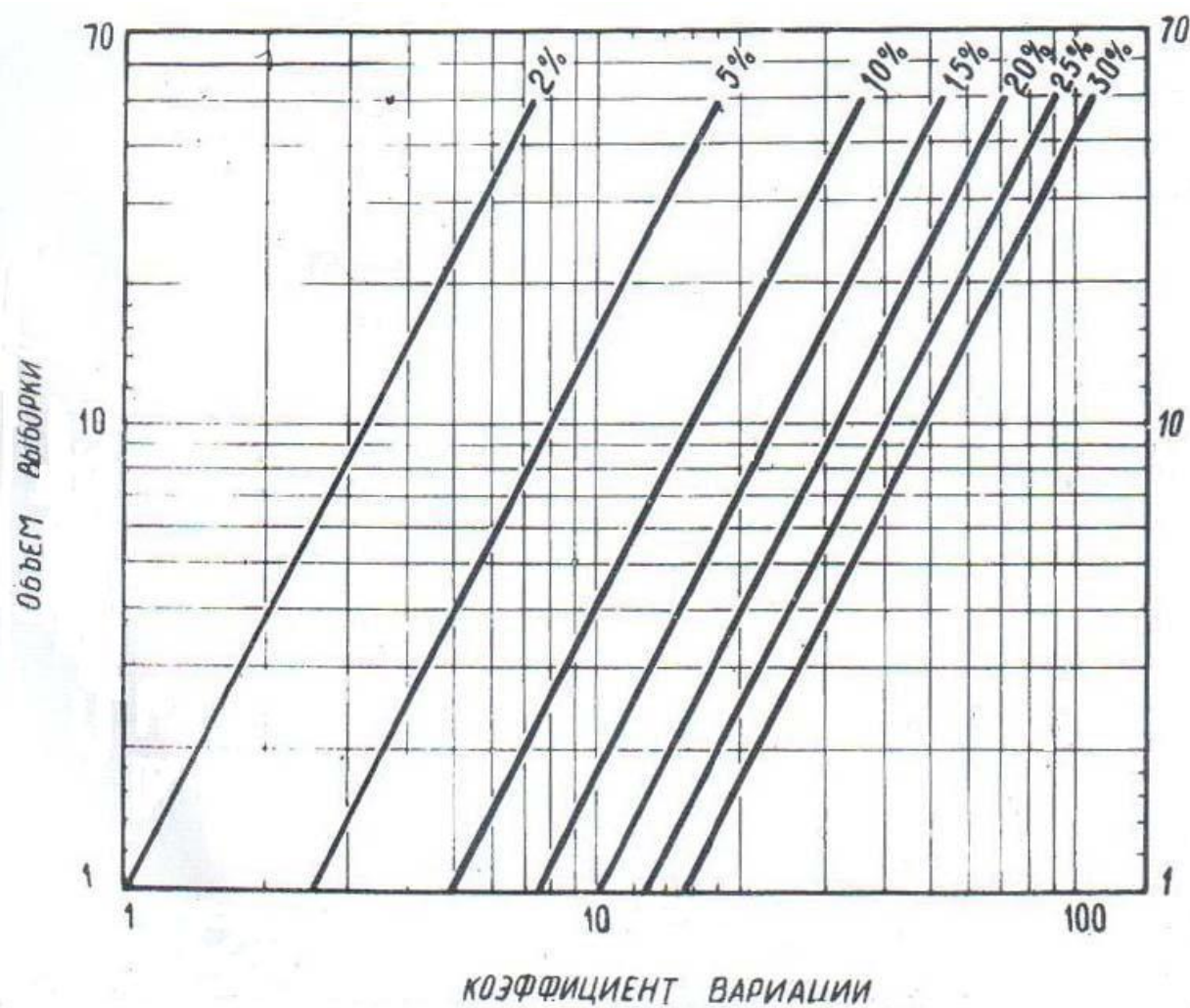


Рис. 5.1 Определение выборки с учётом коэффициента вариации (нанограмма построена В. Н. Егоровым на основании формулы [111], стр. 38)

Пример 2. При определении ДНК у самцов мидий на 3-й стадии зрелости гонад (табл. 4. 7, стр. 70) получен $CV = 59,1\%$ при $n = 70$. Ошибка определения среднего генеральной совокупности оценивается $> 15\%$ (рис.

5.1). Следовательно, для оценки генеральной совокупности необходимо увеличить объём выборки.

Так же данные об индивидуальной изменчивости мидий позволяют выделить генетически детерминированные морфологические признаки, отражающие хозяйственную ценность этого моллюска. Оценка индивидуальной изменчивости культивируемых мидий даёт возможность выделить уникальные, крайне редкие индивиды, которые можно и нужно отбирать для селекционной работы. Кроме того, предлагаемый подход позволяет фермерам выбрать индивиды с наиболее подходящими характеристиками для выращивания в конкретных условиях марихозяйства. Низкая вариабельность некоторых морфометрических характеристик мидий позволяет рекомендовать отдельные акватории для создания морских ферм.

Поэтому, в селекционной работе с мидиями, выращиваемыми на фермах, по нашим данным, целесообразно учитывать окраску раковин, так как мидии с чёрной окраской раковины имеют высокие темпы роста, что позволяет сократить продолжительность их выращивания. Мидии с коричневой окраской имеют более крупные размеры яйцеклеток, позволяющие получать личинок с высокой выживаемостью.

Высокий индекс РНК/ДНК в гонадах мидий, свидетельствующий о высоких темпах их роста, соотношение полов (1:1,3) и сравнительно низкая вариабельность толщины раковины моллюсков, отмеченные в районе внешнего рейда г. Севастополя по сравнению с бухтами Мартыновой и Ласпи, позволяют рекомендовать данную акваторию, как перспективную для культивирования мидий.

ВЫВОДЫ

1. Впервые дана оценка индивидуальной изменчивости некоторых морфологических (окраска раковины, весовые и размерные характеристики), биохимических (содержание нуклеиновых кислот в гонадах) и химических (содержание некоторых тяжёлых металлов в органах моллюска) характеристик мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam., культивируемой в прибрежной зоне Крыма (бухты Ласпи, Мартынова и внешний рейд Севастополя).
2. Мидии с чёрной окраской раковины по индивидуальным темпам роста превосходили мидий с коричневой окраской. Темпы роста культивируемых мидий с разной окраской раковины отличались высокой индивидуальной изменчивостью ($CV=41-93\%$). Среди морфометрических характеристик мидий наиболее изменчивой являлась толщина раковины ($CV = 16,3 - 37,2\%$), которая отражает изменения условий среды.
3. В поселениях культивируемых мидий в размерных группах 30 и 50 мм на разных фермах в прибрежной зоне Крыма преобладали самцы с высокой вариабельностью по стадиям зрелости независимо от сезона. В период исследований с 2003 – 2011 гг. самцы переходили на последующую стадию развития гонад быстрее, чем самки.
4. Содержание НК в гонадах мидий зависит от стадии репродуктивного цикла. ДНК в гонадах мидий варьирует сильнее ($CV=42\%$), чем РНК ($CV=30\%$). Более высокий индекс РНК/ДНК в гонадах мидий отмечен в районе внешнего рейда Севастополя.
5. Мидии с коричневой окраской раковины продуцировали яйцеклетки более крупного размера ($71,3 \pm 2,1$ – весна и $66,4 \pm 0,5$ мкм – осенне-зимний сезон). Индивидуальная изменчивость размеров яйцеклеток мидий низкая ($CV < 12\%$).

6. Концентрация тяжёлых металлов в генеративной ткани самцов и самок уменьшается в следующем порядке $Zn \rightarrow Cu \rightarrow Pb \rightarrow Cd$; при этом их концентрация зависит от пола и стадии репродуктивного цикла мидии. У самцов выявлена отрицательная корреляция концентраций Cu и Zn в гонадах и положительная – между содержанием $Cu-Pb$ и $Cu-Cd$. В гонадах мидий Pb лимитирует накопление Zn , а Cd не ограничивает его содержания.

7. Содержание меди в раковине мидий не увеличивается с возрастом моллюска и не превышает $6 - 8 \text{ мкг} \cdot \text{г}^{-1}$ золы. В мягких тканях содержание Cu возрастает в $8 - 10$ раз по сравнению с раковиной и зависит от размера, сезона, пола и стадии зрелости гонад моллюска. Содержание Cu у самок варьирует сильнее ($CV=57 \%$), чем у самцов ($CV=36 \%$).

8. При выращивании моллюсков необходимо учитывать окраску раковин, так как мидии с чёрной окраской раковины имеют высокие темпы роста, что позволяет сократить продолжительность их выращивания. Мидии с коричневой окраской имеют более крупные размеры яйцеклеток, позволяющие получать личинок с высокой выживаемостью.

9. Высокий индекс РНК/ДНК в гонадах мидий, свидетельствующий о высоких темпах их роста, соотношение полов ($1 : 1,3$) и сравнительно низкая вариабельность толщины их раковины, отмеченные в районе внешнего рейда г. Севастополя, позволяют рекомендовать данную акваторию, как перспективную для культивирования мидий.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Аболмасова Г. А. Скорость роста черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. в экспериментальных условиях / Г. А. Аболмасова // Экология моря. – 1987. – Вып. 25. – С. 62–67.
2. Абрамова Ж. И. Сезонные и возрастные изменения уровня и фракционного состава нуклеиновых кислот у карпа / Ж. И. Абрамова, В. О. Афанасьева // Биологические ресурсы водоёмов бассейна Балтийского моря: тезисы докл. 22 науч. конф. по изучению водоёмов Прибалтики, 1987 г. – Вильнюс, 1987. – С. 3–4.
3. Авцын А. П. Микроэлементозы человека / А. П. Авцын // Клиническая медицина. – 1987. – Т. 65, № 6 – С. 36–44.
4. Адобовский В. В. Экологические аспекты сброса дренажных вод в прибрежную зону Одесского залива / В. В. Адобовский, В. В. Губанов, П. Т. Савин // Вода и здоровье – 98 : материалы междунар. научно-практ. конф. – Одесса : Астропринт, 1998. – С. 259–262.
5. Азарин К. В. Тяжелые металлы как экотоксиканты и генераторы окислительного стресса // Окружающая среда и здоровье человека: материалы 2-го междунар. экологического форума – С-Петербург, 1–4 июля 2008 . – С. 62.
6. Алимов А. Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков / А. Ф. Алимов – М.: Наука, 1981. – 248 с.
7. Алимов А. Ф. Некоторые закономерности соотношения между размерами и весом у моллюсков / А. Ф. Алимов, А. Н. Голиков // Зоолог. журн. – 1974. – Т. 53, вып.4. – С. 517–530.
8. Алимов А. Ф. Методы расчёта продукции / А. Ф. Алимов, Г. Е. Макарова, Н. В. Максимович // Методы изучения двустворчатых моллюсков. – Л.: Наука, 1990. – С. 179–195.
9. Алпеева И. Г. Структура природных популяций мидий (*Mytilus galloprovincialis* Lam) восточной части Чёрного моря, выявляемая методами

системного морфометрического анализа : автореф. дис. на соискание учёной степени канд. биол. наук : спец. 03.00.32 «Биологические ресурсы» / И. Г. Алпеева. – Краснодар, 2003. – 19 с.

10. Алякринская И. О. Биохимические предпосылки высокой выживаемости мидий / И. О. Алякринская // Промысловые двустворчатые моллюски-мидии и их роль в экосистемах. – Л., 1979. – С. 12–13.

11. Андреев Т. И. Особенности реорганизации тканевого метаболизма у двустворчатого моллюска *Anadara inaequalvis* (Bruguiere, 1789) в условиях экспериментального голодания / Т. И. Андреев, А. А. Солдатов, И. В. Головина // Мор. экол. журн. – 2009. – Т. VIII, № 3. – С. 15–24.

12. Анцупова Л. В. Каратиноиды черноморской мидии / Л. В. Анцупова, Е. М. Руснак // IV Всесоюз. конф. по промысловым беспозвоночным, Севастополь, апр. 1986 г. : Тез. докл. – М., 1986. – Ч. 2. С. 176–177.

13. Ациховская Ж. М. Оценка динамической активности вод района бухты Ласпи / Ж. М. Ациховская, Н. И. Чекменёва // Экология моря. – 2002. – Вып. 59. – С. 5–8.

14. Биология культивируемых мидий. / [В. Н. Иванов, В. И. Холодов, М. И. Сеничева и др.] – К.: Наук. думка, 1989. – 100 с.

15. Биоэнергетика гидробионтов / [Г. Е. Шульман, Г. А. Финенко, Б. Е. Аннинский и др.] – К.: Наук. думка, 1990. – 248 с.

16. Брень Н. В. Биологический мониторинг и общие закономерности накопления тяжёлых металлов пресноводными донными беспозвоночными / Н. В. Брень // Гидробиол. журн. – 2008 – Т. 44, № 2 – С.96–115.

17. Булатов К.В. Хромосомный полиморфизм черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Моллюски, систематика, экология и закономерности распространения : Автореф. докл. – Л., 1983. – Сб. 7. – С. 71–72.

18. Булатов К. В. Фенетический состав мидийных поселений из различных бухт Крымского побережья / К. В. Булатов // Состояние, перспективы улучшения и использования морской экологической системы прибрежной

части Крыма : тезисы научно-практ. конф., посвящ. 200-летию Севастополя – Севастополь, 1983. – С. 139–140.

19. Булатов К. В. Генетическая природа окраски раковин у черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam / К. В. Булатов // Докл. АН УССР. – 1984. – № 6 – С. 54–56.

20. Булатов К. В. Различия в прикреплении к субстрату мидий разных генотипов / К. В. Булатов, Т. В. Звездина // Цитология и генетика. – 1987.– Т. 21, № 1. – С. 71–74.

21. Булатов. К. В. Кариотип черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. / К. В. Булатов, В. Н. Иванов // Цитология и генетика. – 1981. – № 6. – С. 69–71.

22. Бурдин К. С. Моллюски рода *Mytilus* как возможные показатели содержания тяжелых металлов в морской воде / К.С. Бурдин, М.В. Крупина, И.Б. Савельев // Океанология. – 1979. – XIX, Вып. 6. – С. 1038–1044.

23. Варигин А. Ю. Возрастная изменчивость отношения массы мягких тканей и массы раковины к общей массе у черноморских мидий // Вісн. Житомирськ. держ. пед. ун-ту. – 2002. – Вип. 10. – С. 66–67.

24. Варигин А.Ю. Возрастная изменчивость соотношений длины, высоты и ширины раковины черноморской мидии // Фальцфейновские чтения: Сб. научн. тр. – Херсон: Изд-во ХГУ, 2003. – С. 50 – 51.

25. Варигин А.Ю. Эколого-функциональная изменчивость морфологии раковины черноморской мидии // Современные проблемы зоологии и экологии: Материалы междунар. конф. – Одесса: Феникс, 2005. – С. 36 – 37.

26. Варигин А. Ю. Рост мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam в донных поселениях северо-западной части Чёрного моря : автореф. дис. на соискание научной степени канд. биол. наук : спец. 03.00.17 «Гидробиология» / А. Ю. Варигин. – Севастополь, 2006. – 22 с.

27. Виленская Н.И. Влияние размеров яйцеклеток чавычи (*Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum)) на размеры личинок и молоди / Н.И. Виленская // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной

- части Тихого океана: Сб. науч. тр., Петропавловск-Камчатски, КамчатНИРО. – Вып. 6. – 2002. – С. 226–234.
- 28.** Виноградова З. А. Материалы по биологии моллюсков Чёрного моря // Труды Карадагской биол. станции. – 1950. – Вып. 9. – С. 100–159.
- 29.** Воробъёв В. П. Мидии Черного моря // Тр. Азово-Черномор. ин-та рыб. хоз-ва и океанографии. – 1983. – Вып. 11. – С. 3–25.
- 30.** Ганцевич М. М. Генетика пигментации раковины средиземноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam., 1819 (Bivalvia, Mytilidae) / М. М. Ганцевич, А. В. Тюнникова, В. В. Малахов // Доклады Академии наук. – 2005. – Т. 404, № 4. – С. 565–566.
- 31.** Горомосова С. А. / С. А. Горомосова, А. З. Шапиро // Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1984. – 120 с.
- 32.** Головина И. Л. Влияние тяжелых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных беспозвоночных // Биология внутренних вод. – 2008. – №1, С. 99 – 108.
- 33.** Гороновский И. Т. / И. Т. Гороновский, П. Ю. Назаренко, Е. Ф. Некрич // Краткий справочник по химии – К.: Наук. думка, 1974. – 98 с.
- 34.** Губанов Е.П. Экологические аспекты состояния биоресурсов Черного моря / Е.П. Губанов // Современные проблемы экологии Азово-Черноморского бассейна : материалы II междунар. научно-практ. конф. – Керчь : ЮгНИРО, 2006. – С. 10–16.
- 35.** Гудимов А. В. Поведенческие реакции мидий в условиях колебаний факторов среды прибрежья Восточного Мурмана : автореф. дисс. на соискание научной степени канд. биол. наук : спец. 25. 00. 28 / А. В. Гудимов – Мурманск, 2004. – 25 с.

- 36.** Дехта В. А. Экологическая генетика мидии Азовского моря / В. А. Дехта // Генетические исследования морских гидробионтов. – М., 1987. – С. 216 – 227.
- 37.** Дехта В. А. Дефицит гетерозигот и причины его образования в популяции мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. Азовского моря / В. А. Дехта // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоёмов Азово-Черноморского бассейна: Сб. научн. тр., Ростов-на -Дону, АЗНИИРХ. – 1998. – С. 307 – 311.
- 38.** Дехта В. А. Содержание химических элементов в раковинах и изменчивость их формы у мидий *Mytilus galloprovincialis* прибрежной зоны Чёрного моря / В. А. Дехта // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоёмов Азово-Черноморского бассейна: Сб. научн. тр., Ростов-на-Дону, АЗНИИРХ. – 1998. – С. 312 – 319.
- 39.** Дехта В. А. Анализ консерватичной изменчивости средиземноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* – надёжный метод индикации качества среды прибрежья Чёрного моря / В. А. Дехта // Международный семинар Современные проблемы физиологии и экологии морских животных (рыбы, птицы, млекопитающие): тезисы докл. Международного семинара (Ростов-на-Дону, 11 – 13 сент., 2002 г). – Ростов-на Дону, 2002. – С. 58–61.
- 40.** Дехта В. А. О полиморфизме окраски раковины мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Эволюция морских экосистем под влиянием вселенцев и искусственной смертности фауны : тез докл. междунар. конф. – Ростов-на-Дону, 2003. – С. 75–77.
- 41.** Дехта В. А. Адекватность механизмов морфофункциональной адаптации мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. к загрязнению / В. А. Дехта // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов : материалы междунар. конф. – Петрозаводск, 2004. – С. 40.
- 42.** Дехта В. А. Содержание химических элементов в раковинах и изменчивость их формы у мидий *Mytilus galloprovincialis* прибрежной зоны

Чёрного моря / В. А. Дехта, Н. Н. Каталевский. // Геоэкол. исслед. и охрана недр. – 2000. – № 3. – С. 26–33.

43. Дивавин И.А. Влияние нефти и фенола на некоторые свойства нуклеиновых кислот черноморских креветок / И. А. Дивавин // Биология моря. – 1975. – Вып. 35. – С.62–64.

44. Долгов Л. В. Реализация пола у мидии Грея и мидии съедобной из залива Посьета Японского моря в поселениях, различающихся размерно-возрастным составом / Л. В. Долгов // Биология моря. – 1985. – № 2. – С. 31–39.

45. Долгов Л. В. Протандрическая реализация пола в стационарном поселении съедобной мидии из Авчинского залива / Л. В. Долгов, А. И. Буяновский, Е. А. Мизинчикова // Экология моря. – 1987. – № 3. – С. 31–33.

46. Доценко И. В. Оценка осаждения тяжелых металлов черноморской мидией (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) в морских акваториях : автореф. дисс. на соискание учён. степени канд. географ. наук : спец. 25.00.23 «Физическая география и биогеография, география почв и геохимия ландшафтов» / И. В. Доценко – Ростов-на-Дону, 2005. – 25 с.

47. Драголи Л. В. К вопросу о взаимосвязи между вариациями черноморской мидии (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) / Л. В. Драголи // Распределение бентоса и биология донных животных в южных морях. – К.: Наук. думка, 1966. – С. 3–15.

48. Егоров В. Н. Закономерности поглощения Mn, Zn, Co и Hg морскими водорослями и взвешенным веществом / В. Н. Егоров, Л. Г. Кулебакина // Биология моря. – 1987. – № 4. – С. 42–46.

49. Еремеев В. Н., Латун В. С., Совга Е. Е. Влияние антропогенных загрязнителей и путей их переноса на экологическую обстановку в северо-западном районе Чёрного моря / В. Н. Еремеев, В. С. Латун, Е. Е. Совга // Мор. гидрофиз. журн. – 2001. – № 5. – С. 41 – 55.

- 50.** Жуковская Е. А. О временной динамике генетической изменчивости черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. / Е. А. Жуковская, О. П. Кодолова // Известия РАН. Сер. биол. – 1997. – № 3. – С. 295–302.
- 51.** Жуковская Е. А. Взаимосвязь цветового полиморфизма и морфологических признаков у раковин черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. / Е. А. Жуковская, О. П. Кодолова // Вісник Житомир. пед. унів. – 2002. – Вип. 10. – С. 43–46.
- 52.** Жуковская Е. А. О фенетическом и морфологическом разнообразии черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. / Е. А. Жуковская, О. П. Кодолова // Еколого-функціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища. – Житомир : Волинь, 2004. – С. 56–59.
- 53.** Жуковская Е. А. О временной динамике морфологической изменчивости черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. / Е. А. Жуковская, О. П. Кодолова, М. В. Переладов // Известия РАН. Серия биологическая. – 2002. – № 3. – С. 316–328.
- 54.** Зайцев Ю. П. Экологическое состояние шельфовой зоны Чёрного моря у побережья Украины (Обзор) / Ю. П. Зайцев // Гидробиол. журн. – 1992. – Т. 28, № 4. – С. 3–18.
- 55.** Захваткина К. А. Пелагические личинки некоторых двустворчатых моллюсков Чёрного моря : автореф. дисс. на соискание учёной степени канд. биол. наук. / К. А. Захваткина. – Киев, 1964. – 24 с.
- 56.** Захваткина К. А. Личинки двустворчатых моллюсков – *Bivalvia* / К. А. Захваткина // Определитель фауны Чёрного и Азовского морей. – К.: Наук. думка, 1972. – Т.3. – С. 250–271.
- 57.** Звездина Т. Ф. Мутагенное и токсическое действие тяжёлых металлов на личинки мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam / Т. Ф. Звездина // IV Всесоюз. конф. по промысловым беспозвоночным: Севастополь, апр. 1986. тез. докл. – М., 1986. – С. 222–224.

- 58.** Зернов С. А. основные черты распределения животных в Чёрном море у Севастополя / С. А. Зернов // Известия Императ. Акад. Наук. – 1908. – Сер. 4, № 10. – С. 991–996.
- 59.** Золотницкий А. П. Некоторые итоги работ по культивированию мидий (*Mytilus galloprovincialis* Lam) в замерзающих районах Чёрного моря / А. П. Золотницкий // V съезд Всесоюз. гидробиол. общ-ва (Тольятти, 15 – 19 сент. 1986 г.): тез. докл. – Куйбышев, 1986. – Ч. 1. – С. 85–86.
- 60.** Золотницкий О. П. Біологічні основи культивування промислових двостулкових молюсків (*Bivalvia*, *Mytiliformes*) у Чорному морі : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук : спец. 03.00.17. «Гідробиологія» / О. П. Золотницкий. – Київ, 2004. – 38 с.
- 61.** Золотницкий А. П. Рост и продукция мидий Керченского пролива / А. П. Золотницкий, В. И. Вижевский // Биология и культивирование моллюсков. – М.: ВНИРО, 1987. – С. 80–87.
- 62.** Золотарёв В. Н. Склерохронология морских двустворчатых моллюсков / В. Н. Золотарёв. – Киев : Наукова думка, 1989. – 112 с.
- 63.** Золотарёв В. Н. Использование возрастных меток раковин для изучения роста Грайна / В. Н. Золотарёв, Н. И. Селин // Биология моря. – 1979. – № 1. – С. 77–79.
- 64.** Золотарёв В. Н. Рост и продукция моллюсков / В. Н. Золотарёв, С. В. Стадниченко, Н. М. Шурова // Северо-западная часть Чёрного моря : биология и экология. – Киев : Наук. думка, 2006. – С. 288–304.
- 65.** Иванов А. И. Рост черноморских мидий на Одесской банке / А. И. Иванов // Гидробиол. журн. – 1967 – Т. 3, № 2 – С. 20 – 25.
- 66.** Иванов А. И. Мидии (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) Чёрного моря и перспективы их промысла : автореф. дисс. на соискание учёной степени канд. биол. наук / А. И. Иванов. – Одесса, 1986. – 28 с.
- 67.** Иванов М. В. Влияние хозяйств промышленного выращивания мидий на естественные экосистемы в условиях Белого моря : автореф. дисс. На

соискание учёной степени канд. биол. наук : спец. 03. 05. 06. / М. В. Иванов. – Санкт-Петербург. – 2006. – 24 с.

68. Иванов А. И. Оседание и рост мидий на коллекторах у западных берегов Крыма / А. И. Иванов, В. Н. Решетникова, Л. Г. Крук // Эколого-физиологические основы аквакультуры на Чёрном море. – М., 1981. – С. 100–105.

69. Иванов В. Н. Поступление и выведение цинка-65 у черноморского *Idotea baltica Basteri Aud.* (Isopoda) / В. Н. Иванов, В. Н. Егоров, М. М. Шевченко // Гидробиол. журн. – 1980. – Т. 16, № 1. – С. 69–73.

70. Иванович Г. В. Гетерогенность репродуктивного цикла мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam Одесского залива / Г. В. Иванович, Е. В. Холодковская // Сб. науч. тр. – Севастополь. – 2009. – Вып. 20. – С. 321–326.

71. Иванович Г. В. Динамика вмісту глікогену та сумарних ліпідів у мідій *Mytilus galloprovincialis* Lam. Одеської затоки : автореф. дисс. на соискание научной степени канд. биол. наук : спец. 03.00.17 «Гидробиология» / Г. В. Иванович – Севастополь, 2005. – 23 с.

72. Кавун В. Я. Сезонная динамика микроэлементного состава тканей тихоокеанской мидии из залива Восток Японского моря // Биол. моря. 1990. № 6. С. 59–65.

73. Казанкова И. И. Формирование поселений *Mytilus galloprovincialis* Lam. на искусственных субстратах у южных и юго-западных берегов Крыма : автореф. дисс. на соискание научной степени канд. биол. наук. : спец. 03.00.17 «Гидробиология» / И. И. Казанкова. – Севастополь, 2006. – 24 с.

74. Казанкова И. И. Влияние освещённости на формирование фенетической структуры поселений *Mytilus galloprovincialis* у берегов Крыма / И. И. Казанкова // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. – 2010. – № 3 (44). – С 107–110.

75. Караванцева Н. В. Половая структура мидий *Mytilus galloprovincialis* (Lam.), обитающих у берегов Крыма / Н. В. Караванцева // Экология моря. – 2009. – Вып. 77. – С. 57–61.

- 76.** Караванцева Н. В. Концентрация металлов – микроэлементов в сухих пробах яйцеклеток, сперматозоидов и гонад черноморских мидий / Н. В. Караванцева, Н. И. Бобко : VII Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых по проблемам водных экосистем, 2011 г. : тезисы докл. – Севастополь, 2011. – С. – 119–121.
- 77.** Карасёва Е. М. Накопление тяжелых металлов в половых железах и соматических органах двустворчатых моллюсков / Е. М. Карасёва // Биология моря. – 1993. – № 2. – С. 66–67.
- 78.** Каржевич А. Ф. Влияние дефицита кислорода на выживание и рост черноморских моллюсков – аутоаклиматизантов Азовского моря / А. Ф. Каржевич, С. Ч. Спичак // Промысловые двустворчатые моллюски – мидии и их роль в экосистемах. – Л., 1979. – С. 60–62.
- 79.** Карпевич А. Ф. Биологические основы марикультуры / Под ред. Душкиной Л. А. – М.: ВНИРО, 1998. – С. 78–100.
- 80.** Киселёва Г. А. Размножение и развитие скальной и иловой мидий в Чёрном море / Г. А. Киселёва // Биология моря. – 1972. – Вып. 26. – С. 88–98.
- 81.** Кудинский О. Ю. Половое созревание мидий в современных условиях северо-западной части Чёрного моря / О. Ю. Кудинский, Н. В. Мартынова, Т. В. Столетова // Биологические основы аквакультуры в морях европейской части СССР. – М., Наука, 1985. – С. 169–180.
- 82.** Кудинский О. Ю. Реализация пола у мидий *Mytilus galloprovincialis* северо-западной части Чёрного моря / О. Ю. Кудинский., Н. М. Шурова // Биология моря. – 1990. – № 5. – С. 43–48.
- 83.** Кутищев А. А. Избирательная способность личинок дальневосточной мидии *Crenomytilus grayanus* (Dunker) при оседании на субстрат / А. А. Кутищев // Докл. АН СССР. – 1976. – 230, № 3. – С. 737–740.
- 84.** Куфтаркова Е. А. Тонкая вертикальная химическая структура вод в районе мидийной фермы / Е. А. Куфтаркова, И. Ю. ЕрёминА. А. Субботин // Мор. экол. журн. – 2011. – Т. X, № 1. – С. 38–42.
- 85.** Ковалевский В. В. Геохимическая экология. – М.: Наука. 1974. 280 с.

- 86.** Козинцев А. Ф. Сезонная динамика содержания тяжёлых металлов в мидии (*Mytilus galloprovincialis*) из бухты Казачья Чёрного моря / А. Ф. Козинцев // Мор. экол. журн. – 2006. – Т. 5, № 4. – С. 41–47.
- 87.** Кокорина Н. В. Методические вопросы выбора тест-объектов биоиндикации с использованием алгоритма сравнения коэффициентов вариации / Н.В. Кокорина, П.Б. Татаринцев // Вестник Томского гос. универ. Биология. – 2010. – № 3 (11) . – С. 141–151.
- 88.** Конвенція про захист Чорного моря від забруднення / Екологічні проблеми та особливості експлуатації берегових об'єктів морегосподарського комплексу України. – К. : Знання, 1998. – 37 с.
- 89.** Консулова Ц. Х. Биологични основи на культивиронство на Черна мида *Mytilus galloprovincialis* Lam. пред. Българского черноморского крайбрежие : автореф. на дис. за получаване степени кандидат на биологическите науки. – София, 1985. – 35 с.
- 90.** Линник П. Н. Формы миграции металлов в поверхностных водах / П. Н. Линник, Б. И. Набиванец // Л.: Гидрометеиздат, 1986. – 269 с.
- 91.** Лисицкая Е. В. Таксономическая структура и сезонная динамика меропланктона в районе марихозьяства (мартынова бухта, Севастополь, Чёрное море) // Морской экол. журн. – 2009. – Т. 8, № 4. - С. 79–83.
- 92.** Логвиненко Б. М. Сравнение мидий Чёрного моря из разных мест обитания по электрофоретическим спектрам миогенов и морфологическим признакам раковин // Б. М. Логвиненко, О.П. Кодолова, О. Н. Катугин // М.: ВИНТИ.– № 585-В86. – 1986. – 15 с.
- 93.** Марикультуре в ИнБЮМ НАНУ 25 лет. – Севастополь, 2008. – 48 с.
- 94.** Метелев В. В. Водная токсикология / В.В. Метелев, А.И. Ханаев, Н. Г.Дзасохова – М.: Колос, 1971. – 248 с.
- 95.** Масленникова Л.А. Сперматогенез двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni* (Schrenck) / Л.А.Масленникова // Известия ТИНРО . – 2000. – Т. 127, № 1-2. – С. 453 – 460.

96. Методы изучения двустворчатых моллюсков / Под ред. Г. Л. Шкорбатова, Я. И. Старобогатова // Труды ЗИН – Л., 1990: Т. 219. – 208 с.
97. Мешковой Н. М. Практикум по биохимии. / Н.М. Мешковой, С. Е. Северина // М.: Изд-во МГУ, 1979. – 164 с.
98. Микроэлементный состав и микрофлора атмосферной взвеси морского побережья г. Севастополя (Черное море) / Л.Л. Смирнова, Н.А. Андреева, Л.В.Салтыкова, и др. // Екологія міст та рекреаційних зон: Матеріали всеукр. наук.-практ. конф. 17 – 18 квітня 2008. – Одеса, 2008. – С. 208–211.
99. Милашевич К. О. Моллюски Чёрного и Азовского морей / К. О. Милашевич // Фауна России. – Петроград : Императ. Акад. Наук, 1916. – Т. 1. – 312 с.
100. Миронов О. Г. К вопросу о содержании металлов в черноморских мидиях / О. Г. Миронов, Ю. Л. Ковальчук, Г. И. Крючков // Морская санитарная гидробиология. – Севастополь, 1995. – С. 83–85.
101. Митилиды Чёрного моря / В. Е. Заика, Н. А. Валовая, А. С. Повчун, и др. – К. – : Наук. думка, 1990. – 208 с.
102. Митропольський О. Ю. Екогеохімія Чорного моря / О. Ю. Митропольський, Е. І. Наседкіна, Н. П. Осокіна – К. : Академперіодика, 2006. – 278 с.
103. Монин В. Л. Половая структура и величина индивидуальной плодовитости черноморских мидий (*Mytilus galloprovincialis*) и устриц (*Ostrea edulis*) / В. Л. Монин, А. П. Золотницкий // Четвёртая Всесоюз. конф. по промысловым беспозвоночным, Севастополь, апрель 1986 г.: тезисы докладов. – М., 1986. Ч. 2. – С. 261–262.
104. Морозов Н. П. Микроэлементы в промысловой ихтиофауне мирового океана / Н. П. Морозов, С. А. Петухов. – М.: Агропромиздат, 1986. – 158 с.
105. Мотавкин П. А. Регуляция размножения и биотехнология получения половых продуктов у двустворчатых моллюсков / П. А. Мотавкин, Ю. С. Хотимченко, И. И. Дередович – М.: Наука, 1990. – 215 с.

- 106.** Мурина Г. В. Личинки донных беспозвоночных в планктоне Чёрного моря / Г. В. Мурина, И. И. Казанкова // Экология моря. – 1987. – Вып. 25. – С. 30–37.
- 107.** Нахшина Е.П. Микроэлементы в водохранилищах Днепра / Е. П. Нахшина – К.: Наук. думка, 1983. – 156 с.
- 108.** Невская Л. А. Позднечетвертичные двустворчатые моллюски Чёрного моря, их систематика и экология / Л. А. Невская – М.: Наука, 1965. – Т. 105. – 386 с.
- 109.** Нехорошев М. В. Химический состав биоотложений и скорость их выделения культивируемыми мидиями / М. В. Нехорошев, Ю. А. Усс, В. К. Шаляпин // Экология моря. – 1990. – Вып. 36. – С. 37–41.
- 110.** Павловская В. В. Экологические аспекты реакции моллюсков *Dreissena Polymorpha* (Pallas, 1771) на действие ионов тяжелых металлов : автореф. дисс. на соискание учёной степени канд. биол. наук : спец. 03.00.16 «Экология» / В. В. Павловская. – Калининград, 2007. – 25 с.
- 111.** Парчевская Д. С. Статистика для радиоэкологов / Д. С. Парчевская – К.: Наук. думка, 1969 г. – 112 с.
- 112.** Патин С.А. Влияние загрязнения на биологические ресурсы и продуктивность Мирового океана / С. А. Патин – М.: Пищ. пром-сть, 1979. – 304 с.
- 113.** Перельман А. И. Геохимия: Учебн. для геолог. вузов. – 2-е изд. перераб. и доп. / А. И. Перельман – М.: Высшая шк., 1989. – 285 с.
- 114.** Петкевич Н. С. Полиморфизм Черноморской мидии / Компл. иссл. биол. ресурсов морей и рек: Материалы первой междунар. науч. – практ. конф. мол. учёных, 7-9 июля 2003 г. – Астрахань: изд-во КаспНИРХ, 2004. – С. 147–149.
- 115.** Печень-Финенко Г. А. Фильтрационная активность мидий в условиях Севастопольской бухты / Г. А. Печень-Финенко // Гидробиол. журн. – 1992. – Т. 28, № 5. – С. 44–50.

- 116.** Пиркова А. В. Размножение мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. и элементы биотехнологии её культивирования : автореф. дисс. на соискание научной степени канд. биол. наук : спец. 03.00.18 / А. В. Пиркова. – Севастополь, 1994. – 25 с.
- 117.** Пиркова А. В. Возрастно-половая структура культивируемых мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. в Чёрном море // Современные проблемы популяционной экологии. – Мат. IX Междунар. науч-практ. эколог. конф., 2 – 5 окт. 2006 г., Белгород. – 2006. – С. 155–156.
- 118.** Пиркова А. В. Сезонная динамика нереста мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. в иловых поселениях разных районов Черного моря / А. В. Пиркова, Н. Г. Столбова, Л. В. Ладыгина // Гидробиол. журн. – 1994. – Т. 30, № 2. – С. 22–27.
- 119.** Пиркова А. В. Оптимизация некоторых этапов биотехники культивирования личинок мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. / А. В. Пиркова, В. И. Холодов, Л. В. Ладыгина // Гидробиол. журн.– 1998. – 34, № 1. – С. 57–61.
- 120.** Подгуская О. В. Механизмы детоксикации тяжелых металлов у моллюсков семейства *Mytilidae*. : автореф. дис. на соискание учёной степени канд. биол. наук : спец. 03.00.04 «Биохимия» / О. В. Подгуская. – Владивосток, 2006. – 22 с.
- 121.** Пospelова Н. В. Простой способ подготовки проб для анализа содержания тяжёлых металлов в системе «взвесь – мидии – биоотложения» методом атомной абсорбции / Н. В. Пospelова, Ю. П. Копытов, М. В. Нехорошев // Учёные записки ТНУ. Сер. «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58), № 1. – С. 156–160.
- 122.** Пospelова Н. В. Элементы баланса каротиноидов, α -токоферола и некоторых металлов в системе «взвешенное вещество – мидии – биоотложения: автореф дисс. на соискание учёной степени канд. биол. наук : спец. 03.00.17. «Гидробиология» / Н. В. Пospelова – Севастополь, 2008. – 25 с.

- 123.** Ревков. Н.К. Аномалии мидий в аквакультуре / Н. К. Ревков, И. А. Дивавин, В.К. Мачкевский // Гидробиол. журн. – 1999. – Т. 35, № 4. – С. 53–61.
- 124.** Сагайдачный А. Ю. Цветовой полиморфизм и дыхание черноморских мидий разных генотипов / А. Ю. Сагайдачный, Н. П. Лучина // Биология объектов марикультуры. – М., 1987. – С. 48–51.
- 125.** Садыхова И. А. Рост мидий Грея в заливе Петра Великого / И. А. Садыхова // Биология мидий Грея. – М.: Наука, 1983. – С. 62–68.
- 126.** Саенко Г. Н. Металлы и галогены в морских организмах / Г. Н. Саенко – М.: Наука, 1993. – 252 с.
- 127.** Сальский В. А. Моллюски північно-західної частини Чорно моря. – К.: Вид-во АН УРСР, 1958. – 50 с.
- 128.** Сеничева М. И. Необычное цветение в прибрежных водах города Севастополя / М. И. Сеничева // Наукові записки серія біологія. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол., 2010, № 3 (44). С. 227 – 229.
- 129.** Сеничева М. И. Условия формирования кормовой базы мидий в районе экспериментального марихозяйства в районе Севастополя / М. И. Сеничева, Е. А. Куфтаркова, Н. П. Ковригина // Еколого-функціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків і роль у біоіндикації стану навколишнього середовища: Зб. наук. пр. – Вып 2. – Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І. Франка, 2006. – С. 317–320.
- 130.** Сергеевский С. О. Фенетическая структура популяций брюхоного моллюска *Littorina obtusata* в эстуарии реки Кереть (Белое море) / С. О. Сергеевский // Биол. моря. – 1985. – № 3. – С. 44–53.
- 131.** Серобаба И. И. Перспективы украинской марикультуры и комплексное управление прибрежными зонами / И. И. Серобаба // Материалы науч. практик. конф., сентябрь – 2002 г. – ЮгНИРО, 2002. – С. 44.
- 132.** Скрипник И. А. Реакция фитопланктонных сообществ на локальное загрязнение медью Еколого-функціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього

средовища / И. А. Скрипник, Л. Ю. Секундяк., Е. В. Кирсанова // 36. наук. пр. – Житомир, 2005. – Вип. 2. – С. 225–227.

133. Скурлатов Ю.И. Окислительно-восстановительные процессы в природных водах / Ю.И Скурлатов, С.О. Травин, Л.С. Эрнестова // Водные ресурсы. – 1987. – №5. – С. 66–72.

134. Славина О. Я. Рост мидий в Севастопольской бухте / О. Я. Славина // Бентос. – К. : Наук. думка, 1965. – С. 24–29.

135. Спичак С. К. Биологические аспекты выращивания мидий в Азовском море / С. К. Спичак // Гидробиол. журн. – 1980. – 16, № 2. – С. 47–53.

136. Спичак С. К. Распределение в прибрежной зоне и рост азовской мидии / С. К. Спичак // Гидробиол. журн. – 1980. – 16, № 2. – С. 112 – 114.

137. Станкявичус А. Б. Осмотическая и ионная регуляция восточно-балтийских мидий *Mytilus edulis* L., адаптированных к вое разной солености // Промысловые двустворчатые моллюски-мидий и их роль в экосистемах. – Л., 1979. – С. 114–115.

138. Столбова Н. Г. Генетическая изменчивость цвета раковины у мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. иловых поселений Чёрного моря / Н. Г. Столбова, А. В. Пиркова, А. Н. Гах // Цитология и генетика. – 1997. – Т. 31, № 1. – С. 38–40.

139. Столбова Н. Г. Наследование цвета раковин у мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. / Н. Г. Столбова, А. В. Пиркова, Л. В. Ладыгина // Цитология и генетика. – 1996. – Т. 30, № 6. – С. 62–65.

140. Сухотин А. А. Размерно-весовые характеристики и соотношение частей тела беломорских мидий *Mytilus edulis* при подвешном культивировании и в естественном поселении / А. А. Сухотин // Экология и физиологические исследования беломорских гидробионтов. Л.: ЗИН АН СССР. 1989. С. 15–30.

141. Сухотин А. А. Эколого-физиологические исследования *Mytilus edulis* L. в условиях культивирования на Белом море : автореф. дисс. на соискание учёной степени канд. биол. наук. / А. А. Сухотин. – Ленинград, 1990. – 20 с.

- 142.** Таможня. В. А. Биохимические показатели метаболизма мидий при действии на них токсинов / В. А. Таможня, С. А. Горомосова // Экология моря. – 1985. – Вып. 16. – С. 64–68.
- 143.** Танеева А. И. Влияние цинка на морских гидробионтов / А. И. Танеева // Биол. моря. – 1979. – Вып. 48. – С. 87–92.
- 144.** Танеева А. И. Влияние меди на черноморских мидий в лабораторных условиях / А. И. Танеева, Ю. В. Манько // Биология моря. – 1979. – Вып. 48. – С. 92–96.
- 145.** Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных / А. А. Халафян – М.: ООО «Бином- пресс», 2007 г. – 512 с.
- 146.** Характеристика экологического состояния Сухого лимана / Л. П. Павлютина, Н. Ф. Подплетная, П. Т. Савин и др. // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. – 2005. – Вып. 12. – С. 120–128.
- 147.** Холодов В. И. Выращивание мидий и устриц в Чёрном море / В. И. Холодов, А. В. Пиркова, Л. В. Ладыгина // под ред. В. Н. Еремеева; НАНУ ИнБЮМ им. Ковалевского. – Севастополь. – 2010. – 424 с.
- 148.** Холодковская Е. В. Индекс синхронности полового созревания мидий как инструмент экологического мониторинга / Е. В. Холодковская, О. Ю. Кудинский // Управление и охрана побережий северо-западного Причерноморья : материалы международного симпозиума – Одесса, 1996. – С. 65–66.
- 149.** Христофорова Н. К. Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжелыми металлами / Н. К. Христофорова – Л.: Наука. 1989. – 192 с.
- 150.** Христофорова Н. К., Шулькин В. М., Кавун В. Я., Чернова Е. Н. Тяжёлые металлы в промысловых и культивируемых моллюсках залива Петра Великого. Владивосток: Даль-наука. – 1994. 296 с.
- 151.** Шапиро А. З. Об изменении содержания белка в тканях мидий при экспериментальных воздействиях (в условиях эксперимента) / А.З. Шапиро, Н. М. Звездовская // Экология моря. – 1986. – Вып. 24. – С. 96–101.

152. Шеффе Г. Дисперсионный анализ / Г. Шеффе – М: гос. изд-во физ. мат. литература, 1963. – 625 с.
153. Шурова Н. М. Влияние солёности на структуру и состояние поселений двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* / Н. М. Шурова // Биология моря. – 2001. – Т. 27, № 3. – С. 187–191.
154. Шурова Н. М. Структурно-функциональная организация популяции мидий *Mytilus galloprovincialis* Чёрного моря : автореф. дис. на соискание науч. степени докт. биол. наук : спец. 03. 00. 17 «Гидробиология» / Н. М. Шурова. – Севастополь, 2009. – 41 с.
155. Шурова Н. М. Соотношение фенотипов мидий в природных популяциях / Н. М. Шурова, В. Н. Золотарёв // Морфология, систематика, филогенез и экогенез двустворчатых моллюсков : Всесоюзное совещание, 1984 г. : тезисы докл. – М. 1984. – С. 110–111.
156. Шурова Н. М. Влияние плотности поселений мидий северо-западной части Чёрного моря на темпы их роста / Н. М. Шурова, В. Н. Золотарёв // IV Всесоюз. конф. по промысл. беспозв., Севастополь, апрель 1986 г.: тезисы докл. – М., 1986. – Ч. 2. – С. 320.
157. Шурова Н. М. Анализ фенотипической структуры поселений мидий *Mytilus galloprovincialis* Чёрного моря по окраске наружного призматического слоя их раковин / Н. М. Шурова, В. Н. Золотарёв // Морской экол. журн. – 2008. – Т. 7, № 4. – С. 88–97.
158. Челядина Н. С. Содержание Zn, Cu, Pb, Cd в гонадах культивируемых моллюсков *Mytilus galloprovincialis* / Н. С. Челядина, О. Ю. Вялова, Л.Л. Смирнова // Морской экол. журн. – 2005. – Т. 4, № 3. – С. 119–125.
159. Челядина Н. С. О вариабельности морфологических и биохимических характеристик у черноморской мидии / Н. С. Челядина, О. Ю. Вялова // Наукові записки серія біологія. – 2005. – Т. 4, № 27. – С. 174–176.
160. Челядина Н. С. Содержание меди в генеративной ткани черноморской мидии и вариабельность этого показателя в зависимости от пола и стадии

зрелости гонад / Н. С. Челядина, Л. Л. Смирнова // Экология моря. – 2005. – Вып. 68. – С.63–67.

161. Челядина Н. С. Сезонные изменения содержания меди в створках и мягких тканях *Mytilus galloprovincialis* Lam. / Н. С. Челядина, Л. Л. Смирнова // Еколого–функціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища: Збірник наукових праць. – Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І. Франка. . – 2-й вип. – 2005. – 384 с.

162. Челядина Н. С. Вариабельность морфометрических показателей и содержания меди в раковинах коллекторных *Mytilus galloprovincialis* Lam. / Н. С. Челядина, Л. Л. Смирнова // Экология моря. – 2009. – Вып. 78. – С.90–94.

163. Чернова Е. Н., Христофорова Н. К. Сравнительная оценка микроэлементного состава мидий из Японского и Белого морей / Е. Н. Чернова, Н. К. Христофорова // Регион экол. – 2008. – № 1. – С. 38–42.

164. Чернова Е. Н. Изменение концентрации металлов в тканях мидии *Mytilus edulis* из Белого моря в ходе репродуктивного цикла / Е. Н. Чернова // Биол. моря. – 2010 – Т. 36, № 1 – С.63–69.

165. Щербань С. А. Физиолого-биохимические индикаторы роста черноморской мидии / С. А. Щербань // Вклад молодых учёных в решение современных проблем океанологии и гидробиологии : всесоюз. науч. конф. молодых учёных : тезисы докл. – Севастополь, 1987. – С. 55.

166. Щербань С. А. Соотношение между индексом РНК/ДНК, содержанием белка и сухой массой у мидий в условиях кратковременного эксперимента / С. А. Щербань // Гидробиол. журн. – 1992. – Т. 28, № 3. – С. 60–64.

167. Щербань С. А. Применимость показателя РНК/ДНК для качественной оценки тканевого белкового синтеза у мидий / С. А. Щербань // Первий з`їзд гідроекологічного товариства України, 16-19 листопада 1993 : тезиси доповідей. – Київ, 1994. – С. 283.

- 168.** Щербань С. А. Фенотипические различия показателей «мгновенной» скорости генеративного роста черноморского двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* L. / С. А. Щербань // Водные экосистемы и организмы: Материалы науч. конф.: 19-20 апреля, 1999. – Москва, 1999. – С. 62.
- 169.** Щербань С. А. Особенности соматического и генеративного роста у некоторых цветковых морф мидии *Mytilus galloprovincialis* / С. А. Щербань // Экология моря. – 2000. – Вып. 53. – С. 77–81.
- 170.** Щербань С. А. Исследование репродуктивных возможностей черноморского полиморфного моллюска мидии *Mytilus galloprovincialis* / С. А. Щербань // Наукові записки Тернопільського національного педуніверситету ім. В. Гнатюка. Спеціальний випуск : гідро екологія – 2005. № 4 (27). – С. 277–279.
- 171.** Щербань С. А. Половые и фенотипические особенности белкового синтеза в гонадах черноморских мидий / С. А. Щербань // Материалы 20–ой науч. конф. с участием стран СНГ «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов», Петрозаводськ, 11-14 сент. 2007. – Петрозаводськ, 2007. – С. 176–177.
- 172.** Щербань С. А. Половые и фенотипические особенности содержания РНК в гонадах черноморских мидий / С. А. Щербань, О. Ю. Вялова // Доповіді національної академії наук України, 2008. – № 2.– С. 166–170.
- 173.** Щербань С. А. Биохимические индикаторы процессов синтеза и ретенции белка у гидробионтов / С. А. Щербань // Гидробиол. журн. – 2013 – Т. 49, № 2 – С. 95 – 103.
- 174.** Экологическая оценка современного состояния вод в районе взаимодействия Севастопольской бухты с прилегающей частью моря / Е. А. Куфтаркова, В. И. Губанов, Н. П. Ковригина и др. // Мор. экол. журн. – 2006. – Т. V., № 1 – С. 72–91.

- 175.** Яблоков А. В. Введение в фенетику популяций. Новый поход к изучению природных популяций / А. В. Яблоков, Н. И. Ларина. – М. : Высш. школа, 1985. – 159 с.
- 176.** Яблоков А. В. Популяционная биология / А. В. Яблоков. – М. : Высшая школа, 1987. – 303 с.
- 177.** Яп К. К. Зависимость между массой мягких тканей, толщиной раковины и накоплением тяжёлых металлов (Cd, Cu, Pb и Zn) у зелёной мидии *Perna viridis* / К. К. Яп, А. Измаил, С. Г. Тан // Биол. моря. – 2003. – Т. 29, № 5. – С. 358–362.
- 178.** Яцимирский К. Б. Изучение комплекса ионов меди с дезоксирибонуклеиновой кислотой / К. Б. Яцимирский, Е. Е. Крисс, Т. И. Ахрамеева // Доклады академии наук СССР, 1966. – Т. 168, №4. – С 840–843.
- 179.** Abnormal gametogenesis, male dominant sex ratio, and Sertoli cell morphology in induced triploid mussels, *Mytilus galloprovincialis* / М. Kiyomoto, А Komaru, J. Scarpa et all // Zool. Sci. – 1996. – Vol. 13. – P. 393–402.
- 180.** Akdogan S. Variations in trace metal content of the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lamark with season and size / S. Akdogan, M. Unsal // Tr. J. of Zoology. – 1993. – Vol. 17. – P. 117–125.
- 181.** Anthropogenic vs. lithogenic origins of trace elements (As, Cd, Pb, Rb, Sb, Sn, Zn) in water column particles: Northwestern Mediterranean Sea / F. E. Grousset, C. R. Quetel, B. Thomas et all // Mar. Chem. – 1995. – Vol. 48, № 3–4. – P. 291–310.
- 182.** Babcock G. T., Wikstrom M. Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration // Nature. – 1992. – Vol. 356. – P. 302–309.
- 183.** Bowen K.L. RNA/DNA and protein Indices in Evaluating Growth and Condition of Aquatic Organisms / K.L. Bowen, O.E. Johannsson, R. Smith, // Ann. Conf. Great Lakes Res. – 2005. – Vol. 48. – P. 34–39.
- 184.** Brachet J. K. The biological role of ribonucleic acid / J. K. Brachet – New York : Elsevier, 1960. – 144 p.

- 185.** Brichett I. A genetic analysis of intraspecific competition for growth in mussel cultures / I. Brichett, M. I. Reyer, C. Arcia // *Aquaculture*. – 2001. – Vol. 192. – P. 155–169.
- 186.** Buckley L. Y. Changes in RNA, DNA and protein during ontogenesis in winter flounder (*P. americanus*) and effect of starvation / L. Y. Buckley // *Fish. Bull.* – 1980. – Vol. 77. – P. 703–708.
- 187.** Bulow F. J. RNA-DNA ratios as indicators of recent growth rates of a fish / F. J. Bulow // *J. Fish. Res. Board Can.* – 1970. – Vol. 27. – P. 2343–2349.
- 188.** Comparative approach of dissolved trace element exchange in two interconnected basins: Black Sea and Aegean Sea / C. Zeri, F. Voutsinou-Taliadouri, A. S. Romanov et al. // *Mar. Poll. Bull.* – 2000. – Vol. 40, № 8. – P. 666–673.
- 189.** Contribution to the ecotoxicological study of cadmium, lead, copper and zinc in the mussel *Mytilus edulis* J. C. Amiard, C. Amiard-Triquet, B. Berthet, C. Métayer *Marine Biology* February 1986, Volume 90, Issue 3, pp 425-431.
- 190.** Culture and harvest potential / J. S. Chalfant, Th. Archambaut, Y. G. Riley et al. // *Mussel Cult. And Harvest : a North Amer. Perspect.* Amsterdam. e. a. – 1980. – P. 38–68.
- 191.** Newel R. Reduced clearance rates associated with spawning in the mussel, *Mytilus edulis* (L) (Bivalvia, Mytilidae) / R. Newel, R. Thompson // *Mar. Biol. Lett.* – 1984. – Vol. 5, №1. – P. 21–23.
- 192.** Newkirk G. F. Genetics of shell color in *Mytilus edulis* L. and the *Mytilus* L. Reproductive cycle of the mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) in Venice Lagoon (North Adriatic) / L. Da Ros, M. Bressan, M. Gabriella // *Bolletino di zoologia*. – 1985. – Vol. 52. – P. 223–229.
- 193.** Dagg M. J. Relationships between growth rate and RNA, DNA, protein and dry weight in *Artemia salina* and *Euchaeta elongate* / M. J. Dagg, J. L. Littlepage // *Mar. Biol.* – 1972. – Vol. 17, № 2. – P. 162–170.

- 194.** Earnshaw *M.J.* Influence of zinc, copper on the mobility spermatozoa, ultrastructural damage and intracellular localization of metals / M. J. Earnshaw // *Environ. Res.*, 1986. – Vol. 20, №4. – P. 211–218.
- 195.** Franca S. Heavy metal concentrations in sediment, benthic invertebrates and fish in three salt marsh areas subjected to different pollution loads in the Tagus Estuary (Portugal) / S. Franca, C. Vinagre, I. Cacador, H. N. Cabral // *Mar. Poll. Bull.* – 2005. – Vol. 50. – P. 993–1018.
- 196.** Genetics of the mother-dependent sex ratio in blue mussels (*Mytilus spp.*) and implications for doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA / E. Kenchington, B. MacDonald, L. Cao et al // *Genetics.* – 2002. – Vol. 161. – P. 1579–1588.
- 197.** Geographical and seasonal variations in the relationship between trace metal content and body weight in *Mytilus edulis* / D. Cossa, E. Bourget, D. Pouliot et al // *Mar. Biol.* – 1980. – Vol. 58. – P. 7–14.
- 198.** Haines T. A. Seasonal patterns of muscle RNA-DNA ratio and growth in black crappie, *Pomoxis nigromaculatus* / T. A. Haines // *Environ. Biol. Fish.* – 1980. – Vol. 5, № 1. – P. 67–70.
- 199.** Ivanov V. N. Population-genetic investigation of the Black Sea *Mytilus galloprovincialis* Lam. / V. N. Ivanov, K. V. Bulatov // *Hydrores.* – 1990. – Vol. 7, № 8. – P. 36–41.
- 200.** Jonathan N. Blythe, David W. Lea Functions of height and width dimensions in the intertidal mussel, *Mytilus galloprovincialis* / Jonathan N. Blythe, David W. Lea // *Journal of Shellfish Research.* – 2008. – Vol. 27, No 2. – P. 385–392.
- 201.** Kozelka P.B. Chemical speciation of dissolved Cu, Zn, Cd, Pb in Narragansett Bay Rhode Island / P.B. Kozelka, K.W. Bruland // *Mar. Chem.* – 1973. – Vol. 60. – P. 267–82.
- 202.** Kunkel R. Atomic absorption analysis of strong heavy metal chelating agents in water and waste water / R Kunkel, S.E. Manahan // *Anal. Chem.* – 1973. – Vol. 45. – P. 1465–1468.

- 203.** Kluytmans J. M. Influence cadmium on the reproduction of *Mytilus edulis* / J. M. Kluytmans, D. I. Zandee, E. L. Enserink // *Aquat Toxicol*, 1988. – Vol. 11, №3. – P. 427–428.
- 204.** Lyngby J. E. Monitoring of heavy metal contamination in the Limfjord, Denmark, using biological indicators and sediment / J. E. Lyngby, H. Brix // *Sci. Total Environ*. 1987. – Vol. 64, №3. – P. 239–252.
- 205.** Mathers E. M., D. F. Houlihan, M. J. Cunningham. Nucleic acid concentrations and enzyme activities as correlates of growth rate of the saithe *Pollachius virens*: Growth-rate estimates of open sea fish // *Mar. Biol.* – 1992. – **112**. P. 361–369.
- 206.** Mayrand E. J., Pellerrin-massicotte, Vincent B. Small scale variability of biochemical indices of growth in *Mya arenaria* (L) // *J Shellfish Res.* – 1994. – **13**. P. 199–205.
- 207.** Mitochondrial DNA inheritance / E. Zouros, A. O. Ball, C. Saavedra et al // *Nature*. – 1994. – Vol. 368. – P. 818–830.
- 208.** Myung-Bo Kim. Progress in environmental microbiology / Nova Science Publishers Inc.: New York, 2008. – p. 265. – ISBN: 978-60021-940-5.
- 209.** Natural stocks of mussels: growth, recruitment, association of growth rate with shell color / G. F. Newkirk // *Aquaculture*. – 1980. – Vol. 47, №1. – P. 89–94.
- 210.** Nicholson S. Accumulation of metals in the soft tissues, byssus and shell of the mytilid mussel *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) from polluted and uncontaminated locations in Hong Kong coastal waters / S. Nicholson, P. Szefer // *Bas. Mar. Poll. Bull.* – 2003. – Vol. 46. – P. 1035–1048.
- 211.** Nicholson S., Szefer P. Accumulation of metals in the soft tissues, byssus and shell of the mytilid *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) from polluted and uncontaminated locations in Hong Kong coastal waters / S. Nicholson, P. Szefer // *Mar. Pollut. Bull.* – 2003. – Vol. 46. P. 1039–1043.
- 212.** Novac A. The phenotypic structure of a *Mytilus galloprovincialis* Lmk population from the Romanian Black Sea shore / A. Novac, L. Fusu // *Biologie Moleculară*. – 2006. – Vol. 7. – P. 235–240.

- 213.** On the occurrence of *Mytilus galloprovincialis* Lam. on the N. W. coast of the Iberian Peninsula / F. Sanjuan, H. Quesada, C. Zapata et all // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1990. – Vol. 143. – P. 1 – 14.
- 214.** Pennec M. Les methodes experimentales induisant la ponte chez les mollusques bivalves marins // Haliotis. – 1981. – Vol. 11. – P. 139 – 155.
- 215.** Progress in Environmental Microbiology / Ed. Myung-Bo Kim – New York; Nova Science Publishers, 2008. – P. 11–151.
- 216.** Resent taxonomic discoveries concerning the mussel *Mytilus*: implications for biomonitoring / P. B. Lobel, S. P. Belkhoode, S. E. Jackson at. all // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 1990. Vol. 19. – P. 508–512.
- 217.** RNA concentration and protein synthesis in rat brain during development / Dunlop, S. David, R. Bodony, A. Lajtha et. all // Brain Res. – 1984. – Vol. 294, № 1. – P. 148–151.
- 218.** Rodrigues de la Rua. Accumulation of copper and histopathological alterations in the oyster *Crassostrea angulata* / R. A. Rodrigues, J. M. Arelano // Mar. Poll. Bull. – 2011. – Vol. 62. – P. 2366–2641.
- 219.** Rooker J.R. Application of RNA: DNA ratios to evaluate the condition and growth of larval and juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) / J.R. Rooker, G.J. Holt // Mar. kreshwat. Res. – 1996. – Vol. 47, N 2. – P. 12–18.
- 220.** Seed R. Ecology / R. Seed // In: Marine mussels: their ecology and physiology. Ed. B. L. Bayne. – Camb. Univer. Press. – London-New York-Melburne. – 1976. – P. 13–66.
- 221.** Segar D. A. The distribution of the Major and Minor Elements in Marine Animals / D. A. Segar, J. D. Collins, J. P. Riley // Mar. Biol. Ass. U. K. – 1971. – Vol. 51. – P. 131–136.
- 222.** Sukhotin A. Chell colors polymorphism and growth variability in *Mytilus* population / A. Sukhotin // Abstracts of 31 European marine Biology Symposium. – St. – Petersburg, Sept. 1996. – 1996. – p. 24.

- 223.** Unsal M. A preliminary study on the metal content of mussels, *Mytilus galloprovincialis* Lam. in eastern Black Sea / M. Unsal, S. Besiktepe // *Zoology*. – 1994. – Vol. 18. – P. 265–271.
- 224.** Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam./ A. Viarengo, L. Canesi, M. Pertica et. all // *Comparative Biochemistry and Physiology*. – 1990. – Vol. 97. – P. 37–42.
- 225.** Walne P. R. The Influence of current speed, body size and water temperature on the filtration rate of five species of bivalves / P. R. Walne // *Mar. Biol. Ass. U. K.* – 1972. – Vol. 52. – P. 345–374.
- 226.** Zouros E. An unusual tupe of mitochondrial DNA inheritance in the blue mussel *Mytilus* / E. Zouros, D. W. Foltz // *Malacologia*. – 1984. – Vol. 25. – P. 583–591.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Плана эксперимента однофакторного дисперсионного анализа

Таблица. А. 1

Пов- торы	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	63.50	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	69.85	69.85	69.85	63.50	69.85	63.50
2	63.50	69.85	69.85	63.50	69.85	69.85	69.85	63.50	63.5	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50
3	63.50	69.85	63.50	63.50	69.85	63.50	69.85	63.50	69.85	69.85	63.50	63.50	69.85	63.50
4	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	57.15	63.50
5	63.50	69.85	63.50	69.85	63.50	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50	63.50	69.85
6	63.50	63.50	63.50	63.50	57.15	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50
7	63.50	76.20	69.85	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	69.85	63.50	69.85	63.50	63.50	57.15
8	63.50	69.85	63.50	69.85	69.85	63.50	63.50	63.50	69.85	57.15	69.85	63.50	63.50	76.20
9	69.85	82.55	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	57.15	69.85	57.15	63.50	63.50	63.50	69.85
10	63.50	76.20	69.85	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	69.85	63.50	63.50	63.50	69.85	76.20
11	63.50	76.20	63.50	57.15	63.50	63.50	69.85	63.5	69.85	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50
12	63.50	69.85	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	57.15	63.5	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50
13	69.85	82.55	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	57.15	63.50
14	63.50	76.2	63.50	63.50	69.85	69.85	63.50	63.50	69.85	63.50	69.85	63.50	63.50	69.85
15	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	57.15	63.5	63.50	57.15	69.85
16	69.85	76.20	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50	69.85	69.85
17	63.50	82.55	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	57.15	69.85	63.50	63.50	69.85
18	57.15	69.85	63.50	63.50	63.50	57.15	63.50	63.50	69.85	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50
19	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50	63.50	69.85	69.85	63.50	63.50	63.50
ΣA_i	1219. 2	1377. 95	1250. 95	1212. 85	1225. 55	1212. 85	1270	1212. 85	1270. 00	1200. 15	1270	1212. 85	1219. 2	1263. 65

Продолж.табл. А. 1

15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
57.15	63.50	63.50	69.90	63.50	63.50	69.85	76.20	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50
57.15	63.50	63.50	69.85	63.50	69.85	69.85	69.85	69.85	57.15	63.50	69.85	63.50	69.85	69.85
63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50	69.85	57.15	63.50	63.50	63.50	76.20	63.50
63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	76.20	63.50
63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	63.50	63.50	57.15	69.90	69.90	63.50	63.50	63.50
63.50	63.50	57.15	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85
63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85
63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	69.85	57.15	69.85	63.50	63.50	63.50
69.85	57.15	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85
63.50	63.50	57.15	63.50	63.50	69.85	69.85	63.50	69.85	57.15	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85
57.15	63.50	63.50	57.15	63.50	63.50	69.85	63.50	69.85	57.15	69.85	63.50	63.50	76.20	63.50
63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.5	63.50	69.85	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50
63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	63.50	63.50	63.50	63.5	63.50	63.50	76.20	63.50
69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	63.50	63.50	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50
63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	69.85	63.50	63.15	63.50	63.50	76.20	63.50
63.50	63.50	63.50	57.15	63.50	63.50	69.85	69.85	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85
63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	63.5	69.85	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50
57.15	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	69.85	63.50	57.15	63.50	63.50	63.50	69.85	63.50
57.15	63.50	63.50	63.50	63.50	63.50	69.85	69.85	69.85	63.50	63.50	69.85	63.50	63.5	63.50
1187. 45	1200. 15	1193. 80	1206. 50	1206. 50	1244. 60	1301. 75	1282. 70	1282. 70	1174. 75	1225. 20	1238. 25	1206. 50	1301. 75	1244. 60
62.49	63.16	62.83	63.50	63.50	65.51	68.51	67.51	67.51	61.83	64.49	65.17	63.50	68.51	65.51