

5. Кордюм Е. Л., Сытник К. М. Концепция стресса // Клеточные механизмы адаптации растений. – Киев: Наук. думка, 2003. – С. 11–20.
6. Shaw A. J. Adaptation to metals in widespread and endemic plants // Environ. Health Perspect. – 1994. – 12. – P. 105–108.
7. Bassi P. The effect of environmental stress on repetitive DNA behavior in plants // Plant Response to Environmental Stresses / Ed. H. R. Lerner. – New York: Marcel Dekker, 1999. – P. 161–170.
8. Imhoft A., Bonaldi T. “Chromatomics” the analysis of the chromatome // Mol. Biosyst. – 2005. – 1. – P. 112–116.
9. Blokland R. van, Lohuis M. ten, Meyer P. Condensation of chromatin in transcription regions of an inactivated plant transgene: evidence for an active role of transcription in gene silencing // Mol. and Gen. Genet. – 1997. – 257. – P. 1–13.
10. Зеленин А. В. Люминесцентная цитохимия нуклеиновых кислот. – Москва: Наука, 1967. – 136 с.
11. Lushai G., Loxdale H. The biological improbability of a clone // Genet. Res. – 2002. – 79. – P. 1–9.
12. Лазаренко А. С. Динамика количественной изменчивости спорофита *Desmatodon randii* (Kenn.) Lazar. в естественной популяции и в односпоровых культурах // Бюл. Моск. о-ва испыт. природы. Отд. биол. – 1963. – 68, № 6. – С. 133–148.
13. Довгалюк А. І. Порівняння цитогенетичної та антимікротрубочкової активності фітотоксичних металів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 2004. – 24 с.
14. Рупецкий Р. Т., Данилиш И. С., Лесняк Е. Н. О генетической дивергенции морфологически неразличимых цитотипов мха *Pottia lanceolata* // Цитология и генетика. – 1983. – 6. – С. 49–55.
15. Szwedkowski J. Species problems and taxonomic methods in bryophytes // New Manual of Bryology / Ed. R. M. Schuster. – Nichinan, 1984. – Vol. 2. – P. 1130–1171.

Інститут екології Карпат
НАН України, Львів

Надійшло до редакції 23.05.2007

УДК 594.124:591.134(262.5)

© 2008

С. А. Щербань, О. Ю. Вялова

Половые и фенотипические особенности содержания РНК в гонадах черноморских мидий

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины Г. Е. Шульманом)

*Data on the total RNA contents of gonads of males and females of mussels *Mytilus galloprovincialis* at different stages of maturity are presented. Gonads are characterized by various synthesis activities depending on the stage of maturity. The RNA contents increase during maturing, and their values are maximum at the spawning period. No reliable differences between male and female investigated parameters are noted ($P > 0.05$). Phen groups of mussels with typical colour shell (black, black-brown, brown) and albino-mussels (no pigmentation of shell, mantle, foot) are first investigated. Brown and albino molluscs have maximum contents of nucleic acids and levels of protein synthesis.*

В вопросах структурно-функционального разнообразия популяций гидробионтов немаловажную роль играет изучение половых особенностей белкового синтеза генеративной ткани, а также особенностей, связанных с принадлежностью к определенным фенотипическим

группам (для полиморфных видов) [1–6]. В синтезе белка непосредственное участие принимают все виды РНК, поэтому их количественный анализ обеспечивает простой способ оценки интенсивности роста [7–10]. Изучение индивидуальной variability биохимических признаков — одна из основ селекционной работы с культивируемыми видами, а черноморская мидия *Mytilus galloprovincialis* Lam. является объектом марикультуры. Учет фенотипических признаков, в частности радиальной полосатости раковины, важен как в популяционно-генетических исследованиях, так и при выращивании моллюсков в марикультуре [2, 5, 6]. На сегодня ощущается дефицит данных о состоянии и изменчивости ростовых параметров у *M. galloprovincialis* в зависимости от пола и стадий зрелости моллюсков [11]. Нами проведен комплекс исследований по оценке ростовых процессов у сеголеток и половозрелых форм полиморфного черноморского вида *M. galloprovincialis* Lam. Цель настоящей работы — установление особенностей репродуктивного синтеза на разных стадиях подготовки к нересту и выявление специфических половых и фенотипических различий.

Мидии собирали в период с марта по июнь 2004–2005 гг. с коллекторов частного мидийного хозяйства, расположенного в бухте Стрелецкая (г. Севастополь). Обработку материала выполняли в лаборатории отдела физиологии животных и биохимии Института биологии южных морей НАН Украины. Для исследований отбирали моллюсков одной размерной группы, с длиной створки 50–55 мм, половозрелых самцов и самок с черной, коричневой и черно-коричневой раковиной. Кроме этого, были собраны и исследованы альбиносные формы, которые составляли менее 0,1% популяции. Выборка включала 110 экземпляров. Стадию зрелости гонад определяли по шестибальной шкале, включая и стадию резорбции [1, 12, 13]. Скорость роста оценивали по содержанию суммарного количества РНК. Количественное определение нуклеиновых кислот проводили спектрофотометрически [14]. Все пробы индивидуальны: каждому измерению соответствовал один экземпляр моллюска. Результаты обрабатывали статистически по стандартным компьютерным программам, рассчитывали средние арифметические значения (M), среднее квадратичное отклонение (σ), ошибку средней (m), доверительные интервалы, коэффициент вариации (CV).

Уровень белкового синтеза в гонадах мидий на разных стадиях зрелости. Изучение “мгновенной” скорости белкового роста гонад мидий в период их предполагаемого массового размножения позволяет в большей мере, чем когда-либо в течение годового цикла, оценить уровень, специфику и направленность процесса на каждой из стадий зрелости, сравнить аналогичные стадии у самцов и самок, определить половые и фенотипические особенности.

На начальном этапе проводили анализ физиологического состояния гонад самцов и самок и определяли стадии зрелости. Для черноморских мидий характерна индивидуальная асинхронность созревания гонад [13], поэтому в популяции могут одновременно встречаться особи с разной зрелостью гонад. В марте доля самок на 3–4-й стадии составляла 33%, доля самцов на той же стадии — 40%, а в июне их количество увеличилось до 60 и 73% соответственно. Количество резорбирующих самок (6-я стадия) было незначительным (11–18%) за весь период исследования. В июне отмечены особи с гонадами в стадии покоя (~ 14%).

Анализ данных по суммарному содержанию РНК показал, что гонады моллюсков характеризуются разным уровнем синтезной активности в зависимости от готовности к репродукции (табл. 1).

Содержание нуклеиновых кислот у мидий заметно возрастает по мере созревания гонад, достигая максимальных значений на 5-й стадии. Это может свидетельствовать о высоком уровне белкового синтеза в генеративных тканях. Известно, что на момент нереста

гонады мидий обладают максимальной сухой массой, где доля белковых фракций может достигать 60% [13]. На момент окончательного созревания гонад и готовности к нересту содержание РНК продолжает оставаться высоким. Поскольку у мидий нерестовый период, в течение которого происходит многократный вымет половых продуктов, достаточно длителен (до 30–60 сут), то и процессы биосинтеза продолжают оставаться на максимально высоком уровне до полного опустошения гонад. Анализ полученных результатов не выявил достоверных различий между суммарным содержанием РНК в гонадах самок и самцов на каждой стадии ($P > 0,05$).

В гонадах как самок, так и самцов вариабельность значений РНК была незначительной на ранних стадиях зрелости (CV 10–14%). По мере роста и созревания коэффициент вариации заметно увеличивался. При определении 3-й и 4-й стадий существуют некоторые трудности, так как в гонадах одной особи могут встречаться половые клетки разной степени зрелости. В данном случае нами были объединены результаты, полученные для двух преднерестовых стадий, что, очевидно, и отразилось на высоких значениях коэффициента вариации. Высокая степень изменчивости содержания РНК в гонадах самцов (CV = 41,4%) и самок (CV = 29,4%) на 5-й стадии, по-видимому, связана с различной интенсивностью нереста каждого из моллюсков, когда уровень белкового анаболизма становится зависимым от физиологического состояния организма.

Фенотипические особенности. Работы, посвященные изучению цветовых морф мидий, немногочисленны, а результаты противоречивы [2, 4, 6, 15]. По данным некоторых исследователей существует взаимосвязь физиологических характеристик моллюсков с окраской их раковины и мантии [3]. Другие исследователи считают, что цветовое разнообразие черноморских мидий является морфологическим признаком вида и не связано с физиолого-биохимическими особенностями моллюсков [1, 2]. Мы попытались рассмотреть влияние фенотипических различий на разных стадиях зрелости гонад у мидий. В весенне-летний период популяция состояла на 36% из мидий черного фенотипа, 34% — черно-коричневого и 29% — коричневого фенотипа. У мидий с черными и черно-коричневыми створками в содержании РНК генеративных тканей достоверных различий не выявлено ($P > 0,05$) (рис. 1). Однако на 5-й стадии зрелости у моллюсков коричневой морфы уровень белкового синтеза был значительно выше и достоверно отличался от других фенотипов ($P < 0,02$). Возможно, что эти отличия связаны с иным генотипом мидий коричневой морфы.

В последнее время в популяциях черноморской мидии все чаще стали встречаться экzemпляры, лишенные интенсивной окраски раковины, края мантии и ноги. По нашим данным, депигментированные формы черноморских мидий составляют менее 0,1% всей популяции. На момент проведения исследования альбиносы были на 3–4-й стадии зрелости и в подавляющем количестве представлены женскими особями (90%). Полученные результа-

Таблица 1. Значения РНК (мкг/мг сухой массы) в гонадах черноморских мидий в весенне-летний период

Стадия зрелости	Самки			Самцы		
	$M \pm m$	CV	n	$M \pm m$	CV	n
1	3,30 ± 0,15	12,1	7	3,90 ± 0,10	10,1	7
2	4,49 ± 0,17	14,4	15	4,49 ± 0,21	13,3	8
3–4	6,92 ± 0,70	37,7	14	7,94 ± 0,25	10,6	11
5	15,01 ± 1,27	29,4	12	15,60 ± 2,04	41,4	10
6	5,50 ± 0,3	8,1	11	—	—	—

Примечание. “—” — данные отсутствовали.

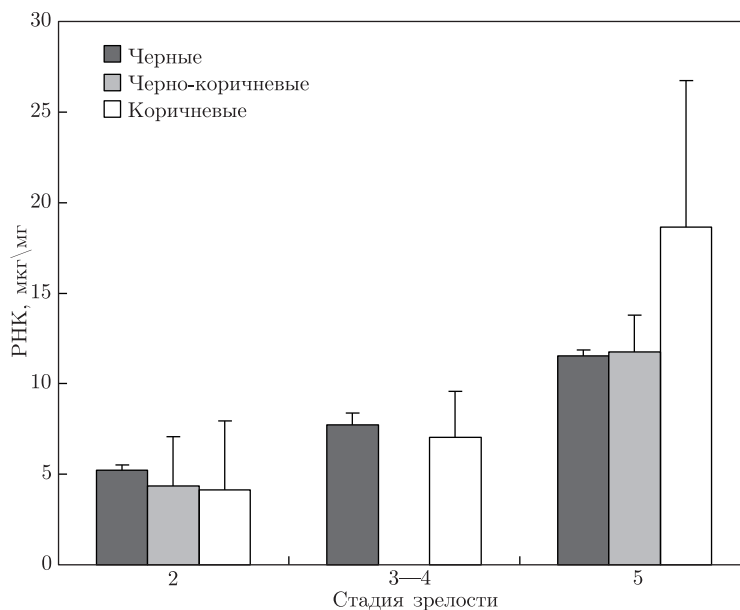


Рис. 1. Содержание РНК в гонадах самок мидий различных фенотипов (указаны доверительные интервалы)

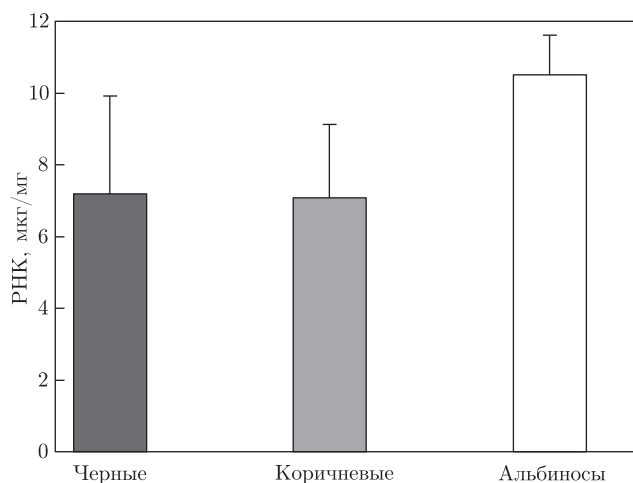


Рис. 2. Содержание РНК в гонадах мидий черной, коричневой и альбиносной морф (указаны доверительные интервалы)

ты показали, что содержание нуклеиновых кислот в генеративных тканях мидий-альбиносов достоверно выше по сравнению с особями, имеющими черную и коричневую окраску раковины (при $P < 0,05$) (рис. 2).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что гонады черноморских мидий характеризуются разной интенсивностью белкового синтеза в зависимости от готовности к репродукции, достигая максимальных значений на нерестовой стадии зрелости. Достоверных различий исследуемых показателей у самок и самцов не обнаружено ($P > 0,05$). Также нами не установлена четкая связь между окраской раковины и интенсивностью роста генеративной ткани у темноокрашенных морф, за исключением моллюсков коричневого фенотипа на 5-й стадии. Впервые получены результаты для черноморс-

ких мидий-альбиносов, установлено их достоверное отличие по уровню белкового синтеза. Изучение физиолого-биохимических особенностей различных фенотипических морф черноморских мидий, в том числе и депигментированных моллюсков (альбиносов), требует дальнейшего продолжения.

1. Столбова Н. Г., Пиркова А. Д. Гибридологический анализ наследования цвета края мантии и ноги у мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Цитология и генетика. – 1995. – **29**, № 1. – С. 71–77.
2. Столбова Н. Г., Пиркова А. В., Ладыгина Л. В. Наследование цвета раковины у мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Там же. – 1996. – **30**, № 6. – С. 62–65.
3. Щербань С. А. Особенности соматического и генеративного роста у некоторых цветковых морф мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология моря. – 2000. – Вып. 53. – С. 77–81.
4. Nauwirk G. F. Genetics of shell colour in *Mytilus edulis* (L.) and the association of growth rate with shell colour // J. Exp. Mar. Biol. and Ecol. – 1980. – **47**, No 1. – P. 89–94.
5. Пиркова А. Д., Ладыгина Л. В., Столбова Н. Г. Наследование признака радиальной полосатости раковины у мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Гидробиол. журн. – 2002. – **38**, № 3. – С. 65–71.
6. Sukhotin A. Shell colour polymorphism and growth variability in *Mytilus* population // Abstracts of 31 European marine Biology Symposium (St.-Petersburg, Sept. 1996). – St.-Petersburg, 1996. – P. 24.
7. Dunlop D. S., Bodony R., Lajtha Abel. RNA concentration and protein synthesis in rat brain during development // Brain Res. – 1984. – **94**, No 1. – P. 148–151.
8. Ota A. Y., Landry M. R. Nucleic acids as growth rate indicators for early developmental stages of *Calanus pacificus* Brodsky // J. Exp. Mar. Biol. and Ecol. – 1994. – No 80. – P. 147–160.
9. Sutcliffe W. H. Relationship between growth rate and ribonucleic acid concentration in some invertebrates // J. Fish. Res. Br. – 1970. – **27**, No 3. – P. 606–609.
10. Wilkins N. P. The rationale and relevance of genetics in aquaculture: an overview // Aquaculture. – 1981. – **22**, No 3. – P. 209–228.
11. Петкевич Н. С., Вялова О. Ю. О вариабельности морфологических и биохимических характеристик у черноморских мидий // Наук. зап. Терноп. пед. ун-та. Сер. Біол. – 2005. – **4(27)**. – С. 174–176.
12. Иванов В. Н., Холодов В. И., Пиркова А. В. и др. Биология культивируемых мидий. – Киев: Наук. думка, 1981. – 232 с.
13. Финченко Г. А., Романова З. А., Аболмасова Г. И. Экологическая энергетика черноморских мидий // Биоэнергетика гидробионтов. – Киев: Наук. думка, 1990. – С. 32–72.
14. Спирин А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот // Биохимия. – 1958. – **23**, № 5. – С. 656–662.
15. Щербань С. А. Фенотипические различия показателей “мгновенной” скорости генеративного роста черноморского двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* L. // Водные экосистемы и организмы: Материалы науч. конф. (Москва, 19–20 апреля, 1999 г.). – Москва, 1999. – С. 62.

Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского НАН Украины, Севастополь

Поступило в редакцию 29.05.2007