

## **АНАЛИЗ ХАРАКТЕРА ПИГМЕНТАЦИИ ЦВЕТОВЫХ ГРУПП *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM., ВЫЯВЛЕННЫХ МЕТОДОМ ЦИФРОВОЙ ОБРАБОТКИ ФОТОГРАФИЙ**

При помощи метода цифровой обработки фотографий среди мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam выделено четыре цветовые группы: черная, переходная, темно- и светло-коричневая. Характер пигментации створок в системе RGB внутри выделенных групп достоверно различался. Показатели красного и зеленого компонента цвета росли от светлых мидий к темным. Наибольшее значение синего компонента было характерно для переходной группы моллюсков.

*Ключевые слова:* *Mytilus galloprovincialis* Lam, цветовые измерения, цветовые морфы

Некоторые фенотипические признаки могут выступать в роли маркеров комплекса генов, играя важную роль в оценке генетического состояния популяции. Для черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. таким маркером является окраска раковины [1]. Установлено, что моллюски разного цвета имеют разные темпы соматического роста, отличаются по скорости образования и прочности бисуссного белка, имеют различные изоферментные спектры неспецифических эстераз и б-фосфоглюконатдегидрогеназы [2–4].

На основании цветового признака выделяют две морфы: черную и коричневую [2]. Предположение, что цвет створок является генетически детерминированным признаком, было подтверждено работами по гибридизации [5]. Согласно одной из точек зрения, коричневая окраска раковины доминирует над черной, а наличие радиальных полос над их отсутствием. Однако у близкого вида *Mytilus edulus* было обнаружено нарушение такой схемы наследования [6, 7]. Другая точка зрения основывается на данных об окраске кристаллического слоя раковины, который может быть чистым, с выраженными синими полосами или полностью окрашенным. В такой системе оба типа моллюсков с однотонным кристаллическим слоем считаются гомозиготами, а с полосатым — кодоминантными гетерозиготами [8]. В ряде статей также сообщается о способности *M. edulus* и *M. galloprovincialis* менять окраску раковины на ранних стадиях развития под воздействием света [7, 9].

Разделение моллюсков на две морфы, как правило, производится визуально или основываясь на признаке наличия-отсутствия синего пигмента [10]. Некоторые авторы выделяют в отдельную группу моллюсков с промежуточной окраской [4, 11]. Достоверное отнесение каждой мидии к той или иной морфе затруднено субъективностью восприятия исследователя, что мешает дальнейшему изучению вопроса наследования признака.

В последнее время широкое применение получил метод цифровой обработки фотографий. Прежде он был использован для выявления цветовых морф брюхоногого моллюска *Littorina obtusata* L. [12]. В данной работе предпринята попытка подобным образом разделить на группы черноморскую мидию.

### **Материал и методы исследований**

Материалом для исследования послужили половозрелые мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam., длиной 44,20–72,60 мм, разной окраски, собранные на плантациях в Мартыновой бухте, Кацевели и на Карадаге. Первоначально все мидии были разделены визуальным методом на пять цветовых групп: коричневые, темнокоричневые, переходные, черные с элементами коричневого и чисто черные. Из раковин удалялись все мягкие ткани. Створки очищались от обрастаний, высушивались. Мидии со значительными повреждениями конхиолинового слоя не использовались в дальнейших исследованиях.

Отобранные створки фотографировались в темной камере при помощи фотоаппарата OLYMPUS CAMEDIA C-7070 WIDE ZOOM в режиме ручной настройки (выдержка – пол секунды, чувствительность диафрагмы – F11). Объект освещался кольцевой люминесцентной лампой модели BRILUM FCS 22 W (температура 4000 К, световой поток 1650 Лм, частота 6000 Гц). Для удаления блика при фотографировании створки помещались в воду. Каждая створка снималась в пяти повторностях. Полученные фотографии обрабатывались в графическом редакторе Adobe Photoshop CS3.

Большинство створок окрашены неравномерно, поэтому цвет был усреднен стандартным фильтром Размытие/Среднее (Blur/Average). Цвет был описан через цветовые схемы HSB (Hue, Saturation, Brightness – Тон, Насыщенность, Яркость) и RGB (Red, Green, Blue – Красный, Зеленый, Синий). В результате каждой створке соответствовало шесть числовых значений. Согласно предварительно разработанной методике для разделения моллюсков на группы подходят показатели красного компонента (система RGB) и оттенка цвета (система HSB). Полученный цифровой материал обработан статистически при помощи t-критерия Стьюдента. Результаты представлены в виде  $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ .

### Результаты исследований и их обсуждение

Первоначально был построен полигон распределения с использованием характеристики R и H. Цвет всех створок визуально разделится на четыре обособленные группы, с неперекрывающимися диапазонами значений красного компонента (рис. 1). Они были условно обозначены как: черная (R лежит в пределах 37,2–61,8), переходная (71,6 – 89,6), темнокоричневая (91,2–126) и светлокори́чевая (130,8–146).

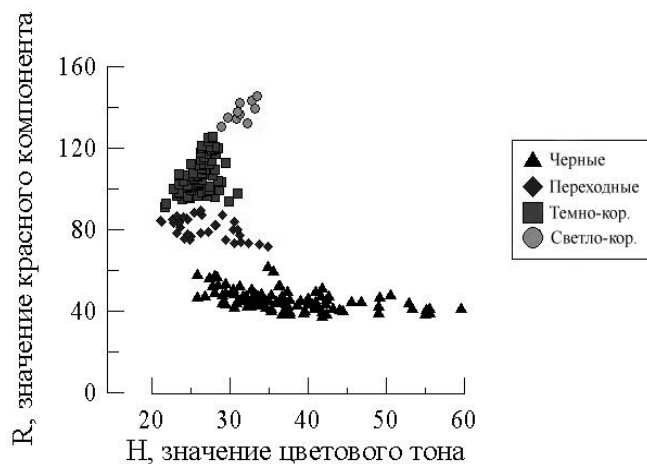


Рис. 1. Распределение створок мидий по цветовым характеристикам: H - цветовой тон, R - значение красного компонента

Дальнейший анализ цветовых характеристик у исследованных групп показал наличие прямой линейной корреляция между красной составляющей цвета (R в системе RGB) и яркостью (B в системе HSB),  $R^2 = 0.97$ .

Для трех выделенных групп были построены гистограммы значения R. Нормальность выборок проверялась путем сравнения экспериментальных и теоретически рассчитанных частот с использованием критерия  $\chi^2$ . При  $p \leq 0,05$  достоверных различий обнаружено не было. Распределение красной компоненты для черных, переходных и темнокоричневых моллюсков можно считать близким к нормальному, несмотря на то, что особи отбирались не случайным образом. Светлокори́чевую группу не удалось проверить на нормальность по причине маленького объема выборки ( $n=10$ ), однако, можно предположить, что при увеличении количества исследуемых особей она будет иметь нормальный характер распределения.

Диапазоны и средние значения всех цветовых характеристик по группам отображены в табл. 1.

Цветовые характеристики разных групп моллюсков

Цветовые хар-ки	Черные		Переходные		Темнокоричневые		Светлокоричневые	
	Диапазон	Среднее	Диапазон	Среднее	Диапазон	Среднее	Диапазон	Среднее
H (°)	21,0–36,2	29,7±0,4	37,2–59,6	43,9±1,1	21,0–31,0	26,2±0,2	28,8–33,4	31,5±0,6
B <sub>r</sub> (y.e.)	14,6–24,4	17,7±0,2	25,0–2,4	31,2±0,4	36,0–49,2	41,9±0,2	37,8–53,4	47,6±1,7
R (y.e.)	37,2–61,8	45,6±0,5	65,0–89,6	80,5±0,7	91,2–126,0	107,5±1,1	130,8–146,0	138,0±1,4
G (y.e.)	34,8–56,2	41,1±0,4	48,0–72,6	62,3±1,2	54,6–90,8	69,3±0,8	88,6–99,2	93,5±1,0
Bl (y.e.)	27,4–48,8	37,6±0,5	29,0–64,2	49,1±1,7	32,0–60,6	41,9±0,8	37,8–49,4	43,2±1,0

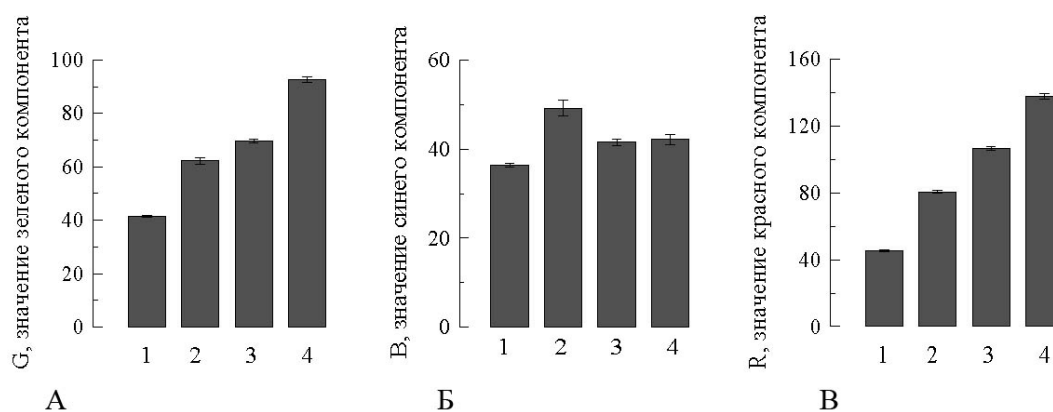


Рис. 2. Средние значения красного, синего и зеленого компонентов в разных группах. А — значение зеленого компонента; Б — значение синего компонента, В — значение красного компонента; 1 — черная, 2 — переходная, 3 — темнокоричневая, 4 — светлокоричневая

Наибольшее значение синего компонента наблюдалось у мидий переходной окраски (среднее значение). Для створок, выделенных в светло- и темнокоричневые группы, достоверного различия по синему компоненту не получено (рис. 2 Б).

Каждая из створок мидии попадала в одну цветовую группу, однако, окраска правой и левой могли незначительно отличаться. Ассиметрия носила ненаправленный характер и была менее всего выражена у черных мидий по всем характеристикам, кроме оттенка цвета (H).

Зеленый компонент цвета, как и красный, в указанных группах достоверно отличался ( $p \leq 0,05$ ). Причем обе характеристики увеличивались от черной морфы через переходную к коричневой (рис. 2 А,В). У светлых мидий по сравнению с темными в три раза выше значение R, в 2.2 раза – значение G.

В основе визуального разделения на морфы лежат два признака: цвет мидии и наличие-отсутствие радиальных полос. Соответственно выделяют черную и коричневую морфы. Как правило под переходной группой понимаются коричневые мидии со значительным количеством полос, однако, попадаются и такие экземпляры, для которых однозначно определить цвет невозможно. Методом цифровой обработки фотографий были выделены четыре достоверно различающиеся группы: черная, переходная, темно- и светлокоричневая - такие же группы выделяет И. И. Казанкова [9].

Светлокоричневую группу составили мидии, створки которых были слабо пигментированы. Некоторые из них имели синие и насыщенно коричневые полосы. Исчерченность была немногочисленной и слабо влияла на конечное значение цвета. Интерес вызывает общий характер окраски таких мидий. Известно, что синий пигмент залегает в кристаллическом слое раковины, в то время как коричневый — в периостракуме. Однако на створках этой группы различаются два коричневых тона: светлый, образующий фоную

окраску, и темный — радиальные полосы. Возможно эти элементы образованы двумя разными пигментами или же одним пигментом, синтез которого частично подавлен. Вторая точка зрения подтверждается работами по влиянию освещенности на интенсивность окраски мидий [7, 9]. Таким моллюскам характерно не только обесцвечивание створок, но и всех тканей [13].

Значительное увеличение красного компонента цвета у этой группы связано с высветлением створки. Повышение значения зеленого компонента свидетельствует о смещении из красно-коричневой зоны спектра в желто-коричневую зону.

К темнокоричневой группе были отнесены мидии насыщенно коричневой окраски, часто с красноватым оттенком, иногда с малочисленными радиальными полосами. Единично встречались высветления наружного края створки, что скорее объясняется ее недавним образованием, нежели подавлением признака.

Значение синего компонента для этих двух групп достоверно не различалось. Видимо, характеристика В1 напрямую связана с наличием радиальных полос в кристаллическом слое раковины. У темно- и светлокоричневых мидий исчерченность как правило слабо выражена или отсутствует.

В черную группу попадали моллюски с однотонно черной окраской раковины. Предполагается, что черная морфа образуется в результате перекрытия коричневым периостракума полностью окрашенного кристаллического слоя [8]. Тем не менее, значение синего компонента в этой группе было низким, достоверно не отличающимся от слабо исчерченных коричневых моллюсков. Это объясняется тем, что в цветовой схеме RGB для «абсолютно» черного цвета значение всех компонентов равно нулю. Соответственно, чем темнее окрашена раковина, тем ниже ее цветовые характеристики. Моллюски черной группы показали широкий диапазон цветового тона H, связанный с низкой чувствительностью программы к этому показателю у темных цветов. Мидии переходной группы проявляют значительную цветовую неоднородность. Возможно при увеличении выборки удастся еще более дифференцировать эту категорию. Группе в целом свойственно высокое значение синего компонента, что, по-видимому, свидетельствует о значительной роли радиальных полос при формировании данного фенотипа. Ассиметрия правой и левой створки для разных групп отличалась. Наименьшее колебание наблюдалось у черных моллюсков. Известно, что флуктуирующая (ненаправленная) асимметрия является признаком нестабильности онтогенеза [14]. Низкие значения асимметрии в этой группе могут быть связаны с более комфортными условиями развития или с устойчивостью фенотипа к внешним воздействиям. Наибольшее значение асимметрии наблюдалось у светлокоричневых мидий, однако, это может быть вызвано маленьким объемом выборки. Далее по убывающей идет темнокоричневая и переходная группа.

## Выводы

Разделение моллюсков на морфы методом цифровой обработки фотографий не зависит от субъективного восприятия исследователя, и годно для дифференциации цветовых групп при генетических и популяционных исследованиях. Количественная выраженность цвета предоставляет широкую перспективу для установления различных корреляций.

1. Булатов К. В. Генетическая природа окраски раковин у черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. / К. В. Булатов // Доклады АН УССР. – 1984. – Серия Б. – № 6. – С. 54–56.
2. Иванов В. Н. Биология культивируемых мидий / В. Н. Иванов, В. И. Холодов, Сеничева М. И. [и др.] – Киев : Наукова думка, 1989. – 99 с.
3. Столбова Н. Г. Генетический полиморфизм мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. у берегов Крыма / Н. Г. Столбова, Л. В. Ладыгина // Цитология и генетика. – 1994. – Т. 28, № 2. – С. 62–66.
4. Щербань С. А. Особенности соматического и генеративного роста у некоторых цветовых морф мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. / С. А. Щербань // Экология моря. – 2000. – Вып. 53. – С. 77–81.
5. Пиркова Л. В. Популяционно-генетическое исследование мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. / Л. В. Пиркова, А. В. Ладыгина, Н. Г. Столбова [и др.] // Экология моря. – 2000. – Вып. 50. – С. 70–75.
6. Innes D. J. Inheritance of a shell color polymorphism in the mussel / D. J. Innes, Haley L. E. // J. heredity – 1977. – № 68. – P. 203–204.

7. *Newkirk G. F.* Genetics of shell color in *Mytilus edulis* L. and the association of growth rate with shell color / G. F. Newkirk // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1980. – Vol. 47, №1. – P. 89–94.
8. *Шурова Н. М.* Структурно-функциональная организация популяции мидий *Mytilus galloprovincialis* Чёрного моря : автореф. дисс. на соискание научной степени доктора биол. наук. Специальность “Гидробиология” / Н. М. Шурова. – Севастополь, 2009. – 41 с.
9. *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.
10. *Казанкова И. И.* Частота цветowych морф в поселениях *Mytilus galloprovincialis* в прибрежных водах южного и юго-западного Крыма / И. И. Казанкова // Экология моря. – 2008. – Вып. 75. – С. 38–41.
11. *Бородина А. В.* Сравнительная оценка содержания и состава каротиноидов в тканях различных цветowych морф *Mytilus galloprovincialis* Lam. / А. В. Бородина, А. А. Солдатов // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер.: Біологія. – 2010, № 3(44). – С. 25–27.
12. *Козминский Е. В.* Методика цветowych измерений элементов окраски раковины у брюхоногих моллюсков / Е. В. Козминский, П. А. Лезин // Биология моря. – 2006. – Т. 32, № 5. – С. 371–373.
13. Антиоксидантный ферментативный комплекс тканей различных цветowych морф черноморского моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. / О. Л. Гостюхина // Экология моря. – 2005. – Вып. 68. – С. 42–47.
14. *Шадрин Н. В.* Флуктуирующая асимметрия двустворчатых моллюсков песчаной сублиторали у берегов Крыма (Чёрное море) / Н. В. Шадрин, С. С. Миронов, Е. В. Веремеева // Экология моря. – 2005. – Вып. 68. – С. 93–98.

*А. Д. Кулікова*

Інститут біології південних морів ім. О.О. Ковалевського НАН України

#### АНАЛИЗ ХАРАКТЕРУ ПІГМЕНТАЦІЇ ГРУПИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM. ЗА КОЛЬОРОМ, ВИЯВЛЕНИХ МЕТОДОМ ЦИФРОВОЇ ОБРОБКИ ФОТОГРАФІЙ

За допомогою методу цифрової обробки фотографій серед мідій *Mytilus galloprovincialis* Lam. виділено чотири групи за кольором: чорна, перехідна, темно-та ясно-коричнева. Характер пігментації стулок в системі RGB серед виділених груп достовірно відрізнявся. Показники червоного та зеленого компонентів росли від світлих мідій до темних. Найбільше значення синього компонента було характерно для перехідної групи моллюсків.

*Ключові слова:* *Mytilus galloprovincialis* Lam, колірні вимірювання, колірні морфи

*A. D. Kulikova*

The A. O. Kovalevsky Institute of the Southern Seas NAS of Ukraine

#### COLOUR GROUPS PIGMENTATION CHARACTER ANALYSIS IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM DISTINGUISHED WITH PHOTOS DIGITAL PROCESSING

Four color groups (black, intermediate, dark and light brown ones) are distinguished among *Mytilus galloprovincialis* Lam mollusks by processing digital photos. Color patterns in RGB system for the groups are significantly different. The magnitudes concerning red and green color components increase from light pigmented mollusks to dark ones. The highest magnitude for blue colour component was found in the intermediate group.

*Key words:* *Mytilus galloprovincialis* Lam, colour measurements, colour morphs