

9. Ordóñez N.G., Mackay B. Electron microscopy in tumor diagnosis: indications for its use in the immunohistochemical era. *Human Pathology*. 1998. V. 29(12): P. 1403-1411.

10. Eydenf B. Electron microscopy in the diagnosis of tumours. *Current Diagnostic Pathology*. 2002. V. 8(4). P. 216-224.

11. Schroeder J.A., Gelderblom H.R., Hauroeder B., Schmetz C., Milios J., Hofstaedtera F. Microwave-assisted tissue processing for same-day EM-diagnosis of potential bioterrorism and clinical samples. *Micron*. 2006. V. 37(6). P. 577–590.

DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-111-4-30>

ГЕНЕТИЧНА ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ МІДІЙ РОДУ *MYTILUS* ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОЇ ЧАСТИНИ ЧОРНОГО МОРЯ

Чубик І. Ю.

аспірантка

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Чеботар С. В.

доктор біологічних наук, професор,

завідувач кафедри генетики та молекулярної біології

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

м. Одеса, Україна

Мідії роду *Mytilus* є одними з найпоширеніших морських молюсків, що зустрічаються в прибережних екосистемах обох півкуль [4]. На основі популяційно-генетичних методів дослідження було встановлено, що мідії Північної півкулі складаються з «видового комплексу *Mytilus*», до якого відносять три види: *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819, *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758; *Mytilus trossulus* Gould, 1850 [7]. Особини цих видів, у зв'язку з високою генетичною подібністю, здатні схрещуватися між собою утворюючи гібридні зони в різних районах Світового океану [1].

Можливість точної ідентифікації видів та гібридів у «видовому комплексі *Mytilus*» має важливе значення для селективного управління запасами мідій та досліджень біорізноманіття [9].

Мідій Чорного моря за морфологічними характеристиками зазвичай відносять до виду *M. galloprovincialis*. Проте, серед особин мідій

M. galloprovincialis в Чорному морі зустрічаються моллюски, які за морфологічними особливостями мушлі не відрізняються від *M. edulis* і *M. trossulus* інших регіонів. Їх поява може бути результатом гібридизації інтродукованих видів *M. edulis* і *M. trossulus* з нативним видом *M. galloprovincialis*. На сьогоднішній день, генетичні підтвердження присутності *M. trossulus*, *M. edulis* і їх гібридів з *M. galloprovincialis* в Чорному морі відсутні. Тому, цих моллюсків розглядають, як *trossulus*–і *edulis*-подібні морфи [3]. У поселеннях мідій Одеського регіону більша частина моллюсків (близько 60 %) представлена *galloprovincialis*-подібними мідіями, а *trossulus*-подібних зустрічається менше 30 % [2].

Мета роботи – встановити видову приналежність представників угруповань мідій, що мешкають у північно-західній частині Чорного моря за допомогою молекулярного маркера *Me 15-16* до неповторюваної області гена адгезивного білка мідій.

Матеріалом дослідження послужили 96 особин мідій, які були зібрані в різних районах північно-західної частини Чорного моря: в Одеській затоці (у локалізації А за географічними координатами – 46°26'28" пн. ш., 30°46'20" сх. д.; у локалізації В – 46°22'2" пн. ш., 30°43'45" сх. д.; у локації Е – 46°22'35" пн. ш., 30°45'7" сх. д.), в Сухому лимані (у локації D за географічними координатами – 46°20'22" пн. ш., 30°39'38" сх. д.) та біля острова Зміїний у локалізації С за географічними координатами – 45°15'18" пн. ш., 30°12'15" сх. д. Геномну ДНК виділяли із ктенідій та мантиї індивідуальних особин мідій за допомогою модифікованого методу з використанням СТАВ буферу згідно Saghai-Marooft et al. [8] та колонок фірми CONGEN Biotechnologie GmbH (Німеччина). Ідентифікацію угруповань мідій проводили за допомогою ПЛР із застосуванням молекулярного маркера *Me 15-16*, який розташований в межах гена, що кодує поліфенольний адгезивний білок та відіграє важливу роль у прикріпленні мідії до субстрату [5]. Продукти ампліфікації ПЛР фракціонували у 7 % поліакриламідному гелі (ПААГ) та фарбували азотнокислим сріблом відповідно до такої методики [6]. Розмір отриманих фрагментів ампліфікації визначали за допомогою програми GelAnalyzer (www.gelanalyzer.com) відносно маркеру молекулярної маси *pUC 19 / Msp I*.

За даними дослідження Inoue et al. [5], використовуючи молекулярний маркер *Me 15-16*, який розроблений, щоб контролювати поліморфізм за геном поліфенольного адгезивного білка, можна отримати три продукти ПЛР, що будуть відрізнятися довжиною

фрагментів ампліфікації: 180 п.н. для *M. edulis*, 168 п.н. для *M. trossulus* і 126 п.н. для *M. galloprovincialis*.

За допомогою вказаного маркера *Me 15-16* в нашій роботі було проаналізовано генетичний склад угруповань мідій з п'яти локацій північно-західної частини Чорного моря: з локації А було досліджено 28 особин, з локації В – 25 особин, з локації С – 26 особин, з локації D – 8 особин, з локації Е – 9 особин. Серед досліджених зразків особин мідій було детектовано лише фрагмент ампліфікації розміром 126 п.н.

Отже, досліджені локації є мономорфними щодо алелю, який визначається фрагментом ампліфікації 126 п.н., і тому, складаються виключно з особин *M. galloprovincialis*. Отримані результати не підтверджують присутність двох морфологічно і генетично близьких видів (*M. trossulus* і *M. edulis*) та їх гібридів з *M. galloprovincialis* в досліджених локаціях Чорного моря.

Література:

1. Масалькова Н.А. Исследование молекулярной филогении мидий (*Bivalvia*, *Mutilidae*) дальневосточных морей России и особенностей дивергенции, генетической и морфологической изменчивости видов комплекса *Mytilus* ex. group *edulis*: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.07. Владивосток, 2019. 128 с.

2. Стадніченко С.В. Морфологічні особливості *trossulus*-подібних мідій Чорного моря. *Фауна України на межі ХХ-ХХІ ст. Стан і біорізноманіття екосистем природоохоронних територій*: матеріали міжнар. зоол. конф., присвяч. 220 річниці від дня народж. О. Завадського. (Львів – смт. Шацьк, 12–15 вересня 2019 р.). Львів: СПОЛОМ, 2019. С. 153–155.

3. Шурова Н.М. Структурно-функциональная организация популяций мидий *Mytilus galloprovincialis* Черного моря: монография. Киев: Наукова думка, 2013. 208 с.

4. Hilbish T.J., Mullinax A., Dolven S.I., Meyer A., Koehn R.K., Rawson P.D. Origin of the antitropical distribution pattern in marine mussels (*Mytilus* spp.): routes and timing of transequatorial migration. *Marine Biology*. 2000. Vol. 136. P. 69–77. DOI: 10.1007/s002270050010.

5. Inoue K., Waite J.H., Matsuoka M., Odo S., Harayama S. Interspecific variations in adhesive protein sequences of *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis* and *M. trossulus*. *Biological Bulletin*. 1995. Vol. 189. P. 370–375. DOI: 10.2307/1542155.

6. Promega Technical Manual. Gene Print. STR Systems. Printed in USA. Revised. 1999. Vol. 7. P. 52.

7. Quack, M., Kosuch, J. Morphologische und genetische Untersuchungen an den Probenarten Miesmuschel (*Mytilus edulis*) und Blasentang (*Fucus vesiculosus*) unter besonderer Berücksichtigung von Hybridisierungseffekten. Trier: Universität Trier, Fachbereich VI – Biogeographie, 2005. 170 c.

8. Saghai-Marooif M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W. Ribosomal DNA sepaer-length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci*. 1984. Vol. 81. P. 8014–8019.

9. Wilson J., Matejusova I., McIntosh R.E., Carboni S., Bekaert M. New diagnostic SNP molecular markers for the *Mytilus* species complex. *PLOS ONE*. 2018. № 13(7): e0200654. DOI: 10.1371/journal.pone.0200654.