

А. Д. Куликова, аспирант

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Национальной академии наук Украины, Севастополь, Украина

ВЫЯВЛЕНИЕ ЦВЕТОВЫХ МОРФ МИДИИ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЬЮТЕРНОЙ ОБРАБОТКИ ФОТОГРАФИЙ

Предложено дифференцировать цветовые группы мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam., используя компьютерную обработку цифровых фотографий. При описании цвета использованы цветовые схемы RGB и HSB (Adobe Photoshop CS 3). В качестве показательной характеристики выбрано значение красного компонента цвета. Методика позволила однозначно идентифицировать четыре цветовые группы: чёрную, переходную, тёмно- и светло-коричневые.

Ключевые слова: Mytilus galloprovincialis, окраска раковин, цветовые морфы.

Мидия Mytilus galloprovincialis Lam. — традиционный объект исследований на Чёрном море. Популяция этого моллюска неоднородна, существенно варьируют форма, размер и окраска раковин. В литературе распространено понятие «цветовая морфа», основанное на окраске конхиолинового слоя створок мидии. Выделяют чёрную, коричневую морфы и переходные формы [1]. Мидии со створками чёрного цвета количественно преобладают в скальных поселениях, коричневого — в донных. Они отличаются скоростью образования и прочностью биссусных нитей, темпами соматического роста, изоферментыми спектрами неспецифических эстераз и 6-фосфоглюко-натдегирогеназы [1, 6, 7].

И хотя отмечают, что цвет раковины детерминирован генетически [2, 4, 10], способ наследования обсуждается до настоящего времени. Методом гибридологического анализа установлено, что окраска створок передаётся по простой однолокусной двухаллельной схеме, где коричневый цвет доминирует над чёрным, а наличие радиальных полос над их отсутствием [4]. Однако в аналогичной работе на близкородственном виде M. edulis наблюдалось отклонение от вышеуказанной схемы [10]. Альтернативная точка зрения утверждает, что переходные формы являются гетерозиготами с кодоминантным проявлением признака [7]. В ряде работ отмечают способность мидий менять окраску на протяжении жизни под воздействием фактора освещённости [3, 10]. Дальнейшее изучение этого вопроса затруднено субъективностью в определении цветовых групп и невозможностью охарактеризовать цвет количественно.

Поскольку для анализа характера и степени окраски биологических объектов широко применяются различные методы цифровой обработки фотографий с использованием компьютерных программ, например Adobe Photoshop [5, 9], то решено было применить аналогичный метод и для разделения цветовых морф черноморской *M. galloprovincialis*.

Материал и методы. В работе использовали раковины мидий одной размерной группы (45 – 70 мм) без видимого повреждения конхиолинового слоя. Визуально они были разделены на пять групп: светло-коричневые, тёмно-коричневые, с равным соотношением коричневого и чёрного цветов, чёрные с элементами коричневого и чисто чёрные. Дополнительно взято 15 мидий с повреждённым конхиолиновым слоем раковины.

Объекты фотографировали в тёмной камере с помощью фотоаппарата OLYMPUS CAMEDIA С-7070 WIDE ZOOM. В качестве фиксированного освещения использовали кольцевую люминесцентную лампу модели BRILUM FCS 22 W (температура 4000 K, световой поток 1650 Лм, частота 6000 Гц). Объект освещали со всех сторон, без затенения. Ошибку, вызванную колебаниями освещения при скачках напряжения в сети, нейтрализовали длительностью выдержки фотоаппарата (0.5 с). Степень раскрытия диафрагмы выставляли вручную (F11).

© А. Д. Куликова, 2012

Для удаления бликов раковину помещали в воду. Каждую створку снимали отдельно в пяти повторностях.

Полученные фотографии обработаны в программе Adobe Photoshop CS 3. Область створки на снимках выделяли инструментом Magnetic Lasso Tool. Поскольку большинство мидий имеют неоднородную окраску, усреднение цвета произведено с применением стандартного фильтра Размытие / Среднее (Blur / Average).

При обработке данных использовали стандартные цветовые модели RGB (Red-Green-Blue, Красный-Зелёный-Синий) и HSB (Hue-Saturation-Brightness, Тон-Насыщенность-Яркость). Красный, зелёный и синий компоненты цвета выражали в

условных единицах в пределах 0-255, насыщенность и яркость -0-100 (у.е.), цветовой тон измеряли в градусах от 0 до 360° .

Статистическая обработка и графическое оформление полученных результатов проведены с применением стандартного пакета Grapher (версия 1.25). Достоверность различий оценивали при помощи t-критерия Стьюдента. Нормальность распределения цифровых массивов проверяли, используя критерий Пирсона.

Результаты и обсуждение. Цветовые характеристики исследованных створок отличались значительной вариабельностью (табл. 1).

Табл. 1 Количественные характеристики (цветовые модели RGB и HSB) после компьютерной обработки фотографий створок без учета цветовой дифференциации

Table 1 Quantitative characteristics (HSB and RGB colour models) after digital photo processing not taking into account shells colour differentiation

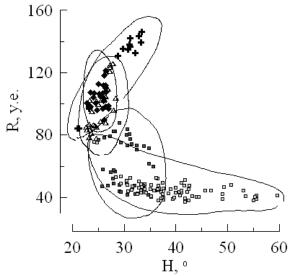
Показатели	Диапазон вариации значений	Размах колебаний	$-\frac{1}{x} \pm S_x$	Коэффициент вариации, %	Ошибка метода, %
Тон, ^о	21 – 59.6	38.6	31.8±7.5	1.62	3.34
Насыщенность, у.е.	5.6 - 59.6	54	38.4 ± 21.5	3.84	9.05
Яркость, у.е.	14.6 - 53.4	38.8	29.2±11.6	2.72	3.93
Красный цвет, у.е.	37.2 - 146	108.8	75.6 ± 31.1	2.83	3.78
Зелёный цвет, у.е.	34.8 - 99.2	64.4	56.8 ± 16.1	1.94	3.69
Синий цвет, у.е.	27.4 - 64.2	36.8	40.5±7.9	1.34	4.48

Наибольший разброс значений отмечен для насыщенности цвета, коэффициент вариации которой приближался к 4 %, однако ошибка при повторном фотографировании (ошибка метода) достигала 9 %, поэтому величина была исключена из дальнейшего рассмотрения. Для остальных цветовых характеристик ошибка метода была близка к 5 %. При этом среди всех рассмотренных показателей красный цвет отличался наибольшей вариабельностью. Об этом свидетельствуют значения диапазона вариации, размаха колебаний и коэффициента вариации. Это означает, что данный показатель проявляет наибольшую чувствительность при распознавании окраски раковин моллюска и может быть использован для их цветовой дифференциации.

Отметим, что при фотографировании и последующей компьютерной обработке снимков по мере увеличения интенсивности пиг-

ментации раковин наблюдалась тенденция роста ошибки метода: у светло-коричневых раковин она не превышала 1 %, у чёрных приближалась к 5 %. Рост ошибки, по-видимому, объясняется пониженной чувствительностью программы к тёмным цветам.

Как отмечено выше, раковины *М. galloprovincialis* визуально были разделены нами на 5 цветовых групп. Фотографирование створок и их последующая компьютерная обработка показали, что подобное деление неправомочно. Распределения цвета раковин в системе координат «Красный цвет – Тон» было выбрано как самое наглядное. Как видно, выделенные визуально цветовые группы не имеют изолированных полигонов распределения (рис. 1). Значительное наложение имеется между «чёрными» и «чёрными с элементами коричневого».



Однозначно изолированы только «чёрная» и «светло-коричневая» группы. Переходные же варианты окраски раковины не имеют достаточной степени изоляции. Это означает, что субъективная оценка цветовой дифференциации раковин моллюска весьма условна.

Если абстрагироваться от визуальной оценки цвета раковин моллюска, то на полигоне распределения можно выделить 4 достаточно изолированные группы (рис. 2):

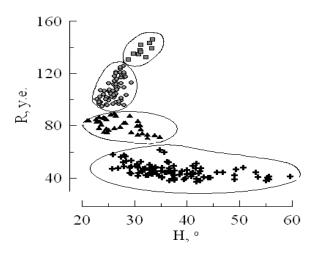
• Светло-коричневая группа: створки имеют низкое содержание коричневого пигмента, который может частично сохраняться в виде радиальных полос.

Группы «тёмно-коричневые» и «с равным соотношением коричневого и чёрного цветов» фактически совпадают по границам распределения. Имеется взаимное перекрытие между «светло-коричневой», «тёмно-коричневой» группами и группой «с равным соотношением коричневого и чёрного цветов».

Рис. 1 Распределение цветовых характеристик створок раковины M. galloprovincialis с учетом визуального восприятия цвета (+ — коричневые, - тёмнокоричневые, Δ — с равным соотношением цветов, - чёрные с элементами коричневого, - чёрные) Fig. 1 Color characteristics distribution of M. galloprovincialis valves taking into account the visual perception of color (+ – brown valves, - – dark brown valves, - – valves with equivalent parts of brown and black colour, - – black valves with brown parts, - – black ones)

- Тёмно-коричневая группа: интенсивная коричневая пигментация раковины.
- Переходная группа: различное соотношение чёрного и коричневого цветов.
- Чёрная группа: раковины чисто чёрного цвета с возможными незначительными вкраплениями коричневого.

Статистическая обработка цифровых массивов показала, что между этими цветовыми группами (красный компонент цвета) существует достоверные различия на уровне смежных скоплений точек при $p \le 0.001$ (рис. 2).



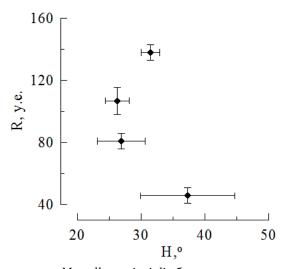
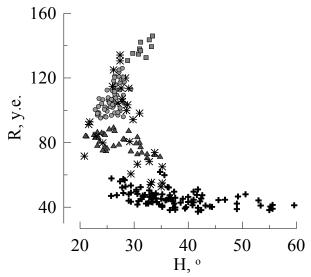


Рис. 2 Распределение цветовых характеристик створок раковины *M. galloprovincialis* без учета визуального восприятия цвета (■ – светло-коричневые, ● – тёмно-коричневые, ▲ – переходной окраски, + – чёрные) Fig. 2 Color characteristics distribution of *M. galloprovincialis* valves not taking into account the visual perception of color (■ – light brown valves, ● – dark brown valves, ▲ – intermediate color valves, + – black ones)

Необходимо отметить, что для достоверного выявления различий между цветовыми характеристиками раковин моллюска следует использовать только цельные створки, без механических повреждений и случаев обраста-



Выводы. 1. Предложенный метод фотографирования и цифровой обработки снимков створок раковин *M. galloprovincialis* позволяет провести их цветовую дифференциацию. 2. Для выделения цветовых групп рекомендуется применять значения красного компонента цвета

- 1. Александрова О. Л., Солдатов А. А., Головина И. В. Особенности глутатионпероксидной системы в тканях двух цветовых морф черноморской мидии // Экология моря. 2001. Вып. 58. С. 22 26.
- 2. *Иванов В. Н., Холодов В. И., Сеничева М. И.* Биология культивируемых мидий. Киев: Наук. думка, 1989. 99 с.
- 3. *Казанкова И. И.* Влияние освещённости на формирование фенетической структуры поселений *Mytilus galloprovincialis* у берегов Крыма. // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. біол. 2010. **44**, № 3. С. 107 110.
- 4. Пиркова А. В., Ладыгина Л. В., Столбова Н. Г. Популяционно-генетические исследование мидии Mytilus galloprovincialis Lam. // Экология моря. 2000. Вып. 50. С. 70 75.
- 5. Рильський О., Шерстобоєва О., Гвоздяк П. Визначення інтенсивності пігментації мікроорганізмів за допомогою комп'ютерної програми adobe photoshop // Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол. 2010. Вип. 54. С. 159 164.
- 6. Столбова Н. Г., Ладыгина Л. В. Генетический полиморфизм мидии Mytilus galloprovincialis

ния. Раковины с поврежденным конхиолиновым слоем нарушают границы между цветовыми группами, так как имеют более высокие значения яркости и красного компонента цвета (рис. 3).

Рис. 3 Распределение цветовых характеристик створок раковины M. galloprovincialis с учетом механических повреждений (\blacksquare – светло-коричневые, \bullet – тёмно-коричневые, \star – переходной окраски, + — чёрные, \star – с поврежденным конхиолиновым слоем)

Fig. 3 Color characteristics distribution of M. galloprovincialis valves taking into account mechanical damages (\blacksquare – light brown valves, \bullet – dark brown valves, \blacktriangle – intermediate color valves, + – black ones, $_{\#}$ – with damaged conchiolin layer)

в системе координат «Красный цвет — Тон» (Adobe Photoshop CS 3). **3**. Створки с поврежденным конхиолиновым слоем нарушают характер распределения цвета раковин, и должны быть исключены из обработки.

- Lam. у берегов Крыма // Цитология и генетика. -1994. -28, № 2. -C. 62-66.
- 7. Шурова Н.М., Золотарёв В.Н. Анализ фенотипической структуры поселений мидий Mytilus galloprovincialis Чёрного моря по окраске наружного призматического слоя их раковин // Морск. экол. журн. − 2008. − 7, №4. − С. 88 − 97.
- 8. *Щербань С.А.* Особенности соматического и генеративного роста у некоторых цветовых морф мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология моря. 2000. Вып. 53. С. 77 81.
- 9. Lehr H.-A., Van der Loss C. M., Teeling P. Complete chromogen separation and analysis in double immunohistochemical stains using Photoshop-based image analysis // J. Histochem. Cytochem. − 1999. − 47, № 1. − P. 119 − 125.
- 10. Newkirk G.F. Genetics of shell color in Mytilus edulis L. and the association of growth rate with shell color. // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1980. 47, № 1. P. 89 94.

Поступила 15 сентября 2011 г. После доработки 14 мая 2012 г. Методика виявлення колірних морф мідії *Mytilus galloprovincialis* Lam. із використанням цифрової обробці фотографій. Г. Д. Кулікова. Запропоновано новий засіб колірної диференціації стулок молюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. із використанням цифрової фотографії. Метод було випробувано на мідіях з різним фарбуванням конхіолінового шару, зібраних з плантацій Кацевелі і Карадага. Як показова характеристика обраний червоний компонент кольору. Серед досліджених молюсків виявлено чотири колірні групи: чорна, перехідна, темно- та світло-коричнева.

Ключові слова: Mytilus galloprovincialis, забарвлення раковин, колірні морфи

The method of colour groups defining in mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam. by digital photographing. A. D. Kulikova. The method of colour differentiation of *Mytilus galloprovincialis* Lam by digital photographing was designed. By using the method, four groups were defined among studied mollusks. The groups are useful for future investigations.

Key words: *Mytilus galloprovincialis*, shell colour, colour morph

ВЫШЛА В СВЕТ МОНОГРАФИЯ:

Гаевская А. В. Паразиты и болезни рыб Чёрного и Азовского морей: I – морские, солоноватоводные и проходные рыбы. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2012. – 380 с.

Впервые составлен обзор по паразитофауне, а также основным инфекционным, инвазионным и незаразным заболеваниям морских, солоноватоводных и проходных рыб Чёрного и Азовского морей в природных и искусственных условиях. Приведена информация о патогенности различных возбудителей болезней, их распространении; даны краткие рекомендации по технике паразитологического обследования рыб и фиксации паразитов, определении жизнеспособности патогенных для человека гельминтов. Словарь необходимых терминов и понятий включает 70 определений, предметный указатель названий рыб – 468 ссылок, научных названий паразитов и болезней – 1174 ссылки, русских названий – 424 ссылки.

Для паразитологов, ихтиологов, гидробиологов, работников рыбной отрасли, ветеринарной медицины, аспирантов, студентов ветеринарных и рыбохозяйственных вузов, биологических факультетов высших учебных заведений.