

**ДАННЫЕ О МИКРОСКУЛЬПТУРЕ ЛИЧИНОЧНЫХ РАКОВИН БЕЗЗУБОК
(BIVALVIA, UNIONIDAE, ANODONTINAE)**

Е.М. Саенко

*Биолого-почвенный институт ДВО РАН, пр. 100-летия Владивостока, 159,
Владивосток, 690022, Россия. E-mail: sayenko@ibss.dvo.ru*

Приводятся данные по морфологии глохидиев анодонтин из трибы Anodontini (беззубки родов *Anodonta* и *Colletopterum*) и трибы Limnoscaphini (представители *Cristaria* и *Sinanodonta*). Глохидии моллюсков, принадлежащих к одной трибе, имеют схожие размерные признаки: глохидии *Colletopterum* и *Anodonta* практически не отличаются между собой, а глохидии *Cristaria* очень схожи с глохидиями *Sinanodonta*. Сравнение полученных на сканирующем электронном микроскопе данных о микроструктуре наружной поверхности створок глохидиальных раковин показало, что скульптура разная у всех четырех родов анодонтин, что дает дополнительные признаки при проведении таксономических ревизий.

**DATA ON MICROSCULPTURE OF GLOCHIDIAL SHELLS
OF ANODONTINE BIVALVES (UNIONIDAE, ANODONTINAE)**

E.M. Sayenko

*Institute of Biology and Soil Science, FEB RAS, Stoletiya Vladivostoka Ave.,
Vladivostok, 690022, Russia. E-mail: sayenko@ibss.dvo.ru*

The data on morphology of glochidial shells of fresh-water mollusks from tribe Anodontini (genera *Anodonta* and *Colletopterum*) and tribe Limnoscaphini (genera *Cristaria* and *Sinanodonta*) are given. Glochidial shells of genera from the same tribe have similar conchological characters. The ultra-structural features of glochidial shells revised by scanning electron microscope show differences of the micro-sculpture of outer valve surface for all four investigated genera; such distinction can be used for further taxonomical revisions.

Раковины личинок (глохидиев) пресноводных двустворчатых моллюсков долгое время исследовали только с помощью светового микроскопа. Учитывая очень мелкие размеры глохидиев, которые не превышают 450 мкм, доступными были в основном размерные характеристики.

Появление сканирующей электронной микроскопии дало новые признаки при описании глохидиев. На основе исследования глохидиев европейских и североамериканских моллюсков были выделены основные типы скульптуры наружной поверхности створок: шероховатый (rough), бисеровидный (beaded), розетковидный (rosette), свободно-петлевидный (loose looped), плотно-петлевидный (tight looped), петлевидный с рядами (ribbed loose looped) и вермикулярный (vermiculate) (Hoggarth, 1999). При изучении моллюсков из Таиланда также были выделены разные типы микроскульптуры глохидиев: сетчатый (net), зернистый или гранулированный (granule), шероховатый (coarse) и сглаженный (smooth) (Panha, Eongprakornkeaw, 1995).

Недавно были начаты работы по изучению микроскульптуры глохидиальных раковин дальневосточных видов унионид (Саенко, 2012а, 2012б, 2013). Глохидии обитающих

на территории России анодонтин по своим признакам можно разделить на группы, которые соответствуют существующим внутри подсемейства Anodontinae трибам (Саенко, 2006). Самые крупные и самые толстостенные среди беззубок глохидии у представителей трибы Anodontini, куда входит распространенный в Сибири и Европе род *Colletopterum* Bourguignat, 1880, встречающийся в водоемах Европы род *Anodonta* Lamark, 1799, а также восточноазиатские роды *Anemina* Haas, 1969, *Buldowskia* Moskvicheva, 1973 и *Amuranodonta* Moskvicheva, 1973. Самые мелкие и самые тонкостенные среди анодонтин глохидии у представителей трибы Limnoscaphini, в которую входят восточноазиатские *Cristaria* Schumacher, 1817 и *Sinanodonta* Modell, 1944.

Предварительные исследования глохидиев беззубок показали, что часто одни размерные признаки не позволяют различить глохидии внутри трибы (Саенко, 2006), поэтому необходимо привлекать данные по другим морфологическим признакам, в частности сведения о микроскульптуре личиночных раковин, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для работы послужили сборы моллюсков:

- Anodonta cygnea* (Linnaeus, 1758): 2 экз. оз. Хамржицкое (Hamrzysko), Польша, сб. М. Сорока (Marianna Soroka), 2009 г.;
- Colletopterum anatinum* (= *C. minimum*) (Linnaeus, 1758): 1 экз. водоем Ленинградской обл. (коллекция ЗИН РАН);
- C. anatinum*: 1 экз. оз. Арахлей, Ивано-Арахлейская система озер, басс. оз. Байкал, Читинская область, сб. О.К. Клишко, лето 2000 г.; 1 экз. оз. Красное, басс. р. Енисей, Хакасия, сб. И.А. Родионов, 21.08.2000 г.; 2 экз. Новосибирское вдхр., басс. р. Обь, сб. В.Т. Макашов, 02.05.2000 г.;
- C. piscinale* (Nilsson, 1822): 1 экз. оз. Шакшинское, Ивано-Арахлейская система озер, басс. оз. Байкал, Читинская область, сб. О.К. Клишко, весна 2001 г.; 1 экз. оз. Новомихайловское, басс. р. Енисей, Хакасия, сб. И.А. Родионов, 22.08.2000 г.;
- Cristaria plicata* (Leach, 1815): 1 экз. оз. Дунтинху (Dongting Hu), басс. р. Янцзы, северо-восточная часть провинции Хунань, КНР, сб. Ш.-Л. Лиу (Shi-Li Liu), октябрь 2010 г.;
- Sinanodonta amurensis* Moskvicheva, 1973: 1 экз. р. Раздольная, сб. В.В. Богатов, 21.06.1999 г.;
- S. likharevi* Moskvicheva, 1973: 1 экз. р. Илистая, басс. оз. Ханка, сб. В.А. Дворядкин, 19.05.1996 г.;
- S. woodiana* (Lea, 1834): 2 экз. оз. Гославское (Goslawskie Lake), система Конинских озер, басс. р. Одра, Польша, сб. М. Сорока, лето 2011 г.; 4 экз. р. Одра (Odra) у г. Щецин, Польша, сб. М. Сорока, 05.07.2012 г.; 1 экз. басс. р. Кацура (Katsura) на склоне г. Арашияма (Arashiyama), севернее г. Киото, о-в Хонсю, Япония, сб. Т. Кондо (Takaki Kondo), 13.05.1982 г.

Полужабры с зрелыми глохидиями были зафиксированы в 10 % формальдегиде (проба из Японии) и 75 % этаноле (все остальные пробы). При подготовке личиночных раковин к работе на световом и сканирующем электронном микроскопах глохидии очищали в 5 %-ном КОН. Для этого предварительно часть глохидиев из каждой пробы отмывали несколько раз в дистилляте и затем на 1,5–2 часа помещали в раствор КОН. Каждые 15–20 мин пробирки активно встряхивались. Степень очистки раковин от мягких тканей периодически проверялась под бинокляром. В завершение каждую пробу снова промывали не менее 10 раз дистиллированной водой и фиксировали 75 % этанолом. Полученные пробы были готовы для работы на световом микроскопе.

Измерения проводили с помощью светового микроскопа Nikon, в соответствии со стандартными методиками (Саенко, 2006). В работе используются следующие характери-

стики: длина гложидия (L), высота гложидия (H), длина крючка ($hook$), длина лигамента (lig) (Саенко, 2006). Под микрошипами в работе понимаем шипики размером менее 1 мкм длиной, а под макрошипами – шипики более 1 мкм длиной (Hoggarth, 1999).

Фотографии гложидиев получены на сканирующем микроскопе Zeiss EVO 40 в Центре коллективного пользования «Биология и генетическая инженерия» БПИ ДВО РАН. Для подготовки к работе на сканирующем электронном микроскопе очищенные ранее в растворе КОН раковины проводили через серию спиртов (80 %, 90 %, 96 %), после чего их крепили на столик с помощью специального двухстороннего скотча; напыление производили сразу же после подсушивания пробы на столике.

Результаты и обсуждение

Все обсуждаемые в данной статье моллюски относятся к подсемейству Anodontinae и имеют гложидии анодонтоидного типа: округло-треугольные раковины разных пропорций (продольно или вертикально вытянутые, либо высота и длина створки могут быть почти равны) с прямым лигаментом, дуговидные передний и задний края створок на вентральной стороне сходятся под углом (рис. 1, 2). Прикрепительный аппарат в виде крупного крючка с несколькими рядами макрошипов и многочисленными микрошипами.

Гложидии изученных *Anodonta* и *Colletopterum* крупные, не менее 300 мкм в размере; прикрепительный аппарат составляет 31–45 % от высоты створки. Хотя по абсолютным размерам гложидии *A. cygnea* были немного мельче гложидиев *Colletopterum*, однако по относительным мерным признакам (индексам) различий между двумя родами нет. Высота гложидия равна, немного больше или, чаще, немного меньше его длины (таблица).

Гложидии *Cristaria* и *Sinanodonta* мельче, размер раковин не превышает 310 мкм; прикрепительный аппарат составляет 29–42 % от высоты створки. Раковины выпуклые, резко асимметричные и вытянутые дорсо-вентрально, т.е. высота всегда больше длины гложидия. Гложидии *S. woodiana* из обеих популяций в Польше имеют самый высокий ин-

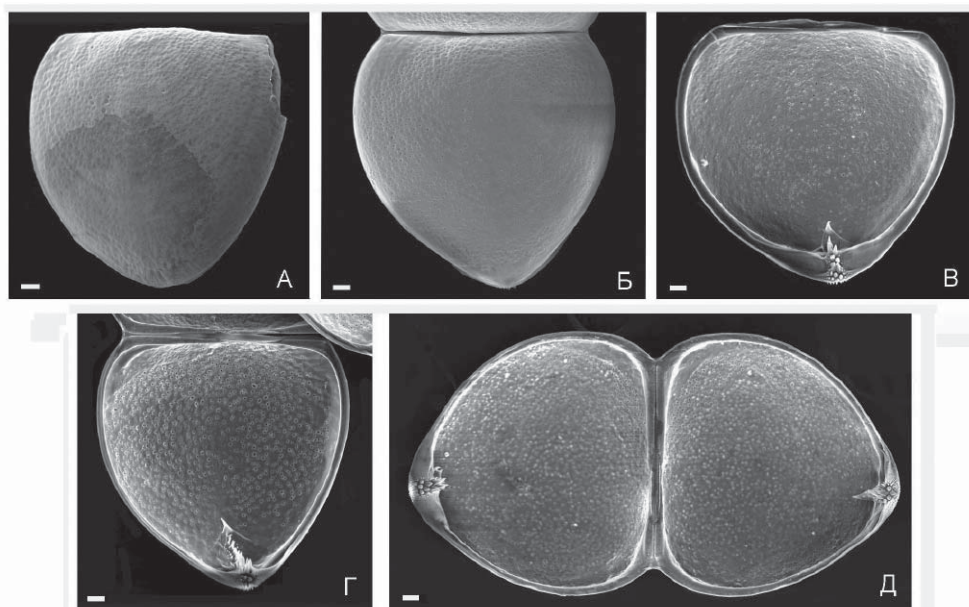


Рис. 1. Раковины и створки гложидиев: А – *Anodonta cygnea*, оз. Хамржицкое (закрытая раковина); Б – *Colletopterum piscinale*, оз. Шакшинское (створка снаружи); В – *C. anatinum*, Ленинградская обл. (створка изнутри); Г – *C. piscinale*, оз. Новомихайловское (створка изнутри); Д – *C. anatinum*, оз. Арахлей (открытая раковина изнутри). Масштабные линейки: 20 мкм.

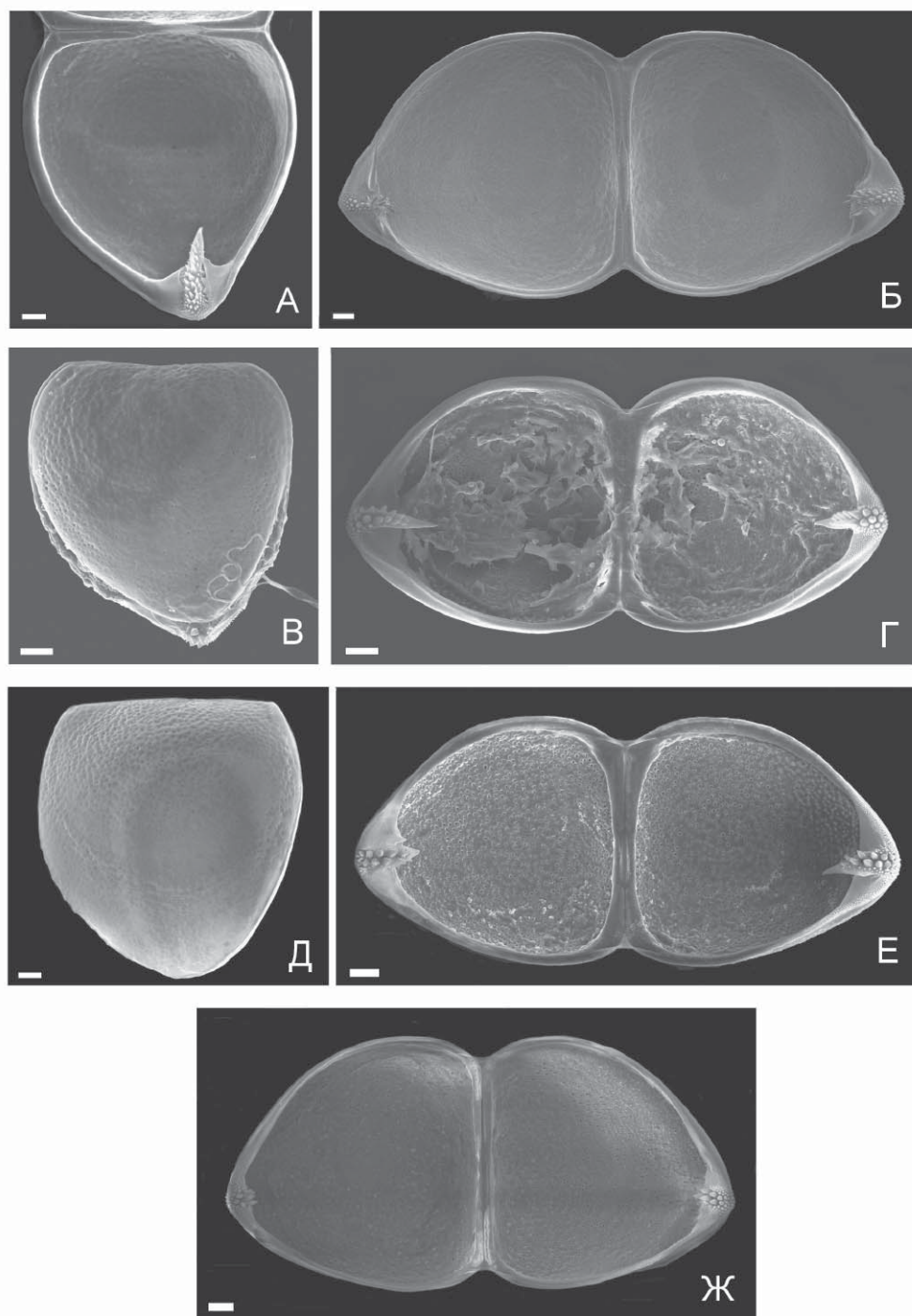


Рис. 2. Раковины и створка глохидиев: А, Б – *Cristaria plicata*, оз. Дунтинху (створка и раковина изнутри); В, Г – *Sinanodonta woodiana*, басс. р. Кацура (закрытая и открытая раковины); Д – *S. woodiana*, оз. Гославское (закрытая раковина); Е – *S. woodiana*, р. Одра (открытая раковина изнутри); Ж – *S. amurensis*, р. Раздольная (открытая раковина изнутри). Масштабные линейки: 20 мкм (А, Б, Д, Ж) и 30 мкм (В, Г, Е).

Таблица

Мерные признаки исследованных глохидиев (в мкм)

Вид, место сбора	H	L	lig	hook	H/L	lig/L	hook/H
триба Anodontini							
<i>Anodonta sугnea</i> Польша, оз. Хамржицкое	300–330 314 ±9,22	310–340 323,8 ±4,63	240–270 257 ±10,61	118–130 123,2 ±4,64	0,90–1,03 0,98 ±0,03	0,75–0,84 0,80 ±0,03	0,37–0,41 0,38 ±0,01
<i>Colleopterum piscinale</i> Хакасия, оз. Новомихайловское	328–364 341,3 ±9,65	328–371 349,3 ±12,36	250–272 268 ±7,3	121–150 132,8 ±9,8	0,95–1,01 0,98 ±0,02	0,73–0,81 0,78 ±0,03	0,36–0,45 0,39 ±0,03
<i>Colleopterum apatinum</i> Хакасия, оз. Красное	321–350 337,3 ±7,09	328–350 340,5 ±6,56	257–272 264 ±6,24	121–150 135,1 ±7,56	0,96–1,02 0,99 ±0,02	0,75–0,81 0,78 ±0,02	0,35–0,44 0,40 ±0,02
<i>Colleopterum piscinale</i> Читинская обл., оз. Шакшинское	328–386 359,5 ±12,4	357–379 364,5 ±10,47	257–286 278,5 ±10,53	122–157 137,3 ±11,85	0,95–1,0 0,98 ±0,02	0,71–0,80 0,77 ±0,02	0,33–0,41 0,38 ±0,03
<i>Colleopterum apatinum</i> Читинская обл., оз. Арахлей	343–389 373 ±8,54	364–407 385,4 ±10,55	271–304 291 ±9,34	114–150 128,5 ±10,46	0,94–1,02 0,97 ±0,02	0,72–0,79 0,76 ±0,01	0,31–0,43 0,34 ±0,03
триба Limnoscaphini							
<i>Cristaria plicata</i> КНР, оз. Дунтинху	246–310 279,7 ±13,48	232–270 257,2 ±6,2	178–202 194,8 ±4,37	64–100 86,8 ±7,88	1,04–1,12 1,08 ±0,04	0,72–0,78 0,76 ±0,02	0,29–0,37 0,33 ±0,03
<i>Sinapodonta woodiana</i> Япония, о-в Хонсю, басс. р. Кацура	280–310 297,8 ±8,33	270–295 283,1 ±9,61	205–220 210 ±5,0	100–120 108,7 ±7,07	1,02–1,11 1,05 ±0,03	0,70–0,78 0,74 ±0,03	0,33–0,41 0,37 ±0,03
<i>Sinapodonta woodiana</i> Польша, р. Одра	285–310 301 ±10,57	240–270 257,5 ±9,28	190–210 201,2 ±5,22	92,5–117,5 106 ±8,86	1,13–1,19 1,16 ±0,02	0,76–0,82 0,78 ±0,02	0,31–0,42 0,35 ±0,03
<i>Sinapodonta woodiana</i> Польша, оз. Гославское	290–310 300,5 ±8,96	250–275 264,6 ±8,11	190–215 200 ±6,79	–	1,11–1,19 1,14 ±0,03	0,69–0,79 0,76 ±0,03	–
<i>Sinapodonta amurensis</i> Приморье, р. Раздольная	264–279 271 ±5,66	254–264 258,6 ±3,58	199,9–214,2 201,8 ±6,63	96,4–100 99,3 ±1,44	1,02–1,07 1,04 ±0,02	0,76–0,81 0,79 ±0,02	0,36–0,38 0,37 ±0,03

Примечание. Верхняя строка (над чертой) – пределы изменчивости (min-max) каждого признака; нижняя строка (под чертой) – среднее арифметическое (жирный шрифт) со стандартным отклонением. Расшифровка обозначений промеров приводится в тексте.

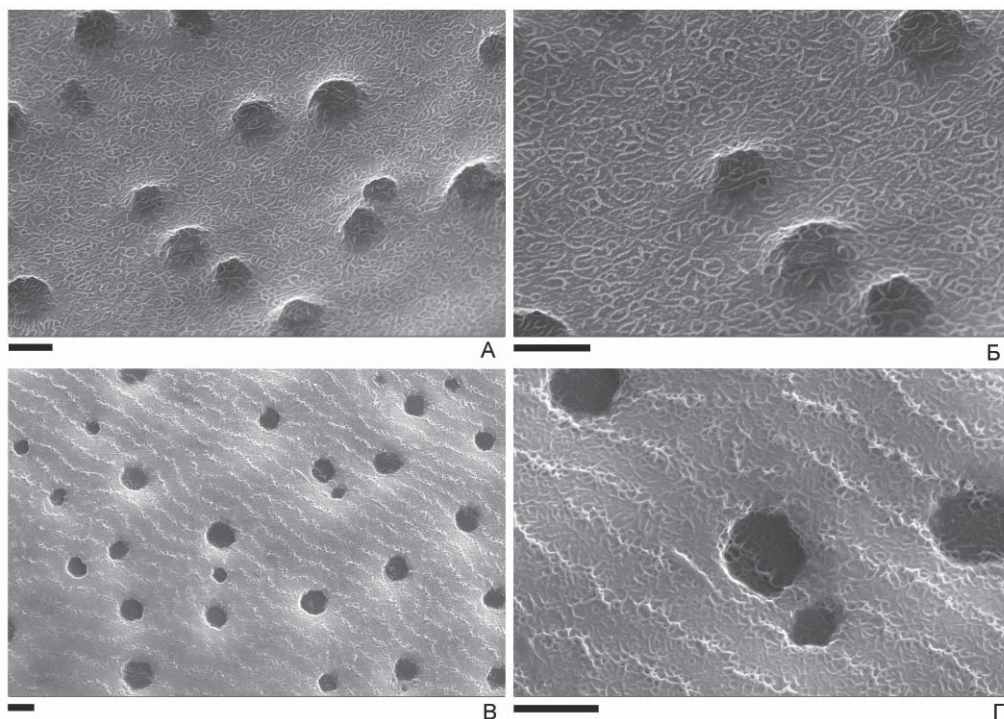


Рис. 3. Скульптура наружной поверхности глохидиальных створок:
 А, Б – *Anodonta cygnea*; В, Г – *Colletopterum piscinale* (оз. Шакшинское).
 Масштабные линейки: 2 мкм.

декс *H/L*, т.е. их раковины самые вытянутые в дорсо-вентральном направлении (таблица). Других различий ни по абсолютным, ни по относительным мерным признакам между изученными видами *Cristaria* и *Sinanodonta* нет.

Таким образом, одни размерные характеристики не позволяют достоверно различить глохидии *Anodonta* от *Colletopterum* или глохидии *Cristaria* от *Sinanodonta*.

Рассмотрим данные по микроскульптуре глохидиальных раковин, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа.

Микроскульптуру всех изученных видов *Colletopterum* можно отнести к сетчатому (петлевидному) типу рисунка. На поверхности глохидиальных створок мы видим петлеобразные структуры, которые формируют отчетливые параллельные ряды, идущие в дорсо-вентральном направлении. Средняя толщина линий составила 0,08–0,12 мкм. Кроме петлевидных структур имеются единичные гранулы (рис. 3).

Микроскульптура глохидиев *Anodonta cygnea* также сетчатая (петлевидная), т.е. состоит из выпуклых петлеобразных линий, однако скульптурные линии расположены по поверхности створки равномерно, без образования параллельных рядов. Толщина скульптурных линий составила 0,07–0,11 мкм. Как и в случае с глохидиями *Colletopterum* кроме петлевидных структур имеются гранулы, однако они многочисленны (рис. 3).

До 80-х годов прошлого столетия европейские и сибирские беззубки подсемейства *Anodontinae* входили в состав рода *Anodonta* (Modell, 1945; Жадин, 1952; Старобогатов, 1977), однако позже их разделили на два рода – *Anodonta* и *Colletopterum* (Затравкин, 1983). За основу были взяты различия в макушечной скульптуре, структуре поверхности и размерах раковин взрослых моллюсков (Старобогатов, Иззатулаев, 1984; и др.). Данных по морфологии глохидиев *Colletopterum* на тот момент не было.

Анализ имеющихся в литературе немногочисленных сведений по морфологии наружной поверхности глохидиев *Anodonta* и *Colletopterum* подтверждает наличие двух раз-

личных типов микроскульптуры, однако попутно с новой силой встает вопрос о таксономическом статусе обоих родов и достоверной идентификации отнесенных к ним видов. Так, сетчатая структура, образующая параллельные ряды на наружной поверхности створок (т.е. аналогичная полученным для *Colletopterum* видам), отмечена у глохидиев *C. piscinale* из басс. р. Рейн (Германия), однако автор относит данный вид к роду *Anodonta*, называя его *A. piscinalis* (Nagel, 1985). У ряда европейских моллюсков, идентифицированных как виды рода *Anodonta*, такая же микроскульптура глохидиев как у видов рода *Colletopterum* – это обитающие в Италии в озерах Лаго-Маджоре (регион Ломбардия) и Тразимено (регион Умбрия) моллюски *A. cygnea* (Giusti, 1973; Giusti et al., 1975) и беззубки *A. anatina* из Бельгии (Hoggarth, 1999). Напротив, глохидии *A. cygnea* из Португалии (Lima et al., 2006) имели такой же рисунок микроскульптуры, как и глохидии *A. cygnea* из Польши (рис. 3А, Б).

Очевидно, что моллюски родов *Anodonta* и *Colletopterum* по характеру скульптуры наружной поверхности глохидиев распадаются на две группы, однако для установления статуса данных групп (видовой или родовой) необходимо привлекать дополнительные методы исследования, в том числе генетические.

Скульптура наружной поверхности глохидиальных створок всех изученных представителей рода *Sinanodonta*, как и у беззубок *Anodonta* и *Colletopterum*, имеет сетчатый (петлевидный) тип и состоит из выпуклых перекрывающихся петлеобразных линий, образующих достаточно плотную мелкоячеистую структуру (рис. 4Б–Г). Средняя толщина линий составила от 0,07 (р. Раздольная) до 0,97–0,1 мкм (Польша и Япония). Гранулы полностью отсутствуют.

Микроскульптура створок *Cristaria plicata* состоит из отдельных разорванных хаотичных петель разного размера, такой тип рисунка ранее обозначили как вермикулярный

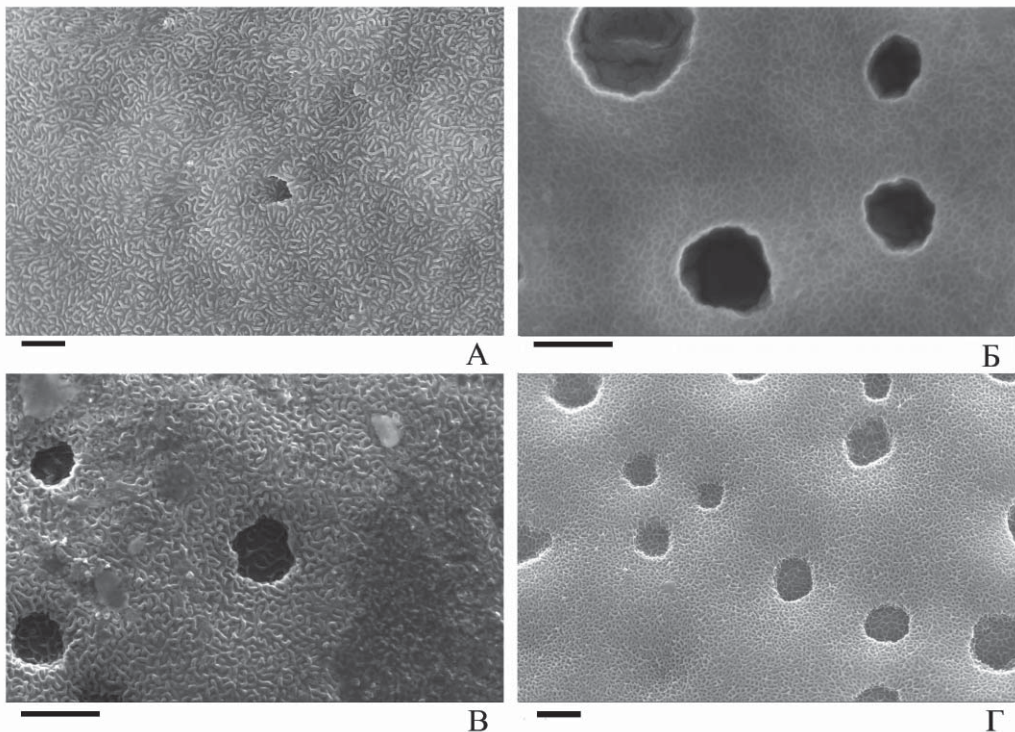


Рис. 4. Скульптура наружной поверхности глохидиальных створок:
 А – *Cristaria plicata*, оз. Дунтиху; Б – *Sinanodonta amurensis*, р. Раздольная; В – *S. woodiana*, басс. р. Кацюра; Г – *S. woodiana*, р. Одра. Масштабные линейки: 2 мкм.

(Hoggarth, 1999). Имеются единичные гранулы (рис. 4А). Толщина скульптурных линий 0,11–0,13 мкм. Аналогичную микроскульптуру описали ранее для глохидиев *C. plicata* из оз. Поянху (Wu et al., 2000).

Таким образом, основу микроскульптуры наружной поверхности глохидиев у трех изученных видов (*Anodonta*, *Colletopterum*, *Sinanodonta*) составляет сетчатый (петлевидный) рисунок, который у анодонтин сочетается с гранулированным, однако гранулы могут быть единичными (*Colletopterum*) либо многочисленными (*Anodonta*). *Cristaria plicata* с вермикулярным типом микроскульптуры глохидиев выделяется среди изученных беззубок.

Работа частично поддержана грантом № 12-И-ПЗ0-01 «Современное состояние и динамика биологического разнообразия пресноводных и солоноватоводных экосистем Дальнего Востока России» (руководитель чл.-корр., д.б.н. Богатов В.В.).

ЛИТЕРАТУРА

- Жадин В.И. 1952.** Моллюски пресных и солоноватых вод СССР. Определители по фауне СССР, изд. Зоол. ин-том АН СССР. Т. 46. М.-Л.: Изд-во АН СССР. 376 с.
- Затравкин М.Н. 1983.** Unionoidae фауны СССР и их роль как промежуточных хозяев и элиминаторов трематод // Моллюски. Систематика, экология и закономерности распространения. Сб. 7. Л.: Наука. С. 40–44.
- Саенко Е.М. 2006.** Морфология глохидиев беззубок (Bivalvia: Unionidae: Anodontinae, Pseudanodontinae) фауны России. Владивосток: Дальнаука. 72 с.
- Саенко Е.М. 2012а.** Новые данные по морфологии глохидиев перловицы *Pronodularia japonensis* (Bivalvia: Unionidae) с о-ва Хонсю, Япония // Бюллетень Дальневосточного малакологического общества. Вып. 15/16. С. 128–133.
- Саенко Е.М. 2012б.** Новые данные по микроструктуре личиночных раковин унионид (Bivalvia: Unionidae) с о-ва Хонсю, Япония // I Всероссийская научная конференция «Современные исследования в биологии». Материалы конференции. Владивосток: БПИ ДВО РАН, ДВФУ. С. 233–236.
- Саенко Е.М. 2013.** Морфология глохидиев беззубок *Sinanodonta woodiana* (Bivalvia: Unionidae) из Польши // Бюллетень Дальневосточного малакологического общества. Вып. 17. С. 214–223.
- Старобогатов Я.И. 1977.** Класс двустворчатые моллюски. Bivalvia // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР (планктон и бентос). Л.: Гидрометеоиздат. С. 123–151.
- Старобогатов Я.И., Иззатулаев З.И. 1984.** Двустворчатые моллюски семейства Unionidae Средней Азии // Бюллетень Московского общества испытателей природы, отд. биология. Т. 89, вып. 5. С. 74–81.
- Giusti F. 1973.** The minute shell structure of the glochidium of some species of the genera *Unio*, *Potomida* and *Anodonta* (Bivalvia, Unionacea) // Malacologia. V. 14. P. 291–301.
- Giusti F., Castagnolo L., Moretti Farina L., Renzoni A. 1975.** The reproductive cycle and the glochidium of *Anodonta cygnea* L. from Lago Trasimeno (Central Italy) // Monitore Zoologico Italiano (Italian Journal of Zoology). V. 9. P. 99–118.
- Hoggarth M.A. 1999.** Descriptions of some of the glochidia of the Unionidae (Mollusca: Bivalvia) // Malacologia. V. 41, N 1. P. 1–118.
- Lima P., Kovitvadhi U., Kovitvadhi S., Machado J. 2006.** *In vitro* culture of glochidia from the freshwater mussel *Anodonta cygnea* // Invertebrate Biology. V. 125, N 1. P. 34–44.
- Modell H. 1945.** Die Anodontinae, Ortm. emend. (Najad., Mollusca). Eine Studie über die Zusammenhänge von Klimazonen und Entwicklungsgeschichte. (Klimazonentheorie) // Jenaische Zeitschrift für Medizin und Naturwissenschaft. Bd. 78. S. 58–100.

- Nagel K.-O. 1985.** Glochidien und Fortpflanzungsbiologie von Najaden des Rheins (Bivalvia-Unionidae-Anodontinae) // Mainzer Naturwissenschaftliches Archiv. Beiheft 5: Die Tierwelt des Rheins einst und jetzt. S. 163–174. Taf. 1 und 2, Mainz.
- Panha S., Eongprakornkeaw A. 1995.** Glochidium shell morphology of Thai Amblemid mussels // Venus (Japanese Journal of Malacology). V. 54, N 3. P. 225–236.
- Wu X.-p., Liang Y.-l., Wang H.-zh., Ou Y.-sh. 2000.** A comparative study on glochidial morphology of Unionidae (Bivalvia). II. *Lanceolaria*, *Lamprotula*, *Hyriopsis* and *Cristaria* // Acta Hydrobiologica Sinica. V. 24, N 3. P. 252–258. (In Chinese with English summary)