

Некоторые сведения по гистологии
***Nodularia vladivostokensis* (Bivalvia: Unionidae)**
из р. Раздольная (Приморский край)

Е.М. Саенко, А.В. Расщепкина

*Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии
ДВО РАН, Владивосток 690022, Россия
e-mail: sayenko@ibss.dvo.ru*

Приводятся полученные с помощью световой микроскопии фотографии гистологических срезов и описания висцеральных органов (половой и пищеварительной систем) и мускулатуры, расположенных в ноге моллюска перловицы *Nodularia vladivostokensis* Moskvicheva, 1973 из р. Раздольная (Приморский край). Дан краткий обзор соответствующей литературы по гистологии и анатомии унионид.

Ключевые слова: гистология, Unionidae, *Nodularia vladivostokensis*.

Some data on histology
of *Nodularia vladivostokensis* (Bivalvia: Unionidae)
from Razdolnaya River (Primorye, Russia)

Elena M. Sayenko, Anna V. Rasshchepkina

*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity,
Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690022, Russia
e-mail: sayenko@ibss.dvo.ru*

Based on light microscopy of serial histological sections, first data (color photographs and descriptions) obtained on the visceral organs (the reproductive system, partially the digestive system) and the musculature located in the foot of the bivalve mollusk *Nodularia vladivostokensis* Moskvicheva, 1973 from Razdolnaya River (Primorsky Territory) are given. A brief review of relevant literature on the histological anatomy of unionids is given.

Key words: histology, Unionidae, *Nodularia vladivostokensis*.

Отряд Unionoida является таксономически и экологически разнообразной и географически широко распространенной группой пресноводных двустворчатых моллюсков, включающей шесть семейств – Unionidae, Margaritiferidae, Hyriidae, Etheriidae, Myseltopodidae и Iridinidae – и насчитывающей примерно 161 род и 843 вида, которые в настоящее время обитают на всех континентах, кроме Антарктиды. Из этой огромной группы моллюсков семейство Unionidae является крупнейшим, насчитывая порядка 677 видов, в то время как на долю остальных пяти семейств приходится чуть более 100 видов [Graf, Cummings, 2007, 2015; Lopes-Lima et al., 2017a, b; и др.]. Представители семейства Unionidae, кроме своего видового

богатства, отличаются необычным жизненным циклом, включающим паразитическую личиночную стадию – глохидий, которая для завершения метаморфоза некоторое время паразитирует в тканях рыб. На этом особенности унионид не заканчиваются. Некоторые униониды, особенно представители трибы *Lampsilini* из подсемейства *Amblemini*, демонстрируют сложные изменения мантийной ткани, имитирующие объекты питания рыб, т.е. по существу действующие как «приманка», что повышает шансы попадания глохидиев в ткани рыбы [Kraemer, 1970; Barnhart et al., 2008].

Систематика двустворчатых моллюсков, в том числе и представителей семейства *Unionidae*, в основном построена на признаках раковин – в первую очередь взрослых моллюсков, в меньшей степени личинок, именно поэтому раковины подробно изучали и изучают в таксономических целях. Однако данных по анатомии «мягких тканей» (т.е. органов мантийной полости и висцеральных органов) крайне мало, а ведь сопоставление признаков родственных видов/таксонов возможно использовать при таксономических ревизиях. Отсутствие гистологических работ с целью выявления подобных таксономических различий является большим упущением в исследованиях пресноводных двустворчатых моллюсков.

Первые работы по морфологии внутренних органов пресноводных *Bivalvia* (беззубок рода *Anodonta* Lamarck, 1799) относятся к концу 19-го века [Howes, 1885; Cooke, 1895; и др.] и включают общие описания строения жабр, ноги, мантии, кристаллического стебелька, сердца, нефридиев, гонад моллюска. Среди первых российских работ следует упомянуть труд П. Беркоса [1901], также посвященный анатомии беззубки *Anodonta*.

Дальнейшие исследования пресноводных двустворчатых моллюсков в значительной степени касаются морфологии раковин взрослых особей и их личинок (глохидиев), которые и дают признаки для видовой и надвидовой таксономии. Описания мягких тканей в основном относятся к репродуктивной системе и особенностям строения жабр, далее идут признаки пищеварительной системы и общей морфологии, включая положение, окраску и форму ротовых лопастей, сифонов, особенности сифональных папилл, характеристики мантии и аддукторов, при этом в ряде случаев подобные характеристики дали дополнительные признаки для таксономических построений [Lefevre, Curtis, 1910; Ortmann, 1910, 1911; Purchon, 1958; Kraemer, 1970; Smith, 1980, 1983; Mansur, Da Silva, 1990; Bogan, 1992; Graf, Cummings, 2006; и др.]. Из российских работ упомянем учебник по зоологии беспозвоночных В.А. Догеля [1934, 1981] в семи переизданиях. Интересно недавнее исследование жемчужниц (*Margaritiferidae*), выявившее новые анатомические особенности в строении сифонов и папилл [Bogan et al., 2018]. Анатомические признаки пищеварительной системы, точнее строения желудка, были изучены для ряда европейских и северо-американских видов унионид [Kat, 1983a, b; Nagel, 1999].

Что касается именно гистологии, т.е. описания особенностей тканей, а не только общей морфологии моллюска и его органов, то до настоящего времени для пресноводных двустворчатых моллюсков опубликованы единичные работы. Среди таких исследований особо следует отметить публикацию МакЕльвана и Булларда [McElwain, Bullard, 2014], представляющую сравнительный гистологический атлас трех видов унионид Северной Америки, с цветными маркированными микрофотографиями высокого разрешения.

Учитывая значение пресноводных двустворок как индикаторов экосистемы, описание нормальных («здоровых») клеток и тканей дает базовую информацию для будущих исследований, включающих не только физиологию, но также токсикологию и гистопатологию. В ряде публикаций показаны гистопатологические изменения в органах пресноводных двустворчатых моллюсков вследствие различных бактериальных, вирусных или паразитарных инфекций, а также из-за действия токсических веществ [Макрушин, 1998; Макрушин и др., 2012; Baker, 1976; Zhong et al., 2011].

Данная работа представляет собой первое гистологическое исследование перловицы *Nodularia vladivostokensis* Moskvicheva, 1973 из р. Раздольная, полученные сведения в дальнейшем могут быть использованы при изучении физиологии пресноводных перловиц.

Материал и методы

Изучены перловицы, собранные в 1990, 1995, 1996 и 2013 гг. в основном русле р. Раздольная в районе пос. Раздольное (Приморский край) и хранящиеся в коллекции Лаборатории пресноводной гидробиологии ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (г. Владивосток). Части тела для гистологического исследования брали у моллюсков, фиксированных 75% спиртом, получая по 2–3 образца из ноги моллюска, в зависимости от размера исследуемой особи.

Образцы заливали в парафин, используя стандартную методику [Роскин, 1951; Волкова, Елецкий, 1971]. Из полученных блоков на ротационном микротоме НМ 340Е (Microm, Thermo Scientific, Великобритания) готовили срезы 7–8 мкм толщиной, которые затем окрашивали гематоксилином и эозином. Готовые препараты фотографировали на бинокуляре AxioCam MRc и световом микроскопе Axioscop 40 (Carl Zeiss, Германия) с использованием на них камеры AxioCam HRc и программы Axiovision 4.6.

При описании гистологических особенностей изученных тканей использована терминология из работ Волкова и Елецкого [1971] и МакЕльвана и Булларда [McElwain, Bullard, 2014]. Половые продукты в гонадах самцов и самок определяли согласно описаниям, приведенным в работах по данной тематике, стадии развития половых клеток устанавливали на основе характеристик ядер, ядрышек и цитоплазмы [Антонова, 1991; Chen et al., 2010; Çek, Şereflişan, 2011; Song et al., 2015].

Результаты и обсуждение

Поверхностный слой (эпителий и субэпителиальный слой)

Край ноги моллюска состоит из складчатого наружного покрова, субэпителиального слоя и перекрестных мышечных волокон под ним (рис. 1А). Если рассматривать продольный срез ноги, то можно выделить по крайней мере четыре участка по типу складок наружного покрова, морфологическим особенностям эпителия и субэпителиального слоя. Перечислим их от переднего края ноги к заднему, двигаясь по срезу

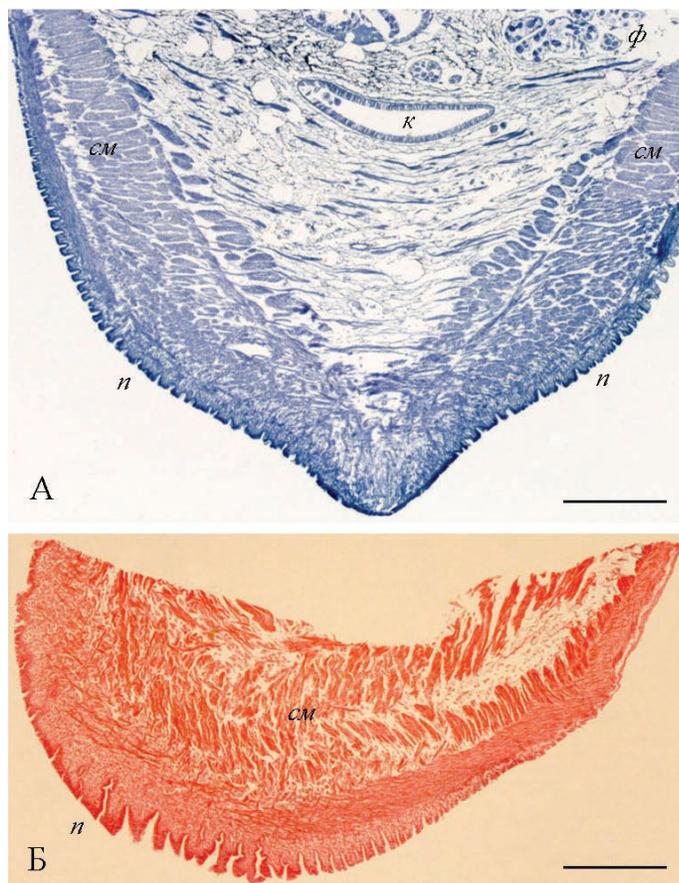


Рис. 1. Поперечный (А) и продольный (Б) срезы вентрального края ноги моллюска. Масштабные линейки 1 мм. *см* – соматическая мускулатура, *п* – складчатый покров, *к* – срез кишки с ресничным эпителием, *ф* – фолликулы.

Fig. 1. Transverse (A) and sagittal (Б) sections of ventral tip of the mollusk's foot. Scale bars 1 mm. *см* – somatic musculature, *п* – pedal integument with plicae, *к* – section of the intestine with ciliary epithelium, *ф* – follicles.

от дорсального переднего края к вентральному и снова поднимаясь дорсально у заднего края (рис. 1Б). Первый участок характеризуется широкими платообразными складками, увеличивающимися по высоте, так что глубина складок наружного покрова может составлять от 70 до 300 мкм (рис. 2А, Б). Для второго участка отмечены глубокие (до 500 мкм), извилистые складки (рис. 2В, Г). Отличительной чертой третьего участка является эпителий со слизистыми клетками, при этом складки постепенно уменьшаются по высоте (рис. 2Д, Е). Во втором и третьем участках поверхность представлена высоко-призматическими клетками до 20 мкм длиной, с крупными, занимающими до 1/3 объ-

ема клетки, округлыми или эллиптическими ядрами, расположенными в базальной части клетки. Четвертый участок эпителия почти без складок, под ним видны обширные полости (синусы) с гемолимфой (рис. 2Ж, 3).

Эпителий подстилает двухслойный субэпителиальный слой, образованный сначала мелкими низко-призматическими клетками, которые в свою очередь лежат на крупных, до 40 мкм длиной, многоугольных клетках с вакуолями. Наиболее многочисленны вакуоли в клетках субэпителиального слоя третьего участка (рис. 2Д). Клетки третьего и четвертого участков отличаются по высоте и форме: от слегка вытянутых, куполообразных, до каплевидных или бокаловидных, от уплощенных до плоских. Окрашивание в фиолетовый цвет свидетельствует о наличии гранулоцитов в слое непосредственно под эпителием ноги (рис. 3А).

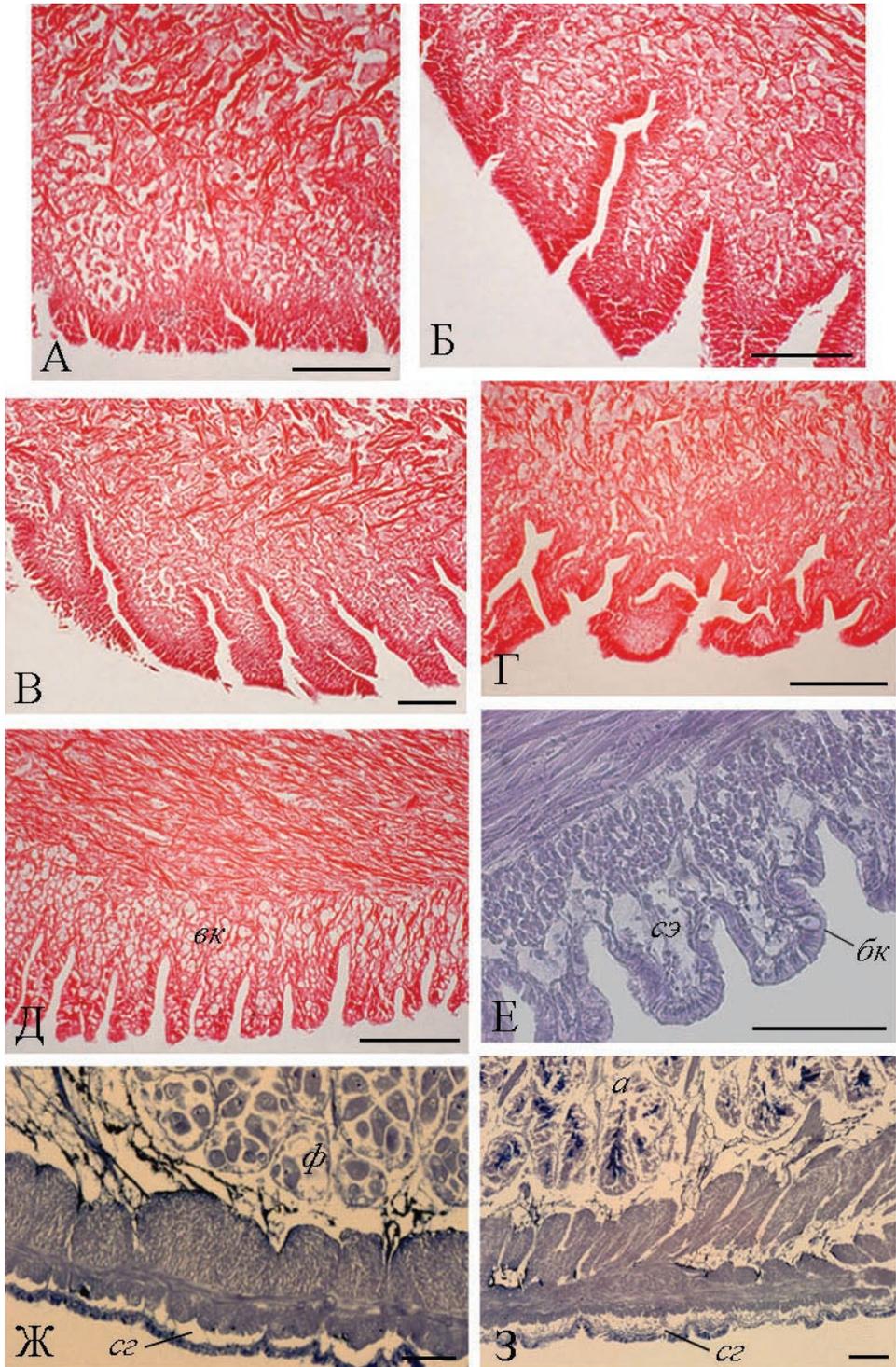
Реснички на эпителиальных клетках отмечены нами местами на втором и третьем участках, но более всего на четвертом участке; если же рассматривать не продольный, а поперечный срез, то ресничный эпителий отмечен в самой вентральной части ноги, ближе к месту срастания с полужабрами, что соответствует характеристикам и для других унионид [McElwain, Bullard, 2014].

Складчатость наружного покрова ноги отмечалась у всех ранее исследованных двустворчатых моллюсков, при этом складки тем короче, чем ближе к линии соединения полужабр с ногой [McElwain, Bullard, 2014]. Увеличение площади поверхности ноги за счет складок наружного покрова ведет к увеличению силы трения, что позволяет моллюску проще заякориваться в субстрате. Разница в характере складчатого покрова ноги у двустворчатых моллюсков может отражать разные экологические условия обитания, например, более выраженная складчатость у особей, живущих на быстром течении, по сравнению с обитающими в условиях спокойной воды [McElwain, Bullard, 2014].

Продуцируемая слизистыми клетками эпителия слизь выполняет роль смазки, не только облегчая процесс зарывания в субстрат, но и одновременно снижая вероятность повреждения наружного покрова ноги моллюска.

Мускулатура ноги, мезентерий

Мускулатура ноги разделяется на области нерегулярных и регулярных мышечных волокон; в вентральной части ноги пучки волокон переплетены между собой и расположены в сагиттальной и поперечной плоскостях, в основании ноги мускулатура организована более упорядоченно (рис. 1–4). Клетки мышечной ткани веретеновидные, до 5 мкм в толщину, с ядрами вытянутой формы, ширина ядра почти равна ширине клетки. В каждой складке наружного покрова ноги наблюдаются поперечно расположенные волокна мышечной ткани, перпендикулярно им располагается следующий, продольный слой мышечных волокон, третий слой мышечной ткани расположен перпендикулярно к предыдущему, число пучков данного слоя мышечной ткани и число складок покрова по количеству между собой не соотносятся (рис. 3В).



Через срезы висцеральной массы видны пучки мезентерия (брыжейки) (рис. 4А, Б). Фибриллы, формирующие пучки, эозинфильные, внутри пучка фибриллы располагаются без видимого порядка (рис. 4Б). Высказывается предположение что пучки мезентерия имеют не только поддерживающую функцию, но и играют определенную роль в циркуляции гемолимфы [McElwain, Bullard, 2014].

Нервы

В ноге двустворчатого моллюска расположена одна из трех пар ганглиев, а именно сближенные педальные ганглии, которые связаны с лежащими между пищеводом и передним мускулом-замыкателем раковины цереброплевральными ганглиями, а те, в свою очередь, длинными коннективами соединены с лежащими под задним мускулом-замыкателем висцеропариетальными ганглиями [Беркос, 1901; Догель, 1981; и др.]. Между собой педальные ганглии связаны комиссурой, а к органам от каждого ганглия отходят нервы, которые мы наблюдали на срезах в ноге и висцеральной массе (рис. 4Г, Д).

На продольном срезе видно, что ткань нерва неоднородная и неравномерная (рис. 4Д). Тонковолокнистая структура с зазорами между волокнами и веретенообразными ядрами позволяет отличить нерв от соединительной ткани [McElwain, Bullard, 2014].

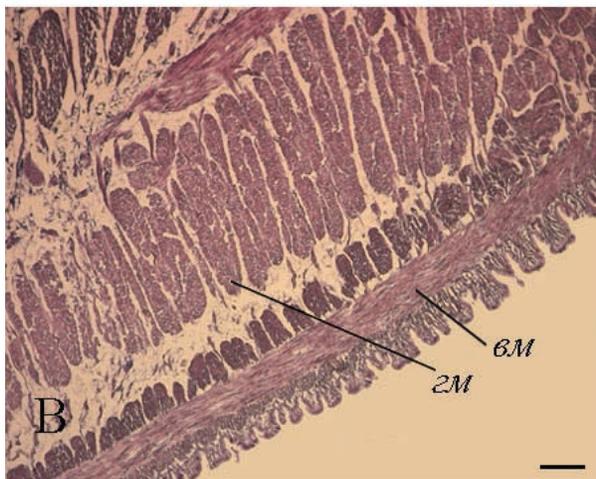
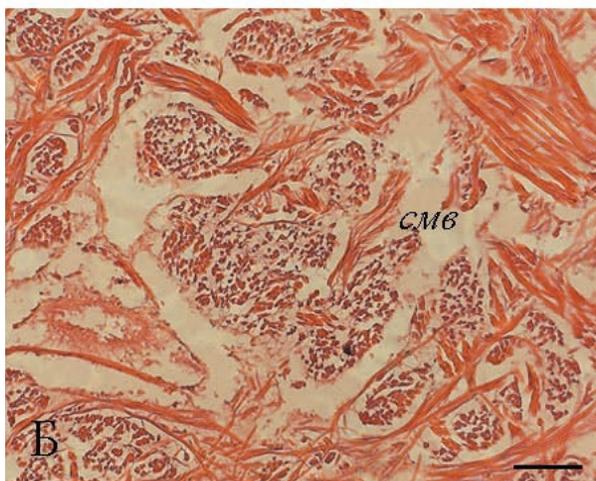
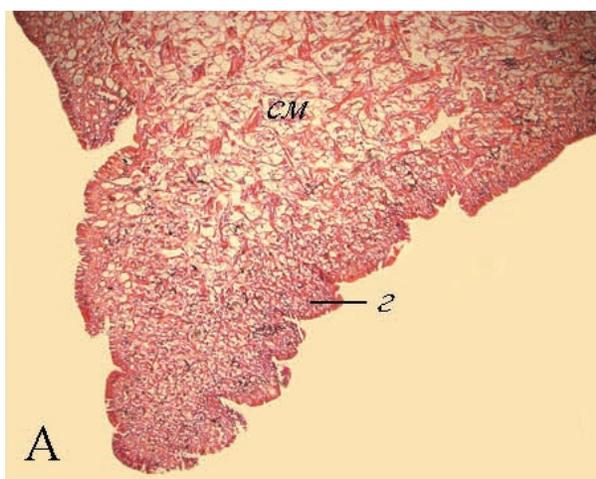
На поперечном срезе, сделанном через участок нерва, виден светлый эозинфильный слой периневрия – защитной соединительной ткани снаружи периферических нервов (рис. 4Д).

Пищеварительная железа, «печеночные» выросты (дивертикулы)

Пищевод и желудок двустворчатого моллюска окружены пищеварительной железой, или «печенью», функцией которой является не продуцирование пищеварительных ферментов, а внутриклеточное всасывание и переваривание питательных веществ [Догель, 1981; и др.]. Пищеварительная железа состоит

Рис. 2. Продольный (А–Д) и поперечный (Е–З) срезы через наружный покров ноги моллюска с разными типами складок: А, Б – широкие складки в виде плато, В, Г – длинные извилистые складки, Д, Е – складки с округлыми и бокаловидными клетками в субэпителиальном слое, Ж, З – слабо-выраженные складки с большими полостями (синусами) для гемолимфы под субэпителиальным слоем. Масштабные линейки 200 мкм (А, В, Ж, З) и 100 мкм (Б, Г–Е). *вк* – клетки с вакуолями, *сэ* – субэпителиальный слой, *бк* – бокаловидная клетка, *сг* – синусы для гемолимфы, *ф* – фолликулы, *а* – ацинусы.

Fig. 2. Saggital (A–D) and transverse (E–Z) sections of pedal integument with different types of plicae: А, Б – broad plateau-shaped plicae, В, Г – long, tortuous plicae, Д, Е – plicae with round and goblet cells in the subepithelial layer, Ж, З – mild plicae with large cavities (sinuses) for hemolymph under subepithelial layer. Scale bars 200 μm (A, B, Ж, Z) and 100 μm (Б, Г–Е). *вк* – cells with vacuoles, *сэ* – subepithelial layer, *бк* – goblet cell, *сг* – sinuses for hemolymph, *ф* – follicles, *а* – acini.



из многочисленных слепых выростов или так называемых печеночных канальцев (дивертикул) и представляет собой один из крупнейших органов пресноводного двустворчатого моллюска. На срезах у *N. vladivostokensis* определяются по крайней мере два типа дивертикул, хорошо отличающиеся по характеристикам эпителия (рис. 5). Канальцы первого порядка более крупные, с ресничным эпителием. Канальцы второго порядка тоньше, в основном их образуют клетки с бледной, эозинофильной цитоплазмой. У пресноводных унионид описаны три

Рис. 3. Поперечные срезы через мускулатуру ноги моллюска: **А** – ventральный край ноги с соматической мускулатурой, **Б** – нерегулярная сетка мышечных волокон, **В** – пучки волокон под наружным покровом. Масштабные линейки 200 мкм (В) и 40 мкм (Б). *сМ* – соматическая мускулатура, *г* – гранулоциты, *сМВ* – нерегулярная сетка мышечных волокон, *гМ* – горизонтально ориентированные мышечные волокна, *вМ* – вертикально ориентированные мышечные волокна.

Fig. 3. Transverse sections of the mussel's foot musculature: **A** – ventral tip of the foot with somatic musculature, **Б** – an irregular meshwork of muscle fibrous tissue, **В** – muscle fibers under pedal integument. Scale bar 200 μm (B) and 40 μm (Б). *сМ* – somatic muscles, *г* – granulocytes, *сМВ* – irregular mesh of muscle fibers, *гМ* – horizontally oriented muscle fibers, *вМ* – vertically oriented muscle fibers.

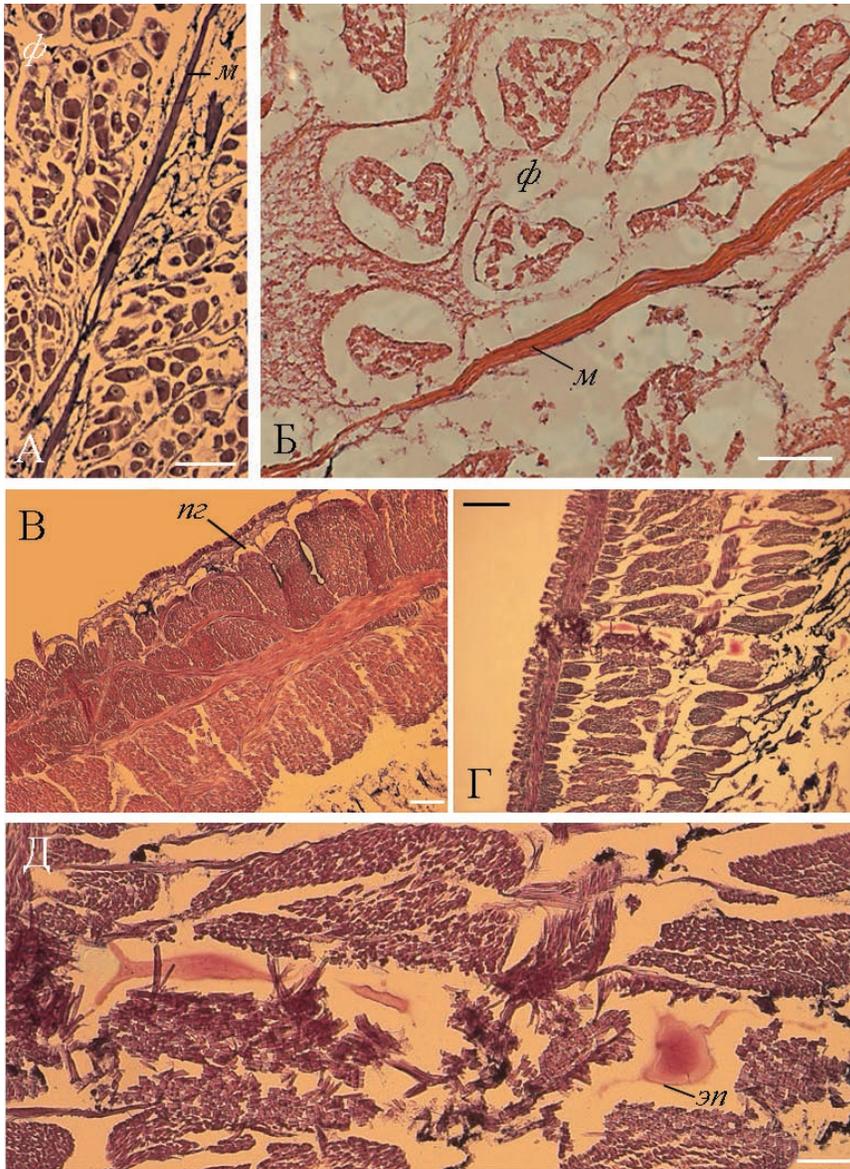


Рис. 4. Поперечные срезы через ногу моллюска: **А, Б** – волокна мезентерия, отходящие от мускулатуры ноги сквозь половую железу вглубь висцеральной массы, **В** – мускулатура под наружным покровом ноги, **Г, Д** – край ноги с нервом. Масштабные линейки 300 мкм (**А, В, Г**), 100 мкм (**Д**), 40 мкм (**Б**). *a* – ацинусы, *м* – мезентерий, *n2* – полости (синусы) для гемолимфы, *эн* – периневрий, *φ* – фолликулы.

Fig. 4. Transverse sections of the mollusk's foot: **А, Б** – fibers of mesentery extending from the foot muscles through gonad into the visceral mass; **В** – muscles under the pedal integument, **Г, Д** – nerve. Scale bars 300 μm (**А, В, Г**), 100 μm (**Д**), 40 μm (**Б**). *a* – acini, *m* – mesentery, *n2* – cavities (sinuses) for hemolymph, *эн* – perineurium, *φ* – follicles.

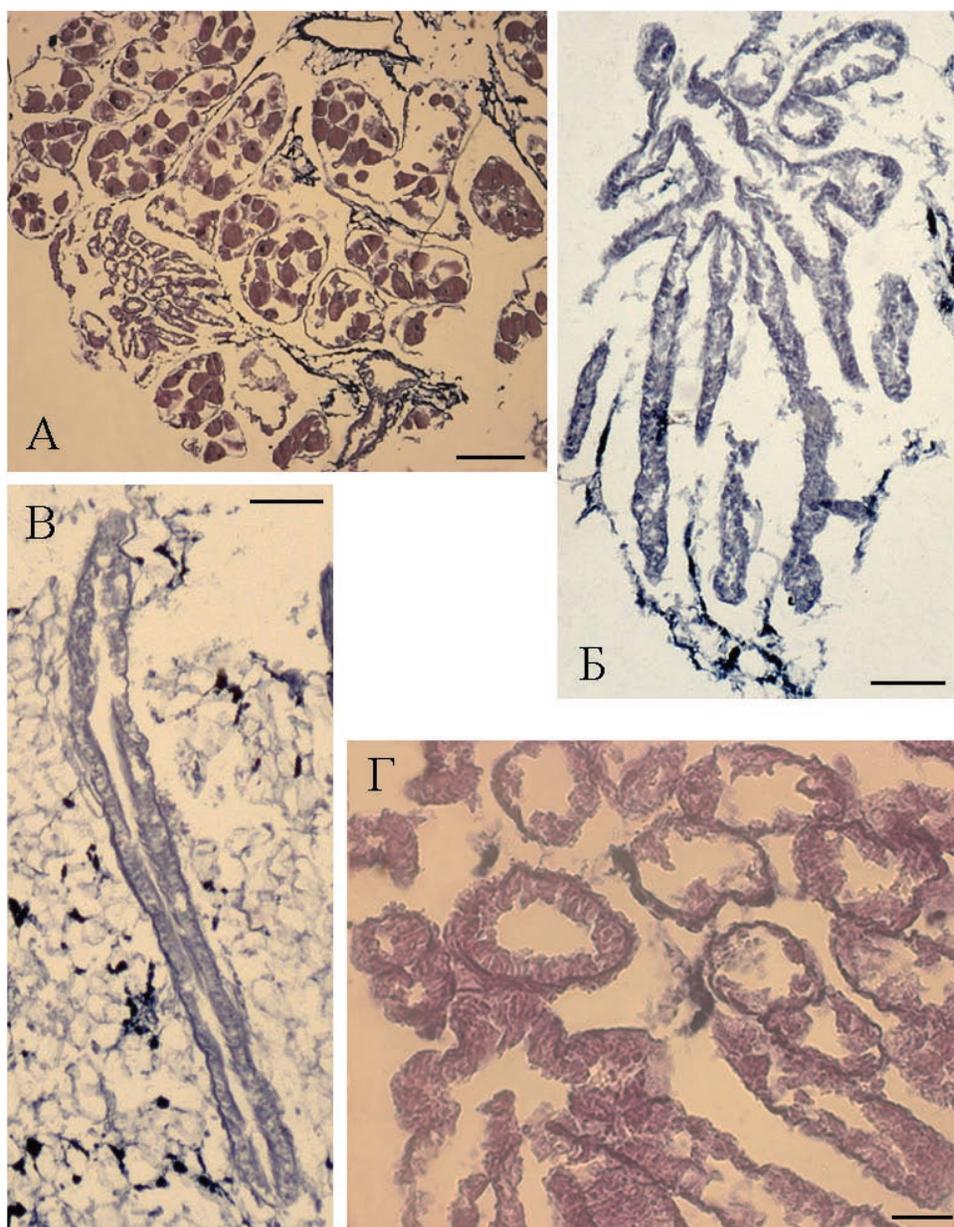


Рис. 5. Поперечные (А, Г) и продольные (Б, В) срезы через пищеварительную железу моллюска: А – часть пищеварительной железы и половой гонады, Б, В – каналцы первого и второго порядков, имеющие внутри покрытые ресничками складки, Г – каналцы второго порядка. Масштабные линейки 300 мкм (А), 200 мкм (В), 100 мкм (Б), 40 мкм (Г).

Fig. 5. Transverse (А, Г) and saggital (Б, В) sections of the digestive diverticulum: А – part of the digestive diverticulum and gonad, Б, В – primary and secondary tubules with ciliated plicae inside, Г – secondary tubules. Scale bars 300 μm (А), 200 μm (В), 100 μm (Б), 40 μm (Г).

типа дивертикул: первого порядка – с ресничным эпителием, второго порядка – с микровыростами, третьего порядка – с эпителием, состоящим из клеток с многочисленными пузырьками (везикулами) внутри; высказывалось предположение что дивертикулы второго порядка способны продуцировать слизь, т.к. окраска канальцев была эозинофильная [McElwain, Bullard, 2014].

Остается открытым вопрос о том, попадает ли пищеварительный материал из первичных канальцев в канальцы второго и третьего порядка, т.к. на срезах изучается фиксированный материал, поэтому процесс пищеварения гистологическими методами увидеть не представляется возможным.

Кишечник (средняя кишка), желудок, мешок кристаллического стебелька, тифлозоль

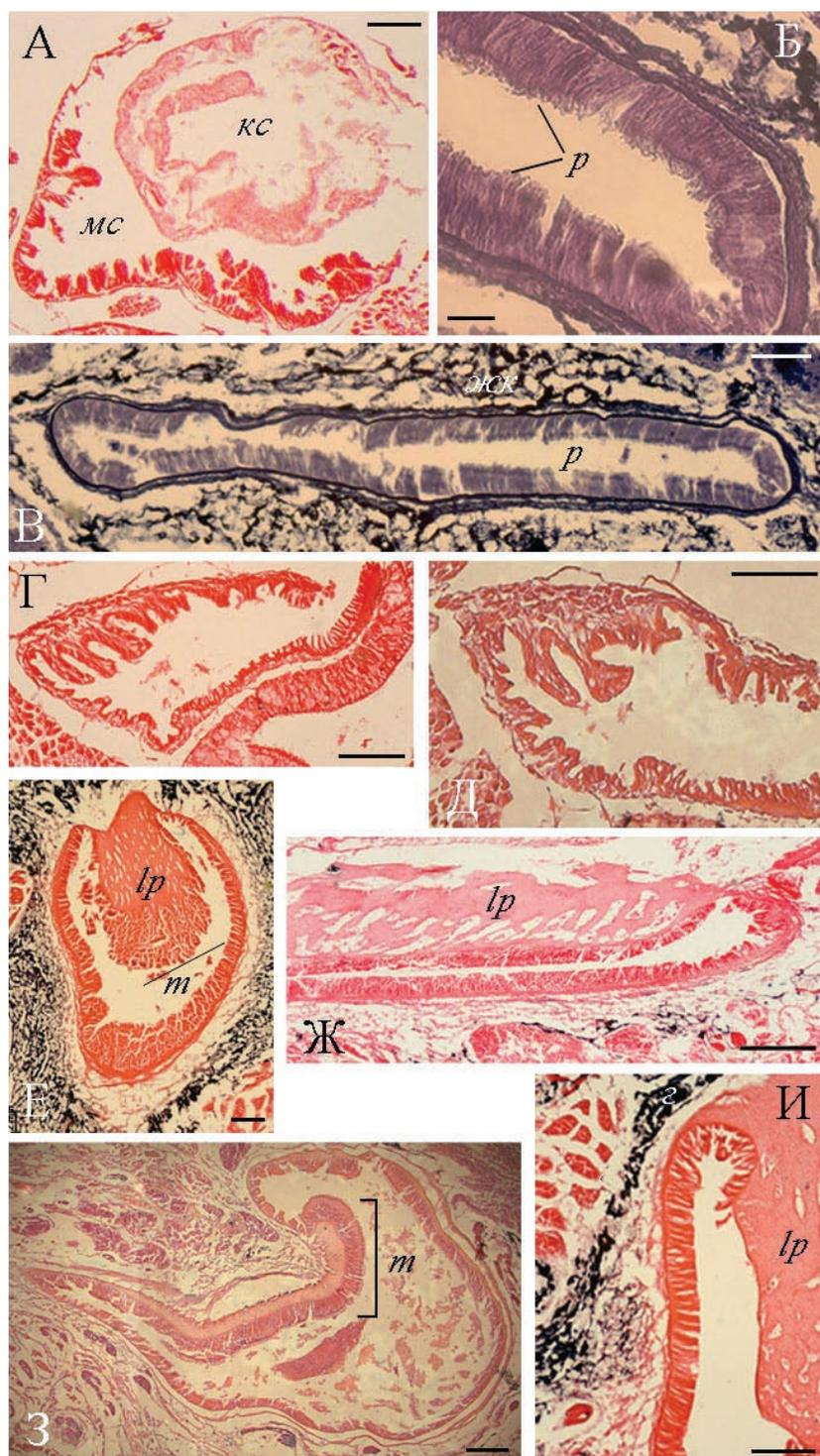
В висцеральной массе, расположенной в ноге двустворчатого моллюска, можно наблюдать вентральную часть (дно) желудка, мешок кристаллического стебелька, частично дивертикулы (выросты) пищеварительной железы, охватывающей желудок, а также петли среднего кишечника и тифлозоль (желобок, уходящий от желудка вглубь кишки) (рис. 6).

Мешок кристаллического стебелька представляет собой округлую мешковидную камеру, протянувшуюся от желудка до заднего края висцеральной массы. Кристаллический стебелек – это бледно-окрашенный стержень из плотного эозинофильного материала, который при нарезке на микротоме, как правило, образует складки и морщины. Кристаллический стержень расположен в самой круглой части мешка кристаллического стебелька (рис. 6А); продолжающуюся от мешка кристаллического стебелька часть кишечника у двустворчатых моллюсков называют средней кишкой. Выделяют три различных типа эпителия мешка кристаллического стебелька по размеру клеток, характеристикам окрашивания и морфологии ресничек [McElwain, Bullard, 2014].

Желудок двустворчатого моллюска представляет собой мешковидный орган, разделенный складками на несколько отделов. На срезах мы наблюдали часть желудка с многочисленными, достаточно длинными (до 150 мкм), узкими складками (рис. 6Г, Д).

Кишечный тракт у двустворчатых моллюсков без мышечных волокон, передвижение пищи происходит за счет работы выстилающего желудок и кишечник ресничного эпителия (рис. 6Б–Д). Сортировка пищевых частиц происходит с помощью ресничного тока и тифлозоля – особого желобка, начинающегося в виде складок в вентральной части желудка и продолжающегося в кишку. Крупные пищевые частицы попадают в кишку, а более мелкие по складкам желудка собираются у выступающего конца кристаллического стебелька.

На срезах виден крупный тифлозоль, расположенный по центру вентральной стенки кишки (рис. 6Е–З). Нами не отмечены складки на отходящих по бокам тифлозоля стенках кишечника (рис. 6И).



Вокруг эпителия кишки можно наблюдать рыхлый слой соединительной ткани – пластину слизистой оболочки кишечника, или lamina propria, которая с дорсальной стороны существенно утолщена и пронизана небольшими синусами с гемолимфой по всему протяжению ткани; с вентральной стороны эпителий ограничивает лишь тонкий слой соединительной ткани (рис. 6Е). Форма ресничных клеток эпителия кишки постепенно меняется от призматической на высоко-столбчатую.

Данные по гистологии кишечника двустворчатых пресноводных моллюсков крайне скудны. Кроме уже упомянутого гистологического атласа по трем видам северо-американских двустворок [McElwain, Bullard, 2014], следует отметить описание высоких базофильных клеток, а также клеток, выделяющих слизь в переднем отделе кишечника *Pleurobeta cordatum* (Rafinesque, 1820) [Yokley, 1968].

Кровеносные сосуды, гемолимфа

Для моллюсков характерна незамкнутая система кровообращения, так что гемолимфа не на всем протяжении циркулирует через сосуды (артерии и вены), а во многих органах проходит через синусы (полости в соединительной ткани без оформленных стенок, т.е. не имеющих выстилку из эндотелия), затем снова собираясь в сосуды [Беркос, 1901; и др.].

Гемолимфа имеет отчетливый клеточный и неклеточный компонент, состоящий из сферических, эозинофильных гемоцитов и черных гранул гемолимфы (например, на рис. 2Ж; рис. 6В, Е, И; рис. 7). Эозинофильные гранулированные гемоциты наблюдались по всей висцеральной массе.

Согласно литературным данным, у моллюсков (в т.ч. двустворчатых представителей семейства Unionidae) существуют по крайней мере три типа клеток крови [Кедровский, 1924; Стадниченко и др., 1981; Dundee, 1953; McElwain, Bullard, 2014]. Однако различия между гемоцитами, наблюдаемыми во всем гемокоэле и мантии, к настоящему времени не установлены. На гистологических срезах мы видим гемолимфу как диффузные черные вкрапления по всей висцеральной массе, но более всего в интерстициальных пространствах (рис. 2, 6, 7). МакЕлван и Буллард [McElwain, Bullard, 2014] указывают, что подобные вкрапления

Рис. 6. Поперечные (А–Е, З, И) и продольный (Ж) срезы через органы пищеварительной системы моллюска: А – мешок кристаллического стебелька, Б, В – петли кишки, Г, Д – часть желудка с длинными складками на дорсальной части стенки, Е, З – петли кишки с тифлозоле, И – боковая часть тифлозоля. Масштабные линейки 300 мкм (Е, З, И), 200 мкм (А, В, Г, Д), 40 мкм (Б). *mc* – мешок кристаллического стебелька, *kc* – кристаллический стебелек, *p* – реснички, *m* – тифлозоль, *lp* – lamina propria, *z* – гемолимфа.

Fig. 6. Transverse (А–Е, З, И) and saggital (Ж) sections of the digestive organs: А – crystalline style sac, Б, В – intestinal limbs, Г, Д – part of the stomach with long plicae on the dorsal wall, Е, З – intestinal limbs with typhlosole, И – lateral part of the typhlosole. Scale bars 300 μm (Е, З, И), 200 μm (А, В, Г, Д), 40 μm (Б). *mc* – style sac, *kc* – crystalline style, *p* – cilia, *m* – typhlosole, *lp* – lamina propria, *z* – hemolymph.

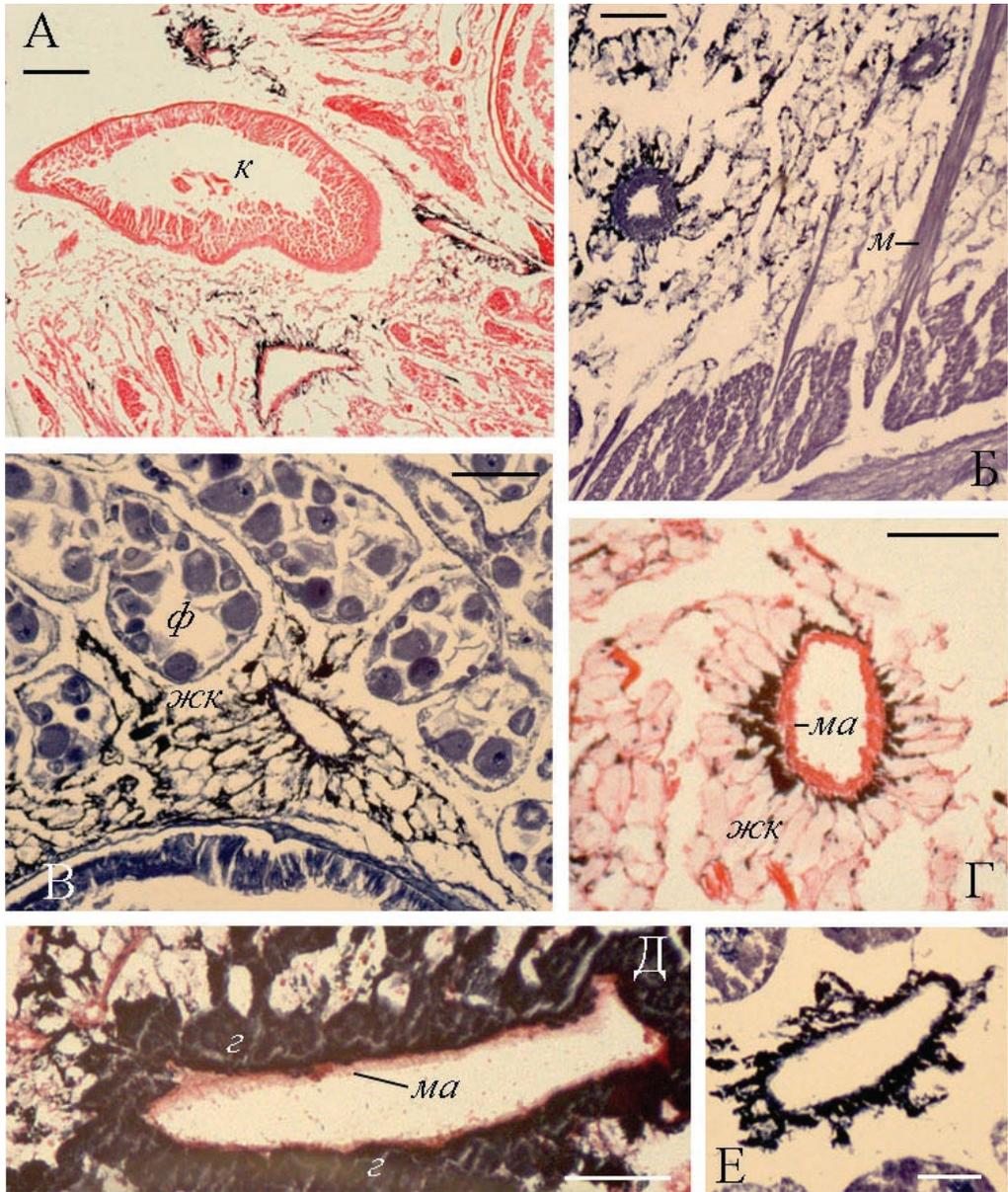


Рис. 7. Поперечные срезы через сосуды в разных частях ноги моллюска: А, Б, Г, Д – предположительно артерии, В, Е – предположительно венозные сосуды. Масштабные линейки 300 мкм (А), 200 мкм (Б, В), 100 мкм (Г–Е). *к* – кишка, *ма* – мускулатура у артерий, *м* – мезентерий, *жс* – жировые клетки, *р* – реснички, *а* – ацинусы, *з* – гемолимфа.

Fig. 7. Transverse sections of the hemolymph vessels: А, Б, Г, Д – potential arteries, В, Е – potential veins. Scale bars 300 μm (А), 200 μm (Б, В), 100 μm (Г–Е). *к* – intestine, *ма* – musculature of a potential artery, *м* – mesentery, *жс* – apidocytes, *р* – cilia, *а* – acini, *з* – hemolymph.

черных гранул свидетельствуют о присутствии плазмы и интерстициальной жидкости, т.к. черные гранулы представляют собой не что иное как гематин – пигмент, характерный для тканей с большим количеством крови и появляющийся вследствие реакции окисления гемоглобина при действии формалина [Myers, McGavin, 2007].

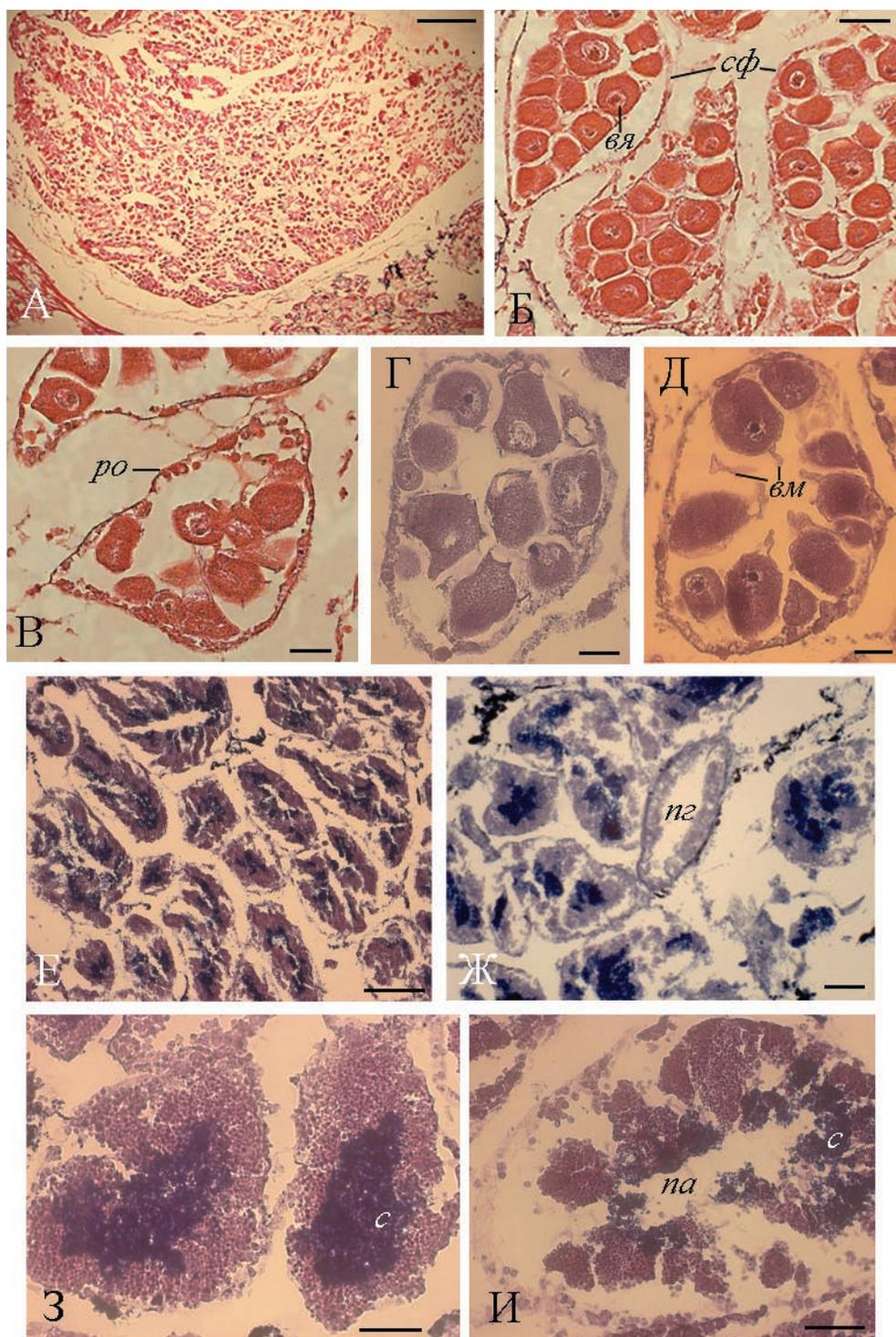
Кровеносные сосуды соответствуют венам, артериям и капиллярам, выстланы плоскими клетками (рис. 7). Согласно МакЕльвану и Булларду [McElwain, Bullard, 2014] артерии и вены по форме среза не отличаются, имея круглую, овальную и даже неправильную формы. Однако авторы указывали, что у артерий просвет окружают слои мускулатуры, в то время как более тонкие стенки вен сформированы волокнистой тканью, наконец капилляры – это простые, круговые структуры, выстланные лишь плоскоклеточными клетками.

Репродуктивная система

Гистология гонад используется разными исследователями как метод определения сроков размножения у пресноводных двустворчатых моллюсков [Антонова, 1991; Chen et al., 2010; Çek, Şereflişan, 2011; Smith et al., 2003; Song et al., 2015; и др.]. Гонады моллюсков состоят из ацинусов (называемых также фолликулами у самок), соединенных в компактную массу прослойками соединительной ткани (рис. 8А). Стенки ацинусов состоят из расположенных в один ряд гаметоцитов разной степени зрелости. Зрелые половые продукты (ооциты у самок и сперматоциты у самцов) находятся в просвете ацинусов. Женская и мужская гонады пронизаны протоками, каналцы на поперечных срезах круглые либо овальные (рис. 8А). Протоки состоят из светлых эозинофильных столбчатых клеток с плотным слоем ресничек на апикальной поверхности (рис. 8Ж).

Пик в созревании ооцитов и сперматоцитов пришелся на июнь – начало июля. Для дальневосточных перловиц выделяют от трех [Chen et al., 2010] до пяти [Song et al., 2015] стадий изменения в гонадах. У исследованных особей выявлены стадии роста и созревания (активный гаметогенез), зрелости (или преднеростовая), нереста и покоя (или восстановления). Разные участки гонад могут содержать половые продукты на разных стадиях созревания (например, преднеростовой и неростовой). В связи с отсутствием проб в зимнее время, стадия нарастания (мультипликативная) не была зафиксирована.

Процесс созревания ооцитов начинается с небольших базофильных клеток, которые увеличиваются в размерах по мере созревания, так что в ооцитах становится более заметной эозинофильная цитоплазма (рис. 8Б–Д). Зрелые ооциты (занимающие большую часть объема ацинуса) заключены в мембрану, цитоплазма зрелого ооцита эозинофильная, зернистая, содержит базофильное ядро (рис. 8Г, Д).



На стадии активного гаметогенеза в гонадах самок преобладали ооциты, прилегающие широким основанием к стенке фолликула, в гонадах самцов ацинусы были заполнены клетками в различных фазах сперматогенеза; просветы ацинусов у самок и самцов были более или менее свободны (рис. 8Е). В гонадах самок преднерестовой стадии отмечены сильно увеличенные фолликулы с максимально крупными ооцитами, соединенными со стенками ацинусов «ножками» (рис. 8Г), на стадии завершающего трофоплазматического роста они имели характерную удлинённую, или каплевидную, форму (рис. 8Д). В гонадах самцов преднерестовой стадии преобладали зрелые сперматоциты, ядра которых в два раза мельче ядер сперматид; утончившиеся стенки ацинусов едва различимы, просвет в ацинусах отсутствует либо едва заметен (рис. 8З). Созревание желточных гранул стартует на периферии ооплазмы, поэтому у самок в ацинусах нерестовой стадии зона вокруг ядра в ооцитах оставалась свободной, так что виден отчетливый светлый участок вокруг ядра (рис. 8Г). В гонадах самцов ацинусы в период нерестовой стадии заполнены сперматоцитами, однако в центре ацинусов заметны освободившиеся просветы (рис. 8И). Для посленерестовой стадии отмечены опустошенные ацинусы со смятыми стенками, в просветах ацинусов отмечены скопления фагоцитов.

Различия в репродуктивной системе унионид, а именно в морфологии гонад самцов и их половых продуктов, связаны с процессом оплодотворения (оплодотворение в мантийной полости или в жабрах), а также с тем, происходит ли выбрасывание спермы в виде сперматофоров или нет [Lefevre, Curtis, 1910; Edger, 1965; Ishibashi et al., 2000]. Жизненные стратегии среди унионид также отличаются разнообразием. Среди представителей семейства еще Ортманн [Ortmann, 1911] выделил две группы: моллюски с коротким периодом вынашивания и летним

Рис. 8. Срезы через гонады моллюска: А – поперечный срез через гонаду самки, Б–Д – фолликулы в гонадах самок (Б, В – зрелые ооциты круглой формы, готовые к вымету; Г – ооциты в период активного гаметогенеза на стадии раннего трофоплазматического роста, Д – ооциты каплевидной формы в период преднерестовой стадии при завершении трофоплазматического роста), Е, Ж – поперечные срезы через гонаду самца, З, И – ацинусы в гонадах самцов (З – преднерестовая стадия, просветы в ацинусах практически отсутствуют, стенки ацинусов не различимы, И – нерестовая стадия, имеются просветы в ацинусах). Масштабные линейки 300 мкм (А), 200 мкм (Е), 100 мкм (Ж), 50 мкм (Б–Д, З, И). *вя* – вакуолизированное ядро, *сф* – стенка фолликула, *вм* – вителлиновая мембрана, *ро* – развивающиеся из пелликулы ооциты, *нз* – ресничный проток гонады, *с* – сперматоциты, *па* – просветы в ацинусах.

Fig. 8. Sections through the gonads of the mollusk: А – transverse section through the female gonad, Б–Д – ovarian acini, follicles (Б, В – mature round-shaped oocytes ready to be swept out; Г – oocytes in the period of active gametogenesis at the stage of early trophoplasmatic growth, Д – tear-shaped oocytes during the pre-spawning stage at the end of trophoplasmatic growth), Е, Ж – transverse sections through the male gonads, З, И – testicular acini (З – pre-spawning stage, with practically absent gaps in the acini and invisible the acini walls, И – spawning stage, with gaps in the acini). Scale bars 300 μm (А), 200 μm (Е), 100 μm (Ж), 50 μm (Б–Д, З, И). *вя* – vacuolated nucleus, *сф* – follicle wall, *вм* – vitelline membrane, *ро* – developing oocytes arising from a pellicle, *нз* – ciliated gonadal duct, *с* – spermatocytes, *па* – gaps in acini.

размножением, либо с длинным периодом вынашивания и зимним размножением (т.е. эмбрионы и глосидии остаются в марсупиях в течение зимы, а выброс глосидиев происходит лишь ранней весной), однако у всех представителей период созревания половых продуктов приходится на теплое время года [Антонова, 1991; Lefevre, Curtis, 1912; и др.].

Литература

- Антонова Л.А. 1991. Связь репродуктивных циклов унионид дельты Волги с факторами внешней среды // Труды Зоологического института. Т. 228. С. 12–29.
- Беркос П. 1901. Беззубка: практическая зоотомия. Вып. IV. СПб.: Типография А.Е. Коллинского. 48 с.
- Волкова О.В., Елецкий Ю.К. 1971. Основы гистологии с гистологической техникой. М.: Медицина. 272 с.
- Догель В.А. 1934. Зоология беспозвоночных: Учебник. Л.: Биомедлиз. 528 с.
- Догель В.А. 1981. Зоология беспозвоночных: Учебник для ун-тов. Под ред. проф. Ю.И. Полянского. 7-е изд., перераб. и доп. М.: Высшая школа. 606 с.
- Кедровский Б. 1924. О клетках крови беззубки // Зоологический журнал. Т. 4, вып. 3/4. С. 220–233.
- Макрушин А.В. 1998. Опыт биоиндикации загрязнения пресных вод по результатам гистопатологического обследования печени моллюсков // Биология внутренних вод. № 3. С. 90–94.
- Макрушин А.В., Голубков С.М., Асанова Т.А. 2012. Гистопатологическое обследование печени Unionidae (Mollusca, Bivalvia) из Невской губы Финского залива // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. Т. 117, вып. 1. С. 77–80.
- Роскин Г.И. 1951. Микроскопическая техника. М.: Советская наука. 448 с.
- Стадниченко А.П., Иваненко Л.Д., Колосенко Н.А., Бубон А.Б., Литвинчук Р.В. 1981. Патоморфологические изменения клеточных элементов гемолимфы пресноводных легочных и переднежаберных моллюсков при инвазии их партенитами трематод // Паразитология. Т. 15, вып. 5. С. 407–414.
- Barnhart M.C., Haag W.R., Roston W.N. 2008. Adaptations to host infection and larval parasitism in Unionoida // Journal of the North American Benthological Society. V. 27. P. 370–394.
- Baker R.A. 1976. Tissue damage and leukocytic infiltration following attachment of the mite *Unionicola intermedia* to the gills of the bivalve mollusk *Anodonta anatina* // Journal of Invertebrate Pathology. V. 27. P. 371–376.
- Bogan A.E. 1992. Anal structures as a new source of anatomical characters in freshwater bivalves (Mollusca: Bivalvia: Unionoida) // Abstracts of the 11th International Malacological Congress, Siena. P. 14–16.
- Bogan A.E., Martel A.L., Sietman B., Vikhrev I., Johnson P.D., Wilson G., Lopes-Lima M. 2018. A newly-recognized anatomical structure for the Margaritiferidae // Ellipsaria. V 20, N 1. P. 25–28.
- Çek S., Şereflişan H. 2011. The gametogenic cycle of *Leguminaia whaetleyi* (Lea, 1862) in Lake Gölbaşı, Turkey (Bivalvia: Unionidae) // Journal of Experimental Zoology, Part A – Ecological Genetics and Physiology. V. 315. P. 30–40.
- Chen T.-H., Ouyang Sh., Xiong L.-F., Qi T., Wu X.-P. 2010. Studies on the population structure and reproductive traits of *Unio douglasiae* in Qinglan Lake, Jiangxi Province // Acta Hydrobiologica Sinica. V. 34, N 3. P. 473–480.
- Cooke A.H. 1895. Molluscs // The Cambridge Natural History. Vol. 3. S.F. Harmer, A.E. Shipley (Eds.). New York: Macmillan and Co. P. 1–459.
- Dundee D.S. 1953. Formed elements of the blood of certain fresh-water mussels // Transactions of the American Microscopical Society. V. 72. P. 254–264.
- Edger R.E. 1965. Observations on the sperm of the pelecypod *Anodontoides ferussacianus* (Lea) // Transactions of the American Microscopical Society. V. 84. P. 228–230.

- Graf D.L., Cummings K.S. 2006. Palaeoheterodont diversity (Mollusca: Trigonioidea + Unionoida): what we know and what we wish we knew about freshwater mussel evolution // Zoological Journal of the Linnean Society. V. 148. P. 343–394.
- Graf D.L., Cummings K.S. 2007. Review of the systematics and global biodiversity of freshwater mussel species (Bivalvia: Unionoida) // Journal of Molluscan Studies. V. 73. P. 291–314.
- Graf D.L., Cummings K.S. 2015. The freshwater mussels (Unionoida) of the world (and other less consequential bivalves). MUSSEL Project Web Site. <http://www.mussel-project.net/> (accessed on 25.04.2016).
- Howes G.H. 1885. An atlas of Practical Elementary Biology. London: Macmillan and Co. 116 p.
- Ishibashi R., Komaru A., Kondo T. 2000. Sperm sphere in unionid mussels (Bivalvia: Unionidae) // Zoological Science. V. 17. P. 947–950.
- Kat P.W. 1983a. Genetic and morphological divergence among nominal species of North American *Anodonta* (Bivalvia: Unionidae) // Malacologia. V. 23, N 2. P. 361–374.
- Kat P.W. 1983b. Morphological divergence, genetics, and speciation among *Lampsilis* (Bivalvia: Unionidae) // Journal of Molluscan Studies. V. 49. P. 133–145.
- Kraemer L.S. 1970. The mantle flap in three species of *Lampsilis* (Pelecypoda: Unionidae) // Malacologia. V. 10, N 1. P. 225–282.
- Lefevre G., Curtis W.C. 1910. The marsupium of the Unionidae // Biological Bulletin. V. 19, N 1. P. 31–34.
- Lefevre G., Curtis W.C. 1912. Studies on the reproduction and artificial propagation of freshwater mussels // Bulletin of the Bureau of Fisheries. V. 30, N 756. P. 105–201.
- Lopes-Lima M., Froufe E., Tu Do V., Ghamizi M., Mock K.E., Kebapçı Ü., Klishko O., Kovitvadhi S., Kovitvadhi U., Paulo O.S., Pfeiffer III J.M., Raley M., Riccardi N., Şereflişan H., Sousa R., Teixeira A., Varandas S., Wu X., Zanatta D.T., Zieritz A., Bogan A.E. 2017a. Phylogeny of the most species-rich freshwater bivalve family (Bivalvia: Unionida: Unionidae): defining modern subfamilies and tribes // Molecular Phylogenetics and Evolution. V. 106. P. 174–191.
- Lopes-Lima M., Sousa R., Geist J., Aldridge D.C., Araujo R., Bergengren J., Bepalaya Yu., Bódis E., Burlakova L., Van Damme D., Douda K., Froufe E., Georgiev D., Gumpinger E.C., Karatayev A., Kebapçı Ü., Killeen I., Lajtner J., Larsen B.M., Lauceri R., Legakis A., Lois S., Lundberg S., Moorkens E., Motte G., Nagel K.-O., Ondina P., Outeiro A., Paunovic M., Prié V., von Proschwitz T., Riccardi N., Rudzītis M., Rudzītis M., Scheder C., Seddon M., Şereflişan H., Simić V., Sokolova S., Stoeck K., Taskinen J., Teixeira A., Thielen F., Trichkova T., Varandas S., Vicentini H., Zajac K., Zajac T., Zogaris S. 2017b. Conservation status of freshwater mussels in Europe: state of the art and future challenges // Biological Reviews. V. 92. P. 572–607.
- Mansur M.C.D., Da Silva M.D.-G.O. 1990. Compared morphology and microanatomy of *Bartlettia stefanensis* (Moricand, 1856) with *Anodontites tenebricosus* (Lea, 1834) (Bivalvia, Unionoida, Muteoidea) // Amazoniana. V. 11, N 2. P. 147–166.
- McElwain A., Bullard S.A. 2014. Histological atlas of freshwater mussels (Bivalvia, Unionidae): *Villosa nebulosa* (Ambleminae: Lampsilini), *Fusconaia cerina* (Ambleminae: Pleurobemini) and *Strophitus connasaugaensis* (Unioninae: Anodontini) // Malacologia. V. 57, N 1. P. 99–239.
- Myers R.K., McGavin M.D. 2007. Cellular and tissue responses to injury // Pathologic Basis of Veterinary Disease. 4th Ed. / M.D. McGavin, J.F. Zachary (Eds.) St. Louis, Missouri: Mosby. P. 3–63.
- Nagel K.-O. 1999. Anatomische und morphologische Merkmale europäischer Najaden (Unionoidea: Margaritiferidae und Unionidae) und ihre Bedeutung für die Systematik // Heldia. Bd. 2, Sonderheft 3. S. 33–48.
- Ortmann A.E. 1910. A new system of the Unionidae // Nautilus. V. 23. P. 114–120.
- Ortmann A.E. 1911. A monograph of the najads of Pennsylvania. Anatomical investigations // Memoirs of the Carnegie Museum. V. 4, N 6. P. 279–347.
- Purchon R.D. 1958. The stomach in the Eulamellibranchia: stomach type IV // Proceedings of the Zoological Society of London. V. 131, N 4. P. 487–525.

- Smith D.G. 1980. Anatomical studies on *Margaritifera margaritifera* and *Cumberlandia monodonta* (Mollusca: Pelecypoda: Margaritiferidae) // Zoological Journal of the Linnean Society. V. 69. P. 257–270.
- Smith D.G. 1983. On the so-called mantle muscle scars on shells of the Margaritiferidae (Mollusca: Pelecypoda), with observations on mantle-shell attachment in the Unionoidea and Trigonioidea // Zoologica Scripta. V. 12, N 1. P. 67–71.
- Smith D.G., Lang B.K., Gordon M.E. 2003. Gametogenic cycle, reproductive anatomy, and larval morphology of *Popenaias popeii* (Unionoidea) from the Black River, New Mexico // Southeastern Naturalist. V. 48. P. 333–340.
- Song M.-Y., Im J., Lee W.-O., Kim S.T., Kim D.-H. 2015. Reproductive ecology of the freshwater bivalve, *Unio douglasiae* (Unionidae) in Lake Uiam // Korean Journal of Malacology. V. 31, N 3. P. 171–178.
- Yokley P. 1968. A study of the anatomy of the naiad *Pleurobema cordatum* (Rafinesque, 1820) (Mollusca: Bivalvia: Unionoidea): Dissertation. Columbus, Ohio: Ohio State University. 139 p.
- Zhong L., Xiao T.-Y., Huang J., Dai L.-Y., Liu X.-Y. 2011. Histopathological examination of bivalve mussel *Hyriopsis cumingii* Lea artificially infected by virus // Acta Hydrobiologica Sinica. V. 35. P. 666–671.

Published online December 27, 2018