

I. O. Hexas

Мурманський морський біологічний інститут Карельського наукового центру РАН

ПОРІВНЯННЯ ВИДОВИХ ОПИСІВ ПРІСНОВОДНИХ МОЛЮСКІВ GASTROPODA В ПРАЦЯХ ДВОХ СИСТЕМАТИЧНИХ ШКІЛ

На основі аналізу 198 видових описів з 35 вітчизняних і зарубіжних робіт показано, що кількість слів у роботах, написаних російськомовними авторами в два рази, а кількість ілюстрацій - в три рази менше, ніж у роботах європейських і азійських авторів.

Ключові слова: систематика, таксономія, черевоногі молюски

I. O. Nekhaev

Murmansk Marine Biology Institute Karelian sciences center RAS

A COMPARISON OF SPECIES DESCRIPTIONS OF TWO TAXONOMICAL SCHOOLS

Having analyzed 198 species descriptions in the 35 Russian and foreign works the author proves that the number of words in Russian papers is twice lesser and the number of pictures is thrice lesser than in papers of European and Asian scientists.

Key words: Systematics, taxonomy, Gastropoda

УДК [594. 124:591.111.1:612.22]

В. Н. НОВИЦКАЯ

Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского НАН Украины
пр-т Нахимова, 2, Севастополь, 99011, Украина

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И ЦИТОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОИДНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ГЕМОЛИМФЫ *ANADARA INAEQUIVALVIS*

Эритроидные элементы гемолимфы *Anadara inaequalvis* (Bruguiere, 1789) – ядерные клетки округлой формы, обладают достаточно большой удельной поверхностью, цитоплазма ацидофильная. Эритроциты имеют базофильную зернистость. Небольшое эллипсоидное ядро функционально малозначимо в зрелых клетках.

Ключевые слова: эритроциты, гемолимфа, гематологические показатели, двустворчатый моллюск, Anadara inaequalvis (Bruguiere, 1789)

Anadara inaequalvis (Bruguiere, 1789) – двустворчатый моллюск Индо-Пацифики. В настоящее время является известным представителем малакофауны Черного моря. Изначально вид был представлен только в Индийском и Тихом океанах [1]. В 1969 г. был отмечен в Средиземном море, откуда началось освоение им смежных регионов. Первые находки анадары в Черном море отмечены в 1968 г. у побережья Кавказа [2], однако принято считать, что освоение черноморского региона этой двустворкой началось в 1981 г. с прибрежных вод Болгарии и Румынии. За сравнительно короткий промежуток времени анадара стала массовым видом и распространилась по всему северо-западному шельфу Черного моря [3]. К настоящему моменту ее можно обнаружить вдоль всех берегов Черного моря на глубинах до 20 м на всех типах грунтов [4].

Причиной такого широкого распространения *A. inaequalvis* является ее эврибионтность. Данный вид является эвритермным и эвригалинным. Оптимальная соленость для существования моллюска составляет 30‰, но его можно встретить и в солоноватых лагунах Адриатики [5–7]. Анадара достаточно легко переносит гипоксические и аноксические условия. По данным Холдена с соавторами [8], данный вид может выживать в условиях полного

отсутствия кислорода, по меньшей мере, месяц при температуре 20°C. Интенсивность потребления кислорода в условиях нормоксии (при концентрации кислорода 8,5–8,7 мг/дм³) у этого вида в 5–6 раз меньше, чем у других массовых видов двустворок Черного моря. Это позволяет констатировать: тканевой метаболизм анадары имеет анаэробную ориентацию, которая позволяет ей существовать в условиях пониженного содержания кислорода или его отсутствия [9]. Все арки имеют четыре типа клеток (гемоцитов): три вида лейкоцитов и эритроциты [8]. Наличие последних отличает их от других черноморских двустворчатых моллюсков.

Эритроциты анадары – это ядерные клетки, имеющие форму двояковыпуклого диска [8]. Клетки красной крови являются удобным объектом для оценки состояния моллюсков при определении различных патологий, также они используются в качестве неспецифических биомаркеров загрязнения водной среды [10]. При этом функциональная морфология эритроидных элементов гемолимфы анадары малоизучена. Этим аспектам проблемы и посвящена настоящая работа.

Материал и методы исследований

Для исследования были отобраны особи *A. inaequalvis* с размером раковины 30–33 мм. Материал получен с коллекторных установок рыбодобывающего предприятия “Дон-Комп” (бухта Стрелецкая, Севастополь). Транспортировка моллюсков осуществлялась в течение часа в пластиковых емкостях, заполненных морской водой.

Перед экспериментом для снятия реакции стресса животных выдерживали в аквариумах с проточной морской водой в течение 3-х суток. Ежедневно проводили полную смену воды для удаления метаболитов. Температура воды – 20–21°C. Соленость воды составляла 17–18‰. Фотопериод – день:ночь – 12 ч.

Гемолимфу получали пункцией из экстрапаллиального пространства, осторожно приоткрыв створки раковины. Концентрацию гемоглобина в пробах контролировали при помощи гемиглобинцианидного метода. Применяли стандартный набор реактивов ООО «Агат-мед» (Россия). Число эритроидных элементов подсчитывали в камере Горяева [11]. Гематокрит определяли путем центрифугирования образцов гемолимфы в гепаринизированных капиллярах (750 г; 30 мин). Центрифугирование проводили в специальном гематокритном роторе (центрифуга MPW-310, Польша). На основании полученных значений рассчитывали эритроцитарные индексы: среднеклеточное содержание (МСН) и среднеклеточную концентрацию гемоглобина (МСНС) [12]. Расчеты выполняли по формулам:

$$MCH = \frac{Hb}{Er}; MCHC = \frac{Hb}{Ht} \times 10,$$

где: Hb – концентрация гемоглобина (г·л⁻¹); Er – число эритроидных элементов (шт. мкл⁻¹); Ht – гематокрит (%).

Перед изготовлением мазков для цитологических исследований эритроидную массу трижды отмывали в изотоничном растворе NaCl (0,85%) путем центрифугирования (3500 об. мин⁻¹ в течение 15 мин). Это связано с высоким содержанием солей, которые при высыхании мазка активно кристаллизуются. Затем изготавливали мазки, которые окрашивали по комбинированному методу Паппенгейма [11]. На мазках изучали морфологические и цитометрические характеристики эритроидных элементов.

При помощи окуляр-микрометра на мазках измеряли большой и малый диаметры клеток (С1; С2) и их ядер (N1; N2), а также исследовали морфологические особенности эритроцитарной массы. Измерения проводили под иммерсией при увеличении ×1500. Объем выборки составлял 100 клеток на один мазок при определении линейных параметров и 500 клеток – при анализе морфологии эритроидных элементов.

Для расчета площади поверхности (S_c) и объема (V_c) эритроцита использовались формулы, представленные в работе [13]. Толщина определялась по уравнению, предложенному Чижевским [14]. Используя формулы объема и площади эллипсоида вращения [15], рассчитаны

данные показатели для ядер эритроцитов. На основании полученных значений были определены удельные поверхности эритроцитов и их ядер.

Полученный цифровой материал обработан статистически при помощи коэффициента вариации (V). Результаты представлены в виде $\bar{x} \pm S_x$.

Результаты исследований и их обсуждение

Настоящие исследования были проведены на уровне гемолимфы *A. inaequalvis* и отдельных эритроидных элементов.

Гематологические исследования. Значения концентрации гемоглобина, числа эритроцитов и гематокрита приведены в табл. 1. Как видно, полученные параметры достаточно вариабельны, что отражает ошибка средней. Такая же тенденция отмечалась и для эритроцитарных индексов: МСН и МСНС. При этом содержание гемоглобина (МСН) достаточно высокое, хотя его концентрация (МСНС) незначительна и соответствует значениям, известным для других систематических групп организмов.

Таблица 1

Гематологические характеристики гемолимфы и эритроцитарные индексы анадары (n – число особей)

Показатели	n	Контролируемые значения			V, %
		$\bar{x} \pm S_x$	x_{\min}	x_{\max}	
Гемоглобин, г·л ⁻¹	20	5,62±0,34	3,44	8,51	27,0
Эритроциты, млн·мкл ⁻¹	20	0,033±0,002	0,021	0,049	27,1
Гематокрит, %	20	2,53±0,18	0,85	4,00	31,8
МСН, пг	20	173,2±8,8	114,2	249,2	22,7
МСНС, %	20	25,3±3,3	13,0	43,5	58,0

Морфометрические показатели эритроцитов. Эритроидные элементы гемолимфы анадары имели почти округлую форму (рис. 1), что подтверждается невысокими значениями разницы продольного (C₁) и поперечного (C₂) размеров (таблица 2). В ацидофильной цитоплазме находились базофильные зернистые включения в количестве 41,95±0,67 единиц на клетку.

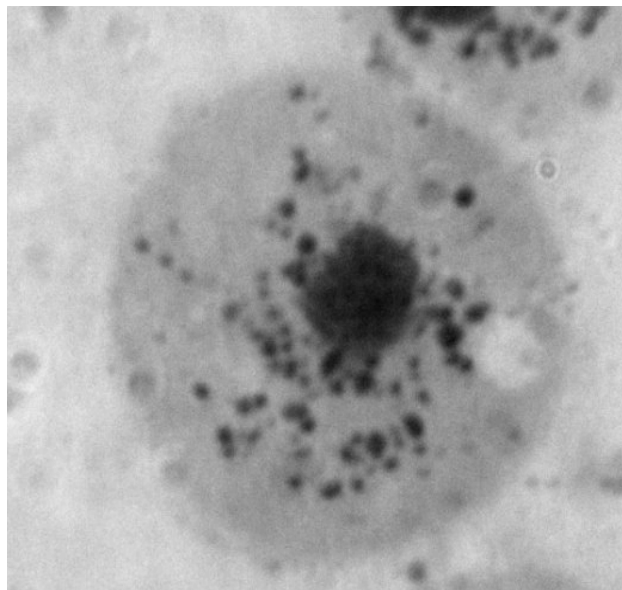


Рис. 1. Эритроидные элементы гемолимфы *Anadara inaequalvis* (масляная иммерсия, ×1500)

Цитометрические характеристики эритроидных элементов гемолимфы анадары

(n – число особей)

Показатели	n	Контролируемые значения			V, %
		$\bar{x} \pm S_x$	X_{\min}	X_{\max}	
C_1 , мкм	17	14,5±0,1	13,5	15,7	2,8
C_2 , мкм	17	12,8±0,1	11,8	13,7	6,4
C_1-C_2 , мкм	17	1,79±0,06	1,44	2,47	13,8
N_1 , мкм	17	4,25±0,03	3,99	4,56	2,9
N_2 , мкм	17	3,57±0,04	3,38	3,83	4,6
N_1-N_2 , мкм	17	0,68±0,04	0,47	1,00	24,2
V_c , мкм ³	17	359,39±9,28	299,19	432,79	10,65
S_c , мкм ³	17	558,69±14,04	468,83	668,90	10,36
S_c/V_c , мкм ⁻¹	17	1,558±0,002	1,540	1,570	10,65
V_n , мкм ³	17	29,93±0,73	25,35	35,74	10,04
S_n , мкм ³	17	45,99±0,74	41,34	51,93	6,67
S_n/V_n , мкм ⁻¹	17	1,643±0,015	1,530	1,710	3,73
V_n/V_c	17	0,083±0,001	0,070	0,092	6,388

Клетки достаточно крупные, исходя из числовых характеристик объема (V_c), площади поверхности (S_c) и удельной поверхности (S_c/V_c).

Эритроидные элементы гемолимфы моллюска содержали ядро эллипсоидной формы. Параметры большого (N_1) и малого (N_2) диаметров для данной структуры представлены в таблице 2. В гемолимфе анадары преобладали клетки с ядрами, объемные размеры которых находились в пределах 20–30 мкм³ (рис. 2). Значения площади поверхности и удельной поверхности были невысоки (таблица 2). Индекс ядерно-плазматического отношения составлял 0,083±0,001.

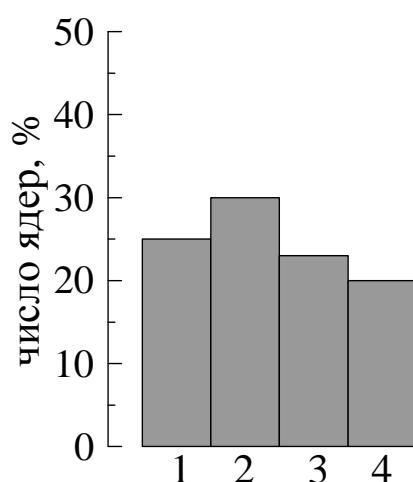


Рис. 2. Распределение эритроидных элементов гемолимфы анадары в соответствии с объемом ядра (объем выборки - 1700): 1 – до 20 мкм³, 2 – 20–30 мкм³, 3 – 31–40 мкм³, 4 – более 40 мкм³

Эритроидные элементы гемолимфы арки – это ядерные клетки слегка эллипсоидной формы, их цитоплазма ацидофильна, что свидетельствует о наличии гемоглобина. Достаточно

высокие значения содержания гемоглобина могут свидетельствовать о сниженном уровне обменных процессов и относительно небольших потребностях в кислороде, что соответствует возможностям данного вида существовать в гипоксических и даже аноксических условиях. Большая удельная поверхность двояковыпуклого диска эритроцита облегчает транспорт кислорода через его оболочку, которая имеет избыточную площадь, тем самым позволяя клетке легко менять свой объем, стремясь при этом занять собой всю имеющуюся свободную площадь.

Ядро, как уже отмечалось, небольшое, занимает 8% общего объема клетки. Содержимое ядра компактное с высоко концентрированным хроматином, цвет резко базофильный, что свидетельствует о низкой функциональной активности данной структуры. При этом невысокую функциональную значимость ядра в зрелых эритроидных элементах моллюска подтверждают небольшие значения ядерно-плазматического отношения.

Эритроциты анадары предназначены для транспортировки дыхательных пигментов (гемоглобина). Тем не менее подобно красным клеткам крови других беспозвоночных и низшим позвоночным, они содержат различные клеточные органеллы: митохондрии, аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум, мелкие цитоплазматические микроканалы, плотные цитоплазматические гранулы [8]. Наличие митохондрий свидетельствует о возможности эритроцитов при наличии кислорода к активному аэробному метаболизму. Это подтверждается биохимическими исследованиями в работе [16], которые показали, что потребление кислорода у скафарки в условиях нормоксии происходило на уровне митохондрий. Назначение базофильных гранулярных зернистых включений неясно. В работе [8] показано, что они устойчивы к двум воздействиям: тепловому и химическому. Также в данных исследованиях было предположено, что эти гранулы содержат структуры, имеющие гем-протеин, гематин и гемоглобин, и, возможно, они выступают в качестве места хранения железа для выработки и утилизации гемоглобина.

Эритроциты арок устойчивы к условиям полного отсутствия кислорода в отличие от красных клеток некоторых видов беспозвоночных (*Noetia ponderosa*, *Glycera dibranchiata*), которые лизируют уже после нескольких минут аноксии [17]. У клеток же анадары отмечается гидратация цитоплазмы, которая сопровождается частичным лизисом [18].

Выводы

Исследованием установлены некоторые особенности гематологических характеристик гемолимфы *Anadara in.*, морфологические и цитометрические параметры самих эритроидных клеток.

1. *The Benthic Exotic Species of the Black Sea: Blood Cockle (Anadara inaequalvis, Bruguiere, 1789: Bivalve) and Rapa Whelk (Rapana thomasi, Crosse, 1861: Mollusc) / C. Sahin, H. Emir, I. Okumus, A. M. Gozler [et al.] // J. Animal Veterinary Advances. – 2009. – Vol. 8, № 2. – P. 240–245.*
2. *Киселева М. И. Сравнительная характеристика донных сообществ у побережья Кавказа / М. И. Киселева // Многолетние изменения зообентоса Черного моря / Отв. ред. В. Е. Заика. – Киев : Наукова думка, 1992. – С. 84–99.*
3. *Золотарев В. Н. Двустворчатый моллюск Cunearca cornea – новый элемент фауны Черного моря / В. Н. Золотарев, П. Н. Золотарев // Доклады АН СССР. – 1987. – Т. 297, № 2. – С. 501–502.*
4. *Анистратенко В. В. Двустворчатый моллюск Anadara inaequalvis (Bivalvia, Arcidae) в северной части Азовского моря: завершение колонизации Азово-Черноморского бассейна / В. В. Анистратенко, И. А. Халиман // Вестник зоологии. – 2006. – Т. 40, № 6. – С. 505–511.*
5. *Rinaldi E. Osservazioni relative a molluschi appartenenti al genere Anadara viventi in Adriatico / E. Rinaldi // Conchiglie. – 1972. – Vol. 8, № 9. – P. 121–124.*
6. *Rinaldi E. Alcuni dati significativi sulla proliferazione di Scapharca inaequalvis (Bruguiere, 1789) in Adriatico lungo la costa Romagnola / E. Rinaldi // Bollettino Malacologico. – 1985. – Vol. 21, № 1–4. – P. 41–42.*
7. *Ghisotti F. Osservazioni sulla popolazione di Scapharca, insediatasi in questi ultimi anni su un tratto del litorale Romagnolo / F. Ghisotti, E. Rinaldi // Conchiglie. – 1976. – Vol. 12, № 9–10. – P. 183–195.*
8. *Blood cells of the arcid clam, Scapharca inaequalvis / [J. A. Holden, R. K. Pipe, A. Quaglia, G. Ciani] // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. – 1994. – Vol. 74, № 2. – P. 287–299.*

9. Солдатов А. А. Особенности организации тканевого метаболизма у двустворчатого моллюска-вселенца *Anadara inaequalvis* Bruguiere / А. А. Солдатов, Т. И. Андреевко, И. В. Головина // Доповіді НАН України. – 2008. – № 4. – С. 161–165.
10. Колочкина Г. А. Параметры экстрапаллиальной жидкости двустворчатых моллюсков – неспецифические биомаркеры кратковременного загрязнения водной среды / Г. А. Колочкина, А. Д. Исмаилов // Океанология. – 2007. – Т. 47, № 2. – С. 233–240.
11. Золотницкая Р. П. Методы гематологических исследований / Р. П. Золотницкая // Лабораторные методы исследования в клинике (справочник). – Москва : Медицина, 1987. – С. 106–148.
12. Парфенова И. А. Эритрограмма циркулирующей крови скорпены в условиях экспериментальной гипоксии / И. А. Парфенова, А. А. Солдатов // Морск. экол. журн. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 59–67.
13. Houchin D. N. A method for the measurement of red cell dimensions and calculation of mean corpuscular volume and surface area / D. N. Houchin, J. I. Munn, B. L. Parnell // Blood. – 1958. – Vol. 13. – P. 1185–1191.
14. Чижевский А. Л. Структурный анализ движущейся крови / А. Л. Чижевский. – М. : Изд-во АН СССР, 1959. – 474 с.
15. Ташкэ К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию / К. Ташкэ. – Бухарест: Изд-во Академии Респ. Румынии, 1980. – 291 с.
16. Zwaan A. M. Sulfide and cyanide induced mortality and anaerobic metabolism in the arcid blood clam *Scapharca inaequalvis* / A. Zwaan, O. Cattani, V. Putzer // Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology. – 1993. – Vol. 105, № 1. – P. 49–54.
17. Mangum C. P. Metabolism of invertebrate red cells: A vacuum in our knowledge In Circulation, respiration and metabolism / C. P. Mangum, N. A. Mauro: ed. by R. Gilles. – Berlin, Heidelberg : Springer-Verlag, 1985. – P. 280–288.
18. Новицкая В. Н. Эритроидные элементы гемолимфы *Anadara inaequalvis* (Bruguiere, 1789) в условиях экспериментальной аноксии: функциональные и морфометрические характеристики / В. Н. Новицкая, А. А. Солдатов // Морской экол. журн. – 2011. – Т. 10, № 1. – С. 56–64.

В. Н. Новицкая

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

МОРФО–ФУНКЦІОНАЛЬНІ І ЦИТОМЕТРИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕРИТРОЇДНИХ ЕЛЕМЕНТІВ ГЕМОЛІМФИ *ANADARA INAEQUALVIS*

Еритроїдні елементи гемолімфи *Anadara inaequalvis* (Bruguiere, 1789) мають округлу форму та досить велику питому поверхню, цитоплазма ацидофільна. Клітини мають базофільну зернистість. Еритроцити з невеличким еліпсоїдним ядром, яке має невисоку функціональну значимість у зрілих клітинах.

Ключові слова: еритроцити, гемолімфа, гематологічні показники, Anadara inaequalvis (Bruguiere, 1789)

V. N. Novitskaya

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

MORPHO-FUNCTIONAL AND CYTOMETRIC CHARACTERISTICS OF *ANADARA INAEQUALVIS* HEMOLYMPH ERYTHROID ELEMENTS

Morphometric and functional parameters of hemolymph erythroid elements of *Anadara inaequalvis* (Bruguiere, 1789) were described. It was revealed that erythrocytes are almost round shape, have quite a large surface area, cytoplasm is acidophilic. Cells possess basophilic granules. Red blood cells have a slight ellipsoid nuclei, which have a low functional significance in mature cells.

Key words: erythrocyte, hemolymph, haematological parameters, bivalve, Anadara inaequalvis (Bruguiere, 1789)