

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРЕСНОВОДНЫХ ДРЕЙССЕНИД: *DREISSENA POLYMORPHA* (PALLAS, 1771), *D. ROSTRIFORMIS BUGENSIS* ANDRUSOV, 1897 (DREISSENIDAE, BIVALVIA)

© 2015 Ворошилова И.С.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742 Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок; issergeeva@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.09.2013

Дрейссениды отличаются высоким разнообразием форм раковины. Таксономические ключи, основанные на морфологических признаках, не всегда позволяют надёжно различать виды моллюсков. В таких случаях в дополнение к морфологическим признакам полезно применять генетические маркеры. В работе проанализированы моллюски, как с типичными, так и с нетипичными вариантами формы раковины. В ходе исследования показано, что положение вентролатерального угла (килевого перегиба) в передней части створки (3–5 мм от переднего края раковины) может быть надёжным диагностическим признаком для идентификации нетипичных особей *D. polymorpha* и *D. r. bugensis*.

Ключевые слова: *Dreissena polymorpha*, *D. rostriformis*, *D. r. bugensis*, ПЦР ПДРФ, идентификация, COI, 16S, инвазионные виды.

Введение

На протяжении многих лет дрейссениды привлекают внимание исследователей благодаря быстрому расширению границ ареала, а также важной роли, которую они играют в функционировании водных экосистем. В пресных водах Европы и Северной Америки широко распространены бугская и полиморфная дрейссены [Старобогатов, Андреева, 1994; Харченко, 1995; Venson, 2013; Heiler et al., 2013]. Расселение *D. polymorpha* вверх по Волге происходило ещё в доисторическое время [Рулье, 1848; Новский, 1960]. В дальнейшем, во второй половине XX в., большое значение имела масштабная реконструкция воднотранспортных путей. Соружение межбассейновых каналов способствовало инвазии бугской дрейссены из бассейна Чёрного моря [Журавель, 1967; Антонов, 1993; Orlova et al., 2004; Molloy et al., 2007; Heiler et al., 2013].

Пресноводные виды *D. r. bugensis* и *D. polymorpha* принадлежат к разным под родам и характеризуются значительными генетическими дистанциями по аллозимным локусам [Spidle et al., 1994]. Нуклеотидные последовательности фрагмента гена COI различаются у бугской и полиморфной дрейссены на 16–17% [Baldwin et al., 1996].

Типичных представителей этих двух видов можно идентифицировать по форме раковины. Для полиморфной дрейссены характерна уплощённая или вогнутая брюшная поверхность, которая отделена резким килем, проходящим почти параллельно брюшному краю створки. Бугская дрейссена отличается более выпуклой брюшной поверхностью и сглаженным килем, расположенным почти на равных расстояниях от спинного и брюшного краёв створки [Андрусов, 1897; Старобогатов и др., 2004]. Однако в совместных поселениях нередко

встречаются особи, не обладающие чёткими диагностическими признаками того или иного вида [Андреева и др., 2001; Grigorovich et al., 2008; Ворошилова и др., 2010; Beggel et al., 2015]. В таких случаях для идентификации видовой принадлежности используют аллозимные локусы, маркеры митохондриальной и ядерной ДНК [May, Marsden, 1992; Claxton, Boulding, 1998; Frischer et al., 2002; Molloy et al., 2007; Grigorovich et al., 2008; Hoy et al., 2010].

Опубликованы результаты экспериментальной работы, суть которой заключалась в определении разными исследователями одних и тех же моллюсков по морфологическим признакам с последующей проверкой результатов с помощью ПЦР ПДРФ-анализа фрагмента митохондриального гена COI. Установлено, что частота ошибочных определений по диагностическим ключам составляет от 6 до 25%. Более точно определены моллюски с помощью дискриминантного анализа, но даже в этом случае неправильно идентифицированы 10% особей [Beggel et al., 2015].

Исследователи обычно учитывают диагностические признаки формы раковины, определяемые для целой створки. Следует отметить, что дрейссениды образуют скопления, в которых особи неизбежно испытывают давление со стороны соседних моллюсков, входящих в состав друзы. Поскольку на ранних стадиях роста такое давление меньше, соответственно, признаки менее искажены. Таким образом, определение по стандартным диагностическим ключам в ювенильной части раковины (3–5 мм от переднего края створки у взрослых особей), вероятно, позволит избежать ошибочной идентификации видовой принадлежности пресноводных дрейссен. Целью нашей работы стала практическая проверка этого предположения.

Проблемы при определении видовой принадлежности могут быть связаны

ещё и с тем, что в популяциях бугской дрейссены обнаружены особи, которые по очертаниям сходны с подвидами *D. rostriformis*, обитающими в Каспийском море [Лизогубов, 2010]. Таким образом, необходимо проверить, происходит ли расселение солоноватоводных представителей этого вида из Каспийского моря.

В отношении систематического положения бугской дрейссены существуют разные точки зрения. Н.И. Андрусов [1897] первоначально определил особей этого вида, как *D. rostriformis*, но в дальнейшем выделил в самостоятельный вид. Ф.Д. Мордухай-Болтовской [1960], Л.А. Невеская [1963] и Е.В. Бабак [1983] считали *D. r. bugensis* пресноводным подвидом *D. rostriformis*. В ходе дальнейших ревизий *D. bugensis* и *D. rostriformis* был присвоен статус отдельных видов [Старобогатов, 1994; Rosenberg, Ludyanskiy, 1994].

Анализ фрагментов генов COI и 16S рРНК и *cyt b* митохондриальной ДНК *D. rostriformis* и *D. r. bugensis* показал, что различия между нуклеотидными последовательностями не превышают 0.4% [Stepien et al., 1999, 2003; Therriault et al., 2004]. Т. В. Терио с соавторами [Therriault et al., 2004] считали *D. r. bugensis* пресноводной расой *D. rostriformis*, поскольку морфологические различия между пресноводной и солоноватоводной формами невелики. Другие исследователи полагали, что бугская дрейссена – это подвид или же эволюционно молодой вид [Stepien et al., 2003]. В одной из последних публикаций на эту тему, на основании результатов филогенетического анализа митохондриальных и ядерных генов, авторы рекомендуют указывать бугскую дрейссену как *D. rostriformis* [Stepien et al., 2013]. Следует отметить, что для бугской и каспийской дрейссен всё же характерны свои варианты нуклеотидной последовательности митохондриальных генов 16S, COI и *cyt b* [Stepien et al., 2003; Therriault et al., 2004]. Различить пресноводную и

солонатоводную формы можно с помощью эндонуклеаз рестрикции фрагмента гена 16S рРНК или же путём секвенирования [Therriault et al., 2004].

Материалы и методы

Проанализированы моллюски из совместных поселений *D. polymorpha* и *D. r. bugensis* дельты Волги, Днепровского лимана, а также Днепровского, Веселовского, Рыбинского водохранилищ. Для генетического анализа по форме створок раковины выбраны особи, соответствовавшие типичным *D. polymorpha* и *D. r. bugensis* (по 15 особей каждого из видов), а также моллюски, с нетипичными морфотипами (32 особи *D. r. bugensis* и 33 – *D. polymorpha*). Следует отметить, что в группу «нетипичные» для анализа специально выбраны особи с такими вариантами формы раковины, которые наиболее сложны для идентификации видовой принадлежности. Видовая принадлежность всех нетипичных особей определена по положению килевого перегиба в передней части раковины.

Собранный материал фиксировали 96%-м этанолом. ДНК выделяли набором реагентов *DIAtom™DNA Prep200* согласно инструкции фирмы-изготовителя (изготовитель ООО «ИзоГен», Москва).

Синтез фрагментов генов первой субъединицы цитохром *c* оксидазы (COI) и 16S рРНК митохондриальной ДНК (мтДНК) проводили на амплификаторе AMPLY4 (Biokom) в 25 мкл буфера для амплификации фирмы «Fermentas» (Литва): 10 мМ трис-НСl (рН 8.8); 50 ммоль КCl, 2.0 ммоль MgCl₂; 0.08% Nonidet P40 (состав буфера приведён по данным фирмы-изготовителя). Смесь для амплификации содержала 100–300 нг тотальной клеточной ДНК, по 10 пмоль каждого праймера, по 200 нмоль каждого из четырёх дезоксирибонуклеотидов и 0.5–1 ед. Taq-полимеразы («Бионем», Москва).

Программа амплификации: +95 °С – 4 мин; 35 циклов синтеза ДНК: +95 °С – 50 с, +56 °С – 50 с, +72 °С – 1 мин. Этап конечной элонгации: +72 °С, 10 мин.

Амплификацию проводили два фрагмента митохондриальных генов. Для синтеза первой субъединицы цитохром *c* оксидазы (COI) использовали пару праймеров:

5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3',
5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'
[Folmer et al., 1994].

Для амплификации фрагмента гена 16S рРНК применяли праймеры:
5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3',
5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACG-3'
[Schubart et al., 2001].

Видовую принадлежность особей проверяли методом анализа полиморфизма длины рестриктных фрагментов (ПДРФ). Нуклеотидную последовательность COI анализировали с использованием рестриктаз *DraI* и *RsaI*, фрагмент гена 16S рРНК – рестриктазой *MspI*. Эффективность использования указанных выше эндонуклеаз рестрикции для диагностики видовой принадлежности исследуемых видов дрейссенид подтверждена в предыдущих исследованиях [Therriault et al., 2004; Ворошилова и др., 2010].

Рестрикцию полученных фрагментов проводили в буферах, рекомендованных производителем рестриктаз («Promega», США). Продукты рестрикции анализировали в 1.7%-м агарозном геле с использованием *трис-ЭДТА*-боратного буфера.

В качестве эталонных образцов длин фрагментов ДНК использовали двунитевые маркеры фирмы «Fermentas» с шагом в 50 и 100 пар нуклеотидов (*Gene Ruler™ DNA Ladder*). Гели окрашивали бромистым этидием (0.5 мкг/мл) и фотографировали в ультрафиолете (312 нм) цифровым фотоаппаратом «Canon» (Power Shot A400).

Сравнение нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16S рРНК *D. r. bugensis* и *D. rostriformis*, депонированных в NCBI, проводили

с помощью программы BLAST [BLAST..., 2013]. Номера: JX099457, AF507047, AF507048, AF038996, AY302247, DQ333745, DQ333746 [National Center..., 2015].

Положение килевого перегиба в ювенильной части створки определяли у моллюсков из поселений периферии ареала *D. polymorpha*, где на момент исследования отсутствовала *D. r. bugensis*. Анализировали выборки из реки Северная Двина (600 створок), Кубенского озера (262 створки), Белоусовского (304 створки) и Шекснинского водохранилищ (227 створок).

Результаты исследования

Во всех исследуемых нами популяциях встречались моллюски как с типичными признаками, соответствующие одному из двух видов (*D. polymorpha* или *D. r. bugensis*), так и с нетипичными вариантами формы раковины.

Установлено, что в моновидовых поселениях *D. polymorpha* форма брюшной поверхности раковины варьирует. Килевой перегиб (вентро-латеральный угол) в задней части раковины может приближаться к срединному положению между спинным и боковым краями створки. Кроме того, в редких случаях встречаются моллюски со сглаженным килевым перегибом, который проходит ближе к брюшной поверхности створки. В периферических популяциях нетипичные особи наиболее часто находят в экстремальных для вида условиях обитания на илистом грунте. Следует отметить, что для таких моллюсков характерен общий признак – килевой перегиб в передней части раковины (первые 3–5 мм от переднего края створки) расположен ближе к брюшной поверхности створки (рис. 2). Такое положение вентро-латерального угла обнаружено у всех 1393 створок *D. polymorpha* из поселений периферии ареала вида, проанализированных в этой работе. Типичные и нетипичные

варианты формы раковины дрейссенид показаны на рис. 1.

Результаты генетического анализа подтвердили правильное определение видовой принадлежности типичных и большинства нетипичных моллюсков. По выделенному нами признаку только одна из шестидесяти пяти нетипичных особей ошибочно идентифицирована как *D. polymorpha*. Килевой перегиб в передней части створки этого моллюска расположен немного ниже середины между брюшной и спинной частями раковины. Согласно результатам ПЦР ПДРФ анализа COI эта особь определена как *D. r. bugensis*.

Длины фрагментов, полученные путём рестриктового анализа участка гена 16S рРНК всех типичных и нетипичных особей *D. r. bugensis* соответствовали размерам, указанным для этого подвида в работе Т.В. Терио с соавторами [Therriault et al., 2004]. По результатам анализа ПЦР ПДРФ, в пресноводных поселениях бугской дрейссены не обнаружено гаплотипов митохондриальной ДНК фрагмента гена 16S рРНК, характерных для *D. rostriformis*, обитающей в Каспийском море. Депонированные в международной базе данных NCBI нуклеотидные последовательности 16S рРНК, длина которых составляет не менее 450 пар нуклеотидов и включает участок последовательности с наличием (или отсутствием у *D. rostriformis*) сайта рестрикции *MspI*, различаются у представителей двух подвидов не более 1%.

Обсуждение

Вследствие небольших различий по митохондриальному гену 16S рРНК *D. r. bugensis* и *D. rostriformis* образуют единый кластер филогенетического дерева [Stepien et al., 2013]. Тем не менее, варианты нуклеотидной последовательности этого гена, известные для солоноватоводного подвида *D. rostriformis* не найдены за пределами Каспия. Учитывая происхождение и экологические



Рис. 1. Варианты форм раковин: а – *D. polymorpha*, б – *D. r. Bugensis*.



Рис. 2. Положение вентро-латерального угла в передней части раковины:
а – *D. polymorpha*, б – *D. r. Bugensis*.

особенности бугской дрейссены [Orlova, 2013], её можно считать отдельным подвидом *D. r. bugensis* и необходимо отличать от *D. rostriformis*.

В настоящее время для обозначения одного и того же пресноводного вида исследователи могут использовать различные названия (*D. r. bugensis*, *D. rostriformis* или *D. bugensis*). Если следовать рекомендации К.А. Степиен с соавторами [Stepien et al., 2013] и указывать бугскую дрейссену как *D. rostriformis*, то в конечном итоге

это может привести к ложным представлениям относительно источника инвазии.

Дрейссениды характеризуются широким диапазоном варьирования формы раковины [Карпевич, 1955; Антонов, 1997; Павлова, 2006, 2007; Сергеева, 2008]. Наличие разнообразных вариантов раковины стало причиной описания видов, часть из которых впоследствии оказалась формами внутривидовой изменчивости [Андрусов, 1897, Невеская, 1963,

Бабак, 1983]. Варьирование морфологических признаков раковины этой группы моллюсков в различных участках ареала неоднократно отмечали при изучении путей расселения и описании эколого-физиологических особенностей видов [Андрусов, 1897; Овчинников, 1933; Карпевич, 1955; Кучина, 1964; Антонов, 1983; Протасов, 2000; Павлова, 2006, 2007; Grigorovich et al., 2008; и др.].

На форму раковины дрейссенид оказывают влияние гидродинамические условия [Антонов, 1983, Протасов, 2000; Сергеева, 2008], глубина [Dermott, Munawar, 1993; Pavlova, 2012] и присутствие близкородственного вида [Павлова, 2007]. В условиях с разным режимом солёности для полиморфной дрейссены А.Ф. Карпевич [1955] выделены вариации, различающиеся по форме: *Dreissena polymorpha* var. *tschapurica* Karpevitch, *D. polymorpha* var. *marina* Pallas и подвид *D. polymorpha andrusovi* (Andr., 1897). Для бугской дрейссены описаны глубоководный и пресноводный фенотипы [Dermott, Munawar, 1993; Pavlova, 2012].

В ходе работы с коллекцией моллюсков в Зоологическом институте (ЗИН РАН) автор статьи была поражена сходством форм раковин некоторых особей *D. polymorpha* из поселений периферии ареала с вымершими видами каспийских дрейссенид. Очевидно, что некоторое подобие форм раковин может быть связано с наличием сходных рядов изменчивости близкородственных видов, обитавших в разное время в географически удалённых водных объектах. Большое количество особей с нетипичными морфологическими признаками в периферических поселениях, возможно, связано с нарушениями роста раковины под влиянием гормональных изменений, происходящих в результате стресса в экстремальных условиях обитания.

В некоторых случаях причиной присутствия нетипичных особей может быть межвидовая гибридизация. В

результате исследования нетипичных особей с использованием аллозимных маркеров ранее подтверждено существование только одной гибридной особи в Рыбинском водохранилище [Ворошилова и др., 2010]. Следует отметить, что без учёта данных генетического анализа, только по расположению килевого перегиба в передней части створки, эта гибридная особь соответствует признакам *D. r. bugensis*. Как мы отмечали ранее [Ворошилова и др., 2010], идентификация межвидовых гибридов дрейссенид морфологическим методом невозможна. Поскольку число признаков, позволяющих различать представителей этих двух видов невелико, гибридные особи могут характеризоваться не только промежуточными значениями, но и соответствовать одной из родительских особей.

Не исключено, что среди исследуемых нами моллюсков присутствовали межвидовые гибриды, однако методы анализа, применяемые в этой работе, не позволяют их идентифицировать. Предполагаем, что межвидовая гибридизация *D. polymorpha* и *D. bugensis* происходит редко, поскольку предыдущим исследователям, использовавшим метод анализа аллозимов, не удалось обнаружить межвидовых гибридов в совместных поселениях дрейссенид из Великих озёр Северной Америки [Spidle et al., 1995]. Следует отметить, что в последующих работах для идентификации дрейссенид не применяли аллозимный анализ, поэтому гибридных особей не находили, даже если они присутствовали в выборках.

Таким образом, изменение положения килевого перегиба по мере роста моллюска может стать причиной неправильной идентификации видовой принадлежности дрейссенид. Вероятно, влияние факторов среды наиболее явно сказывается на форме раковин взрослых особей в силу того, что они длительное время обитают в этих условиях

и испытывают более интенсивное воздействие. В передней (ювенильной) части раковины характерные для вида признаки в меньшей степени изменены. Поэтому они позволяют более надёжно определять видовую принадлежность моллюсков. В ходе нашей работы доля ошибочных определений по диагностическим признакам в ювенильной части створки составила 1%, что гораздо ниже, чем при идентификации моллюсков обычным способом. Для более точной диагностики видовой принадлежности нетипичных особей дрейссенид необходимо применять генетические методы.

Благодарности

Автор работы искренне признательна А.Ф. Коновалову, О.В. Болотову, Н.М. Махнович, Ю.В. Слынько и Д.П. Карабанову за помощь в сборе материала, В.С. Артамоновой, А.А. Махрову за ценные советы и замечания при выполнении работы.

Исследование проведено при финансовой поддержке РФФИ (гранты: 11-04-00697-а, 14-04-00213 – А, 14-04-31112 – мол_а) и МК-2455.2013.4.

Литература

Андреева А. М., Орлова М.И., Слынько Ю.В. Популяционно-генетический анализ *Dreissena polymorpha* (Pallas) и *Dreissena bugensis* (Andr.) в водохранилищах Верхней Волги, дельте Волги и в западной части Финского залива Балтийского моря // Чужеродные виды в Голарктике: Тез. докл. Американо-российского симпозиума по инвазионным видам. Борок. 2001. С. 9–11.

Андрусов Н.И. Ископаемые и живущие *Dreissensia* Евразии. СПб.: Типография М. Меркушева, 1897. 683 с.

Антонов П.И. Изменчивость морфологических признаков *Dreissena polymorpha* (Pallas) в различных участках её ареала // Моллюски:

Систематика, экология и закономерности распространения. Л.: Наука, 1983. С. 64–67.

Антонов П.И. О проникновении двустворчатого моллюска *Dreissena bugensis* (Andr.) в Волжские водохранилища // Экологические проблемы бассейнов крупных рек: Тез. докл. Междунар. конф. Тольятти: ИЭВБ РАН, 1993. С. 52–53.

Антонов П.И. Эколого-физиологическая и эколого-морфологическая характеристика двустворчатого моллюска *Dreissena polymorpha* (Pallas) Волжских водоёмов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Н. Новгород: Нижегород. гос. ун-т, 1997. 23 с.

Бабак Е.В. Плиоценовые и четвертичные дрейссениды Эвксинского бассейна. М.: Наука, 1983. 104 с.

Ворошилова И.С., Артамонова В.С., Махров А.А., Слынько Ю.В. Гибридизация двух видов дрейссен *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) и *Dreissena bugensis* (Andrusov, 1897) в естественных условиях // Известия РАН. Сер. биол. 2010. № 5. С. 631–636.

Журавель П.А. О расселении дрейссены бугской в искусственных водоёмах // Гидробиол. журн. 1967. № 2. С. 87–90.

Карпевич А.Ф. Некоторые данные о формообразовании у двустворчатых моллюсков // Зоол. журн. 1955. Т. 34. № 1. С. 46–67.

Кучина Е.С. К вопросу о распространении моллюска *Dreissena polymorpha* Pallas в р. Северной Двине // В кн.: Биология дрейссены и борьба с ней. М.; Л.: Наука, 1964. С. 31–37.

Лизогубов Р.А. Морфологическая характеристика дрейссенид Волгоградского водохранилища // В сб.: Экология водных беспозвоночных. Матер. Междунар. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения Ф.Д. Мордухай-Болтовского. Борок, ИБВВ РАН, 30 окт. – 2 нояб. 2010 г. Ярославль, 2010. С. 180–182.

- Мордухай-Болтовской Ф.Д. Каспийская фауна в Азово-Черноморском бассейне. М.; Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1960. 286 с.
- Невеская Л.А. Определитель двустворчатых моллюсков морских четвертичных отложений черноморского бассейна. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 155 с.
- Новский В.А. Находка *Dreissena polymorpha* в четвертичных слоях Рыбинского района Ярославской области // Бюл. Ин-та биологии водохранилищ АН СССР. 1960. № 8–9. С. 28–29.
- Овчинников И.Ф. Современное распространение *Dreissena polymorpha* Pallas (Mollusca) в БССР // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 1933. Т. 1. № 3–4. С. 365–375.
- Павлова В.В. Присутствие близкородственного вида может влиять на морфологию раковин дрейссен // В сб.: Еколого-функціональні та фауністичні аспекти дослідження моллюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища. Матер. Міжнарод. конф. Житомир, 2006. Вып. 2. С. 208–211.
- Павлова В.В. Морфологическая изменчивость дрейссен (*Dreissenidae*, *Bivalvia*) Рыбинского водохранилища при совместном и раздельном обитании // *Ruthenica*. 2007. Т. 17. № 1–2. С. 73–77.
- Протасов А.А. Изменчивость признаков рисунка, скульптуры и формы раковин *Dreissena polymorpha* в Европейской и Североамериканской частях современного ареала // *Vestnik zoologii*. 2000. № 34. Вып. 6. С. 57–64.
- Рулье К.Ф. Исследования по Московской котловине // Моск. Ведомости. 1848. № 117. С. 2.
- Сергеева И.С. Фенотипическое разнообразие *Dreissena polymorpha* Pallas в северо-восточной части ареала // *Биология внутренних вод*. 2008. № 3. С. 53–60.
- Старобогатов Я.И. Систематика и палеонтология // В кн.: Дрейссена: Систематика, экология, практическое значение. М.: Наука, 1994. С. 18–47.
- Старобогатов Я.И., Андреева С.И. Ареал и его история // В кн.: Дрейссена: Систематика, экология, практическое значение. М.: Наука, 1994. С. 47–56.
- Старобогатов Я.И., Прозорова Л.А., Богатов В.В., Саенко Е.М. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Моллюски, полихеты, немертины / Под ред. В.В. Богатова, С.Я. Цалолихина. СПб.: Наука, 2004. Т. 6. С. 9–491.
- Харченко Т.А. Дрейссена: ареал, экология, биопомехи // *Гидробиол. журн.* 1995. Т. 31. № 3. С. 3–21.
- Baldwin B.S., Black M., Sanjurjo O., Gustafsson R., Lutz R.A., Vrijenhoek R.C. A diagnostic molecular marker for zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and potentially co-occurring bivalves: Mitochondrial COI // *Mol. Mar. Biol. Biotech.* 1996. V. 5. P. 9–14.
- Beggel S., Cerwenka A.F., Brandner J., Geist J. Shell morphological versus genetic identification of quagga mussel (*Dreissena bugensis*) and zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) // *Aquatic Invasions*. 2015. V. 10. I. 1. P. 93–99.
- Benson A.J. Chronological history of zebra and quagga mussels (*Dreissenidae*) in North America, 1988–2010 // In: *Quagga and Zebra Mussels: Biology, Impacts, and Control*. 2nd Edn., T.F. Nalepa and D.W. Schloesser. Boca Raton, FL: CRC Press, 2013. P. 9–31.
- BLAST (Электронный ресурс) // (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Проверено 15.08.2013.
- Claxton W.T., Boulding E.G. A new molecular technique for identifying field collections of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and quagga mussel (*Dreissena bugensis*) veliger larvae applied to eastern Lake Erie, Lake Ontario, and

- Lake Simcoe // Canadian Journal of Zoology. 1998. V. 76. P. 194–198.
- Dermott R., Munawar M. Invasion of Lake Erie offshore sediments by *Dreissena*, and its ecological implications // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1993. V. 50. P. 2298–2304.
- Frischer M.E., Hansen A.S., Wyllie J.A., Wimbush J., Murray J., Nierzwicki-Bauer S.A. Specific amplification of the 18S rRNA gene as a method to detect zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) larvae in plankton samples // Hydrobiologia. 2002. V. 487. P. 33–44.
- Folmer O.M., Black W., Hoeh R. et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates // Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 1994. V. 3. P. 294–299.
- Grigorovich I.A., Kelly J.R., Darling J.A., West C.W. The Quagga mussel invades the Lake Superior basin // J. Great Lakes Res. 2008. V. 34. P. 342–350.
- Heiler K.C.M., Bij de Vaate A., Ekschmitt Klemens, von Oheimb P.V., Albrecht C., Wilke T. Reconstruction of the early invasion history of the quagga mussel (*Dreissena rostriformis bugensis*) in Western Europe // Aquatic Invasions. 2013. V. 8. № 1. P. 53–57.
- Hoy M.S., Kelly K., Rodriguez R.J. Development of a molecular diagnostic system to discriminate *Dreissena polymorpha* (zebra mussel) and *Dreissena bugensis* (quagga mussel) // Mol. Ecol. Resources. 2010. V. 10. P. 190–192.
- May B., Marsden J.E. Genetic identification and implications of another invasive species of dreissenid mussel in the Great Lakes // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1992. V. 49. P. 1501–1506.
- Molloy D.P., Bij de Vaate A., Wilke T., Giamberini L. Discovery of *Dreissena rostriformis bugensis* (Andrusov 1897) in Western Europe // Biol. Invasions. 2007. V. 9. P. 871–874.
- National Center for Biotechnology Information (Электронный ресурс) // (<http://ncbi.nlm.nih.gov>). Проверено 10.03.2015.
- Orlova M.I. Origin and Spread of Quagga Mussels (*Dreissena rostriformis bugensis*) in Eastern Europe with Notes on Size Structure of Populations Ch. 8 // In: Quagga and zebra mussels: biology, impacts, and control / 2Ed.: T.F. Nalepa, D.W. Schloesser. London; New York: CRC Press, 2013. P. 93–102.
- Orlova M.I., Muirhead J., Antonov P.I. et al. Range expansion of quagga mussels *Dreissena rostriformis bugensis* in the Volga River and Caspian Sea basin // Aquat Ecol. 2004. V. 38. P. 561–573.
- Pavlova V. First finding of deepwater *profunda* morph of quagga mussel *Dreissena bugensis* in the European part of its range // Biological Invasions. 2012. V. 14. № 3. P. 509–514
- Rosenberg G., Ludyanskiy M.L. A nomenclatural review of *Dreissena* (Bivalvia: Dreissenidae), with identification of the quagga mussel as *Dreissena bugensis* // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1994. V. 51. P. 1474–1484.
- Schubart C.D., Cuesta J.A., Rodriguez A. Molecular phylogeny of the crab genus *Brachynotus* (Brachyura: Varunidae) based on the 16S rRNA gene // Hydrobiologia. 2001. V. 449. P. 41–46.
- Spidle A.P., Marsden J.E., May B. Identification of the Great Lakes quagga mussel as *Dreissena bugensis* from the Dnieper River, Ukraine, on the basis of allozyme variation // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1994. V. 51. P. 1485–1489.
- Spidle A.P., Marsden J.E., May B. Absence of naturally occurring hybridization between the quagga mussel (*Dreissena bugensis*) and the zebra mussel (*D. polymorpha*) in the lower Great Lakes // Can. J. Zool. 1995. V. 73. P. 400–403.
- Stepien C.A., Hubers A.N., Skidmore J.L. Diagnostic genetic markers and evolutionary relationships among invasive dreissenoid and corbiculoid bivalves in North America: phylogenetic signal from

- mitochondrial 16S rDNA // Molecular Phylogenetics and Evolution. 1999. V. 13. P. 31–49.
- Stepien C.A., Taylor C.D., Grigorovich I.A., Shirman S.V., Wei R., Korniushev A.V., Dabrowska K.A. DNA and systematic analysis of invasive and native dreissenid mussels: Is *Dreissena bugensis* really *D. rostriformis*? // Aquatic Invaders. 2003. V. 14. № 2. P. 8–18.
- Stepien C.A., Grigorovich I.A., Gray M.A., Sullivan T.J., Yerga-Woolwine S., Kalayci G. Evolutionary, Biogeographic, and Population Genetic Relationships of Dreissenid Mussels, with Revision of Component Taxa. Ch.26. // In: Quagga and zebra mussels: biology, impacts, and control / 2Ed.: T.F. Nalepa, D.W. Schloesser. London; New York: CRC Press, 2013. P. 403–444.
- Therriault T.W., Docker M.F., Orlova M.I., Heath D.D., MacIsaac H.J. Molecular resolution of the family Dreissenidae (Mollusca: Bivalvia) with emphasis on Ponto-Caspian species, including first report of *Mytilopsis leucophaeata* in the Black Sea basin // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2004. V. 30. P. 479–489.

**MORPHOLOGICAL AND GENETIC IDENTIFICATION
OF FRESHWATER DREISSENIID MUSSELS:
DREISSENA POLYMORPHA (PALLAS, 1771),
D. ROSTRIFORMIS BUGENSIS ANDRUSOV, 1897
(BIVALVIA)**

© 2015 Voroshilova I.S.

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Ac.Sc.,
Russia, 152742, Yaroslavl province, Borok, e-mail: issergeeva@yandex.ru

Dreissenids display a high diversity of shell morphology. Taxonomic keys based on shell morphology are not always able to differentiate these species with confidence. In such cases genetic markers are useful in addition to morphological features. Typical and atypical dreissenid individuals were analyzed in this study. We revealed that morphological feature, namely position of ventro-lateral shoulder at the fore part of valve (3–5 mm from the fore part), is a reliable diagnostic feature for atypical *D. polymorpha* and *D.r. bugensis*.

Key words: *Dreissena polymorpha*, *D. rostriformis*, *D.r. bugensis*, RFLP, COI, 16S, identification, invasive species.