



Available Online: <http://jmst.kmsu.ac.ir>

Original Article



Investigation The Process of Gametogenesis and A Case Report of Hermaphroditism of *Unio Tigridis* (Bivalve: Unionidae) In Karun River

Sahar Ahmadvand, Solmaz Shirali *, Nasrin Sakhaie, Babak DoustShenas

Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

* Corresponding Author Email: solmazshirali_awz@yahoo.com

Received: 5 August 2023

Revise Date: 20 August 2023

Accepted: 7 October 2023

ABSTRACT

The Unionidae family is the most abundant family among freshwater bivalves which belongs to the Unionida order. Considering the nutritional, economic, and environmental importance of bivalve molluscs, as well as the lack of information related to freshwater mussels of the Unionida order, especially the species belonging to the Unionidae family, as well as their global risk and considering the importance of the ovary and the testis as an important organ of reproduction and survival and since histological studies are the most accurate method in determining the stages of the gonadal cycle, this research was conducted to investigate the histology of oogenesis and spermatogenesis in *Unio tigridis* of the Karun River. Sampling was done seasonally. For this purpose, the studied species after catching in every season were transferred to the histology laboratory, then they were biometrically identified using valid identification books and keys. After dissection, small pieces of gonads were separated and after tissue passage, they were examined histologically and histometrically. The results of the histological studies of the gonads showed that this species is often heterosexual. The results of the histological studies of gonads showed that out of 41 oysters in this study, there was only one hermaphrodite, and testicular and ovarian tissue were simultaneously observed in the gonad tissue. The ovary was asynchronous type because, at any time, all types of follicles in different stages of development (oogonia, previtellogenic oocytes, vitellogenic oocytes) were visible in the ovaries. The highest rate of development and maturation of both male and female gonads was observed in spring. It seems that the main breeding time of *Unio tigridis* species in the Karun River in the study area is in spring.

Keywords: Unionidae, *Unio tigridis*, Oogenesis, Spermatogenesis, Hermaphroditism

1. INTRODUCTION

Bivalves with 30000 species are the most diverse class of molluscs after the gastropoda. Most bivalves live in salt water and only one-fifth of them live in fresh water (Branes, et al, 2011). The Unionidae family is a group of freshwater bivalves that are the main component of the food chain and play an important role in freshwater ecosystems (Howard and Cuffey, 2006; Vaughn, 2018). Despite the diversity and economic and environmental value of freshwater mussels, there is little information about their biology, especially the species outside of Europe and North America (Cao et al., 2018). With attention to the economic and environmental importance of bivalve molluscs and the lack of information related to freshwater Unionidae species and considering the gonads

در دست انتشار / DOI: 10.22113/JMST.2023.410193.2544

as important organs of reproduction and survival, this research was conducted to investigate the histology of oogenesis and gametogenesis of *Unio tigridis* species seasonally in the Karun River.

2. MATERIALS AND METHODS

The area under study for this research was downstream of the Karun River in Khorramshahr city. Sampling was done seasonally during a year. The samples were transferred to the histology laboratory and they were identified using valid identification books and keys (Kinzelbach., 1989; Plaziat and Younis., 2005; Graf and Cummings., 2021; Lopes-lima et al., 2021). After dissection, small pieces of gonads were separated and were fixed in 10% formalin solution and were passaged in autotechnicon and blocked by paraffin wax, 5-6 μ sections were made by microtome and stained by H&E for histological examination under light microscopy. The results were analyzed by SPSS software version 16. Data were analyzed by one-way ANOVA and LSD tests. Differences were considered significant when P value was lower than 0.05.

3. RESULTS

The results showed that out of 41 bivalvia *Unio tigridis* in this study, 40 of them were unisexual and there was only one hermaphrodite bivalvia in which testicular and ovarian tissue were seen in the gonad tissue. Also, the histological results showed that the male and female gonads (testis and ovaries) were composed of follicles (lobes), which were connected by connective tissue, and inside the lumen of the follicles the process of gametogenesis could be seen. Ovary in this species was asynchronous because, at the same time, all types of female gametes were visible. Oogenesis is a continuous process and can be seen in five stages. The development stages of the ovary in the Bivalvia *U. tigridis* could be divided into undeveloped or immature, developing and developed or matured stages. Spermatogenesis was a continuous process and was visible in five stages in the follicles of the testicular tissue in all seasons.

4. CONCLUSION

Sereflisan et al (2013) and Soliman et al (2016) divided the developing oocytes into five stages and reported that oogonia become primary oocytes that grow inside follicles and form vitellogenic oocytes. Then they enter the secondary vitellogenic stage and finally become mature oocytes. Park & Chang (2004) and Cek & Sereflisan (2011) reported a similar process in their research for other Unionidae species. Sereflisan et al (2013) also reported with their study on *P. littoralis* species in Golbachi Lake, Turkey, that oogenesis was intense in three months of winter and the ovaries reached their maximum growth in spring (in May). They also stated that the process of spermatogenesis in the male gonad of *P. littoralis* had a continuous pattern and reported the presence of sperm morula masses. In the present study, the highest rate of development and maturation of both male and female gonads was observed in spring and it seems that the main breeding time of *Unio tigridis* species in the Karun River in the study area is in spring.

5. ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to thank Khorramshahr University of Marine Science and Technology for the financial support in this research.

REFERENCES

- Barnes, R.S.K., Calow, P., Olive, P.J.W., Golding, D.W. and Spicer, J.I. 2001. The invertebrates. Black Well. Science Ltd. USA.
- Cek, S., and Sereflisan, H. 2011. The gametogenic cycle of *Leguminaia whaetleyi* (Lea, 1862) in lake Golbasi, Turkey (Bivalvia: Unionidae). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 315(1), pp.30-40 DOI: 10.1002/jez.648.

در دست انتشار / DOI: 10.22113/JMST.2023.410193.2544

Graf, D.L., and Cummings, K.S. 2021. A 'big data' approach to global freshwater mussel diversity (Bivalvia: Unionoida), with an updated checklist of genera and species. *Journal of Molluscan Studies*, 87(1), eyaa034. DOI: 10.1093/mollus/eyaa034.

Howard, J., and Cuffey, K.M. 2006. The functional role of native freshwater mussels in the fluvial benthic environment. *Freshwater Biology*, 51(3), pp.460- 474. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2005.01507.x.

Kinzelbach, R. 1989. Freshwater mussels (genus Anodonta) from Anatolia and adjacent areas (Bivalvia, Unionidae). *Zoology in the Middle East*, 3(1), pp.59-72. DOI: 10.1080/09397140.

Lopes-Lima, M., Gürlek, M.E., Kebapçı, Ü., Şereflişan, H., Yanık, T., Mirzajani, A., Neubert, E., Prie, V., Teixeira, A., Gomes-Dos-Santos, A., Barros-Garcia, D., Bolotov, I.N., Kondakov, A.V., Vikhrev, I.V., Yomilova, A.A., Ozcan, T., Altun, A., Goncalves, D.V., Bogan, A.E., and Froufe, E. 2021. Diversity, biogeography, evolutionary relationships, and conservation of Eastern Mediterranean freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 163, pp.107261. DOI: 10.1016/j.ympev.2021.107261.

Park, G.M., and Chung, E.Y. 2004. Histological studies on hermaphroditism, gametogenesis and cyclic changes in the structures of marsupial gills of the introduced Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, and the Korean clam, *Corbicula leana*. *Journal of Shellfish Research*, 23(1), pp.179-185.

Plaziat, J.C., and Younis, W.R. 2005. The modern environments of Molluscs in southern Mesopotamia, Iraq: A guide to paleogeographical reconstructions of Quaternary fluvial, palustrine and marine deposits. *Environmental science, Geography*. DOI: 10.4267/2042/1453.

Sereflişan, H., Cek, S., and Sereflişan, M. 2013. The reproductive cycle of *Potomida littoralis* (Cuvier, 1798) (Bivalvia: Unionidae) in Lake Golbasi, Turkey. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(5), pp.1311-1319.

Soliman, F.E., Moustafa, A.Y., Ismail, T.G., and Mohamed, O.T. 2016. Reproductive Cycle, Gametogenesis and Embryonic Development of *Nitia Teretiuscula* (Bivalvia: Unionidae), from the River Nile at Sohag Governorate, Egypt. *Egyptian Journal of Zoology*, 66, pp. 115-138. DOI: 10.12816/0034713.

Vaughn, C.C. 2018. Ecosystem services provided by freshwater mussels. *Hydrobiologia*, 810(1), 1-13. DOI: 10.1007/s10750-017-3139-x.

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.





مقاله پژوهشی

Available Online: <http://jmst.kmsu.ac.ir>



بررسی روند گامتوزن و گزارش یک مورد هرمافرودیسم *Unio tigridis* (صدف دو کفه ای از خانواده یونیونیده) در رودخانه کارون

سحر احمدوند، سلماز شیرعلی*، نسرین سخایی، بابک دوست شناس

گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

نویسنده مسئول، پست الکترونیک: solmazshirali_awz@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۵/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۴

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22113/JMST.2023.410193.2544

چکیده

خانواده Unionidae (یونیونیده) پرتعدادترین خانواده صدف های دوکفه ای آب شیرین، از راسته Unionida است. با توجه به اهمیت خوراکی، اقتصادی و زیست محیطی نرم تنان دوکفه ای و همچنین کمبود اطلاعات مرتبط با صدف های آب شیرین راسته Unionida به خصوص گونه های متعلق به خانواده یونیونیده و همچنین در معرض خطر بودن جهانی آن ها، با در نظر گرفتن اهمیت تخمدان و بیضه به عنوان عضو مهم تولید مثل و بقا موجود و از آنجایی که مطالعات بافت شناسی، دقیق ترین روش در تعیین مراحل سیکل گنادی می باشد، این پژوهش با هدف بررسی بافت شناسی تخمک زایی و اسپرم زایی گونه *Unio tigridis* در رودخانه کارون انجام شد. نمونه گیری به صورت فصلی انجام گرفت. به این منظور گونه مورد مطالعه پس از صید در هر فصل به آزمایشگاه بافت شناسی منتقل گردیدند. سپس نمونه ها بیومتری شده و با استفاده از کتب و کلیدهای شناسایی معتبر شناسایی شدند. پس از تشریح، قطعات کوچکی از غدد جنسی جداسازی شده و پس از انجام مراحل پاساژ بافتی مورد بررسی هیستولوژیک و هیستومتری قرار گرفتند. نتایج مطالعات بافت شناسی غدد جنسی نشان داد که این گونه اغلب جدا جنس هستند. نتایج مطالعات بافت شناسی غدد جنسی نشان داد که از ۴۱ صدف موجود در این مطالعه، تنها یک صدف هرمافرودیت وجود داشت که همزمان در بافت غدد جنسی آن بافت بیضه و بافت تخمدان مشاهده شد. تخمدان از نوع ناهمزمان بود، زیرا در هر زمان انواع فولیکول ها در مراحل مختلف رشد (اووگونی، تخمک های پیش زرده سازی، تخمک های زرده سازی) در تخمدان ها قابل مشاهده بود. بیشترین میزان توسعه و بلوغ هر دو گناد نر و ماده در فصل بهار مشاهده شد. به نظر می رسد زمان اصلی تولیدمثل گونه *Unio tigridis* در رودخانه کارون در منطقه مورد مطالعه در فصل بهار باشد.

واژگان کلیدی: یونیونیده، *Unio tigridis*، تخمک زایی، اسپرم زایی، هرمافرودیسم

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



۱. مقدمه

شاخه نرم تنان شاخه ای از جانوران بی مهره هستند. این شاخه از نظر تنوع و تعداد جمعیت در بین جانوران مقام دوم را به خود اختصاص داده‌اند (Gray, 2014). دوکفه ای ها با ۳۰۰۰۰ گونه متنوع ترین رده شاخه نرم تنان بعد از رده شکم پایان محسوب می شوند. اکثر دو کفه ای ها در آب های شور ساکن هستند و فقط یک پنجم از کل انواع آنها در آب های شیرین زندگی می کنند (Barnes et al., 2001). دوکفه ای ها به عنوان یکی از منابع زیستی مهم، ترکیب اصلی جانوران کفزی یا بنتیک را در بسیاری از محیط های دریایی و مصبی تشکیل می دهند (Hermann et al, 2009). دوکفه ای ها به شکل تریینی، در صنعت آبی پروری و نیز در صنایع داروسازی مورد استفاده قرار می گیرند و نیز نقش مهمی در چرخه های زیست محیطی دارا هستند (Saeidi et al, 2009). صدف های دوکفه ای به عنوان یک نمایشگر تغییرات زیست محیطی در مقابل تغییرات دمایی و آلاینده ها عمل می کنند و به عنوان شاخص های زیستی برای تعیین کیفیت آب به شمار می روند (Taylor et al., 2013). از لحاظ اکولوژیک علاوه بر داشتن جایگاه ویژه در زنجیره غذایی، نقش به سزایی در چرخه غذایی سایر آبزیان ایفا می کنند و به عنوان شاخص زیستی اکوسیستم های آبی محسوب می شوند که قادرند آلودگی های نفتی، فلزات سنگین، مواد رادیواکتیو و غیره را از محیط پاکسازی و سبب سلامت محیط آبی گردند. قابل توجه ترین دوکفه ای های آب شیرین، گونه های متعلق به راسته Unionida هستند، که حدود ۷۲ درصد صدف های آب شیرین را تشکیل می دهند (Lopes-Lima et al., 2018). یونیونیده پر تعدادترین خانواده راسته Unionida است (Graf and Cummings, 2021). خانواده یونیونیده یک گروه دوکفه ای پراکنده از صدف های آب شیرین است. صدف های آب شیرین خانواده یونیونیده جز اصلی شبکه های غذایی هستند و نقش مهمی در اکوسیستم های آب شیرین (مانند تصفیه آب طبیعی) ایفا می کنند (Howard and Cuffey, 2006; Vaughn, 2018). همچنین اعضای این صدف ها برای انسان به عنوان منبع مروراید اهمیت زیادی دارند (Chumnanpuen et al., 2011). با وجود تنوع و ارزش اقتصادی و زیست محیطی صدف های آب شیرین، اطلاعات نسبتاً کمی در مورد زیست شناسی آن ها به ویژه برای گونه های

خارج از اروپا و آمریکای شمالی وجود دارد (Cao et al., 2018). با توجه به اهمیت خوراکی، اقتصادی و زیست محیطی نرم تنان دوکفه ای و همچنین کمبود اطلاعات مرتبط با صدف های آب شیرین راسته Unionida به خصوص گونه های متعلق به خانواده یونیونیده و همچنین در معرض خطر بودن جهانی آن ها، با در نظر گرفتن اهمیت گنادها به عنوان اعضای مهم تولید مثلی و بقا موجود این پژوهش با هدف بررسی بافت شناسی تخمک زایی و اسپرم زایی گونه *Unio tigridis* به صورت فصلی در رودخانه کارون انجام شد.

۲. مواد و روش ها

منطقه مورد مطالعه جهت انجام این پژوهش پایین دست رودخانه کارون در شهرستان خرمشهر بود. کارون بزرگ، رودخانه ی دائمی با ۸۹۰ کیلومتر طول، پر آب ترین و بلندترین رودخانه ایران به شمار می آید، از چشمه سارهای دامنه های کوه های ونگ و زردکوه واقع در دهستان شوراب، در ۹۱ کیلومتری باختر شمالی شهر کرد سرچشمه گرفته و با عبور از دهستان های این شهر در ادامه ی مسیر به دهستان های بروجن، لردگان، ایذه و مسجدسلیمان، وارد شده و پس از عبور از شهرهای شوشتر، اهواز و خرمشهر به خلیج فارس می ریزد (Khodabakhshnezhad et al., 2016). در این پژوهش جهت بررسی بافت شناسی تخمک زایی و اسپرم زایی گونه *Unio tigridis* نمونه برداری از پایین دست رودخانه کارون صورت گرفت. نمونه برداری در طی یک سال به صورت فصلی در هر چهار فصل انجام شد. نمونه ها به صورت زنده و تصادفی و به صورت صید دستی توسط صیاد برداشته شده و به طور زنده به آزمایشگاه بافت شناسی انتقال داده شدند. پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه در هر فصل، ابتدا بیومتری نمونه ها انجام شد و طول و عرض نمونه های دو کفه ای به وسیله کولیس (برحسب میلی متر) و وزن آن ها به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ (برحسب گرم) اندازه گیری شد. در نهایت گونه مورد مطالعه بر اساس خصوصیات ظاهری و همچنین صفات ریخت شناسی و با استفاده از کتب و کلیدهای شناسایی معتبر (Kinzelbach., 1989; Plaziat and younis., 2005; Graf and Cummings., 2021; Lopes- lima et al., 2021) مورد شناسایی قرار گرفت. از صفات بارز این گونه می توان به اندازه نسبتاً بزرگ و همچنین الگوی کلی تکراری در بدن دوکفه

دید میکروسکوپی شمارش شد. همچنین مراحل مختلف بیضه بر اساس نوع سلول های جنسی نر تعیین شد. جهت بررسی آماری ابتدا نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف_اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت تا از نرمال بودن داده ها اطمینان حاصل گردد. به منظور مقایسه پارامترهای اندازه گیری شده در گونه های مختلف از آنالیز واریانس یک طرفه در سطح خطای ۰/۰۵ استفاده گردید. همچنین از آزمون تعقیبی LSD (حداقل اختلاف معنی دار) جهت بررسی معنی دار بودن تفاوت متغیرها استفاده گردید. نتایج به صورت خطای میانگین \pm خطای معیار گزارش گردید. آنالیزها با نرم افزار SPSS 22 انجام شد.

۳. نتایج

نتایج مطالعه صفات ریخت شناسی نشان داد که در منطقه مورد مطالعه، گونه *Unio tigridis* در تمام فصول در رسوبات رودخانه کارون واقع در شهرستان خرمشهر یافت شد (شکل ۱). در این مطالعه میانگین وزن صدف های دو کفه ای گونه *U. tigridis* برحسب گرم و میانگین طول و عرض آنها بر حسب میلی متر در هر فصل اندازه گیری شد. نتایج بررسی آماری در این گونه نشان داد که بیشترین وزن صدف در فصل تابستان شد. بین طول صدف ها و عرض صدف ها در چهار فصل اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۱).

ای همانند تقارن دو طرفه، تقارن چرخشی، تقارن شعاعی، اندازه نیمه های راست و چپ تقریباً یکسان اشاره نمود. پس از بیومتری صدف را از وسط باز کرده و با اسکالپل قسمت گنادی از قسمت احشایی جدا گردید (در صدف های آب شیرین قسمت گنادی در نزدیکی دیورتیکول های گوارشی قرار دارد، بنابراین شناسایی قسمت گنادی از قسمت گوارشی خصوصاً روده دشوار می باشد). گنادها به مدت ۱۰ روز در ظروف حاوی فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. کلیه مراحل پاساژ بافتی به صورت اتوماتیک و با استفاده از دستگاه هیستوکینت مدل TP1020 به انجام رسید. پس از اتمام مراحل پاساژ بافتی، از قالب های مخصوص آلومینیومی (قالب های لوکهارت) و پارافین جهت قالب گیری استفاده شد. پس از سرد شدن قالب ها، پارافین حاوی بافت از قالب جدا گردیده و قالب های پارافینی تا زمان برش گیری در داخل یخچال نگهداری شدند (Bancroft and Gamble., 2002). سپس از قالب ها برش هایی به ضخامت ۵ میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم نیمه دیجیتال Lecia مدل RM2242 تهیه و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و انوزین بر روی آنها انجام شد. جهت مطالعه هیستولوژیک و هیستومتریک از میکروسکوپ نوری مدل Olympus مجهز به لنز Dino lite و نرم افزار Dino Capture2 نصب شده بر روی سیستم رایانه ای استفاده گردید. جهت بررسی مراحل تخمدانی، تعداد فولیکول های زرده سازی و پیش زرده سازی در هر نمونه در ۵ اسلاید و از هر اسلاید در ۵ میدان



شکل ۱- صدف دو کفه ای گونه *U. tigridis*

Fig. 1- Bivalve *U. tigridis* species

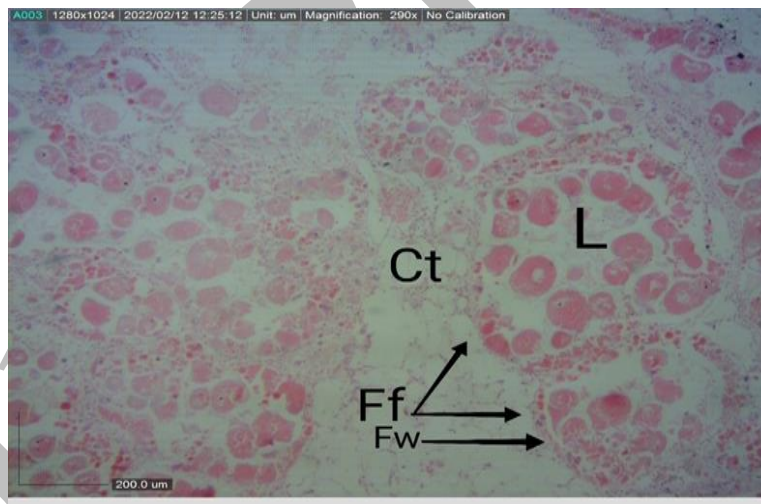
جدول ۱- میانگین \pm انحراف معیار وزن، طول و عرض صدف های دوکفه ای گونه *U. tigridis* در چهار فصل (حروف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشند)

Table 1- Mean \pm standard deviation of weight, length and width of *U. tigridis* bivalves in four seasons (Letters indicate significant differences at the 0.05 level)

Season	Shell Weight	Shell Length	Shell Width
Spring (a)	53.03 \pm 41.9 (bd)	76.30 \pm 7.59	38.40 \pm 2.13
Summer (b)	71.96 \pm 14.14 (ac)	84 \pm 7.11	42.29 \pm 3.30
Autumn (c)	57.38 \pm 22.63 (b)	73.43 \pm 12.24	37.79 \pm 6.14
Winter (d)	66.33 \pm 12.63 (a)	72.90 \pm 5.85	29.40 \pm 3.37

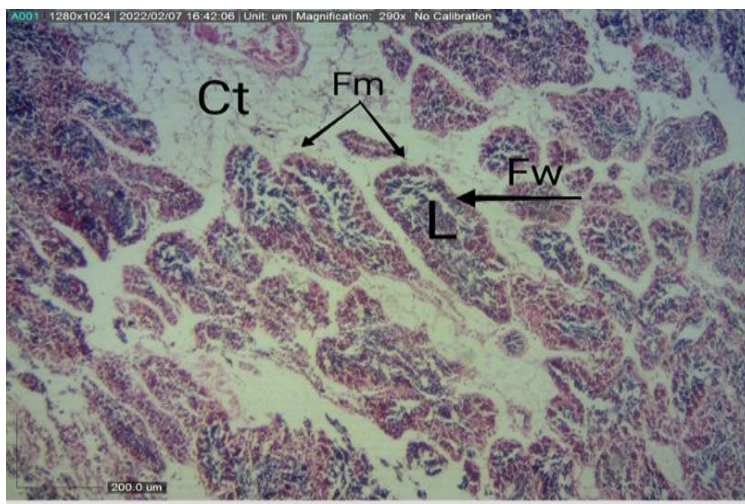
درون فضای داخلی آنها (لومن فولیکول ها) روند گامت زایی (اسپرم زایی و تخمک زایی) دیده می شد (شکل ۲ و شکل ۳). نتایج مطالعات بافت شناسی تخمدان صدف دوکفه ای گونه *U. tigridis* نشان داد که تخمدان در این گونه از نوع تخمدان ناهمزمان است، زیرا در هر زمان انواع سلول های جنسی ماده (اووگونی، تخمک های پیش زرده سازی، تخمک های زرده سازی) در تخمدان قابل مشاهده بود (شکل ۴).

نتایج مطالعات بافت شناسی غدد جنسی در گونه *U. tigridis* نشان داد که از ۴۱ صدف موجود از این گونه در مطالعه حاضر، ۴۰ عدد آن جدا تک جنسیتی و تنها یک صدف هرمافرودیت همزمان وجود داشت که همزمان در بافت غدد جنسی آن بافت بیضه و بافت تخمدان دیده می شد. همچنین نتایج نشان داد که از نظر بافت شناسی غدد جنسی نر و ماده (بیضه و تخمدان) در این گونه از فولیکول ها یا لوب هایی تشکیل شده بود که توسط بافت همبند به یکدیگر متصل بودند و



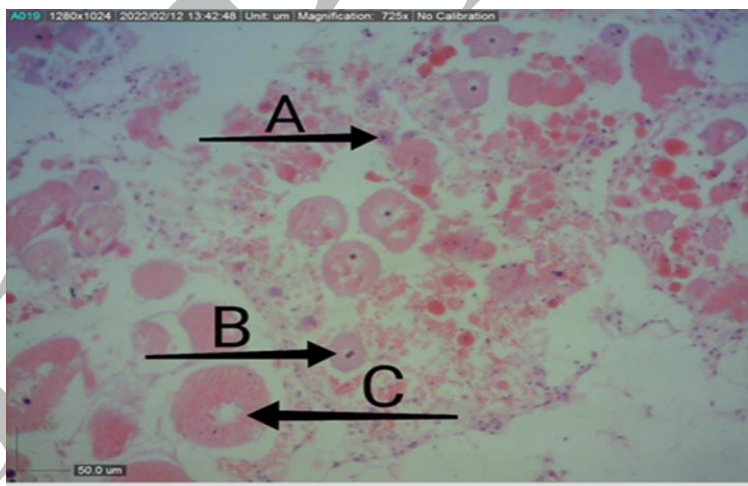
شکل ۲- بافت تخمدان صدف دوکفه ای *U. tigridis*. Ff: فولیکول تخمدان، Fw: دیواره فولیکول، L: لومن فولیکول (فضای داخلی فولیکول)، Ct: بافت همبند (H&E×290)

Fig. 2- Ovary tissue of the *U. tigridis*. Ff: ovarian follicle, Fw: Follicle wall, L: follicle lumen (follicle internal space), Ct: connective tissue (H&E×290)



شکل ۳- بافت بیضه صدف دوکفه ای گونه *U. tigris*. Fm: فولیکول بیضه، Fw: دیواره فولیکول، L: لومن فولیکول (فضای داخلی فولیکول)، Ct: بافت همبند (H&E×290)

Fig. 3- Testicular tissue of the *U. tigris*. Fm: testicular follicle, Fw: Follicle wall, L: follicle lumen (follicle internal space), Ct: connective tissue (H&E×290)



شکل ۴- تخمدان ناهمزمان در صدف دوکفه ای گونه *U. tigris*. A: اووگونی، B: فولیکول پیش زرده سازی، C: فولیکول زرده سازی (H&E×725)

Fig. 4- Asynchronous ovary in the *U. tigris*. A: oögonia, B: Previtellogenic follicle, C: Vitellogenic follicle (H&E×725)

مرحله اول: در این مرحله تعداد فولیکول های تخمدانی زیاد بود اما از نظر اندازه کوچک بودند و بافت همبند نسبتاً زیادی بین آنها دیده می شد. درون تخمدان ها، بیشتر تخمک ها در مرحله پیش زرده سازی بودند و تعداد سلول های اووگونی و تخمک های پیش زرده سازی نسبت به تخمک های زرده سازی درون تخمدان ها بسیار بیشتر بود. همه تخمدان های صدف دوکفه ای گونه *U. tigridis* در فصل تابستان در این مرحله مشاهده شدند و توسعه نیافته یا نرسیده (تخم ریزی کرده) بودند (شکل A- ۶).

مرحله دوم: در این مرحله اندازه فولیکول های تخمدانی و تخمک ها افزایش یافته بود. بیشتر تخمک ها در مرحله ابتدایی زرده سازی بودند و بیشتر فضای بافت تخمدان را تخمک های زرده سازی اولیه اشغال کرده بودند و سلول های اووگونی و تخمک های پیش زرده سازی خیلی کمتر دیده می شدند. همه تخمدان های صدف دوکفه ای گونه *U. tigridis* در فصل پاییز در این مرحله مشاهده شدند و در حال توسعه بودند (شکل B- ۶).

مرحله سوم: در این مرحله فولیکول های تخمدانی شکل نامنظمی پیدا کرده و فشرده شده بودند. اندازه تخمک ها در فولیکول های تخمدانی بزرگتر شده بود و بیشتر تخمک ها در مرحله انتهایی زرده سازی بودند و عمده فضای بافت تخمدان را تخمک های زرده سازی خصوصاً تخمک های زرده سازی ثانویه اشغال کرده بودند و سلول های اووگونی و تخمک های پیش زرده سازی خیلی کمتر دیده شدند. همه تخمدان های صدف دوکفه ای گونه *U. tigridis* در فصل زمستان در این مرحله مشاهده شدند و در حال توسعه بودند (شکل C- ۶).

مرحله چهارم: در این مرحله اندازه فولیکول های تخمدانی و تخمک ها افزایش قابل توجهی یافته بود به طوری که دیواره فولیکول های تخمدانی به یکدیگر چسبیده بود و بافت همبندی بین آنها دیده نمی شد. تخمک های بالغ تمام فضای داخلی لومن فولیکول ها را اشغال کرده بودند. همه تخمدان های صدف دوکفه ای گونه *U. tigridis* در فصل بهار در این مرحله زرده سازی نهایی مشاهده شدند و توسعه یافته یا رسیده (بالغ) بودند (شکل D- ۶).

در تخمدان صدف دوکفه ای گونه *U. tigridis* اووژنز روند پیوسته ای داشت و در ۵ مرحله قابل مشاهده بود: اووگونی، تخمک های پیش زرده سازی، تخمک های زرده سازی اولیه، تخمک های زرده سازی ثانویه و تخمک های بالغ. اووگونی ها سلول های بازوفیلی بسیار کوچک و گردی بودند که در دیواره های فولیکولی تخمدان ها و حاشیه های داخلی آنها دیده می شدند. میانگین قطر آنها $1/38 \pm$ و $12/48$ اندازه گیری شد. تخمک های پیش زرده سازی، گرد، کوچک و بازوفیلی بودند و معمولاً یک یا دو هسته درون هسته آنها دیده می شد. آنها در حاشیه های داخلی دیواره فولیکولی تخمدان ها دیده می شدند. میانگین قطر آنها $7/97 \pm$ و $25/25$ اندازه گیری شد. تخمک های زرده سازی اولیه بزرگ و گرد بودند. اندازه هسته در آنها افزایش یافته بود و در مرکز قرار داشت. در هسته آنها معمولاً یک یا دو هسته دیده می شد و دانه های زرده در سیتوپلاسمشان تا حدی قابل مشاهده بود. تخمک های زرده سازی ثانویه دارای اندازه ای بزرگ با ظاهری نامنظم بودند و هسته در آنها جا به جا شده بود. در هسته شان معمولاً یک یا دو هسته مشاهده می شد و در سیتوپلاسمشان دانه های زرده به مقدار زیادی قابل مشاهده بود. این تخمک ها در حال مهاجرت از حاشیه لومن فولیکول ها به مرکز آن دیده می شدند. تخمک های بالغ ظاهری گرد یا بیضی شکل داشتند و به بیشترین اندازه خود رسیده و با مقدار زیادی دانه زرده پر شده بودند. این تخمک ها در همه فضای داخلی لومن فولیکول ها خصوصاً مرکز آن دیده می شدند (شکل ۵).

در مجموع تخمک های زرده سازی اولیه، تخمک های زرده سازی ثانویه و تخمک های زرده سازی نهایی (بالغ) به عنوان تخمک های زرده سازی در نظر گرفته شدند که همگی اسیدوفیلی بودند. قطر آن ها $14/74 \pm$ و $106/67$ میکرون اندازه گیری شد. در این مطالعه مقایسه ای بین میانگین قطر سلول های جنسی ماده (اووگونی، تخمک های پیش زرده سازی، تخمک های زرده سازی) موجود در تخمدان صدف دوکفه ای *U. tigridis* انجام گرفت که نتایج آن در جدول ۲ نشان داده شده است.

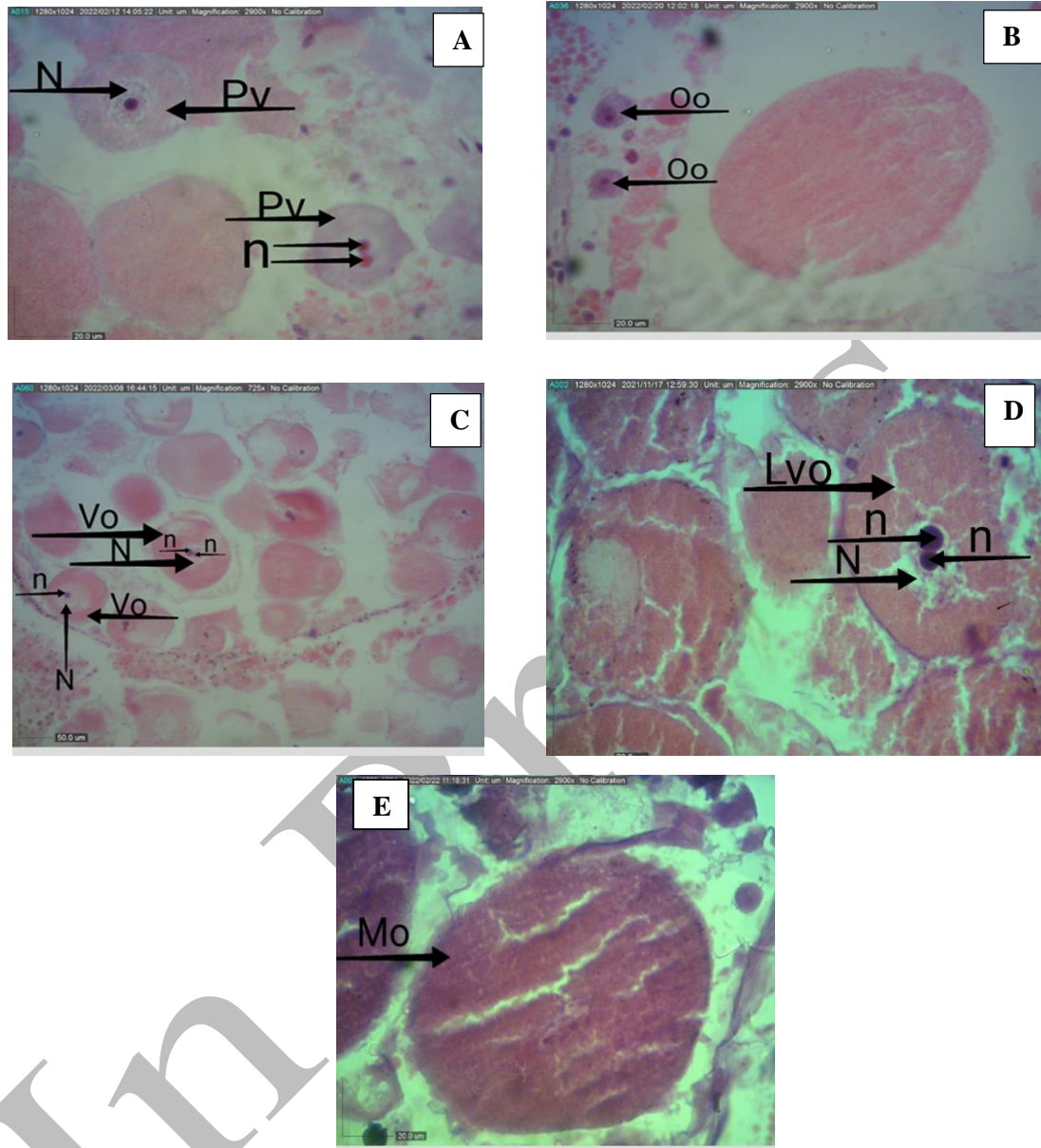
بررسی بافت شناسی نشان داد که مراحل رشد تخمدانی در صدف دوکفه ای *U. tigridis* به چهار مرحله قابل تفکیک بود:

جدول ۲- مقایسه قطر سلول های جنسی ماده در تخمدان صدف دوکفه ای *U. tigridis* (حروف نشان دهنده وجود اختلاف

معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشند)

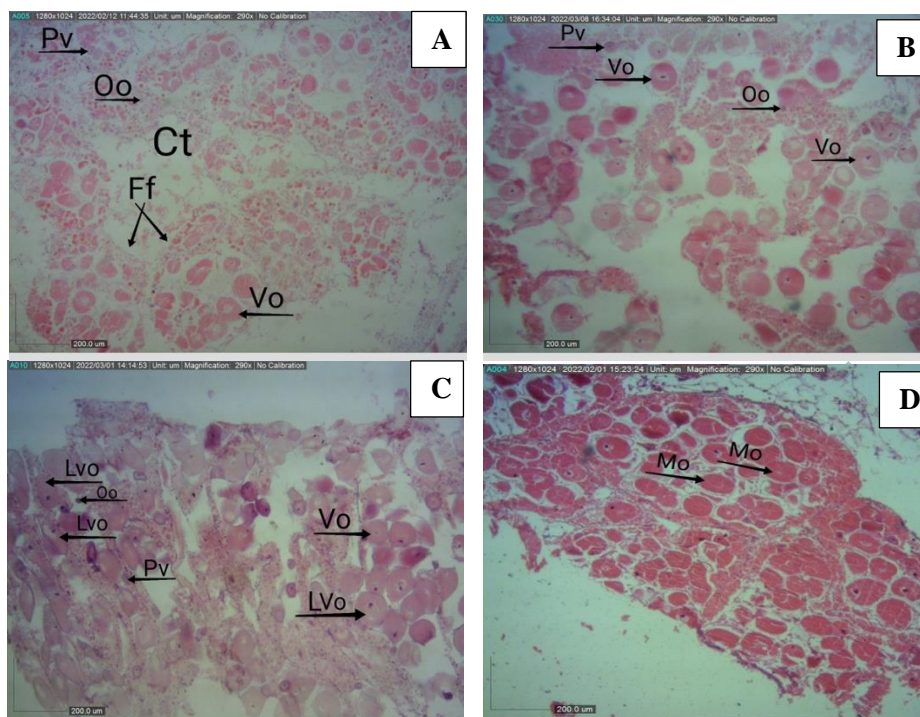
Table 2- Comparison of the diameter of female gametes in the ovary of *U. tigridis* (Letters indicate significant differences at the 0.05 level)

Female Sex Cell Type	Diameter
Oogonia (a)	12.48 ± 1.38
Previtellogensis (b)	25.25 ± 7.97
Vitellogensis (ab)	106.67 ± 14.74



شکل ۵- A: اووگونی در تخمدان صدف دوکفه ای گونه *U. tigris*. Oo: اووگونی B: فولیکول پیش زرده سازی N: هسته n: هسته C: فولیکول زرده سازی اولیه N: هسته n: هسته D: فولیکول زرده سازی اولیه N: هسته n: هسته E: فولیکول بالغ (H&E×2900) Mo: فولیکول بالغ (H&E×2900) هسته n: هسته N: هسته

Fig. 5- A: oogonia in the ovary of *U. tigris*. Oo: oogonia, B: Previtellogenic follicle N: nucleus n: nucleulos (H&E×2900). C: Vo: Previtellogenic follicle N: nucleus n: nucleulos (H&E× 725). D: vitellogenic follicle N: nucleus n: nucleulos, E: Mo: mature follicle (H&E× 2900)



شکل ۶- A: تخمدان صدف دوکفه ای گونه *U. tigridis* در تابستان و در مرحله اول (توسعه نیافته)، B: تخمدان در پاییز و در مرحله دوم (در حال توسعه)، C: تخمدان در زمستان و در مرحله سوم (در حال توسعه)، D: تخمدان در بهار و در مرحله چهارم (توسعه یافته). Oo: اووگونی، Pv: فولیکول پیش زرده سازی، Vo: فولیکول زرده سازی، Ff: فولیکول تخمدان، Ct: بافت همبند. LVo: فولیکول زرده سازی ثانویه، Mo: فولیکول بالغ (H&E×290)

Fig. 6- A: Ovary of *U. tigridis* in summer and in the first stage (undeveloped), B: Ovary in autumn and in second stage (developing), C: Ovary in winter and third stage (developing), D: Ovary in spring and in the fourth stage (developed). Oo: ooginia, Pv: previtellogenic follicle, Vo: vitellogenic follicle, Ff: ovarian follicle, Ct: connective tissue, LVo: secondary vitellogenic follicle, Mo: mature follicle (H&E×290)

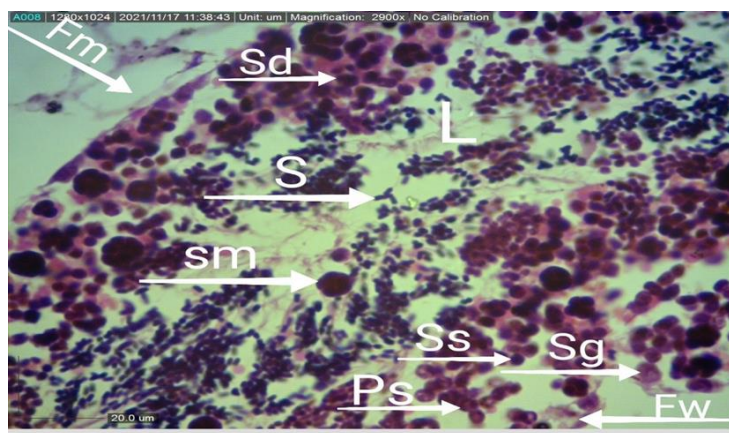
مرحله سوم: اسپرماتوسیت های ثانویه، سلول های گرد و بازوفیلی که در حال حرکت به سمت مرکز لومن فولیکول ها دیده می شدند. مرحله چهارم: اسپرماتید ها، سلول های به شدت بازوفیلی که در نزدیکی مرکز لومن فولیکول ها دیده می شدند. تجمع این سلول ها در کنار هم مورولای اسپرم را تشکیل می دادند. مرحله پنجم: اسپرماتوزوا ها، سلول های میله ای شکل و بازوفیلی که فضای مرکزی لومن فولیکول های بیضه را اشغال می کردند. این سلول ها در فصل زمستان و بهار در بافت بیضه این صدف دوکفه ای بیشتر دیده شدند و بنظر می رسید که روند اسپرماتوزن در این دو فصل شدید تر باشد (شکل ۷). همچنین نتایج نشان داد که سلول های اسپرماتید اولیه در صورت قرار گیری در کنار هم خوشه هایی را به نام مورولای اسپرم تشکیل می

نتایج نشان داد که در بیضه صدف دوکفه ای *U. tigridis* روند اسپرماتوزن که تبدیل سلول اسپرماتوگونی به سلول اسپرماتوزوا است، روند پیوسته ای بود و در همه فصول در ۵ مرحله در فولیکول های بافت بیضه قابل مشاهده بود: مرحله اول: اسپرماتوگونی ها، سلول هایی بازوفیلی با سیتوپلاسم نسبتاً کم، بزرگ و بیضی شکل که در حاشیه داخلی دیواره ها دیده می شدند. این سلول ها تقسیم میتوز را انجام داده و سلول های اسپرماتوسیت اولیه را بوجود می آوردند. مرحله دوم: اسپرماتوسیت های اولیه، سلول های بازوفیلی و کروی شکل، با هسته بزرگ که بیشتر در حاشیه دیواره های فولیکولی دیده می شدند.

بیضه تشکیل داده بود و مقدار کمی از بافت تخمدان نابالغ (سلول های اووگونی و تخمک پیش زرده سازی) در آن قابل مشاهده بود و جنسیت صدف از نظر عملکردی نر بود (شکل ۸).

دهند، این خوشه ها در بافت تمام بیضه های صدف های نر این گونه در فصول مختلف خصوصا پاییز و زمستان دیده شدند که میانگین قطر آنها نیز در فصول مختلف اندازه گیری شد (جدول ۳).

در مطالعه حاضر تنها در یک مورد هرمافرودیسم مشاهده شد. بررسی بافت شناسی نشان داد که بیشتر بافت گنادی را در این صدف بافت



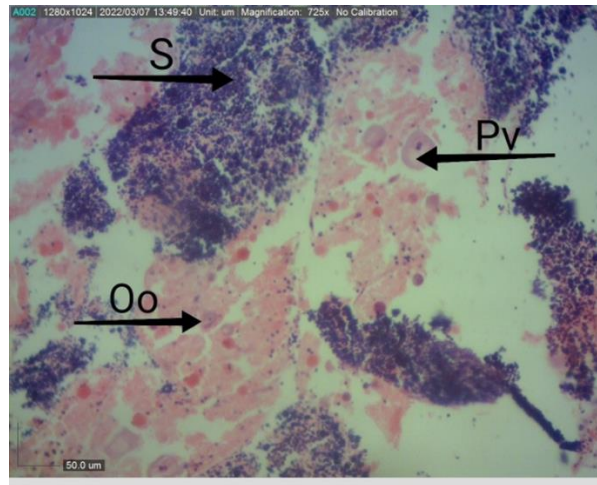
شکل ۷- اسپرماتوزنز در بیضه صدف دوکفه ای گونه *U. tigridis* را در یک فولیکول در فصل بهار Sg: اسپرماتوگونی، Ps: اسپرماتوسیت اولیه، Ss: اسپرماتوسیت ثانویه، Sd: اسپرماتید، S: اسپرماتوزوا، Sm: مورولا اسپرم، Fm: فولیکول بیضه، Fw: دیواره فولیکول، L: لومن فولیکول (فضای داخلی فولیکول) (H&E×2900)

Fig. 7- Spermatogenesis in the testis of the *U. tigridis* in a follicle in spring Sg: spermatogonia, Ps: primary spermatocyte, Ss: secondary spermatocyte, Sd: spermatid, S: spermatozoa, Sm: sperm morula, Fm: testicular follicle, Fw: follicle wall, L: follicle lumen (follicle lumen space) (H&E×2900)

جدول ۳- میانگین \pm انحراف معیار قطر مورولا های اسپرم در بافت بیضه صدف های نر گونه *U. tigridis* در چهار فصل (حروف a, b, c, d بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد).

Table 3- Mean \pm standard deviation of the diameter of sperm morula in the testicular tissue of *U. tigridis* male in four seasons (Letters indicate significant differences at the 0.05 level)

Season	Diameter of Sperm Morula
Spring (a)	8.63 \pm 1.35
Summer (b)	7.98 \pm 1.20 (d)
Autumn (c)	7.78 \pm 0.74 (d)
Winter (d)	8.97 \pm 1.17 (c, d)



شکل ۸- بافت گناد صدف هرمافرودیت در گونه *U. tigridis*: S: اسپرماتوزوا، Oo: اووگونی، Pv: فولیکول پیش زرده سازی (H&E×725)

Fig. 8- Gonad tissue of the hermaphrodite *U. tigridis* S: spermatozoa, Oo: oogonia, Pv: previtellogenic follicle (H&E×725)

شود که شامل: ۱- هرمافرودیتسم عملکردی ۲- جنسیت پی در پی ۳- جنسیت ریتمیک و ۴- جنسیت نوبتی می باشد که هرمافرودیتسم عملکردی که خود شامل دو نوع: الف) عادی و ب) غیر طبیعی یا تصادفی است که نوع عادی معمولا در گونه های تک پایه و نوع تصادفی یا غیر طبیعی در گونه های دو پایه دیده می شود. بررسی بافت شناسی تخمدان صدف دوکفه ای گونه *U. tigridis* نشان داد که تخمدان در این گونه از نوع تخمدان ناهمزمان است، زیرا در هر زمان انواع سلول های جنسی ماده در تخمدان قابل مشاهده بود که همچنین بیانگر ۵ مرحله ای بودن روند اووژنز در این گونه می باشد. همانطور که Sereflisan et al (2013) و Soliman et al (2016) به طور خلاصه ویژگی های تخمک های در حال رشد را به ۵ مرحله تقسیم کردند و تشریح کردند که در گونه های *Potomida littorails* و *Nitia teretiuscula* مانند سایر یونیویده ها اووگونی به تخمک های اولیه تبدیل شده که متعاقبا در داخل فولیکول ها رشد کرده و تخمک های ویتلوژنیک را تشکیل دادند و سپس وارد مرحله ویتلوژنیک ثانویه شدند و سپس تحت بلوغ قرار گرفتند همانطور که پیش از این Park و Chung (2004) و Cek و Sereflisan (2011) روند مشابهی را در تحقیقات خود برای سایر گونه های یونیویده گزارش کردند. همچنین نتایج تحلیل آماری مقایسه قطر سلول های جنسی ماده نشان داد که میانگین قطر این سلول ها از اووگونی تا زرده سازی ثانویه به طور معنی داری افزایش می یابد ($P < 0.05$) Soliman et al (2016) با اندازه گیری قطر تخمک های گونه *Nitia teretiuscula* نتایج مشابهی را گزارش

۴. بحث و نتیجه گیری

خانواده یونیویده یک گروه دوکفه ای پراکنده از صدف های آب شیرین است (Chumnanpuen et al., 2011). این خانواده در سطح جهانی در بحرانی ترین وضعیت تهدید و خطر قرار دارند (Simberloff, 2012; Lopes-Lima et al., 2018). این صدف ها جز اصلی شبکه های غذایی هستند و نقش مهمی در اکوسیستم های آب شیرین (مانند تصفیه آب طبیعی) ایفا می کنند (Howard and Cuffey, 2006; Vaughn, 2018). همچنین به دلیل اندازه بزرگ، این صدف همواره به عنوان یک منبع غذایی با ارزش برای انسان دارای اهمیت است (McMahon, R.F., 2001).

در مطالعه حاضر، گونه *Unio tigridis* در تمام فصول در میان رسوبات گلی رودخانه کارون (شهرستان خرمشهر) مشاهده شد. نتایج اولیه مطالعات بافت شناسی غدد جنسی در گونه مورد مطالعه نشان داد که در طی نمونه گیری یک ساله تنها یک صدف هرمافرودیت مشاهده شد که از نوع هرمافرودیت (تصادفی) بود که همزمان در غدد جنسی آن، بافت بیضه و بافت تخمدان دیده می شد، بیشتر بافت غدد جنسی را در این صدف بافت بیضه تشکیل داده بود و صدف از نظر عملکردی نر بود. همانطور که پیش از این Bauer (1987) و Sereflisan et al (2009) در مطالعات خود عنوان کردند که جنسیت یونیویده ها عموما مجزا هستند. با توجه به مورفولوژی و مشاهدات بافتی بر اساس گزارشات شرایط هرمافرودیتی در دو کفه ای ها با توجه به رویدادهای تولیدمثلی آنها به چهار دسته تقسیم می

وجود توده های مورولای اسپرم را گزارش کردند که این ساختارها شواهدی از اسپرماتوزن غیرطبیعی در دوکفه ای های خاص می باشد.

۵. نتیجه گیری نهایی

گونه *Unio tigridis* از خانواده یونیونیده گونه غالب این منطقه می باشد. افراد این گونه اغلب جدا جنس می باشند. تخمدان از نوع ناهمزمان می باشد. در فصل بهار هر دو گناد ماده و نر در مرحله رسیدگی قرار دارند. به نظر می رسد زمان اصلی تولیدمثل گونه *Unio tigridis* در رودخانه کارون در منطقه مورد مطالعه در فصل بهار باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می دانند که از دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به پاس حمایت مالی در این پژوهش سپاسگزاری کنند.

کردند. بررسی مراحل رشد تخمدان در گونه *U. tigridis* نشان داد که در تابستان بیشتر تخمک ها در مرحله پیش زرده سازی و همه تخمدان ها توسعه نیافته بودند. در پاییز و زمستان بیشتر تخمک ها در مراحل زرده سازی و همه تخمدان ها در حال توسعه بودند. در بهار تخمک ها بالغ و همه تخمدان ها توسعه یافته یا رسیده (بالغ) بودند. Sereflisan et al (2013) با مطالعه خود بر گونه *P. littoralis* در دریاچه گلباشی ترکیه نیز بیان کردند که اووژن در ۳ ماه زمستان شدید و در فصل بهار (در ماه می) تخمدان ها به بیشترین رشد خود رسیدند. در مطالعه حاضر در گناد نر *U. tigridis* روند اسپرماتوزن مانند اووژن روند پیوسته ای داشت و در ۵ مرحله قابل مشاهده بود ولی در فصول زمستان و بهار شدت بیشتری داشت و در نهایت در فصل بهار گنادهای نر در مرحله بالغ بودند. همچنین مورولای اسپرم (خوشه هایی از اسپرماتیدها در کنار هم) در بافت تمامی گنادهای نر این گونه در در فصول مختلف به خصوص پاییز و زمستان مشاهده شدند. Sereflisan et al (2013) نیز بیان کردند که روند اسپرماتوزن در گناد نر گونه *P. littoralis* الگویی پیوسته داشته و

References:

- Bancroft, J.D. and Gamble., M. 2002. Theory and practice of histological techniques. 5th Edition. Churchill Livingstone.
- Bauer, G. 1987. Reproductive strategy of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*, *The Journal of Animal Ecology*, 56(2), pp. 691-704
- Barnes, R.S.K., Calow, P., Olive, P.J.W., Golding, D.W. and Spicer, J.I. 2001. *The invertebrates*. Black Well. Science Ltd. USA.
- Cao, Y.L., Liu, X.J., Wu, R.W., Xue, T.t., Li, L., Zhou, C.H., Ouyang, S., and Wu, X.P. 2018. Conservation of the endangered freshwater mussel *Solenia carinata* (Bivalvia, Unionidae) in China. *Nature Conservation*, 26, pp.33-53. DOI: 10.3897/natureconservation.26.25334.
- Cek, S., and Sereflisan, H. 2011. The gametogenic cycle of *Leguminaia whaetleyi* (Lea, 1862) in lake Golbasi, Turkey (Bivalvia: Unionidae). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 315(1), pp.30-40. DOI: 10.1002/jez.648.
- Chumnanpuen, P., Kovitvadhi, U., Chatchavalvanich, K., Thongpan, A., and Kovitvadhi, S. 2011. Morphological development of glochidia in artificial media through early juvenile of freshwater pearl mussel, *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson, 1900. *Invertebrate Reproduction & Development*, 55(1), pp.40-52. DOI: 10.1080/07924259.548643.
- Graf, D.L., and Cummings, K.S. 2021. A 'big data' approach to global freshwater mussel diversity (Bivalvia: Unionoida), with an updated checklist of genera and species. *Journal of Molluscan Studies*, 87(1), eyaa034. DOI: 10.1093/mollus/eyaa034.
- Gray, R. 2014. A new critical estimate of named species – level diversity of the recent Mollusca. *American Malacological Bulletin*, 32 (2), pp.308-322. DOI: 10.4003/006.032.0204.
- Herrmann, M., Carstensen, D., Fischer, S., Laudien, J., Penchaszadeh, P.E., and Arntz, W.E. 2009. Population structure, growth, and production of the wedge clam *Donax hanleyanus* (Bivalvia: Donacidae) from Northern Argentinean beaches. *Journal of Shellfish Research*, 28(3), pp.511-526. DOI: 10.2983/035.028.0313.

- Howard, J., and Cuffey, K.M. 2006. The functional role of native freshwater mussels in the fluvial benthic environment. *Freshwater Biology*, 51(3), pp.460-474. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2005.01507.x.
- Khodabakhshnezhad, A., Pourkermani, M., Arian, M., Matkan, A. A., Charchi, A. 2016. Active Tectonics of Great Karoun River Basin. *Geosciences Scientific Quarterly Journal*, 95.
- Kinzelbach, R. 1989. Freshwater mussels (genus *Anodonta*) from Anatolia and adjacent areas (Bivalvia, Unionidae). *Zoology in the Middle East*, 3(1), pp.59-72. DOI: 10.1080/09397140.
- Lopes-Lima, M., Burlakova, L.E., Karatayev, A.Y., Mehler, K., Seddon, M., and Sousa, R. 2018. Conservation of freshwater bivalves at the global scale: diversity, threats and research needs. *Hydrobiologia*, 810(1), pp.1-14. DOI: 10.1007/s10750-017-3486-7.
- Lopes-Lima, M., Gürlek, M.E., Kebapçı, Ü., Şereflışan, H., Yanık, T., Mirzajani, A., Neubert, E., Prie, V., Teixeira, A., Gomes-dos-Santos, A., Barros-Garcia, D., Bolotov, I.N., Kondakov, A.V., Vikhrev, I.V., Yomilova, A.A., Ozcan, T., Altun, A., Goncalves, D.V., Bogan, A.E., and Froufe, E. 2021. Diversity, biogeography, evolutionary relationships, and conservation of Eastern Mediterranean freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 163, pp.107261. DOI: 10.1016/j.ympev.2021.107261.
- McMahon, R.F. and Bogan, A.R. 2001. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. 2th Edition, edited by Thorp, J.H. et al. *Elsevier science, Academic Press*, San Diego, pp. 315-399.
- Park, G.M., and Chung, E.Y. 2004. Histological studies on hermaphroditism, gametogenesis and cyclic changes in the structures of marsupial gills of the introduced Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, and the Korean clam, *Corbicula leana*. *Journal of Shellfish Research*, 23(1), pp.179-185.
- Plaziat, J.C., and Younis, W.R. 2005. The modern environments of Molluscs in southern Mesopotamia, Iraq: A guide to paleogeographical reconstructions of Quaternary fluvial, palustrine and marine deposits. *Environmental science, Geography*. DOI: 10.4267/2042/1453.
- Saeidi, H., and Ardalan, A. 2009. Nutritional value of Jack knife clam *Solen dactylus* in the ripeness and sexual rest stages. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 18(4), pp. 79-88. DOI: 10.22092/ISFJ.2010115534.
- Sereflisan, H., Cek, S., and Sereflisan, M. 2009. Histological studies on gametogenesis, hermaphroditism and the gametogenic cycle of *Anodonta gabillotta pseudodopsis* (Locard, 1883) in the Lake Golbasi, Turkey (Bivalvia: Unionidae). *Journal of Shellfish Research*, 28(2), pp.337-344. DOI: 10.2983/035.0280216.
- Sereflisan, H., Cek, S., and Sereflışan, M. 2013. The reproductive cycle of *Potomida littoralis* (Cuvier, 1798) (Bivalvia: Unionidae) in Lake Golbasi, Turkey. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(5), pp.1311-1319.
- Simberloff, D. 2012. Sustainability of biodiversity under global changes, with particular reference to biological invasions. *Sustainability Science*, Springer, New York, pp.139-157. DOI: 10.1007/978-1-4614-3188-7.
- Soliman, F.E., Moustafa, A.Y., Ismail, T.G., and Mohamed, O.T. 2016. Reproductive Cycle, Gametogenesis and Embryonic Development of *Nitia Teretiuscula* (Bivalvia: Unionidae), from the River Nile at Sohag Governorate, Egypt. *Egyptian Journal of Zoology*, 66, pp. 115-138. DOI: 10.12816/0034713.
- Taylor, J.D., and Glover, E.A. 2013. New lucinid bivalves from shallow and deeper water of the Indian and West Pacific Oceans (Mollusca, Bivalvia, Lucinidae). *ZooKeys*, 326, pp. 69-90. DOI: 10.3897/zookeys.326.5786.
- Vaughn, C.C. 2018. Ecosystem services provided by freshwater mussels. *Hydrobiologia*, 810(1), 1-13. DOI: 10.1007/s10750-017-3139-x.