

На правах рукописи



Дгебуадзе Полина Юрьевна

**Разнообразие и образ жизни симбиотических брюхоногих
моллюсков семейства Eulimidae южного Вьетнама**

Специальность 03.02.10 – Гидробиология

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Москва 2011

Работа выполнена в Лаборатории экологии и морфологии морских беспозвоночных
Учреждения Российской Академии наук Института проблем экологии и эволюции
им. А.Н. Северцова РАН

Научный руководитель:	доктор биологических наук Ю.И. Кантор
Официальные оппоненты:	доктор биологических наук А.А. Шилейко кандидат биологических наук В.О. Мокиевский
Ведущая организация:	Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова

Защита диссертации состоится 16 февраля 2011 года в 11 час. 00 мин. на заседании диссертационного совета Д 002.213.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата биологических наук в УРАН Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН по адресу: 119071 Москва, Ленинский проспект, 33,

тел./факс: (495) 952 73 24, e-mail: admin@sevin.ru, www.sevin.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ОБН РАН по адресу: Москва, Ленинский проспект, 33.

Автореферат разослан 14 января 2011 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук



Е.А. Кацман

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Симбиотические ассоциации широко распространены в природе. В большинстве случаев организм-хозяин заселяется не одним, а несколькими видами симбионтов (Barel, Kramers, 1977). Наиболее сложные типы сожительства возникают на коралловых рифах: в таких экосистемах между видами-симбионтами возникают особенно разнообразные взаимоотношения на основе трофических и топических связей. Часто хозяевами для симбионтов становятся иглокожие, которые служат для них убежищем, источником пищи, или и тем и другим одновременно. Симбионты могут располагаться как снаружи хозяина (эктосимбионты), так и внутри него (эндосимбионты). В качестве симбионтов иглокожих отмечено не менее 825 видов животных (Jangoux, 1990). Ассоциации, образованные иглокожими и симбиотическими организмами, представляют собой удобную модель для изучения внутри- и межвидовых взаимоотношений, а также различных аспектов биологии симбионтов (например, питания, половой и размерной структуры популяций, размножения, миграций).

Брюхоногие моллюски семейства Eulimidae являются специализированными симбионтами иглокожих. В настоящее время известно около 1500 видов эулимид (Lorenz, 2005; Warén, 1983). Представители этого семейства являются одной из наиболее массовых групп брюхоногих моллюсков (уступая по числу видов, вероятно, лишь семейству Pyramidellidae) (Schander et al., 2002).

Эулимиды демонстрируют большое разнообразие в способах симбиоза и связанную с ним существенную морфологическую вариабельность. Слабо специализированные виды семейства обладают всеми органами, типичными для брюхоногих моллюсков, в то время как симбиотические виды, существенно продвинувшиеся в сторону паразитизма, утратили почти все системы органов, сохранив только репродуктивную. Некоторые эктопаразитические виды

прикрепляются к своему хозяину только с помощью хобота, и при малейшей опасности открепляются от него. Другие представители этого семейства глубоко пробуравливают стенку тела хозяина, погружают в него раковину и/или формируют галлы. Некоторые эулимиды живут в клоаке или целомической полости хозяина (эндопаразиты) (Warén, 1983).

В настоящее время, несмотря на то, что эулимиды безусловно являются удобной моделью для исследований морфо-экологических адаптаций к симбиозу и играют существенную роль в формировании и функционировании морских экосистем, таксономия и образ жизни этой группы моллюсков остаются плохо изученными. Для многих районов отсутствуют полные списки видов моллюсков-симбионтов, и нет данных о приуроченности их к тем или иным видам хозяев. В частности, до сих пор очень слабо изучены фауна и особенности образа жизни эулимид Южно-Китайского моря.

Цель настоящей работы – описание разнообразия и выявление особенностей образа жизни в связи с симбиозом брюхоногих моллюсков семейства Eulimidae Южно-Китайского моря.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Уточнить видовой состав фауны брюхоногих моллюсков-симбионтов иглокожих залива Нячанг, Южно-Китайского моря;
2. Выявить предпочтительную локализацию симбиотических брюхоногих моллюсков на хозяине;
3. Оценить экстенсивность и интенсивность заселения иглокожих на примере массовых видов моллюсков-симбионтов;
4. Установить особенности распознавания видов-хозяев брюхоногими моллюсками-симбионтами.

Научная новизна. Впервые установлено, что фауна брюхоногих моллюсков семейства Eulimidae южного Вьетнама насчитывает не менее 32 видов, 16 из которых в этом районе обнаружены впервые. На основе

морфологических признаков и молекулярно-филогенетического анализа описаны четыре новых для науки вида рода *Annulobalcis* (симбионты морских лилий). Впервые получены данные по специфичности, особенностям поведения симбионтов и локализации на хозяине для двух массовых видов моллюсков рода *Annulobalcis*, обитающих на морских лилиях. Впервые для семи видов симбиотических гастропод семейства Eulimidae установлены хозяева – морские лилии. Показано, что экстенсивность заселения морских звезд *Linckia laevigata* Linnaeus 1758 моллюсками вида *Thyca crystallina* (Gould 1846) зависит от размера хозяина.

Теоретическое и практическое значение работы. Полученные данные вносят вклад в изучение разнообразия и образа жизни брюхоногих моллюсков семейства Eulimidae – симбионтов иглокожих Южно-Китайского моря, а также расширяют представления о симбиотических ассоциациях в целом. Полученные экспериментальные данные о реакции распознавания хозяев симбионтами уточняют наши знания о механизмах поиска хозяев и особенностях специализации симбиотических организмов.

Полученные результаты могут быть использованы при составлении определителей по семейству Eulimidae, а также в лекционных курсах и учебных руководствах по зоологии и экологии.

Апробация работы: Основные положения диссертации были представлены на научных конференциях: молодых сотрудников и аспирантов ИПЭЭ РАН «Актуальные проблемы экологии и эволюции» (Москва, 2008, 2010); X Съезде Гидробиологического Общества при РАН (Владивосток, 2009); отчетных докладах в Приморском Отделении Тропического Центра (Нячанг, Вьетнам, 2008-2010); а также на коллоквиумах лаборатории экологии и морфологии морских беспозвоночных ИПЭЭ РАН (Москва, 2007-2010).

По материалам диссертации опубликовано 6 работ (3 статьи в журналах, из них 2 в журнале, рекомендованном ВАК, 3 – тезисы конференций).

Объем и структура работы: Диссертация состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов, 3 глав, выводов и списка литературы, включающего 96 работ, из которых 85 на иностранных языках. Работа изложена на 143 страницах, включая 64 рисунка и 17 таблиц.

Благодарности: Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю, д.б.н. Ю.И. Кантору за постоянную помощь и поддержку при выполнении данной работы; д.б.н. Т.А. Бритаеву за ценные советы при обсуждении результатов работы; проф. А. Варену (A. Warén) (SMNH, Sweden), проф. Ф. Буше (P. Bouchet) (MNHN, France), д.б.н. В.Н. Михееву (ИПЭЭ РАН), к.б.н. Т.В. Неретиной (ИБХ РАН) за консультации; дирекциям и сотрудникам Приморского Отделения Российско-Вьетнамского Тропического Центра за предоставленную возможность проведения данной работы; д.б.н. М.В. Холодовой, к.б.н. И.Г. Мещерскому, а также сотрудникам кабинета методов молекулярной диагностики ИПЭЭ РАН за помощь и предоставленную возможность проведения молекулярно-генетического анализа; Н.Н. Суровенковой за помощь в работе с СЭМ; к.б.н. А.Э. Федосову за консультации и помощь при проведении молекулярно-генетических исследований; Т.И. Антохиной, Е.С. Меховой, А.В. Зыковой, О.В. Савинкину, всему коллективу лаборатории экологии и морфологии морских беспозвоночных ИПЭЭ РАН, А.А. Семенову (ББС МГУ), А.А. Гладких (ГНЦ РАМН), А.Н. Ступниковой (ИО РАН), И.Г. Покровскому (ИПЭЭ РАН). Автор благодарит своих родителей М.А. Дгебуадзе и Ю.Ю. Дгебуадзе, а также друзей за терпение и поддержку.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Обзор литературы содержит четыре раздела. Первый раздел посвящен описанию явления "симбиоза" в целом, а также в нем приведены основные термины, используемые при характеристике симбиотических сообществ. В

следующем разделе представлено краткое описание некоторых семейств брюхоногих моллюсков, в которых встречаются симбиотические ассоциации с другими организмами. В третьем разделе отдельно рассмотрено семейство Eulimidae, приведена его общая характеристика, включая анализ развития адаптаций к симбиотическому образу жизни, а также оценена степень изученности данной группы. В четвертом разделе приведены литературные сведения о распределении моллюсков – эулимид в ассоциациях со своими хозяевами – иглокожими.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор и обработка материала. Материал был собран в заливе Нячанг Южно-Китайского моря (на базе Приморского Отделения Российско-Вьетнамского Тропического Центра) в течение 3 экспедиций в период с 2008 по 2010 гг. В работе также использован материал, собранный сотрудниками лаборатории экологии и морфологии морских беспозвоночных ИПЭЭ РАН в 2006 (симбионты морских звезд *Linckia laevigata*) и 2007 годах (симбионты морских лилий) в заливе Нячанг. Исследования проводились в районе островов Че, Мот, Там, Мун, Нок и Дунг на глубинах от 0 до 20 м (Рис.1). При сборе материала использовалось легкое водолазное снаряжение.

Хозяев (для дальнейшего определения и измерения) и симбионтов фиксировали 70% спиртом, для молекулярно-генетических исследований – 96% спиртом. Для определения моллюсков и измерения размеров раковины использовали микроскоп МБС-10.

Предпочтительная локализация моллюсков вида *Thyca crystallina* была изучена в лабораторных условиях по степени заселения данным видом различных участков тела морской звезды. Тело морской звезды было условно разделено на три сектора: оральный диск, участок от орального диска до середины луча и участок от середины до конца луча. Площадь орального диска

вычислялась по формуле πR^2 , а площадь лучей была рассчитана по формуле площади прямоугольника.

Предпочтительная локализация моллюсков – симбионтов морских лилий была проанализирована в ходе подводных наблюдений, проведенных весной 2010 г.

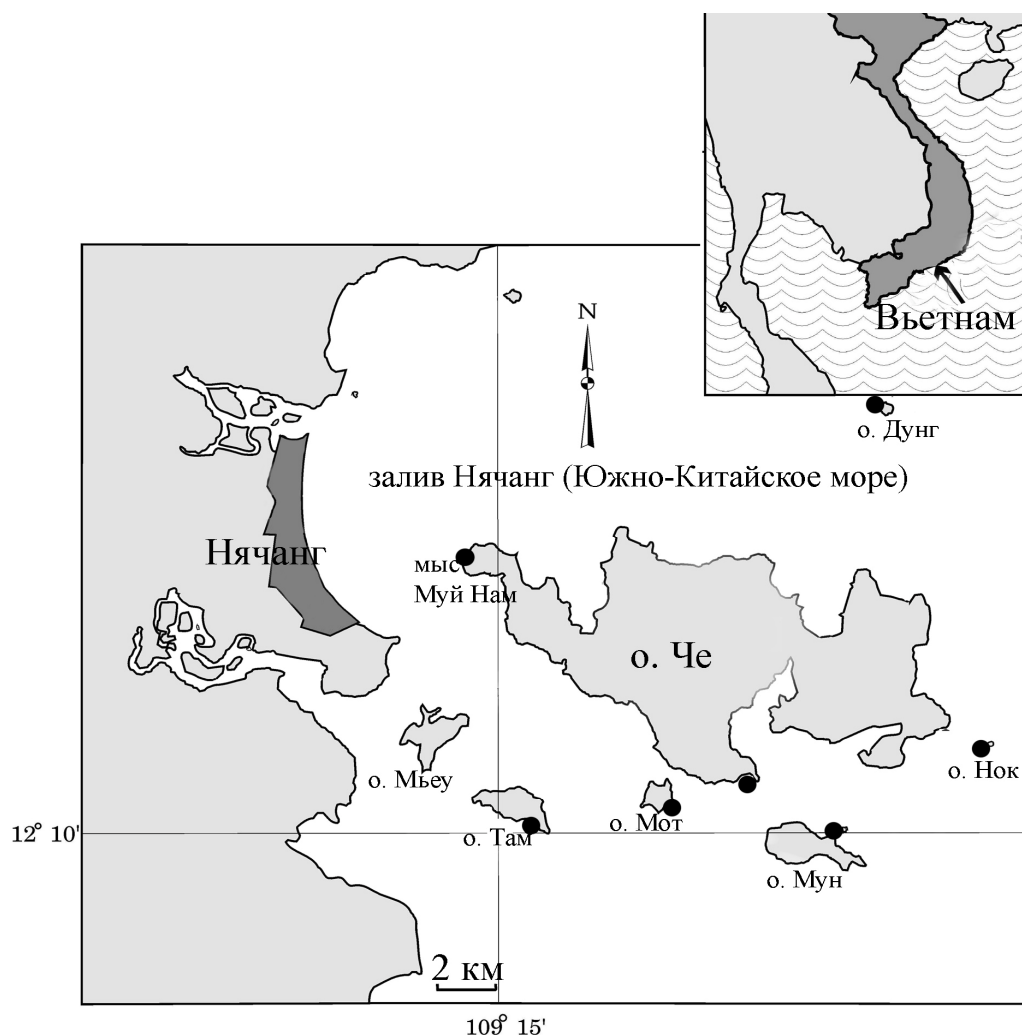


Рис. 1. Карта-схема места проведения исследований.

Оценка экстенсивности и интенсивности заселения хозяев массовыми видами моллюсков была проведена на фиксированном материале (2006, 2007 гг.), а также в ходе подводных наблюдений (2008-2010 гг.). Под водой фиксировались глубина и наличие симбионтов на хозяине.

Лабораторные эксперименты. Аквариумные эксперименты проведены весной 2009-2010 гг. для выявления реакции распознавания хозяина (морских

лилий *Oxycomanthus bennetti* (Müller, 1841) и *Himerometra robustipinna* Carpenter, 1881) брюхоногими моллюсками - симбионтами. В аквариум сажали морскую лилию – естественного хозяина симбионта и представителя другого вида морских лилий, на котором данный вид симбионта не встречался. В центр аквариума на одинаковом расстоянии от морских лилий помещали моллюска в банке-садке. Продолжительность каждого опыта составляла 12 ч. Всего проведено 30 опытов с *Annulobalcis "albus"* sp. nov. в 2009 году и 34 в 2010 году, соответственно. С видом *Annulobalcis "vinaruis"* sp. nov. в 2009 году проведено 10 опытов и 31 в 2010 году.

Для установления специфичности реакции распознавания хозяина симбионтами были проведены лабораторные эксперименты с использованием Y-трубки (тест на хеморецепцию). В дистальные части рукавов Y-трубки подавали воду: либо чистую, либо из емкостей, где содержались морские лилии. В середину одинарной части ("рукояти") подсаживали моллюска (Рис. 2).

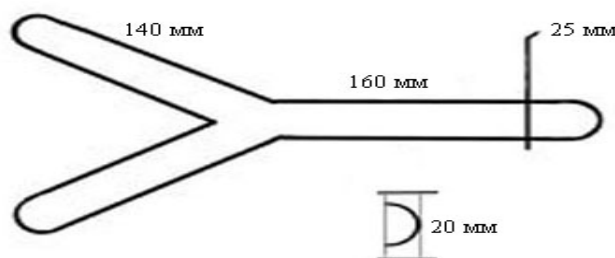


Рис. 2. Устройство Y-трубки.

Время проведения каждого опыта составлял 15 мин. Если симбионт оставался на месте в течение этого времени, опыт считался "нулевым".

С видом *A. "albus"* выполнены 2 серии экспериментов в 2009 году: вода – вода (контроль) (20 повторов); хозяин (*O.bennetti*) – вода (40 повторов); и 2 серии в 2010 году (другой вид морской лилии (*H. robustipinna*) – вода, хозяин –

другой вид морской лилии) – 33 и 30 опытов, соответственно. С видом *Annulobalcis* “*vinarius*” все эксперименты проведены весной 2010 года. Было сделано три серии: вода – хозяин (*Himerometra robustipinna*), вода – другой вид морской лилии (*Comatella nigra*), хозяин – другой вид морской лилии по 30 опытов в каждой серии.

Математическая обработка результатов. Статистический анализ результатов экспериментов проведен с учетом свойств биномиального распределения. В качестве нулевой гипотезы мы приняли равновероятное количество исходов выбора обоих вариантов, предположив, что метаболиты морских лилий не влияют на моллюсков. Вероятность (P) рассчитывали следующим образом:

$$P = \frac{N!}{a!(N-a)!} \left(\frac{1}{2}\right)^N, \text{ где } a - \text{исходы эксперимента, } N - \text{количество}$$

испытаний (Тейлор, 1985).

Для оценки типа распределения, а также для сравнения групп по характеру размещения моллюсков по морским звездам и морским лилиям, были рассчитаны относительная дисперсия (K_σ) с учетом ошибки (S_{K_σ}) и индекс Cassey (C) с учетом ошибки (S_C):

$$K_\sigma = \frac{\sigma^2}{x}; \text{ где: } x - \text{среднее число моллюсков на звезду (включая «пустых»),}$$

σ^2 – дисперсия. Ошибка: $S_{K_\sigma} = \pm K_\sigma \sqrt{\frac{(2 + \frac{K_\sigma}{x})}{n-1}}$; где n – число звезд. Если $0 < S_{K_\sigma} < 1$, то распределение регулярное; если $S_{K_\sigma} = 1$, распределение случайное; а при $S_{K_\sigma} > 1$ распределение агрегированное.

Индекс Cassey: $C = K_\sigma \frac{1}{x}$. Ошибка: $S_C = \pm \left(\frac{\sigma}{x^2}\right) \sqrt{\frac{(2\sigma^2 + (1 - 2K_\sigma)^2)}{n-1}}$. При $S_C < 0$ распределение регулярное; при $S_C = 0$ распределение случайное, а при $S_C > 0$ распределение агрегированное.

Оценка достоверности различий между количественными данными по локализации моллюсков *Annulobalcis* “*vinarius*” на хозяине, а также между значениями экстенсивности заселения морских лилий моллюсками *Annulobalcis*

"*albus*" и *Annulobalcis "vinarius"* проведены с помощью z-теста в программе STATISTICA 6.0.

Анализ достоверности результатов экспериментов был проведен с помощью метода Хи-квадрата в программе Past.

Молекулярно-филогенетические исследования. Для выяснения филогенетических отношений новых для науки видов рода *Annulobalcis* использовали последовательности участка гена первой субъединицы цитохромоксидазы (COI).

Для исследований использовались по 4 экземпляра каждого вида. ДНК была выделена с помощью набора реагентов Diatom Prep 100 (Лаборатория Изоген, Москва), а также с помощью колонок Spin-Column. Продукты амплификации исследуемого гена были получены с помощью полимеразной цепной реакции с использованием универсальных праймеров, комплиментарных 3'- и 5'- концам для COI (Folmer et al., 1994):

LCO1490 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' H-8229

CO2198 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3' 8505

Полученные последовательности участков гена COI (около 650 п.н.) автоматически выравнивали алгоритмом Clustal W2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>) и при необходимости редактировали вручную в программе BioEdit 7.0.5.3. Для построения филогенетических реконструкций использовали Байесовский анализ. В качестве аутгрупп были взяты *Balcis eburnea* (Eulimidae) - AF120636 и *Ataxocerithium* sp. (Cerithiopsidae) - AY296835.1. Из генетического банка были также взяты последовательности COI некоторых других представителей семейства Eulimidae – *Stilifer* sp. (DQ916507.1) и *Thyca cristallina* (FJ386367, FJ386368, FJ386369, FJ386370, FJ386371).

Электронная микроскопия. Для детального изучения морфологии моллюсков рода *Annulobalcis* их раковины и крышечки были высушены, а затем напылены золотом и рассмотрены под электронным микроскопом TESCAN CamScan MV2300. Использовалось увеличение от 80х до 250х.

3. ФАУНА И ТАКСОНОМИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ СЕМЕЙСТВА EULIMIDAE ЗАЛИВА НЯЧАНГ

В результате исследований в заливе Нячанг Южно-Китайского моря (южный Вьетнам) обнаружено 17 видов симбиотических брюхоногих моллюсков из семейства Eulimidae: 5 видов на морских звездах, 7 видов на морских лилиях, 3 вида на морских ежах и 2 вида на голотуриях (Табл. 1).

Описания новых для науки видов изложены в тексте диссертации.

Результаты наших исследований удвоили список видов симбиотических брюхоногих моллюсков семейства Eulimidae в водах Вьетнама, расширив его до 32. Ранее отмечалось 15 видов эулимид, лишь для трех из которых были известны хозяева (Hylleberg, Kilburn, 2003; Lyskin, Britayev, 2005; Thach, 2005, 2007; Moolenbeek, 2009). Только один вид оказался общим – *Thyca crystallina*, – который также был отмечен на морских звездах *Linckia laevigata*. В наших исследованиях все виды моллюсков-симбионтов были обнаружены с хозяевами, а для некоторых из них хозяева были установлены впервые

На построенном по данным анализа последовательностей COI филогенетическом дереве видно, что четыре исследованных новых вида рода *Annulobalcis* образуют отдельную достоверно поддержанную (pp=1) ветвь внутри семейства Eulimidae, хорошо обособляясь от других представителей этого семейства (*Th. crystallina*, *Stilifer* sp. и *Balcis eburnea*) и от представителя семейства Cerithiopsidae (*Ataxocerithium* sp.), взятого в качестве внешней группы (Рис. 3). *Annulobalcis* “*maculatus*”, морфологически наиболее схожий с *Annulobalcis* “*vinarius*”, по результатам молекулярно-филогенетического анализа оказался достоверно (pp=0,99) наиболее близок к видам *Annulobalcis* “*albus*” и *Annulobalcis* “*wareni*”.

Таблица 1. Обнаруженные виды эулимид на иглокожих в заливе Нячанг.

Вид моллюска	Класс хозяина
<i>Annulobalcis</i> “ <i>albus</i> ” sp. nov. *	<i>Oxycomanthus benetti</i> (Müller, 1841) (Crinoidea, Comasteridae)
<i>Annulobalcis</i> “ <i>vinarius</i> ” sp. nov. *	Морские лилии: <i>Himerometra robustipinna</i> Carpenter, 1881 (Himerometridae) , <i>Comatella nigra</i> Carpenter, 1888 (Comasteridae); <i>Stephanometra indica</i> (Smith, 1876); <i>Dichrometra flagellata</i> (Müller, 1841) (Mariametridae); <i>Stephanometra tenuipinna</i> (Hartlaub, 1890); <i>Amphimetra ensifera</i> (A.H. Clark, 1908) (Himerometridae).
<i>Annulobalcis</i> “ <i>wareni</i> ” sp. nov. *	<i>Comaster nobilis</i> (Carpenter, 1884) (Crinoidea, Comasteridae)
<i>Annulobalcis</i> “ <i>maculatus</i> ” sp. nov. *	<i>Comatella nigra</i> (Crinoidea, Comasteridae)
<i>Curveulima cornuta</i> Laseur, 1955	Морские лилии: <i>Phanogenia gracilis</i> (Hartlaub, 1893) (Comasteridae); <i>Comaster nobilis</i> (Comasteridae); <i>Amphimetra ensifera</i> (Himerometridae).
<i>Echineulima mittrei</i> (Petit de la Saussaye, 1851)	<i>Diadema setosum</i> (Leske, 1778) (Echinoidea, Diadematidae).
<i>Fusculima jacksonensis</i> Laseur, 1955	Морские лилии: <i>Phanogenia gracilis</i> (Comasteridae); <i>Dichrometra flagellata</i> (Mariametridae); <i>Comatella nigra</i> (Comasteridae); <i>Himerometra robustipinna</i> (Himerometridae); <i>Colobometra perspinosa</i> (Carpenter, 1881) (Colobometridae).
<i>Goodingia varicosa</i> Lützen, 1972	Морские лилии: <i>Phanogenia gracilis</i> (Comasteridae); <i>Liparometra</i> sp. (Mariametridae)
<i>Melanella</i> sp.1	Голотурии: <i>Bohadschia graeffei</i> (Semper, 1868); <i>Stichopus chloronotus</i> Brandt, 1835
<i>Melanella</i> sp.2	Holothuria gen. sp.
<i>Parvioris australiensis</i> Warén, 1981	<i>Luidia maculata</i> Müller et Troschel, 1842 (Asteroidea, Luidiidae)
<i>Stilifer utinomi</i> Habe, 1951	<i>Linckia laevigata</i> (Linnaeus, 1758) (Asteroidea, Ophidiasteridae)
<i>Stilifer variabilis</i> Boettger, 1893	<i>Culcita novaeguineae</i> Müller et Troschel, 1842 (Asteroidea, Oreasteridae)
<i>Thyca crystallina</i> (Gould, 1846)	<i>Linckia laevigata</i> (Asteroidea, Ophidiasteridae)
<i>Thyca</i> (<i>Granulithyca</i>) <i>nardoafrianti</i> Habe, 1976	<i>Nardoa frianti</i> Koehler, 1910 (Asteroidea, Ophidiasteridae)
<i>Vitreobalcis</i> sp.	<i>Phyllacanthus</i> cf. <i>imperialis</i> Lamarck, 1816 (Echinoidea, Cidaridae)
<i>Vitreolina</i> sp.	<i>Phyllacanthus</i> cf. <i>imperialis</i> (Echinoidea, Cidaridae)

Примечание: * - новые для науки виды. Жирным цветом отмечен вид хозяина, на котором симбионты были встречены массово.

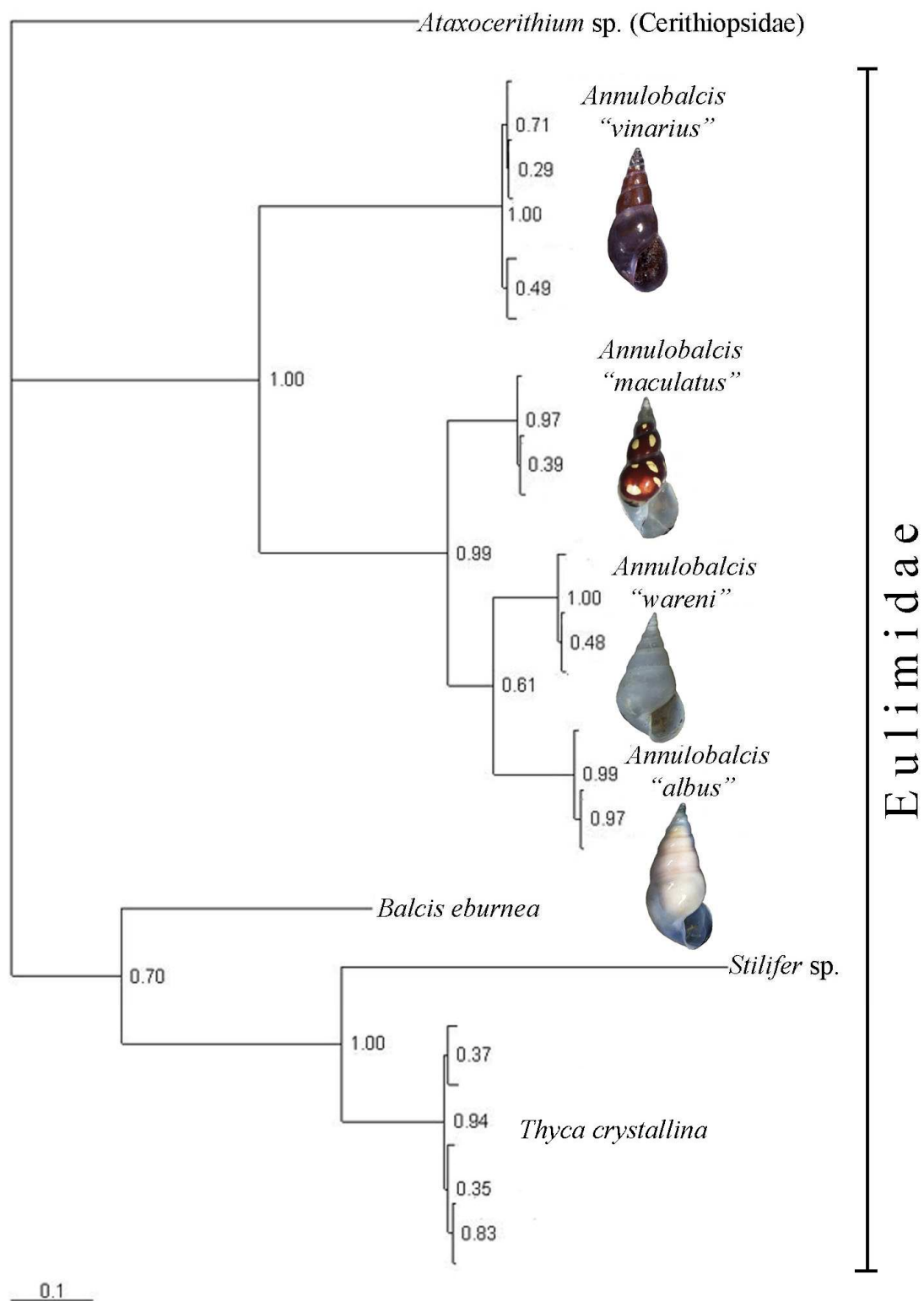


Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное на основе последовательностей участка гена первой субъединицы цитохромоксидазы (COI). Использован Байесовский анализ.

4. ОСОБЕННОСТИ ЗАСЕЛЕНИЯ ХОЗЯЕВ МАССОВЫМИ ВИДАМИ СИМБИОНТОВ

Симбионты морских лилий. Как уже отмечалось ранее, на морских лилиях были обнаружены эулимиды видов: *Annulobalcis* “*albus*”, *Annulobalcis* “*vinarius*”, *Annulobalcis* “*wareni*”, *Annulobalcis* “*maculatus*”, *Curveulima cornuta*, *Fusceulima jacksonensis* и *Goodingia varicosa*. Самыми массовыми видами симбионтов оказались моллюски рода *Annulobalcis*. Анализ предпочтительной локализации, типа распределения, а также оценка экстенсивности и интенсивности заселения хозяев были проведены для двух видов рода *Annulobalcis* – “*albus*” и “*vinarius*”.

Локализация и тип распределения. В ходе подводных наблюдений было установлено, что представители вида *A. “albus”* всегда встречаются на нижней стороне тела своего хозяина – морской лилии *Oxycomanthus benetti* (на циррах) вне зависимости от наличия и размещения на нем других видов симбионтов. Вид *A. “vinarius”* встречается на хозяине беспорядочно (между рук, на циррах, на наружной стороне чашечки) (Табл. 2). Во всех случаях моллюски проникали своими хоботами в тело хозяина между элементами скелета, глубоко не внедряясь в него, но закреплялись достаточно прочно.

Табл. 2. Количественные данные по локализации моллюсков *A. “vinarius”* на хозяине (весна 2010 г., выборка – 78 экземпляров).

Чашечка снизу	Чашечка сверху	Между рук	Цирры	Рука снизу	Рука сверху
24,36%	34,62% *	10,26%	15,38%	14,10%	1,28% *

Примечание: * отмечены значения, различия между которыми достоверны ($p=0,0313$).

Как видно из таблицы 2, наблюдается явное предпочтение моллюсками *A. “vinarius”* чашечки морской лилии (как ее верхней, так и нижней стороны). Очевидно, это связано с тем, что данный участок тела хозяина является

наиболее защищенным от хищников. Сверху чашечку закрывают пиннулы, а снизу защищают цирры, хорошо развитые и многочисленные у вида *Himerometra robustipinna*.

Обнаружено также, что моллюски *Annulobalcis* “*vinarius*” практически не встречаются на морских лилиях – хозяевах (*H. robustipinna*), заселенных офиурами *Gymnolophus obscura* (Ljungman 1867). Из 810 обследованных морских лилий весной 2009-2010 гг. на 105 были обнаружены эулимиды (13%). На 146 других морских лилиях были встречены офиуры (18%). Отмечено лишь 6 случаев (0,74%) совместной встречаемости офиур и моллюсков.

Избегание моллюсками офиур можно объяснить топической конкуренцией между этими двумя видами. Офиура, располагаясь на хозяине, занимает, как правило, ротовой диск, захватывая конечностями основания рук морской лилии. При этом, для моллюсков не остается благоприятного места для прикрепления. Другие же виды симбионтов (полихеты и ракообразные), вероятно, не конкурируют с офиурами, поскольку ведут активный образ жизни на хозяине, постоянно перемещаясь на нем.

Установлено, что моллюски *Annulobalcis* “*albus*” распределены на хозяевах агрегировано. Показатели относительной дисперсии составили 4,18 и 5,12 в 2009 и 2010 гг. Моллюски и *A. “vinarius”* также распределены агрегировано. Значения показателя относительной дисперсии были 1,78 в 2009 и 1,94 в 2010 гг. Таким образом, можно говорить, что у данных видов симбионтов отсутствует внутривидовая конкуренция.

Размерное распределение. Размеры моллюсков *A. “albus”* в пробах варьировали от 1,8 до 6,9 мм в 2009 г. и от 2,1 до 6,3 мм в 2010 г. Размеры моллюсков *A. “vinarius”* варьировали от 1,6 до 8,2 мм в 2009 году и от 2,1 до 9,4 мм в 2010 году.

В оба года исследований преобладали моллюски вида *A. “albus”* с высотой раковины 5,0-5,9 мм, при этом особи крупнее 7 мм не отмечались.

Скорее всего, моллюски размерных классов 1,0-1,9 и 2,0-2,9 мм представляют собой осевшую молодь в исследуемый год. Всего было проанализировано 145 особей в 2009 г. и 95 в 2010 г. (Рис. 4).

Для моллюсков вида *Annulobalcis "vinarius"* на протяжении двух лет наблюдались разные размерные структуры популяций, несмотря на то, что исследования проводились в одно и то же время года (весной). В 2009 году преобладали особи размерного класса 2,0-2,9 мм, а более крупные особи встречались редко (n=94). В 2010 году были обнаружены моллюски размерных групп 2,0-2,9 – 4,0-4,9 мм, однако наиболее массовым был размерный класс 5,0-5,9 мм (n=94) (Рис. 5).

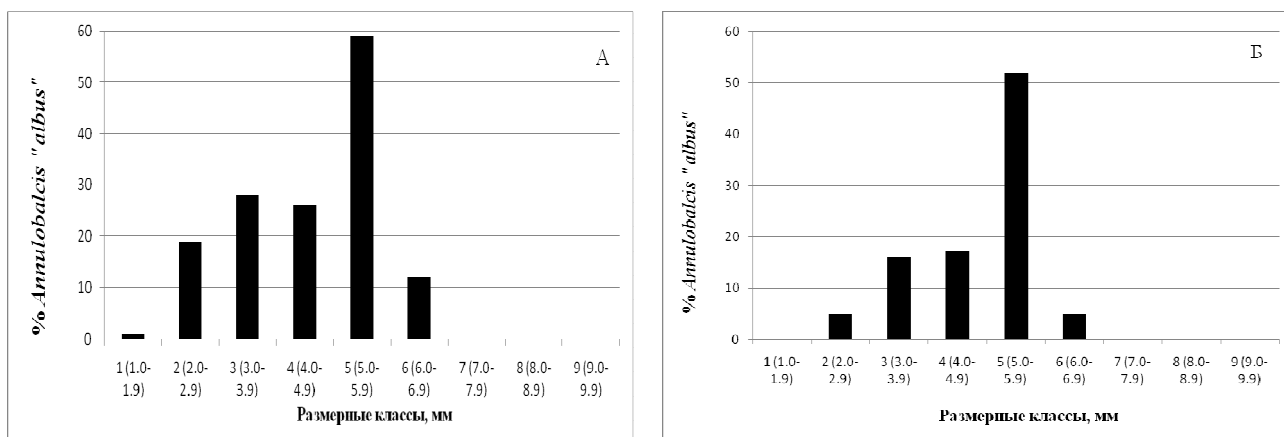


Рис. 4. Частотные распределения размеров моллюсков *A. "albus"*: А – 2009 год (n=145), Б – 2010 год (n=95).

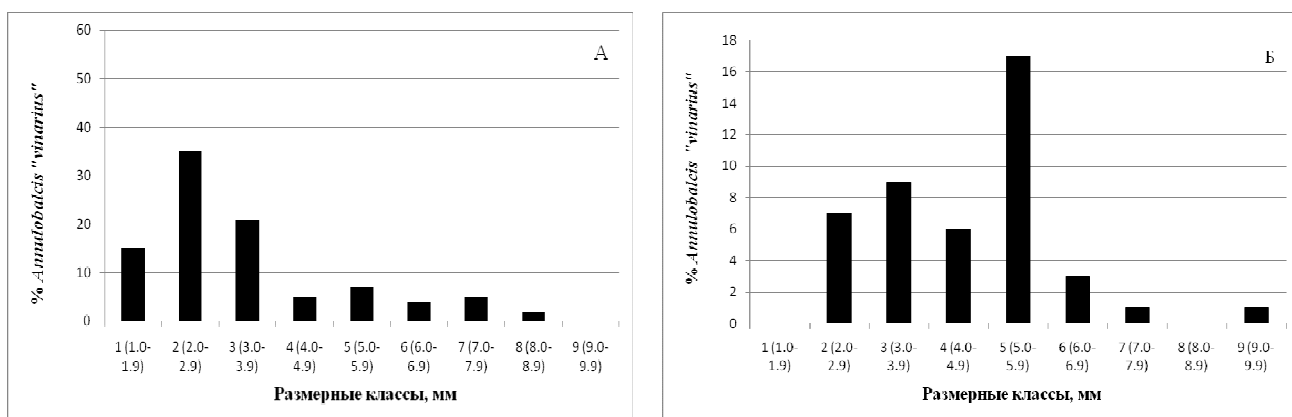


Рис. 5. Частотные распределения размеров моллюсков *Annulobalcis "vinarius"*: А – 2009 год (n=94), Б – 2010 год (n=44).

Экстенсивность и интенсивность заселения. Показатели экстенсивности и интенсивности заселения морских лилий моллюсками *Annulobalcis* “*albus*” практически не меняются за все три года исследований. Для *Annulobalcis* “*vinarius*” наблюдается резкое снижение экстенсивности заселения хозяев в 2009-2010 гг. (достоверность различий подтверждена z-тестом, $p < 0,00001$). (Табл. 3). При этом изменений численности морских лилий – хозяев в исследуемых местах за все годы нами отмечено не было. Вероятно, в 2008 году была вспышка численности данного вида симбиотических моллюсков.

Табл. 3. Экстенсивность и интенсивность заселения моллюсками своих хозяев за 4 года исследований (в целом по заливу Нячанг).

Вид моллюска	Экстенсивность, %			Интенсивность		
	2008	2009	2010	2008	2009	2010
<i>A. “albus”</i>	17,20%	21,60%	21,63%	3,00	3,06	3,25
<i>A. “vinarius”</i>	37,90%	7,20%	7,44%	2,00	1,55	1,50

Моллюски обоих видов были встречены на хозяевах по одной особи и в скоплениях до 11–14 особей (такой характер заселения отмечен чаще для представителей вида *A. “albus”*).

Таким образом, оказалось, что заселение морских лилий – хозяев моллюсками *A. “albus”* в целом за три года исследований выше, чем *A. “vinarius”*. Первый вид чаще образовывал скопления, чем второй.

Симбионты морских звезд. На морских звездах в заливе Нячанг встречаются эулимиды видов: *Parvioris australiensis*, *Stilifer utinomi*, *Stilifer variabilis*, *Thyca crystallina*, *Thyca nardoafrianti*. Самым массовым видом моллюсков – симбионтов морских звезд является *Th. crystallina*, который был основным объектом экологических исследований. При оценке экстенсивности и интенсивности заселения симбионтами хозяев рассматривались также

моллюски *Stilifer utinomi*, которые встречались на морских звездах того же вида – *Linckia laevigata*.

Локализация и тип распределения. Моллюски *Thyca crystallina* обнаружены на оральной стороне своих хозяев – морских звезд *Linckia laevigata*, преимущественно на лучах. Было отмечено лишь несколько случаев локализации моллюсков между лучами и почти на самом оральном диске (Рис. 6).

Доля площади орального диска исследованных морских звезд (20 экземпляров осенней выборки 2006 года) составляла 10,4%, сектора 2 – 49,0%, сектора 3 – 40,6%.



Рис. 6. Плотность *Th. crystallina* на 1 см² в зависимости от сектора тела морской звезды. Над каждым столбиком гистограммы указано общее число экземпляров, обнаруженных в соответствующем секторе. 1 – оральный диск морской звезды; 2 – проксимальная часть луча; 3 – дистальная часть луча

Наблюдаемый характер заселения можно объяснить тем, что оральная сторона тела хозяина менее уязвима и лучше защищает симбиотических моллюсков от нападения хищников, чем аборальная. Проксимальная часть лучей, вероятно, менее активна при движении морской звезды, по сравнению с дистальной частью. С точки зрения получения пищи локализация не играет существенной роли, поскольку моллюски-симбионты питаются тканями хозяев.

Показатель относительной дисперсии моллюсков *Th. crystallina* был больше единицы (с учетом ошибки, $K_{\sigma} > 1$), что говорит об агрегированном

распределении данного вида по своим хозяевам – морским звездам. При сравнении размещения моллюсков в зависимости от размерного класса морских звезд с помощью индекса Cassey было также установлено, что моллюски распределены агрегировано ($C > 0$, $S_C > 0$) (Табл. 4). Такой характер распределения, как правило, возможен при избытке пищи и отсутствии внутривидовой конкуренции.

Размерное распределение. В разные сезоны 2006 г. размерный состав моллюсков *Thyca crystallina* менялся. Весной отмечено больше молоди с высотой раковины < 4 мм при наличии небольшого числа особей с высотой раковины > 9 мм. Осенью преобладали моллюски с высотой раковины 4,0-5,0 мм, то есть произошел сдвиг на один размерный класс, а более взрослые особи становятся еще крупнее (9,0-10,0 мм). Таким образом, можно предположить, что в наших пробах представлены два поколения моллюсков: осевшая весной молодь текущего года и следующее поколение (Рис. 7).

Для *Stilifer utinomi* аналогичные наблюдения проведены только для одного сезона – весны. Однако и здесь отмечена сходная картина: обнаружены моллюски двух размерных групп, видимо, принадлежащим разным поколениям (Рис. 8).

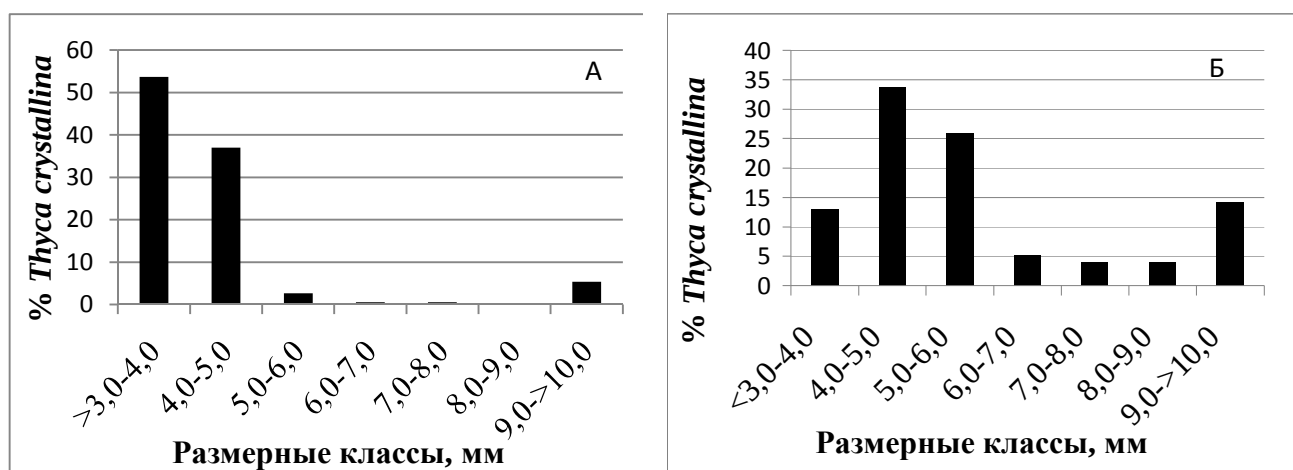


Рис. 7. Частотные распределения размеров моллюсков *Th. crystallina*: А – весенняя выборка (n=186 экз.), Б – осенняя выборка (n=77 экз.).

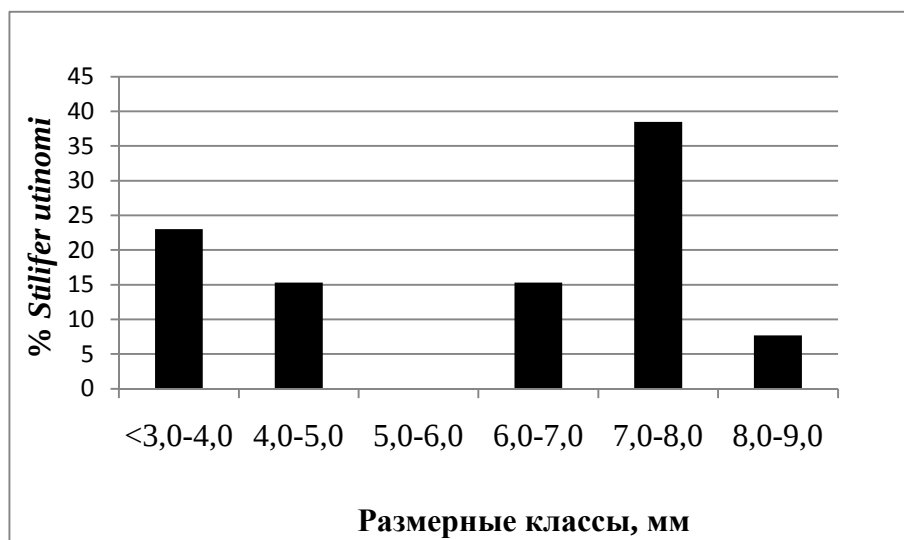


Рис. 8. Распределение частот высот моллюсков *Stilifer utinomi* (весенняя выборка, n=13 экз.).

Экстенсивность и интенсивность заселения. Экстенсивность заселения морских звезд *Linckia laevigata* моллюсками *Thyca crystallina* варьировала от 50,0 до 58,8% в весенней выборке и составила 100% в осенней выборке (все собранные морские звезды были заселены моллюсками). Интенсивность заселения морских звезд моллюсками *Th. crystallina* в весенней выборке колебалась от 1,40 до 2,57; в осенней выборке – от 2,3 до 5,6.

Для *Th. crystallina* в весенний сезон хорошо заметна зависимость экстенсивности заселения от размера морских звезд. С увеличением размера хозяев наблюдается рост экстенсивности заселения моллюсками этого вида.

При рассмотрении средней интенсивности заселения морских звезд разных размеров моллюсками оказалось, что в весенний период она растет до размерной группы хозяев 14-16 см, а затем падает. Последнее, возможно, связано с разной продолжительностью жизни морских звезд и моллюсков. Морские звезды больших размерных групп заселяются новым поколением моллюсков, и поэтому происходит такой перепад интенсивности. К тому времени, когда морские звезды достигают больших размеров, большинство населяющих их моллюсков-симбионтов погибает.

Экстенсивность заселения хозяев (морских звезд *Linckia laevigata*) моллюсками *Stilifer utinomi* в весенней выборке варьировала от 0 до 12,5%, интенсивность заселения – от 1 до 2. В осенний сезон было обнаружено всего три экземпляра этого вида моллюсков.

Для *S. utinomi* наблюдается обратная картина: с увеличением размерного класса морских звезд экстенсивность заселения снижается. Возможно, это связано с тем, что личинки данного вида оседают только на молодых хозяев или с возможностью последующего конкурентного замещения моллюсков *S. utinomi* моллюсками *Thyca crystallina*. Кроме того, причиной наблюдаемой картины может быть низкая численность моллюсков данного вида (всего 13 экземпляров на 8 морских звездах в весенней выборке), поскольку на каждый размерный класс хозяина приходилось всего по несколько экземпляров симбионтов.

Моллюски *S. utinomi* были встречены на хозяевах в большинстве случаев по одному, причем все они были самками (несмотря на то, что для данного вида характерен протандрический гермафродитизм, и из осевшей личинки сначала развивается самец).

Таким образом, можно заключить, что на экстенсивность заселения морских звезд моллюсками вида *Th. crystallina* влияют размеры хозяина. Подобный вывод сложно сделать для *S. utinomi*, поскольку в обеих выборках моллюски этого вида встречались в незначительных количествах, в данном случае можно говорить лишь о тенденции.

5. МЕХАНИЗМЫ И РЕАКЦИЯ РАСПОЗНАВАНИЯ ХОЗЯЕВ СИМБИОТИЧЕСКИМИ МОЛЛЮСКАМИ

Эксперименты в аквариумах. В результате экспериментов, проведенных с *Annulobalcis “albus”* и морскими лилиями видов *Oxycomanthus benetti* (естественный хозяин этого вида моллюсков) и *Comanthus gisleni*

(*Annulobalcis* “*albus*” на них не были отмечены) установлено, что в 50 % случаев моллюски *A. “albus”* заползали на своего хозяина. В оставшихся 50 % случаев симбионты покидали банки-садки, но не посещали морских лилий, поэтому результат рассматривался как «нулевой». Заселение моллюском особи морской лилии, не являющейся хозяином для данного вида симбионтов, ни разу не было зафиксировано. Вероятность равного выбора своего хозяина и другого вида морской лилии была очень низкой [$P=0,00003$ (0,003%)].

В другой серии опытов моллюскам вида *A. “albus”* предлагался выбор между потенциальным хозяином (*Oxycomanthus benetti*) и морской лилией *Comaster nobilis*, на которой данный вид симбионтом не был обнаружен, однако отмечен близкородственный вид моллюсков (*Annulobalcis “wareni”*). В 64,7% случаев моллюски *A. “albus”* выбирали своего хозяина и лишь в 11,8% случаев предпочли другой вид морской лилии (*C. nobilis*). Оценки по Хи-квадрат показали высокую достоверность предпочтения хозяина для вида *A. “albus”* (при $p=0,0004$).

Эксперименты с *Annulobalcis “vinarius”*, морскими лилиями *Himerometra robustipinna* (хозяева исследуемых симбионтов) и *Comatella nigra* (на них отмечены моллюски вида *Annulobalcis “maculatus”*, морфологически сходные с *A. “vinarius”*, и единичные особи вида *A. “vinarius”*.) показали, что моллюски распределились поровну между своим хозяином и другим видом морской лилии. Оценки по Хи-квадрат показали отсутствие избирательности у *A. “vinarius”* (при $p=1,0$). Следовательно, можно с большой долей вероятности говорить об отсутствии строгой избирательности данного вида моллюсков по отношению к морским лилиям *H. robustipinna* и *C. nigra*.

Эксперименты с использованием Y-трубки. В опытах с использованием Y-трубки моллюски вида *A. “albus”* воспринимали воду из аквариума своего хозяина *O. benetti* и слабо реагировали на воду из аквариума без морских лилий (Табл. 4). Несмотря на недостоверность результатов (при

$p=0,10$), тенденция очевидна. В двух других сериях (с обычной морской водой и из аквариума с другим видом морской лилии, а также с водой из аквариумов с хозяином и другим видом морской лилии) этот вид достоверно избегал воду из емкости, где содержался другой вид морской лилии (*Himerometra robustipinna*) (при $p=0,0003$ и $p=0,03$).

Таблица 4. Серии экспериментов с Y-трубкой для вида *Annulobalcis "albus"*.

Рукава Y-трубки		Число повторов	"Нулевой результат"	Выбор		Р (вероятность равного выбора)
Вариант <i>a</i>	Вариант <i>б</i>			Вариант <i>a</i>	Вариант <i>б</i>	
Вода*	<i>O. benetti</i> **	40	16	8	16	0,044
Вода*	<i>H. robustipinna</i> ***	33	10	20	3	0,0002
<i>O. benetti</i> **	<i>H. robustipinna</i> ***	30	11	14	5	0,022

Примечание: * - вода из аквариума без морских лилий, ** - вода из аквариума с морскими лилиями – хозяевами, *** - вода из аквариума с морскими лилиями – не хозяевами.

Для *Annulobalcis "vinarius"* в экспериментах с Y-лабиринтом также выявлено явное предпочтение хозяина. В серии с обычной морской водой и водой из аквариума, где содержался хозяин, вероятность равного выбора воды и хозяина составила 0,032 (3,2 %), а в двух других сериях, где предлагался другой вид морской лилии, она была еще ниже [0,008 (0,8 %) и 0,0004 (0,4 %)] (Табл. 5). Такие результаты позволяют говорить о явном предпочтении моллюсками именно своего хозяина. Симбионты достоверно избегали другой вид морской лилии (при $p=0,01$) и предпочитали своего хозяина (при $p=0,0006$).

"Нулевые результаты" во всех экспериментах, скорее всего, свидетельствуют не о слабости реакции распознавания хозяина моллюсками, а о том, что они в каких-то случаях не испытывают необходимости селиться на

морских лилиях (то есть они являются факультативными симбионтами). Исследуемые виды, открепившиеся от хозяев, способны свободно перемещаться в окружающей среде. Поиск нового хозяина не является затруднительным, поскольку плотность поселений морских лилий на коралловых рифах довольно высока.

Таблица 5. Серии экспериментов с Y-трубкой для вида *Annulobalcis "vinarius"*.

Рукава Y-трубки		Число повторов	"Нулевой результат"	Результаты		Р (вероятность равного выбора)
Вариант <i>а</i>	Вариант <i>б</i>			Вариант <i>а</i>	Вариант <i>б</i>	
Вода*	<i>Himerometra robustipinna</i> **	35	10	8	17	0,032
Вода*	<i>Comatella nigra</i> ***	30	6	18	6	0,008
<i>H. robustipinna</i> **	<i>C. nigra</i> ***	35	7	23	5	0,0004

Примечание: * - вода из аквариума без морских лилий, ** - вода из аквариума с морскими лилиями – хозяевами, *** - вода из аквариума с морскими лилиями – не хозяевами.

На основании полученных результатов, можно сделать вывод, что моллюски вида *Annulobalcis "albus"* способны распознавать своего хозяина (*Oxycomanthus benetti*), и специфичны по отношению к нему. Вид *A. "vinarius"* не видоспецифичен по отношению к морским лилиям *H. robustipinna*, однако явно предпочитает его другому виду морской лилии – *C. nigra*. Вероятно, моллюски используют данный вид морской лилии как резервного хозяина и селятся на него в редких случаях.

6. ВЫВОДЫ

1. В результате исследований симбиотических брюхоногих моллюсков семейства Eulimidae в Южно-Китайском море обнаружено 16 новых для Вьетнама видов, что вдвое увеличило их количество для данного региона.
2. Впервые установлены хозяева: для четырех видов эулимид рода *Annulobalcis* (8 видов морских лилий), для *Fusceulima jacksonensis* (5 видов морских лилий), для *Goodingia varicosa* (2 вида морских лилий) и для *Stilifer variabilis* (1 вид морских звезд).
3. Впервые получены данные о последовательностях нуклеотидов участка гена первой субъединицы цитохромоксидазы COI для четырех видов рода *Annulobalcis*. В результате молекулярно-филогенетического анализа выявлены две пары морфологически сходных видов. Все виды являются новыми для науки.
4. Для массовых видов моллюсков-симбионтов установлена предпочтительная локализация на хозяине: оральная сторона проксимальной части лучей морских звезд для *Thyca crystallina*; цирры морских лилий - для *Annulobalcis* “*albus*” и различные части тела морских лилий, преимущественно чашечка, для *Annulobalcis* “*vinarius*”.
5. Экстенсивность заселения моллюсками *Thyca crystallina* хозяев – морских звезд положительно коррелирует с их размерами.
6. Для моллюсков: *Annulobalcis* “*albus*” и *Annulobalcis* “*vinarius*” экспериментально установлена видоспецифичность реакции распознавания хозяев.
7. Установлено, что два из исследованных видов моллюсков могут выбирать хозяина на взрослой стадии. При этом *Annulobalcis* “*albus*” в экспериментах проявлял четко выраженную реакцию распознавания хозяина и отмечался в природе лишь на одном виде хозяина – морских лилиях *Oxycanthus benetti*; *Annulobalcis* “*vinarius*” был обнаружен на 6 видах морских лилий, и реакция распознавания хозяина моллюсками в опытах была выражена слабо.

Список печатных работ, опубликованных по теме диссертации:

Дгебуадзе П.Ю., Кантор Ю.И. Симбиотические ассоциации брюхоногих моллюсков (Gastropoda, Eulimidae) с морскими звездами *Linckia laevigata* (Echinodermata, Asteroidea) в Южном Вьетнаме // Зоологический журнал, 2009. №88(4). – С. 414-418.

Dgebuadze P.Yu., Kantor Yu.I. On the finding of free-living population of parasitic gastropod *Amamibalcis yessoensis* in Peter the Great Bay (Japan Sea) // Ruthenica, 2009. №19(2). – С. 73-75.

Дгебуадзе П.Ю., Кантор Ю.И. Видовой состав и специфичность брюхоногих моллюсков (Eulimidae) – симбионтов морских лилий Южного Вьетнама // Зоологический журнал, 2010. №89(7). – С. 796-803.

Дгебуадзе П.Ю. Симбиотические брюхоногие моллюски морских звезд *Linckia laevigata* (Linnaeus, 1758) Южного Вьетнама // Материалы конференции молодых сотрудников и аспирантов Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова. Москва. 10-11 апреля . 2008. – С. 121-128.

Дгебуадзе П.Ю. Симбиотические брюхоногие моллюски бесстебельчатых морских лилий (Comatulida, Crinoidea) Южного Вьетнама // Тезисы докладов X съезда гидробиологического общества при РАН. Владивосток, 28 сентября – 2 октября 2009. – С. 115.

Дгебуадзе П.Ю. К исследованию симбиотических брюхоногих моллюсков морских лилий залива Нячанг (Южно-Китайское море) // Материалы конференции молодых сотрудников и аспирантов Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова. Москва. 2-3 апреля 2010. – С. 102-106.