

*На правах рукописи*



ПЕТРУНИНА Александра Сергеевна

**МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ РАКООБРАЗНЫЕ КЛАССА TANTULOCARIDA:  
МОРФОЛОГИЯ, АНАТОМИЯ, СИСТЕМАТИКА И ФИЛОГЕНИЯ.**

Специальность 03.02.04 – зоология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Москва 2012

Работа выполнена на кафедре зоологии беспозвоночных Биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель: доктор биологических наук, вед. науч. сотр.  
**Колбасов Григорий Александрович**

Официальные оппоненты: доктор биологических наук  
**Котов Алексей Алексеевич**  
Федеральное Государственное Бюджетное  
Учреждение Науки Институт проблем  
экологии и эволюции им. А.Н. Северцова  
Российской академии наук

доктор биологических наук  
**Галкин Сергей Владимирович**  
Федеральное Государственное  
Бюджетное Учреждение Науки  
Институт океанологии  
им. П.П. Ширшова Российской  
академии наук

Ведущая организация: Федеральное Государственное Бюджетное  
Учреждение Науки Зоологический институт  
Российской академии наук

Защита диссертации состоится 21 мая 2012 года в 15 час. 30 мин. на заседании диссертационного совета Д 501.001.20 при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, МГУ, Биологический факультет, ауд. М-1.

Факс: 8(495)939-43-09; E-mail: [irbeme@mail.ru](mailto:irbeme@mail.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Автореферат разослан апреля 2012 г.

Учёный секретарь диссертационного совета  
доктор биологических наук, профессор



И.Р. Бёме

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Tantulocarida — самый молодой класс ракообразных. Этих мельчайших эктопаразитических рачков выделили в отдельный таксон только в 1983 году. По сравнению с другими представителями Crustacea они обладают целым рядом уникальных особенностей. В основе сложного жизненного цикла — микроскопическая свободно плавающая личинка — тантулюс, которая после оседания и прикрепления к хозяину может давать начало партеногенетической или половой фазе жизненного цикла. В процессе развития половые стадии претерпевают уникальный среди ракообразных метаформоз, при котором отсутствует типичная линька. Морфологически тантулокариды также отличаются от остальных ракообразных практически полным отсутствием головных конечностей на всех стадиях жизненного цикла. Во многом из-за этого определение родственных связей Tantulocarida с другими Crustacea затруднительно. Предположительно, сестринским таксоном являются ракообразные класса Thecostraca. Однако молекулярный анализ, который мог бы пролить свет на эту проблему, до сих пор не был проведен.

Несмотря на всю уникальность тантулокарид, эти ракообразные никогда не исследовались системно, и работы по ним носят в основном описательный характер. Анатомическое строение тантулокарид изучалось только на тотальных препаратах, в то время как только использование трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) может дать достоверные данные, учитывая, что размеры этих рачков микроскопические.

Система Tantulocarida, состоящая из пяти семейств, носит искусственный характер, так как в основе ее лежит практически только один признак — способ закладки туловищного мешка при развитии самца, который, к тому же, известен далеко не для всех видов. Исследование морфологии и анатомии тантулокарид расширяет наши представления о существующих адаптациях к паразитическому образу жизни, а включение данных по тантулокаридам в филогенетический

анализ ракообразных не только позволит определить родственные связи самих Tantulocarida, но может существенно изменить наши представления о филогении Arthropoda в целом. Все это делает изучение ракообразных класса Tantulocarida актуальной задачей современной зоологии.

### **Цели и основные задачи исследования.**

Основной целью диссертационной работы является выяснение филогенетических взаимоотношений Tantulocarida с другими ракообразными, то есть определение их возможного положения на древе Crustacea и Arthropoda в целом. Для выполнения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучение наружной морфологии, включая ультраструктуру, различных стадий трех видов Tantulocarida: *Serratotantulus chertoprudae*, *Microdajus tchesunovi* и *Arcticotantulus pertzovi*.
2. Исследование внутренней анатомии различных стадий Tantulocarida: тантулюса, партеногенетической самки, развивающегося и дефинитивного самца на примере вида *Arcticotantulus pertzovi*.
3. Проведение молекулярно-филогенетического анализа, для выяснения родственных связей Tantulocarida с другими ракообразными.
4. Описание новых таксонов Tantulocarida.
5. Построение новой системы Tantulocarida на основе оригинальных морфологических исследований и литературных данных с использованием кладистического анализа их филогении.

**Научная новизна.** Впервые при помощи ТЭМ исследовано внутреннее строение различных стадий жизненного цикла тантулокарид: осевшего тантулюса, партеногенетической стадии, взрослого самца. Впервые проведен молекулярно-филогенетический анализ Tantulocarida, определено их положение на древе Arthropoda. Сравнение морфологии и анатомии тантулокарид с представителями сестринского таксона позволили выявить возможные синапоморфии. Описан новый род и новый вид тантулокарид из Индийского океана, а также новый вид из Белого моря. Детально изучена морфология, включая ультраструктуру, выведенных впервые свободно плавающих самцов двух

видов тантулокарид. Впервые проведен формальный кладистический анализ видов Tantulocarida, доказавший искусственность существующей системы. Подтверждена монофилия семейства Microdajidae и парафилия семейств Deoterthridae и Basipodellidae, семейство Onceroxenidae признано невалидным. Составлен ключ для определения видов мировой фауны тантулокарид.

**Теоретическое и практическое значение.** Изучение ультраструктурных особенностей, описание внутреннего строения различных стадий тантулокарид при помощи трансмиссионной электронной микроскопии, а также проведенный филогенетический анализ позволяют на новом уровне провести сравнение Tantulocarida с представителями родственных групп ракообразных и определить их филогенетическое положение. Полученные впервые достоверные данные об анатомии различных стадий тантулокарид могут дополнить учебные курсы и пособия по зоологии беспозвоночных и общей паразитологии. Описанные таксоны пополнят список биоты Белого моря, а также других регионов. Составленный ключ может быть использован для определения видов тантулокарид мировой фауны.

**Апробация работы.** Основные материалы диссертации были представлены на 14-й Международной конференции по мейофауне (Гент, Бельгия, 2010); на 11-й Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря» (Санкт-Петербург, 2010), на 11-й Международной конференции по копеподам (Мерида, Мексика, 2011), на Международной школе по морфологии и систематике копепод (Четумаль, Мексика, 2011), на всемирной конференции по морскому биоразнообразию (Абердин, Шотландия, 2011), на семинаре кафедры зоологии беспозвоночных биологического факультета МГУ (Москва, 2012).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 8 работ, из них 3 статьи в рецензируемых журналах, включенных в список ВАК, и 5 материалы конференций.

**Структура и объем.** Диссертация изложена на 146 страницах печатного текста. Текст работы состоит из следующих разделов: «Введение», «Основные

этапы изучения тантулокарид», «Материал и методы», «Результаты и обсуждение», представленные шестью главами, «Заключение», «Выводы», «Благодарности» и «Список цитируемой литературы». Список цитируемой литературы включает 90 источников, из которых 87 на иностранных языках. Приложение содержит 75 рисунков и 2 таблицы.

**Благодарности.** Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю д.б.н. Григорию Александровичу Колбасову за интереснейшую тему, постоянную помощь и поддержку при выполнении работы; проф. А.В. Чесунову за критические замечания к первому варианту рукописи; руководству и коллективу ББС МГУ за предоставленную возможность сбора материала и содействие на данном этапе работы, сотрудникам межкафедральной лаборатории электронной микроскопии МГУ за помощь в получении данных методами ТЭМ и СЭМ, д.б.н. Н.М. Бисеровой за помощь в интерпретации полученных данных; к.б.н. Н.С. Мюге, Т.В. Неретиной за руководство в процессе выполнения молекулярных исследований. Большое спасибо всем сотрудникам и аспирантам кафедры зоологии беспозвоночных МГУ, а также друзьям и родным за терпение, помощь и поддержку.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### ***Глава 1. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ ИЗУЧЕНИЯ TANTULOCARIDA***

В этой главе описана история открытия и основные этапы изучения ракообразных класса Tantulocarida. Приведен жизненный цикл, а также первичные сведения по морфологии и анатомии этих ракообразных. Кратко рассмотрены проблемы систематики, филогении Tantulocarida, которые более подробно обсуждаются в соответствующих главах.

Жизненный цикл Tantulocarida (Рис. 1). Микроскопическая личинка — тантулюс свободно плавает в толще воды в поисках подходящего хозяина. Прикрепившись к хозяину, тантулюс претерпевает метаморфоз — на его теле формируется вздутие, которое преобразуется в туловищный мешок, по размерам превосходящий саму личику в несколько раз. Метаморфоз может идти двумя

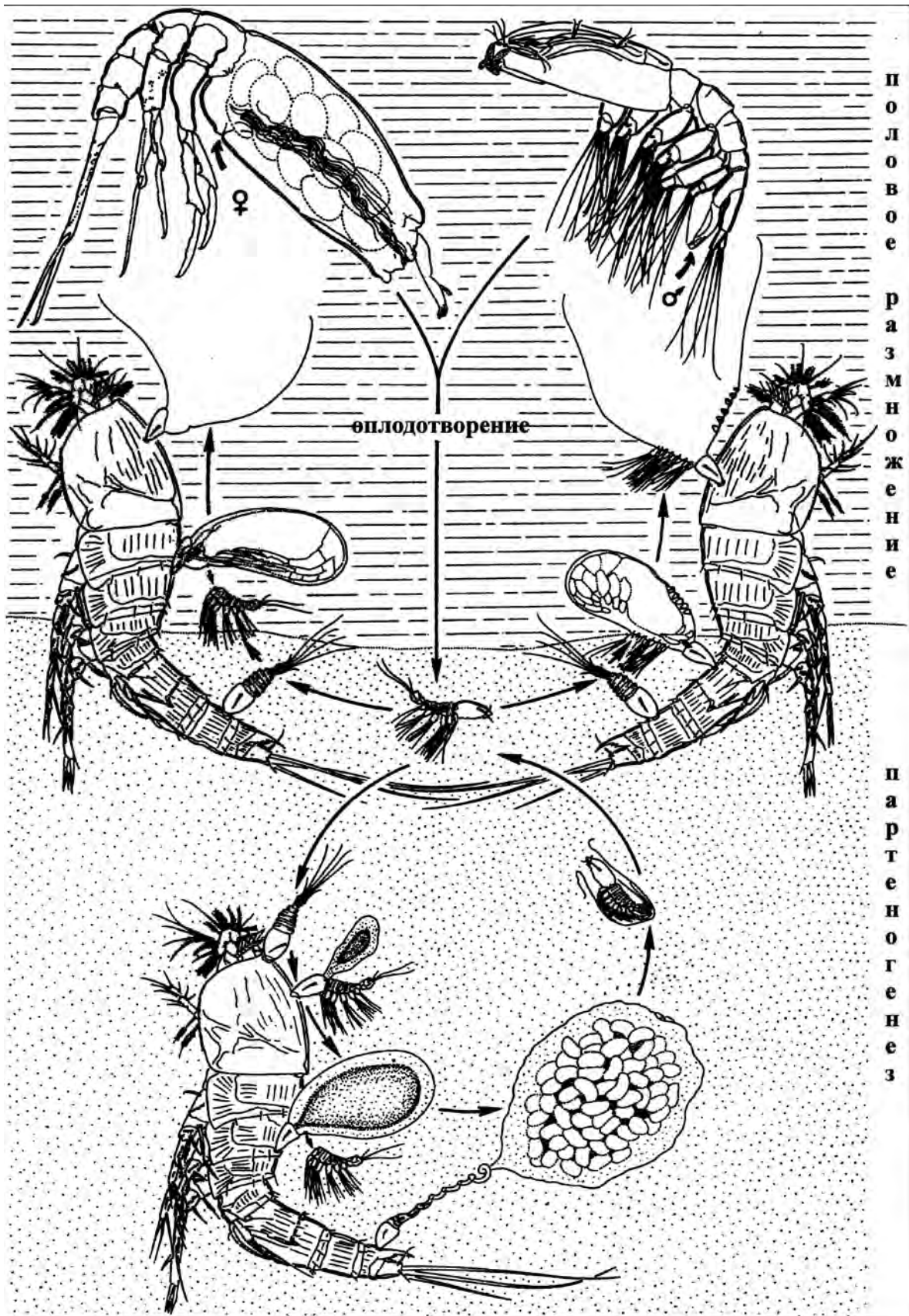


Рис. 1. Жизненный цикл ракообразных Tantulocarida (по Huys, 1991).

путями. В одном случае тантулюс сохраняет туловищные сегменты, внутри такого туловищного мешка закладывается самец, получающий питание через особый тяж – «пуповину». Взрослый самец разрывает кутикулу мешка и переходит к свободному плаванию в толще воды. Таким образом, его развитие происходит без видимых линек.

У других прикрепившихся тантулюсов в ходе метаморфоза сбрасываются все туловищные сегменты и остаётся один цефалон, прикрепленный к хозяину. Позади цефалона развивается туловищный мешок, внутри которого закладывается самка, получающая питание также через «пуповину». Половые стадии выходят в окружающую среду, вероятно, для оплодотворения, которого никто не наблюдал. Во время партеногенетической фазы внутри такого же мешка закладываются партеногенетические яйца, из которых выходит новое поколение тантулюсов.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

**Материал.** Материалом для исследований послужили экземпляры разных стадий жизненного цикла тантулокарид трех видов: *Arcticotantulus pertzovi*, *Microdajus tchesunovi*, *Serratotantulus chertoprudae*.

Материал по *A. pertzovi* и *M. tchesunovi* был собран в 2007-2011 годах в проливе Великая Салма (Кандалакшский залив, Белое море) между Крестовыми островами и бухтой Биофильтров (66°31'41"с.ш., 33°11'08"в.д.) с глубины 20-70м. Один экземпляр личинки тантулюса вида *S. chertoprudae* на хозяине гарпактикциде семейства *Canthocamptidae*, найден Г.А. Колбасовым в ходе разбора коллекций Зоологического института РАН (Санкт-Петербург).

**Электронная микроскопия.** Для исследования на сканирующем электронном микроскопе особи паразитов постфиксировались 2% раствором OsO<sub>4</sub> в течении 2-4 часов, дегидратировались в смесях спиртов и ацетоне, сушились методом критической точки в CO<sub>2</sub>. После напыления платино-палладиевой смесью, материал был исследован с помощью сканирующего электронного микроскопа JEOL JSM-6380LA.



Для исследования на трансмиссионном электронном микроскопе материал (различные стадии *A. pertzovi*), зафиксированный глутаральдегидом на фосфатном буфере, постфиксировался OsO<sub>4</sub> в течение 2-4 часов, обезвоживался в серии спиртов и ацетоне с последующей проводкой в смолу (аралдит). Срезы изготовленные на ультратоме Leica, окрашивались и контрастировались уранил-ацетатом и цитратом свинца. Материал был исследован на трансмиссионных электронных микроскопах JEOL JEM 100B и JEOL-1011 80 kV.

**Молекулярно-генетический анализ.** Тотальную ДНК экстрагировали стандартным способом «на колонках» с использованием набора Promega Wizard SV Genomic DNA purification kit с модификациями. ПЦР проводили с использованием стандартных праймеров для 18S рибосомальной ДНК: 18SIF, 18S5R(r), 18SA2.0, 18S9R, 18S3F, 18Sbi. Секвенирование производили с тех же праймеров, что и ПЦР, на автоматическом секвенаторе ABI 3100 Genetic Analyzer (США) с использованием набора для секвенирования BigDye v.1.1. Кроме данных, полученных путем секвенирования, при построении филогенетических деревьев были использованы последовательности, депонированные в базе данных Gen bank, NCBI. Для обработки хроматограмм и стыковки фрагментов использовалась программа SeqMan из пакета программ DNA-Star Lasergene 7. Для построения деревьев мы использовали массив данных для пятого прогона из недавней работы Кунеманна: полученные нами два сиквенса тантулокарид были вручную помещены в матрицу сиквенсов пятого прогона (Run5, Koenemann et al., 2010, электронное приложение).

Построение филогенетических деревьев производили методом обратной вероятности (Bayesian estimation of posterior probability) в программе MrBayes 3.1. (Ronquist, 2003). Для отображения результатов построений использовался пакет программ MEGA5 (Tamura et al., 2011).

**Кладистический анализ.** Для проведения кладистического анализа была сформирована матрица из 64 морфологических признаков личинки тантулюса и самца для 34 видов тантулокарид. На основании этих морфологических признаков в компьютерной программе PAUP 4.0 (Swofford, 1998) были

реконструированы филогенетические деревья методами «Neighbour-joining» и «Bootstrap 50% majority rule consensus». Все признаки были помечены как равновесные «equal weight» и неупорядоченные «unordered».

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

### ***Глава 3. Морфология ракообразных Tantulocarida.***

В данной главе диссертации приводится детальное описание морфологии всех известных стадий жизненного цикла ракообразных класса Tantulocarida, на примере изученных нами видов *S. chertoprudae*, *M. tchesunovi*, *A. petrzovi*, а также по литературным данным.

Микроскопическая свободно плавающая инвазионная личинка – тантулюс (80-110 мкм в длину) состоит из цефалона, лишенного каких-либо головных конечностей, и восьми туловищных сегментов (шесть торакальных + два абдоминальных) (Рис. 2а). Каждый сегмент торакса несет, как правило, двуветвистые торакоподы (Рис. 2б). Первый абдоминальный сегмент лишен придатков, второй - с парой односегментных фуркальных ветвей на заднем крае. В передней части цефалона на вентральной стороне располагается прикрепительный диск в форме присоски, служащий для удерживания личинки на кутикуле хозяина. На наружной поверхности цефалона имеются, расположенные в особом порядке поры, некоторые из которых несут щетинки.

Партеногенетическая самка – устоявшееся, но не совсем корректное название прикрепленной партеногенетической стадии тантулокарид. Эта стадия паразитическая и представляет собой цефалон личинки тантулюса, за которым располагается обширный кутикулярный мешок (Рис. 1). Внутри такого туловищного мешка развиваются партеногенетические яйца, содержащие новое поколение тантулюсов.

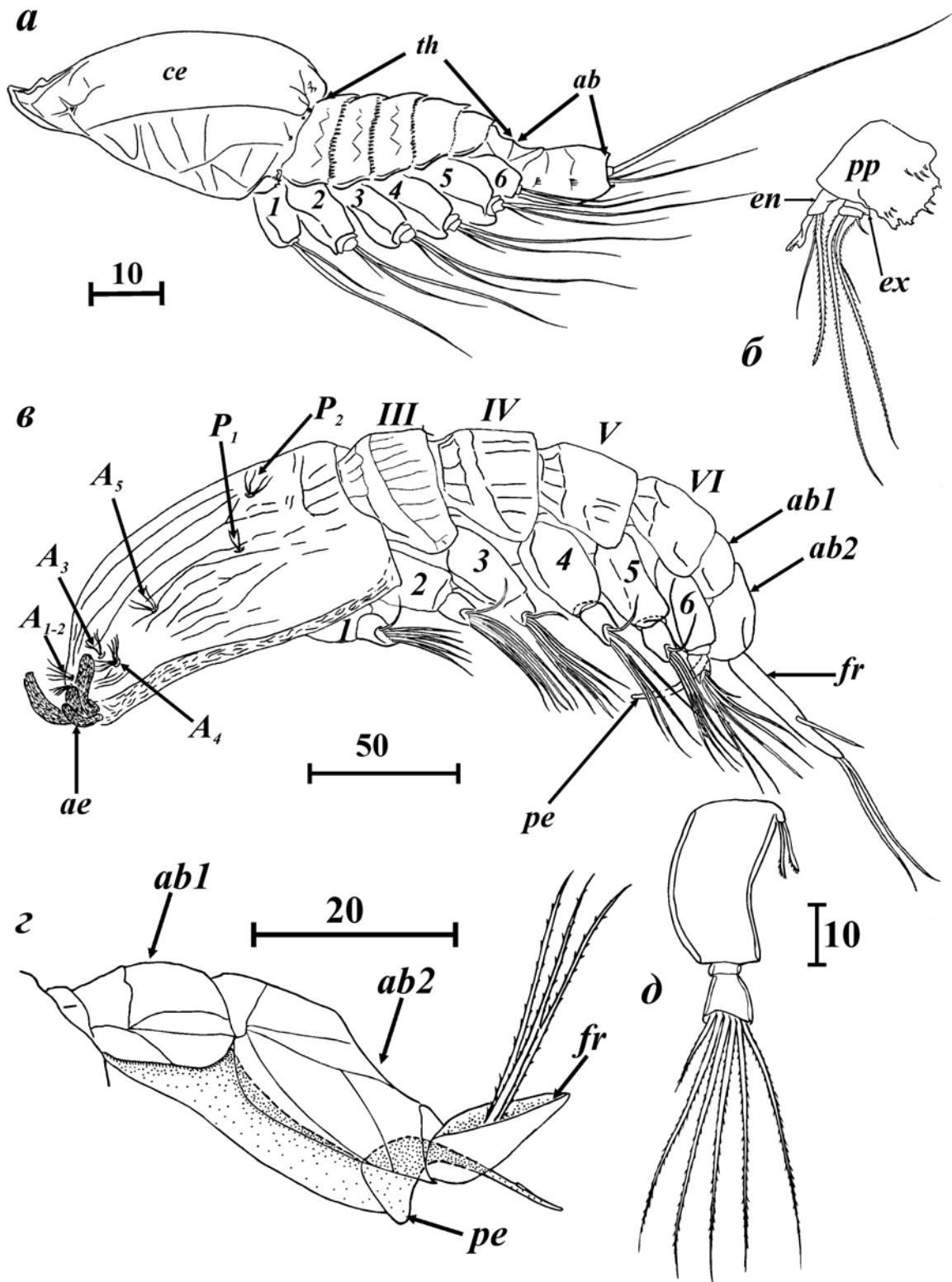


Рис. 2. Морфология различных стадий Tantulocarida (*a, б* - *Serratotantulus chertoprudae*, *в* - *Microdajus tchesunovi*, *г, д* - *Arcticotantulus pertzovi*)

*a* — тантулюс, общий вид сбоку; *б* — тантулюс, второй торакопод, вид спереди; *в* — взрослый самец, общий вид сбоку; *г* — самец, абдоминальные сегменты, несущие пенис и фурку, вид сбоку; *д* — самец, шестой торакопод, вид спереди. Обозначения: *ae* — эстетаски, *ab1, ab2* — первый и второй сегменты абдомена, *ce* — цефалон, *en* — эндоподит, *ex* — экзоподит, *fr* — фурка, *pe* — пенис, *pp* — протоподит, *th* - торакс. Масштаб в мкм.

Нами впервые были выведены свободно плавающие взрослые самцы тантулокарид двух видов *A. pertzovi* и *M. tchesunovi*. Их внешняя морфология, включая ультраструктуру, была изучена с применением сканирующей электронной микроскопии. Тело самца состоит из цефалоторакса, образованного слиянием головных и двух торакальных сегментов и покрытого карапаксом, и шести свободных туловищных сегментов, последние из которых входят в состав двусегментного абдомена (Рис. 2в). Первый сегмент абдомена имеет непарный вентральный вырост, с которым подвижно сочленяется пенис (Рис. 2з), а второй сегмент заканчивается развитой односегментной фуркой (Рис. 2з). Две группы эстетасков, интерпретируемые как рудименты антеннул, расположены на переднем конце цефалоторакса (Рис. 2в). К сенсорным структурам также относятся парные чувствительные поры, каждая из которых несет сенсиллу с двумя или более нитевидными окончаниями. Самец обладает шестью парами плавательных торакоподов, первые пять из них — двуветвистые, шестой лишен эндоподита (Рис. 2д).

Проведено сравнение морфологии самцов девяти известных видов, в результате которого были выявлены общие, скорее всего, плезиоморфные черты, которые присущи почти всем самцам тантулокарид: 1. две группы по четыре эстетаска на переднем конце тела; 2. семь пар сенсорных пор, содержащих сенсиллы; 3. наличие парных щетковидных щетинок на торакоподах 1-6 (Рис. 2д); 4. односегментные фуркальные ветви, вооруженные тремя щетинками.

#### ***Глава 4. Анатомия ракообразных *Tantulocarida*.***

В этом разделе диссертации приводятся данные по внутреннему строению тантулокарид, которые впервые получены при помощи трансмиссионной электронной микроскопии. Охарактеризована топология органов цефалона прикрепившейся личинки и туловищного мешка партеногенетической самки, описаны общие черты строения свободно плавающего самца.

В цефалоне тантулюса после его оседания можно обнаружить в основном только кутикулярные структуры, не подвергшиеся лизису: хоботок - непарный тонкостенный орган около 1,5-2 мкм в диаметре и около 15-20 мкм в длину,

расположенный в цефалоне, дорсально над кишкой (Рис. 3, 4а). У свободно плавающего тантулюса он может выворачиваться (Huys, 1989) через отдельное отверстие собственной полости на оральном диске, которое располагается над ротовым (Рис. 3). Стенки хоботка состоят из тонкой кутикулы (40 нм), внутри него располагаются четыре трубковидных протока (канала), которые, вероятнее всего, связаны с цементными железами, секрет которых может выделяться через терминальное отверстие, находящееся в центре дистальной площадки хоботка (Рис. 3). У прикрепившегося тантулюса хоботок целиком расположен внутри собственной кутикулярной полости (Рис. 3) наподобие ввернутого пальца перчатки. Каналы цементных желез имеют округлое сечение, их диаметр составляет около 0,25 мкм. По строению стенок они напоминают гофрированный шланг: в стенках каналов имеются кольцевые утолщения, располагающиеся по всей длине каналов на расстоянии 0,2 мкм друг от друга (Рис. 4а). У тантулюса без видимых признаков метаморфоза в задней части цефалона вентрально расположены клетки с активными ядрами и губчатой цитоплазмой с множеством небольших вакуолей. Предположительно, они входят в состав парной цементной железы (Рис. 3), которая в связи с утратой функциональной нагрузки после прикрепления тантулюса, реорганизуется или просто резорбируется. Нами было показано, что хоботок участвует в процессе прикрепления к хозяину, так как через него происходит выделение клеящего цемента.

В центральной части цефалона располагается уникальная непарная структура — стилет. Проксимальная часть стилета полая внутри (Рис. 3), но его дистальная часть цельная, без полости (Рис. 3, 4в). Достоверно известно, что передняя часть стилета находится непосредственно внутри эктодермальной части кишки, таким образом, он способен выдвигаться наружу через ротовое отверстие (Рис. 3, 4в).

При сравнении со стилетом родственного тантулокаридам таксона *Rhizocerphala*, можно отметить множественные общие морфологические и функциональные черты. Так, стилеты обеих групп - это непарные кутикулярные органы, которые служат для облегчения проникновения внутрь тела хозяина структур паразита. Полноценных доказательств гомологии этих структур пока

нет, однако, скорее всего, стилеты корнеголовых раков и тантулокарид не являются гомоплазиями.

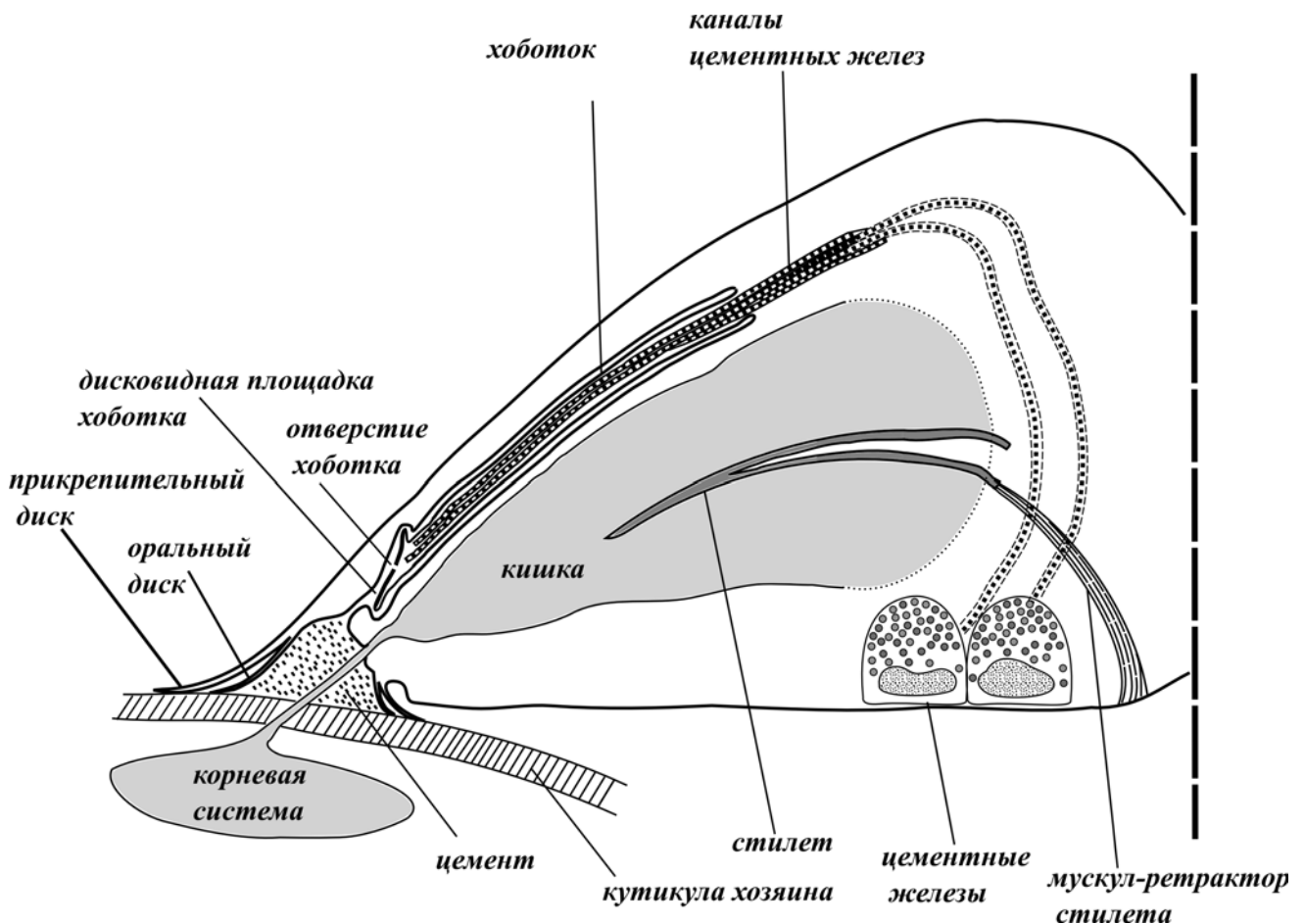


Рис. 3. Топология основных структур цефалона прикрепленной личинки – тантулоуса.

Нами было показано, что так называемая корневая система тантулокарид действительно является структурой паразита, расположенной в тканях хозяина (Рис. 3, 4а). Канал диаметром 1мкм с толстыми кутикулярными стенками проникает в кутикулу хозяина, через отверстие, проделанное стилетом, образуя непосредственно под его покровами выстланную кутикулой полость (Рис. 4а). Было доказано, что этот канал является непосредственно продолжением передней кишки паразита (Рис. 3). Следует отметить, что корневые системы корнеголовых и тантулокарид – гомоплазии, так как у корнеголовых, корневая система – это выросты самого тела, а у тантулокарид она представляет вырост кишки.

В задних отделах цефалона молодой партеногенетической самки располагаются зачатки будущих яиц. Они представляют собой розетки плотно сомкнутых клеток с крупными ядрами и электронноплотной цитоплазмой.

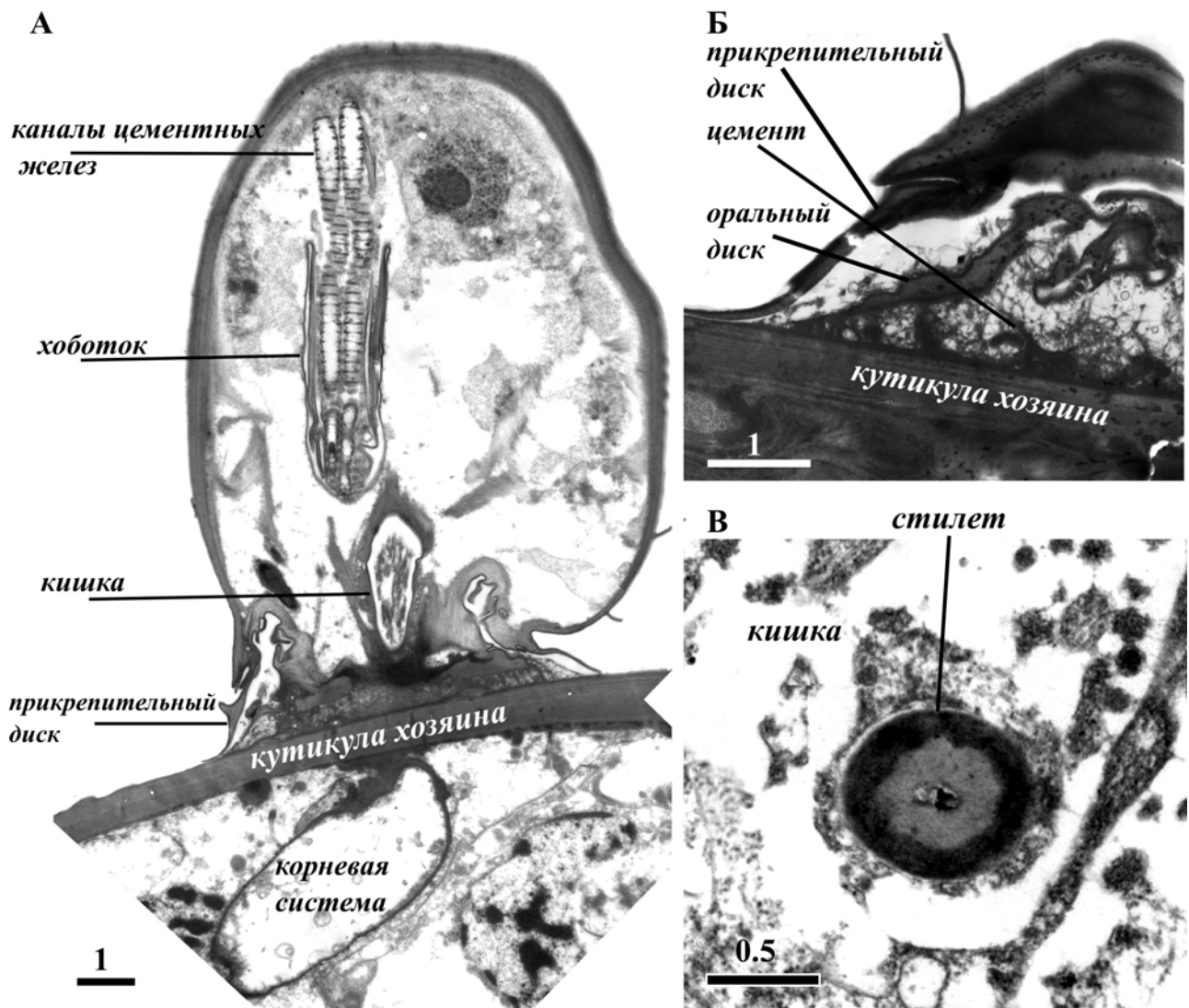


Рис. 4. Строение цефалона тантулюса *A. pertzovi* (ТЭМ). А – поперечный срез цефалона тантулюса через прикрепительный диск; Б – поперечный срез через место прикрепления тантулюса к кутикуле хозяина; В – стилет, поперечный срез. Масштаб в мкм.

Получены первые данные по внутреннему строению дефинитивного самца тантулокарид. Нервная система самца представлена головным мозгом (Рис. 5) и брюшным нервным стволом, проходящим через все сегменты тела и заканчивающимся в первом абдоминальном сегменте. Головной мозг смещен во вторую треть цефалоторакса, так как самое переднее положение занимает так называемая сотовидная структура (Рис. 5, 7) (см. ниже).

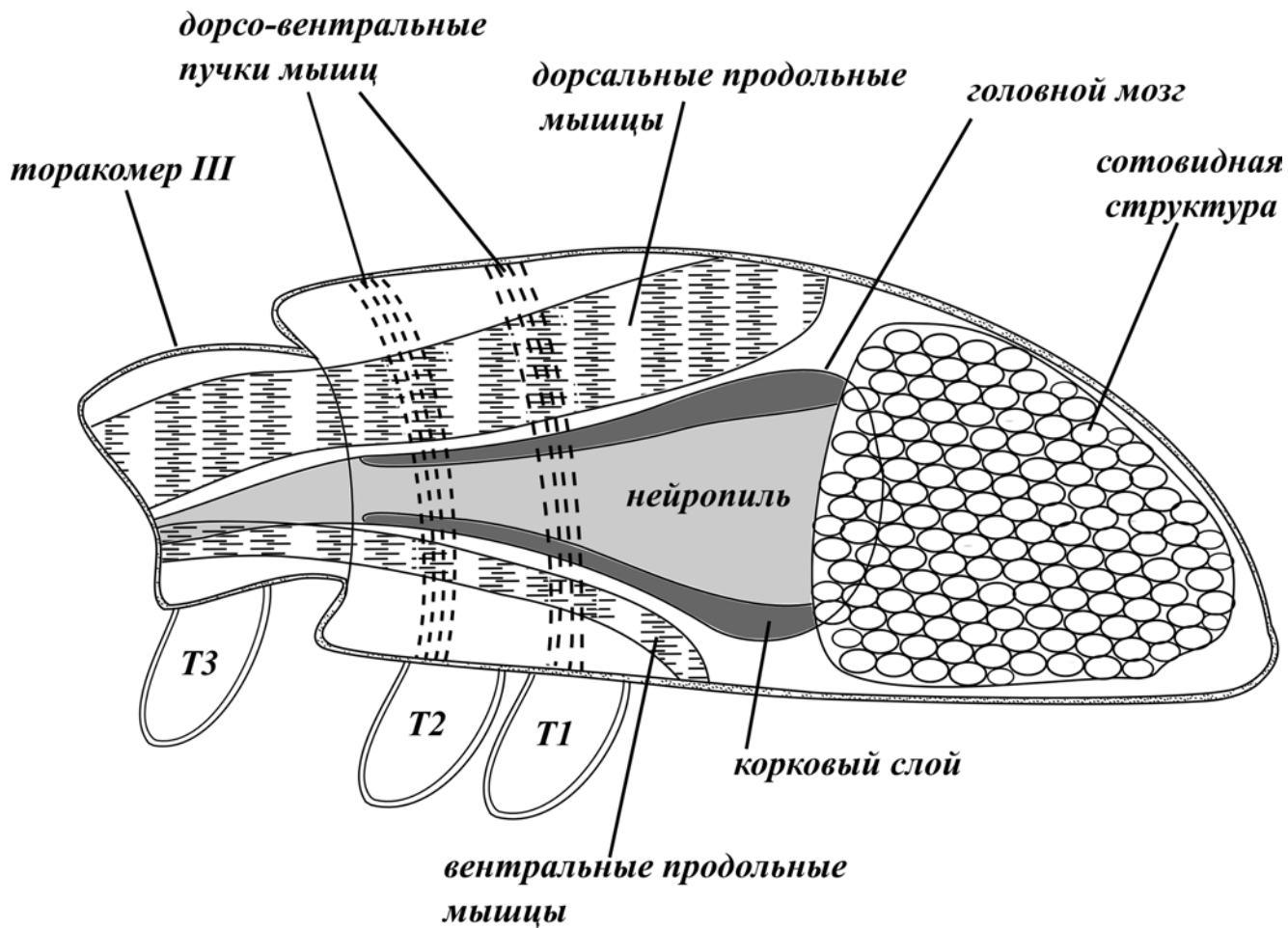


Рис. 5. Основные структуры цефалоторакса самца. Схема сагиттального среза.

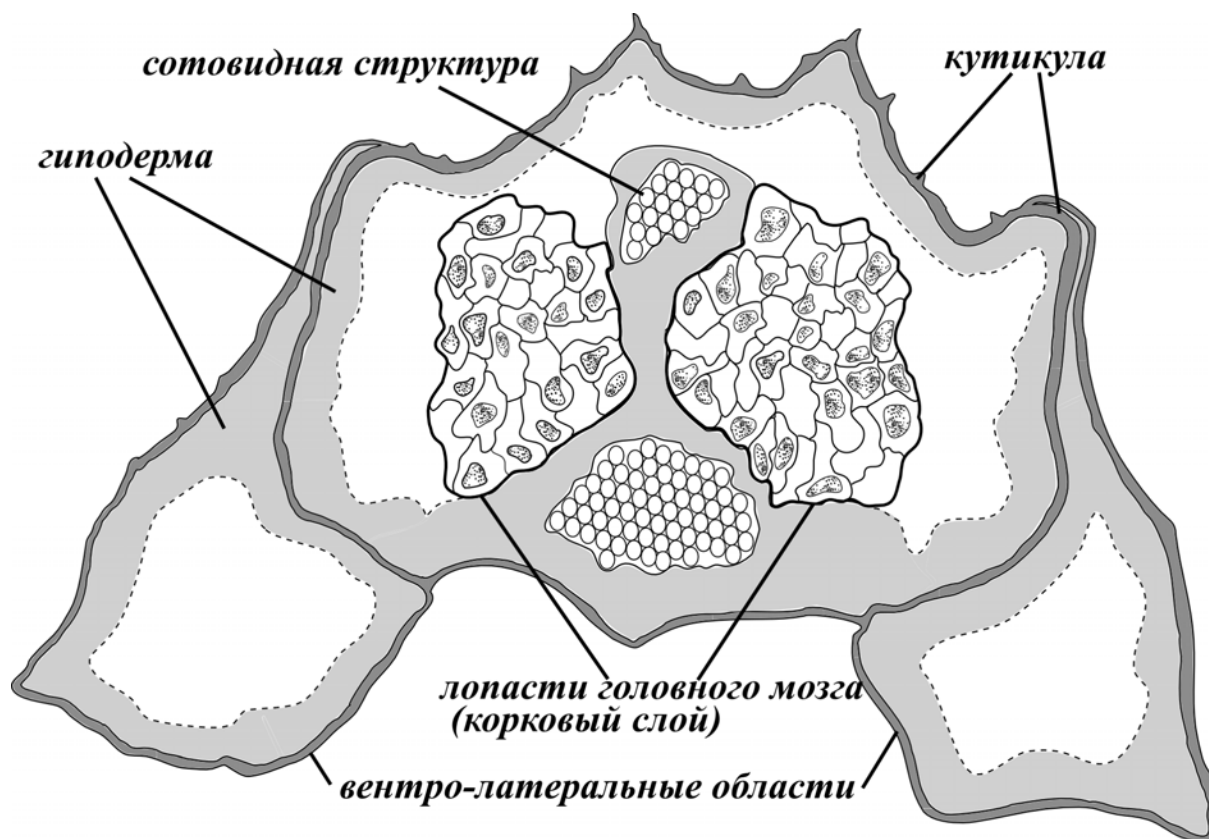


Рис. 6. Схема поперечного среза цефалоторакса самца на уровне начала головного мозга.



Передняя часть мозга представлена парными лопастями, которые разделены по середине вертикальной полоской остатков сотовидной ткани (Рис. 6). Максимальная ширина головного мозга - 27 мкм, где он представлен обширной зоной нейропиля (20 мкм шириной), окаймленной телами нейронов (Рис. 5).

В теле самца наблюдаются два продольных тяжа мускулатуры: дорсальный (разгибатели) и вентральный (сгибатели) (Рис. 5). Они отходят от верхней и нижней стенок цефалоторакса в районе его середины. Мышцы — разгибатели мощным пластом проходят через все торакальные сегменты и крепятся к дорсальной стороне первого абдоминального сегмента. В свободных торакальных сегментах (не входящих в состав цефалоторакса) мышечные клетки занимают почти все пространство, за исключением вентрального нервного ствола и тонкого слоя эпидермиса. Мускулатура пениса представлена парными тяжами (разгибателями), которые берут начало на дорсальной стенке первого абдоминального сегмента тела и, проходя в пенис, крепятся к его вентральной стороне.

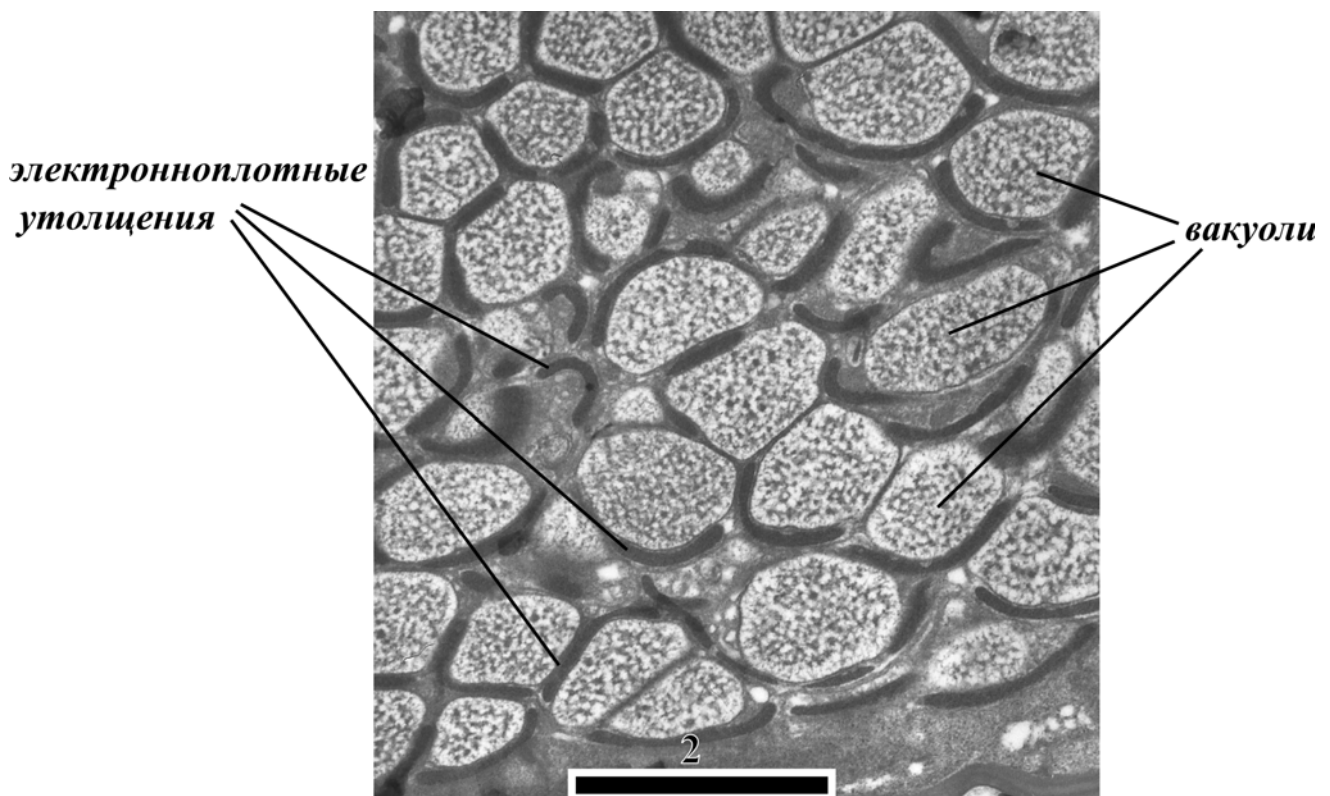


Рис. 7. Особенности внутреннего строения самца *A. pertzovi*. Сотовидная структура, поперечный срез, ТЭМ. Масштаб в мкм.

Переднюю треть цефалоторакса самца занимает сотовидная структура крайне своеобразного строения (Рис. 5, 7). Показано, что она имеет клеточное строение. Каждая клетка несет тонкий слой цитоплазмы и огромную вакуоль, которая занимает основной объем (Рис. 7). В клетках также имеются плоские электронноплотные структуры толщиной около 100 нм, расположенные в тонком пристеночном слое цитоплазмы и не имеющие собственной мембраны (Рис. 7). Вакуоли в среднем около 1 мкм в диаметре, окружены одной мембраной и заполнены рыхлым гомогенным содержимым. Клетки расположены близко друг к другу, что обуславливает «сотовидную» фактуру ткани. Ни одна из описанных клеточных структур не напоминает по своему строению ни ядро, ни митохондрии. Также не были обнаружены микротрубочки, характерные для жгутиковых структур. Структуры подобные сотовидной ткани не были описаны для других ракообразных. Назначение ее также остается загадкой. Учитывая то, что свободно плавающие самцы не питаются, наиболее вероятно запасующая функция сотовидной ткани. Кроме того, косвенно это подтверждает тот факт, что практически весь объем цефалоторакса на уровне входа в него пуповины составляет сотовидная ткань.

Интересным результатом было обнаружение в теле самца обширных вентролатеральных областей — симметричных зон цефалоторакса, полностью отделенных от центральной части тела толстой кутикулой (Рис. 6). В передней части цефалоторакса именно от этих областей отходят кластеры эстетасков. Предположительно, эти зоны могут служить, как хранилище запасных веществ, так как содержат многочисленные липопротеиновые капли, кроме того, они придают самцу дополнительную плавучесть.

Получены данные по строению сенсорных структур самцов тантулокарид: эстетасков и пор с сенсиллами. Отмечено наличие всего нескольких чувствительных отростков, заходящих внутрь эстетаска, и отсутствие каких-либо глиальных клеток, сопутствующих этим дендритам. Кроме того, наличие крайне тонкой складчатой кутикулы (ок. 30 нм) подтверждает принадлежность этих сенсорных органов к эстетскам. Показано, что каждая пора несет только одну сенсиллу, имеющую несколько нитевидных окончаний.

## Глава 5. Филогения ракообразных *Tantulocarida*.

Определение наиболее родственной по отношению к *Tantulocarida* группы ракообразных затруднено из-за недостаточного количества морфологических признаков. На данный момент предполагается, что положение гонопоров самца на седьмом сегменте тела, и гонопора самки на первом грудном сегменте свидетельствует об родстве тантулокаррид с ракообразными класса Thecostraca (*Cirripedia*, *Ascothoracida*, *Facetotecta*).

Впервые получены сиквенсы 18S рибосомальной ДНК двух видов тантулокаррид: *A. pertzovi* и *M. tchesunovi*. В результате проведенного филогенетического анализа получено дерево, реконструирующее филогению всех *Arthropoda*, включая *Tantulocarida*. Подтверждается близкое родство тантулокаррид с таксоном Thecostraca. На дереве *Tantulocarida* располагаются внутри текострак, как сестринский таксон *Cirripedia* (Рис. 8).

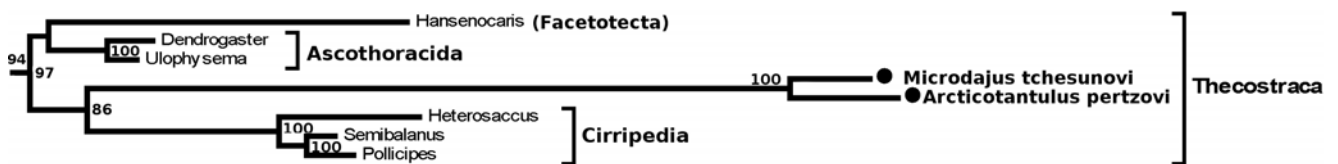


Рис. 8. Фрагмент филогенетического дерева членистоногих, построенного методом Байесовского анализа выравнивания №5 (на основе данных из Koenemann et al., 2010), дополнительно включающего 18S сиквенсы двух видов тантулокаррид (*A. pertzovi*, *M. tchesunovi*) (отмечены точками).

Проведено сравнение характерных внутренних и внешних структур личинки тантулюса и циприсовидной личинки. Выявлен признак, который, возможно, является синапоморфией клады *Tantulocarida* + *Cirripedia*: личиночные стадии обеих групп обладают уникальной среди ракообразных способностью фиксации на субстрате при помощи химического вещества белковой природы, так называемого цемента. Кроме того, тантулюс тантулокаррид и циприс некоторых усоногих обладают сходной структурой - непарным стилетом, служащим для прокалывания кутикулы хозяина. Гомология стилетов тантулокаррид и циррипедий также не исключена. Общепринятой синапоморфией монофилетического таксона Thecostraca считается наличие на карапаксе

циприсовидной личинки пяти пар специализированных сенсорных структур — решётчатых органов, которые являются производными науплиальных щетинок. Типичные решётчатые органы в явном виде не были выявлены ни у одной из известных стадий жизненного цикла тантулокарид. Однако не исключена гомология сенсорных пор самцов тантулокарид с решётчатыми органами текострак или их вторичная редукция.

### ***Глава 6. Систематика ракообразных *Tantulocarida*.***

Современная система *Tantulocarida* включает 36 видов из 23 родов, входящих в пять семейств. Ошибки в трактовке тагмозиса тела личинки, который был ключевым систематическим признаком на уровне семейств, а также неприменимость остальных признаков ко всем известным видам, дают основания полагать, что система тантулокарид искусственна. Низкий уровень первичных описаний видов не позволяет полностью доверять их распределению по родам. Однако, до сих пор не проводились попытки анализа существующей системы *Tantulocarida*. Нами впервые проведен формальный кладистический анализ видов *Tantulocarida*. Для этого составлена матрица из 64 морфологических признаков личинки тантулюса и самцов. Анализ подтвердил, что современная система *Tantulocarida* носит искусственный характер (Рис. 9). Было показано, что семейства *Deoterthridae* и *Basipodellidae* являются парафилетическими, семейство *Onceroxenidae* признано невалидным. Доказана монофилия только одного семейства *Microdajidae* (Рис. 9), уточненный диагноз которого приводится в работе. Основной синапоморфией семейства являются редуцированные ветви торакоподов, вооруженные каждая только одной щетинкой. Монофилия косвенно подтверждается принадлежностью хозяев всех паразитов этого семейства к *Tanaidacea*. Также подтверждена монофилетичность следующих родов: *Microdajus*, *Deoterthron*, *Arcticotantulus* и *Tantulacus*. Составлен ключ для определения видов *Tantulocarida*.

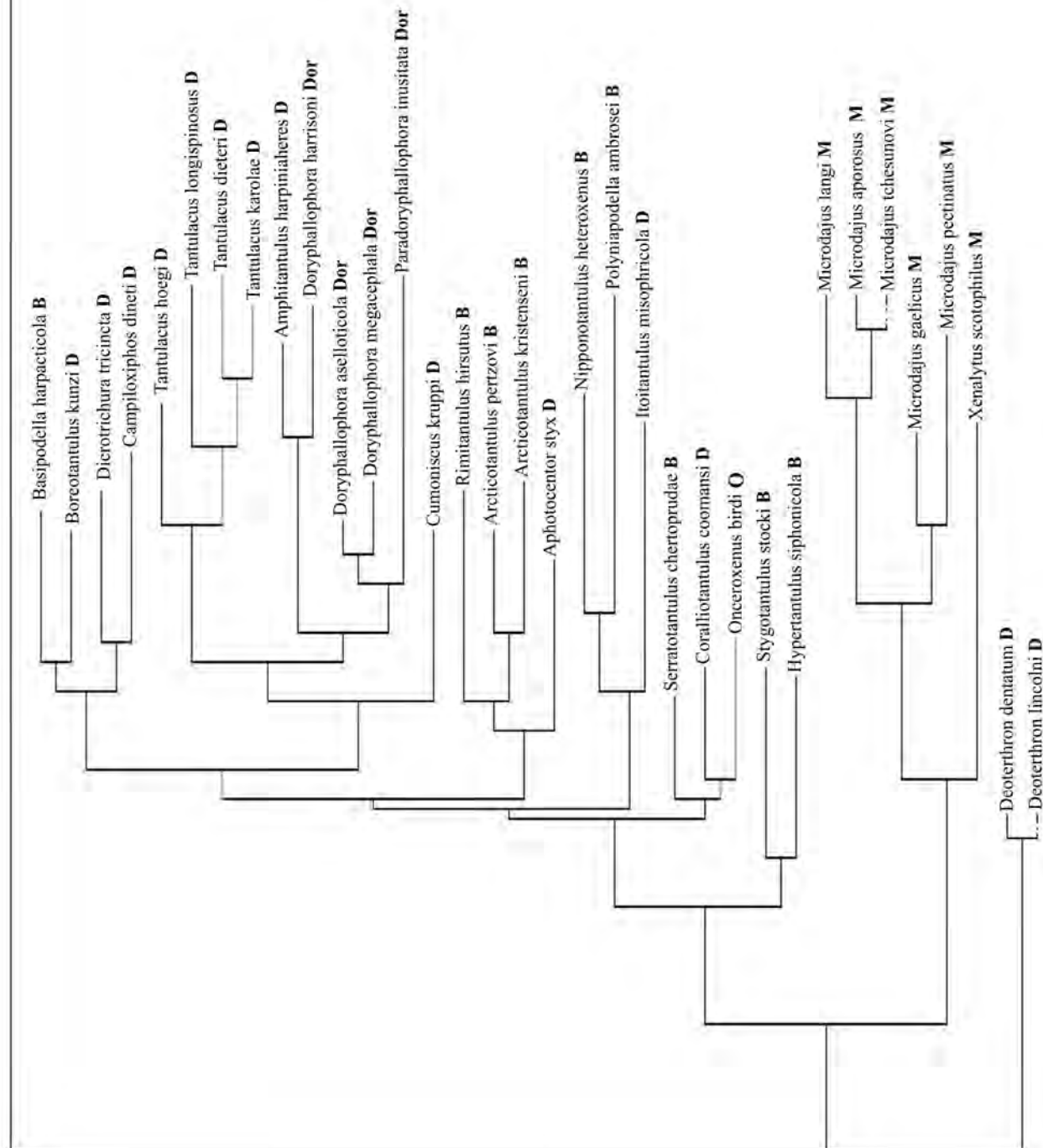


Рис. 9. Филогенетическое дерево Tantulocarida, полученное методом «neighbour-joining», построенное на основе 64 морфологических признаков личинки тантулюса и самца. Все признаки «равновесные» и «неупорядоченные»; PAUP (Swofford, 1998). Жирным шрифтом указана принадлежность к семействам: B — Basipodellidae, D — Deoterthridae, Dor — Doryphallophoridae, M — Microdajidae, O — Onceroxenidae)

## **Глава 7. Географическое распространение и вертикальное распределение ракообразных *Tantulocarida*.**

В данной главе диссертации приведен обзор географического и вертикального распространения известных видов *Tantulocarida*. Показано, что большинство видов были найдены в Атлантическом и Тихом океанах, однако, существуют находки из Средиземного, Северного, Белого морей, а также несколько видов из Южного и Индийского океанов. Тантулокариды были обнаружены в холодноводных и тропических морях, а также в гидротермальных источниках и ангиалиновых пещерах. Они встречаются от нуля глубин (ангиалиновые пещеры) до более 5000 м, однако предпочитают более глубоководные местообитания: зону батиали и абиссали. Всего около 30% всех видов были найдены на литорали и сублиторали. Все это говорит о всесветном распространении ракообразных *Tantulocarida*. В целом, можно заключить, что разнообразие тантулокарид явно недооценивается, а малое число известных видов не показывает реальную картину, а связано с низкой изученностью сообщества морского мейобентоса.

## **Глава 8. Специфичность ракообразных *Tantulocarida* и взаимоотношения паразит — хозяин.**

Тантулокариды проявляют разный уровень специфичности по отношению к хозяевам от практически полного ее отсутствия (вид *Nipponnotantulus heteroxenus* был отмечен на копеподах разных отрядов, виды монофилетического рода *Deoterthron* были отмечены на копеподах и остракодах) до достаточно узкой специфичности (представители рода *Arcticotantulus* встречаются на копеподах рода *Bradya*). Непосредственное влияние тантулокарид на онтогенез (ингибирование линьки) своих хозяев не доказано, так же как и влияние паразита на поведение хозяина. В то же время у хозяев *M. tchesunovi* отмечено отсутствие поведенческой реакции, направленной на очищение поверхности тела от паразитов при помощи развитых клешней, что может говорить о наличии подобного влияния.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные о морфологии, анатомическом строении различных стадий жизненного цикла Tantulocarida, а также анализ генетических маркеров позволяет подтвердить близкородственные отношения ракообразных этого класса с таксоном Thecostraca. Показано, что сестринским таксоном Tantulocarida являются Cirripedia. Близкое родство тантулокарид и усоногих ракообразных подтверждаются не только генетически, но и морфологически: личинка тантулюс и циприсовидная личинка обладают рядом характерных структур, таких как непарный стилет, цементные железы и их протоки, гомология которых не исключена. Обе личинки демонстрируют и функциональное сходство: служат для поиска подходящего субстрата и закрепления на нем. Проведенный кладистический анализ, а также анализ географического распространения позволяет сделать вывод об искусственности системы Tantulocarida, что связано с недостаточной изученностью морфологии большинства видов, а также, по-видимому, со значительно большим разнообразием тантулокарид, чем известное на данный момент.

## ВЫВОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Описаны: новый род и вид тантулокарид - *Serratotantulus chetroprudae* Savchenko, Kolbasov, 2009 и новый вид *Microdajus tchesunovi* Kolbasov, Savchenko, 2010.
2. Детально изучена внешняя морфология, включая ультраструктуру, выведенных впервые свободно плавающих дефинитивных самцов двух видов *Arcticotantulus pertzovi* и *Microdajus tchesunovi*. Выявлены общие морфологические признаки, характерные для всех самцов тантулокарид: наличие двух групп по четыре эстетаска, семи пар сенсорных пор с сенсиллами на карапаксе, парных щетковидных щетинок на торакоподах 1-6, трех фуркальных щетинок.
3. Впервые исследовано внутреннее строение личинки Tantulocarida - тантулюса. Основными компонентами цефалона личинки являются: непарный

стиллет, имеющий базальную полость и сплошной конец; непарный кутикулярный орган — хоботок, внутрь которого заходят четыре канала цементных желез; кишка, передняя эктодермальная часть которой переходит в корневую систему, проникающую внутрь тела хозяина; вентрально расположенные цементные железы. Доказано, что мышечный аппарат цефалона и торакальных сегментов подвергается резорбции после оседания личинки.

4. Впервые исследована анатомия дефинитивного самца Tantulocarida. В частности, цефалоторакс самца в передней части содержит «сотовидную» структуру непонятной природы и функции, нервная система представлена головным мозгом и брюшным нервным стволом. Цефалоторакс имеет обширные вентролатеральные области, полностью изолированные от остальной части кутикулярным слоем и дающие в передней части начало эстетаскам.

5. Молекулярно-генетический анализ подтвердил близкородственные отношения Tantulocarida и Thecostraca. Сестринским таксоном тантулокарид предположительно являются Cirripedia. Способность личиночных стадий Tantulocarida и Cirripedia к фиксации на поверхности при помощи клеящего цемента, возможно, является синапоморфией нового таксона.

6. Кладистический анализ филогении Tantulocarida по морфологическим признакам подтвердил искусственный характер современной системы Tantulocarida. Показана парафилетичность семейств Deoterthridae и Basipodellidae. Семейство Onceroxenidae признано невалидным. Доказана монофилетичность одного семейства Microdajidae, а также родов *Deoterthron*, *Arcticotantulus*, *Microdajus*, *Tantulacus*.

## **СПИСОК ПЕЧАТНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Savchenko A.S., Kolbasov G.A. *Serratotantulus chertoprudae* gen. et sp. n. (Crustacea, Tantulocarida, Basipodellidae) – a new tantulocaridan from the abyssal depths of the Indian Ocean // Integrative and Comparative Biology, Symposium “The Biology of the Parasitic Crustacea”, January 3–7, 2009. Boston, Massachusetts. 2009. P. 1-8.



2. Kolbasov G.A., Savchenko A.S. *Microdajus tchesunovi* sp. n. (Tantulocarida, Microdajidae) – A new crustacean parasite from the White Sea // *Experimental Parasitology*. 2010. V. 125. P. 13-22.
3. Petrunina A.S., Kolbasov G.A. Morphology and ultrastructure of definitive males of *Arcticotantulus pertzovi* and *Microdajus tchesunovi* (Crustacea: Tantulocarida) // *Zoologischer Anzeiger*. 2012. doi.org/10.1016/j.jcz.2011.09.003
4. Petrunina A., Kolbasov G. 2010. Two new species of Tantulocarida and new data on morphology and anatomy of different life stages of these parasitic crustaceans // *Abstracts of Fourteenth International Meiofauna Conference, Ghent, Belgium, 11-16 July 2010*. P. 64.
5. Петрунина А.С., Колбасов Г.А. Морфология и анатомия ракообразных класса Tantulocarida // Сб. статей XI Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря». Санкт-Петербург, 9-11 ноября 2010. С. 141.
6. Колбасов Г.А., Петрунина А.С. Филогения ракообразных класса Tantulocarida на примере беломорских видов // Сб. статей XI Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря». Санкт-Петербург, 9-11 ноября 2010. С. 76.
7. Petrunina A.S., Kolbasov G.A. Two species of Tantulocarida from the White sea: what new could they tell us about morphology, anatomy and phylogeny of these minute parasitic crustaceans? // *Abstracts of Eleventh International Conference on Copepoda, Merida, Mexico, 3-8 July 2011*. P. 78.
8. Petrunina A.S., Kolbasov G.A. 2011. Morphology, ultrastructure and some aspects of biology of definitive males of the two species of the Tantulocarida from the White Sea // *Abstracts of World Conference on Marine Biodiversity, Aberdeen, Scotland, 26-30 September 2011*. P. 161.