

*На правах рукописи*

КОНОПЛЕВА Екатерина Сергеевна

**ЭВОЛЮЦИОННАЯ ЭКОЛОГИЯ НАЯД (MOLLUSCA: UNIONOIDA) В ТРОПИЧЕСКИХ  
РЕЧНЫХ БАССЕЙНАХ (НА ПРИМЕРЕ ИНДОКИТАЯ)**

03.02.08 – экология (биология)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Сыктывкар – 2017

Работа выполнена в лаборатории молекулярной экологии и биогеографии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики Российской академии наук.

- Научный руководитель: **Вихрев Илья Витальевич**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной экологии и биогеографии ФГБУН ФИЦКИА РАН
- Научный консультант: **Кондаков Александр Васильевич**, кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной экологии и биогеографии ФГБУН ФИЦКИА РАН
- Официальные оппоненты: **Винарский Максим Викторович**, доктор биологических наук, заведующий лабораторией макроэкологии и биогеографии беспозвоночных ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет  
**Новоселов Александр Павлович**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биоресурсов внутренних водоемов Северного филиала Полярного научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии им. Н.М. Книповича, г. Архангельск
- Ведущая организация: ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет

Защита состоится «21» июня 2017г. в 13-00 часов на заседании диссертационного совета Д 004.007.01 в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биологии Коми научного центра УрО РАН по адресу: 167982, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 28.

E-mail: [dissovet@ib.komisc.ru](mailto:dissovet@ib.komisc.ru), сайт института: [www.ib.komisc.ru](http://www.ib.komisc.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Коми научного центра УрО РАН по адресу: 167982, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 24.

Автореферат разослан: « \_\_\_\_ »

2017 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Кудяшева Алевтина Григорьевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Наяды или пресноводные двустворчатые моллюски отряда Unionoidea населяют пресные водоемы – реки и озера – практически на всех континентах, за исключением Антарктиды (Graf, 2013) и представляют собой самый крупный отряд из класса двустворчатых моллюсков. Индо-тропический регион является вторым по величине в мире центром разнообразия данных моллюсков, где обитает не менее 218 видов наяд (Graf, 2013), многие из которых представляют собой эндемичные таксоны, находящиеся под угрозой исчезновения вследствие изменения и деградации природной среды (Bogan, 1993, 2008; Bolotov et al., 2014). В последние годы такая уникальная фауна привлекает все больший интерес со стороны исследователей, что отразилось в появлении работ, посвященных изучению таксономии и филогении индокитайских наяд (Pfeiffer & Graf, 2013, 2015; Lopes-Lima et al., 2016) на уровне семейств и триб. Систематика и экология основана главным образом на старых публикациях XIX – начала XX веков (Benson, 1862, Theobald, 1873; Prashad, 1918, 1930; Haas, 1920-1924 и др.), а также некоторых трудах второй половины XX века (Brandt, 1974, Dang, 1980, Subba Rao, 1989) и работах, использующих морфологические подходы (Köhler et al., 2012; Jing & Zhuang, 2013). В условиях, когда систематика индокитайских наяд нуждается в масштабной ревизии, затруднено изучение вопросов эволюционной экологии, происхождения, расселения, адаптивной радиации двустворчатых моллюсков и современного состояния их популяций. Именно поэтому исследования, направленные на комплексное изучение отдельных родов и видов, включающие морфологический, филогенетический, биогеографический и экологический анализы должны начинаться с разрешения таксономических проблем конкретных групп. Принимая во внимание слабую изученность пресноводных двустворчатых моллюсков Индокитая, а также эндемизм фауны, актуальной задачей является проведение комплексного анализа отдельных родов на данной территории, изучение эволюции и экологии видов, а также современного состояния популяций в тропических речных бассейнах.

Водные ресурсы Юго-Восточной Азии активно эксплуатируются человеком. Увеличение масштабов гидростроительства, интенсификация освоения ранее труднодоступных горных территорий приводит к возрастанию нагрузки на пресноводные экосистемы и на популяции крупных двустворчатых моллюсков, как на один из ключевых элементов этих экосистем. Отсутствие знаний об экологии видов наяд, об их пределах толерантности к трансформации местообитаний не позволяет оценить их статус и обеспечить, при необходимости, их охрану.

Наиболее широко распространенными родами на территории Индокитая являются *Conradens* и *Lamellidens*. Встречаясь практически во всех тропических бассейнах, они являются хорошими модельными группами для реконструкции эволюционных событий и изучения процессов видообразования наяд. Кроме того, известно, что экология видов внутри данных родов недостаточно изучена, а в их систематике остается много неразрешенных вопросов (Pfeiffer & Graf, 2015). В связи с этим нами были определены следующие цели и задачи исследования:

**Цель диссертационной работы** – изучить эволюционную экологию наяд в условиях тропических речных бассейнов Индокитая на примере двух родов — *Contradens* и *Lamellidens*, используя комплексный подход.

**Задачи диссертационной работы:**

- определить видовой состав родов *Contradens* и *Lamellidens*, используя комплексный подход, построить филогению данных родов;
- изучить процессы адаптивной радиации, аллопатрического видообразования и конвергентной эволюции в родах *Contradens* и *Lamellidens* в реках Индокитая;
- оценить современное состояние популяций наяд в речных бассейнах Индокитая.

**Научная новизна и теоретическое значение.** Доказано, что каждый рассматриваемый речной бассейн полуострова Индокитай (реки Меконг, Салуин, Ситаун и Ирравади) представляет собой отдельный центр биоразнообразия пресноводных моллюсков с эндемичной фауной. Установлено, что филогения родов *Contradens* и *Lamellidens* свидетельствует о древних связях между этими речными системами, при этом обособление бассейнов привело к аллопатрическому видообразованию в обоих родах. На основании филогенетической реконструкции по типу водоема показано, что общий предок каждого рода заселял реки равнинного типа. Выявлено, что в процессе адаптивной радиации представители рода *Lamellidens* расселялись преимущественно в равнинных реках и озерах, а представители рода *Contradens* смогли проникнуть и в горные местообитания. Изучение экологии видов внутри этих двух родов показало наличие специализации по типам местообитаний. При этом установлено, что род *Contradens* отличается большей пластичностью по отношению к типу водотока, но специализирован по типу грунта, а род *Lamellidens* специализирован по типу водотока, что обуславливает и специализацию по типу грунта. При этом в обоих родах обнаружены виды (*Contradens* sp. 4, *Physunio eximius*, *Physunio modelli* и *Lamellidens exolescens*), которые обитают в экологических условиях, не характерных для представителей рода. Показано, что морфология раковины, являясь во многом функцией окружающей среды, не может служить надежным таксономическим признаком для различения представителей данных родов. Конвергентная эволюция формы раковины и высокая фенотипическая пластичность видов осложняют видовую идентификацию на основе морфологических подходов и требуют применения молекулярных методов. На основе комплексного таксономического анализа установлено, что в изученных бассейнах рода *Contradens* и *Lamellidens* насчитывают 12 и 5 видов соответственно, причем первый род является парафилетичным. Выявлено, что индокитайские эндемичные виды наяд (в частности *Margaritifera laosensis* (Lea, 1863) и представители родов *Contradens* и *Lamellidens*) нуждаются в специальных мерах охраны из-за быстрой деградации пресноводных экосистем в результате интенсивного антропогенного воздействия и инвазий чужеродных видов.

Полученные результаты могут быть использованы для изучения процессов видообразования индокитайских таксонов, уточнения вопросов систематики, а также при разработке природоохранных мероприятий и прогнозировании будущих изменений в тропических водоемах. Сведения о видовом составе и распределении пресноводной индокитайской фауны будут полезными для систематиков и зоогеографов. Материалы работ

также могут быть использованы в лекционных курсах по естественным наукам в высших учебных заведениях.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Использование традиционных таксономических методов без привлечения филогенетического подхода не позволяет достоверно определить видовую принадлежность представителей родов *Contradens* и *Lamellidens*. Согласно комплексному таксономическому анализу данные рода представлены 12 и 5 видами соответственно. Род *Contradens* является парафилетическим.

2. Каждый рассматриваемый речной бассейн представляет собой отдельный центр биоразнообразия с эндемичной фауной. Филогения родов *Contradens* и *Lamellidens* свидетельствует о древних связях между бассейнами рек Меконг, Салуин, Ситаун и Ирравади.

3. Индокитайские эндемичные виды наяд (в частности *Margaritifera laosensis* и представители родов *Contradens* и *Lamellidens*) нуждаются в изучении и специальных мерах охраны, вследствие деградации экосистем в результате антропогенного воздействия и влияния инвазивных видов.

**Личный вклад автора.** Автор принимал непосредственное участие на всех этапах подготовки диссертации, включающий постановку целей и задач исследования, сбор материала, анализ литературных данных, проведение комплексного анализа моллюсков, обработку полученных результатов и формулирование выводов. Автор участвовал в экспедиции в Юго-Восточную Азию в 2015 году.

**Апробация результатов работы.** Результаты исследования были представлены на всероссийских и международных конференциях: V международная молодежная научная конференция "Экология - 2015" (Архангельск, 2015); 2nd International Meeting on Biology and Conservation of Freshwater Bivalves (Буффало, США, 2015); XXIII Всероссийская молодежная научная конференция (с элементами научной школы) "Актуальные проблемы биологии и экологии" (Сыктывкар, 2016); The 19th International Congress of UNITAS MALACOLOGICA (UM) (Пенанг, Малайзия, 2016).

**Публикации.** По результатам исследования опубликовано 8 работ, три статьи в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК Минобрнауки РФ.

**Структура диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, шести глав, выводов, списка литературы, включающего 149 работ, в том числе 143 иностранных и 4 приложений. Работа изложена на 132 страницах, содержит 12 таблиц и 27 рисунков.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Глава 1. Общая характеристика региона исследования**

В главе представлены краткие сведения о климате, рельефе и гидрологической сети полуострова Индокитай. В работе рассматриваются территории Мьянмы (Бирмы), а также северных районов Лаоса и северо-восточного Таиланда. Индокитай обладает рядом характерных особенностей, среди которых можно выделить: 1) субэкваториальный муссонный тип климата; 2) сложное тектоническое строение, преобладание горного и плоскогорного

рельефа местности; 3) густую речную сеть; 4) многообразие типов местообитаний и соответственно высокий уровень биоразнообразия; 5) древность фауны с высокой степенью эндемизма.

## Глава 2. Материалы и методы

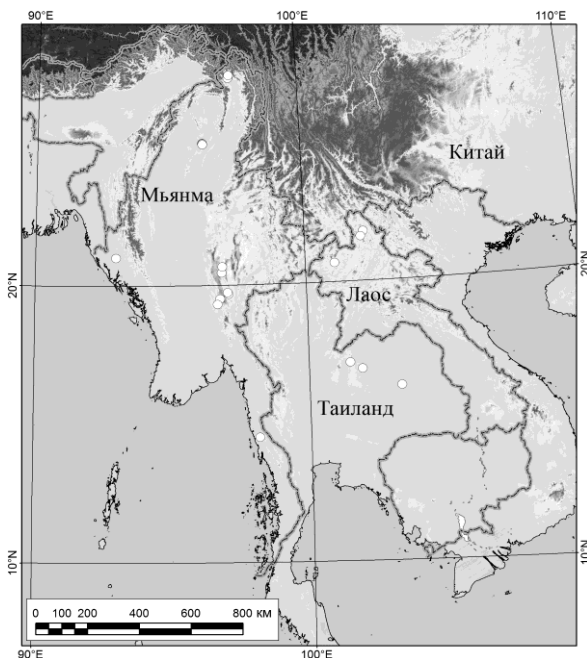


Рис. 1. – Точки отбора проб на территориях Мьянмы, Лаоса и Таиланда

В качестве материала для проведения исследований были использованы представители пресноводных двустворчатых моллюсков семейств Unionidae и Margaritiferidae, хранящиеся в УНУ «Российский музей центров биоразнообразия» (УНУ РМЦБ), а также образцы из малакологических коллекций Национального музея естественной истории в Вашингтоне, США (National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, DC, USA; далее NMNH) и Музея естествознания, Лондон, Великобритания (British Museum of Natural History, London, UK, далее NHMUK). В качестве основных объектов исследования среди Unionidae были взяты рода *Lamellidens* и *Contradens* вследствие их широкого распространения по территории Индокитая (Brandt, 1974; Subba Rao, 1989 и др.), а среди Margaritiferidae – *Margaritifera laosensis*, как единственный вид подсемейства, зарегистрированный на данной территории. Изучаемые объекты были отобраны из 22 различных точек речных бассейнов Иравади, Салуина, Меконга и Ситауна, а также менее крупных рек – Тавой и Каладан (рис. 1). Данные сборы являются результатом экспедиций в Юго-Восточную Азию в 2012, 2014, 2015 и 2016 годах в рамках договора с Университетом Махасаракхам (Таиланд) и Университетом Янгона (Мьянма). Для филогенетического анализа было использовано 227 сиквенсов Unionidae. Также 11 дополнительных сиквенсов для родов *Lamellidens*, *Contradens* и *Trapezoideus* были взяты из международной базы данных NCBI GenBank. В аутгруппу вошли представители Iridinidae (2 вида), Etheriidae (1 вид), Myseltopodidae (1 вид), Hyriidae (9 видов), Trigoniidae (2 вида) (NCBI GenBank), и также Margaritiferidae (10 видов) из коллекции УНУ РМЦБ. Для оценки проблемы состояния популяций наяд также было проведено исследование инвазивного вида *Sinanodonta woodiana*.

Пресноводные двустворчатые моллюски собирались вручную на мелководье и на небольшой глубине (до 3 м). Раковины моллюсков промывались в полевых условиях от грунта и прочих загрязнений и фиксировались 96-% этанолом. Далее проводился разбор отобранных проб, первичная идентификация до рода или вида. Те экземпляры, которые не поддавались идентификации, были подразделены на морфо-виды в соответствии с общими

морфологическими признаками. Определение видовой принадлежности осуществлялось с использованием монографий и определителей (Lea, 1838, 1856; Gould, 1843; Simpson, 1900; Brandt, 1974, Subba Rao, 1989 и др.). Также были использованы материалы базы данных MUSSEL Project (Graf & Cummings, 2015). Идентификация проводилась путем сравнительного морфологического анализа форм раковины, строения псевдокардинальных и латеральных зубов, мускульных отпечатков, а также развитости и расположения макушки. Форма раковины была проанализирована с использованием коэффициентов Фурье (Zieritz et al., 2010, 2011; Froufe et al., 2016), рассчитанных при помощи пакета программ SHAPE ver. 1.3 (Iwata & Ukai, 2002).

Тотальная клеточная ДНК была выделена путем фенол-хлороформной экстракции по стандартной методике (Sambrook et al., 1989), а также с использованием коммерческого набора NucleoSpin® Tissue Kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Germany). В качестве молекулярных маркеров были выбраны два митохондриальных гена (фрагмент гена первой субъединицы белка цитохром с-оксидазы – COI и большой субъединицы рибосомальной РНК – 16S рРНК) и один ядерный ген (фрагмент гена большой субъединицы рибосомальной РНК – 28S рРНК). Были использованы следующие праймеры: LoboF1 и LoboR1 (Lobo et al. 2013) для COI; 16Sar, 16sar-L-myt (Palumbi, 1996) и 16sbr-H (Lydeard, 1996) для 16S рРНК; C1 и D2 (Jovelin & Justine, 2001) для 28S рРНК. Секвенирование ДНК проводили с помощью набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Готовые сиквенсы были депонированы в международной базе генетических данных NCBI GenBank (Benson et al., 2006) с использованием стандартного протокола для оформления информации.

Последовательности генов были выровнены при помощи алгоритма Muscle, встроенного в MEGA6 (Tamura et al., 2013). Фрагменты исследуемых генов далее были объединены и сколлапсированы до набора уникальных гаплотипов на онлайн сервере FASTA sequence toolbox (FaBox1.41, Villesen, 2007). Определение предполагаемых границ между видами проводилось с использованием модели, основанной на процессах Пуассона (PTP) с входным филогенетическим деревом, полученным в анализе максимального правдоподобия (maximum-likelihood; далее ML) (Zhang et al., 2013). Генетические р-расстояния между сиквенсами были рассчитаны в программе MEGA 6 (Tamura et al., 2013).

Наиболее подходящая эволюционная модель для каждого исследуемого гена была рассчитана с использованием программы MEGA6 (Tamura et al., 2013) на основе информационного критерия Акаике (AIC<sub>C</sub>). Филогенетический анализ был проведен с использованием двух методов: вероятностного метода Байеса (bayesian inference; далее BI) и ML-метода. Гипотетическое время дивергенции было оценено в программе BEAST v. 1.8.0 на основании 6 точек калибровки (Bolotov et al., 2016) с использованием алгоритма нестрогих логнормальных молекулярных часов, основанного на процессе Юла (Drummond et al., 2006, 2012; Drummond & Rambaut, 2007).

Были произведены расчеты происхождения форм по типу водоема и типу грунтов с использованием трех различных подходов: Statistical Dispersal-Vicariance Analysis (S-DIVA),

Dispersal-Extinction Cladogenesis (конфигуратор Лагранжа, DEC), и Statistical Dispersal-Extinction Cladogenesis (непараметрический подход ‘Байеса-Лагранжа’ применительно к биогеографическим событиям, S-DEC) встроенный в RASP v. 3.2 (Yu et al., 2010, 2015).

### Глава 3. Обзор литературы по экологии наяд Индокитая

В данной главе представлен краткий обзор литературы по фауне и экологии наяд на территории Индокитая; рассмотрены особенности их жизненного цикла и местообитания. Отмечен недостаток экологических данных и информации о видовом составе, особенно в труднодоступных горных районах на севере полуострова.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Глава 4. Видовой состав наяд Индокитая и экологическая характеристика видов на примере родов *Contradens* и *Lamellidens*

**4.1. Число видов родов *Contradens* и *Lamellidens* и их распределение по речным бассейнам.** Согласно результатам РТР-анализа, полученным на основе уникальных гаплотипов гена COI с использованием онлайн сервиса по автоматическому разделению массива сиквенсов на предполагаемые виды, оценочное число видов внутри рода *Lamellidens* составило 5 (исключая индийскую линию), а внутри трибы *Contradentini* – 12 видов. Практически все клады получили высокие поддержки  $>0,75$ . Уровни дивергенции (р-расстояния, %) между видами, рассчитанные на основе двухпараметрической модели Кимуры, варьируются в разной степени внутри трибы *Contradentini* и рода *Lamellidens*. Среди видов *Contradentini* из бассейна Меконга уровень дивергенции сравнительно выше (3,8 – 14,6 %), чем из бассейнов Ирравади, Салуина и Ситауна (2,7 – 8,4 %). Выделенные в отдельный род *Physunio* гаплотипы имеют значения р-расстояний в пределах 10,5 – 14,6 % по отношению к остальным сиквенсам трибы, что не превышает максимального для рода *Contradens* (15,7±1,5 %). Рассматривая значения р-расстояний внутри *Contradentini* можно сделать предположение об отнесении видов, входящих в данную трибу, к одному роду *Contradens*.

Внутри рода *Lamellidens* наблюдается значительный уровень дивергенции между видами, в среднем от 7,4% до 18,1%. Виды *Lamellidens corrianus* из бассейна Ирравади и *Lamellidens exolescens* из бассейна реки Тавой имеют максимальные значения р-расстояния по отношению к другим видам как по митохондриальному (COI), так и по ядерному гену (28S рРНК), между собой отличаются незначительно (р-расстояние COI = 4,8%; р-расстояние 28S рРНК = 1%).

Согласно построенной филогении (рис. 2) было выделено две основных клады, принадлежащие видам *Contradens* (1.00/96) и *Lamellidens* (1.00/100). Данные группы получили высокие поддержки как в Байесовском анализе, так и анализе методом максимального правдоподобия. Внутри *Contradens* было выделено две подклады, которые имеют четкое разделение по речным бассейнам. К первой подкладе относятся 4 вида рода *Contradens* из бассейнов Салуина (*C. sp. 4*), Ситауна (*C. sp. 2* и *C. sp. 3*) и Ирравади (*C. sp. 1*). Все четыре вида имеют довольно высокие поддержки в Байесовском анализе. Вторая подклада включает представителей из бассейна Меконга, которая в свою очередь подразделяется на две группы. В



первую входят *C. sp. 5* и *C. sp. 6* и *Physunio eximius*, *C. sp. 7* и *C. sp.8*; во вторую – *Physunio modelli*, *C. sp.* и *T. exolescens*.

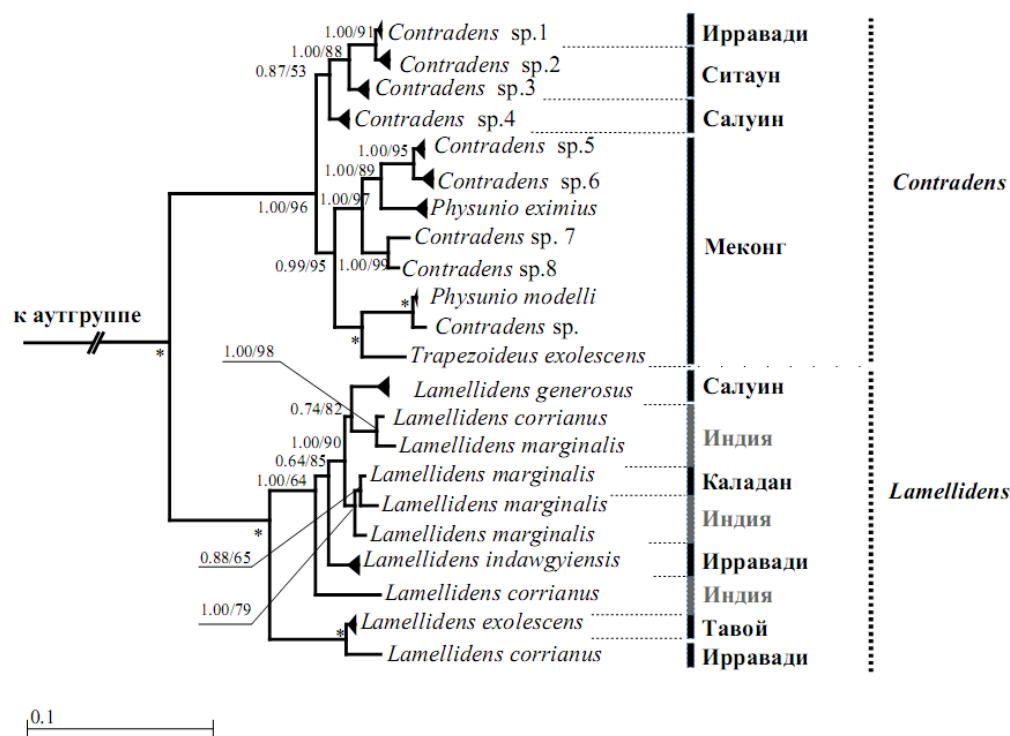


Рис. 2. – Фрагмент филогенетического дерева, построенного на основе трех генов (3 кодона COI+16S+28S). Величины возле узлов обозначают значения байесовской апостериорной вероятности (BPP) и бутстреп-поддержек (BS), полученных в результате BI- и ML-анализов. Звездочками (\*) обозначены поддержки = 1.00/100.

Принимая во внимание топологию дерева, внутри рода *Contradens* присутствуют представители других родов *Physunio* и *Trapezoideus*. Род *Contradens*, как таксономическая единица, является парафилетическим. Клада *Lamellidens* является строго монофилетичной (BPP/BS = 1.00/100). Внутри рода выделяются две подклады. В одну из них входят три вида из Северного Индокитая и Индии. Вторая подклада включает *L. exolescens* и *L. corrianus* с территории Мьянмы. Группа *Lamellidens corrianus*+*Lamellidens exolescens* выделяется в отдельную ветку среди всех представителей рода. Гаплотипы *Lamellidens* из Северного Индокитая (бассейны верхней Ирравади и Каладана) близки к сиквенсам из Индии.

Согласно проведенному морфологическому анализу формы раковины методом коэффициентов Фурье, виды *Contradens* sp. 1, sp. 2, sp. 3, sp. 4, sp. 5 и sp. 6 обладают характерным для рода строением раковины и отличаются главным образом формой спинного края. В свою очередь *P. eximius* и особенно *P. modelli* формируют облака точек на графике, практически не перекрывающиеся со значениями остальных представителей рода *Contradens*. Для представителей рода *Lamellidens* была показана четкая дифференциация видов *L. generosus* и *L. exolescens* по форме раковины. Остальные представители рода не были включены в анализ по причине малого количества имеющихся образцов.

Имеющиеся противоречия, полученные по результатам молекулярного и морфологического анализов, показывают необходимость использования комплексного подхода, учитывающего морфометрию, анализ контуров раковины, а также изменения в ядерном и митохондриальном геноме с последующей филогенетической реконструкцией.

#### 4.2. Экологическая характеристика видов родов *Contradens* и *Lamellidens*.

Исследование экологии местообитаний показало, что представители рода *Contradens* (табл. 1) обитают предпочтительно в горных реках на каменисто-песчаных грунтах. Исключением стал вид *Contradens* sp. 4, найденный в озере и равнинных водотоках на илесто-глинистом грунте. Виды *Physunio eximius* и *Physunio modelli*, при построении филогенетического дерева, попавшие внутрь рода *Contradens*, обладают отличительными особенностями по типу местообитания: обнаружены в равнинных реках с песчано-илистым либо песчано-глинистым типом грунта, и характеризуются способностью выдерживать высокое содержание взвешенных частиц в воде.

Таблица 1

Экологическая характеристика видов рода *Contradens*, включающая тип водоема и тип грунта

| Вид   | Локалитет       | Высота, м над ур.м. | Тип водоема     | Тип грунта                  |
|---|-----------------|---------------------|-----------------|-----------------------------|
| <i>Contradens</i> sp. 1                           | Нануинкха Чаунг | 178                 | Равнинный ручей | Песчано-глинистый           |
|   | Мансакун        | 413                 | Горная река     | Песчаный, песчано-илистый   |
|   | Ручей Пан Кхай  | 209                 | Горный ручей    | Песчаный, песчано-илистый   |
|   | Нам Балак       | 418                 | Горная река     | Песчаный, песчано-илистый   |
|   | Нам Шу          | 434                 | Горная река     | Каменистый                  |
| <i>Contradens</i> sp. 2                           | Стоун           | 426                 | Горная река     | Каменистый                  |
| <i>Contradens</i> sp. 3                           | Коклю           | 896                 | Горная река     | Каменисто-песчаный          |
| <i>Contradens</i> sp. 4                           | озеро Инле      | 887                 | Озеро           | Илистый                     |
|   | Змеиный ручей   | 878                 | Равнинный ручей | Глинистый                   |
|   | Нам Пилу        | 878                 | Равнинная река  | Глинистый                   |
| <i>Contradens</i> sp. 5                           | Нам Лонг        | 480                 | Горная река     | Каменисто-песчаный          |
|   | Нам Пе          | 863                 | Горная река     | Каменисто-песчаный          |
|   | Лей             | 531                 | Горная река     | Илесто-песчаный, каменистый |
| <i>Contradens</i> sp. 6                           | Нам Фа          | 668                 | Горная река     | Глинисто-каменистый         |
| <i>Physunio eximius</i> / <i>Physunio modelli</i> | Чи              | 145                 | Равнинная река  | Песчано-илистый             |
|   | Пхонг           | 242                 | Равнинная река  | Песчано-глинистый, песчаный |

Моллюски рода *Contradens*, как правило, обитают под берегом, в корнях деревьев, под камнями, отдельные образцы были собраны прямо с грунта. Регион обитания рассмотренных видов *Contradens* – высокогорные и возвышенные предгорные районы Северного Индокитая

(северная часть Мьянмы и Лаоса) и северо-востока Таиланда на территории плато Коран. Высота варьируется от 145 до 896 м над уровнем моря.

Виды рода *Lamellidens* (табл. 2) наоборот являются представителями равнинных водоемов – озер, равнинных рек и запруд и способны обитать в воде с большим количеством взвеси, как например *Lamellidens marginalis*. В данной группе исключением стал *Lamellidens exolescens*, который по типу водоема и грунта похож на представителей рода *Contradens*.

Таблица 2

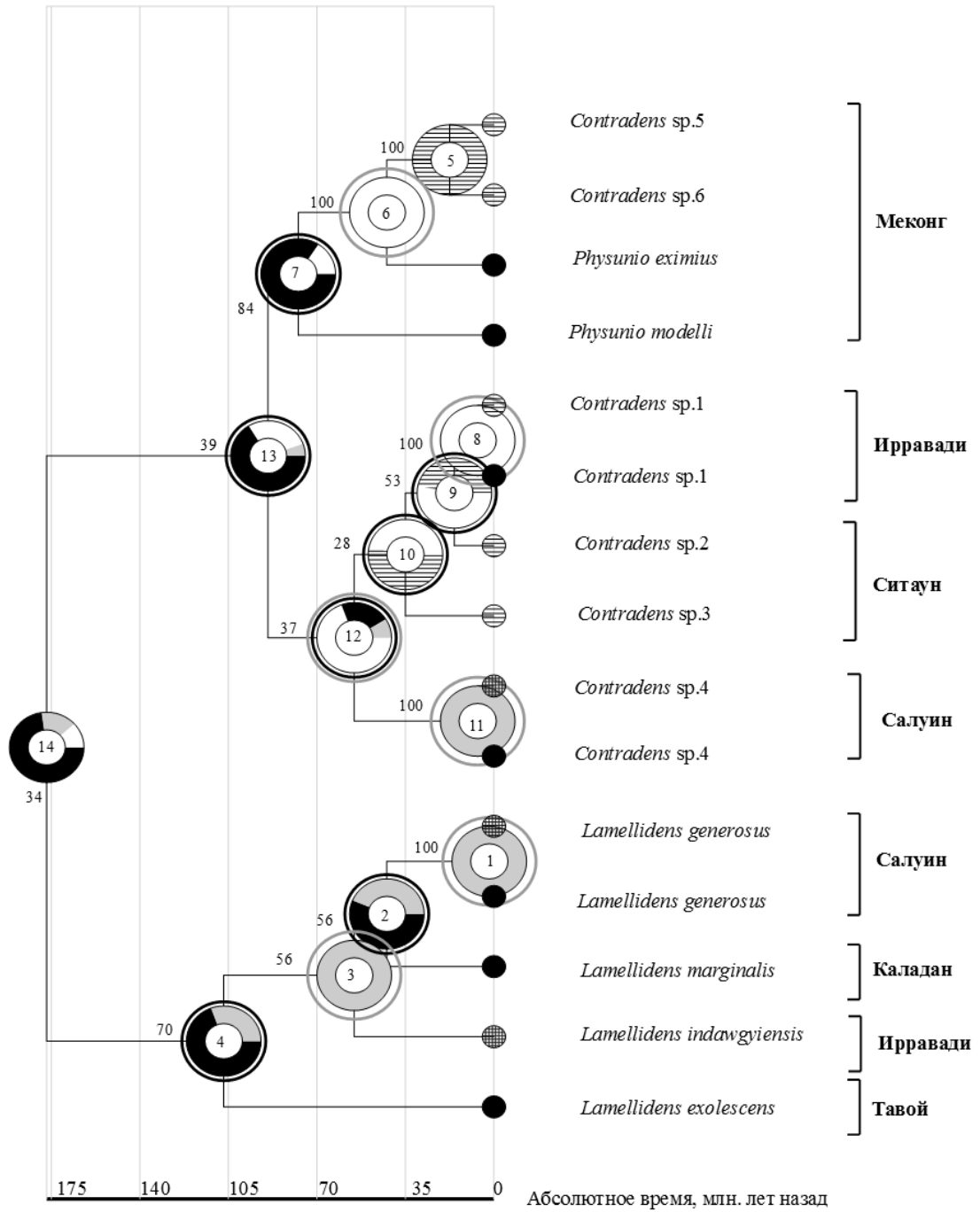
Экологическая характеристика видов рода *Lamellidens*, включающая тип водоема и тип грунта

| Вид                              | Локалитет                               | Высота, м над ур.м. | Тип водоема    | Тип грунта         |
|----------------------------------|---|---------------------|----------------|--------------------|
| <i>Lamellidens generosus</i>     | Инле                                    | 887                 | Озеро          | Илистый            |
|                                  | Нам Пилу                                | 878                 | Равнинная река | Глинистый          |
| <i>Lamellidens marginalis</i>    | Безымянная запруда в русле реки Каладан | 14                  | Запруда        | Илистый            |
| <i>Lamellidens indawgyiensis</i> | Индавджи                                | 170                 | Озеро          | Песчаный           |
| <i>Lamellidens exolescens</i>    | Тавой                                   | 18                  | Равнинная река | Каменисто-песчаный |

## Глава 5. Эволюционная экология наяд Индокитая (на примере родов *Contradens* и *Lamellidens*)

**5.1 Оценка времени дивергенции видов родов *Contradens* и *Lamellidens*.** Оценка времени дивергенции таксонов, проведенная с использованием программы для филогенетических реконструкций BEAST, показала, что ближайший общий предок Unionidae (*Lamellidens* и *Contradens*) мог существовать в ранней юре (средний возраст 177 млн. лет назад; 95% доверительный интервал = 155 – 207 млн. лет назад) (рис. 3). Ближайшие общие предки родов *Lamellidens* и *Contradens* эволюционировали в середине мелового периода (107 и 89 млн. лет назад, 95% доверительный интервал 81 – 135 млн. лет назад и 70 – 112 млн. лет назад соответственно).

Внутри рода *Contradens* подклада, включающая представителей из бассейна Меконга, произошла во время позднего мела (78 млн. лет назад, 95 % доверительный интервал = 59 – 98 млн. лет назад). Позднее возникла вторая подклада: приблизительно 55 млн. лет назад в раннем эоцене (95% доверительный интервал = 36 – 76 млн. лет назад). События видообразования в группе, относящейся к бассейну Меконга, происходили на границе эоцена-палеоцена (58 млн. лет назад, 95 % доверительный интервал = 43 – 76 млн. лет назад; 55 млн. лет назад, 95 % доверительный интервал = 37 – 74 млн. лет назад; и 42 млн. лет назад, 95 % доверительный интервал = 29 – 57 млн. лет назад) и позднее в миоценовую эпоху.



☉ Горная река ● Равнинная река ☉ Озеро ☉ Горная река-Равнинная река ● Равнинная река-Озеро  
 ○ Викариантное видообразование ○ Дисперсное видообразование

Рис. 3. – Расхождение видов *Contradens* и *Lamellidens* по типу водоема. Числа возле узлов обозначают значения поддержек; числа внутри кругов определяют номера узлов.

Примерно в это же время происходила эволюция внутри подклады Салуин+Ирравади+Ситаун, причем более древними являются представители из бассейна Салуина (*C. sp.4*). Позднее образование видов *Contradens* происходило в притоках бассейна Ситауна и Ирравади.

Эволюция подклад внутри рода *Lamellidens* происходила в эпоху позднего мела (76 млн. лет назад, 95 % доверительный интервал = 55 – 72 млн. лет назад), палеоцена-эоцена и позднее. Клада *Lamellidens* имеет смешанное происхождение, так как включает представителей как с Индийского субконтинента, так и Индокитая (Мьянма).

На основании результатов оценки времени и уровня дивергенции, а также филогенетической реконструкции и РТР-анализа, показано, что каждый из исследуемых видов наяд обитает в пределах определенного речного бассейна. Вместе с этим можно сделать предположение о существовании не просто отдельных видов, а целых их комплексов, которые состоят из нескольких криптических видов и эндемичны по отношению к отдельному бассейну. Наиболее древние связи зарегистрированы для бассейна Меконга с группой рек Салуин+Ирравади+Ситаун (89 млн. лет назад). Согласно датированной филогении бассейн Меконга является более древним. Кроме того, на данный момент в нем зарегистрировано наибольшее число видов (8 видов *Contradens*) с достаточно высоким уровнем дивергенции (3,8 – 14,6 %). Меконг, таким образом, можно рассматривать как древнюю долгоживущую речную систему, наиболее крупную на данный момент в Юго-Восточной Азии. Сообщение между бассейнами Ирравади, Ситауна и Салуина было 15,6 – 55 млн. лет назад. Причем расхождение Ирравади и Ситауна произошло позднее среди всех исследуемых бассейнов (15,6 млн. лет назад), об этом также свидетельствует невысокий уровень дивергенции между видами из данных речных систем (2,7±0,6 %).

**5.2. Процессы адаптивной радиации и аллопатрического видообразования в родах *Contradens* и *Lamellidens* в реках Индокитая.** Согласно реконструкции, проведенной на основании комбинированной реконструкции предковых форм (S-DIVA, DEC и S-DEC) изначально *Contradens* и *Lamellidens* были представителями равнинных водоемов (рис. 3). Возникновение родов произошло в результате расселения и последующей изоляции. В процессе эволюции *Lamellidens* заняли равнинные реки и озера, а *Contradens* стали распространяться как в равнинных, так и горных местообитаниях. Внутри обоих родов происходили процессы как расселения с последующей изоляцией, так и викариантного видообразования. В результате викариата с наибольшей вероятностью (100%) сформировались ближайшие общие предки видов *Lamellidens indawgyiensis*, *Physunio eximius*, *Contradens sp. 5* и *Contradens sp. 6*. Ближайший общий предок *Lamellidens indawgyiensis* стал представителем озерной фауны, предковые формы *Physunio eximius* остались в равнинных реках, а *Contradens sp. 5* и *Contradens sp. 6* освоили горные водотоки. Предковые формы других видов *Contradens* и *Lamellidens* возникли в результате расселения.

Внутри группы *Contradens* события видообразования совпадают с разделением по речным бассейнам, так как есть группы видов, относящиеся только к бассейну Меконга и бассейнам Салуина, Ситауна и Ирравади. Прекращение сообщения между равнинными

формами Меконга и группой рек Салуин+Ситаун+Ирравади произошло 89 млн. лет назад, и внутри каждой речной сети начали формироваться эндемичные виды. В равнинных водоемах бассейна Салуина сформировался ближайший общий предок вида *Contradens* sp. 4, а в горных притоках Ситауна и Ирравади возникли виды *Contradens* sp. 3, sp. 2 и sp. 1. Реконструкция по грунтам показала дивергенцию предковых форм от обитателей песчаных грунтов до илисто-глинистых для видов рода *Lamellidens* и от илисто-песчаных до каменисто-песчаных для видов рода *Contradens*.

Песчаные и илисто-глинистые грунты характерны, как правило, для озер и равнинных рек, которые заселяют представители рода *Lamellidens*, а также *Contradens* sp. 4. Каменисто-песчаные и глинисто-каменистые грунты соответствуют горным водотокам, что является характерным биотопом для видов из бассейна верхней Ирравади и Ситауна, а также представителей из горных рек Лаоса (притоки бассейна Меконга).

**5.3. Конвергенция формы раковины и таксономические проблемы (на примере *Lamellidens exolescens* и *Trapezoideus foliaceus*).** Примером конвергентной эволюции по форме раковины служит проведенное нами исследование на основе видов *Lamellidens exolescens* и *Trapezoideus foliaceus* (Konopleva et al., 2017), которые имеют ряд сходных внешних морфологических признаков, но относятся к совершенно разным филогенетическим группам.

Вид *Lamellidens exolescens*, который ранее рассматривали как представителя рода *Trapezoideus* Simpson 1900, был перенесен в род *Lamellidens* на основе проведенной нами таксономической ревизии (Konopleva et al., 2017). Вид *Trapezoideus exolescens* ранее считался типовым видом для этого рода, а первоначально установленный типовой вид *Unio foliaceus* Gould, 1843 был сведен в синонимы к нему. Используя комплексный подход, включающий анализ формы раковины и филогенетическую реконструкцию, нами было доказано, что *Unio exolescens* Gould, 1843 – представитель совершенно другого рода – *Lamellidens* Simpson 1900. На основании проведенных исследований *Unio exolescens* Gould, 1843 был выведен из синонимов *Unio foliaceus* и рода *Trapezoideus* и переведен в род *Lamellidens*, получив название *Lamellidens exolescens*. В соответствии с этим статус *Unio foliaceus* Gould, 1843 был ревизован, и была предложена следующая синонимия:

***Lamellidens* Simpson, 1900**

Типовой вид: *Unio marginalis* Lamarck, 1819

*Lamellidens exolescens* (Gould, 1843) **comb. n.**

***Trapezoideus* Simpson, 1900**

Типовой вид: *Unio foliaceus* Gould, 1843

*Trapezoideus foliaceus* (Gould, 1843) **stat. rev.**

Сравнительный анализ внешнего строения не показал значительной разницы по форме раковины топотипов *Unio exolescens* Gould, 1843 (Тавой, Мьянма) и типовых образцов рода *Trapezoideus* – лектотипа *Unio exolescens* Gould, 1843 и лектотипа *Unio foliaceus* Gould, 1843 (Рис. 4). Напротив, внутреннее строение раковины *U. foliaceus* имеет характерные отличия от других исследуемых типовых образцов. Были выявлены также отличия *U. foliaceus* по форме раковины в анализе методом коэффициентов Фурье. Сравнительный морфологический анализ

формы раковины, зубов и мускульных отпечатков показал, что *U. foliaceus* Gould, 1843 является таксоном далеким от изученных топотипов, а также типовых экземпляров *Unio exolescens* Gould, 1843 и *Unio scutum* Sowerby 1868.

Проведенная ревизия показала, что *U. foliaceus* является валидным таксоном *Trapezoideus foliaceus*, типовым видом рода *Trapezoideus*. В свою очередь *Unio exolescens* Gould, 1843 является представителем рода *Lamellidens* под названием *Lamellidens exolescens*.

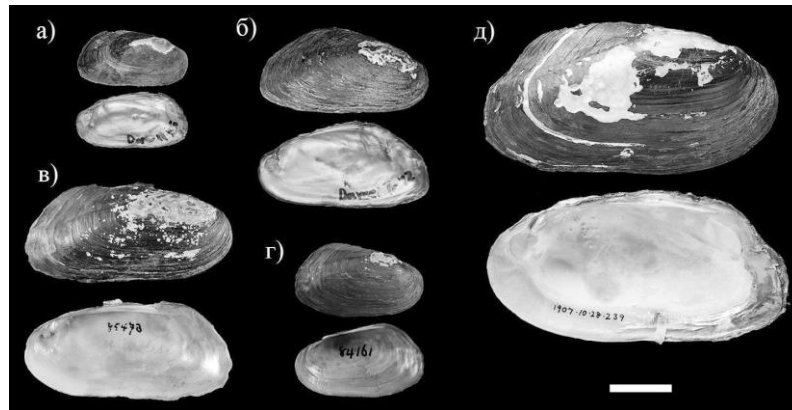


Рис. 4. – Типовые образцы и топотипы номинальных таксонов (шкала – 2 см): а – топотип молодой особи *U. exolescens* (biv146/11; Номер NCBI’s GenBank KX230539); б – топотип взрослой особи *U. exolescens* (biv145/12; Номера NCBI’s GenBank KX230535, KX230549, KX230560); в – лектотип *Unio exolescens* Gould, 1843 (NMNH: № 85473); г – лектотип *U. foliaceus* Gould, 1843 (NMNH: №. 84161); д – голотип *Unio scutum* Sowerby, 1868 (NHMUK: № 1907-10-28-239)

*Lamellidens exolescens*, в отличие от других представителей рода, для которых характерен равнинный или озерный тип водоема с заиленным грунтом, обитает в условиях быстротекущего водотока и каменисто-песочного грунта, что сближает его с представителями рода *Contradens*. Предположительно, адаптация к быстротекущим водотокам привела к конвергентному сходству раковины *Lamellidens exolescens* с видами рода *Contradens* и, в свою очередь – к неверному определению родовой принадлежности этого вида по морфологическим данным.

В связи с этим возникает проблема идентификации таксонов Unionoidea, так как они обладают значительной фенотипической пластичностью даже внутри одного вида (Zieritz et al., 2010; Болотов и др., 2013). Форма и размер раковины моллюсков может сильно изменяться главным образом вследствие влияния различных абиотических факторов среды. По этой причине данные параметры не всегда могут быть использованы в качестве систематических признаков.

## Глава 6. Современное состояние популяций и проблемы сохранения наяд в речных бассейнах Индокитая

**6.1. Проблема инвазивных видов (на примере рода *Sinanodonta*).** Недавние молекулярные исследования популяций вида в Малайзии (Zieritz et al., 2016) и Индонезии (Bolotov et al., 2016) позволили выделить «тропическую» линию *S. woodiana* (среднее значение  $p$ -расстояния  $0,3 \pm 0,1$

%). На основании анализа фрагментов гена COI, было определено, что особи *S. woodiana* с острова Флорес (Индонезия) принадлежат к гаплотипу, широко распространенному в Малайзии. Наиболее близким к тропической линии оказался образец из Китая (номер NCBI's GenBank KJ434487) со средним значением уровня дивергенции  $1,9 \pm 0,6$  %. Было сделано предположение о происхождении «тропической линии» из южных районов Китая, например, с острова Тайвань. Полученные результаты свидетельствуют о быстром распространении данной линии *S. woodiana* на полуострове Индокитай, а также на Больших и Малых Зондских островах.

Информации о широком распространении *S. woodiana* в Мьянме и Лаосе на данный момент нет. Однако, учитывая ускорение в настоящее время изменений окружающей среды и деградацию отдельных местообитаний, к которым *S. woodiana* более устойчива, чем местные виды (Bielen et al., 2016), можно предположить, что не исключена вероятность интродукции вида в данные регионы. Особую опасность такое расселение представляет для эндемичной фауны, которая характерна для речной и озерной сети Северного Индокитая.

## **6.2. Разрушение местообитаний и проблемы сохранения наяд Индокитая.**

Деградация пресноводных экосистем, таких как реки, озера, ручьи и другие водоемы, происходит главным образом вследствие трех причин. Во-первых, загрязнение воды, которое ухудшает ее качество, и реконструкция водных потоков, изменяющая водный режим или уровни воды. Во-вторых, изменение растительного покрова, связанное с вырубкой лесов, сельским хозяйством и урбанизацией, которое вызывает ухудшение фильтрации вод и прохождение их через почву, что, в свою очередь, меняет характер стока. Третья причина – жизнедеятельность инвазивных видов, о которых было сказано ранее (см. раздел 6.1) (Dudgeon, 2012; Köhler et al., 2012). Размещение промышленных предприятий на территории Индокитая неравномерное, преимущественно сконцентрировано в центрах урбанизации Таиланда и Вьетнама. В аграрных странах, таких как Мьянма и Лаос, наибольшую угрозу для пресноводных экосистем представляет сведение лесов вследствие подсеčno-огневого земледелия. Значительное количество дамб на всей территории Индокитая оказывает негативное влияние как на самих пресноводных двустворчатых моллюсков, так и рыб-хозяев их глохийдией. Наибольшую нагрузку по количеству дамб несет бассейн Меконга (Dudgeon, 2012; Köhler et al., 2012; Bolotov et al., 2014 и др.).

Проблема сохранения наяд Индокитая связана главным образом с недостатком информации о состоянии их популяций, в особенности, для редких видов. На численность Unionoidea также влияет традиционное использование моллюсков местными жителями в пищу и для изготовления украшений.

Популяции индокитайских наяд, в особенности эндемичных и редких, таких как *Margaritifera laosensis* нуждаются в особых мерах охраны, а также дополнительном изучении их состояния, экологии, генетического разнообразия, а также поиске рыб-хозяев глохийдией. Кроме того, необходимо более тщательное исследование самих местообитаний и оценка ресурсов внутри каждого речного бассейна. Меры должны приниматься также на законодательном уровне, вводя запрет на уничтожение *Margaritifera laosensis*, а также других видов, находящихся под угрозой исчезновения.



## Выводы

1. На основании комплексного анализа определено, что на территории Индокитая род *Contradens* представлен 12 видами, род *Lamellidens* – 5 видами. Бассейн Меконга является наиболее древней речной системой Юго-Восточной Азии, на что указывает средний возраст эндемичной клады, равный 78 млн. лет, а также наибольшее число обнаруженных на данный момент видов и высокий уровень дивергенции между ними (3,8 – 14,6 %) по сравнению с другими исследованными бассейнами.

2. Среди представителей рода *Contradens* выделены три группы видов, приуроченных к различным типам местообитаний: 1) обитающие в условиях горных рек; 2) в условиях озера или медленной равнинной реки и 3) в равнинных реках с быстрым течением и повышенной мутностью. Все представители рода *Lamellidens*, за исключением *L. exolescens*, обитают в равнинных медленнотекущих водоемах.

3. Изучение экологии видов внутри родов показало наличие специализации представителей этих таксонов по типам местообитаний. При этом род *Contradens* отличается большей пластичностью по отношению к типу водотока, но специализирован по типу грунта. Род *Lamellidens* специализирован по типу водотока, что обуславливает и специализацию по типу грунта. При этом в обоих родах есть виды, которые обитают в экологических условиях, не характерных для представителей рода.

4. На основании реконструкции по типу водоема показано, что ближайший общий предок родов *Contradens* и *Lamellidens* был представителем равнинных рек. В процессе эволюции *Lamellidens* заняли равнинные реки и озера, а *Contradens* стали распространяться как в равнинных, так и горных местообитаниях. Прекращение сообщения между равнинными формами Меконга и группой рек Салуин+Ситаун+Ирравади способствовало процессам аллопатрического видообразования. В равнинных водоемах бассейна Салуина сформировались предковые формы вида *Contradens* sp. 4, а в горных притоках Ситауна и Ирравади возникли ближайшие общие предки *Contradens* sp. 3, sp. 2 и sp. 1. Реконструкция по грунтам показала дивергенцию предковых форм от обитателей песчаных грунтов до илисто-глинистых для видов рода *Lamellidens* и от илисто-песчаных до каменисто-песчаных для видов рода *Contradens*.

5. Морфология раковины двустворчатого моллюска, являясь во многом функцией окружающей среды, не может служить надежным таксономическим признаком. Как было показано на примере *Lamellidens exolescens* и *Trapezoideus foliaceus*, конвергентная эволюция формы раковины и высокая фенотипическая пластичность видов является препятствием для видовой идентификации методами традиционного морфологического анализа.

6. Инвазивный моллюск *Sinanodonta woodiana* представляет потенциальную опасность для популяций эндемичных видов, главным образом на севере Индокитая. Наяды также испытывают отрицательное влияние со стороны усиливающегося антропогенного воздействия, главным образом за счет загрязнения водных потоков вследствие вырубки лесов, сельскохозяйственной и промышленной деятельности; строительства дамб и изменения водного потока, а также традиционного использования моллюсков в пищу.

## СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Bolotov, I.N. Spreading of the Chinese pond mussel, *Sinanodonta woodiana*, across Wallacea: One or more lineages invade tropical islands and Europe / I.N. Bolotov, Y.V. Bespalaya, M.Y. Gofarov, A.V. Kondakov, **E. S. Konopleva** and I.V. Vikhrev // *Biochemical Systematics and Ecology*. — 2016. — Vol. 67. — P. 58-64.
2. Bolotov, I.N. Multi-locus fossil-calibrated phylogeny, biogeography and a subgeneric revision of the Margaritiferidae (Mollusca: Bivalvia: Unionoida) / I.N. Bolotov, I.V. Vikhrev, Y.V. Bespalaya, M.Y. Gofarov, A.V. Kondakov, **E.S. Konopleva**, N.I. Bolotov and A.A. Lyubas // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. — 2016. — Vol. 103. — P. 104-121.
3. **Konopleva, E. S.** An integrative approach underscores the taxonomic status of *Lamellidens exolescens*, a freshwater mussel from the Oriental tropics (Bivalvia: Unionidae) / **E.S. Konopleva**, I.N. Bolotov, I.V. Vikhrev, M.Y. Gofarov and A.V. Kondakov // *Systematics and Biodiversity*. — 2017. — Vol. 15. — P. 204 – 217.

### в других изданиях:

1. **Коноплева, Е.С.** Биogeография наяд (Mollusca: Bivalvia) бассейнов крупнейших рек Индокитая: эндемизм и оценка биоразнообразия / Е.С. Коноплева, А.В. Кондаков // *Экология-2015: матер. докл. V Международ. молод. науч. конференции*. — Архангельск: ИЭПС УрО РАН, 2015. — С.26.
2. **Konopleva, E.S.** Biogeography of freshwater mussels (Bivalvia: Unionoida) across the largest Southeast Asian river basins: Endemism and biodiversity assessment / E. Konopleva, A. Kondakov, I. Vikhrev, Y. Bespalaya, S. Tumpeesuwan, I. Bolotov // 2<sup>nd</sup> International Meeting on Biology and Conservation of Freshwater Bivalves. — Buffalo, USA, 2015. — P. 32.
3. Vikhrev, I.V. Morphological variability of Indochinese pearl mussels: Environmental signal or chance for species identification? / I. Vikhrev, Y. Bespalaya, M. Gofarov, **E. Konopleva**, S. Tumpeesuwan, M. Minn, I. Bolotov // 2<sup>nd</sup> International Meeting on Biology and Conservation of Freshwater Bivalves. — Buffalo, USA, 2015. — P. 54.
4. **Коноплева, Е.С.** Проблемы видовой идентификации пресноводных двустворчатых моллюсков: противоречия между молекулярными методами и традиционной морфологией / Е.С. Коноплева, А.В. Кондаков, И.В. Вихрев // *Актуальные проблемы биологии и экологии: материалы докладов XXIII Всероссийской молодежной научной конференции (с элементами научной школы)*. — Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН, 2016. — С. 63-65.
5. **Konopleva, E.S.** *Trapezoideus* Simpson, 1900 (Unionidae) from the type locality: an integrative approach reveals the doubtful taxonomic status of a widespread Indotropical genus / E.S. Konopleva, I.N. Bolotov, I.V. Vikhrev, A.V. Kondakov // *The 19th International Congress of UNITAS MALACOLOGICA, The World Congress of Malacology (WCM): Abstract book*. — Penang, Malaysia, 2016. — P. 98.