

На правах рукописи

ШУНЬКИНА
Ксения Вячеславовна

Сравнительная нейроморфология
трех видов пресноводных мшанок
Cristatella mucedo, Plumatella repens и Fredericella sultana
(Bryozoa, Phylactolaemata)

03.02.04 - Зоология

03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский Государственный Университет» и в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Зоологическом институте РАН.

Научные руководители: доктор биологических наук, доцент **Островский Андрей Николаевич**;
доктор биологических наук, доцент, **Зайцева Ольга Викторовна**.

Официальные оппоненты: **Темерева Елена Николаевна**, доктор биологических наук, Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», кафедра зоологии беспозвоночных, ведущий научный сотрудник;

Лычаков Дмитрий Витальевич, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, лаборатория эволюции органов чувств, ведущий научный сотрудник.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена».

Защита диссертации состоится 1 апреля 2015г. на заседании диссертационного совета Д002.223.02 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Зоологическом институте РАН по адресу: 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1, факс (812) 328-29-41.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Зоологического института РАН.

Автореферат разослан «_____» _____ 2015г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Сиделева Валентина Григорьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Нервная система – одна из основных интегрирующих и регуляторных систем организма. Существенные изменения в строении органов, вызванные, например, переходом организма к существованию в другой среде, влекут за собой изменения в строении нервной системы. С другой стороны, нервная система сохраняет признаки, присущие предковым организмам. Одновременная консервативность и пластичность нервной системы позволяет рассматривать черты ее строения в качестве удобных признаков для выявления филогенетических связей между различными группами организмов (Orhage, Müller, 2005; Müller, 2006). Особенности организации нервной системы могут служить основой для понимания эволюционных тенденций внутри некоторых крупных групп беспозвоночных животных, например, Lophotrochozoa (Hay-Schmidt, 2000; Wanninger, 2008, 2009).

Мшанки (тип Bryozoa) широко распространены по земному шару, они встречаются как в морских, так и в пресных водах. Колония мшанок состоит из взаимосвязанных модулей – зооидов. Питающиеся зооиды (аутозооиды) добывают пищу при помощи специального фильтрационного аппарата – лофофора – короны щупалец, покрытых ресничками. В состав типа входят три класса: Phylactolaemata, Stenolaemata, Gymnolaemata. Строение лофофора и самих зооидов отличается в разных группах. Лофофор подавляющего большинства пресноводных мшанок из класса Phylactolaemata (за исключением представителей рода *Fredericella*), имеет форму подковы – на анальной стороне зооида формируется два длинных выроста, несущих по два ряда щупалец. Представители классов Gymnolaemata и Stenolaemata обладают колоколообразным лофофором.

Долгое время положение пресноводных мшанок в пределах типа Bryozoa оставалось неопределенным. Ранее считалось, что фороиды и филактолематы являются близкородственными таксонами (Helkamp, 2008). За счет некоторого морфологического сходства с фороидами этот таксон первоначально было принято считать анцестральным (Nyman, 1959). Считалось, что именно от пресноводных мшанок в дальнейшем произошел общий предок Gymnolaemata и Stenolaemata (Jebram, 1983, 1986). Другие исследователи, напротив, считали пресноводных мшанок наиболее отдаленной от предка группой, возникшей от примитивных морских гимнолематных мшанок (Bassler, 1953), или же обсуждали варианты независимого происхождения гимнолемат и филактолемат от разных предков (Mundy et al., 1981).

Несмотря на то, что морфологические особенности типа Bryozoa изучены довольно подробно, исследователи уделяли мало внимания строению нервной системы (Lutaud, 1977; Reed, 1992; Mukai et al., 1997). Отсутствие целостного представления о строении нервной системы затрудняет проведение сравнительного анализа внутри группы, а также сравнения с другими группами беспозвоночных. Кроме того, сведения об общем устройстве нервной системы мшанок позволили бы приблизиться к решению некоторых филогенетических проблем, связанных с положением данного типа в пределах Eumetazoa.

Тип Bryozoa, одна из немногих групп среди Eumetazoa, представленная исключительно колониальными организмами (Helkamp et al., 2008; Malatt et al., 2012; Nesnidal et al., 2013). Благодаря использованию методов конфокальной лазерной микроскопии в последнее время было исследовано распределение некоторых нейромедиаторов в нервной системе различных групп Lophotrochozoa. Особый интерес представляет исследование нервной системы пресноводных мшанок с учетом распределения в ней различных нейромедиаторов. Сведения такого рода позволяют понять функциональную значимость различных отделов нервной системы и детально описать рецепторные элементы нервной системы пресноводных мшанок.

Цель и задачи исследования. Целью работы стало выявление особенностей и закономерностей общей организации нервной системы и рецепторных элементов пресноводных мшанок на примере видов *Cristatella mucedo*, *Plumatella repens* и *Fredericella sultana*.

В рамках поставленной цели нами были сформулированы следующие задачи:

1. Изучение общей морфологии нервной системы пресноводных мшанок.
2. Изучение общей архитектоники нервной системы и нейромышечных взаимоотношений.
3. Выявление распределения FMRF-амидергических элементов нервной системы.
4. Выявление серотонин- и катехоламинергических составляющих нервной системы.
5. Ультраструктурные исследования рецепторных элементов и иннервации щупалец на примере пресноводной мшанки *C. mucedo*.

Научная новизна. Впервые с помощью методов иммуногистохимии и конфокальной сканирующей микроскопии было изучено общее строение нервной системы и распределение серотонин-, FMRFамид- и катехоламинергических элементов у пресноводных мшанок *C. mucedo*, *P. repens* и *F. sultana*. Впервые описана иннервация подошвы *C. mucedo* – специализированного органа движения и прикрепления. Проведено ультраструктурное исследование строения щупалец *C. mucedo* и впервые убедительно показано наличие рецепторных клеток в их эпителии. Получены новые данные позволяющие сравнить строение нервной системы пресноводных мшанок и ранее сближаемых с ними форонид.

Теоретическое и практическое значение. Полученные данные расширяют существующие представления об организации нервной системы мшанок, способствуют решению ряда вопросов систематики и филогении Phylactolaemata и их филогенетической связи с другими Lophophorata. Данные работы могут быть использованы при выявлении закономерностей распределения рецепторных элементов и их химизма у беспозвоночных животных. Исследование представляет собой основу для изучения функциональной роли нейромедиаторов у мшанок на новом уровне, а его результаты могут будут введены в различные лекционные курсы.

Апробация. Результаты работы были доложены на международной конференции «Современные методы микроскопии в биологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2009), Школе молодых специалистов и студентов к 105-летию со дня рождения А.В. Иванова (Санкт-Петербург,

2011), международной конференции «Простые нервные системы» (Москва, 2012), Ларвудовском симпозиуме бризоологов (Вино, 2012), отчетной научной сессии по итогам работ 2012 г. ЗИН РАН (Санкт-Петербург, 2013), XVI конференции международной бризоологической ассоциации (Catania, 2013) и 3 международном конгрессе по морфологии беспозвоночных (Berlin, 2014).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. ЦНС пресноводных мшанок отличается по строению от таковой других групп Lophophorata. Единственный церебральный ганглий пресноводных мшанок состоит из области клеточных тел и нейропиля, внутри которого располагается полость. Основная часть нейропиля и область клеточных тел сильно смещены на дорсальную сторону ганглия. FMRFамид- и 5HT-ергические элементы распределяются симметрично в левой и правой половинах ганглия с образованием комиссуральной области.

2. Несмотря на то, что в схеме иннервации лофофора изученных видов пресноводных мшанок имеются некоторые видоспецифические черты, в целом она оказывается сходной как для морских, так и для пресноводных видов мшанок. Сходства в иннервации лофофора с другими представителями Lophophorata связаны, прежде всего, со сходным строением и функционированием лофофора и наличием в нем целома.

3. В подошве способной к передвижению колонии *Cristatella mucedo* имеется особая FMRFамидергическая нервная система. Она представлена межмышечным нервным сплетением, содержащем мультиполярные нервные клетки, отростки которых иннервируют два слоя мускулатуры (наружный и внутренний) одновременно.

4. Серотонин и FMRF-амид широко представлены в нервной системе пресноводных мшанок. Распределение этих нейромедиаторов носит видоспецифический характер. Тем не менее, принципиальные отличия в характере распределения изученных нейромедиаторов говорят о том, что пресноводные мшанки и форониды не являются близкородственными группами.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 работ (4 статьи и 6 тезисов), в том числе 3 статьи в рецензируемых журналах из списка ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, девяти глав, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 112 источников. Работа изложена на 130 страницах машинописного текста и иллюстрирована 55 рисунками.

Финансовая поддержка. Работа поддержана грантами РФФИ (10-04-00085), РФФИ (13-04-00758), РФФИ (10-04-01033), РФФИ (12-04-31702) и DAAD A\11\86945.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность своим научным руководителям Андрею Николаевичу Островскому и Ольге Викторовне Зайцевой за терпение, важные и мудрые советы, необходимые консультации и поддержку. Огромную благодарность автор выражает профессору Т. Бартоломеусу за осуществление части исследования на базе Института эволюционной биологии и экологии (Бонн, Германия) в рамках гранта DAAD. Автору хотелось

бы поблагодарить коллективы кафедры Зоологии беспозвоночных СПбГУ, ЦКП «Хромас», ЦКП «Таксон» за помощь в обработке материала и предоставлении технической базы для исследований. Мне хотелось бы поблагодарить моих любимых друзей Виктора и Зинаиду Старуновых, Марию Сказину, Елену Ганжа, Ингу Гусеву и гаражный кооператив им. Над. Кузьмина за то, что они были со мной и всесторонне помогали мне – без них было бы невероятно сложно. Глубокую благодарность автор выражает всему коллективу ООО «Покровский Банк Стволовых Клеток» и лично директору Смолянинову А.Б. за понимание и поддержку, которые мне были оказаны во время моего совмещения аспирантуры и работы. Искреннюю благодарность я выражаю своим учителям – Нинбургу Е.А., Полоскину А.В., Хайтову В.М, Яковису Е.Л. и Лаборатории экологии морского бентоса, где меня вырастили и воспитали.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

Обзор литературы представлен четырьмя разделами. Первый раздел содержит информацию о современном положении таксона и истории развития представлений о положении мшанок в системе Metazoa. Во втором разделе изложены данные об общей организации филактолемат, их строении. Третий раздел посвящен особенностям пищевого поведения пресноводных мшанок. Четвертый раздел содержит данные об истории изучения нервной системы пресноводных мшанок, информацию о современном состоянии изучения этого вопроса.

Глава 2. Материал и методы

Объектами исследования являлись три вида пресноводных мшанок: *Cristatella mucedo* (Phylactolaemata: Cristatellidae), *Plumatella repens* (Phylactolaemata: Plumatellidae) и *Fredericella sultana* (Phylactolaemata: Fredericellidae). Колонии мшанок были собраны в озерах и ручьях Старого и Нового Петергофа (Санкт-Петербург, Ленинградская область) в 2010-2013 годах.

Для изучения нервной системы пресноводных мшанок нами были использованы методы непрямого иммуногистохимического окрашивания антителами к ацетилированному α -тубулину, серотонину и FMRFамиду. С помощью окраски антителами к ацетилированному α -тубулину была изучена общая организация проводящих путей нервной системы. Антитела к серотонину и FMRFамиду были выбраны как наиболее часто применяющиеся антитела (Nezlin, 2010). Фиксация, отмывка и окрашивание материала осуществлялись в соответствии со стандартной методикой (Schwaha, Wanninger, 2011). Обработанный материал изучали с помощью конфокального микроскопа Leica TCS SP 5 (ЦКП «Хромас», СПбГУ, Санкт-Петербург, ЦКП «Таксон», ЗИН РАН) и конфокального микроскопа Leica TCS SPE (Вуцнбен эволюционной биологии и экологии, Боннский Университет, Германия).

Для выявления рецепторных элементов в лофофоре и уточнения их расположения нами был использован метод конденсации моноаминов с глиоксиловой кислотой (Sclawny et al., 1991). Катехоламинергические элементы в лофофоре удалось выявить только у *C. mucedo*.

Для ультраструктурных исследований колонии *Cristatella mucedo* были зафиксированы в 1,25% растворе глутаральдегида и заключены в смесь Araldite-EPON по стандартному протоколу. Исследование ультратонких срезов производилось на трансмиссионных электронных микроскопах ZEISS Libra 120 (Universität Bonn, Germany) и Jeol JEM-2100 (РЦ «МиК», СПбГУ).

Глава 3. Морфологические особенности представителей *Phylactolaemata*

Глава содержит основные понятия и термины, касающиеся общего морфологического строения представителей данной группы. Дано подробное описание пищедобывающего аппарата (строение лофофора, цилиатура) и формы различных колоний пресноводных мшанок.

Глава 4. Строение нервной системы пресноводных мшанок *C. mucedo*, *P. repens* и *F. sultana*

Строение основных отделов нервной системы пресноводных мшанок исследовано при помощи окраски антителами к ацетилованному α -тубулину. Было показано, что нервная система исследованных видов устроена сходным образом. Церебральный ганглий расположен позади глотки в основании лофофора. Основная часть нейропиля находится с анальной стороны ганглия и смещена на его базальную сторону. С анальной стороны от церебрального ганглия отходят мощные симметричные выросты – рога лофофора. С оральной стороны отходит пара крупных нервных стволов, которые образуют пероральное нервное кольцо. Латерально от нейропиля симметрично отходит несколько радиальных нервов, иннервирующих щупальца, расположенные непосредственно по бокам от церебрального ганглия. Базально от ганглия отходят три пары нервных стволов: две пары проходят латерально в септе между мезо- и метацелом на оральную сторону и образуют нервную сеть в стенке интроверта. Еще одна пара нервов меньшей толщины отходит к кишке, и их ветвления формируют нервное сплетение стенки кишечника.

Иннервация лофофора осуществляется за счет радиальных нервов и их отростков. По всей длине от рогов лофофора и нервов перорального нервного кольца по направлению к межщупальцевой мембране между основаниями соседних щупалец отходят основные радиальные нервы. На своем дистальном конце основной каждый радиальный нерв разделяется на две пары дистальных ветвей, уходящих в два соседних в продольном ряду щупальца. В каждом щупальце часть этих ветвей располагается латерально и формирует латеро-фронтальные нервы щупалец. Другая часть изгибается и переходит на наружную сторону щупальца, входя в состав абфронтального нерва щупальца. Почти на всем протяжении от основного радиального нерва симметрично отходят проксимальные ветви, которые также направляются в соседние в продольном ряду щупальца. Эти ветви изгибаются и проходят с внутренней стороны щупальца, залекая вдоль его медиальной оси и образуя фронтальный нерв щупальца (Рис. 1). Дополнительно от каждого основного радиального нерва в его основании перпендикулярно к продольной оси

руки лофофора отходят еще два нерва. Дополнительный радиальный нерв изгибается и отходит апикально в сторону щупалец, где он ветвится. Часть ветвей этого нерва принимает участие в формировании абфронтальных нервов соседних щупалец. Остальные ветви иннервируют межщупальцевую мембрану лофофора. Второй нерв – базальный радиальный нерв – направляется базально к основанию лофофора. В проксимальной части лофофора этот нерв сильно ветвится и принимает участие в иннервации стенки интроверта. В дистальной части лофофора базальный радиальный нерв ветвится мало (Рис. 1).

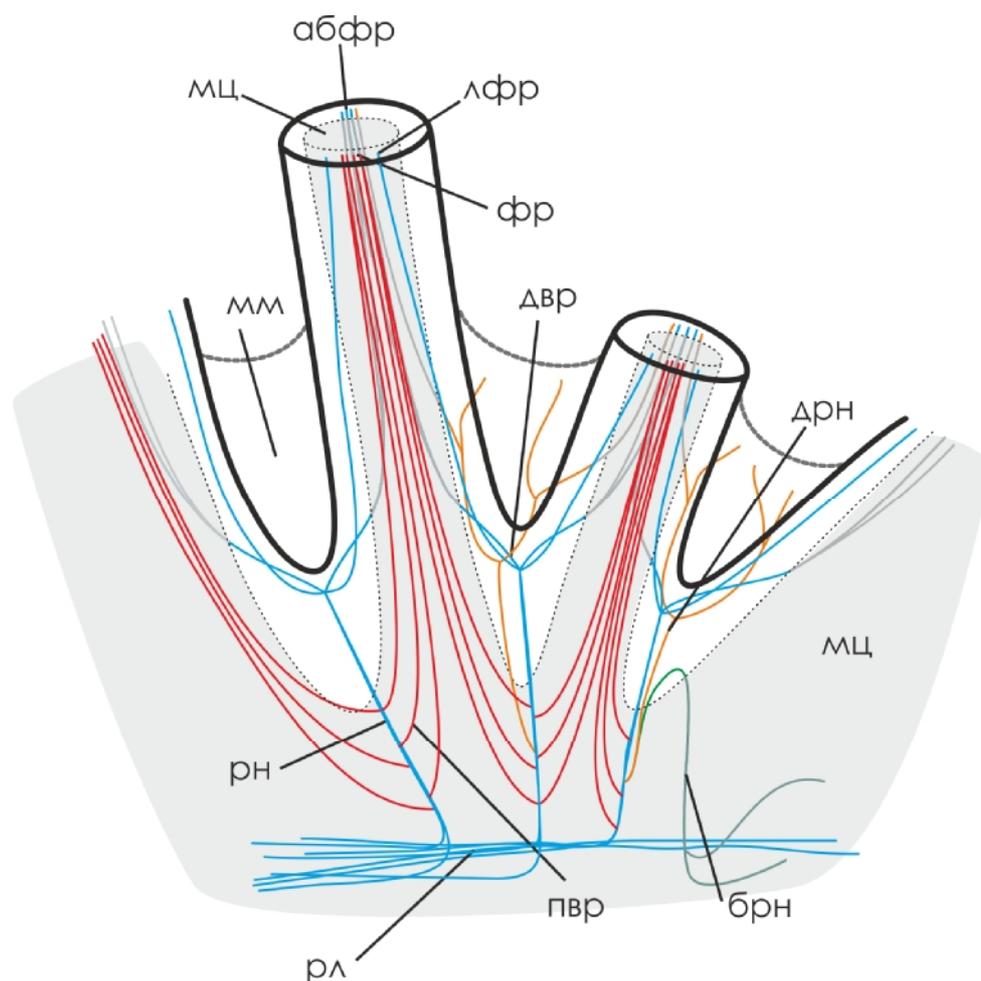


Рис. 1. Пространственная организация нервной системы щупалец, вид с внутренней стороны. Обозначения: *абфр* – абфронтальный нерв щупальца, *брн* – базальный радиальный нерв, *двр* – дистальные ветвления нервов, *дрн* – дополнительный радиальный нерв, *лфр* – латеро-фронтальный нерв щупальца, *мм* – межщупальцевая мембрана, *мц* – мезоцель, *пвр* – проксимальные ветвления основных радиальных нервов, *рл* – рог лофофора, *рн* – основные радиальные нервы, *фр* – фронтальный нерв щупальца.

Стенка интроверта характеризуется нервным сплетением, сформированным за счет тонких отростков базальных нервов церебрального ганглия и отростков базального радиального нерва. В состав сплетения также входит небольшое количество мультиполярных нейронов. Количество мультиполярных нейронов в стенке интроверта у *P. repens* оказывается значительно больше, чем

у *S. mucedo*. У *F. sultana* тела нейронов в нервном сплетении интроверта обнаружены не были. Основная масса нервных волокон ориентирована вдоль апико-базальной оси зооида, что соответствует направлению продольных мышечных волокон стенки тела.

Базальная часть колонии кристателлы – подошва, имеет два основных взаимно перпендикулярных слоя мышц. Нервное сплетение подошвы образовано сетью нервных волокон, в составе которой хорошо различимы отдельные биполярные и мультиполярные нейроны. Тела нейронов располагаются между наружным и внутренним слоями мускулатуры, причем некоторые нейроны участвуют в иннервации обоих слоев мышц.

Глава 5. Серотонинергическая нервная система исследованных видов

Серотонинположительные элементы в нервной системе пресноводных мшанок были обнаружены только в церебральном ганглии и в нервных элементах лофофора. У всех исследованных видов мшанок в лофофоре были обнаружены только биполярные серотонинергические клетки. Они располагаются в основании щупалец или в основании лофофора. Каждая клетка имеет короткий периферический отросток, который отходит в сторону щупалец. Центральные отростки уходят в составе дополнительных радиальных нервов в основные радиальные нервы, а затем направляются к рогам лофофора или нервам перорального кольца и оканчиваются в нейропиле ганглии. Существуют некоторые различия в расположении тел серотонинергических нейронов в лофофоре исследованных видов мшанок. У *P. repens* тела нейронов располагаются не только в основании каждого щупальца внешней стороны лофофора, но и в основании 3-4 щупалец внутренней стороны на конце руки, причем все клетки локализованы в самой базальной части щупалец. У *S. mucedo* тела серотонинположительных нейронов располагаются только в проксимальных двух третях лофофора, локализуясь в самой базальной части руки лофофора. В колоколообразном лофофоре *F. sultana* тела нейронов располагаются в нижней трети каждого щупальца (Рис. 2 А, В, Д).

В церебральном ганглии аксоноподонные отростки серотонин-положительных клеток формируют мощный нейропилль. Форма серотонинергического нейропиля отличается у исследованных видов. У видов с подковообразным лофофором он представлен двумя симметричными долями. Часть отростков образует комиссуроподобное сплетение между этими долями. У фредерицеллы, напротив, аксоноподобные отростки в церебральном ганглии не формируют выраженной симметричной структуры (Рис. 2Д).

Глава 6. FMRFамидергическая нервная система исследованных видов

Полученные нами данные показали, что у пресноводных мшанок FMRFамидергические элементы в нервной системе представлены более широко, чем серотонинергические. Они были обнаружены не только в церебральном ганглии и лофофоре, но и во всех исследованных отделах нервной системы мшанок, в том числе – в подошве кристателлы.

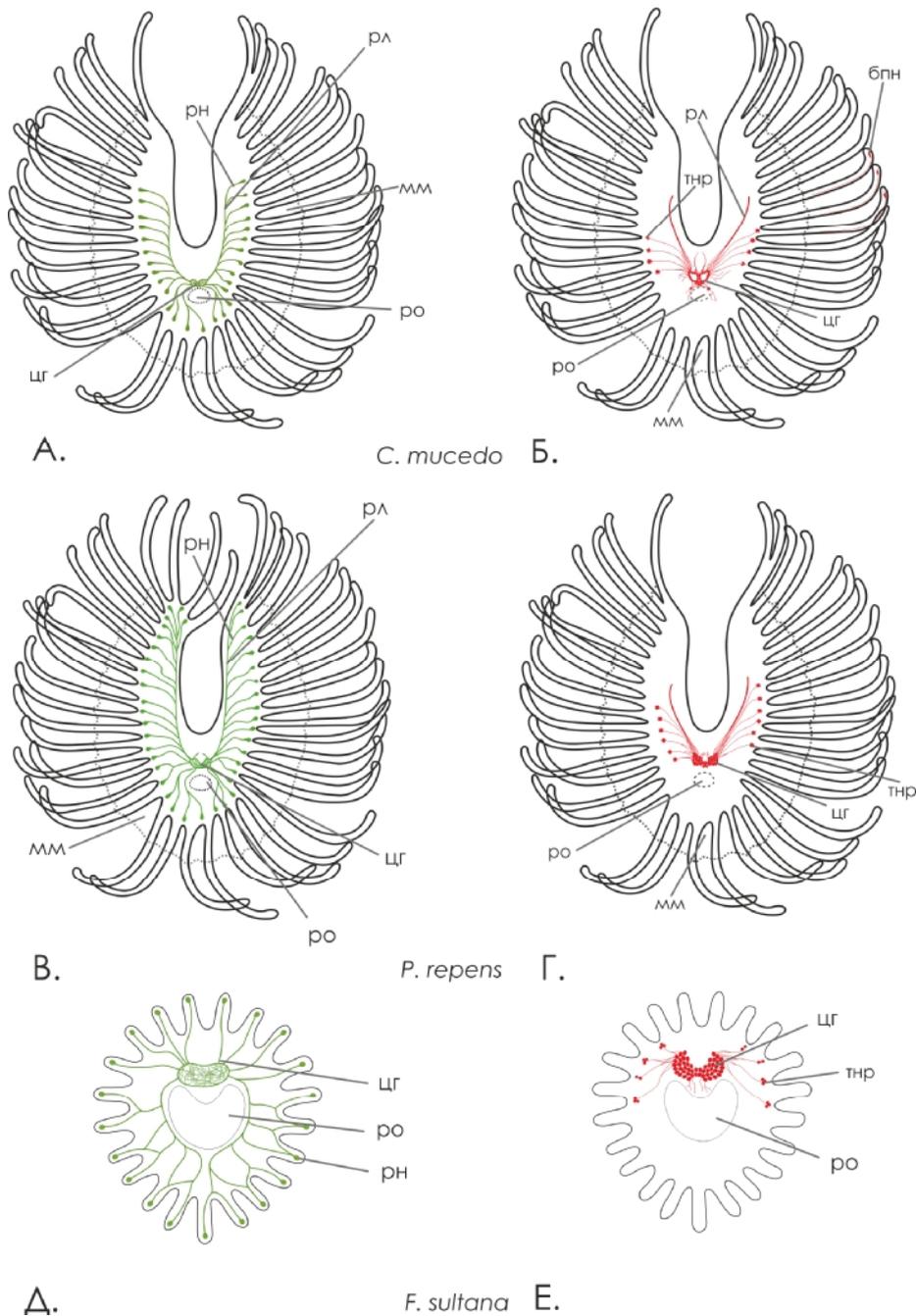


Рисунок 2. Схема локализации серотонин- (А, В, Д) и FMRFамидергических (Б, Г, Е) элементов нервной системы у *Cristatella mucedo* (А, Б), *Plumatella repens* (В, Г) и *Fredericella sultana* (Д, Е).

Обозначения: мм – межщупальцевая мембрана, рл – рога лофофора, рн – радиальные нервы, ро – ротовое отверстие, тнр – тела нейронов, цг – церебральный ганглий.

В церебральном ганглии выявлено скопление FMRFамидергических элементов, представленное как телами клеток, так и их отростками. Часть отростков этих клеток уходит в нейропил ганглия, где они образуют незначительное сгущение. Другие отростки идут на периферию, где входят в состав рогов лофофора или перорального нервного кольца. Локализация FMRFамидергических клеток в области клеточных тел церебрального ганглия носит видоспецифический характер. Все тела FMRFамидположительных клеток у *C. mucedo* располагаются в виде двух сомкнутых своими сторонами полуколец. У *P. repens* тела нейронов

располагаются на периферии, двумя симметричными группами в базальной части церебрального ганглия, а также формируют небольшую перемычку в его центральной базальной части. У *F. sultana* тела FMRФамидположительных клеток располагаются в базальной области клеточных тел церебрального ганглия. Скопление тел нейронов имеет несколько вытянутую форму в месте отхождения рогов лофофора. Как и у предыдущих видов, отростки FMRФамидположительных клеток отходят от церебрального ганглия в составе главных нервных трактов (Рис. 2 Б, Г, Е).

Также в основании лофофора латерально по сторонам от ротового отверстия у всех исследованных видов располагается несколько небольших ганглионарных скоплений FMRФамидергических клеток. Их локализация, а также количество клеток, входящих в их состав, различается у разных видов. У *S. mucedo* в состав каждой группы входит от 3 до 5 биполярных клеток. Они располагаются латерально от ротового отверстия и залегают в основании 2-3 пар латеральных щупалец анальной стороны лофофора. Периферические отростки этих клеток отходят апикально и прослеживаются в составе фронтальных нервов щупалец вплоть до их кончиков, где у кристателлы удается обнаружить биполярные FMRФамидергические клетки. Их периферический отросток пронизывает эпителий щупалец и оканчивается на его апикальной поверхности, не ветвясь. Аксоноподобные отростки этих клеток спускаются по щупальцу в составе фронтальных нервов. У *P. repens* скопления FMRФамидергических клеток располагаются в основании 5-6 латеральных щупалец, ближе к анальной стороне лофофора. В их состав входит обычно 3-4 биполярных клетки. В основании лофофора *F. sultana* располагается 4 группы по 2-4 биполярных клетки. Их базальные отростки как у кристателлы (Рис. 2Б) подходят в составе рогов лофофора к анальной области церебрального ганглия, а периферические отростки прослеживаются вплоть до самых кончиков щупалец.

FMRФамид-положительная нервная система стенки интроверта пресноводных мшанок представлена нервным сплетением, содержащим отдельные мультиполярные нейроны. Основная масса нервных пучков сплетения ориентирована вдоль апико-базальной оси зооида, что соответствует направлению мышц-ретракторов и продольных мышц полипида. Небольшое количество нервных отростков ориентировано также по диагонали относительно апико-базальной оси зооида. Количество, форма и расположение мультиполярных FMRФамид-иммунореактивных нервных клеток и нервных отростков соответствуют отросткам, выявленным при помощи окраски антителами к ацетилированному α -тубулину, что свидетельствует в пользу того, что данное нервное сплетение представлено в основном FMRФамидергическими элементами.

Впервые было показано, что у мшанок с подковообразным лофофором иннервация вестибулюма (являющегося участком стенки цистида) отличается от характера иннервации интроверта. Стенка интроверта таких видов мшанок иннервирована более интенсивно, здесь располагается большое количество мультиполярных нервных клеток. У *F. sultana* различий в иннервации интроверта и вестибулюма обнаружено не было. Нервная система интроверта и

вестибулюма представлена неупорядоченной сетью тонких нервных волокон. Более крупные волокна залегают вдоль апико-базальной оси зооида, более тонкие волокна расходятся в поперечном направлении.

Иной характер имеет нервное сплетение собственно стенки цистида. Оно представлено меньшим количеством FMRFамидположительных нервных элементов. FMRFамидергические нервные волокна направлены вдоль апико-базальной оси зооида. Иннервация стенки цистида отличается в колониях разного типа. У плюмателлидных колоний *P. repens* и *F. sultana* она сходна с иннервацией стенки интроверта, и представлена отростками нервов, ориентированными параллельно апико-базальной оси зооида. У лофоподидных колоний *C. mucedo* слившиеся стенки цистидов соседних зооидов образуют (1) фронтальную поверхность колонии (стенки цистидов, расположенные между отверстиями зооидов и в свободной от них центральной части колонии), и (2) базальную поверхность колонии – подошву. Иннервация фронтальной стенки цистида кристателлы значительно отличается от иннервации цистида плюмателлидных колоний. Она представлена мелкоячеистой нервной сетью, не содержащей тел FMRFамидположительных нейронов. Подошва колоний кристателлы иннервирована сетью FMRFамидергических нервных отростков. В составе этой сети удастся выявить как однотипные биполярные нервные клетки, так и незначительное количество мультиполярных нервных клеток, расположенных на границе периферического валика.

FMRFамидположительные волокна были обнаружены и в составе стенки кишечника. Эти волокна являются отростками базальных нервных трактов церебрального ганглия. Пучки FMRFамидергических отростков образуют в стенке кишечника интраэпителиальное нервное сплетение. Основная масса нервных отростков, как и в стенке полипида, направлена параллельно апико-базальной оси зооида. Тел нейронов выявить не удастся.

Глава 7. Катехоламинергические элементы нервной системы *Cristatella mucedo*

Катехоламинергические элементы нервной системы у *C. mucedo* были обнаружены в ЦНС, рогах лофофора, щупальцах, эпистоме и стенке тела. Катехоламинергическая часть церебрального ганглия представлена мощным сплетением нервных отростков, расположенных апикально с анальной стороны ганглия. Латерально это сплетение продолжается в два мощных нервных ствола, которые затем дихотомически ветвятся. Расходясь к анальной и оральной сторонам лофофора, они входят в состав рогов лофофора и перорального нервного кольца. Катехоламинергическая иннервация лофофора представлена первичночувствующими клетками и их отростками, расположенными в щупальцах. По всей длине каждого щупальца на латеральной и латеро-фронтальной сторонах располагается несколько десятков первичночувствующих интраэпителиальных рецепторных клеток. Их периферические отростки оканчиваются у поверхности щупальца, не ветвясь. Аксоноподобные отростки этих клеток проходят в пероральное кольцо или в рога лофофора и продолжают в нейропиль церебрального ганглия. В

эпистоме обнаружено около трех десятков рецепторных клеток, которые располагаются лишь на его оральной стороне. По ходу перорального нервного кольца также выявляются отдельные катехоламинергические клетки. В стенке кишечника отростки мультиполярных катехоламинергических клеток образуют диффузное сплетение из тонких волокон, которое прослеживается до самого изгиба кишечника.

Глава 8. Ультраструктурное строение щупалец *Cristatella mucedo*

На поверхности щупальца *C. mucedo* три ряда ресничек: фронтальный и два латеро-фронтальных. На поперечном срезе щупальце имеет форму полого цилиндра диаметром около 25 мкм. Стенка щупальца представлена однослойным покровным эпителием, под которым находится базальная пластинка толщиной 3 мкм, ограничивающая центральную целомическую полость с перитонеальной выстилкой (полость мезоцеля). Эпителий щупальца образован несколькими типами клеток: эпителиально-опорными, секреторными и рецепторными. Вся поверхность щупальца можно разделить на четыре зоны: фронтальную, абфронтальную и две латеральных. Количество разных типов клеток варьирует в пределах этих зон (Рис. 3).

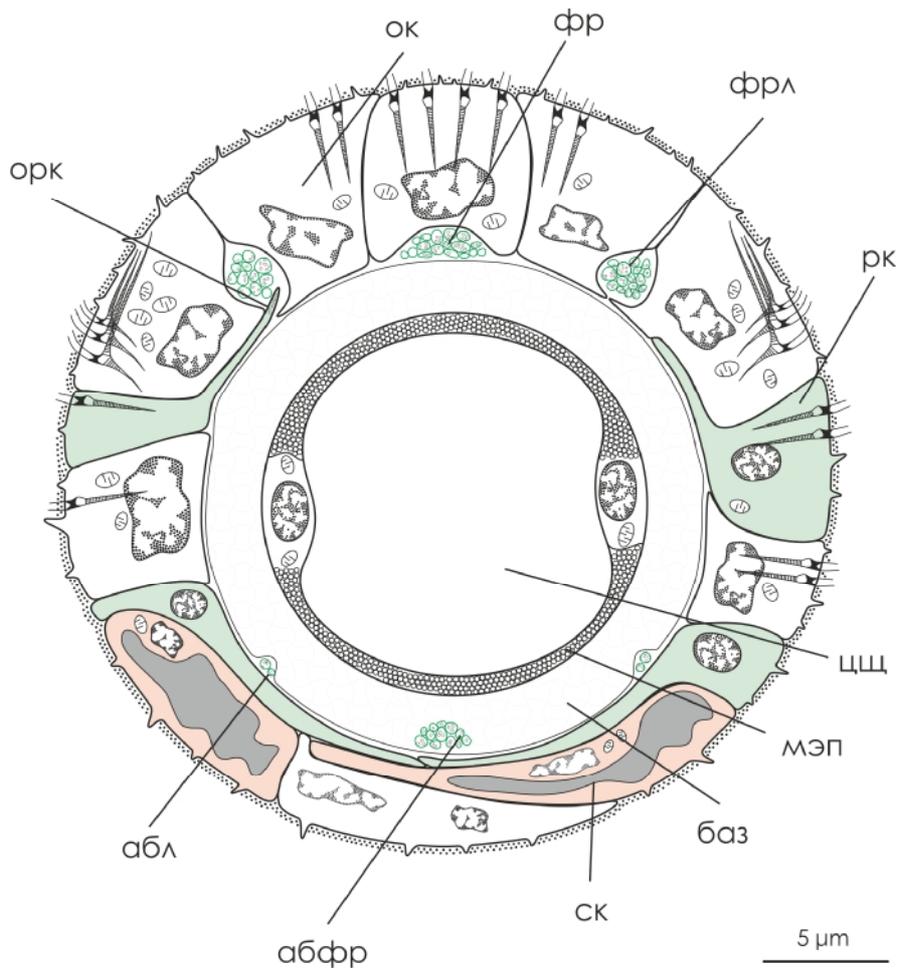


Рисунок 3. Схематическое изображение ультраструктуры поперечного среза щупальца *Cristatella mucedo*. Обозначения: *абфр* – абфронтальный нерв щупальца, *абф* – абфронтально-латеральный нерв щупальца, *баз* – базальная пластинка, *мэп* – мезоэпителиальная клетка, *ок* – опорно-эпителиальная клетка, *орк* – отросток рецепторной клетки, *рк* – рецепторная клетка, *ск* – секреторная клетка, *фр* – фронтальный нерв, *фрл* – латеро-фронтальный нерв, *цщ* – целом щупальца.

Фронтальная зона образована тремя рядами мультицилиарных кубических опорно-эпителиальных клеток с крупным овальным ядром. Цилии этих клеток образуют фронтальный ресничный тракт щупалец. По бокам от фронтальной зоны расположены латеральные зоны. В их состав входят мультицилиарные эпителиально-опорные клетки двух типов, отличающиеся строением корешкового аппарата, и рецепторные клетки. Реснички опорно-эпителиальных клеток обоих типов формируют латеральный ресничный тракт щупальца. Опорно-эпителиальные клетки латеральной зоны по сравнению с клетками фронтальной зоны более уплощенные и вытянуты вдоль окружности щупальца. Рецепторные клетки щупальца характеризует наличие нескольких крупных базальных отростков, содержащих характерные для нервных клеток микротрубочки. Отростки рецепторных клеток образуют базиэпителиальное нервное сплетение и входят в область соответствующих нервов щупалец. Рецепторные клетки несут микровилли и цилии. За счет присутствия нервного сплетения только небольшие участки эпителиальных клеток латеральной зоны примыкают непосредственно к базальной пластинке. Рецепторные клетки встречаются также на границе между латеральными и абфронтальной зонами щупальца. Абфронтальная зона тоньше, чем прочие участки среза щупальца. Она состоит из опорно-эпителиальных клеток, а также базальных отростков рецепторных клеток. В латеральных и абфронтальной зонах щупальца также встречаются секреторные клетки, содержащие крупные гранулы с гомогенным секретом.

В каждом щупальце выявлено по шесть нервов. Четыре из них – фронтальный, пара латеро-фронтальных и абфронтальный – проходят по всей длине щупальца. Два других (абфронтально-латеральные) формируются в средней части щупальца, а в его нижней половине входят в состав абфронтального нерва. По своему происхождению, фронтальный и латеро-фронтальные нервы щупальца являются продолжением ветвей проксимального ветвления основного радиального нерва, тогда как абфронтальный и латеро-абфронтальные нервы сформированы за счет ветвей дистального ветвления основного радиального нерва. Сопоставление данных, полученных при визуализации FMRFамид- и катехоламинергических элементов нервной системы щупалец *C. mucedo* позволяет утверждать, что фронтальный нерв является смешанным. В его состав входят как FMRFамидергические отростки биполярных клеток, расположенных на кончиках щупалец *C. mucedo*, так и катехоламинергические отростки.

Глава 9. Обсуждение результатов

Церебральный ганглий. Ганглий пресноводных мшанок отличается уникальной особенностью – в нейропиле располагается полость. Дорсально по отношению к ней находится основная часть нейропиля, участки которого окрашиваются антителами к ацетилированному α -тубулину, серотонину и FMRFамиду. Снаружи располагается область клеточных тел. Таким образом, и основная часть нейропиля, и область клеточных тел оказываются сильно смещены на дорсальную сторону ганглия. Это объясняется тем, что церебральный ганглий располагается в

месте пересечения главных нервных стволов лофофора – тела нейронов и основная часть нейропиля находятся в той части ганглия, к которой не подходят нервные стволы лофофора.

В ходе нашего исследования впервые было показано наличие и распределение серотонин- и FMRФамидергических элементов в церебральном ганглии пресноводных мшанок. Серотонинергические элементы церебрального ганглия локализованы в дорсальной части ганглия, в основном – в нейропиле, и представлены исключительно сплетением нервных отростков. FMRФамидергические элементы церебрального ганглия представлены скоплением тел нейронов, локализованных в области клеточных тел, расположенной в дорсальной части ганглия.

Согласно нашим данным у *C. mucedo* и *P. repens* серотонин-положительные волокна в левой и правой половинах ганглия располагаются симметрично, образуя две одинаковые зоны. Между ними формируется комиссуральная область, которая особенно хорошо развита у мшанок с подковообразным лофофором. У *F. sultana* гистологическая дифференцировка ганглия на левую и правую половины выражена меньше. Серотонинергические элементы ганглия расположены равномерно в основном нейропиле, а тела FMRФамидергических нейронов расположены в виде двух симметричных зон. Это позволяет предположить, что FMRФамид играет более существенную роль в регуляции поведения лофофора, чем серотонин.

Расположенное в церебральном ганглии скопление тел FMRФамидергических нейронов у изученных видов представлено 20-30 клетками. Клетки локализованы в виде двух симметричных зон, связанных комиссуральной областью. Форма этих зон и характер распределения тел нейронов внутри – видоспецифичны. У *C. mucedo* тела FMRФамидергических нейронов локализованы в церебральном ганглии таким образом, что они формируют в области клеточных тел структуру, напоминающую соединенные полукольца. У двух остальных видов тела нейронов расположены равномерно в базальной части ганглия.

К сожалению, отсутствие литературных данных о распределении нейромедиаторов в церебральном ганглии морских мшанок не позволяет провести сравнение между этими группами. У форонид, в отличие от пресноводных мшанок, распределение FMRФамид- и серотонинергических элементов в церебральном ганглии носит диффузный характер. Анатомически церебральный ганглий форонид не выражен и представляет собой дорсальное утолщение перорального нервного кольца (Bullock, Horridge, 1965). На всем протяжении этого утолщения, а также по всему пероральному нервному кольцу у форонид располагаются серотонин- и FMRФамидергические тела нейронов и их отростки. Только с анальной стороны, в области лофофоральных органов, удастся обнаружить два небольших скопления тел серотонинергических нейронов, расположенных в основании лофофора (Temereva, Tsitrin, 2014).

Сравнение строения церебрального ганглия пресноводных мшанок и плеченогих еще более затруднено. Во-первых, в литературе отсутствуют какие-либо данные о распределении нейромедиаторов в нервной системе брахиопод. Во-вторых, у большинства представителей

брахиопод (преимущественно *Articulata*) центральная нервная система представлена парой ганглиев, расположенных дорсально и вентрально по отношению к глотке, тогда как у большинства *Inarticulata* дорсальный супраэзофагеальный ганглий отсутствует.

Иннервация лофофора. Строение нервной системы лофофора и щупалец пресноводных мшанок в целом оказывается сходным с таковым у морских мшанок. Основные отличия заключаются в том, что у морских мшанок от церебрального ганглия отходит пара нервов, образующих пероральное нервное кольцо. У пресноводных мшанок за счет наличия крупных парных выростов – рук лофофора – кроме нервов перорального нервного кольца от церебрального ганглия также отходят рога лофофора. Как и у морских мшанок, иннервация щупалец лофофора у пресноводных мшанок осуществляется за счет отростков радиальных нервов.

Полученные нами данные о строении нервной системы лофофора *C. mucedo*, *P. repens* и *F. sultana* в общих чертах подтверждают описания Герверцхагена и других авторов (Краепелин, 1887; Saeffigen, 1888; Gerwerzhagen, 1913), работавших с этими же видами. Характер строения нервной системы лофофора трех исследованных мшанок также оказывается сходным и с исследованным ранее видом *Lophopus cristallinus* (Marcus, 1934). Нами впервые были описаны дополнительный и базальный радиальные нервы. Кроме того, нам удалось показать, что дистально на конце каждого радиального нерва образуется не одна, а две пары нервов, принимающие потом участия в иннервации щупалец (Шунькина и др., 2014).

Основные отличия в иннервации лофофора у исследованных видов связаны с количеством и расположением проксимальных ветвей основного радиального нерва. Необходимо напомнить, что эти ветви подразделяются на две группы, представленные крупными (более толстыми) и более мелкими (тонкими) веточками. Количество мелких ветвей значительно варьирует не только у разных видов, но и между зооидами в пределах одной колонии. Количество крупных ветвей и их расположение оказывается видоспецифическими.

Иннервация щупалец. В каждом щупальце было обнаружено четыре основных продольных нерва: фронтальный, абфронтальный и пара абфронтально-латеральных. Абфронтальный и латеро-абфронтальные нервы залегают субэпителиально. В средней части щупальца *C. mucedo* также удалось найти пару тонких, состоящих всего из двух аксонов, латеро-фронтальных нервов, которые, предположительно, являются отростками латеральных рецепторных клеток средней части щупальца и сливаются с базальной частью фронтального нерва. Эти три нервных ствола погружены в базальную пластинку.

Общая организация нервной системы щупалец взрослых форонид, на первый взгляд, напоминает таковую у пресноводных мшанок. Исследование нервной системы щупалец *Phoromopsis harmeri* позволило выявить шесть основных нервов: медиафронтальный, пару латеро-фронтальных, пару латеро-абфронтальных и абфронтальный. Однако эти нервы имеют разное происхождение. Абфронтальные и латеро-абфронтальные нервы щупалец являются отростками

внешнего нервного кольца, проходящего с абфронтальной стороны лофофора. Остальные нервы являются отростками малого (фронтального) нервного кольца лофофора (Temereva, Tsitrin, 2014). Строение нервной системы щупалец Brachiopoda исследовано недостаточно. Известно, что каждое щупальце иннервировано одним нервным отростком, проходящим базипителеально с фронтальной стороны щупальца (Reed, 1977; Bullock, Horridge, 1965).

Сопоставление данных, полученных при окраске антителами к ацетилированному α -тубулину, серотонину и FMRFамиду со сведениями об ультраструктуре дает возможность проанализировать распределение нейромедиаторов в различных нервах щупалец. Нервные отростки, участвующие в иннервации межщупальцевой мембраны имеют серотонинергическую природу. Аксоноподобные отростки FMRFамидергических рецепторных клеток щупалец входят в состав фронтального нерва. Катехоламинергические нервы входят в состав фронтального и латеро-абфронтальных нервов щупалец. Таким образом, фронтальный нерв щупалец имеет смешанную природу – в его составе присутствуют как FMRFамид-, так и катехоламинергические волокна. По ходу абфронтально-латеральных нервов удастся выявить большое количество регулярно расположенных катехоламинергических первичночувствующих рецепторных клеток.

В отличие от пресноводных мшанок, у форонид в щупальцах удастся обнаружить не только FMRFамидергические, но и серотонинергические элементы. На всем протяжении щупалец располагается множество тонких серотонинергических отростков с периодически встречающимися телами нейронов (Temereva, Tsitrin, 2014).

Нами впервые было показано распределение серотонин- и FMRFамидергических элементов в нервной системе лофофора. Помимо нервных отростков, локализованных во фронтальных нервах щупалец, в основании нескольких пар латеральных щупалец лофофора присутствуют небольшие ганглионарные скопления FMRFамидергических нейронов. Функция этих нейронов остается неясной, поскольку не удастся проследить их отростки на большом протяжении. Предположительно эти ганглионарные скопления регулируют деятельность лофофора, так как часть отростков нервных клеток входит в состав рогов лофофора. Кроме того, в щупальцах и основании рогов лофофора обнаружены серотонинергические нервные клетки. У разных видов эти клетки располагаются ближе или дальше по отношению к основанию щупалец. У исследованных видов удастся выявить тенденцию к смещению тел нейронов к основанию рогов лофофора.

Биполярные серотонинергические нервные клетки, обнаруженные в основании (или нижней трети) щупалец исследованных видов возможно являются проприорецепторами. Ранее схожие по локализации нейроны были описаны как рецепторные клетки межщупальцевой мембраны (Saefftigen, 1888). Их короткие периферические отростки заканчиваются однотипно небольшим расширением в межщупальцевой мембране. Такое строение периферических отростков, а также то, что нервные окончания этих клеток не подходят к близлежащим мышцам, может свидетельствовать в пользу того, что эти клетки являются проприорецепторами.

В лофофоре пресноводных мшанок нами были также описаны некоторые рецепторные элементы. К ним относятся биполярные FMRFамидергические нейроны, расположенные на самых кончиках щупалец у кристателлы, а также выявленные методом конденсации с глиоксиловой кислотой рецепторные клетки щупалец двух типов: биполярные и треугольные с короткими периферическими отростками. Эти первичночувствующие клетки располагаются вдоль всей фронтальной поверхности щупалец. Кроме того, ультраструктурные исследования впервые убедительно показали наличие рецепторных клеток в латеральных областях щупалец. Такое расположение рецепторных элементов доказывает участие щупалец в рецепции.

Иннервация стенки цистида и интроверта. Иннервация стенки тела интроверта (щупальцевого влагалища) и цистида осуществляется за счет двух пар нервов, отходящих с базальной стороны от церебрального ганглия. Эти нервные тракты оказываются довольно короткими и практически сразу начинают ветвиться. Характер иннервации интроверта и цистида у исследованных видов пресноводных мшанок различается. Интроверт кристателлы и плюмателлы иннервирован более частой, чем цистид, сетью FMRFамидергических нервных волокон. Стенка интроверта является местом локализации большинства мультиполярных нейронов, они в массе располагаются на границе стенки цистида и интроверта. Цистид у этих видов иннервирован нервными отростками, расположенными преимущественно вдоль апико-базальной оси зооида. У *F. sultana* отличий в иннервации интроверта и стенки цистида обнаружено не было. Это может быть связано с тем, что мускулатура стенки цистида у этой мшанки устроена несколько иначе, чем у других исследованных видов (Schwaha, Wanninger, 2012). У *P. repens* и *F. sultana* основная масса нервных волокон стенки цистида направлена вдоль апико-базальной оси зооида. У *C. mucedo* иннервация фронтальной стенки колонии представляет собой сеть. Эти различия, в первую очередь, связаны с формой колонии и расположением зооидов относительно друг друга.

В отличие от пресноводных мшанок, в нервной системе форонид присутствует большое количество серотонинергических элементов (Temereva, Tsitirin, 2014). Помимо описанных выше нервных элементов лофофора, в стенке тела форонид удается визуализировать нервное сплетение, состоящее из нерегулярно расположенных мультиполярных нейронов и их отростков. FMRFамидергическая иннервация стенки тела взрослых форонид представлена схожим сплетением с нерегулярно расположенными мультиполярными нейронами. В отличие от форонид, у пресноводных мшанок в стенке интроверта и в стенке цистида какие-либо серотонинположительные элементы нервной системы отсутствуют.

FMRFамидергическая иннервация интроверта и присутствие FMRFамидергических нервных волокон в стенке цистида носят несколько иной характер, чем у форонид. Считается, что характер распределения различных нейромедиаторов в нервной системе консервативен (Сахаров, 1991). Нервная система форонид представлена диффузным нервным сплетением с повышенной концентрацией нервных клеток в области перорального кольца. В этом нервном сплетении

присутствует приблизительно равное количество серотонин- и FMRFамидергических элементов. По сравнению с форонидами нервная система пресноводных мшанок оказывается более дифференцированной, с хорошо обособленным церебральным ганглием и различающимися по характеру строения отделами. Нам удалось выявить разницу в иннервации интроверта и цистида мшанок. Это свидетельствует о том, что более высокая степень дифференцировки нервной системы присутствует у филактолемат не только на уровне ЦНС, но и в периферической нервной системе. Это, в первую очередь, может быть связано с внутрикониальной интеграцией зооидов, которые обладают довольно сложным индивидуальным и колониальным поведением (Антипенко, 1999; Winston, 1978; Shunatova, Ostrovsky, 2001).

Нами впервые была описана иннервация мускулатуры подошвы *C. mucedo*. Полученные данные указывают на наличие хорошо развитой моторной части нервной системы, участвующей в локомоции колонии. По краю подошвы встречается небольшое количество мультиполярных нервных клеток. Эти мультиполярные клетки в подошве выполняют функцию проприорецепции.

Филогенетическое положение различных представителей Phylactolaemata. Представления о взаимном положении семейств филактолемных мшанок изменялись с течением времени. Первоначально считалось, что виды с колоколообразным лофофором (род *Fredericella*, семейство Fredericellidae), характерным для морских мшанок, наиболее примитивны (Brien, 1954). На основании строения статобластов мшанок из рода *Fredericella* также помещали в основание класса Phylactolaemata, а род *Cristatella* рассматривали как наиболее продвинутый (Togiumi, 1956; Lacourt, 1968; Mukai, 1999). Более поздние исследования, основанные на молекулярных данных, показали, что род *Fredericella* занимает не базальное положение, а, напротив, являясь сестринским таксоном для рода *Plumatella*, находится в наиболее удаленном положении от основания древа пресноводных мшанок (Wood, Lore, 2005; Okuyama, 2006). Анализ генов 16S и 12S митохондриальной рРНК показал, что группа семейств Fredericellidae и Plumatellidae занимают максимально отдаленное от базального положение. А большинство видов с лофоподидными колониями, напротив, занимают базальное положение (Hirose et al., 2008).

Полученные нами данные о строении нервной системы лофофоров пресноводных мшанок позволяют утверждать, что округлая форма лофофора фредерицеллы не является примитивным признаком. Наличие сильно редуцированных рогов лофофора, а также характер распределения нейромедиаторов в области церебрального ганглия позволяют говорить о вторичной редукции лофофора *F. sultana*. Вероятнее всего, причиной этой редукции стало сильное уменьшение размеров зооидов данного вида. Что касается остальных двух видов – *C. mucedo* и *P. repens*, то анатомическое строение их нервной системы является типичным для пресноводных мшанок. Некоторые детали распределения серотонин и FMRFамидергических элементов нервной системы у этих двух видов позволяют утверждать, что *C. mucedo* обладает более сложной нервной системой. Возможно, что отчасти это связано со способностью этих колоний к передвижению.

Филогенетическое положение Phylactolaemata среди других Lophophorata. Несмотря на то, что в последнее время мшанок было предложено выделять в группу Polyzoa вместе с Entoprocta и Cycliophora (Hejnol et al., 2009), в одной из последних статей посвященных вопросу состава группы Lophophorata и положению Bryozoa, Phoronida и Brachiopoda в системе Metazoa, авторы утверждают, что Phoronida и Bryozoa все же являются сестринскими таксонами и объединяются в группу с Brachiopoda (Nesnidal et al., 2013). Наши данные не позволяют судить о том, являются ли таксоны Phylactolaemata и Phoronida родственными, однако с уверенностью можно утверждать, что исследованные группы животных не состоят в близком родстве. Так, иннервация стенки цистида у пресноводных мшанок и брахиопод принципиально отличается. Определенные отличия наблюдаются также в строении нервной системы лофофора и распределении различных нейромедиаторов в церебральном ганглии, нервах лофофора и щупалец.

Можно утверждать, что проведенное нами исследование оказалось весьма эффективным и информативным в отношении выявления деталей строения и уточнения филогенетических взаимоотношений в пределах класса Phylactolaemata. В то же время использование полученных нами данных для уточнения взаимоотношений между лофофоратами наталкивается на крайнюю нехватку нейроморфологических данных по форонидам и брахиоподам.

Заключение

В соответствии с поставленной целью нами было проведено детальное исследование и сравнительный анализ строения нервной системы пресноводных мшанок *Cristatella mucedo*, *Plumatella repens* и *Fredericella sultana*. В ходе работы были существенно дополнены и уточнены данные по иннервации лофофора и стенки тела, а также впервые описана локализация серотонин-, FMRФамид- и катехоламинергических элементов в нервной системе исследованных видов.

В строении церебрального ганглия Phylactolaemata можно отметить как сходства, так и некоторые различия с церебральным ганглием морских мшанок Gymnolaemata. Как и у гимнолемат, церебральный ганглий филактолемат представлен нейропилем и областью клеточных тел. Однако, у пресноводных мшанок в вентральной части нейропиля ганглия имеется полость. Распределение серотонин- и FMRФамидергических элементов в церебральном ганглии исследованных пресноводных мшанок носит видоспецифический характер. У всех мшанок с подкововидным лофофором как серотонин-, так и FMRФамидергические элементы локализуются симметрично в левой и правой половинах ганглия. Часть нервных волокон переходит через комиссуроподобную центральную часть нейропиля ганглия в симметричные области противоположной половины ганглия. Можно предположить, что такое строение обуславливает синхронизацию работы обоих рук лофофора. В литературе описаны формы поведения полипидов, когда они совершают синхронные движения руками.

Общая организация нервной системы лофофора и характер иннервации щупалец у пресноводных и морских мшанок сходны. Можно предположить, что выявленные отличия в

строении этих отделов нервной системы у исследованных видов и у видов из класса Gymnolaemata обусловлены морфологическими особенностями строения лофофора у представителей разных классов.

У филактолемат впервые было убедительно показано наличие катехоламинергических рецепторных клеток на латеральной и фронтальной сторонах щупальца. Их рецепторная природа была доказана с помощью ультраструктурных исследований – у *C. mucedo* у этих клеток были выявлены длинные отростки рецепторных клеток, входящие в нервы щупалец. Кроме того, у кристателлы были обнаружены FMRFамидергические рецепторные клетки, расположенные по одной на кончике каждого щупальца. В межщупальцевой мембране *C. mucedo* и *P. repens* и в нижней трети щупалец у *F. sultana* также присутствуют серотонинположительные первичночувствующие рецепторные клетки.

FMRFамидергическая составляющая широко представлена у пресноводных мшанок в периферической нервной системе. К ней можно отнести не только первичночувствующие рецепторные клетки щупалец лофофора, но и скопления клеток, расположенных в основании лофофора. На настоящий момент их функция неизвестна. Стенка интроверта иннервирована исключительно за счет FMRFамидергических нервных элементов. Характер иннервации стенки цистида отличается у видов с колониями различного типа. У *P. repens* и *F. sultana* основная масса нервных волокон стенки цистида направлена вдоль апико-базальной оси зооида. У *C. mucedo* иннервация фронтальной стенки колонии представляет собой сеть с беспорядочным расположением волокон. Впервые показано, что особая базальная часть колонии кристателлы – подошва – имеет собственную иннервацию. В нервной системе подошвы описаны мультиполярные FMRFамидергические клетки, отростки которых иннервируют оба взаимноперпендикулярных слоя мускулатуры подошвы.

Характер распределения FMRFамидергических элементов в различных отделах нервной системы филактолемат, свидетельствует о том, что FMRFамид у мшанок, как и у многих других беспозвоночных (моллюски, немертины, турбеллярии) может играть важную роль в регуляции мышечных сокращений, а также в процессах рецепции. Судя по распределению в организме, серотонин и катехоламины преимущественно связаны с осуществлением рецепторных функций.

Фрагментарность данных о нейроморфологии других представителей Lophotrochozoa не позволяет провести детальное сравнение между представителями этой группы животных. Опираясь на опубликованные данные, на настоящий момент можно отметить лишь несколько деталей. У пресноводных мшанок и фороид щупальца и стенка тела иннервированы по-разному и с использованием разных нейромедиаторов. Строение церебрального ганглия и распределение нейромедиаторов в нем также отличаются. Исходя из этого, у нас нет оснований для сближения пресноводных мшанок и фороид в качестве близкородственных групп.

Выводы

1. В отличие от других представителей Lophophorata, ЦНС пресноводных мшанок представлена единственным ганглием, имеющим особую полость. Кроме того, основная часть нейропиля, и область клеточных тел сильно смещены на дорсальную сторону ганглия. Серотонин- и FMRФамидергические элементы распределяются симметрично в левой и правой половинах ганглия с образованием комиссуральной области, что сильнее выражено у видов с подковообразным лофофором.

2. Нервная система лофофора пресноводных мшанок представлена (1) парными нервными стволами (рогами лофофора и нервами перорального кольца) и отходящими от них нервами щупалец и (2) первичночувствующими интраэпителиальными рецепторными клетками щупалец, часть из которых имеет FMRФамид- или катехоламинергическую природу.

3. Несмотря на внешнее сходство колоколообразного лофофора *Fredericella sultana* с лофофорами морских мшанок, схема его иннервации отличается от морских и сходна с иннервацией подковообразных лофофоров пресноводных мшанок. Предположительно, такая форма лофофора вторична и связана с общим уменьшением размеров зооидов в эволюции.

4. Нервная система лофофора у мшанок классов Phylactolaemata и Gymnolaemata характеризуется единым планом строения, отличаясь, в основном, наличием второй пары нервных трактов – рогов лофофора – у филактолемат. В то же время в схеме иннервации лофофора изученных пресноводных мшанок имеются некоторые видоспецифические черты.

5. Нервная система стенки колонии, а также интроверта, кишечника и подошвы *Cristatella mucedo* представлена преимущественно FMRФамидергическими нервными сплетениями, содержащими отдельные мультиполярные нейроны. В состав сплетения интроверта *C. mucedo* входят еще и катехоламинергические элементы.

6. В эпителии щупалец *C. mucedo* присутствует несколько типов клеток, включая первичночувствующие рецепторные. Рецепторные клетки на апикальной поверхности несут реснички и микровилли, располагаясь вдоль латеральных ресничных трактов, и посылая отростки к латеро-фронтальным и абфронтальным нервам щупалец. Часть из этих клеток относится к катехоламинергическим элементам.

7. Отмеченные сходства в иннервации лофофора мшанок с другими представителями Lophophorata обусловлены, прежде всего, сходным строением и функционированием лофофора.

8. В то же время в строении нервной системы пресноводных мшанок и форонид выявлены существенные различия. К ним относятся особенности организации церебрального ганглия, различия в иннервации лофофора и стенки тела, а также характер распределения FMRФамид- и серотонинергических элементов. Поэтому рассматривать пресноводных мшанок и форонид в качестве близкородственных групп нельзя.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

В изданиях из перечня ВАК:

1. Шунькина К.В. Серотонин и FMRFамид- иммунореактивные элементы в нервной системе пресноводных мшанок (Bryozoa: Phylactolaemata) / Шунькина К.В., Старунов В.В., Зайцева О.В., Островский А.Н. // Доклады Академии Наук. – 2013. – Т. 451. – №4. – С. 474-477.
2. Шунькина К.В. Сравнительная нейроморфология лофофора и стенки тела трех видов пресноводных мшанок (Bryozoa, Phylactolaemata) / Шунькина К.В., Старунов В.В., Зайцева О.В., Островский А.Н. // Зоологический журнал. – 2014. – Т. 93. – №3. – С. 497-507.
3. Шунькина К.В. Сенсорные элементы и иннервация пищедобывающего аппарата пресноводной мшанки *Cristatella mucedo* / Шунькина К.В., Зайцева О.В., Старунов В.В., Островский А.Н. // Доклады Академии Наук. – 2014. – Т. 455. - №4. – С. 490-493.

Публикации в прочих изданиях:

1. Shunkina K. Visualization of nervous system and muscles of *Cristatella mucedo* (Bryozoa, Phylactolaemata) using CLSM / Shunkina K., Starunov V. // International conference "Modern Microscopy Techniques in biology and Medicine" 9-10 November 2009. – Saint-Petersburg. – 2009. – P. 26-27.
2. Шунькина К.В. Некоторые данные о строении нервной системы пресноводной мшанки *Cristatella mucedo* (Cuvier, 1798) / Шунькина К.В., Старунов В.В. // Материалы школы для молодых специалистов и студентов к 105-летию со дня рождения А.В. Иванова, 20-22 октября 2011, Санкт-Петербург. – Санкт-Петербург. – 2011. – Стр. 144-146.
3. Shunkina K.V. New data on the nervous system of three phylactolemate species: *Cristatella mucedo*, *Plumatella repens* and *Fredericella sultana* / Shunkina K.V., Starunov V.V., Ostrovsky A.N. // Larwood Meeting 1-4 June 2012, Brno.
4. Shunkina K.V. New data concerning the structure of freshwater bryozoan *Cristatella mucedo* (Bryozoa: Phylactolaemata) nervous system / Shunkina K.V., Starunov V.V. // Международная конференция «Простые Нервные Системы» 6-10 сентября 2012, Москва.
5. Шунькина К.В. Строение нервной системы лофофора пресноводных мшанок (Bryozoa: Phylactolaemata) / Шунькина К.В., Старунов В.В. // Отчетная научная сессия по итогам работ 2012 г. – Санкт-Петербург. – 2013. – Стр. 51-52.
6. Shunkina K.V. Serotonergic and FMRFamidergic elements in the freshwater bryozoan nervous system / Shunkina K.V., Starunov V.V., Zaitseva O.V., Ostrovsky A.N. // Materials of International Bryozoology Association Meeting, 10-16 June 2013, Catania. – P. 134.
7. Shunkina K.V. New data on the nervous system of freshwater bryozoans / Shunkina K.V., Starunov V.V., Zaitseva O.V., Ostrovsky A.N. // 3d International Congress on Invertebrate Morphology, 3-7 August 2014, Berlin. – P. 211.