

Учреждение Российской академии наук Зоологический институт РАН
(ЗИН РАН)

Лаборатория эволюционной морфологии

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

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:

д.б.н., доцент, зав. лаб.
эволюционной морфологии ЗИН РАН
Зайцева О.В.

д.б.н., доцент кафедры
зоологии беспозвоночных СПбГУ
Островский А.Н.

Санкт-Петербург – 2014

Содержание

Введение.....	3
Благодарности	8
Глава 1. Обзор литературы	
1.1.История развития взглядов на филогенетическое положение мшанок в системе Metazoa	9
1.2.Общая организация пресноводных мшанок	12
1.3.Особенности пищевого поведения пресноводных мшанок	15
1.4. История изучения нервной системы пресноводных мшанок	18
Глава 2. Материал и методы	
2.1 Объекты исследования	30
2.2 Гистологические методы	30
2.3 Методы флуоресцентного гистохимического и непрямого иммуногистохимического окрашивания	31
2.4Метод выявления моноаминов	34
2.5 Методы электронной микроскопии	35
2.6 Список использованных сокращений	36
Глава 3. Морфологические особенности представителей Phylactolaemata	38
Глава 4. Строение нервной системы пресноводных мшанок <i>C. tucedo</i> , <i>P. repens</i> и <i>F. sultana</i>	43
4.1 Центральная нервная система	43
4.2 Нервная система лофофора	45
4.3 Нервная система стенки тела полипида (интроверта) и кишечника	54
4.4 Нервная система подошвы <i>C. tucedo</i>	57
Глава 5. Серотонинергическая нервная система исследованных видов	59

Глава 6. FMRFамидергическая нервная система исследованных видов.....	66
6.1 FMRFамидергические элементы ЦНС	66
6.2 FMRFамидергические элементы нервной системы лофофора	69
6.3 FMRFамидергические элементы нервной системы интроверта и стенки цистида	73
6.4 FMRFамидергические элементы нервной системы кишечника зооидов	79
Глава 7. Катехоламинергические элементы нервной системы <i>C. mucedo</i>	81
Глава 8. Ультраструктурное строение щупалец <i>C. mucedo</i>	85
Глава 9. Обсуждение результатов	92
Заключение	115
Выводы	118
Список цитируемой литературы	120

Введение

Нервная система – одна из основных интегрирующих и регуляторных систем организма. За счет наличия большого количества разнообразных рецепторных элементов, нервных центров и стволов организм постоянно постоянно получает и обрабатывает информацию о состоянии окружающей среды, таким образом регулируя свое поведение и физиологическое состояние. Координируя работу различных функциональных систем организма, нервная система также выполняет интегративную функцию.

Свойства и функции нервной системы определяют ее морфологическую консервативность и пластичность. 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 является эволюционно консервативной, так как сохраняет признаки, присущие предковым организмам.

Такое сочетание консервативности и пластичности позволяет рассматривать черты строения нервной системы в качестве удобных признаков для выявления филогенетических связей между различными группами организмов (Orrhage, Müller, 2005) и эволюции их личинок (Nielsen, 2005). В некоторых случаях характеристики строения нейромышечной системы послужили основой для понимания эволюционных тенденций внутри некоторых крупных групп беспозвоночных животных, например, Lophotrochozoa (Hay-Schmidt, 2000; Wanninger, 2008, 2009). Изучение особенностей строения нервной системы важно также и с точки зрения функциональной морфологии (Gilmour, 1978; Nielsen, Riisgard, 1998; Riisgard et al., 2000, 2004).

Мшанки (тип Bryozoa) широко распространены по земному шару, они встречаются как в морских, так и в пресных водах. Колония мшанок состоит

из интегрированных модулей – зооидов. Питающиеся зооиды – аутозооиды – добывают пищу при помощи специального фильтрационного аппарата – лофофора – короны щупалец, покрытых ресничками. Традиционно в состав типа включается три класса: *Phylactolaemata*, *Stenolaemata*, *Gymnolaemata*. Строение лофофора и самих зооидов отличается в разных группах. Так, например, 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. Напротив, представители отрядов *Gymnolaemata* и *Stenolaemata* обладают колоколообразным (с круговым расположением щупалец) лофофором. У представителей преимущественно морских *Gymnolaemata* стенки зооидов либо обызвествлены (отряд *Cheilostomata*), либо их обызвествление отсутствует (отряд *Stenostomata*). Среди хейлостомат в составе колоний можно встретить сильно модифицированные гетерозооиды, у которых отсутствует лофофор. У представителей морского класса *Stenolaemata* стенки зооидов обызвествлены. Исключительно пресноводные мшанки из класса *Phylactolaemata* обладают только аутозооидами; их зооиды покрыты либо тонкой хитиновой оболочкой, либо толстым слоем желатиноподобного матрикса.

Долгое время положение пресноводных мшанок в пределах типа *Bryozoa* оставалось неопределенным. В течение довольно длительного времени доминировала точка зрения о близком родстве покрыторотых мшанок и форонид (Helkamp, 2008). За счет сходства с форонидами – наличия надротовой лопасти (эпистома), подкововидной формы лофофора, отсутствия обызвествления зооидов – этот таксон первоначально было принято считать анцестральным (Nyman, 1959). Согласно гипотезе Йебрама, именно от пресноводных мшанок в дальнейшем произошел общий предок покрыторотых мшанок *Gymnolaemata* и узкоротых мшанок *Stenolaemata* (Jebram, 1973, 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 очень подробно (как на палеонтологическом, так и на современном материале), исследователи не так много внимания уделяли строению нервной системы (Lutaud, 1977; Reed, 1991; Mukai et al., 1997). К сожалению, на настоящий момент данные о строении нервной системы как морских, так и пресноводных мшанок остаются отрывочными и разрозненными, в том числе за счет использования различных методик. 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.

За счет широкого распространения и относительной доступности методов конфокальной лазерной микроскопии в последнее время было исследовано распределение некоторых нейромедиаторов (в основном, серотонина и нейроаминов) в нервной системе различных групп Lophotrochozoa. На данный момент очень полно исследовано строение нервных систем представителей некоторых групп из состава Lophotrochozoa: Annelida (Nezlin, Voronezhskaya, 2003; Fischer et al., 2010; Зайцева, Римская-Корсакова, 2014), Mollusca (Croll, Voronezhskaya, 1996; Zaitseva et al., 2004), Nemertea (Зайцева и др., 2007, 2007a; Maslakova, 2010; Beckers et al., 2011), Phoronida (Temereva, Wanninger, 2012; Temereva, Tsitrin, 2014). Согласно данным молекулярной филогении, к этой же группе относятся Bryozoa, единственная группа среди Eumetazoa, представленная исключительно

колониальными организмами (Helkamp et al., 2008; Malatt et al., 2012; Nesnidal et al., 2013). Поэтому особый интерес представляет проведение исследования нервной системы пресноводных мшанок с учетом распределения различных широкоисследованных у беспозвоночных нейромедиаторов. Сведения такого рода, кроме того, позволили бы понять функциональную значимость различных отделов нервной системы и точнее описать рецепторные элементы нервной системы пресноводных мшанок.

Объектами для данного исследования послужили три вида пресноводных мшанок: *Cristatella mucedo*, *Plumatella repens*, *Fredericella sultana*. Эти виды являются типичными представителями водной фауны европейской части России. Каждый из видов обладает рядом характерных особенностей. Так, например, *F. sultana* (как и другие представители семейства Fredericellidae) обладает нехарактерным для большинства пресноводных мшанок колоколообразным лофофором более свойственным для представителей Gymnolaemata и Stenolaemata. Зооиды *C. mucedo* и *P. repens* несут подковообразный лофофор, однако форма и образ жизни колоний этих видов значительно отличаются – «червеобразные» колонии *C. mucedo* обладают способностью к передвижению на протяжении всей своей жизни, тогда как ветвящиеся колонии *P. repens* жестко прикреплены к субстрату.

Целью работы стало выявление особенностей и закономерностей общей организации нервной системы и рецепторных элементов пресноводных мшанок на примере *Cristatella mucedo*, *Plumatella repens*, *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 FMRFаминергических элементов нервной системы.
4. Выявление серотонин- и катехоламинергических составляющих нервной системы.
5. Ультраструктурные исследования рецепторных элементов и иннервации лофофора на примере пресноводной мшанки *Cristatella mucedo*.

Благодарности

Автор выражает глубокую благодарность своим научным руководителям Андрею Николаевичу Островскому и Ольге Викторовне Зайцевой за терпение, важные и мудрые советы, необходимые консультации и всестороннюю поддержку. Огромную благодарность автор выражает Prof. Thomas Bartolomaeus за поддержку проведения части исследования на базе института Эволюционной биологии и экологии (Bonn, Germany) в рамках гранта DAAD. Автору хотелось бы поблагодарить коллективы кафедры Зоологии беспозвоночных СПбГУ, ЦКП «Хромас», ЦКП «Таксон» и Института эволюционной биологии и экологии (Bonn, Germany) и лично Антона Радаева, Tatjana Bartz, Claudia Müller и Björn Quast за помощь в обработке материала и предоставлении технической базы для исследований. Особую благодарность автор выражает Ольге Котенко, Thomas Schwacha, Ольге Литвяк за помощь в поиске и переводе некоторых статей. 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.

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

Глава 1. Обзор литературы

1.1 История развития взглядов на филогенетическое положение мшанок в системе Metazoa

Мшанки (Bryozoa) наряду с форонидами (Phoronida) и плеченогими (Brachiopoda) традиционно рассматривались в составе группы Tentaculata. В литературе Tentaculata долгое время признавали типом, включающим в состав три перечисленных выше класса (Догель, 1981). Абрикосов и Иванов таксоны Bryozoa, Phoronida и Brachiopoda возводили в ранг типа, а таксон Tentaculata – надтипа (Абрикосов, 1968; Иванов, 1968). Позднее Хайман был введен синоним таксона Tentaculata – Lophophorata. Дело в том, что Хайман считала название «щупальцевые» неудачным, так как наличие щупалец характерно для множества других групп беспозвоночных, в то время как наличие лофофора характеризует только представителей типов Bryozoa, Phoronida и Brachiopoda. Сейчас исследователи признали, что таксон Lophophorata является сборной группой. В настоящий момент форонид, брахиопод и мшанок относят к группе Lophotrochozoa из состава Protostomia (Passamanek, Halanych, 2004; Малахов, 2004; Malatt, 2012 и др. – см. обзор Ostrovsky, 2013), либо к группе Lophodeuterostomia, таким образом сближая их с вторичноротыми (Ruppert et al., 2004). Некоторые исследователи помещают лофофорат в основание расхождения ветвей первично- и вторичноротых животных (Passamanek, Halanych, 2004; Helkamp et al., 2008 и др.).

Еще в 2002 году Нильсен (Nielsen) поставил под сомнение монофилетичность группы Lophophorata (Рис. 1) (Nielsen, 2002). Большинство морфологических и молекулярных данных свидетельствовали о том, что мшанки занимают отдельное положение от остальных двух таксонов (Hausdorf et al., 2010; Edgecombe et al., 2011; Malatt et al., 2012). Причем форонид и брахиопод разные исследователи как объединяли в единую

группу, так и относили к двум разным таксонам (см. Ostrovsky, 2013). В настоящее время большинство авторов придерживаются мнения, что плеченогие и форониды входят в группу Brachiozoa, а мшанок сближают с Entoprocta и Cycliophora в таксон Polyzoa (Hejnol et al., 2009; Nielsen, 2012 и др.) (Рис. 2). В одной из последних статей, посвященных молекулярной филогении Metazoa, авторы вновь подтвердили близкородственные связи между мшанками и форонидами и объединили их в одну группу с Brachiozoa (Nesnidal et al., 2013).

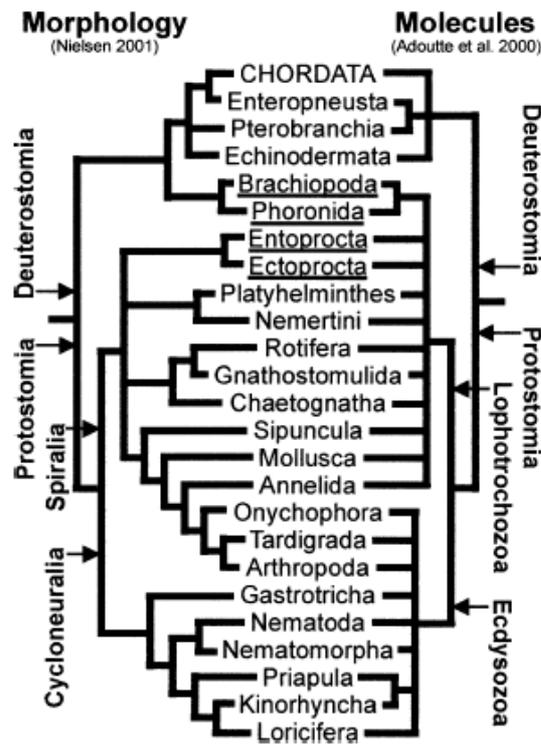


Рисунок 1. Сравнительное положение Ectoprocta и других Lophotrochozoa по морфологическим (слева) и молекулярным (справа) данным. В качестве молекулярных маркеров были исследованы НОХ-гены и 18s рДНК (из Nielsen, 2002 ориг.).

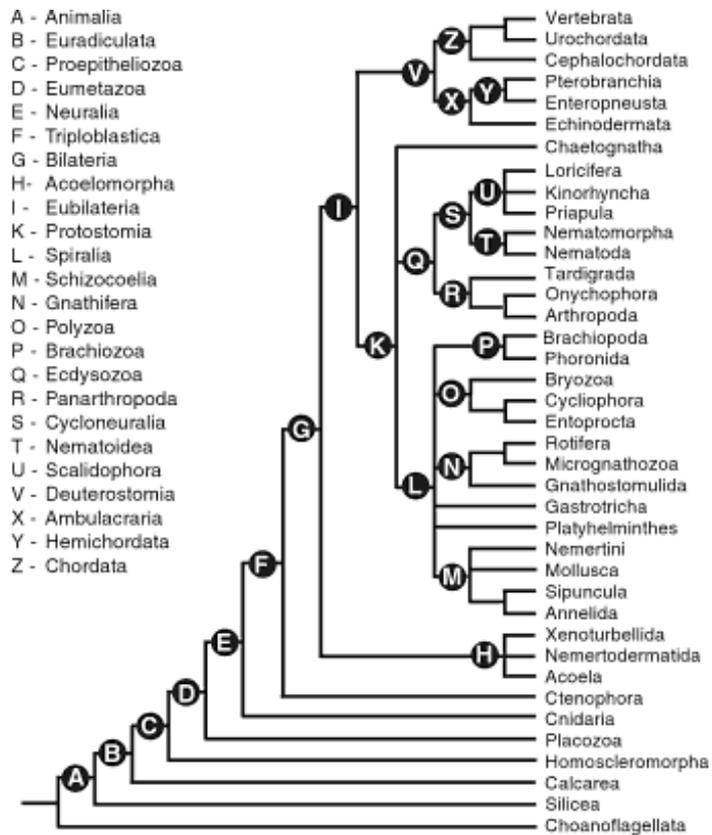


Рисунок 2. Один из вариантов современного положения таксонов Bryozoa, Phoronida, Brachiopoda (по Nielsen, 2012).

На наш взгляд, до сих пор современное положение представителей бывшей группы Lophophorata остается неясным, в первую очередь за счет нехватки морфологических данных.

История изучения мшанок насчитывает на данный момент уже несколько веков. Первое описание представителей данного таксона было выполнено Ронделе (Rondelet, 1555). Вплоть до 1888 года, когда Хатчек наконец объединил мшанок (Bryozoa), форонид (Phoronida) и плеченогих (Brachiopoda) в единый класс Tentaculata, всех этих животных относили к самым разным группам беспозвоночных (Hatschek, 1888). Например, мшанок за счет сидячего образа жизни и наличия венчика щупалец долгое время считали представителями класса Zoophyta – растений-животных. В состав типа входят три класса: Stenolaemata (узкоротые мшанки), Gymnolaemata (голоротые мшанки) – в подавляющем большинстве представленные

морскими видами, и Phylactolaemata (покрыторотые мшанки), состоящий из пресноводных видов. Филогенетические отношения между этими группами остаются неясными. Изначально большинство авторов склонялось к тому, что филактолемные мшанки – базальный таксон, от которого впоследствии произошли гимнолемные и стенолемные мшанки (имеющие общего предка) (см. обзор Hyman, 1959; Ostrovsky, 2013). Существовала и противоположная гипотеза, в соответствии с которой пресноводные мшанки – наиболее продвинутая группа мшанок, произошедшая от примитивных гимнолемных предков (Краепелин, 1887; Marcus, 1934; Bassler, 1953). Существовало также мнение о том, что все три таксона мшанок произошли от некоего общего предка «Pro-bryozoa» (Borg, 1926). Согласно еще одной гипотезе, морские гимнолемные и пресноводные филактолемные мшанки возникли независимо друг от друга, а таксон Stenolaemata произошел от гимнолемных мшанок (Mundy et al., 1981 и др.). На основании молекулярных исследований пресноводные мшанки являются сестринской группой по отношению к таксону, объединяющему вместе Stenolaemata и Gymnolaemata (Fuchs et al., 2009; Waeschenbach et al., 2006, 2012).

1.2 Общая организация пресноводных мшанок

Пресноводные мшанки (кл. Phylactolaemata) широко распространены по всему земному шару и встречаются как в стоячих, так и в быстротекущих водах. Все виды, за исключением *Cristatella mucedo*, ведут прикрепленный образ жизни, обитая на различных субстратах: камнях, корягах, стенах каналов, водной растительности. Среди колоний пресноводных мшанок можно встретить две основные формы: плюмателлидная и лофоподидная (по названию родов *Plumatella* и *Lophopus*). Плюмателлидная форма представляет из себя распластанную по субстрату древовидную колонию, состоящую из зооидов-трубочек. Оболочка зооидов (эктоциста)

хитинизирована. В зависимости от вида мшанок, полипиды могут располагаться по всей длине ветвей колонии или же быть сконцентрированы на кончиках ветвей. Лофоподидные колонии характеризуются различными вариантами формы – от удлинённых неветвящихся до шарообразных. Эктоциста желеобразная, полипиды обычно расположены близко друг к другу.

Зооиды в колониях пресноводных мшанок мономорфны (то есть, абсолютно все зооиды колонии устроены одинаково). Каждый зооид обладает специализированным пищедобывающим аппаратом – лофофором, состоящим из втяжной кроны покрытых ресничками щупалец и вворачивающегося участка стенки тела зооида (щупальцевого влагалища). Каждый зооид принято подразделять на полипид – втяжную крону щупалец с кишечником и ассоциированной с ними мускулатурой, и цистид –местилище внутренних органов зооида. У пресноводных мшанок (за исключением представителей семейства *Fredericellidae*) форма лофофора подковообразная – на анальной стороне лофофора находятся два крупных выроста – руки лофофора, несущих два ряда щупалец каждый. Количество щупалец может варьировать от 20-30 до 80-100 в зависимости от вида. Окруженное щупальцами и прикрытое сверху небольшой складкой (эпистомом), характерной только для филактолемат, ротовое отверстие ведёт в U-образно изогнутый кишечник, открывающийся анальным отверстием позади венчика щупалец. От слепого отдела желудка к стенке цистиды ведёт фуникулярный тяж. К основанию лофофора крепятся мышцы-ретракторы полипиды, которые проходят базально вдоль стенки кишечника и снизу крепятся к стенке цистиды.

Зооиды у *Phylactolaemata* по сравнению с морскими мшанками, довольно крупные, обычно размером более 1мм. Между собой зооиды объединяются за счёт стенки цистиды. Все представители типа *Bryozoa* – гермафродиты. Овариум располагается снизу фронтальной стенки цистиды, а семенники

приурочены к фуникулярному тяжу зооида. За счет перекрестного оплодотворения в колониях формируются личинки, покрытые ресничками и способные к плаванию в толще воды. Необходимо отметить, что нам ни разу не удалось наблюдать полового размножения колоний в исследованных нами местах. Все колонии пресноводных мшанок способны также формировать специализированные зимующие почки с плотной хитиновой оболочкой – статобласты. В одной колонии может формироваться до сотни статобластов. С понижением температуры воды осенью, стенка отмирающей колонии начинается постепенно разрушаться, и статобласты попадают во внешнюю среду. За счет различных приспособлений (крючки, клейкий секрет) они разносятся по водоему, перезимовывают, будучи прикрепленными к субстрату, а на следующий год из них формируются новые колонии.

Молодые колонии лофоподидных мшанок некоторых видов из родов *Lophopus*, *Lophopodella* и *Pectinatella* способны к движению. Однако с увеличением размеров колонии перестают двигаться. Причем, механизм передвижения колоний остается неясным: в одной из старых работ было высказано предположение, что молодые колонии мшанок из рода *Lophopus* могут передвигаться за счет синхронного втягивания и выбрасывания полипидов (Wilcox, 1906).

Первые описания поведения и питания пресноводных мшанок были сделаны еще Трамблэ и Бейкером (Baker, 1743; Trembley, 1744). Бейкер описал движения щупалец мшанок, токи создаваемые ими в воде, захватывание пищи и перемещение ее к ротовому отверстию, движения полипидов. Этим автором были отмечены реакции полипидов в ответ на внешние раздражения (например, резкую смену токов воды) и описано направленное перемещение пищевых частиц по щупальцам к ротовому отверстию (Baker, 1753). Позднее были описаны ресничные тракты щупалец, создающие токи воды, их локализация на щупальцах и направление биений ресничек (Vomme, 1769). В начале 20 века были описаны некоторые

поведенческие реакции полипидов: движения полипидов (повороты, наклоны), удаление несъедобных частиц из венчика лофофора, независимые движения щупалец и их объединение для лова крупных частиц (Brooks, 1929; Rusche, 1938).

Кроме того, было изучено отношение колоний пресноводных мшанок к различным внешним факторам. Маркус (показал, что колонии кристателлы и лофопуса предпочитают затененные места обитания (Marcus, 1924, 1926). Причем, он отмечал, что способные к движению колонии кристателлы быстрее перемещаются в светлых участках садка, в то время как в затененных участках их движение замедлялось.

1.3 Особенности пищевого поведения пресноводных мшанок

Основным объектом питания пресноводных мшанок является фитопланктон (диатомовые и десмдиевые водоросли, зеленые жгутиконосцы). Иногда в кишечнике видов рода *Plumatella* удается обнаружить мелких ракообразных и коловраток. Пищевое поведение пресноводных мшанок организовано довольно сложным образом. В добывании пищи участвует не только ресничный аппарат щупалец, сами щупальца и весь лофофор в целом. У пресноводных мшанок основная масса пищевых частиц перемещается от щупалец к ротовому отверстию за счет активного нисходящего транспорта по фронтальному ресничному тяжу щупалец (Рис. 3А).

Антипенко подробно описала и классифицировала различные поведенческие реакции полипидов пресноводных мшанок *Cristatella mucedo*, *Plumatella repens* и *Fredericella sultana*, связанные с питанием (Антипенко, 1999). Полипид появляется над поверхностью колонии, после чего тестирует окружающее пространство. Сначала из щупальцевого влагалища

высовываются только самые кончики щупалец, которые некоторое время остаются в таком положении. После тестирования лофофор либо полностью высовывается, либо втягивается обратно (Антипенко, 1999). Было отмечено, что такая реакция среди покрыторотых мшанок чаще наблюдается у *Fredericella sultana*. Автор полагает, что это может быть связано с организацией колонии данного вида: дело в том, что у фредерицеллы зооиды расположены на большом удалении друг от друга, в то время как у плюмателлы и кристателлы они сближены и нормальное пищевое поведение одного из группы зооидов может быть служить сигналом для остальных зооидов в группе. После успешного тестирования окружающего пространства запускается реакция поиска пищевых частиц. Полипиды постоянно изменяют свое положение, наклоняясь в разные стороны относительно горизонтальной плоскости колонии. Полипид также может немного сводить или разводять щупальца, тем самым изменяя направления токов воды и расширяя или сужая облавливаемый сектор пространства. Начинается питание. Для наиболее эффективной передачи большого количества пищевых частиц к ротовому отверстию как морским, так и пресноводным мшанкам характерна реакция «хлопка» (резкое смыкание всех щупалец над ротовым отверстием — таким образом зооид «стряхивает» в направлении к ротовому отверстию всю попавшую на щупальца пищу). Для мшанок с колоколообразным лофофором в условиях большого количества пищевой взвеси особенно характерна реакция образования «клетки» (Рис. 3Б) (Winston, 1978; Антипенко, 1999; Shunatova, Ostrovsky, 2001): полипид так плотно смыкает щупальца, что между ними не остается просвета — это позволяет изолировать уже захваченную порцию частиц. Антипенко отмечает, что эта реакция у мшанок с подкововидным лофофором имеет меньшую продолжительность, чем у *F. sultana*, вероятно за счет того, что сжатие щупалец подкововидного лофофора требует значительных мышечных усилий.

Если в воде не очень много пищевых частиц, то можно наблюдать реакцию отдельных щупалец. Различные варианты изгибания, отклонения щупалец направлены на удаление слишком крупных и непригодных для питания частиц, или, напротив, подгоняют их в центр венчика щупалец.

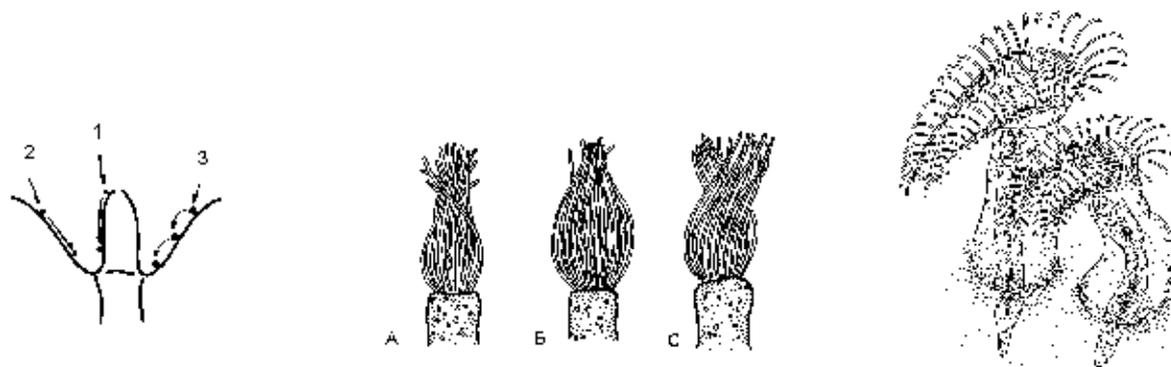


Рисунок 3. Некоторые элементы поведения зоидов пресноводных мшанок при притании (из Антипенко, 1999). А – различные варианты перемещения пищевой частицы внутрь лофофора; Б – образование «клетки» у *F. sultana*; В – групповое поведение зоидов *S. mucedo* (питание на разных уровнях).

За счет плотного расположения зоидов в активных питающихся колониях, токи, формируемые отдельными полипидами, часто взаимодействуют. Предположительно, для повышения эффективности фильтрации полипиды в колониях *S. mucedo* даже внутри одного ряда могут располагаться на разных уровнях (часть зоидов «пригибается» к поверхности колонии) (Рис. 3В). Несъедобные частицы, которые попали в зону влияния создаваемых щупальцами токов воды, и не были упущены, опускаются к поверхности колонии и перемещаются в ее центр, лишенный зоидов, где образуется «дымоход» — область с сильным вертикальным течением, удаляющим эти частицы за пределы колонии.

Несмотря на то, что пищевое поведение может сильно отличаться не только у разных видов мшанок, но также и у разных зоидов в колонии (у морских мшанок), можно сказать, что наиболее сложным пищевым поведением (по количеству разнообразных «реакций» и движений

полипидов) обладают морские мшанки *Gymnolaemata* (Shunatova, Ostrovsky, 2001). Разнообразие реакций пресноводных мшанок оказывается несколько ниже, чем у гимнолемных морских, но значительно выше, чем у морских мшанок из отряда *Cyclostomata* (Антипенко, 1999; Shunatova, Ostrovsky, 2001).

Следует отметить, что полипиды реагируют на механическое раздражение — при прикосновении к краю колонии происходит втягивание не одного, а сразу нескольких расположенных рядом полипидов (Антипенко, 1999).

Таким образом, поведение пресноводных мшанок оказывается довольно сложным процессом, требующим высокой координации движений щупалец в пределах одного полипиды, а также синхронизации действий нескольких зооидов в колонии.

1.4 История изучения нервной системы пресноводных мшанок

Первые сведения о строении нервной системы мшанок появились в середине 19 века. Дюмотье и ван Бенеден впервые описали нервный центр пресноводной мшанки из рода *Lophopus*, представленный парными ганглиями, соединенными комиссурой, и расположенными над пищеводом в отдельной полости (Dumortier, 1835, van Beneden, 1839). Других участков нервной системы, кроме церебрального ганглия, этим авторам выявить не удалось. Необходимо отметить, что ни в одном из более поздних исследований нервной системы не упоминается парный ганглий. В дальнейшем церебральный ганглий (как непарное образование) был описан для нескольких видов пресноводных (например, *Amathia sp.*, *Lophopus cristallinus*, *Pedicellina sp.*, *Cristatella mucedo* и др.) и морских мшанок (например, *Bugula sabatieri*) (Dumortier, 1835; Allman, 1856; Müller, 1860; Calvet, 1900). В своей монографии, посвященной пресноводным европейским

мшанкам, Оллмэн отмечает наличие у многих из них церебрального ганглия, который располагается на задней стенке пищевода и имеет округлую форму. Также этот автор отмечает, что у *Cristatella mucedo*, *Lophopus cristallinus* и других видов с «полулунным» (подковообразным) лофофором от ганглия латерально отходят два крупных нервных тракта, проходящих в основании рук лофофора. Оллмэну также удалось проследить тонкие нервы, отходящие в толщу рук лофофора и располагающиеся между двумя соседними щупальцами (Allman, 1856).

Более подробные сведения об иннервации лофофора у мшанок можно найти в исследованиях, выполненных при помощи прижизненного окрашивания метиленовым синим. Например, Нитше описывает у *Alcyonella* (ныне *Plumatella*) *fungosa* не только церебральный ганглий, но и крупные нервные тракты, иннервирующие лофофор (Nitsche, 1868). Нитше сравнивает церебральный ганглий с отходящими от него нервными отростками с «перстнем с печаткой», от которого отходят два рога. Причем сам ганглий – это печатка, ободок кольца – окологлоточное нервное кольцо, а рога – это отходящие от него в руки лофофора мощные нервные стволы. Он также отмечает, что еще два более тонких нервных ствола отходят от ганглия в сторону глотки. Впервые в этой работе упоминается и иннервация щупалец тонкими нервными отростками. Нитше также упоминает группы щетинок, расположенные на щупальцах и выполняющие, по его мнению, сенсорную функцию (Nitsche, 1868). Сходную иннервацию лофофора удалось обнаружить и у первой исследованной мшанки рода *Fredericella* – *F. regina* (устаревший синоним *F. sultana*) (см. Hyatt, 1866-68). Данному исследователю удалось проследить две пары «ветвей», отходящих от церебрального ганглия – оральные ветви иннервируют щупальца оральной стороны, а брахиальные ветви участвуют в иннервации анальной стороны лофофора. Кроме того, от церебрального ганглия латерально отходит еще несколько крупных нервов, иннервирующих кишечник и интроверт. Хайэтт

также описал радиальные нервы, отходящие к основанию каждой пары щупалец (Hyatt, 1866-68) (Рис. 4А).

Начиная с работ Вигелиуса (Vigelius, 1884) и Крэпелина (Kraepelin, 1887) наряду с наблюдениями за живыми организмами в практику входит использование гистологических срезов. С их помощью были описаны строение и формирование ганглия у нескольких видов филактолемат из родов *Cristatella*, *Plumatella*, *Fredericella* и *Pectinatella*, и показано наличие в нем полости (Saefftigen, 1888; Braem, 1890, 1913; Davenport 1890; Oka, 1891). Крэпелин (Kraepelin, 1887) в своем исследовании впервые упоминает иннервацию эпистома, а также подтверждает данные Нитше о наличии нервов щупалец и пищевода для пресноводных мшанок *Palucidella* и *Plumatella*. Примерно в это же время появляются первые данные о строении нервной системы морских мшанок. Первое такое описание выполнено Нитше (Nitsche, 1871). В нем лишь упоминается, что положение церебрального ганглия *Membranipora membranacea* (описана как *Flustra*) оказывается сходным с таковым у пресноводных мшанок. В своих работах Вигелиус (Vigelius, 1884), Остроумов (Ostroumoff, 1886) и Кальве (Calvet, 1900) описывают яйцевидные нервные клетки на задней стороне глотки и нервные волокна, опоясывающие глотку (пероральное кольцо) у мшанок *Chartella membranaceotruncata* (описана как *Flustra membranaceo-truncata*), *Bugula simplex* (как *B. sabatieri*) и некоторых других.

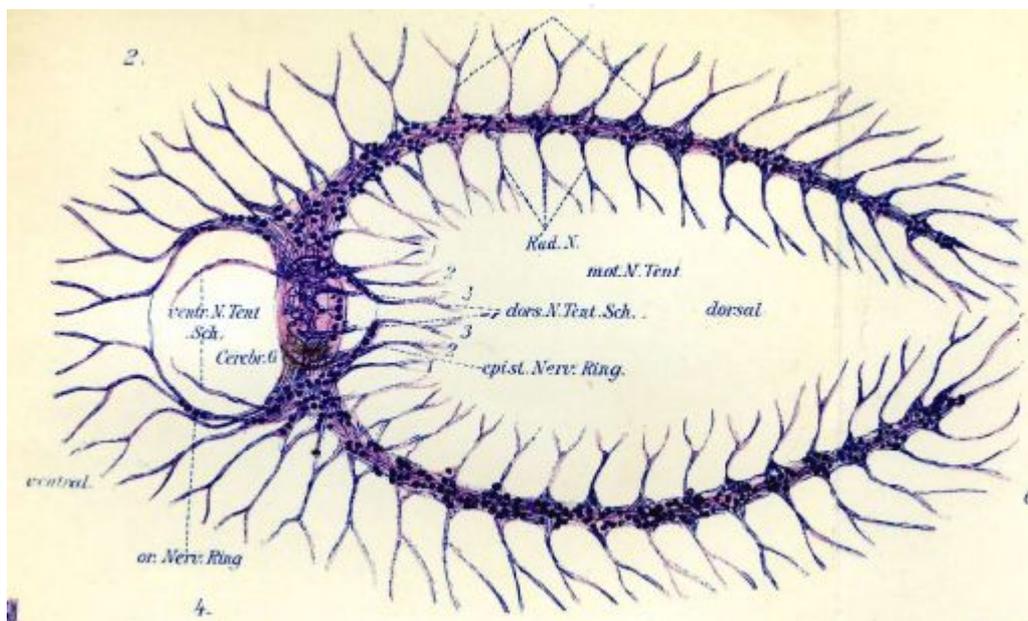
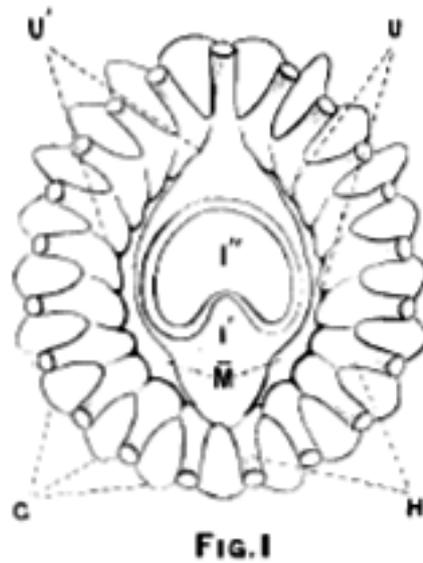


Рисунок 4. А. Организация нервной системы лофофора *Fredericella regina (sultana)* (ориг. по Hyatt, 1866-68). Обозначения: С – межщупальцевая перепонка; Н – щупальца; Г – эпистом; Г' – ротовое отверстие; М – мышца-сгибатель лофофора; U – нервы лофофора; U' – тентакулярные нервные отростки.

Б. Схема иннервации лофофора *Cristatella mucedo*, окраска метиленовым синим. (ориг. по Gerwerzhagen, 1913).

Впоследствии широкое распространение получают два метода изучения нервной системы – прижизненная окраска метиленовым синим и импрегнация серебром (Рис. 4Б). Так как эти способы окрашивания имеют разную специфичность и демонстрируют разные степени детализации,

исследователи комбинировали их в своих работах. Была детально описана нервная система таких пресноводных мшанок как *Alcyonella fungosa* (Nitsche, 1868), *Cristatella mucedo* (Saeffigen, 1888; Gerwerzhagen, 1913) и *Lophopus cristallinus* (Marcus, 1934), причем не только иннервация щупалец, расположение нервных клеток и возможных рецепторов в основании лофофора, но также иннервация кишечника и стенки тела.

На основании этих исследований можно дать краткую характеристику нервной системы зооидов пресноводных мшанок. Небольшой полый ганглий овальной формы располагается позади глотки, от него латерально отходят две пары крупных нервных трактов: рога лофофора и тракты, образующие пероральное нервное кольцо. Ответвления обеих пар этих нервных стволов, обозначаемые как радиальные нервы, принимают участие в иннервации щупалец лофофора. Количество нервов щупалец, как и количество нервов, ответвляющихся от радиальных стволов, согласно этим авторам, может отличаться. Однако эти отличия, скорее всего, связаны с недостаточной степенью изученности (Nitsche, 1868; Hyatt, 1866-68; Saeffigen, 1888; Gerwerzhagen, 1913; Marcus, 1934).

Несколько позднее появляются описания строения нервной системы морских мшанок (например, *Farella repens*, *Flustrellidra hispida* и *Membranipora membranacea*), основанные на данных гистологии (Marcus, 1926; Graupner, 1930). После этого на протяжении нескольких десятилетий выходят только более или менее подробные обзоры, в которых упоминаются детали строения нервной системы (Human, 1959; Brien, 1960; Bullock, Horridge, 1965).

В 1970-е годы начинает публиковать свои работы Женестьева Люто. Помимо кропотливо выполненных исследований с использованием специфических красителей (метиленовый синий, импрегнация серебром), Люто также публикует большой обзор, посвященный выявленным

закономерностям строения нервной системы морских и пресноводных мшанок, включив туда также данные об ультраструктуре ганглиев и нервных волокон (Lutaud, 1977) (Рис. 5). На основании данных ее работ можно составить краткое описание строения нервной системы морских хейлостомных мшанок.

Небольшой церебральный ганглий сердцевидной формы расположен на задней стороне глотки. Его латеральные отростки продолжаютя вокруг глотки в виде широкого пояска, гистологически имеющего ту же структуру, что и ганглий (пероральное нервное кольцо). В ганглии удается различить 30-40 клеток, которые можно подразделить на три цитологических группы: типичные нейроны, секреторные клетки и клетки глии. Ганглий состоит из трех областей: центрального клеточного комплекса, дистальных краев (от которых отходят пероральные отростки) и проксимальной группы клеток. Полость внутри ганглия у морских мшанок отсутствует или представлена небольшой щелью. Пероральный поясок и ганглий погружены в оболочку, которая отделяет их от перитонеального эпителия.

Стенка интроверта, отверстие зооида, фронтальная стенка зооида, кишечник и мускулатура полипида иннервированы за счет моторного трифидного нерва. Этот нерв имеет смешанную природу – часть его отростков выполняет сенсорную, а часть – моторную иннервацию внутренних органов полипида (Lutaud, 1977).

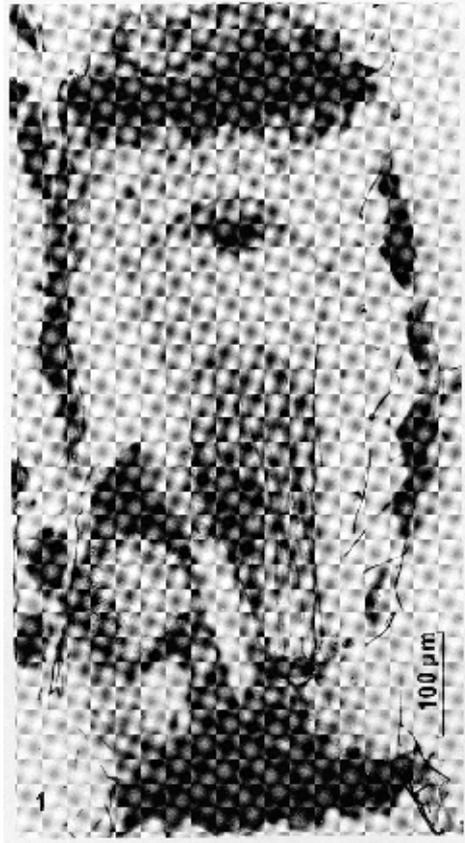


Рисунок 5. Пример окраски при импрегнации серебром морской мшанки *Electra pilosa* (ориг. из Lutaud, 1977). Виден смешанный нерв влагалища полипида и нервы щупалец лофофора.

Наличие рецепторных элементов у пресноводных мшанок было отмечено еще в первых исследованиях нервной системы. Несмотря на первоначальное отрицание существования каких-либо рецепторов у пресноводных мшанок (Allman, 1856), более поздние авторы активно обсуждали возможное участие скоплений более коротких и жестких щетинок, обнаруживаемых на щупальцах некоторых мшанок в процессах осязания (Nitsche, 1868; Verworm, 1887; Kraepelin, 1887; Braem, 1890). Зэффиген (Saeffigen) впервые отметил существование рецепторных клеток в интентактулярной мембране пресноводных мшанок (Saeffigen, 1888). Окрашивание метиленовым синим позволило более точно определить положение и характер строения рецепторных элементов в щупальцах *C. mucedo*. Герверцхаген в своей работе описывает большое количество биполярных рецепторов, расположенных

интраэпителиально вдоль всей абфронтальной поверхности щупальца (он отмечал, что по происхождению все эти клетки относятся только к медианному сплетению щупальца, то есть, фронтальному нерву) (Gerwerzhagen, 1913). Автор также отмечал, что периферический отросток этих биполярных рецепторов подходит к короткой жесткой щетинке. Другие авторы также отмечали наличие специализированного органа чувств на кончике щупальца, отделенного от остального щупальца небольшой перегородкой и открывающегося щелью во внешнюю среду (Braem, 1890). Позднее на щупальцах морских мшанок были обнаружены пучки более коротких ресничек с абфронтальной стороны щупалец (Nielsen, 1970; Gordon, 1974; Winston, 1978). Так как при раздражении этих пучков ресничек, а также при прикосновении к ресничкам латеро-фронтальных трактов полипиды мшанок втягивались, авторы считали, что эти образования выполняют сенсорную функцию. В статье Шунатовой и Нильсена подробно описываются обнаруженные на кончиках щупалец и их абфронтальной поверхности моно- и полицилиарные клетки, несущие реснички, отличающиеся по строению от ресничек латеральных трактов. Авторы указывают, что реснички полицилиарных клеток не двигаются, а у основания этих клеток можно обнаружить аксоны нервов щупалец. По их мнению, эти детали строения, а также характер расположения этих клеток указывают на их механорецепторную природу. Косвенно эти данные подтверждаются наблюдениями за живыми полипидами. Также в данном исследовании показано наличие полицилиарных клеток с пучками коротких щетинок, расположенными на поверхности интровертов некоторых мшанок из отряда Gymnolaemata (Shunatova, Nielsen, 2002). К сожалению, локализация аксонов нервов под базальной мембраной какого-либо типа клеток не позволяет с точностью утверждать, что эти клетки – рецепторные.

В последнее десятилетие стали появляться работы с применением методики иммуногистохимического окрашивания и конфокальной лазерной

микроскопии. Они позволяют выявлять не только распределение различных нейромедиаторов в нервной системе беспозвоночных, но и рассматривать ее строение в целом. Сейчас с помощью этих методов подробно исследована нервная система личинок (Santagata, 2008; Gruhl, 2009, 2010; Nielsen, Worsaae, 2010), а также зооидов у некоторых видов морских и пресноводных мшанок (Wanninger et al., 2005; Schwaha et al., 2011; Schwaha, Wanninger, 2012). Формирование нервной системы анцестрального зооида происходит *de novo*, поэтому мы не будем подробно останавливаться на деталях строения нервной системы личинок.

Первые данные о распределении серотонин-положительных элементов в нервной системе полипидов взрослых колоний получены для гимнолемной мшанки *Hislopia malayensis* и филактолемной мшанки *Fredericella sultana* (Schwaha et al., 2011b; Schwaha, Wanninger, 2012).

У анцеструлы *Triphylozoon mucronatum* были исследованы серотонин- и FMRFамидположительные элементы нервной системы. Ее формирование начинается с церебральной комиссуры (перорального нервного кольца). В этом скоплении присутствуют нервные отростки как серотонин-положительной, так и FMRFамид-положительной природы. Также в основании лофофора удается различить тела нейронов и отростки, отходящие от них к церебральной комиссуре. Авторам не удалось визуализировать никаких серотонин- или FMRFамидергических волокон в других участках анцеструлы (Wanninger et al., 2005).

Теми же авторами была исследована серотонин-иммунореактивная иннервация лофофора *Hislopia malayensis*. Как у предыдущего вида, наибольшая концентрация серотонина обнаружена в церебральной ганглии. Ганглий расположен с дорсальной стороны глотки. Латеральные отростки ганглия формируют циркумфарингеальное кольцо. В основании каждой пары щупалец располагается нейроны, отростки которых подходят к

циркумфарингеальному кольцу. Дополнительно от каждого нейрона в соседние щупальца отходят тонкие нейриты (Schwaha et al., 2011).

Серотонинергическая нервная система пресноводной мшанки *Fredericella sultana* демонстрирует схожие принципы локализации элементов. Наибольшая концентрация серотонин-положительных нервных волокон приходится на область церебрального ганглия. От церебрального ганглия нервы отходят к щупальцам лофофора. В отличие от описанных видов морских мшанок, у *F. sultana* тело серотонинергического нейрона расположено непосредственно в основании каждого щупальца (Рис. 6). Авторы также отмечают, что при окраске *Plumatella sp.* антителами к серотонину, нервные элементы выявляются только с внешней стороны лофофора (Schwaha, Wanninger, 2012). Данные о характере распределения серотонин-иммунореактивных элементов также подтверждают краткое описание, данное в статье Груля, посвященной исследованию нервной системы личинки *F. sultana* (Gruhl, 2010).

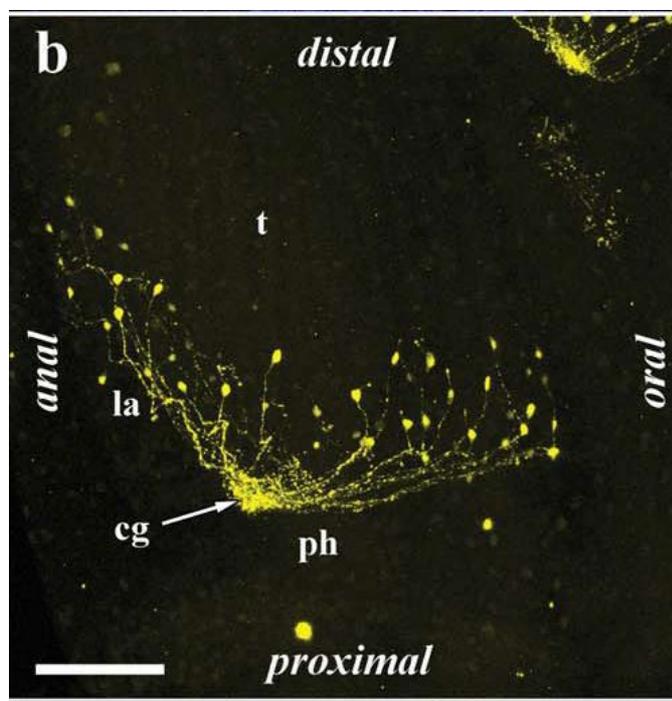


Рисунок 6. Серотонинергические нервные элементы лофофора *Fredericella sultana*. Обозначения: *cg* – церебральный ганглий; *la* – рука лофофора; *ph* – глотка; *t* – щупальца. (из Schwaha, Wanninger, 2012).

Полученные данные позволяют говорить о том, что принципиальная схема распределения серотонин-положительных элементов в лофофоре оказывается сходной для гимнолемных и филактолемных мшанок. И у тех, и у других серотонинположительные элементы в нервной системе мшанок располагаются, в первую очередь, в области церебрального ганглия и лофофора. В основании щупалец как морских мшанок *Triphylozoon micronatum*, *Hislopia malayensis*, так и у пресноводных *Fredericella sultana* и *Plumatella spp.* располагаются тела нейронов, тонкие отростки которых отходят к циркумфарингеальному кольцу или церебральному ганглию (Wanninger et al., 2005; Schwaha et al., 2011; Schwaha, Waninger, 2012). У *H. malayensis* авторам также удалось визуализировать тонкие отростки нейронов, иннервирующие щупальца (Schwaha et al., 2011). Тела нейронов, расположенные в основании щупалец, по всей видимости, участвуют в образовании сенсорных элементов.

Итак, точное филогенетическое положение классов внутри типа Bryozoa до сих пор неизвестно. Несмотря на детальные описания поведения как пресноводных, так и морских мшанок, координация активности зооидов и механизмы интеграции колонии остаются неизвестными. Кроме того, существующие описания нервной системы не могут быть использованы для полноценного сравнительного исследования, так как были выполнены в разном объеме и при помощи различных методик. Требуется дальнейшее детальное изучение нервной системы, которое позволило бы провести сравнительный анализ строения нервных систем нескольких видов и уточнить вопросы филогении мшанок. Кроме того, в литературе практически отсутствуют данные о распределении различных нейромедиаторов в нервной системе. Такие данные позволили бы сделать выводы о функциональности отдельных элементов нервной системы.

Иммуногистохимическое исследование строения нервной системы трех видов пресноводных мшанок, принадлежащих к различным семействам, позволило нам решить часть из перечисленных выше научных проблем.

Глава 2. Материал и методы

2.1 Объекты исследования

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) (Рис. 7). Сборы проводились с мая по октябрь в 2010-2013 годах. Колонии бережно отделялись от субстрата либо вместе с ним доставлялись в лабораторию. В лабораторных условиях проводилось анестезирование колоний: в небольшие отсадники с мшанками в течение нескольких часов постепенно и в небольших количествах добавлялся 10% раствор $MgCl_2$. После того как полипиды переставали реагировать на внешние воздействия (прикосновение препаровальной иглы), производилась фиксация колоний.

2.2 Гистологические методы

Изучение гистологического строения некоторых участков колоний кристателлы было выполнено по сериям гистологических препаратов. Срезы толщиной 50-70 мкм были изготовлены по стандартной методике (Роскин, 1946). Зафиксированные в жидкости Буэна колонии были дегидратированы в спиртах возрастающей концентрации и заключены в парапласт (Paraplast plus embedding media, Sigma P3683). Затем на микротоме Leica RM2265 были изготовлены срезы различных участков колонии. По стандартной методике срезы были окрашены гематоксилином Эрлиха-эозином и заключены в полистирол (Иванов, Полянский, Стрелков, 1958). Изучение полученных срезов проводилось при помощи бинокулярного микроскопа МБС-9, а также микроскопов ЛОМО МБИ-3, Leica DM RXA. Микрофотографии были

получены с использованием микроскопа Leica DM RXA и камеры Leica DC 500.

2.3 Методы флуоресцентного гистохимического и непрямого иммуногистохимического окрашивания

Для изучения нервной системы пресноводных мшанок нами были использованы методы непрямого иммуногистохимического окрашивания антителами к α -тубулину, серотонину и FMRFамиду.

Антитела к α -тубулину позволяют выявлять ацетилированную форму α -тубулина. В отличие от других изоформ тубулина, эта содержится в организмах не только в цилиях и ресничках, но также в крупных отростках нервных клеток (дендритах и аксонах) (Piperno, Fuller, 1985; Ferreira, Caceres, 1989). Это позволяет выявить не только нейропилль, но и отростки, выходящие из него. Также при окраске антителами к α -тубулину могут частично прокрашиваться и сомы некоторых нервных клеток. В данной работе с помощью окраски антителами к ацетилированному α -тубулину была изучена общая организация проводящих путей нервной системы, а также цилиарный аппарат пресноводных мшанок.

Антитела к серотонину и FMRFамиду были выбраны как наиболее часто применяющиеся антитела, позволяющие выявить широкораспространенные у беспозвоночных нейромедиаторы, что позволяет проводить сравнение полученных нами результатов с другими исследованными группами (Nezlin, 2010). Кроме того, локализация этих нейромедиаторов позволяет выявить сенсорные и эфферентные элементы в различных отделах нервной системы.

Для последующего иммуногистохимического окрашивания колонии были зафиксированы в 4% параформальдегиде на однократном фосфатно-солевом буфере (PBS, pH=7.0) в течение 4-8 часов при +4° C. Затем материал был отмыт в том же буфере (3 раза по полчаса) и перенесен в жидкость для

хранения (однократный PBS с 0,1% NaN₃ в качестве консервирующего агента). Хранение материала также осуществлялось при +4° С в соответствии с методикой, известной из литературы (Schwaha, Wanninger, 2012). Обработка антителами была модифицирована и производилась в соответствии с протоколами. Были использованы следующие первичные антитела:

- Monoclonal Anti-Tubulin, acetylated antibody produced in mouse, T6793, Sigma.
- Anti-Serotonin antibody produced in rabbit, S5545, Sigma.
- FMRFamide antibody, rabbit polyclonal, ab 10352, Abcam.

Все антитела использовались в разведении 1:500. В качестве отрицательного контроля была проведена обработка по протоколу с использованием однократного PBS вместо раствора первичных антител.

Были использованы соответствующие вторичные антитела (в разведении 1:500):

- Alexa Fluor ® 488 goat anti-rabbit IgG (H+L), *2 mg/mL, A-11008, Invitrogen.
- Alexa Fluor ® 633 goat anti-mouse IgG (H+L), *2 mg/mL, A-21050, Invitrogen.

В качестве положительного контроля вместо указанных антител были использованы следующие вторичные антитела (разведение 1:400):

- Cascade Blue ® goat anti-mouse IgG (H+L) *2 mg/mL, C-962, Invitrogen;
- Alexa Fluor ® 594 donkey anti-rabbit IgG (H+L) *2 mg/mL, A-21207, Invitrogen.

В качестве отрицательного контроля проводили обработку по протоколу с использованием однократного PBS вместо раствора вторичных антител.

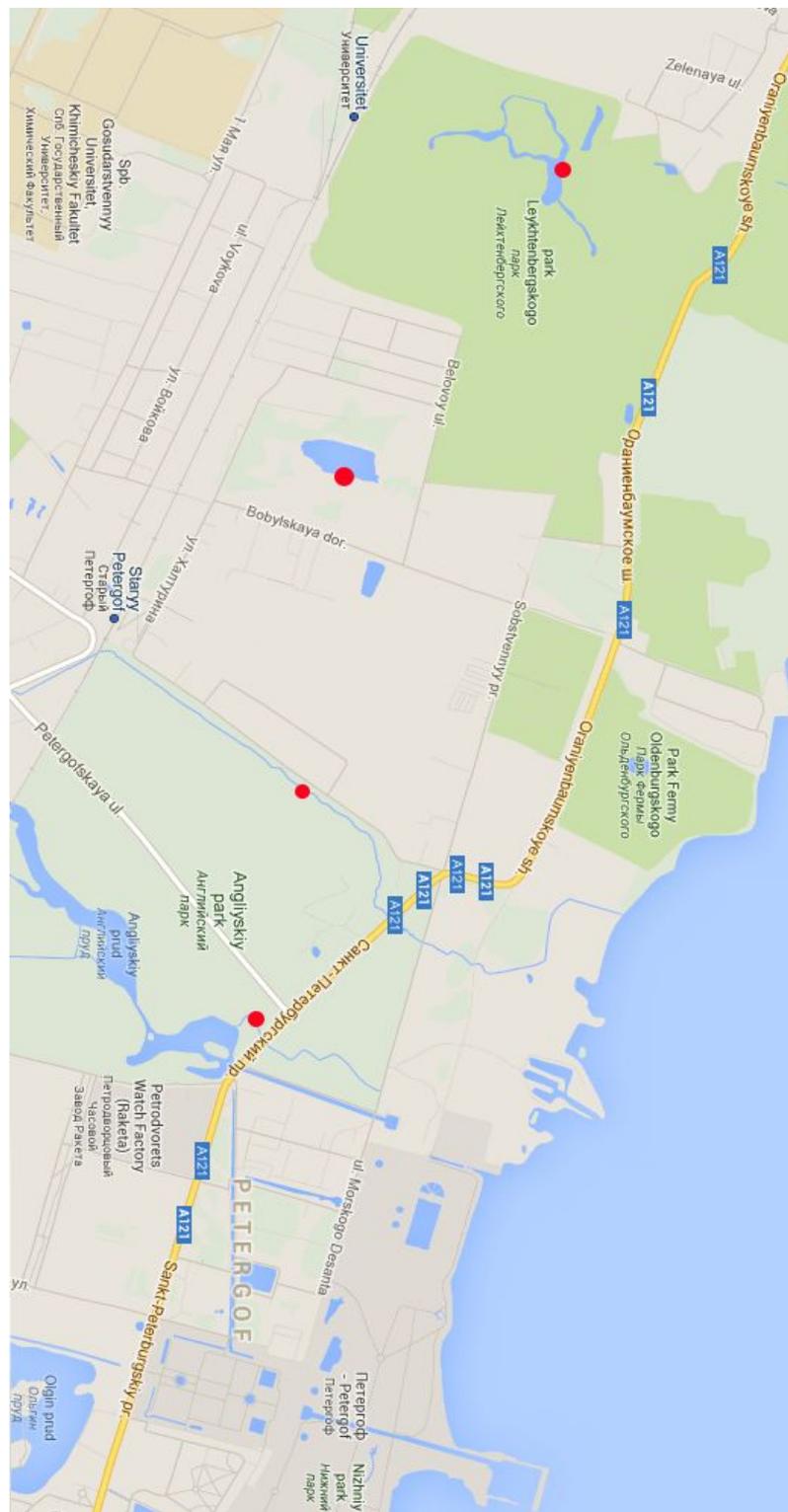


Рисунок 7. Карта района сбора материала. Точками отмечены водоемы, в которых были собраны мшанки.

Дополнительно нами была проведена окраска мышечных элементов колоний. Для визуализации мышечного актина колонии помещали в раствор TRITC-фаллоидина (разведение 1:100) на однократном буфере PBS (pH=7.4) на 1-2 часа, после чего отмывали в том же буфере (трижды по 10-15 мин).

Ядра клеток были подкрашены раствором красителя HOECHST 33258 (H1398, Invitrogen) на однократном PBS в течение 15 мин.

После всех перечисленных выше процедур полилипиды были отделены от колоний и заключены либо в 80% глицерин на PBS, либо в 97% TDE (Staudt et al., 2007).

Обработанный таким образом материал изучали с помощью конфокального инвертированного микроскопа Leica TCS SP 5 (ЦКП «Хромас», СПбГУ, Санкт-Петербург) или прямого конфокального микроскопа Leica TCS SP 5 (ЦКП «Таксон», ЗИН РАН) и конфокального микроскопа Leica TCS SPE (Institut für Evolutionsbiologie und Ökologie, Universität Bonn, Germany).

2.4 Метод выявления моноаминов

Для выявления рецепторных элементов в лофофоре и уточнения их расположения нами был использован метод конденсации с глиоксиловой кислотой (Sclawny et al., 1991). Этот метод позволяет выявлять различные моноамины, широко распространенных в различных группах беспозвоночных. Необходимо отметить, что pH раствора был подобран таким образом, чтобы выявить катехоламинергические элементы нервной системы, которые у многих беспозвоночных выполняют сенсорные функции. Катехоламинергические элементы в лофофоре удалось выявить только у *C. mucedo*.

Полипиды из анестезированных колоний переносились в 9,2% раствор глиоксиловой кислоты (на 10% сахарозе) на полчаса, +4° С. Затем полилипиды были расправлены на покровном стекле и высушены. После этого препараты

были заключены в вазелиновое масло. Визуализация катехоламинов проводилась с использованием конфокального микроскопа (см. выше).

2.5 Методы электронной микроскопии

Ультраструктурные исследования строения щупалец кристателлы были предприняты с целью доказательства наличия рецепторных клеток в щупальцах пресноводных мшанок. Это исследование также позволило уточнить локализацию рецепторных элементов и показать соотношение элементов нервной системы, выявленных методами ИГХ и на ультраструктурном уровне.

Для электронной микроскопии колонии *C. mucedo* были зафиксированы в 1,25% растворе глутаральдегида на 0.01% какодилатном буфере. Низкая концентрация глутаральдегида была использована для того, чтобы избежать возможных артефактов, связанных с осмотической разницей фиксируемого образца и фиксатора (Gruhl, Bartolomaeus, 2008). После 1 часа фиксации материал был перенесен в соответствующий раствор буфера. Хранение осуществлялось при +4° С. После фиксации и отмывки колонии были осмированы и обезвожены в нескольких порциях ацетона возрастающих концентраций. После обезвоживания образцы были заключены в смесь Araldite-EPON. Ультратонкие срезы были получены на ультрамикротоме Reichert Ultracut S с использованием ножей UltraDiatome. Толщина срезов 70 нм. Срезы были перенесены на бленды, покрытые формваровой пленкой. Контрастирование бленд проводили с помощью автоматического стейнера RMC Products QG-3100 по стандартному протоколу. Исследование образцов производилось на трансмиссионных электронных микроскопах ZEISS Libra 120 (Universität Bonn, Germany) и Jeol JEM-2100 (РЦ «МиК», СПбГУ).

2.6 Список использованных сокращений

Примечание: стрелками на всех рисунках указано направление апико-базальной оси зооида.

абфр – абфронтальный нерв

ан – анальное отверстие

афл – абфронтально-латеральный нерв

баз – базальная пластинка

бпн – биполярный нейрон

брн – базальный радиальный нерв

двр – дистальные ветви основного радиального нерва

дрн – дополнительный радиальный нерв

кв – краевой валик подошвы

ко – комиссуральная область

крн – корешки радиальных нервов

ки – кишечник

лрн – латеральные радиальные нервы

лфр – латерофронтальный нерв

мз – мускулатура зооида

мм – межщупальцевая мембрана

мн – мультиполярный нейрон

мп – мускулатура подошвы

мц – мезоцель

мэп – миоэпителиальная клетка

нг – нейропиль ганглия

нк – нервы задней кишки

но – нервные отростки

нск – нервное сплетение кишечника

нсп – нервное сплетение подошвы

нстп – нервы стенки тела полипида

нсц – нервное сплетение стенки цистида

нсэ – нервная сеть эпистома

нищ – нервы щупалец

ок – опорная клетка

орк – отросток рецепторной клетки

нвр – проксимальные ветви основного радиального нерва

нк – пероральное кольцо

рк – рецепторная клетка

рл – рог лофофора

рн – основные радиальные нервы

ро – ротовое отверстие

ск – секреторная клетка

стп – стенка тела полипида

тнр – тела нейронов

фр – фронтальный нерв

фрл – фронто–латеральный нерв

цг – церебральный ганглий

цки – цилиатура кишечника

цл – цилиатура лофофора

цм – цилиатура мезоцеля

цищ – целом щупальца

Глава 3. Морфологические особенности представителей *Phylactolaemata*

Колонии мшанок *Cristatella mucedo*, *Plumatella repen.*, *Fredericella sultana*, как и другие представители типа *Phylactolaemata*, образованы взаимосвязанными и взаимозависимыми зооидами. Каждый зооид мшанок формально подразделяют на цистид и полипид (Рис. 8). Полипидом называют втяжную крону щупалец с кишечником и ассоциированной с ними мускулатурой, а также вворачивающимся участком стенки тела – щупальцевым влагалищем. Полипид подвергается циклической дегенерации и регенерации. Цистид – этоместилище внутренних органов (полипида и гонад), ограниченное стенкой тела зооида, состоящей из наружной неклочной эктоцисты и образующего ее эпидермального слоя – эндоцисты. Эктоциста может быть кальцинированной (у морских мшанок) или необызвествленной (у морских и пресноводных). Эпидермис стенки тела филактолемат подстилается кольцевым мышечным слоем, следующими за ним базальной пластинкой, продольным мышечным слоем и перитонеумом. У морских мшанок мышечные слои в стенке тела отсутствуют.

Поднимающаяся над поверхностью колонии крона ресничных щупалец и ее основание (вворачивающееся и выворачивающееся щупальцевое влагалище) обозначаются как лофофор – специализированный пищедобывающий аппарат мшанок. Довольно часто под лофофором понимают только венчик щупалец – колоколообразный (у всех морских и некоторых пресноводных видов) или подковообразный (исключительно у пресноводных мшанок). Основания щупалец у филактолемат связаны межщупальцевой перепонкой. В центре венчика щупалец находится ротовое отверстие, которое (только у *Phylactolaemata*) с дорсальной стороны прикрыто эпистомом – небольшой складкой стенки тела, содержащей внутри свой собственный отдел целома – протоцель.

Подковообразный лофофор большинства пресноводных мшанок несет два длинных выроста (руки), отходящих от него с анальной стороны и имеющих по два ряда щупалец. Он характеризуется окологлоточным кольцевым целомом (мезоцелем), отдающим выросты в каждую из рук, отростки мезоцеля образуют целомы цилиндрических щупалец. У видов рода *Fredericella* лофофор округлый (колоколообразный). Он несет всего один ряд щупалец.

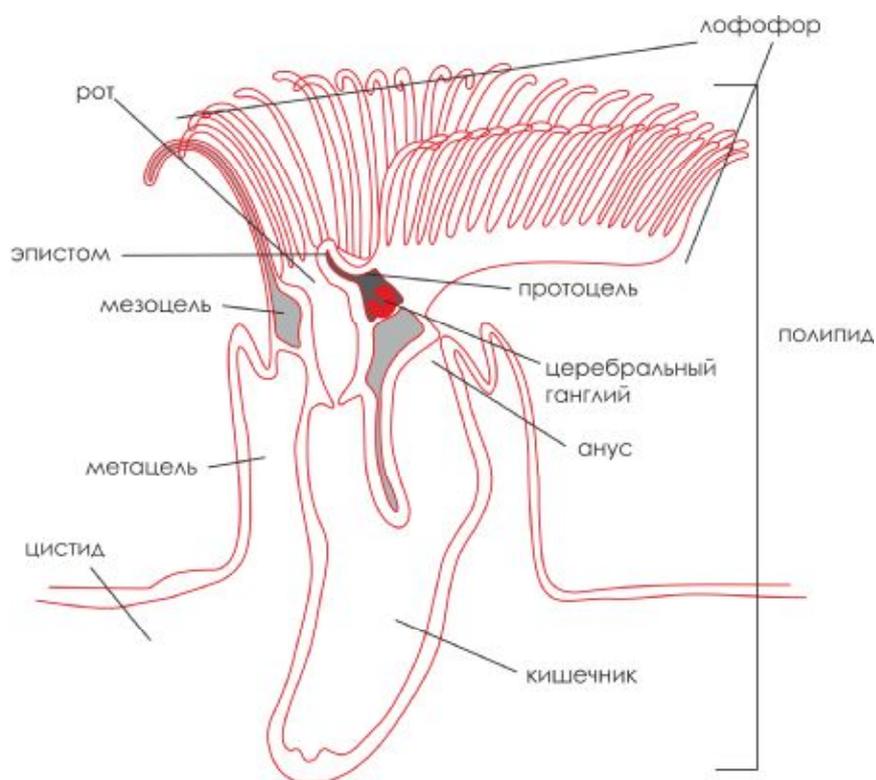


Рисунок 8. Схема продольного среза зооида пресноводной мшанки (по Нуман, 1959; Reed, 1991 с изменениями).

Фронтальная сторона щупальца обращена внутрь венчика щупалец. Напротив, абфронтальная сторона обращена наружу.

Питание осуществляется за счет совокупной активности щупалец лофофора и их ресничек, чье биение создает нисходящий ток воды, благодаря которому частички пищи перемещаются к ротовому отверстию. Пищедобывающее поведение мшанок довольно разнообразно.

Исследователям удалось выделить несколько десятков различных реакций лофофора и движений щупалец, выполняемых зооидом при питании или исследовании окружающей среды (см. главу 1 Обзор литературы). У трех исследованных нами видов филактолемных мшанок количество щупалец в лофофоре непостоянно и варьирует от 30 до 60 у мшанок с подкововидным лофофором и от 20 до 25 у фредерицеллы в зависимости от возраста зооида.

От расположенного в центре лофофора ротового отверстия вниз, к основанию зооида, отходит U-образный кишечник, изгибающийся таким образом, что анальное отверстие открывается под венчиком щупалец, позади ротового отверстия. Большая часть кишечника окружена главным или туловищным целомом (метацелом). У некоторых видов пресноводных мшанок целомические полости цистидов отделены неполными септами. У прочих филактолемат септы отсутствуют, поэтому, кроме терминальных участков, различать цистиды соседних зооидов нельзя, а полипиды подвешены в общеколониальном целоме.

Церебральный ганглий расположен на задней стенке глотки, между глоткой и прямой кишкой. Размер ганглия колеблется от 60 мкм (у *C. mucedo*) и 30 мкм (у *F. sultana*). Ганглий имеет округлую форму, в нём присутствует полость. Тела нервных клеток располагаются по поверхности ганглия в области клеточных тел, причем основная их масса находится в базальной дорсальной части. Внутренняя поверхность ганглия представлена нейропилем. От церебрального ганглия апикально на анальную сторону лофофора отходят два крупных нервных сплетения, формирующих в основании лофофора полумесяц. Эти нервные сплетения, являющиеся продолжением ганглионарного нейропиля, принято называть рогами лофофора. С оральной стороны от ганглия также отходят два нервных тракта, образующих пероральное нервное кольцо и участвующих в иннервации щупалец оральной стороны. Базально, к основанию зооида отходит ещё три

пары нервов, проходящих в толще стенки тела, а также участвующих в иннервации кишечника (Рис. 10).

Цилиарный аппарат пресноводных мшанок можно рассмотреть прижизненно. Хорошо заметны крупные реснички, расположенные на щупальцах лофофора и создающие токи воды, благодаря которым происходит процесс захвата пищи и передачи ее к ротовому отверстию. Более детально цилиарный аппарат был выявлен при помощи окрашивания антителами к α -тубулину.

Цилиарный аппарат пресноводных мшанок может быть условно разделен на две части: внешний и внутренний. К внутреннему можно отнести многочисленные пучки ресничек, расположенные на внутренних стенках целомов мозаично. Реснички находятся в целомической полости и служат для создания тока целомической жидкости (Рис. 19). Также отдельные крупные пучки ресничек располагаются у мшанок с подковообразным лофофором в руках лофофора в месте разветвления мезоцеля на каналы, проходящие в щупальцах. Внутренняя поверхность кишечника также покрыта плотным ресничным эпителием.

Наружная часть цилиарного аппарата представлена рядами ресничек, расположенными вдоль щупалец. Таких рядов у пресноводных мшанок три – фронтальный, расположенный на наружной поверхности щупалец и два латеральных.

Форма колоний исследованных видов сильно различается (Рис. 9). Взрослые колонии *Cristatella mucedo* вытянутые, червеобразные. Зооиды располагаются рядами. Каждый полипид ориентирован оральной стороной к краю колонии, а анальной стороной – к ее середине. Зооиды в рядах расположены в шахматном порядке – таким образом, вся поверхность колонии, кроме самой центральной части, закрыта лофофорами. Самые молодые зооиды формируются по краю колонии, они имеют более мелкий размер, чем взрослые развитые зооиды. Центральная часть колонии лишена

питающихся полипидов. В конце лета-начале осени в этой части колонии начинают формироваться зимующие почки – статобласты.

Колонии кристателлы обладают общеколониальным органом передвижения и прикрепления – подошвой. Это базальная часть колонии, обладающая собственной мускулатурой и нервной системой. По краю подошвы колонии формируется небольшой мускульный валик, который, по всей видимости, выполняет функции прикрепления колонии к субстрату и может работать как присоска.

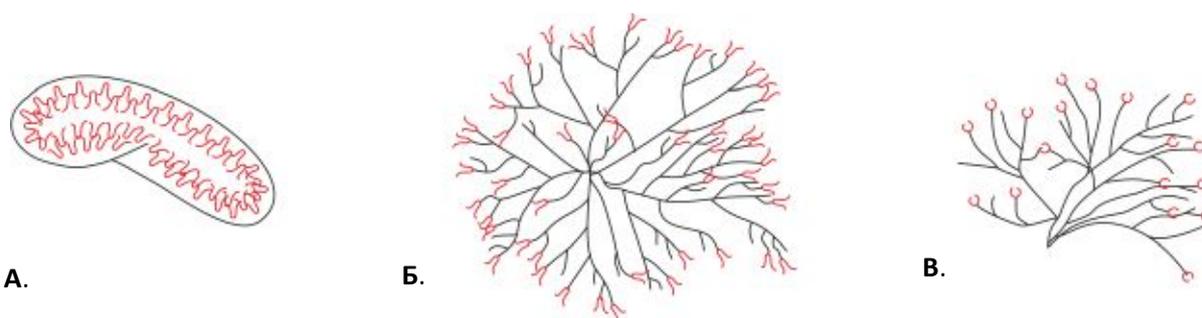


Рисунок 9. Форма колоний исследованных мшанок. А- *Cristatella mucedo* (лофоподидная колония); Б – *Plumatella repens* и В – *Fredericella sultana* (плюмателлидная форма колонии).

Plumatella repens и *Fredericella sultana* характеризуются древовидными прикрепленными колониями так называемого плюмателлидного типа. Ветви колоний могут быть либо распластаны по субстрату, либо немного вытянуты вверх. Часто несколько колоний располагаются на субстрате очень плотно, образуя массовые скопления, в которых невозможно выделить границы отдельных колоний. Зоиды с полипидами в древовидных колониях расположены на ветках на некотором расстоянии друг от друга. Причем, в колониях *Plumatella* такие зоиды формируют небольшие скопления (по 3-4 штуки), а в колониях *Fredericella* зоиды с полипидами располагаются в верхней половине ветвей, на некотором удалении друг от друга (Рис. 9).

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

В нервной системе мшанок принято выделять несколько отделов: ЦНС – церебральный ганглий и отходящие от него крупные нервные стволы (1), нервную систему лофофора (2), нервную систему стенки тела полипида (интроверта) (3) и нервы кишечника (4) (Bullock, Horridge, 1965). Выделяют также так называемую «общеколониальную» нервную систему, которая описана в разделе «Нервная система стенки тела полипида (интроверта) и кишечника».

Перечисленные выше отделы нервной системы были изучены при помощи окраски антителами к α -тубулину.

Нервная система исследованных видов пресноводных мшанок организована сходным образом. Поэтому сначала представляется удобным привести генерализованное описание нервных элементов того или иного отдела, а затем рассмотреть особенности, характерные для конкретных видов.

4.1 Центральная нервная система

Церебральный ганглий расположен позади глотки в основании лофофора (см. главу 3 Общая морфология *Phylactolaemata*). Основная часть нейропиля находится с анальной стороны ганглия и смещена на его базальную сторону. С оральной стороны нейропиль представлен лишь тонким сплетением нервных отростков. Нейропиль неоднороден – в его составе выявлены разные по толщине волокна. При этом нервные тракты в составе нейропиля не обнаружены.

С анальной стороны от церебрального ганглия (от апикальной части нейропиля) отходят мощные симметричные выросты – рога лофофора. С оральной стороны от ганглия также апикально отходит пара крупных нервных стволов, которые образуют пероральное нервное кольцо (Рис. 10).

На всем протяжении от рогов лофофора и перорального кольца отходят радиальные нервы, отростки которых иннервируют щупальца лофофора. Также по бокам от нейропиля симметрично отходит несколько радиальных нервов, иннервирующих щупальца, расположенные латерально сзади от ротового отверстия, 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 зооида и практически сразу начинают ветвиться, образуя нервную сеть в стенке тела интроверта. Еще одна пара нервов меньшей толщины отходит к кишке, и их ветвления формируют нервное сплетение стенки кишечника.

Таким образом, ЦНС пресноводных мшанок представлена церебральным ганглием и несколькими парами отходящих от него нервных стволов: рога лофофора и пероральное кольцо (апикально), нервы стенки тела и кишечника (базально) и несколько радиальных нервов (латерально) (Рис. 10).

Основные отличия, обнаруженные в строении ЦНС трех исследованных видов заключаются в сильной редукции рогов лофофора у *F. sultana* – пресноводной мшанки с округлым лофофором, а также в отличиях в строении перорального нервного кольца (Рис. 16, 17). Детали строения нервной системы лофофора данного вида будут описаны далее.

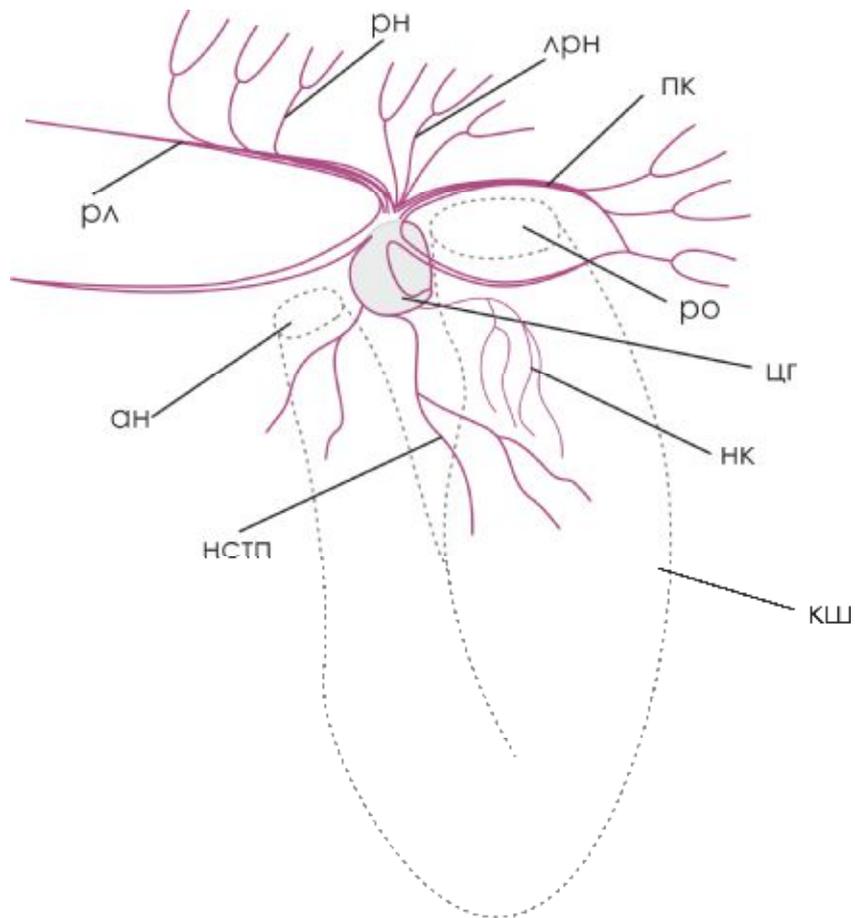


Рисунок 10. Генерализованная схема расположения основных нервов ЦНС пресноводных мшанок. На схеме «удалена» стенка тела полипида. Пунктиром показана пищеварительная система зооида.

Обозначения: *ан* – анальное отверстие, *ки* – кишечник, *лрн* – латеральные радиальные нервы, *нстп* – нервы стенки тела полипида, *пк* – пероральное нервное кольцо, *рл* – рога лофофора, *рн* – радиальные нервы, *ро* – ротовое отверстие, *цг* – церебральный ганглий.

4.2 Нервная система лофофора

Нервная система лофофора представлена рогами лофофора и нервами перорального кольца, от которых отходят нервы, заходящие в щупальца. Как указано выше, щупальца, расположенные латерально по отношению к церебральному ганглию чуть позади ротового отверстия, иннервируются отростками радиальных нервов, отходящих непосредственно от ганглия и не входящих в состав рогов лофофора или перорального кольца (Рис. 10).

Характер иннервации щупалец анальной и оральной сторон лофофора сходен. По всей длине от рогов лофофора и нервов перорального нервного

кольца по направлению к межщупальцевой мембране между основаниями соседних щупалец отходят многочисленные основные радиальные нервы, которые осуществляют иннервацию щупалец лофофора (Рис. 11А). Некоторые из этих радиальных нервов обладают разветвленными корешками в месте отхождения от рогов лофофора (Рис. 16). На своем дистальном конце основной радиальный нерв разделяется на две пары дистальных ветвей, уходящих в два соседних в продольном ряду щупальца. В щупальце часть этих ветвей проходит латерально. Другая часть изгибается и переходит на наружную, абфронтальную сторону щупальца. Располагаясь субэпителиально вдоль медиальной оси щупальца, эти нервы несколько раз разветвляются, начиная с его нижней трети (Рис. 18). Почти на всем протяжении от основного радиального нерва симметрично отходят проксимальные ветви, которые также направляются в соседние в продольном ряду щупальца (Рис. 11Б). Проксимальные ветви основного радиального нерва изгибаются и проходят с внутренней, фронтальной стороны щупальца, залегая вдоль его медиальной оси (Рис. 12).

Количество проксимальных ветвей одного радиального нерва непостоянно и может варьировать не только у разных видов мшанок, но и у разных радиальных нервов одного лофофора. Кроме того, проксимальные ветви различаются по диаметру. Среди них встречаются более толстые (диаметр до 3 мкм) и более тонкие (около 1 мкм) ветви, причем количество и тех и других в пределах вида и лофофора также варьирует (Рис. 12).

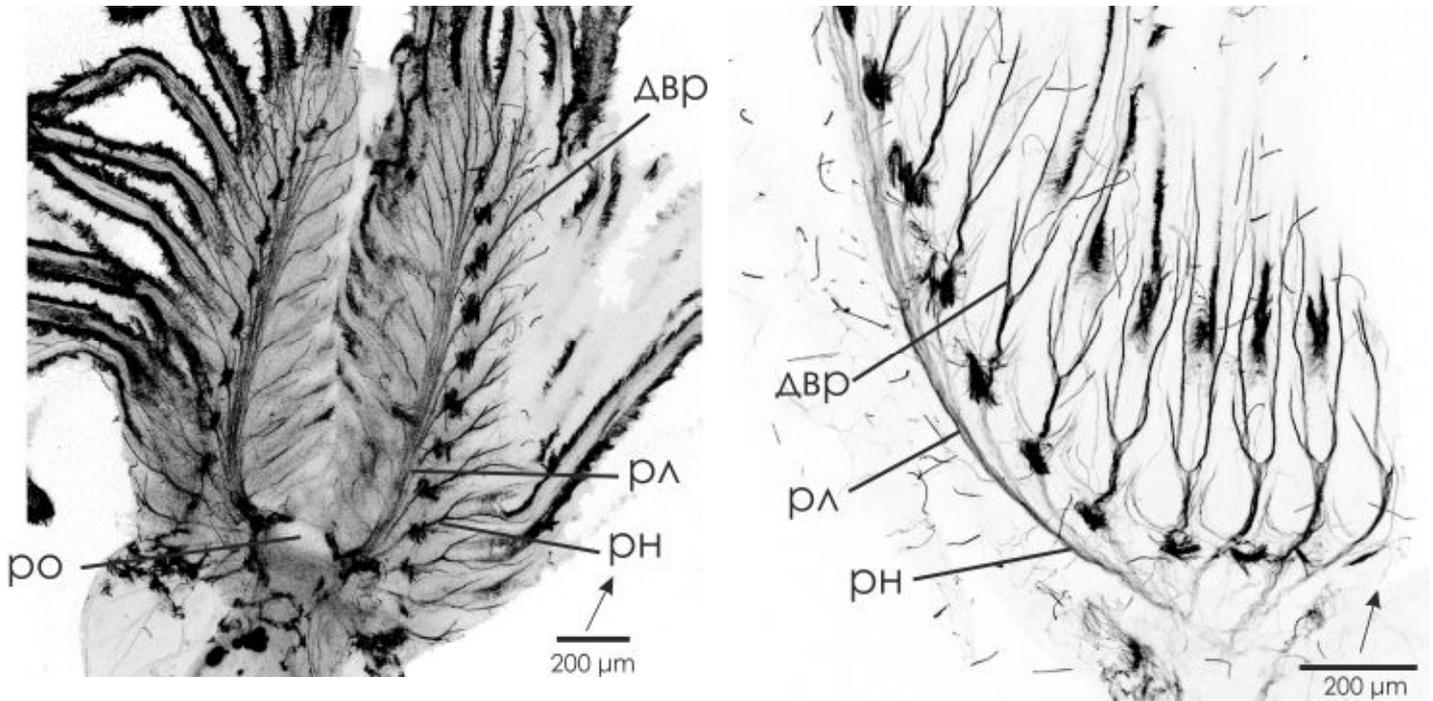


Рисунок 11. А. Вид на лофофор *P. repens* с базальной стороны. Хорошо видны рога лофофора (рл), отходящие от церебрального ганглия и основные радиальные нервы щупалец (рн). Б. Участок руки лофофора *C. mucedo* (часть слоев).

Обозначения: *двр* – дистальные ветви основного радиального нерва, *рл* – рога лофофора, *рн* – основные радиальные нервы, *ро* – ротовое отверстие.

В то же время, у каждого из изученных нами видов количество толстых проксимальных ветвей, отходящих от основного радиального нерва, достаточно стабильно. У *C. mucedo* оно достигает 4-5, у *P. repens* – 3-4, а у *F. sultana* количество крупных ветвей всего 1-3 (Рис. 13).

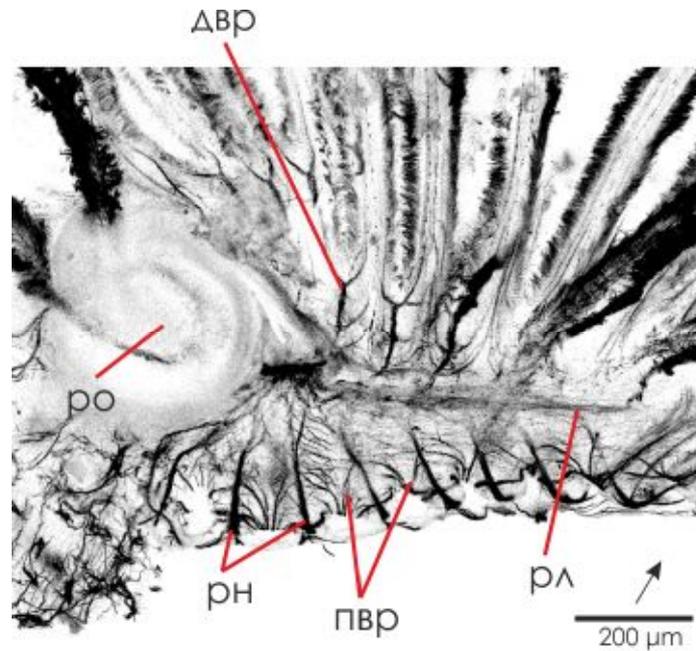


Рисунок 12. Рука лофофора *C. mucedo*. Хорошо видны толстые и тонкие проксимальные ветви (*пвр*) основного радиального нерва (*рн*).

Обозначения: *двр* – дистальные ветви основного радиального нерва, *пвр* – проксимальные ветви основного радиального нерва, *рл* – рога лофофора, *рн* – основные радиальные нервы, *ро* – ротовое отверстие.

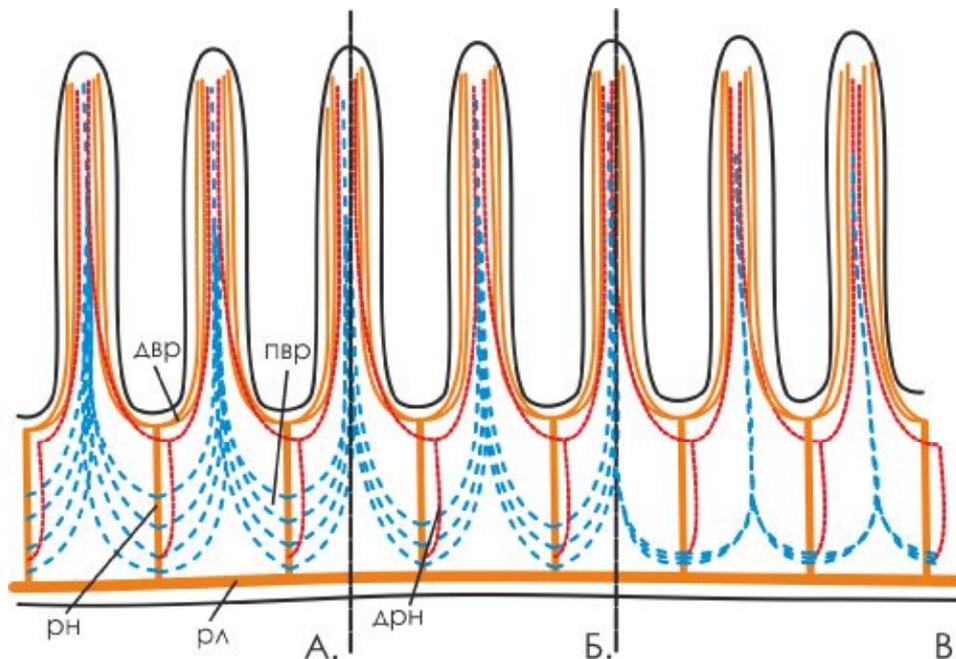


Рисунок 13. Сравнение иннервации щупалец *C. mucedo* (А), *P. repens* (Б) и *F. sultana* (В).

Обозначения: *двр* – дистальные ветви основного радиального нерва, *дрн* – дополнительный радиальный нерв, *пвр* – проксимальные ветви основного радиального нерва, *рл* – рог лофофора, *рн* – основной радиальный нерв.

Помимо этих ветвлений, от каждого основного радиального нерва в его основании перпендикулярно к продольной оси руки лофофора отходят еще два нерва. Один из них – дополнительный радиальный нерв – изгибается и отходит апикально в сторону щупалец. У основания щупалец он дихотомически ветвится, а затем в нижней трети щупалец ветвится снова. Как и дистальные ветви основного радиального нерва, часть ветвей дополнительного радиального нерва принимает участие в формировании абфронтальных нервов двух соседних щупалец (Рис. 14). Остальные ветви иннервируют межщупальцевую мембрану лофофора. Второй нерв – базальный радиальный нерв – направляется базально к основанию лофофора, где он ветвится. Распределение ветвлений базального радиального нерва различно в проксимальной (в зоне вокруг ротового отверстия) и дистальной (в руках) частях лофофора. В проксимальной части этот нерв сильно ветвится и принимает участие в иннервации стенки тела полипида (Рис. 14). В дистальной части лофофора базальный радиальный нерв ветвится мало и его ветвления можно проследить до эпителия основания руки лофофора (Рис. 15). Дополнительный и базальный радиальные нервы отходят от основного нерва перпендикулярно плоскости руки лофофора, над расположенной ниже полостью мезоцеля. Базальный радиальный нерв, огибая мезоцель, уходит ниже, в основание руки лофофора (или в стенку интроверта).

Основные различия в организации нервной системы лофофора у фредерицеллы и других исследованных видов связаны с изменением формы кроны щупалец. Нам удалось показать, что, несмотря на колоколообразную, с кольцевым расположением щупалец, форму лофофора, характерную для морских гимнолемных и стенолемных мшанок, с анальной стороны лофофора находятся два коротких, сильно редуцированных выроста церебрального ганглия — рога лофофора (Рис. 16, 55). Два самых дорзальных основных радиальных нерва, отходящих от редуцированных рогов, смыкаются позади анального отверстия с образованием дистальной

бифуркации, иннервирующей два соседних дорзальных щупальца. Таким образом, у фредерицеллы рога лофофора формируют небольшое кольцо, замыкающееся на анальной стороне полипида. С оральной стороны от ганглия отходят два окологлоточных тракта, которые, в отличие от двух других филиктолемат, не смыкаются. Таким образом, замкнутое пероральное нервное кольцо у *F. sultana* отсутствует. Как и у *P. repens*, все латеральные ответвления основных радиальных нервов сильно сближены (Рис. 13). Дистальные ветви двух соседних радиальных нервов практически сразу сливаются и образуют медиальный нерв соответствующего щупальца. Необходимо ответить, что у фредерицеллы основания радиальных нервов за счет развития корешков часто имеют вид сложноустроенной сети (Рис. 16).

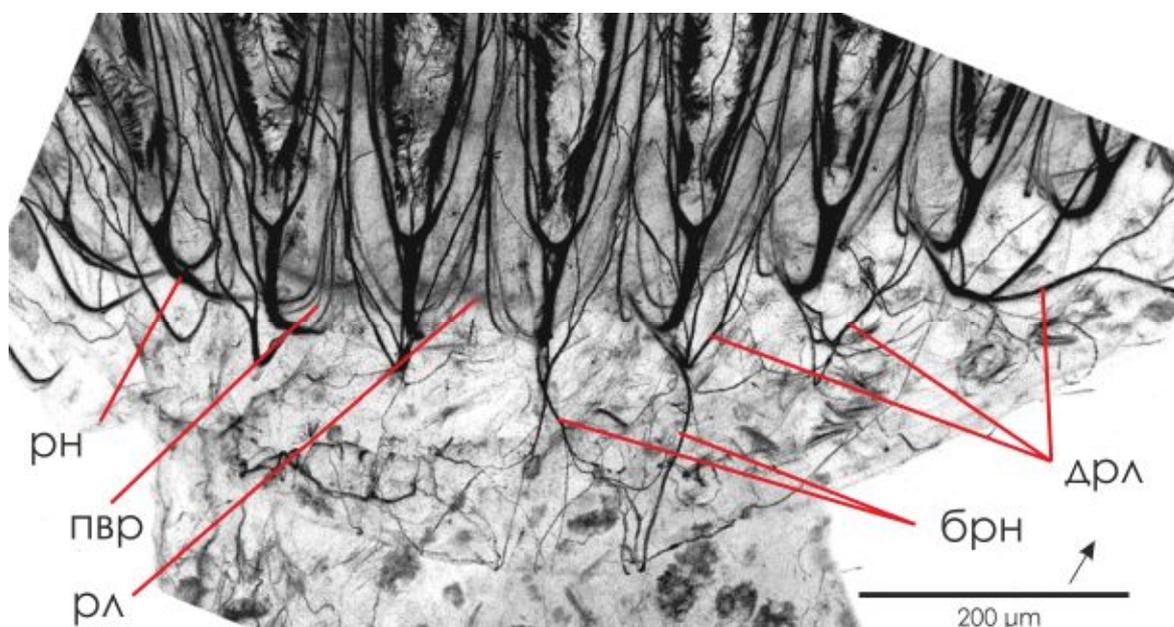


Рисунок 14. Проксимальная часть основания лофофора *C. tuscado*.

Обозначения: *брн* – базальный радиальный нерв, *дрн* – дополнительный радиальный нерв, *др* – дистальные ветви основного радиального нерва, *пвр* – проксимальные ветви основного радиального нерва, *рл* – рог лофофора, *рн* – основной радиальный нерв.

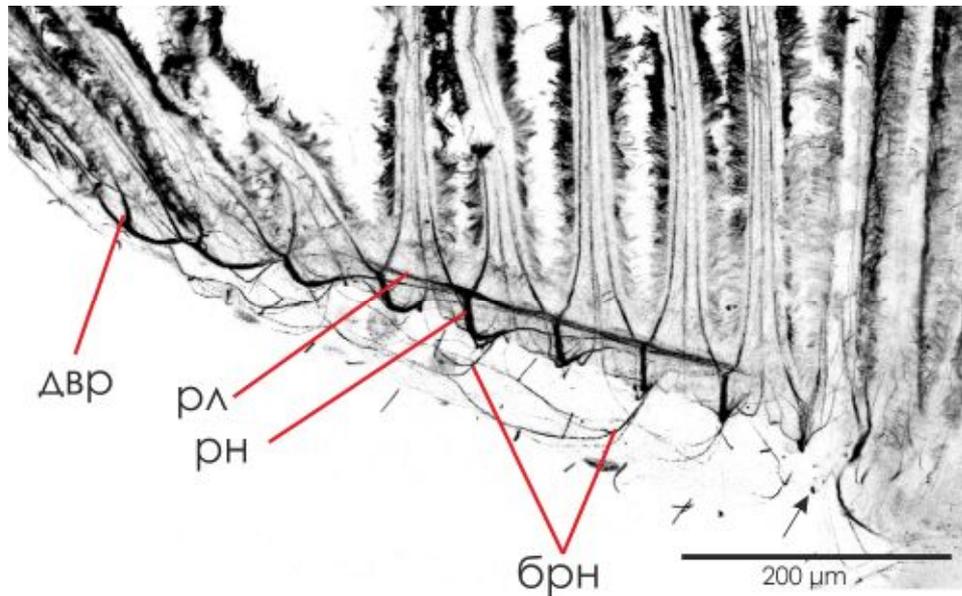


Рисунок 15. Дистальная часть основания лофофора *C. mucedo*.

Обозначения: *брн* – базальный радиальный нерв, *двр* – дистальные ветви основного радиального нерва, *рл* – рог лофофора, *рн* – основной радиальный нерв.

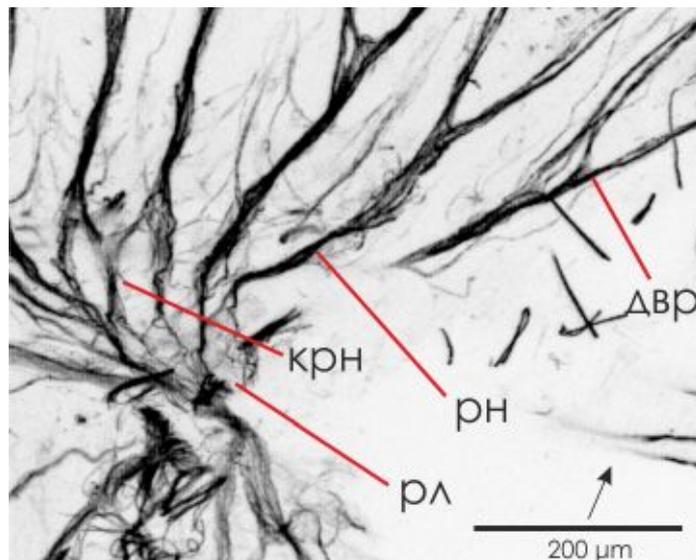


Рисунок 16. Рога лофофора *F. sultana*.

Обозначения: *двр* – дистальные ветви основного радиального нерва, *крн* – корешки радиальных нервов, *рл* – рога лофофора, *рн* – основные радиальные нервы.

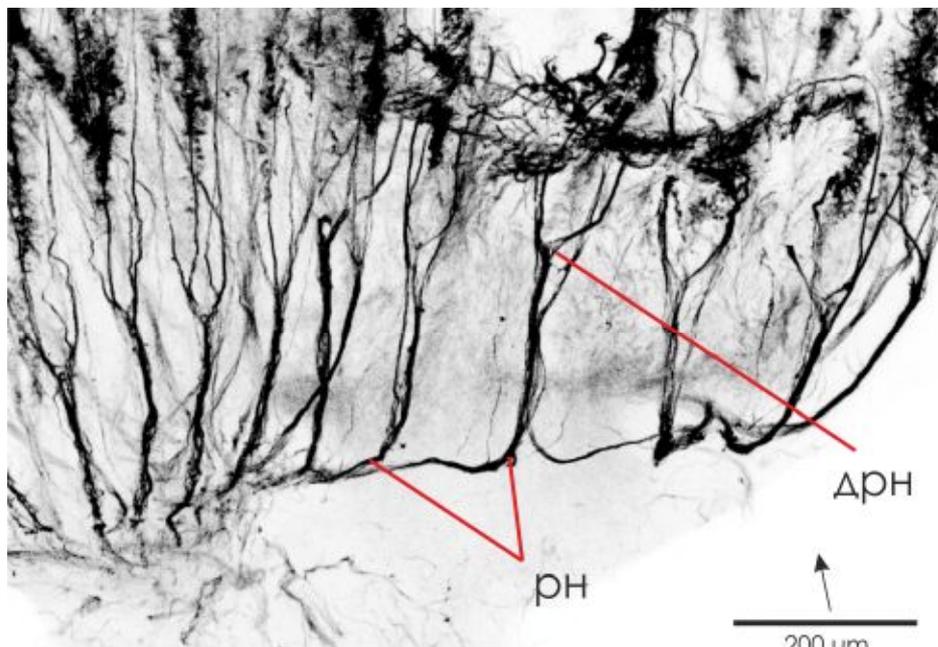


Рисунок 17. Анальная часть лофофора *F. sultana*. Видно соединение самых дистальных основных радиальных нервов и образование кольца (часть слоев).

Обозначения: *дрн* – дистальные ветви основных радиальных нервов, *рн* – основные радиальные нервы.

Описанные выше две пары дистальных ветвей основного радиального нерва проходят в щупальце по-разному. Одна из ветвей, расположенная ближе ко внутренней стороне руки лофофора, проходит в латеральной части щупальца и образует его фронтально-латеральный нерв. Другая же ветвь уходит на абфронтальную сторону щупальца (к внешней стороне венчика лофофора), где в нижней трети щупальца ветвится. Эти ветви проходят по самой середине абфронтальной стороны щупальца вместе с такими же ветвями соседнего основного радиального нерва. Вместе они образуют абфронтальный нерв щупалец. Также в состав этого нерва входят ответвления дополнительного радиального нерва, уходящие в щупальца. Проксимальные ветви основного радиального нерва проходят в медиальной части фронтальной (внутренней) стороны щупальца, в основании сливаясь с проксимальными ветвями соседнего радиального нерва и образуя крупный фронтальный нерв (в литературе называемый медианным нервным сплетением (Gerwerzhagen, 1913)) (Рис. 18).

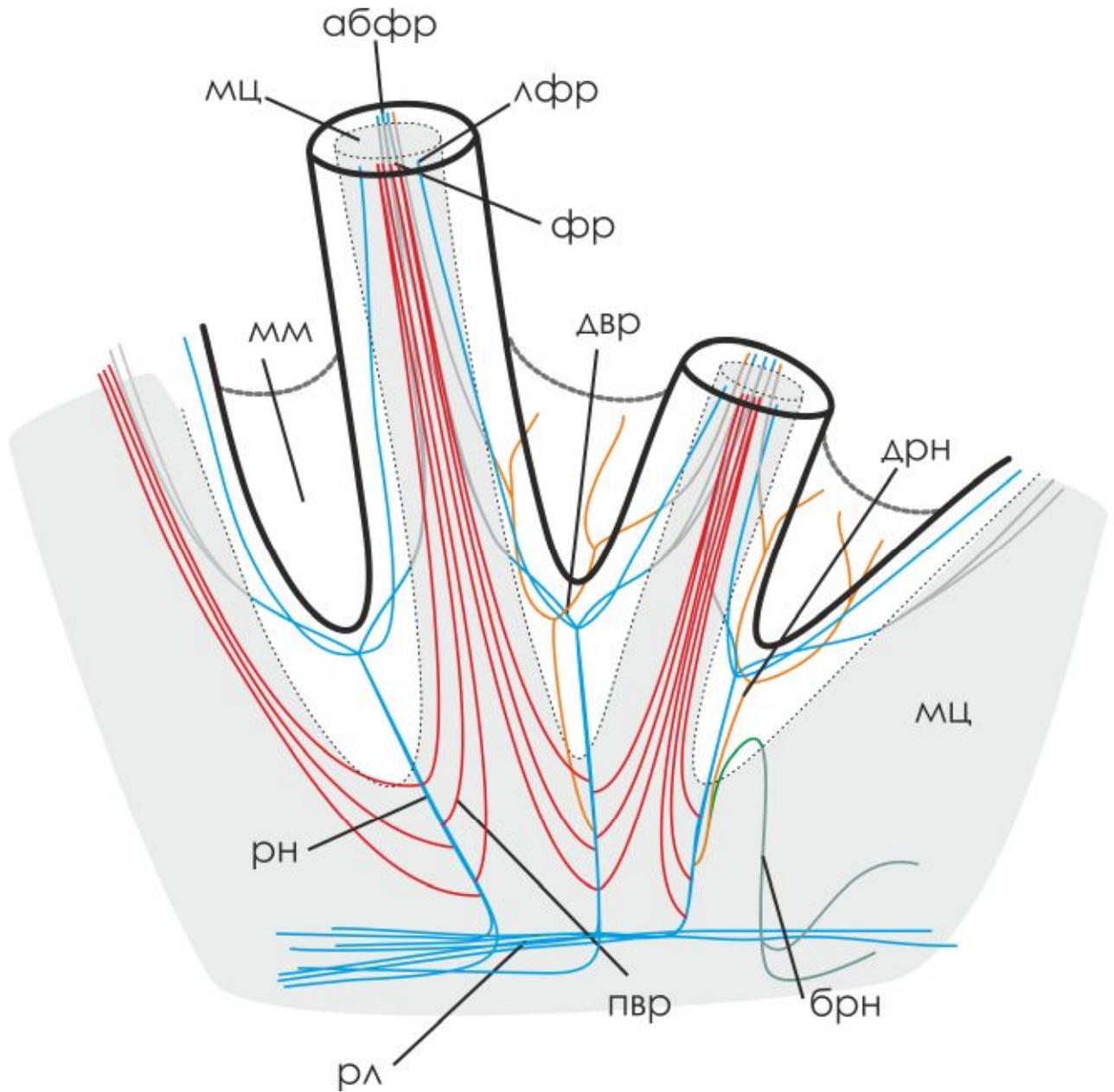


Рисунок 18. Пространственная организация нервной системы щупалец, вид с внутренней стороны.

Обозначения: *абфр* – абфронтальный нерв щупальца, *брн* – базальный радиальный нерв, *двр* – дистальные ветвления основных радиальных нервов, *дрн* – дополнительный радиальный нерв, *лфр* – латерофронтальный нерв щупальца, *мм* – межщупальцевая мембрана, *мц* – мезоцель, *пвр* – проксимальные ветвления основных радиальных нервов, *рл* – рог лофофора, *рн* – основные радиальные нервы, *фр* – фронтальный нерв щупальца.

4.3 Нервная система стенки тела полипида (интроверта) и кишечника

Стенка интроверта характеризуется нервным сплетением, сформированным за счет тонких отростков, отходящих от базальных нервов церебрального ганглия и отростков базального радиального нерва (Рис. 10, 14). В состав сплетения также входит небольшое количество мультиполярных нейронов. Основная масса нервных волокон ориентирована вдоль апико-базальной оси зооида, что соответствует направлению продольных мышечных волокон, формирующих мускулатуру стенки тела наряду с кольцевыми мышцами. Продольный слой мускулатуры залегает в стенке тела полипида глубже кольцевого и, по всей видимости, принимает участие в сокращении интроверта при втягивании полипида.

Нервное сплетение интроверта представлено отдельными мультиполярными нейронами и их многочисленными отростками, образующими ячеистую структуру (Рис. 19). Количество мультиполярных нейронов в стенке интроверта у *P. repens* оказывается значительно больше, чем у *C. mucedo* (рис. 20А). У *F. sultana* тела нейронов в нервном сплетении интроверта обнаружены не были (рис. 20Б).

Нервное сплетение стенки кишечника образовано более тонкими отростками третьей пары базальных нервов церебрального ганглия (Рис. 10). Основная масса нервов направлена вдоль кишечного тракта (Рис. 21).

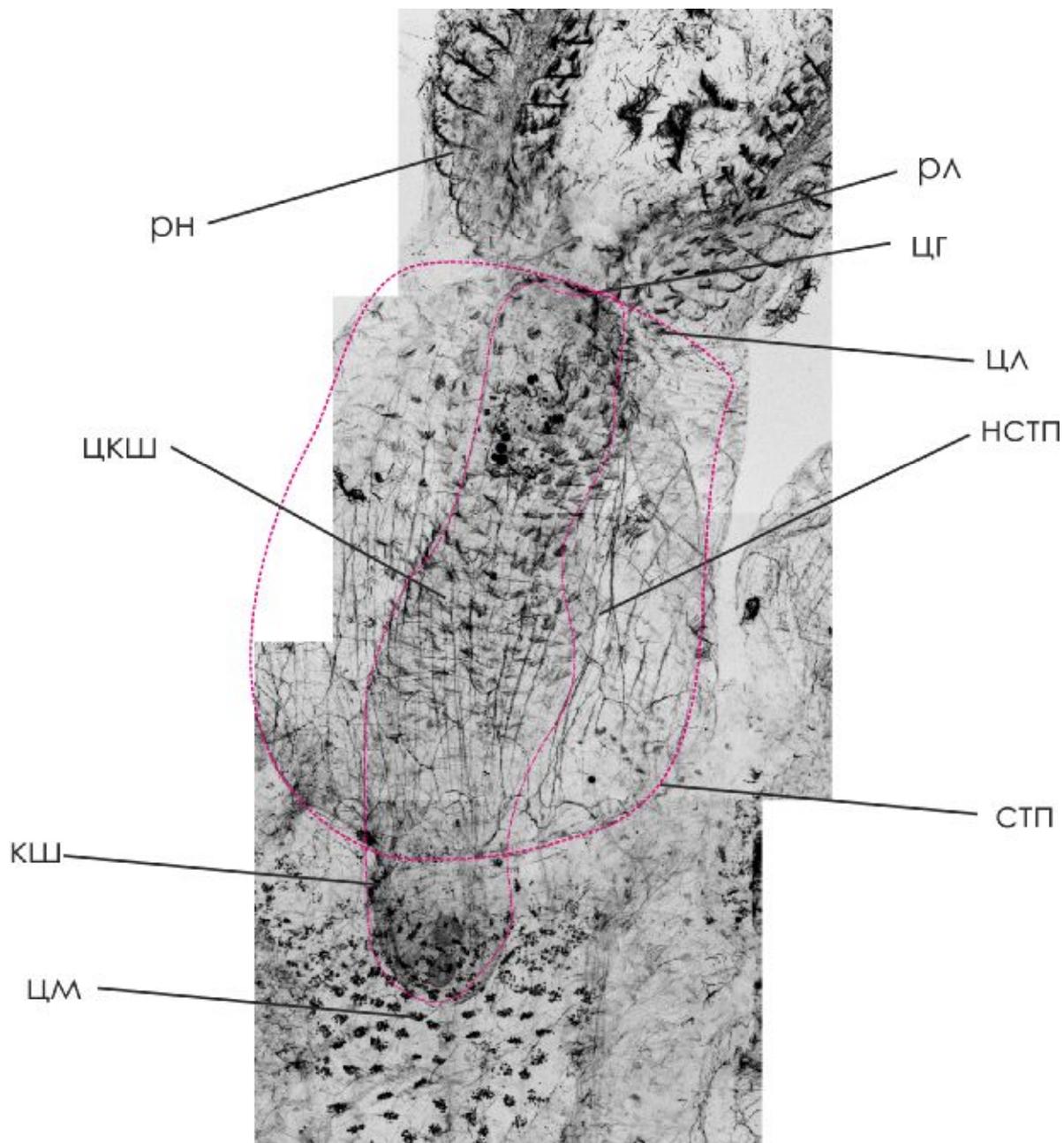


Рисунок 19. Иннервация стенки тела полипида *C. tucedo*. Пунктиром показаны границы стенки тела (снаружи) и кишечника (внутри).

Обозначения: *ки* – кишечник, *нстп* – нервы стенки тела полипида, *рл* – рог лофофора, *рн* – основные радиальные нервы, *стп* – стенка тела полипида, *цг* – церебральный ганглий, *цки* – цилиатура кишечника, *цл* – цилиатура лофофора, *цм* – цилиатура мезоцеля.

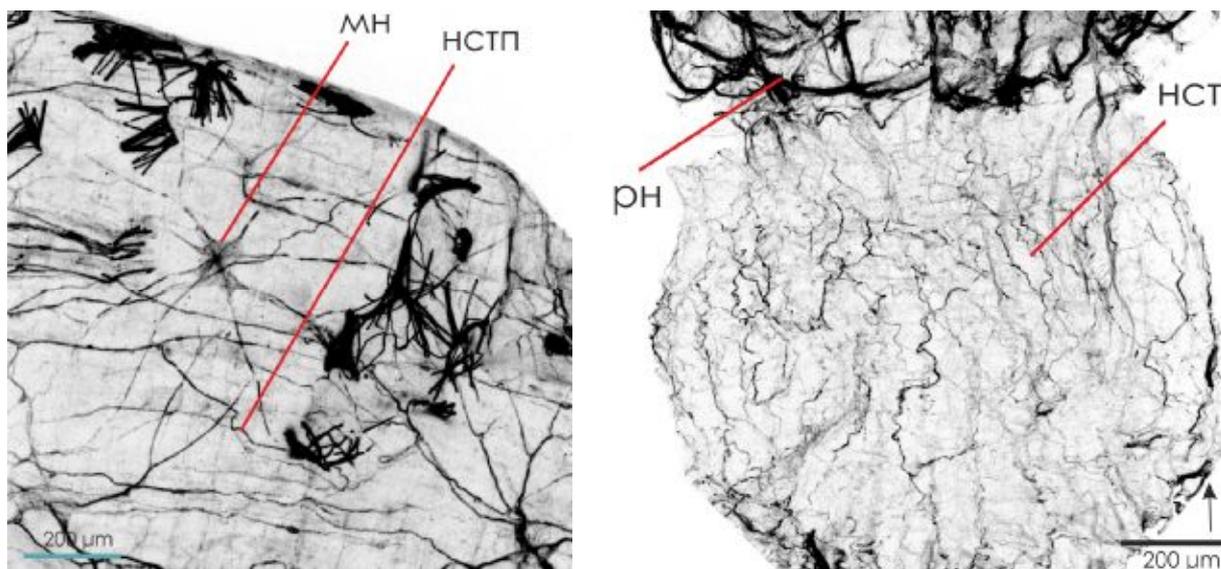


Рисунок 20. А. Мультиполярные нейроны в стенке тела полипида *P. repens*. Б. Иннервация интроверта и стенки тела *F. sultana*.

Обозначения: *мн* – мультиполярный нейрон, *нстп* – нервное сплетение стенки тела, *рн* – основной радиальный нерв.

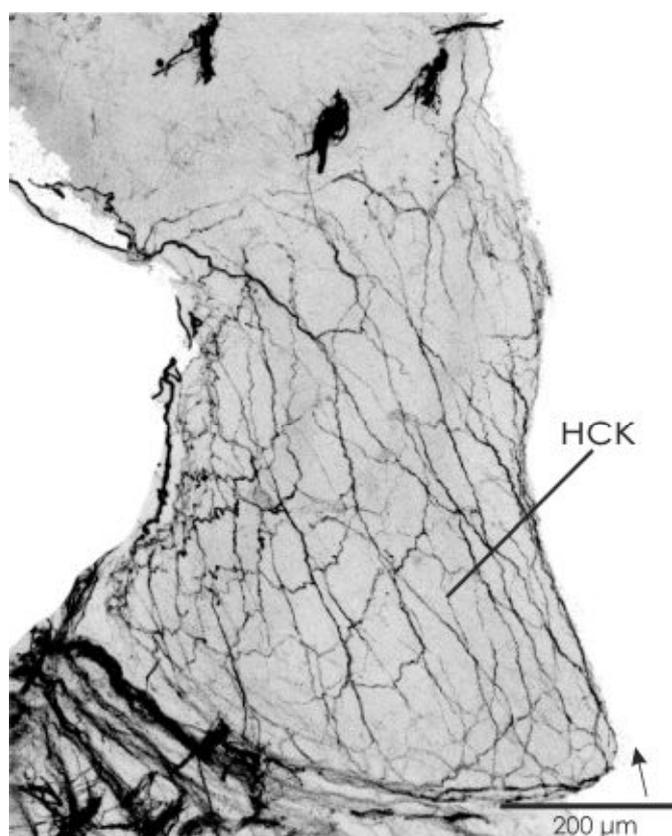


Рисунок 21. Иннервация кишечника *P. repens*.

Обозначения: *нск* – нервное сплетение кишечника.

4.4 Иннервация подошвы *C. mucedo*

Базальная часть колонии кристателлы – подошва, имеет два основных слоя мышц. Ближе к поверхности подошвы расположен слой мышц, залегающих перпендикулярно продольной оси колонии (гомолог кольцевой мускулатуры зооида). Над ним находится другой слой мышц, ориентированный вдоль продольной оси (гомолог продольной мускулатуры зооида). По краям подошвы имеется небольшой валик, который предположительно выполняет роль присоски.

Нервное сплетение подошвы образовано сетью взаимноперпендикулярных волокон (Рис. 22). В составе нервного сплетения хорошо различимы отдельные биполярные и мультиполярные нейроны. Тела нейронов располагаются на наружном слое мускулатуры. При послойном анализе конфокальных изображений можно отметить, что некоторые нейроны участвуют в иннервации обоих взаимноперпендикулярных слоев мускулатуры. То есть, часть их отростков отходит параллельно слою, на котором располагаются тела мультиполярных нейронов, а часть – под углом, отходя к внутреннему слою мускулатуры (Рис. 23).

В области краевого валика подошвы характер нервного сплетения не меняется, однако здесь оно более мощное, чем в средней части подошвы и представлено большим числом нервных элементов (Рис. 22Б).

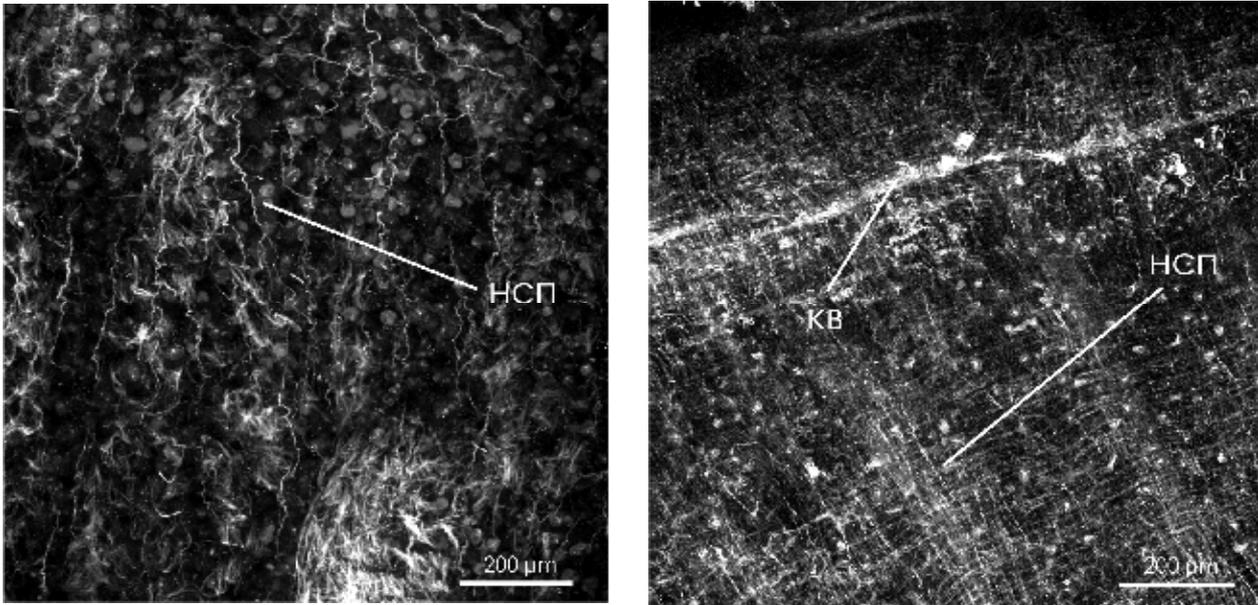


Рисунок 22. А. Центральная часть подошвы *C. mucedo*. Б. Край подошвы *C. mucedo*.

Обозначения: *кв* –краевой валик подошвы, *нсп* – нервное сплетение подошвы.

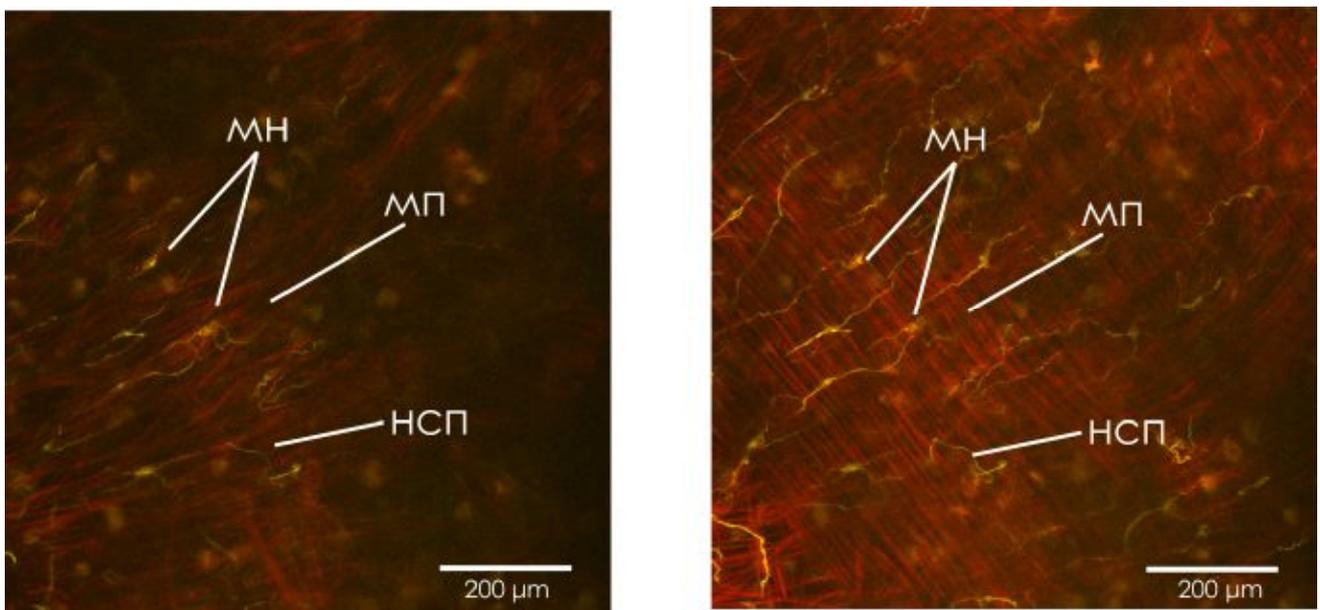


Рисунок 23. Мультиполярные нейроны в толще подошвы *C. mucedo*. (А) Наружный (перпендикулярный) слой мускулатуры и мультиполярные нейроны, лежащие на нем. (Б) Видно, как от мультиполярных нейронов под разными углами отходят отростки, иннервирующие оба слоя мускулатуры.

Обозначения: *мн* – мультиполярный нейрон, *мп* – мускулатура подошвы, *нсп* – нервное сплетение подошвы.

Глава 5. Серотонинергическая нервная система исследованных видов

Серотонинположительные элементы в нервной системе пресноводных мшанок были обнаружены только в церебральной ганглии и в нервных элементах лофофора.

У всех исследованных видов мшанок в лофофоре нами были обнаружены только биполярные серотонинергические клетки с центральным и периферическим отростками. Они располагаются в основании щупалец или в основании венчика щупалец, как с оральной, так и с анальной сторон (Рис. 24, 25). Каждая клетка имеет короткий периферический отросток, который отходит в сторону щупалец (Рис. 26). Периферические отростки можно проследить лишь до основания (или нижней трети) щупалец, где они оканчиваются, не ветвясь. 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 (Рис. 24, 25). Судя по распределению отростков, серотонинергические клетки лофофора – это первичночувствующие клетки с достаточно узкой областью иннервации.

Характер распределения серотонинергических элементов с анальной и оральной сторон лофофора несколько отличается. У *C. mucedo* и *P. repens* в основании каждого щупальца внешнего ряда располагается по одному телу нейрона. Центральные отростки нейронов щупалец анальной стороны лофофора как правило идут непосредственно в радиальные нервы. Отростки нейронов щупалец оральной стороны лофофора, а также ближайших в ротовому отверстию латеральных щупалец сливаются и в составе дополнительного радиального нерва спускаются к рогам лофофора (Рис. 24, 25).

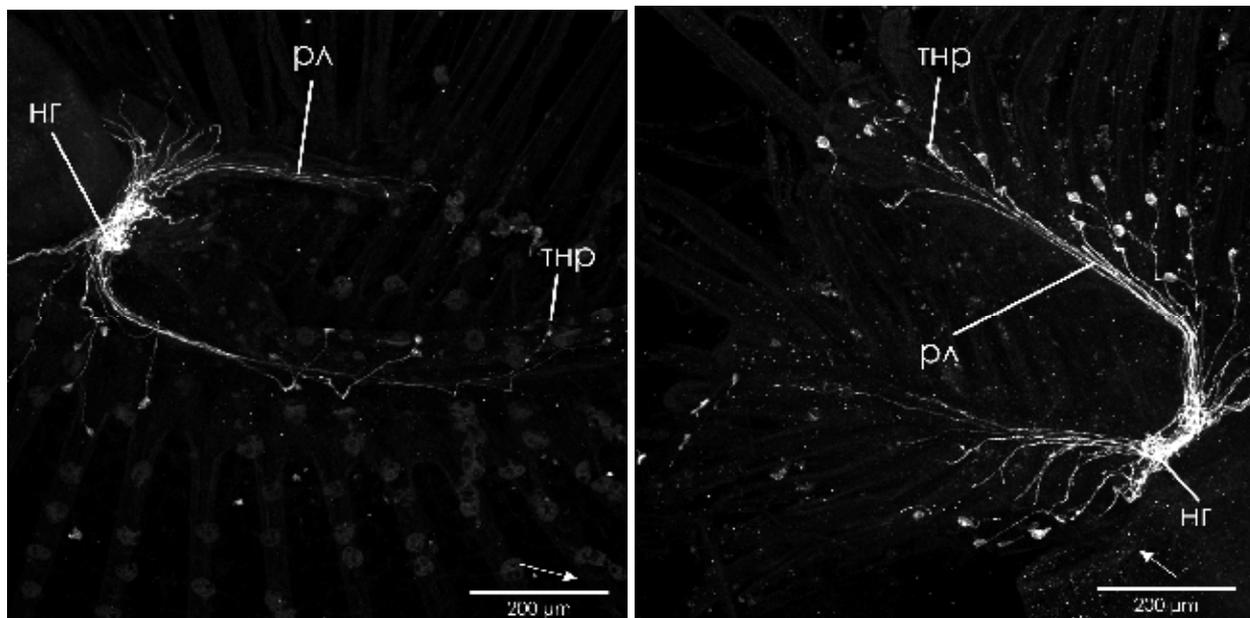


Рисунок 24. Локализация серотонинположительных нейронов в лофофоре *C. mucedo* (А) и *P. repens* (Б).

Обозначения: *нг* – нейропил ганглия, *рл* – рога лофофора, *рн* – радиальные нервы, *тнр* – тела нейронов.

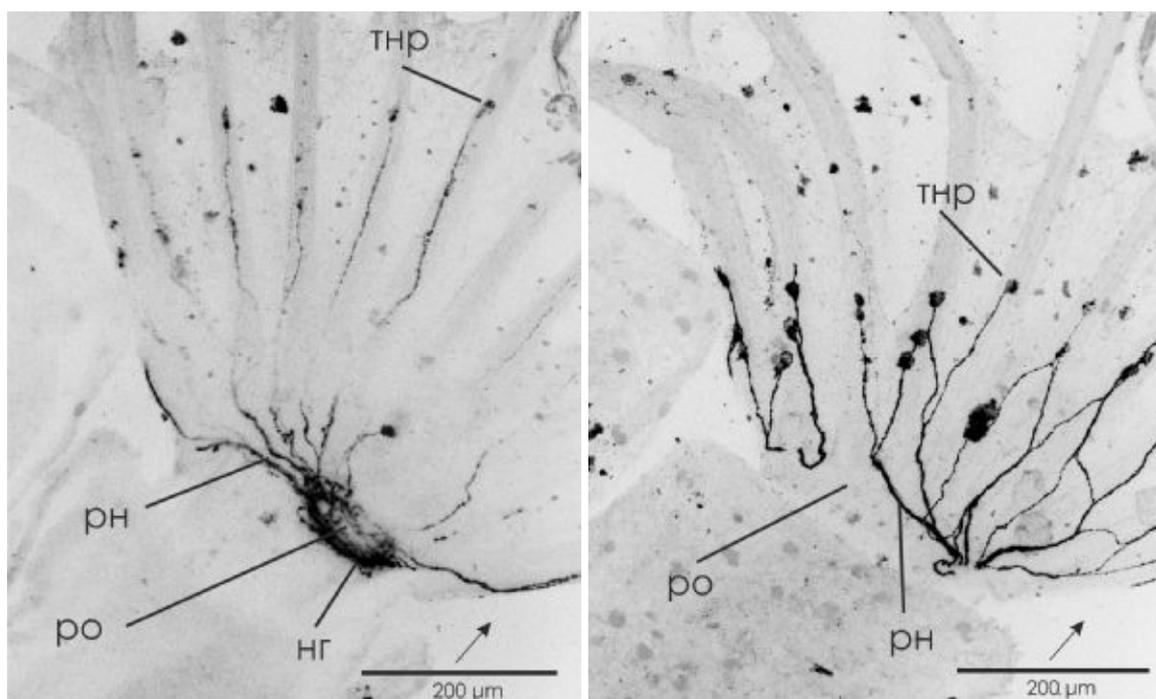


Рисунок 25. Расположение серотонинположительных элементов в лофофоре *F. sultana* с анальной (А) и оральной (Б) сторон.

Обозначения: *нг* – нейропил ганглия, *рн* – основные радиальные нервы, *ро* – ротовое отверстие, *тнр* – тела нейронов.

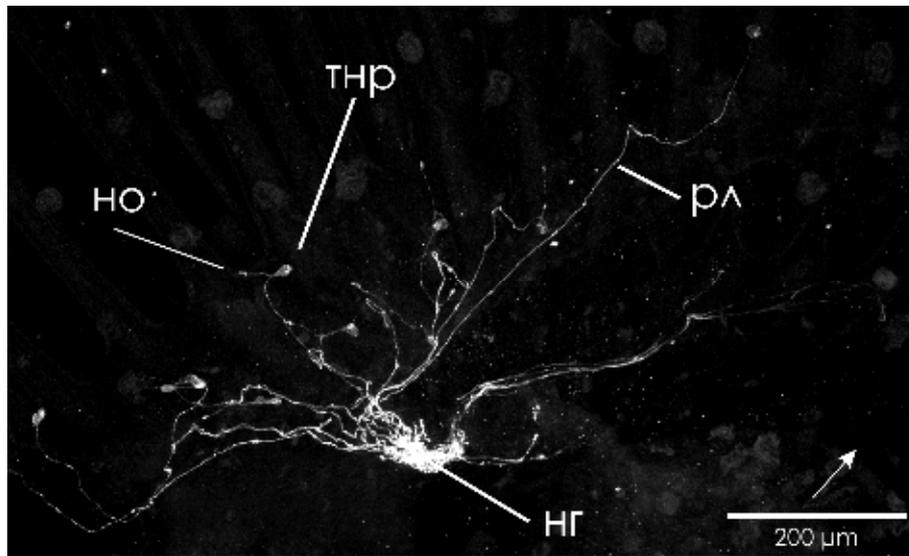


Рисунок 26. Основание лофофора *C. mucedo* (видны отростки, отходящие от серотонинположительных нейронов в сторону щупальца).

Обозначения: *нг* – нейропилль ганглия, *но* – нервные отростки, *рл* – рога лофофора, *тнр* – тела нейронов.

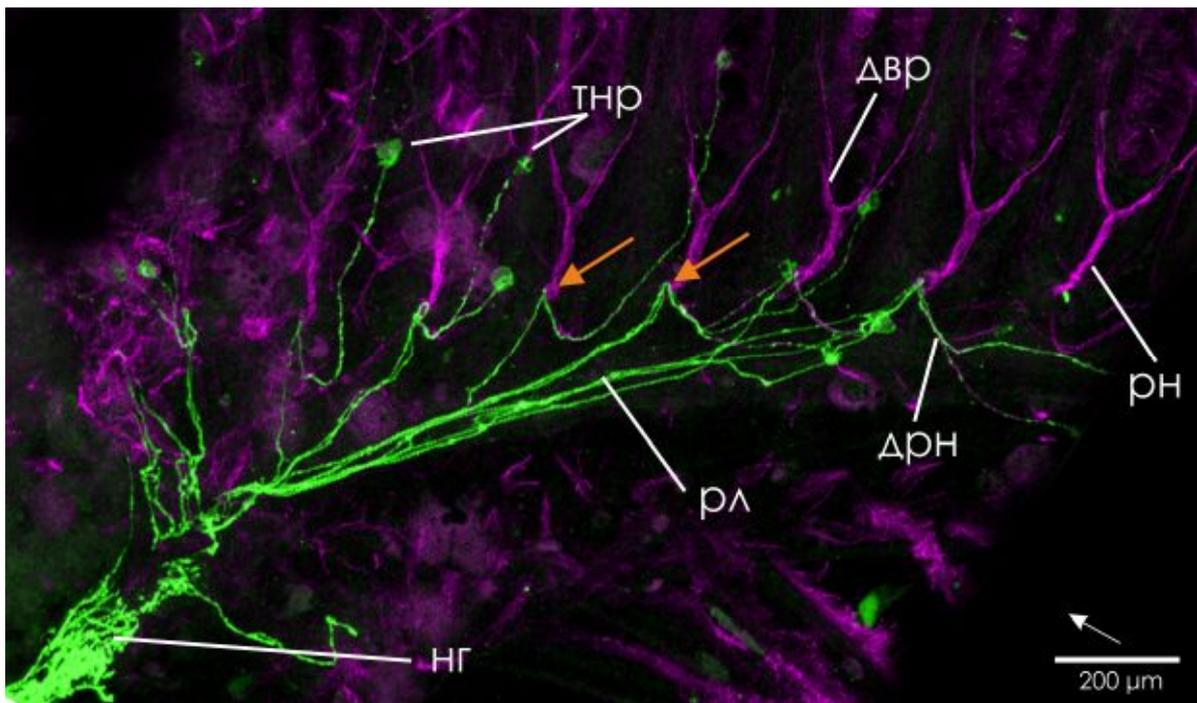


Рисунок 27. Серотонинположительные нервы лофофора *C. mucedo* (зеленые). Стрелками показаны места, в которых серотонинположительные нервные волокна отходят от основного радиального нерва в составе дополнительных радиальных нервов. Фиолетовым отмечены структуры, окрашенные антителами к α -тубулину.

Обозначения: *дрн* – дополнительный радиальный нерв, *нг* – нейропилль ганглия, *рл* – рога лофофора, *рн* – радиальные нервы, *тнр* – тела нейронов.

Существуют также некоторые различия в расположении тел серотонинергических нейронов в лофофоре исследованных видов мшанок. У видов с подковообразным лофофором тела нейронов располагаются в основании лофофора более базально, чем у *F. sultana*. Причем, у *P. repens* тела нейронов располагаются в самой базальной части щупалец, а у *C. mucedo* – в самой базальной части руки лофофора (Рис. 24А, 25Б). Необходимо также отметить, что серотонинположительные нейроны в лофофоре *C. mucedo* располагаются только в проксимальных двух третях лофофора, а в дистальных щупальцах отсутствуют (Рис. 24А). 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 (Рис. 24Б).

В колоколообразном лофофоре *F. sultana* тела нейронов располагаются в нижней трети каждого щупальца (Рис. 25). Также как и у двух других изученных видов, характер ветвления центральных отростков этих нейронов отличается в зависимости от части лофофора, в которой они расположены. На анальной стороне лофофора базальные отростки отходят напрямую к церебральному ганглию, однако с оральной стороны лофофора формируется сложная сеть из отростков. От каждого тела нейрона отходит центральный отросток, который вскоре соединяется с центральным отростком соседнего тела нейрона. Иногда можно отметить формирование дополнительных отростков, соединяющих между собой соседние нервы (Рис. 25).

Таким образом, несмотря на общий принцип организации, у изученных видов наблюдается тенденция к смещению тел серотонин-иммунореактивных нейронов ближе к рогам лофофора.

В церебральном ганглии аксоноподонные отростки серотонин-иммунореактивных клеток формируют мощный нейропилль. Форма серотонинергического нейропиля отличается у исследованных видов.

У видов с подковообразным лофофором – *C. mucedo* и *P. repens* – нейропилъ серотонинположительных нервов представлен двумя симметричными долями, расположенными в левой и правой половинах ганглия. Часть отростков образуют комиссуроподобное сплетение между этими долями в средней части ганглия. Причем, у кристателлы и плюмателлы можно обнаружить разную степень выраженности этого сплетения: у кристателлы оно шире, а у плюмателлы – уже (Рис. 28А, Б). Напротив, у фредерицеллы аксоноподобные отростки в церебральном ганглии распределяются в виде кольцевидной структуры без выраженной билатеральной симметрии (Рис. 28В).

У *C. mucedo* с анальной стороны апикально от серотонинположительного нейропиля отходит пара тонких нервов, по всей видимости, проходящих по стенке задней кишки. Кроме того, у кристателлы удается выявить пару нервных отростков, отходящих от ганглионарного сплетения базально на анальную сторону зооида (Рис. 29). У *P. repens* тонкие нервы, отходящие от симметричных лопастей ганглионарного сплетения в некоторых случаях формируют комиссуру в верхней анальной части ганглия (Рис. 28Б). Чаше кончики этих нервов подходят очень близко друг к другу, но не смыкаются. Такая же картина наблюдается и у *F. sultana* (Рис. 28В).

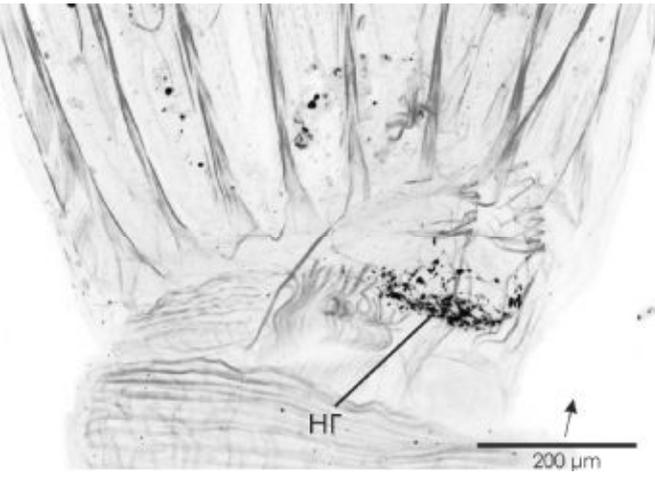
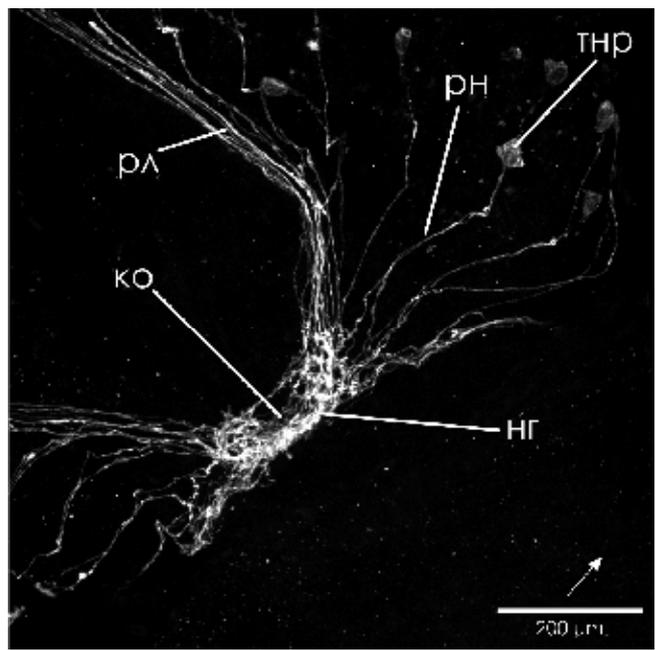
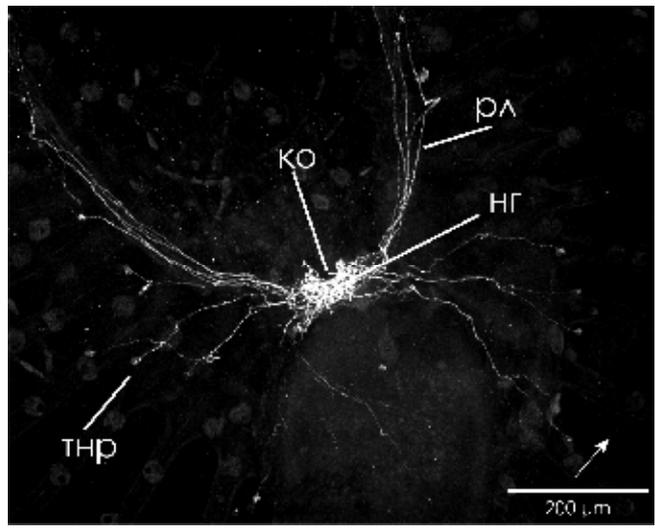


Рисунок 28. Ганглионарное сплетение серотонинположительных нервов у *S. mucedo* (А), *P. repens* (Б) и *F. sultana* (В).

Обозначения: *ко* – комиссуральная область, *нг* – нейропилъ ганглия, *рл* – рога лофофора, *рн* – радиальные нервы, *тнр* – тела нейронов.

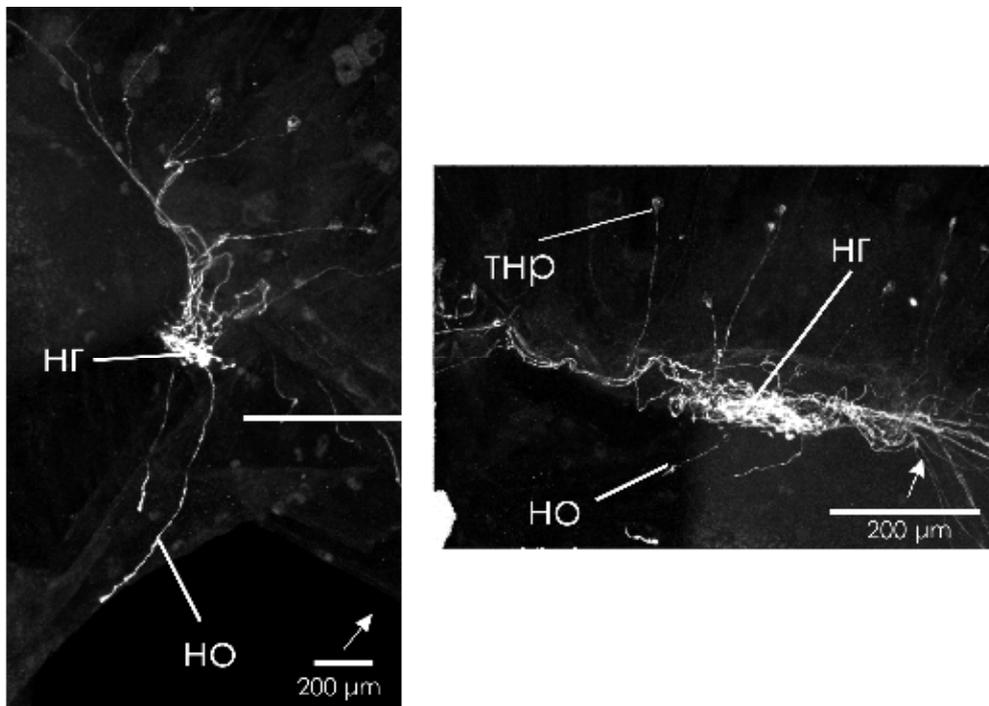


Рисунок 29. Нервные отростки, отходящие от ганглионарного сплетения базально к задней кишке зооида *C. mucedo*.

Обозначения: *hg* – нейропиль ганглия, *ho* – нервный отросток, *tnr* – тела нейронов.

Глава 6. FMRФамидергическая нервная система исследованных видов

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

6.1 FMRФамидергические элементы ЦНС

В церебральном ганглии исследованных мшанок выявлено скопление FMRФамидергических элементов, которое представлено как телами клеток, так и их отростками. FMRФамидиммунореактивные клетки располагаются в периферической зоне церебрального ганглия, которую можно обозначить как область клеточных тел. Количество клеток варьирует в зависимости от вида. У *C. mucedo* удается выявить от 30 до 40 преимущественно униполярных FMRФамидергических клеток, у *P. repens* – от 30 до 35, у *F. sultana* – от 20 до 30. Часть отростков этих клеток уходит в нейропиль ганглия, где они образуют незначительное сгущение. Другие отростки идут на периферию, где входят в состав рогов лофофора или перорального нервного кольца.

Локализация FMRФамидергических клеток в области клеточных тел церебрального ганглия носит видоспецифический характер. Все тела FMRФамидположительных клеток у *C. mucedo* располагаются в виде двух сомкнутых своими сторонами «колец» (Рис. 30А). В центральной части ганглия, а также в местах отхождения рогов лофофора и перорального нервного кольца располагаются сгущения тел FMRФамидергических клеток. От середины с анальной стороны ганглия отходит несколько нервных отростков, иннервирующих стенку задней кишки полипида. Они проходят

латерально по сторонам задней кишки и практически сливаются на ее задней стороне. Орально с нижней стороны от церебрального ганглия отходит множество нервных отростков, в состав которых входят тела нервных клеток. В медианной части ганглия с оральной стороны также располагается скопление тел нейронов, лежащих за пределами «колец», и отходит еще одна пара нервов. Эти нервы уходят базально к основанию полипида и участвуют в иннервации стенки кишечника. Как и в случае серотонинергического нейропиля, распределение FMRFамидположительных элементов демонстрирует тенденцию к формированию билатерально симметричных структур в церебральном ганглии *C. mucedo* (Рис. 30).

У *P. repens* тела нейронов также распределяются, в области клеточных тел ганглия. Однако характер распределения тел нейронов отличается. Они располагаются на периферии, двумя симметричными группами в базальной части церебрального ганглия, а также формируют небольшую перемычку в его центральной базальной части. Отростки основной части нервных клеток отходят от церебрального ганглия в составе рогов лофофора или нервов перорального нервного кольца (Рис. 31).

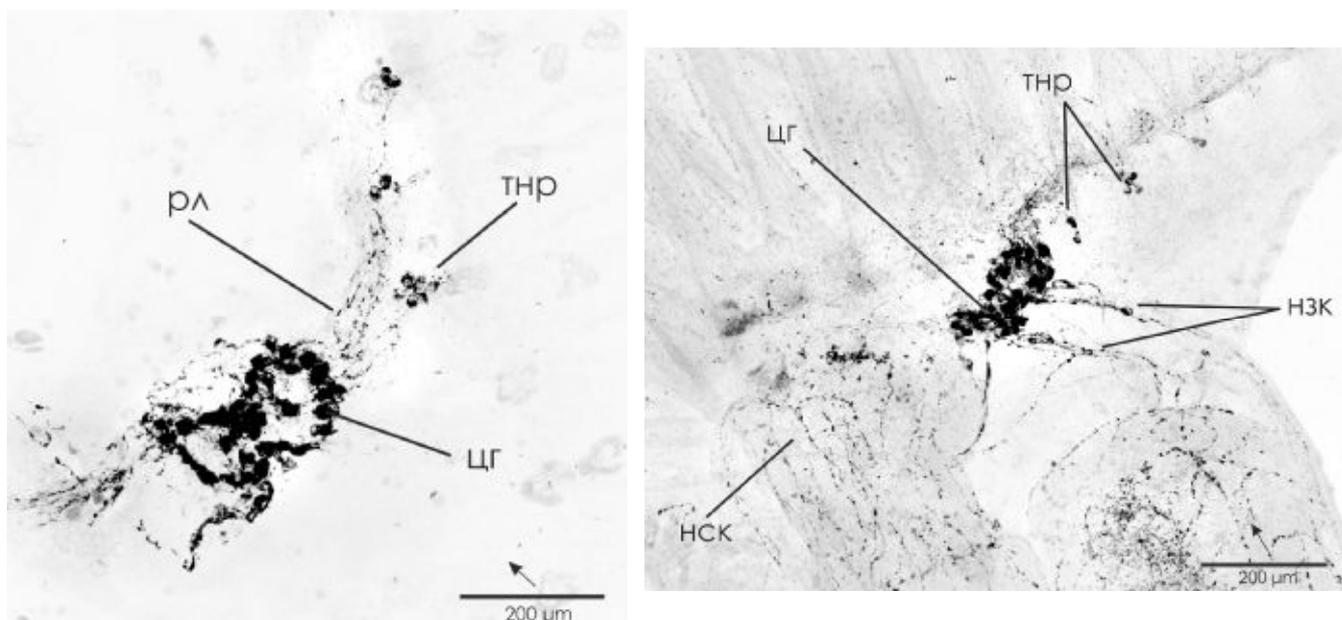


Рисунок 30. FMRFамидположительные элементы церебрального ганглия и лофофора *C. tucido*. (А) церебральный ганглий и ганглионарные скопления; (Б) церебральный ганглий и FMRFамидположительные нервы основания лофофора.

Обозначения: *нзк* – нервы задней кишки, *нск* – нервное сплетение кишечника, *рл* – рога лофофора, *тнр* – тела нейронов, *цг* – церебральный ганглий.

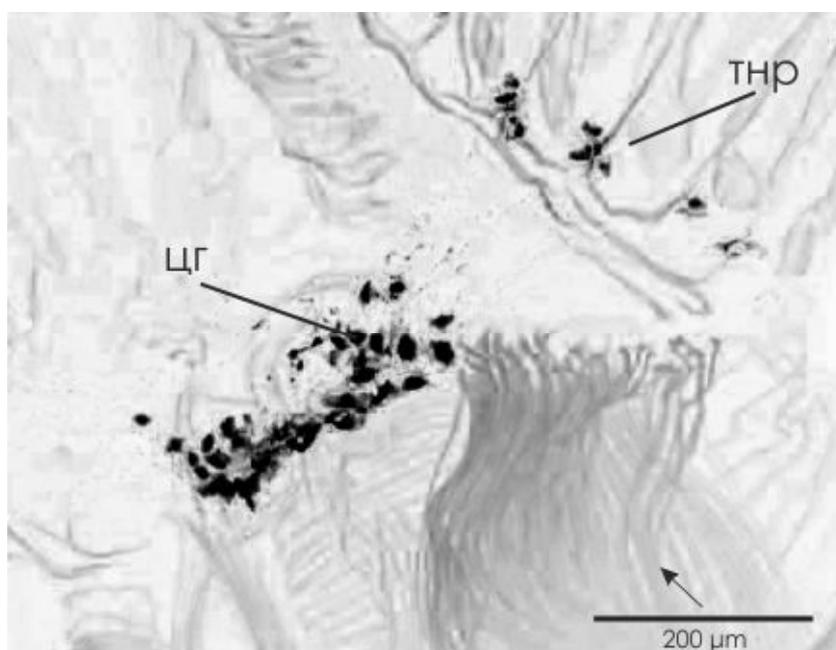


Рисунок 31. Скопление тел FMRFамидположительных нейронов в основании лофофора и церебральном ганглии *P. repens*.

Обозначения: *тнр* – тела нейронов, *цг* – церебральный ганглий.

У *F. sultana* тела FMRФамидположительных клеток располагаются также 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.

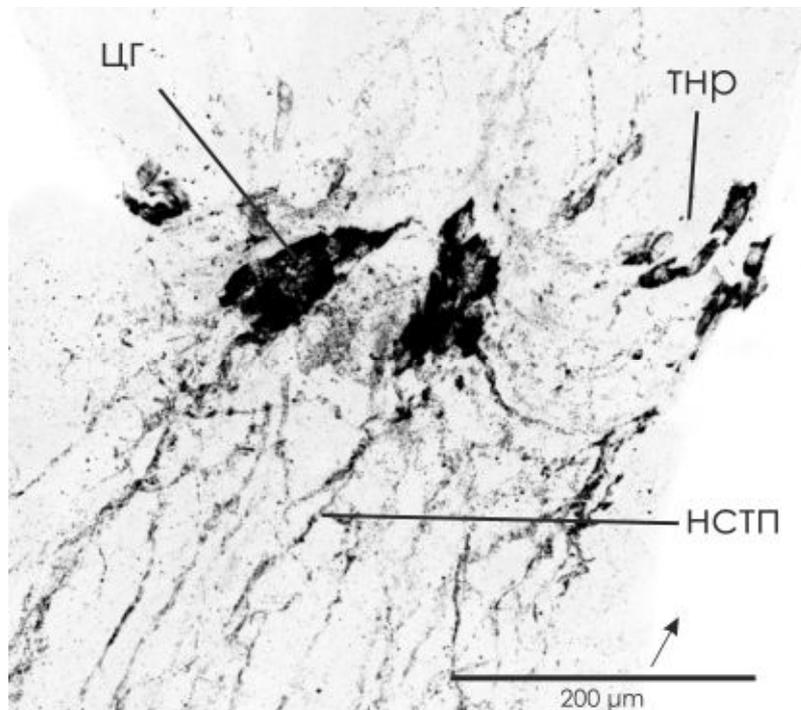


Рисунок 32. Скопление тел FMRФамидположительных нейронов в основании лофофора и церебральном ганглии *F. sultana*.

Обозначения: *нстп* – нервное сплетение стенки тела полипида, *тнр* – тела нейронов, *цг* – церебральный ганглий.

6.2 FMRФамидергические элементы нервной системы лофофора

Как было описано выше, от тел FMRФамидергических нейронов латерально к анальной и оральной сторонам полипида отходят отростки, проходящие в составе рогов лофофора или перорального нервного кольца.

Также в основании лофофора латерально по сторонам от ротового отверстия у всех трех исследованных видов располагается несколько небольших ганглионарных скоплений FMRФамидергических клеток. Их локализация, а также количество клеток, входящих в их состав, отличается у разных видов.

У кристателлы 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 (Рис. 30). Удаётся проследить тонкие нервные отростки этих клеток. Периферические отростки отходят апикально и прослеживаются в составе фронтальных нервов щупалец вплоть до их кончиков, где у кристателлы удаётся обнаружить биполярные FMRFамидергические клетки. Периферический отросток этих клеток заходит в эпителий щупалец и оканчивается на его апикальной поверхности, не ветвясь. Аксоноподобные отростки этих клеток спускаются по щупальцу в составе фронтальных нервов (Рис. 33). Судя по строению, эти биполярные клетки являются первичночувствующими рецепторными клетками.

У *P. repens* небольшие ганглионарные скопления FMRFамидергических клеток располагаются в основании 5-6 латеральных щупалец, ближе к анальной стороне лофофора. В их состав входит обычно 3-4 биполярных клетки. К сожалению, у плюмателлы выявить FMRFамидположительные нервные отростки в щупальцах выявить не удалось (Рис. 34).

В основании лофофора *F. sultana* располагается 4 группы по 2-4 биполярных FMRFамидергических клетки. Их базальные отростки как у кристателлы подходят в составе рогов лофофора к анальной области церебрального, а периферические отростки прослеживаются вплоть до самых кончиков щупалец (Рис. 35, 36). Рецепторных клеток на кончиках щупалец у данного вида обнаружить не удаётся.

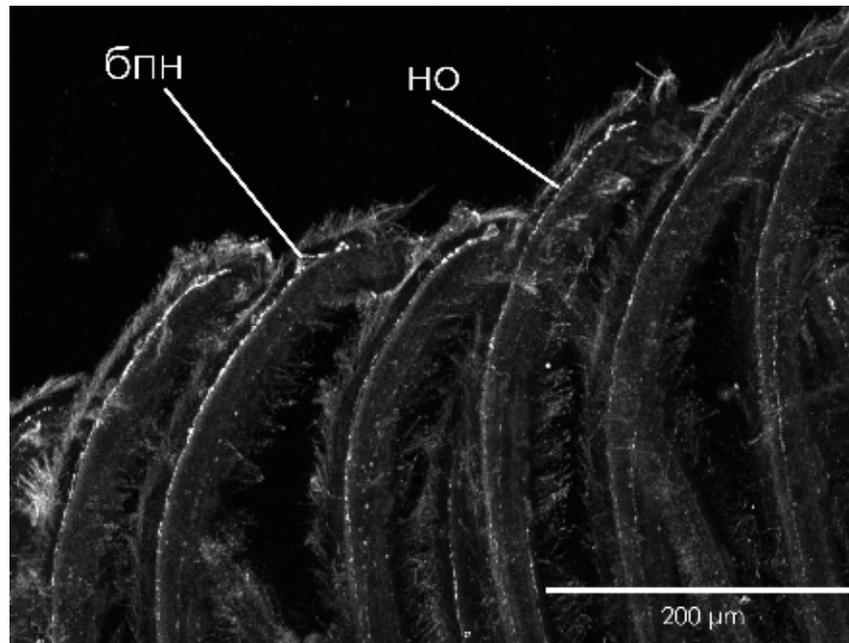


Рисунок 33. Биполярные нейроны и FMRFамидергическая иннервация щупалец *C. mucedo*.

Обозначения: *бпн* – биполярный нейрон, *но* – нервный отросток.

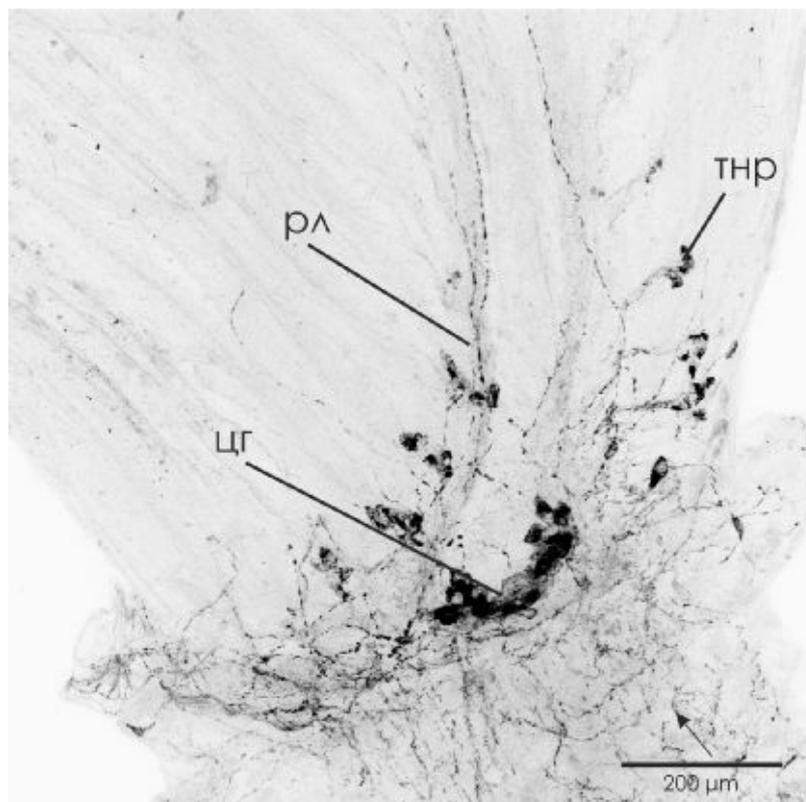


Рисунок 34. Расположение небольших ганглионарных скоплений в основании щупалец *P. repens*.

Обозначения: *тнр* – тела нейронов, *рл* – рога лофофора, *цг* – церебральный ганглий.

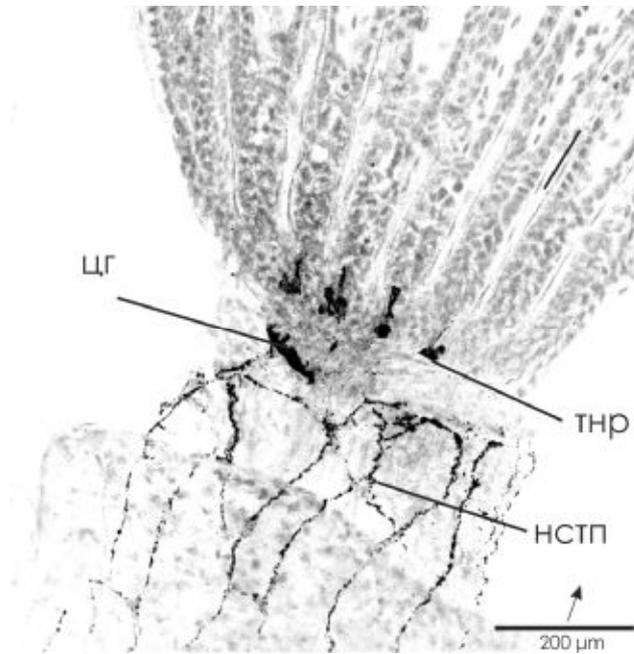


Рисунок 35. Расположение небольших ганглионарных скоплений в основании щупалец *F. sultana*.

Обозначения: *нсп* – нервное сплетение стенки тела полипида, *тнр* – тела нейронов, *цг* – церебральный ганглий.

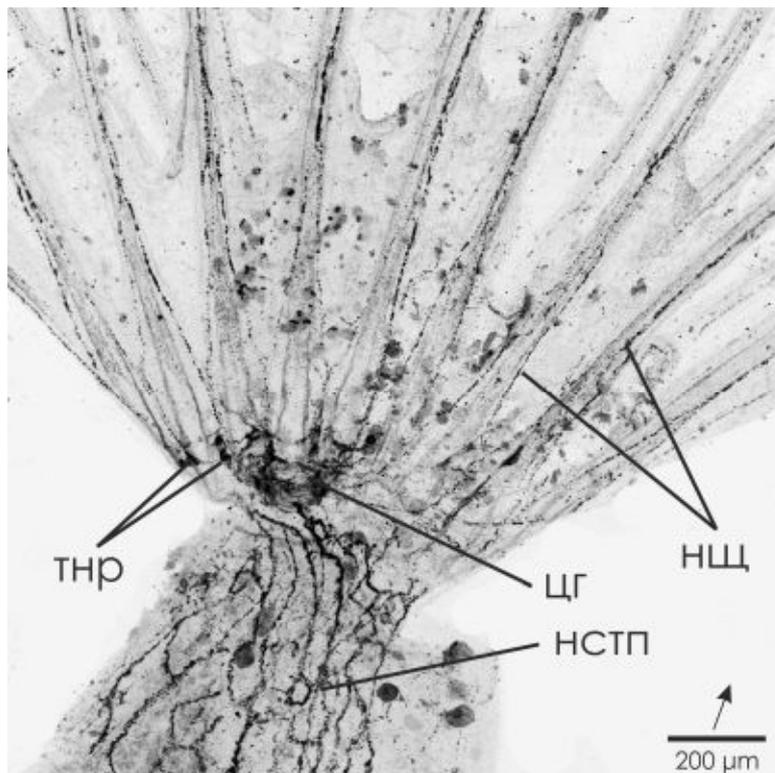


Рисунок 36. FMRFамидположительные элементы церебрального ганглия и лофофора *F. sultana*.

Обозначения: *нсп* – нервное сплетение стенки тела полипида, *ниц* – нервы щупалец, *тнр* – тела нейронов, *цг* – церебральный ганглий.

6.3 FMRFамидергические элементы нервной системы интроверта и стенки цистида

FMRFамидположительная нервная система стенки тела полипида (интроверта) пресноводных мшанок представлена нервным сплетением, содержащем 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 (Рис. 37). Количество, форма и расположение FMRFамидиммунореактивных мультиполярных нервных клеток и нервных отростков соответствуют таковым, выявленным при помощи окраски антителами к α -тубулину (Рис. 37). Это свидетельствует в пользу того, что это нервное сплетение представлено в основном FMRFамидергическими элементами.

Необходимо отметить, что иннервация стенки тела осуществляется как за счет FMRFамидергических нервных отростков, входящих в состав описанных выше базальных нервов церебрального ганглия (Рис. 10), так и за счет отростков базальных радиальных нервов лофофора, по всей видимости, имеющих иную эргидность.

Впервые было показано, что у мшанок с подковообразным лофофором иннервация вестибулюма (являющегося участком стенки цистида) отличается от характера иннервации интроверта. На границе этих двух зон выявляется наибольшее количество мультиполярных нервных клеток (Рис. 38). Стенка интроверта указанных видов мшанок иннервировано более интенсивно, здесь располагается большое количество мультиполярных нервных клеток (Рис. 39). Причем, у *P. repens* количество этих нейронов оказывается значительно больше, чем у *C. tucedo* (Рис. 38, 39).

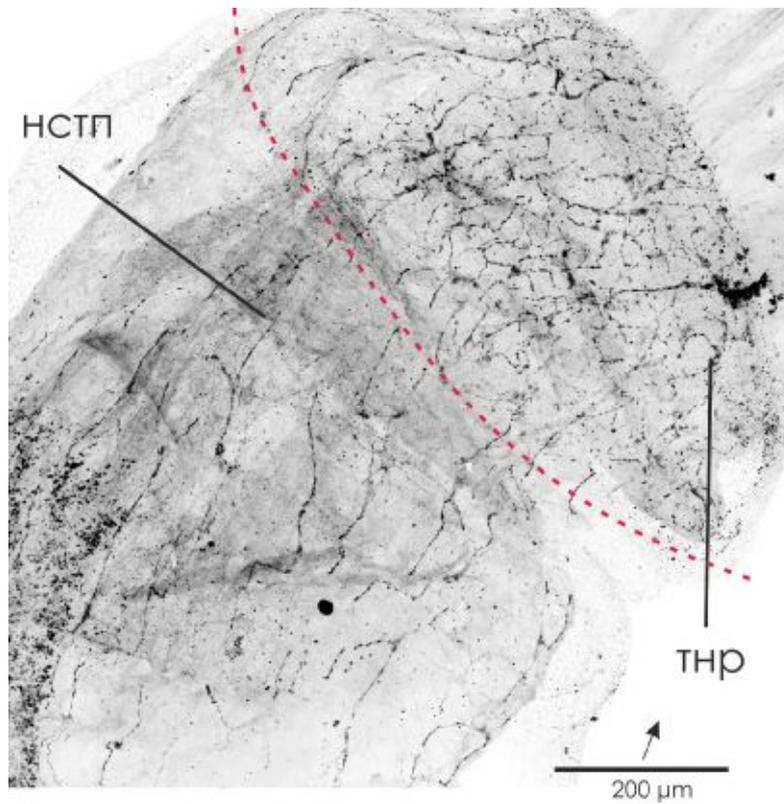


Рисунок 38. Иннервация интроверта и стенки тела полипида *P. repens*. Граница интроверта и стенки тела полипида показана пунктиром.

Обозначения: *нсп* – нервное сплетение стенки тела полипида, *тнр* – тела нейронов.

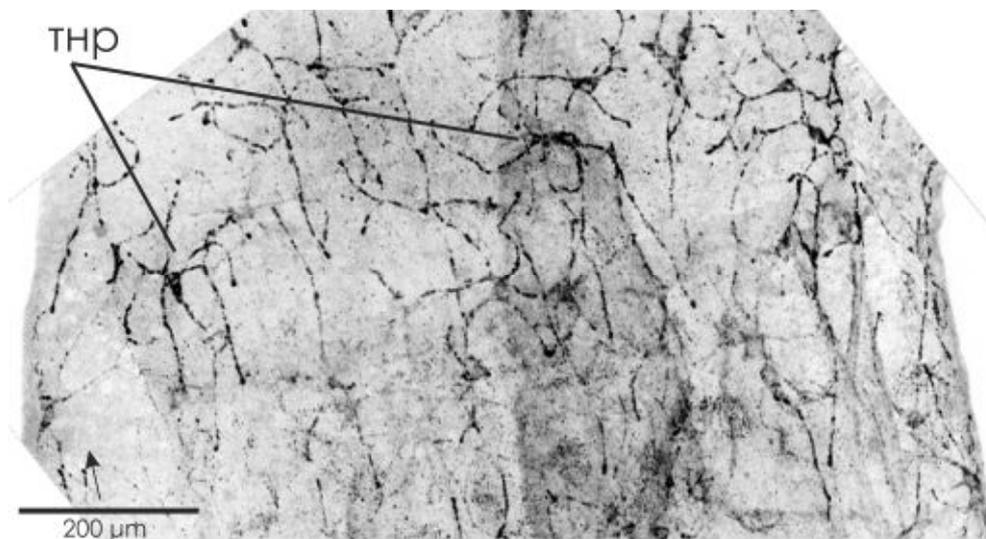


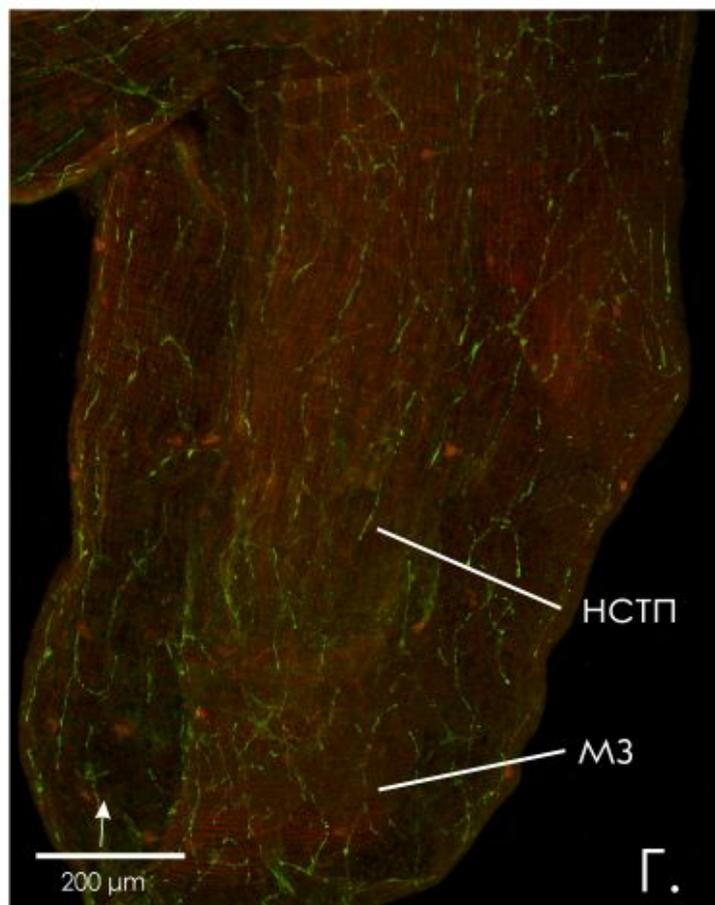
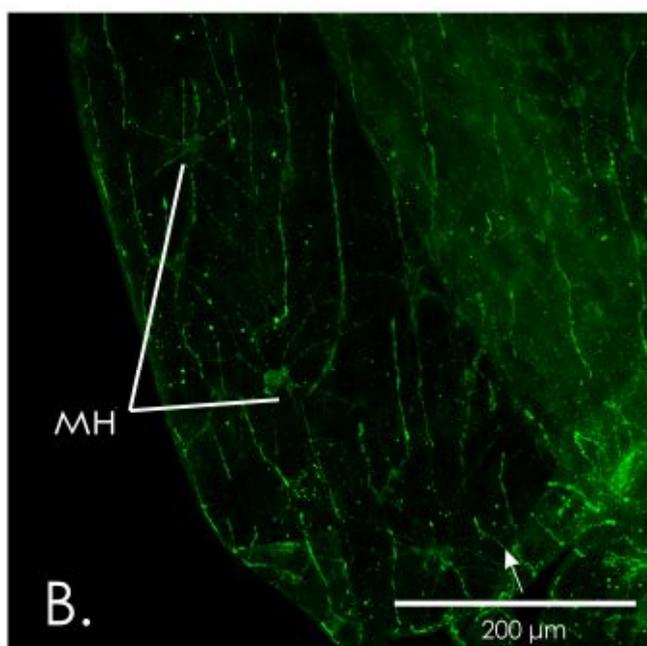
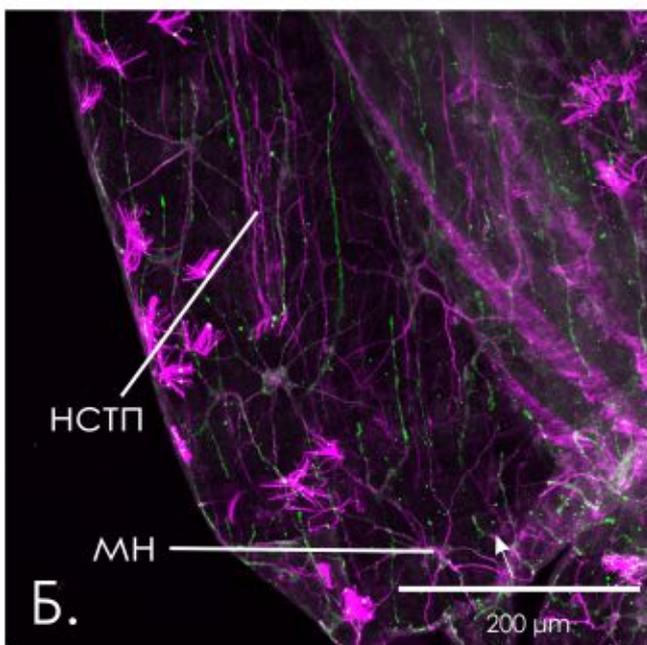
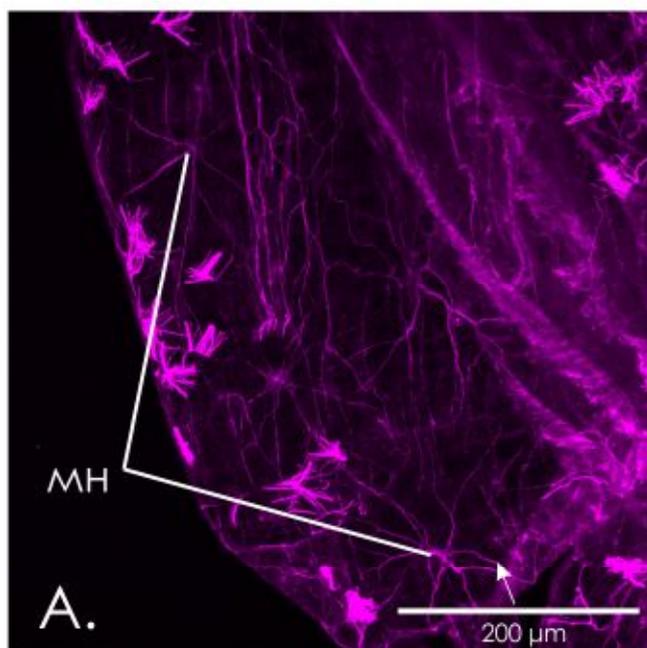
Рисунок 39. Мультиполярные нейроны интроверта *P. repens*.

Обозначения: *тнр* – тела нейронов.

Рисунок 37. FMRФамидположительная иннервация стенки тела *P. repens*. Зеленым окрашены FMRФамид-иммунореактивные элементы нервной системы, фиолетовым – части нервной системы, окрашенные антителами к ацетилированному α -тубулину, красным – мускулатура зооида.

(А) Мультipoлярные нейроны стенки тела, окрашенные антителами к ацетилированному α -тубулину, (Б) ацетилированному α -тубулину и FMRФамиду и (В) FMRФамиду.

(Г) Иннервация участка стенки тела полипида *P. repens*. Обозначения: *мн* - мультipoлярный нейрон, *нстп* - нервное сплетение стенки тела, *мз* - мускулатура зооида.



У *F. sultana* различий в иннервации интроверта и вестибулюма обнаружено не было. Нервная система интроверта, как и стенки цистида, представлена неупорядоченной сетью тонких нервных волокон. Более крупные волокна залегают вдоль апико-базальной оси зооида, более тонкие волокна расходятся в поперечном направлении. Необходимо отметить, что сеть FMRFамидположительных нейронов в стенке тела полипида *F. sultana* более развита, чем таковая в стенке тела мшанок с подковообразным лофофором. Тела нейронов обнаружены не были (Рис. 40).

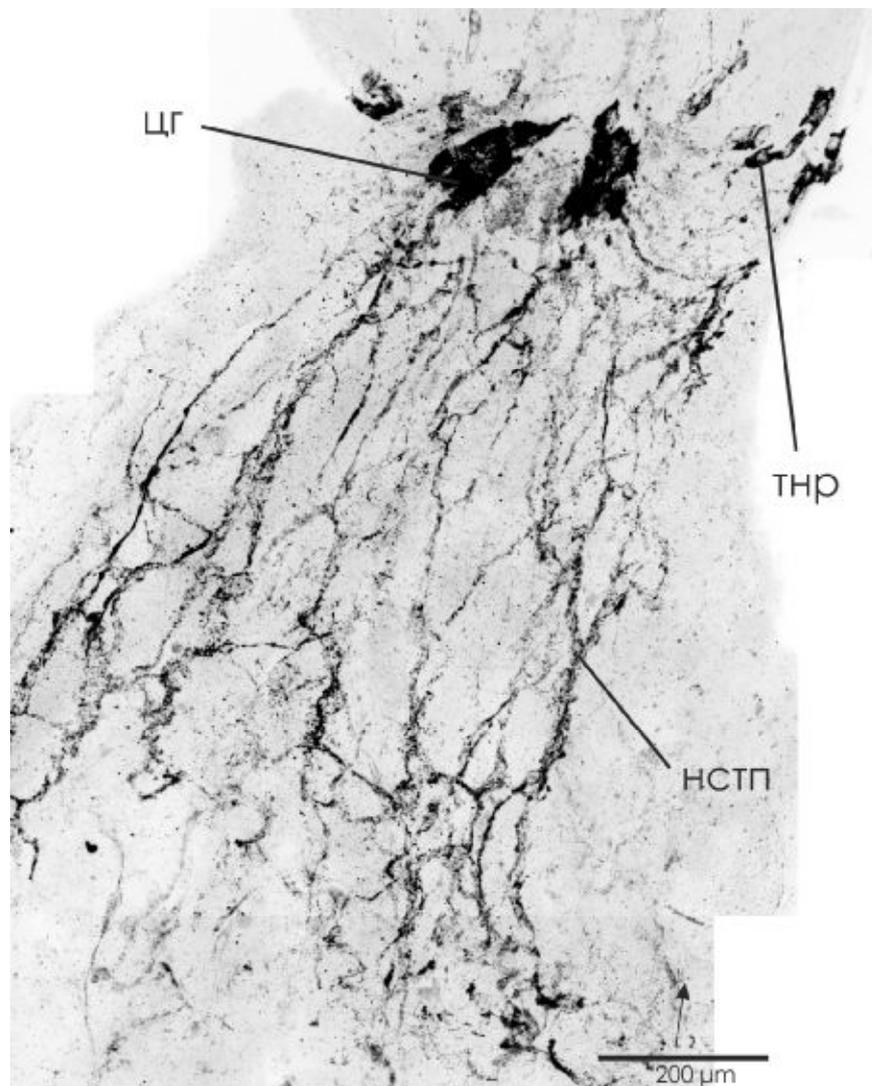


Рисунок 40. Иннервация интроверта и стенки тела полипида *F. sultana*.

Обозначения: *нст* – нервное сплетение стенки тела полипида, *тнр* – тела нейронов, *цг* – церебральный ганглий.

Иной характер имеет нервное сплетение стенки цистида. Оно представлено меньшим количеством FMRФамидположительных нервных элементов, чем нервное сплетение интроверта. Как и в стенке тела полипида, FMRФамидергические нервные волокна направлены вдоль апико-базальной оси зооида. Иннервация цистида у плюмателлидных колоний *P. repens* и *F. sultana* и лофоподидных колоний *C. mucedo* отличается.

У первых она сходна с иннервацией стенки интроверта, и представлена отростками нервов, ориентированными параллельно апико-базальной оси зооида. Поперечных перемычек и тел нервных клеток между нервами обнаружить не удастся (Рис. 41).

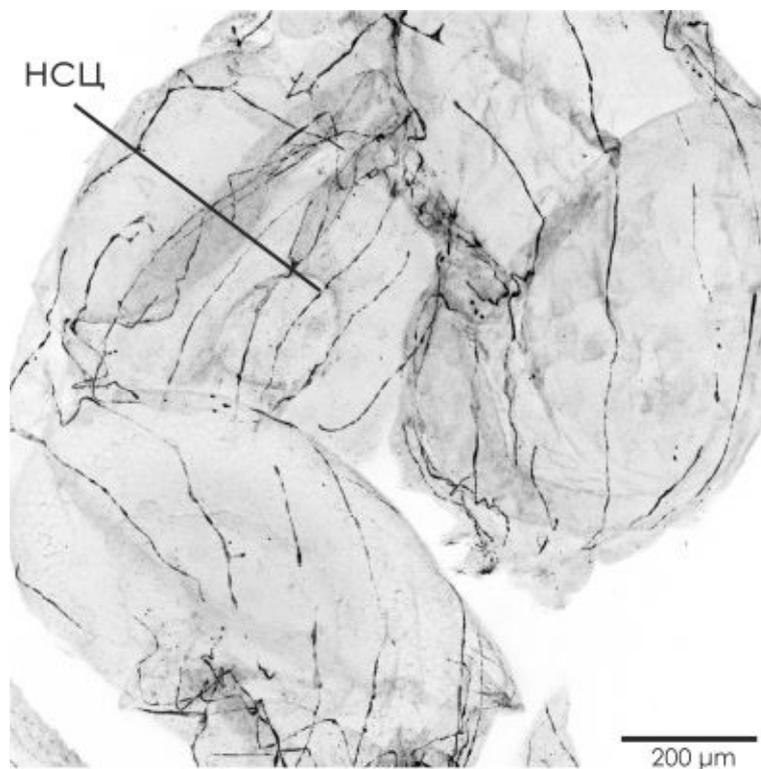


Рисунок 41. FMRФамидположительные нервные элементы стенки цистида *P. repens*.

Обозначения: *нсц* – нервное сплетение стенки цистида.

У лофоподидной колонии *C. mucedo* слившиеся стенки цистидов соседних зооидов образуют (1) фронтальную поверхность колонии (стенки цистидов, расположенные между отверстиями зооидов и в свободной от них

центральной часть колонии), и (2) базальную поверхность колонии, преобразовавшуюся в орган передвижения – подошву.

Иннервация фронтальной стенки цистида кристателлы значительно отличается от иннервации цистида плюмателлидных колоний. Она представлена мелкоячеистой нервной сетью, не содержащей тел нейронов (Рис. 42).

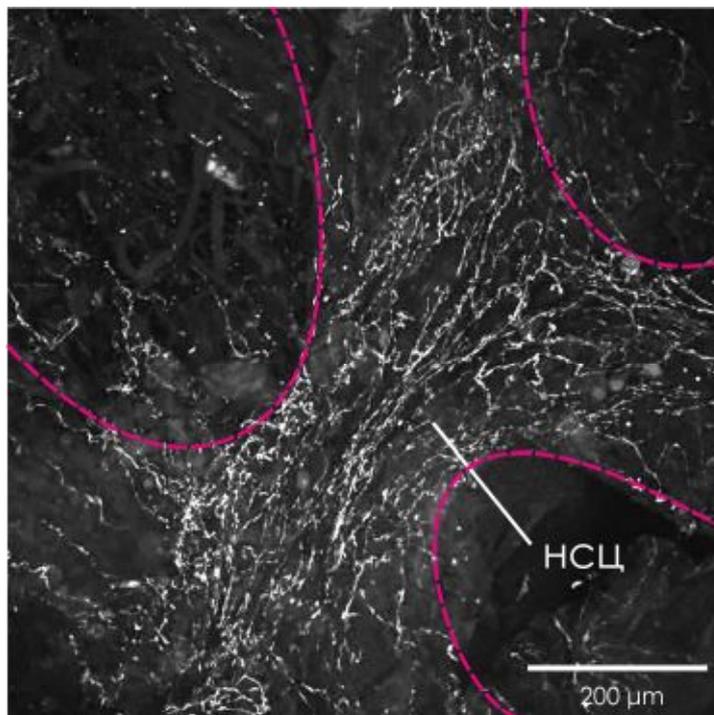


Рисунок 42. Нервное сплетение цистида *C. mucedo*. Пунктиром показаны отогнутые в сторону полипиды.

Обозначения: *нсц* – нервное сплетение стенки цистида.

Подошва колоний кристателлы иннервирована сетью FMRFамидергических отростков. В составе этой сети удается выявить как однотипные биполярные нервные клетки, так и незначительное количество мультиполярных нервных клеток, расположенных на границе периферического валика. Продольный слой мускулатуры (внешний) иннервирован меньшим количеством отростков, чем поперечный (внутренний). Совмещение с окраской антителами к ацетилированному α -

тубулину позволяет сказать, что основная часть нервной системы подошвы *C. mucedo* имеет FMRФамидергическую природу (Рис. 43).

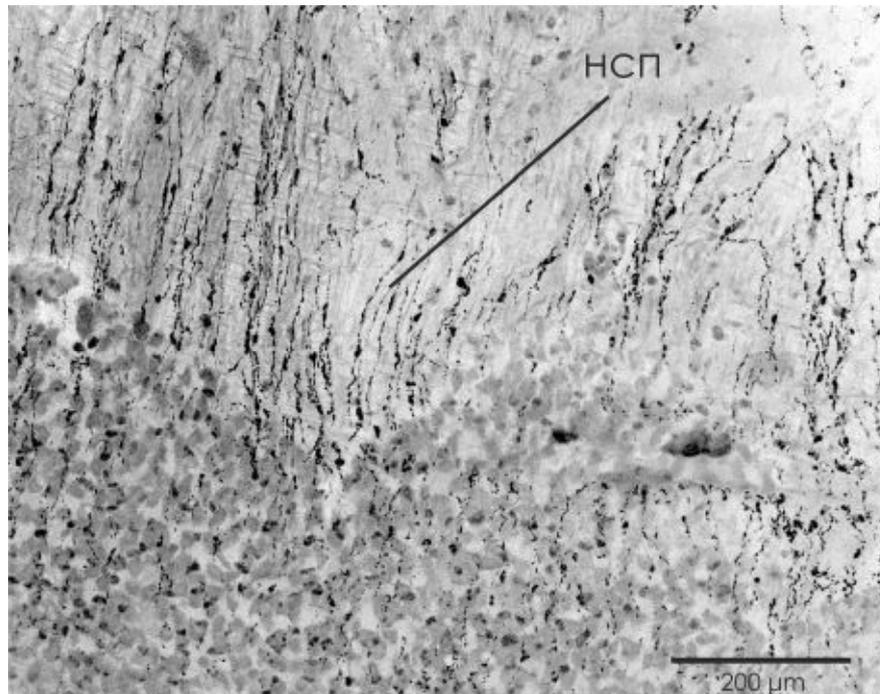


Рисунок 43. FMRФамидергическое нервное сплетение подошвы *C. mucedo*.

Обозначения: *nsp* – нервное сплетение подошвы.

6.4 FMRФамидергические элементы нервной системы кишечника зооидов

FMRФамидположительные волокна также были обнаружены в составе стенки кишечника исследованных видов. Эти волокна являются отростками тонких базальных нервных трактов церебрального ганглия (Рис. 10). Пучки FMRФамидергических 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 (Рис. 44).

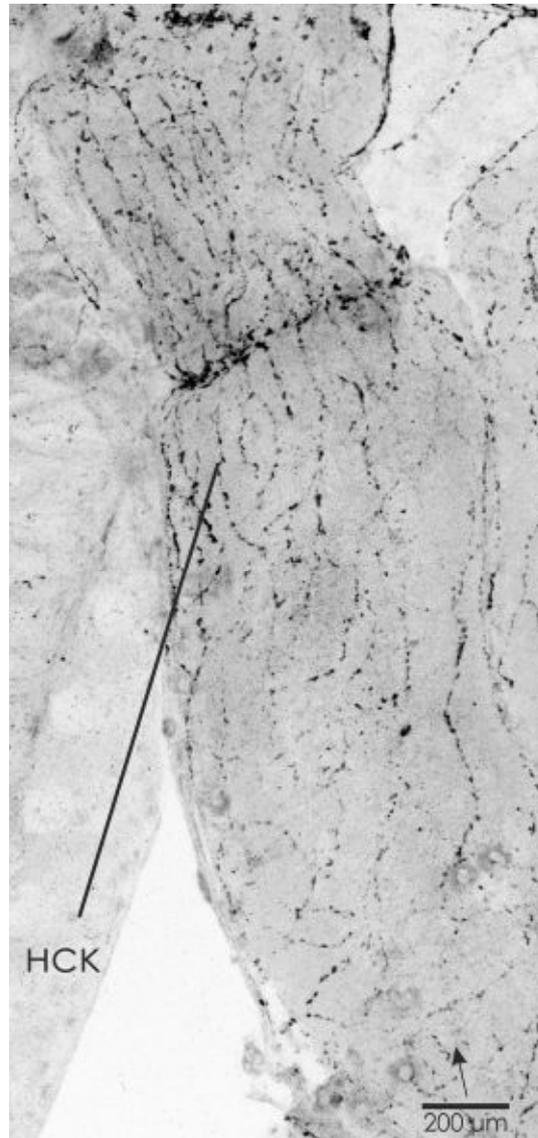


Рисунок 44. Нервное сплетение FMRFаминергических волокон стенки кишечника *C. mucedo*.

Обозначения: *нск* – нервное сплетение кишечника.

Глава 7. Катехоламинергические элементы нервной системы *C. 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 катехоламинергических нервных отростков, расположенным 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 и входят в состав рогов лофофора и перорального нервного кольца соответственно (Рис. 45). Тел нейронов в данном отделе нервной систем обнаружить не удастся.

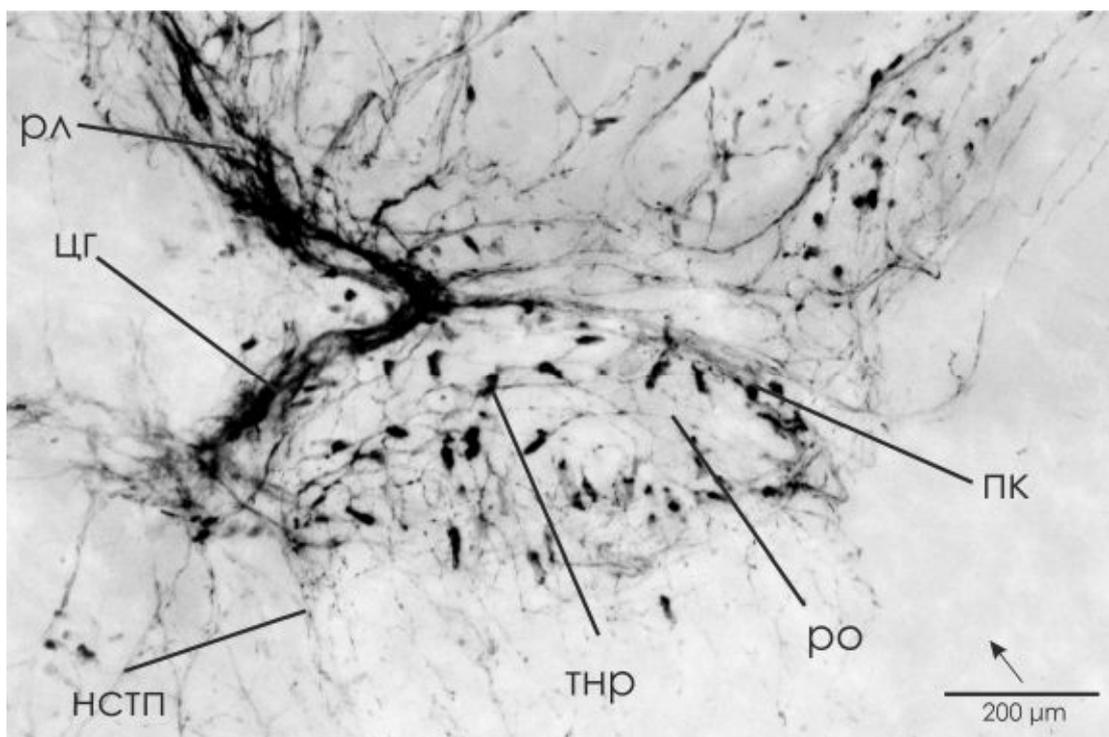


Рисунок 45. Катехоламинергические элементы в ЦНС *C. mucedo*.

Обозначения: *нстп* – нервное сплетение стенки тела полипида, *пк* – пероральное нервное кольцо, *рл* – рога лофофора, *ро* – ротовое отверстие, *тнр* – тела нейронов, *цг* – церебральный ганглий.

Катехоламинергическая иннервация лофофора представлена регулярно расположенными в щупальцах первичночувствующими клетками и их отростками. По всей длине каждого щупальца располагается несколько десятков первичночувствующих интраэпителиальных рецепторных клеток. Они располагаются на латеральной и латеро-фронтальной сторонах щупальца. Их периферические отростки оканчиваются у поверхности щупальца, не ветвясь. Аксоноподобные отростки этих клеток в составе абфронтально-латеральных, абфронтального и фронтального нервов щупалец и далее по радиальным нервам проходят в пероральное кольцо или в рога лофофора и уходят в нейропил cerebralного ганглия (Рис. 46).

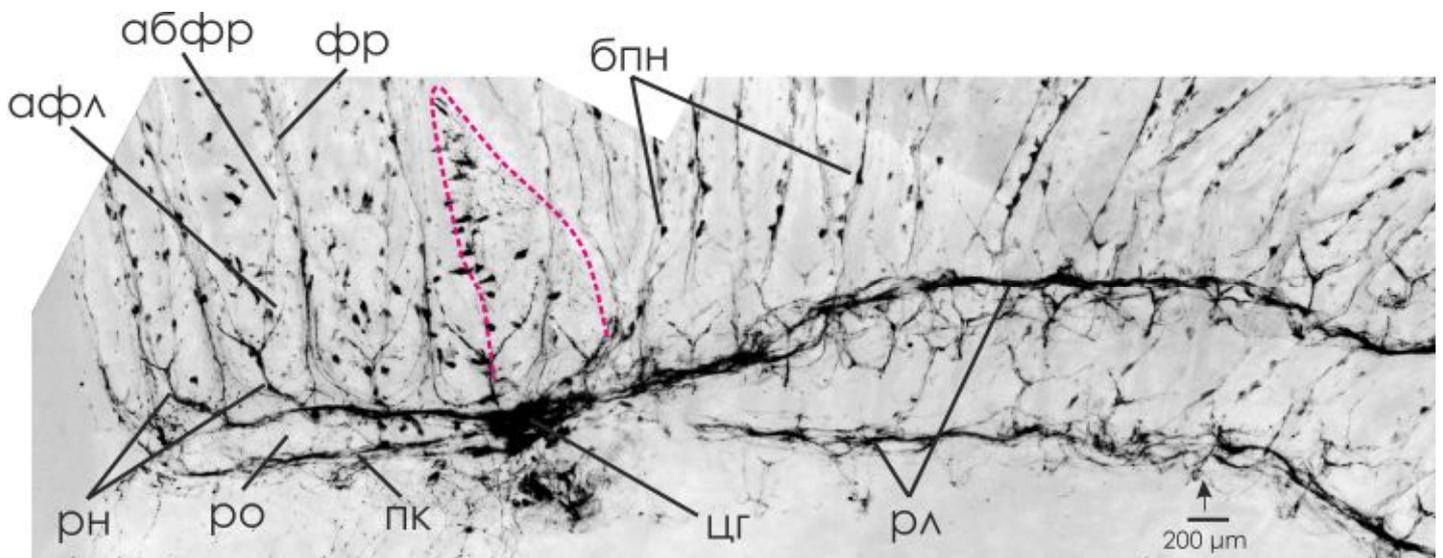


Рисунок 46. Катехоламинергическая нервная система лофофора *C. mucedo*. Пунктиром показаны границы эпистома.

Обозначения: *абфр* – абфронтальный нерв, *афл* – абфронтально-латеральный нерв, *бпн* – биполярные нейроны, *пк* – пероральное нервное кольцо, *рл* – рога лофофора, *рн* – основные радиальные нервы, *ро* – ротовое отверстие, *фр* – фронтальный нерв, *цг* – церебральный ганглий.

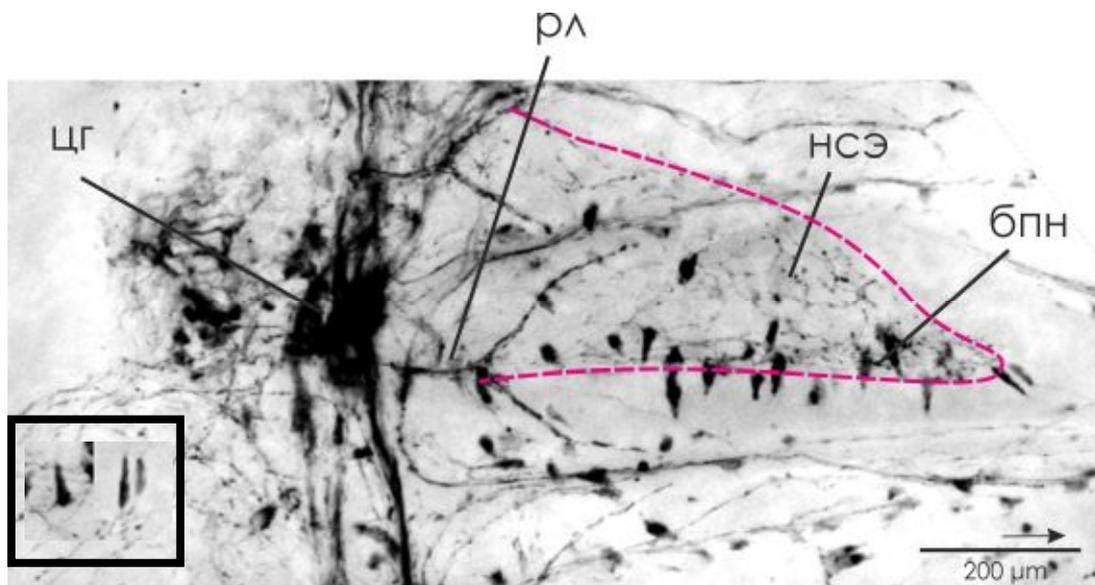


Рисунок 47. Рецепторные клетки в эпистоме *C. musedo*. Пунктиром показаны границы эпистома, обращенного оральной стороной вниз. На врезке показаны два типа нейронов (А) – клетка с малоразвитой ядродержащей частью и коротким периферическим отростком и (Б) – биполярная первичночувствующая клетка.

Обозначения: бпн – биполярные нейроны, нсэ – нервная сеть эпистома, рл – рога лофофора, цг – церебральный ганглий.

В эпистоме обнаружено около трех десятков катехоламинергических рецепторных клеток, которые располагаются только на его оральной стороне. С анальной стороны эпистома удается выявить диффузное сплетение нервных волокон (Рис. 47). В составе эпистома встречаются как биполярные первичночувствующие клетки, так и клетки, имеющие короткий плохо выраженный периферический отросток и малоразвитую ядродержащую часть, напоминая по своей морфологии окружающие эпителиальные клетки (Рис. 47, врезка).

По ходу перорального нервного кольца также выявляются отдельные катехоламинергические клетки (Рис. 45). По всей видимости, они расположены по самому краю ротового отверстия. Распределение их отростков проследить не удастся. В стенке кишечника отростки мультиполярных катехоламинергических клеток образуют диффузное сплетение из тонких волокон, которое прослеживается вплоть до самого изгиба кишечника (Рис. 47).

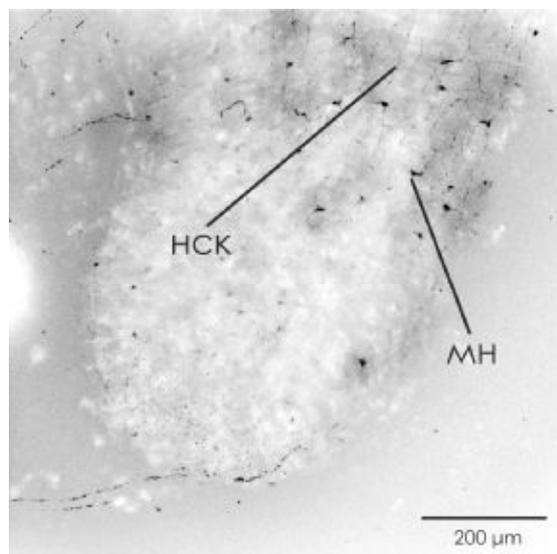
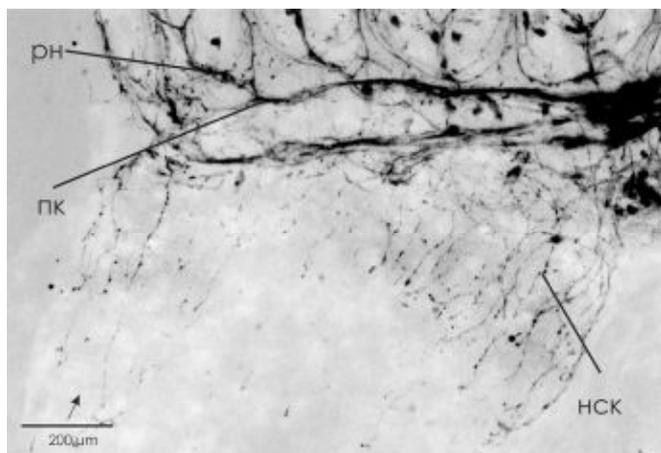


Рисунок 48. Катехоламинергическая нервная сеть *C. mucedo*.

Обозначения: *мн* – мультиполярные нейроны, *нск* – нервное сплетение кишечника, *пк* – пероральное кольцо, *рн* – основные радиальные нервы.

Глава 8. Ультраструктурное строение щупалец *C. mucedo*

Дополнительно было проведено исследование ультраструктуры щупалец *Cristatella mucedo*. На поверхности щупальца находится три ряда ресничек: фронтальный и два латеро-фронтальных. Эти реснички участвуют в создании нисходящих токов воды, направляющих пищевые частицы внутрь рук лофофора и затем к ротовому отверстию. На поперечном срезе щупальца имеет форму полого цилиндра диаметром около 25 мкм (Рис. 49). Стенка щупальца представлена однослойным покровным эпителием, под которым находится базальная пластинка толщиной 3 мкм, ограничивающая центральную целомическую полость с перитонеальной выстилкой (полость мезоцеля). Перитонеальные клетки имеют длинные отростки с мышечными волокнами, образующие мускульные ленты, залегающие вдоль фронтальной и абфронтальной стенок целома. Цитоны клеток располагаются латерально, их толщина не превышает 2 мкм. В них обычно заметно ядро овальной формы, занимающее большую часть площади среза цитона, митохондрии и аппарат Гольджи. Отростки клеток с мышечными элементами тонкие, толщина около 0,5-0,7 мкм. Иногда внутри них также можно встретить митохондрии.

В базальной пластинке удается различить коллагеновые волокна. Их толщина около 0,3 мкм.

Эпителий щупальца образован несколькими типами клеток: эпителиально-опорными, секреторными и рецепторными. Поверхность клеток характеризуется короткими микровилли. Всю совокупность клеток эпителия можно разделить на 4 зоны: фронтальную, абфронтальную и две латеральных. Количество разных типов клеток и их типы несколько варьируют в пределах этих зон.

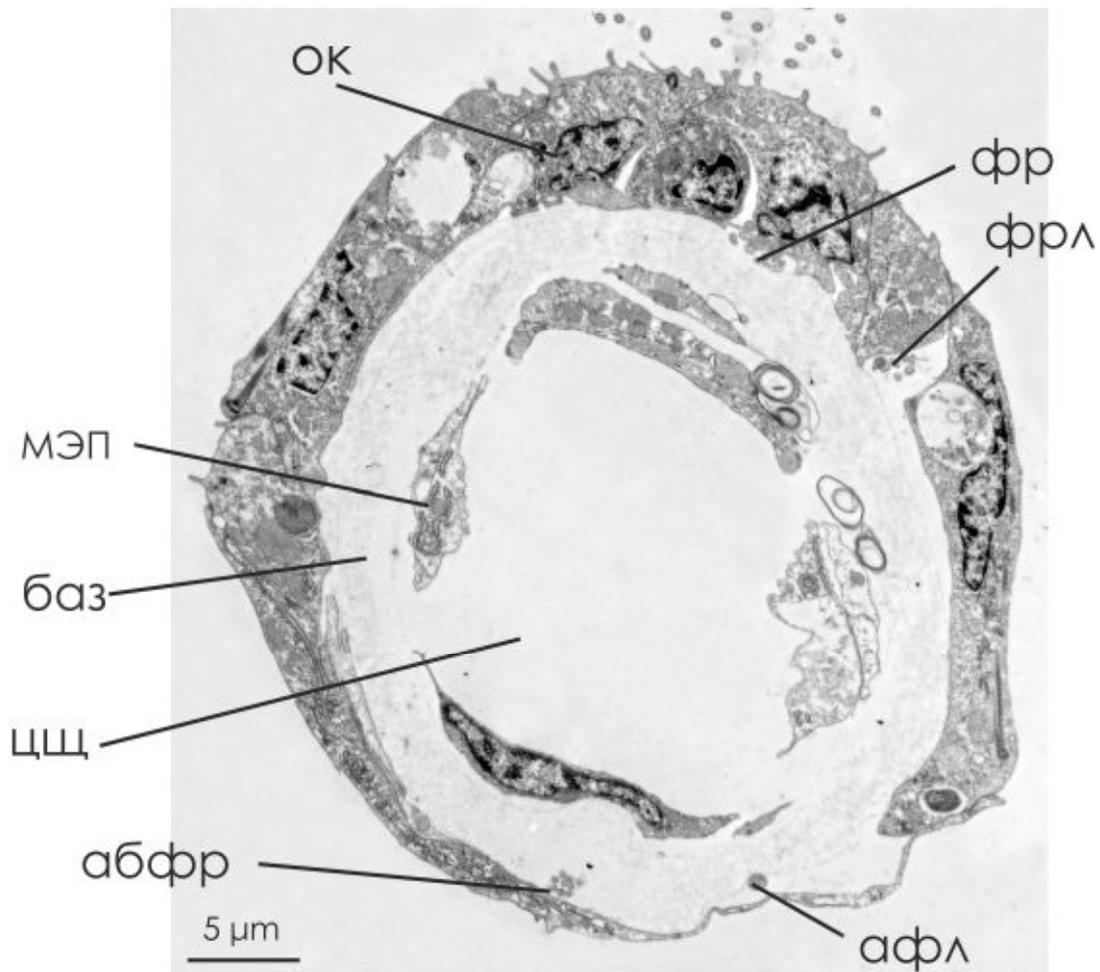


Рисунок 49. Электронограмма поперечного среза щупальца *C. tuxedo*.

Обозначения: *афл* – абфронтально-латеральный нерв щупальца, *абфрр* – абфронтальный нерв щупальца, *баз* – базальная пластинка, *мэп* – миоэпителиальная клетка, *ок* – опорно-эпителиальная клетка, *фрр* – фронтальный нерв, *фрл* – фронтально-латеральный нерв, *цщ* – целом щупальца.

Фронтальная зона образована тремя рядами мультицилиарных кубических ОК высотой 2,5 мкм (Рис. 50). Длина цилий около 15 мкм. Цилии этих клеток образуют фронтальный ресничный тракт щупалец. Они имеют хорошо развитую корешковую систему: от кинетосомы каждой реснички перпендикулярно поверхности клетки отходит по одному длинному поперечноисчерченному корешку, проходящему внутрь вплоть до мембраны ядра. Ядро крупное, овальной формы, располагается ближе к базальной части клетки. В апикальной части клетки можно обнаружить множество митохондрий (число их на одном срезе колеблется от 5 до 10 штук),

присутствие которых свидетельствует о высокой метаболической активности этой зоны опорно-эпителиальных клеток.

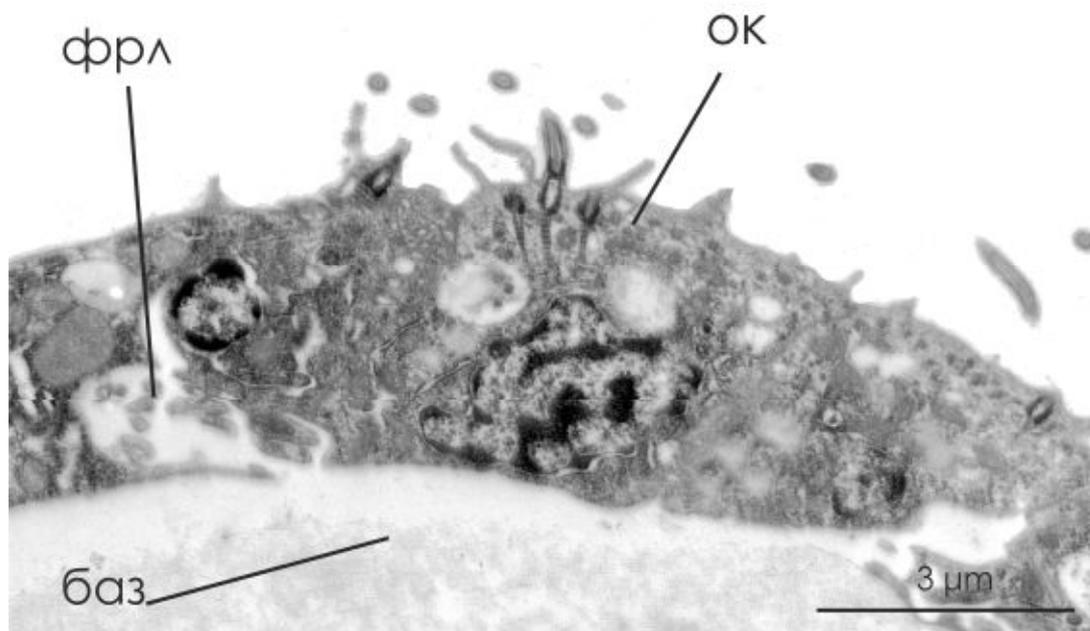


Рисунок 50. Опорно-эпителиальная клетка фронтальной зоны щупальца *C. mucedo*.

Обозначения: *баз* – базальная пластинка, *ок* – опорно-эпителиальная клетка, *фрл* – фронто-латеральный нерв.

По бокам от фронтальной зоны расположены латеральные зоны. В их состав входят мультицилиарные эпителиально-опорные клетки (по одной) двух типов и рецепторные клетки. Корешковый аппарат цилий опорно-эпителиальных клеток, расположенных фронтолатерально, представлен одним-двумя корешками, уходящими в цитоплазму клетки и касающимися поверхности ядра. Реснички клеток, расположенных фронтолатерально, имеют дополнительные длинные горизонтальные корешки, направленные фронтально вдоль поверхности щупалец. Оба типа клеток входят в состав латерального ресничного тракта щупальца. Состав органелл этих клеток напоминает состав ОК фронтальной зоны, однако форма клеток несколько иная – они более уплощены и вытянуты вдоль окружности щупальца (Рис. 49).

Среди латеральных эпителиально-опорных ресничных клеток присутствуют отдельные рецепторные клетки (Рис. 51). Их, прежде всего, характеризует наличие нескольких крупных базальных отростков, содержащих характерные для нервных клеток микротрубочки. Отростки РК образуют базиэпителиальное нервное сплетение и входят в область соответствующих нервов щупалец (на многих срезах наблюдаются отростки, перерезанные в разных плоскостях) (Рис. 51). РК также как и ОК эпителия несут микровилли и цилии. Их корешковая система принципиально не отличается от опорных клеток; ядра имеют более округлую форму.

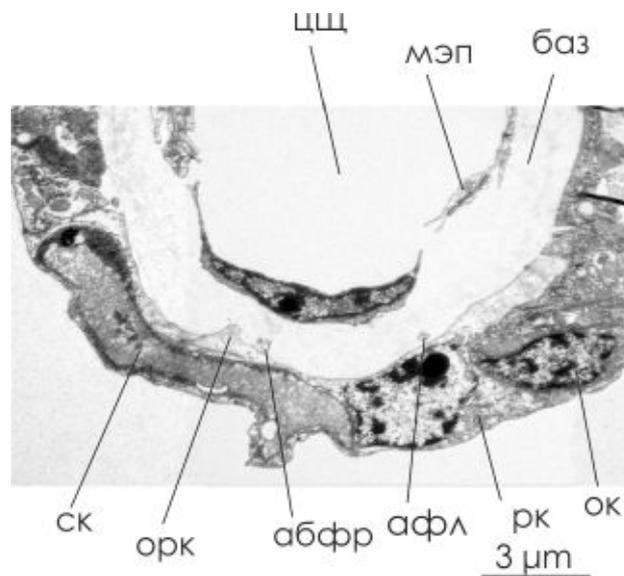


Рисунок 51. Рецепторная клетка и ее отросток в щупальце *C. mucedo*.

Обозначения: *абфр* – абфронтальный нерв щупальца, *афл* – абфронтально-латеральный нерв щупальца, *баз* – базальная пластинка, *мэп* – миоэпителиальная клетка, *ок* – опорно-эпителиальная клетка, *орк* – отросток рецепторной клетки, *рк* – рецепторная клетка, *ск* – секреторная клетка, *цщ* – целом щупальца.

За счет присутствия нервного сплетения только небольшая часть эпителиальных клеток латеральной зоны примыкает непосредственно к базальной пластинке, поэтому расположение опорно-эпителиальных и рецепторных клеток приобретает вид черепицы: часто у опорно-эпителиальных лишь небольшая часть базальной поверхности контактирует с базальной пластинкой, тогда как у рецепторных клеток площадь такого

контакта значительно больше (Рис. 49, 53). Рецепторные клетки встречаются также на границе между латеральными и абфронтальной зонами щупальца.

Абфронтальная зона уже, чем прочие участки среза щупальца: высота эпителия в ней обычно составляет 0,5 мкм (Рис. 49). Она состоит из опроно-эпителиальных, а также базальных отростков рецепторных клеток. В латеральных и абфронтальной зонах щупальца также встречаются секреторные клетки, содержащие крупные гранулы с гомогенным секретом (Рис. 52).

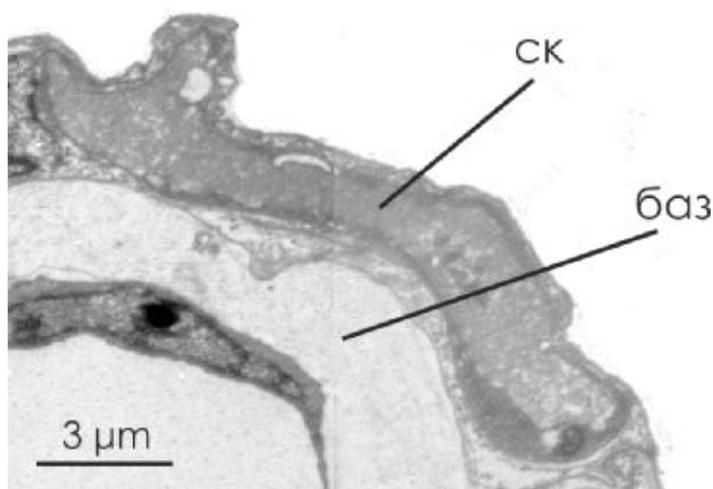


Рисунок 52. Секреторная клетка абфронтальной зоны щупальца *C. mucedo*.

Обозначения: *баз* – базальная пластинка, *СК* – секреторная клетка.

В каждом щупальце выявлено шесть нервов (Рис. 53). Четыре из них – фронтальный, пара фронто-латеральных и абфронтальный проходят по всей длине щупальца. Два других нерва (абфронтально-латеральные) формируются в средней части щупальца, а в его нижней половине входят в состав абфронтального нерва.

По своему происхождению фронтальный и фронто-латеральные нервы щупальца являются продолжением ветвей проксимального ветвления основного радиального нерва, абфронтальный и абфронтально-латеральные нервы сформированы за счет ветвей дистального ветвления основного радиального нерва (Рис. 18).

Два фронто-латеральных нерва лежат между основаниями опорно-эпителиальных клеток и состоят из 8-10 аксонов. Фронтальный и абфронто-латеральные нервы располагаются базально, под клетками эпителия. В их состав входят 11-13 и 1-3 аксона соответственно. Абфронтальный нерв, включающий в основании щупалец порядка 14 нервных отростков, лежит глубже, в толще базальной пластинки (Рис. 49, 51, 53).

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.

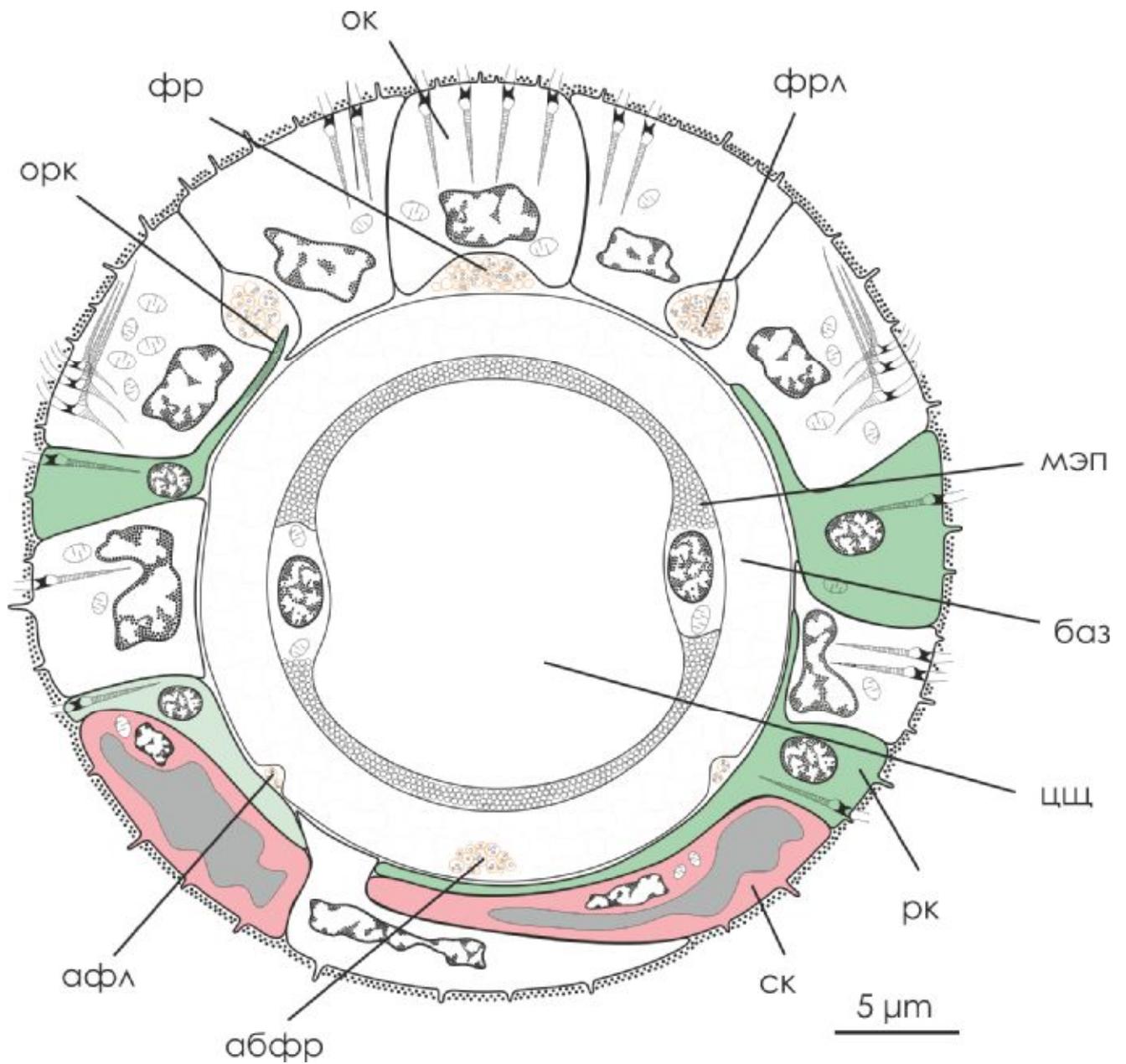


Рисунок 53. Схематическое изображение ультраструктуры поперечного среза щупальца *C. mucedo*.

Обозначения: *абфр* – абфронтальный нерв щупальца, *афл* – абфронтально-латеральный нерв щупальца, *баз* – базальная мембрана, *мЭП* – миоэпителиальная клетка, *ок* – опорно-эпителиальная клетка, *орк* – отросток рецепторной клетки, *рк* – рецепторная клетка, *ск* – секреторная клетка, *фр* – фронтальный нерв, *фрл* – фронтально-латеральный нерв, *цщ* – целом щупальца.

Глава 9. Обсуждение результатов

Сравнительный анализ полученных результатов

Полученные нами данные показали, что нервная система изученных видов филактолемат имеет единый план строения. В частности, центральная нервная система пресноводных мшанок, как и морских видов, представлена церебральным ганглием, расположенным на задней стенке глотки. Однако в отличие от представителей классов *Gymnolaemata* и *Stenolaemata*, у *Phylactolaemata* от церебрального ганглия отходит не одна, а две пары крупных нервных стволов – это рога лофофора и нервы перорального кольца, что связано с отличиями в общей морфологии лофофора. Ниже приводится сравнительная характеристика исследованных элементов нервной системы филактолемат. Для удобства изложения мы последовательно сравниваем особенности строения церебрального ганглия, а также иннервацию лофофора и стенки зооида (полипида и цистида) у трех исследованных видов, одновременно сравнивая наши результаты с имеющимися в литературе по морским и пресноводным мшанкам. В конце каждого раздела мы также обсуждаем опубликованные данные о строении нервной системы у представителей других групп лофофорат. Такая последовательность изложения позволяет избежать многочисленных повторов, неизбежных в том случае, если бы все части сравнительного анализа были бы описаны порознь.

Церебральный ганглий

Церебральный ганглий пресноводных мшанок как и у других беспозвоночных, состоит из области клеточных тел и нейропиля. Однако ганглий пресноводных мшанок отличается уникальной особенностью – в нейропиле располагается полость. По ультраструктурным данным, эта щелевидная полость имеет небольшие размеры (Gruhl, Bartolomaeus, 2008). Однако по нашим иммуногистохимическим и известным из литературы гистологическим данным, она, напротив, довольно обширная (Braem, 1890,

1912; Gerwerzhagen, 1913; Graupner 1930; Marcus, 1934; Brien, 1960). Дорзально по отношению к ней располагается основная часть нейропиля, участки которой окрашиваются антителами к α -тубулину, серотонину и FMRFамиду. Вентрально, согласно литературным данным, находится лишь небольшая часть нейропиля, представляющая собой тонкую стенку ганглия, прилегающую к стенке глотки (Brien, 1960). Снаружи от основной части нейропиля располагается область клеточных тел. Таким образом, и основная часть нейропиля, и область клеточных тел оказываются сильно смещены на дорсальную сторону ганглия, что нехарактерно для большинства беспозвоночных (Bullock, Horridge, 1965). Это объясняется тем, что церебральный ганглий располагается в месте пересечения главных нервных стволов лофофора – тела нейронов и основная часть нейропиля располагаются в той части ганглия, к которой не подходят нервные стволы лофофора (Рис. 10).

У морских мшанок ранее было описано три основных зоны церебрального ганглия: центральный клеточный комплекс (зона клеточных тел), дистальный край ЦГ (от которого начинается пероральное нервное кольцо) и проксимальная группа клеток (располагается в месте отхождения нервов влагалища полипида) (Lutaud, 1977). Однако, за счет отсутствия полости внутри нейропиля, расположение этих зон отличается от такового у пресноводных мшанок.

В данном исследовании впервые удалось показать наличие и распределение серотонин- и FMRFамидергических 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. FMRFамидергические элементы церебрального ганглия представлены скоплением тел клеток, локализованных в области клеточных тел и в нейропиле, также локализованном в дорсальной части ганглия.

Несмотря на то, что и у пресноводных, и морских мшанок церебральный ганглий всего один, результаты исследования распределения некоторых нейромедиаторов (серотонина и FMRFамида) позволяют говорить о четкой тенденции, проявляющейся в формировании в ганглиях филактолемат двух симметричных зон, соединенных комиссуральной областью. Эта тенденция хорошо прослеживается как при выявлении серотонинергических, так и FMRFамидергических элементов. Согласно нашим данным у *Cristatella mucedo* и *Plumatella repens* серотонинположительные волокна в левой и правой половине ганглия располагаются симметрично, образуя две одинаковые зоны. Между ними формируется комиссуральная область, соединяющая обе половины между собой в центральной части ганглия. От симметричных долей нейропиля отходят парные тракты рогов лофофора и нервов перорального нервного кольца (Рис. 54).

Наличие комиссуральной области в ганглии, особенно хорошо развитой у мшанок с подковообразным лофофором, свидетельствует о морфологической основе синхронизации информации, приходящей из левой и правой рук лофофора. Это косвенно подтверждается разнообразными формами поведения лофофоров, включающими согласованные движения обеими руками (Антипенко, 1999). У *Fredericella sultana* гистологическая дифференцировка ганглия на левую и правую половины выражена меньше. Серотонинергические элементы ганглия расположены равномерно в основном нейропиле, а тела FMRFамидергических нейронов расположены в виде двух симметричных зон. Это позволяет предположить, что FMRFамид играет более существенную роль в регуляции поведения лофофора, чем серотонин.

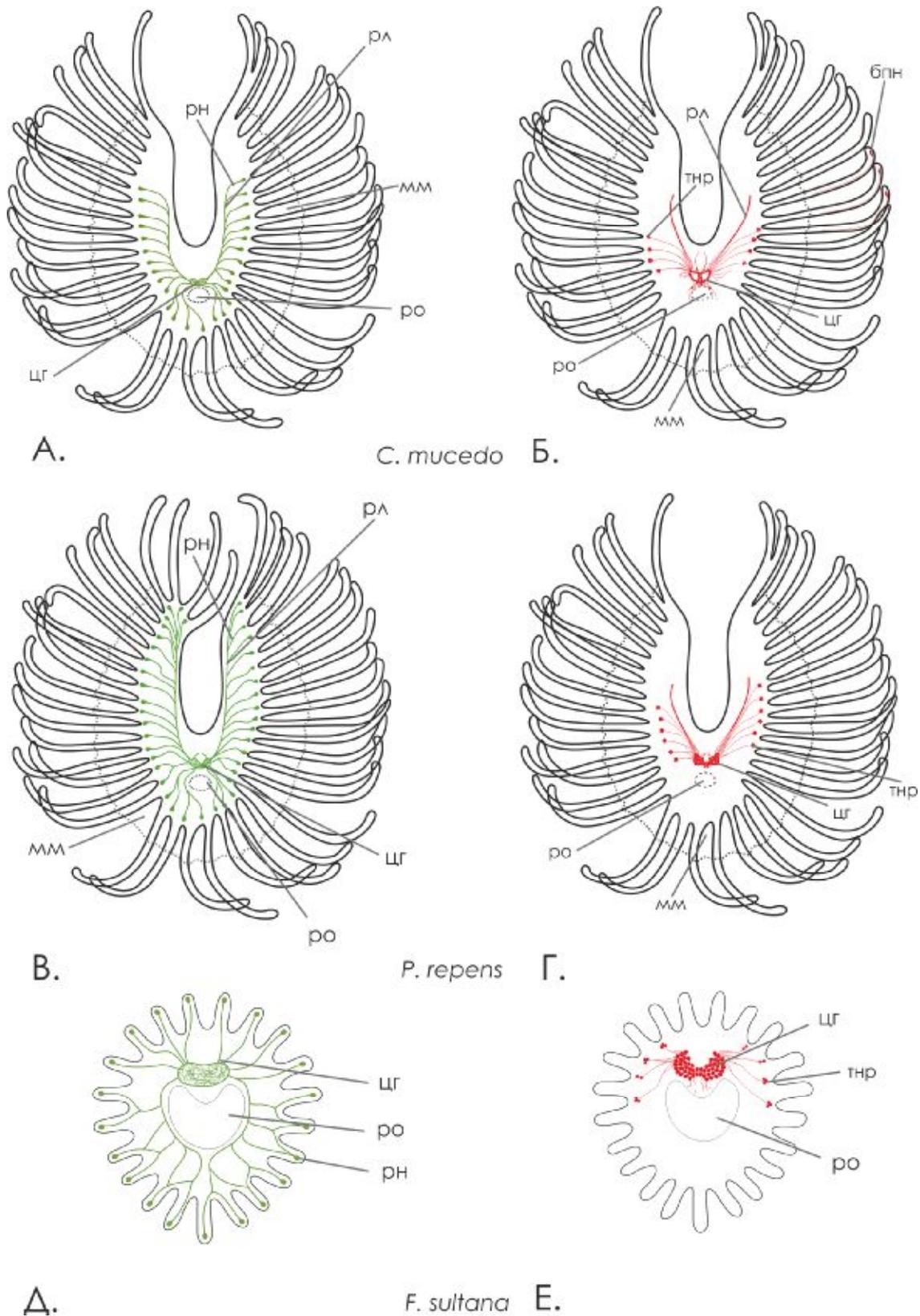


Рисунок 54. Схема локализации серотонин- (А, В, Д) и FMRFамидергических (Б, Г, Е) элементов нервной системы у *C. mucedo* (А, Б), *P. repens* (В, Г) и *F. sultana* (Д, Е).

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

Расположенное в церебральном ганглии скопление тел FMRFамидергических 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 них оказываются видоспецифическими. У *C. mucedo* тела FMRFамидергических нейронов локализованы в церебральном ганглии таким образом, что они формируют в области клеточных тел структуру, напоминающую соединенные полукольца. В отличие от кристателлы, у двух остальных видов тела нейронов расположены равномерно в базальной части ганглии. На наш взгляд, симметричная локализация тел клеток в определенных зонах церебрального ганглии говорит о более продвинутом устройстве FMRFамидергической части ганглии кристателлы по сравнению с остальными изученными видами (Шунькина и др., 2013).

К сожалению, полное отсутствие литературных данных о распределении нейромедиаторов в церебральном ганглии морских мшанок не позволяет провести сравнение между этими группами. Расположение церебрального ганглии у морских и пресноводных представителей оказывается сходным. Наличие полости внутри нейропиля у морских мшанок ставится под сомнение (Mukai et al., 1997), однако необходимо проведение дополнительных исследований по данному вопросу. У форонид, в отличие от пресноводных мшанок, распределение FMRFамид- 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 FMRFамидергические тела нейронов и их отростки. Только с анальной стороны, в области лофооральных органов, удается визуализировать 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, супразофагеальный ганглий отсутствует. Отростки тел нейронов супразофагеального ганглия участвуют в иннервации рук лофофора, щупалец и формировании циркумэзофагеального нервного кольца. Субэзофагеальный ганглий иннервирует дорсальную и вентральную лопасти мантии, ножку и мышцы-аддукторы раковины. Данные об ультраструктурном строении церебральных ганглиев брахиопод в литературе отсутствуют (Bullock, Horridge, 1965; Mukai et al., 1997).

В отличие от остальных представителей Lophophorata, церебральный ганглий пресноводных мшанок субэпителиальный (Bullock, Horridge, 1965; Gruhl, Bartolomaeus, 2008). Необходимо отметить, что тенденция к погружению нервной системы и ее элементов вглубь наблюдается неоднократно у различных групп беспозвоночных. Субэпителиальное положение ганглия принято считать более прогрессивным по отношению к интраэпителиальному (Беклемишев, 1964). С данной точки зрения, тип Bryozoa демонстрирует наиболее продвинутые черты среди остальных Lophophorata.

Иннервация лофофора

Строение нервной системы лофофора и щупалец пресноводных мшанок в целом оказывается сходной с таковой морских мшанок. Общая

морфология лофофора, значительно отличающаяся у морских и пресноводных мшанок, отражается в особенностях его иннервации. У морских мшанок от церебрального ганглия отходит пара нервов, образующих пероральное нервное кольцо. За счет наличия у пресноводных мшанок крупных парных выростов – рук лофофора – от церебрального ганглия кроме нервов перорального нервного кольца также отходят рога лофофора. Несмотря на округлую форму лофофора, рога лофофора сохраняются также у *F. sultana*, но в сильно редуцированном состоянии (Рис. 55). Фактически, с анальной стороны лофофора формируется лишь пара небольших нервных стволов, от которых отходят радиальные нервы. Эта особенность организации нервной системы лофофора фредерицеллы позволяет утверждать, что округлый лофофор этого вида является результатом вторичного упрощения, в ходе которого руки лофофора были редуцированы (Шунькина и др., 2014б).

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 мшанками. Характер строения нервной системы лофофора трех исследованных видов также оказывается сходным и с исследованным ранее видом *Lophopus cristallinus* (Marcus, 1934). В ходе исследования нам удалось уточнить некоторые детали строения. 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., 2014а, 2014б).

Основные отличия в иннервации лофофора у исследованных видов пресноводных мшанок 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 в пределах одной колонии. Количество крупных ветвей и их расположение оказывается видоспецифичным. Так, *S. mucedo* обладает наибольшим количеством толстых ветвей (4-5). Кроме того, у этого вида, по сравнению с двумя другими, проксимальные ветви основного радиального нерва максимально разобщены в основании лофофора. У *P. repens* количество толстых проксимальных ветвей оказывается меньше, чем у *S. mucedo* (3-4), а у *F. sultana* – самого мелкого представителя пресноводных мшанок – наблюдается наиболее выраженное сближение проксимальных ветвей, при этом их количество схоже с *P. repens* (3-4) (Рис. 13).

Как и в случае церебрального ганглия, описанные выше отличия в строении нервной системы отражают особенности организации лофофора. За счет формирования крупных выростов лофофора – его рук – от церебрального ганглия пресноводных мшанок отходит не одна, а две пары крупных нервных стволов. У *F. sultana* за счет вторичной редукции рук лофофора вместо крупных рогов сохраняются лишь их редуцированные «корешки» (Рис. 55). Малые размеры лофофора способствуют сильному сближению проксимальных ветвей основных радиальных нервов. Особенно хорошо оно выражено у фредерицеллы – вида с самым маленьким лофофором (Шунькина и др., 2014б).

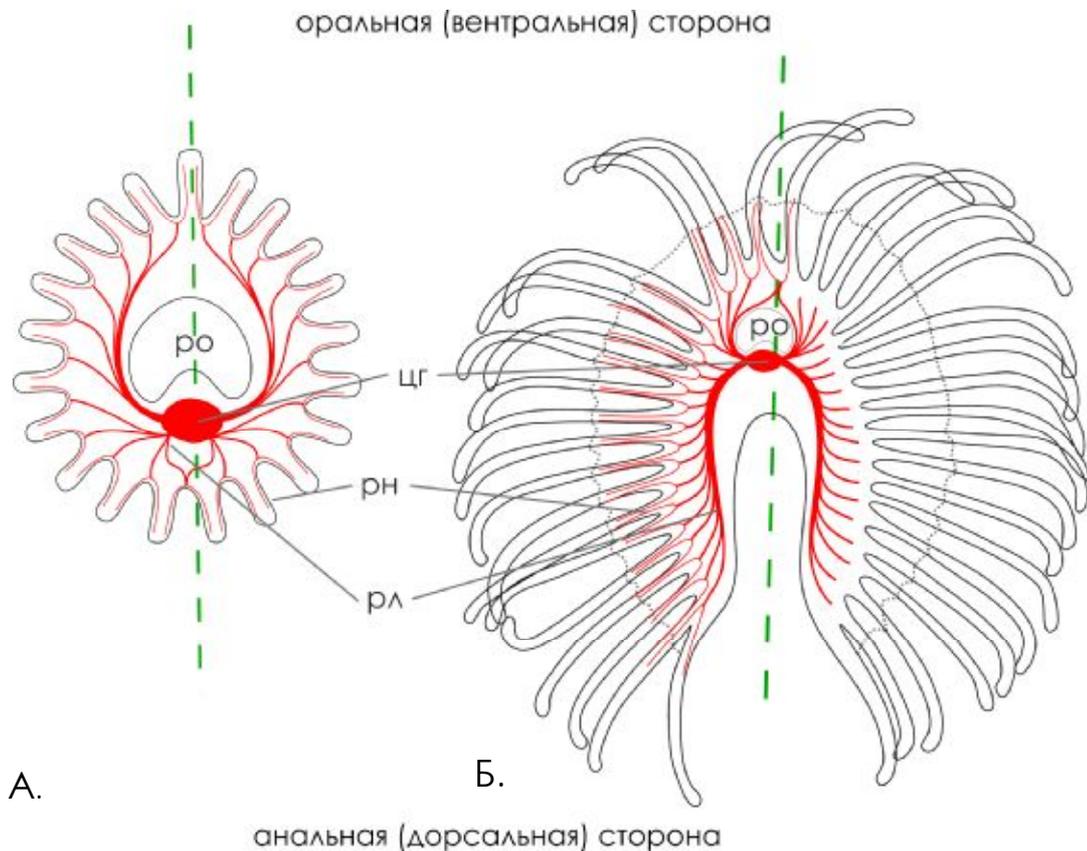


Рис. 55. Схема иннервации лофофоров пресноводных мшанок с колоколообразным (А) и подковообразным лофофором (Б). Пунктирной линией обозначена дорсооventральная ось симметрии. На рисунке Б обозначен только наружный ряд щупалец, а латеральные тентакулярные нервы показаны только с левой стороны, до 2/3 длины щупалец. У основных радиальных нервов показано только одно дистальное ветвление.

Обозначения: *рл* – рога лофофора, *рн* – радиальные нервы, *ро* – ротовое отверстие, *цг* – церебральный ганглий.

Иннервация щупалец

Полученные данные показывают, что характер иннервации лофофора пресноводных мшанок отличается от такового у морских мшанок, а также у форонид и брахиопод.

Известно, что у всех исследованных видов морских мшанок в щупальце располагается по четыре нерва: фронтальный, абфронтальный и парные фронто-латеральные. Гордону также удалось показать у *Cryptosula palassiana* два субперитонеальных нерва, проходящих под базальной мембраной щупальца и иннервирующих мускулатуру щупальца (Gordon, 1974). О происхождении и локализации этих нервных отростков в основании

лофофора известно мало. Люто у *Electra pilosa* показала, что фронтальный нерв щупальца сформирован проксимальными отростками основного радиального нерва, фронто-латеральные нервы – за счет ветвей дистального ветвления основного радиального нерва. По данным Люто, основные радиальные нервы отходят от верхней части (верхнего пучка нервов) перорального кольца. Абфронтальный нерв отходит в каждое щупальце напрямую от нижней части (нижнего пучка) перорального кольца (Lutaud, 1973). Гордон немного иначе описывал локализацию нервов щупалец. По его данным, фронтальный и фронто-латеральные нервы отходят непосредственно от перорального нервного кольца так же, как и абфронтальный субперитонеальные нервы (Mukai et al., 1997).

У исследованных нами пресноводных мшанок в каждом щупальце было обнаружено четыре основных продольных нерва: фронтальный, абфронтальный и пара абфронто-латеральных. Абфронтальный и абфронто-латеральные нервы залегают субэпителиально (Рис. 53) (Шунькина и др., 2014а). В средней части щупальца также удалось найти пару тонких, состоящих всего из двух аксонов, фронто-латеральных нервов, которые, предположительно, являются отростками латеральных рецепторных клеток средней части щупальца и сливаются с базальной частью фронтального нерва. Это три нервных ствола погружены в базальную пластинку. Ранее для пресноводной мшанки *Asajirella gelatinosa* было описано до 10 нервов, залегающих в щупальце базиэпителиально, причем общая схема их расположения похожа на то, что имеется у исследованных нами видов, за исключением того, что фронто-латеральных пучков шесть – по три с каждой стороны от фронтального пучка (Mukai et al., 1997).

Общая организация нервной системы щупалец взрослых форонид, на первый взгляд, напоминает таковую у пресноводных мшанок. Изначально в литературе по результатам окраски метиленовым синим у форонид была описана только пара нервных стволов, расположенных базиэпителиально с

фронтальной и абфронтальной сторон щупальца (Bullock, Horridge, 1965). Исследование нервной системы щупалец *Phoromopsis harmeri* с использованием антител к α -тубулину позволило выявить шесть основных нервов: медиафронтальный, пару латерофронтальных, пару латероабфронтальных и абфронтальный. В отличие от пресноводных мшанок, эти нервы имеют разное происхождение. Абфронтальные и латероабфронтальные нервы щупалец являются отростками внешнего нервного кольца, проходящего с абфронтальной стороны лофофора. Медиафронтальные и латерофронтальные нервы являются отростками малого нервного кольца, расположенного с фронтальной стороны лофофора (Temereva, Tsitrin, 2014). Следует указать, что характер ветвления нервов внешнего нервного кольца напоминает таковой у пресноводных мшанок.

Строение нервной системы щупалец Brachiopoda исследовано далеко недостаточно. Известно, что каждое щупальце иннервировано одним нервным отростком, проходящим базиэпителиально с фронтальной стороны щупальца (Reed, Cloney, 1977; Bullock, Horridge, 1965). Данные о наличии каких-либо рецепторов, как и о распределении нейромедиаторов, отсутствуют.

Сопоставление данных, полученных при окраске антителами к α -тубулину, серотонину и FMRFамиду, с ультраструктурным строением щупальца, дает возможность проанализировать распределение нейромедиаторов в различных нервах щупалец исследованных нами видов. Так, некоторые отростки дополнительных радиальных нервов, обнаруженные в лофофоре всех трех видов, имеют серотонинергическую природу. Каждый дополнительный радиальный нерв на своем дистальном конце дважды дихотомически ветвится. Пара ветвей отходит к соседним щупальцам, становясь абфронтально-латеральными нервами щупалец. Вторая пара нервов иннервирует межщупальцевую мембрану. Сопоставление с данными, полученными с помощью окраски антителами к серотонину, позволяет

утверждать, что нервные отростки, участвующие в иннервации межщупальцевой мембраны серотонинергические.

В лофофоре кристателлы удается проследить распределение FMRFамида в нервах щупалец. Так, нами были обнаружены биполярные первичночувствующие клетки на кончиках щупалец. Их аксоноподобные отростки входят в состав фронтального нерва щупалец. Катехоламинергические нервы входят в состав фронтального и абфронтально-латеральных 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 удается выявить большое количество регулярно расположенных катехоламинергических первичночувствующих рецепторных клеток. В литературе присутствуют упоминания о сенсорной/моторной природе различных нервов лофофора (Lutaud, 1977), однако наши данные на настоящий момент не позволяют говорить о моторной или сенсорной функции различных нервов. Полученные результаты по распределению нейромедиаторов в щупальцах пресноводных мшанок позволяют лишь утверждать, что фронтальный нерв лофофора имеет смешанную природу (см. выше) (Шуныкина и др., 2014а).

Данные о распределении нейромедиаторов в щупальцах морских мшанок и плеченогих отсутствуют, поэтому представляется возможным лишь проведение сравнительного анализа распределения серотонина и FMRFамида в щупальцах пресноводных мшанок и форонид.

В отличие от пресноводных мшанок, у форонид в щупальцах удается обнаружить не только FMRFамидергические нейроны и их отростки, но и множество серотонинергических элементов. На всем протяжении щупалец форонид удается обнаружить множество тонких серотонинергических отростков с периодически встречающимися телами нейронов. Нейроны и их

отростки также удается визуализировать и при окраске антителами к FMRФамиду (Temereva, Tsitrin, 2014). К сожалению, в литературе отсутствуют данные о локализации нейромедиаторов в конкретных нервах лофофора, поэтому сложно говорить о сенсорной/моторной природе различных нервов щупалец форонид.

Кроме щупалец, нами впервые было показано распределение серотонин- и FMRФамидергических элементов в нервной системе лофофора (Шуныкина и др., 2013). Помимо нервных отростков, локализованных во фронтальных нервах щупалец, в основании нескольких пар (от 3 до 5 – у разных видов) латеральных щупалец лофофора присутствуют небольшие ганглионарные скопления FMRФамидергических нейронов (Рис. 54). Функция этих нейронов остается неясной, поскольку не удается проследить их отростки на большом расстоянии. Очевидно, что эти ганглионарные скопления регулируют деятельность лофофора, так как часть отростков нервных клеток входит в состав рогов лофофора.

Кроме того, в щупальцах и основании рук лофофора обнаружены серотонинергические нервные клетки. У разных видов эти клетки располагаются ближе или дальше по отношению к основанию щупалец. В рамках исследованных видов удается выявить тенденцию к смещению тел нейронов ближе к рогам лофофора. Так, у фредерицеллы тела серотонинергических нейронов располагаются в нижней трети щупалец, у плюмателлы – в самом основании щупалец, а у кристателлы – в основании руки лофофора. Следует отметить, что дистальная часть рук лофофора кристателлы вообще не иннервируется серотонинергическими клетками (Рис. 54).

Биполярные серотонинергические нервные клетки, обнаруженные в основании (нижней трети) щупалец исследованных видов возможно, являются проприорецепторами. Ранее схожие по локализации нейроны были

описаны в работе Зэффтигена (Saeftigen, 1888) как рецепторные клетки «чашечковой» (межщупальцевой) мембраны. Позднее они были также отмечены и в работе Герверцхагена (Gerwerzhagen, 1913). 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. При прижизненном окрашивании метиленовым синим, однако, в межщупальцевой мембране выявляется большее количество биполярных нервных клеток (Gerwerzhagen, 1913). По всей видимости, остальные клетки, описанные в работе Герверцхагена, имеют другую эргидность.

В лофофоре пресноводных мшанок нами были также описаны некоторые рецепторные элементы. Иммуногистохимические исследования позволили выявить у кристателлы биполярные FMRFамидергические нейроны, расположенные на самых кончиках щупалец (см. выше). Методом конденсации с глиоксиловой кислотой были выявлены рецепторные клетки двух типов: биполярные и треугольные с короткими периферическими отростками (Рис. 47). 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 важную роль щупалец в процессах рецепции.

Поскольку в лофофоре пресноводных мшанок удалось выявить и серотонин- и FMRFамидергические элементы, можно говорить о том, что оба этих вещества принимают активное участие в работе лофофора. Сравнить характер распределения нейромедиаторов у мшанок с тем, что имеет место у

других Lophophorata, не представляется возможным ввиду отсутствия данных (см. выше).

Характер и пространственная организация нервов щупалец в группе Lophophorata сильно различается. Необходимы дополнительные исследования распределения нейромедиаторов, а также α -тубулина в щупальцах взрослых особей форонид, морских мшанок и брахиопод. Можно отметить, что все изученные группы обладают достаточно сложной схемой иннервации лофофора. Предположительно, столь сложное строение нервной системы щупалец и лофофора связано с присутствием в щупальцах целомической полости. Нервы располагаются как на фронтальной, так и на абфронтальной стороне щупальца, то есть как с «внутренней» так и с «наружной» стороны от целома. При этом, рога лофофора (нервы перорального кольца) располагаются апикально над целомической полостью. Таким образом, иннервация «внешней» абфронтальной стороны щупалец предполагает довольно сложное ветвление нервов, так как не может быть иннервирована непосредственно напрямую от основных нервных трактов лофофора. У форонид эта же проблема, по всей видимости, решена несколько иначе – за счет существования двух нервных колец щупальца иннервированы с фронтальной и абфронтальной сторон.

Иннервация стенки цистида и интроверта

Полученные данные по нервной системе стенки тела интроверта (щупальцевого влагалища) и цистида пресноводных мшанок показали, что иннервация этих отделов осуществляется за счет двух пар нервов, отходящих с базальной стороны от церебрального ганглия. По литературным данным иннервация стенки тела осуществляется за счет нервного сплетения, сформированного из отростков двух пар крупных нервов, отходящих от церебрального ганглия базально к основанию лофофора (Hyatt, 1866–1868; Saefftigen, 1888; Gerwerzhagen, 1913; Marcus, 1934; Brien, 1960). Наши

данные несколько отличаются от имеющихся в литературе. Описанные выше нервные тракты оказываются довольно короткими и начинают практически сразу ветвиться. Характер иннервации интроверта (верхней вворачивающейся части полипида, во ввернутом состоянии называемом щупальцевым влагалищем) у разных исследованных видов пресноводных мшанок различается. Интроверт кристателлы и плюмателлы иннервирован более частой сетью FMRФамидергических нервных волокон. Причем, на границе интроверта и стенки тела выявляется большое количество мультиполярных нервных клеток. Судя по характеру распределения отростков и форме этих клеток, это проприорецепторные клетки (Bullock, Horridge, 1975). FMRФамидергические клетки являются периферическими мотонейронами. Доказательством этому факту может служить то, что по нашим предварительным данным, изолированные зооиды при раздражении способны к мышечным сокращениям. Стенка интроверта является местом локализации большинства мультиполярных нейронов – как было описано выше, они в массе располагаются на границе стенки цистида и интроверта. При высунутой кроне щупалец интроверт контактирует с внешней средой. У *P. repens* этот участок «торчит» из хитиновой трубки, а у *C. mucedo* – располагается над горизонтальной поверхностью колонии. У *F. sultana* отличий в иннервации интроверта и стенки цистида обнаружено не было. Это может быть связано с тем, что мускулатура стенки цистида *F. sultana* устроена несколько иначе, чем у других исследованных видов. Было показано, что у фредерицеллы и в стенке цистида и в стенке интроверта присутствуют кольцевые мышцы (Schwaha, Wanninger, 2012).

Характер иннервации стенки цистида плюмателлидных колоний и фронтальной стенки колонии *C. mucedo* различается. 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, волокна которой беспорядочно располагаются в

пространстве между зооидами. Эти различия, в первую очередь, связаны с формой колонии и расположением зооидов относительно друг друга (Шуныкина и др., 2014б).

Практически полное отсутствие каких-либо данных о распределении нейромедиаторов у представителей классов мшанок *Stenolaemata* и *Gymnolaemata* на настоящий момент не позволяют выполнить какое-либо сравнение с полученными нами результатами.

На настоящий момент мы располагаем данными только о распределении серотонина и FMRFамида в нервной системе взрослой особи форониды *Phoronopsis harmeri* (Temereva, Tsitrin, 2014). В отличие от пресноводных мшанок, в нервной системе форонид присутствует большое количество серотонинергических элементов. 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 (в том числе в подошве кристателлы) носят несколько иной характер, чем у форонид. Считается, что характер распределения различных нейромедиаторов в нервной системе консервативен (Сахаров, 1974). Как было показано выше, характер распределения изученных нейромедиаторов у форонид и пресноводных мшанок различается. Нервная система форонид представлена диффузным нервным сплетением с концентрацией нервных клеток в области

перорального кольца. В этом нервном сплетении присутствует приблизительно равное количество серотонин- и FMRFамидергических элементов. Нервное сплетение принято считать первичным по отношению к более дифференцированным вариантам иннервации различных органов (Беклемишев, 1964). По сравнению с форонидами нервная система пресноводных мшанок оказывается несколько более дифференцированной, с хорошо обособленным церебральным ганглием и различающимися по характеру строения отделами. Например, нам удалось выявить у них разницу в иннервации интроверта и цистида. Это свидетельствует о том, что более высокая дифференцировка нервной системы присутствует у пресноводных мшанок не только на уровне ЦНС, но и в периферической нервной системе. По нашему мнению, это, в первую очередь может быть связано с внутриколониальной интеграцией зооидов. Как было описано выше, у колоний как морских, так и пресноводных мшанок, удастся описать различные формы группового поведения, связанные как с защитной (синхронное вворачивание соседних полипидов при раздражении одного из них), так и с трофической функцией («передача» пищевых частиц, образование «дымоходов») (Антипенко, 1999; Winston, 1978; Shunatova, Ostrovsky, 2001).

Сведения о распределении серотонина в нервной системе пресноводной гимнолемной мшанки *Hislopia malayensis* (Schwaha et al., 2011) позволяют лишь сказать, что и у данного вида серотонинергические элементы присутствуют исключительно в лофофоре и церебральном ганглии. Тем не менее, этих данных недостаточно для проведения сравнительного анализа распределения нейромедиаторов.

Нами впервые была описана иннервация мускулатуры подошвы *Cristatella mucedo*. Полученные данные указывают на наличие хорошо развитой моторной части нервной системы, участвующей в локомоции колонии. Известно, что в лабораторных условиях колонии данного вида

перемещаются в тень, избегая прямого солнечного света (Marcus, 1924, 1926). Именно поэтому в естественных условиях колонии предпочитают находиться с нижней стороны субстрата (Nyman, 1959). Эти данные позволяют сделать предположение о том, что *C. mucedo* обладает отрицательным фототаксисом. Однако до сих пор неизвестно, какие рецепторные элементы инициируют движения колонии.

Вероятнее всего, подошва служит как орган передвижения только у ювенильных колоний. После того как колония достигает критических размеров, движение колонии прекращается и в дальнейшем подошва используется только как орган прикрепления. В пользу этого факта также свидетельствует наличие валика, образованного по краю подошвы. Валик формируется как складка стенки тела, без выраженных отличий в строении мускулатуры или иннервации. По краю валика встречается небольшое количество мультиполярных нервных клеток, по структуре напоминающих таковые, обнаруженные в большом количестве на границе интроверта и стенки цистида. Как и в стенке тела, эти мультиполярные клетки в подошве выполняют функцию проприорецепции. Кроме того, в литературе неоднократно отмечено, что крупные колонии кристателлы способны к автотомии (часто эти процессы связаны с недостаточной обеспеченностью пищей) (Nyman, 1959; Антипенко, 1999). После фрагментации образовавшиеся дочерние колонии могут возобновлять движение и расползаться. Ранее было предположено, что автотомия колоний связана не только с возможностью поиска более «выгодного» в отношении пищи места, но и с эффективностью изменения гидродинамических условий за счет изменения формы колонии и количества активных полипидов (Антипенко, 1999).

К сожалению, как наши, так и литературные данные не позволяют ничего сказать о связи нервной системы подошвы с центральной нервной системой зооида. Скорее всего, такая связь осуществляется за счет

синаптических контактов, возникающих между нервными волокнами фронтальной стенки цистида и подошвы.

Филогенетическое положение различных представителей Phylactolaemata

В состав отряда Phylactolaemata входит свыше 90 видов, объединенных в 6 семейств. Представления об их взаимном положении изменялись с течением времени. Первоначально считалось, что филактолематы с колоколообразным лофофором (род *Fredericella*, семейство Fredericellidae) наиболее примитивны (Brien, 1954). Колоколообразная (с круговым расположением щупалец) форма лофофора считалась более примитивной в свете представлений о происхождении Phylactolaemata от морского предка.

Анализ морфологических признаков и строения зимующих почек – статобластов, которые являются одним из основных определительных признаков у пресноводных мшанок, также подтвердил базальное положение фредерицеллид (Toriumi, 1956; Lacourt, 1968; Mukai, 1999). Это мнение долгое время преобладало в литературе даже несмотря на то, что некоторые авторы отмечали, что в онтогенезе полипиды фредерицеллы изначально проходят стадию с подковообразным лофофором, а некоторые даже упоминали, что и во взрослом состоянии с анальной стороны лофофора удается обнаружить небольшую ямку (Brien, 1954; Антипенко, 1999). Пресноводных мшанок с лофоподидными колониями Ториуми считал наиболее удаленными от общего предка (Toriumi, 1956). На основании строения статобластов мшанок из рода *Fredericella* помещали в основание класса Phylactolaemata, а род *Cristatella* рассматривали как наиболее продвинутый (Mukai, 1999).

Более поздние исследования, основанные на молекулярных данных, показали что род *Fredericella* занимает не базальное положение, а, напротив, является сестринским таксоном для рода *Plumatella* и находится в наиболее

удаленном положении от основания дерева пресноводных мшанок (Wood, Lore, 2005; Okuyama et al., 2006). Более полное молекулярное исследование, включающее 23 вида пресноводных мшанок из 11 отрядов, было проведено Хиросэ (Hirose). Анализ генов 16S и 12S митохондриальной рибосомальной РНК 23 показал, что группа семейств Fredericellidae и Plumatellidae занимают максимально отдаленное от базального положение. Напротив, большинство видов с лофоподидными колониями (рода *Lophopus*, *Asajirella*, *Pectinatella*) занимают более базальное положение (Hirose, 2008). На основании этих данных можно предполагать, что у пресноводных мшанок происходило постепенное развитие и усложнение колоний от исходных желатиноподобных колоний к ветвистым формам. Что касается формы лофофора, то, по мнению авторов молекулярного исследования, подковообразный лофофор является примитивным, а округлый лофофор – более продвинутым, и возник у пресноводных мшанок лишь единожды (Hirose, 2008).

Полученные нами данные о строении нервной системы лофофоров пресноводных мшанок также позволяют утверждать, что округлая форма лофофора фредерицеллы не является примитивным признаком и этот род нельзя считать таксоном, сохранившим анцестральный признак. Наличие сильно редуцированных рогов лофофора, а также характер распределения нейромедиаторов в области церебрального ганглия позволяют говорить о вторичной редукции лофофора *Fredericella sultana*. Вероятнее всего, причиной этой редукции стало сильное уменьшение размеров зооидов данного вида. Что касается остальных двух видов – *C. mucedo* и *P. repens*, относящихся к семействам *Cristatellidae* и *Plumatellidae* соответственно, 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

Имеющиеся в нашем распоряжении сведения об общем строении нервной системы и распределении нейромедиаторов в различных отделах нервной системы *Phoronis harmeri*, к сожалению, очень немногочисленны. Также данные о распределении нейромедиаторов в различных отделах взрослых Brachiopoda в литературе отсутствуют. Данные о распределении нейромедиаторов в нервной системе морских мшанок ограничиваются кратким описанием распределения серотонинергических нервных элементов у *Hislopia malayensis*. Все это, к сожалению, не позволяет провести адекватного сравнительного анализа, на основании которого можно было бы сделать выводы о взаимном положении различных таксонов 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, выполненной на основании сиквенса 196 генов и информации о положении аминокислот в этих генах, 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. Несходство в строении нервной системы и распределении нейромедиаторов у пресноводных мшанок и форонид связано с тем, что формирование различных отделов шло различными путями. Так, иннервация стенки

полипида и цистида у пресноводных мшанок осуществляется за счет параллельно ориентированных нервных отростков FMRFаминергической природы, в то время как у форонид стенка тела иннервирована неупорядоченным сплетением серотонин- и FMRFамидергических нервов. Определенные отличия наблюдаются также в строении нервной системы лофофора и распределении различных нейромедиаторов в церебральном ганглии, нервах лофофора и щупалец. Данные о том, что один и тот же отдел нервной системы у пресноводных мшанок и форонид может быть иннервирован различными нейромедиаторами, позволяют утверждать, что эти группы не являются близкородственными.

На настоящий момент 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 о форонидах и брахиоподах.

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-, FMRFамид- и катехоламинергических элементов в нервной системе трех 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 FMRFамидергических элементов в церебральном ганглии исследованных пресноводных мшанок носит видоспецифический характер. У всех мшанок с подкововидным лофофором как серотонин-, так и FMRFамидергические 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 колоний 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, волокна которой беспорядочно располагаются в пространстве между зооидами. 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 пресноводных мшанок, свидетельствует о том, что FMRFамид у мшанок, как и у многих других беспозвоночных (моллюски, немертины, турбеллярии) может играть важную роль в регуляции мышечных

сокращений, в также в процессах рецепции. Судя по распределению в организме серотонин и катехоламины осуществляют преимущественно рецепторные функции.

Фрагментарность и недостаточность данных о строении нервной системы и распределении нейромедиаторов у 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 форонид щупальца и стенка тела иннервированы поразному 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 форонид 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 FMRFамидергические 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 FMRFамид- или катехоламинергическую природу.
3. Несмотря на внешнее сходство колоколообразного лофофора *F. 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.
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 *C. mucedo* представлена преимущественно FMRFамидергическими 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 латерофронтальным 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 FMRFамид- и серотонинергических элементов. Поэтому рассматривать пресноводных мшанок и форонид в качестве близкородственных групп нельзя.

Список цитируемой литературы

1. Абрикосов Г. Г., Зевина Г. Б. Тип Мшанки //Атлас беспозвоночных Каспийского моря. М.: Пищевая пром. – 1968. – С. 386-395.
2. Антипенко И.И. Особенности пищевого поведения *Cristatella mucedo* (Phylactolaemata: Bryozoa) //Журнал общей биологии. – 1999. – Т. 60. – № 1. – С.109–117.
3. Беклемишев В. Н. Проморфология//Основы сравнительной анатомии беспозвоночных //М: Наука.-ТІ-441 с. – 1964.
4. Догель В. А. Зоология беспозвоночных. – 1981.
5. Зайцева О. В., Маркосова Т. Г., Смирнов Р. В. Моноамин-и пептидсодержащие элементы в стенке тела и нервных стволах у немертин //Биология моря. – 2007. – Т. 33. – №. 4. – С. 291-298.
6. Маркосова Т. Г., Зайцева О. В., Смирнов Р. В. Моноамин-и пептидсодержащие элементы в пищеварительном тракте немертин //Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2007. – Т. 43. – №. 1. – С. 60-68.
7. Иванов А. В. Происхождение многоклеточных животных: филогенетические очерки. – Издательство" Наука", Ленинградское отделение, 1968.
8. Иванов А. В., Полянский Ю. И., Стрелков А. А. Большой практикум по зоологии беспозвоночных. – Советская книга, 1958.
9. Малахов В. В. Новый взгляд на происхождение билатерий //Природа. – 2004. – Т. 6.
10. Роскин Г.И. Микроскопическая техника. М.: Советская наука, 1946. 328 с.
11. Сахаров Д. А. Генеология нейронов. – Наука, 1974.
12. Шунькина К.В., Старунов В.В., Зайцева О.В., Островский А.Н. Серотонин и FMRFамид- иммунореактивные элементы в нервной системе пресноводных мшанок (Bryozoa: Phylactolaemata) // Доклады Академии Наук. – 2013а. – Т. 451. – №4. – С. 474-477.

13. Шунькина К.В., Зайцева О.В., Старунов В.В., Островский А.Н. Сенсорные элементы и иннервация пищедобывающего аппарата пресноводной мшанки *Cristatella mucedo* // Доклады Академии Наук. – 2014а. – Т. 455. – №4. – С. 490-493.
14. Шунькина К.В., Старунов В.В., Зайцева О. В., Островский А.Н. Сравнительная нейроморфология лофофора и стенки тела трех видов пресноводных мшанок (Bryozoa, Phylactolaemata) // Зоологический журнал. – 2014б. – 2014. – Т. 93. – №3. – С. 497-507.
15. Allman G. J. A Monograph of the Fresh-water Polyzoa: Including All the Known Species, Both British and Foreign. – Ray Society, 1856. – Т. 28.
16. Baker H. An Attempt Toward a Natural History of the Polype. – 1743.
17. Baker H. Employment for the Microscope – R. Dodsley, 1753.
18. Bassler R. S. Bryozoa, p. G2–G253 // Treatise on Invertebrate Paleontology, Pt. G, Bryozoa. Geological Society of America and University of Kansas Press, Lawrence. – 1953.
19. Beckers P., Faller S., Loesel R. Lophotrochozoan neuroanatomy: An analysis of the brain and nervous system of *Lineus viridis* (Nemertea) using different staining techniques // Frontiers in zoology. – 2011. – Т. 8. – №. 1. – С. 1-12.
20. Bomme L. Bericht wegens een zonderling zee-insect, gevonden aan eenige zeewieren, gevischt op het strand van het eiland Walcheren. – 1769.
21. Borg F. Studies on recent cyclostomatous Bryozoa. – Almqvist & Wiksell, 1926. – Т. 10.
22. Braem F. Untersuchungen über die Bryozoen des süßen Wassers. – T. Fischer, 1890. – №. 6.
23. Braem F. Die keimung der statoblasten von *Pectinatella* und *Christatella*. – E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung (E. Nägele), 1912.
24. Brien P. A propos des Bryozoaires Phylactolaemates // Bull. Soc. Zool. Fr. – 1954. – Т. 79. – С. 203-239.

25. Brien P., 1960. Classe des Bryozaires // *Traité de Zoologie*, Grassé. P. 1053–1335.
26. Brooks C. M. Notes on the statoblasts and polypids of *Pectinatella magnifica* // *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*. – 1929. – C. 427-441.
27. Bullock T. H., Horridge G. A. Structure and function in the nervous systems of invertebrates. – 1965.
28. Calvet L. Histoire naturelle des bryozoaires ectoproctes marins-Trav // *Inst. Zool. Montpellier, Ser.* – 1900. – T. 2.
29. Croll R. P., Voronezhskaya E. E. Early elements in gastropod neurogenesis // *Developmental biology*. – 1996. – T. 173. – №. 1. – C. 344-347.
30. Davenport C. B. *Cristatella*: The origin and development of the individual in the colony. – *Museum of Comparative Zoölogy, at Harvard College*, 1890.
31. Dumortier B. C. Recherches sur l'anatomie et la physiologie des polypiers composés d'eau douce' // *Bulletins de l'Académie Royale des Sciences, Bruxelles*. – 1835. – T. 2. – C. 421-454.
32. Edgecombe G. D. et al. Higher-level metazoan relationships: recent progress and remaining questions // *Organisms Diversity & Evolution*. – 2011. – T. 11. – №. 2. – C. 151-172.
33. Ferreira A., Cáceres A. The expression of acetylated microtubules during axonal and dendritic growth in cerebellar macroneurons which develop in vitro // *Developmental Brain Research*. – 1989. – T. 49. – №. 2. – C. 205-213.
34. Fischer A.H., Henrich T., Arendt D. The normal development of *Platynereis dumerilii* (Nereididae, Annelida) // *Frontiers in zoology*. 2010. V. 7. P. 1-31.
35. Fuchs J., Obst M., Sundberg P. The first comprehensive molecular phylogeny of Bryozoa (Ectoprocta) based on combined analyses of nuclear and mitochondrial genes // *Molecular phylogenetics and evolution*. – 2009. – T. 52. –

№. 1. – C. 225-233.

36. Gerwerzhagen A. Beiträge zur Kenntnis der Bryozoen: I. Das Nervensystem von *Cristatella mucedo* Cuv. – Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg., 1913.

37. Gordon D. P. Microarchitecture and function of the lophophore in the bryozoan *Cryptosula pallasiana* //Marine Biology. – 1974. – T. 27. – №. 2. – C. 147-163.

38. Graupner H. Zur Kenntnis der feineren Anatomie der Bryozoen (Nervensystem, Muskulatur, Stützmembran). – 1930.

39. Gruhl A. Serotonergic and FMRFamideergic nervous systems in gymnolaemate bryozoan larvae //Zoomorphology. – 2009. – T. 128. – №. 2. – C. 135-156.

40. Gruhl A. Neuromuscular system of the larva of *Fredericella sultana* (Bryozoa: Phylactolaemata) //Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology. – 2010. – T. 249. – №. 3. – C. 139-149.

41. Gruhl A., Bartolomaeus T. Ganglion ultrastructure in phylactolaemate Bryozoa: Evidence for a neuroepithelium //Journal of morphology. – 2008. – T. 269. – №. 5. – C. 594-603.

42. Hatschek B. Lehrbuch der Zoologie: eine morphologische Übersicht des Tierreiches zur Einführung in das Studium dieser Wissenschaft. – G. Fischer, 1888.

43. Hausdorf B., Helmkamp M., Nesnidal M.P., Bruchhaus I. Phylogenetic relationships within the lophophorate lineages (Ectoprocta, Brachiopoda and Phoronida) //Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2010. – T. 55. – №. 3. – C. 1121-1127.

44. Hay-Schmidt A. The evolution of the serotonergic nervous system //Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. – 2000. – T. 267. – №. 1448. – C. 1071-1079.

45. Hejnol A., Obst M., Stamatakis A., Ott M., Rouse G.W., Edgecombe

G.D., Martinez P., Baguna J., Bailly X., Jondelius U., Wiens M., Muller W.E.G., Seaver E., Wheeler W.C., Martindale M.Q., Giribet G., Dunn C.W. Assessing the root of bilaterian animals with scalable phylogenomic methods //Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2009. – T. 276. – №. 1677. – C. 4261-4270.

46. Helmkampf M., Bruchhaus I., Hausdorf B. Phylogenomic analyses of lophophorates (brachiopods, phoronids and bryozoans) confirm the Lophotrochozoa concept //Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2008. – T. 275. – №. 1645. – C. 1927-1933.

47. Hirose M., Dick M. H., Mawatari S. F. Molecular phylogenetic analysis of phylactolaemate bryozoans based on mitochondrial gene sequences //Bryozoan studies. – 2007. – C. 65-74.

48. Hyatt A. Observations on Polyzoa, Suborder Phylactolæmata. Observations on polyzoan order Phylactolaemata //Proceedings of the Essex Institute. – 1866-1868. – V. 4 and 5. P. 1–121.

49. Hyman L. H. The invertebrates. 5. Smaller coelomate groups. – McGraw-Hill, 1959.

50. Jebram D. The importance of different growth directions in the Phylactolaemata and Gymnolaemata for reconstructing the phylogeny of the Bryozoa //Living and Fossil Bryozoa. Academic Press, London. – 1973. – C. 565-576.

51. Jebram B. D. The ontogenetical and supposed phylogenetical fate of the parietal muscles in the Ctenostomata (Bryozoa) //Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research. – 1986. – T. 24. – №. 1. – C. 58-82.

52. Kraepelin K. Die deutschen süßwasser-bryozoen: Eine monographie. – L. Friederichsen & Company, 1887.

53. Lacourt A. W. A monograph of the freshwater Bryozoa-Phylactolaemata. – EJ Brill, 1968.

54. Lutaud G. L'innervation du lophophore chez le Bryozoaire chilostome

Electra pilosa (L.) //Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie. – 1973. – T. 140. – №. 2. – C. 217-234.

55. Lutaud G. The bryozoan nervous system //Biology of bryozoans. – 1977. – C. 377-410.

56. Mallatt J., Craig C. W., Yoder M. J. Nearly complete rRNA genes from 371 Animalia: Updated structure-based alignment and detailed phylogenetic analysis //Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2012. – T. 64. – №. 3. – C. 603-617.

57. Marcus E. Beobachtungen und Versuche an lebenden Meeresbryozoen //Zool. Jb. Syst. – 1926. – T. 52. – C. 1-102.

58. Marcus E. Über *Lophopus crystallinus* (Pall.) //Zool Jb Anat. – 1934. – T. 58. – C. 501-606.

59. Maslakova S. A. Development to metamorphosis of the nemertean pilidium larva //Frontiers in zoology. – 2010. – T. 7. – №. 1. – C. 30.

60. Mukai H., Terakado K., Reed C. G. Bryozoa //Microscopic Anatomy of Invertebrates / Ed. by F.W. Harrison. New York: Wiley-Liss. – 1997. – T. 13. – C. 45–206.

61. Mukai H. Comparative morphological studies on the statoblasts of lower phylactolaemate bryozoans, with discussion on the systematics of Phylactolaemata //Science Reports of the Faculty of Education Gunma University. – 1999. – T. 46. – C. 51-91.

62. Müller F. On the common nervous system of the Bryozoa //Q JI microsc. Sci.(NS). – 1860. – T. 1. – C. 1-300.

63. Mundy S. P., Taylor P. D., Thorpe J. P. A reinterpretation of phylactolaemate phylogeny //Recent and Fossil Bryozoa. – 1981. – C. 185-190.

64. Nesnidal M. P., Helmkampf M., Meyer A., Witek A., Bruchhaus I., Ebersberger I., Hankeln T., Lieb B., Struck T.H, Hausdorf B. New phylogenomic data support the monophyly of Lophophorata and an Ectoproct-Phoronid clade and indicate that Polyzoa and Kryptozoa are caused by systematic bias //BMC

evolutionary biology. – 2013. – T. 13. – №. 1. – C. 253.

65. Nezlin L. P., Voronezhskaya E. E. Novel, posterior sensory organ in the trochophore larva of *Phyllodoce maculata* (Polychaeta) //Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. – 2003. – T. 270. – №. Suppl 2. – C. S159-S162.

66. Nezlin L. P. The golden age of comparative morphology: laser scanning microscopy and neurogenesis in trochophore animals //Russian journal of developmental biology. – 2010. – T. 41. – №. 6. – C. 381-390.

67. Nielsen C. On metamorphosis and ancestrula formation in cyclostomatous bryozoans //Ophelia. – 1970. – T. 7. – №. 2. – C. 217-256.

68. Nielsen C. The phylogenetic position of Entoprocta, Ectoprocta, Phoronida, and Brachiopoda //Integrative and Comparative Biology. – 2002. – T. 42. – №. 3. – C. 685-691.

69. Nielsen C. Larval and adult brains1 //Evolution & development. – 2005. – T. 7. – №. 5. – C. 483-489.

70. Nielsen C. Animal evolution: interrelationships of the living phyla. – Oxford University Press, 2012.

71. Nielsen C., Riisgård H. U. Tentacle structure and filter-feeding in *Crisia eburnea* and other cyclostomatous bryozoans, with a review of upstream-collecting mechanisms //Marine Ecology Progress Series. – 1998. – T. 168. – C. 163-186.

72. Nielsen C., Worsaae K. Structure and occurrence of cyphonautes larvae (Bryozoa, Ectoprocta) //Journal of Morphology. – 2010. – T. 271. – №. 9. – C. 1094-1109.

73. Nitsche H. Beiträge zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Phylactolaemen Süßwasserbryozoen insbesondere von *Alcyonella fungosa* Pall. sp: mit 4 Kupfertafeln und 2 Holzschnitten: Inaugural-Dissertation.. – Druck von Gebr. Unger (T. Grimm & F. Maass), 1868.

74. Nitsche H. Beiträge zur Kenntnis der Bryozoen. – 1871.

75. Oka A. Observations on fresh-water Polyzoa.(*Pectinatella gelatinosa*,

nov. sp.). – 1891.

76. Okuyama M., Wada H., Ishii T. Phylogenetic relationships of freshwater bryozoans (Ectoprocta, Phylactolaemata) inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences // *Zoologica Scripta*. – 2006. – T. 35. – №. 3. – C. 243-249.

77. Orrhage L., Müller M. C. M. Morphology of the nervous system of Polychaeta (Annelida) // *Morphology, molecules, evolution and phylogeny in Polychaeta and related taxa*. – Springer Netherlands, 2005. – C. 79-111.

78. Ostroumoff A. A. Contribution a l`etude zoologique et morphologique des bryozoariss du // *Archives slaves de biologie*. – 1886. – T. 2. – C. 8.

79. Ostrovsky A.N. Evolution of sexual reproduction in marine invertebrates. – 2013.

80. Passamaneck Y. J., Halanych K. M. Evidence from Hox genes that bryozoans are lophotrochozoans // *Evolution & development*. – 2004. – T. 6. – №. 4. – C. 275-281.

81. Piperno G., Fuller M. T. Monoclonal antibodies specific for an acetylated form of alpha-tubulin recognize the antigen in cilia and flagella from a variety of organisms // *The Journal of cell biology*. – 1985. – T. 101. – №. 6. – C. 2085-2094.

82. Reed C. G., Cloney R. A. Brachiopod tentacles: ultrastructure and functional significance of the connective tissue and myoepithelial cells in Terebratalia // *Cell and tissue research*. – 1977. – T. 185. – №. 1. – C. 17-42.

83. Reed C. G. Bryozoa // *Reproduction of marine invertebrates*. – 1991. – T. 6. – C. 85-245.

84. Rondelet G. *Universæ aquatiliū historiæ pars altera, cum veris ipsorum imaginibus*. Lyon, Mathias Bonhomme. – 1555.

85. Riisgård H. U., Nielsen C., Larsen P. S. Downstream collecting in ciliary suspension feeders: the catch-up principle // *Marine Ecology-Progress Series*. – 2000. – T. 207. – C. 33-51.

86. Riisgård H. U. et al. Ciliary feeding structures and particle capture

mechanism in the freshwater bryozoan *Plumatella repens* (Phylactolaemata) //Invertebrate Biology. – 2004. – T. 123. – №. 2. – C. 156-167.

87. Rusche E. Nahrungsaufnahme and Nahrungsauswertung bei *Plumatella fungosa* (Pallas) //Arch. Hydrobiol. – 1938. – T. 33. – C. 271-293.

88. Ruppert E. E., Barnes R. D., Fox R. S. Invertebrate zoology. – Saunders College Pub., 1994. – T. 6.

89. Saefftigen A. Das Nervensystem der phylactolaemen Süßwasser-Bryozoen // Zoologischer Anzeiger. – 1888. – V. 11(272). – P. 96–99.

90. Santagata S. The morphology and evolutionary significance of the ciliary fields and musculature among marine bryozoan larvae //Journal of Morphology. – 2008. – T. 269. – №. 3. – C. 349-364.

91. Schwaha T., Wanninger A. Myoanatomy and serotonergic nervous system of plumatellid and fredericellid phylactolaemata (lophotrochozoa, ectoprocta) //Journal of Morphology. – 2012. – T. 273. – №. 1. – C. 57-67.

92. Schwaha T., Wood T. S., Wanninger A. Myoanatomy and serotonergic nervous system of the ctenostome *Hislopia malayensis*: evolutionary trends in bodyplan patterning of ectoprocta //Frontiers in zoology. – 2011. – T. 8. – №. 1. – C. 11.

93. Schlawny A., Hamann T., Muller M.A., Pfannenstiel H.-D. The catecholaminergic system of an annelid (*Ophryotrocha puerilis*, Polychaeta) //Cell and tissue research. – 1991. – T. 265. – №. 1. – C. 175-184.

94. Shunatova N., Ostrovsky A. Group autozooidal behaviour and chimneys in marine bryozoans //Marine Biology. – 2002. – T. 140. – №. 3. – C. 503-518.

95. Shunatova N. N., Nielsen C. Putative sensory structures in marine bryozoans //Invertebrate Biology. – 2002. – T. 121. – №. 3. – C. 262-270.

96. Staudt T., Lang M.C., Medda R., Engelhardt J., Hell S.W. 2,

2'-Thiodiethanol: A new water soluble mounting medium for high resolution

optical microscopy //Microscopy research and technique. – 2007. – T. 70. – №. 1. – C. 1-9.

97. Temereva E. N., Tsitrin E. B. Organisation and metamorphic remodeling of the nervous system in *Phoronopsis harmeri* larvae (Lophotrochozoa: Phoronida): new questions concerning the old problem of “lophophorates” phylogeny //Frontiers in zoology. – 2014. [in press]

98. Temereva E., Wanninger A. Development of the nervous system in *Phoronopsis harmeri* (Lophotrochozoa, Phoronida) reveals both deuterostome-and trochozoan-like features //BMC evolutionary biology. – 2012. – T. 12. – №. 1. – C. 121.

99. Toriumi M. Taxonomical study on fresh-water Bryozoa. XVII. General consideration: Interspecific relation of described species and phylogenic consideration //Science Reports of Tohoku University Series IV (Biology). – 1956. – T. 22. – C. 57-88.

100. Trembley A. Mémoires, pour servir à l'histoire d'un genre de polypes d'eau douce, à bras en forme de cornes. Par A. Trembley, de la Société Royale. – chez Jean & Herman Verbeek, 1744.

101. Van Beneden P. J. Exercices zootomiques: Mémoire sur la Cymbulie de Péron; Mémoire sur un nouveau genre de Mollusques, voisin des Cymbulies, du Golfe de Naples; Mémoire sur l'anatomie des genres Hyale, Cléodore et Cuvierie //Nouveaux Mémoires de l'Académie Royale des Sciences et des Belles-Lettres de Bruxelles. In 4°(1820-1845). – 1839. – T. 12.

102. Verworn M. Beitrage zur Kenntnis der Susswasserbryozoen // Zeitschr. F. wiss. Zool. XLVI – 1887.

103. Vigelius W.J. Morphologische Untersuchungen über *Flustra membranaceo-truncata* Smith // Biologisches Zentralblatt. – 1894. –V. 3. – P. 705–721.

104. Waeschenbach A. et al. The complete mitochondrial genome of *Flustrellidra hispida* and the phylogenetic position of Bryozoa among the Metazoa

//Molecular phylogenetics and evolution. – 2006. – T. 40. – №. 1. – C. 195-207.

105. Waeschenbach A., Taylor P. D., Littlewood D. T. J. A molecular phylogeny of bryozoans //Molecular phylogenetics and evolution. – 2012. – T. 62. – №. 2. – C. 718-735.

106. Wanninger A. Comparative lophotrochozoan neurogenesis and larval neuroanatomy: recent advances from previously neglected taxa //Acta Biologica Hungarica. – 2008. – T. 59. – C. 127-136.

107. Wanninger A. Shaping the things to come: ontogeny of lophotrochozoan neuromuscular systems and the Tetraneuralia concept //The Biological Bulletin. – 2009. – T. 216. – №. 3. – C. 293-306.

108. Wanninger A., Koop D., Degan B. M. Immunocytochemistry and metamorphic fate of the larval nervous system of *Triphyllozoon mucronatum* (Ectoprocta: Gymnolaemata: Cheilostomata) //Zoomorphology. – 2005. – T. 124. – №. 4. – C. 161-170.

109. Wood T. S., Lore M. B. The higher phylogeny of phylactolaemate bryozoans inferred from 18S ribosomal DNA sequences //Bryozoan studies. Taylor & Francis, London. – 2005. – C. 361-367.

110. Wilcox A. W. Locomotion in young colonies of *Pectinatella magnifica* //The Biological Bulletin. – 1906. – T. 11. – №. 5. – C. 245-252.

111. Winston J. E. et al. Current-related morphology and behaviour in some Pacific coast bryozoans //Advances in bryozoology. – 1979. – T. 13. – C. 247-268.

112. Zaitseva O. V. et al. Investigation of Cell Composition of the Intestinal Nervous System in Gastropods, Nemertins and Priapulids //Proc. Zool. Inst. Russ. Acad. Sci. – 2004. – T. 300. – C. 175-184.