

УДК 595.132

ОСОБЕННОСТИ ИННЕРВАЦИИ ЩУПАЛЕЦ *Flustrellidra hispida* И ЭВОЛЮЦИЯ ЛОФОФОРА У Bryozoa

© 2021 г. М. А. Исаева¹, И. А. Косевич¹, Е. Н. Темерева^{1,*}

Представлено академиком РАН В.В. Малаховым

Поступило 01.10.2020 г.

После доработки 13.10.2020 г.

Принято к публикации 15.10.2020 г.

Изучение организации лофофора имеет большое значение для анализа филогении Lophophorata и понимания путей эволюционных преобразований внутри каждой группы лофофорных животных. Иннервация лофофора у мшанок *Flustrellidra hispida* изучена методами иммуоцитохимии и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. Впервые показано, что у этого вида имеется внешнее нервное кольцо, которое дает начало нервам, иннервирующим щупалеца. Ранее внешнее нервное кольцо было описано у других Stenostomata, а также у Cyclostomata. Однако у ранее исследованных видов внешнее нервное кольцо не связано с какими бы то ни было нервами. Обнаруженная особенность иннервации лофофора *F. hispida* позволяет предполагать эволюционный ряд трансформации лофофора мшанок от гипотетического форонидоподобного предка с крупным внешним нервным кольцом и отходящими от него многочисленными нервами щупалец, к сложному колоколообразному лофофору *F. hispida* с выраженным внешним нервным кольцом и немногочисленными щупальцевыми нервами, к другим ктеностоматам, внешнее нервное кольцо которых не связано со щупальцевыми нервами, и далее к хейлостоматам, у которых внешнее нервное кольцо отсутствует вовсе.

Ключевые слова: Lophophorata, лофофор, нервная система, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

DOI: 10.31857/S2686738921010108

Мшанки (Bryozoa) – отдельный тип беспозвоночных животных, положение которого на древе Bilateria до сих пор точно не определено. Согласно данным молекулярной филогенетики мшанки либо стоят особняком от всех других Lophotrochozoa, либо вместе с Kamptozoa и Cyclophora формируют кладу Polyzoa [1, 2]. Однако традиционно мшанки рассматриваются в составе надтиповой группы Lophophorata, которая, кроме мшанок, включает форонид и брахиопод. Монофилия лофофорат была подтверждена результатами сравнительно-анатомического анализа [3, 4], а также новыми данными молекулярно-генетического анализа [5, 6]. Для всех лофофорат характерно наличие особого щупальцевого органа – лофофора, который, вероятно, появился у далекого общего предка лофофорат и затем по-разному эволюционировал у форонид, брахиопод и мшанок [4]. Мнения о путях эволюционных пре-

образований лофофора у мшанок противоречивы [3, 7, 8].

Целью настоящей работы было изучение иннервации лофофора у ктеностоматной мшанки *Flustrellidra hispida*.

Материалом для работы послужили колонии *Flustrellidra hispida* (Fabricius, 1780), собранные в окрестностях беломорской биологической станции МГУ имени М.В. Ломоносова (ББС МГУ). Зооиды расслабляли в растворе MgCl₂ и фиксировали 4% параформальдегидом на 0.1М фосфатном буфере. После отмывки в фосфатном буфере с 5% Triton-X100 зооиды инкубировали в блокр-растворе с 1% бычьим сывороточным альбумином, 0.1% cold fish skin gelatin, 0.5% Triton-X100 и 0.05% Tween 20 в течение 24 ч. Подготовленный материал инкубировали при +4°C в течение 72 ч в растворе первичных антител к серотонину и тиронизированному альфа-тубулину. После отмывки в блокр-растворе зооидов инкубировали во вторичных антителах, отмывали, заключали в смесь бензилового спирта и бензил-бензоата и просматривали в лазерном конфокальном микроскопе Nikon Eclipse Ti (Tokyo, Japan), установленном

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e-mail: temereva@mail.ru

на ББС МГУ. Z-проекция были сделаны в программе ImageJ 1.43.

Flustrellidra hispida имеет колоколообразный лофофор, несущий 26 щупалец. Каждое щупальце *F. hispida* иннервируется двумя продольными нервами — фронтальным и абфронтальным (рис. 1а). Абфронтальный нерв очень крупный, состоит из большого числа нервных волокон и связан с ресничными сенсорными органами, расположенными вдоль абфронтальной стороны каждого щупальца. Абфронтальный щупальцевый нерв начинается двумя крупными корешками от длинных, тонких межщупальцевых нервов, которые тянутся от циркуморального нервного кольца. Каждый межщупальцевый нерв имеет сложное строение: в его состав входят как нервные тракты, идущие непосредственно от церебрального ганглия, так и крупный аксон серотонинэргической чувствительной клетки, которая располагается между щупальцами. Всего у *F. hispida* насчитывается 24 такие клетки, располагающиеся с внутренней стороны лофофора, однако, чувствительный жгутик которых проходит между щупальцами с внешней стороны лофофора. Циркуморальное нервное кольцо состоит из двух частей, расположенных одна над другой (рис. 1а). Нижняя часть циркуморального нервного кольца формируется межщупальцевыми нервами, которые проходят вокруг глотки, частично сливаются друг с другом, формируя более крупные нервные тракты, и переходят в латеральный нервный плексус церебрального ганглия. Верхняя часть циркуморального нервного кольца связана с церебральным ганглием тонкими латеральными корешками и представляет собой крупный пучок нервных волокон, имеющий форму полукольца, разомкнутого на оральной стороне тела. От верхней части циркуморального нервного кольца берут начало фронтальные нервы щупалец.

У *F. hispida* было обнаружено внешнее нервное кольцо, проходящее по периметру лофофора с его внешней стороны (рис. 1а). Наружное нервное кольцо образовано двумя-тремя нервными волокнами, которые демонстрируют и серотонинэргическую (рис. 1в), и тубулинэргическую (рис. 1в) иммунореактивность. Наружное нервное кольцо связано с тонкими серотонинэргическими нейритами, которые проходят с внешней стороны щупальцевой ламеллы до групп внешних серотонинэргических клеток и дальше к одному из корешков абфронтального щупальцевого нерва (рис. 1б). Эти нейриты входят в состав абфронтальных нервов и проходят вдоль всего щупальца.

Иннервация лофофора мшанок исследована довольно подробно для представителей основных групп: Phylactolaemata, Cyclostomata и Gymnolaemata, включая Stenostomata и Cheilostomata [3, 7,

10, 11]. Для всех исследованных видов характерно наличие циркуморального нервного кольца, связанного с крупными межщупальцевыми серотонинэргическими перикариями, и от которого берут начало щупальцевые нервы. Число щупальцевых нервов может быть различно и варьирует от 2 до 6 у представителей разных групп. Наиболее сложно иннервированы щупальца у филактолематных и циклостоматных мшанок — в каждом щупальце у них проходит 6 нервных трактов: медиофронтальный, медиоабфронтальный, пара латерофронтальных и пара латероабфронтальных. У большинства голоротых мшанок в каждом щупальце проходит 4 нервных тракта: медиофронтальный, медиоабфронтальный и пара латерофронтальных. Из голоротых мшанок 2 раза подряд только 2 нервных тракта, проходящих вдоль всего щупальца: медиофронтальный и медиоабфронтальный. Как показывают результаты настоящей работы, другая ктеностоматная мшанка — *F. hispida* — также имеет всего два нервных тракта в каждом щупальце. Возможно, наличие двух нервных трактов в щупальцах — это общая черта иннервации щупалец у Stenostomata. У других лофофорат — форонид и брахиопод — наиболее типичное число щупальцевых нервов — 6. Если отталкиваться от идеи монофилии Lophophorata, то уменьшение числа щупальцевых нервных трактов у мшанок следует рассматривать как вторичное явление.

Особенностью иннервации щупалец у *F. hispida* является наличие выраженного внешнего нервного кольца, дающего начало серотонинэргическим нейритам абфронтальных щупальцевых нервов. Внешнее нервное кольцо впервые было описано у *A. gracilis* [3], а затем обнаружено у нескольких представителей циклостоматных мшанок — *Crisia eburnea* [9] и *Cinctipora elegans* [10]. Необходимо отметить, что у всех упомянутых видов мшанок внешнее нервное кольцо не участвует в иннервации щупалец и не связано ни с какими щупальцевыми нервами. Более того, оно не дает и никаких других нервов. В этом контексте внешнее нервное кольцо *F. hispida* представляется структурой гораздо более сложной, чем это считалось ранее для других видов мшанок.

Согласно данным сравнительно-анатомического анализа внешнее нервное кольцо мшанок может быть гомологизировано со щупальцевым нервным кольцом форонид и нижним брахиальным нервом брахиопод [4, 12]. И у форонид, и у брахиопод эти нервы участвуют в иннервации щупалец и дают начало абфронтальным и латероабфронтальным щупальцевым нервам. Если исходить из идеи монофилии Lophophorata, то наличие внешнего нервного кольца, принимающего участие в иннервации щупалец, вероятно, следует рассматривать как анцестральное состояние, тогда как редукция внешнего нервного коль-

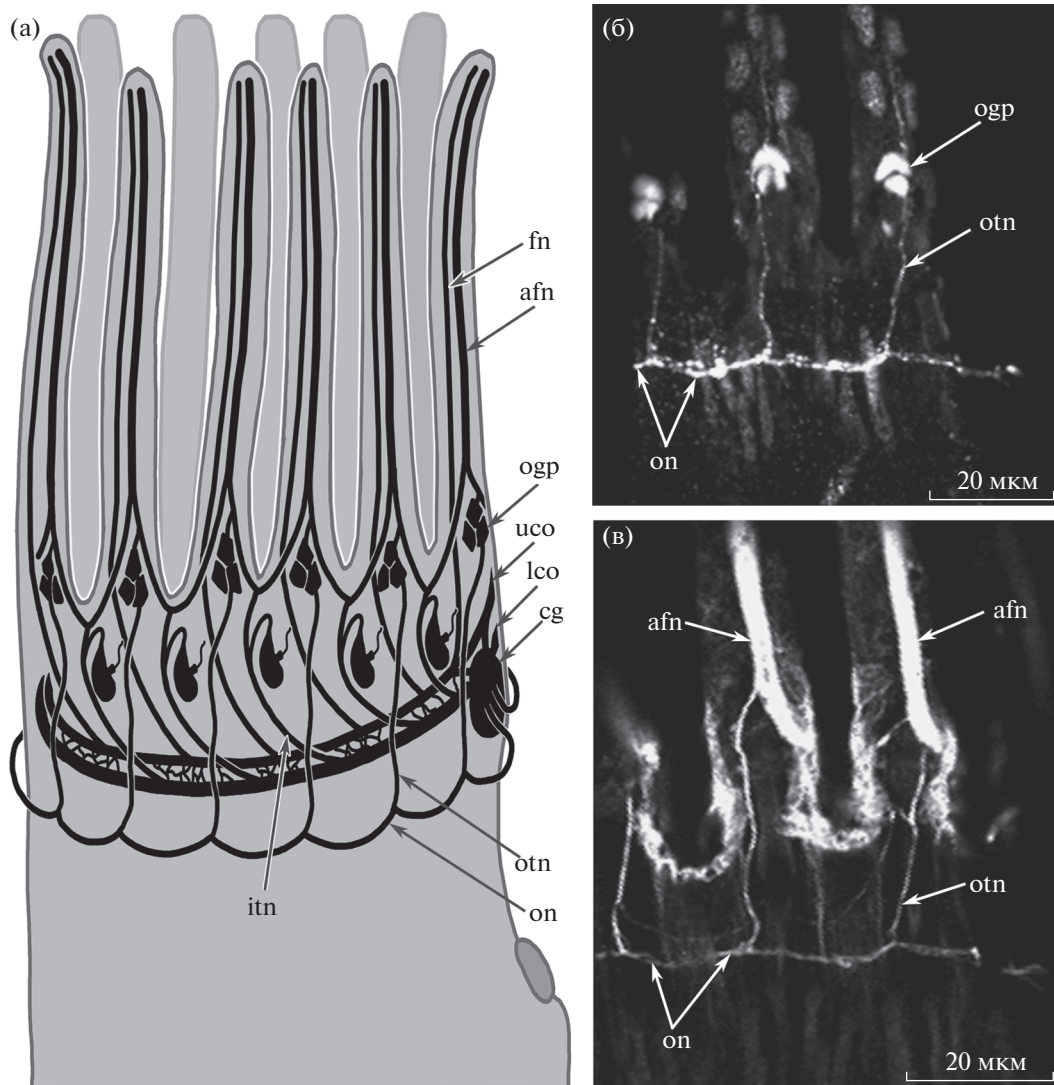


Рис. 1. Иннервация щупалец у мшанки *Flustrellidra hispida*. (а) – Схема нервных трактов лофофора, основанная на данных иммуноцитохимического окрашивания антителами к серотонину и тиронизированному альфа-тубулину. Число щупалец уменьшено. (б) – Максимальная Z-проекция четырех слайдов из стека с оральной стороны тела. Окраска антителами к серотонину. (в) – Максимальная Z-проекция четырех слайдов из стека с оральной стороны тела. Окраска антителами к тиронизированному альфа-тубулину. Обозначения: (afn) – абфронтальный щупальцевый нерв, (cg) – церебральный ганглий, (fn) – фронтальный щупальцевый нерв, (itn) – межщупальцевый нерв, (lco) – нижняя зона циркуморального нервного кольца, (ogp) – группы внешних щупальцевых перикариев, (on) – наружное нервное кольцо, (otn) – внешние нервы, (uco) – верхняя зона циркуморального нервного кольца.

ца и связанных с ним щупальцевых нервов – это вторичное явление, связанное, возможно, с уменьшениями размеров тела и лофофора. В этом случае эволюционные преобразования лофофора мшанок можно представить как следующий гипотетический ряд: (i) анцестральный относительно сложный лофофор с большим числом щупалец и двумя нервными кольцами, дающими начало крупным щупальцевым нервам; (ii) состояние, описанное в настоящей работе для *F. hispida* – наличие двух нервных колец, из которых внешнее дает лишь тонкие нейриты в щупальца, а внутреннее осуществляет основную иннервацию щупалец;

(iii) состояние, описанное для *A. gracilis*, *C. eburnea* и *C. elegans* – наличие внешнего нервного кольца, никак не связанного с иннервацией щупалец; (iv) состояние, характерное для большинства Cheilostomata, – полное отсутствие внешнего нервного кольца и иннервация щупалец только от циркуморального нервного кольца.

С другой стороны, наличие лишь двух нервных трактов в щупальцах *F. hispida* может свидетельствовать об исходно небольших размерах лофофора, а увеличение числа щупалец, возможно, явление вторичное, которое и привело к появлению дополнительных нервных трактов у этого вида. В

то же время наличие внешнего нервного кольца у мшанок с очень небольшим лофофором (*A. gracilis*, *C. eburnea* и *C. elegans*) ставит под сомнение это предположение.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 18-14-00082).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hejnol A., Obst M., Stamatakis A., Ott M., Rouse G.W., Edgecombe G.D., Martinez P., Baguñà J., Bailly X., Jondelius U., Wiens M. // Proceedings of the Royal Society B: Biol. Sciences. 2009. V. 276. № 1677. P. 4261–4270.
2. Kocot K.M., Struck T.H., Merkel J., Waits D.S., Todt C., Brannock P.M., Weese D.A., Cannon J.T., Moroz L.L., Lieb B., Halanych K.M. // Syst. Biol. 2017. V. 66. № 2. P. 256–282.
3. Temereva E.N., Kosevich I.A. // BMC Evol. Biol. 2016. V. 16. № 1. P. 1–24.
4. Temereva E.N. // Sci. Rep. 2017. V. 7. P. 1–16.
5. Marletaz F., Peijnenburg K., Goto T., Satoh N., Rokhsar D. // Curr. Biol. 2019. V. 29. № 2. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.11.042>
6. Zverkov O.A., Mikhailov K.V., Isaev S.V., Rusin L.Y., Popova O.V., Logacheva M.D., Penin A.A., Moroz L.L., Panchin Y.V., Lyubetsky V.A., Aleoshin V.V. // Front Genet. 2019. V. 10. №. 443.
7. Schwaha T.F., Wanninger A. // BMC Evol. Biol. 2015. V. 15. № 223. <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0508-9>
8. Schwaha T.F., Ostrovsky A.N., Wanninger A. // Biol. Rev. 2020. V. 95. P. 696–729.
9. Temereva E.N., Kosevich I.A. // Front. Zool. 2018. V. 15. № 1. P. 48.
10. Schwaha T.F., Handschuh S., Ostrovsky A.N., Wanninger A. // BMC Evol. Biol. 2018. V. 18. № 1. P. 92.
11. Worsaae K., Frykman T., Nielsen C. // Acta Zool. 2018. V. 101. № 2. P. 133–146.
12. Temereva E.N., Kosevich I.A. // Invertebr. Zool. 2018. V. 15. P. 366–372.

PECULIARITIES OF TENTACLES INNERVATION OF *Flustrellidra hispida* AND EVOLUTION OF LOPHOPHORE IN Bryozoa

M. A. Isaeva^a, I. A. Kosevich^a, and E. N. Temereva^{a, #}

^a Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

[#]e-mail: temereva@mail.ru

Presented by academician of the RAS V.V. Malakhov

The study of the lophophore organization is of great importance for the reconstruction of lophophorates phylogeny and for understanding of evolutionary transformation occurred within each phylum of Lophophorata. The innervation of the lophophore of ctenostome bryozoan *Flustrellidra hispida* was studied by immunocytochemistry and confocal laser scanning microscopy. It was shown for the first time that this species has an outer nerve ring, giving rise to the tentacle nerves. Formerly, the outer nerve ring was described in some ctenostomates and cyclostomates, but it has no connection to any nerves. The discovered feature of lophophore innervation of *F. hispida* allows to suggest the evolutionary transformation from a phoronida-like ancestor lophophore, bearing prominent outer nerve ring with numerous tentacle nerves emanating from it, to the complicated bell-shaped lophophore of *F. hispida* with well pronounced outer nervous ring bearing a few tentacle nerves. Next one in this hypothetical row will be the lophophore of the other ctenostomates and some cyclostomates with an outer nerve ring having no connection to any nerves, and cheilostomates lophophore, lacking an outer nerve ring at all.

Keywords: Lophophorata, lophophore, nervous system, confocal laser scanning microscopy