

УДК 595.123:591.8

## МОРФОГЕНЕЗ КОЖНО-МЫШЕЧНОГО МЕШКА ПЛАНАРИЙ *DUGESIA LUGUBRIS* (DUGESIIDAE) И *DENDROCOELUM LACTEUM* (DENDROCOELIDAE)

А. О. Чернышева, Ю. П. Канана

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины,  
ул. Б. Хмельницкого, 15, Киев, 01601 Украина

Принято 28 апреля 2007

**Морфогенез кожно-мышечного мешка планарий *Dugesia lugubris* (Dugesiiidae) и *Dendrocoelum lacteum* (Dendrocoelidae).** Чернышева А. О., Канана Ю. П. – Формирование кожно-мышечного мешка планарий *Dugesia lugubris* Schmidt, 1861 и *Dendrocoelum lacteum* Müller, 1774 изучалось на датированном материале – от 3 мин до 27 сут постэмбриогенеза. Установлено, что последовательность формирования элементов кожно-мышечного мешка планарий связана с обеспечением функции локомоции при увеличении их размеров. В формировании кожно-мышечного мешка планарий в определенной мере отражен путь эволюционного усовершенствования от отдельных мышечных клеток Acoela до уровня кожно-мышечного мешка Tricladida.

**Ключевые слова:** постэмбриогенез, турбеллярии, планарии, эпителий, мышечная клетка, кожно-мышечный мешок.

**Morphogenesis of Skin-Muscular Sac of Planarians *Dugesia lugubris* (Dugesiiidae) and *Dendrocoelum lacteum* (Dendrocoelidae).** Chernysheva A. O., Kanana Yu. P. – We studied the skin-muscular sac formation of the triclad *Dugesia lugubris* Schmidt, 1861 and *Dendrocoelum lacteum* Müller, 1774 using dated material – from 3 min to 27 days of postembryogenesis. It is found that the sequence of skin-muscular sac elements formation of planarians is correlated to provision of locomotion while the size increases. The way of evolutionary improvement from single muscle cells of the Acoela up to the level of skin-muscular sac of the Tricladida partly reflects the formation of planarian skin-muscular sac.

**Key words:** postembryogenesis, turbellarians, planarians, epithelium, muscle cell, skin-muscular sac.

### Введение

Имеющиеся в литературе сведения дают представление об уровне развития и широком спектре морфологического разнообразия опорно-двигательного аппарата турбеллярий (Беклемишев, 1964; Заварзин, 1976; Мамкаев, 1991; Hooge, 2001; Tyler, Rieger, 1999 и др.). Турбеллярии из разных отрядов демонстрируют состояния мускулатуры от отдельных мышечных клеток Acoela (Archsoorhoga) до специализированной дифференцированной мускулатуры Neoorhoga.

Существенным пробелом изучения кожно-мышечного мешка турбеллярий является, по нашему мнению, отсутствие сведений о формировании его элементов в онтогенезе. Между тем для понимания морфофункциональных особенностей весьма перспективно именно сравнительно-морфологическое исследование кожно-мышечного мешка в процессе онтогенеза.

Цель настоящего исследования – изучение формирования кожно-мышечного мешка триклад в постэмбриогенезе на примере двух планарий – *Dugesia lugubris* O. Schmidt, 1861 (Dugesiiidae) и *Dendrocoelum lacteum* Müller, 1774 (Dendrocoelidae).

### Материал и методы

Исследование проведено на планариях разных возрастов, выращенных из коконов лабораторных культур. Отобранные для культивирования коконы содержались в стеклянных емкостях при температуре 18–22°C в ежедневно сменяемой смеси водопроводной и дистиллирован-

ной воды — соотношение 2 : 1. Вышедших из коконов планарий содержали до нужного возраста в таких же условиях, подкармливая трубочником.

Планарий фиксировали через 3, 15, 60 мин, а затем 1, 2, 4 и 27 сут после выхода из коконов. При подготовке материала использовали традиционные для светооптических исследований методы: фиксацию жидкостью Буэна, дегидратацию этанолом и заливку в парафин. Серийные сагиттальные, фронтальные и поперечные срезы окрашивали гематоксилином Гейденгайна, по Кацнельсону (1953) и оригинальным методом Маллори.

Изучение постоянных препаратов проведено на микроскопе МБИ—6. Размеры структур определяли с помощью окуляр-микрометра общепринятым способом. Съемки проведены на микроскопе Olympus BX—41, с помощью программы Olympus C—5050 ZOOM.

## Результаты и обсуждение

Размеры планарий в период 3—60 мин после выхода из коконов составляют 1,5—2,0 мм.

В этот период развития у планарий обоих видов в составе кожно-мышечного мешка определяется однорядный уплощенный эпителий с железистыми элементами, тонкая соединительнотканная прослойка соответствующая топографически базальной мембране, субтегументальные мышечные клетки. Паренхима представлена синцитием, морфологически соответствующим эмбриональному. Все остальные перечисленные элементы также существенно отличны по морфологическому состоянию от таковых половозрелых червей как по ряду качественных, так и количественных признаков. Выражена слабая дифференцированность эпителия, содержащего меньшее количество сформированных рабдитных и иных железистых клеток (рис. 1). Высота эпителиальных клеток планарий на дорсальной поверхности составляет в среднем 2,0 мкм, на вентральной — 1,4 мкм (табл. 1). Субэпидермальная мускулатура представлена отдельными клетками, связанными между собой. Для *Dendrocoelum lacteum* средние значения толщины субэпидермальной мускулатуры составляют 1,4 мкм. Неупорядоченность, выраженная в том, что не все мышечные клетки у *Dugesia lugubris* ориентированы параллельно поверхности, явилась препятствием для определения толщины субэпидермального мышечного слоя. Одновременно это может свидетельствовать о меньшей по сравнению с *Dendrocoelum lacteum* дифференцированности субэпидермальной мускулатуры в указанный период развития.

Дорсовентральная мускулатура планарий находится в начальной стадии формирования: малочисленные веретеновидные мышечные клетки ориентированы дорсовентрально, но не объединены между собой, не достигают уровня субтегумента и не связаны топографически с субэпидермальной мускулатурой, как у взрослых червей. Перечисленные признаки свидетельствуют о несформированности этого элемента кожно-мышечного мешка. Средние размеры дорсовентральных мышечных клеток планарий 1,4 x 11,6 мкм, что тоже не соответствует их размерам у взрослых экземпляров.

Через 24 ч после выхода из коконов длина тела червей практически не изменилась, но произошли существенные изменения состояния эпителия. Высота его на дорсальной поверхности *Dugesia lugubris* увеличилась до 8,4 мкм, а на вентральной — до 6,0 мкм. Для *Dendrocoelum lacteum* определена высота только дорсального эпителия — 3,4 мкм (табл. 1).

Увеличение высоты эпителия в первые сутки постэмбриогенеза отражает активность процессов развития отдельных клеток и эпителиального слоя в целом за счет встраивания новых клеток разных типов, которые экспортируются из зоны периферической паренхимы (Дробышева, 1991). Хотя высота эпителия *Dugesia lugubris* существенно больше, чем у *Dendrocoelum lacteum*, в его качественном состоянии существенных различий нет. Субэпидермальная мускулатура *Du-*

*gesia lugubris* за этот же период формируется до такого состояния, что можно определить ее границы и толщину — 3,1 мкм. Дорсовентральная мускулатура остается несформированной.

Период двух суток после выхода из коконов для обоих видов планарий характеризуется активными процессами наращивания массы субэпидермальной мускулатуры, эпителиального пласта и связанного с ним комплекса базальной пластинки (табл. 1).

Четвертые сутки развития планарий характеризуются прежде всего увеличением длины их тела практически вдвое — до 4,0—4,5 мм. В это время у планарий эпителий утрачивает уплощенность и приобретает практически кубическую форму, характерную для взрослых экземпляров. Средняя высота дорсального эпителия составляет 9,2 мкм, вентрального — 7,5 мкм у *Dugesia lugubris*, а для *Dendrocoelum lacteum* — 8,4 и 5,8 мкм соответственно. Итак, в период первых четырех суток постэмбриогенеза у *Dugesia lugubris* средние значения высоты дорсального и вентрального эпителия увеличились на треть. Между тем высота вентрального и дорсального эпителия *Dendrocoelum lacteum* за этот же период уменьшилась и составляет в среднем 8,4 и 5,8 мкм.

Весьма существенные изменения на четвертые сутки постэмбриогенеза мы зафиксировали в морфологических картинах субэпидермальной и дорсовентральной мускулатуры планарий. Уже практически сформированы субэпидермальные мышцы, что прежде всего выражено разделением отдельных мышечных тяжей и наполнением образовавшихся промежутков прослойками соединительной ткани, как у взрослых червей (рис. 2). Толщина субэпидермальных мышц у планарий составляет 4,0 мкм. Таким образом, этот показатель не изменился в период от 2 до 4 сут постэмбриогенеза у *Dugesia lugubris* и мало изменился в сторону увеличения у *Dendrocoelum lacteum*.

На четвертые сутки постэмбриогенеза у планарий уже есть ориентированные дорсовентрально тяжи мышечных клеток, связанных между собой топографически (рис. 2). Это дает нам возможность определить структуры как дорсовентральную мускулатуру, хотя еще не полностью сформированную. Средняя толщина их у *Dugesia lugubris* 1,4 мкм, а у *Dendrocoelum lacteum* 2,4 мкм. Отдельные клеточные тяжи дорсовентральных мышц образуют практически параллельные ряды, ориентированные перпендикулярно поверхности тела червей. В этот период развития еще нет контакта между дорсовентральной и субтегументальной мускулатурой, хотя прослеживается тенденция обязательного для кожно-мышечного мешка взрослых червей их морфофункционального единства. Морфологически это проявляется в том, что дорсовентральные волокна практически достигают уровня субтегументальных.

На 27-е сут постэмбрионального развития кожно-мышечный мешок планарий морфологически соответствует уровню развития половозрелых экземпляров (рис. 3, 4). Высота дорсального эпителия у *Dugesia lugubris* в среднем 13,0, вентрального — 9,4 мкм. Для *Dendrocoelum lacteum* эти показатели составили соответственно 15,2 и 8,4 мкм (табл. 1). Субэпидермальная мускулатура у *Dugesia lugubris* в среднем 4,5 мкм, а у *Dendrocoelum lacteum* — 7,6 мкм. Дорсовентральная мускулатура представлена сплошными тяжами толщиной 3,8 мкм у *Dugesia lugubris* и 5,7 мкм у *Dendrocoelum lacteum*, которые четко отделены соединительной тканью от окружающей паренхимы. Следует отметить, что на этом этапе постэмбриогенеза в полном объеме определяется конструктивное единство мышечных элементов дорсовентральной и субэпидермальной мускулатуры планарий. Из приведенных фактов мы делаем вывод о том, что формирование дорсовентральной мускулатуры планарий начинается на 4-е и завершается к 27-м сут постэмбриогенеза.

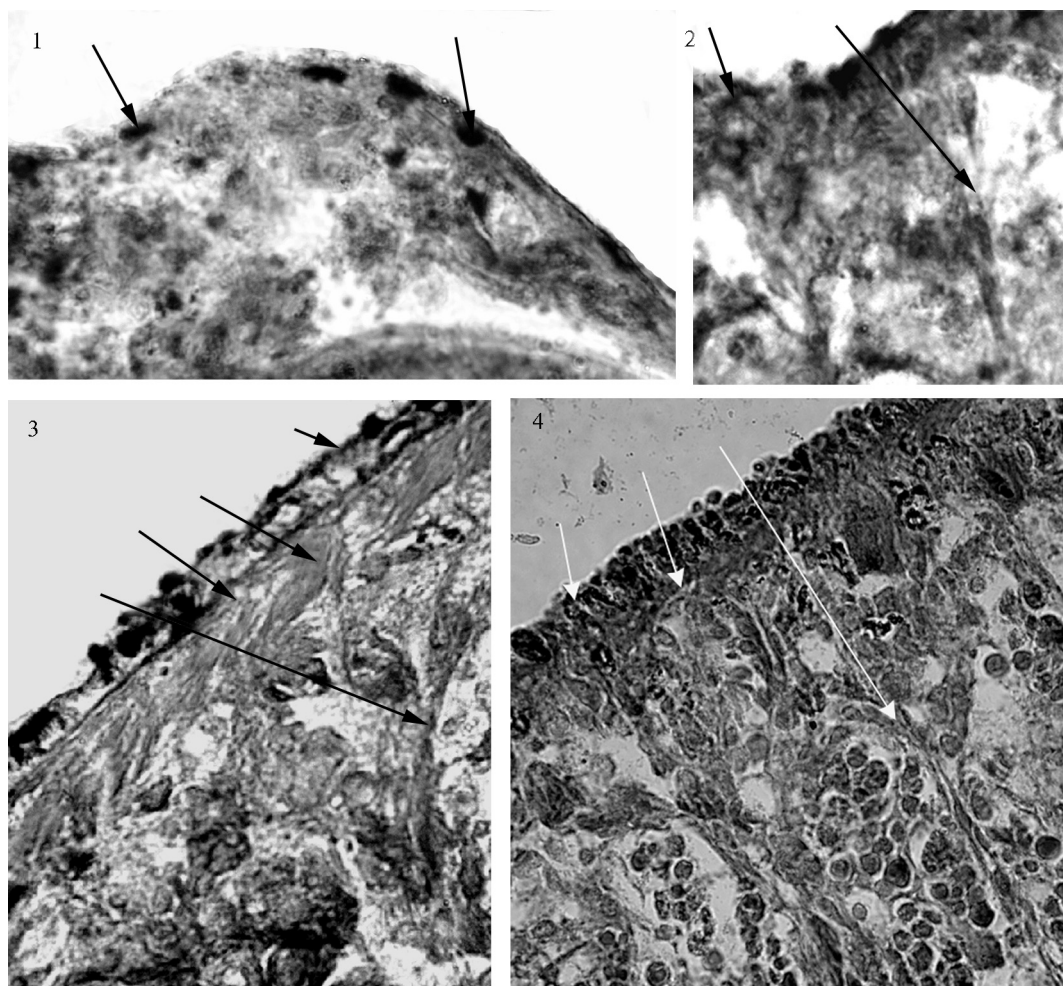


Рис. 1. *Dugesia lugubris*. 15 мин постэмбрионального развития (гематоксилин Гейденгайна; x 400). Обозначены клетки эпителия.

Fig. 1. *Dugesia lugubris* after 15 minutes of postembryonic development (Heidenhain's hematoxylin; x 400). Arrows mark epithelial cells.

Рис. 2. *Dendrocoelum lacteum*. 4 сут постэмбрионального развития (гематоксилин Гейденгайна; x 400). Слева направо обозначены эпителий, субэпидермальные мышцы, дорсовентральные мышцы.

Fig. 2. *Dendrocoelum lacteum* after 4 days of postembryonic development (Heidenhain's hematoxylin; x 400). Arrows mark epithelial cells, subepidermal and dorsoventral muscles from left to right correspondingly.

Рис. 3. *Dugesia lugubris*. 27 сут постэмбрионального развития (гематоксилин Гейденгайна; x 400). Слева направо обозначены дорсовентральные, продольные и диагональные мышцы, эпителий.

Fig. 3. *Dugesia lugubris* after 27 days of postembryonic development (Heidenhain's hematoxylin; x 400). Arrows mark dorsoventral, longitudinal and diagonal muscles and epithelium from left to right correspondingly.

Рис. 4. *Dugesia lugubris*. 27 сут постэмбрионального развития (метод Маллори; x 400). Слева направо обозначены эпителий, субэпидермальные и дорсо-вентральные мышцы.

Fig. 4. *Dugesia lugubris* after 27 days of postembryonic development (Mallory; x 400). Arrows mark epithelium, subepidermal and dorsoventral muscles from left to right correspondingly.

Сравнительное изучение датированного материала, что следует из приведенных выше данных, позволяет установить последовательность формообразующих процессов с первых минут постэмбриогенеза и до их завершения. Активная дифференциация клеток паренхимы планарий в первые сутки постэмбриогенеза связана с закладкой и развитием дефинитивных структур, в первую очередь

Таблица 1. Размеры элементов кожно-мышечного мешка планарий, мкм  
Table 1. Measurements of elements of the planarians skin-muscular sac,  $\mu\text{m}$

Время развития	Эпителий дорсальный	Эпителий вентральный	Дорсовентральные клетки, мышцы	Субэпидермальные мышцы	n
<i>Dugesia lugubris</i>					
15—60 мин	2, 0 $\pm$ 0, 0	1, 4 $\pm$ 0, 0	1, 4 x 11, 6	—	7
24 ч	8, 4 $\pm$ 1, 1	6, 0 $\pm$ 0, 7	—	3, 1 $\pm$ 0, 7	16
48 ч	6, 8 $\pm$ 0, 0	5, 4 $\pm$ 0, 0	—	4, 0 $\pm$ 0, 0	8
4 сут	9, 2 $\pm$ 0, 0	7, 5 $\pm$ 0, 8	1, 4 $\pm$ 0, 0	4, 0 $\pm$ 0, 0	15
27 сут	13, 0 $\pm$ 3, 8	9, 4 $\pm$ 4, 6	3, 8 $\pm$ 1, 3	4, 5 $\pm$ 1, 9	17
<i>Dendrocoelum lacteum</i>					
15—60 мин	2, 0 $\pm$ 0, 0	1, 4 $\pm$ 0, 0	1, 4 x 11, 6	1, 4 $\pm$ 0, 0	8
24 ч	3, 4 $\pm$ 0, 0	—	—	—	7
48 ч	9, 1 $\pm$ 0, 8	6, 8 $\pm$ 0, 0	—	3, 5 $\pm$ 0, 7	13
4 сут	8, 4 $\pm$ 0, 9	5, 8 $\pm$ 1, 3	2, 4 $\pm$ 0, 4	4, 0 $\pm$ 0, 0	15
27 сут	15, 2 $\pm$ 0, 9	8, 4 $\pm$ 0, 9	5, 7 $\pm$ 0, 9	7, 6 $\pm$ 0, 6	16

элементов половой и пищеварительной системы (Чернышева, 2002 б). Возможно, именно этим процессом и объясняется отсутствие качественных изменений в строении кожно-мышечного мешка планарий в первые сутки их развития.

Установлено, что дорсальный и вентральный эпителий планарий в ходе развития претерпевают существенные изменения формы клеток от уплощенных до кубических. Это связано с увеличением плотности клеточных элементов за счет миграции клеток всех типов — эпителиальных, рабдитных, железистых — из субэпидермальной части паренхимы и встраиванием их в эпителиальный пласт. Процесс уплотнения клеток в эпителиальном пласте происходит параллельно с их развитием до функционального состояния. Аналогом этому может быть последовательность формирования эпителиального пласта в процессе экспериментальной регенерации планарий, когда раневая поверхность сначала затягивается уплощенными за счет растяжения по ее поверхности эпителиальными клетками соседних участков с последующей достройкой новыми элементами и, соответственно, изменением формы клеток на нормальную: кубическую или вытянутую (Сахарова, 1972 и др.). Следовательно, лабильность формы клеток эпителия при его формировании характерна для покровов планарий. Отмеченная меньшая дифференцированность эпителия *Dugesia lugubris*, выраженная количеством рабдитных и железистых элементов, может быть отображением эволюционной продвинутой *Dendrocoelidae* относительно *Dugesiiidae*.

В пользу высказанного предположения свидетельствует и состояние субэпидермальной мускулатуры планарий после их выхода из коконов — более упорядоченное, интегрированное у *Dendrocoelum lacteum*. Однако дорсовентральная мускулатура обеих планарий развивается синхронно со вторых суток постэмбриогенеза. Процесс начинается с формирования цепочки мускульных клеток, которые дифференцируются из амебоцитов медуллярной паренхимы.

При изучении развития кожно-мышечного мешка планарий мы заметили, что на 4-е сут постэмбриогенеза, кроме увеличения тела червей практически вдвое, происходят и иные существенные изменения. Они проявляются в завершении формирования цельного пласта субэпидермальной мускулатуры, что соответствует ее дифференцированному состоянию у взрослых червей. Завершается и формирование дорсовентральных мышц, хотя еще не установлены их контакты с пластом субэпидермальных мышц. Авторы, которые изучали формообразовательные процессы у планарий при регенерации, также обращали внимание на отличия, происшедшие на 4-е сутки. Так, МакУинни (McWhinnie, 1955) высказал мнение, что в митотической активности необластов при экспе-

риментальной регенерации четвертые сутки являются переломными. Такую же ситуацию отмечают и другие авторы (Крещенко, Шейман, 1999; Чернышева, 2002 б). Ф. Цебрия с соавторами (Cebría et al., 1997) установили, что до 4-х сут регенерации мышечные волокна дезорганизованы и именно с этого времени начинается процесс их организации до полного восстановления мышц.

В пределах Turbellaria можно проследить последовательное развитие кожно-мышечного мешка, начиная от отдельных мышечных клеток и пластов (Archoophora), не имеющих базальной пластинки и, иногда, морфологически оформленной глотки (Беклемишев, 1964; Иванов, Мамкаев, 1973; Tyler, Rieger, 1999 и др.). С появлением развитой базальной пластинки и централизацией нервной системы и среди Archoophora обнаруживается достаточно высокий уровень развития мускулатуры, например у Polycladida. Для Neophora в рамках отряда Rhabdocoela, для видов, имеющих достаточно большие размеры, описана развитая специализированная мускулатура (Беклемишев, 1964; Hooge, 2001; Baylies et al., 2001), которая по уровню дифференцированности соответствует кожно-мышечному мешку Tricladida. Следовательно, в пределах класса Turbellaria прослеживается последовательное развитие и усовершенствование опорно-двигательного аппарата, в частности мускулатуры, от отдельных мышечных клеток Acoela (Archoophora) до специализированной дифференцированной мускулатуры Neophora.

Опираясь на собственные данные и сведения, почерпнутые из литературы, мы предполагаем, что в период первых 4 сут постэмбриогенеза развитие кожно-мышечного мешка Tricladida в определенной мере повторяет историческое развитие этих структур у Turbellaria. Небольшие размеры триклад после выхода из коконов позволяют им, как Acoela, передвигаться в основном с помощью ресничного эпителия, так как не полностью сформированные субэпидермальные мышцы в этот период развития не столь эффективны, как у взрослых червей. Увеличение размеров планарий и развитие мускулатуры сопряжено с переходом основной функции локомоции к субэпидермальным и дорсовентральным мышцам в составе единого морфо-функционального образования — кожно-мышечного мешка.

Общеизвестен факт двойственного происхождения соматической мускулатуры триклад, а именно: субэпидермальные мышцы эктодермального (кинобластического), а дорсовентральные мезодермального (фагоцитобластического) происхождения (Беклемишев, 1964; Заварзин, 1976; Шубникова, 1981). Прослеженное развитие сначала субэпидермальной, а затем дорсовентральной мускулатуры логично объяснить, по нашему мнению, последовательным развитием сначала элементов кинобластического, а затем фагоцитобластического происхождения.

Завершением формирования кожно-мышечного мешка *Dugesia lugubris* и *Dendrocoelum lacteum* является образование типичного для триклад комплекса трехслойной субэпидермальной мускулатуры, имеющего морфологическую связь с развитыми дорсовентральными мышцами. В заключение следует отметить, что у исследованных планарий сформированный кожно-мышечный мешок имеет ряд отличий, наиболее существенное из которых — уровень олигомеризации дорсовентральной мускулатуры (Чернышева, 2002 а). Это в определенной степени отражает эволюционную продвинутость семейства дендроцелид относительно дугезиид.

Беклемишев В. Н. Основы сравнительной анатомии беспозвоночных. Т. 2. Органология. — М. : Наука, 1964. — 448 с.

Дробышева И. М. Камбиальность эпидермиса у турбеллярий // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. — 1991. — 241. — С. 53—87

Иванов А. В., Мамкаев Ю. В. Ресничные черви (Turbellaria), их происхождение и эволюция. — Л. : Наука, 1973. — 224 с.

- Кацнельсон З. И. Новый способ комбинированной окраски гистологических препаратов // Арх. анат., гистол., эмбриол. — 1953. — **31**, № 4. — С. 61—62.
- Крещенко Н. Д., Шейман И. М. Исследование морфогенетической активности хвостовой области тела планарии *Dugesia tigrina* // Онтогенез. — 1999. — **30**, № 4. — С. 307—313.
- Мамкаев Ю. В. О морфологических основах филогенетики плоских червей // Тр. Зоол. Ин-та АН СССР. — 1991. — **241**. — С. 3—25.
- Сахарова Н. Ю. К вопросу об источниках регенерации у планарий // Онтогенез. — 1972. — **3**. — С. 95—100.
- Чернышева А. О. Особенности строения кожно-мышечного мешка триклад (*Turbellaria*, *Tricladida*) // Вестн. зоологии. — 2002 а. — **36**, № 2. — С. 47—56.
- Чернышева А. О. Особливості постембріонального розвитку та регенерації планарій у зв'язку зі способами їх розмноження // Наук. зап. НАУКМа. — 2002 б. — **20**. — С. 299—302.
- Шубникова Е. А. Функциональная морфология тканей. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981. — 326 с.
- Baylies M. K., Michelson A. M. Invertebrate myogenesis: looking for back to the future of muscle development // Curr. Op. Gen. Devel. — 2001. — **11**. — P. 431—439.
- Cebria F., Vispo M., Newmark P. et al. Myocyte differentiation and body wall muscle regeneration in planarian *Girardia tigrina* // Dev. Genes and Evol. — 1997. — **207**, N 5. — P. 306—316.
- Hooge M. D. Evolution of Body-Wall Musculature in the Platyhelminthes (Acoelomorpha, Catenulida, Rhabditophora) // J. Morphol. — 2001. — **249**. — P. 171—194.
- McWhinnie M. A. The effect of colchicines on reconstitucional development in *Dugesia doroccephala* // Biol. Bull. — 1955. — **108**, N 1. — P. 54—65.
- Tyler S., Rieger R. M. Functional morphology of musculature in the acoelomate worm, *Convoluta pulchra* (Platyhelminthes) // J. Zoomorphology. — 1999. — **119**. — P. 127—141.