

УДК 593.99

СОДЕРЖАНИЕ И ПОВЕДЕНИЕ КИШЕЧНОДЫШАЩЕГО *SACCOGLOSSUS MERESCHKOWSKII* (HEMICHORDATA, ENTEROPNEUSTA) В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

© 2024 г. А. И. Лукиных¹, О. В. Ежова^{1,*}, Д. А. Ключихина¹, О. М. Катанова¹,
академик РАН В. В. Малахов¹

Поступило 25.03.2024 г.

После доработки 03.04.2024 г.

Принято к публикации 07.04.2024 г.

Описана конструкция бокса, позволяющего содержать кишечнодышащее *Saccoglossus mereschkowskii* в лабораторных условиях в течение 60 суток и осуществлять наблюдения за его поведением и питанием. Локомоция и постройка норки в грунте обеспечиваются перистальтическими движениями хоботка, периодически меняющего форму с цилиндрической на грибообразную, и наоборот. Черви строят U-образные норки, связанные боковыми анастомозами с норками соседних особей, благодаря чему в слое осадка глубиной до 8 см формируется разветвленная система ходов. Отмечено значение такой системы ходов кишечнодышащих для аэрирования верхних слоев осадка. При питании хоботок высовывается из переднего отверстия норки и протягивается по поверхности осадка. Органические частицы приклеиваются к слизи, выделяемой покровным эпителием хоботка, и транспортируются за счет биения ресничек к борозде между воротником и хоботком, где находится рот.

Ключевые слова: роющая локомоция, норки, биотурбация, мукоцилиарное питание, фотографии, видеозапись

DOI: 10.31857/S2686738924040096

Кишечнодышащие (Enteropneusta) — морские червеобразные животные, относящиеся к типу Hemichordata. Кишечнодышащие имеют черты, сближающие их с хордовыми животными, такие как жаберные щели, нервная трубка, буккальный дивертикул (стомохорд) и др. В связи с этим все особенности строения, развития и биологии кишечнодышащих вызывают большой интерес. Биология кишечнодышащих изучена очень слабо, так как большинство представителей этого класса (кроме глубоководных Torquaratoridae) обитают в норках в толще грунта и практически ненаблюдаемы. Ранее предпринимались попытки содержать в лабораторных условиях представителей двух родов кишечнодышащих: *Saccoglossus kowalevskii* [1–4] и *Glandiceps hacksi* [5]. Их содержали в пластиковых контейнерах с грунтом, взятым из места сбора животных, а сами контейнеры помещали в проточный аквариум. При этом грунт приходилось менять ежедневно, а в воду добавлять антибиотик [4–6]. В этих условиях особи *S. kowalevskii* выживали

не более 14 суток, тогда как особи *G. hacksi* сохраняли жизнеспособность около полугода. Подобные методы позволяли сохранять кишечнодышащих для изучения строения, развития и экспериментальных исследований, но не позволяли наблюдать поведение животного, скрытого в грунте.

Задачей настоящего исследования стала разработка метода длительного содержания представителя кишечнодышащих *Saccoglossus mereschkowskii* (Wagner, 1885) и наблюдение за его поведением в толще грунта.

Материал был собран в окрестностях Беломорской биологической станции МГУ имени Н.А. Перцова в летние месяцы 2023 года. *S. mereschkowskii* — червеобразные животные длиной до 8 см и около 2 мм в диаметре, обитающие на илисто-песчаных грунтах в верхней сублиторали на глубинах от 0 до 12 м. Пробы грунта, содержащие норки кишечнодышащих, были собраны во время отлива на глубине менее 1 м. Чтобы получить неповрежденных животных, пробы грунта помещали в глубокие пластиковые кюветы, размывали содержащийся в кювете субстрат и вручную извлекали сложенные из песчинок трубки с червями. Применение ранее описанных методик [1–4] в отношении

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

*e-mail: olga_ejova@mail.ru

Таблица 1. Результаты содержания *Saccoglossus mereschkowskii* в лабораторных условиях

Место содержания	Пластиковый контейнер в проточном морском аквариуме (ББС МГУ)	Узкий бокс из двух стекол в проточном морском аквариуме (ББС МГУ)	Узкий бокс из двух стекол в морском аквариуме (Москва)
Условия содержания	$+14\pm 1^{\circ}\text{C}$, 26–28‰	Дополнительная аэрация, $+14\pm 1^{\circ}\text{C}$, 26–28‰	Дополнительная аэрация, $+4^{\circ}\text{C}$, 28‰
Количество особей	4	7	3
Время сохранения живых особей	6 суток	Минимум 12 суток	60 суток

S. mereschkowskii оказалось неудачным. Черви, помещенные в проточный аквариум в пластиковом контейнере глубиной 5 см с грунтом, выползали на поверхность грунта и погибали на 6-е сутки (табл. 1).

Удачным оказалось содержание животных в боксе оригинальной конструкции. Бокс был собран из двух стеклянных пластинок толщиной 0,3 см, скрепленных так, чтобы между пластинками оставалось пространство шириной в 1 см (рис. 1).

По нижней и боковым сторонам бокса были вставлены небольшие деревянные бруски. Снаружи по периметру эти три стороны были обклеены мелкоячеистым мельничным газом. Пространство между стеклами было заполнено грунтом, взятым из местообитания кишечнодышащих *S. mereschkowskii*. В одном боксе содержалось 3 особи кишечнодышащих, в другом 4 особи. Боксы с грунтом и животными были помещены в аквариум с проточной морской водой, в котором поддерживалась температура $14\pm 1^{\circ}\text{C}$ и соленость 26–28‰ с дополнительной аэрацией. Жизнедеятельность особей *S. mereschkowskii* фиксировалась на видеокамеру Olympus TG-6 в режиме “Timelapse” с частотой 1 кадр в 2 секунды. Для этого бокс с животными переносили в аквариум шириной 5 см. По завершении фото- и видеосъемки бокс возвращали в аквариум с проточной морской водой. В описанных условиях кишечнодышащих содержали 12 суток, затем животных поместили в фильтрованную морскую воду, охлажденную до 4°C , для транспортировки и последующего содержания. В таких условиях удалось содержать *S. mereschkowskii* в течение 60 суток (табл. 1), что позволило сделать наблюдения над двигательной активностью животного, строением норки и поведением, связанным с питанием.

Добытые из естественной среды неповрежденные животные были помещены в бокс на поверхность грунта и через 20 минут все особи оказались зарывшимися в грунт (рис. 2). Конструкция бокса предоставляет возможность наблюдать, фотографировать и производить видеосъемку локомоторной активности *S. mereschkowskii* в толще осадка. При прокладывании хода кишечнодышащего в грунте главную роль играет хоботок, который функционирует как поршень переменного диаметра. Рытье норки состоит из двух фаз. Первая фаза — это пробивание

первоначального хода в осадке. В этой фазе хоботок имеет форму цилиндра, который производит толкающие движения, пробивая ход в грунте. Вторая фаза — это расширение хода и удаление из образовавшейся полости осыпавшегося песка. Оно также производится хоботком, который принимает для этого грибообразную форму (рис. 3). Передняя часть хоботка расширяется в виде шайбы с депрессией на переднем конце (“шляпка гриба”), тогда как задняя часть хоботка представляет собой стержень меньшего диаметра (“ножка гриба”). При движении вперед хоботок расширяет ход, а при движении назад отгребает из образовавшейся полости осыпавшийся песок. Эти движения возможны благодаря тому, что позади основания хоботка находится задний якорь, не позволяющий телу смещаться назад при движениях хоботка. Функцию заднего якоря выполняет плотный воротник, имеющий форму муфты постоянного диаметра. Благодаря грибообразной форме хоботка, совершающего поступательные движения во второй фазе, и наличию заднего якоря, *S. mereschkowskii* постепенно продвигается вперед. Прodelанный ход

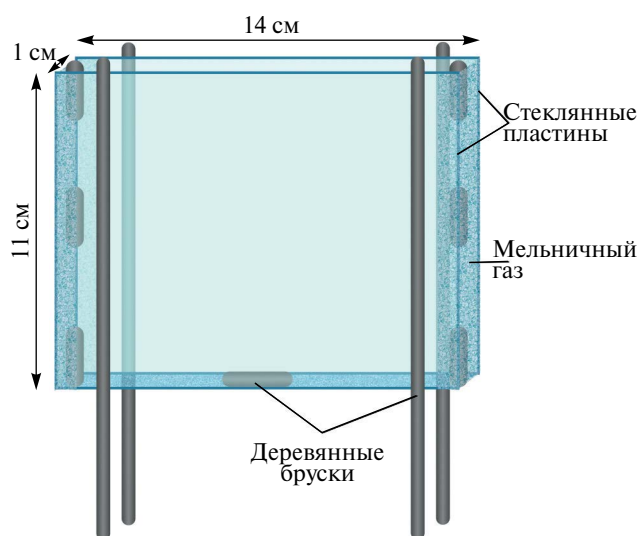


Рис. 1. Схема стеклянного бокса для содержания и наблюдения живых особей *Saccoglossus mereschkowskii*.

превращается в норку за счет того, что его стенки укрепляются слизью, которая выделяется эпидермальными железами воротника [7, 8]. Длинное туловище животного пассивно тянется за хоботком и воротником.

Меняя направление движения, *S. mereschkowskii* строит в толще осадка U-образные норки (рис. 2) с двумя отверстиями — передним и задним. Песчаные стенки норок не осыпаются, так как укреплены слизью. Видеорегистрация позволяет установить, что строительство одной U-образной норки занимает около 1,5 часов. Построенная норка сохраняется в течение 5–8 дней. Высота норок от отверстий до дна U-образного изгиба составляет 5–8 см, а ширина ходов соответствует диаметру хоботка *S. mereschkowskii*, т.е. составляет 3–5 мм, в зависимости от размера особи. Через переднее отверстие U-образной норки животное высовывает хоботок для сбора пищевых частиц с поверхности осадка. Через заднее отверстие норки на поверхность грунта выбрасываются фекальные шнуры. Нередко норка имеет не одно, а несколько передних отверстий. Помимо U-образных норок *S. mereschkowskii* строят в толще осадка спиральные ходы и боковые ответвления. Благодаря образованию боковых ходов, возникают анастомозы, через которые черви способны проникать в норки, построенные соседними особями (рис. 2). Таким образом, можно предполагать, что в естественных условиях *S. mereschkowskii* формирует трехмерную сеть ходов, пронизывающую верхний слой осадка по меньшей мере до глубины 8 см. Это обеспечивает биотурбацию и аэрирование верхних слоев грунта.

В процессе питания червь высовывает хоботок из переднего отверстия норки сначала вверх (рис. 2), затем опускает его на поверхность грунта и вытягивает, “пропахивая” самый верхний слой осадка. Длина хоботка при этом может увеличиваться в 6–8 раз. За счет биения ресничек частицы



Рис. 2. Три особи *Saccoglossus mereschkowskii* в боксе между двумя стеклами для прижизненного наблюдения. Масштаб: 2 см.

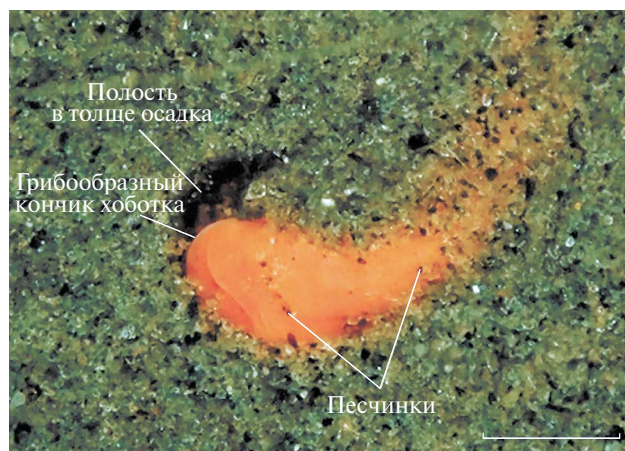


Рис. 3. Хоботок *Saccoglossus mereschkowskii*, проделывающий ход в толще песчаного грунта. Масштаб: 1 мм.

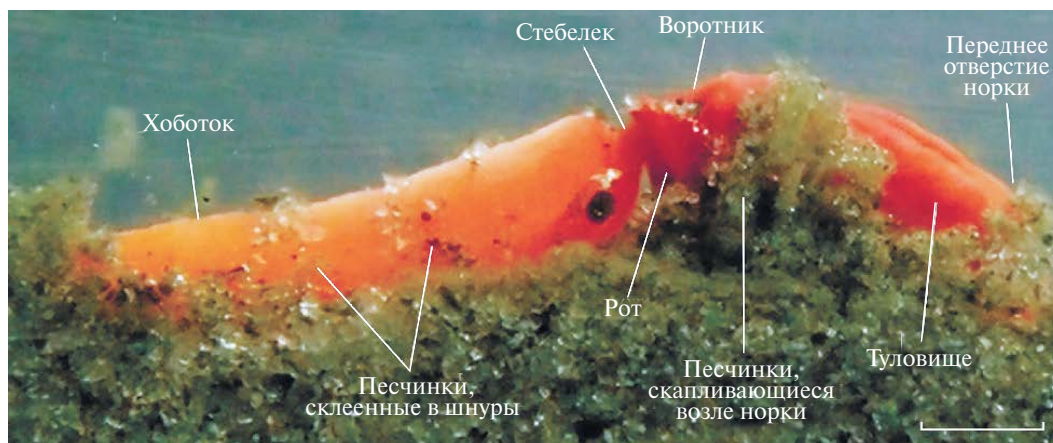


Рис. 4. Хоботок *Saccoglossus mereschkowskii*, простирающийся вдоль поверхности грунта для питания. Масштаб: 1 мм.

грунта, склеенные слизью эпидермальных желез, двигаются вдоль хоботка от его переднего конца к основанию в составе слизистых шнуров (рис. 4). При этом мелкие (не более 30 мкм) и легкие частицы детрита по борозде между хоботком и воротником направляются к ротовому отверстию. Более крупные частицы либо не удерживаются на хоботке, либо продвигаются вдоль тела червя дальше назад, не попадая в борозду между хоботком и воротником. Каждые 3–5 минут червь меняет направление вытягивания хоботка, собирая таким образом пищевые частицы с разных сторон от отверстия норки.

Как известно, хоботок является главным локомоторным органом роющих кишечнодышащих [9]. В ранее опубликованных работах [10, 11] указано, что роющая активность кишечнодышащих осуществляется за счет перистальтических сокращений продольной мускулатуры хоботка, однако конкретная последовательность движений органа в толще грунта оставалась неизвестной. Рао [12] и Риттер [11] отмечали ведущую роль ресничной активности, которая обеспечивает движение частиц осадка по телу кишечнодышащих. Мукоцилиарный механизм питания, характерный для кишечнодышащих, у представителей семейств Ptychoderidae и Harrimaniidae реализуется с использованием хоботка [13, 14]. Глубоководным кишечнодышащим из семейства Torquaratoridae также свойственно мукоцилиарное суспензионное питание, однако оно осуществляется с использованием боковых разрастаний воротника — так называемых “латеральных губ” [15].

Проведенные нами эксперименты показали, что применение бокса в виде двух пластинок позволяет успешно длительно содержать *S. mereschkowskii* в лабораторных условиях и дает возможность осуществлять наблюдения за движением и питанием кишечнодышащих.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую признательность коллективу Беломорской биологической станции МГУ им. Н.А. Перцова. Исследование осуществлено в рамках деятельности студенческой лаборатории эволюционной морфологии животных (www.evolmorph.ru) кафедры зоологии беспозвоночных биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Авторы благодарны профессору кафедры зоологии беспозвоночных Н.Н. Марфенину (биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова) за ценные рекомендации и поддержку.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФ 23–14–00047.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ И СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы использования животных были соблюдены. В соответствии с пунктом 3 главы 1 Директивы 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых в научных целях, требования биоэтики не распространяются на объект данного исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

У авторов нет финансовых или каких-либо иных конфликтов интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Miller D.C. Response of *Saccoglossus kowalevskii* (Phylum Hemichordata, Class Enteropneusta) to changes in diet // Marine Ecology Progress Series. 1992. Vol. 87. P. 41–54.
2. Fielman K.T., Targett N.M. Variation of 2,3,4-tribromopyrrole and its sodium sulfamate salt in the hemichordate *Saccoglossus kowalevskii* // Marine Ecology Progress Series. 1995. Vol. 116. P. 125–136.
3. Giray C., King G.M. Predator deterrence and 2,4-dibromophenol conservation by the enteropneusts *Saccoglossus bromophenolosus* and *Protoglossus graveolens* // Marine Ecology Progress Series. 1997. Vol. 159. P. 229–238.
4. Lowe C.J., Tagawa K., Humphreys T., et al. Hemichordate embryos: procurement, culture, and basic methods // Methods in Cell Biology. 2004. Vol. 74. P. 171–194.
5. Urata M., Iwasaki S., Ohtsuka S. Biology of the swimming acorn worm *Glandiceps hacksi* from the Seto Inland Sea of Japan // Zoological Science. 2012. Vol. 29(5). P. 305–310.
6. Gonzalez P., Jiang J.Z., Lowe C.J. The development and metamorphosis of the indirect developing acorn worm *Schizocardium californicum* (Enteropneusta: Spengelidae) // Frontiers in Zoology. 2018. Vol. 15(26). P. 1–24.
7. Van der Horst C.J. Observations on some Enteropneusta // Videnskabelige meddelelser fra Dansk Naturhistorisk Forening i København. 1929. Vol. 87. P. 135–200.
8. Spengel J.W. Die Enteropneusten des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeres-Abschnitte. Fauna und Flora des Golfes von Neapel. Herausgegeben von der Zoologischen Station zu Neapel 18. Monograph. Berlin: Verlag von R. Friedländer & Sohn. 1893.
9. Hyman L.H. The Invertebrates: small coelomate groups. New York: McGraw-Hill Book Co. 1959. Vol. 5. P. 72–207.
10. Knight-Jones E.W. On the nervous system of *Saccoglossus cambrensis* (Enteropneusta) // Philosophical

- Transactions of the Royal Society of London. 1952. Vol. 236B. P. 315–354.
11. Ritter W.E. The movements of the Enteropneusta and the mechanism by which they are accomplished // Biological Bulletin. 1902. Vol. 3. P. 255–261.
 12. Rao K.P. Bionomics of *Ptychodera flava* Eschscholtz (Enteropneusta) // Journal of Madras University. Sect. B. 1954. Vol. 24. P. 1–5.
 13. Barrington E.J.W. Observations on feeding and digestion in *Glossobalanus minutus* // Quarterly Journal of Microscopical Science. 1940. Vol. 82. P. 227–260.
 14. Knight-Jones E.W. Feeding in *Saccoglossus* (Enteropneusta) // Proceedings of the Zoological Society of London. 1953. Vol. 123. № 3. P. 637–654.
 15. Ezhova O.V., Trukhan M.A., Lukinykh A.I., et al. Digestive system and feeding of deep-sea acorn worm *Quatuorallisia malakhovi* (Enteropneusta: Torquaratoridae) from the Bering sea // Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers. 2024. Vol. 203. 104196.

KEEPING AND BEHAVIOUR OF AN ACORN WORM *SACCOGLOSSUS MERESCHKOWSKII* (HEMICHORDATA, ENTEROPNEUSTA) IN LABORATORY CONDITIONS

A. I. Lukinykh^a, O. V. Ezhova^{a, #}, D. A. Klochikhina^a, O. M. Katanova^a,
Academician of the RAS V. V. Malakhov^a

^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

[#]*e-mail: olga_ejova@mail.ru*

The design of the box is described, which allows to keep the acorn worm *Saccoglossus mereschkowskii* in laboratory conditions for 60 days and to observe its behavior and feeding. The locomotion and constructing of the burrows in the sediment are provided by peristaltic movements of the proboscis, which periodically changes its shape from cylindrical to mushroom-like, and vice versa. Worms build U-shaped burrows connected by flank anastomoses with the burrows of neighboring specimens. As a result, a branched system of passages is formed in a sediment layer up to 8 cm deep. The importance of such a system of enteropneust's passages for aerating the upper layers of sediment is noted. When feeding, the proboscis sticks out from the anterior opening of the burrow and stretches along the surface of the sediment. Organic particles adhere to the mucus secreted by the epidermal epithelium of the proboscis, and are transported by ciliary beating to the furrow between the collar and proboscis, where the mouth is located.

Keywords: Burrowing locomotion, burrows, bioturbation, mucous-ciliary feeding, photos, video recording