

УДК 595.123(282.256.341)

НОВЫЕ ВИД И РОД ПСАММОФИЛЬНЫХ PROSERIATA (TURBELLARIA, OTOPLANIDAE) ИЗ ОЗЕРА БАЙКАЛ И ИХ РОДСТВЕННЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ПО ДАННЫМ СИКВЕНСОВ 18S рРНК

© 2017 г. А. Г. Лухнёв, А. Г. Королёва, С. В. Кирильчик, О. А. Тимошкин*

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск 664033, Россия

*e-mail: tim@lin.irk.ru

Поступила в редакцию 06.02.2017 г.

Приведено иллюстрированное описание *Boreusyrtis maksimovae* gen. et sp. n., представителя нового для науки рода турбеллярий семейства Otoplanidae (Proseriata) из оз. Байкал. Черви отличаются степенью развития ресничного покрова головного конца тела, глотки, топографией органов половой системы, строением копулятивного аппарата. Сравнительно-морфологический анализ байкальского вида и родственных ему форм позволил провести их частичную таксономическую ревизию с выделением нового рода *Boreusyrtis* Likhnev et Timoshkin gen. n., в который, помимо эндемичного вида, отнесен морфологически близкий к нему вид *Pseudosyrtis neiswestnovae* Riemann 1965 из реки Эльба. Проведен молекулярно-генетический анализ по гену 18S рРНК, на основе которого построено филогенетическое древо.

Ключевые слова: *Boreusyrtis maksimovae* gen. et sp. n, пресноводные Proseriata, эндемичные Otoplanidae, 18S рРНК, филогенетические отношения, Байкал

DOI: 10.7868/S0044513417110071

Семейство Otoplanidae Hallez 1892 – самое богатое по количеству пресноводных представителей среди турбеллярий Proseriata и включает 6 видов (всего известно 13 видов пресноводных просериат, в т.ч. недавно описанных байкальских Otomesostomidae, см. Тимошкин и др., 2010; Лухнев и др., 2011). Пять из них – реофилы, обитатели рек Западной Европы, европейской части России (Гагарин, Коргина, 1982; Рогозин, 1994) и Южной Америки (Schockaert et al., 2008; Curini-Galletti, 2001; Norena et al., 2005). Вид *Pseudosyrtis subterranea* Ax 1956 обитает в р. Эльба и неоднократно был обнаружен в морских водах (Tyler et al., 2016). Все остальные известные отопланиды живут в морях, в приливно–отливной (sandy breaker) зоне, которую Ремане (Remane, 1933) назвал «*Otoplana zone*», поскольку в ряде случаев других животных, кроме этих турбеллярий, здесь не обнаружено (Ax, 1967; Bush, 1968; Karling, 1974; Mack-Fira, 1974; Lanfranchi, Melai, 2008).

Представители семейства отопланид менее других просериат исследованы молекулярно-биологическими методами (Curini-Galletti et al., 2010). В одной из своих статей Курини-Галлетти (Curini-Galletti, 2014) высказал сомнение в монофилетичности рода *Pseudosyrtis* Ax 1956. Это мнение было подтверждено в процессе наших исследований: род действительно нельзя считать монофилетическим, поскольку включенные в него

виды отличаются друг от друга по многим важным таксономическим признакам. Впервые байкальские отопланиды упомянуты в публикации Тимошкина (2010–2011), в которой даны цветные снимки внешнего вида червей, статоциста и кутикулярной части мужского полового аппарата, без детального их описания.

Целью настоящей статьи являются подробный сравнительно-морфологический анализ и описание нового представителя пресноводных просериат, определение его таксономической принадлежности и выяснение филогенетических взаимоотношений, основанных на методах гистологического исследования, сканирующей электронной микроскопии и молекулярно-биологического анализа.

Морфологическое исследование. Материал собран авторами в 2006–2010 гг. в заливе Большие Коты, в литорали на глубине 1.5–3 м. Пробы отбирали сачком с ячейей 70–100 мкм; живых червей выбирали под биноклем МБС, зарисовывали прижизненно, затем фиксировали этанолом (70°) или жидкостью Буэна. Серии гистологических срезов толщиной 5–7 мкм, окрашенные азокармином по Гейденгайну, изготовлены в Казанском государственном университете, Зоологическом институте РАН (Санкт-Петербург), Лимнологическом институте СО РАН (Иркутск). Изучение

срезов проводили с использованием микроскопов Meiji Techno Co. и Olympus CX 21 FS 1. Реконструкции органов выполнены с помощью микроскопа Nikon Optiphot-2 с применением рисовального аппарата Nikon Drawing tube; микрофотографии изготовлены при помощи цифровой фотокамеры Olympus Camedia C-3040 zoom (3.3 Mgrxl) с фотонасадкой NY 2000S 01705, универсальной для всех типов оптики.

Все черви, исследованные на СЭМ Philips' SEM 525-M (столики № 21-11, 21-20, 21-30, 21-31), взяты из пробы: 03.07.2010 оз. Байкал, бухта Большие Коты, падь Жилище, глубина около 2 м, песок. Экземпляры, первоначально фиксированные раствором Буэна, отмывали от фиксатора, обезвоживали, проводя через серию спиртов и гексометилдисилазан (Laforsch, Tollrian, 2000).

Весь материал хранится в коллекции лаборатории водных беспозвоночных, ЛИН СО РАН.

Методы генетического исследования. ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции из целых особей как описано в работе Королевой с соавт., 2013. ПЦР проводили в 15 мкл реакционной смеси, содержащей HS 1-кратный буфер для реакции, 0.2 мМ каждого dNTP, 1 пмоль каждого праймера, 10–50 нг тотальной ДНК и 0.1–0.2 ед. акт. HS *Taq*-полимеразы (ЗАО «Евроген», Россия). Полимеразу активировали прогреванием при 94°C в течение 3 мин. Амплификацию осуществляли 40-кратным повторением стадий в следующей последовательности: 94°C — 30 с, 55°C — 30 с и 72°C — 60 с. После последнего цикла смесь выдерживали 2 мин при 72°C. Для амплификации фрагмента гена 18S рРНК использовали следующие праймеры: прямой 5'-TACCTGGTTGATCCTGCCAGTAG-3' (1F) и обратный 5'-GATCCTTCCGCAGGTTACCTAC-3' (9R) (Carranza et al., 1997).

ПЦР продукты очищали в агарозном геле и проводили сиквенсную реакцию с набором для секвенирования BigDye® Terminator v3.1 (Applied Biosystems, USA). Анализ сиквенсного продукта осуществляли с помощью генетического анализатора 3500xL (Applied Biosystems, USA).

Для построения филогенетических схем использовали полученные нами нуклеотидные последовательности байкальских представителей Proseriata и нуклеотидные последовательности участка гена 18S рРНК других представителей морских Proseriata, взятые из базы данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществлялось в программе ClustalW1.6 (Thompson et al., 1994). Реконструкция деревьев осуществлялась в программе MrBayes (3.1.2) (Huelsenbeck, Ronquist, 2001) при использовании модели GTR+I+G с гамма-распределением скорости замен (G) и учетом инвариантных сайтов (I) на основе критерия Байеса и метода

максимального правдоподобия. Цепи Маркова (MCMC) рассчитывались в течение 1000000 поколений (4 цепи параллельно) с частотой записи параметров каждые 100 поколений. Первые 250000 поколений использовались для стабилизации метода правдоподобия, а остальные поколения — для оценки апостериорной вероятности. Критерием достоверности служила апостериорная вероятность, превышающая 95%. Генетические расстояния рассчитывались в пакете программ MEGA 6.0 с использованием метода NJ и модели Kimura-2p (Tamura et al., 2013).

Оценка времени дивергенции осуществлялась как описано в работе Скарпа с соавт. (Scarpa et al., 2015) с использованием пакета программ Beast v.1.8.1 (Drummond et al., 2012). Так как Скарпа с соавт. была установлена близкая скорость замен на 1 млн л. в разных семействах просериат, то при расчете времени дивергенции байкальских просериат мы использовали среднюю скорость мутирования, равную 0.14%. Значения ESS были близки к 200 для всех статистических параметров, количество шагов для вычисления длины цепи было 100000000 с записью параметров каждые 10000 генераций. Для оценки результатов, полученных в Beast, применялась программа Tracer v.1.6, визуализация полученных деревьев осуществлялась в FigTree v.1.4.2.

Морфологические исследования позволили сделать следующие таксономические описания.

***Boreusyrtris* Lukhnev et Timoshkin gen. n.**

Типовой вид *Boreusyrtris maksimovae* Timoshkin et Lukhnev gen. et sp. n.

Диагноз. Этот вид относится к Parotoplaninae, у которых женский половой канал впадает в общий половой атриум через его переднюю стенку, гдий сосредоточены скорлуповые железы; дорсальный ресничный покров переднего конца тела частично редуцирован; глотка вертикально ориентирована, покрыта ресничками как с внутренней, так и с внешней стороны. Непарные семенник и желточник располагаются вентро-медиально спереди и позади глотки соответственно. Гранулярный пузырь копулятивного аппарата достаточно отграничен от стилета (не углублен в центральную иглу). Число прикрепительных игл варьирует от 20 (*B. neiswestnovae*) до 40 и более (*B. maksimovae*); их длина у одной особи может быть более или менее одинаковой (*B. neiswestnovae*, 70–78 мкм), либо может существенно различаться (*B. maksimovae*, от 25 до 90 мкм). Дистальные концы прикрепительных игл с зубцами и направленными назад субтерминальными отростками.

Род включает 2 вида (*Boreusyrtris maksimovae* Timoshkin et Lukhnev gen. et sp. n. и *Boreusyrtris neiswestnovae* (Riemann 1965)), обитающих в пресных водоемах.

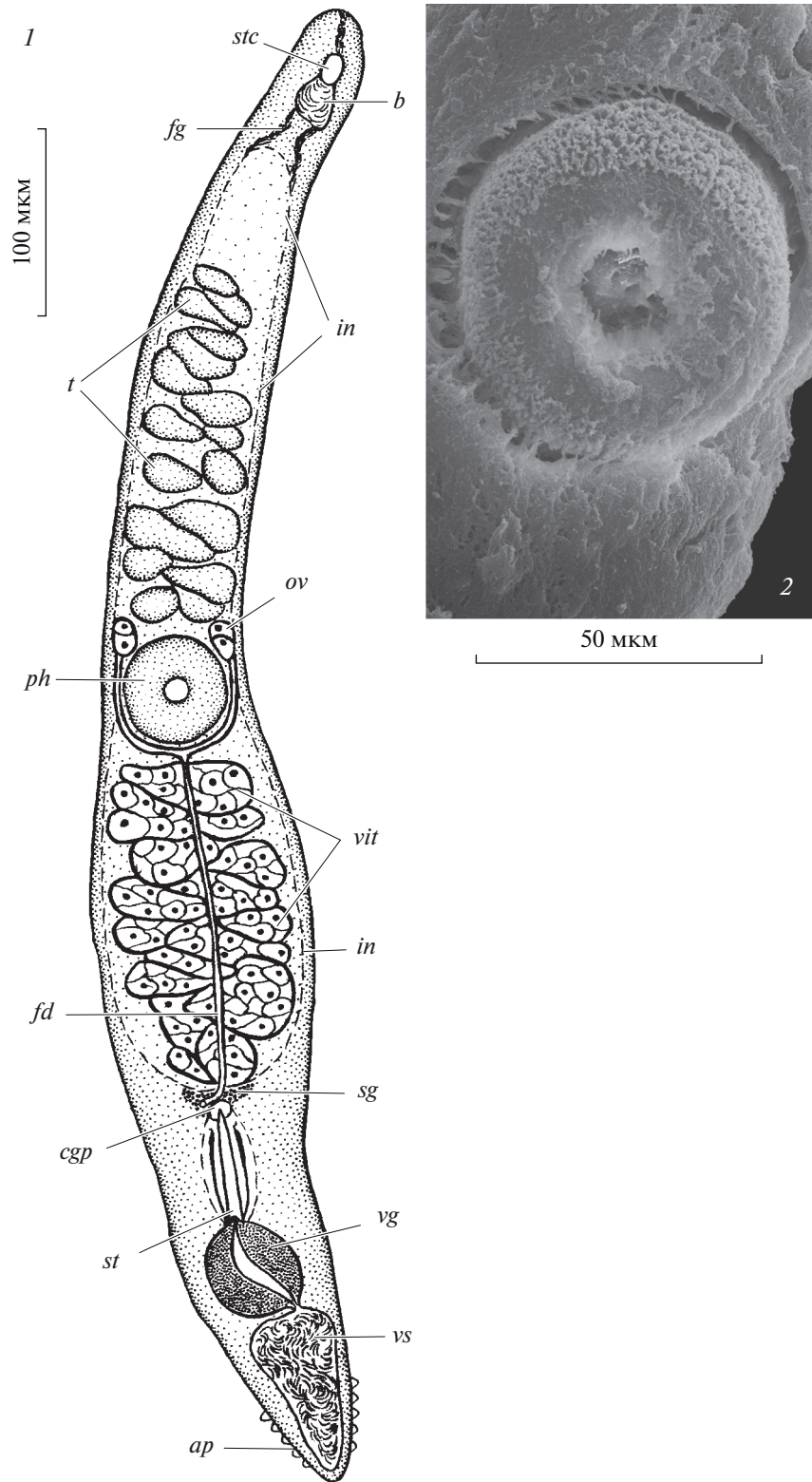


Рис. 1. *Boreusyrtis maximovae* Timoshkin et Lukhnev gen. et sp. n.: 1 – схема внутреннего строения, выполненная по фронтальным срезам; 2 – ресничный покров глотки. *ap* – прикрепительные папиллы, *b* – мозг, *cgp* – общее половое отверстие, *fd* – женский канал (ововителлодукт), *fg* – фронтальные железы, *in* – кишечник, *ov* – яичники, *ph* – глотка, *sg* – скорлуповые железы, *st* – стилет, *stc* – статоцист, *t* – семенник, *vit* – желточник, *vg* – гранулярный пузырь, *vs* – семенной пузырь.

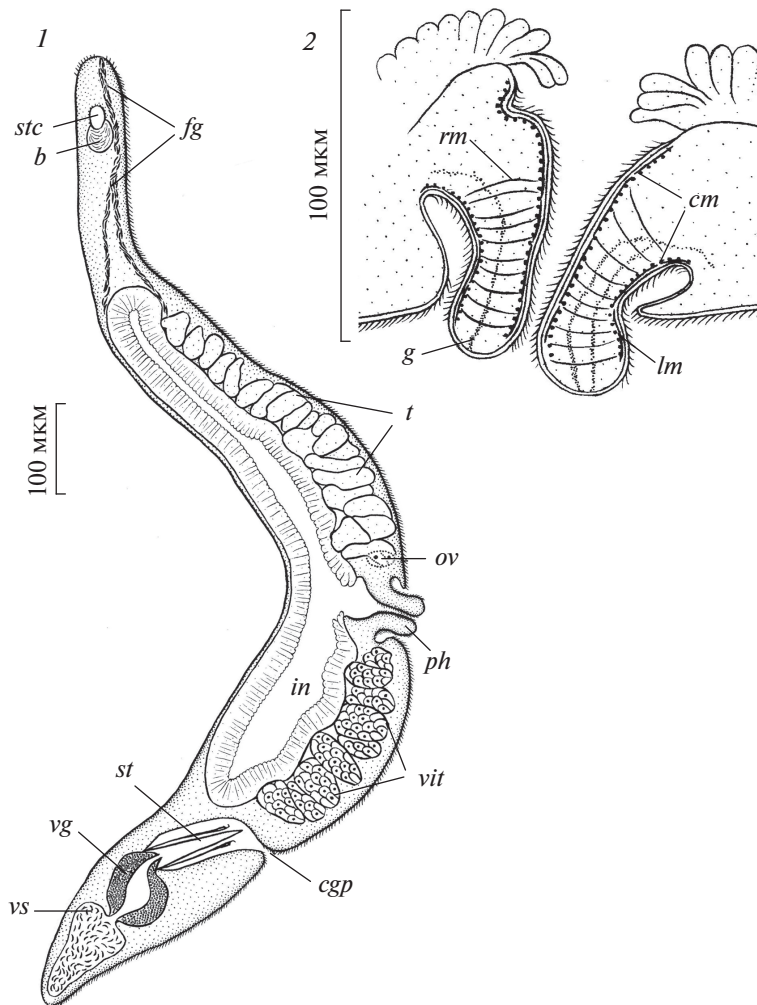


Рис. 2. *Boreusyrtis maksimovae* Timoshkin et Likhnev gen. et sp. n.: 1 – схема медиального сагиттального среза; 2 – строение глотки. *b* – мозг, *cgp* – общее половое отверстие, *cm* – кольцевая мускулатура, *fg* – фронтальные железы, *g* – протоки желез, *in* – кишечник, *lm* – продольная мускулатура, *ov* – яичники, *ph* – глотка, *rm* – радиальная мускулатура, *st* – стилет, *stc* – статоцист, *t* – семенник, *vit* – желточник, *vg* – гранулярный пузырь, *vs* – семенной пузырь.

***Boreusyrtis maksimovae* Timoshkin et Likhnev gen. et sp. n.**

М а т е р и а л. Голотип № 130, серия сагиттальных срезов. Паратипы: № 1–9 – серии сагиттальных срезов; № 10–14 – серии фронтальных срезов; № 15–16 – серии поперечных срезов; № 17–19 – тотальные препараты особей, заключенных в жидкость Фора-Берлезе. Черви, из которых приготовлены гистологические препараты, взяты из двух проб: 27.06.2009 г., станция «Два Брата», глубина 1.7 м; 03.08.2010 г., станция «Жилище», глубина около 2 м. Обе станции расположены в губе Большие Коты (Южный Байкал).

Дополнительно при описании эндемичной байкальской отопланиды было использовано 37 тотальных препаратов особей, заключенных в жидкость Фора-Берлезе и не включенных в типо-

вую серию. Несколько десятков особей было исследовано прижизненно, на временных препаратах.

Типовое местонахождение – залив Большие Коты, западное побережье Южного Байкала.

О п и с а н и е. Тело червей нитевидное или веретеновидное, длиной 1.5–2.5 мм, со слегка заостренным задним концом (рис. 1; 2). Черви чаще белые, полупрозрачные, розоватую или желтоватую окраску им иногда придает содержимое кишечника. Высота тела в области полового атриума (на поперечном срезе) 110–160, за глоткой – 170–180, высота головного участка тела 55–70; ширина тела в области полового атриума 136 мкм. Статоцист эллипсоидный на срезах и ромбовидный с закругленными углами на тотальных препаратах в жидкости Фора-Берлезе, его продольный диаметр 22–24, поперечный – 14–18 мкм. Мозг расположен за статоцистом, прижат к нему,

его размеры: около 40 в продольном и 25–30 мкм в поперечном направлении. У живых особей на рostrальном конце тела отчетливо видны щетинки, наиболее длинные из них находятся на уровне статоциста и направлены перпендикулярно поверхности тела. Глаз нет. Равномерным ресничным слоем покрыты вентральная и латеральные поверхности тела, кроме каудальной области, где реснички отсутствуют. На вентральной стороне тела ресничный покров заканчивается, клинообразно сужаясь к центру и не доходя до каудального конца тела. На головном конце ресничный покров охватывает небольшой дорсальный участок тела (рис. 3; 4). На фотографиях, снятых с помощью СЭМ, видно, что ресничный покров головы клинообразно продолжается на дорсальную сторону и разделяет свободную от ресничек область на два коротких симметричных участка. Кроме того, свободная от ресничек «кольцевая дорожка» имеется на терминальном участке головы, где, вероятно, открываются фронтальные железы (рис. 1; 2; 4). Эпидермис не погруженный. Толщина эпидермиса с вентральной стороны 2–4, с дорсальной 2–3 мкм. Длина ресничек 4.5–5 мкм.

Стенка тела снабжена тонкой, прилегающей к базальной мембране, однорядной кольцевой и мощной однорядной продольной мускулатурой. Кольцевая мускулатура не всегда различима. Диагональных мышц не обнаружено. Внутренняя граница продольной мускулатуры удалена от базальной мембраны на 2.5–4 мкм. На дистальном конце тела, как сказано выше, открываются сильно развитые фронтальные железы (эритрофильные), протоки которых занимают примерно первую треть тела червя и проходят между стенкой тела и внутренними органами. Толщина фронтального эпидермиса 3 мкм. По бокам каудального участка тела, лишенного ресничек, у живых особей и на срезах заметны небольшие папиллы, служащие, вероятно, для прикрепления (рис. 5). Количество их варьирует от 5 до 10 с каждой стороны.

Глотка складчатого типа, короткая (соотношение максимального диаметра к длине глоточной губы примерно равно 1), воротникообразная (collar-shaped), направлена вертикально. Ресничками покрыты внутренняя и наружная стенки глотки, кроме дистальных участков, где открываются протоки глоточных желез; глоточный карман лишен ресничного покрова (рис. 1; 2). Как наружная, так и внутренняя стенки глотки имеют два слоя мускулатуры. Субэпителиально, как правило, в один ряд, расположены тонкие продольные мышечные волокна. К ним прилегает более разветвленный, также однорядный слой кольцевой мускулатуры. Число кольцевых мышечных волокон, расположенных вдоль внутренней стенки глотки (от интестинального до глоточного отверстия), варьирует от 16 до 20. Длина глотки примерно

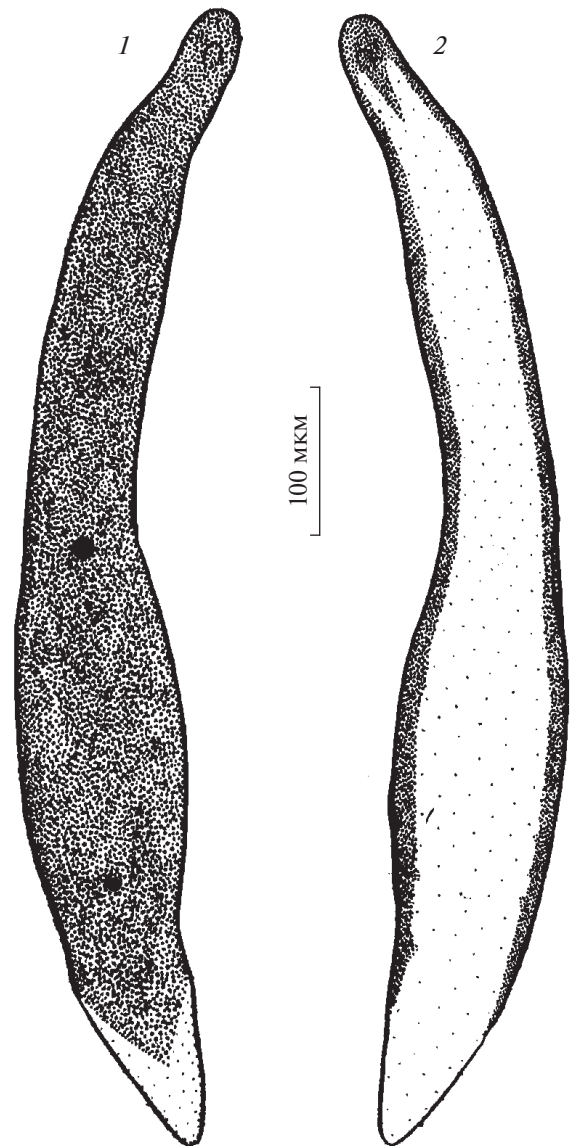


Рис. 3. *Boreusyrtis maksimovae* Timoshkin et Lukhnev gen. et sp. n. Степень покрытия ресничками брюшной (1) и спинной (2) сторон тела.

равна ее диаметру (около 60), толщина глоточной губы 20–25 мкм. Диаметр ротового отверстия при выдвинутой глотке примерно 67–70 мкм. Эзофагус не различим.

Женская половая система. Яичники парные, располагаются по бокам впереди глотки, компактные, округлые: их максимальный диаметр 27–32, минимальный – 17–25 мкм. Огибающая глотку, яйцеводы соединяются сразу позади нее в единый женский канал – яйцепровод (ововителлодукт?), который проходит медиально вдоль вентральной стенки тела под желточником и как бы вдавлен в него (12–15 мкм от поверхности эпидермиса), внутри выстлан ресничным эпителием; диаметр канала 5–6 мкм. Позади кишечника и

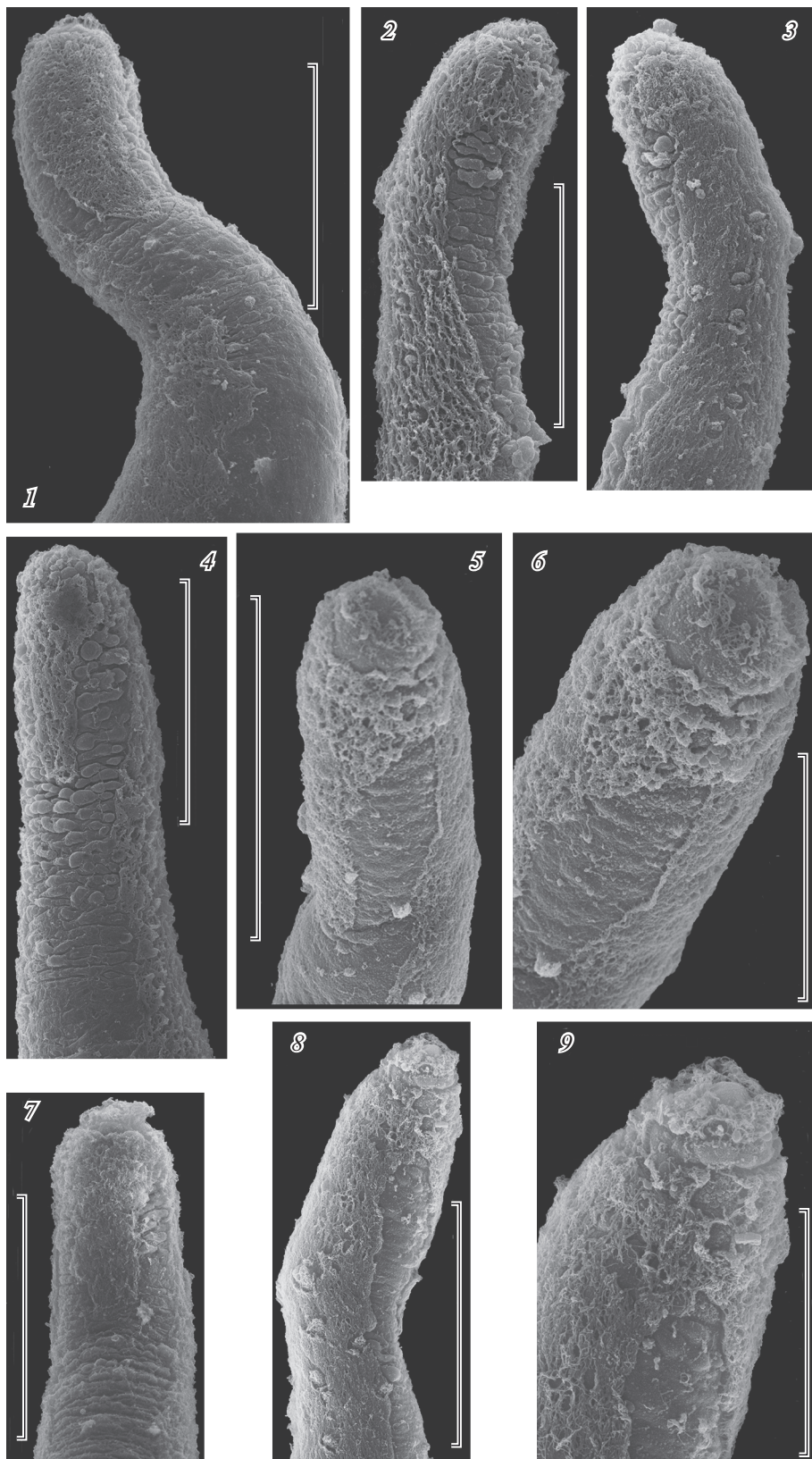


Рис. 4. *Boreusyrtis maksimovae* Timoshkin et Likhnev gen. et sp. n. Ресничный покров головного конца тела. Масштаб (мкм): 1–5, 7, 8 – 100; 6, 9 – 50.

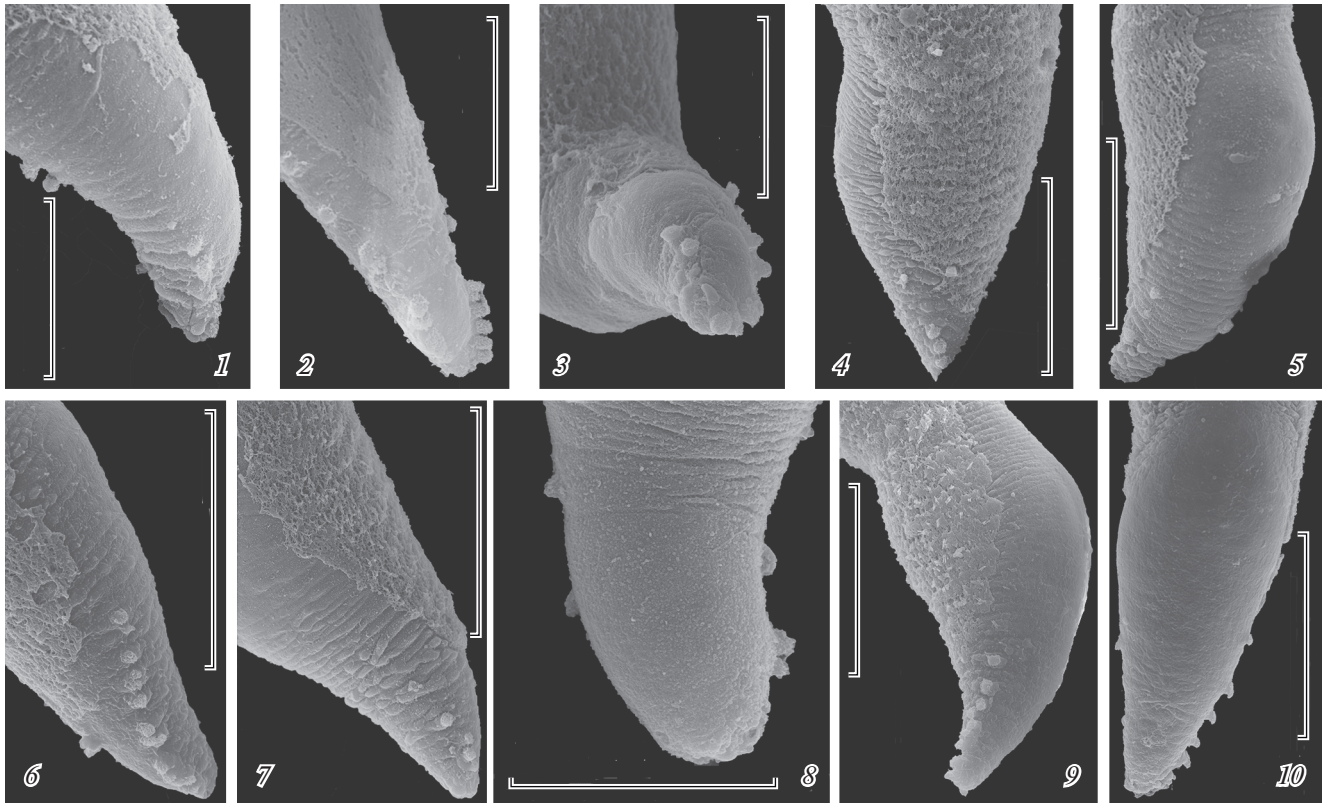


Рис. 5. *Boreusyrtris maksimovae* Timoshkin et Lukhnev gen. et sp. n. Ресничный покров и прикрепительные папиллы заднего конца тела. Масштаб (мкм): 1–3, 8 – 50; 4–7, 9, 10 – 100.

желточника, задняя граница которых примерно совпадает, женский канал поднимается вверх, окруженный протоками скорлуповых желез (рис. 1; 6). На серии фронтальных срезов видно, что женский канал впадает в атриум через его переднюю стенку, где у всех исследованных особей сосредоточены специфично окрашенные скорлуповые железы, обычно окружающие место впадения яйцевода в атриум. Ни разу на срезах не наблюдали, чтобы канал, обогнув атриум, открывался под мужским копулятивным аппаратом, как это происходит у других отопланид (Ax, 1956; Lanfranchi, Melai, 2007; 2008; Delogu, Curini-Galletti, 2007; Delogu et al., 2008).

У живых придавленных червей в области полового атриума неоднократно наблюдали тонкостенный канал, идущий от задней границы кишечника до каудального конца тела, рядом с гранулярным и семенным пузырями. Эта структура видна только на одной из серий сагиттальных срезов благодаря тому, что у особи вытянут задний конец тела (рис. 7, 1–5). Ширина этого канала 8–10 мкм. На срезах одного экземпляра в пространстве вокруг гранулярного и семенного пузыря обнаружены крупные клетки диаметром 15 мкм, с ядром около 6 мкм, которые, возможно, являются яйцеклетками и (или) вителлоцитами

(рис. 7, 6). Возможно, что созревшие клетки поступают в эту область и сначала свободно находятся в паренхиме, как это видим на срезах, а позже для них формируется временная паренхимная бурса. Сейчас мы можем предложить только эту гипотезу, так как на срезах данная структура (предполагаемая оформленная бурса) не содержит ни этих крупных клеток, ни спермы. В статье Римана (Riemann, 1965) нет никаких сведений о наличии бурсы и женского канала у *P. neiswestnovae*, который не был изучен автором на гистологическом уровне.

Позади глотки, под кишечником располагается один желточник, где многочисленные крупные вителлоциты упакованы в дольчатые фолликулы, уложенные поперек тела. Количество фолликулов в желточнике около 20. Ширина желточника 120–130, при ширине тела, измеренной от поверхности эпидермиса, 140–150 мкм. Высота желточника около 100, при высоте тела 134 мкм.

Общий половой атриум располагается в каудальной части тела. Единое половое отверстие удалено от заднего конца тела на 200–220 мкм. Ширина атриума в области отверстия около 40 мкм. Отверстие снабжено сфинктером. На сагиттальных и поперечных срезах в области атри-

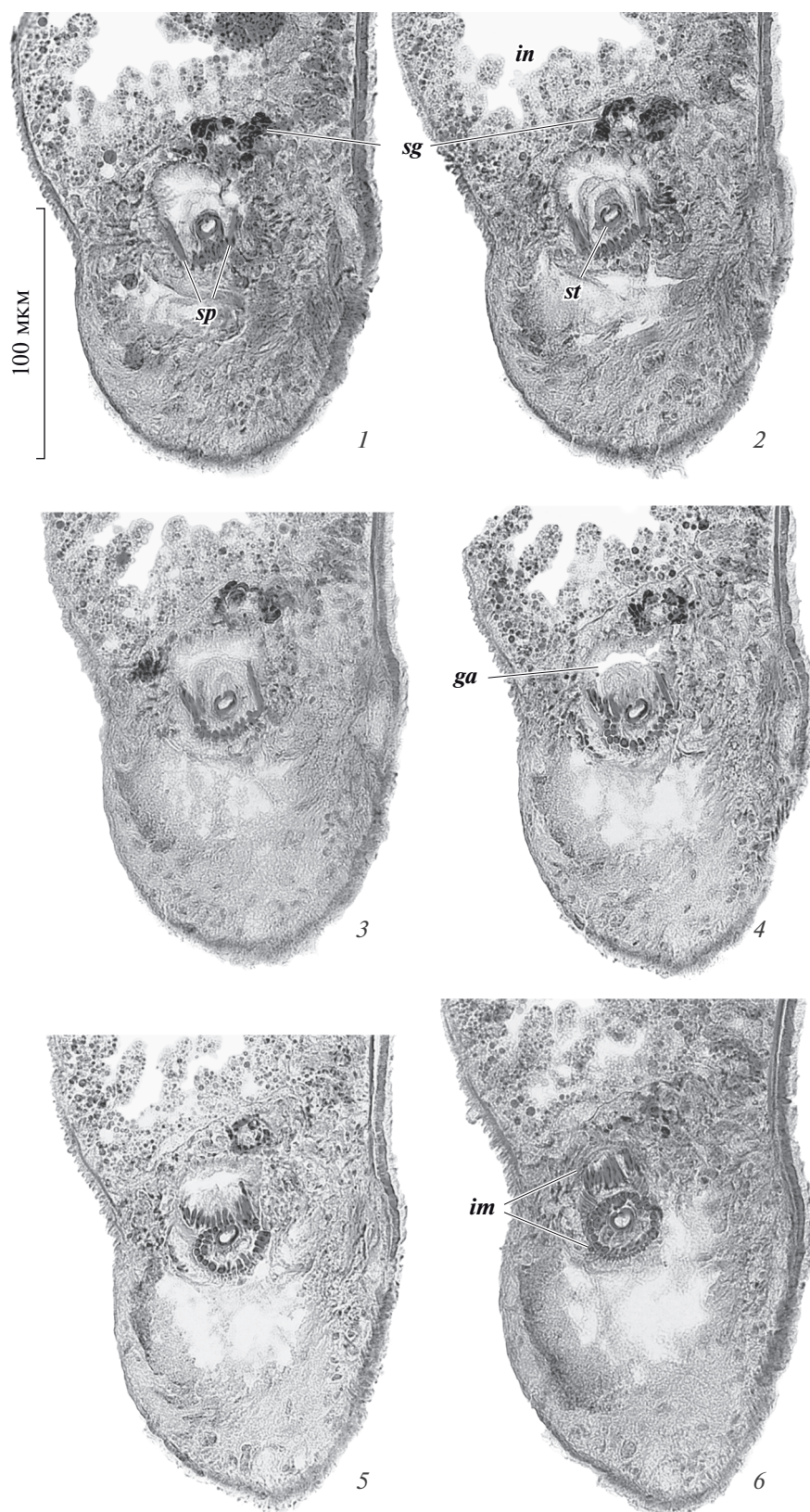


Рис. 6. *Boreusyrtis maksimovae* Timoshkin et Lukhnev gen. et sp. n.: 1–6 – последовательные фронтальные срезы заднего конца тела. *ga* – половой атриум, *im* – внутренняя мускулатура; *in* – кишечник; *sg* – скорлуповые железы, *sp* – иглы; *st* – стилет.

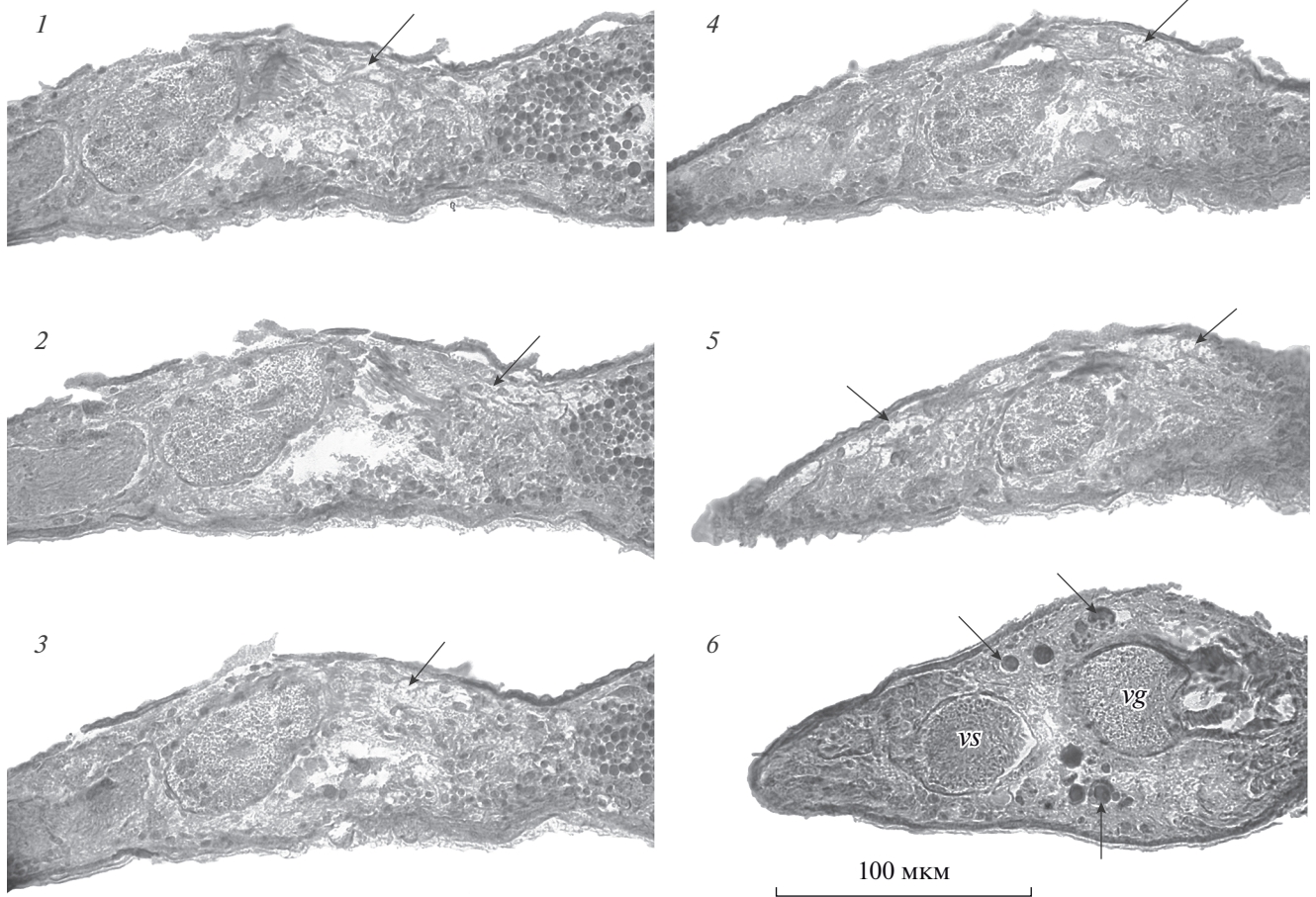


Рис. 7. *Boreusyrtis maksimovae* Timoshkin et Likhnev gen. et sp. n.: 1–5 – последовательные сагиттальные и 6 – фронтальный срезы заднего конца тела. Стрелками (1–5) отмечен канал и (6) клетки в области полового аппарата. vg – гранулярный пузырь, vs – семенной пузырь.

ума видно, что в паренхиме мышечные волокна проходят дорсо-вентрально и вентро-латерально. Толщина эпидермиса в области атриума 3, высота ресничного покрова 2.7 мкм.

Мужская половая система состоит из гонад, непарных гранулярного и семенного пузырей, кутикулярного комплекса прикрепительных игл и центрального стилета (рис. 1; 2; 8; 9). Гранулярный пузырь продолговатый, его длина 80–100, ширина – 70–80 мкм (по срезам), располагается дорсально. Внутри пузыря проходит канал шириной 2.5 мкм (по срезам), который у живых червей может сильно расширяться. Стенка пузыря имеет обкладку из одного слоя кольцевой мускулатуры, отчетливо видна базальная мембрана. Дистальный полюс пузыря чуть оттянут (ширина «горлышка» 25, длина 10–12 мкм) и на срезах не входит, а слегка погружен в основание стилетной иглы, ширина которой 15 мкм. Кроме того, здесь видны наружные продольные и внутренние кольцевые волокна мускулатуры, их примерно 13. У живых придавленных особей вокруг стилета ви-

ден «гофрированный» чехол, состоящий, как обнаружили на срезах, из тонкой внутренней кольцевой и мощной наружной продольной мускулатуры. Эта мышечная обкладка продолжается и на гранулярный пузырь, охватывая его.

Семенной пузырь занимает каудальное положение, конусом сужается кзади, его стенка (толщиной 1.7 мкм) образует складки. Ширина проксимальной части семенного пузыря 65–82 мкм. У живых особей видно, что по бокам гранулярного пузыря и за него, в хвостовую часть тела, проходят протоки (возможно семяпроводы). На гистологических срезах семяпроводы не обнаружены. Короткий канал между семенным и гранулярным пузырями снабжен мускулатурой.

Семенник длиной 200–273, шириной 94–96.7, при ширине тела 114 мкм расположен впереди глотки, под кишечником, состоит из 19–22 семенных фолликул. Высота тела в этой области 146–164 мкм. Расстояние от переднего конца тела до крайнего переднего семенного фолликула 245–250 мкм.

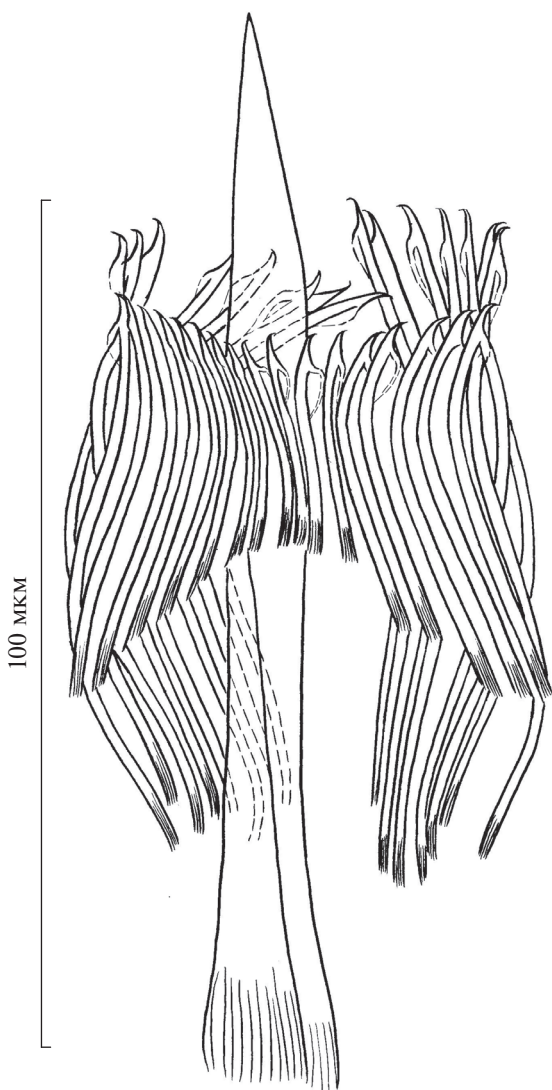


Рис. 8. *Boreusyrtis maksimovae* Timoshkin et Likhnev gen. et sp. n.: кутикулярные структуры копулятивного аппарата фронтально.

Игла стилета направлена вперед, конусовидная или воронковидная, часто чуть изогнута, расширена в средней части. Ее длина 110–120, ширина на основании 13–18, ширина расширенной средней части (если есть) в среднем 15 мкм. Стенка стилета не цельная: как бы срезанный по диагонали стилет по форме подобен желобу, края которого сближены у основания и постепенно расходятся к дистальному концу. Стиллет равномерно окружают 38–39 прикрепительных игл (в среднем 37, редко 35, 44). В зависимости от длины и строения, их можно разделить на 2 неравные группы. К первой группе (насколько видно на тотальных препаратах) относятся примерно две трети игл, длина которых 80–90 мкм. Форма их дистального конца отличается незначительно. Вторую группу составляют 9–12 игл, выстроенных особым обра-

зом: иглы постепенно и симметрично укорачиваются с обеих сторон с 50 до 25 мкм. Иглы этой группы располагаются у цельной стенки центрального стилета, наиболее длинные иглы – против желоба. Все иглы комплекса на тотальных препаратах всегда в разной степени согнуты (рис. 8; 9).

Дистальные концы игл загнуты в форме зубца, основание которого с той же стороны переходит в длинный, направленный назад субтерминальный отросток – апофиз. Как заканчивается отросток (конец свободен или прирастает к стволу иглы) на тотальных препаратах видно не всегда. Зубец не всегда выражен, очевидно, за счет того, что плоские иглы на препаратах лежат не плашмя, а “на ребре”. У живых придавленных червей иглы сгибаются в направлении от стилета при выдвигании последнего из атриума. Возможно, субтерминальный отросток служит для прикрепления мышечного волокна, сгибающего иглу.

Последовательности ДНК гена 18S рРНК были секвенированы у двух особей байкальских Otoplanidae, первоначально определенных как *Pseudosyrtis* sp. 1 и *Pseudosyrtis* sp. 7 (номера в базе NCBI: KP747653 и KP747654, соответственно), а в последствии названных *Boreusyrtis maksimovae*. Полученные последовательности оказались идентичными. После выравнивания всего набора данных, включая данные по 49 морским представителям Proseriata, общая длина нуклеотидных последовательностей составила 1648 позиций. Последовательности байкальских просериат отличались от последовательностей морских на 6–14%. Генетические расстояния (d) между ними и внутри отдельных семейств показаны в таблице.

Полученные данные позволяют говорить о том, что представители семейств Otoplanidae и Monocelidae генетически гетерогенны. Последний факт при определении генетических расстояний между байкальскими просериатами, морфологически близкими к семейству Otoplanidae, и другими отопланидами объясняет более высокие значения d по сравнению с аналогичным показателем других более далеких от них семейств.

Полученное консенсусное дерево показано на рис. 10. Видно, что байкальские просериаты с высокой степенью достоверности (1.0) располагаются в неоднородном семействе Otoplanidae. Интересно отметить, что все сравниваемые виды просериат, за исключением байкальских, обитают в морской среде. Рассчитанное время дивергенции (рис. 11) от предковых морских представителей отопланид приблизительно равно 66.3 ± 7.8 млн л.н.

Дифференциальный диагноз. В отличие от второго вида этого рода, *B. neiswestnovae*, центральный стилет нового вида не изогнут; он или прямой или чуть изогнут, нередко с небольшим расширением в средней части, со шелью по всей длине. Количество игл в копулятивном ап-

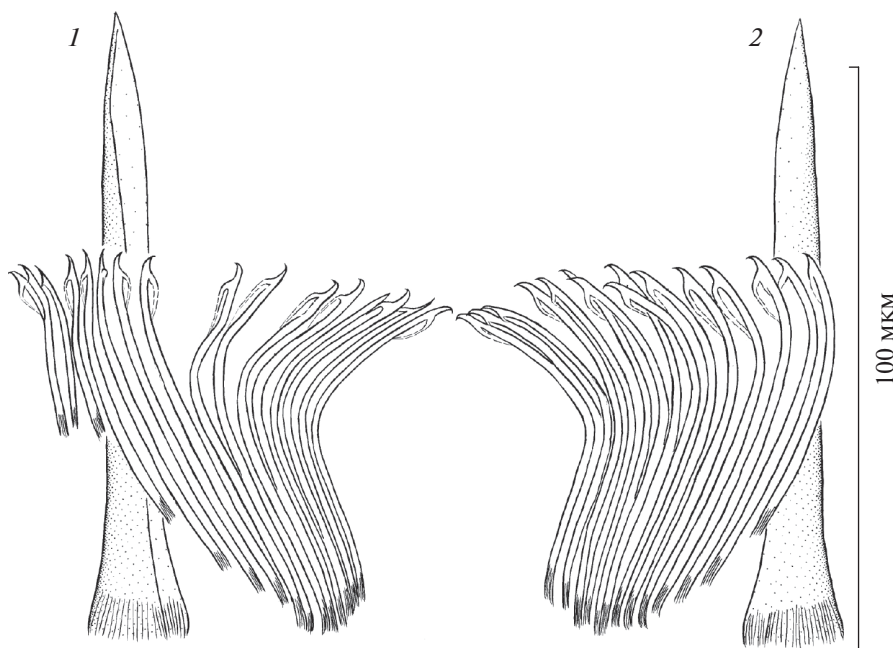


Рис. 9. *Boreusyrtis maksimovae* Timoshkin et Lukhnev gen. et sp. n.: кутикулярные структуры копулятивного аппарата сбоку. 1 – слева и 2 – справа (условно).

парате у *B. maksimovae* sp. n. составляет 38–39, редко 35 или 40, в то время как у *B. neiswestnovae* 20–23 иглы. Длина большинства игл у нового вида составляет 90, а у *B. neiswestnovae* – 70–78 мкм. 9–12 игл (примерно одна четверть) копулятивного аппарата *B. maksimovae* sp. n. значительно различаются по длине: иглы выстроены симметрично по убыванию их длин к центру от 53 до 25 мкм;

в то время как все иглы *B. neiswestnovae* равной длины.

Байкальские турбеллярии были идентифицированы как Otoplanidae по следующим морфологическим признакам: черви имеют общее половое отверстие, расположенный каудально непарный семенной пузырь, кутикулярный комплекс копулятивного органа состоит из многочисленных игл

Таблица 1. Генетические расстояния (d) между семействами отряда Proseriata, рассчитанные на основе гена 18S рРНК

Семейства	d внутри семейств	d между семействами							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1 Pseudosyrtis_Baikal									
2 Otoplanidae	0.1061	0.1173							
3 Archimonocelidae	0.0057	0.0834	0.1354						
4 Monocelidae	0.1139	0.1398	0.1703	0.1221					
5 Calviridae	0.0205	0.0779	0.134	0.0808	0.1305				
6 Coelogygnoporidae	0.0413	0.0802	0.1332	0.0842	0.1344	0.0374			
7 Nematoplanidae		0.0902	0.1432	0.0996	0.1394	0.0595	0.0674		
8 Polystyliphoridae		0.0992	0.1481	0.1063	0.1509	0.0763	0.0824	0.0486	

Жирным шрифтом выделены значения d между байкальскими представителями Proseriata и остальными семействами этого отряда.

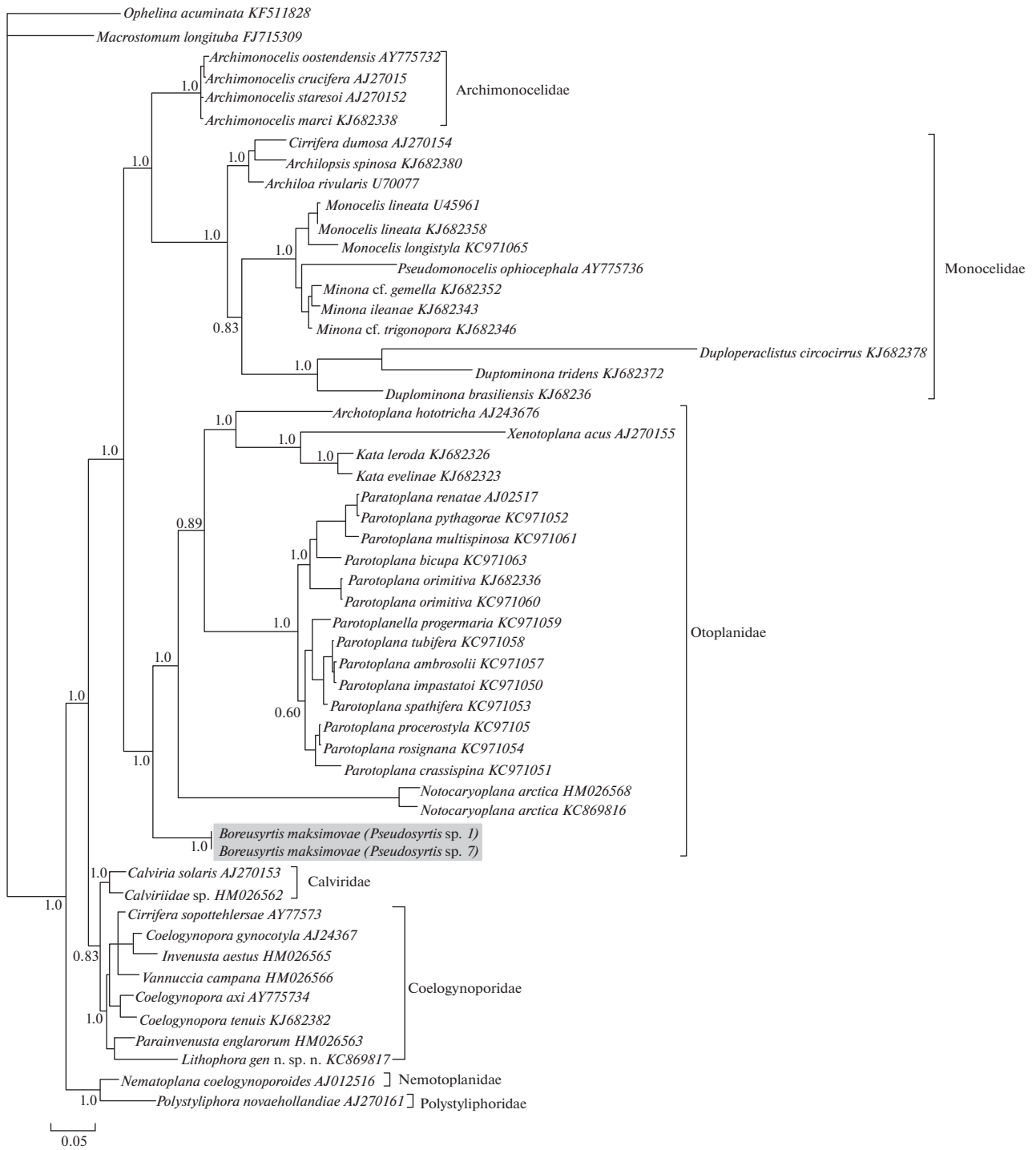


Рис. 10. Филогенетическая схема морских и байкальских (выделены серым) Proseriata, реконструированная по гену 18S рРНК (MrBayesv.3.2). В узлах ветвления показаны значения апостериорной вероятности.

и центральной воронковидной трубки (Ах, 1956; Cannon, 1986). Полученные нами молекулярно-биологические данные также однозначно подтверждают этот вывод. Семейство Otoplanidae включает несколько подсемейств, различающихся, главным образом, особенностями “топо-

графии” ресничного покрова тела, формой, строением и расположением глотки. По этим признакам байкальские черви соответствуют подсемейству Parotoplaninae Ах 1956, представителям которого свойственна короткая воротничкообразная глотка, направленная косо или пер-

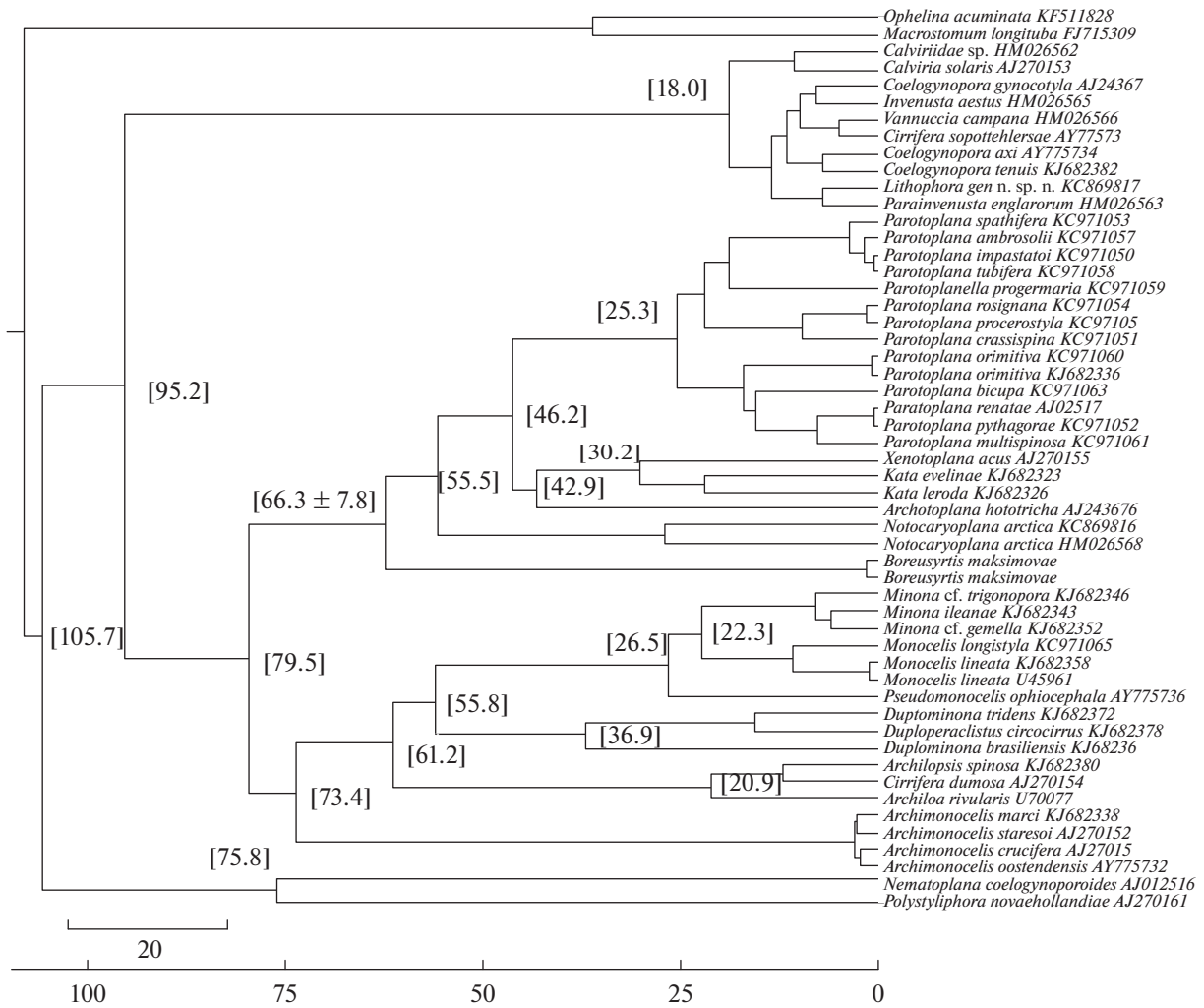


Рис. 11. Дерево, показывающее время дивергенции между таксонами (построено с помощью Beastv.1.8.1). Значения в узлах демонстрируют время дивергенции в млн л. н. Среднее значение этого параметра показано только для байкальских просериат (ветвь выделена серым цветом).

пендикулярно вентральной поверхности тела; ресничный покров ограничен брюшной и отдельными участками спинной стороны тела (Ax, 1956; Cannon, 1986; Lanfranchi, Melai, 2007; 2008). Во всей рассматриваемой группе байкальские партопланы обнаружили наибольшее морфологическое сходство с *P. neiswestnovae*, известным только из р. Эльба (Riemann, 1965). Для рода *Pseudosyrtytis* Ax 1956 характерны следующие признаки: погруженный эпидермис на вентральной стороне тела и непогруженный на дорсальной; на головном конце тела нет кольцевого или бокового ресничного покрова; длинные пальцеобразные прикрепительные папиллы более или менее регулярно расположены с обеих боковых сторон заднего конца тела; глотка имеет только внутренний ресничный покров (со стороны глоточного кармана); гранулярный пузырь дистально минимум на половину входит в центральную стилетную иглу;

бурса отсутствует; семенники парные, расположены перед глоткой, желточники также парные, расположены позади глотки (Ax, 1956). Среди просериат соединение женского канала и общего полового атриума через его переднюю стенку характерно для всех отомезостомид.

В настоящее время род *Pseudosyrtytis* включает пять видов: *Pseudosyrtytis calcaris* Sopott-Ehlers 1976, *P. subterranea*, *Pseudosyrtytis fluviatilis* Gieysztor 1938, *P. neiswestnovae*, *Pseudosyrtytis cebimari* Curini-Galletti 2014. Судя по таксономически важным морфологическим признакам, род не может считаться монофилетичным, а отнесенные к нему виды условно можно разделить на две группы. В первую мы включили типично морских *P. calcaris*, *P. cebimari* и известного как из морских, так и из пресных местообитаний *P. subterranea*, особенности строения которых в целом соответствуют диагнозу рода. На рис. 12, 13, 14 представлен внешний вид (либо

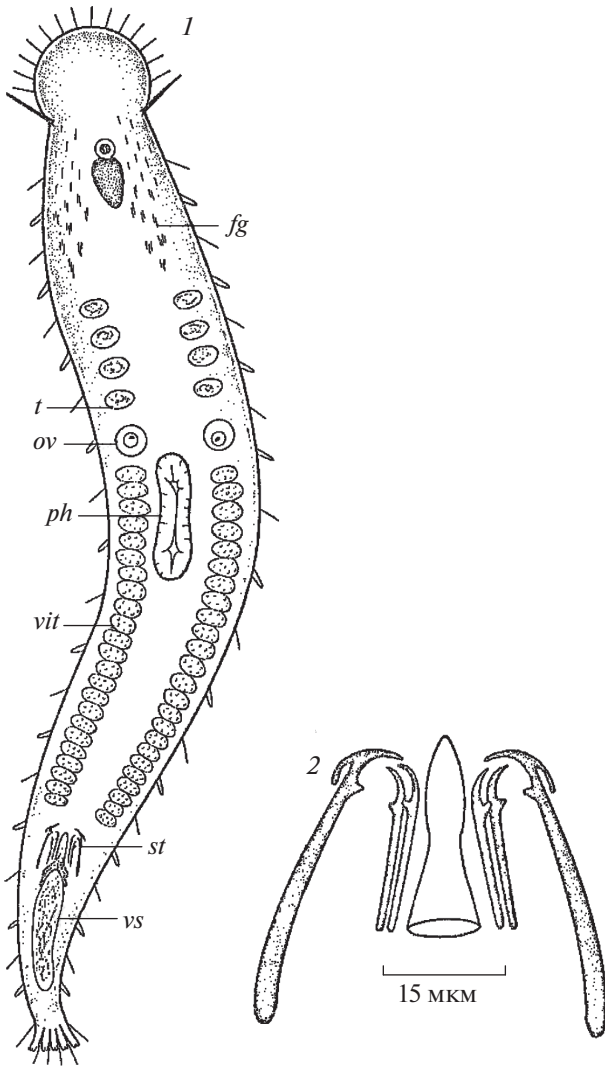


Рис. 12. *Pseudosyrtris calcaris* Sopott-Ehlers 1976: 1 – габитус; 2 – центральный стилет и прикрепительные иглы копулятивного аппарата. *fg* – фронтальные железы, *ov* – яичники, *ph* – глотка, *st* – стилет, *t* – семенник, *vit* – желточник, *vs* – семенной пузырь (из Tyler et al., 2006–2016 по: Sopott-Ehlers, 1976).

схема строения) и детали строения разных органов этих видов. Виды второй группы встречаются исключительно в пресных водоемах, и признаки их не вполне укладываются в диагноз рода. Вследствие недостаточно полного описания вид *P. fluviatilis*, по-видимому, следует отнести к *incertae sedis* (рис. 15). Поэтому мы не можем адекватно сравнивать его с другими видами рода. *P. neiswestnovae* имеет ряд важных признаков, отличных от родовых: голова дорсально и глотка со стороны глоточного кармана покрыты ресничками, гонады располагаются в один ряд, кутикулярная часть копулятивного аппарата кроме стилета несет особой формы многочисленные иглы (рис. 16). Примечательно, что этот вид был помещен в род *Pseu-*

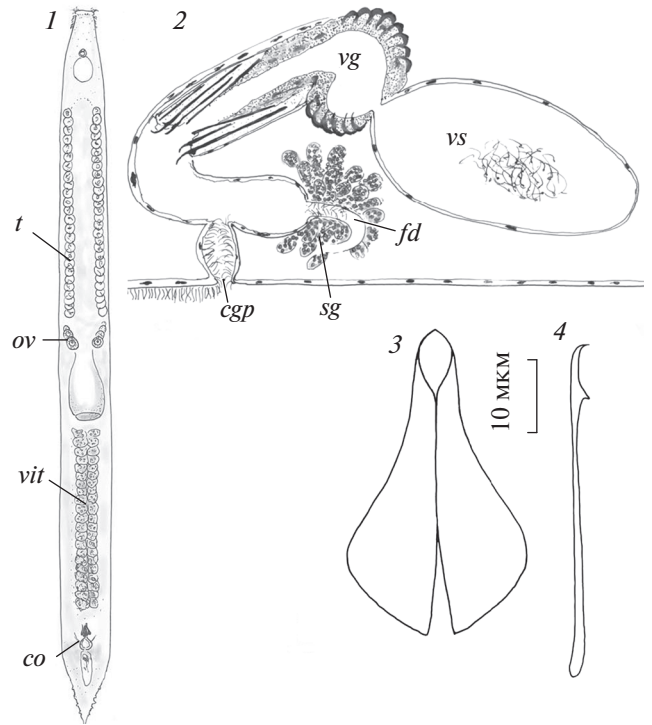


Рис. 13. *Pseudosyrtris cebimari* Curini-Galletti 2014: 1 – габитус; 2 – медиальный сагиттальный срез в области полового атриума; 3 – центральный стилет; 4 – прикрепительная игла копулятивного аппарата. *cgp* – общее половое отверстие, *co* – копулятивный орган, *fd* – женский канал, *ov* – яичники, *sg* – скорлуповые железы, *t* – семенник, *vit* – желточник, *vg* – гранулярный пузырь, *vs* – семенной пузырь (по: Curini-Galletti, 2014).

dosyrtris “за неимением более подходящего таксона”. Эти же признаки мы нашли и у байкальской отопланиды.

Акс выделил *P. subterranea* в особый род по причине, как он указывал в первую очередь, “весьма отличного строения органа оплодотворения” этих червей (Ах, 1956). *Otoplana fluviatilis* (Gieysztor 1938) был включен Аксом в новый род и объединен с *P. subterranea* на основании общих признаков: отсутствия ресничного покрова головы, наличия пальцеобразных прикрепительных папилл, строения кутикулярного органа. Акс не исследовал вид *P. fluviatilis* сам обстоятельно, а ссылаясь на автора первоописания (Gieysztor, 1938) и считал вид недостаточно изученным. На тот момент объединение этих видов Акс считал правомерным, несмотря на различия в строении копулятивного аппарата (число игл: 8/15; направление отростков игл: вперед/назад; соединение гранулярного пузыря и центральной стилетной иглы; расположение желточников). Судя по рисунку Гейжтора (Gieysztor, 1938), который описывал вид, наблюдая за живыми особями, нельзя определенно сказать, как соединяются гранулярный пузырь и центральная стилетная игла

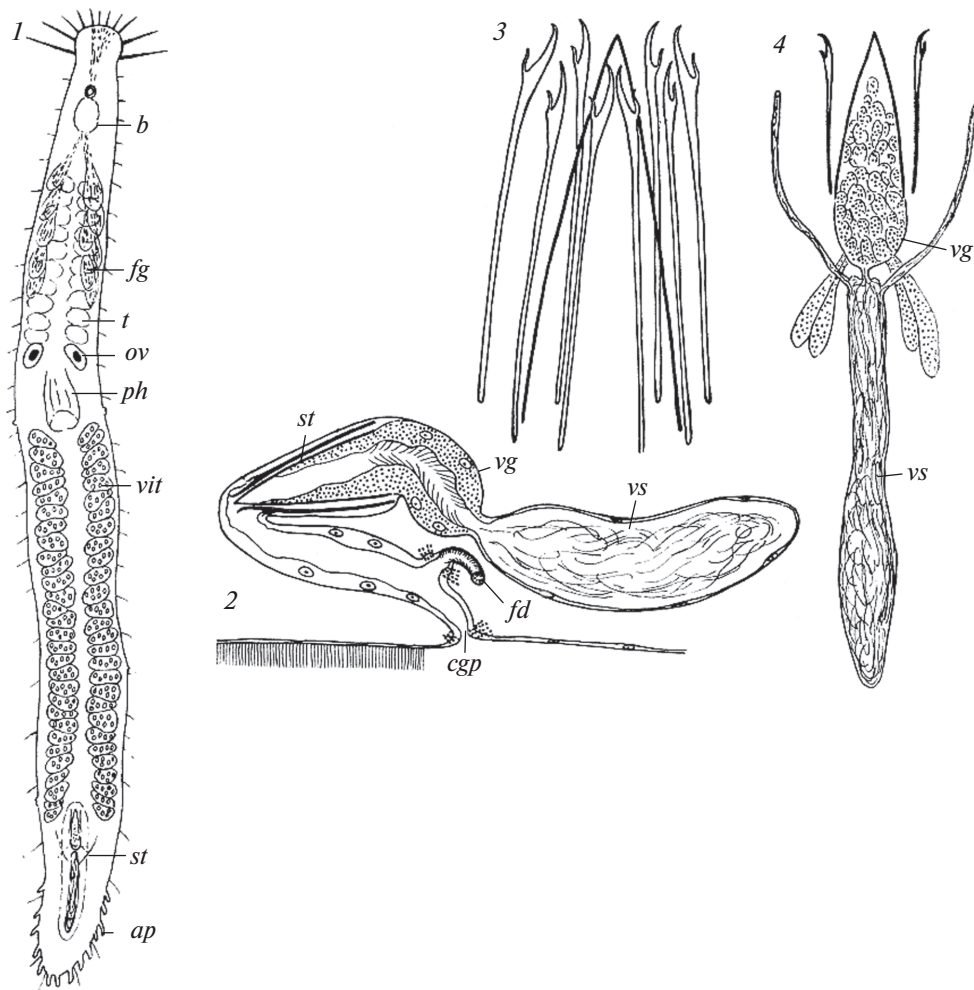


Рис. 14. *Pseudosyrtris subterranea* Ax 1956: 1 – габитус; 2 – медиальный сагиттальный срез в области полового атриума; 3 – центральный стилет и прикрепительные иглы копулятивного аппарата; 4 – копулятивный аппарат. *ap* – прикрепительные иглы, *b* – мозг, *cgp* – общее половое отверстие, *fd* – женский канал (ововителлодукт), *fg* – фронтальные железы, *ov* – яичники, *ph* – глотка, *st* – стилет, *t* – семенник, *vit* – желточник, *vg* – гранулярный пузырь, *vs* – семенной пузырь (по: Ax, 1956).

(рис. 15). Кроме того, ни Гейжтор, ни Акс не сообщают о расположении семенников и яичников у *P. fluviatilis*.

Все известные пресноводные Otoplanidae были найдены только в реках, байкальский вид – первый лимнический представитель семейства. Турбеллярии, обитающие в реках, соединенных с морем, как полагают, имеют морское происхождение (Schockaert et al., 2008). Как морфологические, так и молекулярно-биологические данные свидетельствуют о близком родстве байкальской отопланиды с морскими турбелляриями. Однако выдвигать предположения о происхождении и зоогеографических связях байкальских Otoplanidae на данном этапе исследования едва ли возможно, и этот вопрос требует дальнейших моле-

кулярных и морфологических исследований. Выделение нового и ранее описанного видов в отдельный род является на наш взгляд оптимальным таксономическим решением. Для Байкала известны и другие представители фауны, имеющие близкое морфологическое сходство с фауной морей. В качестве наиболее яркого примера могут служить единственные пресноводные представители из морской группы хоботковых ресничных червей Schizorhynchidae, чье происхождение в озере также “пока совершенно не поддается объяснению” (Тимошкин, 2010–2011).

В морях отопланиды являются типичными обитателями зоны прибоя. Существовать в этих специфических экстремальных условиях, как полагают, червям удается благодаря удлинённой

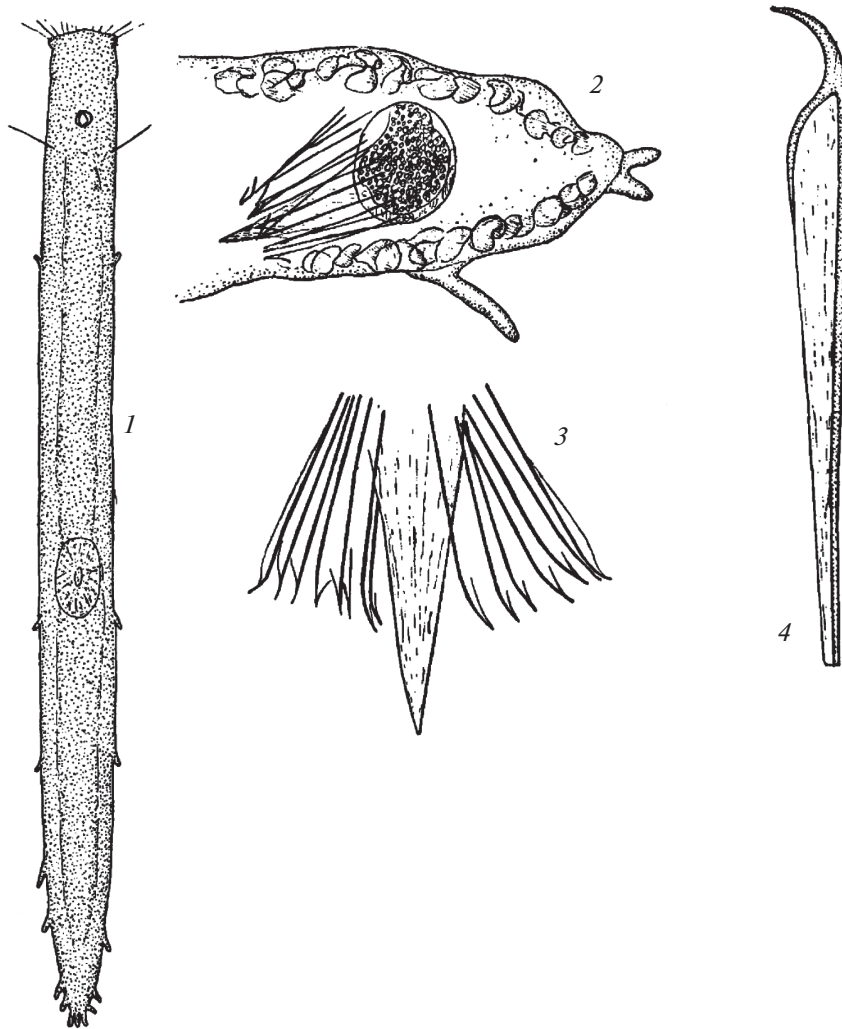


Рис. 15. *Pseudosyrtris fluviatilis* (Gieysztor 1938): 1 – габитус; 2 – срез в области копулятивного аппарата; 3 – центральный стилет и прикрепительные иглы копулятивного аппарата; 4 – прикрепительная игла копулятивного аппарата (по: Gieysztor, 1938).

форме тела и каудальным присоскам (Bush, 1968). Байкальские отопланиды, обитающие в песчаной литорали, на глубине 1.5–3 м, также являются самыми длинными в таксоценозе микротурбеллярий. В прибойной же зоне они встречаются единично (Зайцева и др., 2004), и эту нишу в озере занимают и доминируют в ней проринхиды *Geocentrophora interstitialis* Timoshkin 1984 (Lecithoepitheliata, Prorhynchidae) (Тимошкин, 1991; Тимошкин и др., 2014), которые гораздо (на порядок) крупнее отопланид.

Э т и м о л о г и я. Название рода происходит от греческих слов “boreus” – северный и “syrtris” – отмель. Вид назван в честь Натальи Васильевны Максимовой, кандидата биологических наук, ис-

следователя байкальских брюхоногих моллюсков, ученого секретаря Лимнологического института СО РАН.

БЛАГОДАРНОСТИ

В работе на СЭМ помощь авторам оказывали сотрудники Отдела ультраструктуры клетки (Центра коллективного приборопользования) инженер-оператор В.И. Егоров, инженер К.Ю. Арсентьев. Неоценимую помощь в подготовке материала оказали А.Г. Порфирьев (Приволжский федеральный университет, Казань), А.Н. Шумеев (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург). За предоставление литературы авторы благодарят сотрудников библиотеки

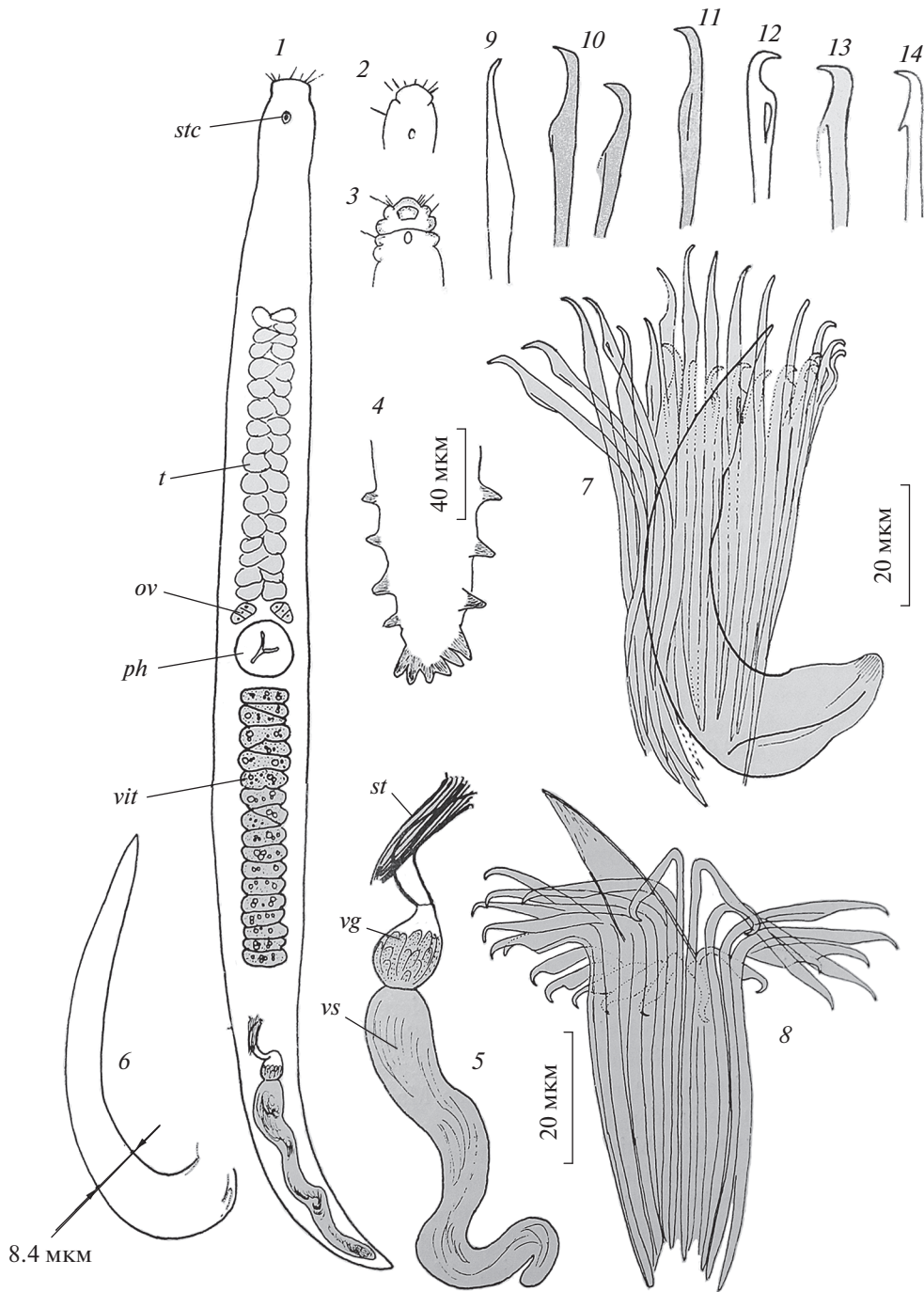


Рис. 16. *Pseudosyrtris neiswestnovae* Riemann 1965: 1 – габитус; 2, 3 – головной конец тела; 4 – задний конец тела; 5 – копулятивный аппарат; 6 – центральный стилет копулятивного аппарата; 7, 8 – центральный стилет и прикрепительные иглы копулятивного аппарата; 9–14 – дистальные концы игл копулятивного аппарата (по: Riemann, 1965). *ov* – яичники, *ph* – глотка, *st* – стилет, *stc* – статоцист, *t* – семенник, *vit* – желточник, *vg* – гранулярный пузырь, *vs* – семенной пузырь.

ЗИН РАН, проф. М. Кавакатсу (Япония), проф. М. Курини-Галлетти (Италия).

Работа выполнена в рамках госбюджетных проектов 0345-2014-003 и 0345-2016-0009, а также КАКЕННІ (15Н05112).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гагарин В.Г., Коргина Е.М., 1982. Каталог Turbellaria пресных вод СССР. Борок: АН СССР Институт биологии внутренних вод. С. 9–10.
 Зайцева Е.П., Тимошкин О.А., Вейнберг И.В., 2004. Видовой состав и количественные характеристики

- микротурбеллярий сообществ пляжа Южного Байкала. Тезисы междунар. конф. Научные основы сохранения водосборных бассейнов: междисциплинарные подходы к управлению природными ресурсами. Улан-Уде—Улан-Батор: Изд-во БНЦ СО РАН. Т. 1. 197 с.
- Королева А.Г., Ештушенко Е.В., Тимошкин О.А., Вершинин А.В., Кирильчик С.В., 2013. Длина теломерной ДНК и филогения байкальских и сибирских планарий (Turbellaria, Tricladida) // Цитология. Т. 55. Вып. 4. С. 247–252.
- Лухнев А.Г., Тимошкин О.А., Зайцева Е.П., 2011. *Combipostoma* – новый род эндемичных Otomesostomidae (Turbellaria, Proseriata) из озера Байкал // Зоологический журнал. Т. 90. Вып. 10. С. 1165–1180.
- Рогозин А.Г., 1994. Класс Ресничные черви (Turbellaria) // Определитель пресноводных беспозвоночных России. Т. 1. СПб. ЗИН РАН. С. 18–50.
- Тимошкин О.А., 1991. Ресничные черви оз. Байкал. 1. Морфология, систематика и филогения // Морфология и эволюция беспозвоночных. Сб. трудов. Новосибирск: Наука, Сибирское отделение. С. 63–185.
- Тимошкин О.А., 2010–2011. Сложившиеся тенденции и современный уровень решения проблемы; наиболее интересные открытия в области биоразнообразия Байкала за последние годы // Аннотированный список фауны Байкала и его водосборного бассейна. Новосибирск: Наука, Сибирское отделение. Т. II. Кн. 2. С. 1423–1428.
- Тимошкин О.А., Лухнев А.Г., Зайцева Е.П. 2010. Первые сведения об эндемичной фауне Turbellaria Proseriata (Platyhelminthes, Otomesostomidae) из озера Байкал // Зоологический журнал. Т. 89. Вып. 10. С. 1165–1180.
- Тимошкин О.А., Попова О.В., Лухнёв А.Г., Зайцева Е.П., 2014. Фауна и особенности распределения микротурбеллярий заплесковой зоны озера Байкал с описанием новых видов рода *Opisthocystis* (Plathelminthes, Turbellaria, Kalyptorhynchia) // Зоологический журнал. Т. 93. № 3. С. 412–425.
- Ax P., 1956. Monographie der Otoplanidae (Turbellaria): Morphologie und Systematik // Akademie der Wissenschaften und der Literatur Abhandlungen der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Klasse. № 13. P. 1–298, 499–796.
- Ax P., 1967. Turbellaria Proseriata from the Pacific Coast of the USA (Washington). I. Otoplanidae // Zeitschrift für Morphologie der Tiere. № 61. P. 215–254.
- Bush L., 1968. Characteristics of interstitial sand turbellaria: the significance of body elongation, muscular development, and adhesive organs. Transactions of American Microscopical Society. V. 87. № 2. P. 244–251.
- Cannon L.R.G., 1986. Turbellaria of the World. A Guide to Families and Genera // Queensland Museum. Savage Type Pty Ltd. Brisbane. 132 p.
- Carranza S., Baguna J., Riutort M., 1997. Are the Platyhelminthes a monophyletic primitive group? An assessment using 18S rDNA sequences // Molecular Biology and Evolution. V. 14. № 5. P. 485–497.
- Curini-Galletti M., 2001. The Proseriata // Interrelationships of the Platyhelminthes. Littlewood D.T.J. & Bray (ed.). London: Taylor & Francis. P. 41–48.
- Curini-Galletti M., 2014. Contribution to the knowledge of the Proseriata (Platyhelminthes: Rhabditophora) from southeast Brazil // Marine Biodiversity. V. 44. P. 287–312.
- Curini-Galletti M., Webster B.L., Huysse T., Casu M., Schockaert E.R. et al., 2010. New insights on the phylogenetic relationships of the Proseriata (Platyhelminthes), with proposal of a new genus of the family Coelogyroporidae // Zootaxa. V. 2537. P. 1–18.
- Delogu V., Curini-Galletti M., 2007. New species of the genus *Parotoplana* Meixner, 1938 (Proseriata, Otoplanidae) from southern Apulia (Italy) // Zootaxa. V. 1529. P. 17–31.
- Delogu V., Casu M., Curini-Galletti M., 2008. The genera *Parotoplana* Meixner, 1938 and *Parotoplanella* Ax, 1956 (Platyhelminthes: Proseriata) in southern Spain // Journal of Natural History. V. 42. P. 157–176.
- Drummond A.J., Suchard M.A., Xie D., Rambaut A., 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 // Molecular Biology and Evolution. V. 29. P. 1969–1973.
- Gięsztor M., 1938. Über einige Turbellarien aus dem Süßwassersammon // Archiv Hydrobiologie und Ichthyologie. T. XI. P. 364–382.
- Huelsenbeck J., Ronquist F., 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // Bioinformatics. V. 7. № 8. P. 754–755.
- Karling T.G., 1974. Turbellarian fauna of the Baltic proper: Identification, ecology and biogeography // Fauna Fennica. V. 27. Helsinki – Helsingfors. 101 p.
- Laforsch C., Tollrian R., 2000. A new preparation technique of daphnids for Scanning Electron Microscopy using hexamethyldisilazane // Archiv für Hydrobiologie. V. 149. № 4. P. 587–596.
- Lanfranchi A., Melai M., 2007. Morphology and taxonomy of a new species of otoplanid (Plathelminthes, Rhabditophora, Proseriata) from Ligurian Sea // Italian Journal of Zoology. V. 74. № 2. P. 209–214.
- Lanfranchi A., Melai M., 2008. *Parotoplana rosignana* sp. nov.: Morphology, taxonomy and post-embryonal development of a new species of otoplanid (Plathelminthes, Rhabditophora, Proseriata) // Italian Journal of Zoology. V. 75. № 2. P. 197–206.
- Mack-Fira V., 1974. The Turbellarian fauna of the Romanian littoral waters of the Black sea and its annexes // Biology of Turbellaria. Chapter 13. N.W. Riser & M.P. Morse. P. 248–290.
- Norena C., Damborenea C., Brusa F., 2005. New freshwater interstitial Otoplanidae from the Parana and Uruguay rivers, South America // Journal of Natural History. V. 39. № 18. P. 1457–1468.
- Remane A., 1933. Verteilung und Organisation der benthonischen Microfauna der Kieler Bucht // Wissenschaftlich Meeresuntersuchungen. Abteilung Kiel. V. 21. P. 161–221.
- Riemann F., 1965. Turbellaria Proseriata mariner Herkunft aus Sanden der Flubsohle im limnischen Bereich der Elbe. Zoologische Anzeiger. Akademische verlags-

- gesellschaft. Geest & Portig K.-G. Leipzig. V. 174. № 1. P. 299–312.
- Scarpa F., Cossu P., Sanna D., Lai T., Norenburg J.L., Curni-Galletti M., Casu M., 2015. An 18S and 28S-based clock calibration for marine Proseriata (Platyhelminthes) // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. V. 463. P. 22–31.
- Schockaert E.R., Hooge M., Sluys R., Schilling S., Tyler S., Artois T., 2008. Global diversity of free living flatworms (Platyhelminthes, «Turbellaria») in freshwater // Hydrobiologia. V. 595. P. 41–48.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiński A., Kumar S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // Molecular Biology and Evolution. V. 30. P. 2725–2729.
- Thompson J., Higgins D., Gibson T., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice // Nucleic Acids Research. V. 22. P. 4673–4680.
- Tyler S., Schilling S., Hooge M., Bush L.F., 2006–2016. Turbellarian taxonomic database. Version 1.7. (<http://turbellaria.umaine.edu>).

A NEW SPECIES AND GENUS OF PSAMMOPHILIC PROSERIATA (TURBELLARIA, OTOPLANIDAE) FROM LAKE BAIKAL AND ITS PHYLOGENETIC RELATIONS AS REVEALED BY 18S rRNA SEQUENCE DATA

A. G. Lukhnev, A. G. Koroleva, S. V. Kirilchik, and O. A. Timoshkin[#]

Limnological Institute SB Russian Academy of Sciences, Irkutsk 664033, Russia

[#]*e-mail: tim@lin.irk.ru*

An illustrated description of *Boreusyrtris maksimovae* gen. et sp. n., representative of a new genus of *Otoplanidae turbellarians* (Proseriata) from Lake Baikal, is given. The worm shows a peculiar pattern of the ciliated epithelium of the rostral body end, the special morphology of the pharynx and copulative apparatus, and the distinguished topography of the sexual organs. A comparative morphological analysis of the Baikal otoplanid and related forms has allowed us to perform their partial taxonomic revision, resulting in the erection of *Boreusyrtris* Lukhnev et Timoshkin gen. n. *Pseudosyrtris neiswestnovae* Riemann 1965, from Elba River, closely related to our new species, is also transferred to the new genus, comb. n. A molecular analysis, based on 18S rRNA gene sequence data, has also been performed, and a phylogenetic tree constructed.

Keywords: *Boreusyrtris maksimovae* gen. et sp. n, freshwater Proseriata, endemic Otoplanidae, 18S rRNA, phylogenetic relations, Baikal