

Сравнительный анализ камерных глаз брюхоногих легочных моллюсков *Cepaea nemoralis* (Linnaeus, 1758) и *Cepaea hortensis* (Müller, 1774) (Stylommatophora, Helicidae)

И.П. ШЕПЕЛЕВА

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, наб. Макарова, 6, Санкт-Петербург, 199034, РОССИЯ. E-mail: ishepeleva@rambler.ru

A comparative analysis of the camera eyes of gastropod pulmonate mollusks *Cepaea nemoralis* (Linnaeus, 1758) and *Cepaea hortensis* (Müller, 1774) (Stylommatophora, Helicidae)

I.P. SHEPELEVA

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Makarova emb. 6, St. Petersburg, 199034, RUSSIA. E-mail: ishepeleva@rambler.ru

ABSTRACT. A comparative analysis of the camera eyes of gastropod pulmonate molluscs *Cepaea nemoralis* and *Cepaea hortensis* was carried out on the basis of original and published data. It was demonstrated that the eyeballs and their main components in *C. nemoralis* and *C. hortensis* have more similarities in morphological and optical properties than in anatomical parameters.

Введение

Cepaea nemoralis (Linnaeus, 1758) и *Cepaea hortensis* (Müller, 1774) – наземные брюхоногие легочные моллюски семейства Helicidae, различающиеся образом жизни и зрительными возможностями. *C. nemoralis* обитает в Калининграде на кустарниках и стволах деревьев в садах и, по всей видимости, может различать объекты окружающей среды [Шепелева, 2002, 2005; Bobkova et al., 2004; Gál et al., 2004]. *C. hortensis* живет в Южной Швеции в зарослях крапивы на полях и может определять лишь изменения уровня освещенности [Шепелева, 2006]. Цель настоящей работы – сравнить камерные глаза *C. nemoralis* и *C. hortensis* и выявить сходства и различия в морфологических и оптических свойствах и анатомических параметрах их основных компонентов.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили

взрослые особи *Cepaea nemoralis* с диаметром раковины 20–23 мм, которых собирали в г. Калининграде в 2000 г., и *C. hortensis* с диаметром раковины 18–20 мм, собранные в пригороде г. Лунда – Риннебаксдалене в июне–августе 2004 г. Моллюсков содержали в террариумах с почвой при температуре 18–20°C и естественном световом режиме, а также при световом режиме 12 ч свет: 12 ч темнота. Кормили листьями одуванчиков. Количество измерений, выполненных у каждого вида моллюсков, приведено в Табл. 1.

Исследования in vitro

Препараты глаз и хрусталиков готовили с использованием физиологического раствора под бинокулярным микроскопом МБС-9 и/или Carl Zeiss, изучали при помощи светового микроскопа МБИ-15 и/или Zeiss AxioPhot и при помощи последнего фотографировали.

Гистология и микроскопия

В качестве материала для световой и электронной микроскопии у *C. nemoralis* использовали препараты глаз. Глаза поэтапно фиксировали в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида на 0,2 М s-коллидиновом буфере (pH=8,0) в течение 2 часов и в 1%-ном растворе тетраоксида осмия на 0,1 М s-коллидиновом буфере (pH=8,0) в течение 1 ч при комнатной температуре. После обезвоживания материал заливали смолой. Полутонкие срезы (1,5 мкм) окрашивали 1%-ным раствором толуидинового синего с добавлением 0,8%-ного карбоната натрия или 1%-ным раствором азура II и 1%-ным раствором метилевого синего с добавлением 1%-ного карбоната натрия в соотношении 1:1. Срезы фотографировали при помощи светового микроскопа AxioMat Carl Zeiss или Reichert–Jung Polyvar. Ультратонкие срезы нарезали при помощи ультрамикротомы Reichert Ultracut E или Reichert OMU3, окрашивали цитратом свинца и ацетатом урана и фотографировали при помощи трансмиссионно-

Табл. 1. Параметры глаз *Cepaea nemoralis* и *Cepaea hortensis*.Table 1. Parameters of the eyes of *Cepaea nemoralis* and *Cepaea hortensis*.

Параметр	<i>Cepaea nemoralis</i>	<i>Cepaea hortensis</i>
Размер глазного бокала, мкм (продольная×поперечная ось)	312±7,0×320±9,0 (n=8)	286±8,0×233±7,0 (n=10)
Диаметр зрачка, A (мкм)	107±3,0 (n=8)	120±2,7 (n=10)
Наружный радиус кривизны роговицы, мкм	112±6,0 (n=8)	109±2,8 (n=10)
Толщина роговицы, мкм	25±2,0 (n=8)	31±5,2 (n=10)
Внутренний радиус кривизны роговицы, мкм	83±5,0 (n=8)	78±4,6 (n=10)
Размер хрусталика, мкм (продольная×поперечная ось)	120±8,0×144±9,0 (n=10)	177±9,0×129±5,0 (n=10)
Радиус кривизны передней и задней поверхности хрусталика, мкм	119±6,0 (n=10)	65±3,0 (n=10)
Длина микровиллярной части фоторецепторов первого/второго типа*, l (мкм)	20±1,0/3,4±0,9 (n=25)	23±1,8/2,2±0,1 (n=90/20)
Расстояние между центрами соседних фоторецепторов первого/второго типа*, p (мкм)	21±2,0/21±2,0 (n=25)	11±1,0/6,0±0,7 (n=70/30)
Плотность расположения фоторецепторов первого/второго типа*, ρ (мкм ⁻²)	0,003/0,003	0,010/0,032

Параметры для *C. nemoralis* взяты из Шепелева [2005], Bobkova *et al.* [2004], Gál *et al.* [2004], для *C. hortensis* – из Шепелева [2006]. * – параметры даны для центральной области сетчатки.

го электронного микроскопа Jeol JEM 100CX II или Philips EM 300 [Bobkova *et al.*, 2004].

Для световой и электронной микроскопии у *C. hortensis* использовали глазные щупальца моллюсков, адаптированных к темноте. Щупальца последовательно фиксировали в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида на 0,1 М какодилатном буфере (pH=8,0) в течение 2 ч при 4°C и в 1%-ном растворе тетраоксида осмия на том же буфере в течение 1 ч при 4°C. Затем материал обезвоживали и заливали смолой. Полутонкие срезы (2 мкм) нарезают при помощи ультрамикротомы V LKB 2088, окрашивают 0,5%-ным раствором толуйдинового синего с добавлением 1%-ного карбоната натрия, заключают под покровное стекло и фотографируют при помощи светового микроскопа Zeiss AxioPhot. Для электронной микроскопии ультратонкие срезы (70 нм) последовательно окрашивают 2%-ным раствором ацетата урана и 0,1%-ным раствором цитрата свинца и фотографируют при помощи трансмиссионного электронного микроскопа JEOL JEM-1230 [Шепелева, 2006].

Морфометрия

Морфометрию выполняли на препаратах, фотографиях препаратов и срезов при помощи окуляр-микрометра на световом микроскопе МБИ-15, вручную и с использованием компьютерной программы CorelDraw. Средние значения полученных данных со стандартным отклонением [Лакин, 1990] приведены в Табл. 1.

Расчеты

Плотность расположения фоторецепторов (ρ , мкм⁻²) рассчитывали по формуле [Gál *et al.*, 2004]:

$$\rho = \frac{2}{\sqrt{3} \times p^2},$$

где p – анатомическое расстояние между центрами соседних фоторецепторов.

Результаты и обсуждение

Общее строение камерных глаз *Cepaea nemoralis* и *C. hortensis*

У *C. nemoralis* и *C. hortensis* камерные глаза имеют эллипсоидную форму разной степени выраженности и ориентации относительно оптической оси; глаза различаются также размером (Рис. 1, 2). У *C. nemoralis* эллипсоидная форма глазного бокала выражена меньше и перпендикулярно оптической оси, тогда как у *C. hortensis* – больше и параллельно оптической оси. Различия в размере глаз при средних значениях 312×320 мкм у *C. nemoralis* и 286×233 мкм у *C. hortensis* больше проявляются по поперечной оси, чем по продольной. Глаза обоих видов моллюсков состоят из следующих основных компонентов: роговицы, хрусталика, стекловидного тела и сетчатки. Края последней образуют зрачок, средний диаметр которого различается не очень существенно и составляет 107 мкм у *C. nemoralis* и 120 мкм у *C. hortensis* [Шепелева, 2002, 2005,

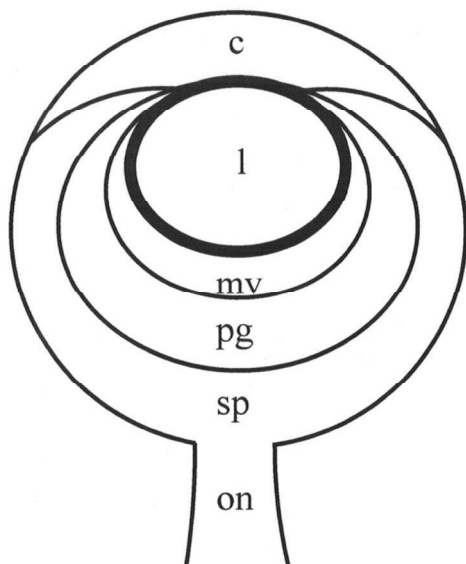


РИС. 1. Схематичное изображение камерного глаза *Cepaea nemoralis*. Сокращения: с – роговица; l – хрусталик; mv – микровиллярный слой сетчатки; pg – пигментный слой сетчатки; sp – соматический и плексиформный слой; on – зрительный нерв.

FIG. 1. Schematic drawing of the camera eye of *Cepaea nemoralis*. Abbreviation: c – cornea; l – lens; mv – microvillar layer of the retina; pg – pigmented layer of the retina; sp – somatic and plexiform layer of the retina; on – optic nerve.

2006; Bobkova *et al.*, 2004] (Табл. 1). Как видно, глазные бокалы *C. nemoralis* и *C. hortensis* имеют больше различий, чем сходств в морфологических свойствах и различия в анатомических параметрах (Табл. 2, 3, 4).

Роговица

Роговицы глаз *C. nemoralis* и *C. hortensis* – выпукло-вогнутые линзы с полусферической формой преломляющих поверхностей (Рис. 1, 2). *In vitro* роговицы выглядят прозрачными, непигментированными и оптически гомогенными. У обоих видов моллюсков они образованы однослойным столбчатым эпителием [Шепелева, 2002, 2005, 2006; Bobkova *et al.*, 2004]. Толщина этих линз различается незначительно, и у *C. nemoralis* она меньше, чем у *C. hortensis*. Радиусы кривизны различаются еще меньше, чем толщина, и у *C. nemoralis* они немного больше, чем у *C. hortensis*, что объясняется более длинной поперечной осью глаза, а также хрусталика *C. nemoralis* (Табл. 1). Однако, различия в длине глаз моллюсков по поперечной оси более существенны, чем в радиусах кривизны роговицы. Таким образом, роговицы *C. nemoralis* и *C. hortensis* не имеют различий в морфологических

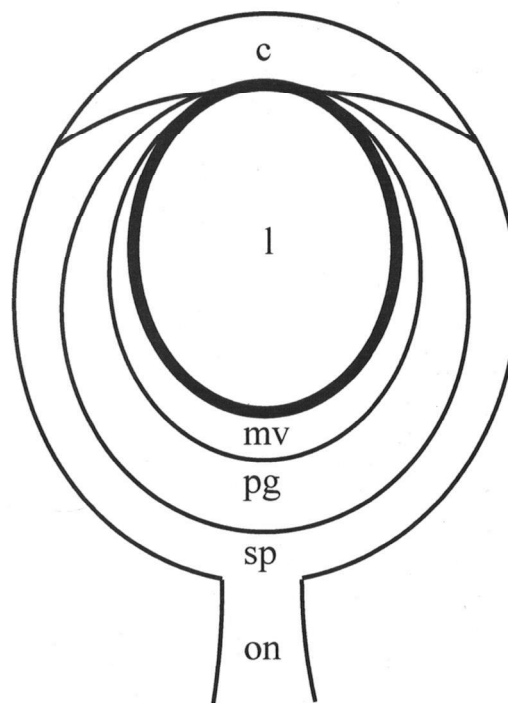


РИС. 2. Схематичное изображение камерного глаза *Cepaea hortensis*. Сокращения: с – роговица; l – хрусталик; mv – микровиллярный слой сетчатки; pg – пигментный слой сетчатки; sp – соматический и плексиформный слой; on – зрительный нерв.

FIG. 2. Schematic drawing of the camera eye of *Cepaea hortensis*. Abbreviation: c – cornea; l – lens; mv – microvillar layer of the retina; pg – pigmented layer of the retina; sp – somatic and plexiform layer of the retina; on – optic nerve.

и оптических свойствах, в отличие от анатомических параметров (Табл. 2, 3, 4).

Хрусталик

У *C. nemoralis* и *C. hortensis* хрусталики представляют собой двояковыпуклые линзы эллипсоидной формы разной степени выраженности: меньшей – у *C. nemoralis* и большей – у *C. hortensis*. Длинная ось хрусталиков также по-разному расположена относительно оптической оси глаз: у *C. nemoralis* – перпендикулярно, у *C. hortensis* – параллельно. Преломляющие поверхности хрусталиков обоих видов моллюсков полусферические [Шепелева, 2002, 2005, 2006; Bobkova *et al.*, 2004] (Табл. 1; Рис. 1, 2). Хрусталики располагаются сразу за роговицей и занимают всю полость глаз. Однако у *C. nemoralis* хрусталик имеет меньший размер по отношению к размеру глаза, чем у *C. hortensis*, несмотря на больший размер глазного бокала, но при этом большие радиусы кривизны преломляющих поверхностей за счет своего расположения в глазной полости. И у *C. nemoralis*, и у *C. hortensis*

Табл. 2. Сходства и различия в морфологических и оптических свойствах глазных бокалов и их компонентов у *Cepaea nemoralis* и *Cepaea hortensis*.

Table 2. Similarities and differences in morphological and optical properties of the eyeballs and their components in *Cepaea nemoralis* and *Cepaea hortensis*.

Свойства глазных бокалов и их компонентов	Сходства и различия
Глазной бокал	
Форма	+
Выраженность формы	–
Положение относительно оптической оси	–
Роговица	
Вид линзы	+
Форма преломляющих поверхностей	+
Прозрачность	+
Пигментация	+
Оптическая гомогенность	+
Строение	+
Хрусталик	
Вид линзы	+
Форма	+
Выраженность формы	–
Положение относительно оптической оси	–
Форма преломляющих поверхностей	+
Размер по отношению к глазу	–
Прозрачность	+
Пигментация	+
Консистенция	+
Строение	+
Структура	+
Слоистость	+
Включения	+
Качество изображений тестового объекта	+
Градиент показателя преломления	+
Стекловидное тело	
Расположение в глазной полости	+
Прозрачность	+
Пигментация	+
Оптическая гомогенность	+
Консистенция	+
Структура	+
Сетчатка	
Инверсия	+
Группа фоторецепторов	+
Число типов фоторецепторов	+
Строение фоторецепторов	+
Расположение пигментных клеток	+
Цвет пигментных гранул	+

Обозначения: «+» – сходства, «–» – различия

Табл. 3. Сходства и различия в анатомических параметрах глазных бокалов и их компонентов у *Cepaea nemoralis* и *Cepaea hortensis*.

Table 3. Similarities and differences in anatomical parameters of the eyeballs and their components in *Cepaea nemoralis* and *Cepaea hortensis*.

Параметры глазных бокалов и их компонентов	Сходства и различия
Глазной бокал	
Размер	–
Диаметр зрачка	–
Роговица	
Наружный радиус кривизны	–
Толщина	–
Внутренний радиус кривизны	–
Хрусталик	
Размер	–
Радиус кривизны передней и задней поверхности	–
Стекловидное тело	
Толщина	+
Сетчатка	
Длина микровиллярной части фоторецепторов	–
Расстояние между центрами соседних фоторецепторов	–
Плотность расположения фоторецепторов	–
Толщина сетчатки	–

Обозначения: «+» – сходства, «–» – различия

Табл. 4. Сходства и различия в морфологических и оптических свойствах и анатомических параметрах глазных бокалов и их компонентов у *Cepaea nemoralis* и *Cepaea hortensis*.

Table 4. Similarities and differences in morphological and optical properties and anatomical parameters of the eyeballs and their components in *Cepaea nemoralis* and *Cepaea hortensis*.

Глазные бокалы и их компоненты	Морфологические и оптические свойства	Анатомические параметры
Глазной бокал	+/-	–
Роговица	+	–
Хрусталик	+/-	–
Стекловидное тело	+	+
Сетчатка	+	–

Обозначения: «+» – сходства, «–» – различия

хрусталики – прозрачные бесцветные линзы относительно мягкой консистенции, неклеточного строения и зернистой структуры, в которых различимы слоистость и везикулы. Изолированные хрусталики обоих видов моллюсков формируют отчетливые изображения тестового объекта, что дает основание предполагать наличие в них градиента показателя преломления. Очевидно, что хрусталики *C. nemoralis* и *C. hortensis* имеют гораздо больше сходств, чем различий в морфологических и оптических свойствах, и различия в анатомических параметрах (Табл. 2, 3, 4).

Стекловидное тело

Стекловидное тело полностью окружает хрусталики *C. nemoralis* и *C. hortensis* в виде очень тонкого слоя одинаковой толщины (Рис. 1, 2). У обоих видов моллюсков стекловидное тело – прозрачное непигментированное оптически гомогенное гелеобразное вещество зернистой структуры [Шепелева, 2002, 2005, 2006; Bobkova *et al.*, 2004]. Как видно, стекловидное тело *C. nemoralis* и *C. hortensis* не имеет различий в морфологических и оптических свойствах, а также в анатомических параметрах (Табл. 2, 3, 4).

Сетчатка

C. nemoralis и *C. hortensis* имеют неинвертированные сетчатки, которые включают четыре типа клеток – фоторецепторные, пигментные, ганглиозные и глиальные. По направлению от апикальной части сетчаток к базальной клетки формируют четыре слоя: микровиллярный слой, состоящий из микровилл фоторецепторных клеток, длина которых и соответственно толщина сетчатки уменьшаются в направлении от центральной области к периферическим областям; пигментный слой, образованный пигментными гранулами в дистальных частях пигментных клеток; соматический слой, включающий проксимальные части пигментных и фоторецепторных клеток, а также ганглиозные и глиальные клетки; плексиформный слой, состоящий из аксонов фоторецепторных и ганглиозных клеток, которые образуют зрительный нерв, и содержащий ганглиозные и глиальные клетки (Рис. 1, 2). Основными типами клеток в сетчатках *C. nemoralis* и *C. hortensis* являются фоторецепторные и пигментные клетки. Фоторецепторные клетки принадлежат к группе рабдомерных и делятся на два разных морфологических типа – первый и второй. Клетки первого типа у *C. nemoralis* и *C. hortensis* характеризуются широкой выпуклой апикальной поверхностью с длинными тонкими микровиллами, в то время как клетки второго типа, наоборот, имеют узкую вогнутую апикальную поверхность с короткими толстыми микровиллами [Шепелева, 2006, 2013; Bobkova *et al.*, 2004]. Длина микро-

виллярных частей фоторецепторных клеток первого типа у *C. nemoralis* и *C. hortensis* различается незначительно в отличие от клеток второго типа, тогда как плотность расположения фоторецепторных клеток демонстрирует более существенную разницу, особенно у клеток второго типа (Табл. 1). Каждая фоторецепторная клетка окружена несколькими пигментными клетками, но только на уровне своих клеточных тел, поэтому микровиллы остаются оптически не изолированными. Пигментные клетки заполнены гранулами экранирующего пигмента, который выглядит черным как *in vitro*, так и на окрашенных полутонких срезах глаз [Шепелева, 2006, 2012, 2017; Bobkova *et al.*, 2004]. На последних хорошо заметна разная толщина сетчатки у *C. nemoralis* и *C. hortensis*. По всей видимости, она связана с разной толщиной соматического и плексиформного слоев, поскольку микровиллярный и пигментный слои у обоих видов моллюсков имеют приблизительно одинаковую толщину. Таким образом, сетчатки *C. nemoralis* и *C. hortensis* имеют сходства в морфологических свойствах и различия в анатомических параметрах (Табл. 2, 3, 4).

Заключение

Сравнительный анализ камерных глаз *C. nemoralis* и *C. hortensis* на основе собственных и литературных данных позволил выявить сходства и различия в морфологических и оптических свойствах и анатомических параметрах самих глазных бокалов и их основных компонентов, а также разделить последних на две группы в каждой категории. В морфологических и оптических свойствах компоненты одной группы, в которую входят глазной бокал и хрусталик, демонстрируют как сходства, так и различия, компоненты другой группы, к которой относятся роговица, стекловидное тело и сетчатка, – только сходства. Глазной бокал имеет больше различий, чем сходств, тогда как хрусталик – наоборот. В анатомических параметрах одну группу составляют компоненты с различиями – глазной бокал, роговица, хрусталик и сетчатка, другую группу – компоненты со сходствами – стекловидное тело. По увеличению степени выраженности различий компоненты можно расположить в следующем порядке: роговица, глазной бокал, хрусталик и сетчатка. Одновременно в морфологических и оптических свойствах и анатомических параметрах сходства обнаруживаются у стекловидного тела, различия – у глазного бокала и хрусталика (Табл. 4). Таким образом, и глазные бокалы, и основные компоненты глаз *C. nemoralis* и *C. hortensis* больше похожи по морфологическим и оптическим свойствам, чем по анатомическим параметрам.

Литература

- Лакин Г.Ф. 1990. *Биометрия*. М.: Высшая школа, 351 стр.
- Шепелева И.П. 2002. Сравнительное изучение анатомии и оптических свойств органов зрения некоторых брюхоногих моллюсков. *Тезисы докладов V Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей «Человек и его здоровье»*. Санкт-Петербург: 270.
- Шепелева И.П. 2005. Сравнительное исследование морфологии и оптических свойств хрусталиков глаз некоторых брюхоногих моллюсков. *Сенсорные системы*, 19(2): 172–176.
- Шепелева И.П. 2006. Сравнительное изучение морфологии и оптики глаз наземных брюхоногих моллюсков *Arianta arbustorum* и *Cepaea hortensis* (Pulmonata: Stylommatophora) со сходными световыми предпочтениями. *Сенсорные системы*, 20(1): 59–67.
- Шепелева И.П. 2012. Экранирующий пигмент камерных глаз некоторых видов наземных брюхоногих моллюсков. Тезисы докладов III-й конференции молодых ученых Института цитологии РАН. *Цитология*, 54(4): 364–365.
- Шепелева И.П. 2013. Сравнительный анализ камерных глаз брюхоногих моллюсков и человека. *Сенсорные системы*, 27(4): 317–326.
- Шепелева И.П. 2017. Экранирующий пигмент камерных глаз стебельчатоглазых моллюсков (Pulmonata, Stylommatophora) с разными световыми предпочтениями. *Ruthenica, Russian Malacological Journal*, 27(3): 133–140.
- Bobkova M.V., Gál J., Zhukov V.V., Shepeleva I.P., Meyer-Rochow V.B. 2004. Variations in the retinal design of pulmonate snails (Mollusca, Gastropoda): squaring phylogenetic background and ecophysiological needs (I). *Invertebrate Biology*, 123(2): 101–115.
- Gál J., Bobkova M.V., Zhukov V.V., Shepeleva I.P., Meyer-Rochow V.B. 2004. Fixed focal-length optics in pulmonate snails (Mollusca, Gastropoda): squaring phylogenetic background and ecophysiological needs. *Invertebrate Biology*, 123(2): 116–127.

РЕЗЮМЕ. На основе собственных и литературных данных проведен сравнительный анализ камерных глаз брюхоногих легочных моллюсков *Cepaea nemoralis* и *Cepaea hortensis*. Показано, что глазные бокалы и их основные компоненты у *C. nemoralis* и *C. hortensis* больше похожи по морфологическим и оптическим свойствам, чем по анатомическим параметрам.

