

УДК 581.17

ПИГАЛЕВА Т.А.

PIGALEVA T.A.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЦЕЛОМОЦИТОВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА LUMBRICUS (АННЕЛИДЫ, ОЛИГОХЕТЫ)

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF THE MORPHOFUNCTIONAL
STATUS OF COELOMOCYTES IN REPRESENTATIVES
OF THE GENUS LUMBRICUS (ANNELIDA, OLIGOCHAETA)

Аннотация

В статье приведен морфофункциональный анализ целомоцитов представителей трех видов р. Lumbricus. Lumbricus terrestris, Lumbricus rubellus и Lumbricus castaneus обитают в сходных биоценозах, а так же являются родственными видами в соответствии с установленной классификацией аннелид. Целью работы является сравнительный анализ клеток целомиической жидкости. Используются методы световой микроскопии. В ходе исследования установлено наличие пяти типов форменных элементов целомиической жидкости. Для каждого типа приведено описание и линейные размеры.

Ключевые слова: целомоциты; амёбоциты; хлорагогенные клетки; дождевые черви.

Abstract

The paper presents a morphofunctional analysis of representatives of three types of coelomocytes р. Lumbricus. Lumbricus terrestris, Lumbricus rubellus and Lumbricus castaneus live in similar biological communities. In accordance with the established classification of annelids, they are related species. The aim of the study is a comparative analysis of the coelomic fluid cells. Using the methods of light microscopy, the author identified the presence of five types of formed elements in coelomic fluid. Each type was described and measured.

Key words: coelomocytes; amoebocytes; Chloragogens; earthworms

У аннелид функцию распределения несет целом, который выполняет важную роль в циркуляции питательных веществ главным образом при помощи клеточных элементов – целомоцитов [1]. Исследование морфологических особенностей форменных элементов аннелид является одним из актуальных направлений биомониторинга и сравнительной физиологии

[2]. Основоположниками этого направления являются Е.А. Stein, Е.Л. Cooper, которые описали форменные элементы Lumbricus terrestris [3]. G.R. Cameron, R.P. Dales, Y. Kalaç предположили, что целомоциты выполняют функцию иммунной защиты организма [4, 5]. Исследования биохимии форменных элементов целомиической жидкости показали наличие

антимикробных пептидов и биологически активных соединений внутри везикул гранулоцитов [6, 7]. Галактионов обобщил возможные реакции иммунного ответа [8]. Участие целомоцитов в защитных реакциях организма свидетельствует об их тесной связи с окружающей средой, когда факторы, неблагоприятно воздействующие на организм, приводят к активации иммунных механизмов. Большинство работ направлено на всестороннее исследование целомоцитов *Lumbricus terrestris*, в то время как клетки остальных аннелид остаются описаны недостаточно.

Lumbricus terrestris, *Lumbricus rubellus* и *Lumbricus castaneus* – это типичные геобионты, родственные виды – представители семейства Lumbricidae, рода *Lumbricus*. Перель Т.С. относит *L. terrestris* группе норников, обитающих в глубоких слоях почвы, *L. castaneus* к – поверхностно-обитающим, а *L. rubellus* – почвенно-подстилочным видам дождевых червей [9]. По нашим наблюдениям представители этих двух видов предпочитают занимать сходные экологические условия, поэтому особый интерес представляет сравнительный морфологический анализ целомоцитов *L. terrestris*, *L. rubellus* и *L. castaneus*.

Материалы и методы исследования. Животные были собраны в пойме реки Везелка, Белгородского района, Белгородской области. Для определения видовой принадлежности использовали соответствующие определители [10]. Целомическую жидкость отбирали непосредственно из целома микропипеткой, после чего каплю помещали во влажную камеру. Наблюдение проводили за живыми целомоцитами в изотонической среде. В качестве физиологического использовали раствор, массовая доля NaCl в котором составляет 0,8%. Клетки исследовали при помощи инвертированного светового микроскопа Nikon Eclipse Ti-E. Отмечали морфологию и особенности поведения форменных элементов. При помощи программы «ВидеоТест - Размер 5.0» (Nikon Eclipse Ti-E, 60x) измеряли линейные размеры клеток по длинной и короткой оси, линейные размеры ядра, длину ложноножек. При описании клеточных типов уделяли внимание наличию гранул, вакуолей, включений, положению ядра, характеру выпускаемых ложноножек и адгезии клетки к подложке. При описании поведения целомоцитов описывали способность и характер передвижения.

Таблица 1

**Линейные размеры клеток целомической жидкости
*Lumbricus terrestris***

Тип клеток	Линейные размеры клеток по длинной оси (µm)	Линейные размеры клеток по короткой оси (µm)	Линейные размеры ядра по длинной оси (µm)	Линейные размеры ядра по короткой оси (µm)	Линейные размеры псевдоподий (µm)
БА	9,38±0,64	7,81±0,89	4,20±0,25	3,34±0,22	3,51±0,94
СА	7,91±0,36	7,53±0,27	3,17±0,32	3,05±0,12	0,92±0,03
МА	5,28±0,13	5,29±0,14	2,88±0,32	2,69±0,22	0,88±0,25
НА	8,41±0,42	7,65±0,27	3,26±0,16	3,04±0,21	-
ХЛ	22,59±0,38	15,56±0,66	5,46±0,61	5,16±0,16	-

Результаты исследования и их обсуждение. Среди циркулирующих целомочитов *Lumbricus terrestris* выделили пять клеточных типов, которые различались морфологически и функционально (табл. 1).

БА – большие амебоциты, клетки не имеют постоянной формы. Цитоплазма наполнена фагоцитарными вакуолями, прозрачными и бурыми гранулами. Ядро не крупное, располагается ближе к центральной части клетки. Амебоциты не способны к направленному передвижению, выпускают длинные филоподии. Данный тип клеток способен к агрегации в группы по 3-7 амебоцитов и активному фагоцитозу.

СА – средние амебоциты, клетки, отличительной чертой которых, является способность цитоплазмы растекаться, образуя правильную окружность (рис.1). Если детально рассмотреть ободок цитоплазмы, то можно заметить радиальные поддерживающие фибриллы. Центральная часть амебоцита, которая содержит ядро, органеллы и крупные гранулы, сохраняет объемную форму. Клетки этого типа не перемещаются, а прочно адгезируются к подложке, но способность к фагоцитозу сохраняется.

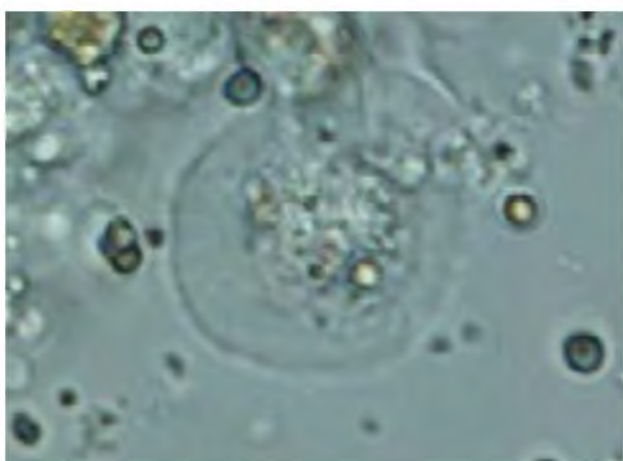


Рис. 1. Средний амебоцит Lumbricus terrestris, видна циркулярная ламеллоплазма

МА – малые амебоциты, клетки округлой формы, оболочка образует большое количество коротких ложноножек, типа филоподий, цитоплазма содержит большое коли-

чество гранул и обширных вакуолей. Ядро занимает периферическое положение.

НА – большие округлые клетки, не способные выпускать ложноножки. Эти клетки имеют небольшое ядро, которое не занимает определенного положения. Цитоплазма прозрачная, содержит небольшое количество вакуолей.

ХЛ – хлорогогенные клетки, объединяет различающиеся по размеру клетки, цитоплазма которых заполнена бурыми гранулами (рис. 2).

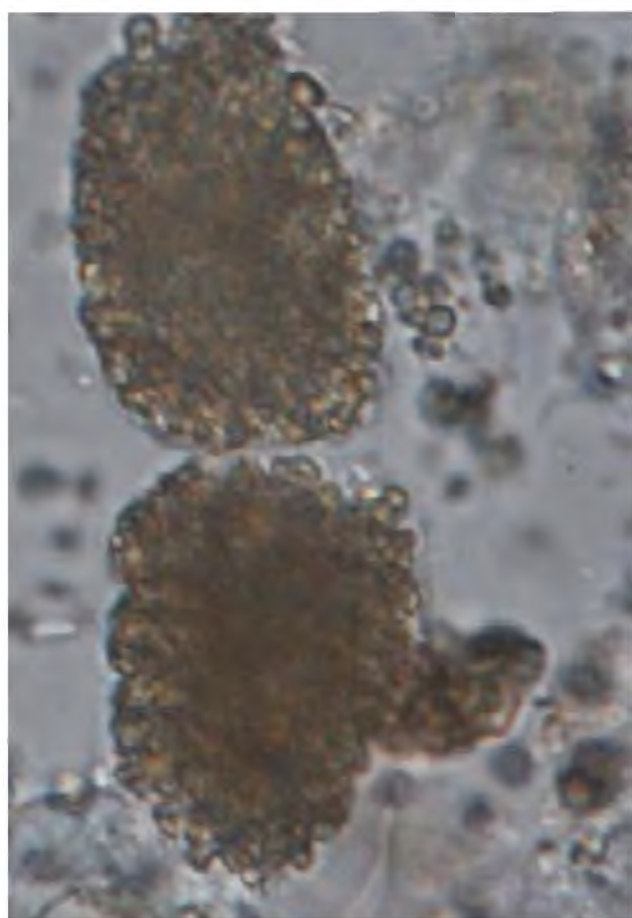


Рис. 2. Хлорогогенные клетки Lumbricus terrestris, видны бурые хлорогогенные гранулы

Среди циркулирующих целомочитов *Lumbricus castaneus* выделили пять клеточных типов, которые различались морфологически и функционально (табл. 2).

Таблица 2

*Линейные размеры клеток целомической жидкости
Lumbricus terrestris*

Тип клеток	Линейные размеры клеток по длинной оси (µm)	Линейные размеры клеток по короткой оси (µm)	Линейные размеры ядра по длинной оси (µm)	Линейные размеры ядра по короткой оси (µm)	Линейные размеры псевдоподий (µm)
БА	8,97±0,82	7,71±0,58	3,85±0,55	2,77±0,27	5,45±0,82
СА	7,12±0,23	7,01±0,31	4,01±0,56	3,56±0,12	-
МА	6,20±0,16	6,23±0,26	2,42±0,24	2,14±0,37	-
НА	6,20±1,08	6,57±1,24	2,57±0,58	2,03±0,28	-
ХЛ	16,86±5,98	13,33±4,71	2,98±0,74	2,31±0,14	-

БА – большие амебоциты – это клетки непостоянной формы, выпускающие множество длинных филоподий (рис. 3). Ложноножки располагаются равномерно по всему периметру клетки. Цитоплазма прозрачная, содержит много вакуолей и гранул. Ядро некрупное, занимает периферическую часть клетки. Амебоциты этого типа морфофункционально делятся на две группы – способные к активному передвижению и фагоцитозу и плотно адгезирующиеся к субстрату. Вторая группа клеток образует ламеллоплазму в виде циркулярной пластинки, дорзальная поверхность целомоцитов сглаживается.

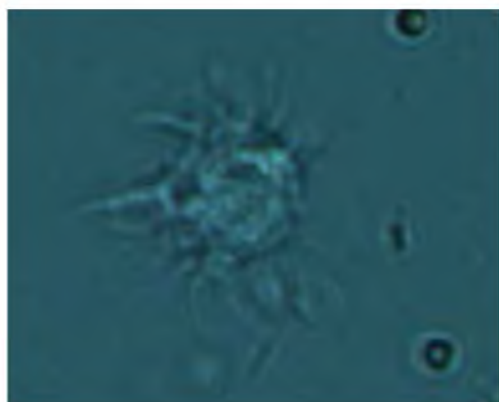


Рис. 3. Большой амебоцит *Lumbricus castaneus*, видны ложноножки и вакуоли

СА – средние амебоциты – округлые амебоциты, образуют небольшие ложноножки по типу филоподий, которые располагаются равномерно по периметру клетки. Клетки способны агрегировать в группы в количестве 3-7 экземпляров, активно не перемещаются и не фагоцитируют. Цитоплазма густая, зернистая, заполнена гранулами неясного происхождения. Вакуолей в цитоплазме не наблюдали. Ядро небольшое, округлое занимает положение близкое к центральному.

МА – малые амебоциты – округлые клетки, по периметру которых заметны небольшие инвагинации, цитоплазма светлая, прозрачная (рис.4). Характер расплывания говорит об окончании этого процесса: клетка имеет сглаженную дорзальную поверхность, но ламеллярный край или циркулярная пластинка отсутствуют. Ядро занимает положение близкое к центральному. Амебоциты этого типа не способны к активному перемещению и фагоцитозу.



Рис. 4. *Малый амебоцит Lumbricus castaneus*, видны ложноножки и инвагинации мембраны

НА – неамебоциты – целоמוциты этого типа не выпускают филоподий и не перемещаются. Цитоплазма заполнена гра-

нулами, поэтому она выглядит зернистой. Ядро занимает краевое положение.

ХЛ – хлорогоциты – большие клетки, заполненные бурыми гранулами. Форма хлорогоцитов разнообразна, но чаще встречаются овальные, круглые и каплевидные клетки. Целоמוциты этого типа не способны образовывать филоподии. Ядро небольшое, занимает краевое положение, ближе к суженному полюсу клетки при каплевидной форме.

Среди циркулирующих целоמוцитов *Lumbricus rubellus* выделили пять постоянных клеточных типов, которые различались морфологически и функционально (табл. 3).

Таблица 3

Линейные размеры клеток целомиической жидкости Lumbricus rubellus

Тип клеток	Линейные размеры клеток по длинной оси (μm)	Линейные размеры клеток по короткой оси (μm)	Линейные размеры ядра по длинной оси (μm)	Линейные размеры ядра по короткой оси (μm)	Линейные размеры псевдоподий (μm)
БА	8,18±0,26	8,11±0,36	3,86±0,34	3,59±0,19	-
СА	6,91±0,58	6,04±0,38	3,05±0,57	2,78±0,16	-
МА	5,32±0,10	5,07±0,21	2,79±0,16	2,42±0,18	-
НА	5,62±0,23	5,36±0,43	2,74±0,32	2,81±0,18	-
ХЛ	10,41±0,31	9,91±0,61	3,05±0,02	2,96±0,21	-

БА – большие амебоциты – клетки по форме близкие к сферической, способные выпускать филоподии, длина которых не превышает 3-4 мкм. Цитоплазма не гомогенная, заполнена большим количеством гранул и светлых вакуолей, клетки активно не перемещаются и не фагоцитируют.

СА – средние амебоциты – в условиях нормальной солености имели гомогенную темную цитоплазму, в которой отмечали небольшое количество крупных вакуолей. Клетки не выпячивали ложноножки, имели угловатую форму, перемещение и фагоцитоз отсутствовал. Ядро круглое, может занимать как центральное, так и периферическое положение.

МА – малые амебоциты – клетки с непостоянной формой, способные выпускать короткие филоподии. Выпячивания цитоплазмы происходило по всей поверхности, что придает клеткам неясные очертания. Эти целоמוциты не способны перемещаться, но адгезируются к подложке. Фагоцитоз для этого типа клеток не обнаружен.

НА – неамебоциты, круглые клетки, не выпускают ложноножек и активно не перемещаются. В цитоплазме присутствуют гранулы. Ядро небольшое, смещено к периферии.

ХЛ – хлорогогенные клетки отличаются тем, что цитоплазма полностью заполнена бурыми гранулами, которые маскируют остальные органоиды и ядро (рис. 5).

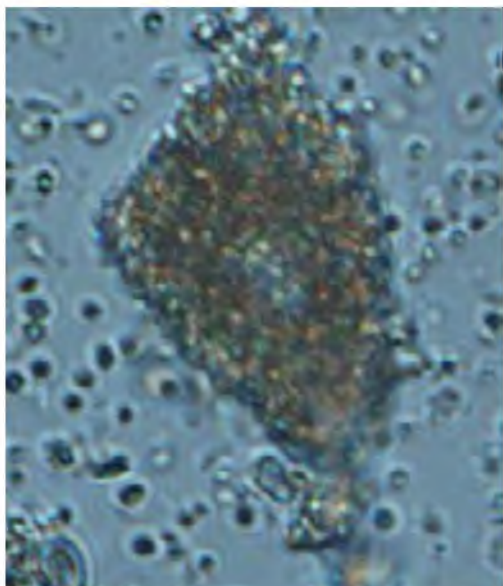


Рис. 5. Хлорагогеноцит *Lumbricus rubellus*, видна цитоплазма, заполненная хлорагогенными гранулами

Клеточная популяция *L. terrestris*, *L. rubellus* и *L. castaneus*. представлена пятью типами целомоцитов. Функционально они могут быть разделены на амебоциты, выполняющие функцию инкапсуляции и иммунной защиты, и неамебоидные клетки, которые накапливают и переносят питательные вещества.

Для каждого представителя червей отметили три типа амебоидных клеток, которые отличаются размером и активностью. Среди популяции амебоцитов каждого представителя имеются активно передвигающиеся, распластывающиеся и выпускающие филоподии амебоциты.

Большие амебоциты *L. terrestris*, и *L. castaneus* – это активно перемещающиеся клетки в толще жидкости, а большие аме-

боциты *L. rubellus* – пассивные округлые клетки, заполненные гранулами. Средние амебоциты представителей трех видов демонстрировали различную морфологию и поведение. Средние амебоциты прочно адгезировались к субстрату, активно перемещались или занимали промежуточное положение – не адгезировались и не выпускали длинных филоподий. Что касается малых амебоцитов, то здесь наблюдали характерное поведение для всех исследованных представителей – образование небольших инвагинаций мембраны, отсутствие активного перемещения. Неамебоциты отличались постоянством морфологии для всех исследованных видов рода люмбрикус.

У исследованных представителей отметили некоторые различия в линейных размерах целомоцитов. Большие амебоциты имеют наибольший размер у *L. terrestris*, малые амебоциты – у *L. castaneus*. Наиболее вариабельны по размеру и форме целомоциты типа ХЛ (таблица 1, 2 и 3), их линейные параметры уменьшаются в ряду – *L. terrestris* – *L. castaneus* – *L. rubellus*.

Морфологически наиболее вариабельны СА. Малые амебоциты, неамебоциты и хлорагогенные клетки отличаются постоянством внешнего вида у всех трех представителей р. *Lumbricus*.

Таким образом, отмечаем сходство целомоцитов описанных представителей рода *Lumbricus*. Отличия в морфофункциональном статусе клеток существуют, но для их уточнения необходимы дальнейшие исследования.

Литература:

1. Беклемишев В.Н. Основы сравнительной анатомии беспозвоночных: Т. 2. Органология. – М: Наука, 1964. – 448 с.
2. Любвина И.В., Рацевский Ю.К., Романюк Г.П. Влияние нефтепромысла на функциональное состояние лесного биогеоценоза. / Ю.К. Рацевский, Г.П. Романюк, И.В. Любвина. – Экология и охрана животных. Куйбышев: Куйбыш. ун-т, 1982. – С.27-43.
3. Cooper E.L. Oligochaetes. / E.A. Stein, E.L. Cooper. – In N. A. Ratcliffe and A. F. Rowley (eds.), Invertebrate blood cells, Academic Press: New York, 1981. – Vol. 1, pp. 75-140.
4. Cameron G. R. Inflammation in earthworms. – J. Gen. Path. Biol., 1932. – 35. – P. 833-872.
5. Dales R.P. Phagocytic defense by earthworm against pathogenic bacteria. / R.P. Dales, Y. Kalaç. – Comp. Biochem. Physiol., 1992. – 101A. – P. 487-490

6. Ratcliffe N.A. Invertebrate Blood Cells. / A.F. Rowley, N.A. Ratcliffe. – Academic Press: London, 1981. – Vol. 2. – 641 p.
7. Valembois P. Etude autoradiographique du role trophique des cellules chloragogenes des vers de terre. / M. Cazaux, P Valembois. – C.R. Soc. Biol., 1970. – 164. – P. 1015-1018
8. Галактионов В.Г. Эволюционная иммунология: Учеб.пособие/ В.Г. Галактионов. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2005. – 408 с.
9. Перель Т.С. Распространение и закономерности распределения дождевых червей фауны СССР (с определительными таблицами). – М.: Наука, 1979. – 272 с.
10. Присный А.В. Работы с дождевыми червями / Практические работы школьников по экологии: Ч.2. Методические материалы к практическим работам (модельные методики и ключи для распознавания организмов). – Белгород: Издательство БелГУ, 1999. – 7 с.

References:

1. Beklemishev V.N. Osnovy sravnitelnoy anatomii bespozvonochnyh [Fundamentals of Comparative Anatomy of Invertebrates: Vol. 2. Organology]. Moscow: Nauka, 1964. 448 p.
2. Lyubvin I.V., Ratsevsky J.K., Romaniuk G.P. Vliyaniye neftepromisla na funktsionalnoe sostoyaniye lesnogo biogotsinoza [The Influence of Oil Extracting Industries on the Functional State of Forest Biogeocenosis // Environmental and Animal Welfare]. Kuibyshev: Kuibyshev. Univ., 1982. pp. 27-43.
3. Cooper E.L. Oligochaetes. / E.A. Stein, E.L. Cooper.– In NA Ratcliffe and AF Rowley (eds.), Invertebrate blood cells, Academic Press: New York, 1981. Vol. 1, pp. 75-140.
4. Cameron G. R. Inflammation in earthworms. J. Gen. Path. Biol., 1932. 35. pp. 833-872.
5. Dales R.P. Phagoytic defense by earthworm against pathogenic bacteria. / R.P. Dales, Y. Kalaç. - Comp. Biochem. Physiol., 1992. 101A. pp. 487-490

6. Ratcliffe N.A. Invertebrate Blood Cells. / A.F. Rowley, N.A. Ratcliffe. Academic Press: London, 1981. Vol. 2. 641p.
7. Valembois P. Etude autoradiographique du role trophique des cellules chloragogenes des vers de terre. / M. Cazaux, P Valembois. – C.R. Soc. Biol., 1970. – 164. pp. 1015-1018
8. Galaktionov V.G. Evolutsionnaya immunologiya: Ucheb. posobie [Evolutionary Immunology: Textbook]. M.: ICC "Akademkniga", 2005. 408 p.
9. Perel T.S. Distribution and patterns of distribution of earthworm fauna of the USSR (with identification key). Moscow: Nauka, 1979. 272 p.
10. Prisky A.V. Raboty s dozhdevymi chervyami / Prakticheskie raboty shkolnikov po ekologii: Ch.2 Metodicheskie materialy k prakticheskim rabotam (modelnie metodiki i klyuchi dlya raspoznavaniya organizmov) [Working with Earthworms / Practical Work of School-children on Ecology: Part 2. Methodical Materials for Practical Work (Modeling Techniques and Clues for Recognition of Organisms)]. Belgrade: Publisher BSU, 1999. 7 p.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Пигалева

Татьяна Александровна

аспирант

Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет ул. Победы, 85, г. Белгород,
308015, Россия

E-mail: pigaleva@bsu.edu.ru

DATA

ABOUT THE AUTHOR

Pigaleva

Tatiana Alexandrovna

Postgraduate Student

Belgorod State National Research University
85, Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

E-mail: pigaleva@bsu.edu.ru