

**К. А. Судоплатов, Н. В. Ширишкова, В. В. Жуков**

**СПЕКТРАЛЬНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ  
КОЖНОЙ СВЕТОВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ  
У НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ ОСОБЕЙ *LYMNAEA STAGNALIS* L.**

86

Получена спектральная зависимость кожной световой чувствительности неполовозрелых особей *Lymnaea stagnalis* L. путем количественной оценки проявления теневого оборонительного рефлекса. Опыты проводились на ювенильных особях с величиной раковины не более 15 мм для исключения влияния половой доминанты на проявление рефлекторной реакции. Полученная зависимость с максимумом на 490 нм, очевидно, отражает спектр поглощения светочувствительного пигмента кожи.

*By carrying out a quantitative evaluation of appearances of the shadow reflex, we obtained a spectral dependence of skin light sensitivity of immature specimens of *Lymnaea stagnalis* L. We performed experiments on juvenile specimens with a maximum shell size of 15 mm, to rule out the influence of the sexual dominant on the appearance of the reflex response. With its maximum at 490 nm, the obtained dependence apparently corresponds to the absorption spectrum of the photosensitive skin pigment.*

**Ключевые слова:** *Lymnaea stagnalis* (L.), теневой рефлекс, светочувствительный пигмент, спектр поглощения.

**Keywords:** *Lymnaea stagnalis* (L.), shadow reflex, photosensitive pigment, absorption spectrum.

**Введение**

Чувствительность к свету у моллюска *Lymnaea stagnalis* обеспечивается фоторецепторными клетками сетчатки глаза [20; 21] и эпителия кожи [25]. Световая чувствительность глаз обеспечивает моллюску возможность направленного движения на источник света — положительный фототаксис [22]. Кожные фоторецепторы ответственны за оборонительный рефлекс, включающий сокращение щупалец и втягивание тела животного в раковину в ответ на резкое снижение освещения кожной поверхности [12].

Спектральные зависимости поглощения зрительных пигментов некоторых видов брюхоногих моллюсков, полученные путем регистрации электрических реакций глаза или соответствующих форм поведения, указывают на их принадлежность группе родопсинов [3]. Сведения же о свойствах кожных фоторецепторов весьма скудны и получены в основном в исследованиях *Lymnaea stagnalis* L. [19]. При этом прудовик остается единственным брюхоногим моллюском, для которого данные о спектральной характеристике светочувствительного пигмента кожи были получены благодаря хорошо выраженному оборонительному теневому рефлексу [5; 22].



Ранее были выполнены работы по установлению спектральной зависимости кожной световой чувствительности прудовика на основе измерения степени втягивания тела животного в раковину [4; 17]. Полученные в них максимумы зависимости при этом находятся в интервале 490–510 нм. Применение балльной шкалы оценки степени проявления рефлекса позволило более определенно указать на значение максимума спектральной зависимости фотопигмента кожи – 490 нм [5]. Указанные исследования выполнялись на половозрелых особях без учета влияния репродуктивного поведения на рефлекторную активность животных. Это обстоятельство побудило нас к изучению спектральной зависимости степени проявления теневого рефлекса у неполовозрелых особей *Lymnaea stagnalis*, имеющих слабопигментированную кожу. Мы рассчитывали, что небольшое содержание экранирующего пигмента в коже минимизирует его влияние на определение спектральной зависимости световой чувствительности кожных фоторецепторов.

### Материалы и методы

Эксперименты проводились на особях прудовика обыкновенного *Lymnaea stagnalis* L. Моллюски вылавливались в водоемах Калининграда и области. В лабораторных условиях животные содержались в прохладном помещении в емкостях с отстоянной водой при искусственном освещении (12С:12Т). Для эксперимента использовали ювенильных особей с высотой раковины около 15 мм. Это обусловлено тем, что первые зрелые ооциты встречаются у особей с высотой раковины 17 мм [11]. У неполовозрелых особей не выражена половая доминанта, и, соответственно, на проявление теневого рефлекса не влияют факторы полового поведения [1; 6].

Эксперименты выполняли в установке, состоящей из светонепроницаемого контейнера, блоков фотостимуляции, измерения освещенности и видеорегистрации, которые детально были описаны ранее в [7].

Для выравнивания квантовых потоков, создаваемых светом с различной длиной волны, использовали расчеты по соответствующим формулам [5]. Для экспериментов были выбраны пять различных интенсивностей фонового света ( $I$ ), дающих следующие плотности потока квантов ( $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ):  $10^{17}$ ,  $2 \cdot 10^{17}$ ;  $3 \cdot 10^{17}$ ;  $4 \cdot 10^{17}$ ;  $5 \cdot 10^{17}$ .

Опыт начинали через 30 мин после помещения животного в установку и включения освещения. Теневые стимулы длительностью 10 с чередовали с трехминутными интервалами освещения. Каждый моллюск из группы получал по  $i = 10$  темновых стимулов пяти различных интенсивностей на каждой из пяти выбранных длин волн: 410, 450, 490, 530 и 570 нм. Видеофиксация начиналась за 5 с до нанесения теневого стимула и продолжалась 5 с после его окончания. Просмотр полученных видеоматериалов проводили в программе Media Player Classic Homecinema v.1.0.9.0.

Величина реакции на каждый  $i$ -й стимул определялась как разность между степенью проявления реакции ( $R_2$ ) и начальным положением моллюска перед теневой стимуляцией ( $R_1$ ), которые оценивали по 8-балльной шкале [20]:

$$\Delta R_i = R_2 - R_1.$$



На основе полученных значений  $\Delta R$  проводился расчет относительной средней величины реакции ( $C_{\lambda,n}$ ) для каждой длины волны, для каждого из  $n = 10$  экспериментальных животных:

$$C_{\lambda,n} = \frac{\sum_{i=1}^{10} (\Delta R_i)}{10R_{\max}},$$

где  $R_{\max} = 8$  – значение максимально выраженной реакции в ответ на стимул.

На основе полученных значений ( $C_{\lambda}$ ) рассчитывалась средняя величина реакции группы из  $n = 10$  моллюсков для каждой длины волны:

$$C_{\lambda} = \frac{\sum_{n=1}^{10} C_{\lambda,n}}{n}.$$

Полученные значения нормировали относительно максимального значения и использовали для построения графиков зависимостей  $C_{\lambda}(I)$ . Спектральную зависимость выраженности теневого рефлекса определяли путем нахождения равноэффективных интенсивностей фонового освещения и вычисляли как

$$S(\lambda) = \frac{I_{\min}}{I(\lambda)},$$

где  $I_{\min}$  – минимальное значение из ряда равноэффективных фоновых интенсивностей  $I(\lambda)$  для выбранной величины  $C_{\lambda} = const$ .

Парное сравнение величин  $C_{\lambda}$  проводили методом Уилкоксона. Расчеты выполняли в программе SPSS v 19.

Аналогичный анализ проводили для оценки силы реакции по числу полученных ответов на блок теневых стимулов.

### Результаты и обсуждение

Полученные зависимости  $C_{\lambda}(I)$  приближаются к линейным в диапазоне исследованных фоновых интенсивностей, что позволяет достаточно корректно получить равноэффективные значения фонового освещения (рис. 1). Зависимости числа зарегистрированных теневых реакций от интенсивности фонового освещения тоже допускают линейную аппроксимацию за исключением точки, соответствующей максимальной интенсивности (рис. 2). Полученная спектральная зависимость проявления теневого рефлекса (рис. 3) сходна с таковой, определенной ранее для взрослых особей моллюска [5]. Последняя наиболее хорошо аппроксимируется спектральной кривой поглощения родопсина для  $\lambda_{\max} = 490$  нм. Поэтому следующим шагом стала статистическая верификация полученного значения (табл. 1, 2). Статистическая достоверность различий была рассчитана для пяти интенсивностей ( $I$ ) каждой длины волны по отношению к  $\lambda = 490$  нм.

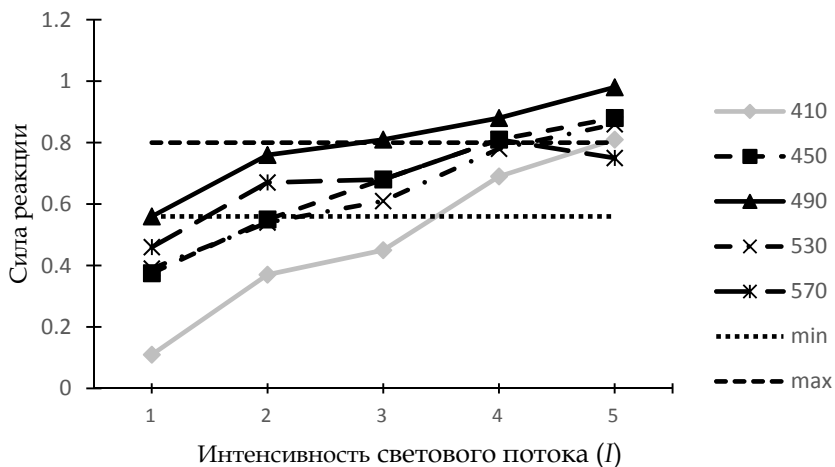


Рис. 1. Зависимость средних значений величины теневого рефлекса у неполовозрелых особей *L. stagnalis* от интенсивности фонового освещения для пяти исследованных длин волн (указаны справа). Пунктирные горизонтальные линии ограничивают ( $y_{\min} = 0,56$  и  $y_{\max} = 0,8$ ) диапазон, в пределах которого выбирали значение  $S_{\lambda}$  для получения спектральной зависимости. Значения доверительных интервалов не указаны, чтобы не загромождать рисунок

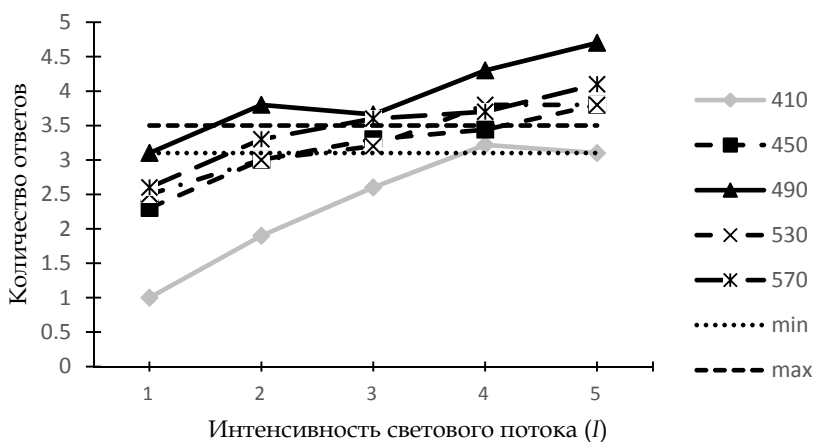


Рис. 2. Зависимость средних значений числа проявлений теневого рефлекса у неполовозрелых особей *L. stagnalis* от интенсивности фонового освещения для пяти исследованных длин волн (указаны справа). Пунктирные горизонтальные линии ограничивают ( $y_{\min} = 3,1$  и  $y_{\max} = 3,5$ ) диапазон, в пределах которого выбирали значение  $S_{\lambda}$  для получения спектральной зависимости. Значения доверительных интервалов не указаны, чтобы не загромождать рисунок

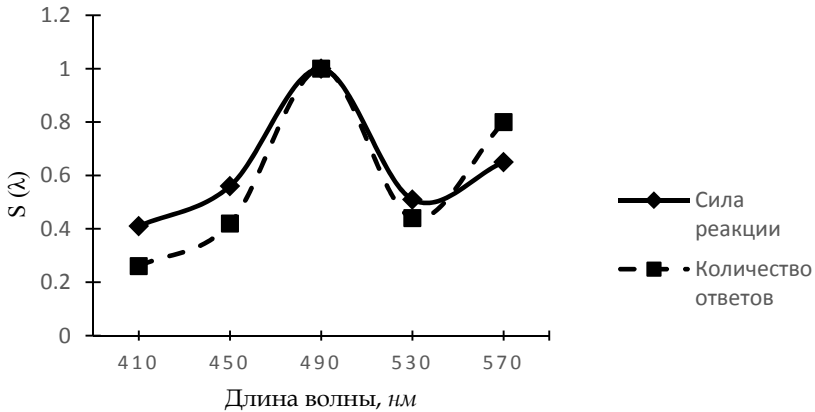


Рис. 3. Зависимости нормированной выраженности теневого рефлекса неполовозрелых особей *L. stagnalis* от длины волны, полученные путем нахождения равноэффективных интенсивностей фонового освещения. Ордината – рассчитанные значения  $S(\lambda)$

Таблица 1

**Результаты статистического анализа методом Уилкоксона для непараметрических критериев пар зависимых выборок средних значений силы реакции моллюска на теневой стимул**

нм	$\lambda, \text{ нм}$								I
	410		450		530		570		
$\lambda = 490$	<b>0,005</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,034</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,007</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,04</b>	$p \leq 0,05$	1
	<b>0,012</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,011</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,050</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,045</b>	$p \leq 0,05$	2
	<b>0,011</b>	$p \leq 0,05$	0,089	$p > 0,05$	0,065	$p > 0,05$	<b>0,018</b>	$p \leq 0,05$	3
	0,158	$p > 0,05$	0,472	$p > 0,05$	<b>0,151</b>	$p > 0,05$	0,59	$p > 0,05$	4
	<b>0,011</b>	$p \leq 0,05$	0,167	$p > 0,05$	<b>0,019</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,005</b>	$p \leq 0,05$	5

Примечание:  $p$  – вероятность отсутствия различий; статистически достоверные различия ( $p \leq 0,05$ ) выделены;  $I$  – относительная интенсивность фонового света, соответствующая пяти значениям квантового потока.

Таблица 2

**Результаты статистического анализа методом Уилкоксона для непараметрических критериев пар зависимых выборок средних значений количества ответов моллюска на теневой стимул**

нм	$\lambda, \text{ нм}$								I
	410		450		530		570		
$\lambda = 490$	<b>0,005</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,054</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,014</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,025</b>	$p \leq 0,05$	1
	<b>0,005</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,011</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,003</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,025</b>	$p \leq 0,05$	2
	<b>0,026</b>	$p \leq 0,05$	0,058	$p > 0,05$	<b>0,034</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,317</b>	$p \leq 0,05$	3
	<b>0,005</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,014</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,025</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,014</b>	$p \leq 0,05$	4
	<b>0,007</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,014</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,007</b>	$p \leq 0,05$	<b>0,014</b>	$p \leq 0,05$	5

Примечание:  $p$  – вероятность отсутствия различий; статистически достоверные различия ( $p \leq 0,05$ ) выделены;  $I$  – относительная интенсивность фонового света, соответствующая пяти значениям квантового потока.



Видно, что в большинстве случаев различия между парами значений длин волн 490–410 нм, 490–450 нм, 490–530 нм, 490–490 нм, 490–570 нм на каждой из пяти интенсивностей статистически значимы ( $p \leq 0,05$ ), т. е. обнаруживается статически значимый максимум кожного светового восприятия, соответствующий  $\lambda=490$  нм.

Результаты определения спектров поглощения светочувствительных пигментов брюхоногих моллюсков однозначно указывают на их принадлежность семейству родопсинов. Несмотря на различные подходы к получению кривых спектральной чувствительности, в большинстве измерений они имеют достаточно близкое положение максимальных значений световой чувствительности фотопигмента (табл. 3). Существующий разброс может быть связан с особенностью техники измерений и ограниченными возможностями долговременной регистрации электрических сигналов от фоторецепторов. Что касается кожной световой чувствительности, то все же предпочтительным выглядит ее максимум на величине 490 нм. Это могло бы свидетельствовать об идентичности фотопигмента в фоторецепторах кожи и сетчатки. Впрочем, не исключено, что у моллюсков, обладающих несколькими видами световой чувствительности, как, например, *L. stagnalis*, в различных органах функционируют разные светочувствительные пигменты. Однако ответ на этот вопрос может дать только молекулярно-генетический анализ.

Таблица 3

**Спектральное положение максимальных значений чувствительности фотопигмента брюхоногих моллюсков**

Вид моллюска, тип препарата	$\lambda_{max}$ , нм	Способ определения	Источник
<i>Aplysia californica</i> , изолированный глаз	400–600	Импульсная активность	[24]
<i>Hermisenda crassicornis</i> , изолированный глаз	490	Электрические реакции фоторецепторов	[10]
<i>Strombus luhuanus</i> , изолированный глаз	485	Электроретинограмма	[13; 14]
<i>Helix pomatia</i> , изолированный глаз	477	Электроретинограмма	[8; 9]
<i>Achatina fulica</i> , добавочный глаз	480	Электроретинограмма	[23]
<i>Onchidoris fusca</i> , целое животное	500–505	Фототаксис	[16]
<i>Otala lactea</i> , целое животное	490	Электроретинограмма	[13; 14]
<i>Planorbarius corneus</i> , целое животное	490–495	Электроретинограмма	[3]
<i>Lymnaea stagnalis</i> , изолированный глаз	490	Электроретинограмма	[3]
<i>Lymnaea stagnalis</i> , фоторецепторы сетчатки	Tun A: 480–500 Tun T: 450–600	Электрические реакции фоторецепторов	[18]
<i>Lymnaea stagnalis</i> , зрительная система	490–510	Фотоориентационное поведение	[2]
<i>Lymnaea stagnalis</i> , кожа	490–510	Фотоориентационное поведение	[2]
<i>Lymnaea stagnalis</i> , кожа	520	Теневой рефлекс	[17]
<i>Lymnaea stagnalis</i> , кожа	500–510	Теневой рефлекс	[4]
<i>Lymnaea stagnalis</i> , кожа	490	Теневой рефлекс	[5]



### Список литературы

1. Алейникова Т.В. Возрастная психофизиология : учеб. пособие для студентов высших учебных заведений. Ростов н/Д, 2002.
2. Ваколюк И.А., Жуков В.В. Изучение фоторецепции *Lymnaea stagnalis* по проявлениям фототаксиса // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2000. Т. 36, №5. С. 419–423.
3. Жуков В.В., Грибакин Ф.Г. Спектральная чувствительность глаза моллюсков *Lymnaea stagnalis* L. и *Planorbarius corneus* L. в ультрафиолетовой и видимой области спектра // Сенсорные системы. 1990. Т. 4, №4. С. 341–350.
4. Жуков В.В., Король Е.В. Исследование теневого рефлекса брюхоногого моллюска *Lymnaea stagnalis* // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 1994. Т. 30. С. 198–207.
5. Жуков В.В., Малащенко В.В., Судоплатов К.А. Уточнение спектральной зависимости кожной световой чувствительности *Lymnaea stagnalis* (L.) по проявлениям теневого рефлекса // Известия КГТУ. 2011. №22. С. 211–217.
6. Общий курс физиологии человека и животных : в 2 кн. / А.Д. Ноздрачев, И.А. Баранникова, А.С. Батуев [и др.] М., 1991. Кн. 1 : Физиология нервной, мышечной и сенсорной систем.
7. Судоплатов К.А., Сычев А.В. Спектральная характеристика теневого рефлекса у половозрелых особей прудовика обыкновенного (*Lymnaea stagnalis* L.) // Вестник Российского государственного университета им. И. Канта. 2010. Вып. 7. С. 97–102.
8. Berg E. von. The action spectrum of the eye of *Helix pomatia* L. // Journal of Physiology. 1978. № 82. P. 483–492.
9. Berg E. von, Schneider G. The spectral sensitivity of the dark-adapted eye of *Helix pomatia* L. // Vision Research. 1972. № 12. P. 2151–2152.
10. Dennis M.J. Electrophysiology of the visual system in a nudibranch mollusc // J. Neurophysiol. 1967. Vol. 30. P.1439–1465.
11. Dogterom G. E., Hofs H. P., Waapenaar P. et al. Spontaneous oviposition and neurohormone induced ovulation and oviposition in *Lymnaea stagnalis* kept under various experimental conditions // Molluscan neuro-endocrinology: proceedings of the International Minisymposium on Molluscan Endocrinology, held in the Department of Biology, Free University, Amsterdam, the Netherlands, August 16–20, 1982 / eds. J. Lever, H. H. Boer. North Holland Publishing Co., 1983. P. 111–118.
12. Föh H. Der Schattenreflex bei *Helix pomatia* nebst Bemerkungen über den Schattenreflex bei *Mytilus edulis*, *Lymnaea stagnalis* und *Testuda ibera* // Zool. Jb. 1932. H. 52. S. 1–78.
13. Gillary H.L. Light-evoked electrical potentials from the eye and optic nerve of *Strombus*: response waveform and spectral sensitivity // J. Exp. Biol. 1974. Vol. 60. P. 383–396.
14. Gillary H.L., Wolbarsht M.L. Electrical responses from the eye of a land snail *Otala lactea* // Rev. Can. Biol. Vol. 26. P. 126–134.
15. Govardovskii V. I., Fyhrquist N., Reuter T. et al. In search of the visual pigment template // Visual Neuroscience. 2000. Vol. 17. P. 509–528.
16. Hughes H.P.I. The spectral sensitivity and absolute threshold of *Onchidoris fusca* (Muller) // J. Exp. Biol. 1970. Vol. 52. P. 609–618.
17. Medioni J. Etude de la sensibilité vesuelle de *Limnaea stagnalis* L. par la méthode de la réaction skioptique // C.R. Acad. Sci. Paris. 1958. Vol. 152. P. 840–843.
18. Sakakibara M., Aritaka T., Iizuka A. et al. Electrophysiological responses to light of neurons in the eye and statocyst of *Lymnaea stagnalis* // J. Neurophysiol. 2005. Vol. 93. P. 493–507.



19. Stoll C.J. Extraocular photoreception in *Lymnaea stagnalis* L. // Neurobiology of Invertebrates. Gastropoda Brain Tihany 1975 / ed. J. Salanki. Budapest, 1976. Vol. 4. P. 487–495.

20. Stoll C.J. Sensory systems involved in the shadow response of *Lymnaea stagnalis*, as studied with the use of habituation phenomena // Proc. Kon. Ned. Akad. Wet. 1972. Vol. 75C. P. 342–351.

21. Stoll C.J. Observations on the ultrastructure of the eye of the basommatophora snail *Lymnaea stagnalis* // Ibid. 1973. Vol. 76C. P. 414–424.

22. Stoll C.J. On the role of eyes and non-ocular light receptors in orientational behaviour of *Lymnaea stagnalis* // Ibid. P. 203–214.

23. Tamamaki N. Visible light reception of accessory eye in the giant snail, *Achatina fulica*, as revealed by an electrophysiological study // Zool. Sci. 1989. Vol. 6. P. 867–875.

24. Waser P.M. The spectral sensitivity of the eye of *Aplysia californica* // Comparative Biochemistry and Physiology. 1968. № 27. P. 339–347.

25. Zylstra U. Distribution and ultrastructure of epidermal sensory cells in the freshwater snails *Lymnaea stagnalis* and *Biomphalaria pfeifferi* // Neth. J. Zool. 1972. P. 283–298.

#### Об авторах

Константин Анатольевич Судоплатов – ст. преп., Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Россия.

E-mail: ksudoplatov@mail.ru

Надежда Васильевна Ширшикова – студ., Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Россия.

E-mail: shira\_1988@mail.ru

Валерий Валентинович Жуков – канд. биол. наук, доц., Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Россия.

E-mail: valerzhukov@mail.ru

#### The authors

Konstantin A. Sudoplatov, Assistant Professor, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia.

E-mail: ksudoplatov@mail.ru

Nadezhda V. Shirshikova, Student, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia.

E-mail: shira\_1988@mail.ru

Dr Valery V. Zhukov, Associate Professor, Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia.

E-mail: valerzhukov@mail.ru