

## Спектральная чувствительность глаза брюхоногого легочного моллюска *Radix peregra* (Müller, 1774) (Basommatophora, Lymnaeidae)

И.П. ШЕПЕЛЕВА

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, наб. Макарова, 6, Санкт-Петербург, 199034, РОССИЯ. Балтийский федеральный университет им. И. Канта, ул. Университетская, 2, Калининград, 236040. E-mail: [ishepeleva@rambler.ru](mailto:ishepeleva@rambler.ru)

The spectral sensitivity of the eye of a gastropod pulmonate mollusc *Radix peregra* (Müller, 1774) (Basommatophora, Lymnaeidae)

I.P. SHEPELEVA

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Makarova emb. 6, St. Petersburg, 199034, RUSSIA. I. Kant Baltic Federal University, Universitetskaya ulitsa 2, Kaliningrad, 236040, RUSSIA. E-mail: [ishepeleva@rambler.ru](mailto:ishepeleva@rambler.ru)

**ABSTRACT.** The spectral sensitivity of the eye of a gastropod pulmonate mollusk *Radix peregra* (Müller, 1774) was investigated on the basis of phototaxis in the laboratory conditions. The monochromatic light of ten different wavelengths in diapason 400-600 nm served as a test stimulus. According to the results obtained *R. peregra* has monochromatic visual system with a possible visual pigment rhodopsin, that may be based on the retinal A<sub>1</sub> and absorption maximum of which falls on a blue-green range of the spectrum about 490 nm.

Для определения спектральной чувствительности глаз беспозвоночных животных используют три метода [Hughes, 1970]. Первый метод – оценка поведенческой реакции на свет в пределах определенной области длин волн. При этом в качестве показателя ответной реакции используют движения целого животного, как у морского заднежаберного моллюска *Onchidoris fusca* (Linnaeus, 1758) [Hughes, 1970], или части тела, как закрытие створок у морского двустворчатого моллюска *Pecten maximus* (Linnaeus, 1758) [Cronly-Dillon, 1966]. Второй метод – запись электрической реакции от глаза после стимуляции его светом одинаковой интенсивности разных длин волн. Электрофизиологические реакции записывают непосредственно от глаза, как у морского заднежаберного моллюска *Hermisenda crassicornis* (Eschscholtz, 1831) [Dennis, 1967], и от оптического нерва, как у наземного легочного

моллюска *Otala lactea* (Müller, 1774) [Gillary, Wolbarsht, 1967]. Третий метод – экстрагирование зрительного пигмента и измерение его спектра поглощения *in vitro*. Таким способом определена спектральная чувствительность родопсинов кальмаров и осьминогов [Brown, Brown, 1958; Hubbard, George, 1958; Kropf *et al.*, 1959]. Сравнительный анализ результатов, полученных при использовании трех методов, может дать ценную информацию о биологии вида [Hughes, 1970]. Цель настоящей работы – определить спектральную чувствительность глаза брюхоногого легочного моллюска *Radix peregra* (Müller, 1774) на основе двигательной реакции. Экспериментальные задачи – установить степень аттрактивности для моллюска света с определенными длинами волн; сопоставить поведение моллюска с его образом жизни.

### Материал и методы

#### Моллюски

В экспериментах использовали взрослых особей брюхоногого легочного моллюска *Radix peregra* (Müller, 1774) с высотой раковины 13-15 мм, которых собирали в прудах г. Калининграда в июле-августе 2003 г. Моллюсков содержали в аквариумах с дехлорированной водопроводной водой, при комнатной температуре и естественном световом режиме, кормили листьями одуванчиков.

#### Установка

Использовали экспериментальную установку, описанную в статье Шепелевой [2013]. Световую стимуляцию осуществляли при помощи двух источников света (лампы по 10 Вт) через торцевые стеклянные стенки рукавов камеры. Эти стенки закрывали пластинками из плотного картона, оклеенного черной бумагой, с отверстиями одинакового диаметра для фонового и тестового сти-

мула. Фоновым стимулом служил белый свет, тестовыми стимулами – монохроматический свет десяти разных длин волн. В отверстие для фонового стимула помещали теплозащитный фильтр, в отверстие для тестового стимула – комбинации светофильтров, выделяющих участки видимой области спектра: 400, 430, 450, 480, 490, 500, 530, 550, 580 и 600 нм. В оба отверстия помещали фильтры нейтральной плотности для выравнивания интенсивностей света от фонового и тестового стимулов и рассеивающие фильтры.

### Эксперимент

Эксперимент проводили на моллюсках, адаптированных к темноте, при комнатной температуре. Перед каждым опытом камеру заполняли дехлорированной водой на глубину 2 см. После каждого опыта воду меняли и смывали слизистый след, оставленный моллюском. Протестировано 420 моллюсков: 20 – в контрольной серии и 400 – в экспериментальных сериях. В каждом опыте контрольной и экспериментальных серий по одному животному помещали у середины задней стенки камеры таким образом, чтобы его головной отдел был обращен к развилке рукавов. Опыты контрольной серии проводили в присутствии фоновых стимулов одинаковой интенсивности. Положение животного регистрировали через 15 минут после начала опыта. В опытах экспериментальных серий через одно торцевое окно поступал фоновый стимул, через другое торцевое окно – тестовый стимул. Для света каждой длины волны проводили две серии опытов (в каждой  $n=20$ ), меняя местами фоновый и тестовый стимулы. В каждом опыте экспериментальных серий наблюдение прекращали после того, как животное достигало торцевой стенки рукава камеры.

### Результаты

Контрольные опыты показали равномерное распределение моллюсков между рукавами камеры – 10:10 и позволили убедиться в отсутствии предпочтения животными какого-либо участка экспериментальной установки (критерий знаков,  $n=20$ ,  $z_{\text{крит}}=17$  для  $\alpha=1\%$ ) [Лакин, 1990].

Графическое изображение относительной спектральной чувствительности глаза *R. peregra* (Рис. 1), основанное на двигательной реакции, демонстрирует хорошо выраженный статистически подтвержденный максимум чувствительности к свету в области 490 нм (Табл. 1) (критерий знаков,  $n=40$ ,  $z_{\text{крит}}=29$  для  $\alpha=1\%$ ) [Лакин, 1990].

### Обсуждение

В зрительном механизме абсорбционные свойства зрительных пигментов фоторецепторов оп-

Табл. 1. Распределение *Radix peregra* по отношению к стимулам.

Монохроматический свет с длиной волны ( $\lambda$ ), нм	Количество моллюсков, выбравших стимул	
	Тестовый стимул	Фоновый стимул
400	9	31
430	23	17
450	21	19
480	28	12
490	31	9
500	28	12
530	23	17
550	14	26
580	19	21
600	16	24

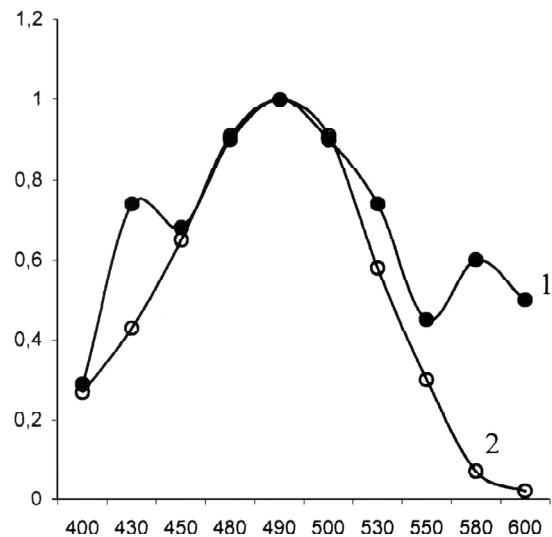


РИС. 1. Относительная спектральная чувствительность глаза *Radix peregra*: по оси абсцисс – длина волны монохроматического излучения, нм; по оси ординат – нормированные значения относительной чувствительности глаза к монохроматическим излучениям; 1 – кривая относительной спектральной чувствительности глаза *R. peregra*; 2 – теоретическая кривая спектра поглощения родопсинаподобного пигмента [Жуков, Грибакин, 1990].

FIG. 1. Relative spectral sensitivity of the eye of *Radix peregra*: by the axis of absciss – wave length of monochromatic radiation, nm; by the axis of ordinate – fixed values of relative sensitivity of the eye to monochromatic radiations; 1 – curve of relative spectral sensitivity of the eye of *R. peregra*; 2 – theoretical curve of absorption spectrum of rodopsin-like pigment [Жуков, Грибакин, 1990].

ределяют ту спектральную область световых стимулов, на которые механизм может реагировать [Dartnall, 1976]. При этом фоторецепторы не абсорбируют свет всех длин волн с одинаковой эффективностью. Свет с длиной волны, абсорбирующийся наиболее эффективно, является пиком абсорбции зрительного пигмента. Свет всех других длин волн абсорбируются с более низкой

эффективностью [Warrant, Nilsson, 1998]. Кривая относительной спектральной чувствительности глаза *R. peregra*, построенная на основе двигательной реакции, имеет один выраженный пик, что указывает на наличие одного зрительного пигмента в фоторецепторных клетках сетчатки и, следовательно, на монохроматическое зрение моллюска. У всех животных с доказанной способностью различать цвета, на кривой относительной спектральной чувствительности глаз присутствует несколько отчетливых пиков. Наблюдаемое у *R. peregra* повышение чувствительности к монохроматическим излучениям в области 430 и 580 нм статистически не подтверждается и вряд ли является следствием присутствия дополнительных зрительных пигментов, тем более при наличии в сетчатке только двух типов фоторецепторов [Bobkova *et al.*, 2004]. Известно, что у некоторых беспозвоночных животных дополнительные пики на кривой спектральной чувствительности глаз присутствуют благодаря фотостабильным пигментам сенсibilизаторам. Например, у мух ультрафиолетовый пик существует благодаря пигменту сенсibilизатору, который поглощает кванты ультрафиолетового света и передает их энергию зрительному пигменту [Kirschfeld *et al.*, 1977, 1983]. Поэтому кривая относительной спектральной чувствительности глаза *R. peregra*, скорее всего, отражает спектральные свойства единственного зрительного пигмента. Она имеет максимум в сине-зеленой области спектра при длине волны 490 нм и в целом хорошо аппроксимируется теоретической кривой спектра поглощения родопсиноподобного пигмента с таким же максимумом [Жуков, Грибакин, 1990].

Исходя из этого, можно предположить, что зрительным пигментом фоторецепторных клеток сетчатки глаза *R. peregra* может быть пигмент из класса родопсинов. Возможно, этот пигмент основан на ретинале  $A_1$ , поскольку его максимум поглощения лежит в диапазоне от 468 до 528 нм [Dartnall, Lythgoe, 1965]. У исследованных ранее видов брюхоногих моллюсков, так же как у *R. peregra*, кривые относительной спектральной чувствительности глаз имеют одиночные максимумы, различия в положении которых невелики и укладываются в диапазон 475–500 нм [Жуков, Грибакин, 1990]. Эти данные были получены при помощи трех перечисленных выше методов – поведенческого, электрофизиологического и микроспектрофотометрического. При помощи поведенческого метода спектральная чувствительность глаза определена у морского заднежаберного моллюска *O. fusca* (490 нм) [Hughes, 1970]. Электрофизиологический метод был использован для определения спектральной чувствительности глаз большинства исследованных видов моллюсков

– морских заднежаберных моллюсков *H. crassicornis* (490 нм) [Dennis, 1967] и *Aplysia californica* (Cooper, 1863) [Waser, 1968; Jacklet, 1980], морского легочного моллюска *Onchidium verriculatum* (Cuvier, 1830) (500 нм) [Katagiri *et al.*, 1985], наземных легочных моллюсков *O. lactea* (Müller, 1774) (475 нм) [Gillary, Wolbarsht, 1967], *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758) (475 нм) [von Berg, Schneider, 1972; von Berg, 1978], *Limax flavus* (Linnaeus, 1758) (480 нм) [Suzuki *et al.*, 1979], *Achatina fulica* (Bowdich, 1822) (480 нм) [Tamamaki, 1989], *Helix lucorum* (Linnaeus, 1758) (500 нм) [Черноризов и др., 1992] и пресноводных легочных моллюсков *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) (490 нм), *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758) (495–500 нм) [Жуков, Грибакин, 1990]. При помощи электрофизиологического и микроспектрофотометрического методов определены максимумы чувствительности зрительных пигментов фоторецепторов у морского переднежаберного моллюска *Strombus luhuanus* (Linnaeus, 1758) (485 и 474 нм соответственно) [Gillary, 1974; Ozaki *et al.*, 1987] и морского заднежаберного моллюска *Bulla gouldiana* (Pilsbry, 1895) (490 и 493 нм соответственно) [Geusz, Page, 1991; Geusz *et al.*, 1997].

Эти наблюдения дают основания для предположений о монохроматичности зрительной системы и об идентичности природы зрительных пигментов у моллюсков разных таксономических групп [Жуков, Грибакин, 1990]. Варьирование в максимумах чувствительности может быть следствием различий в структуре белковой части молекулы родопсина – опсина: группа аминокислот вокруг хромофора может настраивать его таким образом, что он реагирует на фотоны более высокой или более низкой энергии [Land, Nilsson, 2002]. Таким образом, данные, полученные для *R. peregra*, по всем рассмотренным аспектам спектральной чувствительности глаза согласуются с данными для других видов брюхоногих моллюсков. По результатам поведенческого эксперимента *R. peregra* имеет монохроматическую зрительную систему с возможным зрительным пигментом родопсином, который может быть основан на ретинале  $A_1$  и максимум поглощения которого приходится на сине-зеленую область спектра около 490 нм.

## Заключение

Результаты исследования двигательного и зрительного поведения *R. peregra*, проведенного в лабораторных условиях, совместно с результатами морфо-оптического изучения глаза позволяют сделать следующие заключения. *R. peregra* показывает положительный фототаксис, который обеспечивает моллюску нахождение мест обита-

ния с благоприятными для жизнедеятельности световыми условиями и реализацию функции дыхания. Более сложные задачи, такие как поиск стебельчатых растений, подходящих для обитания, питания и перемещения к поверхности воды, *R. peregra* может выполнять при помощи зрения. Скорее всего, *R. peregra* является монохроматом. Максимум поглощения зрительного пигмента, который по природе может быть отнесен к классу родопсинов и основан на ретинале  $A_1$ , приходится на синие-зеленую область спектра около 490 нм. В целом, полученные данные позволяют считать, что брюхоногий легочной моллюск *R. peregra* может использовать зрительную информацию для ориентации в естественной среде обитания.

### Литература

- Жуков В.В., Грибакин Ф.Г. 1990. Спектральная чувствительность глаза моллюсков *Lymnaea stagnalis* и *Planorbis corneus* в ультрафиолетовой и видимой области спектра. *Сенсорные системы*, 4(4): 341-350.
- Лакин Г.Ф. 1990. *Биометрия*. Москва: Высшая школа, 351 с.
- Черноризов А.М., Шехтер Е.Д., Аракелов Г.Г., Зимачев М.М. 1992. Зрение виноградной улитки: спектральная чувствительность темно-адаптированного глаза. *Журнал высшей нервной деятельности*, 42: 1150-1155.
- Шепелева И.П. 2013. Знак фототаксиса брюхоногого легочного моллюска *Radix peregra* (Müller, 1774) (Basommatophora, Lymnaeidae). *Ruthenica*, 23(2): 167-170.
- von Berg E. 1978. The action spectrum of the eye of *Helix pomatia* L. *Journal of Physiology*, 82: 483-492.
- von Berg E., Schneider G. 1972. The spectral sensitivity of the dark-adapted eye of *Helix pomatia* L. *Vision Research*, 12: 2151-2152.
- Bobkova M.B., Gal 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.
- Brown P.K., Brown P.S. 1958. Visual pigments of the octopus and cuttlefish. *Nature*, 182: 1288-1290.
- Cronly-Dillon J.R. 1966. Spectral sensitivity of the scallop *Pecten maximus*. *Science*, 151: 345-346.
- Dartnall H.J.A., Lythgoe J.N. 1965. The spectral clustering of visual pigments. *Vision Research*, 5: 81-100.
- Dartnall H.J.A. 1976. Visual pigment. *Transactions of Zoological Society London*, 33: 147-152.
- Dennis M.J. 1967. Electrophysiology of the visual system in a nudibranch mollusk. *Journal of Neurophysiology*, 30: 1439-1465.
- Geusz M.E., Page T.L. 1991. An opsin-based photopigment mediates phase shifts of the *Bulla* circadian pacemaker. *Journal of Comparative Physiology*, 168(5): 565-570.
- Geusz M., Foster R., De-Grip W., Block G. 1997. Opsin-like immunoreactivity in the circadian pacemaker neurons and photoreceptors of the eye of opisthobranch mollusc *Bulla gouldiana*. *Cell and Tissue Research*, 287: 203-210.
- Gillary H.L. 1974. Light-evoked electrical potentials from the eye and optic nerve of *Strombus*: response waveform and spectral sensitivity. *Journal of Experimental Biology*, 60:383-396.
- Gillary H.L., Wolbarsht M.L. 1967. Electrical responses from the eye of a land snail. *Review of Canadian Biology*, 26: 125-134.
- Hubbard R., St George R.C.C. 1958. The rhodopsin system of the squid. *Journal of Genetic Physiology*, 41: 501-528.
- Hughes H.P.I. 1970. The spectral sensitivity and absolute threshold of *Onchidoris fusca* (Müller). *Journal of Experimental Biology*, 52: 609-618.
- Jacklet J.W. 1980. Light sensitivity of the rhinophores and eyes of *Aplysia*. *Journal of Comparative Physiology*, 136: 257-262.
- Katagiri Y., Katagiri N., Fujimoto K. 1985. Morphological and electrophysiological studies of a multiple photoreceptive system in a marine gastropod, *Onchidium*. *Neuroscience Research*, 2: 1-15.
- Kirschfeld K., Franceschini N., Minke B. 1977. Evidence for a sensitizing pigment in fly photoreceptors. *Nature*, 269: 386-390.
- Kirschfeld K., Feiler R., Hardie R., Vogt K., Franceschini N. 1983. The sensitizing pigment in fly photoreceptors. *Journal of Europe Biophysics*, 10(1): 81-92.
- Kropf A., Brown P.K., Hubbard R. 1959. Lumi-rhodopsin and meta-rhodopsin of squid and octopus. *Nature*, 183: 446-448.
- Land M. F., Nilsson D.-E. 2002. *Animal eyes*. Oxford: Oxford University Press: 47-54.
- Ozaki K., Terakita A., Hara R., Hara T. 1986. Rhodopsin and retinochrome in the retina of a marine gastropod *Conomurex luhuanus*. *Vision Research*, 25(5): 691-705.
- Suzuki H., Watanabe M., Tsukahara Y., Tasaki K. 1979. Duplex system in the simple retina of a gastropod mollusc, *Limax flavus* L. *Journal of Comparative Physiology*, 133: 125-130.
- Tamamaki N. 1989. Visible light reception of accessory eye in the giant snail, *Achatina fulica*, as revealed by an electrophysiological study. *Zoological Science*, 6: 867-875.
- Warrant E.J., Nilsson D.-E. 1998. Absorption of white light in photoreceptors. *Vision Research*, 38(2): 195-207.
- Waser P.M. 1968. The spectral sensitivity of the eye of *Aplysia californica*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 27: 339-347.

●

**РЕЗЮМЕ.** В лабораторных условиях на основе фототаксиса определена спектральная чувствительность глаза брюхоногого легочного моллюска *Radix peregra* (Müller, 1774). Тестовым стимулом служил монохроматический свет десяти разных длин волн в диапазоне 400-600 нм. Показано, что *R. peregra* имеет монохроматическую зрительную систему с возможным зрительным пигментом родопсином, который может быть основан на ретинале  $A_1$  и максимум поглощения которого приходится на синие-зеленую область спектра около 490 нм.