**Различают ли наземные легочные моллюски плоскость поляризации света?**

И.А. Ваколюк, В.В. Жуков

На основе фототаксиса проведены исследования поляризационной чувствительности четырех видов наземных брюхоногих моллюсков: Cepaea nemoralis, Trichia hispida, Arion rufus, Deroceras agrestе. Лишь для D. agrestе экспериментально получены основания предполагать способность животного различать положение плоскости поляризации света.

**Введение**

Исследования фоточувствительности животных не могут быть полными без оценки их способности воспринимать поляризованный свет. Поляризационная чувствительность встречается более чем у ста видов животных в трех больших типах высших многоклеточных, в том числе у моллюсков класса Cephalopoda [3, 12]. Работ по изучению этого вида рецепции у представителей класса Gastropoda крайне мало, и в основном они выполнены на литторальных или морских видах [5 – 9].

Использование наземными моллюсками положения е-вектора для ориентации в естественной среде, как кажется, было бы им выгодно, поскольку в результате первичного рассеивания и выборочного отражения в атмосфере неполяризованный направленный солнечный свет (а также свет луны, звезд, биолюминесценция) становится частично линейно поляризованным [10, 12]. Кроме того, у ряда видов наземных брюхоногих обнаружены дополнительные структуры глаза, значение которых до конца не выяснено [11]. Не исключено, что эти добавочные глаза, не приспособленные к выполнению зрительной функции, служат для оценки иных, чем освещенность, параметров светового потока, например положения плоскости поляризации. В связи с этим изучение поляризационной чувствительности у легочных моллюсков, особенно наземных, представляет несомненный интерес в области экологической и сенсорной физиологии.

**Материал и методы исследования**

Животные. В экспериментах исследованы взрослые особи четырех видов наземных брюхоногих моллюсков: Cepaea nemoralis, Trichia hispida, Arion rufus, Deroceras agrestе. Животных отлавливали в садово-парковой зоне города c мая по сентябрь в период с 1999 по 2001 г. Для проведения опытов отбирали группы животных одинакового размера. В лабораторных условиях наземных улиток и слизней содержали в террариумах с влажной почвой, на которой располагались укрытия, при температуре в диапазоне 20 – 25 °C; смену почвы производили один раз в неделю. Кормили всех животных ежедневно листьями одуванчиков, периодически добавляя в рацион морковь.

Экспериментальная камера представляла собой стеклянный цилиндр с нанесенной на внешней стороне дна координатной сеткой. Диаметр (D) и высоту (h) цилиндра подбирали в соответствии со средней величиной видов моллюсков, используемых в экспериментах: D = 31 см, h = 30 см – для С. nemoralis и A. rufus, D = 18 см, h = 20 см – для D. agreste, D = 9 см, h = 2 см – для T. hispida. Боковые стенки цилиндра покрывали снаружи черной бумагой. Цилиндр помещали на белую поверхность основания установки и экранировали со всех сторон светонепроницаемым коробом. Во всех экспериментах использовали один источник световой стимуляции (лампа накаливания 100 Вт, 220 В либо 25 Вт, 220 В), свет от которого поступал в камеру сверху через прорезь в экранирующем коробе. Источник света в ходе эксперимента располагали на неизменной высоте, которую подбирали для каждого вида моллюсков, и контролировали его положение, оценивая уровень освещенности при помощи люксметра. Между источником света и экспериментальной установкой помещали тепловой и рассеивающий фильтры. В прорези экранирующего короба горизонтально устанавливали поляризатор.

Условия проведения и ход эксперимента. Формировали экспериментальные группы из десяти интактных моллюсков. Перед опытами животные подвергались темновой адаптации в течение одного часа. Наблюдения за поведением проводили при температуре в диапазоне 20 – 23°. После каждого опыта с рабочих поверхностей камеры тщательно удаляли следы слизи, чтобы снизить до минимума влияние химического следа, оставленного предыдущими животными.

Опыты выполняли по следующей схеме: одного моллюска экспериментальной группы помещали в центре камеры. Камеру закрывали экранирующим коробом, затем включали источник света. Положение животного периодически контролировали через боковое отверстие в экране. По достижении животным стенки цилиндрической камеры наблюдение прекращали и фиксировали координаты.

В ходе эксперимента было проведено по четыре серии опытов для экспериментальной группы каждого вида. Положение плоскости поляризации света в каждой последующей серии опытов изменяли относительно предыдущего поворотом поляризатора на 90° по часовой стрелке. При необходимости серии опытов повторяли.

Оценка результатов. Влияние положения плоскости поляризации света на ориентацию моллюсков оценивали по распределению векторов перемещения моллюсков на основе теста пространственного распределения (Rao`s spacing test [4]) и определения длины среднего вектора (Rayleigh test [4]). Вектор перемещения животного определяли как отрезок прямой, соединяющий центр дна и точку боковой стенки цилиндра, которой оно достигало. Длину среднего вектора определяли как скаляр усредненной суммы векторов перемещения каждого животного экспериментальной группы.

**Результаты исследования**

По координатам векторов перемещения моллюсков экспериментальной группы для каждой серии опытов был рассчитан критерий U (тест пространственного распределения). Значения критерия U, полученные в ходе статистической обработки экспериментальных данных во всех сериях опытов оказались ниже табличных, даже для вероятности ошибочной оценки р = 0,05 (табл. 1). Этот факт не позволяет отвергнуть нулевую гипотезу о случайном выборе моллюсками направления движения, независимо от положения поляризатора (а значит, и плоскости поляризации).

Значения критерия U, полученные по результатам наблюдений за распределением по плоскости камеры слизней вида A. rufus, также оказались ниже, чем табличные. На другом виде слизней – D. agreste – в четырех из восьми серий опытов были получены значения критерия U, превышающие табличные (см. табл. 1), что позволяет предположить детерминированное распределение моллюсков в пространстве при стимуляции их поляризованным светом. В связи с этим в качестве контроля были проведены дополнительные серии опытов на животных этого же вида, но с удаленными глазами, а также с интактными особями этого же вида в отсутствие поляризатора. Эти опыты продемонстрировали с высокой степенью статистической значимости случайность распределения по рабочей поверхности камеры как интактных животных в отсутствие поляризатора (U=135), так и безглазых слизней – при различных положениях поляризатора (например, U0° = 100, U90° = 110).

Таблица 1

Значения критерия U в экспериментах по определению поляризационной чувствительности моллюсков в цилиндрической камере

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Виды | Экспериментальные значения | | | | Табличные значения | |
| 0° | 90° | 180° | 270° | p = 0,01 | p = 0,05 |
| Trichia hispida | 135  (n = 9) | 81  (n = 10) | 121  (n = 10) | 114  (n = 10) |  |  |
| Cepaea nemoralis | 137  (n = 10) | 165  (n = 10) | 139  (n = 10) | 141  (n = 10) | 195,1  (n = 9) | 173,5  (n = 9) |
| Arion rufus | 155  (n = 10) | 137  (n = 10) | 166  (n = 10) | 162  (n = 10) |  |  |
| Deroceras agreste | 145  (n = 9) | 46  (n = 10) | 198  (n = 9) | 192  (n = 9) | 192,2  (n = 10) | 172,1  (n = 10) |
| 122  (n = 10) | 201  (n = 10) | 154  (n = 10) | 172  (n = 10) |  |  |

Примечание: в скобках указано количество проб в каждой серии опытов; серым цветом выделены статистически подтверждаемые значения критерия U; для Deroceras agreste в первой строке значения данные получены по результатам экспериментов, проведенных на интактных животных летом 2000 года, во второй – летом 2001.

Возникшие сомнения в отношении поляризационной чувствительности Deroceras agreste помогло разрешить использование более чувствительного метода статистической обработки аксиальных данных (Rayleigh test). Определенные нами результирующие вектора перемещения и их скалярные величины позволили оценить среднее направление и характер распределения моллюсков при каждом положении поляризатора в каждом варианте эксперимента.

Таблица 2

Скаляры результирующих векторов в опытах по определению поляризационной чувствительности Deroceras agreste в цилиндрической камере

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Вариант эксперимента | Углы результирующих векторов | | | |
| 0° | 90° | 180° | 270° |
| Интактные животные,  лето 2000 | r = 0,134  p > 0,846 | r = 0,442  p=0,145 | r = 0,506  p > 0,085 | r = 0,256  p = 0,558 |
| Интактные животные,  лето 2001 | r = 0,482  p = 0,098 | r = 0,302  p = 0,417 | r = 0,198  p = 0,709 | r = 0,293  p > 0,417 |
| Интактные животные,  лето 2000, без поляризатора | r = 0,415  p > 0,12 | | | |
| Ослепленные животные,  лето 2000 | r = 0,184  p = 0,733 | r = 0,006  p > 0,900 | r = 0,161  p = 0,783 | r = 0,106  p > 0,897 |

Примечание: в каждой ячейке таблицы указаны длина результирующего вектора (r) и соответствующий ему критический уровень (p).

Как видно из таблицы 2, критические уровни вероятности ошибочной оценки оказались значительно выше принятых в биологической статистике, что не позволяет отвергнуть нулевую гипотезу об отсутствии детерминированной реакции Deroceras agreste на плоскополяризованный свет.

**Обсуждение**

Способность к различению положения плоскости поляризации света обнаружена у животных, обитающих как в водной, так и в воздушной среде и обладающих глазами различной степени сложности. Однако все виды, в отношении которых поляризационная чувствительность доказана, имеют особо устроенные фоторецепторы: их световоспринимающие элементы – микровиллы – организованы как рабдомы. При этом возникает предпочтительное расположение дипольного момента молекул зрительного пигмента, что, вероятно, и создает морфологическую основу для поляризационной чувствительности [1 – 3, 10, 12]. Кроме того, различение положения плоскости поляризации света оптической системой может, в принципе, обеспечиваться и линзой-анализатором, например хрусталиком, хотя в этом случае ориентационные реакции связаны оценкой фоторецепторами распределения освещенности в пространстве.

Исследованные нами наземные виды брюхоногих моллюсков, как выяснилось в ходе морфологических исследований (Бобкова М., персональное сообщение), обладают цефалическими глазами камерного типа, сетчатка которых не содержит фоторецепторов с упорядоченным расположением микровилл, образующих структуры типа рабдомов насекомых или головоногих. В связи с этим отсутствие поляризационной чувствительности у большинства этих видов брюхоногих кажется понятным. Исключение составляет D. agreste. У этого вида слизней рядом с основным глазом есть дополнительный – содержащий не только дополнительную сетчатку, но и собственный хрусталик, и именно этот вид в половине наших экспериментов показал неслучайное распределение в пространстве под действием поляризованного света.

Функции этого добавочного образования точно не установлены. Дополнительная сетчатка не содержит пигментных клеток, а дополнительный хрусталик занимает практически весь объем внутриглазной полости (собственные наблюдения). Такие особенности структуры делают невозможным выполнение дополнительным глазом функции органа зрения. При этом на ультратонких срезах можно видеть, что микровиллы фоторецепторов дополнительной ретины расположены плотно и упорядоченно, образуя геометрически правильную гексагональную структуру (Бобкова М.В., персональное сообщение). Этот факт наводит на мысль о возможной роли дополнительного глаза у слизней данного вида как анализатора поляризованного света. Хотя моллюск Littorina littoralis, способный ориентироваться в пространстве с использованием поляризованного света [7, 8], вообще не имеет дополнительных оптических структур.

С другой стороны, D. agreste – не единственный вид наземных брюхоногих, у которого имеется дополнительная сетчатка. Слизни родственного вида D. reticulatum также имеют дополнительную сетчатку, но у них отсутствует дополнительный хрусталик. Проведенное нами тестирование животных этого вида в цилиндрической камере при четырех положениях поляризатора (0° – исходное положение, 90°, 180°, 270°) показало случайность распределения моллюсков в камере в каждом случае, что свидетельствует об отсутствии у D. reticulatum поляризационной чувствительности. Гипотетически участие в анализе положения е-вектора может принимать и дополнительный хрусталик. Мы рассматривали хрусталики D. agreste, извлеченные из полости дополнительного глазного бокала, в проходящем поляризованном свете. Однако нам не удалось обнаружить анизотропию вещества хрусталика при изменении положения плоскости поляризации светового потока.

В заключение отметим следующее. Наземные брюхоногие моллюски исследованных нами видов, скорее всего, не используют плоско поляризованный свет для ориентации в пространстве. Однако отсутствие у животного ориентационной реакции на стимул еще не означает отсутствия способности его восприятия. К тому же упомянутые выше особенности строения сетчатки дополнительного глаза D. agreste, так же как и результаты наблюдений его поведения, не позволяют полностью отвергнуть мысль о наличии у этого слизня поляризационной чувствительности. Выяснение ответа на этот вопрос, несомненно, требует дополнительных исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №00-04-48556.

**Список литературы**

1. Винников Я.А. Эволюция рецепторов. Цитологический, мембранный и молекулярный уровни. Л.: Наука, 1979.

2. Грибакин Ф.Г. Механизмы фоторецепции насекомых. Л.: Наука, 1981.

3. Грибакин Ф.Г., Шуколюков С.А. Механизмы фоторецепции беспозвоночных // Физиология зрения / Под ред. А.Л. Бызов. М.: Наука, 1992. С. 59 – 109.

4. Batschelet E. Circular statistics in Biology (Mathematics in biology). L.; New-York: Acad. Press, 1981.

5. Baylor E.R. The responses of snails to polarized light // J. Exp. Biol. 1959. Vol. 36. № 2. P. 369 – 376.

6. Burdon-Jones C., Charles G.H. Light reactions of littoral gastropods // Nature. 1958. № 4602. P. 129 – 131.

7. Charles G.H. The orientation of Littorina species to polarized light // J. Exp. Biol. 1961. Vol. 38. P. 189 – 202.

8. Idem. The mechanism of orientation of freely moving Littorina littoralis (L.) to polarized light // J. Exp. Biol. 1961. Vol. 38. P. 203 – 212.

9. Idem. Orientational movements of the foot of Littorina species in relation to the plane of vibration of polarized light // J. Exp. Biol. 1961. Vol. 38. P. 213 – 224.

10. Cronin T.W., Shashar N. The linearly polarized light field in clear, tropical marine waters: spatial and temporal variation of light intensity, degree of polarization and e-vector angle // J. Exp. Biol. 2001. Vol. 204. P. 2461 – 2467.

11. Tamamaki N., Kawai K. Ultrastructure of the accessory eye of the giant snail, Achatina fulica (Gastropoda, Pulmonata) // Zoomorfology. 1983. Vol. 102. P. 205 – 213.

12. Waterman T.H. Polarization sensitivity // Handbook of Sensory Physiology / Ed. H. Autrum. Berlin; Heidelberg; New-York: Springer-Verlag, 1981. Vol. VII/6B. P. 281 – 469.