

**ФИЗИОЛОГИЯ ПОВЕДЕНИЯ;  
ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ**

УДК 612.821 + 591.51

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЛЕГОЧНОЕ ДЫХАНИЕ,  
ОБОРОНИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ И ЛОКОМОТОРНОЕ ПОВЕДЕНИЕ  
ПРЕСНОВОДНОГО ЛЕГОЧНОГО МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS***

© 2003 г. А. В. Сидоров

Белорусский государственный университет, Минск, e-mail: sidorov@bsu.by

Поступила в редакцию 03.01.2002 г.

Принята в печать 29.05.2002 г.

Изучено влияние температуры на легочное дыхание, оборонительное и локомоторное поведение обыкновенного прудовика (*Lymnaea stagnalis*). Установлено, что при пониженных температурах (4–6°C) наблюдается снижение скорости локомоции и торможение легочной вентиляции, а также повышение выраженности оборонительных реакций. Повышение температуры (24–26°C) активизирует легочное дыхание и локомоцию, уменьшает степень выраженности оборонительного поведения улиток по сравнению с аналогичными показателями при 14–16°C. Предполагается, что такая температурная зависимость реализуется за счет действия на нейроны, контролирующие указанные типы поведения.

*Ключевые слова:* моллюск, локомоция, оборонительное поведение, *Lymnaea*.

Изучение изменений поведения животного, наблюдаемых при разных температурах среды обитания, является актуальной задачей нейробиологических исследований, представляя начальный этап установления клеточных основ температурной зависимости поведения. Значительное количество экспериментальных данных получено при использовании в качестве объекта исследования различных эндотермных организмов (см. [4]). Подавляющее большинство живых организмов на Земле являются эктотермами, т.е. проявления их жизнедеятельности во многом определяются температурными условиями существования. Нельзя не отметить тот факт, что указанная группа животных успешно освоила практически все пригодные для существования ареалы задолго до появления птиц и млекопитающих. Сравнение механизмов температурной зависимости поведения у холоднокровных и теплокровных организмов позволит лучше понять пути и причины возникновения гомойотермии, а также способы и механизмы адаптации к постоянно меняющимся условиям окружающей среды.

Одной из наиболее изученных групп беспозвоночных (как представителей эктотермных животных) являются моллюски. Относящийся к ним прудовик (*Lymnaea stagnalis*) демонстрирует относительно небольшой набор типов поведения: дыхательное, оборонительное, локомоторное и ряд других. Лишь в ряде работ упоминается о влиянии температуры на пищедобывательное поведение [7] и некоторые характеристики легочного дыхания [8]. По сравнению с морскими формами данный вид моллюсков существует в сильно переменных тем-

пературных условиях, что обуславливает необходимость координации поведенческих актов в зависимости от температуры среды обитания [10]. Целью настоящей работы явился сравнительный анализ оборонительного, респираторного и локомоторного поведения *Lymnaea stagnalis* при изменении температуры.

#### МЕТОДИКА

Работа выполнена на представителе пресноводных легочных моллюсков обыкновенном прудовике – *Lymnaea stagnalis* L. В лаборатории улиток содержали в аквариуме при температуре воды 14–16°C. Пищей служили листья салата и капусты. В экспериментах использовали взрослых особей массой 2–4 г.

Исследование поведения животных проводили в различных температурных диапазонах: 4–6, 16–18, 24–26, 34–36°C. Сосуды или чашки Петри с находящимися в них животными помещали в термостаты, создающие нужные температурные условия проведения эксперимента.

*Легочное дыхание.* Моллюсков ( $n = 60$ ) помещали в сосуды с отстоявшейся водопроводной водой объемом 0.5 л (одна особь на один сосуд). Регистрировали число дыхательных актов (открытие-закрытие дыхательного отверстия – пневмостома) за 1 ч наблюдения. Длительность ряда стадий стереотипного комплекса дыхательного поведения – время открытого состояния пневмостома, время нахождения на поверхности воды – фиксировали визуально с помощью секундомера.

**Оборонительное поведение.** Моллюсков ( $n = 120$ ) помещали в наполненные отстоявшейся водопроводной водой чашки Петри (по 5 особей в каждой). Отмечали характер реакции животного в ответ на тактильное раздражение щупальца волоском Фрея, с силой воздействия равной 0.01 Н. Выделяли следующие типы ответов (по [3]): 1 – поворот головы в сторону стимула; 2 – игнорирование стимула; 3 – ретракция щупальца; 4 – надвигание раковины на передний конец тела; 5 – полное прикрытие тела раковинной. Определяли соотношение числа подвижных и неподвижных моллюсков. Длину щупальцев и участка тела, не прикрытого раковинной, регистрировали с помощью измерителя и линейки, не касаясь при этом тела моллюска. Тестирование проводили при верхнем равномерном освещении.

**Локомоторное поведение.** Для определения скорости локомоции животных ( $n = 60$ ) переносили в чашки Петри, стоящие на миллиметровой бумаге и наполненные отстоявшейся водопроводной водой. Через 30 мин после помещения моллюска в новые температурные условия с помощью секундомера фиксировали время, необходимое ему для преодоления трех квадратов ( $1 \times 1$  см). На основании полученных данных рассчитывали скорость локомоции улиток (в мм/с).

Экспериментальные данные ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ ) обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики, достоверность оценивали с помощью  $t$ -критерия Стьюдента или критерия соответствия  $\chi^2$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Легочное дыхание.** Нормальный респираторный акт состоит из комплекса стереотипных движений. Начинается он с перемещения моллюска в сторону водной поверхности. Когда края губ касаются поверхностной пленки, отмечается движение раковины против часовой стрелки, временное прекращение локомоции и эрекция пневмостома [9, 12]. Затем пневмостом открывается, выпускается пузырек воздуха, прорывающий пленку водной поверхности. Непосредственно процесс самого дыхания занимает 45–60 с, однако в ряде случаев могут наблюдаться отдельные акты длительностью до 2 мин и больше. После этого пневмостом за-

крывается и моллюск обычно покидает поверхность воды.

Температура оказывает следующее влияние на легочное дыхание *L. stagnalis* (табл. 1). Понижение температуры воды на  $10^\circ\text{C}$  приводит к резкому уменьшению (в 3 раза) частоты “визитов” на поверхность и как следствие – числа респираторных актов за 1ч наблюдения. Длительность акта дыхания при этом достоверно не изменяется. Если моллюсков длительно (2 ч и более) содержать при температуре воды  $4\text{--}6^\circ\text{C}$ , то они перестают подниматься на поверхность воды для дыхания. Повышение температуры воды на  $10^\circ\text{C}$  приводит к интенсификации дыхания, выражаемое в увеличении частоты и длительности респираторных актов. При этом моллюски, как правило, предпочитают не совершать “визиты” на дно сосудов с водой, оставаясь активными в поверхностном слое. При дальнейшем повышении температуры воды (диапазон  $34\text{--}36^\circ\text{C}$ ) отмечается ряд отклонений от стандартной модели поведения. Все моллюски ( $n = 15$ ) находятся на поверхности воды. Со временем (спустя 15 мин после изменения температурных условий) улитки демонстрируют повышенную локомоторную активность. Затем животные почти не перемещаются, при этом пневмостом практически постоянно находится в открытом состоянии, изредка закрываясь, но не более чем на 5–10 с.

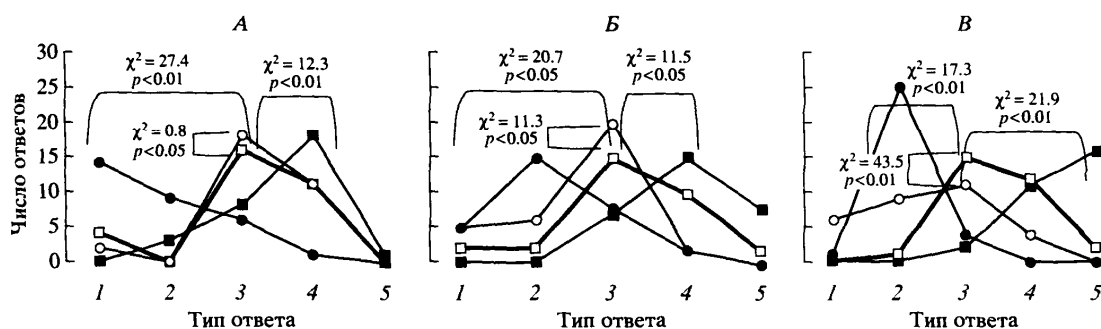
**Оборонительное поведение.** Температура оказывает сильное влияние на характеристики оборонительного поведения моллюсков (табл. 2). При  $4\text{--}6^\circ\text{C}$  значительно увеличивается доля неподвижных, полностью прикрытых раковинной улиток. При продолжении поддержания указанных температур моллюски, как правило, занимают определенное положение, оставаясь в нем неподвижными в течение длительного периода времени. При температуре  $24\text{--}26^\circ\text{C}$  подавляющее большинство животных активно передвигаются в пределах чашки. В диапазоне  $34\text{--}36^\circ\text{C}$  тела неактивных улиток не были прикрыты раковинной. Максимально наблюдаемая длина щупальцев и участка тела, не прикрытого раковинной, отмечается в диапазонах  $24\text{--}26$  и  $34\text{--}36^\circ\text{C}$ , наименьшая – при  $4\text{--}6^\circ\text{C}$ .

Изучение температурной зависимости характера ответов моллюска на тактильное раздражение щупальца показало следующее (рисунок). В диапазоне  $14\text{--}16^\circ\text{C}$  наиболее выражена реакция, связан-

Таблица 1. Влияние температуры на дыхательное поведение *Lymnaea stagnalis*

Параметры легочного дыхания	Температура воды, $^\circ\text{C}$			
	4–6	14–16	24–26	34–36
Число респираторных актов за 1 ч ( $n = 15$ ) <sup>2</sup>	$2.1 \pm 0.76^*$	$6.3 \pm 1.24$	$12.4 \pm 1.12^*$	– <sup>1</sup>
Время открытого состояния пневмостома, с ( $n = 15$ ) <sup>2</sup>	$38.0 \pm 5.6$	$42.0 \pm 4.8$	$58.2 \pm 3.4^*$	– <sup>1</sup>

Примечание. <sup>1</sup> – пневмостом постоянно открыт, <sup>2</sup> – для каждой серии. \* – достоверно ( $p < 0.05$ ) по отношению к значению при  $15^\circ\text{C}$ .



Влияние температуры на характер оборонительной реакции *Lymnaea stagnalis* в ответ на тактильное раздражение щупальца. А – первое (30 мин), Б – второе (90 мин), В – третье (150 мин) тестирование. Темные квадраты – 4–6, светлые – 14–16, светлые кружки – 24–26, темные – 34–36°C. Значения  $\chi^2$  и уровни значимости ( $p$ ) распределения ответов моллюска на тактильную стимуляцию щупальца указаны по сравнению с таковыми при 15°C. Тип ответа: 1 – поворот головы в сторону стимула; 2 – игнорирование стимула; 3 – ретракция щупальца; 4 – надвигание раковины на передний конец тела; 5 – полное прикрытие тела раковинной.

ная с его ретракцией (50% случаев) и надвиганием раковины на передний конец тела (35% случаев). Другие реакции примерно поровну распределяются между оставшимися формами ответов. Изменений в характере ответов с течением времени не наблюдается (первое тестирование спустя 30 мин после помещения животных в чашки Петри, затем через 1.5 и 2.5 часа). У моллюсков, находящихся при 4–6°C, уже первое тестирование показывает увеличение доли сильных оборонительных реакций по сравнению с животными, находящимися при температуре 14–16°C: надвигание раковины на передний конец тела (60% случаев) на фоне падения величины ответов, связанных с ретракцией щупальца (25% случаев). В дальнейшем наблюдается изменение характера ответов, связанное с увеличением доли сильных защитных реакций организма. Постепенно возрастает число моллюсков, реагирующих полным прикрытием тела раковинной, оставшиеся реакции приходятся на ответы 3 и 4. Ориентировочной реакции (ответ 1), как и игнорирования стимула (ответ 2), не наблюдается при втором и третьем тестированиях.

В диапазоне 24–26°C, напротив, уменьшается доля сильных защитных реакций организма. Ха-

рактер распределения ответов при первом тестировании не отличается от наблюдаемого при 14–16°C. Различия в характере распределения ответов улиток отмечаются при втором и третьем тестированиях. Нарастает число ориентировочных и связанных с игнорированием стимула реакций (до 20 и 30% случаев соответственно), уменьшается доля оборонительных ответов типа 3 и 4 (до 35 и 10% случаев соответственно). В ходе проведения тестирования в указанном диапазоне температур ответ 5 не выявлен.

При температуре 34–36°C изменения характера ответов выражаются в еще большем уменьшении частоты встречаемости сильных защитных реакций. При первом тестировании ориентировочная реакция встречается в 50% случаев. Реакция, связанная с полным прикрытием тела раковинной, не наблюдается вовсе, как и при последующих тестированиях. По прошествии времени (второе тестирование) наиболее сильно возрастает число моллюсков, игнорирующих стимул (80%). Доля слабых оборонительных (ретракция щупальца), как и ориентировочных, реакций постепенно уменьшается до 10%. Третье тестирование выявляет отсут-

Таблица 2. Влияние температуры на оборонительное поведение *Lymnaea stagnalis*

Параметры оборонительного поведения	Температура воды, °C			
	4–6	14–16	24–26	34–36
Длина щупальцев, мм ( $n = 30$ ) <sup>3</sup>	1.5 ± 0.18*	2.8 ± 0.14	5.2 ± 0.42*	5.5 ± 0.38*
Длина открытого участка тела, мм ( $n = 30$ ) <sup>3</sup>	4.1 ± 1.58*	8.6 ± 2.12	12.2 ± 1.32*	18.7 ± 1.28*
Число неподвижных моллюсков, %	80 <sup>1</sup>	20 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup>	40 <sup>2</sup>

Примечание. <sup>1</sup> – втянуты в раковину, <sup>2</sup> – выдвинуты из раковины, <sup>3</sup> – для каждой серии. \* – достоверно ( $p < 0.05$ ) по отношению к значению при 15°C.

стве ответа, связанного с надвиганием раковины на передний конец тела.

**Локомоторное поведение.** Понижение температуры воды приводит либо к полному прекращению локомоторной активности, либо к значительному ее ослаблению. Скорость локомоции при 4–6°C составляет  $1.44 \pm 0.12$  мм/с ( $n = 15$ ). Контрольное значение, измеренное при 14–16°C, равняется  $2.82 \pm 0.24$  мм/с ( $n = 15$ ). Повышение температуры воды на 10°C приводит к возрастанию скорости передвижения моллюсков, составляющей  $5.3 \pm 0.32$  мм/с ( $n = 15$ ). Животные остаются в состоянии повышенной двигательной активности длительный период времени (до 2 ч наблюдения). При 4–6°C (2 ч и более содержания улиток при пониженной температуре) моллюски постепенно перестают двигаться, подолгу находятся на одном месте, а затем изредка совершают незначительные перемещения (не более 10 см). Вскоре и эти проявления активности прекращаются. Повышение температуры воды до 34–36°C приводит к необычайно быстрому передвижению моллюсков. Скорость локомоции достигает значения  $8.66 \pm 0.56$  мм/с ( $n = 15$ ). Животные интенсивно исследуют всю предоставленную им территорию, пересекая ее во всех направлениях. Со временем (через 30 мин) отмечается резкое снижение локомоторной активности, скорость локомоции падает до  $0.7 \pm 0.14$  мм/с ( $n = 15$ ).

При нормализации температурных условий происходит восстановление всех стадий стереотипного комплекса легочного дыхания, в том числе и нормализация их длительности. Восстанавливается исходный характер ответов на тактильную стимуляцию щупальца, а также другие показатели оборонительного поведения моллюсков. Нормализуется локомоторная активность.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оборонительная доминанта, направленная на сохранение безопасности особи, преобладает в отсутствие стимулов положительной эмоциональной направленности (пищевых, половых и других). Как отмечал А.А. Ухтомский, разнообразные раздражения, к которым можно отнести и понижение температуры воды, подкрепляют такую главенствующую программу [5]. Наши опыты показали выраженность сильных защитных оборонительных реакций при пониженной (4–6°C) температуре.

Кроме того, понижение температуры воды приводит к резкому снижению частоты респирации, а длительное поддержание температуры воды на уровне 4–6°C – к тому, что моллюски вовсе прекращают демонстрировать легочное дыхание, впадая в гипобиотическое состояние. При этом дыхательное отверстие открывается и легочная полость заполняется водой [2]. Резко уменьшившиеся в данных температурных условиях энергетические потреб-

ности удовлетворяются за счет растворенного в воде кислорода, поступающего в организм животного путем диффузии через кожные покровы. При снижении температуры воды локомоторная активность моллюсков также ограничивается.

Повышение температуры активирует многие формы поведения *L. stagnalis*. В первую очередь из-за возрастания скорости метаболизма в тканях необходимо увеличить количество поступающего кислорода и субстрата для окисления, что отражается в интенсификации дыхания (увеличение частоты и длительности респираторных актов) и пищедобывательного поведения. Выполнение указанных поведенческих программ невозможно при ярко выраженной защитной доминанте. Следовательно, “господствующий очаг возбуждения” переносится из одной области в другую. Повышение температуры приводит к увеличению доли ориентировочных и слабых оборонительных реакций, наблюдаемых в ответ на тактильную стимуляцию щупальца. Заметим, что характер оборонительного поведения *L. stagnalis* находится в строгой зависимости от деятельности других функциональных систем. Так, увеличение длины щупальцев и длины участка тела, не прикрытого раковинной, при повышении температуры (до 24–26°C и выше) невозможно без усиления деятельности сердечно-сосудистой системы. Именно за счет этого увеличивается давление гемолимфы в сосудах, подходящих к стенке тела. Результатом такого повышенного их тургора является большая вытянутость различных участков тела моллюска [6].

В температурном диапазоне 34–36°C начинает преобладать безразличие к внешним раздражителям. Резкое возрастание локомоции при температуре 30°C и выше (непосредственно сразу после помещения животных в подобные условия) лишний раз подчеркивает, что подобные температуры весьма неблагоприятны для моллюсков. Высокая скорость перемещения, видимо, должна способствовать скорейшему их изменению (своего рода “активное” избегание). При развитии теплового стресса исходная оборонительная реакция быстро сменяется исследовательским поведением с целью избегания опасной ситуации. В данных условиях животные подвергаются сильнейшему тепловому, а возможно, и болевому стрессу. Установлено [3], что в подобных случаях активируется эндогенная опиоидная система моллюска. Выделяющиеся при этом эндорфины и энкефалины приводят к значительному ослаблению выраженности защитных реакций организма путем влияния на нейроны, контролирующие оборонительное поведение (в особенности на мотонейроны стенки тела).

Работы П.К. Анохина показали, что системообразующим фактором является результат [1], т.е. в зависимости от иерархии полезных в данное время для организма результатов будут демонстриро-

ваться те или иные формы поведения (дыхательное, пищевое, половое, оборонительное). В основе подобных взаимодействий между различными нервными центрами несомненно лежат особенности реакции нейронов и синапсов, формирующих эти центры. Приведенные выше данные позволяют сделать заключение о температурной зависимости некоторых характеристик дыхательного, локомоторного и оборонительного поведения *L. Stagnalis*, вероятно, за счет влияния на соответствующие нейроны, контролирующие указанные типы поведения, как это характерно для *Aplysia* [13] и *Limax* [11].

### ВЫВОДЫ

1. Понижение температуры (4–6°C) приводит к торможению у *Lymnaea stagnalis* легочной респирации и снижению локомоторной активности на фоне усиления защитных реакций организма.

2. Степень выраженности легочного дыхания и локомоторного поведения моллюсков увеличивается, а оборонительного – уменьшается при повышении температуры среды обитания (24–26°C).

3. В диапазоне температур 34–36°C жизненные функции улиток угнетаются, что выражается в резком снижении локомоторной активности, нарушении стереотипного комплекса дыхательного поведения и неспособности реагировать на внешние раздражители.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анохин П.К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса. М.: Медицина, 1968. 547 с.
2. Властов Б. В., Матекин П. В. Класс Брюхоногие моллюски (Gastropoda) // Жизнь животных. В 7 т. / Под ред. Пастернак Р.К. М.: Просвещение, 1988. Т. 2. С. 20–64.
3. Дьяконова В.Е. Регуляторные функции эндогенной опиоидной системы моллюска: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: Ин-т биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 1996. 25 с.
4. Слоним А.Д. Температура среды обитания и эволюция температурного гомеостаза // Физиология терморегуляции / Под ред. Иванова К.П. Л.: Наука, 1984. С. 378–440.
5. Ухтомский А.А. Принцип доминанты // Физиология нервной системы. Избранные труды. И.М. Сеченов, И.П. Павлов, Н.Е. Введенский / Под ред. Быкова К.М. М.: Медицинская литература, 1952. Вып. 3. Кн. 1. С. 262–266.
6. Dale B. Blood pressure and its hydraulic functions in *Helix pomatia* L. // J. Exp. Biol. 1973. V. 59. P. 477–490.
7. Dawkins M. Behavioural analysis of coordinated feeding movements in the gastropod *Lymnaea stagnalis* L. // J. Comp. Physiol. 1974. V. 92. P. 255–271.
8. Janse C. The effect of oxygen on gravity orientation in the pulmonata snail *Lymnaea stagnalis* // J. Comp. Physiol. 1981. V. 142. P. 51–59.
9. Moroz L.L. Monoaminergic control of respiratory behaviour in the freshwater pulmonate snail, *Lymnaea stagnalis* (L.) // Signal Molecules and Behaviour / Eds Winlow W., Vinogradova O.S., Sakharov D.A. Manchester: Manchester Univ. Press, 1991. P. 101–123.
10. Prosser C.L., Nelson D.O. The role of nervous systems in temperature adaptation of poikilotherms // Ann. Rev. Physiol. 1981. V. 43. P. 281–300.
11. Sokolove P.G., Beiswanger C.M., Prior D.J., Gelperin A. A circadian rhythm in the locomotive behaviour of the giant garden slug *Limax maximus* // J. Exp. Biol. 1977. V. 66. № 1. P. 47–64.
12. Syed N.I., Harrison D., Winlow W. Respiratory behavior in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. I. Behavioral analyses and the identification of motor neurones // J. Comp. Physiol. 1991. V. 169A. P. 541–555.
13. Wayne N.L., Nick T., Block G.D. Effects of temperature on reproductive neuroendocrine function in *Aplysia californica* // Gen. Comp. Endocrinol. 1996. V. 102. № 3. P. 351–359.

## Effects of Temperature on Respiration, Defensive Behavior, and Locomotion of Fresh-Water-Snail *Lymnaea stagnalis*

A. V. Sidorov

Belarusian State University, Minsk, Belarus

Temperature dependence of lung respiration, defensive behavior and locomotion of *Lymnaea stagnalis* snail was studied. At the temperature in the range of 4–6°C the rates of locomotion and respiration were reduced (as compared to control temperature of 14–16°C), whereas defensive reactions were much more intense. Vice versa, the temperature rise to 24–26°C activates respiration and locomotion but inhibits defensive behavior. It is suggested that the observed changes in *Lymnaea* behavior result from temperature-dependent reactions of neurons underlying these activities.

*Key words:* mollusk, locomotion, defensive behavior, *Lymnaea*.