

ЭМБРИОЛОГИЯ

УДК 591.176:597.812:591.52+535.24

ВЛИЯНИЕ ФОНА СТЕНОК КОНТЕЙНЕРОВ
НА ПИГМЕНТАЦИЮ ЛИЧИНОК *XENOPUS LAEVIS*

В.В. Джапова, С.М. Стародубов, В.А. Голиченков

(кафедра эмбриологии биологического факультета МГУ, e-mail: dzhapova@list.ru)

Личинок *Xenopus laevis* после их вылупления (стадия 39) содержали в контейнерах объемом 0,95 л (диаметром 9,5 см и высотой 10 см) со всеми сочетаниями белого, серого и черного цветов дна и стенок (боковой фон). Контейнеры находились в закрытом боксе с искусственным освещением белым светом 12 ч в сутки. На стадии 55 (через 2 месяца) определили численность пигментных клеток на боковом участке туловища личинок. Установлено, что не только фон дна, но и боковой фон может оказывать существенное влияние на количество дермальных меланофоров.

Ключевые слова: *Xenopus laevis*, боковой фон, дермальные меланофоры.

Хорошо известно, что рыбы, амфибии и рептилии способны к адаптивным изменениям окраски: на темном фоне животные темнеют, на светлом — светлеют [1]. При этом изменения окраски низших позвоночных могут быть результатом как быстрых физиологических, так и продолжительных морфологических реакций [2]. Физиологические реакции длятся от десятков секунд до 1–2 ч и происходят благодаря перераспределению пигмента внутри пигментных клеток: если пигментные гранулы концентрируются в середине клеток, занимая при этом небольшую площадь, то животные светлеют, а если пигмент распределяется по всей площади клеток, то животные темнеют. Морфологические реакции более длительные (дни и недели) и являются результатом изменения числа пигментных клеток и количества пигмента в них.

Следует подчеркнуть, что ранее в работах по изучению фоновых адаптаций в расчет принимался лишь фон дна, тогда как возможное влияние бокового фона не учитывалось. Мы решили восполнить этот пробел и оценить влияние бокового фона на физиологическую и морфологическую фоновую адаптацию животных.

Материалы и методы

В качестве объекта были выбраны личинки *Xenopus laevis*. Личинки этого вида удобны для работы тем, что их пигментная система состоит в основном из дермальных меланофоров, которые имеют большие размеры и доступны для прижизненной визуальной оценки и фотографирования благодаря прозрачным покровам. Икринки на стадии нейрулы рассаживали на разные фоны. Фоновые реакции по-

являются у личинок практически сразу после их вылупления из икры [3], поэтому животных помещали на разные фоны до этого события. Животных содержали при температуре 18–22° в стеклянных контейнерах со всеми сочетаниями белого, серого и черного фонов дна и стенок (всего 9 вариантов). Фоны получали путем окрашивания снаружи дна и стенок контейнеров (на высоту 10 см) эмалью белого, серого или черного цветов. Были использованы контейнеры объемом 0,95 л, с внутренним диаметром 9,5 см, заполнявшиеся водой на высоту 7 см. Контейнеры помещали в закрытый бокс с искусственным освещением белым светом продолжительностью 12 ч в сутки. Источником света служила трубчатая люминесцентная лампа, прикрепленная к крышке бокса. Под лампой располагали несколько листов белой фильтровальной бумаги для рассеивания света лампы и снижения освещенности в боксе. Измерение освещенности внутри каждого контейнера проводили с помощью небольшого фотодиода (размером 2 × 2 см), соединенного с микроамперметром. Помещая фотодиод в центр дна контейнера чувствительной поверхностью вверх, определяли освещенность, представляющую совокупность падающего света и света, отраженного от стенок контейнера. Располагая фотодиод чувствительной поверхностью вниз на высоте 4,5 см от дна, определяли совокупность света, отраженного от дна и стенок. В каждом контейнере содержали по 6 животных. В качестве корма использовали молочную смесь “Малютка” (фирма “Нутриция”) с добавлением пивных дрожжей (фирма “ЭККО ПЛЮС”). Стадии развития личинок определяли по таблицам нормального развития Ньюкупа и Фабера [4]. С помощью цифрового фотоаппарата Canon Powershot A540, смонтированного на окуляр стереомикроскопа МБС-10,

осветителя НГУЗ (Лабкомплекс) мощностью 150 Вт, периодически проводили фотографирование общего вида животных и бокового участка туловища. Фотографии общего вида использовали для определения стадий развития, а фотографии бокового участка туловища — для подсчета числа дермальных меланофоров и состояния пигмента в этих клетках (степень дисперсии или агрегации) по 5-балльной шкале меланофорного индекса (МИ) [5]. Были проведены две серии опытов.

Результаты и обсуждение

Для оценки физиологической адаптации личинок *Xenopus laevis* к различным сочетаниям фонов дна и стенок были использованы животные 50-й стадии. Было известно, что для проявления фоновых реакций требуется небольшая освещенность. Так, для личинок *Rana temporaria* величина освещенности для оптимального проявления физиологических фоновых реакций составляет 20–80 лк [6]. Соответствующих данных для личинок *X. laevis* мы не нашли. Сообщалось лишь, что для их развития не нужно много света и они вполне удовлетворительно развиваются в полной темноте [7]. Поэтому мы провели работу по поиску величины освещенности, необходимой для хорошего проявления физиологических фоновых реакций у личинок *X. laevis*. Мы подобрали освещенность, при которой пигмент в меланофорах личинок, содержащихся 1–2 ч в контейнере с белыми стенками и дном, был почти полностью агрегирован (МИ = 1–2), в контейнере с черными стенками и дном сильно диспергирован (МИ = 4–5), а в остальных контейнерах пигментные клетки имели промежуточную степень дисперсии. (Как показали последующие опыты, личинки других стадий демонстрировали аналогичную картину физиологической фоновой адаптации.) Эти данные четко показали, что в наших условиях степень дисперсии пигмента в меланофорах сильно зависела от фона стенок. В связи с этим было интересно определить, как отличается освещенность внутри использованных нами контейнеров (в пустом боксе освещенность была примерно 100 лк).

На рисунке (рис. 1) приведены величины освещенностей на дне контейнеров с различными сочетаниями фонов стенок и дна, которые являются суммой падающего и отраженного внутри контейнеров света. Как видно, эти величины лежат в интервале 40–70 лк, который практически совпадает с соответствующим интервалом для личинок *R. temporaria*. Видно также, что для использованных нами нешироких контейнеров эта освещенность в большей степени определяется фоном их стенок, нежели фоном дна. Аналогичный вывод дали измерения интенсивности рассеянного света на высоте 4,5 см от дна контейнеров (рис. 2), лишь различия между соответствующими вариантами были более выражены.

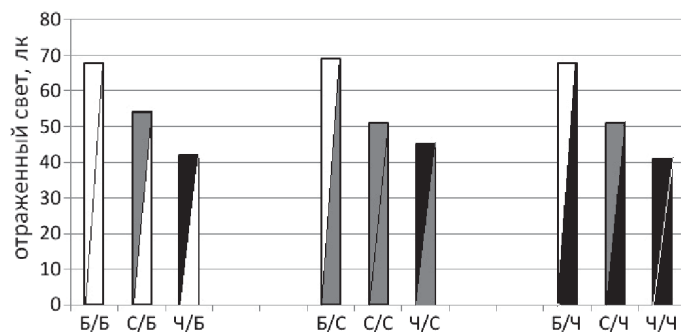


Рис. 1. Освещенность в центре дна контейнеров с различной окраской дна и стенок, создаваемая падающим и отраженным от стенок светом. Б, С, Ч — белая, серая и черная окраска соответственно. В числителе — фон стенок, в знаменателе — фон дна

Как же объяснить полученные нами результаты по физиологической адаптации личинок к разным сочетаниям фона дна и стенок? В частности, отсутствие полной агрегации пигмента в меланофорах животных, помещенных в контейнеры с белым дном и серыми или черными стенками, или отсутствие полной дисперсии пигмента в меланофорах животных, помещенных в контейнеры с черным дном и серыми или белыми стенками. Как известно, само существование фоновых реакций обеспечивается благодаря наличию в сетчатке сформированного глаза двух фоторецепторных зон — центральной, воспринимающей падающий свет, и краевой, улавливающей отраженный свет [9, 10]. Величина же фоновых реакций зависит от соотношения двух гормонов: мелатонина, который стимулирует агрегацию пигмента в пигментных клетках, и меланоцитстимулирующего гормона (МСГ), способствующего дисперсии их пигмента [12]. При этом полагают, что концентрация МСГ в крови постоянная или меняется незначительно, а различное состояние пигмента в меланофорах обеспечивается разным количеством мелатонина. При адаптации личинок к белому фону отраженный рассеянный свет попадает на краевую зону сетчатки, что приводит к выделению глазом такого количества мелатонина, которое перекрывает действие МСГ и приводит к полной агрегации пигмента. На черном фоне отраженный свет отсутст-

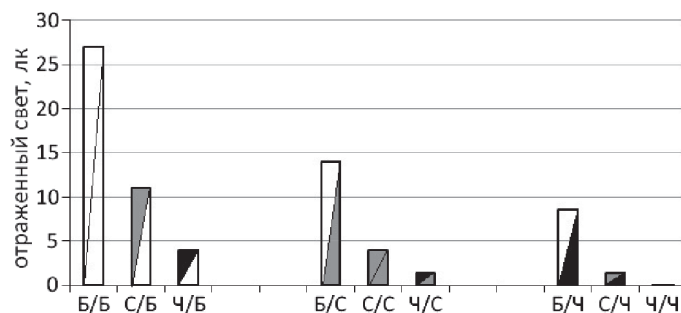


Рис. 2. Освещенность внутри контейнеров с различной окраской дна и стенок, создаваемая светом, отраженным от дна и стенок контейнеров на высоте 4,5 см от их дна. Б, С, Ч — белая, серая и черная окраска дна и стенок соответственно. В числителе — фон стенок, в знаменателе — фон дна

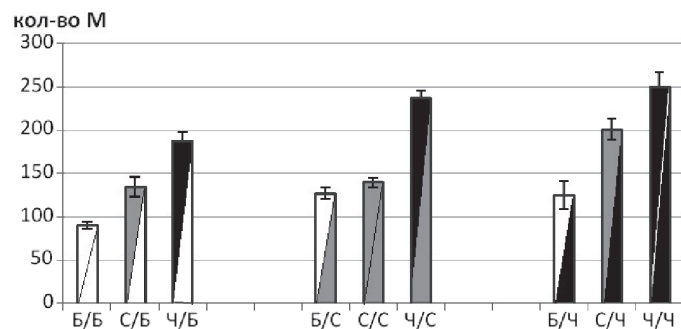


Рис. 3. Численность меланофоров (М) у личинок *X. laevis* 55-й стадии, содержащихся в контейнерах с разными сочетаниями фона стенок и дна. Б, С, Ч — соответственно белый, серый, черный фон стенок или дна. В числителе — фон стенок, в знаменателе — фон дна

вует, поэтому в организме выделяется меньше мелатонина, но больше МСГ, что в итоге способствует полной дисперсии пигмента. При адаптации к серому фону отраженный свет имеется, но его интенсивность меньше, чем на белом фоне, поэтому мелатонина в организме выделяется меньше по сравнению с белым фоном, и в результате пигмент занимает промежуточное положение между полной агрегацией и полной дисперсией.

Для оценки морфологической адаптации личинок их два месяца содержали в контейнерах с подобранной ранее освещенностью и с разными сочетаниями фона стенок и дна контейнеров. После чего было проведено прижизненное фотографирование личинок, достигших к этому времени 55-й стадии развития. Используя микрофотографии, подсчитали количество меланофоров на боковой поверхности туловища личинок. Полученные данные приведены на рис. 3.

Наименьшее количество меланофоров было найдено у личинок, содержащихся в контейнерах с белыми стенками и белым дном, а наибольшее —

у личинок, содержащихся в контейнерах с черными стенками и черным дном (рис. 3). У животных, выросших в контейнерах с одинаковым цветом дна и различной окраской стенок, количество меланофоров было тем выше, чем темнее был цвет стенок, причем при сравнении влияния белых и черных стенок это увеличение было по крайней мере двукратным. А у животных, выросших в контейнерах с одинаковой окраской стенок и различной окраской дна, увеличение количества меланофоров при потемнении окраски дна не превышало 50% и было не столь отчетливым. Следует добавить, что различия в количестве меланофоров у животных мы отмечали уже на 48-й стадии развития личинок, но эти различия стали более достоверными на 55-й стадии [8].

Выявленное нами различие в количестве меланофоров у личинок, которых содержали длительное время в контейнерах с разными сочетаниями фонов дна и стенок, хорошо объясняется зависимостью морфологических реакций от физиологических реакций, т.е. от состояния пигмента в пигментных клетках. В свое время Бабак [11] отметил закономерность, согласно которой дисперсия пигмента способствует, а агрегация препятствует морфологической реакции. В настоящее время известно, что такая закономерность является результатом различий в относительной концентрации мелатонина и МСГ [12]. Чем выше диспергированность пигмента (выше меланофорный индекс), тем выше относительная концентрация МСГ и тем больше количество меланофоров при длительной адаптации, так как этот гормон стимулирует деление и дифференцировку пигментных клеток [13].

Таким образом, полученные нами данные показывают, что окраска стенок контейнеров может оказывать значительное влияние как на физиологическую, так и на морфологическую фоновую адаптацию личинок *X. laevis*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bagnara J.T., Matsumoto J. Comparative anatomy and physiology of pigment cells in nonmammalian tissues // The pigmentary system: physiology and pathophysiology / Ed. J.J. Nordlund. L.: Blackwell Publishing Ltd., 2006. P. 11—59.
2. Secerov S. Farbweckselversuche an der Bardgrundel (*Nemachilksborbatus*) // Roux' Arch. Entwicklungsmech. Organismen. 1909. Bd. 28. N 5. S. 629—660.
3. Захарова Л.А. Влияние световых условий на развитие меланиновой пигментации в онтогенезе амфибий: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1983. 22 с.
4. Nieuwkoop P.D., Faber J. Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). Amsterdam: North-Holland Publ. Co., 1956. 243 p.
5. Hogben L., Slome D. The pigmentary effector system // Proc. Roy. Soc. B. 1931. Vol. 108. N 1. P. 10—53.
6. Голиченкова И.Ф., Голиченков В.А., Попов Д.В. Вторичные реакции меланофоров в личиночном развитии лягушки *Rana temporaria* // Докл. АН СССР. 1972. Т. 203. № 2. С. 463—466.
7. Детлаф Т.А., Руднева Т.Б. Шпорцевая лягушка *Xenopus laevis* Daudin // Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. С. 392—441.
8. Джанова В.В. Влияние различной окраски стенок и дна сосуда на количество меланофоров у *Xenopus laevis* // XVIII Междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2011". М., 2011. С. 8—9.
9. Хогбен Л. Хроматическая функция у низших позвоночных // Усп. совр. биол. 1936. Т. 5. № 2. С. 224—260.
10. Hogben L., Slome D. The pigmentary effector system. The dual receptive mechanism of the amphibian black-ground response // Proc. Roy. Soc. B. 1936. Vol. 120. N 1. P. 158—173.
11. Babak E. Zur chromatishen Hautfunktion der Amphibien // Arch. Ges. Physiol. 1910. Bd. 131. N 1. S. 87—118.

12. Голиченков В.А. Биология меланофоров амфибий // Основы современной биологии. 1979. Т. 87. Вып. 3. С. 442—458.

13. Smith-Gill S.J. Morphogenesis of the pigmentary pattern in wild-type and mutant *Rana pipiens* // Developmental biology. 1974. N 37. P. 153—170.

Поступила в редакцию
26.07.11

INFLUENCE OF SIDEGROUND ON PIGMENTATION OF *XENOPUS LAEVIS* LARVAE

V.V. Dzhapova, S.M. Starodubov, V.A. Golichenkov

Xenopus laevis larvae after hatching (stage 39) contained in the container volume of 0,95 l (diameter of 9,5 cm and 10 cm in height) with all combinations of white, gray and black bottom and sides (side boxes). Containers were in the closed box with artificial illumination by white light 12 hours a day. The number of pigment cells was determined in the lateral part of the body of the larvae at stage 55 (after 2 months). It is established that not only the background of the bottom, but also sideground can have a significant impact on the number of dermal melanophores.

Key words: *Xenopus laevis*, sideground, dermal melanophores.

Сведения об авторах

Джапова Вита Валентиновна — аспирантка кафедры эмбриологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-39-00, e-mail: dzhapova@list.ru

Стародубов Сергей Михайлович — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры эмбриологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-39-00; e-mail: smstarodubov@gmail.com

Голиченков Владимир Александрович — докт. биол. наук, проф., зав. кафедрой эмбриологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-62; e-mail: burlakovao@mail.ru