

УДК 597.0/5-15

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НЕСКОЛЬКИХ ВИДОВ МОРСКИХ РЫБ

Е. М. Максимова, О. Ю. Орлов, А. М. Димментман

(Институт проблем передач информации АН СССР и Биолого-почвенный факультет Московского государственного университета)

При микроэлектродном исследовании зрительных покрывок среднего мозга рыб обнаружены окончания зрительных волокон четырех типов. Окончания разных типов расположены на разной глубине от поверхности. Ближе к поверхности расположены окончания волокон, чувствительных к направлению движения стимула. Глубже лежат элементы, дающие максимальный ответ на движение малого темного пятна в любом направлении. Далее следуют элементы оппонентного типа, различающиеся цветом. Глубже всего регистрируются ответы элементов со спонтанной активностью (длящимся разрядом импульсов). Рецептивные поля элементов составляют 2—10 угл. град. Физиологических различий, связанных с экологией или систематическим положением изученных видов рыб, не обнаружено.

Изучение механизмов зрения рыб представляет большой интерес как для ихтиологов, так и для физиологов. Зрение служит важным средством ориентации рыб, и вместе с тем зрительная система представителей этой группы организована проще, чем у иных позвоночных.

Одной из интереснейших глав современной физиологии зрения является выяснение вопроса о том, в каком виде зрительная информация передается из глаза в мозг. Начало этому направлению было положено работой Леттвина с соавторами (Lettvin et al., 1959), которые показали, что по зрительному нерву лягушки передаются сведения не просто о распределении света по сетчатке, а о наличии в поле зрения некоторых совершенно определенных объектов, таких как контрастная граница, движущиеся мелкие пятна и т. п. Выделение этих элементов зрительных образов осуществляется специализированными ганглиозными клетками сетчатки, так называемыми *детекторами*. Например, детектор пятна реагирует лишь на маленькое темное пятно, движущееся в поле зрения клетки (его рецептивном поле), как бы не замечая включения и выключения света или движения широкой контрастной границы. Изучение функциональных свойств детекторов позволяет понять, на какие элементы разлагается изображение, иными словами, на каком «языке» передается зрительная информация из глаза в мозг.

В последнее время интерес к этой проблеме возрос в связи с обсуждением вопроса о роли детекторов сетчатки в организации поведения животных, в особенности низших позвоночных. На ряде объектов удается проследить глубокие аналогии между свойствами детекторов сетчатки и некоторыми стереотипными формами зрительно управляемого поведения, такими как хватание добычи лягушками, оптомоторные реакции многих животных и др. В настоящее время представляется несомненным, что детекторы сетчатки служат функциональными фильтрами, которые ответственны за селективное восприятие тех биологически значимых объектов, которые в эволюционной литературе принято называть «ключевыми стимулами» (Тинберген, 1969).

Большой общебиологический интерес представляет вопрос о степени сходства и различия детекторных систем у представителей разных систематических групп и у животных с разной экологией. Авторов настоящего исследования специально интересовал также вопрос о том, в какой мере разные детекторы способны различать цвета, т. е. какую роль играет фактор цвета в работе детекторов разных типов. Наконец, огромное значение для понимания организации зрительно управляемого поведения представляет вопрос о том, куда (в какие зрительные центры) поступает информация от различных детекторов сетчатки.

В настоящей работе излагаются результаты микроэлектродного исследования главного зрительного центра рыб — крыши среднего мозга (зрительных долей). В качестве объектов были взяты кефаль *Mugil auratus* Risso (30—35 см длины), два вида зеленушек (*Crenilabrus* sp.) (12—18 см длины), барабуля (*Mullus barbatus ponticus* Essipov (15 см длины) и смарида *Spicara smaris* (L) (12—15 см длины). Эти виды всегда или в определенных периоды своей жизни обитают в прибрежной зоне, на небольшой глубине, т. е. в условиях хорошей освещенности, в среде, богатой зрительно воспринимаемыми объектами. Несомненно, зрение играет существенную роль в жизни этих рыб. Даже поверхностного наблюдения за зеленушкой достаточно, чтобы заметить необычайную подвижность ее глаз, что связано обычно с весьма совершенным зрением. Пестрая окраска зеленушки, яркий брачный наряд барабули и смариды дают основания предполагать, что эти виды способны различать цвета. Цветное зрение экспериментально обнаружено у многих видов мелководных костистых рыб (Протасов, 1968). Ряд видов, в том числе кефаль *M. brasiliensis*, служит обычным объектом для электрофизиологических исследований механизмов цветного зрения (MacNichol et al., 1958; Svaetichin, Negishi, Fatehchand, 1965).

Материал и методика

Рыбу, обездвиженную *d*-тубокурарином из расчета 0,04 мг на 100 г веса, закрепляли в станок с постоянным принудительным протоком воды через жабры. Череп над местом расположения среднего мозга вскрывали и обнажали мозг. Оперированную рыбу закрепляли на таком уровне, чтобы глаза были целиком погружены в воду (рис. 1). Стимулы предъявляли сквозь прозрачную стенку аквариума. Таким образом исключалась необходимость коррекции близорукости глаза рыб, которая неизбежна в воздушной среде; вместе с тем это проще изготовления специальных водяных очков (Зенкин, Пигарев, 1969).

подавляющее большинство волокон зрительного нерва у рыб оканчивается в крыше среднего мозга, причем их терминалы (окончания) образуют строго упорядоченную проекцию сетчатки (Schwassman, Kruger, 1965). Проекция эта многослойная: волокна с разными функциональными свойствами оканчиваются на разной глубине от поверхности зрительных долей (Зенкин, Пигарев, 1969; Cronly-Dillon, 1964 Gaze, Jacobson, 1963).

Для регистрации импульсной активности были использованы платинированные микроэлектроды, введенные в практику Джестелендом (Gesteland et al., 1959). С их помощью можно наблюдать суммарную импульсную активность многих элементов, активность одиночных терминалей (при удачном положении микроэлектрода амплитуда одиночных импульсов в ответах терминалей достигает 500—700 мкв), реже — активность нейронов зрительных долей. Упорядоченная, слоистая структура крыши среднего мозга значительно облегчает детальное исследование того или иного типа функциональных элементов, т. е. определенных типов ганглиозных клеток.

Абсолютная глубина погружения микроэлектрода в опытах не измерялась, а оценивалось лишь относительное расположение отдельных типов элементов по глубине по ходу погружения микроэлектрода.

Импульсы наблюдали на экране осциллографа С1-19Б, снабженного дополнительным импульсным предусилителем конструкции К. В. Голубцова (Голубцов, Судницын, 1971). Импульсы прослушивали через громкоговоритель и записывали на магнитофонную ленту.

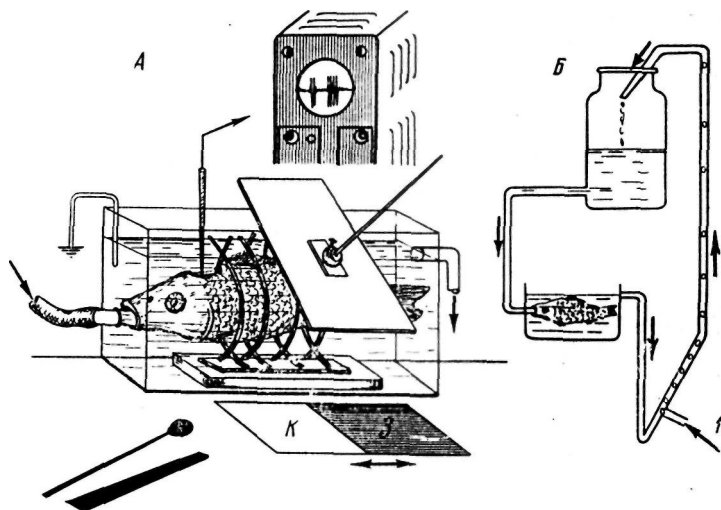


Рис. 1. Схема обстановки эксперимента. А — обездвиженная рыба закреплена в станке с постоянным принудительным протоком воды через жабры. Рыба целиком погружена в воду. Зрительные стимулы предъявляются рыбе через прозрачную стенку аквариума непосредственно или с помощью зеркала. Стимулами служат передвигаемые от руки объекты, различных размеров, формы и цвета. Микроэлектрод с помощью микроманипулятора (не изображен) вводится в зрительные доли среднего мозга. Импульсная активность регистрируется на экране осциллографа; Б — схема системы замкнутого протока. Применение такого устройства обеспечивает аэрацию и удобно в отсутствии постоянного источника воды; I — поступление воздуха от микрокомпрессора

После обнаружения одиночного элемента в его поле зрения с помощью зеркала проектировали часть горизонтальной плоскости, на которой было удобно предъявлять стимулы и с помощью стандартной методики зарисовывать рецептивные поля клеток. Стимулами служили черные или белые круглые пятна разных размеров и полосы разной ширины, перемещаемые от руки по белому или черному фону. С помощью этих же стимулов измеряли размеры и форму рецептивных полей одиночных элементов.

В качестве цветных стимулов использовали выполненные из цветной гумированной бумаги красные пятна на зеленом фоне, зеленые пятна на красном фоне и границу раздела красного и зеленого участков. Поле, на котором предъявляли цветные стимулы, освещалось рассеянным дневным светом; кроме того, использовалась дополнительная цветная подсветка разного спектрального состава и переменной интенсивности. Эта подсветка позволяет изменять относительную яркость цветного пятна и цветного фона. Например, красное пятно на зеленом фоне при красной подсветке можно сделать много ярче фона, а при зеленой подсветке — много темнее (за счет повышения яркости фона). Благодаря этому мы имели возмож-

ность проверить, нельзя ли путем подбора яркости красного и зеленого сделать их неотличимыми для того или иного типа детекторов. Таким образом, мы могли узнать, существен ли фактор цвета для работы разных детекторов¹.

Результаты исследования

Наиболее подробно нами исследовано два вида: кефаль и зеленушка. В опытах на барабуле и смариде выявляется в целом та же картина, что и на кефали и зеленушке. Поскольку свойства отдельных типов элементов, их взаимное расположение в крыше среднего мозга очень сходны у разных видов рыб, описание результатов дается не по отдельным видам, а обобщенно.

У рыб ганглиозные клетки, посылающие свои аксоны (волокна зрительного нерва) в крышу среднего мозга, по своим свойствам делятся на 4 класса. Как уже говорилось, окончания волокон разных типов расположены в крыше среднего мозга на различной глубине. Поэтому их реакции по мере погружения микроэлектрода отводятся послойно в следующем порядке: 1) элементы, чувствительные к направлению движения; 2) детекторы движущегося контраста; 3) элементы цветного типа и 4) спонтанно-активные элементы, т. е. элементы, дающие непрерывный, длящийся импульсный разряд при неизменных условиях освещения. Четкое разделение элементов по слоям позволяет судить об их функциональных свойствах не только по одиночным ответам, но и по суммарному ответу слоя. Ниже следует их подробное описание.

1. Элементы, чувствительные к направлению движения. При погружении микроэлектрода в крышу среднего мозга в первую очередь регистрируются ответы элементов этого типа. Их реакция максимальна при движении стимула в определенном направлении и отсутствует при движении его в противоположном направлении. Судя по суммарной активности слоя, для большинства элементов этого типа предпочтительным (дающим максимальный ответ) является движение от хвоста к голове. Такой же характер избирательности был отмечен у щуки (Зенкин, Пигарев, 1969). Реже встречаются элементы с любыми другими предпочтительными направлениями движения.

В этом же слое регистрируются элементы, реагирующие на смещение горизонтальной границы или пятна в направлении снизу вверх и обратно и не реагирующие на перемещение вертикальной полосы; границы и пятна в направлении от хвоста к голове или от головы к хвосту. Такие элементы были описаны ранее под названием «детекторы горизонтального края» у голубя (Maturana, 1962) и позднее у щуки и золотой рыбки (Зенкин, Пигарев, 1969). Большинство элементов, чувствительных к направлению движения, реагирует на соответствующее перемещение в их рецептивном поле стимулов любых угловых размеров (маленькое пятно, полоса, граница). Однако часть элементов отвечает лишь на стимулы определенных угловых размеров: одни только на пятна, имеющие угловые размеры меньше центра рецептивного поля, другие только на полосу и границу, т. е. на стимулы, превосходящие размеры рецептивных полей.

Размеры рецептивных полей этих элементов варьируют от 2 до 10 угл. град. Не было отмечено никакой корреляции между размерами ре-

¹ Некоторые рыбы находились в опыте подряд двое — трое суток. Попадание морской воды на вскрытый мозг во время опытов и в перерыве между ними не ухудшало отводимых реакций. Позже, в опытах на карпе, мы стали заполнять систему принудительного протока физиологическим раствором, а не пресной водой, что избавило нас от трудностей, возникающих из необходимости держать глаза рыбы под водой, а мозг — над ней.

цептивных полей и преимущественной чувствительностью к большим или малым стимулам. Включение и выключение света только в центре (светлое пятно) или только на периферии (светлое кольцо) вызывает реакцию on-off-типа². При тестировании элементов этого класса цветными стимулами оказалось, что цветов они не различают: они совершенно не реагируют на движение в их рецептивном поле красно-зеленой границы или контрастного цветного пятна на цветном фоне. Только значительное изменение яркости цветного пятна по отношению к фону, создаваемое с помощью цветной подсветки, делает этот стимул видимым. Для глаза наблюдателя картина при этом мало отличается от движения черно-белых стимулов при цветном освещении. Следует отметить, что описанное плохое цветоразличение сочетается с высокой контрастной чувствительностью при тестировании черно-белыми стимулами. При хорошем одиночном отведении исследовано 19 элементов этого типа (на всех видах).

2. Детекторы движущегося контраста. При дальнейшем погружении микроэлектрода активность элементов, чувствительных к направлению движения, исчезает, и появляется активность элементов, реагирующих на движение объектов любых размеров, перемещающихся в любом направлении через их рецептивное поле (рис. 2). Особенно бурную реакцию этих детекторов вызывает введение в их рецептивное поле небольшого пятна, диаметр которого в 2—3 раза меньше рецептивного поля этого элемента. После остановки пятна в поле импульсация, как правило, не прекращается и с меньшей частотой следует в течение нескольких десятков секунд (рис. 2, А б). Размеры рецептивных полей элементов этого типа сходны с таковыми элементов предыдущего типа и составляют 2—6 угл. град. На диффузное освещение поля они реагируют как on-off-элементы. Исследование структуры их рецептивных полей показало, что центр и периферия поля находятся в антагонистических отношениях: например, элемент отвечает залпом на включение света в центре (on-центр) и выключение на периферии (off-периферия).

При тестировании черно-белыми стимулами элементы этого типа обнаруживают высокую контрастную чувствительность. Однако на цветные стимулы (красное пятно на зеленом фоне и наоборот) они не отвечают. Таким образом, детекторы контраста тоже не имеют цветного зрения. Детально исследовано 18 элементов этого типа.

3. Элементы цветового типа. Из 56 детально изученных элементов ретиальной природы лишь 7 обнаруживали явную зависимость ответа от цвета освещения. Такие элементы были найдены только у кефали и зеленушки. Они располагались под слоем детекторов контраста. При затемненной периферии поля освещение центра зеленым или красным светом вызывает разные реакции: например, on — ответ на красный, on-off — на синий (рис. 3). Освещение одним и тем же светом центра и периферии дает также противоположные реакции: например, синее освещение дает off-реакцию в центре и on-реакцию на периферии. Цветовые элементы безразличны к размерам и направлению движения стимулов и не обладают спонтанной активностью, в отличие от элементов следующего слоя.

4. Спонтанно-активные элементы. У кефали этот слой отделен от предыдущего небольшим промежутком «молчания». При прослушивании через громкоговоритель импульсация спонтанно-активных элементов заметно отличается от импульсации вышеописанных детекторов:

² Мы используем принятую в физиологической литературе терминологию: on-элементы — клетки, реагирующие на включение света; off-элементы, реагирующие на выключение; on-off-элементы, реагирующие как на включение, так и на выключение света (от английского switch on — включать и switch off — выключать свет).

импульсы спонтанно-активных элементов имеют меньшую длительность. Частота импульсации таких элементов меняется с изменением интенсивности диффузного освещения. Часть элементов этого типа активна в темноте и тормозится светом (рис. 4), другие активны на свету и тормозятся в темноте. Эти элементы практически не реагируют на движение маленьких контрастных пятен, вполне пригодных для того, чтобы вызвать реак-

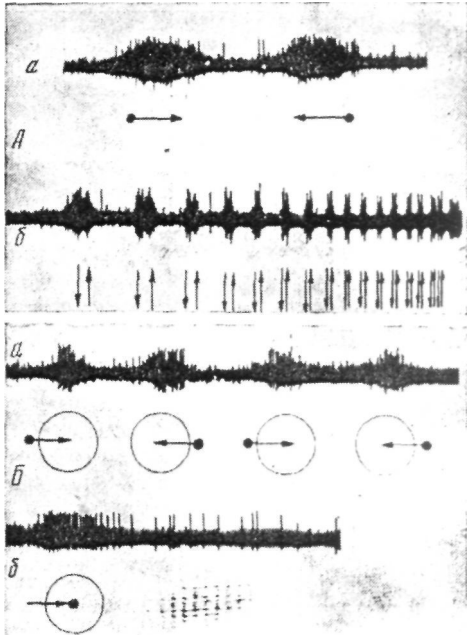


Рис. 2

Рис. 2. Реакция детекторов контраста на движение маленького темного пятна в разных направлениях (*Aa*; *Ba*; *б*) и с разной скоростью (*Bб*). Импульсация таких элементов продолжается еще в течение нескольких секунд с меньшей частотой и после остановки пятна в рецептивном поле. Направление движения стимула в рецептивном поле (очерчено окружностью) обозначено стрелками

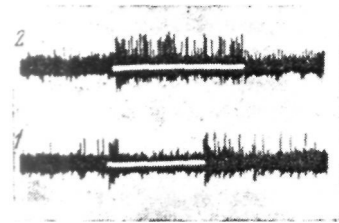


Рис. 3

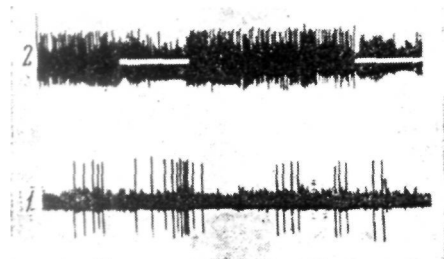


Рис. 4

Рис. 3. Реакция элемента, различающего цвета, на красный (1) и синий (2) свет. Время действия стимулов отмечено белой чертой внутри осциллограмм

Рис. 4. Элементы со спонтанной активностью. 1 — импульсная активность урезается на свету и учащается в темноте; 2 — групповая импульсная спонтанная активность

цию детекторов контраста. Поэтому границы их рецептивных полей нельзя определить с помощью маленьких движущихся объектов. Наибольшая активность элементов этого типа наблюдалась в том случае; когда только центр поля затемнен (для элементов активных в темноте) или освещен (для элементов активных на свету). Центр и периферия спонтанно-активных элементов тоже находятся в антагонистических отношениях, как и у детекторов движущегося контраста. Подбирая размеры и положение пятна, можно добиться максимальной частоты импульсации; найденный оптимальный размер пятна и принимали за величину центра рецептивного поля, которая обычно была равна 10—30 угл. град. Лишь один спонтанно-активный элемент из 11 исследованных по-разному реагировал на освещение поля стимулами разных спектральных составов: импульсация учащалась при освещении синим и тормозилась при освещении красным светом.

Особый вид спонтанных элементов был обнаружен у зеленушки. Импульсы в разряде этих элементов распределены неравномерно. Они сгруппированы в пачки по 4—7 шт. (рис. 4). Пачки следуют с частотой примерно 1 раз в секунду. Обычно включение света тормозит спонтанную активность, а при выключении наблюдается мощный разряд, где частота импульсов не меньше, чем их плотность в пачке. Через некоторое время, примерно

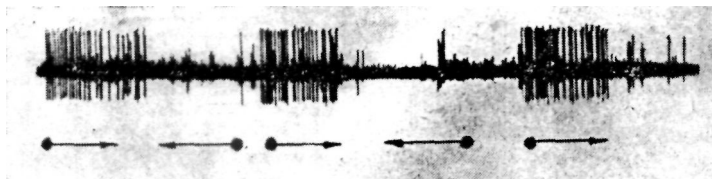


Рис. 5. Реакция нейрона зрительных долей, чувствительного к направлению движения. Стрелками обозначено направление движения пятна. Видно, что клетка реагирует лишь на движение пятна справа налево (что соответствует движению пятна от хвоста к голове) и не реагирует при движении его в обратном направлении

через минуту, восстанавливается групповой характер разряда. Элементы с групповой спонтанной активностью несколько раз были отмечены и у кефали.

5. Нейроны крыши среднего мозга. Как уже говорилось, использованная методика микроэлектродного отведения позволяет наряду с реакциями, отводимыми от окончаний аксонов ганглиозных клеток сетчатки, регистрировать также активность нейронов крыши среднего мозга. В наших опытах регулярно регистрировались два типа ответов, которые по их свойствам следует приписать нейронам зрительных долей.

Вслед за слоем спонтанно-активных элементов продвижение микроэлектрода в глубь крыши среднего мозга на 20—50 мк не дает никакой активности (второй «молчащий» слой). Только перед проникновением в мозговой желудочек снова начинают регистрироваться импульсы. Это, как правило, спонтанная импульсация небольшой амплитуды, дающая уменьшение частоты импульсов в темноте и увеличение ее на свету. Рецептивные поля этих элементов достигали 60°.

В верхней части слоя спонтанно-активных элементов кефали (описанных выше) удастся зарегистрировать еще один тип элементов, вероятно тоже относящихся к числу нейронов зрительных долей. Их реакция характеризуется очень большой амплитудой импульсов (больше милливольт). Эти элементы обнаруживают чувствительность к направлению движения, а поле зрения одиночного элемента охватывает все поле зрения соответствующего глаза (контралатерального по отношению к зрительной доле) рыбы (рис. 5).

Обсуждение

На основании наших наблюдений и данных других авторов мы приходим к выводу, что рыбы, различающиеся как по систематическому положению, так и экологически, обладают весьма сходно устроенной ретино-текстальной системой детекторов. Представляется интересным отметить, что детекторная система рыб обнаруживает явные отличия от хорошо изученной текстальной системы детекторов лягушки.

Опыты с цветными стимулами показывают, что у рыб элементы, чувствительные к напряжению движения, и детекторы движущегося конт-

раста не различают цветов. Для передачи сигнала о цвете, возможно, служат описанные выше элементы цветового типа.

Клетки с цветовыми свойствами экспериментаторы неоднократно наблюдали при исследовании разных видов рыб: золотой рыбки (Wagner et al., 1960; Daw, 1967), камбалы (Hammond, 1968), щуки (Максимова, 1969). Интересно отметить, что реакции цветового типа без труда обнаруживаются в сетчатке рыб, но редки в зрительных долях. Так, по нашим данным, они ни разу не были найдены в зрительных долях щуки, несмотря на специально направленные поиски. В сетчатке карпа Доу (Daw, 1968) описывает несколько типов цветовых элементов; мы же в зрительных долях разных видов (в том числе карпа) находим только один тип.

В связи с этим уместно напомнить, что в зрительной системе лягушки волокна оп-типа, передающие сигнал о цвете, идут не в зрительные доли среднего мозга, а в ядро Беллончи, расположенное в промежуточном мозгу (Muntz, 1962). Это наводит на предположение, что у рыб, как и у амфибий, аксоны ганглиозных клеток цветового типа направляются не в крышу среднего мозга, а в иной зрительный центр, например в коленчатое тело. С аналогичной специализацией зрительных проекций мы встречаемся у высших позвоночных: у приматов и сусликов, обладающих цветным зрением, специализированные кодирующие цвет элементы богато представлены в коленчатом теле промежуточного мозга и редки или отсутствуют в зрительных бугорках среднего мозга, гомологичных зрительным долям рыб и амфибий (Майкл, 1970).

Поступила .

19.II.1971 г.

ЛИТЕРАТУРА

- Голубцов К. В., Судницын В. В. 1971. Повышение чувствительности осциллографа С1-19Б. Научн. докл. Высш. школы, биол науки.
- Зенкин Г. М., Пигарев И. Н. 1969. Детекторные свойства ганглиозных клеток сетчатки щуки. Биофизика, т. 14, вып. 4.
- Максимова Е. М. 1969. Влияние внутриклеточной поляризации горизонтальных клеток на активность ганглиозных клеток сетчатки щуки. Биофизика, т. 14, вып. 3.
- Майкл Ч. 1970. Переработка зрительной информации в сетчатке. В сб. «Молекулы и клетки», вып. 5. «Мир», М.
- Протасов В. Р. 1968. Зрение и ближняя ориентация рыб. «Наука», М.
- Тинберген 1969. Поведение животных. «Мир», М.
- Cronly-Dillon J. R. 1964. Units sensitive to direction of movement in goldfish optic tectum. Nature, № 203.
- Daw N. W. 1967. Goldfish retina: organization for simultaneous colour contrast. Science, v. 158, № 3803; 1968. Colour-coded ganglion cells in the goldfish retina: extension of their receptive fields by means of new stimuli. J. Physiol., v. 197.
- Gaze R. M., Jacobson M. 1963. Types of single-unit visual responses from different depths in the optic tectum of the goldfish. J. Physiol., v. 169.
- Gesteland R. C., Howland B., Lettvin J. Y., Pitts W. H. 1959. Comments on microelectrodes. Proc. IRE 11, 1856, 109.
- Hammond P. 1968. Spectral properties of dark-adapted retinal ganglion cells in the plaice (*Pleuronectes platessa* L.) J. Physiol., v. 195.
- Lettvin J. Y., Maturana H. R., MacCulloch W. S., Pitts W. H. 1959. What the frog's eye tells the frog's brain? Proc. IRE, v. 47.
- MacNichol E. F., Jr., MacPherson L., Svaetichin G. 1958 Studies on spectral response curves from the fish retina. NPL Symposium № 8. Visual Problems of Colour, v. 2.
- Maturana H. R. 1962. Functional organization of the pigeon retina. Inform. Proc. Nervous System, Leiden.
- Muntz W. R. A. 1962. Microelectrode recordings from the diencephalon of the frog (*Rana pipiens*) and a blue-sensitive system. J. Neurophysiol., v. 25.
- Schwassmann H. O., Kruger L. 1965. Fish tectal projection. J. Compar. Neurol., v. 124, № 1.
- Svaetichin G., Negishi K., Fatehchand R. 1965. Cellular mechanisms of a Young-Hering visual system Colour vision, Ciba Found sump, London.
- Wagner H. G., MacNichol E. F., Jr., Walbarsht M. L. 1960. The response properties of the single ganglion cells in the goldfish retina. J. Gen. Physiol., v. 43, pt 2.