

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Гончаровой Анны Алексеевны «Изменения поведения в результате социальных взаимодействий между особями дрозофилы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «физиология».

Диссертационная работа А.А.Гончаровой посвящена исследованию механизмов, лежащих в основе изменений поведения особей *Drosophila melanogaster*, происходящих в результате ее социальных взаимодействий, что крайне важно для познания физиологических аспектов поведения насекомых. Кроме того, данное исследование может быть полезно для поиска гомологичности ряда факторов у насекомых и млекопитающих. В ходе исследования было показано, что двигательная активность и интенсивность ухаживания у самцов *Drosophila melanogaster* зависит от предварительного опыта существования в однополой группе, состоящей из 20 особей. Из работы, также следует, что изменение поведения коррелирует, даже скорее не с количеством особей в группе, а с соотношением количества особей на площадь территории. Было обнаружено, что при расширении территории обнаруженные эффекты исчезали. Также, с использованием мутантных линий было показано, что обнаруженные изменения двигательной активности после содержания в однополой группе и ограниченном пространстве не зависят от зрительных способностей самца *Drosophila melanogaster*, однако, зависят от обоняния самца. Кроме того, автором было показано снижение интенсивности ухаживания самцов после вышеописанного содержания, причем данное снижение наблюдалось в течение пяти часов. Было выдвинуто

предположение, что данные изменения в поведении самцов *Drosophila melanogaster* могут быть связаны с гормональным сдвигом, вызванным их агрессивными взаимодействиями в группе, и схоже со страхом у млекопитающих. Обнаруженное увеличение латентного периода до копуляции у самок *Drosophila melanogaster*, ранее содержавшихся в группе, состоящей из 20 особей, также может быть рассмотрено как свидетельство формирования у них состояния, подобного страху. Теоретические изыскания работы подтверждены экспериментальным материалом.

Актуальность темы диссертации

Исследования социальных контактов у любых живых видов крайне важно для расширения нашего понимания жизни живого и построения биоценозов. Кроме того, развитие современных методов и технологий дало новое понимание подобных процессов. Нахождение «мастер»-генов, участвующих в регуляции поведения открыло новую эру в биологии. Теперь появилась возможность определять, какие факторы влияют на ту или иную поведенческую реакцию животного. Сомнительно, что можно найти прямую связь подобных эффектов у насекомых и, например, у человека, но это не умаляет значимости и актуальности подобных исследований. Изучение поведенческих реакций позволяет нам минимально вмешиваться в экосистему и регулировать те нарушения, которые мы невольно вносим в нее.

Социальные контакты играют огромную роль в социуме любой популяции. Четкость сохранения определенных социальных контактов дает возможность популяции выживать и воспроизводиться.

Социальные контакты между организмами обязательно присутствуют в жизни каждого животного. Причем подобные контакты важны как для социальных, так и для несоциальных животных.

Наиболее удобной моделью изучения социального поведения с использованием «включения» и «выключения» генов на данный момент является плодовая мушка *Drosophila melanogaster*, так как разработана легкая методика, получения трансгенных линий. Таким образом, данная работа является, безусловно, актуальным исследованием.

Достоверность и новизна результатов и выводов диссертационной работы

На основании полученных в ходе работы результатов автором сделано 7 выводов, которые базируются на большом экспериментальном материале. Сделанные выводы обоснованы и полностью отражают результаты работы. Достоверность результатов основана на использовании проверенных и воспроизводимых методов физиологии и не вызывают сомнения. Показано, что предшествующее содержание самцов *Drosophila melanogaster* в однополых группах с определенным соотношением плотности группы на площадь территории приводит к снижению их двигательной активности. Показано, что предшествующее содержание самцов *Drosophila melanogaster* в однополых группах (20 особей в группе при определенной площади территории) вызывает снижение интенсивности их ухаживания за самкой, включая производство самцом песни ухаживания. Впервые установлено, что данный эффект обусловлен не просто снижением

половой мотивации самца, а активным избеганием самцом самки, что свидетельствует об усилении стремления избегать других особей («страха») после агрессивных взаимодействий самцов в группе. Показано, что снижение двигательной активности зависит от обоняния. Впервые показано, что снижение двигательной активности самцов дрозофилы после их группового содержания происходит вследствие действия феромонов, продуцируемых другими самцами в условиях группы, в частности цис-вакценил ацетатом.

Все исследования подкреплены большим количеством экспериментального материала.

Ценность полученных в диссертационной работе результатов для науки и практики

Проведённое исследование позволило выявить два процесса, лежащих в основе влияния предшествующего социального опыта на половое и локомоторное поведение *Drosophila melanogaster*, а именно подавляющее двигательную активность самцов действие феромонов, продуцируемых другими самцами, и формирование в условиях группы состояния, подобного страху, заставляющее самца активно избегать объект ухаживания. Полученные данные имеют важное значение с эволюционной точки зрения. Полученные данные могут быть востребованы также при создании новых моделей для изучения изменений, происходящих в результате социальных взаимодействий между животными, и при выборе условий содержания экспериментальных насекомых в различных научных проектах.

Содержание диссертации

Диссертационная работа А.А.Гончаровой написана по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы,

материалов и методов исследования, результатов, обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, включающего 257 наименований. Диссертация имеет законченный характер, изложена на 129 страницах и включает 39 рисунков.

Диссертация посвящена изучению влияния содержания в однополых группах самцов и самок *Drosophila melanogaster* на их двигательную и половую активность.

Литературный обзор посвящен анализу современного состояния науки в области поведенческих процессов у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Автор проанализировал результаты исследований в области социального поведения, агрессивного поведения, полового поведения, а также обучение и память *Drosophila melanogaster*. В отдельную главу выделена тема звукопродукции самцов при ухаживании, так как данный метод используется автором в исследованиях. Литературный обзор написан логически и полно, с использованием последних публикаций в этой области.

В разделе «Материалы и методы» содержится достаточно подробное описание всех использованных экспериментальных подходов. Описываются регистрации локомоторной активности, поведения при ухаживании, звукопродукции и др.

Главы «Результаты исследования» и «Обсуждение» описывают и анализируют исследования автора в области влияния содержания самцов и самок *Drosophila melanogaster* в однополых группах по 20 особей (при определенной площади территории) на их двигательную активность, а также на их поведение при ухаживании.

Автором также проанализировано, каким образом в данных особенностях поведения участвуют зрение, обоняние, кратковременная и среднесрочная память.

Настоящая работа демонстрирует сложность и многообразие процессов, лежащих в основе приобретения социального опыта особями дрозофилы *Drosophila melanogaster*. Автор обнаружил ряд эффектов предшествующего содержания самцов дрозофилы в группе по 20 особей. Автором показано подавление двигательной активности самцов после содержания в группе, которое сохраняется до 5-ти суток после их изоляции. Эта модификация поведения не зависит от обучения, так как эффект выражен у известных мутантов с нарушениями памяти. Автор предположил, что подобный эффект вызван действием феромонов, продуцируемыми другими самцами в группе. На это указывает его отсутствие у самцов мутантных линий *Orco1* и *Orco2*, характеризующихся нарушенным обонянием, а также подавление двигательной активности у содержавшихся индивидуально самцов дикого типа при их тестировании в присутствии гексановой вытяжки из зрелых самцов. Кроме того, автор делает вывод, что основным феромоном, производящим данный эффект, по-видимому, является цис-вакценил ацетат, который синтезируется только у самцов и вызывает модификацию локомоторного поведения самцов.

Также автором было показано, что в результате предварительного содержания самцов в однополой группе (20 особей) у самцов обнаруживается снижение интенсивности ухаживания самца за самкой. При этом автор впервые обнаружил, что оно происходит потому, что самцы активно избегают столкновения с самкой в условиях ограниченного пространства, при этом данный эффект исчезает при

увеличении размера территории. Автор выдвинул предположение, что у самцов при их агрессивных взаимодействиях в группе формируется состояние подобное эмоциональному состоянию страха млекопитающих, которое сохраняется у самцов дрозофилы, как минимум, в течение 5-ти часов после прекращения агрессивных взаимодействий, но не обнаруживается на следующие сутки. При исследовании влияния содержания самок в однополых группах (20 особей) значительных отклонений найдено не было. Было обнаружено, что латентное время копуляции, то есть время, которое самец тратит на ухаживание за самкой до начала копуляции, у таких самок было увеличено по сравнению с самками не подвергавшихся содержанию в однополых группах. Автор предположил, что это результат формирования состояния подобного страху и у самок при их содержании в группе.

Высокой оценкой заслуживает тот факт, что в работе были тщательно продуманы различные контрольные эксперименты.

Научные положения диссертации достаточно обоснованы. Полученные результаты соответствуют поставленным задачам. Выводы аргументированы, и следуют непосредственно из фактического материала выполненной работы.

Несмотря на высокий методический научный уровень, работа не лишена определенных недостатков:

1. В разделе «Материалы и методы» нет ссылки на то, откуда взята формула для расчета индекса активности (для анализа локомоции).
2. В разделе «Материалы и методы» в главе 4.6 нет ссылки на разработчика методики регистрации звукопродукции.

3. В разделе «Результаты исследований» ни в одном из экспериментов нет указания на количество независимых повторов. Не обсуждается воспроизводимость результата.
4. В ряде рисунков (например, рисунок 9) по оси абсцисс лучше ставить минуты или часы, а не интервалы, что усложняет анализ результатов.
5. Рисунок 14. Отсутствуют обозначения кривых. Кроме того, не мог бы автор объяснить, почему в первые 30 минут индекс активности схожий, а при последующем временном интервале столь сильно разнится?
6. Рисунок 15. Непонятно почему автор остановился на 5 часах, а потом взял точку 24 часа. Утверждение о влиянии до 5 часов нельзя сделать на основании подобного исследования. Необходимо было проверить следующие 6, 7 и далее часов и найти время совпадения поведенческих реакций.
7. На странице 67 появляется утверждение, что самцы, имеющие социальный опыт, не исполняют синусоидальную песню. Непонятно, это утверждение других исследователей? Тогда должна быть ссылка на подобную работу. Или это наблюдения автора? Тогда должны быть представлены доказательства данного утверждения. Кроме того, есть ли у автора предположение, почему у таких самцов нет синусоидальной песни?
8. Со страницы 68 появляется понятие контрольные и экспериментальные самцы. Что подразумевалось под этим понятием, когда речь идет об одиночном или групповом содержании самцов?

9. На странице 70 рассматривается нарушение ухаживания самцов после содержания в однополых группах. Показано, что самцы после содержания в однополых группах ухаживают реже. Все ли самцы из группы ведут себя подобным образом. Если автор утверждает, что модель плодовой мушки схожа с популяциями млекопитающих, то не может ли быть данное поведение последствием выстраивания иерархии в однополой группе. Тогда должен быть и «лидер» самец, чье поведение будет отличаться от других. Если такого самца нет, то тогда групповое поведение мух и млекопитающих по этому параметру отличается.
10. Ни в литературном обзоре, ни в результатах нет объяснений, почему самец начинает избегать самку. Необходимы пояснения.
11. Необоснованно выводы распространены на весь род дрозофилы. Нельзя утверждать, что данные выводы подходят для всех самцов дрозофилы, так как не изучались другие виды. Во всех выводах должно быть конкретизировано «самцы *Drosophila melanogaster*».
12. Везде, где говорится о содержании в группе. Должно быть указано в количестве 20 особей. Кроме того, следует учитывать, что изменение поведения зависело не от содержания в однополых группах, а от плотности самцов на единицу площади (без самок), что может быть вообще регулирующим фактором для снижения размножения в популяции.
13. Несколько выводов нечетко сформулированы и построены как часть результатов, а не выводы. Следует обратить внимание на 3 и 5 выводы. (Например вывод 3. Который как вывод может звучать следующим образом: «Двигательная активность самцов

Drosophila melanogaster после содержания в однополой группе (20 особей) на определенной плотности территории снижается, и подобное снижение сохраняется до 5 суток. Снижение двигательной активности зависит от обоняния, и вызвано действием феромонов»).

Перечисленные замечания не снижают общую положительную оценку работы.

Опубликование результатов диссертации в научной печати

По материалам диссертации опубликовано четыре статьи в российских и международных журналах. Две статьи опубликованы в журнале «Вестник Тверского Государственного университета» 2008 и 2009 годов, одна статья опубликована в международном журнале “Open Journal of Animal Sciences” в 2013 году, а также ряд результатов опубликовано в 2014 году в журнале “Fly” с импакт фактором 0.867. Все журналы решением Президиума ВАК включены в Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Материалы диссертации были представлены на четырех конференциях: конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, Крым, Украина, 2011); the X East European Conference of the Int. Soc. for Invertebrate Neurobiology (Москва, Россия, 2012); конференция, посвященная 70-летию Ярославской государственной академии (Ярославль, Россия, 2014); научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2015» (Москва, Россия, 2015).

Оценка оформления диссертационной работы

Работа А.А.Гончаровой выполнена на хорошем и достаточном экспериментальном уровне, с привлечением современных методов исследования.

Содержание автореферата

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

Заключение

Высказанные замечания и комментарии ни в коей мере не уменьшают больших достоинств рецензируемой работы. Диссертационная работа А.А.Гончаровой посвящена интересной и актуальной проблеме, выполнена на высоком методическом уровне. Диссертация «Изменения поведения в результате социальных взаимодействий между особями дрозофилы», является законченной научно-квалифицированной работой, которая отвечает требованиям ВАК п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым в диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Анна Алексеевна Гончарова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Доктор биологических наук, профессор РАН,
Заведующая лабораторией нейрогенетики и генетики развития,

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биологии гена Российской академии наук (119334, г.
Москва, ул. Вавилова, д. 34/5), www.genebiology.ru, тел. +7(499) 135-25-
41,
e-mail: lkorochkin@mail.ru



Павлова Галина Валериевна

ПОДПИСЬ Г. В. Павловой
АВЕРЯЮ
Ученый секретарь ИБГ РАН Мансурова Г. В.