

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ

«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ
ЦИТОЛОГИИ и ГЕНЕТИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ИЦиГ СО РАН)

Пр-т. Академика Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090
Телефон: (383) 363-49-80
Факс (383) 333-12-78
E-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru
http://www.bionet.nsc.ru
ИНН 5408100138/КПП 540801001
ОКПО 03533895 ОГРН 1025403657410

03.11.2016 № 15345-01-2179

На № _____ от _____

Г

«УТВЕРЖДАЮ»



и.о. директора ИЦиГ СО РАН
С.В. Лаврюшев
3 ноября 2016 г.

Л

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию 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 изучению влияния индивидуального опыта социальных взаимодействий на поведение, что относится к одной из актуальных тем современной физиологии, на модельном объекте *Drosophila melanogaster*.

Актуальность темы исследования, обоснованность и достоверность результатов

В диссертации поставлена задача изучить влияние предыдущего социального опыта самок и самцов дрозофилы на их локомоторное и половое поведение, вкуче с выявлением физиологических механизмов, ответственных за

обнаруженные изменения. Актуальность данного направления исследований обусловлена необходимостью понимания нейробиологических основ социального поведения животных. Использование такого модельного объекта, как *D. melanogaster*, для подобных исследований является весьма перспективным благодаря существованию широкого спектра генетических методов исследований, позволяющих манипулировать активностью отдельных ферментов, нейрогормонов и различных структур ЦНС, разработанных именно для дрозофилы. Используемые в работе мутации *D. melanogaster* позволяют проанализировать различные компоненты нервной и сенсорных систем на предмет их участия в аккумуляции индивидуального социального опыта.

В работе А.А. Гончаровой рассмотрены задачи выяснения влияния условий предшествующего содержания (в различных по числу и половому составу группах) на поведение ухаживания и локомоторное поведение самцов и самок дрозофилы. Исследование механизмов, модифицирующих поведение дрозофилы в результате ее социальных взаимодействий, может быть использовано для экстраполяции выявленных закономерностей на аналогичные процессы у млекопитающих и человека, что в перспективе может служить для разработки эффективных моделей для их изучения и коррекции. Еще одна актуальная задача диссертации – изучение роли различных компонентов нервной и сенсорных систем (краткосрочной и среднесрочной памяти, уровня нейромедиаторов, зрительной и обонятельной рецепции) в изменениях поведения, вызванных групповым содержанием. Механизмы подобных изменений до сих пор недостаточно изучены, и работа А.А. Гончаровой с успехом восполняет этот пробел.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе А.А. Гончаровой впервые показано, что предшествующее содержание в однополых группах вызывает ярко выраженное снижение двигательной активности самцов, но не самок, дрозофилы, и что этот эффект

сохраняется длительное время. Так же установлено, что предшествующее содержание в однополых группах приводит к снижению интенсивности ухаживания (включая звукопродукцию) самцов за самкой. Впервые показано, что агрессивные взаимодействия самцов в группе приводят не к снижению половой мотивации самца, а активному избеганию им самки, что свидетельствует о возникновении реакции «страха» у самцов дрозофилы.

Впервые продемонстрировано, что снижение двигательной активности в результате предшествующего содержания самцов в однополых группах, не зависит от зрения, но зависит от обоняния (действия феромонов, в частности цис-вакценил ацетата) и уровня метаболизма биогенных аминов, тогда как снижение интенсивности ухаживания самца за самкой вследствие социального опыта не зависит ни от одного из исследованных параметров. Установлено, что оба обнаруженных эффекта содержания самцов в однополых группах на их дальнейшее поведение не являются результатом обучения, так как их проявления наблюдаются и у мутантов дрозофилы с нарушениями долго- и краткосрочной памяти.

Впервые обнаружено, что предшествующее содержание в однополых группах вызывает у самок дрозофилы увеличение латентного времени до копуляции.

Значимость полученных соискателем результатов для науки и практической деятельности

Теоретическая значимость работы связана, в первую очередь, с вкладом, который она делает в представление об универсальности базовых нейрофизиологических процессов животных. Полученные результаты способствуют пониманию схожести процессов, происходящих в ходе приобретения социального опыта у насекомых и млекопитающих, и открывают перспективы для разработки новой модели для экспериментальных исследований нейробиологических механизмов, лежащих в основе развития реакции страха.

Результаты, полученные в диссертации, могут быть включены в курсы лекций по этологии беспозвоночных.

Структура и содержание работы

Диссертация построена по классическому образцу: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы и список литературы из 257 наименований. Работа изложена на 129 страницах и содержит 39 рисунков и 2 таблицы.

Обзор литературы содержит исчерпывающую информацию о современных представлениях о социальном и половом поведении дрозофилы, а также его гормональной и нервной регуляции, абсолютно достаточную для понимания поставленных в работе задач. Также в обзоре литературы рассматриваются особенности влияния социального окружения на память и обучение *D. melanogaster* и затрагиваются вопросы нейроэндокринной регуляции стресс ответа насекомых, что необходимо для обоснования ряда экспериментов, проведенных в работе.

Раздел «**Материалы и методы**» содержит подробное описание линий дрозофилы, использованных в исследовании, а также предоставляет исчерпывающую информацию по дизайну проведенных экспериментов и методам анализа, использовавшимся в работе (автоматизированная регистрация параметров локомоторного поведения, поведения ухаживания и звукопродукции дрозофилы, флюориметрический метод определения активности щелочной фосфатазы).

В главе «**Результаты**» подробно изложены данные собственных исследований автора. А.А. Гончаровой разработана уникальная методика выработки и длительной регистрации изменений локомоторного поведения особей *D. melanogaster*, возникающих вследствие приобретения ими социального опыта. Методика заключается в содержании самцов и самок дрозофилы в однополых группах по 20 особей в течение 3 дней после вылета с

последующим тестированием поведения, причем длительность регистрации двигательной активности составляет 5 часов. Использование этой методики позволило автору работы выявить два эффекта предварительного содержания самцов дрозофилы в однополой группе: длительное снижение двигательной активности при последующем индивидуальном тестировании и снижение интенсивности ухаживания за самкой. Первый эффект обнаружен впервые, а для второго впервые показана структура реакции: автор убедительно продемонстрировала, что данный эффект обусловлен активным избеганием самцом объекта ухаживания, а не просто снижением половой мотивации. При помощи тестирования самцов линий *D. melanogaster Orco¹* и *Orco²*, характеризующихся нарушением ольфакторной рецепции, а также предъявления самцам гексановой вытяжки из половозрелых самцов и цис-вакценил ацетата показано, что первый эффект – снижение двигательной активности – вызывается у самцов дрозофилы действием мужских феромонов, тогда как второй не зависит от сигналов, получаемых насекомым при помощи обоняния. С использованием слабовидящей линии *white* продемонстрировано не участие зрительного восприятия в формировании изучаемых в работе модификаций поведения. Обнаружено участие дофаминергической и октопаминергической систем в формировании первого, но не второго эффекта: у самцов с мутациями *ebony* (с удвоенным содержанием дофамина) и *Tβh^{nM18}* (с полным отсутствием октопамина) предварительный социальный опыт снижает двигательную активность, но не препятствует ухаживанию за самкой. Обнаружено, что обе модификации поведения, вызванные предварительным групповым содержанием, не являются результатом обучения, так как проявляются у мутантов с различными нарушениями памяти. У самок изменения локомоторного поведения вследствие их предварительного содержания в группе автором не выявлены, однако показано увеличение латентного времени до копуляции. Также обнаружено, что предварительный социальный опыт не влияет на активность щелочной фосфатазы у самцов дрозофилы и способность этого фермента реагировать на тепловой стресс.

В «Обсуждении» автор анализирует полученные результаты с привлечением данных современной литературы, рассматривает несколько гипотез, призванных объяснить обнаруженные ею пластические модификации поведения дрозофил вследствие их предварительного группового содержания, и приходит к выводу, что подавление ухаживания и звукопродукции самцов в результате негативного социального опыта связано с формированием у них состояния, подобного страху млекопитающих, приводящего к активному избеганию самки и других объектов ухаживания. А.А. Гончарова также полагает, что увеличение латентного времени спаривания, наблюдаемое ею у самок дрозофилы после предшествующего группового содержания, также может быть связано с формированием у них подобного состояния. Однако, как справедливо замечает автор, проявление поведенческого эффекта группового содержания у мутантов с нарушением краткосрочной и среднесрочной памяти *dnc¹*, *rut¹*, *rut²⁰⁸⁰* и *amn^{X8}*, не позволяет говорить о выработке у самцов в группе условно-рефлекторного страха и заставляет предполагать формирование у самцов дрозофилы в группе состояния, подобного эмоциональному состоянию страха млекопитающих. А.А. Гончарова отмечает бесспорное сходство эффектов группового содержания, обнаруженных ею у дрозофилы, и его эффектами у грызунов, продемонстрированных в работе Кудрявцевой с соавторами (2014), выдвигает предположение об универсальности механизмов, лежащих в основе приобретения животными разных таксонов социального опыта, и заключает, что обнаруженные ей аспекты влияния социального опыта на поведение дрозофилы требуют дальнейшего исследования.

Замечания к работе

Диссертационная работа Гончаровой А.А. представляет собой прекрасно спланированное, последовательное и цельное исследование, она необычайно хорошо и логично изложена, аккуратно оформлена (отсутствуют даже обычные для диссертаций опечатки), единственное замечание, которое можно высказать – отсутствие ссылки на классическую работу Ходжетса и Конопки (Hodgetts, R.B.

and Konopka, R.J. 1973. Tyrosine and catecholamine metabolism in wild-type *Drosophila melanogaster* and a mutant, *ebony*. J. Insect Physiol. 19, 1211–1220) в описании повышенного уровня дофамина у линии с мутацией *ebony* в Материалах и Методах, а также в Обсуждении полученных на ней результатов.

По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 4 статьи в рецензируемых отечественных и международных журналах. Материалы и основные положения диссертации были представлены на 11 российских и международных конференциях.

Заключение

По совокупности полученных результатов диссертация, представленная Гончаровой А.А., являет собой завершенное, систематическое и важное научное исследование влияния индивидуального опыта (предшествующего содержания в группе) на поведение *D. melanogaster*, включая описание происходящих при этом изменений и установление их природы. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключение обоснованы. Автореферат верно отражает основное содержание диссертации.

Диссертация Гончаровой Анны Алексеевны «Изменения поведения в результате социальных взаимодействий между особями дрозофилы» соответствует предъявляемым к кандидатским диссертациям требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 «Физиология».

Отзыв на диссертацию и автореферат составлен заведующим лабораторией генетики стресса, доктором биологических наук Н.Е. Груntenко.

Отзыв заслушан, обсужден и одобрен на семинаре лаборатории генетики стресса Федерального государственного бюджетного научного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики

Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), протокол № 2 от 28 октября 2016 года.

31 октября 2016 г.

Заведующий Лабораторией генетики стресса

ИЦиГ СО РАН, д.б.н., с.н.с.

(383)3634963*3103

nataly@bionet.nsc.ru

Н.Е. Груntenко

Подпись заведующего лабораторией Института цитологии и генетики, доктора биологических наук, старшего научного сотрудника Груntenко Наталии Евгеньевны удостоверяю

Ученый секретарь ИЦиГ СО РАН

к.б.н.



Г.В. Орлова

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Полное название: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук

Сокращенное название: ИЦиГ СО РАН

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр-т акад. Лаврентьева, д. 10.

Телефон: (383) 363-49-80, факс: (383) 333-12-78.

E-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru

<http://www.bionet.nsc.ru>