

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Зачепило Татьяны Геннадьевны, кандидата биологических наук,
на диссертацию Новиковой Екатерины Сергеевны
на тему «Влияние спектрального состава и интенсивности света на регуляцию поведенческой
активности у таракана *Periplaneta americana* L.»
на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных

Диссертационная работа Е.С. Новиковой посвящена исследованию роли параметров света в регуляции поведения ночного насекомого, таракана *Periplaneta americana*, в темновую фазу суточного цикла.

Актуальность работы. Для современной биологии важно понимание механизмов организации поведения животных в нормальных и стрессогенных условиях. Одним из важнейших факторов, влияющих на жизнедеятельность является свет, а зрение обеспечивает организм информацией о внешней среде, позволяет находить пищу и ориентироваться в пространстве и времени. Определенные формы поведения связаны со спектральным составом поступающего сигнала, возбуждающим различные типы фоторецепторов. Фоторецепторы сложных глаз также участвуют в синхронизации внутренних часов, формировании циркадных ритмов активности и эффекте маскинга. Последний приводит к нехарактерной для организма поведенческой активности в световую и темновую фазу суток. Однако вклад спектральных характеристик света в регуляции поведения насекомых на сегодняшний день исследован недостаточно. Слабо изучен эффект маскинга и возможные отклонения от типичной поведенческой программы, вызванные освещением разной интенсивности и спектрального состава в темновую фазу суточного цикла. Особенно важно в связи с интенсивным антропогенным световым загрязнением окружающей среды, что может негативно влиять на живые организмы и экосистемы. В диссертационном исследовании Е.С. Новиковой представлен подробный анализ физиологических реакций, вызываемых светом, в которые вовлекаются фоторецепторы разных спектральных классов, у ночного насекомого, американского таракана *Periplaneta americana* L.

Цели и задачи исследования. Целью данного исследования было определение роли параметров света в регуляции поведения ночного насекомого, таракана *Periplaneta americana*, в темновую фазу суточного цикла. Эта цель подразумевала решение следующих задач:

1. Оценить влияние спектрального состава и интенсивности света на активность таракана в начале скотофазы.

2. Оценить действие даун-регуляции зеленочувствительного и ультрафиолет-чувствительного зрительных пигментов, выполненной методом РНК-интерференции, на выраженность поведенческих ответов на коротко- и длинноволновое освещение.
3. Выявить роль экранирующего пигмента глаза в выраженности поведенческой реакции в ответ на стимуляцию длинноволновым светом.
4. Проанализировать поведение тараканов в убежище во время фотофазы, когда насекомые неактивны, и сопоставить с реакцией замирания, вызванной светом во время скотофазы.

Научная новизна исследования. Научная новизна не вызывает сомнения. Так, впервые были показаны: альтернативные реакции на свет у американского таракана: замирание, характеризующееся полной неподвижностью, и увеличение локомоторной активности, которые зависели от спектрального состава и интенсивности освещения; большую чувствительность к свету и связанные с этим особенности поведения мутантных тараканов линии *pearl*. Автор активно участвовал в разработке нового метода неинвазивной регистрации электроретинограммы от всей поверхности обоих сложных глаз насекомого, позволяющего сохранить целостность глаза насекомого, и показавшего высокую чувствительность и воспроизводимость. Впервые проведены поведенческие и электрофизиологические исследования на тараканах с выборочным сайленсингом генов фоторецепторных белков (pGO1 и pUVO). Выделены формы поведения американского таракана, подтверждающие развитие эффекта маскинга под действием света в темновую фазу суточного цикла.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные результаты важны для понимания механизмов светозависимых физиологических реакций насекомых и позволяют оценить возможные изменения в поведении животных при световом загрязнении. Данные представленные в диссертации, могут быть использованы для контроля численности насекомых на определенной территории, снижая необходимость использования химических средств защиты. Материал диссертации может быть использован при чтении курсов по физиологии и экологии насекомых в ВУЗах.

Структура диссертации. Материал изложен ясно, диссертация хорошо структурирована и оформлена. Работа изложена на 141 странице машинописного текста и состоит из: введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений, словаря терминов, списка цитируемой литературы (237 источников) и приложений. Работа проиллюстрирована 42 рисунками и 13 таблицами. Хочется отметить высокое качество иллюстративного материала.

Во введении обоснована актуальность и степень разработанности темы исследования, четко и корректно сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, отражены методология и методы диссертационного исследования, личный вклад автора, степень достоверности и апробация результатов, структура диссертации.

В «Обзоре литературы» дана развернутая характеристика функциональной организации органов зрения у насекомых, в том числе цветового зрения насекомых и особенности зрения у ночных насекомых. Подробно описывается организация ритмов активности и сна у насекомых. Большое внимание уделено эффекту маскинга как альтернативного пути регуляции активности светом. Также приводятся факты о стрессогенном влиянии света вне фазы активности у животных.

В главе «Материалы и методы» изложена краткая характеристика экспериментального материала (таракан *Periplaneta americana* L.), подробно описаны схемы экспериментов и методы исследования (экспозиция различных типов света, использование мутантных тараканов линии *pearl*, а также даун-регуляция рецепторов зеленого (pGO1) и УФ (pUVO) света с помощью РНК-интерференции), а также методы статистической обработки результатов.

В главе «Результаты и обсуждение» приведены результаты собственных исследований и анализ полученных данных. Экспериментальный материал изложен детально и хорошо проиллюстрирован рисунками. Обнаружено, что в контрольной серии во второй сессии частота чисток антенн и время, затраченное на их чистку, уменьшались, а длительность увеличивалась. В обсуждении диссертант связывает снижение уровня локомоторной активности во 2 сессии экспериментов с угасанием ориентировочно-исследовательского поведения. Изменение параметров груминга между 1 и 2 сессией, по мнению диссертанта, свидетельствуют о снижении стресса новизны. Включение флуоресцентной лампы (коротко- и длинноволновый свет) вызывало некоторое увеличение активности. Локомоторная активность и частота груминга снижались во второй сессии эксперимента. Влияние монохроматического зеленого света зависело от его интенсивности: более интенсивный свет вызывал большее количество замираний при меньшем количестве остановок и подавлял груминг. Включение монохроматического ультрафиолетового света различной интенсивности приводило к увеличению числа остановок и замираний, в меньшей степени влияя на характер чисток. Яркий свет любого спектрального состава приводит насекомое в состояние стресса. Даун-регуляция рецепторов зеленого света (pGO1) вызывала увеличение времени остановок и нивелировало различия между 1 и 2 сессиями при груминге, а УФ света (pUVO) - во второй сессии по сравнению с первой увеличивается

число, время и длительность остановок и появляется выраженная реакция замирания, а длительность груминга увеличивается. Однако, эффект нокдауна на поведенческий ответ оказался небольшим, что указывает на высокую адаптивность зрительной системы таракана. Тараканы линии *pearl* демонстрировали снижение локомоторной активности по сравнению с тараканами дикого типа, и увеличение длительности груминга во 2 сессии по сравнению с 1. Активность при освещении длинноволновым светом низкой интенсивности соответствовала поведению тараканов при более ярком свете. В серии «Поведение группы самцов в убежище в начале фотофазы» изменялась как локомоторная активность, так и частота груминга во 2 сессии. Полученные данные указывают на сноподобное состояние в начале фотофазы.

Особо следует подчеркнуть логическую взаимосвязь всех разделов исследования и комплексный подход автора к изучаемой проблеме.

Все результаты, представленные на защиту, получены либо лично диссертантом, либо при его непосредственном участии, что подтверждается опубликованными 5 статьями в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК, и апробацией результатов на международных и российских конференциях.

Выводы работы обоснованы полученными результатами исследования, четко сформулированы, хорошо обоснованы и не вызывают сомнений.

Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации. Экспериментальные данные, лежащие в основе диссертационного исследования Е.С. Новиковой, получены на достаточно большом экспериментальном материале, с использованием современных методов, адекватных поставленным задачам, достоверность представленных в диссертации материалов не вызывает сомнений.

Оценка оформления диссертации и автореферата. Диссертационная работа написана хорошим языком и представляет собой единое целое, части которого логически связаны между собой. Все заимствованные сведения сопровождаются корректными ссылками на источники. Текст работы достаточно хорошо вычитан. Лишь изредка встречаются отдельные неудачные фразы и опечатки. Например, на стр. 41 в подписи к рисунку 4 написано: «Стрелочкой обозначено место инъекции», на стр. 79 не хватает пробела «тест Манна-Уитни).По параметрам...»; на стр. 92 непонятно, о каком насекомом идет речь: «Во время неактивной фазы тараканы, в отличие от активной фазы, находятся только на полу убежища, а при попытке перебраться на вертикальную поверхность вскоре соскальзывают. Это может быть связано с расслаблением мышц конечностей, которые можно наблюдать во время сна у пчел (Klein et al., 2008)».

Автореферат соответствует требованиям ВАК, изложен на 24 страницах, полностью соответствует содержанию диссертационной работы, отражает ее основные результаты, положения и выводы.

Замечания и вопросы. Основным замечанием является неверное указание количества страниц диссертации (139) и рисунков (44) в самом тексте диссертации и автореферате. Остальные замечания носят технический характер (см. выше) и не влияют на общую положительную оценку диссертации.

Вопросы:

1. Почему в работе использованы тараканы именно двухнедельного возраста?
2. Что известно об эффекте маскинга у других насекомых?
3. Каковы морфологические структуры ЦНС, участвующие в развитии эффекта маскинга у животных (млекопитающих и/или насекомых)?

Заключение. Диссертация Новиковой Екатерины Сергеевны «Влияние спектрального состава и интенсивности света на регуляцию поведенческой активности у таракана *Periplaneta americana* L.» представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу, выполненную на хорошем научно-методическом уровне. По содержанию, актуальности, научной новизне, объёму проведенных исследований и значению данных, диссертационная работа соответствует требованиям, соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Новикова Екатерина Сергеевна заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных.

Старший научный сотрудник
лаборатории генетики высшей деятельности
ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
кандидат биологических наук
Зачепило Татьяна Геннадьевна



199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.6
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук
тел. (812) 328-11-01, факс (812) 328-05-01,
e-mail: zachepilo_t@infran.ru, polosataya2@mail.ru.

24.03.2022

Подпись руки Зачепило Т.Г. Достоверно
ст. инспектор Рябухина Мария
«24» 03 2022 г.

