

# **Сравнительная физиология центральной нервной системы**

**C. elegans, моллюски, насекомые,  
рыбы, наземные позвоночные**

---

*Сборник учебно-методических  
материалов*

*Москва, 2017*



## Предисловие

В последние несколько лет на кафедре физиологии человека и животных биологического факультета МГУ преподается курс сравнительной физиологии центральной нервной системы. Он выполняет роль важного дополнения к базовой дисциплине «Физиология ЦНС».

Слушателями и активными участниками курса являются студенты 4-го года обучения бакалавриата кафедр ФЧЖ и ВНД. При этом часть лекций читает профессор кафедры д.б.н. Вячеслав Альбертович Дубынин, а часть – преподаватели других кафедр факультета, а именно:

Бисерова Наталья Михайловна, д.б.н., ведущий научный сотрудник кафедры зоологии беспозвоночных

Голубева Татьяна Борисовна, д.б.н., ведущий научный сотрудник кафедры зоологии позвоночных

Касумян Александр Ованесович, д.б.н., профессор кафедры ихтиологии

Корсуновская Ольга Сергеевна, д.б.н., старший научный сотрудник кафедры энтомологии.

Завершается курс небольшой студенческой конференцией по частным вопросам сравнительной физиологии ЦНС – строению и механизмам поведения животных различных систематических групп. При этом перед студентами ставится задача отразить в своем выступлении как общее состояние той или иной проблемы, так и (в качестве примера) детально обсудить 1-2 современные публикации по соответствующей теме.

Осенью 2016 года все студенты продемонстрировали очень высокий уровень владения материалом, отличные способности к обобщению и анализу научных данных. В связи с этим было принято решение опубликовать краткие варианты их докладов в виде учебно-методического пособия.

Мы надеемся, что данное пособие принесет пользу студентам биофака последующих лет выпуска, а также вызовет интерес у всех, кого не оставляют равнодушным проблемы филогенеза нервной системы, а также исследование общих принципов функционирования нейронных сетей мозга вне зависимости от уровня организации экспериментальных животных.

Заведующий кафедрой физиологии человека и животных биологического факультета МГУ д.б.н., профессор А.А. Каменский

Учебный секретарь кафедры к.б.н., ст.н.с. М.В. Маслова

## Предисловие от составителей

Насколько у животных разного уровня организации различаются механизмы реализации поведения и нервной передачи?

Представляемый сборник работ студентов 4-го курса биологического факультета МГУ призван объединить в себе информацию о функционировании центральной нервной системы (ЦНС) в ряде ключевых таксонов. Классическая физиология мозга специализируется на ЦНС позвоночных, поскольку именно такие данные имеют особенно важное медицинское значение. Доклады, включенные в данный сборник, скорее, относятся к разделу сравнительной физиологии. Моллюски (принадлежат к надтипу Lophotrochozoa вместе с кольчатыми червями) и насекомые (принадлежат к надтипу Ecdysozoa вместе с круглыми червями) – эволюционно «далёкие» друг от друга группы. Что у моллюсков и насекомых в нервной системе работает не так, как у млекопитающих? Есть ли память у крошечных червей? Каким образом у них организованы аналоги наших структур и функций? Ответы на эти и многие другие вопросы позволят в итоге составить целостное представление о деятельности мозга, они важны для решения проблем токсикологии и экологии, нормальной и патологической физиологии (моделирование заболеваний мозга на «простых» нервных системах), сохранения редких видов, борьбы с вредителями в агропромышленности и т.д.

Первая часть сборника посвящена жизнедеятельности и поведению излюбленного объекта генетиков, цитологов, эмбриологов – нематоды *Caenorhabditis elegans*. Затем рассматриваются ключевые механизмы полового, пищевого, оборонительного поведения моллюсков, насекомых и рыб, а также их способность к обучению. Кроме того, сборник содержит две статьи о реализации эмпатии и функционировании зеркальных нейронов у высших позвоночных. Каждый доклад представлен в виде небольшого литературного обзора. К сожалению, в сборнике не рассмотрен тип иглокожие вследствие недостаточного количества данных об их нервной системе, учитывая тот факт, что их нервная система не имеет хорошо оформленного «центра», представляет собой кольца и лучи нервных волокон. До сих пор неизвестно, как устроена электрическая нервная передача у иглокожих, что должно подталкивать сравнительную физиологию к их исследованию.

Все авторы сборника приносят искреннюю благодарность преподавателям факультета Бисеровой Н.М., Голубевой Т.Б., Касумяну А.О., Корсуновской О.С. за прекрасные лекционные занятия.

*Доклады, посвящённые C. elegans подготовлены студентами кафедры высшей нервной деятельности; остальные доклады сделаны студентами кафедры физиологии человека и животных.*

*Биологический ф-т МГУ им. М.В. Ломоносова. Декабрь 2016 - январь 2017.*

*Студент 4-го курса бакалавриата Терентьев А.А.*

*Профессор, д.б.н. Дубынин В.А.*

# Нематода *Caenorhabditis elegans* – важный объект в биологии.

***Caenorhabditis elegans*: история изучения, культивирование, биология вида.**

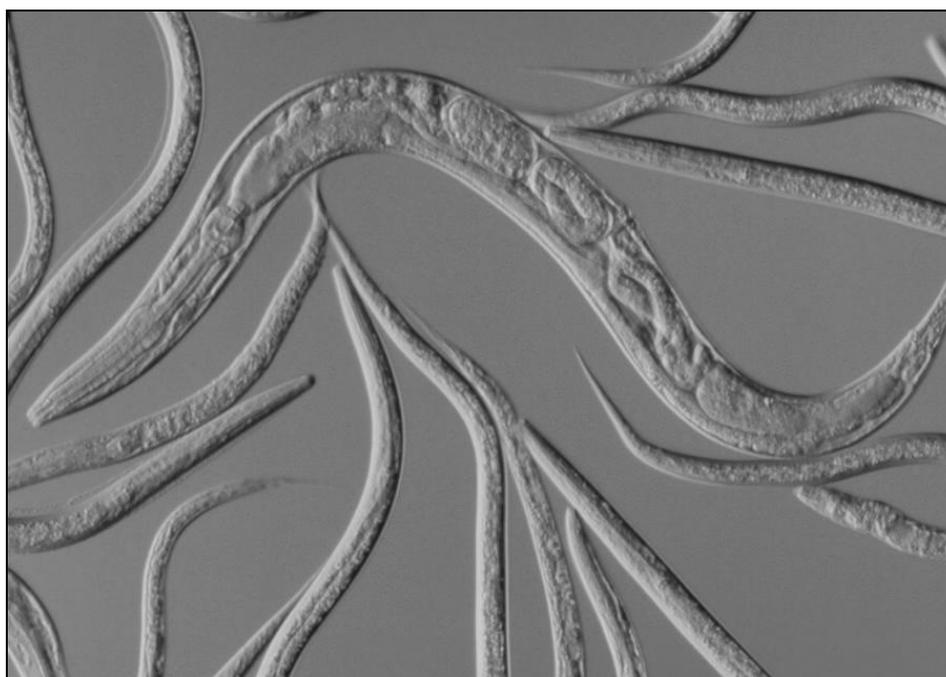
*Карпова Валерия*

(доклад подготовлен с использованием статьи «The laboratory domestication of *Caenorhabditis elegans*» Mark G. Sterken,<sup>1,2</sup> L. Basten Snoek,<sup>1</sup> Jan E. Kammenga,<sup>1,\*</sup> and Erik C. Andersen<sup>3,\*</sup>)

*Caenorhabditis elegans* как объект биологических исследований:

Длина червя около 1 мм, у него стабильное число соматических клеток (959) и 1000 - 2000 половых клеток. В его нервной системе 302 нервных клетки. Была полностью изучена синаптическая структура нервной системы и каждый из ее нейронов полностью изучен с использованием электронной микроскопии.

Удлиненное тело обладает билатеральной симметрией, прозрачно, поэтому можно прижизненно наблюдать деление, миграцию и дифференцировку клеток, а также описать генеалогические отношения и поведение всех клеток. Геном *Caenorhabditis elegans* был полностью изучен, что позволило стать этому червя хорошим модельным объектом для многих разделов науки. Взрослые особи представлены двумя формами - гермафродитами и самцами. При самооплодотворении в основном возникают гомозиготные потомки. Полный цикл развития составляет около 3 суток.



**Рис.1.** Внешний вид круглого червя *C. elegans*, световая микроскопия.

## История изучения *Caenorhabditis elegans*:

В 1900 *C. elegans* был впервые описан Émile Mauras, который выделил его из почвы в Алжире.

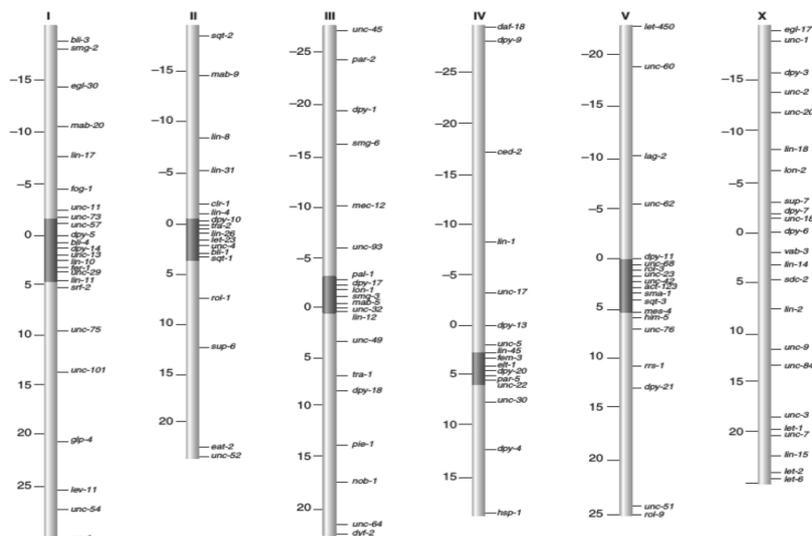
В 1948 Ellsworth Dougherty предположил, что свободноживущие нематоды этого рода могут быть полезны для генетических исследований, из-за их относительной структурной простоты, легкости культивирования, быстроты развития и возможности адаптировать и применять на них мощные методики, используемые в микробиологической генетике. Ellsworth Dougherty и Victor Nigon получили первого мутанта из лабораторной культуры близкой нематоды *Caenorhabditis briggsae*.

В 1963 Sydney Brenner принял *C. Elegans* в качестве модельного объекта для изучения биологии развития с использованием методов генетики. В 1986 году был полностью описан его коннектом, было определено происхождение всех 959 клеток во взрослом гермафродитном организме, и были клонированы первые гены. В 1998 *C. Elegans* стал самым первым многоклеточным организмом, чей геном был секвенирован.

Значимые исследования с использованием *C. Elegans* включают открытие каспаз, РНК-интерференции, и микро-РНК. Шесть ученых получили Нобелевскую премию за свою работу с *C. Elegans*

## Генетический аппарат *C. elegans*:

У *Caenorhabditis elegans* 6 пар гомологичных хромосом, включающих 20 000 генов из которых 3000 - жизненно важные. У этой свободноживущей нематоды 80 млн пар нуклеотидов, для сравнения это в 17 раз больше, чем у *E. coli* и в 38 раз меньше, чем у человека. Около 800 генов идентифицировано с помощью мутационного анализа, из них есть гены, влияющие на форму и поведение червей, кодирующие миозин, контролирующие характер и направление развития, а также гены гибели и долголетия. Получена библиотека генома в виде большого набора перекрывающихся фрагментов ДНК.



## Рис.2. Генные карты хромосом нематоды.

Теперь рассмотрим подробнее Гены гибели и долголетия у нематоды *Caenorhabditis elegans*.

Продолжительность жизни этого червя мала - около 20 дней. *C. elegans* размножается гермафродитическим самооплодотворением. Это ведет к созданию популяций однотипных червей.

С помощью химических мутагенов удалось получить червей с большей на 50% средней и в 2 раза - максимальной продолжительностью жизни, чем у их предшественников. Был идентифицирован ген *age-1*, модификация или супрессия продукта которого приводила к увеличению продолжительности жизни. Еще было обнаружено, что мутации в ряде других генов, названных "часовыми генами" (*clk-1*, *clk-2* и *clk-3*), также влияют на продолжительность жизни *C. elegans*. Генетический анализ выявил червей со специфическими комбинациями мутаций, продолжительность жизни которых по сравнению с нормальными червями в 5 раз больше, причем дольше длится каждая фаза жизненного цикла [Lakowskiewa 1996].

Апоптоз: белки и гены смерти *C. Elegans*:

Клетки содержат энзиматический аппарат, который после активации инициирует апоптоз [Stellera 1997]. Нематода *Caenorhabditis elegans* оказалась хорошим модельным организмом, позволившим изучить узловые компоненты процесса гибели клетки. Три белка *C. elegans* являются существенными для апоптоза: CED-3 и CED-4 вызывают апоптоз, тогда как CED-9 ингибирует его [Hengartner 1994].

CED-4 связан с CED-3 и обеспечивает активизацию CED-3, (*Araf-1* является пока единственным известным гомологом CED-4 у млекопитающих [Zou 1997].)

CED-9 связан с CED-4 и не позволяет ему активировать CED-3 [Chinnaiyana 1997]. Нормально CED-9 входит в комплекс с CED-4 и CED-3 и CED-3 остается неактивным. Стимулы апоптоза вызывают диссоциацию CED-9, разрешая активацию CED-3 и, таким образом предопределяют смерть клетки от апоптоза.

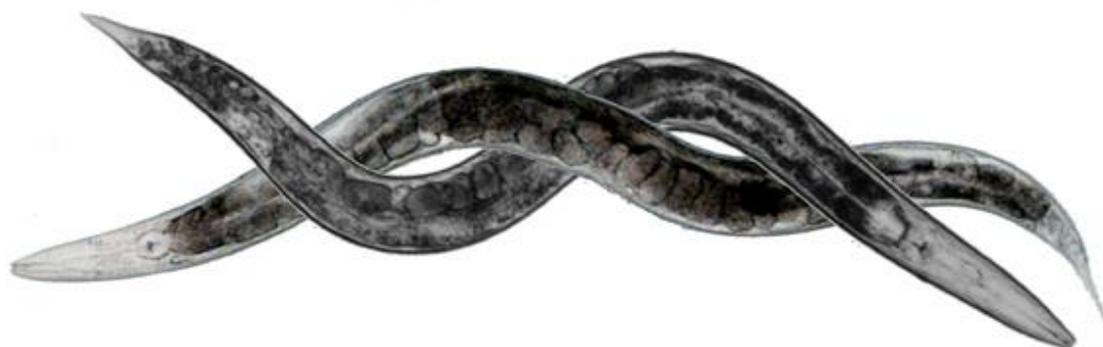


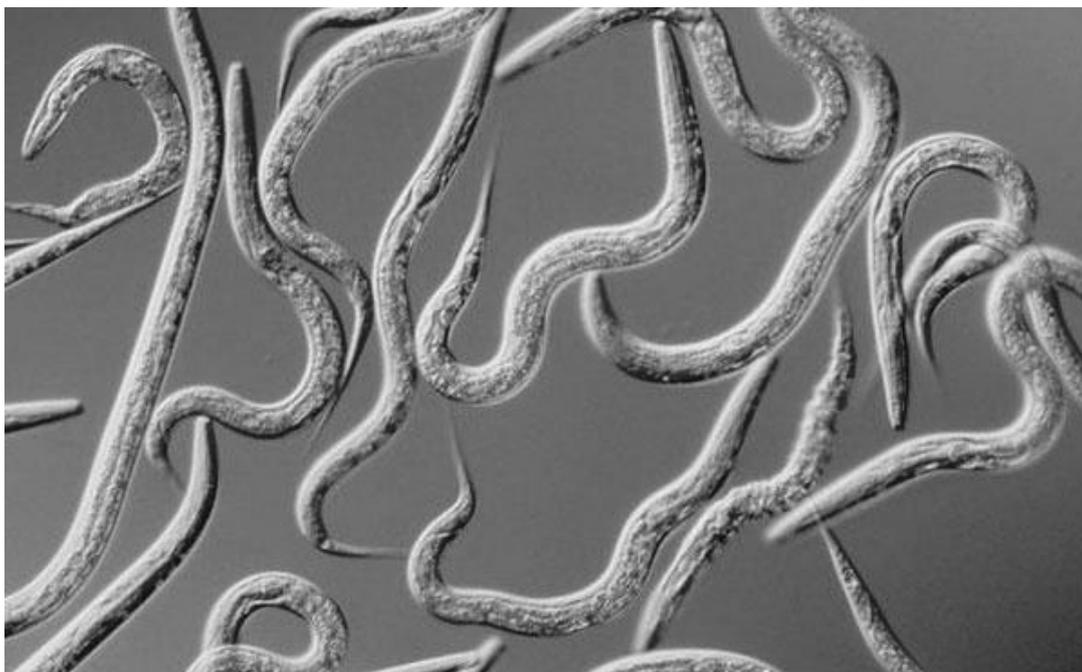
Рис.3. Совокупление особей *C. elegans*.

Условия жизни *C. elegans* в лаборатории:

Существует два варианта Культур: Ахенис и Монохенис. К первому относятся стерильные культуры на синтетических средствах, которые не содержат других организмов. В настоящее время, стерильные культуры используются только для перевозок в космос

Культура Монохенис – это Культура, которая содержит один организм в качестве источника пищи. В случае *C. elegans*, нематоды почти исключительно культивируют на средах, содержащих *кишечную палочку*.

Существуют два основных метода для Монохенис-культуры *C. elegans*: либо в жидкой или на твердой среде. В жидкой культуре, животные выращены с перемешиванием в растворе. На твердых средах, животные содержатся на агаровых пластинах с посеянным штаммом *e. coli*.



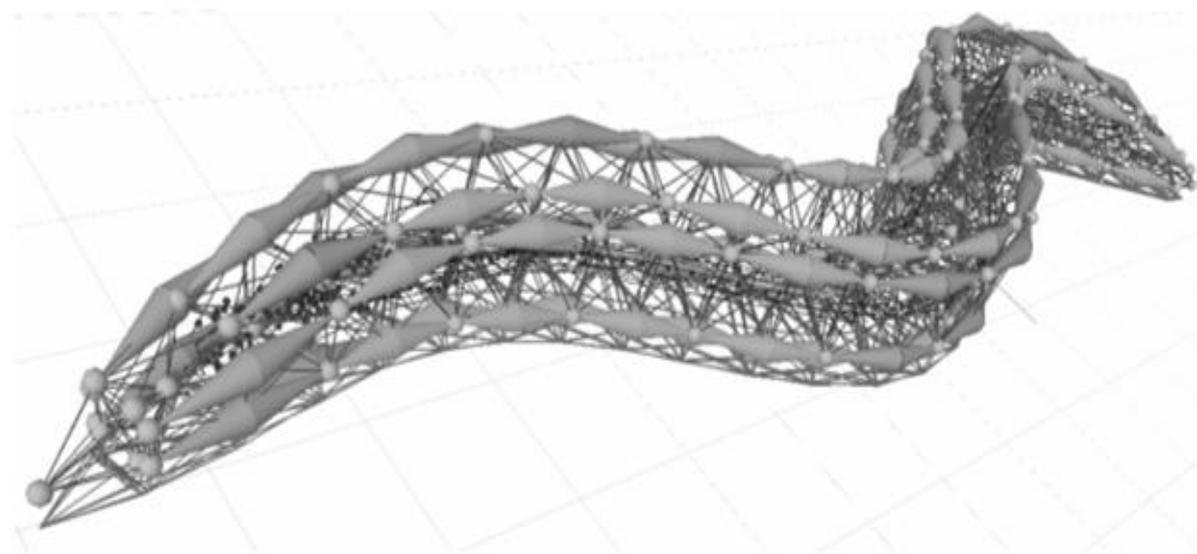
**Рис.4.** Культура Монохенис, световая микроскопия.

Сейчас появился проект создания виртуального живого организма OpenWorm — цифровой червь.

Это международная исследовательская группа разработчиков программного обеспечения и ученых-нейробиологов. (<http://openworm.googlecode.com>), Целью проекта является разработка детальной, вплоть до клеточного уровня, действующей компьютерной модели *C. elegans*, включая все системы организма, которая позволит подробно изучить и понять механизмы работы нервной системы этого организма.

Виртуальный червь будет самостоятельно питаться, искать партнеров, прятаться от хищников — другими словами, вести себя совсем как настоящий. Также предполагается использование реалистичного физического симулятора окружающего мира и разного рода препятствия, чтобы иметь возможность наблюдать поведение виртуального организма в различных условиях и сравнивать с таковым для реальной нематоды.

Также стоит отметить, что нематода способна к ассоциативным формам обучения и обладает, в определенной степени, краткосрочной и долгосрочной памятью (Rankin, 2004). Эти свойства представляют особый интерес для исследования, и в соответствии с ними разрабатываемая нейронная модель будет не статической, а допускающей определенные изменения характеристик нейронов во времени в соответствии с известными закономерностями.



**Рис.5.** Визуализация модели нервных и мышечных элементов червя. OpenWorm.

## **Caenorhabditis elegans. Анатомия нервной системы и нейрогенез.**

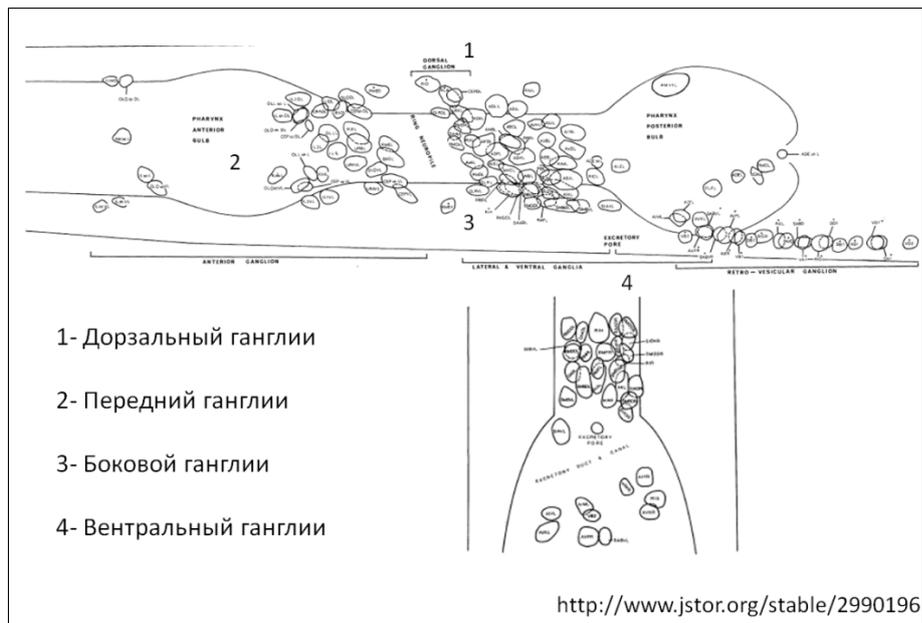
*Зигмантович Александра*

**Нервная система** *Caenorhabditis elegans* включает в себя два отдела:

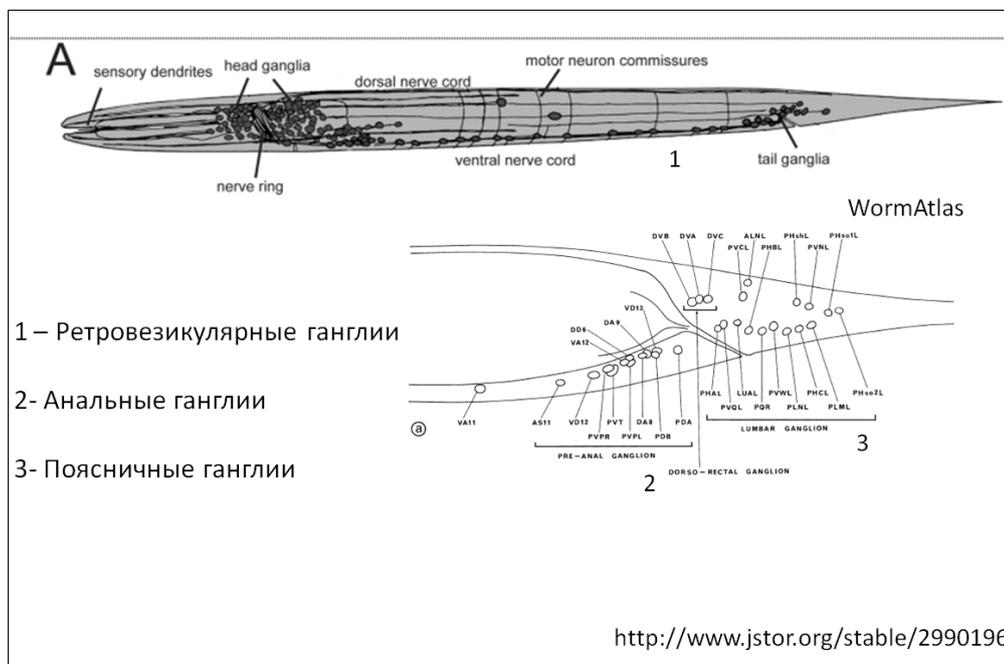
1) Небольшая глоточная система (20 кл.). Глотка нематоды представлена двумя карманами, соединенными перешейком, в области которого сосредоточены ганглии глотки. (рис.1)

Ганглии глотки формируют окологлоточное центральное нервное кольцо, которое является «головным мозгом».

2) Большая соматическая нервная система (282 кл. и 56 глиальных кл., для гермафродитного организма). В соматической нервной системе также есть ганглии, и большее их скопление наблюдается в заднем конце тела. (Рис.2)

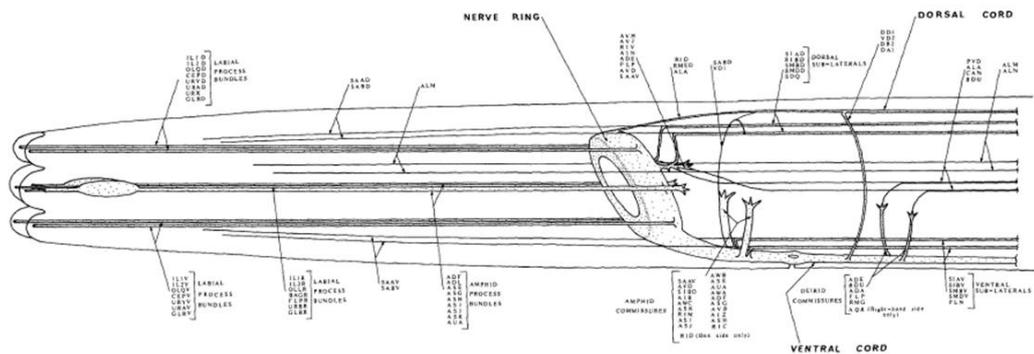


**Рис.1.** Ганглии глотки *Caenorhabditis elegans*.



**Рис.2.** Соматическая нервная система *Caenorhabditis elegans*.

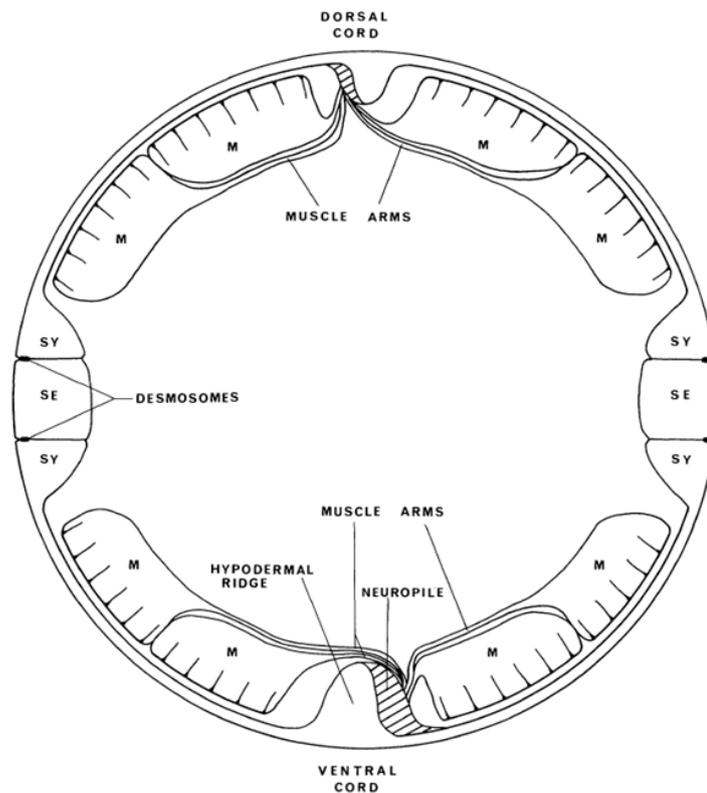
Объединяющими структурами всех ганглиев являются центральное нервное кольцо, спинной и брюшной нервные тяжи. (Рис. 3)



**Рис.3.** Строение нервной системы *Caenorhabditis elegans*.

При контакте с внешней средой происходит раздражение чувствительных сенсилл. От них непосредственно возбуждение идет через нервные продольные тяжи к окологлоточному кольцу. В центральном кольце происходит анализ полученной информации, после посылаются возбуждение к соответствующим мотонейронам через дорзальный или вентральный нервные тяжи. Если произошло тактильное восприятие от чувствительных клеток, расположенных по всему телу, то возбуждение через комиссуры распространяется по брюшному и спинному нервным тяжам и достигает окологлоточного кольца, где также происходит анализ и дальнейшее программирование реакции всего организма.

Примечательной особенностью в расположении нервных тяжей является то, что они не симметрично расположены. Такое строение связано с наличием гиподермальных валиков. (Рис.4)



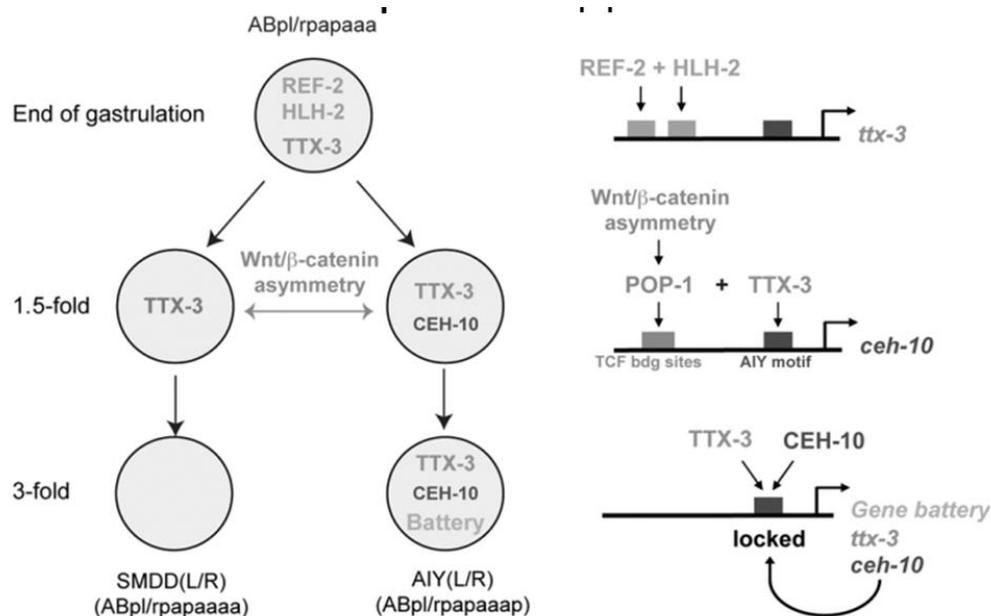
**Рис.4.** Несимметричное строение нервных тяжей *Caenorhabditis elegans*.

## Нейрогенез.

Нервные клетки у *Caenorhabditis elegans* не имеют одного основного предшественника. Всегда соседние клетки в ганглии имеют разные родословные, но путем миграции они находятся в одной ганглии.

Главный механизм нейрогенеза – ассиметричное деление. (Рис. 5 объяснения ниже)

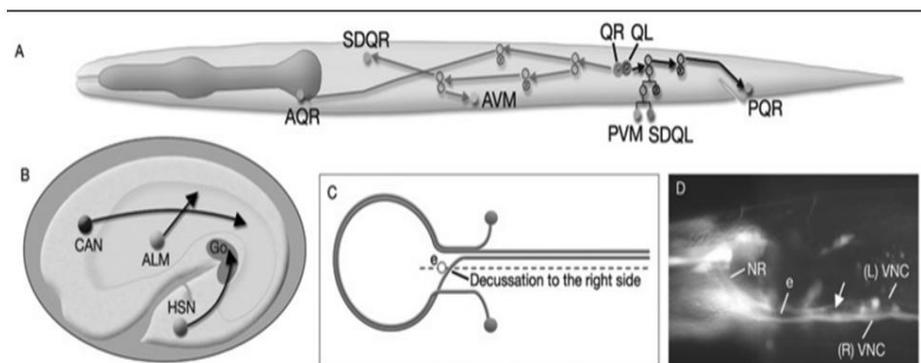
Для запуска процесса нейрогенеза клетка-предшественник должна содержать в себе транскрипционный фактор – ТТХ 3. Он имеет специальный сайт связывания с β-катенином через POP 1. Именно β-катенин и обеспечивает ассиметричное деление, которое выражается тем, что в одной из дочерних клеток остается комплекс с β-катенином. Данная дочерняя клетка может связываться с еще одним транскрипционным фактором – *ceh-10* и также способна к миграции по телу зародыша *Caenorhabditis elegans*. *Ceh-10* является блокатором дальнейшего процесса деления. Другая дочерняя клетка без β-катенина не способна к миграции, остается на месте, где она образовалась и превращается в полноценную нервную клетку.



[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK116086/#\\_\\_NBK116086\\_ai\\_\\_](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK116086/#__NBK116086_ai__)

**Рис.5.** Схема нейрогенеза у *Caenorhabditis elegans*.

На рис.5 мы видим только процесс, который происходит в одном месте тела нематоды. После деления, как мы уже знаем, одна клетка способна к миграции.(Рис.6 – представлен один из возможных путей миграции).



**Рис.6.** Миграционный путь нервных клеток *Caenorhabditis elegans*.

Процесс миграции способствует распространению нервных клеток от разных клеток-предшественниц, т.е. разных родословных по всему телу. Миграция состоит из «перемещения» клетки и «остановок». В «остановки» происходит деление клетки по схеме рис.5.

### Список литературы:

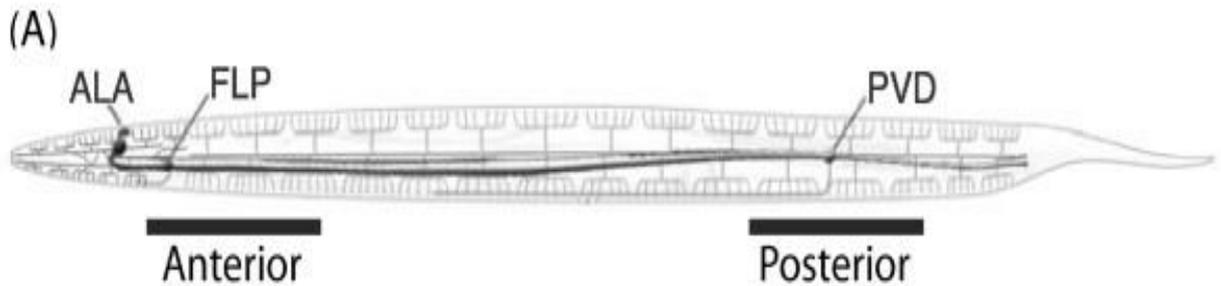
1. ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK116086/#\\_\\_NBK116086\\_ai\\_\\_](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK116086/#__NBK116086_ai__))
2. (<http://www.jstor.org/stable/2990196>)
3. (<http://www.wormatlas.org>)

## Механорецепция у *C.elegans*

*Трошев Дмитрий*

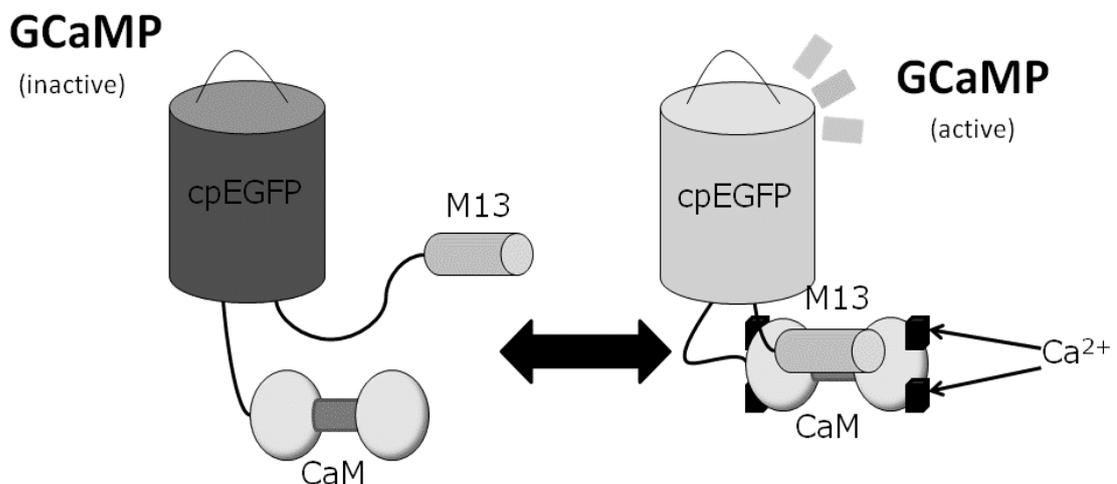
Чтобы жить в динамических средах, всем животным важно соответственно смодулировать их поведение в ответ на различную интенсивность стимула. Например, нематода *Caenorhabditis elegans* подавляет темп откладывания яиц в ответ на интенсивные механические стимулы. В исследовании использовалась ванночка с углублением, в котором скапливались отложенные нематодами яйца. В дальнейшем был совершен подсчет этих яиц. В этом процессе важное участие принимает вставочный нейрон ALA, который идет 2 длинными тяжами в латеральных частях нематоды [Jarred Sanders ,2013].

Нейроны *C.elegans*, как правило, классифицируются в три главных группы: сенсорные нейроны со специализированными сенсорными дендритами, вставочные нейроны и мотонейроны с нервно-мышечными соединениями. ALA может автономно ощутить интенсивное прикосновение и является нейроном двойной функции, т.е., вставочным нейроном, а также высокопороговым механорецептором.



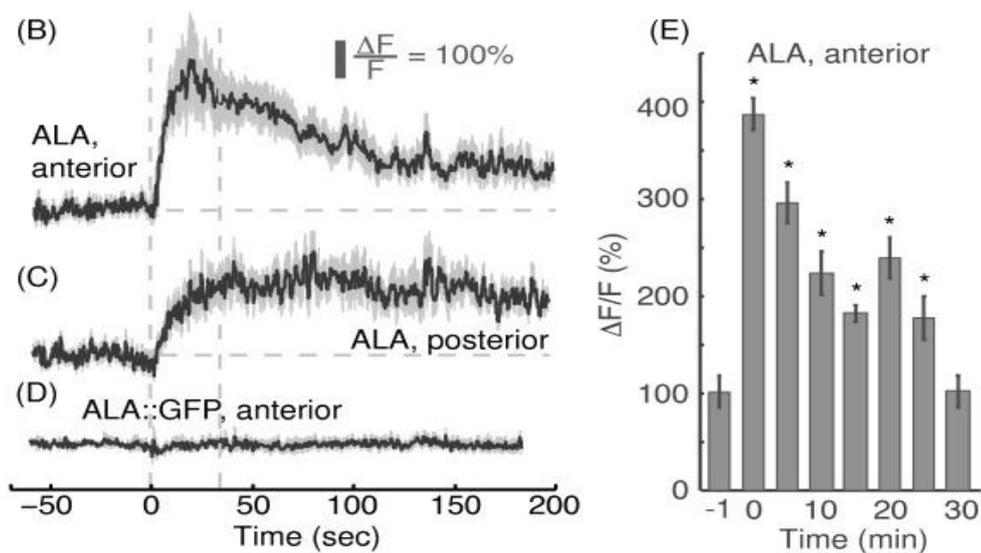
**Рис.1.** Расположение нейронов ALA у *C.elegans*.

Имеется связь со многими проприорецепторами как в передней, так и в задней части тела. Нейрон ALA (на Рис. 1 показан красным) имеет связи с проприорецепторами FLP и PVD. Двойственность функций нейронов ALA была показана при помощи GCaMP, который состоит из GFP (green fluorescent protein), калмодулина и белка M13. Когда кальций связывается с кальциевыми ручками калмодулина, этот комплекс активируется и дает зеленую флуоресценцию. Таким образом возможно зафиксировать активирующиеся клетки под микроскопом. Механорецептор ALA активировался при растяжении мембраны и открытии неселективного катионного канала (каналы TRP суперсемейства) и входил кальций.



**Рис.2.** Активация GCaMP при связывании с кальцием.

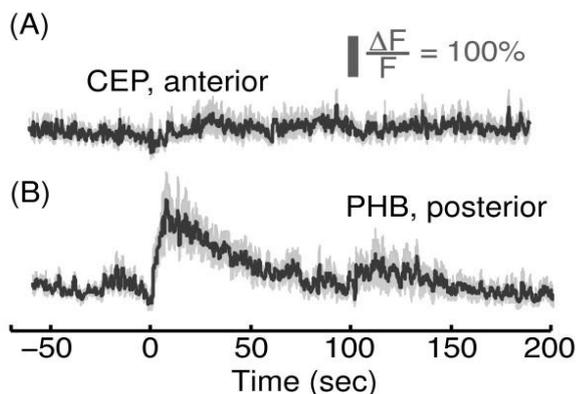
За 100% принимался уровень флуоресценции без механического действия на объект (D). Тут это фоновое значение. Стимуляция проводилась 1 минуту платиновой пластиной с покрытием или без него. В это время нематоды находились на подложке с углублением, которая была покрыта тонким слоем бактерий. Флуоресценцию измеряли каждые 5 минут в течение 20 секунд (Рис. 3E). Ответ был получен и в передних, и в задних частях ALA. К фоновому уровню флуоресценция вернулась через 30 минут после начала стимуляции пластинкой.



**Рис.3.** Флуоресценция в ALA после стимуляции.

На Рис. 3D показан фоновый уровень без стимуляции.

Аналогичным способом были проанализированы ответы чувствительных нейронов переднего конца (CEP) и плазмидчувствительных нейронов, активирующихся при лазерном удалении (PHB), когда есть механическое повреждение и давление.

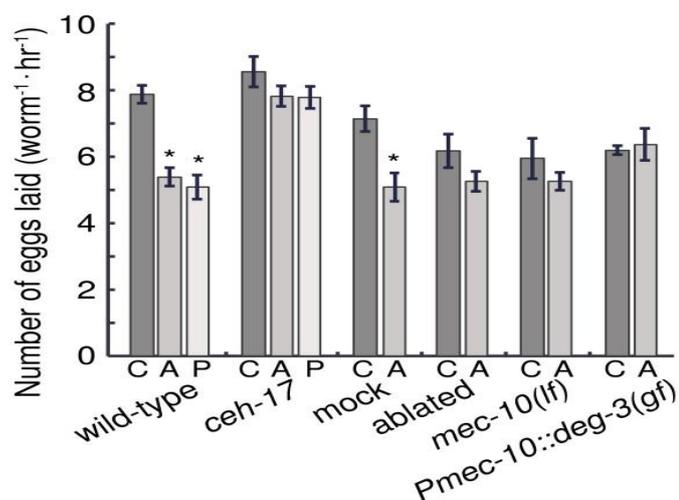


**Рис.4.** Ответы чувствительных нейронов у *C.elegans*.

ALA реагирует на пришедшие от других механорецепторов сигналы, но повышенная флуоресценция наблюдается и при прикосновении к ALA автономно. Кроме того, различия во временной динамике ответов на прикосновение к передней части и к задней свидетельствуют, что нейрон, ощущающий стимул, может отличать различные пространственные отношения стимулов вдоль тела животного. ALA реагирует теми частями, ближе к которым раздражение проприорецепторов, т.е передают сигнал дальше, выполняя функцию интернейронов.

Мутация, которая ослабляет дифференцирование ALA, инактивировала уменьшенное отложение яиц в ответ на прикосновение платиновой пластинки (Рис.5). Экспрессия *CEH-17* выражена в ALA и холинергические нейроны головы *SIA*. *CEH-17* вовлечен в продольную аксональную навигацию и дифференцирование ALA. При сравнении количества отложенных

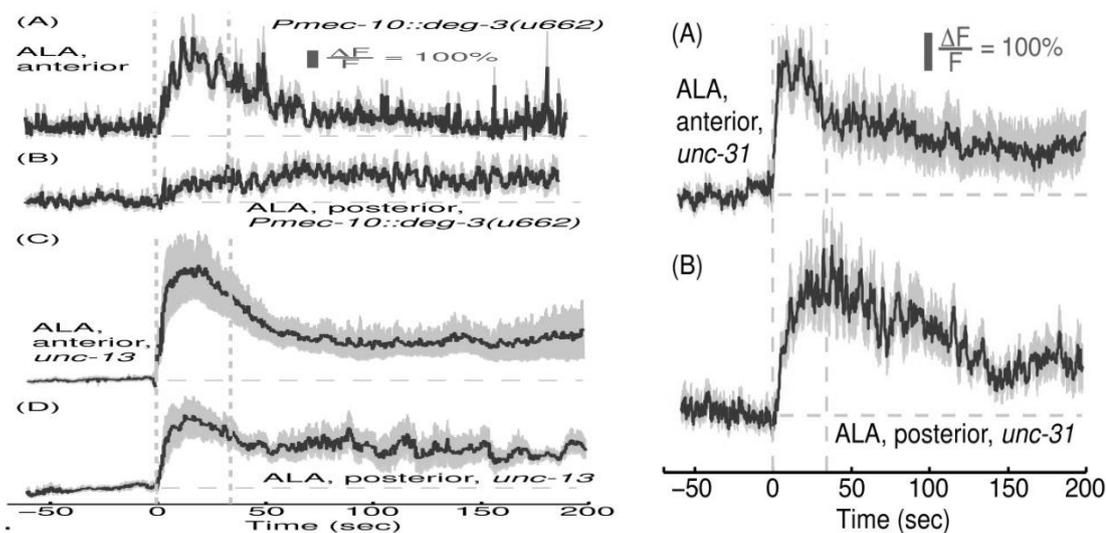
яиц в специальную лунку на подложке у дикого типа и мутантов по *CEH-17* видно, что не происходит значимого уменьшения отложенных яиц у мутантов.



**Рис.5.** Количество отложенных яиц у мутантных особей и особей дикого типа.

Для точного определения участия ALA в процессе отложения яиц нематодами при прикосновении клетки-предшественники ALA были удалены лазером на личиночной стадии. У взрослых *C.elegans* после удаления не отмечали значимого уменьшения отложенных яиц. Небольшое отклонение объяснялось последствиями операции.

Было показано при мутации различных генов механорецепторов, связанных с ALA, что они важны для количества вошедшего кальция, но и без них ответ будет схожим (двойственность функций). Мутации были в *PVD*, *FLP* и еще 6 высокопороговых механорецепторах. Примером может служить мутация nAChR субъединицы ионотропного канала, которое не повлияло на раздражение передней части нематоды (Рис. 6). На активность ALA не влиял: выброс нейрпептида (Ген *unc-31* кодирует белки CAPS являющиеся цитозольными факторами, требуемыми для активируемого  $Ca^{2+}$  экзоцитоза в нейроэндокринных клетках.



**Рис.6.** Активность ALA после стимуляции у мутантных особей.

С двух сторон симметричные ALA были перерезаны лазером, физиологические ответы на стимулы, которые были произведены на переднюю часть тела (вверх от этого места сокращения сохранялись, в то время как ответы на стимулы на следующей стороне (вниз от места перерезки) сокращения были устранены). Результаты показаны на Рис. 7.

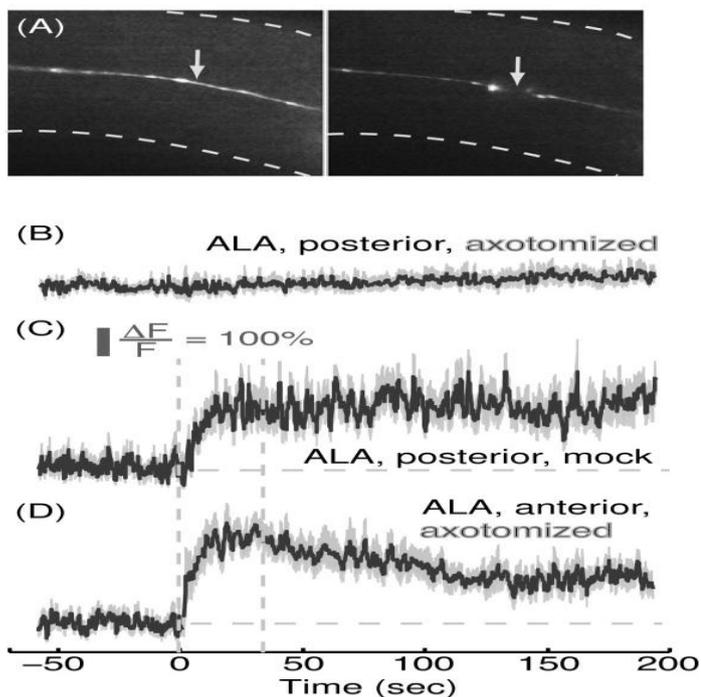


Рис.7. Активность ALA после лазерной перерезки.

### Общие данные по механорецепции у *C.elegans*.

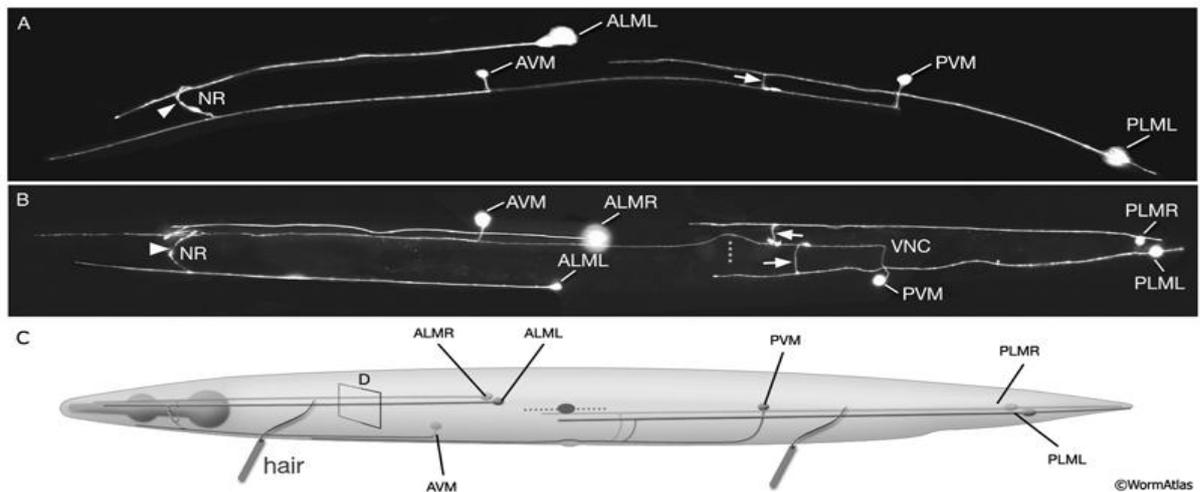
Механорецепторы попадают в три класса согласно их цитоскелетной специализации [Herman, 1995 ] :

- (1) механорецепторы со снабженными ресничками сенсорными окончаниями;
- (2) нейроны рецептора прикосновения большого диаметра с 15-протофиламентами;
- (3) нейроны содержащие участки без синапсов и недифференцированным цитоскелетом;

### Механически закрытые ионные каналы, которые активируются прикосновением:

Эти каналы обычно формируются двумя суперсемействами белков:

- 1) Каналы TRP, которые являются неселективными катионными каналами, состоящими из 4 субъединиц с шестью трансмембранными  $\alpha$ -спиралями
- 2) Гетеротримерных каналов DEG/ENaC, которые являются водными каналами, проницаемыми для натрия и иногда для кальция.

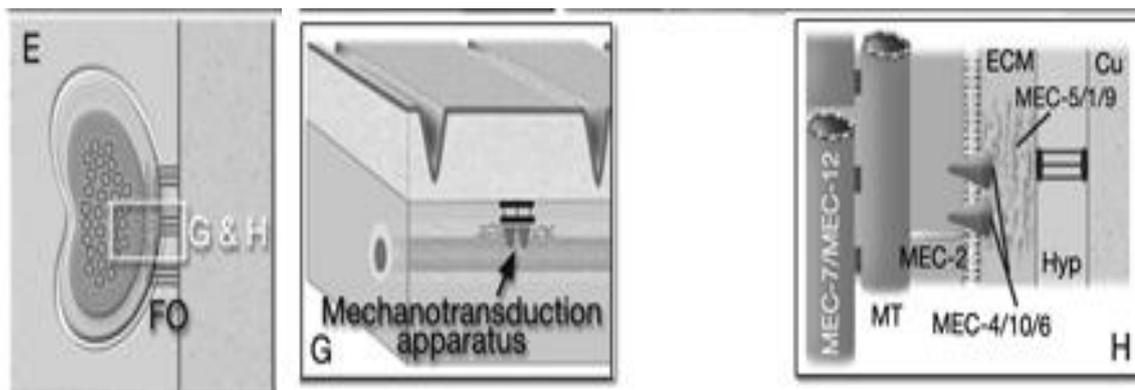


**Рис.8.** Расположение механорецепторов у *C.elegans*.

ALM и клетки PLM рождаются во время эмбриогенеза на ранних этапах дифференцировки. Клетки ALM мигрируют сзади, этот процесс заканчивается перед стадией удлинения эмбриона [Sulston и др., 1983; Chalfie, 1993].

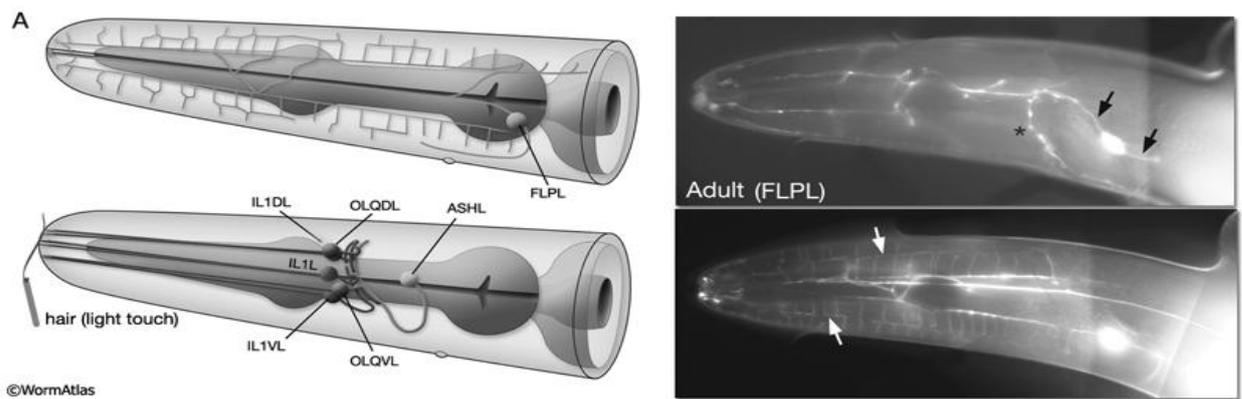
Два других нейрона-механорецептора, AVM и PVM, рождаются постэмбрионально спустя приблизительно 9 часов после штриховки в 20°C.

Механосенсорная система достигает полного развития через 36-48 часов после дробления [Chalfie and Thomson, 1979]. Во время эмбриональной разметки механочувствительные нейроны расположены смежно с мышцей и стенкой тела. Во время процесса личиночного развития механочувствительные нейроны заключаются в гиподерму ниже кутикулы. Механочувствительные нейроны обрабатывают информацию при помощи специальных волокон, подыбных волокнам в мышечных (FO) [Goodman, 2003]. Существует много комплексов механотрансдукции (Рис. 9).



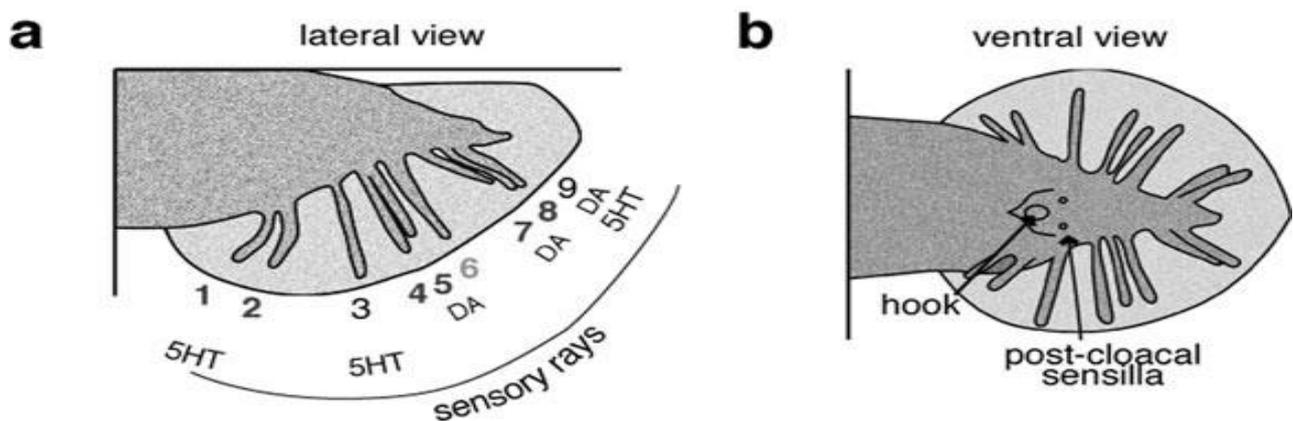
**Рис.9.** Способы механотрансдукции у *C.elegans*.

Есть специальная чувствительность передней части тела (по Chalfie). Одна из ветвей заканчивается в снабженном ресничками окончании близко к боковым внутренним сенсиллам (Рис.10).



**Рис.10.** Механорецепторы передней части *C.elegans*.

У мужских особей на заднем конце тела есть специальный орган, состоящий из тридцати шести определенных сенсорных нейронов, которые возбуждают девять двусторонних пар сенсорных лучей (Рис .11). Сенсилла крюка содержит два сенсорных нейрона, в то время как спикула возбуждена четырьмя нейронами (SPDL, SPDR, SPVL, SPVR). *C. elegans* выполняет серию стереотипных поведенческих актов во время спаривания. Предполагаемые механорецепторы в мужском хвосте играют существенную роль в каждом шаге этого поведения.



**Рис.11.** Специальные “мужские” механорецепторы у *C.elegans*.

### Список литературы:

- 1) Sanders J, Nagy S, Fetterman G, Wright C, Treinin M, Biron D. BMC Neurosci. 2013 Dec 17;14:156. doi: 10.1186/1471-2202-14-156.
- 2) Herman, R.K. 2005. Touch sensation in *Caenorhabditis elegans*. Bioessays **18**: 199-206.
- 3) Sulston, J.E., Albertson, D.G. and Thomson, J.N. 1980. The *Caenorhabditis elegans* male: postembryonic development of nongonadal structures. Dev Biol. **78**: 542-576.
- 4) Chalfie, M. 1993. Touch receptor development and function in *Caenorhabditis elegans*. J. Neurobiol. **24**: 1433-1441.

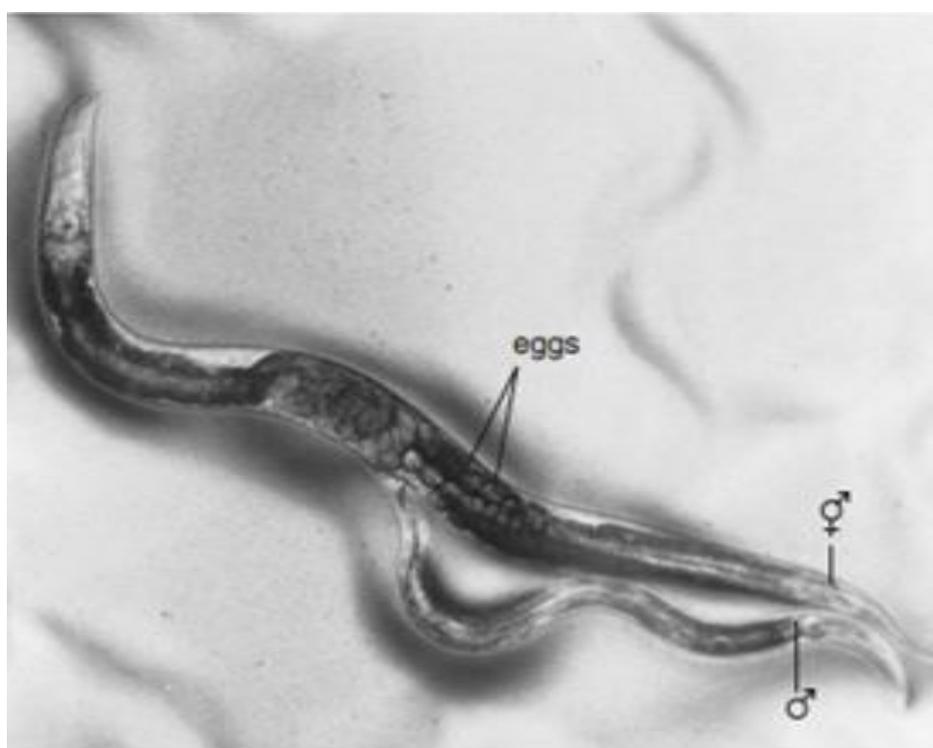
5) Chalfie, M. and Thomson, J.N. 1979. Organization of neuronal microtubules in the nematode *Caenorhabditis elegans*. J. Cell Biol. **82**: 278-289.

6) Goodman, M.B. and Schwarz, E.M. 2003. Transducing touch in *Caenorhabditis elegans*. Annu. Rev. Physiol. **65**: 429–452.

## Половая система и половое поведение *Caenorhabditis elegans*.

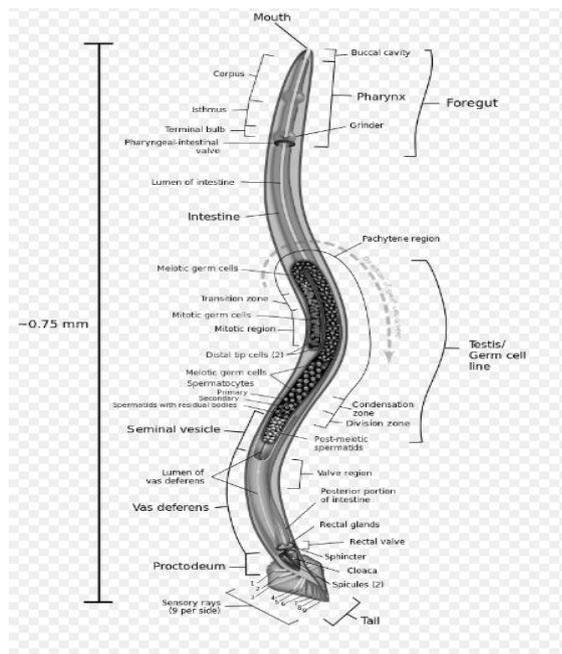
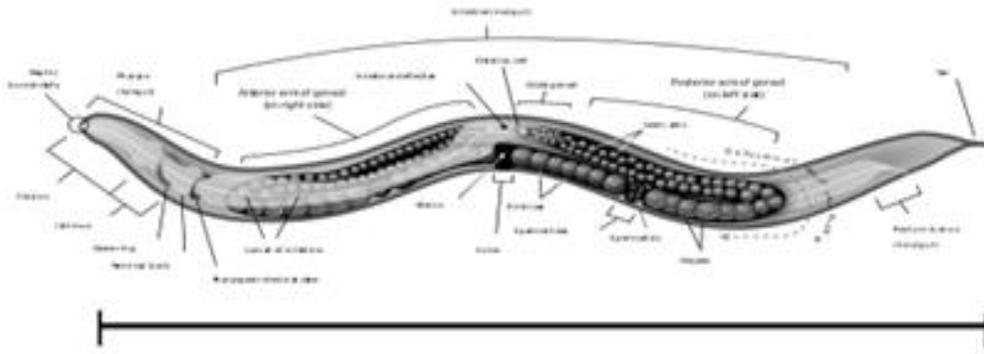
Гущина Екатерина

У *Caenorhabditis elegans* два пола, самцы (по хромосомному составу - X0) и гермафродиты (XX), пол определяется механизмом XX — X0, значение имеет отношение числа X-хромосом к числу наборов аутосом.



**Рис.1.** Процесс оплодотворения

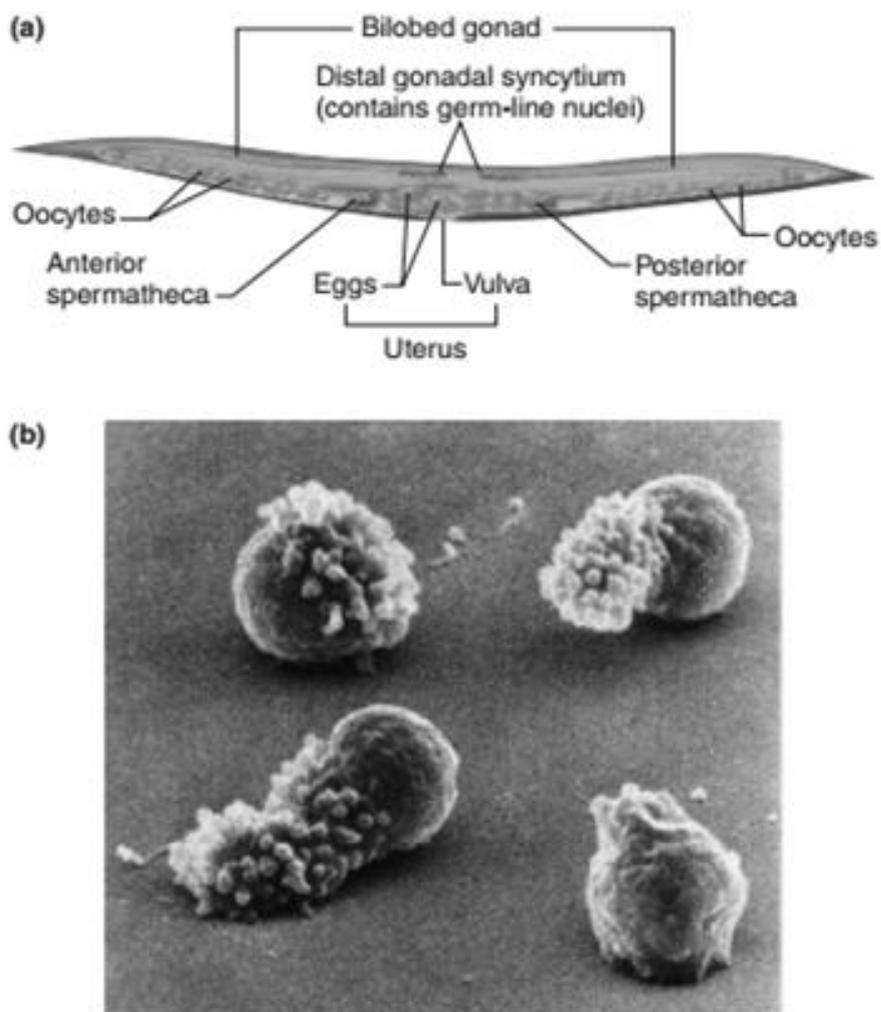
На рис.1 животные ориентированы в противоположенных направлениях во время спаривания: символ, обозначающий самца, находится возле головы, в то время как для гермафродита располагается около хвоста. Тело *Caenorhabditis elegans* является прозрачным, что позволяет визуализировать внутренние структуры. На этой фотографии видны яйца внутри гермафродита.



**Рис.2.** Внешний вид гермафродита (сверху) и самца (снизу).

Гермафродиты производят как ооциты, так и сперматозоиды. При отсутствии самцов в среде, гермафродиты могут размножаться путем самооплодотворения. В дикой природе спаривание способствует смешиванию генофонда. Типичный гермафродит производит 200-300 сперматозоидов и большое количество ооцитов. Он может производить потомство в количестве 200-300 особей путем самооплодотворения и более 1000 особей потомства, когда оплодотворение происходит с помощью самца.

На рис.2 показана внешняя особенность, с помощью которой можно отличить особей-разница в форме хвостовой части: простая форма у гермафродита, а у самцов веерообразная, специализированная для спаривания.

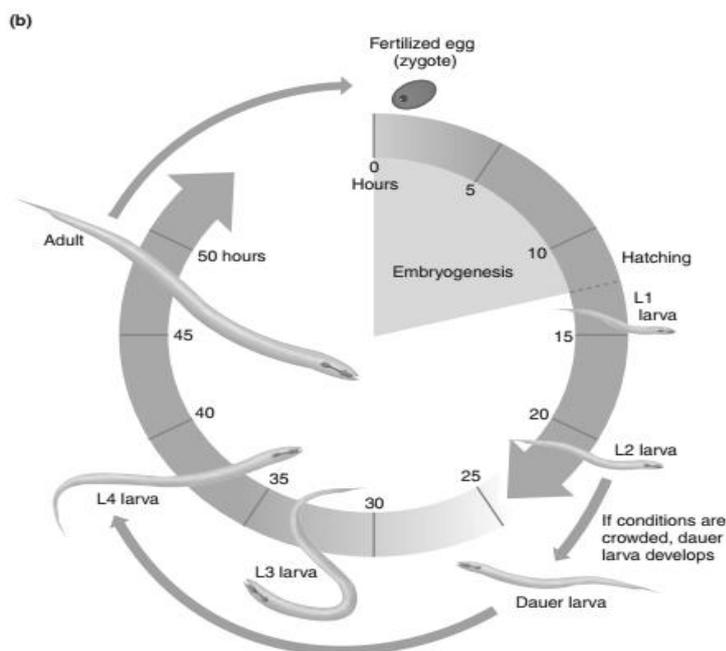


**Рис.3.** а - Репродуктивная система гермафродита, б – электронная микрофотография спермы *Caenorhabditis elegans*.

Половые клетки гермафродита находятся в двулопастных гонадах (рис.3а). По мере продвижения от дистального к проксимальному концу, ядра находятся в мейозе. При этом в течение короткого периода отдельные ядра отходят для формирования спермы.

Яйцеклетки двигаются через яйцевод к центральной матке. В конце каждого яйцевода находится сперматека - камера для хранения спермы. Оплодотворение происходит, когда сперматозоиды проходят из сперматеки в матку и сливаются с ооцитами, где оплодотворенные яйца начинают развиваться. Яйца выходят из матки через вульву (половое отверстие гермафродита).

Для осуществления перекрестного оплодотворения, самец лежит рядом с гермафродитом и скользит своим веерообразным хвостом вдоль гермафродита. Из матки сперма мигрирует в сперматеку. Там сперма самца каким-то образом получает преимущество над спермой гермафродита, таким образом через несколько часов после спаривания, гермафродит производит потомство. На рисунке 3б изображена сперма *C. Elegans*. Эти клетки амeboидной формы не умеют плавать, вместо этого они ползают по поверхности путем выпячивания и втягивания ложноножки [1].



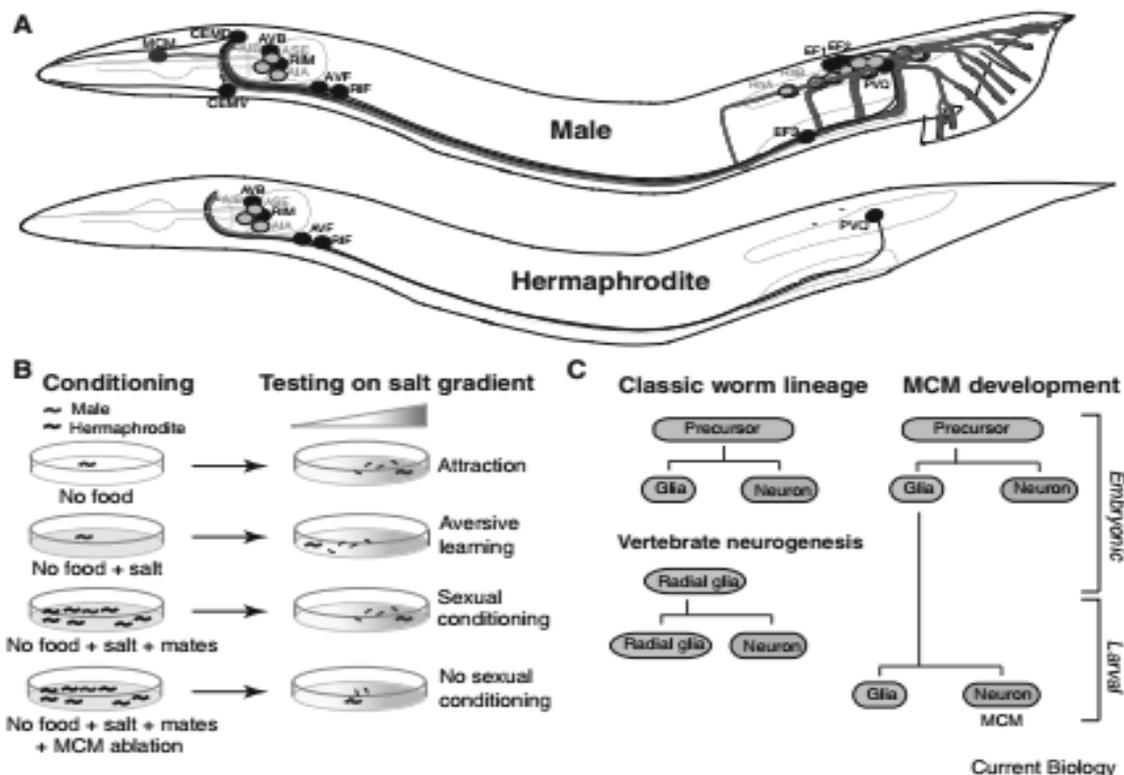
**Figure C.5 Stages of *C. elegans* development.** (a) Embryonic development of *C. elegans*. Several of the earliest cell cleavages in the embryo are unequal; for example, the first mitotic division produces a larger AB daughter cell and a smaller P<sub>1</sub> daughter cell (*panel c*). Gastrulation begins at the 28-cell stage as the two cells marked with a small *E* move into the embryo's interior (*panel g*). Later on, the embryo adopts a wormlike shape prior to hatching (*panel i*). (b) The *C. elegans* life cycle. Embryogenesis, the time period illustrated in part (a), is highlighted in yellow. Under unfavorable environmental conditions, L2 larvae can molt into dormant, long-lived dauer larvae.

**Рис.4.** Жизненный цикл *Caenorhabditis elegans*.

Эмбриональное развитие начинается в матке гермафродита с секреции жесткой хитиновой оболочки вокруг оплодотворенной яйцеклетки. Примерно через 14 часов после оплодотворения личинка L1 вылупляется из яичной скорлупы. Постепенно личинка будет увеличиваться в размере. В течение следующих 50 часов развитие протекает через три дополнительные личиночные стадии: L2, L3 и L4, разделенных друг от друга линьками. Во время каждой линьки *Caenorhabditis elegans* синтезирует новую кутикулу под старой кутикулой, а затем сбрасывает устаревшую. Структуры этих кутикул отличаются от одного этапа к другому. Производство спермы начинается у гермафродитов и самцов во время стадии L4. После завершающей линьки (L4-стадии) гермафродит зародышевой линии переходит на производство только ооцитов.

При неблагоприятных условиях окружающей среды, личинки L2 могут переходить в состояние неактивных, долгоживущих личинок Dauer. Dauer личинки стрессоустойчивы, могут оставаться на этой стадии в течение нескольких месяцев благодаря специализированной кутикуле, которая предотвращает высыхание. По всей видимости *C. elegans* может остановить жизненный цикл и перезапустить в ответ на экологические сигналы.

## Нейроны, контролирующие половое поведение:



**Figure 1. Connectivity, behavioral output, and lineage of the newly discovered male-specific MCM neurons.**

(A) Schematic of male *C. elegans* showing MCM neuron location, morphology, and synaptic partners (black neurons: AVB, AVF, CEMD/V, RIF, PVQ, EF1-3). Neurons in grey are not connected to MCM but are involved in salt sensation, sexual conditioning, and chemosensory plasticity (AIB, AIA, ASE, ray neurons RnAs-RnBs). Hermaphrodite schematic shows shared neurons for comparison. (B) Depiction of salt-avoidance learning paradigm with no food, and male-specific sexual conditioning that reverses salt avoidance in response to mates (worm behavior during testing shown by red dotted line). Sexual conditioning is lost in males lacking MCM neurons. (C) Classic *C. elegans* lineage showing differentiation of neurons and glia from precursor blast cell compared with vertebrate neurogenesis lineage from radial glia, and MCM neurogenesis from glial cell.

**Рис.5.** Половой диморфизм: MCM нейроны, контролирующие половое поведение.

Недавно была сделана работа, которая сообщает об обнаружении пары ранее неизвестных нейронов у самцов, названных MCM-нейронами (mystery sells of the males, MCML и MCMR, для левого и правого соответственно).

Нервная система гермафродита содержит 302 нейрона, для которых описан полный коннектом. Кроме того, известна родословная, в том числе происхождение каждого нейрона гермафродита. Нервная система самцов *C. elegans* содержит в общей сложности 385 нейронов, 294 из которых совпадают с нейронами гермафродита, а 91 специфичны для самцов. На рисунке 5 А показано местоположение MCM нейронов у самцов и их взаимодействие с другими нейронами, на рисунке 5В поведение, а на 5С родословная MCM нейронов.

И гермафродит и самец *C. elegans* демонстрируют классические условные рефлексy и способность к ассоциативному обучению. Гермафродиты и самцы будут избегать соли, после того как приучены к ассоциированию соли и голода. Только самцы подвергаются активации полового поведения, если объединение соли и голодания осуществляется в присутствии гермафродитов (рис 5 В). При абляции МСМ нейронов половое поведение не наблюдается, что указывает на специфичность МСМ-нейронов в половом поведении [2].

У *C. elegans* в основном нейроны возникают из недифференцированных бластов, а МСМ нейроны возникают из дифференцированных глиальных клеток. (рис 5 С). Будущие эксперименты по МСМ нейронам покажут, как конкретное половое поведение может быть под контролем определенных нейроанатомических структур.

### Список литературы:

1. Hart M.P., Hobert O. Sexual Dimorphism: Mystery Neurons Control Sex-Specific Behavioral Plasticity // *Current Biology*. 2015. № 24 (25). С. R1170–R1172.

2. Ludimar Hermann | Portraits of European Neuroscientists [Электронный ресурс]. URL: <http://neuroportraits.eu/portrait/ludimar-hermann> (дата обращения: 28.10.2015).

## Пищевое поведение *Caenorhabditis elegans*

*Бакаева Агата*

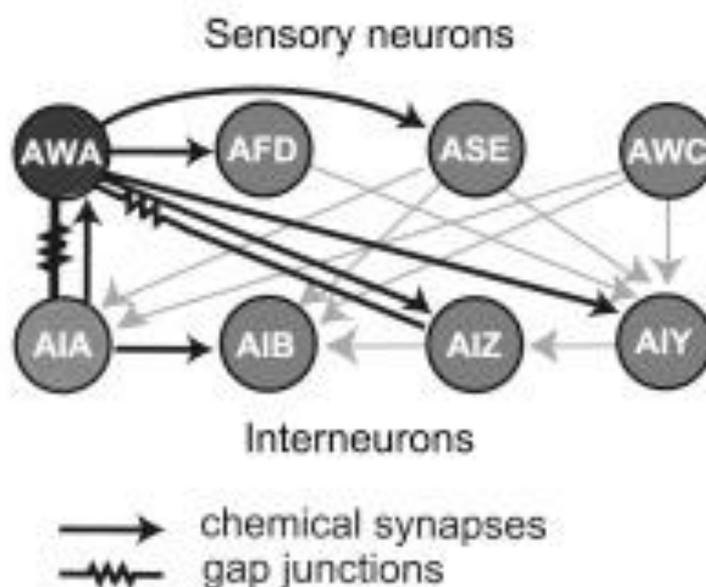
Активность и физиологическая стабильность животного напрямую зависит от качества и количества потребляемой пищи. Поэтому каждый биологический организм обладает специализированным пищевым поведением, т.е. сложившимся комплексом взаимодействия с окружающей средой, обеспечивающим нормальный процесс добычи и приема пищи. Даже для скромного на первый взгляд червя *Caenorhabditis elegans* (свободноживущая нематода) присущи некоторые особенности. Для начала, необходимо указать какие именно аспекты поведения как такового мы будем обсуждать в данной статье:

- Паттерн (пищевой) – основополагающая программа (повторяющаяся, неизменная)
- Стратегия (пищевая) – долгосрочное качественно определенное направление развития системы, в том числе биологической

Если говорить о паттерне, то для нематод пищевое поведение основывается на хемотаксисе, т.е. на целенаправленном движении по направлению к химическому агенту или от него. Группа нейробиологов из Рокфеллеровского университета детально изучила механизмы хемотаксиса у круглых червей. Для определения связи между активностью нейронов и целостным поведением были использованы методы микрофлюидики, а именно отслеживалась концентрация кальция в сенсорных нейронах АWA и интернейронах А1А. В

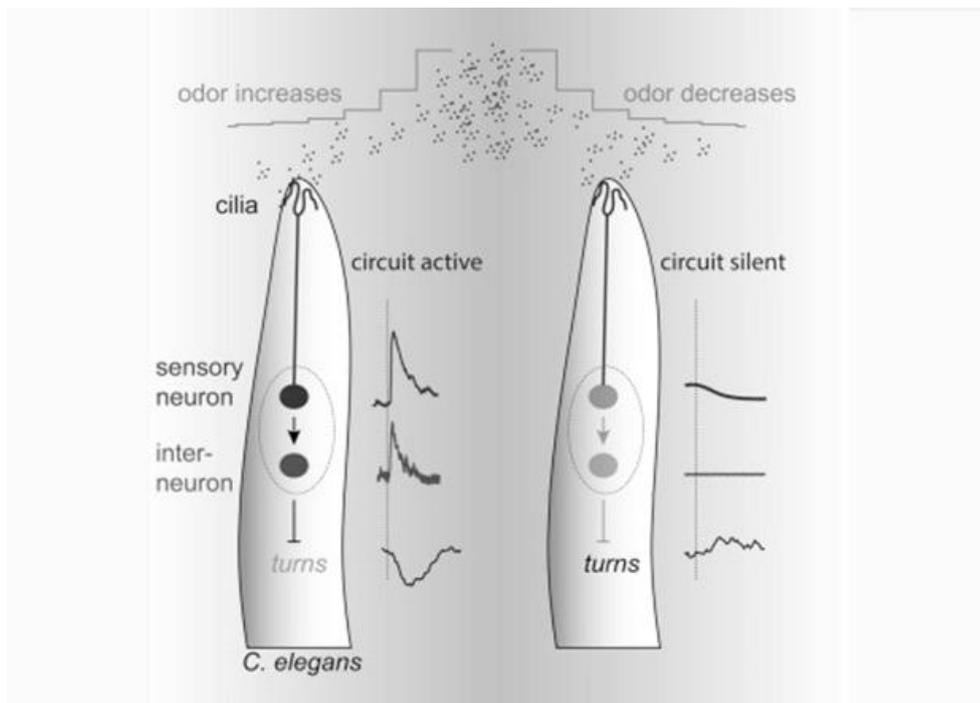
качестве химического агента был выбран диацетил  $C_4H_6O_2$ , т. к. именно это вещество вырабатывают колонии кишечной палочки (*Escherichia coli*). Результатом исследований стало обнаружение следующего механизма: изначально сенсорные нейроны чувствительны даже к малейшим повышениям концентрации диацетила. С течением времени концентрация химического агента устанавливается на определенном уровне, что приводит к адаптации и уменьшению чувствительности клеток. Данную сенсорную цепь, состоящую из афферентных и вставочных нейронов, способно активировать лишь очередное повышение концентрации диацетила.

Важно также отметить, что цепь включает не только нейроны AWA и AIA, однако им отводится ведущая роль (рис. 1).



**Рис.1. Исследуемая сенсорная цепь.** оригинальное описание из статьи( источник I): A Neural Circuit for Chemotaxis toward Defined Concentrations of Diacetyl. The AWA circuit. (Top) Part of the *C. elegans* wiring diagram (White et al., 1986), emphasizing synaptic connections between AWA olfactory neurons and other sensory neurons and interneurons. Each sensory neuron has additional targets, and each interneuron integrates input from additional sensory neurons. (Bottom) Schematic illustration of AWA and AIA. AWA detects odors via cilia on the distal sensory dendrite and forms axonal gap junctions with AIA interneurons.

Очевидно, такой механизм обеспечивает «качующее» передвижение животного – по градиенту, в сторону большей концентрации питательного вещества. Общая схема полученных результатов представлена на **рисунке 2**:



**Рис.2.** Хемотаксис *C. elegans*

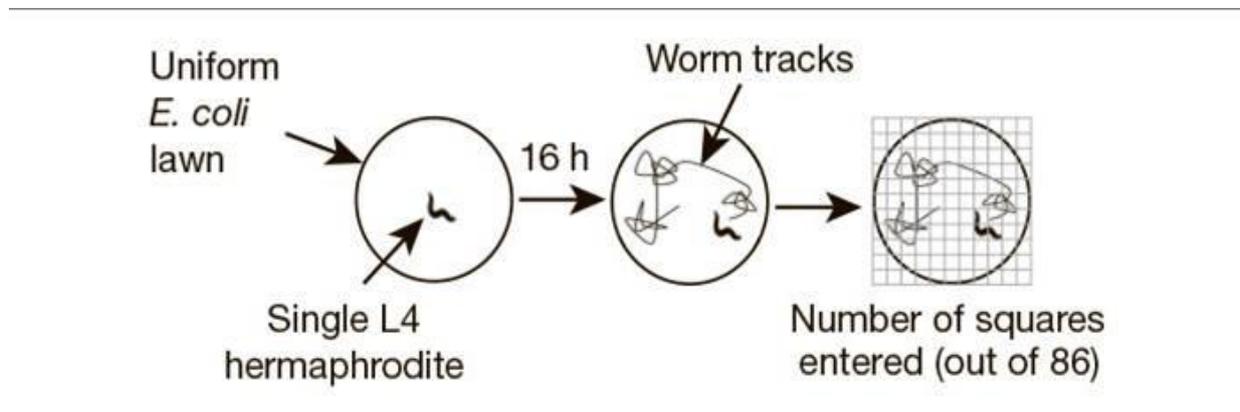
Теперь перейдем к обсуждению следующего пункта, а именно пищевой стратегии. При изучении различных групп позвоночных и беспозвоночных была замечена определенная модель, характерная, главным образом, как раз для половых и пищевых отношений. В основе такой модели лежат определенные зависимости между численностью и активностью организмов, а также соотношения морфологических групп особей. Конкретно для круглых червей такая стратегическая модель выполнима благодаря феромонам – *аскарозидам*, т. е как и многие другие животные нематоды используют феромоны для некоего показателя «плотности населения».

Таким образом, пищевая стратегия оказывается ситуативной, т. к. при высокой концентрации сигнальных биомолекул двигательная активность, направленная на поиск пищи, снижается, а при незначительных количествах аскарозид в среде, наоборот, стимулируется.

Однако для популяций *Caenorhabditis elegans* обнаружен наследственный диморфизм по чувствительности к одному из феромонов: при увеличении его концентрации только часть особей снижают активность. Разгадкой этого вопроса занялись американские генетики, и пришли они к интересному выводу: своей сохранностью диморфизм обязан балансирующему отбору. С точки зрения эволюции, главное, что приносит балансирующий отбор это расширение адаптивных способностей популяции, т. к. условия среды постоянно меняются, и для сохранения вида необходимо быть «гибким» хотя бы на уровне популяций.

**Получается, что слабо чувствительные к определенному феромону особи оказываются в выигрышном положении при неравномерном распределении пропитания на площади.**

Конечно, такую зависимость еще нужно доказать. Для этого исследователи применили следующую методику: червей помещали в чашку Петри, агаровая поверхность которой состояла из питательного газона в виде *E. coli*. Спустя 16 часов по следам ползания подсчитывалось число квадратов, посещенных *C. elegans*. (см. рис. 3)

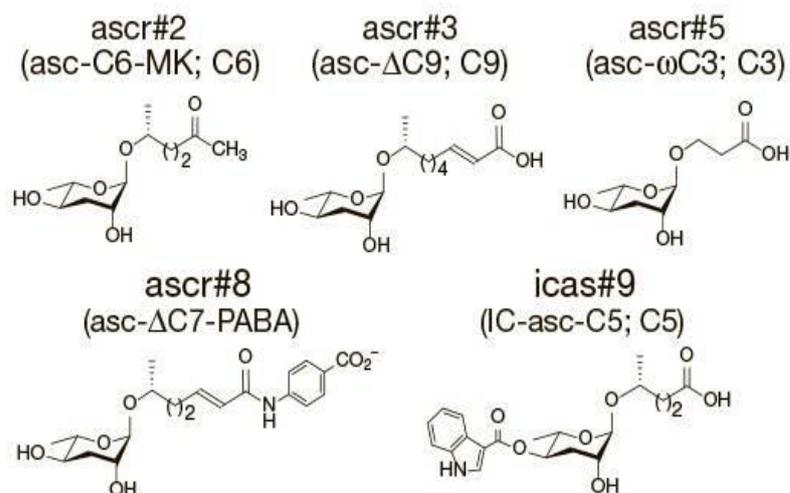


**Рис.3.** Схематическое изображение экспериментальной части исследования зависимости пищевого поведения от концентрации аскарозидов.

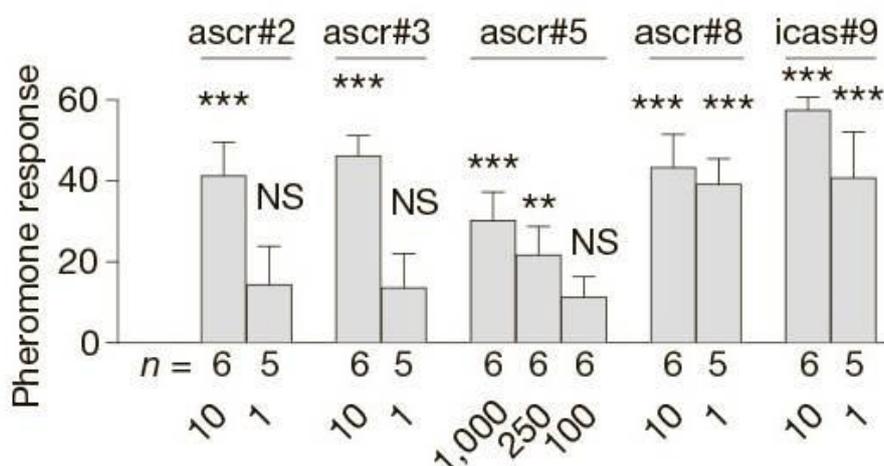
Далее изменялся состав среды путем добавления различных феромонов нематод. В результате удалось выявить 5 типов аскарозидов, влияющих на двигательную активность круглых червей (рис. 4а). Особенно ярким эффектом обладает аскарозид № 9 (рис. 4б), реакцией именно на этот феромон отличаются подвиды свободноживущих нематод. В следствие различных реакций на icas#9 выделяются 2 группы:

- I группа даже при незначительном повышении концентрации аскарозида № 9 переходит в так называемое оседлое состояние (dwelling state)
- II группа продолжает активно искать пищу, сохраняя подвижное состояние (roaming state).

Первая группа получила название штамма N2, вторая (нечувствительная) – MY14. Методами генетического анализа был обнаружен ген SRX-43: - локус *roam-1* (гаплотипы MY14 и N2) хромосомы V. Именно на эти два аллельных варианта данного локуса (MY14 и N2) и действует балансирующий отбор, который дает преимущество то одному, то другому варианту, не позволяя им вытеснить друг друга.



**Рис.4а.** Типы аскаротидов (icas/ascr) изменяющих активность круглых червей.



**Рис.4б.** Влияние различных аскаротидов на двигательную активность червей. Высота столбиков отражает силу реакции на феромон, то есть то, насколько меньше квадратов координатной сетки посетил червь за 16 часов в присутствии феромона по сравнению с контрольным опытом без добавления феромона. Непосредственно под горизонтальной осью показано количество протестированных червей, ниже указана концентрация феромона. Рисунок из обсуждаемой статьи в *Nature*

#### Подведем итоги:

- Пищевой паттерн червей *Caenorhabditis elegans* основан на хемотаксисе, химический агентом, в основном, является диацетил
- Неизменность концентрации химагента приводит к адаптации и уменьшению чувствительности клеток, поэтому для активации сенсорной цепи необходимо новое повышение концентрации вещества
- Пищевая стратегия, обусловленная аскаротидами, зависит от численности конкурентов и их подвида и поддерживается балансирующим отбором
- Общий план реакции: физиологические сигналы → ответ нервных клеток → выделение нейромодуляторов → изменение активности нейронных сетей
- Штамм MY14 обладает низкой чувствительностью к icas#9, штамм N2 — высокой

- Такое различие обусловлено существованием двух аллелей гена SRX-43 (хромосома V)

### Примечания:

- Хеморецепторный орган круглых червей – *амфида*
- Микрофлюидика – наука, описывающая поведение малых (порядка микро- и нано-) объемов и потоков жидкостей
- Главная пища свободноживущих нематод – бактерии *E. coli*
- Эксперименты на *C. elegans* ставить удобно, потому что не нужно придумывать сложных ухищрений, чтобы предотвратить скрещивание конкурирующих штаммов, ведь есть только самцы и гермафродиты.

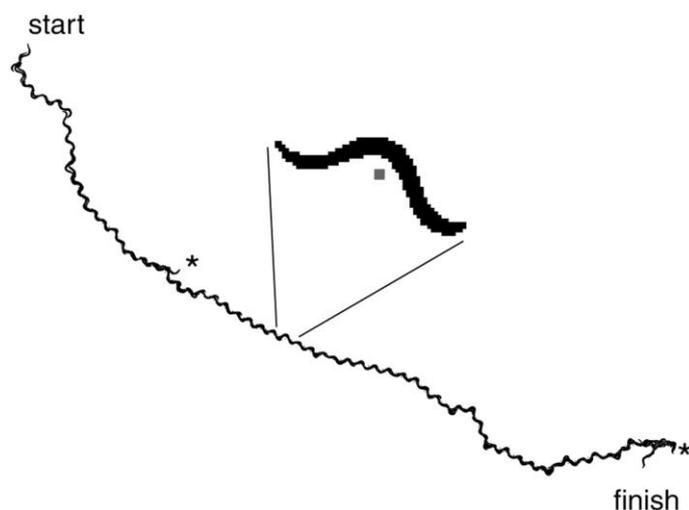
### Источники литературы:

1. Joshua S. Greene, Maximillian Brown, May Dobosiewicz, Itzel G. Ishida, Evan Z. Macosko. Balancing selection shapes density-dependent foraging behaviour // *Nature*. 14 September 2015 .
2. Johannes Larsch, Steven W. Flavell, Qiang Liu, Andrew Gordus, Dirk R. Albrecht, Cornelia I. Bargmann. A Circuit for Gradient Climbing in *C. elegans* Chemotaxis // *Cell Reports*. Volume 12, p1748–1760, 22 September 2015

## Оборонительное поведение *Caenorhabditis elegans*

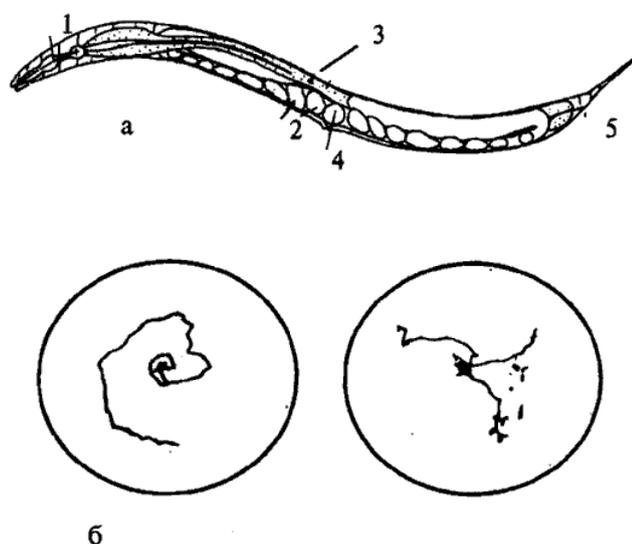
Мазина Софья

Поведение нематоды выражается в изменении ее локомоции. Передвижения нематоды, ввиду ее очень малых размеров, изучаются посредством регистрации следов, которые она оставляет на поверхности агар-агара в чашке Петри. Так, движения червя представляют собой синусоидальные волны вдоль длины его тела: если эти волны распространяются от головы к хвосту, то животное движется вперед, если от хвоста к голове – назад.



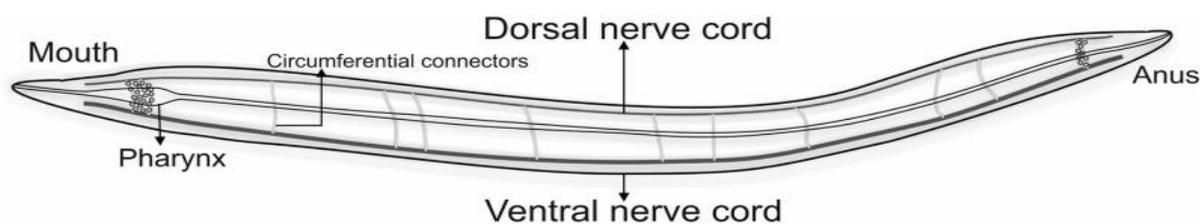
**Рис.1.** След, образованный локомоторными движениями нематоды. Звёздочка – место движения «вспять» в результате активации паттернов оборонительного поведения.

Также этим способом изучают нарушения движений у различных мутантов. Например, при мутации *roller* червь перемещается, переворачиваясь через головной и хвостовой концы, а при мутации *bent head* изменена анатомия головного конца, и вместо обычных "рыскающих" движений перемещение идет по спирали.



**Рис. 2.** (а) – схема тела червя: 1 – головной отдел, 2 – яйцевод, 3 - половое отверстие, 4 – яйцо, 5 – хвостовой отдел. (б) - Следы на агар-агаре, сделанные нематодой дикого типа с нормальными движениями (слева) и двумя нематодами с мутацией *bent—head*, влияющей и на скорость движения, и на координацию мышц туловища

Движения червя обеспечиваются элементами брюшной нервной цепочки. Ее нейроны и их соединения хорошо описаны, известны также и эмбриональные клетки-предшественницы этих нейронов. Выделяют пять классов нейронов, которые подразделяются на два главных типа: возбуждающие нейроны, инициирующие движение животного вперед или назад, и тормозные нейроны, координирующие сокращения мышц двух сторон тела.



**Рис. 3.** Схема строения червя. PLoS One. 2015 Sep 28;10(9):e0139204. doi: 10.1371/journal.pone.0139204. eCollection 2015

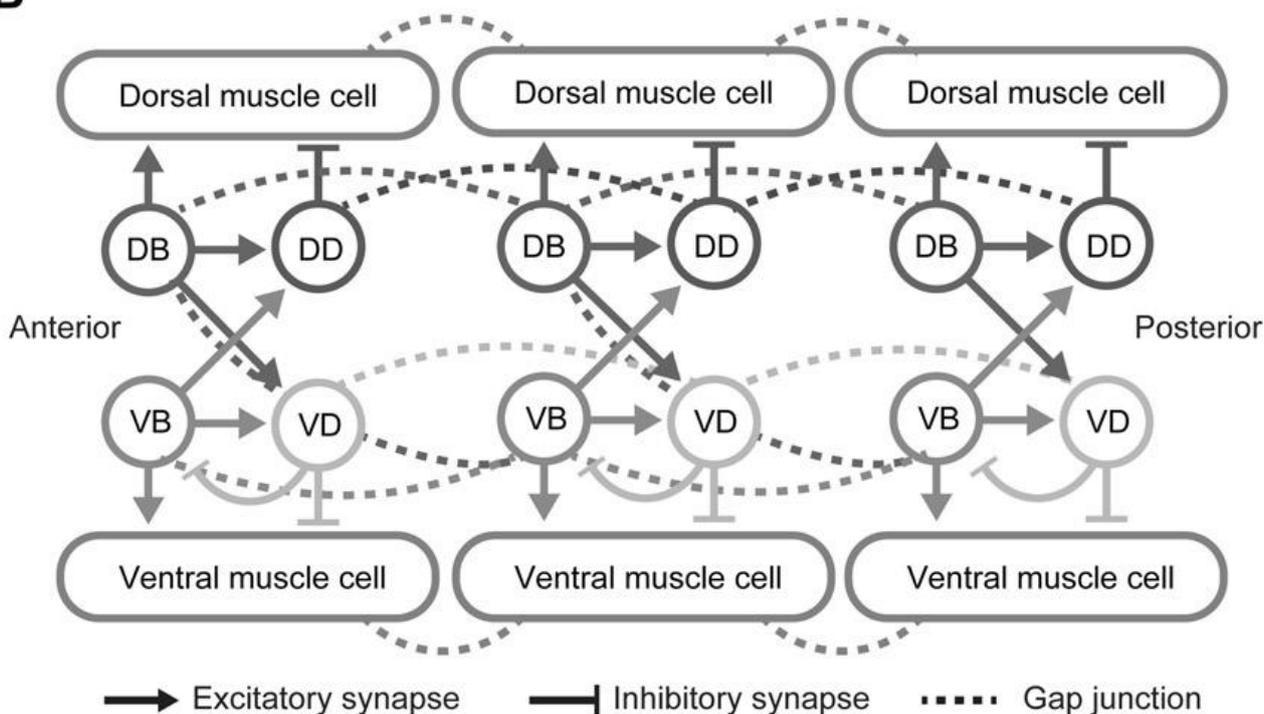
Таким образом, червь совершает волнообразные движения, попеременно сокращая и расслабляя дорсальные и вентральные мышечные клетки, расположенные вдоль его тела. Изгиб в дорсальной части появляется при сокращении дорсальных мышечных клеток и

расслаблении вентральных; изгиб в вентральной части – когда все наоборот.

**A**



**B**



**Рис.4.** Схема локомоции (A) и нейронной сети (B) локомоции нематоды. *Neuron*. 2012 Nov 21;76(4):750-61. doi: 10.1016/j.neuron.2012.08.039

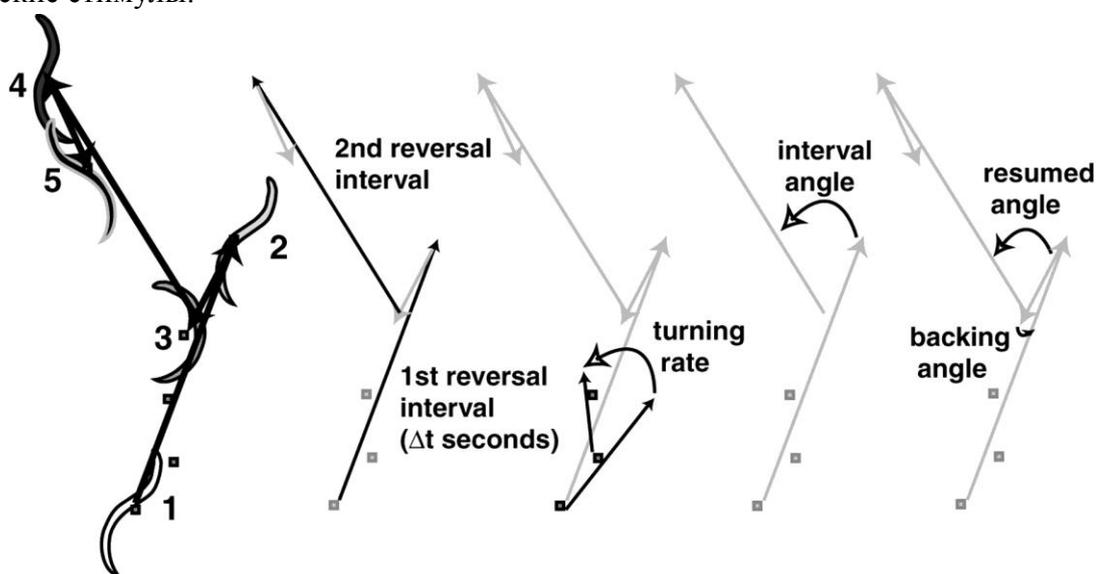
На рис.4.В показана общая схема переключения между нейронами и мышечными клетками при движении червя вперед. Стрелками обозначены возбуждающие синапсы от холинергических мотонейронов (VB и DB), линиями с тупыми концами – тормозные синапсы от ГАМК-ергических (ГАМК – гамма-аминомасляная кислота, тормозный нейромедиатор) мотонейронов. Следует отметить, что ГАМК-ергические нейроны необязательны для распространения волн вдоль тела животного при его движении вперед. Существуют щелевые контакты, которые на рисунке обозначены пунктирными линиями, которые образуют соединения между соседними мышечными клетками и соседними нейронами каждого типа клеток. Вдоль тела червя распределены от 6 до 12 нейронов каждого типа клеток.

Различные механические стимулы, приложенные к нематоду во время ее свободного движения, можно рассматривать как нападение на нее, следовательно, вызванный ответ на данные стимулы будет соответствовать оборонительной реакции. Наиболее распространенной такой реакцией является реакция избегания нежелательного стимула. При

стимуляции хвостового конца тела волоском червь реагирует продвижением вперед, при прикосновении к головному концу пятится назад. Неврологическим субстратом этих реакций является группа из 6 тактильных рецепторов, 5 пар интернейронов и 69 мотонейронов.

Поведение нематоды в лабораторных условиях было исследовано группой ученых (**Reversal Frequency in *Caenorhabditis elegans* Represents an Integrated Response to the State of the Animal and Its Environment; Beibei Zhao, Parul Khare, Lisa Feldman and Joseph A. Dent**

**Journal of Neuroscience 15 June 2003, 23 (12) 5319-5328**), их статья была опубликована в журнале *Neuroscience* в 2003 году. В данной статье рассматриваются различные поведенческие реакции в ответ на изменения внутренней и внешней среды. Так, были проанализированы различия в поведении у личинок на 4 стадии, 3хдневных и бдневных животных; у гермафродитов и самцов; при уменьшении температуры и влажности окружающей среды; в зависимости от наличия пищи и ответы на предложенные механические стимулы.



**Рис. 5.** Схемы и направления движений червя. Параметры для интерпретации результатов исследований оборонительного поведения.

Для удобства анализа поведения ученые использовали определенный элемент движения нематоды, а именно разворот. Под разворотом они понимают кратковременные периоды обратного хода. Они могут возникать спонтанно или в ответ на сенсорный стимул. Также оценивались изменения скорости движения.

Реверсный интервал определялся как продолжительность непрерывного движения вперед. Выделялось три реверсных интервала: 1-ый – это временной интервал от попадания червя на экспериментальную поверхность до первого разворота; последующие – временные интервалы между двумя разворотами.

Интервальный угол (interval angle) – угол между направлением движения до разворота и после возвращения к исходному направлению.

Угол возвращения (resumed angle) – разница между направлением после разворота и перед возвращением к исходному направлению.

Угол заднего хода (backing angle) – угол между направлениями до начала разворота и после его окончания.

Нематоде предъявлялись три типа стимулов:

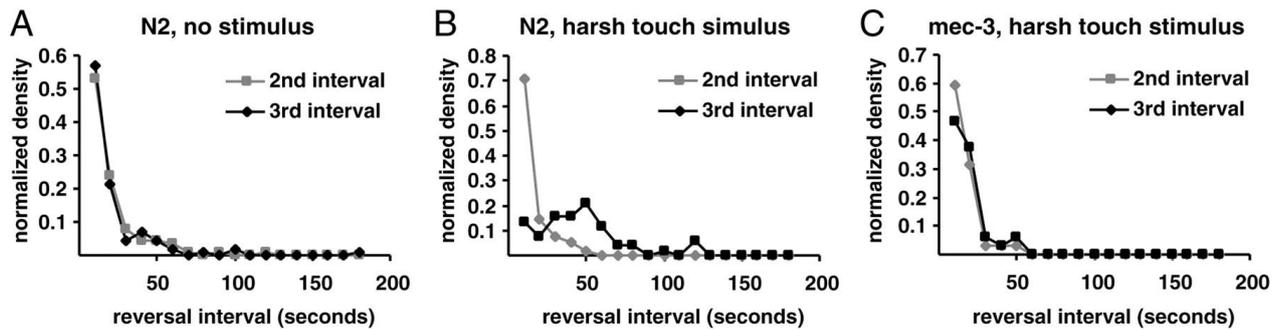
- легкое прикосновение – касание ресничкой хвоста животного;
- грубое прикосновение – толчок животного в хвостовую часть с помощью платиновой проволоки (в этих двух случаях третий реверсный интервал вычислялся с момента действия стимула);
- тепловой стимул – проведение горячей платиновой проволоки вблизи головного конца червя сразу после второго разворота до тех пор, пока это не вызовет еще один разворот.

Результаты:

При прикосновении реснички к хвостовому концу животного скорость его движения вперед повышалась. Кроме того длительность третьего реверсного интервала оказывалась больше, чем второго. Следовательно, такой стимул подавляет появление разворотов в передвижении нематоды, а значит, уменьшает частоту разворотов. Восстановление после действия стимула наступало после третьего разворота: не было отличий в длительности 4-го и 2-го реверсных интервалов.

После предъявления стимула «грубое прикосновение» животные могли как ускорить движение вперед, так и совершить разворот. Если животные совершали разворот, то третий реверсный интервал вычислялся от завершения этого вызванного разворота. В случае этого стимула наблюдалось увеличение подавления частоты разворотов, в отличие от легкого прикосновения: длительность третьего реверсного интервала была значительно больше второго. Это подавление не зависело от того, в какую сторону двигалось животное (вперед или назад). После 4-го разворота происходило восстановление после действия стимула.

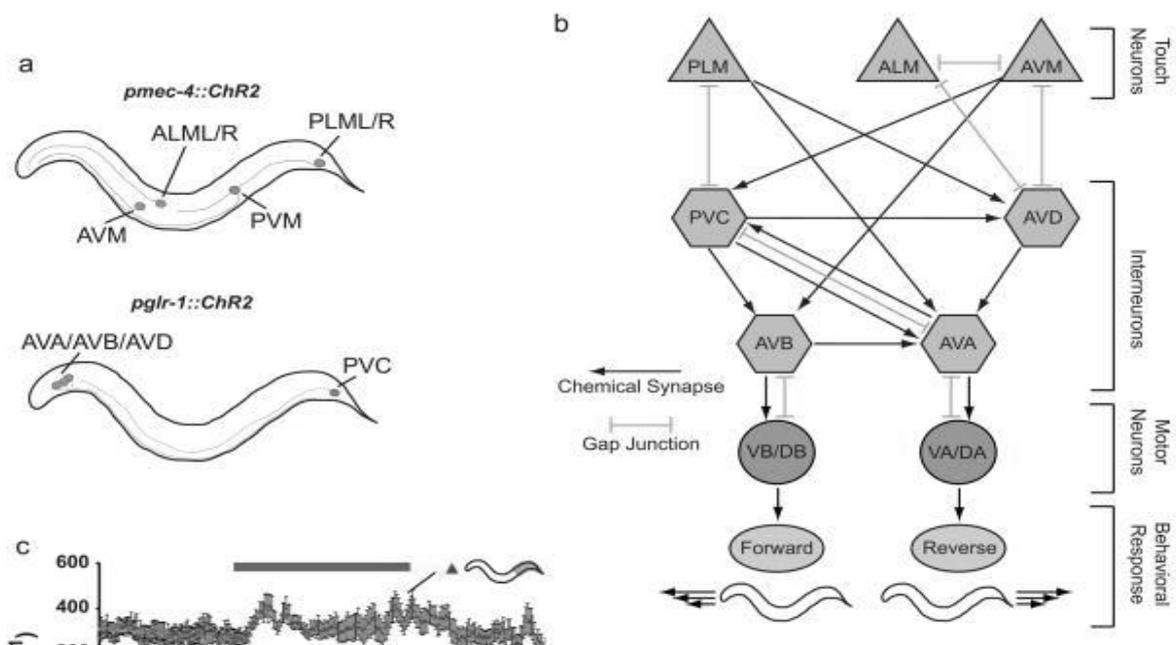
Третий вариант воздействия - «тепловой стимул» - предъявлялся после второго разворота и действовал до тех пор, пока животное не совершит разворот. В данном случае не было обнаружено значительных различий между 2-ым, 3-им и 4-ым реверсными интервалами. Поэтому можно заключить, что просто индуцированное совершение разворота не будет подавлять их частоту во всем передвижении животного.



**Рис.6.** Гистограмма распределения для второго и третьего реверсного интервала при стимуляции «грубое прикосновение». **А** – без стимуляции, дикий тип. **В** – стимуляция между вторым и третьим разворотом, дикий тип. **С** – стимуляция между вторым и третьим разворотом, мутантный тип *mec-3*, у которого отсутствует механическая чувствительность

На данном рисунке хорошо видны различия в длительности второго и третьего интервалов при воздействии на нематоду дикого типа с нормальной механочувствительностью.

Подавление разворотов с помощью механического воздействия обусловлено работой механосенсорных нейронов ALM, AVM и PLM, которые ответственны за реакцию на легкое прикосновение, а также нейрон PVD, который, скорее всего, передает ответ на грубое прикосновение. Ген *mec-3* кодирует транскрипцию фактора, который необходим для дифференциации ALM, AVM, PLM и PVD. В *mec-3* мутантах ни легкое, ни грубое касание не вызывало подавление разворотов. Следовательно, такое действие опосредуется только активностью механосенсорных нейронов, которые не работают у *mec-3* мутантов, и больше ничем иным.



**Рис.7.** Сеть командных и моторных нейронов оборонительного поведения нематоды. Nat Methods. 2011 Feb;8(2):153-8. doi: 10.1038/nmeth.1555. Epub 2011 Jan 16

Таким образом, с помощью анализа частоты разворотов ученым удалось выявить некоторые элементы оборонительного поведения нематоды в лабораторных условиях.

### Список литературы:

1. Modulating Behavior in *C. elegans* Using Electroshock and Antiepileptic Drugs (Monica G. Risley,#1 Stephanie P. Kelly,#1 Kailiang Jia,1 Brock Grill,2 and Ken Dawson-Scully1,\*  
Denis Dupuy, Editor)
2. Step-Response Analysis of Chemotaxis in *Caenorhabditis elegans* Adam C. Miller, Tod R. Thiele, Serge Faumont, Marin L. Moravec and Shawn R. Lockery  
Journal of Neuroscience 30 March 2005, 25 (13) 3369-3378;  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5133-04.2005>
3. Reversal Frequency in *Caenorhabditis elegans* Represents an Integrated Response to the State of the Animal and Its Environment; Beibei Zhao, Parul Khare, Lisa Feldman and Joseph A. Dent  
Journal of Neuroscience 15 June 2003, 23 (12) 5319-5328
4. Behavioral Plasticity in *C. elegans*: Paradigms, Circuits, Genes; Oliver Hoyer  
Department of Biochemistry and Molecular Biophysics, Center for Neurobiology and Behavior, Columbia University, College of Physicians and Surgeons, New York, New York 10032
5. Japanese studies on neural circuits and behavior of *Caenorhabditis elegans* Hiroyuki Sasakura<sup>1</sup>, Yuki Tsukada<sup>1</sup>, Shin Takagi<sup>2\*</sup> and Ikue Mori<sup>1\*</sup>  
Laboratory of Molecular Neurobiology, Division of Biological Science, Nagoya University, Nagoya, Japan
6. О РОЛИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ СИНАПСОВ В ТЕРМОТОЛЕРАНТНОСТИ ПОЧВЕННЫХ НЕМАТОД *CAENORHABDITIS ELEGANS* И *CAENORHABDITIS BRIGGSIAE*; Колсанова Р.Р., Калининкова Т.Б., Белова Е.Б., Гайнутдинов Т.М., Гайнутдинов М.Х. Институт проблем экологии и недропользования Академии наук Республики Татарстан

# Тип Моллюски

## О моллюсках вообще и об их половом поведении.

Галахова Анна

Мягкотелые, или моллюски — одна из наиболее богатых по числу видов и разнообразию форм группа первично-морских животных, известная уже с докембрия. В состав моллюсков входит около 50 000 современных видов, где большинство составляют брюхоногие (улитки) и двусторчатые (ракушки). Наиболее высокоорганизованными и физиологически совершенными являются головоногие моллюски. Другие группы моллюсков относительно невелики, однако их строение весьма оригинально. Среди моллюсков есть гиганты: у кальмаров рода *Architeuthis* туловище достигает 6,6 м в длину, а щупальца вытягиваются на 18 м — это самые большие из современных беспозвоночных животных. Однако большинство видов малы по величине.

### Строение моллюсков

Строение моллюсков сильно отличается от класса к классу, однако у них есть определенные закономерности. Так, «типичный моллюск» является билатерально-симметричным бентосным животным, имеющим овальный контур и сплющенное в дорсовентральном направлении тело.

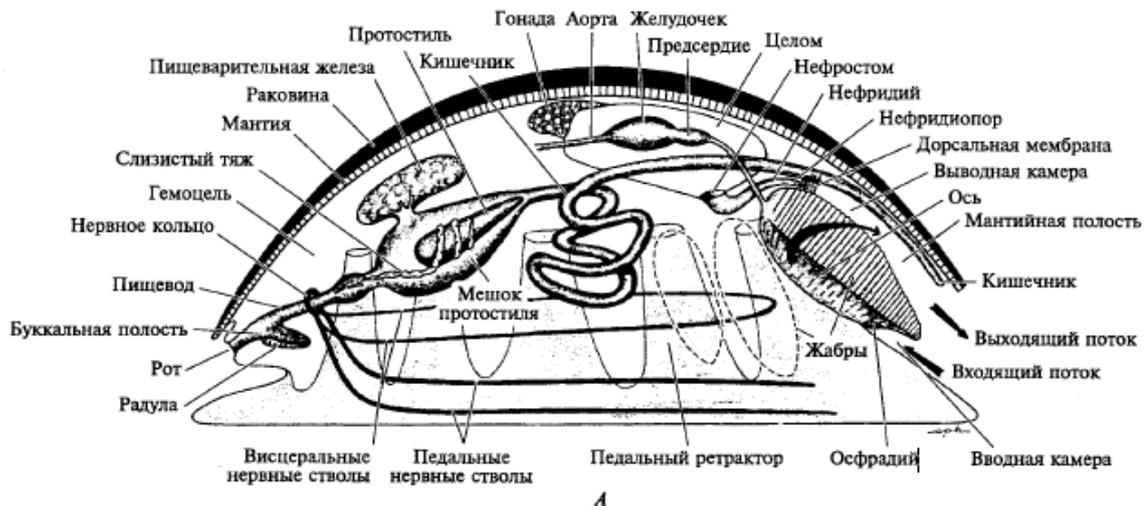


Рис.1. Схема общего строения «типичного моллюска» (Рупперт, 2008)

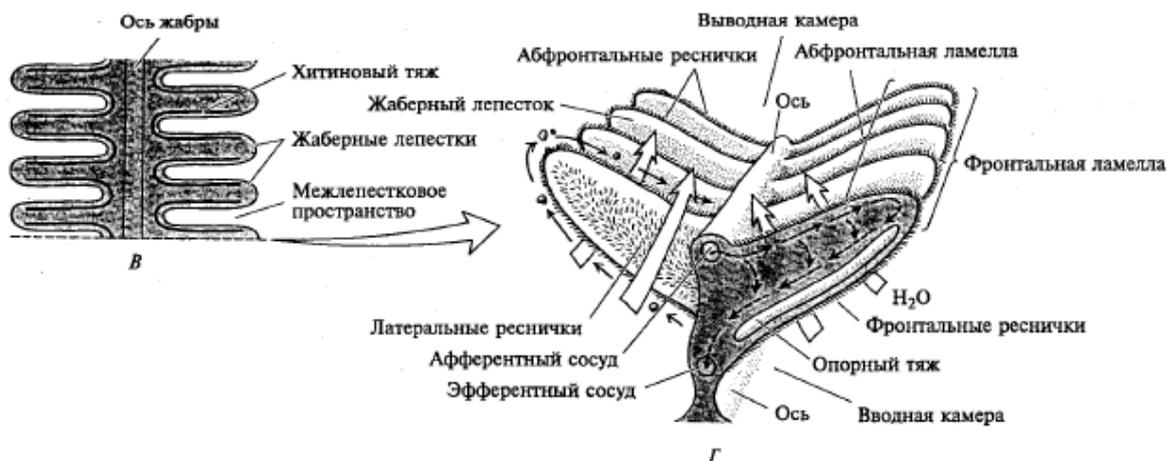
Тело состоит из головы, висцеральной массы и ноги (вентральная сторона тела). Для питания моллюски содержат «терку» - радулу внутри глотки, чтобы соскрести пищу с субстрата. Характерным признаком моллюсков является наличие мантии, образующей мантийную полость. Мантия - это дорсальный участок стенки тела. Эпидермис мантии секретирует белки, соли кальция и слизь, которые у многих моллюсков формируют раковину, а также выполняет сенсорную функцию. Дорсальную часть тела «типичного» моллюска покрывает раковина.

На периферии складки мантии образуют мантийную полость. Ее наличие — характерный признак моллюсков, и она выполняет множество важных функций. В мантийной полости находятся ктенидии (жабры). Туда также открываются почечные

отверстия, анус, отверстия половых протоков. Иногда мантийная полость используется в процессах пищеварения.

Жабры у моллюсков бывают разные (двусторонне/односторонне перистые), однако у всех жабр эпителий содержит реснички, создающие поток воды в мантийной полости, необходимый для осуществления процесса дыхания. Два других типа ресничек жабр участвуют в их очищении от чужеродных частиц, в формировании и удалении псевдофекалий.

Диффузия и перенос кислорода по телу происходит с помощью крови (гемолимфы). Диффузия кислорода из воды в гемолимфу происходит по принципу противотока.

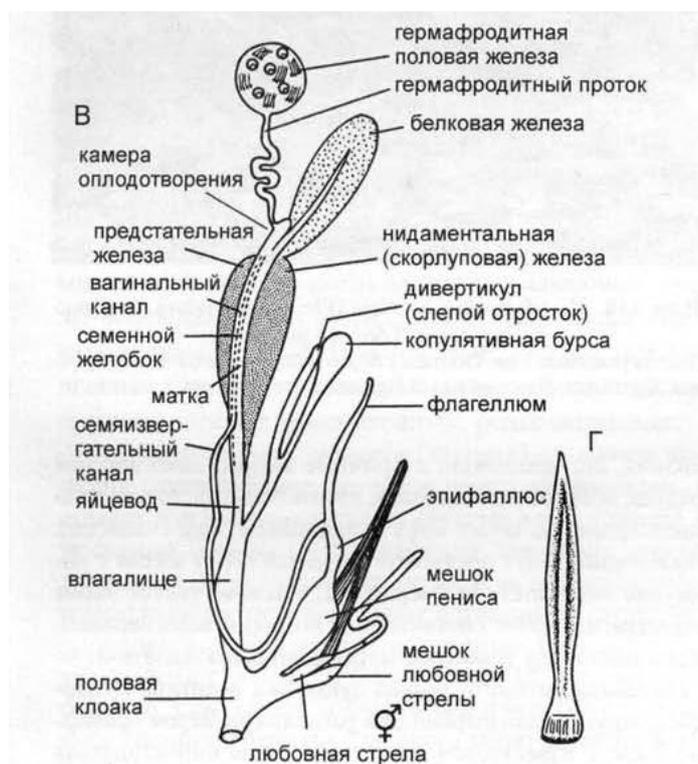


**Рис.2.** Жабры моллюсков (Рупперт, 2008)

Также в мантийную полость выходят специализированные органы химического чувства – осфрадии, которые анализируют химический состав воды.

У «типичного» моллюска есть нога. Это вентральная поверхность тела, покрытая ресничками. С помощью нее моллюски передвигаются или прикрепляются к субстрату. В ней много железистых клеток, а также в ней находится кровеносный синус – pedalный гемоцель. Нога втягивается и выставляется наружу с помощью мышц-ретракторов. «Типичный» моллюск – пасущийся макрофаг, который питается, используя свою радулу для того, чтобы соскрести еду. Однако некоторые классы моллюсков (например, двустворчатые), являются фильтраторами. Целом у моллюсков редуцирован до перикардиальной полости и гоноцеля, где находится сердце и гонады. Кровеносная система не имеет клеточной выстилки, залегает в соединительной ткани и является кровеносной системой открытого типа. Выделение метаболитов происходит с помощью сердечно-почечной системы. Фильтрация происходит через метанефридии, начинающиеся в перикардиальной полости и открывающиеся в мантийную полость.

## Половая система моллюсков



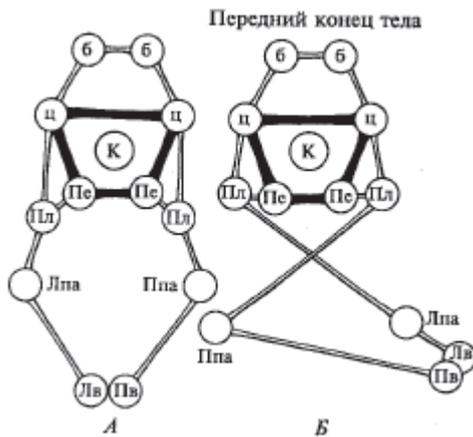
**Рис.3.** Схема строения половой системы гермафродитов (Вестхайде и Ригер, 2008).

Моллюски - раздельнополые животные, для которых характерно наружное полодотворение в морской воде. Гонады тесно связаны с перикардиальной полостью (редуцированным целомом). Гаметы из гонад попадают в целом, откуда попадают в нефростомы нефридиев, которые служат гонадуктами. Там они выводятся в мантийную полость, откуда попадают в наружную среду. У некоторых моллюсков гонаукты и нефридии разделены. Многие моллюски вторично приобрели внутреннее оплодотворение, некоторые – гермафродиты. У гермафродитных Pulmonata и Opisthobranchia половая система очень сложна в результате сочетания мужской и женской частей в одном организме. Гаметы производятся в долях гермафродитной половой железы (овотестис). Как правило, самооплодотворение не наблюдается.

У многих видов, хотя они и гермафродитные, из двух особей-партнёров во время копуляции одна играет роль самца, другая самки; однако у других гермафродитных видов во время копуляции происходит одновременное перекрёстное оплодотворение (*Helix*).

У многих семейств Stylommatophora в дистальном отделе половой системы образуется известковая «любовная стрела» (*Helix*), которая перед копуляцией вонзается в ногу партнёра и тем стимулирует его к продолжению любовной игры.

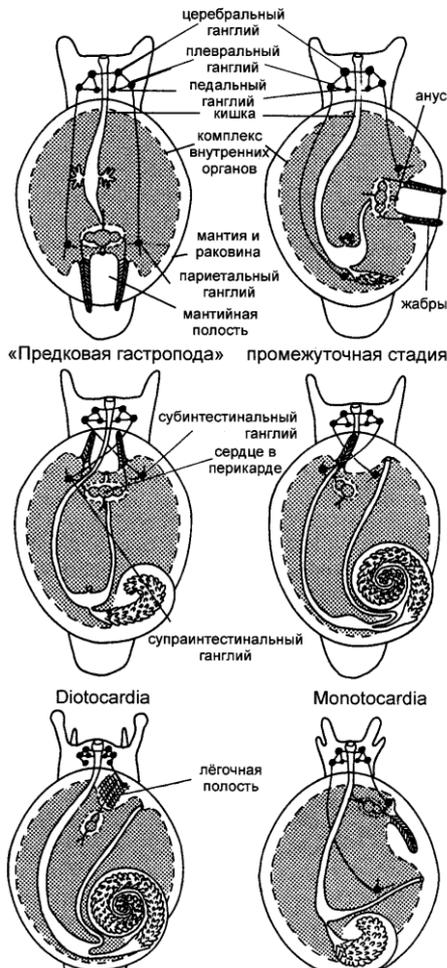
## Нервная система моллюсков



**Рис.4.** Схематичное изображение нервной системы моллюсков (Рупперт, 2008).

**Нервная система моллюсков** образована несколькими парами ганглиев, некоторые из которых тесно связаны с нервным кольцом вокруг пищевода, и двумя парами продольных тяжей. Основной комплект состоит из **парных церебральных, плевральных, педальных, буккальных и субрадулярных ганглиев**, а также **непарного висцерального ганглия**. На данном рисунке нервное кольцо выделено черным жирным цветом, где А – нервная система до торсии, а Б – после (характерна для переднежаберных гастропод). Обозначения: б - буккальные ганглии, ц - церебральный ганглий, К - кишечник, Лпа и Ппа – левый и правые париетальные ганглии, Пе - педальный ганглий, Пл - плевральный ганглий, Лв и Пв – левый и правый висцеральные ганглии.

Ганглий моллюсков состоит из поверхностного кортекса (тел нейронов) и медулы (скопление аксонов – нейропиле). Ганглии находятся в соединительнотканых капсулах. С рецепторами ганглии соединяются чувствительными нейронами, с мышцами и эндокринными органами – моторными.

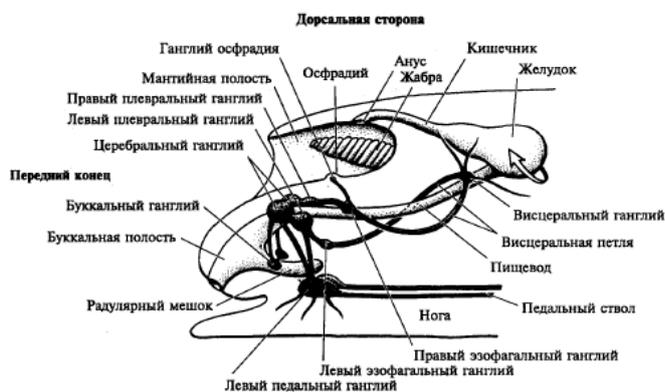


**Рис.5.** Этапы развития асимметрии (Вестхайде и Ригер, 2008)

Чувствительные нервы от глаз идут к **церебральным ганглиям**, они регулируют активность ноги, сердца и дыхания. **Буккальные ганглии** иннервируют мышцы радулы. От **педальных ганглиев** идут двигательные нервы (пара педальных стволов) к мышцам ноги, **педальные ганглии** управляют поступательными движениями и иннервируют пенис. **Плевральные ганглии** иннервируют мантию. Одноименные ганглии соединены комиссурами (поперек тела), разные ганглии – коннективами (вдоль тела). Комиссуры нет только между плевральными ганглиями. **Висцеральные нервные стволы** (тоже пара коннективов) начинаются от плевральных ганглиев и идут к **висцеральным ганглиям**, которые иннервируют органы внутренностного мешка и жабры. Нервная система является **тетраневральной**, поскольку в ней есть 4 висцеральных нервных ствола. У моллюсков ярко выражена цефализация нервной системы за счет укорочения комиссур и коннективов, приводящее к концентрации ганглиев вблизи нервного кольца. Органами чувств моллюсков являются **головные щупальца**, которые выполняют функции хемо-, механорецепторов. Кроме того, имеется два **глаза** на

голове, два *статоциста* в ноге и два *осфрадия* в мантийной полости.

У брюхоногих моллюсков выражена хиастоневрия, вызванная торсионом – поворотом



**Рис.6.** Нервная система брюхоногих моллюсков (Рупперт, 2008)

тела по часовой стрелке. Хиастоневрия – это изменение расположения висцеральных нервных стволов и их перекрест. К основному комплексу ганглиев Pulmonata добавляется одна пара парietальных ганглиев и другие, периферические ганглии. Укорочение плерво-интестинальных коннектив у Pulmonata возвращает интестинальные ганглии обратно в прежнюю позицию; хиастоневрия таким образом,

устраняется. Прimitивные Pulmonata и Opisthobranchia демонстрируют ясную хиастоневрию (расположение правого интестинального ганглия над

пищеводом, а левого - под пищеводом). Тенденция к концентрации главных ганглиев в голове особенно сильно выражена у хищных видов, которые нуждаются в более продвинутой нервной системе, однако смещение главных ганглиев в голову имеет место и у высших Pulmonata. Напротив, у эндопаразитических улиток выраженные ганглии отсутствуют, хотя и закладываются в эмбриональном развитии. Предковая гастропода на рисунке реконструирована по останкам. Промежуточная стадия гипотетична.

### Висцеральный мозг: регуляция полового поведения

Половое поведение необходимо для сохранения вида. Цель полового поведения – спаривание. Для спаривания необходим ряд условий, среди которых – зрелость гонад, копулятивная активность органов, одновременная готовность самца и самки к размножению. Спаривание регулируется нервными и гормональными механизмами, за которые ответственны нервные структуры висцерального мозга (Г. Шеперд, 1987).

Некоторые животные *гермафродиты*, что удобно в том плане, что половыми партнерами могут быть любые две особи. Но, поскольку у каждой особи должны быть нервные механизмы, которые обеспечивают как мужское, так и женское поведение, это может быть причиной того, что гермафродитизм не очень распространен (Г. Шеперд, 1987).

Спаривание, в отличие от других повседневных забот, происходит лишь в определенное время. Трудностью полового поведения является то, что животные должны постоянно быть готовы к агрессивному поведению и оборонительным действиям. Поэтому перед этим самец и самка должны «довериться» друг другу. Более того, перед спариванием особи должны иметь возможности оценить «привлекательность» партнера, которая отображает генотип. Таким образом становится ясно, почему спариванию предшествуют сложные взаимодействия между партнерами – они подавляют агрессивное поведение и оценивают степень взаимной привлекательности. Половое поведение в целом – это специфическая для вида последовательность двигательных актов и сенсорных стимулов, обеспечивающая совместимость партнеров (Г. Шеперд, 1987).

Половое поведение можно представить в виде **цепи реакций**. Полагают, что каждое звено такой цепи инициируется определенной *нейронной сетью* – **врожденным пусковым механизмом**. Раздражители, которые активируют эти механизмы называются **пусковые стимулы**. Каждое звено – **комплекс фиксированных действий**. Он может включать

определенные позы, активность специфических желез и двигательные акты (Г. Шеперд, 1987).

Последовательность действий – это заранее запрограммированная цепь поведенческих реакций, однако каждое звено – вероятностное событие. Пусковые стимулы для каждого поведенческого факта воздействуют на определенные рецепторы, они посылают сигналы по сенсорным путям. Иногда важен комплекс раздражителей (зрительное распознавание партнера/его черты). Порой важно сочетание стимулов (химический и тактильный сигналы вместе). В подготовке организма и нервной системы к спариванию важную роль играют нейроэндокринные системы. Так, видно, что влияние нервных центров и путей зависит от степени зрелости организма, а эти факторы находятся под нейроэндокринным контролем.

Тип моллюсков включает в себя несколько классов – брюхоногие, головоногие и двустворчатые, однако не у всех у них развито половое поведение. К примеру, у двустворчатых моллюсков оно не развито связи с тем, что у них наружное оплодотворение – они выбрасывают свои половые продукты в воду. Однако существуют различные исследования о половом процессе брюхоногих. Так, Ли и коллеги (Lietal, 1992) проводили исследования на брюхоногом моллюске из рода прудовиков, а конкретно – на Обыкновенном прудовике (*Lymnaea stagnalis*). Прудовики – гермафродиты. В классе прудовиков поведение самца состоит из серии варибельных видов поведения, которые являются предюдией к совокуплению. Само спаривание включает в себя выворачивание *preputium* (крайняя плоть) и *penis* (пенис), половой акт, перенос спермы и последующее втягивание плоти и пениса обратно.

Известно, что нейронная сеть, иннервирующая комплекс органов, связанных с пенисом (крайняя плоть, пенис, мышца-ретрактор и мышца-протрактор), включает в себя несколько видов пептидоэнергических нейронных кластеров. Они находятся в правых церебральном, плевральном и париетальном ганглиях, и серотонинергические клетки (I-кластер клеток) правого педального ганглия (Lietal, 1992). Периферические чувствительные нейроны пениального комплекса посылают в этот кластер свои сигналы (Koene et al, 2000). Все типы нейронов, которые иннервируют комплекс полового члена, входят туда в составе одного нерва (NP). Таким образом, контроль над совокуплением напрямую происходит с помощью пептидов и серотонина (Lietal, 1992).

В настоящее время существует теория о том, что половая система гермафродитов предопределяет мужскую или женскую функцию методом компромисса (Visseretal, 1994). Известно, что перед спариванием у животных часто случается сексуальный конфликт. Однако в случае гермафродитов этот конфликт сводится к конфликту за распределение сексуальных ролей. В случае, если обе особи предпочитают одну и ту же роль, конфликт половых ролей решается сменой ролей после первого осеменения, и это явление называется условной взаимностью (KoeneandMaat, 2005; Leonard, 1991). Сексуальная изоляция *Lymnaea stagnalis* увеличивает сексуальное влечение особей, которые выполняют функцию самцов. Смена сексуальных ролей происходит только в тех парах, в которых животные были изолированы (KoeneandMaat, 2005).

Сексуальные конфликты возникают тогда, когда партнеры не совместимы. Гермафродиты особенно подвержены таким конфликтам, потому что они могут выполнять и мужскую и женскую репродуктивную функцию в процессе спаривания (Charnov, 1979). Гермафродиты должны выбрать сексуальную роль, которую они будут исполнять во время спаривания (KoeneandMaat, 2005).

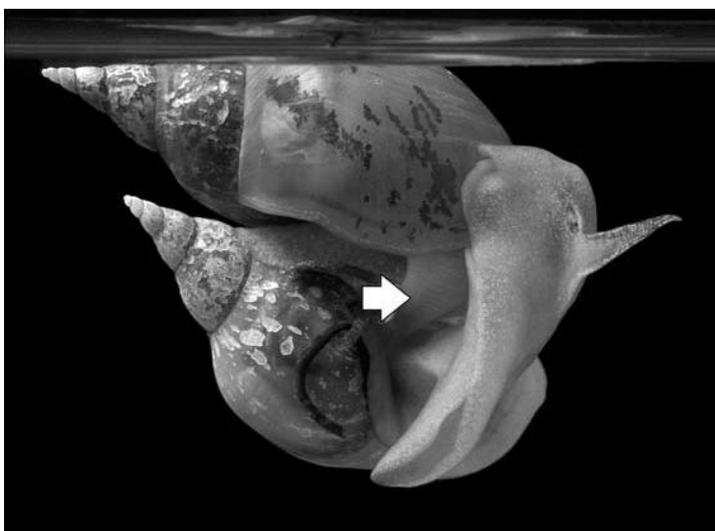
Основная часть поведения самок – кладка яиц (TerMaat et al. 1989). Этот процесс инициируется каудо-дорсальными клетками церебрального ганглия. Мужское поведение

представляет собой фиксированную последовательность событий, заканчивающихся выворачиванием пениса и передачей обильного количества спермы (DeVisser и др., 1994). Оно регулируется антериальной частью правого церебрального ганглия. Показано, что возбуждение самца вызывается не только электростимуляцией, но и тактильными реакциями на прикосновение к генитальной поре (половой клоаке) (Koene et al, 2000). Более того, комбинация тактильных и электрических стимулов вызывает выход «любовной стрелы» (Koene et al, 2000), которая вонзается в ногу партнера, стимулируя его к продолжению любовной игры (Вестхайде и Ригер, 2008). Интересен также тот факт, что тактильные сигналы, не сопровождающиеся электрическим подкреплением не вызывают никаких эффектов.

Однако представители этого вида не всегда готовы к спариванию в роли самца. Для того, что это произошло, им необходимо сначала не спариваться несколько дней, проведя их в изоляции (DeBoer et al. 1997). Так, сексуальная изоляция вызывает увеличение железы простаты, которая выделяет семенную жидкость. Увеличение простаты регистрируется в мозге через маленькую ветвь пениального нерва (NP1) (DeBoer et al. 1997). Показано, что медиатором такой передачи является пептид APGWamide (CrollandVanMinnen, 1992).

Таким образом, смена ролей происходит, когда оба партнера были изолированы до этого, и поэтому у них увеличилась предстательная железа. После осеменения железа опустошается и снижается мужское начало. Поэтому осеменившая особь становится донором спермы (DeBoer et al. 1997) и становится возможной смена сексуальной роли.

Показано, что смена ролей случается тогда, когда оба партнера имеют полную простату и являются энергичными самцами. Смена роли может также быть результатом физиологической манипуляции с помощью аллогормона, переданного в сперме (Koene & TerMaat 2001, 2002).



**Рис.7.** Половой процесс улиток *Lymnaea stagnalis* (Koene and Maat, 2005).

Недавно секвенировали кДНК, которая кодирует прогормон, состоящий из 10 копий тетрапептида Ala-Pro-Gly-Trpamide (APGWamide) и пептид из 40 АК CALP (С-концевой пептид передней доли) (Smit et al, 1992). Этот пептид является предшественником APGWamide. На его С-конце находится остаток глицина. CALP экспрессируется в передней доле правого церебрального ганглия. Как было показано, эти нейроны являются частью аппарата, иннервирующего мужскую копуляцию и пениальный комплекс.

Ли и Чейз говорят о том, что нейропептиды APGWamide и FMRamide (Phe-Met-Arg-Pheamide) вовлечены в процессы полового поведения *Helix aspersa*, причем APGWamide стимулирует выворачивание пениса, в то время как FMRamide отвечает за выброс любовной стрелы (Li and Chase, 1995). Однако эффект FMRamide на любовную стрелу не был подтвержден на *Lymnaea stagnalis* (Koene et al., 2000).

Эффект APGWamide Обыкновенного прудовика отвечает за выпуск половых органов, в то время как FMRFamide отвечает за втягивание их обратно под раковину.

Таким образом, основными медиаторами реакций полового поведения являются пептиды APGWamide и FMRFamide в правых церебральном, плевральном и париетальном ганглиях и серотонин в I-кластере клеток правого педального ганглия.

#### Список использованной литературы:

- 1) В. Вестхайде и Р. Ригер, Зоология беспозвоночных в двух томах, Том 1: от простейших до моллюсков и артропод, 2008, стр. 288-313
- 2) Рупперт Э.Э., Зоология беспозвоночных. В 4 томах. Том 2. Низшие целомические животные, 2008, Стр. 29-119
- 3) Г. Шеперд, Нейробиология, Том 2., 1987, Стр. 245-253
- 4) Charnov, E. L. 1979. Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. // Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A., V.76, Pages 2480–2484.
- 5) Davies, N. B. 1991. Mating systems. Pages 263–294 in J. R. Krebs and N. B. Davies, eds. Behavioural ecology: an evolutionary approach // Blackwell Scientific Publications, Oxford
- 6) Angus Davison, Hayley T Friend, Camile Moray, Hannah Wheatley, Laura J Searle, Markus P Eichhorn, 2009. Mating behaviour in *Lymnaea stagnalis* pond snails is a maternally inherited, lateralized trait. // Biol. Lett. V.5, Pages 20-22
- 7) De Boer, P. A. C. M., Jansen, R. F., Koene, J. M. & TerMaat, A. 1997. Nervous control of male sexual drive in the hermaphroditic snail *Lymnaea stagnalis*. // Journal of Experimental Biology, V.200, Pages 941–951
- 8) Emlen, S. T. and L. W. Oring. 1977. Ecology, sexual selection and the evolution of mating systems // Science, V.197: Pages 215–223.
- 9) Roger T. Hanlon, Malcolm J. Smale and Warwick H. H. Sauer, 2002. The mating system of the squid *Loligo vulgaris reynaudii* (Cephalopoda, Mollusca) off South Africa: fighting, guarding, sneaking, mating and egg laying behavior. // Bulletin of Marine Science, V 71(1), Pages. 331-345
- 10) Koene JM, Jansen RF, TerMaat A, Chase R., 2000. A conserved location for the central nervous system control of mating behaviour in gastropod molluscs: evidence from a terrestrial snail. // The Journal of Experimental Biology, V.203, Pages 1071–1080
- 11) Joris M. Koene, Andries TerMaat, 2005. Sex role alternation in the simultaneously hermaphroditic pond snail *Lymnaea stagnalis* is determined by the availability of seminal fluid. // Animal Behaviour, V. 69(4), Pages 845–850
- 12) Leonard, J. L. 1991. Sexual conflict and the mating systems of simultaneously hermaphroditic gastropods. // American Malacological Bulletin, V.9, Pages 45–58.
- 13) K.W. Li, A.B. Smit, W.P.M. Geraerts, 1992. Structural and functional characterization of neuropeptides involved in the control of male mating behavior of *Lymnaea stagnalis*. // Peptides, V 13(4), Pages 633–638
- 14) Packard, A. 1972. Cephalopods and fish: the limits of convergence. // Biol. Rev. V.47: Pages 241–307
- 15) Smit, A. B.; Jimenez, C. R.; Dirks, R. W.; Croll, R. P.; Geraerts, W. P. M., 1992. Characterization of a cDNA clone encoding multiple copies of the neuropeptide APGW-amide in the mollusca *Lymnaea stagnalis*. // J. Neuroscience. V. 12: Pages 1709-1715;
- 16) Van Duivenboden, Y. A. & TerMaat, A, 1985. Masculinity and receptivity in the hermaphrodite pond snail, *Lymnaea stagnalis*. // Animal Behaviour, V.33, Pages 885–891
- 17) J. A. G. M. De Visser, A. TerMaat and C. Zonneveld, 1994. Energy Budgets and Reproductive Allocation in the Simultaneous Hermaphrodite Pond Snail, *Lymnaea stagnalis* (L.): A Trade-Off between Male and Female Function. // The American Naturalist, V. 144(5), P. 861-867

## Как моллюски ищут и добывают пищу

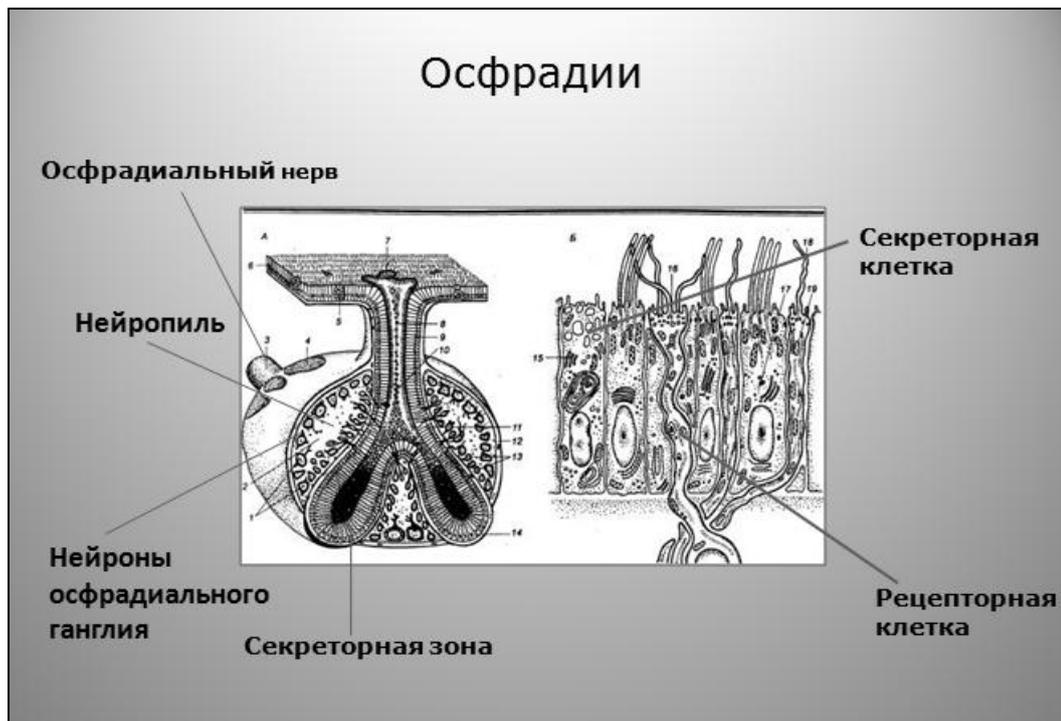
*Герентьев Антон*

Эволюция нервной системы ещё с начала централизации нервных узлов включает в себя простые рефлекторные дуги, в которых восприятие информации о внешнем мире берут на себя сенсорные системы. При этом организация и осуществление адекватной (соотносимой с информацией от внешнего мира) реакции лежат на части нервной системы, которая регулирует определённые акты мышечных или эпителиально-мышечных движений, а также секреторную деятельность железистых клеток. В основе пищевого поведения любого многоклеточного организма с элементами центральной нервной системы лежат: восприятие информации о пище (жества, бактериальные и водорослевые плёнки) как определённый набор стимулов, формирование и организация программы работы мышц и желёз как работа некоего количества интернейронов, на которые поступает информация о стимулах и непосредственное осуществление двигательной и секреторной реакции за счёт работы эффекторных нейронов.

Моллюски – довольно разнообразная группа животных с очень интересной историей адаптаций к различным экологическим нишам. Наиболее распространённые группы очень сильно различаются по стратегиям добывания пищи, в соответствии с этим развивалась их нервная система: двустворчатые моллюски могут иметь несколько десятков нейронов в связи с малоподвижным образом жизни и стратегией фильтраторов, в то время как большинство головоногих моллюсков активно передвигаются в трёхмерном пространстве и охотятся на таких высокоорганизованных животных, как рыбы и ракообразные, имея в соответствии с этим нервную систему с количеством нейронов до нескольких сотен миллионов.

Основные стимулы, которые требуются данной (и не только) группе животных для запуска программы пищевого поведения это хеморецепция (для всех групп моллюсков), механорецепция (для головоногих и брюхоногих), а также зрительный анализатор (головоногие).

Основные органы **хеморецепции** моллюсков – вкусовые рецепторы и осфрадии. Вкусовые рецепторы представляют собой группы из нескольких клеток с длинными дистальными отростками, которые могут выходить за пределы так называемой вкусовой ямки – поры на наружной поверхности кожно-мышечного мешка. У головоногих моллюсков вкусовые рецепторы есть на всей поверхности тела, особенно высокая плотность наблюдается на щупальцах и вокруг ротового отверстия. У брюхоногих моллюсков также вся поверхность мягкой части покровов содержит вкусовые поры, однако наибольшая их плотность наблюдается на двух околоротовых щупальцах (что позволяет им определять направление распространения наивысшей концентрации шлейфа пищевых маркеров – аминокислот, углеводов, пептидов, остатков клеточной стенки водорослей, экскрементов жертвы и т.д.). У двустворчатых моллюсков вкусовые рецепторы немногочисленны, имеются на ротовых лопастях и вокруг ротового отверстия, а также на некоторых участках жабр, на стенках вводного сифона и вокруг анальной камеры. **Осфрадий** – обонятельный орган головоногих и брюхоногих моллюсков, представляет собой специализированный мешок из мантийного эпителия, состоящий из секреторных, ресничных и чувствительных клеток. Секреторные клетки продуцируют слизь, функции которой, вероятно, заключаются в растворении и задержании одорантов для долговременной стимуляции и в поддержании жизнедеятельности и постоянства ионного состава клеток осфрадия, а ресничные клетки перемещают эту слизь вверх по каналу осфрадия (рис.1.)[5].



**Рис.1.** Осфрадий брюхоногих моллюсков. Принципиальное устройство сохраняется у головоногих, однако форма осфрадиальных мешков может сильно изменяться в ряду отрядов класса [5]. Нейропиль – место повышенной плотности синапсов.

У двустворчатых моллюсков обонятельные органы не оформлены, первичночувствующие обонятельные клетки присутствуют по всей поверхности выстилки мантийной полости. Осфрадии (и осфрадиальных ганглий) участвуют в формировании пищевого поведения, было показано, что при удалении осфрадия вместе с ганглием у морских улиток нарушается программа поиска пищи, при этом нарушения показаны не для распознавания направления наибольшей концентрации вещества, а для командного включения определённых актов локомоции, связанных с поиском пищи. На рис.1 видно, что в осфрадиальном ганглии содержится большой нейропиль – область очень высокой плотности синаптических контактов, вокруг которого расположены крупные тела нейронов ганглия. Эти нейроны участвуют в определении некоторых компонент поведения при попадании на обонятельные рецепторы аминокислот, олигосахаридов, феромонов потенциальных половых партнёров, маркёров хищника или же определённого состава и соотношения газов, растворённых в воде [5], [6].

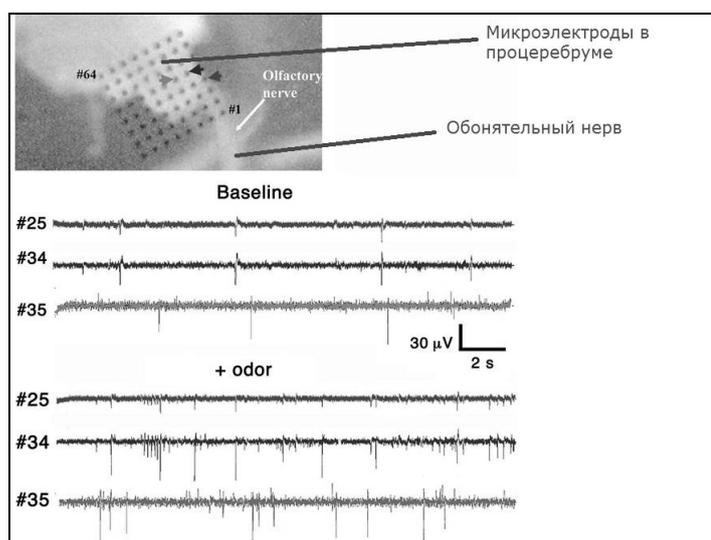
Большой вклад в сбор сенсорной информации делает механорецепция. Большая часть механорецепторов моллюсков представляет собой чувствительные выросты клеток – цилии, расположенные в губчатом слое кожи чувствующих щупалец головоногих и брюхоногих (рис.2.).



**Рис.2.** Первичночувствующий механорецептор на кончике ротового щупальца брюхоногого моллюска.

Очень важной сенсорной системой является зрение. Для головоногих это проявляется в большей степени, образ пищевого объекта в их интернейронах, связанных с глазами, является ключевым на первых этапах пищевой реакции, до поднесения пищи ко рту. Во многих группах моллюсков встречаются все этапы эволюции простого глаза (в некоторых группах Polyplacophora – хитоны – есть даже фасеточные глаза, несколько отличающиеся от таковых у членистоногих) от пигментного пятна у низших малоподвижных форм до многокамерного глаза с линзой у головоногих, глаз которых можно считать более конструктивно совершенным с точки зрения эффективности восприятия фотонов, чем у любого позвоночного, так как волокна зрительного нерва находятся позади фоторецепторов.

Для наземных улиток и слизней (группа Pulmonata) показаны обонятельные клетки на глазных щупальцах, а осфрадий редуцируется или преобразуется (кроме прудовиков). Эти клетки дают афференты в церебральные ганглии. Электрофизиологические исследования показали, что эти аксоны заканчиваются синапсами в процеребральной области церебральных ганглиев (передняя часть церебральных ганглиев). Процеребральная область состоит из слоя плотно расположенных мелких тел нейронов и двух больших нейропилей вокруг этого слоя, показано, что эта область способна к большим спонтанным осцилляциям потенциала, это проявляет аналогию с обонятельной луковицей млекопитающих. При попадании одорантов на обонятельные клетки изменяется частотно-амплитудная характеристика таких осцилляций (рис.3.). Нервная система Pulmonata состоит из 80 000 – 100 000 клеток, при этом 75% этих клеток находятся в процеребральной области, что может говорить о критической роли процеребрума в формировании и обработке всех сенсорных модальностей, не только обоняния. Нейроны процеребрума хищных наземных улиток возбуждаются и формируют программу пищевого поведения при обнаружении фрагментов смазочных белков из слизи других улиток, при этом они способны различать правую и левую стороны слизевого следа и ползти в направлении своей жертвы [10].



**Рис.3.** Микроэлектродные отведения в исследовании реакции процеребральных нейронов (электроды 25, 34 и 35) на одорант (лавровое масло) [10].

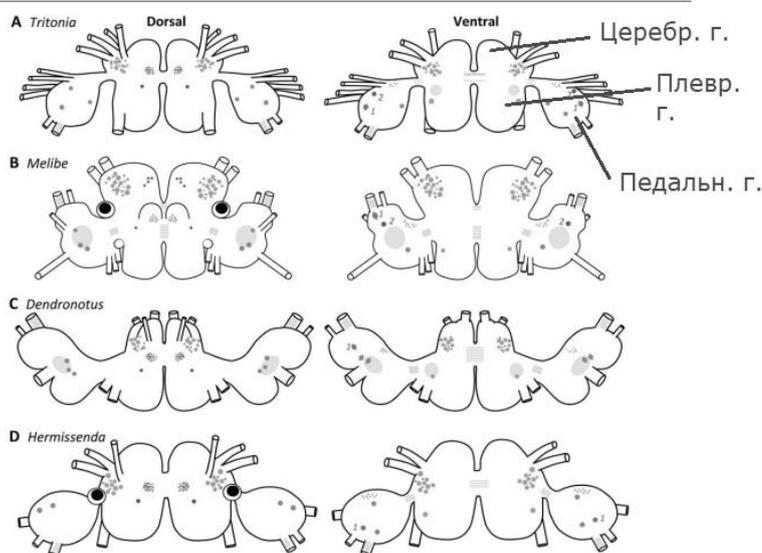
Для отрезанных щупалец головоногих характерно автоматическое перемещение потенциальной пищи в сторону основания щупальца («мнимый рот»). Это обусловлено практически полным замыканием рефлекторных дуг внутри щупальца, без выхода к церебральным или педальным ганглиям. При этом одной хеморецепторной или механорецепторной стимуляции недостаточно, при хватании «пищевой» частицы (креветка, кусок индейки или камень, обмазанный гомогенатом краба); для полного осуществления двигательной реакции щупальца необходима механорецепторная информация от поля соседних присосок на щупальце, определённое направление хеморецепции и проприоцептивная информация от чувствительных нейронов вентральных мускулов, скручивающих щупальце. Обработка сенсорной информации происходит в щупальцевом ганглии или в цепочке щупальцевых ганглиев, которые переключаются на мотонейроны, локализованные около соответствующих сенсорных полей. Примечательно, что большая часть нервной системы осьминогов и кальмаров расположена в щупальцах (по количеству клеток).

Что касается обработки сенсорной информации, то для головоногих характерна сложнейшая малоизученная нейронная сеть. При этом в формировании их пищевого поведения может участвовать и ассоциативная память, и импринтинг. Учёные показали, что у новорождённых каракатиц ещё в яйцевой капсуле происходит формирование интернейронных систем механорецепции, хеморецепции и фоторецепции на основе внешних стимулов от оболочки яйца и среды вокруг. Многим видам свойственен импринтинг, на основе которого взрослые каракатицы предпочитают питаться пищей, которая присутствовала в больших количествах при их рождении. Также головоногие обладают сложной ассоциативной памятью, связанной с формированием долговременной потенциации в непарной вертикальной лопасти над комиссурой церебральных ганглиев. Например, каракатицы очень быстро обучаются есть крабов и только крабов, если остальные жертвы (креветки и полихеты) были обработаны дурнопахнущим веществом перед запуском в аквариум, даже если долгое время (несколько дней) не обрабатывать никаких животных [1].

Однако, для моллюсков известны некоторые электрофизиологические и нейрохимические данные. Для моллюсков (и кольчатых червей), например, характерны ацетилхолиновые рецепторы, которые имеют очень низкую проводимость по натрию и калию, но очень высокую проводимость по хлору, при этом концентрация хлора в клетке достаточно высока, чтобы равновесный потенциал по хлору стал меньше по модулю, чем

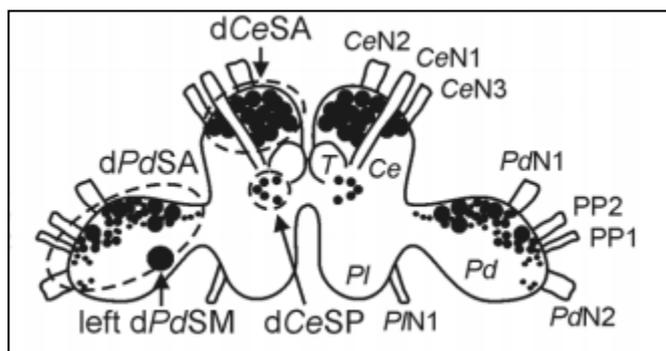
потенциал покоя клетки, при этом хлор выходит из клетки и формирует деполяризующий ВПСР на пост-синапсе с ацетилхолиновыми хлорными каналами. Наряду с этими каналами большая часть N-холинорецепторов является катионными. Но хлорные N-холинорецепторы участвуют в возбуждении мышц и некоторых частей центральной нервной системы моллюсков. Кроме того, в некоторых мышечных и нервных клетках моллюсков (эти мышцы и нейроны отвечают за резкие движения – прыжок гребешка, выталкивание чернил из сифона кальмаром, оборонительное поведение...) присутствуют особые калиевые каналы транзиторного типа, функция которых заключается в регуляции спайков ПД, что обуславливает резкие движения, например, выбрасывание ловчих щупалец при реализации программы пищевого поведения гигантской австралийской каракатицей. Эти движения происходят с очень большой скоростью.

В центральной нервной системе моллюсков обнаружены ГАМК-продуцирующие нейроны (рис.4).



**Рис.4.** Строение нервной системы некоторых родов моллюсков. Соответственно помечены: церебральный, плевральный и педальный ганглии. Группами точек обозначены локализации популяций ГАМК-продуцирующих нейронов, эти данные получены с помощью визуализации антителами к специфическим белкам ГАМК-эргических нейронов[6].

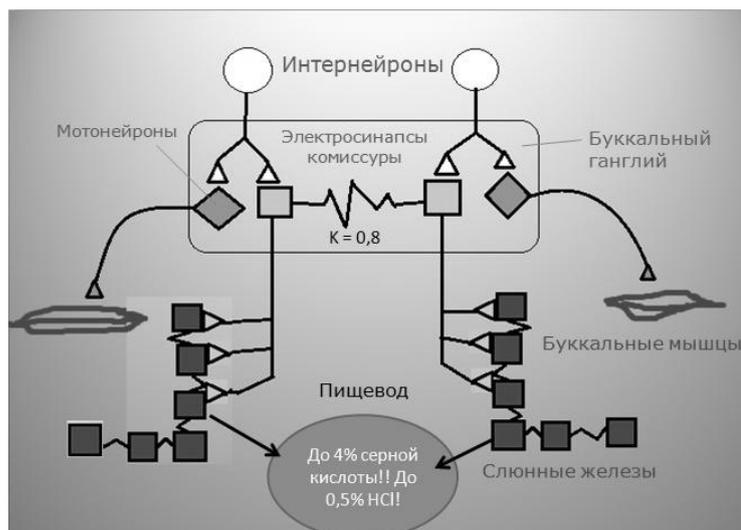
Показано, что ГАМК-эргические нейроны участвуют в регуляции локомоторных и других двигательных реакций в ответ на пищевой стимул а также при избегании опасности[6]. Другим очень важным нейромедиатором в нервной системе моллюсков является серотонин (рис.5).



**Рис. 5.** Серотонин-эргическая система в ЦНС моллюска, иммуореактивные популяции нейронов обозначены тёмными кружками [9].

На рис.5 хорошо видно расположение серотонин-эргических нейронов. Серотонин играет ключевую роль в пищевом поведении моллюсков, например, даже при повышении концентрации серотонина в крови морского ангела происходит выбрасывание ловчих глоточных щупалец. Серотонин в ЦНС регулирует двигательную реакцию в ответ на пищевой стимул, возбуждая мотонейроны, он же является главным нейромедиатором интернейронов проциеребрума, ответственных за переключение вкусовой и обонятельной информации (латеральные и передние входы нервов в проциеребральную область) [9].

Некоторые пищевые реакции моллюсков основаны на действии электрических синапсов, например, слюноотделение. В нейронной сети буккального ганглия (рис.6) присутствуют комиссуральные электросинапсы, позволяющие с малым коэффициентом затухания передать возбуждение на вовлекаемую сторону парного ганглия.



**Рис.6.** Схема взаимодействий между интернейронами (преимущественно 5-НТ) и нейронами буккального ганглия. При возбуждении моторных нейронов буккальных мышц и слюнных желёз происходит слюноотделение и выталкивание слюны в пищевод. Слюнные железы для быстроты вовлечения в возбуждение также связаны электрическими синапсами [5].

Двигательную реакцию в ответ на пищевой стимул складывают как локомоторная, так и хватательная и слюноотделительная реакции. Сложное пищевое поведение моллюсков согласуется с особенностями экологической ниши каждого вида.

### Список литературы:

1. Agin V. [и др.]. Developmental study of multiple memory stages in the cuttlefish, *Sepia officinalis*. // *Neurobiology of learning and memory*. 2006. (86). С. 264–269.
2. Gunaratne C.A., Katz P.S. Comparative Mapping of GABA-Immunoreactive Neurons in the Buccal Ganglia of Nudipleura Molluscs // *Journal of Comparative Neurology*. 2016. № 6 (524). С. 1181–1192.
3. Newcomb J.M., Fickbohm D.J., Katz P.S. Comparative mapping of serotonin-immunoreactive neurons in the central nervous systems of nudibranch molluscs // *Journal of Comparative Neurology*. 2006. № 3 (499). С. 485–505.
4. Patel K. [и др.]. Mucus trail tracking in a predatory snail: Olfactory processing retooled to serve a novel sensory modality // *Brain and Behavior*. 2014. № 1 (4). С. 83–94.

5. Гордон Шепперд, Нейрофизиология // учебник в 2-х т., изд. Москва «Мир», 1987. С. 45-47, 113-115, 290-291.

6. Ноздрачев А. Д., Баранникова И. А., Батуев А. С. и др. ; Под ред. А. Д. Ноздрачева Физиология нервной, мышечной и сенсорной систем// учебное пособие в 2-х кн., Изд. «Высшая школа», 1991.

## Оборонительное поведение моллюсков

*Кристина Водорезова*

Моллюски являются слишком гетерогенной группой организмов, поэтому не существует оптимального описания оборонительного поведения, сходного для всех классов моллюсков.

Данный реферат затрагивает оборонительное поведение трех самых известных классов моллюсков и включает в себя:

- краткий обзор примеров оборонительного поведения двустворчатых моллюсков;
- подробное описание оборонительных рефлексов брюхоногих моллюсков;
- способность головоногих моллюсков к мимикрии

Класс Bivalvia

---

***Ensis arcuatus*** (razorfish) – двустворчатый моллюск, при опасности быстро зарывается в песок.

Морской черенок ***Siliqua patula*** может закопать себя в песок за 7 секунд. Гребешки используют свои створки для реактивного движения. Гребешки имеют простые глазки по краям мантии, которыми они могут детектировать надвигающуюся угрозу. Мидии отпрыгивают от опасности на ноге. Многие двустворчатые втягивают свой сифон при нападении хищника, а некоторые могут его отбрасывать и регенерировать позднее (Hodgson, 1981).

***Limaria fragilis*** - двустворка с щупальцами. При нападении щупальца подвергаются аутотомии, из них изливается токсичный секрет, а отброшенные щупальца продолжают извиваться, отвлекая хищника (Fleming et. al, 2007).



**Рис.1.** *Limaria fragilis*.

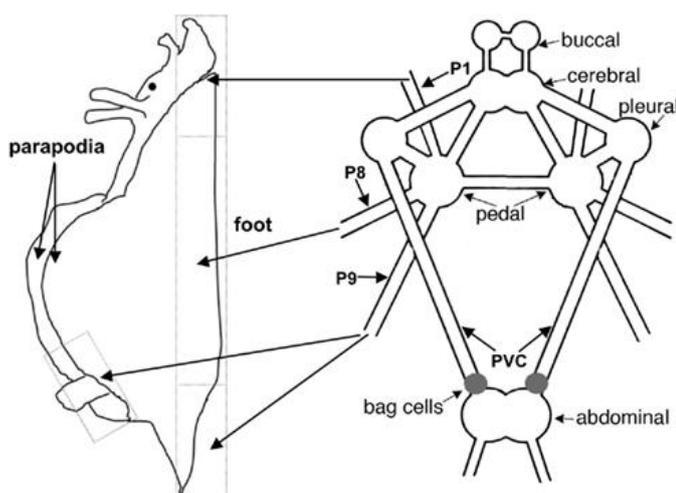
## Класс Gastropoda

---

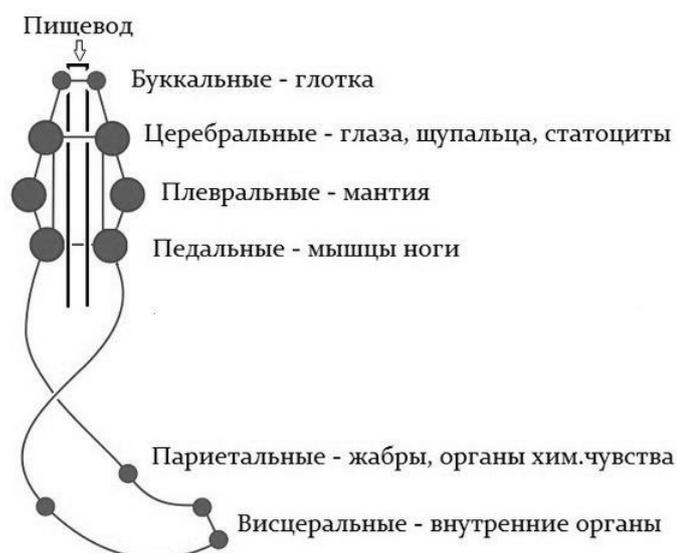
В классе Брюхоногих моллюсков есть два излюбленных модельных объекта нейрофизиологов – это заднежаберный моллюск *Aplysia californica* и всем знакомая виноградная улитка *Helix lucorum*.

Нейрофизиологи так облюбовали моллюсков за их громадные нейроны и достаточно простую нервную систему, состоящую из нескольких пар ганглиев, соединенных между собой: буккальных, церебральных, плевральных, педалных, абдоминальных у аплизии, париетальных и висцеральных у виноградной улитки.

Мы видим, что церебральные плевральные и педалные ганглии у обоих моллюсков расположены совместно и в некотором роде образуют головной мозг.



**Рис.2.** Строение нервной системы аплизии

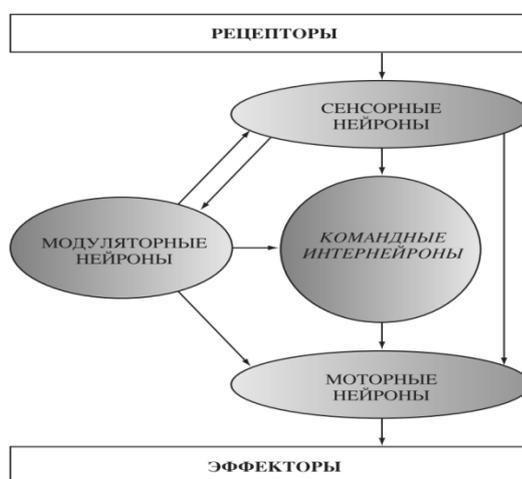


**Рис.3.** Строение нервной системы виноградной улитки.

Дуги оборонительного рефлекса избегания легко прослеживаются благодаря крупным нейронам в ганглиях. Кроме того, некоторые синапсы этих рефлекторных дуг проявляют пластичность: сенситизацию и габитуацию. Поэтому рефлекс избегания брюхоногих моллюсков часто используется для моделирования и изучения процессов долговременной и кратковременной пластичности.

Суть рефлекса избегания. Если раздражать края мантии улитки, то с помощью нейронов педального ганглия запустится оборонительный рефлекс, выражающийся в поджимании мантийного валика и мантийных лопастей, сжатии кольцевых мышц пневмостома, общем сокращении мышц стенки тела.

В случае аплизии, тактильное раздражение сифона вызывает поджимание сифона, жабр и мантийного валика. У аплизии этот рефлекс опосредуется через нейроны абдоминального ганглия.



**Рис.4.** Схема строения рефлекторной дуги оборонительной реакции виноградной улитки. (Балабан, Коршунова, 2011).

Раздражение первичночувствующих кожных рецепторов моллюска приводит к генерации рецепторного потенциала сенсорными нейронами, которые имеют как прямые переключения и мотонейроны, так и опосредованные через вставочные нейроны. В российской литературе эти вставочные нейроны называются командными.

Основные свойства командных нейронов:

- 1) внутриклеточно вызванный спайковый разряд этих клеток вызывает координированные оборонительные реакции, специфические для каждой клетки, и реакцию в мотонейронах;
- 2) спайковый ответ на любой стимул, вызывающий оборонительные реакции, регистрируется в этих клетках до или во время эффекторной реакции;
- 3) первично-сенсорные механорецептивные нейроны моносинаптически связаны с командными нейронами;
- 4) мультимодальная сенсорная информация конвергирует к этим клеткам;
- 5) внутриклеточная гиперполяризация одного из командных нейронов приводит к выпадению элемента оборонительного поведения, запускаемого этим нейроном.

Кроме нейронов “прямой” рефлекторной цепочки (от рецепторов к эффекторам) у улитки описаны нейроны, активация которых не нужна для реализации поведенческого ответа. Однако тоническая активность этих серотонинэргических нейронов модулирует не только ответы командных нейронов оборонительного поведения, но и их фоновую активность. Было показано, что снижение содержания серотонина в нервной системе зрелых улиток при введении избирательного нейротоксина 5.6-диокситриптамина (нарушающего работу только серотонинэргической системы) приводит к изменениям динамики оборонительных реакций на поведенческом уровне и на уровне спайковых реакций командных нейронов при ритмическом раздражении нервов, причем оказалось невозможным вызвать сенситизацию – важнейший компонент пластической перестройки поведения (Данилова, 2000).

Оборонительное поведение гораздо сильнее проявляется при низкой температуре – это показали исследования на прудовике. При 4-6 градусах они почти не вылезают из раковины, а при 34-36 очень быстро ползают, что скорее всего говорит о том, что они испытывают тепловой шок и у них включаются механизмы активного избегания. Возможно, они также испытывают боль при такой температуре, так как было показано что в таких условиях активируется опиоидная система моллюсков.

Увеличение длины щупальцев и длины участка тела, не прикрытого раковинной при повышении температуры осуществляется за счет усиления деятельности сердечно-сосудистой системы и возрастания давления гемолимфы в сосудах, подходящих к стенке тела. Тургор повышается, и тело моллюска вытягивается (Сидоров, 2003).

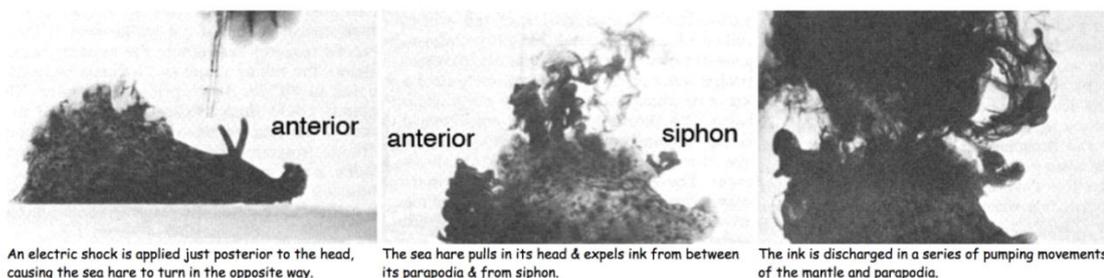
Было выяснено, что сходным с серотонином эффектом обладают доноры NO, что скорее всего доказывает то, что NO является медиатором серотонина в этой системе и может усиливать его действие (Муранова и др., 2008). Такие же механизмы можно проследить и у аплизии. Однако аплизия также способна к другому способу защиты – выпусканью чернил. 37 видов морских зайцев имеют множество вторичных метаболитов в коже и пищеварительных железах, которые также могут использоваться ими для защиты, и *Aplysia californica* в их числе. Аплизии едят красные водоросли *Laurencia pacifica* и

заимствуют у них фиолетовый пигмент для своих чернил. В экспериментах, где аплизий кормили, к примеру, бурыми водорослями, они вообще не могли вырабатывать чернил. Все морские зайцы имеют чернильные железы, большая часть которых выделяет фиолетовые чернила, однако есть еще железы, секретирующие опаловые чернила.

Чернильная железа располагается в мантийной полости прямо над жабрами, а чернила выпускаются через поры на вентральной поверхности железы. Чернила в основном состоят из фикоэритринов, однако не содержат вторичных метаболитов водорослей. Главный белковый компонент чернил – эскапин, он обладает антимикробными свойствами.

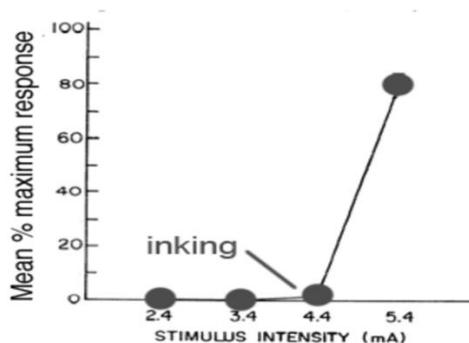
Чернильные железы, вырабатывающие опаловые чернила находятся внизу мантийной полости. Белые чернила богаты белком и более вязкие, не содержат растительных пигментов (Johnson, Willows, 1999).

После того как моллюск съедает новую порцию водоросли, фикоэритробилин диссоциирует от белка в клетках пищеварительных желез и попадает в чернильную железу через гемолимфу. Фикоэритробилин запасается вместе с белком в гранулах чернильной железы, дегранулирование происходит с помощью мышечного сокращения (Prince et. al., 1998). Выпуск чернил происходит в ответ на высокопороговые стимулы, по механизму все или ничего, и контролируется нейронами абдоминального ганглия. Электрические стимулы наносились за головой моллюска, что заставляло его разворачиваться в сторону предполагаемой опасности, потом из сифона выбрасывались чернила.

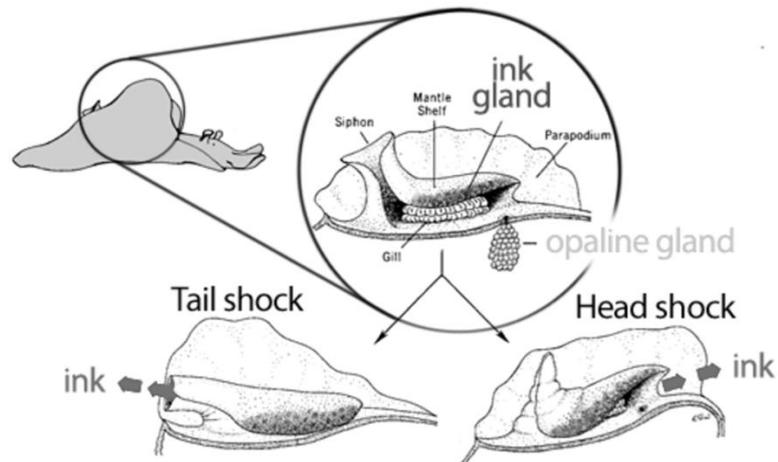


**Рис.5.** Стимуляция выброса чернил аплизией с помощью инъекций тока. (Carew, Kandel, 1976).

Заметим, что аплизия ответила на раздражение выпуском чернил только после пороговой величины раздражения. В норме аплизия никогда не выпускает чернила спонтанно (Carew, Kandel, 1976).

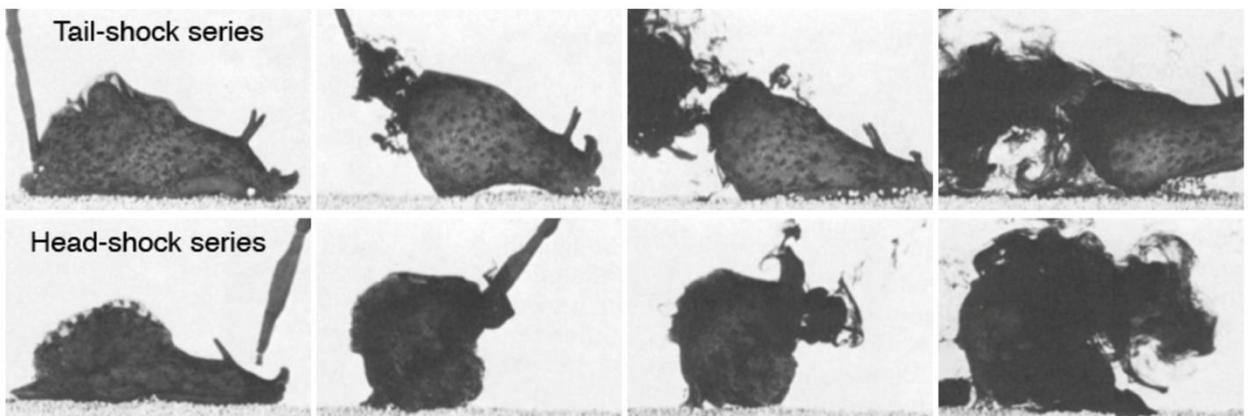


**Рис.6.** Зависимость ответа от интенсивности стимула. (Carew, Kandel, 1976).



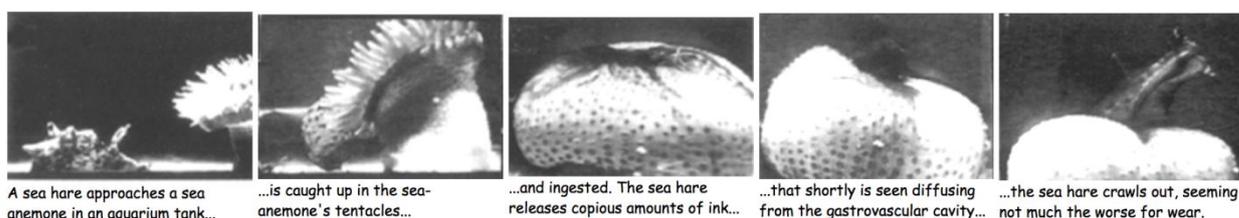
**Рис.7.** Расположение чернильных желез аплизии. (Walters, Erickson, 1986).

Если раздражать хвост аплизии, то чернила перекачиваются назад с помощью сокращений мантии, и выпускаются назад, в то время как аплизия уплывает дальше. Если аплизия атакована спереди, то чернила будут выбрасываться вперед, поддерживаемые движениями параподий, голова моллюска при этом вжимается.



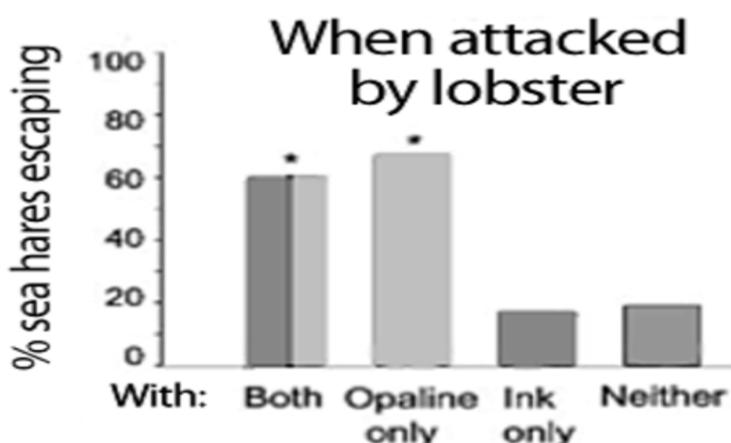
**Рис.8.** Вариабельность ответа в зависимости от места нанесения стимула. (Walters, Erickson, 1986).

В опыте с хищной морской актинией *Anthopleura* sp. аплизия попала в ловчие щупальцы актинии, и начала активно выпускать чернила, однако актиния уже смогла ее заглотить. Однако вскоре аплизия высвободилась обратно целой и невредимой. Этот опыт ставит под сомнение тот факт, что чернила используются в качестве отпугивания хищников. В данном случае полезным оказался опаловый, скользкий компонент чернил. Он окутывает моллюска защитной слизью, вследствие чего его становится сложно поймать или удержать (Nohlenetal., 1995).



**Рис.9.** Видеокадры встречи аплизии с актинией *Anthopleura* sp. (Nohlenetal., 1995).

Проводились эксперименты, когда аплизиям удаляли либо чернильную фиолетовую железу, либо чернильную белую железу, либо обе. После этого все три группы моллюсков вместе с контрольной группой интактных моллюсков подвергались атаке лобстеров. Вот данные, иллюстрирующие, каким группам лучше всего удавалось избежать нападений.



**Рис.10.** Зависимость успешности оборонительного поведения от наличия чернильных желез. (Kicklighter *et al.* 2005).

Можно заключить, что моллюски с белой чернильной железой показывали более эффективное защитное поведение. Ученые выдвинули предположение, что некоторый компонент опаловых чернил способен влиять на лобстеров, модулируя их пищевое поведение.

Оказалось, что опаловые чернила содержат таурин, лизин и гистидин. Эти аминокислоты даже в миллимолярных концентрациях воспринимаются хеморецепторами лобстера. Таурин известен как пищевой стимулятор позвоночных. Выпуская таурин, аплизия сообщает лобстеру, что где-то рядом есть другой, более значительный пищевой стимул. На поведении лобстера это отображается таким образом, что он отвлекается от моллюска и начинает делать роющие движения передними парами ножек. Это явление называется **фагомимикрией**. Оно по сути является сенсорной ловушкой, помогающей моллюскам выжить (Kicklighter *et al.* 2005). рН опаловых чернил колеблется от 5 до 8. Последние исследования показали, что чем более кислую реакцию имеет чернильная жидкость, тем большими фагомимикрическими свойствами она обладает (Shabani *et al.*, 2007). На актиний опаловый секрет чернил действует также, стимулирует их пищевое поведение, однако вызывает стойкое отвращение к аплизиям.

Недавние исследования показали, что чернила аплизий вызывают ослабление пищевого поведения в хищных сомов – они становятся намного менее восприимчивыми к предпочитаемым ими аминокислотам, а также к желчным кислотам, являющимся известными стимуляторами пищевого поведения костистых рыб (Nusbaumetal., 2012).

## Класс Cephalopoda

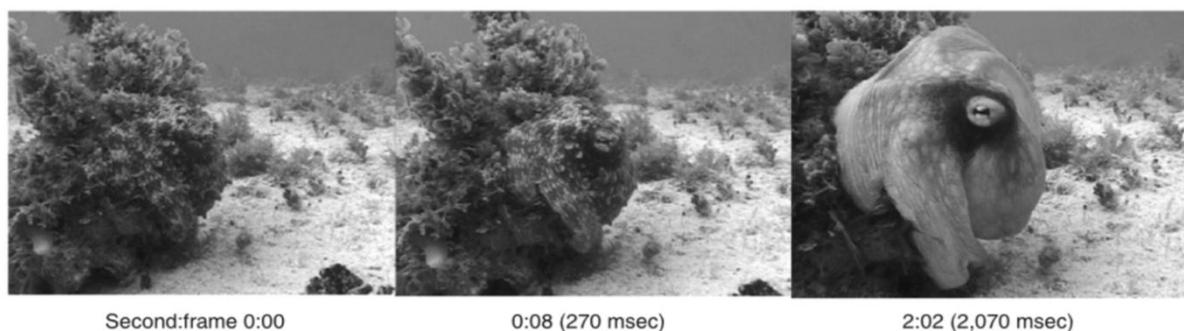
---

Чернила также выпускают головоногие моллюски. Однако помимо химической защиты у них распространен механизм мимикрии, позволяющий им маскироваться под объекты окружающей среды. Для подходящей маскировки требуется согласованная работа зрительной сенсорной системы и нейронных сетей. Окраска головоногих состоит из множества повторяющихся паттернов, они могут менять их с безумной скоростью, чтобы сбить с толку противника.

**Хроматофоры** содержат пигментные гранулы. Хроматофоры окружены радиальными мышцами. В зависимости от степени сокращения радиальных мышц – окраска хроматофоров может варьироваться. Каждый хроматофор контролируется ЦНС независимо от других хроматофоров. Так что в то время как радиальные мышцы некоторых хроматофоров расслаблены, другие – сокращены, что позволяет им менять цвет практически моментально (Hanlon, Messenger, 1996).

Радиальные мышцы хроматофоров регулируются глутаматом и пептидами класса FMRFamide-relatedpeptides. Под воздействием глутамата хроматофоры расширяются быстро и кратковременно, а пептидная регуляция отвечает за более длительные ответы (Tublitzetal., 2006). В системе контроля мимикрии задействовано множество других нейромедиаторов: ацетилхолин, дофамина, норадреналин, серотонин, ГАМК и октопамин (Messenger, 2001).

У обыкновенного осьминога существует более 600 000 нервных клеток, регулирующих активность системы хроматофоров.



**Рис.11.** Время, за которое мимикрирует осьминог. (Hanlon, 2007).

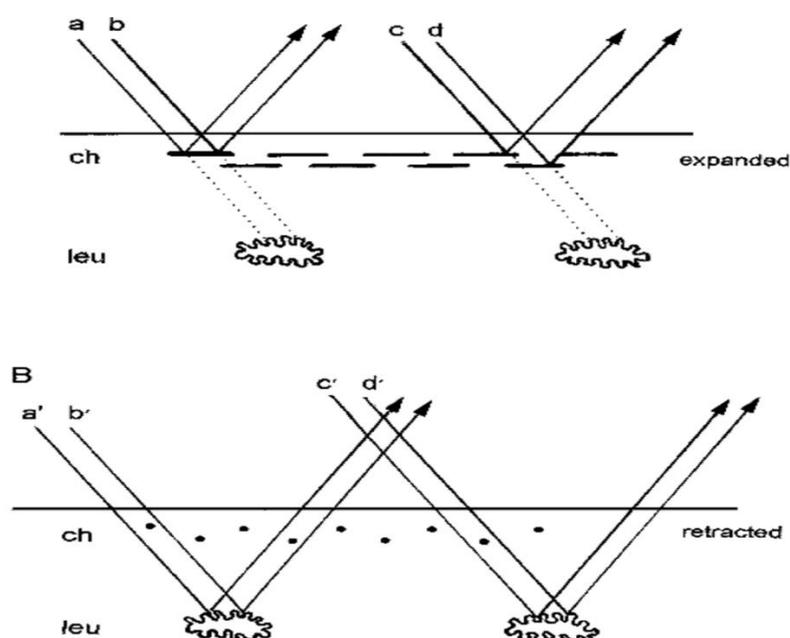
Эффект хроматофоров дополняют **отражающие клетки**, которые меняют цвет путем отражения света. Существует три типа отражающих клеток:

- 1) иридиофоры – отражают в основном розовый, желтый, зеленый, голубой и серебристый
- 2) Есть отражающие клетки, присутствующие только у осьминогов, которые получают синий и зеленый цвета путем интерференции или дифракции.

3) лейкофоры – самый распространенный тип. Они отражают либо белый, либо цвет той длины волны, которая наиболее всего соответствует окружающей среде. (CousteauandDiolé, 1973; HanlonandMessenger, 1996).

До сих пор непонятны механизмы, позволяющие осьминогам собирать цветовую информацию об окружающей среде. Среди ученых даже есть мнение, что осьминоги не различают цвета (HanlonandMessenger, 1996), так что не знают, подо что они мимикрируют. Кроме того, даже после своей смерти осьминоги на какое-то время сохраняют эту свою способность (CousteauandDiolé, 1973).

Зато осьминоги хорошо различают форму, контрастность и плотность объектов (Barbosa, 2007).



**Рис.12.** Схема работы хроматотрофов и лейкотрофов при разных уровнях освещения. (Messenger, 2001).

При слабом освещении мышцы хроматофоров находятся в расслабленном состоянии, в итоге хроматофоры поглощают свет и осьминог выглядит темным при тусклом освещении.

На ярком свету хроматофоры сокращаются – осьминог становится светлее, свет доходит до лейкотрофов, которые могут подбирать точные спектральные характеристики, и приобретают цвет, соответствующий окружению (Messenger, 2001).

## Список литературы

---

1. Балабан П. М., Коршунова Т.А. Сетевые, клеточные и молекулярные механизмы пластичности в простых нервных системах / Балабан П. М., Коршунова Т.А // Успехи физиологических наук. – 2011. - №3. – С. 3-19.
2. Данилова Н.Н. // Д 18 Психофизиология: Учебник для вузов. — М.: АспектПресс, 2000.- 373 с. ISBN 5-7567-0220-2.
3. Муранова Л. Н. [и др.] Влияние оксида азота на процесс формирования долговременной сенситизации у виноградной улитки / Муранова Л. Н. [и др.] // Вестник ТГГПУ. – 2008. - №2. – С. 13-17.
4. Сидоров А. В. Влияние температуры на легочное дыхание, оборонительные реакции и локомоторное поведение пресноводного легочного моллюска *Lymnaea stagnalis*/ Сидоров А. В. // Журнал высшей нервной деятельности. – 2003. - №4. – Т.2. – С. 513-517.
5. Barbosaetal. Disruptive coloration in cuttlefish: a visual perception mechanism that regulates ontogenetic adjustment of skin patterning // The Journal of Experimental Biology. – 2007. - №210. – С. 1139-1147.
6. Carew, T. J., Kandel, E. R. Inking in *Aplysiacalifornica*: I. Neural circuit of an all-or-none behavioral response// J Neurophysiol. – 1976. - №40. – С. 692-707.
- Cousteau, J. Y., Diolé P. OctopusandSquid, TheSoftIntelligence // GardenCity, N.Y.: Doubleday. - 1973.
7. Fleming, etal. Leaveitallbehind: a taxonomic perspective of autotomy in invertebrates // BiologicalReviews. – 2007. - №82. – С. 481–510.
8. Hanlon, R. CephalopdDynamicCamouflage // CurrentBiology. – 2007. - №17, Т. 11.
9. Hanlon, R. T., Messenger, J. B. CephalopodBehaviour//NewYork: CambridgeUniversityPress. - 1996.
10. Hodgson, A.N. Studies on wound healing, and anestimation of the rate of regeneration, of the siphonof *Scrobicula riaplana* (daCosta) // JournalofExperimentalMarineBiologyandEcology. – 1981. - № 62. – С. 117–128.
11. Johnson, P. M., Willows, A. O. Defense in sea hares (Gastropoda, Opisthobranchia, Anaspidea): multiple layers of protection from egg to adult // Mar. Fresh. Behav. Physiol. - 1999. - №32. – С. 147 -180.
12. Kicklighter et al. Sea hares use novel antipredatory chemical defenses // CurrentBiol. – 2005. - №15. – С. 549-554.
13. Messenger, J.B. Cephalopod chromatophores : neurobiology and natural history// Biol. Rev. – 2001. - №76. – С. 473–528.

14. Prince et al. Defensive Ink Pigment Processing and Secretion in *Aplysia Californica*: Concentration and Storage of Phycoerythrobilin in the Ink Gland // *Exp Biol.* – 1998. - №201. – С. 1595-1613.

15. Nohlen et al. Ink secretion by the marine snail *Aplysia californica* enhances its ability to escape from a natural predator // *J Comp Phys A.* – 1995. - №176. – С. 239-254.

16. Nusnbaum et al. Taste-mediated behavior and electrophysiological responses by the predatory fish *Ariopsis felis* to deterrent pigments from *Aplysia californica* ink // *J Comp Physiol A.* – 2012. - №198. – С. 283-294.

17. Tublitz et al. Neural regulation of a complex behavior: body patterning in cephalopod molluscs // *Integrative and Comparative Biology.* – 2006. - №46. – Т.6. – С. 880–889.

18. Walters, E.T., Erickson, M.T. Directional control and the functional organization of defensive responses in *Aplysia* // *J Comp Physiol A.* – 1986. - №159. - Т.3. - С. 339-351.  
Shabani et al. Acidity Enhances the Effectiveness of Active Chemical Defensive Secretions of Sea Hares, *Aplysia Californica*, Against Spiny Lobsters, *Panulirus Interruptus* // *J Comp Physiol A.* – 2007. - №193. - С. 1195-1204.

## **Обучение моллюсков, память.**

*Колотова Дарья*

### **I. Введение**

**Обучение** – это появление адаптивных изменений индивидуального поведения животного в результате приобретения опыта. Обучение можно исследовать на как на уровне организма, так и на уровне отдельной нервной клетки. Обучение можно разделить на 2 общие категории: неассоциативное и ассоциативное.

**Неассоциативное** обучение заключается в изменении поведенческой реакции при повторных предъявлениях одного раздражителя. К неассоциативному обучению относятся: **привыкание** – постепенное затухание поведенческого ответа при повторных предъявлениях стимула и **сенсibilизация** – усиление поведенческого ответа организма при повторных предъявлениях стимула. При **ассоциативном** обучении в ЦНС формируется временная связь между двумя стимулами, один из которых изначально был для животного безразличен, а другой играл роль вознаграждения или наказания. Формирование этой связи обнаруживается в виде изменений в поведении животного, которые называются условными рефлексам.

Важно отметить ключевое отличие между условным рефлексом и сенсibilизацией, которое заключается в обязательном присутствии связи во времени между двумя различными стимулами. Среди условных рефлексов различают классические условные рефлексы и инструментальные условные рефлексы. При формировании классического условного рефлекса один стимул (безусловный, например, пища) подается сразу после второго стимула (условного, например, звонка). После некоторого числа повторений животное начинает проявлять поведенческую реакцию на условный стимул даже в отсутствие безусловного. Инструментальный рефлекс - это **условный рефлекс**, при котором реакция на условный раздражитель (обычно двигательная) является обязательным условием получения подкрепления. Например, если нажатие на педаль, сопровождаемое получением

животным пищи, предваряется звуковым или световым раздражителем, то после ряда сочетаний нажатие на педаль становится инструментальной реакцией, а внешний стимул — сигналом для совершения такой реакции[11].

## II. Общий обзор поведения у моллюсков

В рамках типа *Mollusca* механизмы обучения в наибольшей степени изучены у представителей двух классов: *Gastropoda* и *Cephalopoda*.

### 1) Класс *Gastropoda*

Брюхоногие моллюски являются удобным объектом для изучения механизмов обучения. При проведении экспериментов имеется возможность анализировать поведение на клеточном уровне благодаря удобству идентификации и регистрации электрической активности индивидуальных нейронов, входящих в соответствующие нейронные сети [8]. Механизмы обучения брюхоногих моллюсков рассмотрены в разделе III на примере хорошо изученного модельного объекта – голожаберного моллюска *Aplysia sp.*

### 2) Класс *Cephalopoda*

Представители класса *Cephalopoda* характеризуются широким разнообразием паттернов поведения и обладают высокой способностью к обучению [2, 8]. Для данного класса характерно сложное устройство нервной системы и обучение на основе поиска связей между различными потоками сенсорной информации (в основном визуальной и тактильной)[2]. В таблице 1 приведены различные типы ассоциативного и неассоциативного обучения, изученные на представителях разных видов головоногих моллюсков.

Таблица 1. Обзор встречаемости различных типов обучения у головоногих моллюсков[2]:

	Habituation	Sensitization	Classical conditioning	Instrumental conditioning	Avoidance learning	Spatial learning	Mazes and problem solving	Social learning	Perceptual processes in visual learning
<i>Sepia officinalis</i>	X		✓	✓	X	X		X	
<i>Loligo vulgaris</i>			✓						
<i>Lolliguncula brevis</i>	✓		✓						
<i>Todarodes pacificus</i>			✓						
<i>Octopus vulgaris</i>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Octopus bimaculatus</i>			✓						
<i>Octopus bimaculoides</i>			✓			X			✓
<i>Octopus cyanea</i>			✓	✓					
<i>Octopus joubini</i>					✓				
<i>Octopus maorum</i>					✓				
<i>Octopus maya</i>			✓				✓		✓
<i>Enteroctopus dofleini</i>			✓						
<i>Eledone moschata</i>			✓		✓				

Как видно из таблицы 1, у головоногих моллюсков описаны формы и неассоциативного (habituation - привыкание, sensitization- сенсбилизация), и ассоциативного обучения (classical and instrumental conditioning - классический и инструментальный условные

рефлексы). Также описаны другие сложные формы обучения, такие, как пространственное и социальное обучение, избегание, решение различных задач и др. Разнообразие поведенческих паттернов и сложность изучения класса *Cephalopoda* на клеточном уровне привели к тому, что многие клеточные и электрофизиологические механизмы обучения остаются малоизученными.

### III. Исследование механизмов обучения на модельном объекте *Aplysia sp.*

Подробнее механизмы обучения у моллюсков можно рассмотреть на примере хорошо изученного объекта – аплизии (*Aplysia sp.*). Аплизия – один из крупнейших представителей брюхоногих моллюсков, также называемая морским зайцем. Аплизия является одним из популярных модельных объектов в нейрофизиологии. Это связано с тем, что нервная система аплизии имеет ряд особенностей:

- Нервная система состоит примерно из 20 000 нейронов;
- Многие из нейронов очень большие (до 1 мм в диаметре);
- Нейроны часто окрашены в различные цвета и занимают строго определённое положение в нервных ганглиях – легко опознавать индивидуально.

Эти особенности использовал нобелевский лауреат 2000 года Эрик Кандел в своих исследованиях молекулярных механизмов работы синапсов, лежащих в основе формирования кратковременной и долговременной памяти [8, 12].

#### Устройство нервной системы аплизии

Нервная система аплизии состоит из 20 тыс. нейронов, собранных в девять отдельных узлов, или ганглиев. Четыре парных головных ганглия — церебральный, буккальный, плевральный и педальный – образуют кольцо вокруг пищевода. Единственный непарный абдоминальный ганглий расположен под пищеводом (рис.1). Поскольку в каждом ганглии содержится сравнительно немного клеток (около 2000), исследователь способен выявлять простые формы поведения, которыми управляет каждый ганглий. После этого можно изучать изменения, происходящие в конкретных клетках, когда поведение моллюска изменяется в результате обучения [8, 12].

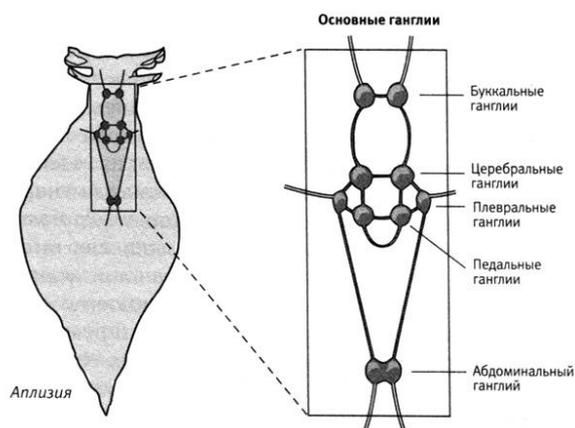
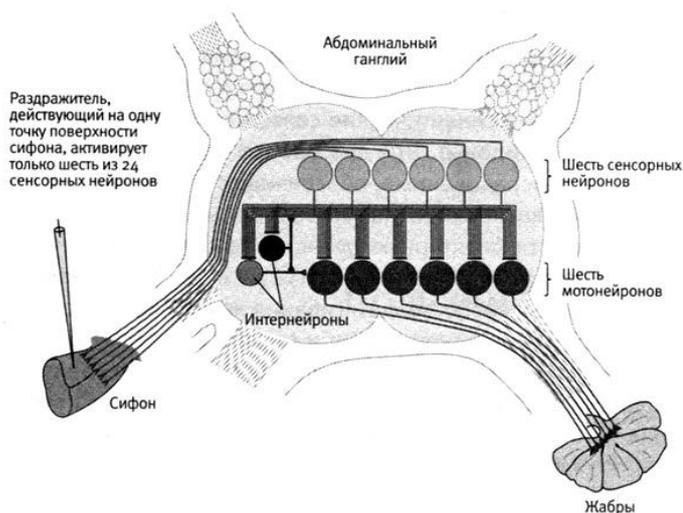


Рис.1. Нервная система аплизии [12].

## Рефлекс втягивания жабры

Примером простой поведенческой реакции, на которой можно изучать различные типы обучения, является рефлекс втягивания жабр. На рис.2 представлена нейронная сеть данного рефлекса. Если слегка прикоснуться к сифону, у аплии немедленно срабатывает защитный механизм втягивания как сифона, так и жабр в мантийную полость. Смысл рефлекса состоит в защите жабр, жизненно важного и ранимого органа, от возможных повреждений.



**Рис.2.** Рефлекс втягивания жабры у аплии [12].

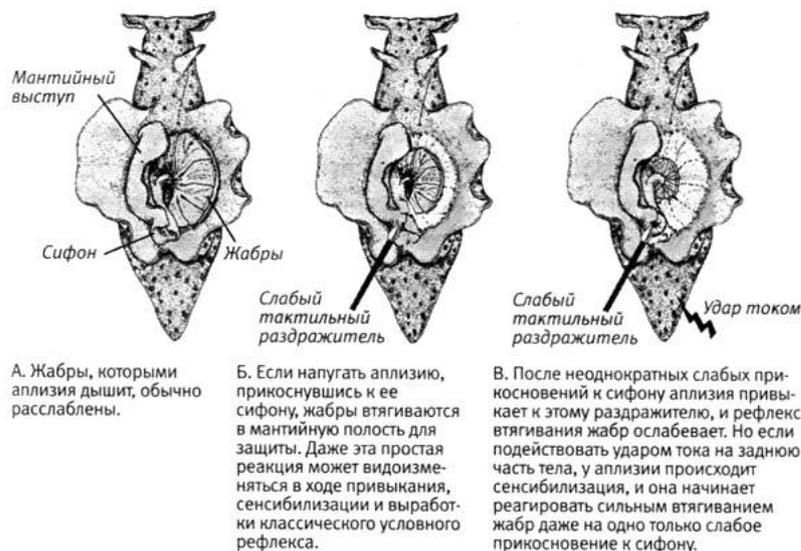
Система сифона включает 24 сенсорных нейрона, но прикосновение к любой точке его поверхности активирует только шесть из них. У любой аплии одни и те же шесть нейронов передают осязательный сигнал одним и тем же шести мотонейронам, обеспечивая рефлекс втягивания жабр. Помимо непосредственных связей сенсорные нейроны образуют с мотонейронами опосредованные синаптические связи через интернейроны (вставочные нейроны). Эти два набора связей, непосредственные и опосредованные, обеспечивают передачу информации о прикосновении на мотонейроны, которые и производят саму рефлекторную реакцию за счет своих связей с тканями жабр [8, 12].

Рефлекс втягивания жабр относится к сгибательным рефлексам. Рефлекторные дуги многих сгибательных рефлексов включают в себя как моносинаптические связи между чувствительными и моторными нейронами, так и полисинаптические связи, вовлекающие возбуждающие и тормозные нейроны. Можно зарегистрировать активность данных нейронов и их синаптические связи во время обучения на полуинтактном препарате (Вугне & Hawkins, 2015). Данный простой рефлекс видоизменяется в результате двух форм неассоциативного обучения — привыкания и сенсibilизации. Первое слабое прикосновение к сифону вызывает быстрое втягивание жабр. Последующие слабые прикосновения вызывают привыкание: по мере того как животное обучается распознавать этот раздражитель как несущественный, рефлекс втягивания постепенно ослабевает — развивается привыкание [4, 12].

### Сенсibilизация

На примере рефлекса втягивания жабр рассмотрим подробнее механизм сенсibilизации.

Сенсibilизация – это усиление поведенческой реакции организма в ответ на сильный или повторяющийся стимул. Сенсibilизацию можно произвести, действуя сильным электрическим ударом на заднюю часть тела (рис.3).

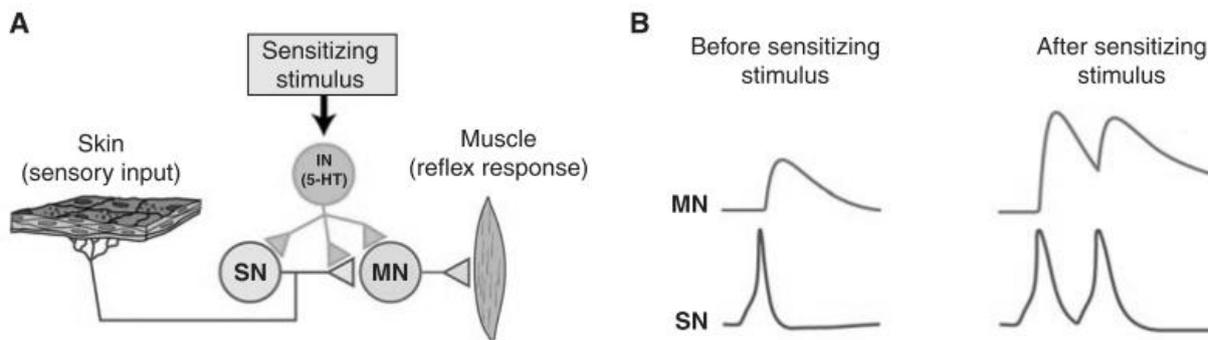


**Рис.3.** Развитие сенсibilизации у аплизии [12].

Животное распознает этот сильный раздражитель как неприятный, после чего в ответ на такое же слабое прикосновение к сифону демонстрирует усиленный рефлекс втягивания жабр. Сенсibilизирующий стимул активирует возбуждающие интернейроны, вызывая выброс серотонина (рис.4, А). Во время сенсibilизации происходит повышение активности мотонейронов по 2 механизмам (рис.4, В):

- 1) Те же тактильные стимулы, что ранее приводили лишь к слабому втягиванию жабр, теперь вызывают увеличение частоты ПД, генерируемых чувствительными нейронами, то есть, повышается возбудимость чувствительных нейронов.
- 2) Также повышается амплитуда постсинаптических потенциалов в мотонейронах.

Изменения в возбудимости и характере постсинаптических потенциалов обусловлены модуляторным влиянием серотонина на мотонейроны[4].



**Рис.4.** Механизмы развития сенсibilизации[4].

А–Сенсибилизирующий стимул активирует возбуждающие интернейроны, вызывая выброс серотонина;

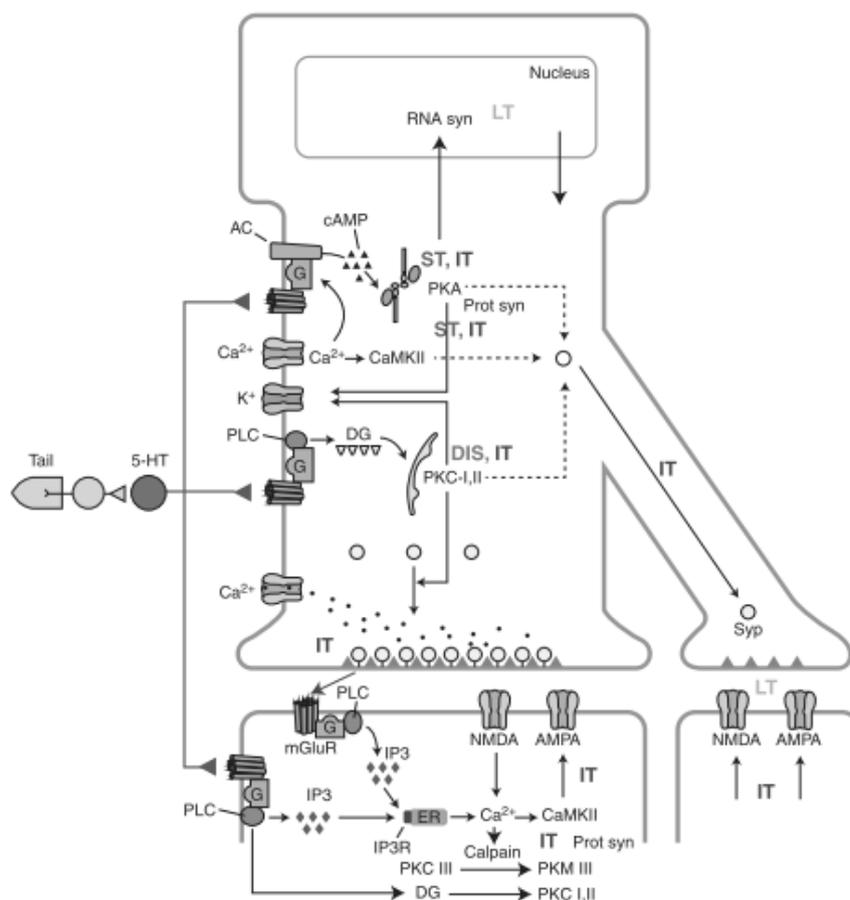
В – При сенсибилизации происходит повышение активности мотонейронов (пояснения в тексте).

Обозначения: MN – моторные нейроны, SN – сенсорные нейроны, IN – интернейроны.

### Типы сенсибилизации

Различают 3 типа сенсибилизации. Одиночный отрицательный стимул, например удар током, вызывает кратковременную сенсибилизацию (short-termsensitization, STS), которая длится в течение минут. В то же время повторение шоковых стимулов приводит к долговременной сенсибилизации (long-termsensitization, LTS), сохраняющейся в течение нескольких дней. Также существует промежуточный вариант сенсибилизации (intermediate-termsensitization), которая сохраняется в течение часов.

Типы сенсибилизации различаются по клеточным механизмам их реализации (рис.5).



**Рис.5.** Клеточные механизмы сенсибилизации [4].

Обозначения: ST –кратковременная, LT – долговременная,

IT – промежуточная сенсибилизация

### 1) Кратковременная сенсibilизация

При кратковременной сенсibilизации серотонин, связываясь с рецепторами на мембране чувствительного нейрона, влияет на активность протеинкиназы А и кальмодулин-зависимой протеинкиназы, что приводит к уменьшению входящего калиевого тока и повышению возбудимости мембраны.

### 2) Промежуточный тип

В промежуточный тип сенсibilизации вовлечено гораздо больше внутриклеточных реакций. Меняется активность протеинкиназы С, синтез белков и спонтанный выброс медиатора. В механизме также задействованы постсинаптические метаботропные и ионотропные рецепторы к Glu.

### 3) Долговременная сенсibilизация

При долговременной сенсibilизации меняется экспрессия генов и наблюдается рост новых синапсов[4].

## **Ассоциативное обучение аплизии**

Ассоциативное обучение аплизии можно рассмотреть на примере формирования 2-х типов условных рефлексов:

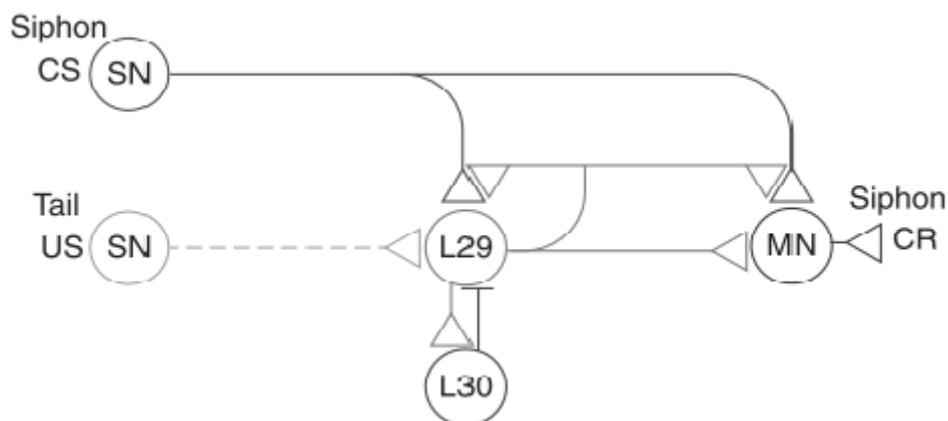
1) Выработка классического условного рефлекса на основе рефлекса втягивания жабры в ответ на стимуляцию сифона.

2) Выработка инструментального (или оперантного) условного рефлекса при осуществлении пищевого поведения.

## **Механизмы ассоциативного обучения у аплизии (классический условный рефлекс)**

Классический условный рефлекс, являющийся ассоциативной формой обучения, у аплизии может формироваться на основе уже рассмотренного нами рефлекса втягивания жабры в ответ на стимуляцию сифона. Обычно при формировании условного рефлекса первоначально слабый или неэффективный условный стимул становится более эффективным после совмещения с сильным безусловным рефлексом. В большинстве подобных экспериментов в качестве условного раздражителя выступает слабая тактильная стимуляция сифона, вызывающая рефлекс втягивания жабры, а в качестве безусловного стимула применяется электрическая стимуляция хвоста. При совмещении этих двух стимулов и 20-30 повторениях в ответ на тот же тактильный стимул наблюдается заметно более сильное втягивание жабры, чем при разделении стимулов во времени. Подобный эффект может сохраняться в течение нескольких дней [7].

Электрический стимул возбуждает модуляторные интернейроны L29. Данные интернейроны также возбуждаются и при тактильной стимуляции сифона и передают возбуждение на мотонейроны, являясь также и возбуждающими нейронами. Помимо этого, L29 имеют отрицательную обратную связь с L30 интернейронами (рис.6).



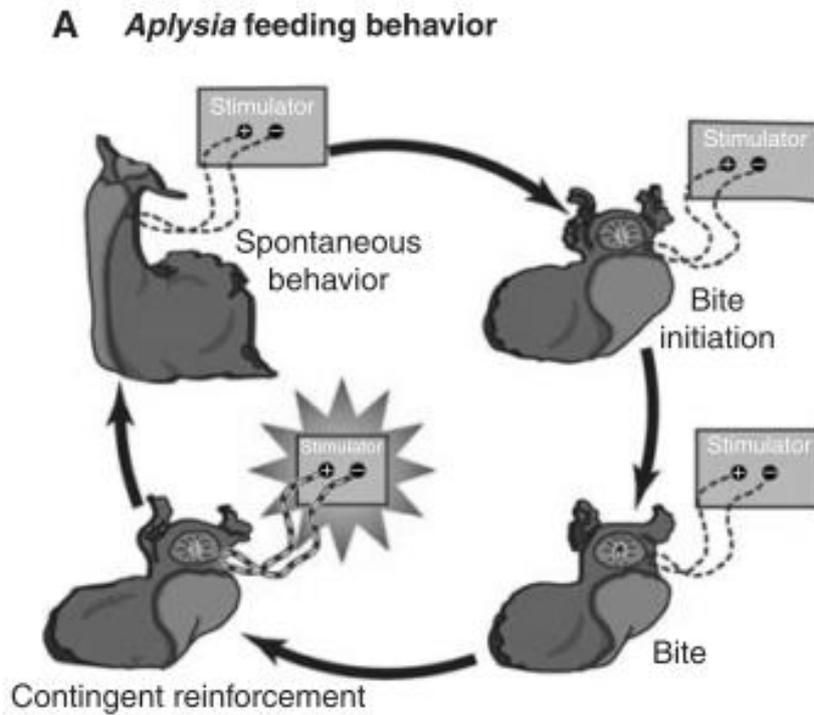
**Рис.6.** Механизм развития классического условного рефлекса у аплии [7].  
 Обозначения: MN – моторные нейроны, SN – сенсорные нейроны, IN – интернейроны, CS – условный стимул, US – безусловный стимул, CR – условный ответ.

### Механизмы ассоциативного обучения у аплии (оперантный условный рефлекс)

Примером сложного поведения аплии является пищевое поведение, на котором также можно изучать механизмы формирования классического и оперантного условных рефлексов.

В первых экспериментах по выработке условного рефлекса животному предлагали пищу (морские водоросли), завернутую в пластиковую сеть, которую аплия заведомо не могла съесть. Аплия схватывала такую пищу, которая попадала в буккальную полость, однако проглотить ее не могла. После повторных попыток заглотнуть пищу, животное в конечном итоге отказывалось от пищи [7].

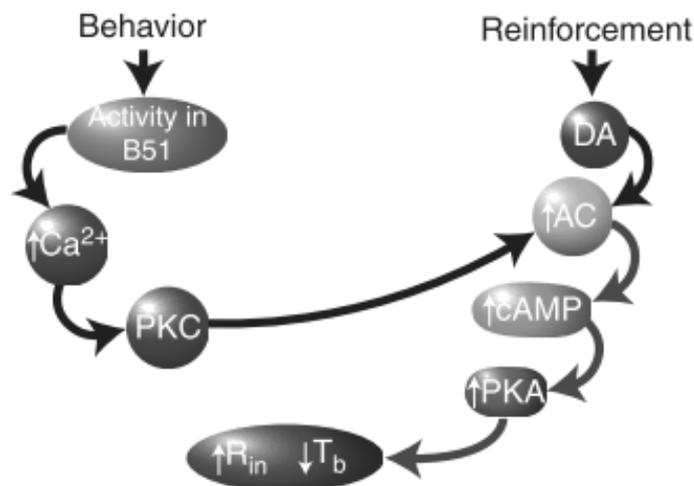
Было выяснено, что афферентная информация, связанная с безусловным стимулом (морская водоросль в качестве пищи), проводится по передней ветви нерва пищевода En2, иннервирующей переднюю кишку [7]. Рассмотрим механизм формирования инструментального условного рефлекса на примере пищевого поведения. При проведении эксперимента по выработке инструментального условного рефлекса в качестве подкрепления использовалась стимуляция нерва пищевода En2, а в качестве закрепляемой реакции – реакция схватывания пищи (рис.7). Во время обучения после каждого акта схватывания немедленно следовала стимуляция, подаваемая на электроды, имплантированные в нерв. Период обучения составлял 10 минут [3]. Эксперимент проводился на контрольной и опытной группе. Контрольная группа получала такое же количество стимуляций, что и опытная, но стимуляция не была связана с актом схватывания. В опытной группе наблюдалось значительно большее число спонтанных актов схватывания пищи по сравнению с контрольной группой в течение часового и 24-часового наблюдения после обучения (Hawkins & Byrne, 2015; Menzel & Benjamin, 2013).



**Рис.7.** Инструментальный условный рефлекс при пищевом поведении [7].

В процессе выработки инструментального условного рефлекса усиливается электрическая связь между нейронами В30, В63, и В65, а также повышается возбудимость нейронов В51, В30, В63 и В65.

На рис.8 приведен механизм усиления нейронной активности на примере нейрона В51(Hawkins& Byrne, 2015).



**Рис.8.** Механизм усиления нейронной активности на примере нейрона В51[7]. PKC – активация протеинкиназы С, AC – активация аденилатциклазы, PKA – активация протеинкиназы А.

## Заключение

На основании проведенного обзора можно сделать следующий вывод – представители типа *Mollusca* характеризуются сложным поведением и способностью к различным типам обучения. Изучение обучения у моллюсков позволяет лучше понять механизмы обучения не только у представителей данного типа беспозвоночных, но и механизмы обучения у беспозвоночных и позвоночных животных в целом.

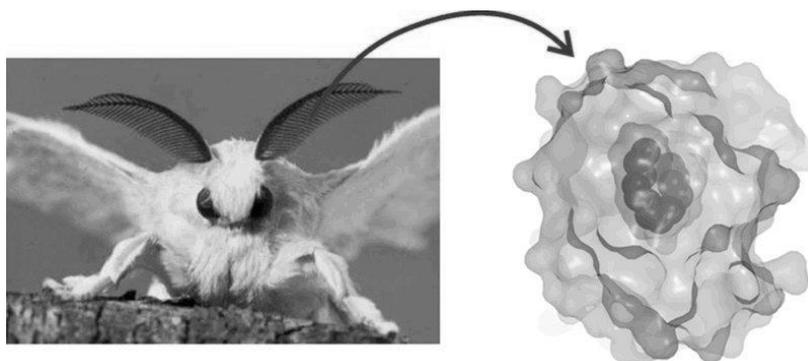
## Список литературы

1. Agin V. [и др.]. Developmental study of multiple memory stages in the cuttlefish, *Sepia officinalis*. // *Neurobiology of learning and memory*. 2006. (86). С. 264–269.
2. Borrelli L., Fiorito G. Behavioral Analysis of Learning and Memory in Cephalopods // *Learning and Memory: A Comprehensive Reference*. 2008. С. 605–628.
3. Brembs B. [и др.]. Operant reward learning in *Aplysia*: neuronal correlates and mechanisms // *Science*. 2002. № 5573 (296). С. 1706–1709.
4. Byrne J.H., Hawkins R.D. Nonassociative Learning in Invertebrates // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2015. № 5 (7). С. 1–16.
5. Croset V. [и др.]. A molecular and neuronal basis for amino acid sensing in the *Drosophila* larva. // *Scientific reports*. 2016. (6). С. 34871.
6. Gunaratne C.A., Katz P.S. Comparative Mapping of GABA-Immunoreactive Neurons in the Buccal Ganglia of Nudipleura Molluscs // *Journal of Comparative Neurology*. 2016. № 6 (524). С. 1181–1192.
7. Hawkins R.D., Byrne J.H. Associative Learning in Invertebrates. // *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2015. № 5 (7). С. a021709–.
8. Menzel R., Benjamin P.R. *Invertebrate Learning and Memory* / R. Menzel, P.R. Benjamin, 2013. 1689-1699 с.
9. Newcomb J.M., Fickbohm D.J., Katz P.S. Comparative mapping of serotonin-immunoreactive neurons in the central nervous systems of nudibranch molluscs // *Journal of Comparative Neurology*. 2006. № 3 (499). С. 485–505.
10. Patel K. [и др.]. Mucus trail tracking in a predatory snail: Olfactory processing retooled to serve a novel sensory modality // *Brain and Behavior*. 2014. № 1 (4). С. 83–94.
11. Зорина А., Полетаева И. Зоопсихология. Элементарное мышление животных. / А. Зорина, И. Полетаева, 2002. с.64-67 с.
12. Кандел Э. В поисках памяти. / Э. Кандел, 2012.

# Насекомые

## «Как найти себе жену» на языке ночных бабочек. Феромоны.

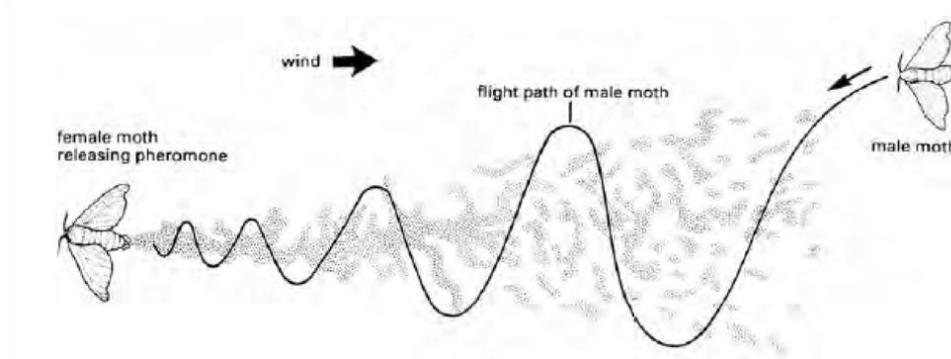
Новичихина Клара



**Рис.1.** Самец *Bombyx Mori* обнаруживает половой феромон бомбикол в воздухе с помощью обонятельных сенсилл на антенне. Феромон-связывающий белок (светлый) полностью инкапсулирует бомбикол (тёмный) в центральной связывающей полости.

Феромоны – летучие молекулы, которые при выбрасывании в воздух формируют удлиненный шлейф, называемый активным пространством. Форма и размер активного пространства зависит от веса молекул и скорости ветра. Когда самец шелкопряда обнаруживает в воздухе молекулы феромонов, испускаемые самкой шелкопряда, он начинает искать источник.

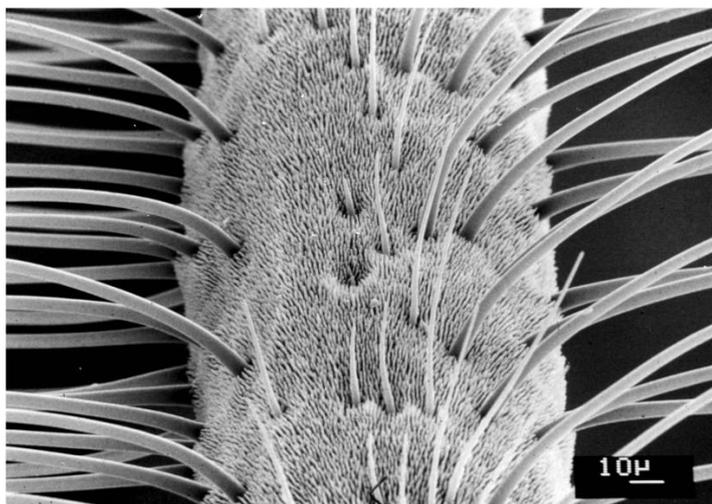
Насекомое использует направление ветра для ориентации (анемотаксис). На нелетающих мутантах продемонстрировали, что насекомые движутся против ветра независимо от присутствия самки.



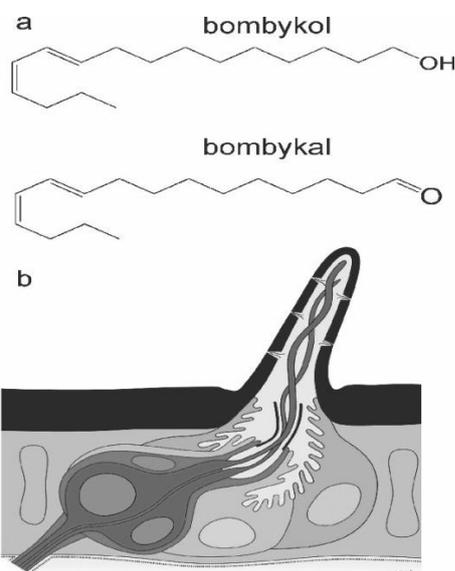
**Рис.2.** Насекомое ориентирует себя с помощью ветра и начинает синусоидальное зигзагообразное движение поперек продольной оси шлейфа.

При исчезновении шлейфа, угол потерян, насекомое двигается зигзагообразно влево-вправо с большой амплитудой, пока не окажется на 90 градусов к линии ветра (метание). Анемотаксис столь важен для нахождения местоположения партнера, что самец после потери контакта со шлейфом возвращается обратно по ветру, чтобы вновь войти в активное пространство. Все эти движения направлены на поддержание контакта с запахом.

*Феромоны липофильны. Они прикрепляются к липидам и жироподобным материалам. Вследствие этого феромоны застревают и концентрируются на поверхности кутикулы, а затем соскальзывают в поры при движении насекомого.*



**Рис.3.** Рецепторы на антеннах насекомого.

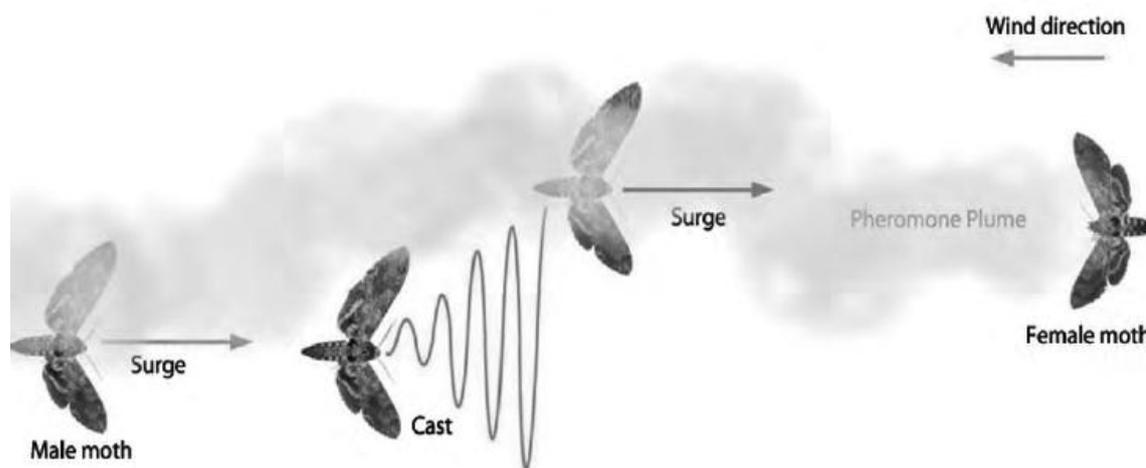


**Рис.4.**Обонятельная сенсилла на антенне. Два нейрона в одной сенсилла (тёмные) специфически отвечают на один из двух компонентов феромона: бомбикол или бомбикал. Лимфа (светло-серая, вокруг клеток), кутикула с порами для проникновения феромона (черный).

Сенсиллы – волосоподобные структуры, состоящие из сенсорного нейрона и кутикулярных структур. Сенсилла, отвечающая за половые феромоны, находится на антенне.

Они отличаются морфологически и на молекулярном уровне. Чтобы достигнуть сенсорного нейрона, молекулы феромона должны пересечь стену из волосков через поры трубочек. При контакте с нейроном происходит электрический отклик. Феромоны тутового шелкопряда состоят из двух компонентов: бомбикол и бомбикал. Каждый сенсорный нейрон настроен на определенный компонент.

Повороты в разные стороны – распространенная схема движения во время ориентирования у насекомых.



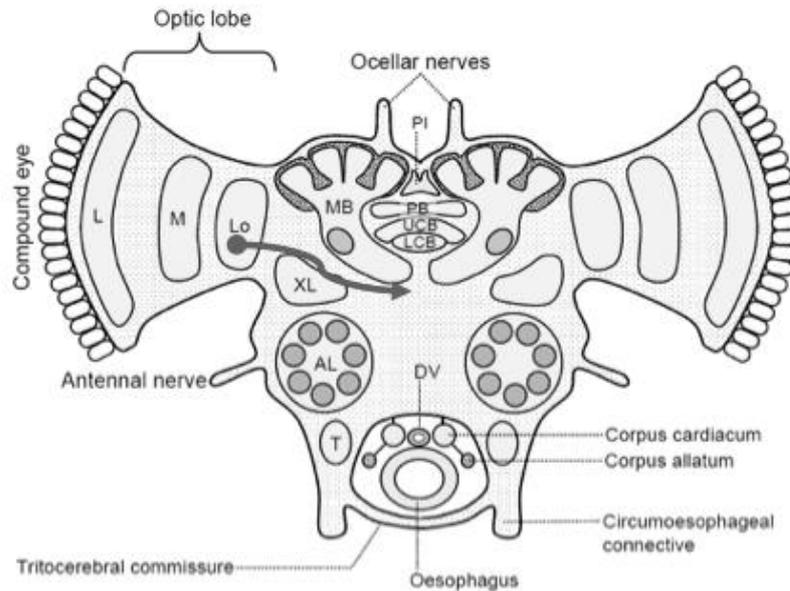
**Рис.5.** Как только самцы чуют половые феромоны, а затем теряют источник, они начинают зигзагообразно двигаться то влево, то вправо, чтобы повысить вероятность столкновения со шлейфом феромона (casting).

В статье обобщаются анатомия и функции нейронной сети, участвующей в феромонном ориентировании шелкопрядов. Латеральная придаточная доля (LAL) – схемный модуль для зигзагообразных движений, управляющий ими с помощью триггерного (flip-flop) нейрального переключателя. Зигзагообразная схема движения для обонятельного ориентирования так же была обнаружена у других насекомых: комнатная муха, комар, таракан. Выдвинута гипотеза, что этот зигзаговый модуль используется во многих поведенческих схемах насекомых.

### Тутовый шелкопряд

- одно только присутствие феромона уже вызывает полное сексуальное поведение
  - в шлейфе феромона: обычно зигзагообразные движения
- НО часто и прямые траектории (зависит от формы шлейфа)
- при потере шлейфа – начинают зигзагообразно двигаться то влево, то вправо, чтобы повысить вероятность столкновения со шлейфом феромона
  - феромоны улавливаются сенсорными нейронами в сенсиллах и информация передается в мозг
    - антеннальная доля – первичный обонятельный центр, обрабатывает информацию по структуре шлейфа
    - проекционные нейроны – вторичные обонятельные нейроны – получают входную информацию от клубочков и передают в специальные области нижнего латерального protocerebrum (первый сегмент мозга членистоногих), где терминалы отделены от 85 не относящихся к феромонам клубочков
    - далее информация поступает в LAL через верхний медиальный protocerebrum

- LAL – область, принимающая участие в контроле двигательных функций феромонной ориентации



**Рис.6.** Схема строения надглоточного ганглия насекомых. Стрелкой показан ход нисходящих нейронов, иннервирующих LAL.

## Методика исследования

### Объект:

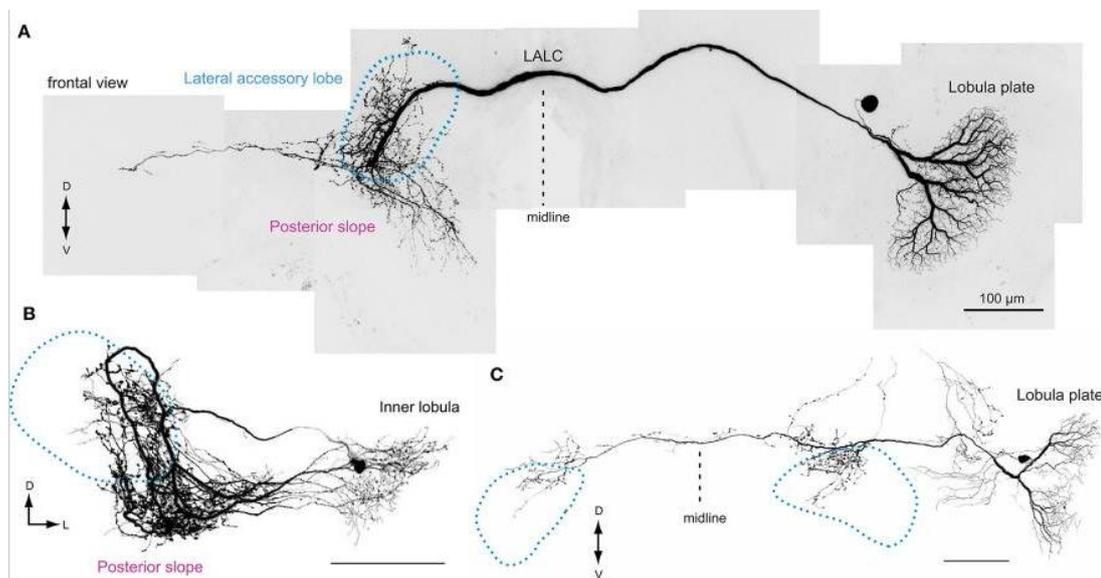
*Bombyx mori* (Lepidoptera, Bombycidae)

27°, 50-60%, 2-4 дня после вылупления

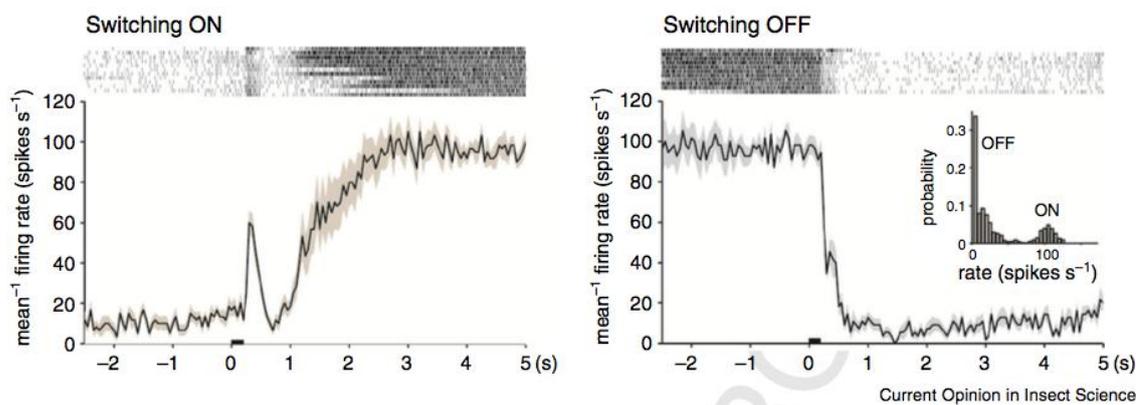
- анестезия: 4°, 30 мин
- удаляли лапки
- помещали в экспериментальную камеру
- голова обездвиживалась пластиковой пластинкой
- удаляли головную капсулу и большую трахею
- обнажали LAL (lateral accessory lobe)
- микроэлектроды с Lucifer yellow вводились в LAL, для записи активности нисходящих нейронов
  - вводили краситель: постоянная гиперполяризация 1-2 пА, 1-5 мин
  - мозг фиксировали: 10% формальдегид и 0.2% пикриновая кислота, 4°, 1-2 ч
  - ткани обезвоживали этанолом и прочищали в метилсалицилате
- обонятельные стимулы: выдувание из воздуховодной стеклянной трубы (пипетка Пастера: кончик 1 мм в диаметре, скорость потока 2 м/с)

- главный компонент феромонов – бомбикол на фильтровальной бумаге помещали на расстоянии 1 см от антенны
- феромоны удалялись путем легкого всасывания через выхлопную трубу, расположенную позади препарата

### Нейронная активность



**Рис.7.** Морфология нисходящих нейронов, иннервирующих LAL у тутового шелкопряда. Показаны варикозные расширения в районе LAL.



**Рис.8.** Бистабильность в активности нисходящего LAL нейрона. Время спайка и средняя частота срабатывания изменяются в ответ на стимул - половой феромон Mean  $\pm$  SEM.

**Нисходящий нейрон (DN)** – интерганглионарный нейрон, берущий начало в над- или подкишечном ганглии. DN – нейроны с аксонами, проводящими инфу от мозга к одному или нескольким торакальным и/или абдоминальным ганглиям.

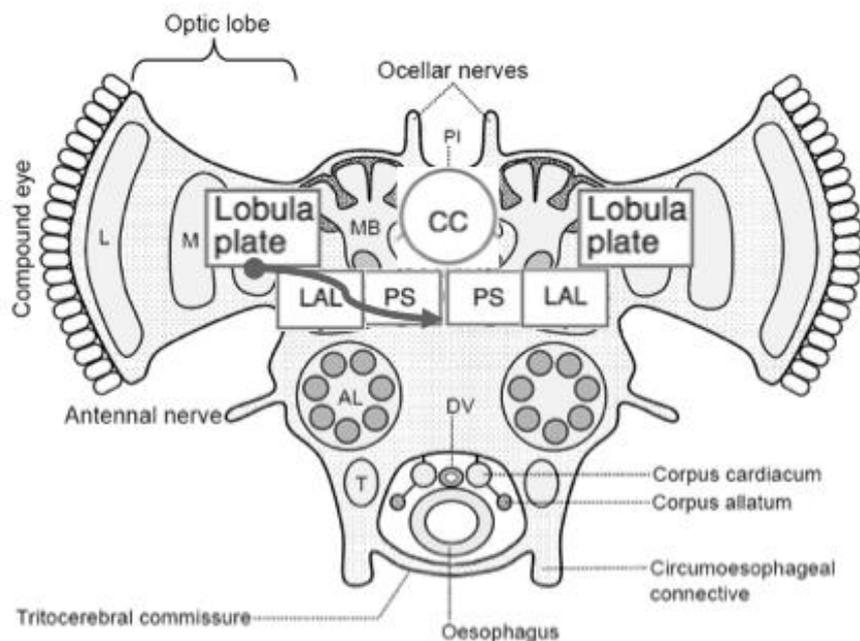
- DE, возбуждающие flip-flop триггер, имеют дендритную иннервацию, специфическую для LAL
- они показывают быстрый переход состояний, а сенсорная стимуляция запускает

залпы

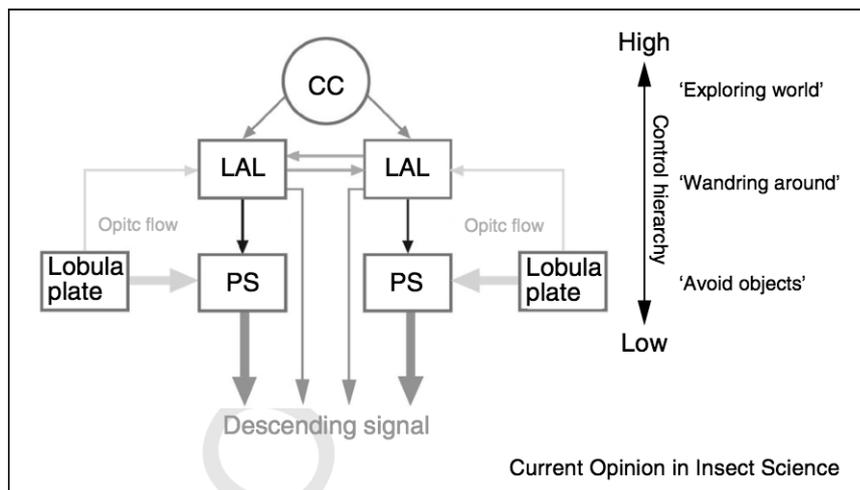
- нейронная активность коррелирует с углом поворота головы
- высокая степень корреляции между кинематикой крыльев (сокращением) и схемой зигзагообразного движения указывает на то, что двигательные программы полета и ходьбы, модулированные феромоном, могут получать один и тот же синаптический вход от flip-flop триггера

### Двигательный контроль в мозге насекомых

- центральный комплекс (CX) – 3 нейропили (веерообразное тело, эллипсоидное тело, протоцеребральный мост)
- центр локомоторного контроля высокого порядка – есть функциональное сходство с базальными ганглиями позвоночных
- большинство вставочных нейронов не реагируют на феромоны – вклад CX мал у тутового шелкопряда
- значит есть вставочные слои, как минимум, LAL между CX и торакальным двигательным центром



**Рис.9.** Схема строения надглоточного ганглия насекомых. Стрелкой показан ход нисходящих нейронов, иннервирующих LAL. Также отмечены структуры, осуществляющие двигательный контроль



**Рис.10.** Гипотетическая схема архитектуры мозга насекомых.

**CC (central complex)** - центр локомоторного контроля

**LAL (lateral accessory lobe)** –схемный модуль для зигзагообразных движений

**Lobula plate** –передает информацию зрительного потока в PS

**PS (posterior slope)** –передает информацию в дорсальные нейропилы торакальных ганглиев, где находятся нейронные сети, ответственные за полет

- CX плотно связан с LAL (зеленый)
- левая и правая часть LAL связаны, некоторые связи ГАМК-подобные (голубой)
- популяция DE, иннервирующих LAL (тонкий красный) – это локомоторные команды от CX к торакальному двигательному центру
- большинство DE отходят от задне-вентральной части мозга PS (posterior slope – задний скат) (жирный красный)
- lobulaplate LP – дольковая пластинка передает инфу зрительного потока, необходимую для полета, в PS (жирный желтый)
- PS передают инфу в дорсальные нейропилы торакальных ганглиев, где находятся нейронные сети, ответственные за полет

Верхний нисходящий путь необходим для локомоции насекомых!

а) Зигзагообразное движение при поиске. CX не важен в данном случае. Входной сигнал от высшего центра в protocerebrum запускает активность LAL.

Зигзагообразное движение: «Метание» у шелкопрядов, поиск гнезда у муравьев, поиск пищи у мух

б) Нацеленное зигзагообразное движение. Время поворота определено информацией по цели. CX контролирует LAL: обучение полету у пчел, возвращение в улей у пчел, исследование нового объекта у ос.

## **Медиатор локомоторных команд**

Кандидат: PS – медиатор CX локомоторных команд

- прямая связь с CX слаба
- когда инъецировали краситель в PS, не нашли плотной связи

Кандидат: **LAL – PS** - медиатор CX локомоторных команд

- + есть большая популяция нейронов, соединяющая LAL и PS (черный)
- + больше половины LAL интернейронов контактируют с PS

## **Нейрональные механизмы зигзагообразного движения**

- должен быть внутренний генератор поворота для программы зигзага в мозге насекомого
- ориентация на феромон из 2 стадий: зигзагообразный полет против ветра и метание – оба из поворотных маневров
- поворотный маневр запускается внешним сенсорным сигналом
- метание при потере шлейфа, спонтанно, обычно амплитуда поворотов увеличивается со временем
- у насекомых: вращение по вертикали с небольшими или отсутствующими поступательными движениями – брачный танец
- зигзагообразное движение на фазе метания у шелкопряда – брачный танец, потом смена на целенаправленное движение
- сходство поворотов при полете против ветра и метании предполагает, что нейральные механизмы обоих маневров одни и те же
- механизм сбрасывания – в основе зигзага
- только почувствовали феромон – flip-flop переключатель, повороты в разные стороны
- определенные группы нейронов меняют активность при сенсорном стимуле
- переключение может произойти в любой момент двигательного цикла
- при зигзагообразном движении антифазная активность полушарий (в одном у DE залпы, в другом – молчат)
- активизируется то один, то другой LAL
- задействован flip-flop переключатель
- билатеральные комиссуры соединяют обе LAL (примерно 60 волокон)
- ГАМК-подобные связи (взаимное ингибирование правой и левой LAL)
- при удалении LAL комиссур насекомые ходят прямо или поворачиваются в одну сторону, никаких зигзагов

## **Нацеленное поведение**

- в шлейфе феромона – направление к источнику, при потере – поиск
- в нацеленном поведении большая транслокация, использование сенсорной информации по ходу ориентирования
- сенсорная информация определяет решение повернуться, а затем изменяет фазу активности
- нужно постоянно иметь обонятельный стимул
- в поиске, наоборот, все заранее запрограммировано и предопределено
- CX – большой вклад в нацеленном, почти нет – в поиске

## Список литературы

1. Namiki S., Kanzaki R. The neurobiological basis of orientation in insects: insights from the silkmoth mating dance. // *Curr. Opin. insect Sci.* 2016. V. 15. P.16–26. [December 27, 2016].
2. Steiger S., Stökl J. The Role of Sexual Selection in the Evolution of Chemical Signals in Insects // *Insects* 2014. V. 5(2). P.423–438.[ December 27, 2016].
3. Wada S., Kanzaki R. Neural control mechanisms of the pheromone-triggered programmed behavior in male silkmoths revealed by double-labeling of descending interneurons and a motor neuron. // *J. Comp. Neurol.* 2005. V. 484(2). P.168–82.[ December 27, 2016].

## Какая аминокислота вкуснее? Пищевое поведение насекомых.

*Терентьева Наталья*

Среди всех форм поведения пищевое поведение занимает особое место, поскольку обеспечивает выживание особи. Поскольку животные осуществляют активный поиск пищи, то моторный аппарат активно задействован в этом процессе.

Представители каждого вида наделены определенным способом, своей стратегией добывания пищи. Они от рождения умеют делать все необходимое, чтобы прокормиться, хотя некоторые приемы приобретаются или совершенствуются в процессе жизнедеятельности.

Стратегия пищедобывания у насекомых зависит от того, являются ли они растительноядными, плотоядными или всеядным. У растительноядных насекомых специальные системы организма и особенности видотипичного пищевого поведения позволяют им питаться листьями, корой, корнями, семенами и плодами растений. Например, большинству насекомых, обитающих в почве, даны сенсорные системы для ориентации по концентрации веществ, которые растворены в почве. Они воспринимают молекулы углекислого газа, выделяемого корнями растений. Этот газ привлекает к растительным пищевым источникам личинок насекомых. Существуют особые стратегии добывания пищи. Классическим образцом подстерегающих хищников, называемых засадниками, является богомол. Для этого он наделен и особой инстинктивной стратегией и всеми необходимыми устройствами, а именно: маскировка; хватательные ноги, способные с быстро выбрасываться в сторону добычи; хорошо развитые глаза, которые очень подвижны и быстро фиксируют малейшее движение объектов.

Охота в обманном обличье проявляется у личинок сетчатокрылых. Некоторые виды этого семейства охотятся за мохнатой ольховой тлей, которая своими сладкими выделениями кормит муравьев и находится под их защитой. Чтобы обмануть муравьев, личинки собирают с тлей воск и наносят его на себя. Для удержания воска у них на спине имеются специальные крючки. У весьма своеобразных клопов, относящихся к семейству водяных скорпионов, стратегия сводится к поджиданию жертвы, сидя в засаде. Они обладают защитным окрасом. Некоторые обитающие в пресной воде насекомые, например, личинки ручейников, используют ловчие сети.

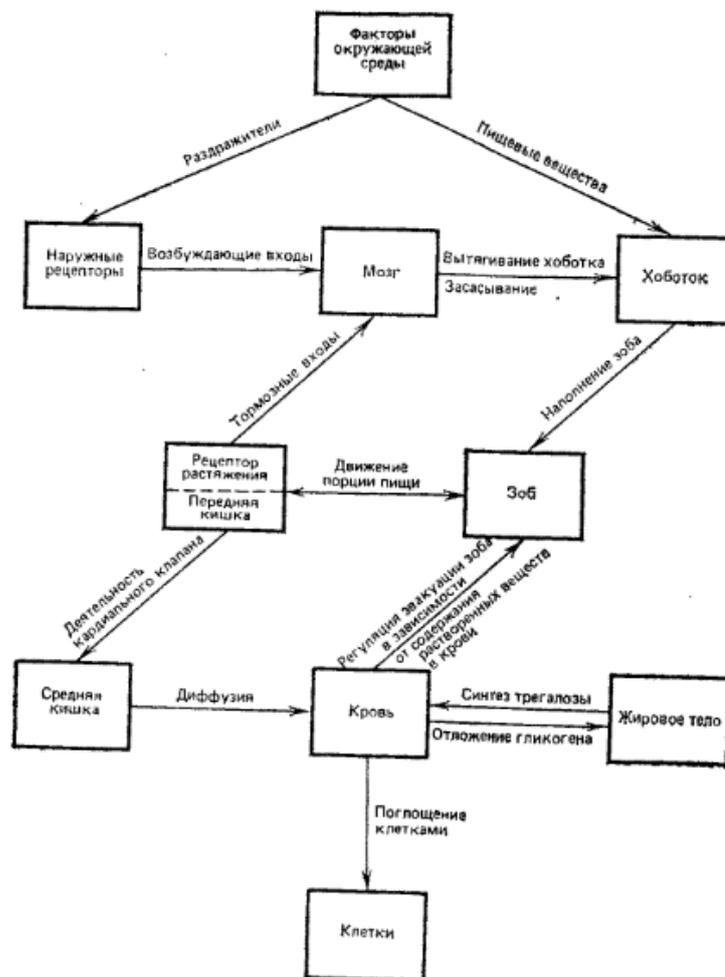
Существует также стратегия запасаения пищи. Жук скарабей, или священный копр, одни шары особой формы делает для откладывания своих яиц, а другие, округлые, он использует в пищу. Такого шара размером с плод крупного абрикоса скарабею достаточно для непрекращающейся 12-часовой трапезы. Инстинктивное поведение позволяет жуку

выполнять довольно сложные манипуляции. Он тщательно подбирает необходимый для основы шара кусочек навоза, предварительно оценив его качество с помощью своей сенсорной системы. Затем жук очищает его от налипшего песка и усаживается на комок, обхватывая его задними и средними ножками. Если стоит сухая жаркая погода жук работает с огромной скоростью. Он скатывает шар за считанные минуты, пока навоз еще влажный. Навозники делают пищевой ком самостоятельно, не помогая, друг другу. А иногда они даже стараются похитить чужой пищевой шар у соседа. Социальные насекомые, наоборот, проявляют скооперированность при добыче пищи.

У пчёл пищевое поведение сложное и включает постройку сот. Бывает 4 разновидности сот, и только одни из них медовые. Строительство сот начинается ранней весной. Именно в это время у пчел активизируется работа специальных желез, которые и отвечают за производство воска. Строиться соты начинают с верхней части с постоянным продвижением вниз. Их величина будет напрямую зависеть от места проживания пчел и размеров жилища. Как только пчела отделяет от себя воск для создания так называемой гирлянды, уже через несколько часов она опять может производить восковые чешуйки. Эти чешуйки передними лапками передаются к верхним челюстям (мандибулам) для дальнейшей переработки: чешуйки раздавливаются при участии особого вещества, вырабатываемого строительницами, а образовавшиеся в результате этого частицы поочередно прикрепляются к необходимому месту. Температура, при которой происходит постройка, должна находиться в пределах 35 градусов, что постоянно поддерживается пчелами. Именно в таком климате отмечается хорошая эластичность и пластичность воска, что позволяет хорошо спрессовать его и сделать ячейки нужной формы и размера. Весь процесс построения сот происходит в полной темноте, когда пчелы не используют свои органы зрения и совершенно ничего не видят. Руководствуются они лишь органами осязания.

Какие механизмы инициируют пищевое поведение? Как было показано на мясных мухах, голодавших в течение нескольких дней, локомоторная активность насекомых повышается, что связано с острой необходимостью найти пищу. Однако она сменяется периодами покоя, что объясняется потребностью в экономии энергии. Когда муха находит пищу, возбуждение хеморецепторов лапок приводит к вытягиванию хоботка, а стимуляция хеморецепторов хоботка запускает сосательные движения. Импульсы от хеморецепторов служат единственными сигналами, стимулирующими поглощение пищи.

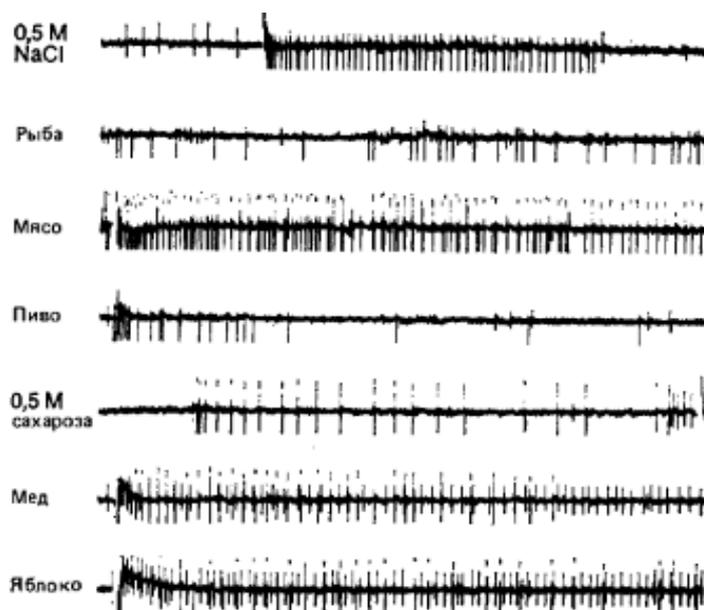
Какие же факторы обуславливают прекращение приёма пищи? Данные исследований показали, что пищевое поведение тормозят три фактора: 1) интенсивность перистальтики передней кишки, воспринимаемая рецепторами растяжения кишечной стенки; 2) наполнение зоба, в стенках которого тоже имеются рецепторы растяжения; 3) интенсивность локомоторной активности, связанной с разрядами мотонейронов грудного ганглия. Опорожнение зоба регулируется осотическим давлением содержимого кишечника. Под влиянием выше перечисленных факторов повышается порог восприятия хеморецепторных сигналов центральными структурами, что ведёт к угнетению рефлексов, связанных с потреблением пищи. На рисунке 1 схематично представлен механизм пищевого поведения и обмена веществ у мясной мухи.



**Рис.1.** Механизм регуляции пищевого поведения и обмена веществ у мясной мухи.

Ранее проводились исследования, показавшие, что насекомые способны различать вкусы. Этот механизм сложился в эволюции из-за того, что многие насекомые имеют узкий спектр питания. Им необходимо отличать один вид растения от другого, съедобное от ядовитого. Например, рецепторные клетки мясной мухи избирательно чувствительны к определённым типам молекул, а именно воде, сахару, анионам и катионам соли.

Результаты электрофизиологии показывают, что рецепторные клетки проявляют различную активность в ответ на разные вещества. Говоря о предпочтительной чувствительности клетки к данному химическому соединению, имеется в виду, что она реагирует на него самым низким порогом и самой сильной активностью. Между реакциями на два вещества возможно тормозное взаимодействие. Оно проявляется в ответ на такие чистые стимулы, как сахар и соль. При стимуляции естественными пищевыми веществами в ответе принимают участие несколько клеток.



**Рис.2.** Реакции рецепторного волоска на разные вещества у мясной мухи.

Пищевая специализация в большей степени свойственна растительноядным насекомым. Те насекомые, которые питаются узким спектром растений называются олигофагами, а те, чей пищевой спектр широк -- полифагами. Вещества, выделяемые растениями и содержащиеся в пище могут быть подразделены на аттрактанты, которые привлекают насекомых, и репелленты, которые их отпугивают. К первой группе относятся, например, терпены и флавоноиды некоторых деревьев. Ко второй -- кумарин, содержащийся в душистом колоске.

Исследования пошли дальше, и оказалось, что насекомые способны различать не только разные вкусы, но и разные аминокислоты. Американские учёные в статье «A molecular and neuronal basis for amino acid sensing in the *Drosophila* larva» попытались выяснить, какие нейроны и какие рецепторы задействованы в распознавании аминокислот.

Ключевым звеном в восприятии аминокислот, как уже давно известно, является TOR-киназа. Она собирает информацию о содержании аминокислот а также о других факторах, интегрирует её и контролирует клеточный рост и метаболизм. Роль рецепторов к аминокислотам у млекопитающих играют T1R1 и T1R3 G-связанные белки, родственные глутаматным рецепторам. Человек распознаёт вкус аминокислот как умами (вкус сочной жареной курицы).

В данном исследовании наблюдали за поведением личинок дрозофил. Их ссаживали в чашки Петри, на которых половина содержала какую-либо аминокислоту. Смотрели, как личинки распределятся по чашке, и подсчитывали индекс предпочтительности. Семь из двадцати аминокислот оказались привлекательными для дрозофил (Trp, Arg, Asp, Phe, Cys, Glu, Asn) и одна (Leu) вызвала отвержение. Оказалось, что предпочтение и не предпочтение не зависит ни от физико-химических свойств аминокислот, ни от их заменимости.



К хемосенсорным органам

личинки дрозофил относятся передний, дорзальный и вентральный органы, расположенные снаружи, а также дорзальный, вентральный и задний глоточные органы. Их нейроны экспрессируют рецепторы трёх семейств: обонятельные, вкусовые и ионотропные. Особое внимание учёных привлекли ионотропные рецепторы (IR), поскольку они родственны ионотропным глутаматным рецепторам (iGluR), которые могут быть аналогами метаболитных (mGluR) рецепторов, воспринимающих вкус умами, у человека. Исследовали три типа этих рецепторов: IR 25a, IR76b и IR60c, которые находятся в нейронах в переднем органе. Нокаутирование генов этих рецепторов показало:

- 1) IR25a не влияет на вкусовые предпочтения;
- 2) IR76b участвует в пищевом поведении, влияя на предпочтения аминокислот;
- 3) IR60c не влияет на предпочтение.

Флуоресцентные методы измерения уровня кальция показали, что интенсивность физиологического ответа на аминокислоты не коррелирует с поведением, то есть предпочтение или отвращение не имеет наглядной связи с интенсивностью ответа нейронов.

Исследователи также наблюдали за количеством съеданной личинками пищи. В среду с сахарозой и исследуемым веществом добавляли съедобный краситель. Через 30 минут личинок гомогенизировали и спектрофотометрическим методом мерили количество абсорбируемого вещества. Оказалось, что активация рецептора IR60c приводит к уменьшению потребления пищи. А нокаутирование его гена невелирует этот эффект, то есть насекомые начинают очень активно питаться. Из этого можно сделать вывод, что IR60c отвечает за реакцию отвращения. Описанная картина наблюдается для большинства аминокислот, но не для всех, что даёт основу для предположения, что существуют другие нейронные пути, связанные в аминокислотной чувствительности.

Обобщим полученные результаты:

1. Пищевое поведение личинок дрозофил не зависит от заменимости аминокислот и не зависит от их физико-химических свойств;
2. Рецепторы IR76b и IR60c вовлечены в аминокислотную чувствительность, причём IR60c отвечает за реакцию отвращения;
3. Неполная корреляция между физиологическими ответами найденных нейронов и поведенческими реакциями говорит об участии других нейронов в пищевом поведении.

Данная статья является примером того, насколько сложно устроен путь от пищевого рецептора до поведенческого ответа.

Список литературы:

1. Croset V. [и др.]. A molecular and neuronal basis for amino acid sensing in the *Drosophila* larva. // *Scientific reports*. 2016. (6). С. 34871.
2. Г. Шепперд, *Нейрофизиология* // учебник в 2-х т., изд. М.: Мир, 1987
3. В. Тыщенко, *Физиология насекомых: Учеб. пособие для студентов ун-тов, обучающихся по спец. «Биология».*—М.: Высш. шк., 1986

## Как насекомые обучаются новому.

*Шляпина Виктория.*

Нервная система насекомых включает в себя несколько отделов. Она состоит из центрального, периферического и симпатического отделов.



**Рис.1.** Общее строение нервной системы насекомых.

Симпатическая нервная система состоит из нескольких ганглиев, расположенных в голове и груди, непарного симпатического нерва, идущего между коннективами брюшной нервной цепочки (с парой боковых отростков в каждом сегменте) и хвостового отдела, связанного с задним узлом брюшной нервной цепочки. Она регулирует работу внутренних органов и мышечной системы насекомых. Периферическая нервная система составляет всю совокупность нервов, отходящих от ганглиев центральной и симпатической нервной системы. С помощью нервов ганглии соединяются с различными органами чувств (рецепторами) и с мышцами (эффекторами), находящимися в различных частях тела.

Центральная нервная система состоит из двух отделов — головного и брюшного. Головной отдел представлен крупным надглоточным узлом — головным мозгом, расположенным над пищеводом, и менее развитым подглоточным узлом — под пищеводом. Оба узла соединены коннективами в окологлоточное кольцо. Брюшной отдел состоит из ряда ганглиев, образующих брюшную нервную цепочку.

Головной мозг устроен наиболее сложно. Он состоит из 3 слившихся ганглиев. Передний отдел (протоцеребрум) развит сильнее остальных и включает 2 крупные зрительные доли, иннервирующие сложные глаза и пару стебельчатых, или грибовидных, тел. Последние считаются высшим ассоциативным и координирующим центром нервной

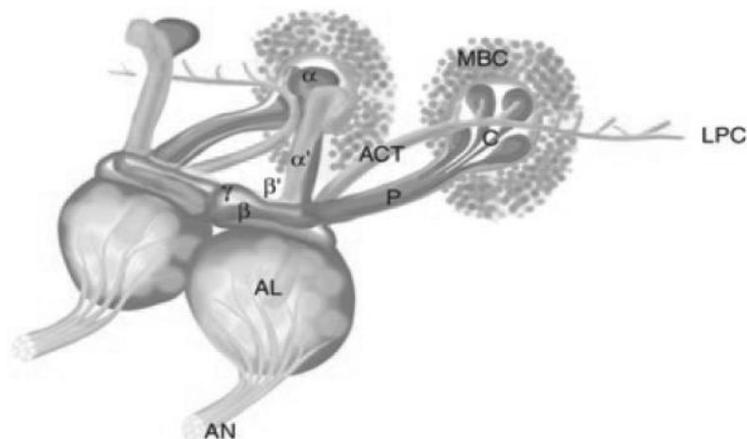
системы и наиболее сильно развиты у общественных насекомых. Средний отдел головного мозга (дейтоцеребрум) иннервирует усики, а задний (тритоцеребрум) — верхнюю губу и связан с симпатической нервной системой.

Способность насекомых в целом и общественных насекомых в частности к обучению и наличие у них некоторых когнитивных процессов признается не всеми исследователями. По мнению некоторых из них, поведение общественных насекомых при обучении очень ригидно, что не позволяет сравнивать их с позвоночными животными. Это заключение базируется на данных, которые свидетельствуют о наличии у общественных насекомых способности к простейшему ассоциативному обучению и до некоторой степени — к латентному обучению, которое происходит, когда фуражир запоминает ориентиры на своем пути. В то же время способность применять полученные навыки в новой ситуации, характерная для позвоночных, у них ограничена. Так, известен опыт, в котором муравьи, научившись преодолевать лабиринт, ведущий к пище, не смогли преодолеть такой же лабиринт, ведущий к гнезду.

Много данных существовало в поддержку другой точки зрения — о наличии у общественных насекомых указанных способностей. У них был, например, продемонстрирован высокий уровень развития памяти. Есть данные об экспериментах, показавших, что муравьи помнят пространственно организованную зрительную информацию до 7 месяцев, а пчелы помнят места фуражировки спустя 5 месяцев.

Способность к ассоциативному обучению общественных насекомых одним из первых исследовал К. фон Фриш. Важным результатом этой работы был вывод, что для суждения о способностях к обучению насекомого важно подобрать методику, адекватную сенсорным и двигательным возможностям вида. В ходе экспериментов было установлено, что за процесс обучения у насекомых ответственны специализированные структуры мозга — грибовидные тела.

Грибовидные тела (или *corpora pedunculata*), являются парными структурами в мозге насекомых, других членистоногих и некоторых кольчатых червей. Эти структуры также известны по своей роли в обонятельном обучении и памяти. У большинства насекомых, грибовидные тела и боковые рога являются двумя высшими областями мозга, которые получают обонятельную информацию от усиков при помощи проекционных нейронов.



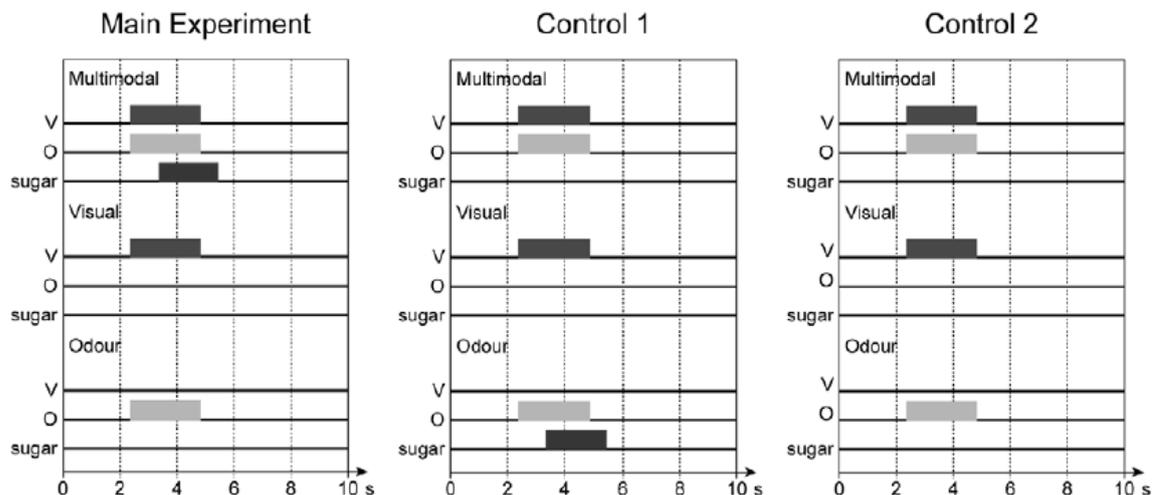
**Рис.2.** Схема грибовидных тел (*corpora pedunculata*) плодовой мушки *Drosophila Melanogaster*.

Грибовидные тела описываются, как правило, как плотные сети, состоящие из дендритов, аксонов и глии. Свое название они получили от их формы – полусферическая чашечка, бугор, которая присоединяется к остальной части мозга через ножки. Впервые данные структуры мозга были определены в 1850 году французским биологом Феликсом Дюжарденом. Большая часть наших современных знаний о грибовидных телах происходит от исследований нескольких видов насекомых, особенно тараканов *Periplaneta Americana*, медоносной пчелы *Apis Mellifera*, саранчи, а также плодовой мушки *Drosophila Melanogaster*. Исследования грибовидных тел плодовых мух были особенно важны для понимания генетической основы функционирования данных структур, так как геном этих мушек был секвенирован и имеется большое количество инструментов, позволяющих манипулировать экспрессию их генов.

В мозге насекомых ножки грибовидных тел проходят через средний мозг. Они в основном состоят из длинных, плотно упакованных нервных волокон клеток Кенъон (собственных нейронов грибовидных тел). Эти клетки были обнаружены в грибовидных телах всех видов, которые были исследованы, хотя их число меняется, например, плодовые мухи имеют около 2500 таких клеток, в то время как тараканы – около 200000. Обучению способствует дофамин-управляемая пластичность клеток Кенъон в ответ на различные запахи. Чтобы происходили обучение и память, сигнальные каскады цАМФ (особенно с протеинкиназой А) должны протекать в клетках Кенъон должным образом. На Рис.2 приведено изображение грибовидных тел *Drosophila Melanogaster*. Обонятельная система показана на рисунке желтым и зеленым цветами. Грибовидные тела - синим цветом. Информация о запахах передается примерно от 1500 обонятельных сенсорных нейронов каждой антенны через нервы усиков (AN) до 43 клубочков в каждой доле усиков (AL), где эти аксоны образуют синапс. Далее релейные нейроны с клеточными телами в антеннальной области передают обонятельную информацию от усиков по мозговому нервному тракту (ACT), чтобы образовывать синапсы на дендритах клеток грибовидного тела. Эти дендриты расположенный в структуре, известной как чашечки (C). Нервный тракт передающий информацию от усиков продолжается в боковом направлении, чтобы образовывать синапсы с другими нейронами в боковом protocerebrum (LPC). Аксоны нейронов грибовидного тела вместе образуют ножки (P).

Однако помимо общественных насекомых для обучения могут использоваться и другие животные. Мое внимание привлекла статья посвященная изменению активности в грибовидном теле при обучении с мультимодальными стимулами бражников *Manduca sexta*. [Balkenius, Hansson, 2012]. Есть несколько способов обучения животных различать разные раздражители. В эксперименте «дискриминации», животным представлены два различных стимула, по одному за раз, но только один из них сопровождается вознаграждением. В результате повторного обучения с двумя раздражителями, животное должно научиться реагировать только на стимул с вознаграждением. Во время обучения, животные будут первоначально реагировать на оба стимула, но, по мере прогрессирования обучения ответ на стимул без вознаграждения исчезает. Бражник может легко обучаться такой «дискриминации».

В настоящем исследовании ученые были заинтересованы в изучении «дискриминации» обучения в режиме реального времени в грибовидном теле. Они предположили, что так как данная структура участвует в обработке запахов, то ее активность должна возрастать при стимулах имеющих обонятельное подкрепление при обучении, в то время как на стимулы не подкрепленные запахом – снижаться.



**Рис.3.** Схема экспериментов (основного, первого контрольного и второго контрольного).

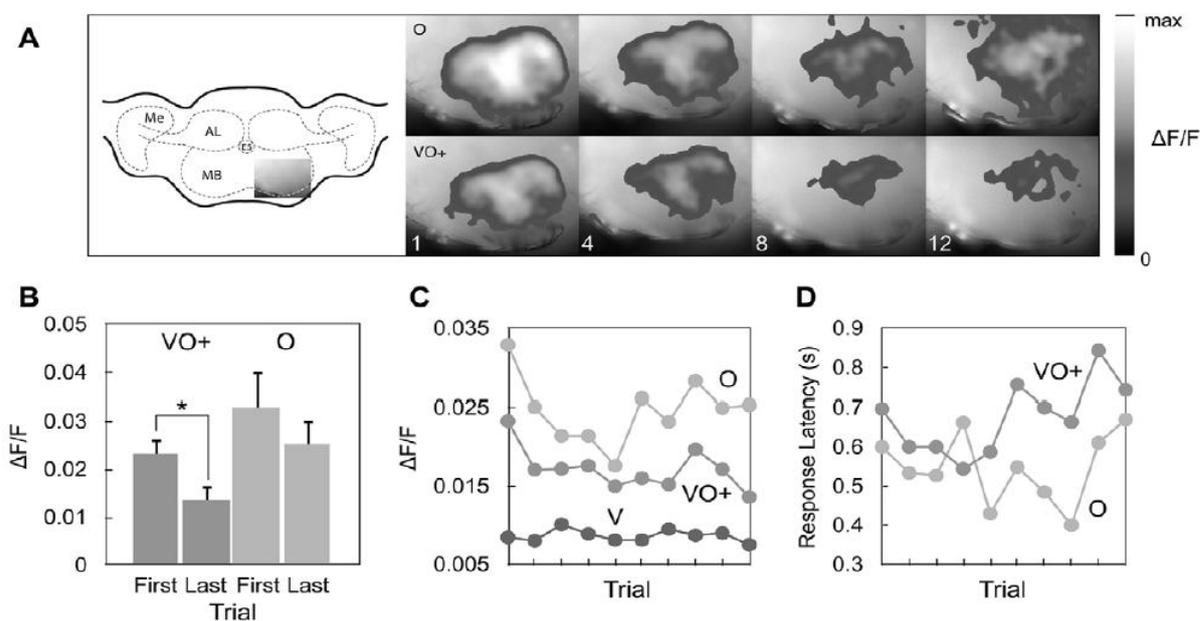
**Эксперимент с подкрепленным мультимодальным стимулом:**

В основном эксперименте, бабочки подвергались воздействию трех типов стимулов: зрительного стимула (V), обонятельный стимул (запах) (O), а также мультимодальный стимул - зрительный стимул вместе с обонятельным стимулом (VO). Животные получали вознаграждение лишь во время мультимодального стимула (Рис.4 А-С), но не получали никакого вознаграждения при одиночных раздражителях.

В первом испытании, измеренная активация грибовидного тела не сильно отличается для не вознагражденного обонятельного стимула (O) по сравнению с получающим вознаграждение мультимодальным стимулом (VO +). Это говорит об отсутствии предпочтения для мультимодальных стимулов перед обучением. Тем не менее, после 10 испытаний, реакция на VO + стала значительно ниже, чем при первом испытании, что указывает на изменение активности грибовидного тела в процессе обучения (Рис.4 А и Б). В отличие от этого, нет существенной разницы в ответах на неподкрепленный обонятельный стимул O. В начале экспериментов наблюдается снижение активности как для обонятельного, так и для мультимодальных стимулов. Однако, примерно после 6 испытания кривые начинают расходиться (VO+ - снижение, O – повышение; Рис.4 С). Активность после воздействия неподкрепленного вознаграждением зрительного стимула (V) остается на низком уровне и не показывает никакого ответа (Рис. 4 С).

Также начало ответа на получающий мультимодальный стимул (VO +) и унимодальный не вознагражденный стимул (O) изменилось в течение испытаний (рис. 2D). Наступление ответ VO + постепенно становится медленнее, в то время как начало ответа O

наступает быстрее со временем. В конце основного эксперимента, 73% животных показали рефлекс расширения хоботка (PER) к ранее вознаграждавшемуся стимулу.



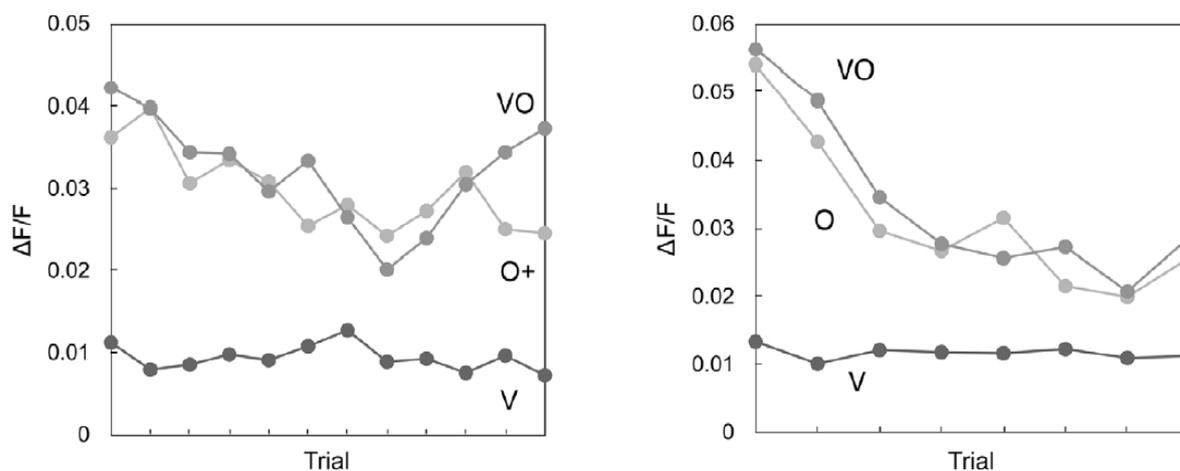
**Рис.4 А.** Расположение грибовидного тела и регистрируемых сигналов при испытаниях 1, 4, 8, и 12 для одного животного **В.** Среднее значение реакции грибовидного тела всех животных на первых и последних учебных испытаний. Столбики ошибок показывают стандартную ошибку. **С.** Развитие активности грибовидного тела в виде реакция на не вознагражденный зрительный стимул (V), не вознагражденный обонятельный стимул (O), и вознагражденный мультимодальный стимула (VO +). Каждая точка представляет средний отклик у всех животных в одном испытании. **Д.** Задержка реакции грибовидного тела на мультимодальный и унимодальный обонятельные стимулы.

**Эксперимент с подкрепленным обонятельным стимулом:**

Вторая группа бабочек была использована в качестве контрольной. Они вознаграждались только во время действия обонятельного стимула, и не получали никакого вознаграждения с мультимодальным стимулом или зрительным стимулом. Активность грибовидного тела, вызванная одиночным обонятельным раздражителем (O +), а также мультимодальным раздражителем (VO), первую половину эксперимента параллельно снижались, но затем начали расходиться (рис. 5). Отмечается значительное отличие между подкрепленным и неподкрепленным стимулами и изменение деятельности с течением времени, что указывает на изменение активности грибовидного тела при обучении и в этом эксперименте. Как и в основном эксперименте активность после воздействия зрительного стимула оставалась на одном уровне в течение всего эксперимент.

### Эксперимент с вознагражденными стимулами:

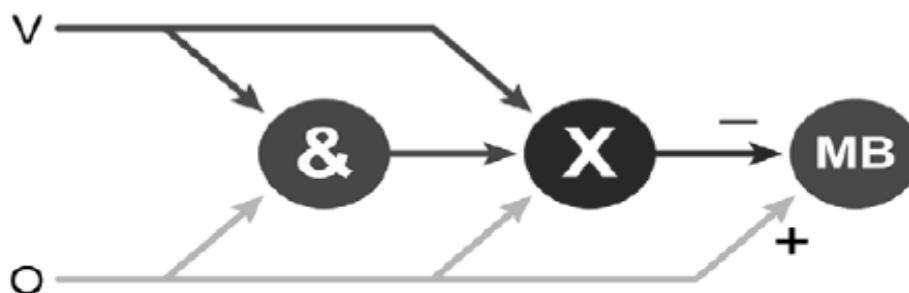
Второй контрольный эксперимент был проведен для исключения возможности воздействия «награды» на результаты изменений в грибовидном теле. На животных оказывали воздействие при помощи тех же трех стимулов, что и в основной эксперимент, но не один из них не был подкреплён. Активность для обонятельного стимула (O) и мультимодального стимула (VO) начиналась примерно на том же уровне, и постепенно уменьшалась в течение испытаний (Рис. 5). Активность зрительного стимула осталась на том же уровне в ходе эксперимента.



**Рис.5.** Слева - развитие активности грибовидного тела в ответ на вознагражденный обонятельный стимул (O +), и вознагражденный мультимодальный стимул (VO). Каждая точка представляет средний отклик у всех животных в течение одного испытания; Справа - развитие активности грибовидного тела в ответ на вознагражденный обонятельный стимул (O), и вознагражденный мультимодальный стимул (VO). Каждая точка представляет средний отклик у всех животных в течение одного испытания.

### «Сахарный» контроль:

Чтобы убедиться в том, что вознаграждение сахаром не влияет на результаты, наблюдаемые в опытах, исследователи протестировали пять бабочек только с сахаром, без раздражителей. Протокол был тот же, что и в основного эксперименте, но без какого-либо зрительного или обонятельного стимулов. Измерения с единственной наградой сахаром были записаны и не выявили никакого ответа в грибовидных телах. Все экспериментальные результаты можно объяснить используя некоторые предположения, которые можно объединить в модели взаимосвязей (Рис.6).



**Рис.6.** Модель, которая объясняет наблюдаемые результаты. V: визуальный вход, O: обонятельный вход, &: кодирование двойного стимула, X: гипотетическая область, MB: грибовидное тело.

Во-первых, мы считаем, что грибовидное тело активируется первоначально обонятельным стимулом через возбуждающие подключения к грибовидному телу. Наличие таких связей (по средствам проекционных нейронов) хорошо известно. Чем сильнее запах, тем более высокая активность развивается. В широком смысле, это активация может нести ответственность за обонятельный контроль полета в направлении нектара цветка. Если воздействие обонятельного стимула не приводит к награде, эти соединения будут погашены чтобы животное, менее вероятно, приближаться к этому запах снова. Это объясняет результат контрольного эксперимента 2, где активность для обоих O и VO уменьшается с течением времени.

Также очевидно, что одиночные зрительные стимулы не вызывают активность грибовидных тел. Вместо этого предполагают, что существует какая-то другая область мозга, X, которая контролирует визуальные ответы, возможно это часть бокового protocerebrum. Кроме того предполагают, что эта область подавляет ответ на обонятельный стимул в грибовидном теле, по-видимому, чтобы сохранить визуальный контроль за полетом по направлению цветка. И, наконец, предполагают, что деятельность в области X отражает «дискриминацию» между унимодальными и мультимодальными стимулами. Она получает соединение из блока стереотипного поведения (&), который обнаруживает наличие мультимодального стимула.

Результаты основного эксперимента, где мультимодальный стимул был вознагражден теперь можно объяснить: на начальном этапе, как одиночный обонятельный стимул, так и мультимодальный стимул активируют грибовидное тело, так как они имеют обонятельный компонент стимула. Одиночный визуальный стимул не имеет какого-либо начального влияния на грибовидное тело.

Во время кондиционирования, активность области X постепенно начинает различаться между получающей мультимодальный стимул и два не вознагражденных унимодальных стимула. Поскольку область X подавляет активацию в грибовидном теле, то измеренная активность будет ниже на раздражители, где область X активна, и, по мере прогрессирования обучения, активация грибовидного тела будет уменьшаться на стимул. Изменения активности в грибовидном теле полученные в текущих экспериментах для чистых обонятельных стимулов и мультимодальных раздражителей напоминают классические кривые обучения для «дискриминации» обучения.

***Используемая литература:***

1. Akalal D.G. и др. Roles for *Drosophila* mushroom body neurons in olfactory learning and memory // 2006. С. 659–668.
2. Balkenius A., Hansson B. Discrimination Training with Multimodal Stimuli Changes Activity in the Mushroom Body of the Hawkmoth *Manduca sexta* // 2012. Т. 7. № 4. С. 1–7.
3. Kubo R.T. и др. The Role of *Drosophila* Mushroom Body Signaling in Olfactory Memory // 2001. Т. 293. № August. С. 1330–1334.

# Позвоночные животные.

## Класс Рыбы.

### Размножение и половое поведение рыб.

*Волкова Анна*

#### Способы размножения рыб

По биологическому значению функция размножения у животных уступает только добыванию корма. Однако в период высокой половой активности половая доминанта подавляет и чувство голода.

Рыбы размножаются половым путем.

В редких случаях у рыб встречается:

1. **Партеногенез** (развитие икры без оплодотворения), развитие икры доходит только до стадии дробления (сельди, осетровые, лососевые карповые) и лишь в исключительных случаях до личинок, доживающих до рассасывания желточного мешка (налим, салака). У лососей неоплодотворенные икринки, оказавшись в нерестовом бугре вместе с оплодотворенными, нередко развиваются партеногенетически. В результате они не загнивают, и вся кладка яиц не гибнет.

2. **Гиногенез** (рождение самок), сперматозоиды близких видов рыб проникают в яйцо и стимулируют его развитие, однако оплодотворения при этом не происходит. В результате такого размножения в потомстве наблюдаются одни самки.

Рыбы, как правило, раздельнополы, но среди них встречаются и гермафродиты. Среди костистых рыб к гермафродитам относится каменный окунь, у которого в гонадах развиваются икра и сперматозоиды, но созревание их обычно происходит поочередно, и красный пагелл, у которого в течение жизни происходит изменение (реверсия) пола: у молодых особей гонады функционируют как яичники, у более старших – как семенники. Изредка гермафродитизм встречается у сельдевых, лососевых, карповых, окуневых рыб.

У рыб **оплодотворение** бывает:

- 1) наружное (у большинства рыб);
- 2) внутреннее (у хрящевых рыб, у некоторых костистых – морской окунь, бельдюга; многих карпозубообразных – гамбузия, гуппи, меченосцы и др.).

У рыб различают:

- 1) **яйцекладущих**, откладывающих яйца во внешнюю среду (большинство видов);
- 2) **яйцеживородящих**, рождающих мальков. Оплодотворенные яйца задерживаются в задних отделах яйцеводов и развиваются там до вымета молоди (большинство хрящевых рыб – катран, белая акула, лисья акула, пилонос);

3) **живородящих** – у рыб в задних отделах яйцеводов («матке») образуется нечто сходное с плацентой млекопитающих, а эмбрион получает питательные вещества с кровью матери (голубая акула, кунья акула и др.). В зависимости от характера размножения рыб разделяют на:

1) **моноциклических** – рыбы после однократного икрометания погибают (речной угорь, тихоокеанские лососи, речная минога, байкальская голомянка);

2) **полициклических** – рыбы размножаются в течение жизни по несколько раз (большинство рыб).

### **Половой диморфизм.**

У большинства рыб половой диморфизм (вторичные половые признаки) не проявляется, самки и самцы внешне трудноразличимы. У некоторых видов вторичные половые признаки ярко выражены: самки крупнее самцов, самцам свойственны более яркая окраска, удлиненные плавники и др. Самцы полярной камбалы имеют ктеноидную чешую, самки – циклоидную. У самцов хрящевых рыб имеются совокупительные органы (птеригоподии), у самок их нет; у самцов линия в отличие от самок утолщен первый луч брюшных плавников и т.д.

У некоторых рыб в преднерестовый период под влиянием половых гормонов появляется брачный наряд, который исчезает после нереста. У многих карповых, сиговых рыб на голове и теле самцов развиваются роговые образования белого цвета – «жемчужная сыпь»; самцы бычка-кругляка ко времени нереста становятся полностью черными; брюшко самца колюшки из серебристого становится ярко-красным. У тихоокеанских и атлантических лососей во время нереста серебристая окраска темнеет, на теле появляются черные, малиновые пятна, наблюдаются значительные морфологические изменения (челюсти удлиняются и загибаются, наблюдаются изменения черепного скелета, у горбуши вырастает горб).

Среди рыб различают:

1) **моногамов** – с одной самкой обычно нерестится один самец (семга);

2) **полигамов** – на одну самку приходится 3–4 и более самцов (сазан) или один самец обеспечивает оплодотворение икры нескольких самок (колюшка).

По продолжительности периода икрометания выделяют 2 группы рыб:

1) **с единовременным нерестом** – вся икра созревает одновременно (щука, сиг, лосось);

2) **с порционным икрометанием** – икра созревает и выметывается порциями в течение длительного времени (хамса, уклея, каспийские сельди, сом и др.).

### **Откладывание икры.**

Начало нереста рыб зависит от различных факторов (готовность половых продуктов, температура и соленость воды, наличие нерестового субстрата и др.). Из абиотических факторов важным является температура воды. Каждому виду в период размножения свойственны оптимальные и предельные температуры воды.

Рыбы откладывают икру в разных условиях, одни виды нерестятся в приливо-отливной зоне (пинагор), другие в океанической пелагиали на глубинах более 1000 м (угорь). Подавляющее большинство морских рыб нерестится в относительно прогреваемых районах прибрежной зоны на глубинах менее 500 м, там, где высокая концентрация кормовых организмов и личинки обеспечены пищей. Если условия для размножения отсутствуют и икрометание не происходит или икра выметывается не полностью, она рассасывается.

Икру различают:

- 1) **пелагическую** (плавающую);
- 2) **донную** (демерсальную), откладывается на грунт и донную растительность.

### **Половое поведение**

Примером половых взаимоотношений первого подуровня служит конкурентное поведение самцов. Очень ярко это поведение демонстрируют цихлидовые рыбы, хотя оно в той или иной степени характерно для многих видов рыб. Самцы при встрече принимают особые позы, изменяя пространственное положение тела, положение плавников и жаберных крышек. В целом тактика наступательного поведения сводится к тому, чтобы увеличить размер тела за счет поднятия всех плавников, раскрытия рта до предела, "надувания" жаберного аппарата. У рыб, как у многих других животных, большие размеры тела означают силовое преимущество. Этой же цели служит своеобразная рыбья косметика: крупные цветные пятна на жаберных крышках, цветные кольца вокруг глаз. Все это демонстрирует решительность и агрессивность самца, существенно преувеличивает его физические возможности и потенциальную опасность для соперника. Наполнены однозначным смыслом и волнообразные движения тела и плавников соперников при встрече. Чем физически сильнее соперник, тем большее гидродинамическое давление на латеральную систему противника оказывают волны от движений его плавников и хвостового стебля. Таким образом, свои физические возможности половые и пищевые конкуренты могут сопоставить и без кровопролития. Победенный самец прижимает плавники и жаберные крышки, т. е. уменьшает свои размеры, чем признает себя побежденным. Покоренный самец открывает самую незащищенную часть тела - брюшко. [Иванов, 2003]

### **Репродуктивное поведение *Danio rerio***

#### **Нерестовый цикл**

У данио все гонады изначально развиваются как яичники, которые у самцов превращаются в полноценные семенники только на третьем месяце развития. Генетический механизм формирования пола неизвестен, однако есть сведения о влиянии количества пищи на этот процесс. Соотношение полов в природе 1:1. Время нереста зависит скорее от половозрелости самой рыбы, чем от сезона. В лабораторных условиях репродуктивный возраст наступает на 75 день развития. Данио образуют моногамные пары и спариваются несколько раз за период нереста (с интервалом около двух дней). Икра донного типа. Вылупление происходит между 48 и 72 часами после оплодотворения.

#### **Брачное поведение**

Показана зависимость нереста от освещенности, как для аквариумных рыбок, так и для дикого типа (активность наступает при появлении света после темного периода).

Поведение ухаживания у данио заключается в том, что самец быстро гоняет самку, часто подталкивая ее сбоку своим носом и пытаясь привести ее в нерестилище, а также плавают вокруг нее кругами. Над нерестилищем самец, расправив свои спинные и хвостовой плавники вокруг нее, подплывает близко к самке так, что их генитальные отверстия выравниваются, и тело самца начинает колебаться с высокой частотой и низкой амплитудой – такое поведение стимулирует одновременно кладку яиц и сперматозоиды. Эта последовательность действий повторяется во все время нереста, так как самка откладывает от 5 до 20 яиц за один раз.

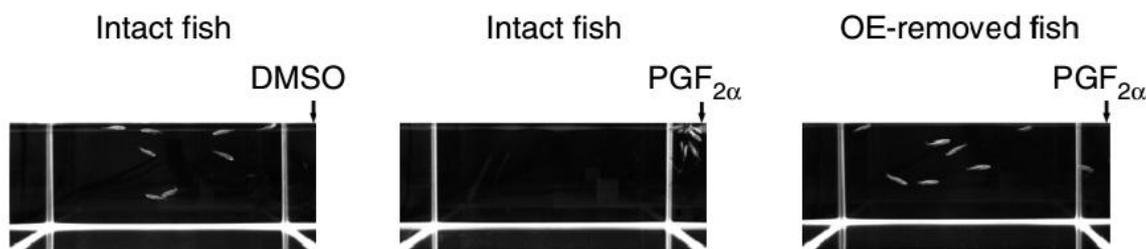
Брачное поведение самцов вызывается женскими феромонами. Самцы бывают нетерриториальными и территориальными. И те, и другие демонстрируют одинаковое брачное поведение, однако если первые преследуют самку даже далеко от нерестилища, то вторые не участвуют в дальних погонах, но охраняют свою территорию от других самцов. Однако эти различия не специфичны и стратегии поведения могут меняться в зависимости от плотности популяции. [Spence и др., 2007]

### **Обонятельный рецептор простагландина F2 $\alpha$ связан с половым поведением самцов *Danio rerio***

Простагландины (PG) представляют собой группу биологически активных липидных медиаторов, которые оказывают действие путем активации специфических рецепторов, связанных с G-белками. У некоторых рыб PGF2 $\alpha$  действует у самок как репродуктивный гормон на поздней стадии эстрального цикла, индуцируя овуляцию и нерест. У многих видов PGF2 $\alpha$  используется как феромон.

#### **PGF2 $\alpha$ привлекает самцов *Danio rerio***

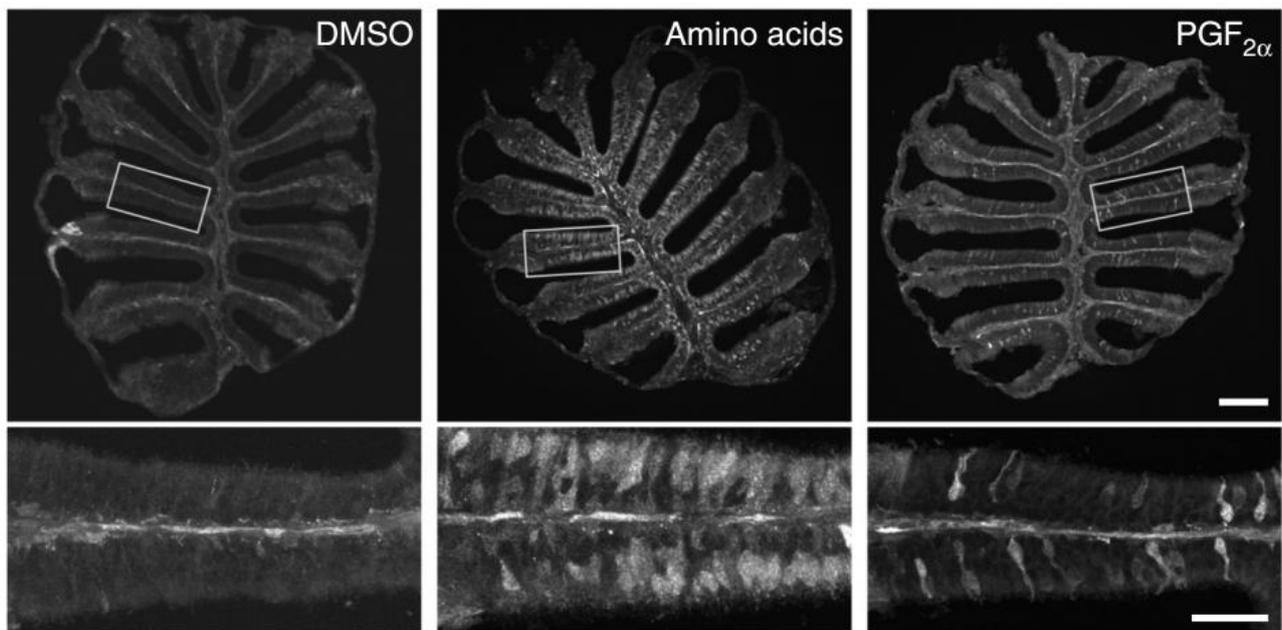
Восемь самцов, ранее не участвовавших в размножении, были помещены в испытательный резервуар и после акклиматизации, растворитель диметилсульфоксид (ДМСО) или PGF2 $\alpha$  были применены к одной стороне резервуара. Рыбы продемонстрировали достоверное влечение к PGF2 $\alpha$ . В опыте также участвовали рыбы, лишённые обонятельных рецепторов хирургическим путем, они не продемонстрировали влечения к PGF2 $\alpha$  (Рис.8).



**Рис.8.** PGF2 $\alpha$  привлекает самцов *Danio rerio* [Yabuki и др., 2016]

#### **PGF2 $\alpha$ активируют жгутиковые обонятельные рецепторные нейроны**

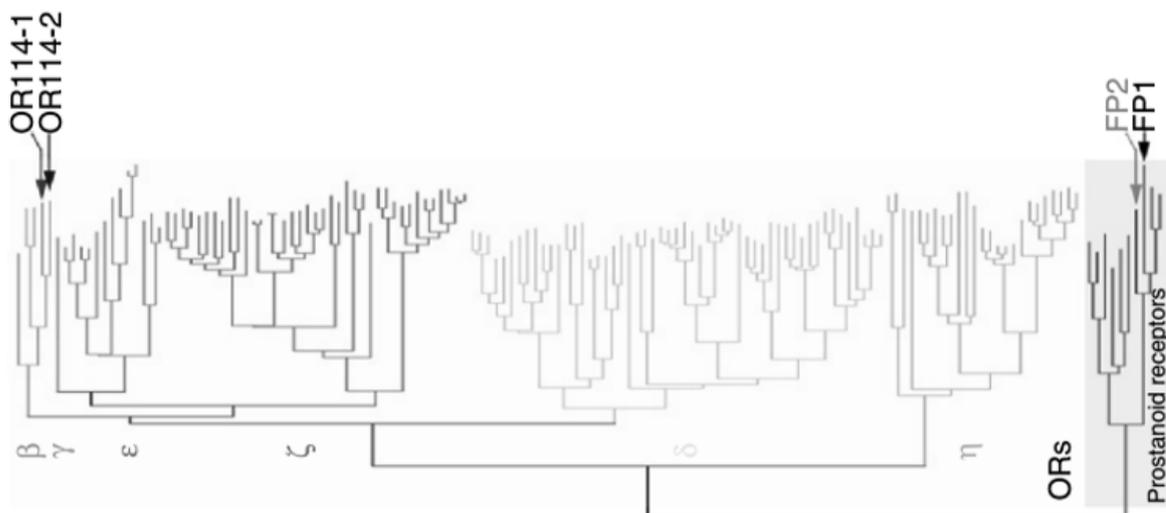
Основные клетки обонятельного эпителия костистых рыб – жгутиковые рецепторные клетки, микровиллярные рецепторные клетки и, так называемые, скрытые клетки (cryptcells). Какой тип клеток участвует в распознавании PGF2 $\alpha$  определением фосфорилированной ERK – маркера нейрональной активности. В качестве положительного контроля была использована смесь аминокислот, при ее действии активность была обнаружена в большом количестве микровиллярных клеток в поверхностном слое обонятельного эпителия. PGF2 $\alpha$  вызывал фосфорилирование ERK в небольших популяциях жгутиковых клеток, расположенных в глубоком слое эпителия (Рис.9).



**Рис.9.** Иммуноокрашивание обонятельного эпителия при действии различных раздражителей [Yabuki и др., 2016]

### Обонятельные рецепторы PGF<sub>2α</sub>

Так как канонические рецепторы PGF<sub>2α</sub> (fp1 и fp2) не показали чувствительности к феромонам, был выполнен поиск других рецепторов в составе обонятельного эпителия. Были подготовлены пробы комплементарной РНК для всех 142 генов, связанных с обонятельными рецепторами. Затем проводилась флуоресцентная гибридизация *in situ* на с-fos комплементарных РНК на обонятельном эпителии рыб, стимулированных PGF<sub>2α</sub>. В первом этапе эксперимента пробы обонятельных рецепторов были разделены на группы, и в результате только группа β (содержащая гены or112-1, or113-1, or113-2 и or114-1) перекрывалась с PGF<sub>2α</sub>-индуцированными с-fos сигналами. Во втором этапе эксперимент проводили отдельно для каждого из этих генов. Активность была выявлена только для гена or114-1. В базе данных был найден ген сходный по химическому составу с геном or114-1, ему было присвоено название or114-2. Этот ген находился на краю генетического кластера группы β в 15 хромосоме. Флуоресцентная гибридизация *in situ* показала, что экспрессия обонятельных рецепторов 114-1 и 114-2 происходит в неперекрывающихся популяциях обонятельных клеток. Сравнение структуры рецепторов 114-1 и 114-2 с другими обонятельными рецепторами и каноническими рецепторами простагландинов показало, что 114-1 и 114-2 относятся к группе β обонятельных рецепторов Danio rerio и четко отделены от гормональных рецепторов простагландинов (Рис.10).



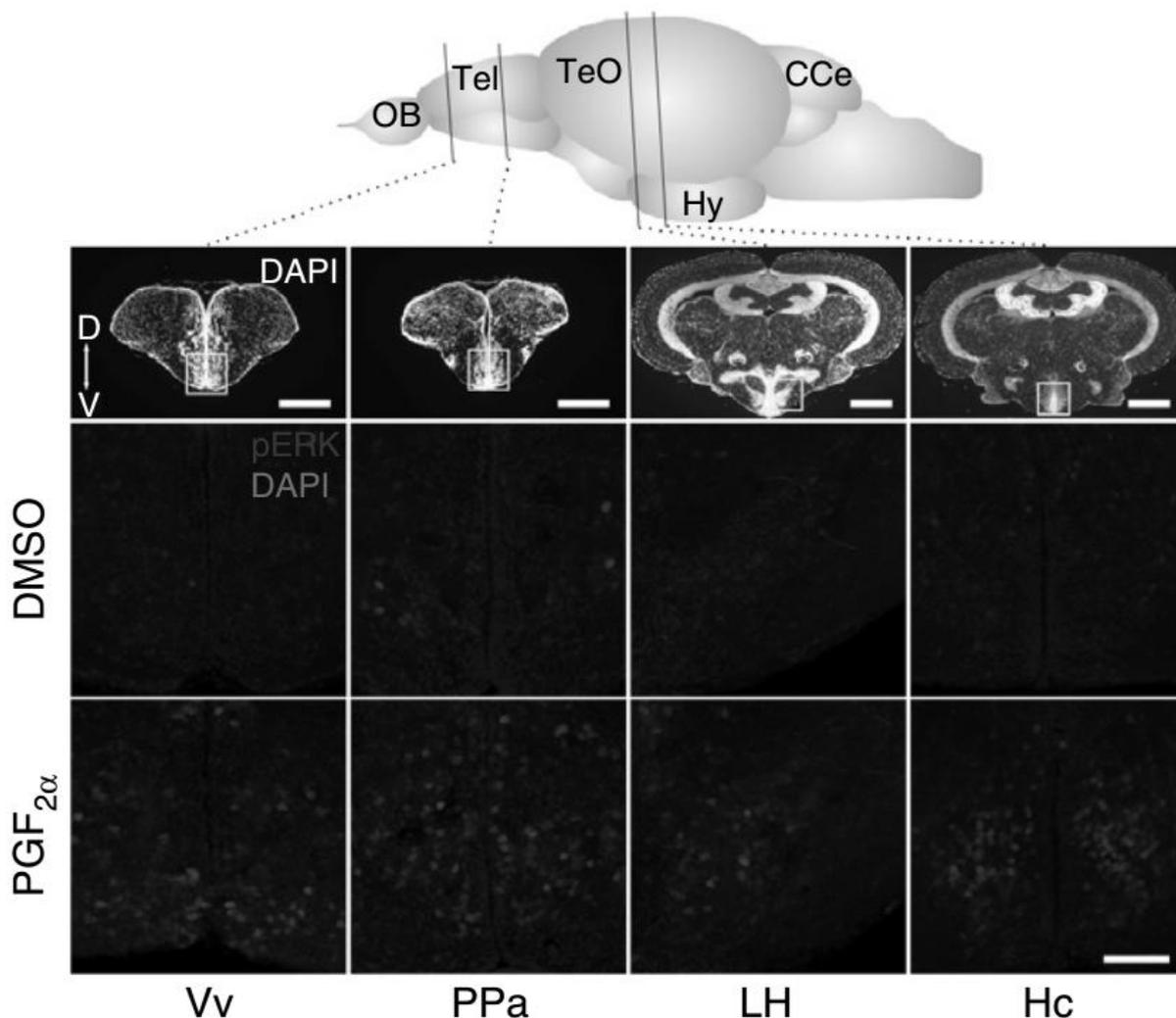
**Рис.10.** Филогенетическое дерево обонятельных рецепторов *Danio rerio* [Yabuki и др., 2016]

114-1 и 114-2 рецепторы оказались лиганд специфичны к  $PGF2\alpha$  и его метаболиту 15-кето- $PGF2\alpha$ , но не к другим простагландинам ( $PGF3\alpha$ ,  $PGD2$ ,  $PGE2$ ), стероидному феромону 17,20PS и другим обычным раздражителям. Кроме того, 114-1 рецептор оказался чувствителен к более низким концентрациям.

### **Нейрональная сеть, активируемая $PGF2\alpha$**

Сигналы от обонятельных рецепторов прежде всего поступают в обонятельную луковицу, там находится слой гломерул. Для наблюдения активности гломерул было использовано два метода: тотальная иммуногистохимия и функциональная кальциевая визуализация. Оба исследования показали специфическую активацию двух вентромедиальных гломерул обонятельной луковицы с различной чувствительностью к концентрации  $PGF2\alpha$  (что соответствует разной аффинности 114-1 и 114-2 рецепторов).

Далее сигнал поступает в промежуточный и конечный мозг, вызывая соответствующие поведенческие и эндокринные ответы. Методами иммуногистохимии были получены данные о нейрональной активности в переднем мозге – в вентральном ядре вентральной области конечного мозга и передней части мелкоклеточного преоптического ядра; в гипоталамусе – в латеральном гипоталамическом ядре и каудальной зоне (Рис.11).



**Рис.11.** PGF<sub>2α</sub>-индуцированная активация высших нервных центров. Vv - вентральное ядро вентральной области конечного мозга, PPa - передняя часть мелкоклеточного преоптического ядра, LH – латеральное ядро гипоталамуса, Hc – каудальная зона гипоталамуса.

### **3114-1 рецептор связан с брачным поведением самцов**

С помощью системы редактирования генома TALEN были получены особи (самцы репродуктивного возраста) с мутацией в гене *or114-1*, приводящей к его инактивации. С использованием этой мутантной линии был проанализирован поведенческий ответ на PGF<sub>2α</sub>. Ранее не участвовавшие в размножении самцы дикого типа или самцы мутантной линии помещались в резервуар, где к одной стороне применялся PGF<sub>2α</sub>. Особи мутантной линии не продемонстрировали влечения к веществу. Кроме того нерестовый успех мутантных самцов, оказался ниже, чем у дикого типа (38% против 59%).

Был также проведен поведенческий тест самцов из обеих групп с самкой, ранее участвовавшей в размножении. Типичные компоненты поведения ухаживания – преследования, касания и кружения. Спаривание каждой пары записывалось 60 минут и учитывались три параметра: длительность преследований, число касаний и число кружений. По сравнению с диким типом, мутантные самцы продемонстрировали значительно более короткие периоды преследования и меньшее количество касаний, также у них была тенденция к меньшему количеству кружений; кроме того, продолжительность самого периода ухаживания была короче, и таких периодов было меньше. Победные отклонения в

поведении демонстрировали также особи с удалённым хирургическим путем обонятельным эпителием. [Yabuki и др., 2016]

### **Выводы**

Феромоны важны для выживания и размножения различных организмов. У многих рыб PGF2 $\alpha$  выступает не только в качестве женского полового гормона, способствующего овуляции и нересту, но также в качестве феромона, привлекающего самцов. Были описаны нейронные механизмы, лежащие в основе феромонального действия PGF2 $\alpha$  у *Danio rerio*. PGF2 $\alpha$  специфически взаимодействует с двумя обонятельными рецепторами с разной чувствительностью, находящимися в популяциях жгутиковых рецепторных клетках обонятельного эпителия. От этих клеток информация поступает в две вентромедиальные гломерулы обонятельной луковицы, а оттуда в высшие обонятельные центры. Самцы с инактивирующей мутацией высокоаффинного обонятельного рецептора PGF2 $\alpha$  демонстрировали снижение влечения к самке. Эти результаты показывают функциональную значимость активации нервных центров в ответ на активацию обонятельных рецепторов PGF2 $\alpha$  для репродуктивного поведения.

### **Используемая литература:**

1. Иванов А.А. Физиология рыб. Москва: Мир, 2003. 214 с.
2. Ильмаст Н.В. Введение в ихтиологию. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2005. 148 с.
3. Spence R. и др. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio* // Biol. Rev. 2007. Т. 83. № 1. С. 13–34.
4. Yabuki Y. и др. Olfactory receptor for prostaglandin F2 $\alpha$  mediates male fish courtship behavior. // Nat. Neurosci. 2016. Т. 19. № 7. С. 897–904.

## **Как разрешаются конфликты. Оборонительное поведение рыб.**

*Стурова Анна*

Под поведением рыбы понимают индивидуальные или групповые сомато-вегетативные реакции, направленные на удовлетворение определенной биологической потребности индивидуума или группы рыб.

Поскольку любая физиологическая функция организма регулируется нейрогуморальным путем, то и любая поведенческая реакция организма базируется на изменениях опорно-двигательного аппарата и вегетативных функций. Поэтому, строго говоря, объективно описать поведение животного можно, только охарактеризовав состояние (изменение состояния) его опорно-двигательного аппарата и описав изменения вегетативных функций организма. Однако из-за технических трудностей этологи часто ограничиваются только первой частью исследований.

При изучении поведения обращают большое внимание на двигательные реакции, поскольку они являются своеобразной реакцией на сенсорные стимулы. Они могут многое

сказать о физическом и эмоциональном состоянии животного. Особенно это важно при изучении оборонительного поведения.

Оборонительное поведение – одно из самых важных в жизнедеятельности не только рыб, но и других групп организмов. При оборонительном поведении возникает паттерн реакций, направленных на взаимодействие с другим организмом, а точнее, против него. Соответственно, исходя из этого, оборонительные реакции можно подразделить на индивидуальные, зависящие от одного организма, и групповые, являющиеся суммой индивидуальных реакций множества стайных рыб. А среди вышеперечисленных реакций можно выделить межвидовые (хищник-жертва) и внутривидовые (конкуренция за самку или территорию).

То, как ведут себя хищник и жертва, очень важно в повседневной жизни животных. Такой тип межвидовых реакций позволяет жертве остаться в живых, а хищнику предоставляет возможность удовлетворить голод. Примером такой реакции можно условно назвать «обход барьера». Он заключается в том, что рыбы, встречая препятствие, предпочитают обходить его слева или справа. О такой латерализации поведения задумалась группа итальянских ученых и провела один очень интересный эксперимент (Bisazza A, 2000). В качестве модельных объектов были выбраны 16 различных видов рыб из родственных и неродственных друг другу семейств, в том числе *Girardinus falcatus* (живет на Кубе) и *Danio Retio*. Рыб помещали в аквариум, где перед ними был узкий трек, ведущий к расширяющейся части аквариума. Там находился прозрачный вертикальный барьер, за ним был расположен объект (хищник или цветной мячик). Рыбы, которые являются объектами охоты других более крупных рыб, в большинстве случаев обходили барьер слева, глядя на хищника правым глазом. Угол обзора другим глазом составлял при этом не более 30 градусов. Когда был мячик, обходила справа, потом поворачивалась правым боком. Чем может быть вызвано такое поведение?

Если рассмотреть зрительный путь, то можно прийти к интересному выводу:

Изображение воспринимается сетчаткой глаза → Идет по зрительному нерву → Оптический хиазм → Оптический тектум

Оптический тектум – прообраз верхнего двуххолмия. У миксин, миног и акул тектум является относительно маленькой структурой в мозге, однако у костистых рыб он значительно больше и иногда становится самой крупной частью мозга. В общем и целом считается, что основная функция тектальной системы — непосредственные реакции, ориентированные на обусловленные точки в персональном эгоцентрическом пространстве (координаты которого задаются положением тела животного). Каждый из слоёв тектума содержит топологическую карту окружающего пространства в ретинотопических координатах, и активация нейронов в точке такой карты вызывает соответствующую реакцию, направленную на соответствующую точку пространства.

Оптический тектум очень тесно связан с близкой к нему структурой, называемой претектальные ядра (*nucleus isthmii* для немлекопитающих). Нейроны верхнего двуххолмия и претектальных ядер среднего мозга управляют деятельностью трех пар черепно-мозговых нервов, иннервирующих глазные мышцы (глазодвигательного, блокового и отводящего) и

тем самым регулируют движение глазного яблока. Претектальные ядра отвечают также за аккомодационные рефлексy.

Но главным образом оптический тектум связан с латеральными коленчатыми телами и их ядрами, образуя подкорковый зрительный анализатор. Латеральное коленчатое тело находится сбоку от подушки таламуса. Оно соединено с верхним холмиком крыши среднего мозга при помощи ручки верхнего холмика. В латеральном коленчатом теле оканчивается большая часть латерального корешка зрительного тракта (другая часть оканчивается в подушке), поэтому вместе с подушкой и верхним холмиком крыши среднего мозга латеральное коленчатое тело является подкорковым центром зрения. От данных областей проекции идут в кору.

У рыб поведение обхода связано с асимметрией зрительного анализатора и тем, что информация по-разному обрабатывается в двух полушариях мозга, то есть зрительный анализатор посылает проекции в различные области коры и по-разному связан с внутренними структурами мозга. Левая часть мозга связана с обнаружением хищника – обработка информации о потенциальной угрозе, правая с изучением нового объекта – исследовательское поведение. Это помогает в стайном поведении. Интересно, что рыбы близких видов поворачивают в одну сторону. В каждом случае есть рыбы-левши и рыбы-амбидекстры.

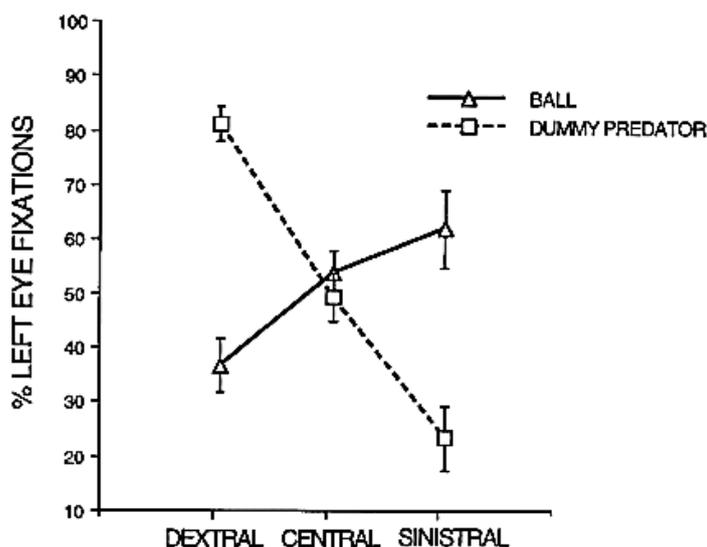


Fig. 5. Percentages of left eye fixations (means with SEM) in viewing tests with the ball and the dummy predator as target-stimulus in fish that had shown rightward (dextral), leftward (sinistral) or no preferential (central) turning in the detour test.

**Рис.12.** Латерализация поведения опытных рыб при предъявлении стимулов, вызывающих реакции обороны и интереса.

основу – запускается Маутнеровскими нейронами.

Маутнеровские нейроны (МН), два гигантских нейрона ретикулярной формации продолговатого мозга многих рыб и амфибий получают множество афферентных входов из

Но какой механизм запускает поворот направо или налево?

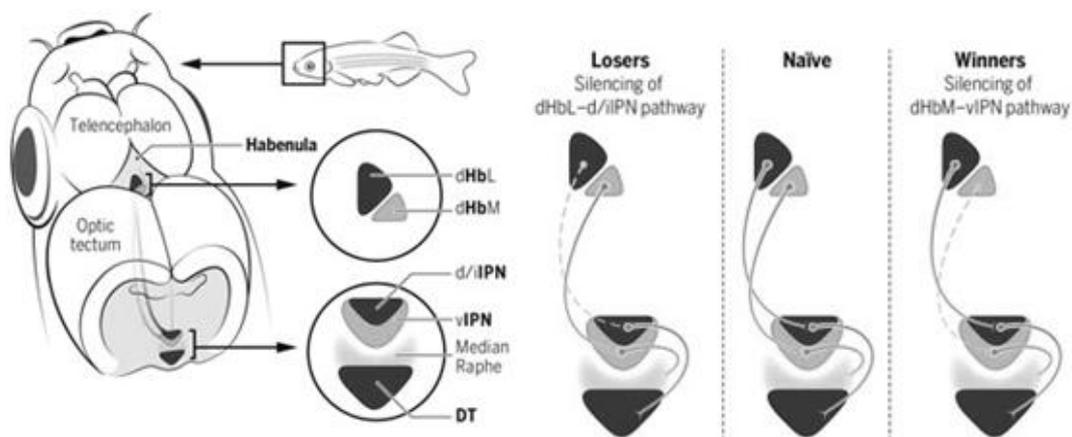
Очень много связанных с этим вопросом исследований проведено касательно С-старта (P Domenici, 1997). То есть, на приближение хищника или неожиданную стимуляцию рыбы отвечают С-образным изгибом туловища в горизонтальной плоскости и последующим броском, уводящим их от источника опасности. Этот рефлекс имеет под собой специфическую нейронную

акустико-вестибулярного анализатора и из органов боковой линии. Эти клетки суммируют афферентацию и от других участков центральной нервной системы - спинного мозга, мозжечка и среднего мозга. МН рыб, кроме октаво-латеральной иннервации, обладают афферентным входом из зрительного анализатора (tectumopticus), стимуляция которого вызывает реакцию МН и связанный с ним стереотипный поведенческий акт. Этот вход располагается на дистальных участках вентрального дендрита в отличие от других входов, рассредоточенных по телу и латеральному дендриту. Таким образом, гигантские клетки продолговатого мозга являются своеобразными интегрирующими станциями.

В свою очередь, МН иннервируют моторные нейроны, которые управляют мышцами головы и туловища, обуславливая при активации одного из нейронов унилатеральный изгиб туловища (удар хвоста или поворот), используемый животными в ряде жизненно важных форм поведения. Скорость проведения возбуждения очень высока (около 100м/с). Предполагают, что основные функции этих нейронов у рыб и амфибий аналогичны. Тем не менее, между ними существует одно морфофункциональное отличие.

Внутривидовые поведенческие реакции тоже очень важны, поскольку помогают в коммуникации, развитии и поддержании социальных навыков и, в конечном счете, направлены на успешное развитие вида в целом. Очень много исследований касаются оборонительного внутривидового поведения. Одно из них было проведено на рыбках Даниорерио японскими учеными (Ming-Yi Chou, 2016).

Они обнаружили в мозге два нейронных контура, один из которых активен у победителей в драках, а второй — у побежденных. Самцы этих рыб выясняют, кто из них главный, при помощи драк, которые обычно развиваются по стандартному сценарию. Конфликт начинается с «агонистических демонстраций»: растопыривания плавников и угрожающих движений. Рыбки кружатся, словно в танце; постепенно они распалываются и начинают кусать друг друга. Кончается всё тем, что один из соперников признаёт себя побежденным и удирает. Если дело происходит в тесном аквариуме и удирасть некуда, побежденный затаивается на дне и лежит там тихонько, чтобы не навлечь на себя гнев победителя.



**Рис.13.** Нейронный контур победителя и проигравшего.

Для данио-рерио характерен «эффект победителя» (winneffect): победа в драке резко повышает шансы на победу в следующем конфликте, а поражение увеличивает вероятность новых поражений независимо от силы соперников. «Эффект победителя» четко проявляется через час после драки, но сглаживается в течение суток.

Авторы сосредоточились на структуре, которая называется «поводок» (habenula, Hb) и входит в состав эпиталамуса, который, в свою очередь, является частью промежуточного мозга. У млекопитающих поводок интегрирует информацию о всевозможных неприятных стимулах (поступающую сюда из лимбической системы и базальных ганглиев) и корректирует поведение в соответствии с этими данными.

Аксоны нейронов поводка идут в межжировое ядро среднего мозга (interpeduncularnucleus, IPN). Об этом нервном пути известно, что он задействован в реакциях на пугающие стимулы, причем это справедливо как для рыб, так и для млекопитающих.

У рыб нейроны IPN посылают сигналы в отдел среднего мозга, называемый «дорзальной областью покрывки» (dorsal tegmental area, DT). Этот отдел частично соответствует центральному серому веществу (periaqueductal gray) млекопитающих, которое у нас контролирует, помимо прочего, выбор между реакциями борьбы, бегства и замирения.

Для начала ученые проверили, какие области среднего мозга возбуждаются в результате электрической стимуляции поводка. Оказалось, что у рыб, не участвовавших в драках («наивных») и у тех, кто недавно победил в драке («победителей»), при такой стимуляции возбуждается дорзальная часть IPN (dIPN) и DT. Однако у рыб, недавно проигравших драку («побежденных»), возбуждаются другие структуры: вентральная часть IPN (vIPN) и срединное ядро шва (Median raphe nucleus, MR).

Таким образом, «путь победителя» идет от латеральной части дорзального поводка (dHbL) в дорзальную и внутреннюю части IPN (d/iIPN), а затем в DT (сокращенное обозначение этого пути: **dHbL – d/iIPN – DT**). «Путь побежденного» начинается в медиальной части дорзального поводка (dHbM), идет в вентральный IPN (vIPN) и далее в MR (сокращенно **dHbM – vIPN – MR**)

На следующем этапе работ были созданы две трансгенные линии животных, в одной из которых ген столбнячногонеиротоксина (тетанотоксин) экспрессировался исключительно в dHbL, а в другой — в dHbM. Между ними и рыбами из контрольной группы устраивали поединки. В первом случае рыбки из опытной группы (потенциальные лузеры) побеждали в 25% случаях, а во втором (потенциальные виннеры) — в 75%.

При повторном сражении победителей из двух опытных групп с контрольными были получены следующие результаты:

30% побед во втором раунде у победивших в первом раунде потенциальных лузеров и 90% побед у победивших в первом раунде потенциальных победителей.

Авторы предполагают, что противоположное действие обнаруженных путей связано с тем, что один из них заканчивается в DT, а другой в MR. Первый из этих отделов мозга

предположительно (по аналогии с млекопитающими) задействован в выборе между борьбой и бегством. Второй регулирует уровень беспокойства и устойчивость к отрицательным стимулам, сбой в его работе ведут к депрессивным состояниям (ядра шва — важная часть серотониновой системы мозга). Сигналы, приходящие туда из IPN, ГАМК-эргические, то есть тормозящие. В общем, похоже на то, что активность «пути победителя» делает рыбку бесстрашной (выбирающей драку, а не бегство), а активность «пути побежденного» вселяет в нее чувство неуверенности и тоски.

Взаимное торможение: главную роль в предполагаемом взаимном торможении, скорее всего, играют тормозящие связи между d/IPN и vIPN.

Авторы обнаружили еще и третий нейронный путь, влияющий на поведение побежденных. Он идет от вентрального поводка (vHb) к MR. Побежденные рыбки с отключенным путем vHb – MR ведут себя не так, как положено побежденным. Вместо того, чтобы тихонько лежать на дне и не рыпаться, они продолжают плавать по аквариуму, провоцируя новые атаки победителя. Это согласуется с результатами, которые были получены авторами ранее и которые показывают, что активность vHb отражает негативные ожидания и что этот отдел мозга позволяет рыбам учиться избегать неприятностей.

Рассмотренные примеры поведения животных в различных ситуациях являются общими для всех рыб. Эти реакции служат одной из основ их оборонительного поведения и направлены на решение определенной биологической задачи – защита себя от вредоносных воздействий извне.

### **Список литературы**

1. Bisazza A, Cantalupo C, Capocchiano M, Vallortigara G. Population lateralisation and social behaviour: a study with 16 species of fish // *Laterality*. - 2000 г. - 3. - стр. 269-84.

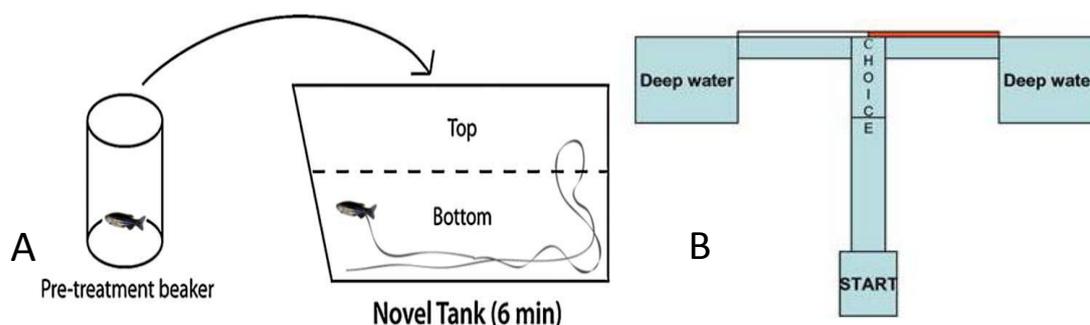
2. Ming-Yi Chou, Ryunosuke Amo, Masae Kinoshita, Bor-Wei Cherng, Hideaki Shimazaki, Masakazu Agetsuma, Toshiyuki Shiraki, Tazu Aoki, Mikako Takahoko, Masako Yamazaki, Shin-ichi Higashijima, Hitoshi Okamoto Social conflict resolution regulated by two dorsal habenular subregions in zebrafish // *Science*. - 2016 г. - стр. 87-90.

3. Domenici P, Blake R The kinematics and performance of fish fast-start swimming // *Journal of Experimental Biology*. - 1997 г. - 200. - стр. 1165-1178.

### **Обучение у рыб**

*Голяко Иван*

В настоящее время существует большое количество методов для изучения процесса обучения рыб. Наиболее часто используемые подходы – Т-образный лабиринт и обычный аквариум, в котором присутствуют какие-нибудь предметы, например, ориентиры. Принцип тестов существенно не отличается от таковых для других позвоночных животных (крестообразный лабиринт, тест «открытое поле», трекинг), однако рассмотренные тесты адаптированы для рыб. (Рис. 1.)



**Рис.1.** Методы изучения обучения рыб в лаборатории: А- тест «открытое поле», В – Т-образный лабиринт.

В тесте «открытое поле» можно исследовать как обучение в нормальных условиях, так и действие различных биологически активных веществ, стимулов с положительным и отрицательным подкреплением на процессы обучения, пространственной ориентации, памяти. Существует большое количество модификаций тестов, разработанных для изучения конкретных процессов в мозге рыбы, вовлеченных структур, проявления применения различных фармакологических препаратов на организменном уровне.

Другой часто используемый тест – Т-образный лабиринт. Его применяют для исследования мышления, памяти, предпочтений рыб, а также для оценки влияния лекарств. Также присутствует большое количество модификаций теста.

Рыбы являются очень разнообразной группой животных. Большое разнообразие позволяет выбрать нескольких представителей для более подробного изучения. К типичным модельным объектам можно отнести зебрафиш, золотую рыбку, трёхиглую колюшку, аквариумного сомика и др. Помимо типичных модельных объектов исследования проводят на брызгунах, щуках, лососях и других рыбах. Также в исследованиях используют хрящевых рыб, например, скатов. Ниже описаны изучаемые процессы для каждого приведенного примера.

1. Данио рерио (*Brachydanio rerio*) – адаптирована для лабораторных условий как модельный вид. Геном секвенирован, много трансгенов. Исследуемые процессы подробно описаны во второй части.
2. Золотая рыбка (*Carassius auratus*) - одомашненная форма карася. Сложное поведение, обучение. Геном секвенирован.
3. Трёхиглая колюшка (*Gasterosteus aculeatus*) – семейство Колюшковых. Исследуются: механизмы агрессии, полового поведения. Геном секвенирован практически полностью.
4. Японская оризия (*Oryzias latipes*) – типичный модельный организм. Космические исследования.
5. Золотистый сомик (*Corydoras aeneus*) – исследование памяти, пространственной ориентации.
6. Щука (*Esox lucius*) – изучение пищевого поведения, обучение.
7. Брызгуны (*Toxotes chatareus*) – изучение обучения, ориентации.
8. Атлантический лосось (*Salmo salar*) – изучение импринтинга.
9. Речные хвостоколы (*Potamotrygon falkneri*) – изучение памяти, сознания, социального обучения.

Тесты, используемые для обучения, можно классифицировать.(табл. 1.)

Табл. 1. Обзор экспериментальных техник.

Описание техники	Условный дискриминирующий стимул	Безусловный стимул/подкрепление	Изменение поведения
Не ассоциативное обучение	Изменение ответа на стимул после его неоднократного воздействия		
Привыкание	Звуковой, зрительный, тактильный	-	Постепенное привыкание, снижение испуга
	Новизна обстановки	-	Снижение исследовательской активности (погружений на глубину)
Реакция ответа на раздражители	Изменение поведения в ответ на безусловный и условный стимулы		
Предпочтение места	Зрительный (цвет, длина волны света.)	БАВ, корм, социальное взаимодействие	Смена предпочтений
«Приятные» стимулы	Обонятельный	Корм	Проявление активности по отношению к стимулу
Не Привлекательный стимул	Зрительный, обонятельный	Шок, феромоны тревоги	Погружение на глубину, избегание
Оперантное обучение	Подкрепляется только то спонтанное поведение, которое признается желательным («метод проб и ошибок»)		
Положительное подкрепление	зрительный, выбор (рукава лабиринта)	Корм, социальное взаимодействие	Приоритетный выбор
Отрицательное подкрепление	зрительный, выбор (рукава лабиринта)	Шок, ограничение	Избегание/тревожность

Описанные в таблице методы позволяют изучать различные аспекты процесса обучения рыб.

1) Не ассоциативное обучение: внимание, кратковременная и долговременная память, привыкание, импринтинг.

2) Обучение с выработкой ответной реакции на раздражители: внимание, сознание, процессы возникновения простых ассоциаций.

3) Обучение с положительным и отрицательным подкреплением: процессы возникновения простых ассоциаций, проблема выбора, память, мышление.

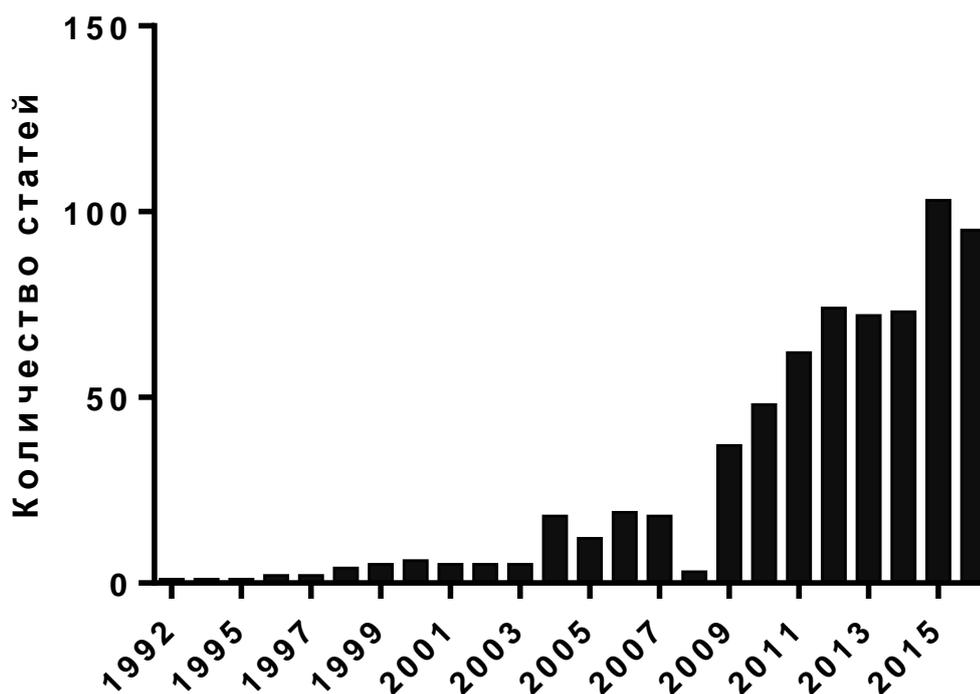
Далее более подробно рассмотрен эксперимент с положительным подкреплением правильного выбора.

Изучение процесса избирательного обучения *Danio rerio* с положительным подкреплением.

Род *Danio*, известный также как Zebrafish, относится к семейству карповых рыб. Является популярной аквариумной рыбкой, а также известен как модель, которой посвящено большое количество научных исследований. Изначально этих рыб использовали для изучения процессов развития организма, экспериментов с генами. Следующим шагом стало их применение в физиологии. По сравнению с другими модельными объектами *Danio* имеет

ряд преимуществ: простота содержания и разведения, большие группы одного возраста, легко читаемые эффекты веществ, наличие большого числа нокаутов и трансгенных линий, воспроизводимость результатов доклинических исследований достигает 30%. Перечисленные преимущества обуславливают нарастающее использование этих рыб в изучении регуляторных механизмов, исследованиях действия фармакологических веществ, базовых поведенческих реакциях, к которым относятся саккады, ортокинетические реакции, предимпульсное торможение, управление движением, реакция избегания, обучение, сон, мотивации и формирование зависимости.

Исследование поведения и обучения на модели *Danio rerio*, по данным pubmed, началось в 1992 году, с 2004 года количество статей о поведении Zebrafish начинает расти. За 2016 год их количество превысило сто. (Рис.2)

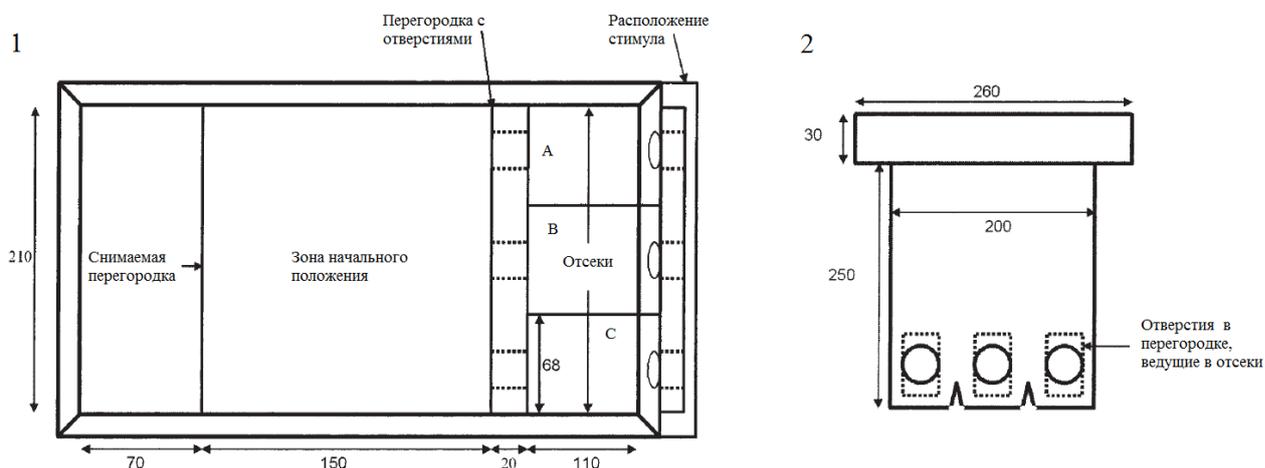


**Рис.2.** Количество работ, посвященных поведению *Danio rerio*, pubmed.

В 2005 году Joseph Bilotta и его коллеги опубликовали статью с названием «Assessing Appetitive Choice Discrimination Learning in Zebrafish». Авторы этой работы подчеркивают, что исследование процессов обучения *Danio* может внести существенный вклад в дальнейшее применение этой рыбы в качестве модели изучения организации нервной системы, а также в генетике. При проведении эксперимента ученые уделили особое внимание методу обучения рыб, который они предложили после анализа недостатков используемого в то время Т-образного лабиринта. При создании метода ученые пользовались следующими критериями: рыба не должна иметь предпочтение к стимулу, используемому в тесте, во время теста не должно быть других стимулов, особенно – вызывающих тревогу, за правильный выбор рыбе полагается положительное подкрепление, в процессе обучения пространственной ориентации с использованием стимула рыбе предлагается отличить один верный выбор из трех предложенных, таким образом вероятность случайного правильного выбора снижается до 33.3% по сравнению с Т-образным лабиринтом, где она составляет 50%.

В эксперименте были использованы самцы *Danio rerio*, в возрасте около года. Рыб вывели в питомнике и содержали в привычных для них условиях (Температура воды, pH, освещенность и другие параметры содержания поддерживались в оптимальных условиях). Несмотря на то, что данный вид рыб является стайным, рыб содержали отдельно друг от друга, чтобы адаптировать к изолированному состоянию, так как тест подразумевает индивидуальное прохождение. На протяжении эксперимента рыбы были на ограниченной диете, получали только комбикорм и в ограниченном количестве.

Для проведения тестов исследователи переделали большой аквариум. На рисунке 3 представлена схема устройства установки для проведения теста.



**Рис.3.** Устройство установки. 1 – общий вид сверху, 2 – перегородка, вид сбоку.

Все пространство аквариума было поделено на несколько отсеков. Самый большой из них – зона, куда помещали рыбу в начале эксперимента, слева от нее расположен отсек, в котором было устройство поддержания температуры. Он был отгорожен и не использовался в эксперименте. С правой стороны зона начального положения рыбы была отделена перегородкой от малых отсеков А, В и С. В перегородке были специальные отверстия, такие что рыба могла беспрепятственно проплыть через них в любой отсек. Правее отсеков А, В и С были расположены источники стимулов – лампы, светорассеиватели и световые фильтры. Все стенки аквариума были заклеены светонепроницаемой пленкой. Присутствовало фоновое освещение. Отверстия в перегородке между отсеками А, В и С и начальной зоной можно было закрыть во время проведения теста. Всю установку на время теста заполняли тремя литрами воды.

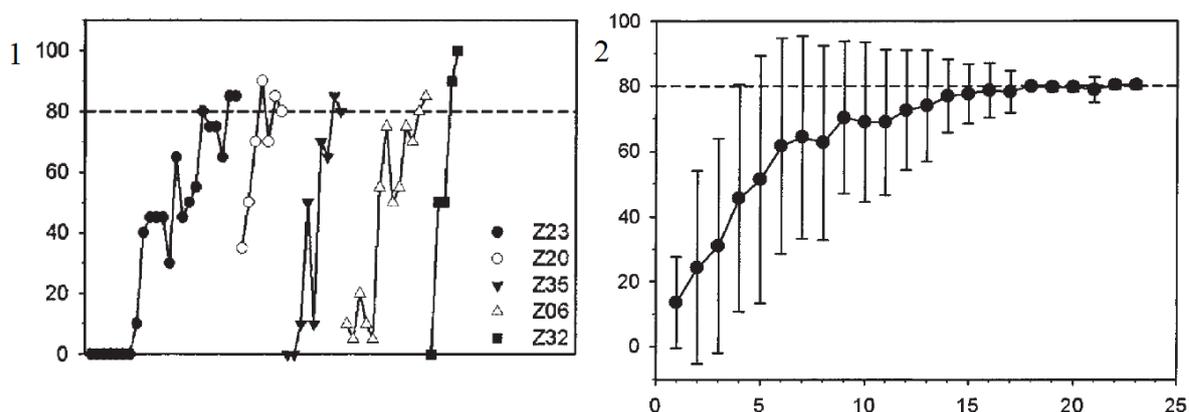
Эксперимент заключался в четырех этапах. На первом этапе рыбу адаптировали к аквариуму в течении 5 минут, на следующем этапе рыба могла выбрать один из малых отсеков. Когда рыба заплывала в малый отсек, ее закрывали в нем и давали световой стимул. Одновременно с этим в воду выпускали несколько живых Артемий, небольших ракообразных, служащих более желаемой пищей для рыб. По истечению 30 секунд световой стимул выключали, открывали окошко, соединяющее отсек и главную камеру. После того, как рыба покидала отсек, попытку обучения считали совершенной. Сессия обучения состояла из 20 попыток.

На следующем этапе проводили избирательное обучение рыб. Стимул давали после 5-минутной адаптации, когда рыба находилась в начальной зоне. В случае если рыба заплывала в отсек, указанный стимулом, ее закрывали в нем, включали световой стимул еще раз и кормили. При выборе неправильного отсека рыбу закрывали в нем на 30 секунд, но не давали ни стимула, ни корма. *Danio* предпочитает затемненные места, поэтому освещенный отсек является для нее неприятным местом. Это было учтено и использовано в модели обучения: если бы правильным был единственный затемненный отсек, то его выбор определялся бы не только положительным подкреплением, но и в большей части

оборонительным поведением. Данное обучение проводили до достижения 80 % правильного выбора в двух последовательных сессиях для каждой рыбы.

Следующий этап заключался в проведении избирательного обучения, но с использованием монохромного света с разной длиной волны. Обучение начинали с белого света, после достижения 80% критерия правильности, использовали в качестве стимула свет с другой длиной волны, обучали до достижения 80% критерия и меняли волну на следующую и так далее.

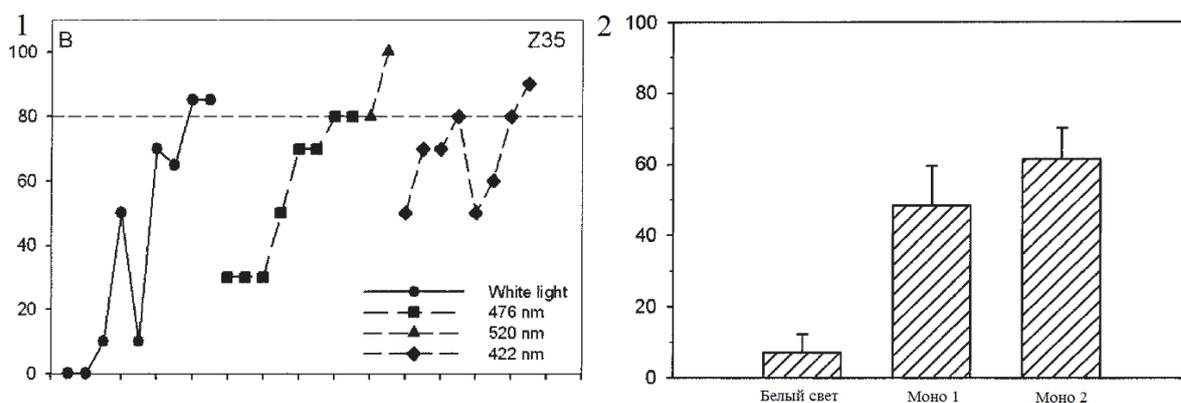
Результаты исследования показали, что представители рода *Danio* способны к обучению с выбором из трех альтернативных вариантов. Все 15 рыб достигли 80 % правильного выбора в двух последующих сессиях. (Рис. 4.2) Большой разброс отображает различия в способности разных рыб к обучению.



**Рис.4.** Тест избирательного обучения. Кривые обучения. По оси X отложены сессии, по оси Y – процент правильного выбора. 1 – Индивидуальные кривые обучения: каждая точка – средний процент для всех попыток в одной сессии. 2 – Зависимость процента правильного выбора от количества сессий. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартное отклонение для определенной сессии для всех 15 рыб.

Так же было показано различие в скорости обучения индивидуальных представителей (Рис. 4.1). Каждая кривая описывает процесс обучения отдельной рыбой. Так рыбе под номером Z32 для обучения понадобилось всего 5 сессий, в то время как Z23 понадобилось больше 20. Авторы статьи предполагают, что обучение с выбором альтернативных вариантов может быть использовано в тестировании фармакологических препаратов влияющих на поведение рыб, способность к обучению, пространственную ориентацию.

Авторы статьи выдвинули гипотезу, что небольшое изменение в длинах световых волн может способствовать процессам генерализации. Выбор правильного решения при появлении нового стимула, похожего на предыдущий, может быть результатом построения новых нейронных связей, основанных на предыдущем опыте, таким образом можно сделать предположение, что *Danio* обладают долговременной памятью и некоторым подобием мышления. Подтверждением этой теории служили результаты проведенных экспериментов. На рисунке 5.1 видно, что при переходе к каждому последующему стимулу начальный процент правильного выбора увеличивается. На рисунке 5.2 представлены данные для всех рыб. Очевидно, что начальный уровень правильного выбора при переходе к каждому последующему стимулу увеличивается и статистически значимо отличается от первой сессии обучения. Чтобы исключить врожденное предпочтение к свету определенной длины, стимулы чередовали в случайном порядке для каждой рыбы. При этом значимых отличий в обучении выявлено не было.



**Рис.5.** Тест с использованием стимулов с разной длиной волны. 1 – Индивидуальные кривые обучения для света с разной длиной волны: каждая точка – средний процент для всех попыток в одной сессии. 2 – Оценка сохранения информации. Средний процент правильного выбора для первой сессии при разных условиях для всех 15 рыб: белый свет – первая сессия избирательного обучения, Моно 1- первая сессия монохромного стимула после перехода от белого света, Моно 2 - первая сессия монохромного стимула после перехода от монохромного стимула 1.

В заключение авторы говорят, что способность к обобщению информации у *Danio* развита в меньшей степени по сравнению с результатами аналогичных тестов для млекопитающих, птиц. Еще одной целью проделанной работы являлось создание метода для оценки не только поведения, но и различных типов мышления рыб.

#### Список источников:

1. Bilotta Joseph; Risner M.L.. D.E.C.. H.S.J. Assessing appetitive choice discrimination learning in zebrafish // *Zebrafish*. 2005. Т. 2. № 4. С. 259–268.
2. Blaser R.E., Vira D.G. Experiments on learning in zebrafish (*Danio rerio*): A promising model of neurocognitive function // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2014. Т. 42. С. 224–231.
3. Broglio C. и др. Hallmarks of a common forebrain vertebrate plan: Specialized pallial areas for spatial, temporal and emotional memory in actinopterygian fish // *Brain Res. Bull.* 2005. Т. 66. № 4-6. С. 277–281.
4. Ловать М.Л. Рыбы – объект мечты для физиологических исследований // 2016.

# Амфибии

## Стратегии размножения земноводных.

*Груздев Глеб*

Амфибии населяют множество климатических поясов — от засушливых полупустынь до тропических джунглей. Они могут вести водный, полуводный или наземный образ жизни, под лесной постилкой или в кронах деревьев. Существует огромное разнообразие стратегий размножения амфибий, цель которых — оставить как можно большее число жизнеспособных потомков.

Личинки многих амфибий зависят от воды. Во большинстве случаев, число молодняка очень велико, что повышает шансы на выживание. Другие амфибии выводят меньшее число личинок большего размера, а некоторые виды тщательно заботятся о потомстве. Метаморфоз, процесс, сопровождающийся значительными физиологическими и морфологическими переменами, обычно совершается спустя 90 дней после вылупления личинок из икры. Исключение составляет лягушка-бык (*Rana catesbiana*), превращение у которой может занимать до 2 лет, а также некоторые саламандры, у которых личиночная стадия длится до 5 лет. Большинство червяг живородящи, в то время как лягушки и саламандры почти все мечут икру. Внутреннее оплодотворение характерно для большинства саламандр и червяг. Собрыв сперму клоакой, самки саламандр могут длительное время (до нескольких лет) хранить ее в спермотеке, используя для оплодотворения проходящей через яйцевод икры. У большинства лягушек оплодотворение внешнее, яйцекладка происходит в воду, в некоторых случаях рядом с водоемом или на его поверхности.

Многие амфибии размножаются сезонно. Факторы окружающей среды, такие, как температура в умеренных широтах или дожди в районах с чередованием ливней и засухи при этом учитываются таким образом, чтобы рождение молодняка пришлось на наиболее благоприятный период. Самцы тигровой индийской лягушки (*Rana tigrina*) не производят сперму в период засухи, несмотря на то, что температура в дождливый и сухой периоды года одинакова. Разные популяции видов могут вырабатывать различные особенности размножения. Например, альпийский тритон (*Triturus alpenstris*) размножается раз в год, тогда как другие амфибии Альп — два раза в год (Jorgensen, 1992)

Успешное размножение требует успешного сперматогенеза, овуляции, откладки икры, оплодотворения, эмбрионального развития и метаморфоза. В этом важную роль играют условия среды — освещение (спектр и фотопериод), качество воды, температура и влажность. Перемены в уровне осадков, длине дня и температуре запускают внутренние механизмы режима размножения. Не менее важно для вителлогенеза (образование желтка) и правильное питание. У самок лягушки-быка (*Rana catesbiana*) овуляцию вызывают в течение 8 недель при содержании их в условиях 12ти часового светового дня и обильного кормления живой рыбой и/или речными раками. Отклонения в световом дне ведут к усиленному рассасыванию готовой к откладке икры. В стрессовых условиях амфибии не размножаются. В размножении некоторых саламандр большое значение играет грунт. Аксолотль

(*Ambystoma mexicanum*) должен прикрепить сперматофоры, состоящие из желеобразной субстанции со сперматозоидами, к песку, гравии или другому грубому грунту. Стекло и керамика не подходят для правильного расположения сперматофоров, необходимого для оплодотворения.

В подходящих условиях среды успешность размножения самки будет зависеть от нескольких условий. В общем случае, более крупные самки мечут больше икры более крупного размера, соответственно, производя более жизнеспособное потомство. Старшие самки обычно крупнее и у них больше энергии для вителлогенеза. Более крупные самки в состоянии направить большее количество запасов организма на продукцию икры, тогда как мелким приходится отложить спаривание на потом. К тому моменту, как они набирают достаточно запасов организма, и оплодотворение происходит, условия для вылупившегося позднее молодняка уже перестают быть благоприятными. У некоторых видов спаривание не происходит ежесезонно, что позволяет самке накопить достаточно запасов энергии для успешного размножения в будущем (Crump, 1995)

### **Половой диморфизм у амфибий**

Половой диморфизм присущ многим амфибиям, хотя практически не встречается у червяг. Диморфизм может быть постоянным или сезонным. Постоянными чертами являются размер и окраска, наличие шипов, бугорков и бивней у самцов. У некоторых древолазов подушечки пальцев самцов увеличены и используются для привлечения самок путем постукивания по земле. У самцов некоторых лягушек увеличены барабанные перепонки. Сезонный диморфизм обусловлен наличием гонадотропных гормонов. У самцов саламандр развиваются железы клоаки, необходимые для продукции сперматофоров. У самцов тигровой саламандры (*Ambystoma tigrinum*) сезонность цикла обусловлена тестостероном и дигидротестостероном, которые отвечают за увеличение желез клоаки во время сезона размножения (Norris, 1987). У самок в ответ на пролактин сезонно может становиться гладкой кожа, как, например, у калифорнийского тритона (*Taricha torosa*).

Одной из наиболее ярких сексуальных характеристик у самцов лягушек и тритонов является формирование брачных подушек в ответ на повышение гормонов семенников. У лягушек эти подушечки формируются на пальцах, нижней части передних конечностей и около рта, что позволяет самцу оставаться в спаренном состоянии с самкой несмотря на движение воды и нападение других самцов. У самцов тритонов черные брачные подушечки формируются на задних конечностях. У видов, спаривающихся в воде, брачные подушечки более развиты, чем у видов, спаривающихся на суше. Кроме того, у многих самцов на животе формируются железы, выделяющие липкий секрет во время спаривания. У некоторых видов похожие железы есть на спине у самок.

Постоянное или сезонное окрашивание у лягушек является также важной чертой.

Самцы гребенчатого тритона (*Triturus cristatus*), становятся более ярко окрашенными и отрачивают временный гребень на период сезона размножения. У самцов многих лягушек в это время ярко окрашиваются голосовые мешки. У других амфибий особые отметки и

окраска, позволяющие отличить самца от самки могут присутствовать независимо от сезона размножения.

В брачный период некоторые самцы лягушек выделяются своими вокальными данными. Брачный зов не только привлекает самок на места, подходящие для откладки икры, но и объявляет другим самцам, что территория занята. Продолжительность и громкость песни, повторение и изменение тональностей это методы, используемые соперничающими самцами для выяснения отношений.

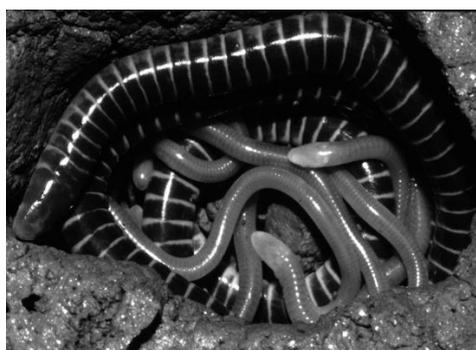


**Рис.1.** Резонаторы у лягушек

Брачный зов у шпорцевых лягушек (*Xenopus laevis*) контролируется гормоном дигидротестостероном, который стимулирует моторные нейроны гортани и ядра в промежуточном мозге, ответственные за восприятие слуховых стимулов. Есть виды, у которых нельзя установить половую принадлежность только по одному признаку. У жаб-повитух (*Alytes obstetricans* и *Alytes cisternasii*) самцов и самок можно различить только на основе сравнения нескольких морфологических характеристик.

### **Забота о потомстве у амфибий**

Заботой о потомстве считается любое поведение родителей по отношению к потомкам, которое увеличивает вероятность выживания последних. Более типично такое поведение для наземных амфибий. Некоторые червяги, около 10% бесхвостых и большинство саламандр в той или иной форме заботятся о потомстве. Червяги вьют гнезда, после чего выхаживают в них свое потомство до полного взросления, самец охотится ночью и приносит добычу в гнездо, 75 % безногих земноводных живородящие.



**Рис.2.** Гнездо червяги.

Земноводные прибегают к изощренным способам защиты кладки: Большинство лягушек, у которых отсутствует стадия головастика, живут либо в дождевых тропических лесах, либо в гилеях; один из самых интересных, хотя пока еще малоизученных, родов таких лягушек — африканский узкорот *Breviceps*. Как подсказывает его английское название (*rain frog* — дождевая лягушка), это животное выходит на поверхность земли только во время сильных дождей. Документированных данных о жизненном цикле этого неуловимого животного пока еще мало, но известно, что во время брачного сезона взрослые особи образуют пары. Половозрелые лягушки выходят из своих подземных нор и впитывают дождевую воду через кожу, пополняя, таким образом, запасы жидкости в мочевом пузыре и других тканях.

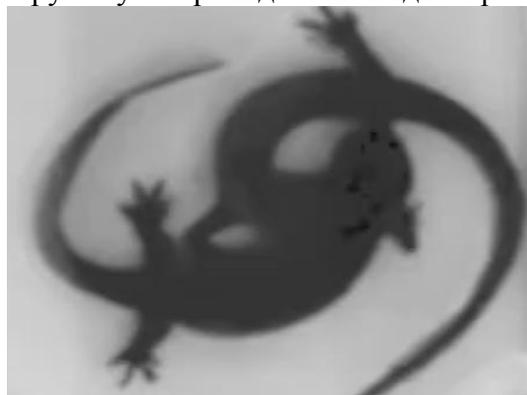
Вследствие своих относительно малых размеров самец не может обхватить лапами более крупную пухлую самку и вместо этого приклеивается к ее спине. Самка вместе с сидящим на ее спине самцом зарывается в землю и начинает откладывать яйца, которые затем оплодотворяются ее партнером. Время от времени самка смачивает яйца водой из своего мочевого пузыря, так что они остаются влажными вплоть до вылупления лягушат. Большинство видов *Breviceps* — настоящие обитатели пустыни, живущие в засушливых областях Африки к югу от Сахары, а один вид живет в прибрежных песчаных дюнах, на Атлантическом побережье Южной Африки, где нет пресной воды.

Некоторые лягушки взбивают пену, защищающую кладку от внешних факторов или вынашивают головастиков в желудке (реобатрахус) в резонаторах (ринодерма)

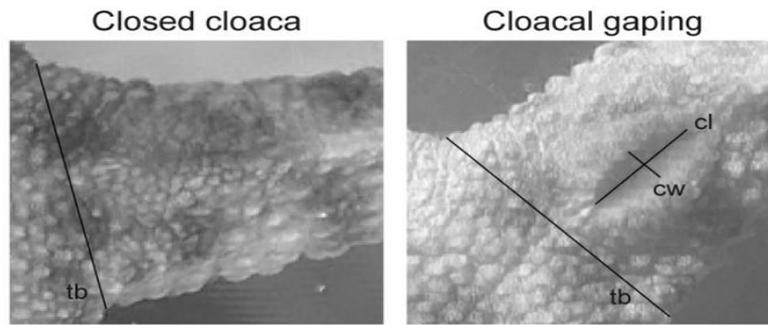


**Рис.3.** Половое насилие у тритонов.

Если самка согласна спариваться, то Самец подталкивает самку во время первого контакта. Если самка признана ее достойным, то немедленно реагирует на него, вступая в ритуал вертушки, так что пара кругов уже приводит к оплодотворению.



**Рис.4.** Вертушка является ритуалом передачи семени. Если самка не готова спариваться, то ее клоака закрыта!



**Рис.5.** Клоака самки, критерий готовности к спариванию.

- Самец в таком случае не сдаётся, а начинает навязывать свою клоаку самке: Если самка находится над самцом, он изворачивается и предлагает самке свою клоаку. После улавливания феромонов, клоака самки готова к спариванию и открывается.



самец насильно начинает вертушку, удерживая самку за передние конечности, со временем происходит оплодотворение, но это занимает больше времени, чем при добровольном спаривании.



Но самки придумали эффективный способ защиты Имитация смерти: самка симулирует смерть, пока самец не сдаётся.

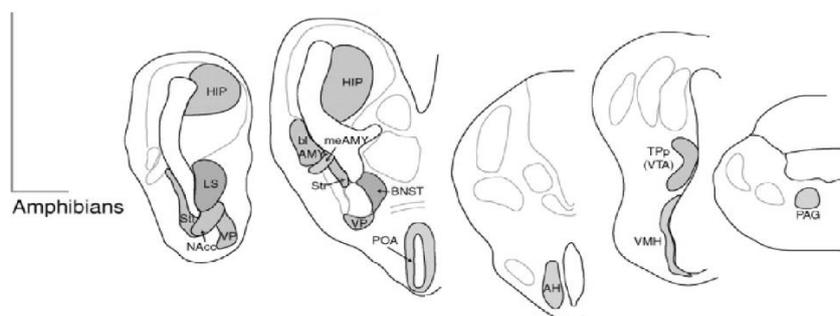
«Мертвая» самка не сможет захватить пузырек со спермой, т.к вертушка невозможна. Есть еще одна интересная стратегия полового поведения, такая как **функциональная некрофилия**. Для небольшой лягушки *Rhinella proboscidea*, обитающей во влажных тропических лесах Бразилии, Колумбии, Эквадора и Перу, смерть партнера не является препятствием для спаривания. Во время брачного сезона самцы этого вида кучей наваливаются на одну самку, стремясь оплодотворить икру, которую она мечет. Причем, нередко такая конкуренция бывает настолько ожесточенной, что самка буквально задыхается под телами сородичей или оказывается раздавленной ими.



**Рис.6.** Лягушки *R. proboscidea* находятся под угрозой исчезновения из-за потери мест обитания. Автор фото: Axel Kwet.

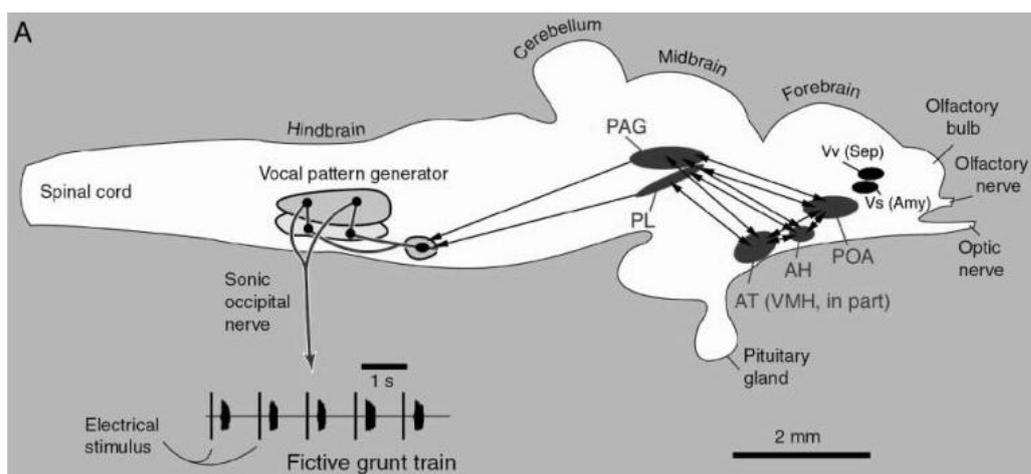
Однако это обстоятельство не останавливает потенциальных партнеров. Если самка погибает, более быстрый самец хватается за нее и ритмично сжимает ей брюшко. Когда из самки выпадают яйца, самец немедленно оплодотворяет их. Во время исследования этого явления в одном из заповедников Бразилии в период между 2001 и 2005 годами ученые обнаружили около 100 самцов и 20 самок, которые погибли в результате такой борьбы за спаривание. Ученые назвали эту уникальную половую стратегию «функциональной некрофилией». Безусловно, пользу от этой стратегии получают самцы. Им не приходится тратить энергию на поиски другой партнерши и постоянное соперничество с конкурентами. К тому же, в популяции лягушек *R. Proboscidea* самцов всегда больше, чем самок (приблизительно 10 самцов приходится на 1 самку), поэтому шансы найти новую живую партнершу и оставить потомство были бы крайне низки. Стратегия *Rhinella proboscidea* повышает шансы сформировать новое поколение лягушек. Вероятно, самки также получают пользу от такого поведения самцов, поскольку, даже не смотря на смерть, они передают свои гены будущим поколениям. Интересно, что примеры спаривания с мертвыми особями встречаются также и среди других животных, например, у ящериц амейв и крякв.

### Нейросеть, отвечающая за половое поведение.



**Рис.7.** Участки головного мозга, входящие в систему SDM (углубленная развертка) У амфибий, как и у всех позвоночных за половое поведение отвечает комплекс «нейронной сети социального поведения» SDM.

Сеть социального поведения тесно связана с системой внутреннего вознаграждения, задача которой — отличать, образно говоря, хорошее от плохого и сообщать о результатах другим отделам мозга при помощи нейромедиатора дофамина. Вместе эти два нейронных контура (социального поведения и вознаграждения) образуют «систему принятия социальных решений». Участки мозга амфибий, отвечающие за социальное поведение (медиальная миндалина, преоптическая область гипоталамуса, передний гипоталамус, вентромедиальный гипоталамус, центральное серое вещество), взаимодействуют с центрами положительного подкрепления (гиппокамп, стриатум, прилежащее ядро, вентральный паллидум (бледный шар), базолатеральная миндалина, вентральная область покрышки среднего мозга), через латеральную перегородку и ядро ложа терминальной полоски.



**Рис.8.** Нейронная сеть социального поведения.

Самое удивительное свойство сети SDM — это ее эволюционный консерватизм, то есть крайне медленный темп эволюционных изменений. На первый взгляд, это противоречит тому громадному многообразию форм социального поведения, которое наблюдается у позвоночных. Хотя, с другой стороны, базовые социально-ориентированные задачи у всех позвоночных схожи: привлечь хороших половых партнеров, одолеть конкурентов, повысить свой социальный статус, вырастить побольше здоровых потомков... Это фундаментальное сходство жизненных устремлений, вероятно, и создает предпосылки для развития более или менее универсальных социально-ориентированных нейронных структур в ходе эволюции. Та нейронная сеть, которая сформировалась еще у доисторических рыб — общих предков современных лучеперых рыб и наземных позвоночных, — очевидно, оказалась вполне универсальной. Даже очень небольшие модификации отдельных компонентов сети SDM могут оказаться достаточными для значительного изменения полового поведения. Агрессивное поведение в половом поведении, характеризуется повышенной возбудимостью миндалины.

### Список литературы:

- 1) Cui, J., Song, X., Zhu, B., Fang, G., Tang, Y., & Ryan, M. J. (2016). Receiver discriminability drives the evolution of complex sexual signals by sexual selection. *Evolution*, 70(4), 922–927. <https://doi.org/10.1111/evo.12889>
- 2) Goodson, J. L. (2005). The vertebrate social behavior network: evolutionary themes and variations. *Hormones and Behavior*, 48(1), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2005.02.003>
- 3) Janssenswillen, S., & Bossuyt, F. (2016). Male Courtship Pheromones Induce Cloacal Gaping in Female Newts (Salamandridae). *PloS One*, 11(1), e0144985. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144985>

4)Lea, A. M., & Ryan, M. J. (2015). Irrationality in mate choice revealed by tungara frogs. *Science*, 349(6251), 964–966. <https://doi.org/10.1126/science.aab2012>

5)Zhu, B., Wang, J., Zhao, L., Sun, Z., Brauth, S. E., Tang, Y., & Cui, J. (2016). Bigger Is Not Always Better: Females Prefer Males of Mean Body Size in *Philautus odontotarsus*. *PLOS ONE*, 11(2), e0149879. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149879>

## **«Жди, пока приползёт само или выходи на охоту». Пищевое поведение амфибий.**

*Стаханова Анна*

Пищевое поведение земноводных сначала кажется простым, но при углублении в этот вопрос всплывают интересные особенности прекрасно организованных и четко управляемых комплексов действий. А общий термин «пищевое поведение» используется для обозначения различных составляющих поведения, связанных с процессами приема пищи, – таких как поиск пищи (пищедобывание), схватывание добычи, манипулирование ею. При этом амфибии проявляют разнообразные врожденные и приобретенные опытом пищевые стратегии, используя различные органы, в том числе органы чувств, анализирующие и управляющие системы.

Стратегии пищевого поведения характерные земноводным: ожидание в заранее выбранном укрытии, чтобы оттуда напасть на жертву и активная охота, в том числе с преследованием. Охотятся амфибии 1 раз в сутки.

От времени активности зависит и рацион земноводных. Среди тех, кто ведут преимущественно ночной образ жизни, – обыкновенные жабы, квакши, чесночницы. Они не ловят летающих насекомых, так как ночью, в темноте добыть летящую дичь нелегко. Зато они активно охотятся на вездесущих муравьев, пауков, земляных червей, гусениц.

Поскольку лягушки и жабы в основном непритязательны к пище, это делает их охоту достаточно результативной. Они не затрачивают на нее слишком много времени.

### ***Охотничьи приемы.***

Молниеносное движение языка лягушки за жертвой человеческий глаз не в силах зафиксировать. Ловят насекомых и при ярком свете, и в вечерних сумерках, в природных условиях и лабораторных. Язык лягушки – замечательное устройство, а его «конструкция» определяет метод овладения добычей. Он целесообразно прикреплен во рту не задним, а передним концом и может в нужный момент выбрасываться изо рта.

Что касается жаб, то они наделены сильными мускулами и не обладают такой ловкостью, как лягушки. Жабы неуклюжи, не могут делать быстрых и дальних прыжков при виде пищи. И реакция поворота у них более замедленная. Но зато некоторые жабы способны терпеливо поджидать добычу, неподвижно притаившись в засаде. В ответственный момент их органы чувств дадут сигнал о приближении жертвы, а анализирующая система выдаст точные координаты для броска, который осуществляет самая быстрая часть пищедобывательной системы жабы – ее липкий язык. В случае успешной охоты жаба после трапезы зачастую вытирает передней лапой рот. Если добыча оказывается мокрой из-за дождя и ее не удастся схватить языком, то у жаб, как и у лягушек, имеется «запасной вариант».

Особой стратегией охоты отличаются земноводные, живущие возле человеческих жилищ. Они собираются ночью у источника света и питаются привлеченными им насекомыми. Для этого амфибии усаживаются в тени на границе освещенного участка. Вероятнее всего, движущей силой такого целесообразного поведения служит

вырабатываемый условный рефлекс, когда включение света и увеличение количества добычи связываются в мозгу земноводного в одну цепь. Интересно, что на сходной реакции основана одна из техник промыслового лова лягушек.

Зубы земноводных предназначены лишь для удержания пищи, но не для ее разжевывания. Однако когда добыча попадает в рот охотника, а он не в состоянии ее целиком проглотить, включается орган, традиционно наделенный совсем иной функцией. Дело в том, что у земноводных глаза способны погружаться внутрь головы, обеспечивая передачу добычи внутренним органам. То есть при глотании амфибия закрывает глаза веками, и их глазные яблоки, словно по команде, поворачиваются с помощью специальных мышц глубоко внутрь. При этом давление в ротовой полости увеличивается, и пища проталкивается в пищевод.

#### ***Помощь органов чувств и анализирующих систем.***

При поиске добычи земноводные в основном пользуются сложнейшей зрительной системой и обонянием. А представители некоторых видов, кроме того, очень чувствительны к колебаниям воды, вызываемым плывущими живыми существами.

Основная масса лягушек и жаб начинает передвигаться к замеченной добыче, находящейся вне зоны броска, с расстояния, в несколько метров. При этом важнейшим охотничьим средством земноводных являются глаза. Как показывают эксперименты, серая жаба замечает добычу, удаленную на 3 метра, а прудовая лягушка и желтобрюхая жерлянка – даже до 10 метров.

У лягушки, например, глаза выпучены и торчат над головой. Для нее это имеет важное значение. Во-первых, они позволяют лягушке охватить взором достаточно широкое пространство. Ведь ее голова не способна поворачиваться в стороны. Во-вторых, поскольку амфибия проводит много времени в водоеме, то ее выпученные глаза, высываясь из воды, зорко высматривают добычу и замечают опасность.

#### ***Роль обоняния.***

Хотя пищевое поведение большинства видов земноводных главным образом зависит от реакций на зрительные стимулы, запах тоже оказывает на них немалое влияние. Он повышает пищедобывательную активность – заставляет животных искать пищу и хватать любые движущиеся приманки. Запах приносится струями воды или воздуха и не может точно указать животному его источник. Но он служит сигнальной информацией и вызывает у амфибий сильное возбуждение.

Для некоторых видов земноводных благодаря запаху подвижность не всегда является необходимым свойством пищевого объекта. Например, амфибии, приученные есть мясо, способны находить его под слоем песка и выкапывать. Они также пытаются схватить через стекло привычный неподвижный корм, когда ощущают его запах. Фиксируя взор, прежде чем схватить движущуюся добычу, земноводные посредством обоняния контролируют ее качество. Так, в опытах они не стали хватать червей, покрытых ядовитой слизью, но активно ловили эту добычу, если она привычно пахла мучными червями.

У всех земноводных в области хоан образуются небольшие слепые углубления, стенки которых выстланы чувствующим эпителием, иннервируемым ветвями обонятельного нерва. Полость этих углублений заполнена секретом специальных желез. Эти органы называют яacobсоновыми и полагают, что они служат для восприятия запаха пищи, находящейся в ротовой полости. У червяг в ямке на голове находится подвижное щупальце, которое животные постоянно высывают, как бы ощупывая пространство около головы. Полагают, что оно выполняет функцию не только осязания, но и обоняния

### ***Тактильные реакции.***

Реакцию схватывания у земноводных вызывают и другие виды раздражений. Слабое прикосновение к губам и передним конечностям животных вызывает точно направленную реакцию схватывания. Некоторые амфибии при содержании в террариуме благодаря этой способности питаются в полной темноте.

Амфибии, в том числе слепые особи, способны целенаправленно реагировать на добычу и в воде. Они «чувствуют» движущиеся в воде объекты на некотором расстоянии от себя и перемещаются к центру концентрической поверхности механической волны. Эта реакция запускается сигналами, которые принимаются тактильными рецепторами кожи, органами боковой линии и органом слуха. Амфибии даже поворачиваются к опущенной при экспериментах неподвижной стеклянной пипетке, из которой вытекает бесцветная струйка воды, и стараются схватить ее кончик. Причем делают это как на свету, так и в темноте.

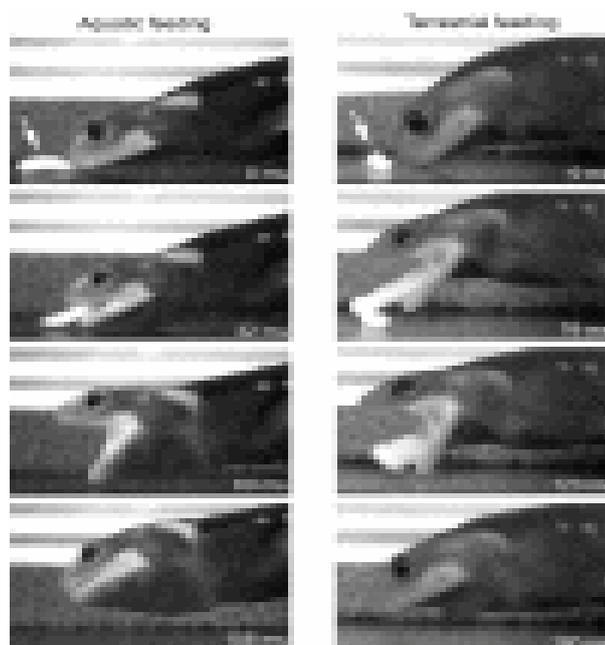
Нейронная цепочка действий, которые связывают сенсорный вход с двигательным выходом, вносит существенные задержки между поведенческими реакциями и событиями, которые вызывают их. Сенсорная трансдукция и обработка сигналов в зрительной системе требует от десятков до сотен миллисекунд. Для поведения, такого как собирание статичных объектов эти задержки являются несущественными, но большая часть поведения связана с самодвижением и движением объекта, здесь длительность сенсомоторной задержки относительно шкалы времени движения в мире приобретает решающее значение.

Нервные системы имеет 2 пути развития по облегчению в управлении сенсомоторной задержкой. Первый путь является прямой оптимизацией, чтобы минимизировать задержку. Классическими примерами являются большие аксоны, короткие сенсомоторные петли, характеризующие скоростные модели поведения, такие как ответы экранирования на полет у беспозвоночных, а миелинизации аксонов увеличить потенциал действия скорость передачи данных в обоих позвоночных и беспозвоночных. Эти биофизические улучшения являются эффективными, но ограничены физическими законами. Задержка отклика сенсорного нейрона не может быть равна нулю и по-прежнему превышает требования для эффективного поведения. Это ограничение привело ко второму подходу сенсомоторного контроля, который пытается превзойти фундаментальный предел, установленных физических задержек. Действительно, различные организмы используют модели двигательного аппарата для планирования движения и ко времени их прогнозируемых будущих событий. Например, у людей, предсказание используется для экстраполяции траектории движущихся объектов. И может компенсировать сенсорные задержки. Животные модели этих процессов, где основные механизмы управления нейронные доступны, остаются недостаточными[1]

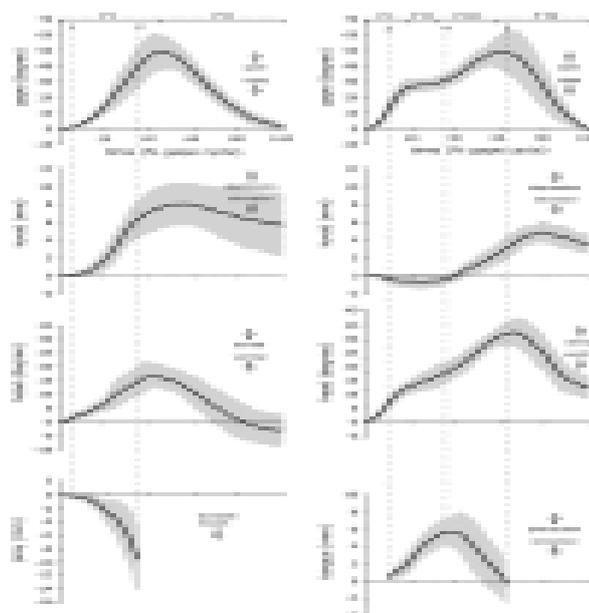
### **Эксперименты, проводимые над пищевым поведением**

#### **1) Захват добычи у Гималайского тритона на суше и в воде**

Долгое время считали, что тритон этого вида не питается когда находится в воде, так как водный период короток и связан только с размножением. Но в результате проведенного эксперимента было выяснено, что тритоны не только способны питаться в воде, но и делают это быстрее и более ловко, чем на суше. Захват пищи разделяется на 4 этапа: открывание рта, выбрасывание языка, засовывание языка в рот, закрывание нижней челюсти (Рис 1) и (Рис 2).



**Рис.1.** Отдельные кадры из записи высокоскоростных показывающие водную (слева) и наземный (справа) захват добычи у *T. verrucosus*. Стрелка указывает на добычу (червь).[2]



**Рис.2.** Кинематические профили, показывающие охоту на воде (слева) и на суше (справа). Сверху вниз – открывание рта, выброс языка, ретракция языка, закрывание рта.

### Эксперимент по пищевому избеганию на краснобрюхой жерлянке

В данном эксперименте жерлянкам предлагали мучных червей с неприятным вкусом 2% HCl и с тошнотворным вкусом 3% CuSO<sub>4</sub>. И после короткого промежутка времени жерлянки перестали есть тошнотворных червей и ели только невкусных. Самым интересным стало то, что память на тошнотворный запах закрепилась генетически [3].

### Список литературы:

1. Borghuis B.G., Leonardo A. The Role of Motion Extrapolation in Amphibian Prey Capture. // The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2015. № 46 (35). С. 15430–41.

2. Heiss E., Vlyder M. De Dining dichotomy: aquatic and terrestrial prey capture behavior in the Himalayan newt *Tylostotriton verrucosus*. // *Biology open*. 2016. № 10 (5). С. 1500–1507.

3. To E.S.K., Laberge F. Illness-dependent conditioned prey avoidance in an amphibian // *Behavioural Processes*. 2014. (103). С. 291–296.

## **Психофизиология экстремальных ситуаций для амфибий. Оборонительное поведение.**

*Мигулина Наталья*

Оборонительное поведение – необходимая реакция животных на угрозу для жизни, с которыми они сталкиваются повседневно в природной среде. Тоническая неподвижность (ТН) – замирание - считается завершающим этапом в последовательности оборонительных реакций у жаб, происходящих при встрече с потенциально опасным объектом. Средний мозг жаб участвует в организации оборонительного поведения и обезболивания.

Ученые провели исследование влияния ствола головного мозга, за счет серии последовательных перерезок у лягушек и кроликов, и показали, что нейронная система ствола инициирует и поддерживает ТН. Также установлено, что мезенцефалические структуры имеют важное значение для развития ТН. Холинергические стимуляции покрышки среднего мозга у жаб и аналогичные стимуляции центрального серого вещества головного мозга у морских свинок, потенцируют длительность эпизодов ТН. Инъекции других препаратов, таких как морфин, бикикуллина, мусцимола и мидозалона в покрышку могут усилить или уменьшить продолжительность ТН, что указывает на двойную модуляторную роль. По словам Франки-Васконселоса сайты среднего мозга, участвующие в реакции неподвижности у жаб, в основном сосредоточены в вентральной и медиальной области среднего мозга. Другие исследования сообщают об участии покрышки среднего мозга жаб в организации ответов, связанных с оборонительным поведением. Таким образом, авторы предложили функциональное сходство между этой областью среднего мозга у амфибий и межжирового ядра у млекопитающих, оба этих региона ответственны за организацию оборонительного поведения, а также участвуют в обезболивающих механизмах, которые могут рассматриваться как часть оборонительного поведения.

У млекопитающих межжировое ядро (МЯ) является компонентом среднего мозга, который вовлечен в болевую чувствительность, избегающее поведение, а также в движение в открытом поле. У амфибий, это ядро занимает положение между парамедиальной и каудальной частью покрышки среднего мозга. О его функциях у немлекопитающих позвоночных известно не очень много.

Было проведено исследование, в котором изучали влияние электролитического или нейротоксического поражения двух мезенцефалических областей (покрышки и межжирового ядра (МЯ)) на задержку и длительность ТН, а также задержку двигательной реакции на болевой стимул (горячая пластина). Электролитические поражения покрышки и МЯ способствовали увеличению продолжительности ТН. Нейротоксическое поражение этих двух регионов также привело к увеличению продолжительности. Эффект был более интенсивным у животных с электролитическим поражением, возможно, из-за более

обширного ущерба, связанного с этой процедурой или повреждением проводящих волокон. Результаты показывают, каудальная часть покрывки участвует в организации ответа на реакцию затаивания. Поражения не влияют на скорость ответа на болевой раздражитель, что свидетельствует о том, что пораженные регионы не влияют на оборонительную реакцию.

Животных анестезировали эфиром и фиксировали. Электролитическое поражение производилось с использованием изолированного 0,2-мм вольфрамового электрода. Двусторонние поражения были последовательно сделаны с 1-мА тока, подводимого в течение 5 с. Нейротоксические поражения были сделаны с использованием иботеновой кислоты. Эта кислота выборочно убивает нейроны, сохраняя нервные пути нетронутыми. Иботеновую кислоту растворяли в фосфатно-солевом буферном растворе pH=7,4, при концентрации 1 мг / 0,2 мл. Микроинъекции 0,2 мл были сделаны в течение в течение 60 секунд в покрывку или межжировое ядро. Эксперименты были выполнены через 48 ч после операции на головном мозге.

Настоящее исследование свидетельствует о том, что покрывка и МЯ участвуют в контроле ТН ужабы. Этот вывод основан на том факте, что электролитическое поражение и воздействие иботеновой кислоты на эти регионы увеличивало длительность эпизодов ТН. Эксперименты с дискретным поражением среднего мозга иботеновой кислотой показывают, что нейроны в этих зонах среднего мозга имеют важное значение в организации схем, которые содействуют ТН. На данный момент существует мало доказательств, что эти регионы у немлекопитающих позвоночных участвуют в модуляции защитного поведения. Хотя есть исследования, в которых электрическая стимуляция сайтов среднего мозга вызывает отступление, побег, и оцепенение у кур. Также у ящериц наблюдалась в ответ на стимуляцию эвакуация и оборона. Как известно, тактильная и проприоцептивная стимуляция имеет важное значение для индукции ТН. Если сенсорные поражения происходят у жаб с пораженными участками мозга, это не влияет на время задержки.

Также исследования показали, что во время ТН, в конечном мозге наблюдались сгруппированные синхронные волны, которые у бесхвостых амфибий связаны с оценкой и мониторингом окружающей среды, вероятно, чтобы оценить оптимальный момент для побега. Но чем дольше длительность ТН, тем слабее активность конечного мозга.

Покрывка участвует в регуляции уровня готовности, так как микроинъекции L-глутаминовой кислоты индуцируют ответную предупреждающую и ориентационную готовность, а, соответственно, блокада влияет на снижение боевой готовности. Однако, если увеличение продолжительности ТН у пораженных жаб можно было бы отнести к уменьшению бдительности, то соответственно должно было меняться время индукции, но это явление не наблюдалось.

Предыдущие исследования на бесхвостых амфибиях показали, что существует путь из зоны красного ядра, которая включена в вентролатеральную теменную часть покрывки, который подходит контралатерально к спинному мозгу. Этот путь контролирует двигательную систему со стороны среднего мозга, но повреждение этой системы не влияет на контроль движений со стороны медиальной системы. Кроме того, полагают, покрывка среднего мозга представляет собой важную роль для обработки зрительной информации.

Исследования Франки-Васконселоса и Гофмана показали, что микроинъекции холинергического агониста, карбахола, а также морфина в мезенцефалическую покрывку жаб значительно увеличивали длительность эпизодов ТН, указывая на то, что покрывка участвует в организации этого этапа оборонительного поведения жаб. С другой стороны, микроинъекции мусцимола, агониста ГАМКа, снижали длительность эпизодов ТН, что указывало на двунаправленный контроль этого ответа покрывки. Тормозящая рефлективная система или центр, расположенный в ретикулярной формации перешейки ромбовидного мозга влияет на вышестоящие структуры, увеличивая длительность эпизодов ТН. Страх модулирует работу этой структуры, потенцируя реакцию.

В оборонительной реакции участвуют в основном части среднего мозга, которые находятся в регионах, окружающих центральный мозговой канал. Отдельные регионы покрывки играют различные роли в организации обороны. Спинная часть преимущественно участвует в активной обороне, в то время как вентральная часть участвует в поведенческом ингибировании.

Межжировые ядра - филогенетически самая старая часть лимбической системы у лягушки, ядра получают проекции от различных ядер гипоталамуса и от средней линии среднего мозга. Наблюдения отмечены активацией оборонительного поведения. Ядро ингибирует поведенческие функции. После холинергической стимуляции происходит заметное торможение, включая сон. Сообщается, что поражения каиновой кислотой в этом ядре последовательно увеличивают возбуждение. В настоящем исследовании было видно повышение эпизодов ТН после поражения этих структур. На данный момент еще ведутся исследования, необходимые для определения является ли этот эффект зависимым от прямых связей с низшими центрами или он где-то переключается. Поражения покрывки и межжировых ядер не влияют на задержку эпизодов ТН, предполагается, что системы, которые регулируют задержку времени, не располагаются в этих зонах.

Еще одно исследование показало поведенческую селективность жаб на искусственные раздражители и хищников, а также избирательность в проведении сигнала от зрительных нейронов до конечного головного мозга. Селективность тектальных нейронов зависит от размера (длины и ширины) объекта, который появляется перед животным. Ученые разработали методику для записи активности пути передачи визуального сигнала у свободно движущихся жаб и корреляции с их поведением. Лягушки и жабы реагируют на потенциально опасный для них раздражитель затаиванием или принятием оборонительной позы. Неспецифический ответ на возбуждение связан с тахикардией и кратковременной брадикардией перед ней и увеличением амплитуды ЭЭГ, особенно в диапазоне частот 14--20 Гц. У рыб, амфибий и рептилий, за изучением отношений между нейронной активностью и поведением последовали отдельные линии изучения конкретных эффектов на стимулы и неспецифические эффекты. Активность сетчатки глаза влияла на тектум, где были зарегистрированы соответствующие сигналы.

Животным подавались разные визуальные стимулы, после чего регистрировался ответ нейронов и размер восприимчивой зоны. Нейроны сетчатки оказались более восприимчивы к изменению освещения, его смещению и на начало освещения, тектальные нейроны показали менее выраженную восприимчивость и меньший размер зоны. Но эти же нейроны гораздо лучше воспринимали.

Но оборонительное поведение не сводится только к затаиванию, а также не регулируется только нейромедиаторами головного мозга. Защитные реакции в организме поведения при столкновении с непосредственной угрозой могут повлиять на его выживание и репродуктивный успех. Соответствующие поведенческие реакции на стрессоры (сенсорные стимулы, которые активируют гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось) зависят от окружающей среды и текущего физиологического и поведенческого состояния. Соответствующие нейроэндокринные механизмы, которые лежат в основе этих поведенческих реакций, изучены достаточно плохо.

У желтобрюхих тритонов экзогенный кортикостерон (CORT) быстро блокирует репродуктивное поведение, а вазотоцин (VT) (аналог вазопрессина у высших позвоночных), напротив, улучшает. Электрофизиологические исследования показали, что воздействие вазотоцина у мужских особей желтобрюхих тритонов противодействует ингибирующему нейронную активность эффекту кортикостерона. Для того, чтобы проверить взаимодействия между VT и CORT и их влияние на репродуктивное поведение у тритонов, самцам вводили вазотоцин или физраствор на 60 мин, а затем CORT или физраствор за 5 мин до встречи с самкой. Это исследование показало, что половое поведение подавлено у мужчин, получивших физраствор, а затем Cort, но не подавлено у мужчин, получавших VT, а затем Cort. Принимая во внимание эти результаты и возможность того, что ухаживание за самкой может вызвать увеличение эндогенного VT, ученые протестировали эффекты введения CORT на половое поведение самцов, которые незадолго до этого взаимодействовали с самками.

Исследование показало, что, в отличие от самцов, которые были изолированы от самок, введение CORT не подавляло полового поведения самцов, которым было позволено взаимодействовать с самками в течение 60 минут до инъекции гормона. Результаты свидетельствуют о том, что, по крайней мере у этих амфибий и, возможно, у других животных, нейроэндокринная регуляция поведенческих реакций, вызванных угрозой, включает в себя функциональные взаимодействия между кортикостероидами и VT-подобными пептидами.

Самцы амфибий реагируют на повышение кортикостерона снижением сексуального поведения. Острый стресс приводит к повышенным уровням Cort, которые в свою очередь, влияют на сенсомоторную координацию, снижая половое поведение. Тритоны также были использованы для изучения поведенческих и нейрофизиологических функций вазотоцина (VT). Влияние VT на поведение у тритонов согласуются с исследованиями поведенческими эффектами VT и вазопрессина (VP) (гомолог у млекопитающих VT) у других позвоночных. Конкретные примеры, связанные с поведением под действием увеличения VT / VP, включают нерестовое поведение у кили, сексуальную восприимчивость у самок лягушкой, половую восприимчивость у самок грызунов и сексуальное поведение у самцов птиц, влияет на половой выбор у моногамных мышей-полевков, усиливает половой запах у млекопитающих и амфибий.

Влияние стрессовых стероидов на поведение зависит от условий нейроэндокринного и поведенческого контекста. Поэтому наблюдаемые видовые различия в вышеупомянутых исследованиях могут отражать различия в нейроэндокринном контексте. Способность конкретного животного ответить соответствующей моделью поведения в качестве

потенциальной угрозы имеет важное значение для его выживания и репродуктивной успешности. У животных есть репертуар различных поведенческих реакций, и какой из них проявляется, зависит от окружающей среды животных, физиологического и поведенческого состояния. Это исследование дает доказательства того, что пептид, участвующий в повышении репродуктивного поведения (VT), может блокировать подавляющие эффекты гормона стресса (CORT). Этот факт позволяет предположить, что нейроэндокринное регулирование контекстно-зависимых поведенческих реакций острого стресса может быть объяснено частично функциональными взаимодействиями между вазоточин-подобными пептидами и кортикостероидами.

Список литературы:

1. P. R. Laming, H.-W. Borchers, J.-P. Ewert. Visual Unit, 1983. EEG and Sustained Potential Shift Responses in the Brains of Toads (*Bufo bufo*) During Alert and Defensive Behavior. *Physiology & Behavior*, Vol. 32, pp, 463-468
2. Coddington E. and Frank L. Moore, 2002. Neuroendocrinology of context-dependent stress responses: vasotocin alters the effect of corticosterone on amphibian behaviors. *Hormones and Behavior* 43, 222–228.
3. Luciane H. Gargaglioni, Aparecida S.F. Pereira, Anette Hoffmann, 2014. Basal midbrain modulation of tonic immobility in the toad *Bufo paracnemis*. *Physiology&Behavior* 72, 297-303.

## **Нервная деятельность, характерная для высших позвоночных.**

### **Зеркальные нейроны движения**

*Подшивалова Елизавета*

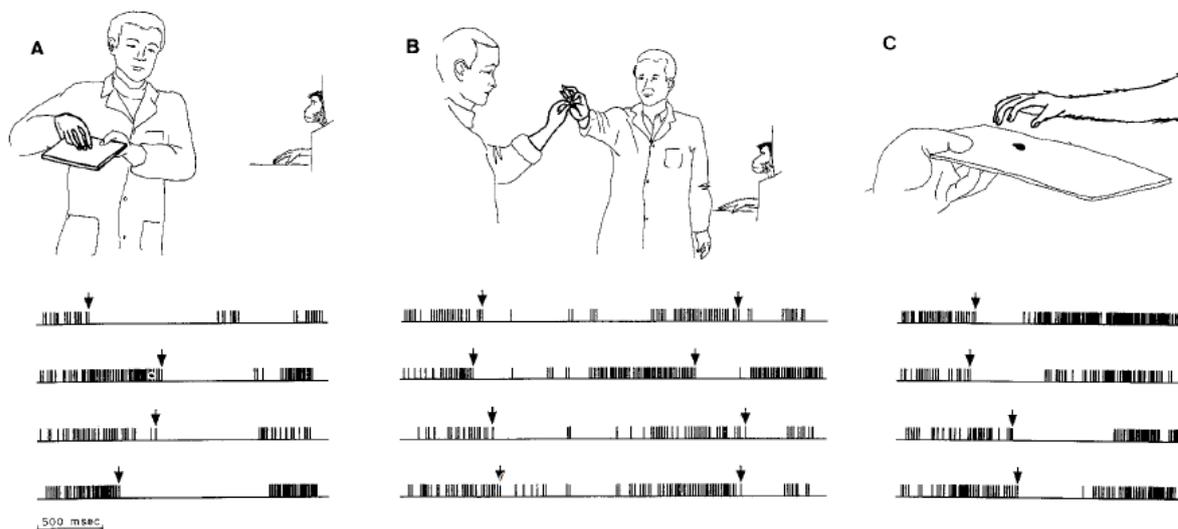
А причиной всему были осколки зеркала, что попали ему в глаз и в сердце. Потому-то он передразнивал даже миленькую маленькую Герду, которая любила его всем сердцем.

**Снежная королева (Г.Х.Андерсен)**

Впервые мысль о том, что действия неразрывно связаны с восприятием была предложена Уильямом Джеймсом, который утверждал, что каждое психическое представление движения пробуждает в некоторой степени само физическое движение (James W. 1890).

В 1992 году группой итальянских ученых впервые были открыты нейроны во фронтальной премоторной коре головного мозга макака, возбуждавшиеся как в случае, когда

обезьяна сама брала еду с дощечки, так и когда это делал исследователь у неё на глазах. Более того, эти нейроны возбуждались даже в том случае, если один исследователь брал еду напрямую из рук другого исследователя, а затем давал его обезьяне (рис. 1) (di Pellegrino и др. 1992).

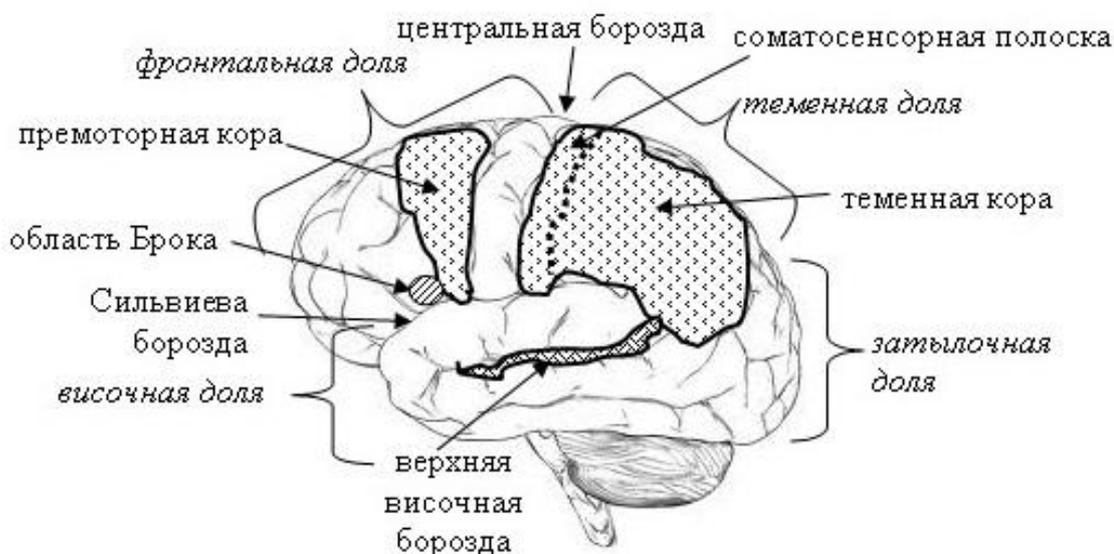


Di Pellegrino G. et al (1992). *Exp Brain Res* 91: 176-180.

**Рис.1.** Возбуждение зеркальных нейронов в ответ на различные ситуации. Стрелки указывают на момент окончания действия. А) Экспериментатор взял еду с дощечки. В) Один экспериментатор взял еду из рук другого (первая стрелка), затем отдал её обезьяне (вторая стрелка). С) Обезьяна сама взяла еду с дощечки.

Дальнейшие исследования показали, что примерно одна треть нейронов в префронтальной коре активируется только при наблюдении конкретного двигательного паттерна, совершаемого исследователем на глазах у обезьяны, а остальные две трети в ответ на спектр различных движений. То есть в первом случае если исследователь брал маленький объект, например, изюм, то у обезьяны активировались нейроны, отвечающие за паттерн «точного захвата», осуществляемый большим и указательным пальцами. Однако эти нейроны не возбуждались, если объектом был банан – большой предмет, для захвата которого нужно использовать все пальцы и ладонь, что является другим паттерном захвата. Во втором случае нейроны активировались в ответ на захват обоих объектов, важность в данном случае играла цель действия – получение пищи. (Gallese и др. 1996)

Кроме премоторной коры, зеркальные нейроны были выявлены в области нижней теменной доли (Gallese и др. 2002), а также в поле F5, содержащем зону Брока – центр моторного компонента речи (Gallese и др. 1996). Нейроны в верхней височной борозде также избирательно реагируют на различные двигательные акты, осуществляемые организмами вокруг. Однако, из-за того, эти нейроны не возбуждаются во время выполнения действия самим организмом, некоторые не считают их зеркальными. (Keysers, Perrett, 2004)



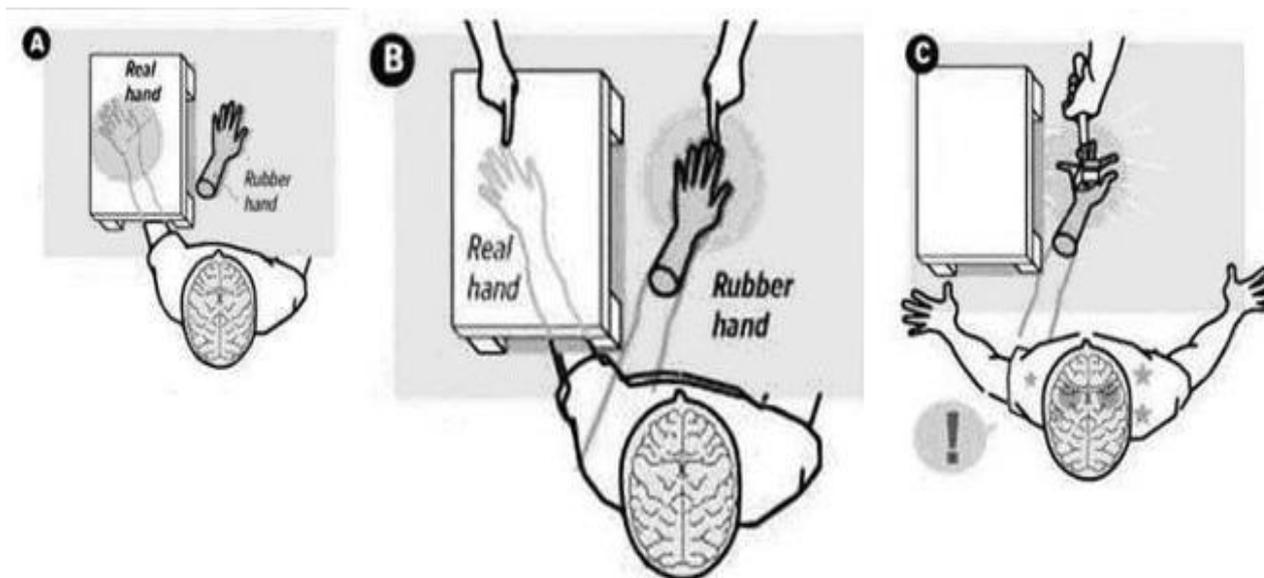
**Рис.2.** Области нахождения зеркальных нейронов.

К предполагаемым функциям зеркальных нейронов в организме человека в настоящее время относят:

- Облегчение обучения новым двигательным навыкам
- Понимание намерений
- Понимание речи
- Получение удовольствия
- Автоматическая имитация, мимикрия

Считается, что зеркальные нейроны принимали непосредственное участие в процессе развития речи. Сначала, как пантомима, возникли ручные жесты. Затем они стали более символическими, приобрели смысл. С развитием культуры, социальных взаимодействий возникла необходимость в расширении «словарного запаса», постепенно в процесс передачи информации было включено лицо, а затем и вокальные элементы, достигшие высшей точки развития в виде автономной речи.

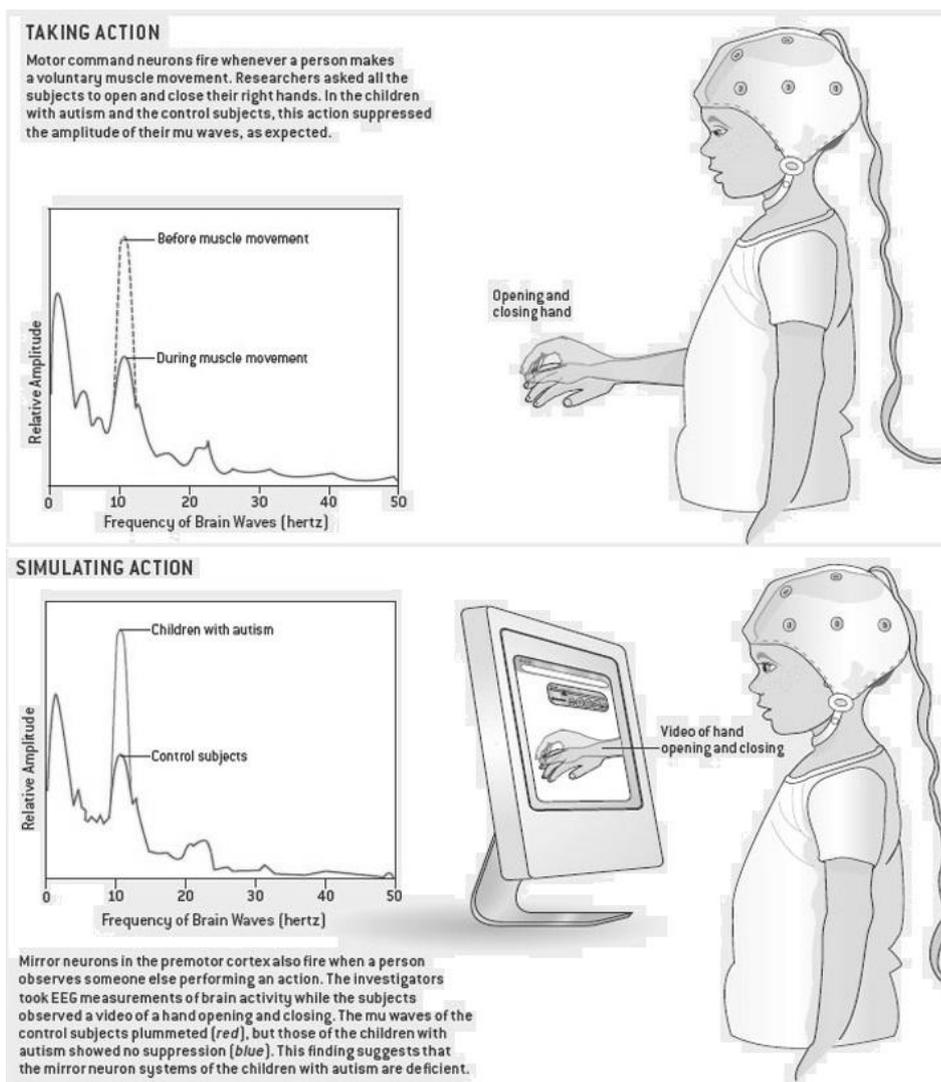
Благодаря зеркальным нейронам, мы, отчасти, "становимся другим человеком" в тот момент, когда обращаем на него свое внимание, и только наличие корректирующих сигналов от нашего собственного тела подсказывает нам, что это происходит не с нами. На основе понимания этого принципа возникла иллюзия, в которой человек принимает лежащую перед ним пластиковую руку за свою. В таком эксперименте испытуемый помещает свою руку в закрытый непрозрачный бокс или просто за перегородку, перед ним кладут искусственную руку, и закрывают предплечье и основание макета тканью, чтобы обмануть зрительную систему. Чтобы обмануть сенсорную систему, другой человек водит кисточкой как по настоящей руке, так и по пластиковой. Через некоторое время испытуемый начинает ощущать, что это его рука. Теперь если поднести к муляжу нож или ударить по нему молотком, испытуемый пугается и отшатывается, достоверно возрастает частота сердцебиения, изменяется кожная проводимость от появления легкой испарины. При этом муляж может быть даже не очень-то и похож на оригинал (рис. 3).



**Рис.3.** Эксперимент с пластиковой рукой.

Затем ученые решили, а пусть испытуемый видит обе руки, и внезапно обнаружили, что через несколько минут синхронного поглаживания, он начинает ощущать, что у него три руки, и, аналогично, пугается при угрозе целостности «третьей» пластиковой руке.

Предполагают, что нарушения системы зеркальных нейронов движения связаны с когнитивными расстройствами, в частности, аутизмом и такими его проявлениями как трудности в обучении и непонимание намерений движений других людей. Так в одном исследовании с помощью электроэнцефалографического метода наблюдали за амплитудой  $\mu$ -ритма, особенностью которого является то, что он исчезает при совершении произвольного движения и даже при просто мысленном представлении движения. Было обнаружено, что у аутистичных детей при просмотре видео с произвольным двигательным актом сжатия и разжатия руки амплитуда волн с частотой 9-11 Гц, соответствующей  $\mu$ -ритму, была значительно выше, чем у здоровых детей, приближаясь к значению, соответствующему состоянию расслабленности. (Oberman и др., 2005) (рис. 4)



**Рис.4.** Изменение амплитуды  $\mu$ -ритма при выполнении и симуляции произвольного движения в норме и в случае аутизма.

Однако, хотя облегчение обучения новым двигательным навыкам выявлено и признается практически всеми, то в наличии у системы зеркальных нейронов функции распознавания намерений как у обезьян, так и у человека есть сомнения.

Наш соотечественник Владимир Косоногов видит противоречие в теории зеркальных нейронов для приматов. Известно, что у обезьян зеркальные нейроны реагируют, в основном, в присутствии целевого объекта, то есть на целенаправленные движения. Возникает вопрос: откуда нейроны «знают», что определенное действие целенаправленно? Таким образом, нейроны могут быть активированы только после того, как цель наблюдаемого действия будет обусловлена другими структурами мозга, а значит их «зеркальность» под вопросом, ибо возбуждение структур происходит не в ответ на непосредственно наблюдение. (Kosonogov 2012)

Изучение зеркальных нейронов у человека затруднено по этическим соображениям, поэтому наблюдать за возбуждением и активностью зеркальных нейронов возможно только с помощью косвенных методов, таких как ЭЭГ и фМРТ.

Исследование, проведенное в 2009 году итальянскими учеными, поставило под сомнение наличие функции распознавания намерений у зеркальных нейронов для человека. (Lingnau и др. 2009) Исследователи считают, что любая работа, нацеленная на доказательство существования зеркальных нейронов у человека должна соответствовать двум условиям. Условие I – должно быть доказано, что исполнение и наблюдение за

двигательным актом сопровождается активацией одних и тех же нейронов, специфических для данного акта. Условие II – должно быть продемонстрировано, что активация нейронов при наблюдении происходит непосредственно в ответ на просмотр. То есть нужно исключить вероятность активации в результате ассоциативных умозаключений. В своей работе ученые учли и то, и другое.

В эксперименте приняли участие 12 добровольцев. Во всех испытаниях использовалось видео с изображением простых двигательных актов правой рукой без использования каких-либо предметов. Двигательные акты были подобраны так, чтобы их можно было отличить друг от друга лишь на относительно поздней фазе движения. Это необходимо для того, чтобы участники не могли угадать сразу цель движения (условие II). Сначала исследователи выявили с использованием функциональной магнитно-резонансной томографии семь визиомоторных и девять чисто моторных зон головного мозга, в которых в дальнейшем изучали уровень активности (рис. 5). Все измерения проводились с использованием BOLD ответа (blood-oxygen level dependent). То есть по контрастности изображения определяли степень оксигенации интересующих участков, которая напрямую зависит от нейронной активности.

Visuomotor	Motor
IPS left	IPL left
SPL left	IPS left
SPL right	SPL left
vPM right	vPM left
dPM left	dPM left/SMA
LO left	Thalamus left
LO right	Cerebellum centr.
	Cerebellum left
	Cerebellum right

**Рис.6.** Перечень выявленных визиомоторных и моторных областей головного мозга.

Целью работы было изучить как изменяется активность зеркальных нейронов в выбранных областях при различных комбинациях наблюдения за действием и его выполнением. То есть изучить наличие внутри-модальных и кросс-модальных адаптаций.

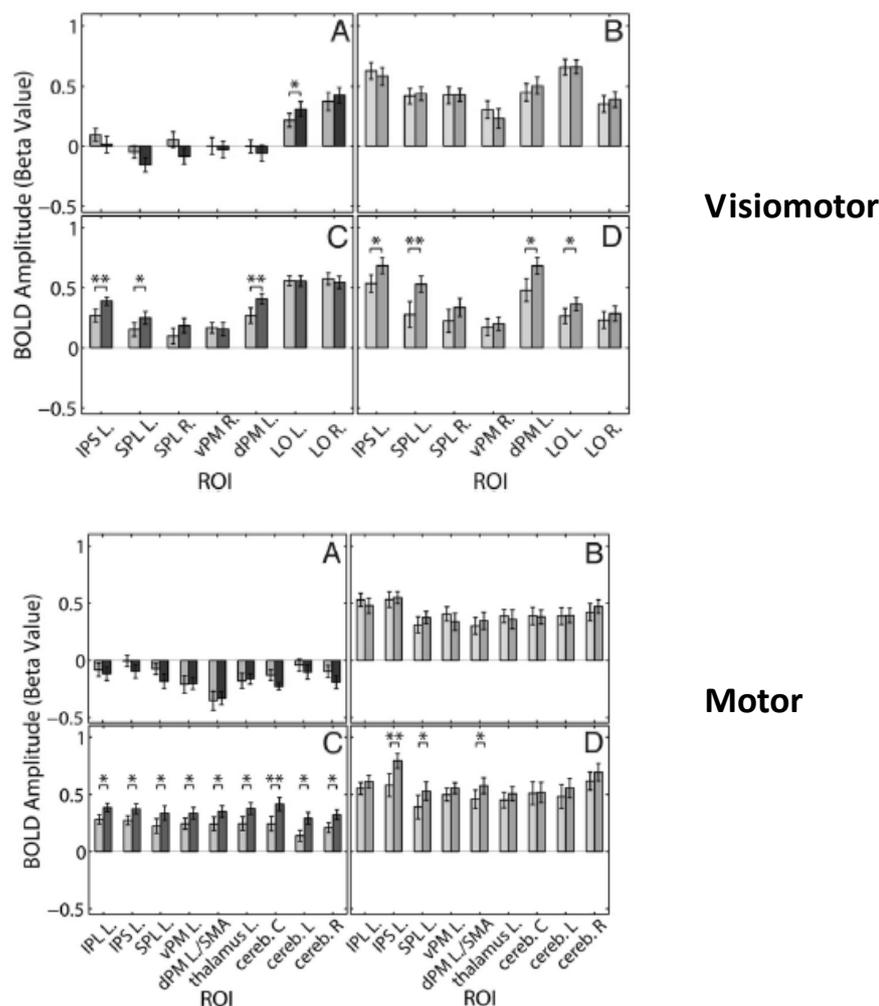
Все двигательные акты были закодированы с помощью пиктограмм, все участники были ознакомлены с кодировкой перед началом эксперимента. (рис. 6). В ходе эксперимента испытуемые либо просто наблюдали за совершаемым двигательным актом, либо выполняли их самостоятельно в соответствии с наблюдаемой пиктограммой, фиксируя взгляд на видео.



**Рис. 6.** Пример шифровки двигательного акта пиктограммой.

В ходе эксперимента было выяснено, что нейроны некоторых выявленных визиомоторных зон адаптируются при совершении движения после наблюдения за ним («наблюдение-движение»), а также в случае «движение- движение» (рис. 7). Такие результаты свидетельствуют о роли данных нейронов в облегчении обучения движениям. Однако не было выявлено никаких кросс-модальных адаптаций в случае «движение-наблюдение», которые бы свидетельствовали о распознавании намерений, целей двигательного акта. Не наблюдалось подобных адаптаций и в случае нейронов моторных областей.

Таким образом, данный эксперимент подтвердил наличие у предполагаемых зеркальных нейронов (нейроны визиомоторной области) функции облегчения обучения, но не выявил их участия в понимании намерений движений, совершаемых другими людьми.



**Рис.7.** Среднее значение BOLD ответа для визиомоторных и моторных областей. А – наблюдение + наблюдение, В – исполнение + наблюдение, С – наблюдение + исполнение, D – исполнение + исполнение.

### Список литературы:

1. Gallese, V. и др., 1996. Action recognition in the premotor cortex. *Brain*, 119(2), 593–609.
2. Gallese, V. и др. Action representation and the inferior parietal lobule. In: Prinz W, Hommel B, editors. Attention and performance XIX. Common mechanisms in perception and action. Oxford University Press; Oxford: 2002. pp. 247–266.
3. Kosonogov, V., 2012. Why the Mirror Neurons Cannot Support Action Understanding. *Neurophysiology*, 44(6), cc.499–502.
4. Lingnau, A., Gesierich, B. & Caramazza, A., 2009. Asymmetric fMRI adaptation reveals no evidence for mirror neurons in humans. *PNAS*, 106(24), 9925–9930.
5. James W. Principles of psychology. Holt; New York: 1890.

6. di Pellegrino, G. и др., 1992. Understanding motor events: a neurophysiological study. *Experimental Brain Research*, 91(1), 176–180.
7. Keysers, C., Perrett, DI., 2004. Demystifying social cognition: a Hebbian perspective. *Trends Cogn Sci.*, 8(11), 501-507.
8. Oberman, L. и др., 2005. EEG evidence for mirror-neuron dysfunction in autism spectrum disorders. *Brain Res Cogn Brain Res.* 24:190–198.

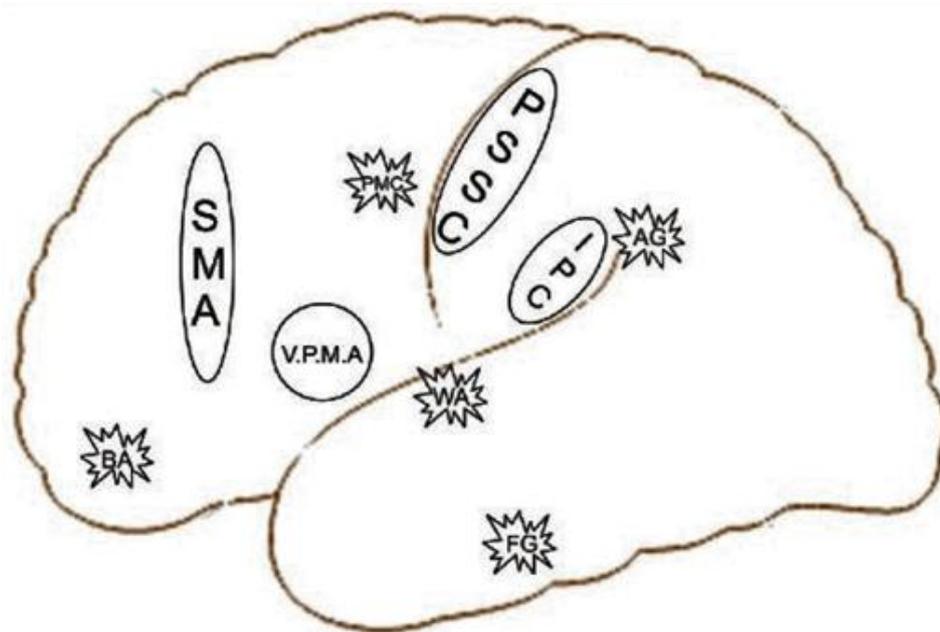
## **Зеркальные нейроны и эмпатия.**

*Матюлько Ирина*

Зеркальные нейроны представляют собой популяции различных нервных клеток, которые вовлечены в процесс социальных взаимодействий, а также отвечают за сложные поведенческие реакции и мыслительные процессы. В частности, зеркальные нейроны отвечают на действия, которые мы наблюдаем у других индивидуумов, помимо этого, они возбуждаются, когда мы воспроизводим увиденное действие. Нарушение работы системы зеркальных нейронов связано с аутистическими расстройствами.

Зеркальные нейроны представляют собой отдельный класс нейронов, которые в одинаковой степени разряжаются как в момент совершения двигательного акта, так и в момент наблюдения за человеком, выполняющим то же самое или подобное движение. Впервые зеркальные нейроны были открыты в 1990-х годах в мозге обезьян группой физиологов, которые изучали активность зон коры, ответственных за контроль движения конечностей и рта (Gallese et al., 1996). Эти нейроны с одинаковой силой активировались как в случае, когда животное тянулось за едой, так и в момент наблюдения за человеком, выполняющим аналогичное действие. У обезьян зеркальные нейроны были обнаружены премоторной коре (зона F5) и далее в нижней париетальной доле (IPL) (Rizzolatti et al., 2001), которая получает афферентные входы от верхней височной борозды (STS) - области, ответственной за кодирование двигательной информации и посылающей эфферентные сигналы в вентральную премоторную кору (Jellema et al., 2002). Подобный фронтально-париетальный контур был найден в коре больших полушарий человека (Rizzolatti et al., 2004). Так, в мозге человека активность, присущая зеркальным нейронам, была обнаружена в премоторной коре, супплекментарной моторной области, вторичной соматосенсорной коре и передней париетальной коре (рис. 1).

В онтогенезе система зеркальных нейронов формируется у человека до возраста 12 месяцев и развивается через ассоциативное обучение, основанное на механизмах синаптической пластичности (the Hebbian theory), помогая младенцам понимать действия других людей (Falck-Ytter et al., 2006; Heyes, 2010).



**Рис.1.** Система зеркальных нейронов в мозге человека. (1) SMA: супплекментарная моторная область (Supplementary motor area), (2) PSSC: первичная соматосенсорная кора (Primary somatosensory cortex), (3) IPC: нижняя париетальная кора (Inferior parietal cortex), (4) VPMA: вентральная премоторная область (Ventral premotor area); BA: зона Брока (Broca's area), WA: зона Вернике (Wernicke's area), FG: фузиформная извилина (Fusiform Gyrus), AG: угловая извилина (Angular gyrus), PMC: первичная моторная кора (Primary motor cortex).

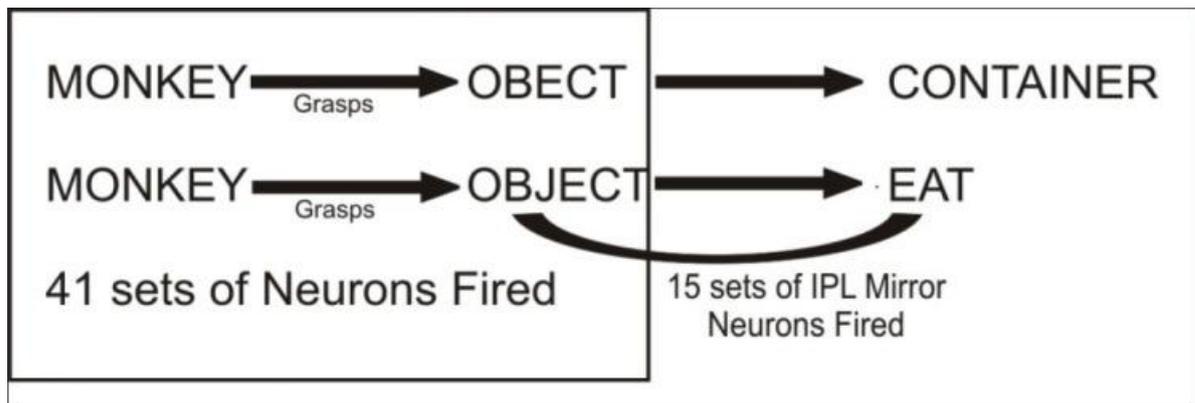
## Функции зеркальных нейронов человека

### Понимание намерений

Активность зеркальных нейронов связана с одним из самых сложных мыслительных процессов – понимании намерений другого человека (Gallese, Goldman, 1998). Обработка информации, получаемой в процессе наблюдения за действием другого человека, включает два компонента. Первый – какое именно действие совершается («What»), и второй – для чего («Whatfor»/«why»), то есть каково намерение совершаемого действия.

Гипотеза Gallese и Goldman была подтверждена данными функциональной магнитно-резонансной томографии. В их исследовании испытуемым были представлены две ситуации – наблюдение за действием рук без контекста и за действием, выполняемым руками другого субъекта в контексте, позволяющем понять намерения и цель действия. Результаты эксперимента показали, что действие, производимое в контексте событий, вызывало избирательную активацию системы зеркальных нейронов. Эти данные позволили идентифицировать еще одну функцию зеркальных нейронов, помимо понимания действия – понимание намерения и цели выполняемого другим субъектом действия (Iacoboni et al., 2005).

Для объяснения вышеизложенной гипотезы, Fogassi было проведено исследование на двух макаках резус, которые были обучены выполнять два действия с разными целями (рис.2).

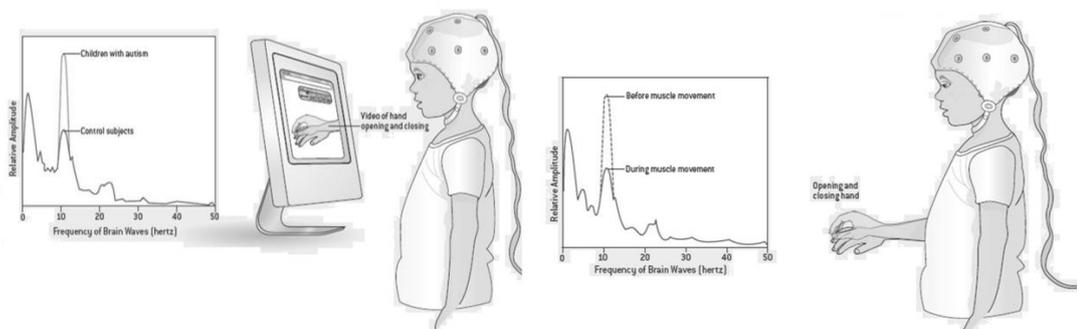


**Рис.2.** Селективная активация различных нейронов при выполнении заданий с разными целями.

В первой части эксперимента обезьяна должна была взять объект, чтобы поместить его в контейнер. Во второй части обезьяна могла взять кусочек еды, чтобы съесть его. Начальный моторный акт – дотянуться до объекта и взять его, был идентичен в двух заданиях. Однако конечные цели были различны. Активность нейронов нижней париетальной доли коры (IPL), определяемой как ассоциативная кора, осуществляющая интеграцию сенсорной информации, различалась при выполнении двух заданий. Так, 41 нейрон из системы зеркальных нейронов селективно разрядились при выполнении моторного акта (захват объекта). Однако только определенное количество нейронов (15 клеток) внутри IPL активировались во время второго этапа действия. Часть этих мотонейронов избирательно разряжалась во время наблюдения за моторным актом в случае, если он предполагал конечной целью съесть взятый объект. Другими словами, активация мотонейронов IPL включает в себе информацию не только о самом действии, но и о причине его выполнения (захват для еды или захват для перемещения). Эта специфичность позволяет наблюдателю понимать, что будет следствием выполняемого действия, то есть понимать намерения другого субъекта (Fogassi et al., 2005).

### Аутизм и понимание намерений действий других людей

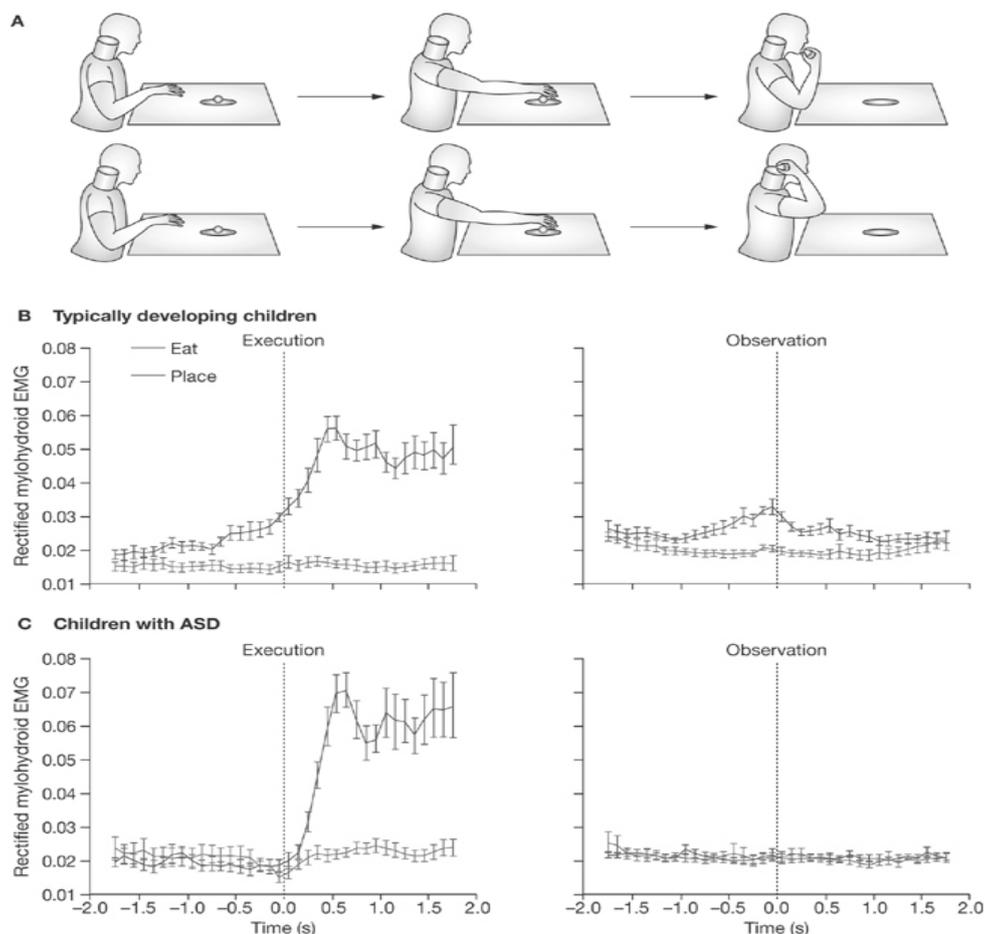
Учеными было доказано, что причиной неспособности детей, больных аутизмом, нормально взаимодействовать с людьми и окружающей обстановкой является дисфункция системы зеркальных нейронов (Ramachandran et al., 2006; Oberman et al., 2005; Dapretto et al., 2006). Известно, что появление мю-волн на ЭЭГ моторных областей коры подавляется, когда человек наблюдает за действием другого субъекта (рис.3). У детей, больных аутизмом, данное явление выражено в меньшей степени.



**Рис.3.** Исчезновение мю-волн на ЭЭГ здорового ребенка при наблюдении за собственным действием и сохранение мю-ритма у ребенка, больного аутизмом.

Клиническая характеристика аутизма включает два основных компонента, свойственных проявлению данного заболевания. Первый компонент – дефект социально-когнитивного аспекта психической деятельности, который проявляется через состояние ментального одиночества, отсутствие эмпатии и контакта с внешним миром. Вторым компонентом – дефекты сенсомоторной системы, проявляющиеся как вспышки истерик, покачивание головой и часто повторяющиеся действия. Одной из отличительных черт заболеваний аутистического спектра является неспособность индивидуума понимать метафоры и абстрактные рассуждения, которая в норме обеспечивается активностью левой супрамаргинальной извилины, где обнаружены популяции зеркальных нейронов. Также дисфункция системы зеркальных нейронов при расстройствах аутистического спектра вызывает трудности в понимании языка, самоидентификации личности и ухудшает понимание намерений других людей.

В эксперименте Rizzolatti et al. ребенку было предложено два задания – положить объект в рот или поместить в контейнер, расположенный на его плече. На электромиограмме здорового ребенка обнаружена электрическая активность нейронов мышцы, открывающей рот, как при помещении пищи в рот, так и при наблюдении за подобным действием. У ребенка, больного аутизмом, активность зеркальных мотонейронов отсутствует при наблюдении за действием (рис.4) (Rizzolatti et al., 2009).



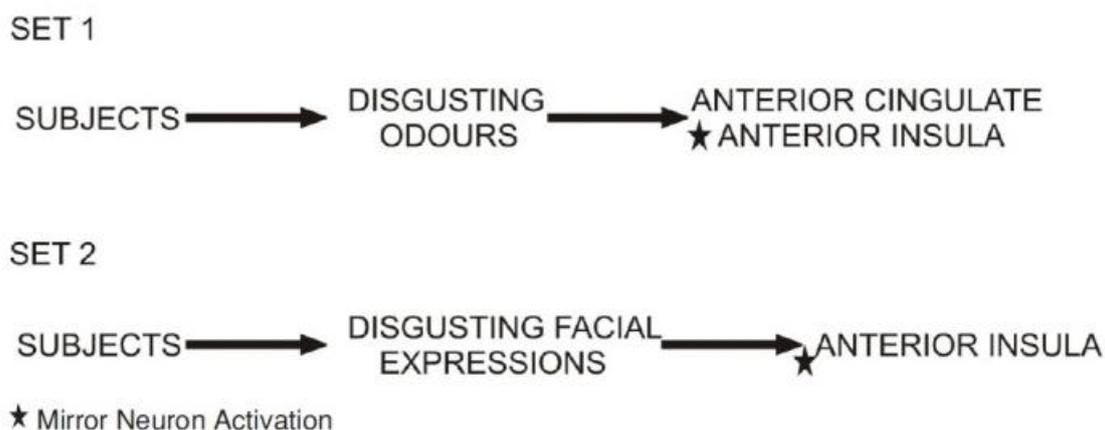
**Рис.4.** Электрическая активность нейронов мышцы, открывающей рот, на электромиограммах здорового ребенка при помещении пищи в рот и при наблюдении за подобным действием. У ребенка, больного аутизмом (С), активность зеркальных мотонейронов отсутствует при наблюдении за действием. Изначально ребенку предложено два задания – положить объект в рот или поместить в контейнер, расположенный на его плече (А).

## Эмоции и эмпатия

Эмпатия – сложный социальный феномен, подразумевающий частичное, изоморфное разделение чувств и эмоций других людей (Bernhardt, Singer, 2012; Decety, Lamm, 2006; Decety et al., 2012; Gonzalez-Liencreset al., 2013; Singer and Lamm, 2009).

В формировании эмпатии принимает участие тот же нервный контур, который возбуждается при непосредственном переживании индивидуумом тех же эмоций, который он наблюдает у другого человека (Singer et al., 2006). При наблюдении за человеком, который ощущает боль (Wicker et al., 2003), у наблюдателя активируются нейроны передней островковой доли коры (anterior insular cortex, AI) и передней средней поясной коры (anterior midcingulate cortex, aMCC) (Vogt, 2005). Эти области коры вовлечены в формирование болевых ощущений (Derbyshire, 2000). Известно, что области AI и aMCC помимо связи с аффективно-мотивационными аспектами боли, связаны с функциями, ассоциированными с эмоциональным опытом, интероцепцией и регуляцией гомеостаза (Medford, Critchley, 2010).

Сходство между активацией одних групп нейронов как при проживании эмоционального опыта непосредственно, так и при наблюдении за эмоциями другого человека, позволяет интерпретировать данное явление как центральный механизм формирования чувства эмпатии. Также популяции зеркальных нейронов, вовлеченных в формирование переживаний эмпатии и эмоций, найдены в парието-премоторном контуре, ответственном за контроль движений. В исследовании с использованием методик функциональной МРТ Carretal. группе участников предлагалось нюхать неприятный запах (Carretal., 2003). Другой группе испытуемых показывали на экране видео изображения лиц людей, ощущающих этот запах и демонстрирующих эмоции отвращения (рис.5). При ощущении неприятного запаха у участников активировалась передняя островковая кора и передняя поясная кора. У тех, кто наблюдал за выражением лица испытуемых первой группы, была выявлена активность островковой зоны (Wicker et al., 2003).

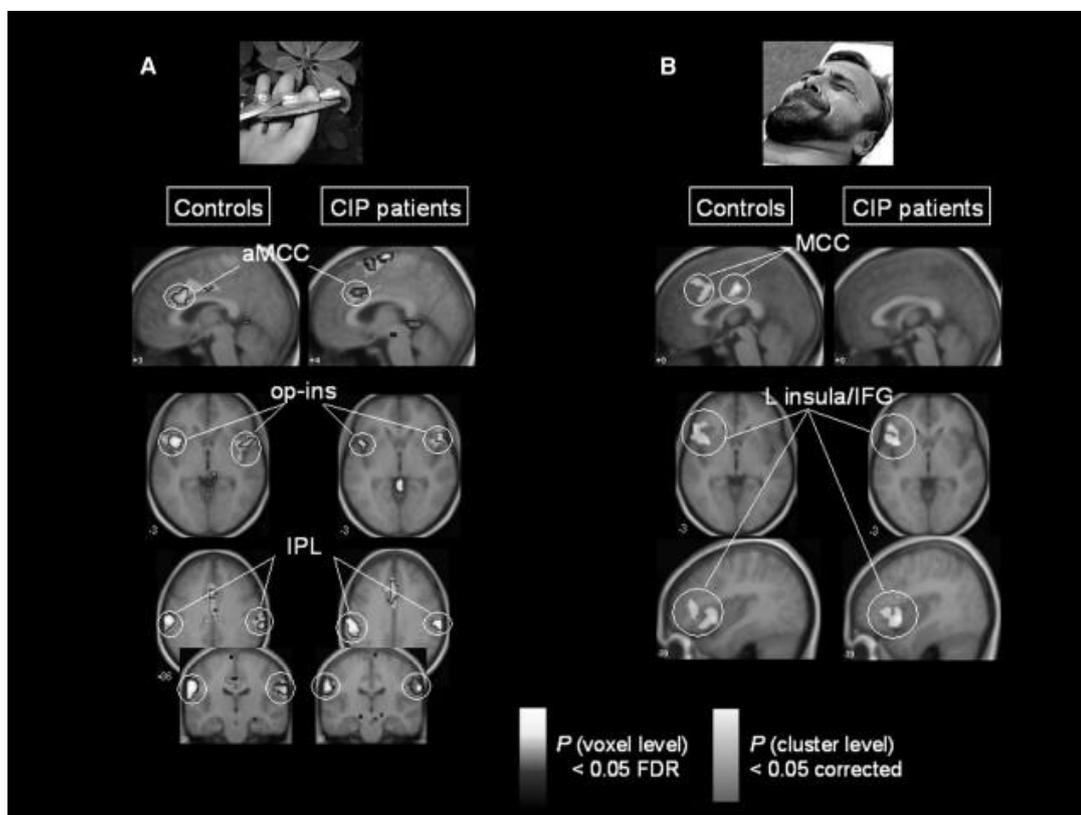


**Рис.5.** Активация зеркальных нейронов в AI у при ощущении неприятного запаха и наблюдении эмоций отвращения.

Данные исследования позволили полагать процессы симуляции и личных проекций, то есть понимания намерений и мыслей других людей, в основу явления эмпатии (Goldman and Sebanz, 2005; Mitchell, 2009). Таким образом, можно видеть, что ключевыми механизмами формирования эмпатии являются моторные, соматосенсорные и когнитивные процессы.

Люди с врожденной нечувствительностью к боли (congenital insensitivity to pain, CIP) также не могут в необходимой степени оценивать ощущения боли, испытываемые другими людьми, если эти ощущения не сопровождаются эмоциональной компонентой (Danziger et al., 2006). При предъявлении изображения лица человека, ощущающего боль, островковая

область и передняя фронтальная извилина (insula/inferiorfrontal gyrus, IFG) активировались в контрольной группе и группе людей, страдающих СР. Однако, возбуждение средней поясной коры (МСС) было обнаружено только в контрольной группе. При предъявлении изображений частей тела, подвергнутых болевым стимулам, не было выявлено различий в активности нейронов зон АІ, аМСС и задней париетальной коры. С другой стороны, у испытуемых с СР была заметно снижена активность нейронов зрительной задневисочной коры (рис.6).



**Рис.6.** Активность зеркальных нейронов в ответ на изображения болевых ощущений у людей с синдромом СР и испытуемых контрольной группы. IPL – нижняя париетальная доля (inferioparietallobule); op-ins – оперкуло-инсулярная кора (operculo-insular cortices); аМСС – передняя среднепоясная кора (anteriormid-cingulate cortex); IFG – нижняя фронтальная извилина (inferiorfrontal gyrus).

Результаты эксперимента говорят о том, что нейронные пути, вовлеченные в формирование ощущения боли субъектом и эмпатии, возникающей при наблюдении за болевыми ощущениями других людей, различны. Также важно отметить, что понимание болезненного ощущения другого человека требует фокусировки внимания на изображении или на самом человеке, испытывающем боль. Активность АІ и аМСС снижается, когда внимание наблюдателя переключается на другое событие (Gu, Han, 2007).

В понимании эмоций других людей участвуют медиальная префронтальная кора (medialprefrontalcortex, mPFC), задняя поясная кора (posterior cingulated cortex, PCC) и правое височно-париетальное соединение (right temporo-parietal junction, TPJ) (Saxe, 2006). Нейроны mPFC активируются при предъявлении изображений участков тела, подверженных болевому стимулам, в то время как нейроны PCC отвечают на мимическое проявление боли. mPFC принимает участие в интеграции информации о состоянии организма с высшими ментальными процессами, что позволяет воспринимать эмоции другого человека как свои собственные (Amodio, Frith, 2006; Olsson, Ochsner, 2008).

Зеркальные нейроны могут играть важную роль в самосознании человека. Другими словами, они помогают не только понять поведения других людей, но также позволяют заглянуть «внутри» себя (Ramachandran, 2011).

### Список литературы:

Acharya, S., & Shukla, S. (2012). Mirror neurons: Enigma of the metaphysical modular brain. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, 3(2), 118–24.

Amodio, D.M., and Frith, C.D. (2006). Meeting of minds: the medial frontal cortex and social cognition. *Nat. Rev. Neurosci.* 7, 268–277.

Botvinick, M., Jha, A.P., Bylsma, L.M., Fabian, S.A., Solomon, P.E., and Prkachin, K.M. (2005). Viewing facial expressions of pain engages cortical areas involved in the direct experience of pain. *Neuroimage* 25, 312–319.

Danziger, N., Faillenot, I., & Peyron, R. (n.d.). Can We Share a Pain We Never Felt? Neural Correlates of Empathy in Patients with Congenital Insensitivity to Pain. *Neuron*, 61, 203–212.

Falck-Ytter, T., Gredebäck, G., & von Hofsten, C. (2006). Infants predict other people's action goals. *Nature Neuroscience*, 9(7), 878–879.

Ferrari, P. F., Gallese, V., Rizzolatti, G., & Fogassi, L. (2003). Mirror neurons responding to the observation of ingestive and communicative mouth actions in the monkey ventral premotor cortex. *The European Journal of Neuroscience*, 17(8), 1703–14. Retrieved from

Gallese, & Vittorio. (2011). Title: The Mirror Neuron Mechanism and Literary Studies: An Interview with Vittorio Gallese. *Journal Issue: California Italian Studies*, 2(1). Retrieved from

Gazzola, V., & Keysers, C. (2009). The Observation and Execution of Actions Share Motor and Somatosensory Voxels in all Tested Subjects: Single-Subject Analyses of Unsmoothed fMRI Data. *Cerebral Cortex*, 19(6), 1239–1255.

Goldman, A.I., Sebanz, N., 2005. Simulation, mirroring, and a different argument from error. *Trends Cogn. Sci.* 9, 320, author reply 321.

Heyes, C. (2010). Where do mirror neurons come from? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 34(4), 575–583.

Iacoboni, M., Molnar-Szakacs, I., Gallese, V., Buccino, G., Mazziotta, J. C., & Rizzolatti, G. (2005). Grasping the Intentions of Others with One's Own Mirror Neuron System. *PLoS Biology*, 3(3), e79.

Keysers, C., Kaas, J. H., & Gazzola, V. (2010). Somatosensation in social perception. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(6), 417–428.

Lamm, C., & Majdandžić, J. (2015). The role of shared neural activations, mirror neurons, and morality in empathy - A critical comment. *Neuroscience Research*, 90, 15–24.

Lamm, C., Batson, C.D., and Decety, J. (2007). The neural substrate of human empathy: effects of perspective-taking and cognitive appraisal. *J. Cogn. Neurosci.* 19, 42–58.

Morrison, I., Lloyd, D., di Pellegrino, G., and Roberts, N. (2004). Vicarious responses to pain in anterior cingulate cortex: is empathy a multisensory issue? *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 4, 270–278.

Ochsner, K.N., Knierim, K., Ludlow, D.H., Hanelin, J., Ramachandran, T., Glover, G., and Mackey, S.C. (2004). Reflecting upon feelings: an fMRI study of neural systems supporting the attribution of emotion to self and other. *J. Cogn. Neurosci.* 16, 1746–1772.

Ochsner, K.N., Beer, J.S., Robertson, E.R., Cooper, J.C., Gabrieli, J.D.E., Kihlstrom, J.F., and D'Esposito, M. (2005). The neural correlates of direct and reflected self-knowledge. *Neuroimage* 28, 797–814.

Olsson, A., and Ochsner, K.N. (2008). The role of social cognition in emotion. *Trends Cogn. Sci.* 12, 65–71.

Ramachandran, V. S., & Oberman, L. M. (2006). Broken mirrors: a theory of autism. *Scientific American*, 295(5), 62–9.

Rizzolatti, G., Fabbri-Destro, M., & Cattaneo, L. (2009). Mirror neurons and their clinical relevance. *Nature Clinical Practice Neurology*, 5(1), 24–34.

Rizzolatti, G., Fabbri-Destro, M., & Cattaneo, L. (2009). Mirror neurons and their clinical relevance. *Nature Clinical Practice Neurology*, 5(1), 24–34.

Rizzolatti, G., Fogassi, L., & Gallese, V. (2001). Neurophysiological mechanisms underlying the understanding and imitation of action. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(9), 661–670.

Saxe, R. (2006). Uniquely human social cognition. *Curr. Opin. Neurobiol.* 16, 235–239.

Schaefer, M., Heinze, H.-J., & Rotte, M. (2012). Embodied empathy for tactile events: Interindividual differences and vicarious somatosensory responses during touch observation. *NeuroImage*, 60(2), 952–957.

Singer, T., 2006. The neuronal basis and ontogeny of empathy and mind reading: review of literature and implications for future research. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 30, 855–863. Singer, T., Lamm, C., 2009. The social neuroscience of empathy. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1156, 81–96.

Singer, T., Seymour, B., O'Doherty, J., Kaube, H., Dolan, R.J., Frith, C.D., 2004. Empathy for pain involves the affective but not the sensory components of pain. *Science* 303, 1157–1161.

Singer, T., Seymour, B., O'Doherty, J.P., Stephan, K.E., Dolan, R.D., Frith, C.D., 2006. Empathic neural responses are modulated by the perceived fairness of others. *Nature* 439, 466–469. Steinbeis, N., Bernhardt, B.

Vogt, B.A., 2005. Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 533–544.

## **ПРИЛОЖЕНИЕ.**

ПРОГРАММА учебной дисциплины «СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ЦНС»

Автор: д.б.н. Дубынин Вячеслав Альбертович

Цель дисциплины – ознакомление студентов-физиологов с эволюционным и морфо-функциональным разнообразием нервной системы в ряду беспозвоночных и позвоночных; сравнительный анализ деятельности сенсорных систем и основных блоков центральной нервной системы (в том числе – на нейронном и нейромедиаторном уровнях).

Задача дисциплины – опираясь на предварительно освоенные знания по зоологии беспозвоночных и позвоночных, а также по анатомии и физиологии ЦНС (электрические свойства нейронов, строение и работа синапсов, основные медиаторы и вторичные посредники), расширить и конкретизировать у студентов представления о связи структуры и функции различных отделов нервной системы животных на разных этапах и уровнях филогенеза; проиллюстрировать принципы эволюционной дивергенции и конвергенции в ходе адаптации живых организмов к конкретным условиям обитания, а также реализации поведенческих актов разного уровня сложности (как врожденно заданных, так и являющихся результатом обучения).

Содержание дисциплины.

### **Раздел I. Сравнительная физиология ЦНС беспозвоночных.**

**Тема 1.** Обзор эволюции нервной системы и разнообразие органов чувств беспозвоночных.

Кишечнополостные как животные с истинной нервной системой. Нейронная сеть гидры. Поведенческий репертуар кишечнополостных, их рецепторные клетки. Нервная система медуз. Статоцисты как первые органы чувств. Дальнейшее развитие нервной системы в ходе эволюции беспозвоночных. Двусторонняя симметрия и решетчатая нервная система плоских червей (ортогон). Круглые черви. Брюшная нервная цепочка кольчатых червей. Формирование головного мозга у членистоногих и моллюсков; разнообразие сенсорных рецепторов. Появление сложных форм поведения и способности к обучению. Единство механизмов работы нервной системы беспозвоночных на электрическом и химическом уровнях; основные нейромедиаторы. «Простейшие и простые» нервные системы беспозвоночных – модельных объекты, позволяющие понять работы сложного мозга.

**Тема 2.** Сенсорные системы червей; роль сенсорных сигналов (химических, механических, зрительных) в организации поведения червей.

Сенсиллы и органы обоняния плоских червей. Разнообразие глаз и статоцисты турбеллярий. Особенности строения органов чувств паразитических плоских червей (трематод и цестод). Аннелиды: фото-, хемо- и механорецепторы. Органы чувств полихет: строение и работа простых пигментных бокалов и глазков; статоцисты и нухальные органы; другие сенсорные придатки пре- и простомиума, параподий, пигидия. Эпитокия – образование пелагической особи, обеспечивающей половое размножение; феромоны и роение. Туберкулы олигохет. Глазки и папиллы пиявок. Пиявка как один из классических нейрофизиологических объектов. Поиск добычи пиявкой. Органы чувств круглых червей (на примере *C. elegans*).

**Тема 3.** Структурно-функциональная анатомия нервной системы червей и нейрофизиология их поведения.

Турбеллярии: субэпидермальный кольцевой мозг, продольные нервные тяжи, элементы диффузности. Локомоция турбеллярий, пищевое и половое поведение. Особенности строения и физиология нервной системы паразитических плоских червей. Аннелиды: нервная система лестничного типа; головной мозг свободноживущих полихет. Локомоция и пищевое поведение плотоядных полихет. Особенности поведения пескожила. Нервная система и поведение олигохет (на примере дождевого червя). Копуляция дождевых червей. Способность аннелид к обучению. Строение нервной системы нематод. *Caenorhabditis elegans* – классический объект биологических (в т.ч. – нейрофизиологических) исследований. Как работают 302 нейрона («коннектом») *C. elegans*.

**Тема 4.** Разнообразие сенсорных систем моллюсков (брюхоногих, головоногих и др.); роль сенсорных сигналов в организации поведения моллюсков.

Глаза гастропод: разнообразие строения, усложнение функций. Щупальца гастропод как орган хеморецепции; ринофоры; дермальные хеморецепторы. Химические сигналы, управляющие питанием и размножением гастропод. Осфрадии и определение качества воды (роль сифона). Статоцисты гастропод; восприятие магнитного поля. Особенности сенсорных систем наземных гастропод. Глаза головоногих: общее строение и организация сетчатки («эвертированный пигментный бокал»); фоторецепторы; особенности зрительного восприятия. Механорецепторы тела головоногих (аналог боковой линии рыб) и статоцисты (аналог внутреннего уха). Хеморецепция. Строение и деятельность хроматофоров. Комплекс чернильного мешка. Органы чувств двустворчатых моллюсков.

**Тема 5.** Структурно-функциональная анатомия нервной системы моллюсков и нейрофизиология их поведения.

Гастроподы: нервная система и торсия. Церебральные, буккальные (радула), pedalные (нога), плевральные (мантийная полость) и др. ганглии. Локомоция и пищевое поведение гастропод. Оборонительное поведение: рефлекс втягивания жабры у *Aplisia*. Работы Эрика Кандела и изучение физиологических механизмов памяти. Виноградная улитка как важнейший объект нейрофизиологии; исследование привыкания, выработки двигательных навыков, условных рефлексов с разным знаком подкрепления. Копуляция гастропод. Нейромедиаторы гастропод. Гигантский аксон кальмара – еще один классический объект физиологии. Пищевое и половое поведение головоногих. Коммуникация головоногих. Способности головоногих к сложным формам обучения.

**Тема 6.** Разнообразие сенсорных систем членистоногих (на примере различных отрядов насекомых); роль сенсорных сигналов в организации поведения насекомых.

Экзорцепторы членистоногих (сенсиллы). Механорецепторы и реакция на движение воздуха (во время полета). Хеморецепторы: дистантные (обоняние) и контактные (вкус); феромоны насекомых. Органы равновесия ракообразных. Хордотональные и тимпанальные органы. Особенности звуковой коммуникации и звукового восприятия насекомых; роль звуков в территориальном и половом поведении. Гигро- и терморецепторы; ИК-рецепторы. Колоколовидные рецепторы и реакция переворота. Глаз мечехвоста. Сложные глаза и омматидии. Мозаичность зрения членистоногих. Разнообразие глаз насекомых. Типы фоторецепторов и цветное зрение. Параллакс у богомола. Зрительная коммуникация светляков. Внутренние рецепторы членистоногих; проприорецепция.

**Тема 7.** Структурно-функциональная анатомия нервной системы насекомых и нейрофизиология их поведения.

Мозг насекомых: протоцеребрум, дейтоцеребрум, тритоцеребрум, подглоточный ганглий, синганглии груди и брюшка. Нейромедиаторы членистоногих. Нейрофизиология бега и полета насекомых. Пищевое поведение: паук и его сеть; наездники; одиночные осы-строители. Ориентация в пространстве, запоминание объектов-меток (работы Николаса Тинбергена). Реакция избегания у таракана и кузнечика. Общественные насекомые (пчелы, муравьи и др.): нейрогормоны и поддержание структуры семьи, разнообразие форм коммуникации, способность к выработке сложных навыков (работы Отто Фриша и Ж.И. Резниковой). Нейрофизиология и генетика поведения *Drosophila melanogaster*: груминг, питьевое и пищевое поведение, ухаживание и размножение, обучение.

## **Раздел II. Сравнительная физиология ЦНС позвоночных.**

**Тема 1.** Обзор эволюции нервной системы и разнообразие органов чувств хордовых и позвоночных.

Ланцетники – начало эволюции хордовых. Нервная трубка и органы чувств ланцетника. Нервная система асцидий, кишечнодышащих, крыложаберных. Формирование головы позвоночных. Нервная система и органы чувств рыб. Адаптация позвоночных к жизни на суше. Основные направления эволюции нервной системы сухопутных позвоночных. Усложнение строения и функций мозжечка и промежуточного мозга. Развитие коры больших полушарий от амфибий к рептилиям (древние корковые структуры), и далее к птицам и млекопитающим («новая кора»). Современная номенклатура отделов больших полушарий птиц. Дальнейшее развитие зрения и слуха. Роль обоняния и системы тактильной рецепции. Усложнение способности к обучению, выработке навыков, социальному взаимодействию.

**Тема 2.** Сенсорные системы хрящевых и костных рыб, связанные с химической чувствительностью; обусловленное ими поведение (этология и нейрофизиология).

Орган обоняния рыб; разнообразие обонятельных рецепторов и специфических обонятельных стимулов. Мозговые обонятельные центры. Пищевая поисковая реакция рыб. Реакция на половые феромоны. Репродуктивное поведение золотой рыбки *Carassius auratus*. Взаимоотношение родителей и потомства (цихлиды). Химические сигналы опасности. Миграционное поведение; обонятельный импринтинг. Маркирование домашнего участка (рыбы коралловых рифов). Вкусовая система рыб; строение вкусовых почек; наружные вкусовые почки. Вкусовые центры мозга рыб; схемы нервных путей. Вкусовые предпочтения рыб; индивидуальный пищевой опыт; прикладные аспекты (насадки и приманки). Общее химическое чувство рыб; одиночные хемосенсорные клетки (морской петух).

**Тема 3.** Сенсорные системы хрящевых и костных рыб, связанные органом боковой линии; обусловленное ими поведение (этология и нейрофизиология). Зрение рыб.

Слуховая система рыб; лабиринт и отолиты. Слуховые рецепторы и типы макул. Веберов аппарат; роль плавательного пузыря. Чувствительность рыб к звукам (примеры аудиограмм); дирекционная чувствительность. Звукогенерация рыб (основные типы); акустическая сигнализация. Боковая линия рыб; невромасты, их иннервация. Роль боковой линии в пищевом, оборонительном, нерестовом и стайном поведении. Электрорецепция; ампулы Лоренцини (акулы, скаты); бугорковые органы; роль мозжечка и продолговатого мозга. Пассивная и активная электролокация. Глаз и сетчатка рыб. Разнообразие фоторецепторов. Зрительные

центры мозга; зрительная коммуникация (ухаживания, демонстрации, иерархия стай). *Danio rerio* – модельный объект нейрофизиологии и нейрогенетики.

**Тема 4.** Сенсорные системы наземных позвоночных и обусловленное ими поведение (этология и нейрофизиология): тканевые механорецепторы, терморецепторы.

Соматосенсорная система и тройничный нерв. Меркелевский клеточно-нейритный комплекс. Тельца Фатер-Пачини, Грандри, Гербста и др. Роль тактильной чувствительности при спаривании амфибий. Асенсиллярные и сенсиллярные кожные органы рептилий. Тактильные рецепторы лапы сипухи; представительство лапы в переднем Wulst. Концевой орган клюва гусеобразных. Рецепторы волосяных луковиц; вибриссы. «Бочонки» вибрисс в соматосенсорной коре грызунов. Эффекты раннего удаления вибрисс. Пальцы енота; нос звездорыла и выхухоли. Тактильная чувствительность и груминг; социальная роль груминга. Терморецепторы; их роль у пойкилотермных и гомойотермных животных. Инфракрасная чувствительность ложноногих (удава, питоны) и ямкоголовых (гремучники) змей.

**Тема 5.** Сенсорные системы наземных позвоночных и обусловленное ими поведение (этология и нейрофизиология): обоняние и вкус.

Основная и дополнительная обонятельные системы. Обонятельная луковица и обонятельный индекс мозга. Вомероназальный орган и его рецепторы. Дополнительная обонятельная луковица; ее связи. Органы обоняния и половые феромоны амфибий (жабы). Якобсонов орган рептилий (ящерицы); роль обоняния в размножении, поиске пищи, оборонительных реакциях. Обонятельная система птиц на примере голубя и курицы. Обонятельная система киви, птиц-падальщиков, трубконосых (поиск пищи, навигация). Адаптации млекопитающих к формированию индивидуального запаха. Запаховый импринтинг потомства. Запах и мечение территории. Разнообразие вкусовых рецепторов и вкусовых почек (хищные, грызуны, копытные). Экология вкусовой чувствительности птиц (связь с пищевой специализацией).

**Тема 6.** Сенсорные системы наземных позвоночных и обусловленное ими поведение (этология и нейрофизиология): внутреннее ухо, слух.

Слуховая система амфибий; специфика строения среднего уха. Роль звуковой коммуникации в зоосоциальном взаимодействии (брачный зов и др.). Слух у рептилий. Звукогенерация рептилий (шипение, стридуляции), ее функции; голосовые сигналы гекконов и крокодилов. Улитка рептилий и птиц; разнообразие волосковых рецепторов. Звуковая коммуникация птиц: гортань и ее иннервация; вокальная система головного мозга; анализ сложных звуковых сигналов. Разнообразие звуковых сигналов (тревожные, территориальные и т.д.); обучение песне; звукоподражание. Импринтинг голоса родителей и потомства. Картирование слухового пространства (сипуха). Звуковая коммуникация млекопитающих (волки, китообразные, приматы) и др. Эхолокация летучих мышей и китообразных: основные принципы (работа сонара); нервные центры, обработка информации.

**Тема 7.** Сенсорные системы наземных позвоночных и обусловленное ими поведение (этология и нейрофизиология): глаз и зрение.

Разнообразие фоторецепторов амфибий, рептилий, птиц. Особенности строения глаза и аккомодационного процесса. Сетчатка бесхвостых амфибий как объект нейрофизиологических исследований; «детектор насекомых» и др. Медианный глаз гаттерии. Зрение как ведущая сенсорная система птиц. Особенности строения fovea; бинокулярное зрение; бифовеальные сетчатки. Ночное зрение птиц. Зрительные центры мозга птиц; зрение и навигация. Зрение и

зоосоциальное взаимодействие (роль в организации полового и родительского поведения, реакции клевания птенцов; зрительный импринтинг и др.). Экология зрения млекопитающих; первичная адаптация к условиям сумерек, роль зеркальца. Би- и трихроматы. Зрительная коммуникация и поведение млекопитающих.

# Содержание

Предисловие.....	2
От составителей.....	3

## **C.elegans:**

C.elegans как объект биологических исследований (Карпова В.).....	4
Анатомия нервной системы и нейрогенез (Зигмантович А.).....	8
Механорецепция у C.elegans (Трошев Д.).....	12
Половая система и половое поведение Caenorhabditis elegans (Гущина Е.).....	19
Пищевое поведение Caenorhabditis elegans (Бакаева А.).....	24
Оборонительное поведение Caenorhabditis elegans (Мазина С.).....	29

## **Тип Моллюски:**

О моллюсках вообще и об их половом поведении (Галахова А.).....	36
Как моллюски ищут и добывают пищу (Терентьев А.).....	44
Оборонительное поведение моллюсков (Водорезова К.).....	50
Обучение моллюсков, память (Колотова Д.).....	60

## **Насекомые:**

«Как найти себе жену» на языке ночных бабочек. Феромоны (Новичихина К.).....	70
Какая аминокислота вкуснее? Пищевое поведение насекомых (Терентьева Н.).....	78
Как насекомые обучаются новому (Шляпина В.).....	83

## **Позвоночные животные. Класс Рыбы:**

Половое поведение и размножение рыб (Волкова Анна).....	91
Как разрешаются конфликты. Оборонительное поведение рыб (Стурова А.).....	98
Обучение у рыб (Голяко И.).....	103

## **Амфибии:**

Стратегии размножения земноводных (Груздев Г.).....	110
«Жди, пока приползёт само или выходи на охоту». Пищевое поведение амфибий (Стаханова А.).....	117
Психофизиология экстремальных ситуаций для амфибий. Оборонительное поведение (Мигулина Н.).....	121

## **Нервная деятельность, характерная для высших**

### **позвоночных:**

Зеркальные нейроны движения (Подшивалова Е.).....	125
Зеркальные нейроны и эмпатия (Матюлько И.).....	132

<b>ПРИЛОЖЕНИЕ</b> (Программа курса «Сравнительная физиология ЦНС», профессор Дубынин В.А.).....	140
--	-----