

Отзыв официального оппонента КЕРИМОВА Анвара Бурхановича, к.б.н., на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология
АЛЕКСЕЕВОЙ Галины Сергеевны
« ВЗАИМОСВЯЗЬ МАТЕРИНСКОГО ПОВЕДЕНИЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ САМОК ДОМАШНЕЙ КОШКИ (*FELIS CATUS*) С РАЗВИТИЕМ ИХ ДЕТЕНЬШЕЙ»

Диссертация Галины Сергеевны Алексеевой посвящена актуальной проблеме – оценке материнского эффекта в формировании фенотипических характеристик и адаптивности потомства животных. Объектом исследования являются представители незрелорождающихся млекопитающих – кошачьи, которым свойствен достаточно длительный период материнской заботы. У всех млекопитающих материнское поведение играет ключевую роль в развитии жизнеспособного потомства. Взаимодействия с матерью и сибсами являются неотъемлемой частью обогащенной сенсорной среды, необходимой высшим животным для полноценного развития и реализации адаптивного комплекса поведенческих реакций. Другой аспект приспособленности потомства связан с изучением его физиологического качества. Физиологические черты потомства обусловлены как генетическими, так и фенотипическими свойствами родителей, что проявляется в масштабе и характеристиках родительской заботы, обеспечении взрослыми особями необходимых темпов роста потомства и его устойчивости к негативным воздействиям среды. Размножение высокоорганизованных животных, как правило, связано с большими затратами энергии и других ресурсов организма и поэтому является ареной компромиссов (трейд-оффов), влияя на структуру жизненных циклов, в частности, на установление определенного баланса между текущими и будущими репродуктивными усилиями. Из-за трейд-оффов большинство важнейших характеристик жизненного цикла способно образовывать только очень ограниченное число комбинаций своих значений (Stearns, 1989). Эти ограничения должны, прежде всего, проявляться в функционировании физиологических механизмов (Flatt, Heyland, 2001; Zera, Harshman, 2001; Ricklefs, Wikelski, 2002; Williams *et al.*, 2010). Как следствие, изучение эффектов родительской заботы предполагает проведение комплексных междисциплинарных исследований, основанных на использовании экологических, этологических, энергетических, эндокринологических и иммунологических методов. В ряду этих

работ стоит и комплексное исследование Г.С. Алексеевой. Ей удалось исследовать материнский эффект в различных аспектах – поведенческом, трофическом, гормональном и иммунологическом. Выбор основного объекта работы – домашней кошки – представляется целесообразным и удачным. Ранее подобные комплексные исследования на представителях кошачьих не проводили, и основная масса работ на млекопитающих по данной тематике была посвящена грызунам. В пользу использования домашней кошки в качестве удобной модели для исследования материнского эффекта и связанных с ним трейд-оффов выступают такие свойства объекта как достаточно длительный энергозатратный период лактации, заметная вариация в размере выводка и полициклическое размножение. Это позволяет оценить характеристики репродуктивного вклада в условиях различных режимов нагрузки на родителей и детенышей. Экологическая специфика кошачьих позволяет по-новому взглянуть на проблему материнского вклада. Таким образом, актуальность исследования не вызывает сомнений.

В своей работе автор изучает связь материнского поведения и физиологического состояния самок домашней кошки с показателями развития потомства в период лактации и постепенного перехода детенышей к самостоятельному кормлению. Основной упор сделан на оценке изменений материнского поведения и физиологического состояния самок в зависимости от возраста детенышей и размера выводка, оценке связи между состояниями иммунной системы у самок и их потомства, анализе связанных с материнским эффектом факторов, влияющих на темпы роста и развитие игрового поведения детенышей. Следует отметить, что оценка социального и игрового поведения самок и детенышей в условиях неволи была произведена и на домашней кошке, и на евразийской рыси – вида с иной плодовитостью и структурой жизненного цикла. В работе впервые для домашней кошки были проанализированы концентрации четырех стероидных гормонов и клинические показатели крови, выявлены факторы их динамики, оценено влияние размера выводка на определенные характеристики иммунной системы детенышей и самки. Результаты исследования имеют большое теоретическое значение и являются существенным вкладом в понимание поведенческих и физиологических процессов, определяющих материнский эффект, а также в изучение жизненных стратегий и факторов

выживаемости родителей и потомства у незрелорождающихся видов. В практическом плане они могут быть использованы для охраны и разведения редких и исчезающих видов семейства кошачьих.

Диссертация изложена на 204 страницах машинописного текста и включает следующие основные главы: Введение, Обзор литературы, Материал и методы, пять тематических глав, в которых изложены основные результаты работы, Заключение, Выводы и Список литературы из 533 публикаций, из которых 498 - на иностранных языках. В диссертации 59 рисунков и 1 таблица.

Во **Введении** (6 страниц машинописного текста) автор обосновывает актуальность исследования, показывает его место среди работ подобного рода, формулирует цель и задачи работы. Автор исходит из представления об ограниченности внешних и внутренних ресурсов, которыми располагают животные в репродуктивный период, представляющий одну из критических фаз жизненного цикла. Он показывает, как это ограничение ресурсов через трейд-оффы эволюционно ведет к поиску баланса между репродуктивным вкладом и вероятностью дальнейшего выживания и размножения. Этот процесс находит отражение в признаках жизненных циклов различных видов. Здесь же автор обосновывает целесообразность выбора представителей кошачьих в период лактации как перспективной модели для изучения роли материнского фактора в формировании адаптивных черт потомства и эволюции жизненных стратегий у незрелорождающихся видов. Во Введении помимо целей и задач сформулированы три основных положения, выносимых на защиту, обоснована новизна результатов и представлены сведения об апробации работы. В общей сложности результаты по материалам, вошедшим в диссертацию, были доложены на 20 отечественных и зарубежных конференциях, включая такие авторитетные форумы как Всероссийская научная конференция «Актуальные проблемы современной териологии» (Новосибирск, 2012), 9th International Conference on Behaviour, Physiology and Genetics of Wildlife (Berlin, Germany, 2013), VII European conference on behavioural biology (Prague, Czech Republic, 2014), 7th European Congress of Mammalogy (Stockholm, Sweden, 2015) и др. Всего по материалам диссертации опубликовано 25 печатных работ, в т.ч. 2 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК.

Глава **Обзор литературы** занимает 33 страницы и представляет масштабный анализ источников по различным аспектам родительской заботы и материнского эффекта в разных группах позвоночных – рыбах, рептилиях, птицах и млекопитающих. Приведены ссылки как на новейшие источники, так и работы 20-40 летней давности. Есть несколько содержательных ссылок на интересные анатомические и физиологические работы более чем полувековой давности. Такое внимание к источникам и широкий охват темы повышают общебиологическую значимость работы и являются безусловной заслугой автора.

Обзор рубрицирован и включает 6 разделов, посвященных родительскому вкладу у животных, материнскому поведению и раннему онтогенезу поведения у млекопитающих, гормональному статусу и активности иммунной системы самок в период беременности и лактации, а также биологической характеристике исследованных объектов – домашней кошки и евразийской рыси. В Обзоре подробно освещены основные концепции, связанные с представлениями о трейд-оффах, пожизненном репродуктивном успехе, оптимизации соотношения затрат на размножение и выживание (Trivers, 1972; Stearns, 1989; Promislov, Harvey, 1990 и др.). В этом же ключе рассмотрены жизненные стратегии родителей, оптимизирующих распределение ресурсов между существующими и будущими потомками, их количеством и качеством. Показана различная модальность «плат» приспособленности родителей, которая проявляется не только в затратах энергии на репродуктивные процессы, но и на уровне продукции гормонов, их регуляторных свойств и активности иммунной системы. В специальном разделе описаны черты, свойственные незрелорождающимся видам млекопитающим, и важные в плане проблематики изучения кошачьих, в частности, короткий эмбриональный период и, как следствие, большой материнский вклад в развитие детенышей в постнатальном периоде, проявляющаяся на внутри- и/или межвидовом уровне большая вариация в размере выводков, времени лактации и темпах роста потомства. Проанализированы имеющиеся данные по взаимосвязи между особенностями материнского поведения, с одной стороны, и темпами развития детенышей, формированием у них жизненно важных навыков в отношении избегания опасности, охотничьего мастерства и выбора полового партнера, с другой. В разделе Обзора, посвященного онтогенезу поведения

детенышей, продемонстрирована роль ослабления связи с матерью в интенсификации взаимодействия с сибсами и формировании социальной иерархии в группе, а также влияние перехода от молочной к твердой пище на темпы роста и состояние иммунной системы. Анализируя источники, автор приходит к выводу, что роль материнской заботы на сегодняшний день главным образом рассматривают с позиции тех преимуществ, которые могут получить детеныши. При этом физиологические свойства самки в этот период, как правило, не учитываются, и ее затраты на осуществление материнской заботы остаются мало исследованными. Предлагаемая работа призвана восполнить этот пробел.

В разделе Обзора об изменении гормонального статуса выкармливающих самок млекопитающих автор приводит имеющиеся в литературе сведения о развитии у представителей различных таксонов животных (включая рыб, птиц и разные группы млекопитающих) физиологического стресса при истощении энергоресурсов, что сопровождается выбросом в кровь глюкокортикоидов (кортизола и/или кортикостерона). Гормональная продукция ГГНС интенсифицирует метаболизм и мобилизует внутренние резервы организма, что, по крайней мере в краткосрочной перспективе, может иметь позитивный эффект в плане качества родительской заботы. Эта тема нашла свое отражение в проблематике данного диссертационного исследования, в том числе в положении, выносимом на защиту. В этом же разделе обоснована актуальность изучения роли половых стероидов (эстрадиола и тестостерона) в период лактации в отношении родительского поведения самок (в отличие от гораздо лучше изученного эффекта эстроген-прогестеронового сдвига в периоды беременности и родов). В разделе Обзора, посвященного иммунитету, основной акцент сделан на описании механизмов подавления иммунитета самок вследствие трейд-оффов, возникающих из-за увеличения энергозатрат, снижения концентрации необходимых микроэлементов, увеличения концентрации стероидных гормонов и др. (Hamilton, Zuk, 1982; Мошкин и др., 2003). Подробное рассмотрение этих связей, предпринятое автором, оказалось чрезвычайно важным для полноценного анализа данных работы, связанных с иммунологическим аспектом родительского вклада. Раздел, посвященный характеристике исследуемых видов, в лаконичной форме

дает представление о характерных чертах их биологии и социальности и более подробно - о различных аспектах материнской заботы и степени их изученности.

В целом, Обзор литературы производит впечатление всестороннего анализа проблемы, дает представление о наиболее актуальных и малоизученных темах и позволяет оценить место и значимость исследования, предпринятого Г.С. Алексеевой.

Глава Материалы и методы (5 стр.) - одна из самых кратких в работе. В ней указан объем материала, описаны типы вольер и условия содержания в них кошек и рысей, а также дано самое общее представление об использованных методах – 1) этологических, 2) иммунохимических, 3) гематологических и 4) физиологических, которыми в данном случае обозначали измерение массы тела у самок и детенышей домашней кошки. Главу завершает описание использованных статистических методов. Краткость раздела объясняется структурой работы – подробное описание каждой группы методов приведено в соответствующих по темам главах работы, где затем представлены результаты. Учитывая комплексный характер исследования, подобная структура работы выглядит оправданной, хотя и небесспорной. Большая часть результатов основана на данных по 21 выводку от 11 самок домашней кошки в возрасте 1-5 лет, которым позволяли размножаться один раз в году примерно в одни и те же сроки.

Все пять глав с результатами (№№4-8) построены по одному принципу – они состоят из вводной части, где представлена проблема и сформулированы основные вопросы данного исследования, разделов «Материалы и методы», «Результатов» и довольно подробного «Обсуждения». Самая большая глава (№4, 26 стр.), а также главы №7 и №8, фактически состоят из двух. Каждая из них имеет ту же рубрикацию, что и остальные главы. Общий объем пяти глав составляет 103 стр.

Глава 4 посвящена поведению самок и детенышей. В первой ее части (главе 4.1) поставлен вопрос о том, как влияет размер выводка на интенсивность материнского поведения у домашней кошки. На основе обработки данных видеорегистраций (1980 часов съемки) определяли 3 меры интенсивности материнского поведения – время нахождения самки с котятками, продолжительность кормления котят молоком и продолжительность их вылизывания. В расчете на выводок не было выявлено различий в показателях

интенсивности заботы у матерей, выкармливающих мелкие и крупные выводки. К сожалению, автор не проясняет вопрос о том, как соотносятся уровни заботы в расчете на одного котенка в выводках разного размера. Информация об этом важна, так как для понимания функциональных аспектов родительского поведения имеют значение индивидуальные показатели качества потомков. Из описания методов наблюдений остается не ясным, была ли у автора принципиальная возможность оценить помимо расчетных величин персональное распределение материнской заботы между котятками.

В главе 4.2 представлены результаты сравнительного анализа игрового поведения детенышей домашней кошки и евразийской рыси. Это единственная часть работы, где использованы оригинальные данные по рыси. Результаты основаны на детальной классификации игровых взаимодействий у обоих видов. Рассмотрены как взаимодействия между матерью и детенышами, так и игры между детенышами. Показано, что у обоих видов размер выводка не влияет на частоту игровых взаимодействий. Отличия во временной динамике игрового поведения котят и рысят обусловлены не различиями в размере выводка, а видовыми особенностями социализации и жизненных циклов исследуемых видов.

В главе 5 представлены результаты по динамике гормонального статуса самки. Была дана оценка вариации концентрации 4-х стероидных гормонов в крови самок к моменту спаривания, в период беременности (сразу после родов) и на различных фазах периода лактации. В вводной части поставлены основные вопросы – как гормональный статус самки связан с размером выводка, уровнем материнской заботы и качеством детенышей. Показано, что концентрация кортизола негативно связана с размером выводка. Это проявляется и на групповом (при сравнении больших и маленьких выводков), и на индивидуальном уровне (в виде корреляции рангов между концентрацией гормона и размером выводка) на определенных этапах периода лактации. Результат интересный и довольно неожиданный, учитывая, что кортизол – гормон стресса, а кормежка крупных выводков представляется более сильным стрессором, чем забота о меньшем по количеству потомстве. Поскольку повышенная концентрация этого глюкокортикоида была свойственна матерям небольших выводков еще на стадии спаривания, автор предполагает, что эти малоплодовитые самки изначально были

подвержены большему стрессу. В этом случае различие между двумя группами самок отражает не столько отличия в размерах выводков, сколько изначальные различия в их физиологических свойствах. С другой стороны, на индивидуальном уровне концентрация кортизола оказалась положительно связана с такими важными показателями материнской заботы, как продолжительность кормления и вылизывания котят в возрасте 2-х недель, что может свидетельствовать в пользу роли этого гормона в мобилизации ресурсов организма и, в частности, в увеличении секреции молока. Оба аспекта повышения кортизола отмечены автором в обсуждении, но остались не соотнесенными друг с другом.

Определенное рассогласование результатов анализа на групповом и индивидуальном уровне произошло и при оценке связи концентрации эстрадиола с размером выводка. Этот факт не получил должного обсуждения (стр. 85).

Следует отметить, что основным инструментом исследования автора является корреляционный анализ, который не позволяет определять направление причинно-следственных связей. Поэтому задачи, направленные на выяснение влияния какого-либо внутреннего фактора на показатели материнской заботы затруднены для показателей, почти линейно меняющихся в течение периода лактации, на фоне уменьшения (по крайней мере, после 4 недель) характеристик материнской заботы. Так, плавный рост концентраций тестостерона и эстрадиола у самок в течение периода лактации вовсе не означает, что именно эти гормоны обуславливают уменьшение их родительской заботы. Напротив, на индивидуальном уровне на определенном этапе периода лактации концентрация тестостерона положительно коррелировала с продолжительностью вылизывания. Автор прекрасно понимает это противоречие, но время от времени допускает неточности в формулировках при обсуждении результатов.

Глава 6 посвящена изучению клинической картины крови самок и ее связи с размером выводка, физиологическим состоянием самки и уровнем материнской заботы. При формулировании задачи в конце вводной части допущена стилистическая неточность, позволяющая считать, что речь идет о состоянии котят, а не самки (стр. 93). Прослежена динамика эритроцитов, уровня гемоглобина, гематокрита, общего количества лейкоцитов, их отдельных типов и соотношения нейтрофилов к лимфоцитам (возможного индикатора стресса) в течение периода

лактации. Некоторые из этих изменений позволяют выявить фазы ослабления иммунной защиты самок. Показано, что уровень гемоглобина и число лейкоцитов негативно связаны с размером выводка, что предполагает ограниченность важных ресурсов в организме наиболее плодовитых самок. С показателями материнской заботы были скоррелированы число лейкоцитов (положительно), соотношение нейтрофилы/лимфоциты и доля эозинофилов (отрицательно). В обсуждении дана ссылка на результат (стр. 103), где продемонстрирована противоположная по знаку связь между соотношением нейтрофилы/лимфоциты и показателями родительской заботы, но это как раз пример корреляции, возникшей за счет более или менее параллельных в течение периода лактации изменений двух явно независимых характеристик. Как справедливо указывает автор в другом месте текста (стр. 107), динамика соотношения нейтрофилов и лимфоцитов определяется их повышенным значением сразу после родов, оказывающих стрессовое воздействие на организм, с последующим возвращением показателя к норме. Данная положительная связь не подтверждается на индивидуальном уровне и неопределенное по форме упоминание об этом на стр. 110 может ввести читателя в заблуждение.

В главе 7, посвященной динамике массы тела у самки и детенышей, автор ставит вопрос о связи изменений массы с размером выводка. Эта связь проявилась как значимая на индивидуальном уровне: в период ослабления родительской заботы и перехода котят к твердой пище (4-6 недель) прирост массы самок был выше в больших выводках. Такой эффект, возможно, является компенсаторным, так как в больших выводках самки имели наибольшие (хотя и статистически незначимые) потери массы в период максимальной нагрузки (до 4 недель). Из гормонов только кортизол демонстрировал отрицательную связь с массой самок, что автор рассматривает как отражение роли глюкокортикоидов в активизации расходов ресурса организма. С другой стороны, слабая выраженность эффектов, связанных с репродуктивными потерями массы, рассматривается с позиций адаптивности сокращения текущего репродуктивного вклада кошек в условиях полициклического размножения.

В соответствии с ожиданиями автора средняя масса котенка в маленьких выводках превышала таковую для больших выводков в возрасте более 4 недель, однако различий в массе новорожденных из выводков разного размера не было.

Прямое сравнение средних темпов роста одного котенка из выводков разного размера в работе не представлено, хотя задача, поставленная в вводной части главы предполагала выполнение этой процедуры.

В главе рассмотрена связь изменений массы детенышей с различными физиологическими показателями самки. Здесь, как и выше, автор совершает, на мой взгляд, ошибку в использовании формулировок о влиянии на массу котят физиологических характеристик самки. Для их подтверждения привлекаются результаты ранговой корреляции между увеличивающимся с возрастом размером потомства и параллельно изменяющихся средних физиологических характеристик самок (стр. 121, последний абзац). Однонаправленность (или разнонаправленность) «...многих параллельно протекающих процессов...» вовсе не означает наличие их взаимного влияния. Например, тот факт, что детеныши с возрастом увеличиваются в размерах не обусловлено стрессом самки и кратковременным скачком соотношения нейтрофилов и лимфоцитов во время родов. В плане приближения к пониманию физиологических процессов гораздо информативнее представленные автором связи, полученные на индивидуальном уровне.

Глава 8 посвящена изучению соотношения иммунных характеристик самок и их детенышей. Была поставлена задача оценить динамику антител к патогенам у самок и котят на разных этапах периода лактации, в том числе до и после иммунного ответа, спровоцированного вакцинацией родителей и детенышей сразу после перехода последних на питание твердой пищей. Оценку проводили с учетом размера выводка и с использованием контроля в виде взрослых самцов и не рожавших самок. Эксперимент не выявил ожидаемого негативного эффекта размера выводка на состояние иммунной системы самок, что автор связывает с щадящим режимом размножения и вакцинации. Предполагалось, что в результате передачи антител от матери к потомству состояние иммунной системы детенышей определяется иммунными свойствами самки, а в негативном плане - размером выводка. Результаты эксперимента подтвердили роль иммунной системы самки в формировании защитных свойств детенышей и не выявили влияние размера выводка на активность иммунной системы котят. Если средние для выводка характеристики иммунной системы и были скоррелированы с таковыми у матери, то показатели силы их гуморального иммунного ответа не были взаимосвязаны.

Автор считает это свидетельством формирования собственного иммунитета у котят к моменту обретения самостоятельности.

Подробное обсуждение результатов со ссылками на источники представлено в каждой из 5 глав. С одной стороны, это хорошо структурирует работу и делает изложение ясным. С другой стороны, в кратком Заключение, подводящем основные итоги работы, непросто соотнести все основные моменты такого комплексного и масштабного исследования, которое предприняла Г.С. Алексеева. Например, только по совокупности результатов можно полноценно обсудить вопрос о том, почему повышенные нагрузки и мобилизация ресурсов организма (показателем чего рассматривается повышенный уровень кортизола) свойственны наименее плодовитым самкам.

В целом, рукопись хорошо написана и легко читается. В ней очень мало опечаток. Материал хорошо статистически обработан и репрезентативен. Автореферат полностью отражает текст и структуру диссертации. Высказанные мной замечания не снижают научной ценности работы, которая является существенным вкладом в изучение различных аспектов материнского эффекта в биологии. Я считаю, что диссертационная работа «ВЗАИМОСВЯЗЬ МАТЕРИНСКОГО ПОВЕДЕНИЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ САМОК ДОМАШНЕЙ КОШКИ (*FELIS CATUS*) С РАЗВИТИЕМ ИХ ДЕТЕНЬШЕЙ» по специальности «03.02.04 – зоология» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенным в пп. 9-14 «Постановления правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», а соискатель Галина Сергеевна Алексеева заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Анвар Бурханович Керимов, к.б.н., в.н.с.
биологического факультета МГУ
имени М.В. Ломоносова

Адрес: 119234; Россия, Москва, Ленинские горы,
стр. 12, Биологический факультет
МГУ. Тел. 8(495)9391518; 27-57; 8(916)520-61-58
E-mail: anvar_kerimov@mail.ru



kerimov