

УДК 599.323.4

**ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ОЛЬФАКТОРНОГО ОПЫТА
НА ВОСПРИЯТИЕ ЗАПАХА ХИЩНИКА
У ДОМОВЫХ МЫШЕЙ (*MUS MUSCULUS* L.; MURIDAE, MAMMALIA)**

А. Б. Клинов, И. Г. Кваша, В. В. Вознесенская

*Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН
Россия, 119071, Москва, Ленинский просп., 33
E-mail: artklinov495@gmail.com*

Поступила в редакцию 23.06.14 г.

Влияние раннего ольфакторного опыта на восприятие запаха хищника у домашних мышей (*Mus musculus* L.; Muridae, Mammalia). – Клинов А. Б., Кваша И. Г., Вознесенская В. В. – Исследовано влияние ежедневных экспозиций химических сигналов домашней кошки (моча, *L*-фелинин) детёнышам мышей линии C57BL/6J в критический период развития обонятельного анализатора (14 – 28-й день после рождения) на формирование паттернов исследовательского и пассивно-оборонительного поведения в присутствии искомым запахов в тесте «открытое поле» у взрослых животных. Ранний ольфакторный опыт достоверно снижал показатели пассивно-оборонительного поведения и показатели эмоциональной реактивности в ответ на хемосигналы хищника у взрослых животных, а также достоверно повышал показатели ориентировочно-исследовательского поведения.

Ключевые слова: химическая коммуникация, домовая мышь, исследовательское поведение, домашняя кошка, *L*-фелинин.

Influence of early olfactory experience on predator odor perception in the house mouse (*Mus musculus* L.; Muridae, Mammalia). – Klinov A. B., Kvasha I. G., and Voznessenskaya V. V. – We studied the influence of daily exposures of C57BL/6J mice pups to domestic cat chemical signals (cat urine or *L*-felinine) within the critical period of olfactory system development (the 14 – 28th days after birth) on the investigatory and passive-avoidance behavior patterns development in the presence of target odors in adulthood in an «open field» test. Early olfactory experience significantly decreased the indices of passive-avoidance behavior and emotional reactivity but raised the investigatory activity in adult mice in our «open field» test in the presence of target predator chemosignals.

Key words: chemical communication, house mouse, investigatory behavior, domestic cat, *L*-felinine.

ВВЕДЕНИЕ

Обонятельный анализатор – филогенетически одна из древнейших сенсорных систем организма. Для большинства видов млекопитающих анализ запаховых раздражителей является определяющим в организации сложных форм поведения. В отличие от других сенсорных систем, например, зрительной или слуховой, хемосенсорные системы являются динамичными в течение всего жизненного цикла животного. В основе этого явления лежат процессы непрерывного обновления обонятельного эпителия. Пластичность процессов в обонятельном анализаторе в значительной мере расширяет адаптивные возможности организма. Возможность модификации чувствительности животных к различного рода одорантам (Соколов, Вознесенская, 1997; Voznessenskaya et al., 1995) в зависимости от окружающей за-

паховой среды и предшествующей истории обонятельных контактов может расширять такие адаптивные возможности животного, как, например, поиск потенциального брачного партнёра или дистантно удалённых источников пищи, определение сигналов о потенциальной опасности, что, в конечном итоге, определяет приспособляемость животного к данной конкретной среде (Соколов и др., 1996; Voznessenskaya et al., 1995). Особый интерес представляет межвидовая химическая коммуникация в системе «хищник – жертва». Целью данной работы было определить влияние экспозиций мочи хищника (домашней кошки) и компонента мочи *L*-фелинина в раннем онтогенезе на поведение взрослых животных в условиях теста «открытое поле». *L*-фелинин – уникальная аминокислота, содержащая серу, обнаруженная в моче домашней кошки (*Felis catus*) и у некоторых других представителей семейства кошачьих. Фелинин и его производные выводятся с мочой и рассматриваются как феромоны кошачьих (Rutherford et al., 2002; Miyazaki et al., 2006).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты проводили на мышах инбредной лабораторной линии C57BL/6J. Мыши линии C57BL были выбраны на основе данных литературы о высоком уровне исследовательской активности этих животных (Бородин и др., 1976; Вознесенская, Полетаева, 1987). Животных содержали в условиях вивария в стандартных клетках при световом режиме 12/12. Температура в помещении варьировала от 20 до 22°C. Сбалансированный комбикорм, зерно, вода были в свободном доступе. Моча домашней кошки (*Felis catus*) использовалась как источник химических сигналов симпатрического хищника. Мочу собирали от половозрелых животных в эмалированную посуду, после чего замораживали и хранили при -20°C до момента использования. *L*-фелинин (US Biologicals, США) в концентрации, сопоставимой с естественной в моче домашней кошки (0.05%), использовали как потенциальный химический сигнал хищника (Вознесенская, Маланьина, 2013; Voznessenskaya, 2014). В качестве контроля использовали дистиллированную воду. Экспозицию мочи домашней кошки, *L*-фелинина или воды детёнышам домовый мыши проводили в возрасте с 14 – 28 день с момента рождения, т. е. в период синаптогенеза. Этот период развития у мышей считается критическим для запечатления запахов (Соколов, Вознесенская, 1997; Voznessenskaya et al., 1999). На стерильный ватный диск наносили 100 мкл мочи, раствора 0.05% *L*-фелинина, либо воды, после чего его помещали непосредственно в клетку с животными, чтобы обеспечить прямой доступ малолетучих компонентов выделений хищника, поскольку хемосигналы домашней кошки у мышей в значительной мере воспринимаются и анализируются вомероназальной системой (Voznessenskaya et al., 2006, 2007). Запаховая метка обновлялась два раза в неделю. Внесение запаха на ватном диске гарантировало плотный контакт детёнышей домовый мыши с исследуемым запахом за счёт того, что самка использовала диск в качестве гнездового материала.

Ориентировочно-исследовательское поведения оценивали с помощью теста «открытое поле». Нами была использована модификация «Hole board» этой методики. В отличие от стандартного теста «открытое поле», данная модификация позволяет учитывать дополнительный элемент ориентировочно-исследовательского

поведения – исследование отверстий в полу, так называемые «норковые реакции». Экспериментальная установка представляет собой открытую арену диаметром 40 см с отверстиями в полу, окружённую бортом высотой 50 см (Вознесенская, Полетаева, 1987). Под центральное отверстие в полу помещали чашку Петри с образцом мочи кота (150 мкл) или *L*-фелинина (0.05%, 150 мкл), под остальные отверстия помещали идентичные чашки с образцом дистиллированной воды. В течение 15 мин после помещения животного в центр поля регистрировали: количество вертикальных стоек, норковых реакций, актов дефекации и урикации, актов груминга и суммарное время груминга, а также количество актов замирания и их суммарную продолжительность. Были использованы следующие группы экспериментальных животных.

Мыши контрольной группы 1 ($n = 13$) не подвергались никаким экспозициям в раннем онтогенезе. В возрасте трёх месяцев у них была протестирована исследовательская активность в открытом поле (Hole board) в отсутствие искомым образцов запахов. Таким образом, эта группа мышей была использована как референтная. Мыши контрольной группы 2 ($n = 20$) и контрольной группы 3 ($n = 20$) также не имели опыта обонятельных контактов с образцами мочи кошки или фелинина в раннем онтогенезе, но при тестировании исследовательской реакции в поле в возрасте трёх месяцев мы помещали под центральное отверстие в полу чашку Петри с образцом мочи кота или образцом *L*-фелинина соответственно. Животные опытных групп 1 и 2 были экспонированы к *L*-фелинину ($n = 24$) или моче кота ($n = 22$) в критический период развития обонятельного анализатора в раннем онтогенезе и при тестировании в открытом поле в возрасте трёх месяцев мы также помещали под центральное отверстие в полу чашку Петри с образцом мочи кота или образцом *L*-фелинина соответственно.

Статистическую обработку результатов производили с помощью программы Statistica 8. Проверку распределения значений в выборке на нормальность выполняли с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для межгрупповых сравнений в поведенческих тестах использовали параметрические критерии (тест Стьюдента) и непараметрические – критерий Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследовательское поведение, вызываемое новой обстановкой и новыми предметами, представлено у грызунов поведенческими актами и позами, которые способствуют сбору информации о незнакомых элементах ситуации (Kotenkova et al., 1994). Поскольку помещение мыши на открытую освещённую площадку вызывает не только стремление исследовать новую обстановку, но и страх, то традиционно показатели поведения в этой ситуации принято трактовать как динамический баланс этих двух тенденций (Титов, Каменский, 1980). Высокий уровень локомоций принято трактовать как показатель высокой исследовательской тенденции, тогда как обратное соотношение этих показателей обычно служит признаком высокого уровня пугливости. Как хорошо известно из данных литературы, вставания на задние лапы (вертикальные стойки) и засовывания мордочки в отверстия (норковые реакции) можно рассматривать как показатели ориентировочно-исследова-

ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ОЛЬФАКТОРНОГО ОПЫТА

тельского поведения, тогда как время пребывания в неподвижном состоянии (замирание) – как показатель пассивно-оборонительного поведения. Таким образом, ситуацию «открытого поля» можно рассматривать как конфликтную между тенденцией к исследованию у животного и страхом. Показателем степени конфликтности в этом тесте является продолжительность актов груминга и их количество (Крушинский, 1986). Помимо биологической функции, груминг часто выступает в роли адаптивной реакции на боль, стресс. Для грызунов длительный груминг рассматривается как реакция на стресс. В целом ряде работ показано, что сильный стресс приводит к снижению двигательной активности животных в целом на фоне возросшего по продолжительности груминга (Stone et al., 1995).

В контрольном эксперименте 2 и 3 на предъявление как образца мочи кота, так и *L*-фелинина в тесте «открытое поле» мыши реагировали достоверным снижением основных показателей исследовательского поведения, а именно снижением числа вертикальных стоек и числа «норковых реакций». Также достоверно снижалось суммарное время груминга и возрастало число дефекаций. Полученные данные можно объяснить повышением уровня стрессированности животных в присутствии химических сигналов хищника. Это положение подтверждается нашими более ранними данными о продолжительном достоверном повышении концентрации основного гормона стресса кортикостерона в плазме крови мышей при контакте с запахом домашней кошки (Вознесенская, Маланьина, 2013; Voznesenskaya, 2014). Мы наблюдали половые различия в реакции как на мочу кота, так и на *L*-фелинин в условиях теста «открытое поле».

В ответ на предъявление образцов мочи кота самки демонстрировали больше норковых реакций (t -test, $p < 0.01$, $n = 10$), актов дефекации (t -test, $p < 0.05$, $n = 10$) и достоверно чаще замирали (Mann – Whitney test, $p < 0.01$, $n = 10$), чем самцы. В ответ на предъявление образцов фелинина (0.05%) самки также демонстрировали больше норковых реакций (t -test, $p < 0.05$, $n = 10$), вертикальных стоек (t -test, $p < 0.01$, $n = 10$) и имели более высокое число индивидуальных актов груминга (Mann – Whitney test, $p < 0.05$, $n = 10$), чем самцы. Таким образом, в тесте «открытое поле» мы наблюдали более выраженное

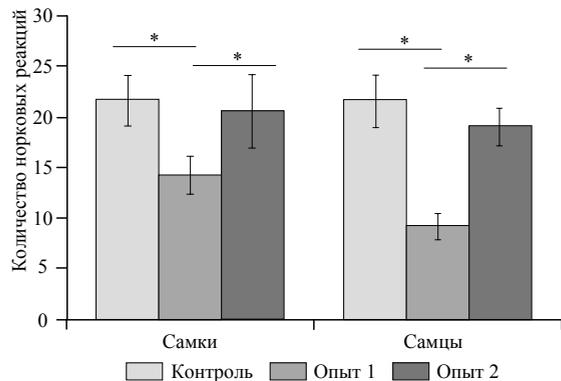


Рис. 1. Влияние экспозиций мочи домашней кошки детёнышам мышей линии C57BL/6J в критический для запечатления запахов период развития (14 – 28-й день после рождения) на количество «норковых реакций» в тесте «открытое поле» в ответ на предъявление искомого образца мочи у мышей в возрасте трёх месяцев (* – $p < 0.05$, критерий Стьюдента): контроль – тестирование в отсутствие образца запаха хищника ($n = 13$); опыт 1 – тестирование в присутствии образца мочи кота ($n = 20$); опыт 2 – экспозиции в раннем онтогенезе образцов мочи кота, тестирование в присутствии образца мочи кота в возрасте трёх месяцев ($n = 22$)

снижение исследовательской активности в ответ на предъявление химических сигналов хищника у самцов, чем у самок. Наблюдаемые различия находятся в хорошем согласии с исследованиями на гормональном уровне. Самки и самцы домашних мышей различаются по стресс-реактивности. В норме самки характеризуются более высоким базальным уровнем кортикостерона в плазме крови, но при этом более низким уровнем ответа по отношению к базальному уровню и более высокой вариабельностью гормонального ответа на предъявление запаха хищника по сравнению с самцами (Voznessenskaya, 2014; Voznessenskaya et al., 2014).

Экспозиции химических сигналов домашней кошки (как мочи, так и фелинина) домовым мышам в критический период раннего постнатального развития, а именно с 14 по 28 день со дня рождения, оказали достоверное влияние на показатели исследовательской активности и пассивно-оборонительного поведения этих животных во взрослом состоянии в тесте «открытое поле» с предъявлением образцов искомым запахам. Самки, получавшие экспозиции мочи кота в раннем онтогенезе, демонстрировали достоверное снижение частоты таких элементов поведения, как количество замираний (Mann – Whitney test, $p < 0.01$, $n = 11$) и дефекации (t -test, $p < 0.01$, $n = 11$) в ответ на предъявление мочи кота в тесте, а также меньше времени тратили на груминг (t -test, $p < 0.01$, $n = 11$) и замирания (Mann – Whitney test, $p < 0.01$, $n = 11$), чем самки в соответствующей контрольной группе, которые не получали экспозиции к моче кота в критический период развития в ран-

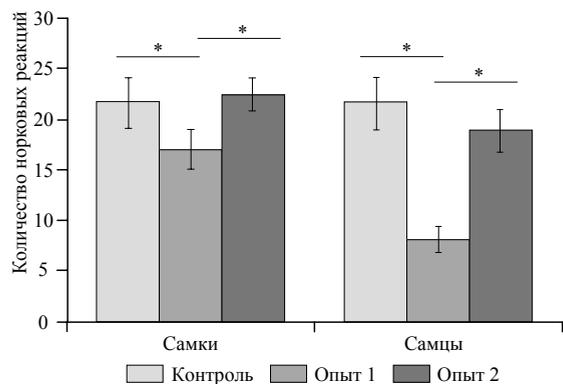


Рис. 2. Влияние экспозиций *L*-фелинина (0.05%) детёнышам мышей линии C57BL/6J в критический для запечатления запахов период развития (14 – 28-й день после рождения) на количество «норковых реакций» в тесте «открытое поле» в ответ на предъявление искомого хемосигнала у мышей в возрасте трёх месяцев (* – $p < 0.05$, критерий Стьюдента): контроль – тестирование в отсутствие образца *L*-фелинина ($n = 13$); опыт 1 – тестирование в присутствии образца *L*-фелинина ($n = 20$); опыт 2 – экспозиции в раннем онтогенезе образцов *L*-фелинина; тестирование в присутствии образца *L*-фелинина в возрасте трёх месяцев ($n = 24$)

нем онтогенезе. Самцы той же экспериментальной группы (опыт 1) по сравнению с контрольными самцами (контроль 2) меньше времени тратили на груминг (t -test, $p < 0.01$, $n = 11$) и замирания (Mann – Whitney test, $p < 0.01$, $n = 11$) и в целом совершали меньше актов груминга (Mann – Whitney test, $p < 0.01$, $n = 11$) и замираний (Mann – Whitney test, $p < 0.01$, $n = 11$). При этом как самцы, так и самки этой экспериментальной группы (опыт 1) достоверно чаще делали вертикальные стойки (t -test, $p < 0.05$, $n = 11$) и проявляли норковые реакции (t -test, $p < 0.01$, $n = 11$) (рис. 1).

Самки экспериментальной группы 2 (получавшие экспозиции *L*-фелинина в раннем онтогенезе) чаще, чем контрольные животные (контроль 3) проявля-

ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ОЛЬФАКТОРНОГО ОПЫТА

ли норковые реакции (t -test, $p < 0.05$, $n = 13$) (рис. 2) и делали вертикальные стойки (t -test, $p < 0.05$, $n = 13$), а также совершали достоверно больше актов груминга (Mann – Whitney test, $p < 0.01$, $n = 13$). В то же время на груминг они тратили достоверно меньше времени (t -test, $p < 0.01$, $n = 13$). Также по сравнению с контрольными животными они реже (Mann – Whitney test, $p < 0.01$, $n = 13$) и не так продолжительно (Mann – Whitney test, $p < 0.01$, $n = 13$) замирали и реже совершали акты дефекации (t -test, $p < 0.01$, $n = 13$). Самцы, экспонированные к L -фелинину в раннем онтогенезе, совершали достоверно больше норковых реакций (t -test, $p < 0.01$, $n = 11$) (см. рис. 2) и актов груминга (t -test, $p < 0.05$, $n = 11$), чем контрольные. Время груминга, как и у самок, было снижено по сравнению с контролем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основе совокупности полученных данных можно сделать заключение, что опыт обонятельных контактов с химическими сигналами домашней кошки в раннем онтогенезе способствует достоверному снижению показателей пассивно-оборонительного поведения у взрослых животных в ответ на искомые химические сигналы. При этом наблюдается смещение поведения животных экспериментальной группы, имевших ранний ольфакторный опыт с хемосигналами хищника, в сторону исследовательской активности. Экспозиции как мочи домашней кошки, так и феромона кошачьих L -фелинина в критический период развития обонятельного анализатора не влияют на частоту и продолжительность элементов поведения, которые обычно связывают с высокой стрессированностью животного, например, груминга.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-05011) и Программой РАН «Живая природа».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бородин П. М., Шюлер Л., Беляев Д. К. Проблемы генетики стресса. Генетический анализ поведения мышей в стрессирующей ситуации // Генетика. 1976. Т. 12, № 12. С. 62 – 71.
- Вознесенская В. В., Маланьина Т. В. Влияние химических сигналов хищника *Felis catus* на репродукцию домовую мышь *Mus musculus* // Докл. РАН. 2013. Т. 453, № 2. С. 227 – 231.
- Вознесенская В. В., Полетаева И. И. Ориентировочно-исследовательская реакция мышей с различным генотипом под влиянием АКТГ 4-10 // Журн. высшей нервной деятельности. 1987. Т. 37, № 1. С. 174 – 176.
- Крушинский Л. В. Биологические основы рассудочной деятельности. М. : Изд-во МГУ, 1986. 270 с.
- Соколов В. Е., Вознесенская В. В., Вайсоки Ч. Д. Индуцированная чувствительность к одорантам : новый феномен // Докл. РАН. 1996. Т. 347, № 3. С. 843 – 847.
- Соколов В. Е., Вознесенская В. В. Роль раннего ольфакторного опыта в индивидуальном распознавании серой крысы // Докл. РАН. 1997. Т. 355, № 1. С. 140 – 142.
- Титов С. А., Каменский А. А. Роль ориентировочного и оборонительного компонентов в поведении белых крыс в условиях «открытого поля» // Журн. высшей нервной деятельности. 1980. Т. 30, № 4. С. 704.

Kotenkova E. V., Meshkova N. N., Zagoruiko N. V. Exploratory behaviour in synanthropic and outdoor mice of superspecies complex *Mus musculus* // Polish Ecological Studies. 1994. Vol. 20, № 3 – 4. P. 375 – 381.

Miyazaki M., Yamashita T., Suzuki Y., Soeta S., Taira H., Suzuki A. A major urinary protein of the domestic cat regulates the production of feline, a putative pheromone precursor // Chem. Biol. 2006. Vol. 13, № 10. P. 1071 – 1079.

Rutherford K. J., Rutherford S. M., Moughan P. J., Hendriks W. H. Isolation and characterization of a feline-containing peptide from the blood of the domestic cat (*Felis catus*) // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277, № 1. P. 114 – 119.

Stone A., Manavalan S., Zhang Y., Quartermain D. Beta-adrenoreceptor blockade mimics effects of stress on motor activity in mice // Neuropsychopharmacol. 1995. Vol. 12, № 1. P. 65 – 71.

Voznessenskaya V. V. Influence of Cat Odor on Reproductive Behavior and Physiology in the House Mouse (*Mus musculus*) // Neurobiology of Chemical Communication (Frontiers in Neuroscience Book Series) / ed. C. Musignat-Caretta. Boca Raton : CRC Press, 2014. P. 389 – 405.

Voznessenskaya V. V., Feoktistova N. Y., Wysocki C. J. Is there a period during neonatal development for maximal imprinting an odor? // Advances in Chemical Signals in Vertebrates / eds. R. E. Johnston, D. Müller-Schwarze, P. W. Sorensen. New York : Kluwer, 1999. P. 617 – 621.

Voznessenskaya V. V., Klyuchnikova M. A., Voznesenskaia A. E. The role of vomeronasal organ in mediating responses to predator odor // Chem. Senses. 2007. Vol. 32. P. 33.

Voznessenskaya V. V., Malanina T. V., Klinov A. B., Laktionova T. K. Gender specific responses to predator chemical cues in the house mouse : the effects of early olfactory experience // Chem. Senses. 2014. Vol. 39, № 1. P. 113.

Voznessenskaya V. V., Voznesenskaia A. E., Klyuchnikova M. A. The role of vomeronasal organ in reception of predator scents // Chem. Senses. 2006. Vol. 31, № 8. P. 43 – 44.

Voznessenskaya V. V., Parfyonova V. M., Wysocki C. J. Induced Olfactory Sensitivity in Rodents : A General Phenomenon // Adv. Biosci. 1995. Vol. 93. P. 399 – 406.

Voznessenskaya V. V., Wysocki C. J. Exposure of mice to androstenone induces behavioral sensitivity to androstenone // Chem. Senses. 1994. Vol. 19, № 5. P. 569 – 570.