На правах рукописи

Новикова Екатерина Сергеевна

ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА И ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕТА НА РЕГУЛЯЦИЮ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ У ТАРАКАНА PERIPLANETA AMERICANA L.

1.5.5 – Физиология человека и животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена в Лаборатории сравнительной сенсорной физиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук

Научный руководитель:

Жуковская Марианна Исааковна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук

Официальные оппоненты:

Вольнова Анна Борисовна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник кафедры Общей физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Санкт-Петербургского государственного университета

Зачепило Татьяна Геннадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук

Ведущая организация:
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова»

Защита состоится «18 января» 2022 года в 11 часов на заседании диссертационного совета 24.1.152.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44, тел. (812)552-79-01, электронная почта office@iephb.ru, сайт http://iephb.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова (Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44), с авторефератом – на сайте Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова http://iephb.ru/sovet.htm

Автореферат разослан «___ _»_ _____2021 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук Р.Г. Парнова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Зрение обеспечивает организм информацией о внешней среде, позволяет находить ресурсы, ориентироваться в пространстве и организовывать свою активность в соответствии со временем суток. Поиск пищи, навигация и половое поведение связаны со спектральным составом поступающего сигнала и зачастую регулируются отдельными типами фоторецепторов (Song, Lee, 2018).

У насекомых есть 2 типа зрительных органов — простые глазки и сложные фасеточные глаза. Именно сложные глаза отвечают за синхронизацию ритмов активности (Helfrich Förster, 2020). В формировании оптомоторной реакции на свет ключевую роль играют сложные глаза, в то время как простые глазки выполняют модулирующую функцию (Honkanen et al., 2018). В составе сложных глаз присутствуют фоторецепторы нескольких спектральных классов, что позволяет им различать цвета. Выделяют так называемое истинное цветовое зрение, когда насекомое различает цвет независимо от интенсивности, и светозависимые реакции, которые обусловлены светом определенной длины волны и его интенсивностью. Первое описано, в частности, у пчел и бабочек, которые используют цветовое зрение в пищедобывательном поведении и легко обучаются находить нужные цветы с нектаром (Фриш, 1955; Kinoshita, Arikawa, 2014). Светозависимые реакции регулируются через фоторецепторы разных спектральных классов. Так, оптомоторная реакция у пчел, мух и саранчи контролируется зеленочувствительными рецепторами, а реакция избегания и «dorsal light response» — переворачивание в полете дорзальной стороной тела к свету — ультрафиолет-чувствительными (Kelber, Osorio, 2010). Фототаксис — одна из самых распространенных светозависимых реакций — может менять знак на противоположный при увеличении интенсивности света (Menzel, 1979; Van Grunsven et al., 2014; Song, Lee, 2018).

Фоторецепторы сложных глаз участвуют в синхронизации внутренних часов и формировании циркадных ритмов активности. В глазах американского таракана присутствуют 2 типа фоторецепторов, чувствительных к коротковолновому и длинноволновому свету (Mote, Goldsmith,1970). Зрительные нервы коротковолнового оптического пути несут аксоны ко второму оптическому ганглию, медулле, а длинноволнового – к первому оптическому ганглию, ламине, причем оба пути связаны с внутренними часами, расположенными в медулле, и способны синхронизировать ритм (Helfrich Förster, 2020).

Регуляция активности животного светом может обходить механизмы внутренних часов. Описан так называемый эффект маскинга, частным проявлением которого является снижение активности в связи с внезапным освещением в скотофазу (Mrosovsky, 1999), однако при использовании света низкой интенсивности (соразмерной лунному свету) активность, напротив,

повышается (Kempinger et al., 2008; Schlichting et al., 2014). Маскинг способен вызвать состояние покоя или активности, однако не влияет на внутренний суточный ритм (Vivanco et al., 2010). В отличие от синхронизации внутренних часов с внешним суточным ритмом, маскинг вызывает быстрые и обратимые изменения в активности. Насекомые, мутантные по генам внутренних часов сус и clk, могут оставаться синхронизированными с окружающей средой через механизм маскинга, но теряют ритмичность, как только выключаются внешние циклы свет-темнота (Kempinger et al., 2009).

Поведение насекомых имеет сложную многокомпонентную регуляцию, вклад спектральных характеристик света, воспринимаемого фоторецепторными клетками, в регуляции активности исследован недостаточно. Мало изучено сноподобное состояние у насекомых, нет четких и простых критериев для определения этого состояния, практически не изучен эффект маскинга. Данные об активности насекомых, полученные с помощью актографов, не всегда отражают реальную картину поведения животного. Активная фаза может не сопровождаться пространственными перемещениями (питание, половое поведение), а локомоция отражать поиск укрытия или миграцию (Rowland, 1989; Reebs, 2002; Matthews, Matthews, 2009; Romero et al., 2010).

Наши эксперименты направлены на подробный анализ физиологических реакций, вызываемых светом, преимущественно активирующим фоторецепторы разных спектральных классов у ночного насекомого, американского таракана *Periplaneta americana* L.

Искусственное освещение ночью — антропогенное световое загрязнение, и его влияние на живые организмы и экосистемы в целом в последнее время привлекает большой интерес не только ученых, но и общественных организаций, включая ООН. Изученные в представленной работе эффект маскинга и возможные отклонения от типичной поведенческой программы, вызванные освещением разной интенсивности и спектрального состава в темновую фазу суточного цикла, позволяют оценивать влияние светового загрязнения в современном мире на поведение и численность насекомых в естественных и антропогенных биоценозах.

Цель исследования — определение роли параметров света в регуляции поведения ночного насекомого, таракана *Periplaneta americana*, в темновую фазу суточного цикла.

Для успешного достижения данной цели были поставлены и последовательно решены следующие **задачи:**

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

2. Оценить действие даун-регуляции зеленочувствительного и ультрафиолет-чувствительного зрительных пигментов, выполненной методом

РНК-интерференции, на выраженность поведенческих ответов на коротко- и длинноволновое освещение.

3. Выявить роль экранирующего пигмента глаза в выраженности поведенческой реакции в ответ на стимуляцию длинноволновым светом.

4. Проанализировать поведение тараканов в убежище во время фотофазы, когда насекомые неактивны, и сопоставить с реакцией замирания, вызванной светом во время скотофазы.

Научная новизна исследования

Впервые были показаны альтернативные реакции на свет у американского таракана: замирание, характеризующееся полной неподвижностью, и увеличение локомоторной активности, которые зависели от спектрального состава и интенсивности освещения. Выявлены особенности поведенческих ответов мутантных особей линии pearl с отсутствующим экранирующим пигментом глаза на световые стимулы: активность при освещении низкой интенсивности соответствовала поведению тараканов при более ярком свете, несмотря на более короткие рабдомы и низкую чувствительность к свету отдельных фоторецепторов (Saari et al., 2018 a). Разработан и апробирован новый метод неинвазивной регистрации электроретинограммы от всей поверхности обоих сложных глаз насекомого. Ранее применявшаяся методика показала разные ответы от разных участков глаза, кроме того, при отведении нарушалась целостность глаза, затрудняя исследование одного насекомого до и после экспериментального воздействия (French et al., 2015). Предлагаемый нами метод позволил избежать эти ограничения, сохраняя, тем не менее, высокую чувствительность и воспроизводимость. Впервые проведены поведенческие исследования на тараканах с выборочным сайленсингом генов фоторецепторных белков (pGO1 и pUVO), изменения в поведении, однако, оказались более слабыми, чем падение экспрессии соответствующих опсинов и величины ответов фоторецепторов, описанные в литературе (French et al., 2015, Saari et al., 2018 b) и полученные нами с помощью электроретинографии. Выделены формы поведения американского таракана, характерные для дневной фазы суточного цикла в убежище: длительная чистка брюшка и генитального аппарата, периодические вздрагивания и горизонтальные повороты брюшком. Описанные нами периоды полной неподвижности, обнаруживались у большинства особей и занимали значительную долю времени в начале фотофазы, что подтверждает предложенную нами гипотезу о проявлении эффекта маскинга.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные результаты необходимы и важны для дальнейших исследований в области светозависимых физиологических реакций насекомых, участвующих в формировании поведения, и могут быть использованы в курсах физиологии насекомых профильных ВУЗов. Представленные данные позволят оценить возможные изменения в поведении животных при световом загрязнении. В свою очередь, возможность регуляции поведения насекомых-вредителей может нести прикладную ценность для контроля их численности на определенной территории, снижая необходимость использования химических средств защиты растений.

Методология и методы исследования

Для решения поставленных экспериментальных задач были применены разработанные ранее и оригинальные физиологические, этологические, морфологические и генетические методы и подходы, среди которых видеорегистрация и этологический анализ поведения животного, методы сенсорной физиологии, которые включали в себя снижение чувствительности сенсорного органа генетическими методами (РНК-интерференции и использованием мутантной линии *pearl*) при стимуляции светом различного спектрального состава и интенсивности, электроретинографию, а также методы биоритмологии (изучение реакций животного в разные фазы суточного цикла).

Положения, выносимые на защиту

1. Замирания — периоды полной неподвижности — возникают при стимуляции насекомого коротковолновым светом во время скотофазы у ночного насекомого, американского таракана, и относятся к эффекту маскинга. Стимуляция длинноволновым светом в период скотофазы приводит к увеличению локомоторной активности.

2. Маскинг, как и сноподобное состояние, характеризуется периодами полной неподвижности, однако имеются некоторые различия. Состояние покоя у американского таракана во время фотофазы характеризуется длительными периодами неподвижности, редким грумингом, преимущественно каудальной половины тела, и горизонтальными поворотами брюшка. Эффект маскинга при освещении насекомого в начале скотофазы не сопровождается горизонтальными поворотами брюшком, и таракан сохраняет высокий уровень груминга, особенно антенн и передних конечностей, что свойственно насекомому в активную фазу.

3. Яркий свет (интенсивностью 75 мкВт/см^2 или выше) любого спектрального состава в пределах спектральной чувствительности глаза, предъявленный во время скотофазы, вызывает изменения груминга, свидетельствующие о возникновении стресса.

4. Мутантные особи линии *pearl*, лишенные экранирующего пигмента глаза, показывают реакцию на длинноволновое освещение, характерную для тараканов дикого типа при более высокой интенсивности.

Степень достоверности и апробации работы

Степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным количеством наблюдений, современными методами исследований, которые соответствуют поставленным в работе целям и задачам. Сформулированные в диссертации выводы были подтверждены экспериментальным материалом, представленным в таблицах и рисунках.

Подготовка, статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием стандартных методов.

Основные положения диссертационной работы апробированы на Российских и Международных конференциях: ICN 2014 July 28 -August 1 2014 Sapporo, Japan; Конференция «Ориентации и навигации животных», 13-17 октября 2014, Москва, Россия; 14th ESITO September 20-25 2015 Villasimius, Italy; 9th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry August 23-28 2015 Krakow, Poland; 21st East European Conference of the International Society for Invertebrate Neurobiology May 15-19 2016 Zvenigorod, Russia; 23rd International "Stress and Behavior" Neuroscience and Biopsychiatry Conference May 16-19 2016 Saint-Petersburg, Russia; Первая российская конференция «Физика – наукам о жизни», 12-16 сентября 2016, Санкт-Петербург, Россия; Пятнадцатое Всероссийское Совещание с международным участием и восьмая Школа по эволюционной физиологии, 17-22 октября 2016 г., Санкт-Петербург, Россия; “Visionarium” quindecimus XV at Tvarminne Zoological Station October (20)21-23 2016 Helsinki, Finland; 15th ESITO September 17-22 2017 Villasimius, Italy; VI Всероссийская конференция по поведению животных, 4-7 декабря 2017, Москва, Россия; Интегративная физиология: Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 170-летию со дня рождения И.П. Павлова, 24-26 сентября 2019, Санкт-Петербург, Россия; II научная конференция «Ориентации и навигации животных», 2-4 октября 2019, Москва, Россия; XVI Всероссийская конференция с международным участием “Совещание по эволюционной физиологии имени академика Л.А. Орбели”, 19–22 октября 2020, Санкт-Петербург, Россия; Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология», посвященная 95-летию Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, 9-11 декабря 2020, Санкт-Петербург, Россия.

Публикации. Материалы диссертации изложены в 21 публикации, из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации

диссертационных исследований, 16 тезисов докладов всероссийских и международных конференций.

Личный вклад автора. Автор планировал диссертационное исследование и разрабатывал дизайн экспериментов, поддерживал культуру лабораторных животных. Все экспериментальные результаты, приведенные в диссертационной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии. Автор проводил статистическую обработку полученных данных, анализировал и обобщал их, принимал участие в подготовке публикаций по материалам работы, представлял результаты на всероссийских и международных конференциях. Имена соавторов указаны в соответствующих публикациях.

Финансовая поддержка работы. Работа выполнена с использованием средств государственного бюджета по госзаданию на 2013-2017 годы (№ г.р. 01201351571), гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 13-04-00610, гранта для студентов ВУЗов, расположенных на территории Санкт-Петербурга, аспирантов ВУЗов, отраслевых и академических институтов, расположенных на территории Санкт-Петербурга на 2016 год.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 139 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений, словаря терминов, списка цитируемой литературы (237 источников) и приложения. Работа проиллюстрирована 44 рисунками и 13 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные животные. В работе использованы самцы тараканов *Periplaneta americana* L. (Insecta: Blattodea: Blattidae) дикого типа и мутантной линии *pearl* (Ross et al., 1964), у которых отсутствует экранирующий пигмент в сложных глазах. Возраст особей составлял 2-4 недели после линьки на имаго. Насекомых содержали в климатической камере Sanyo MLR-352H при инвертированном фоторежиме 12:12 ч (свет : темнота), температуре 24-28° С и влажности 40 %. Всего в работе использовали 209 особей.

Экспериментальная установка. Экспериментальная установка для наблюдения за поведением насекомых состояла из вольера размером 350 × 250 × 105 мм, в котором находилась вода и пища, соединенного с постоянно затемненным убежищем размером 150 × 150 × 100 мм. Инвертированный фоторежим 12:12 ч (свет : темнота) в основном вольере поддерживали включением и выключением лампы накаливания мощностью 35 Вт с помощью реле времени. Температуру 24-28° С и влажность 40 % поддерживали с помощью напольного тепловентилятора и открытых емкостей с водой.

Измерения проводили с помощью волоскового термогигрометра HAAR-SYNT.HYGRO.

При проведении эксперимента к вольеру присоединяли тестовую камеру размером 150 × 150 × 100 мм, которая постоянно освещалась фоновым темно-красным светом при помощи светодиодного фотофонаря “Рубин 3” (ЗАО НПО “Интротест”, Екатеринбург, в режиме низкой освещенности). Во время проведения эксперимента через камеру продувалась стандартная воздушная смесь, содержащая 20% кислорода и 80% азота, со скоростью 100 мл/мин, увлажненная барботированием через дистиллированную воду. Источник экспериментального освещения располагали над экспериментальной камерой, основную часть установки на время опыта отделяли черной плотной тканью. Регистрацию поведения проводили при помощи черно-белой видеокамеры типа VSC 756 USB (компания “ЭВС”, Россия) с разрешением 740 × 576 пикселей и частотой 25 кадров/с. Видеокамеру располагали на высоте 300 мм от пола тестовой камеры. Анализ видеофайлов производился покадрово с использованием программы Virtual.Dub (Lee A Virtual.Dub http://www.virtual.dub.org/index.html).

Источники экспериментального освещения. Для стимуляции обоих типов фоторецепторов использовали флуоресцентную лампу холодного света (Norslan 220V 50Hz/60Hz 24W, 6400 K) со значительной долей коротковолнового излучения. Для преимущественной стимуляции коротковолновых или длинноволновых фоторецепторов нами были сконструированы источники монохроматического УФ (400 нм) и зеленого (530 нм) света, которые были встроены в крышку экспериментальной камеры. 3 градации интенсивности (низкая, средняя и высокая) для монохроматического освещения соответствовали мощности излучения в центре камеры 1, 5 и 85 мкВт/см^2 (2.8 x10^{10}, 8.5 x 10^{12}, и 2.4 x 10^{14} фотонов/с/см^2) для УФ диодов и 10, 75 и 310 мкВт/см^2 (4.1 x 10^{12}, 9.7 x 10^{13}, и 1.1 x 10^{15} фотонов/с/см^2) для зеленых диодов. Выбранные нами интенсивности освещения находятся в пределах физиологической нормы и соответствуют ранним и поздним сумеркам и началу дня в естественных условиях.

Протоколы поведенческих экспериментов. Эксперименты с одиночными насекомыми проводили в течение первой половины темновой фазы, когда тараканы наиболее активны. После входа таракана в тестовую камеру, постоянно освещенную темно-красным фотофонарем, доступ в нее перекрывали дверцей. По истечении 10-минутного адаптационного периода проводили 2 сессии видеозаписи по 30 минут с перерывом в 10 минут. Непосредственно перед началом второй сессии включали дополнительное экспериментальное освещение. Каждое насекомое использовалось в экспериментах только один раз.

В серии экспериментов по исследованию поведения тараканов при переходе в неактивное состояние наблюдение проводили за группой самцов в убежище в начале фотофазы. Видеорегистрацию затемненного убежища выполняли 15 минут до и 30 минут после начала фотофазы. Наблюдения проводили за одной группой из 14 самцов. Доступ в убежище при этом не перекрывали.

Всего выполнено 6 серий экспериментов:

1) При отсутствии экспериментального освещения. Использовано 11 животных («Контроль Красный»).
2) При освещении флуоресцентной лампой (ФЛ) во второй сессии эксперимента («Белый свет», n=11).
3) При монохроматическом зеленом и УФ освещении трех интенсивностей во второй сессии эксперимента. Выполнено 13, 11 и 14 экспериментов при зеленом освещении («Зеленый 1», «Зеленый 2», «Зеленый 3») и 12, 9 и 13 — при УФ («УФ 1», «УФ 2», «УФ 3») низкой, средней и высокой интенсивностей соответственно. Всего использован 71 таракан.
4) При монохроматическом зеленом и УФ освещении низкой интенсивности во второй сессии эксперимента тараканов с выборочным сайленсингом генов опсинов методом РНК-интерференции. Для оценки распространения инъецируемого раствора и повреждений тканей при инъекции проводили морфологический контроль. Функциональное состояние сетчатки при даун-регуляции зрительного пигмента анализировали методом электроретинографии (ЭРГ) *in vivo*. Выполнено 15 экспериментов с контрольной инъекцией («Контроль GO») и 16 с инъекцией двуцепочечной РНК зеленого опсина («GO») при освещении зеленым светом. При освещении УФ светом выполнено 16 экспериментов с контрольной инъекцией («Контроль UVO») и 13 — с двуцепочечной РНК УФ опсина («UVO»). Всего использовано 60 тараканов.
5) При отсутствии экспериментального освещения и при монохроматическом зеленом освещении низкой интенсивности тараканов линии *pearl* (с отсутствующим экранирующим пигментом глаз). Выполнено 17 контрольных экспериментов («Контроль pearl») и 12 экспериментов при освещении зеленым светом («Зеленый pearl»). Всего использовано 29 тараканов.
6) При отсутствии экспериментального освещения наблюдали поведение группы самцов в убежище в начале фотофазы на протяжении двух недель. Получены данные для группы из 14 тараканов. Поведение тараканов оценивали индивидуально.

Метод РНК-интерференции. Тараканам инъецировали двуцепочечную РНК зеленого (GO1) или УФ опсина (UVO) концентрацией 4 μг/мкл в 1.5 мкл раствора Рингера в клипеус по центру немного ниже линии,

соединяющей антеннальные впадины. Контрольной группе вводили 1.5 мкл раствора Рингера. Эксперименты начинали через 14 дней после инъекции, когда достигался максимальный эффект инактивации фоторецепторов (French et al., 2015).

Морфологический контроль. Для морфологического контроля использовали 2 мкл смеси 1:1 двуцепочечной РНК и 10% раствора хлористого никеля. Были инъецированы 9 тараканов. Через час после инъекции головную капсулу вскрывали и удаляли участок кутикулы с фронтальной области головы. После удаления кутикулы окраску хлористого никеля проявляли с помощью спиртового раствора рубеановой кислоты (Delcomyn, 1981). Место введения и повреждение тканей оценивали с помощью стереомикроскопа Stemi 2000 и фотографировали камерой Canon PS G-15.

Метод электроретинографии. Перед началом скотофазы таракана помещали в установку (без накладывания электрода) для темновой адаптации в течение 1 ч. Голову, антенны и максиллярные щупики закрепляли пластилином. Стальной индифферентный/заземляющий электрод проходил под вентральной поверхностью тела таракана, имел электрический контакт через смоченную раствором Рингера вату в области шеи. Отводящий хлорсеребряный электрод, закрепленный в пластиковом прозрачном шлеме и смазанный электропроводным глазным гелем видисик (Бауш энд Ломб, США), накладывали на голову таракана за 10 минут до начала эксперимента; шлем крепился пластилином по бокам головы.

Все манипуляции с животными проводили в темноте с использованием красных осветителей. Измерения проводили на 10 тараканах, которым была выполнена инъекция раствором Рингера (контроль), и на 4 тараканах, которым вводили двуцепочечную РНК против зеленочувствительного опсина (даун-регуляция), через 2 недели после инъекции в начале темновой фазы суточного ритма.

Система световой стимуляции включала в себя два независимых канала на основе зеленого и УФ светодиодов с максимумами излучения λ_{max} 525 нм и 365 нм, интенсивность света контролировали с помощью серых нейтральных светофильтров и тока светодиода. Сигнал с электродов подавали на усилитель (Model 3000, A-M Systems, США, входное сопротивление 10^{15} Ом) с аналоговым низкочастотным фильтром 3 кГц и записывали с частотой дискретизации 10 мс/точку. Запись данных, а также управление временем подачи, длительностью и интенсивностью стимулов во время эксперимента осуществляли при помощи аналого-цифрового преобразователя и программного пакета LabView (National Instruments, Austin, TX). Система стимуляции и отведения ЭРГ, включая программу для

управления экспериментом, разработана М. Л. Фирсовым (Горяченков и др., 2020).

Проводили регистрацию электрических ответов на короткие (1, 5, 10, 50, 100 и 500 мс) вспышки с возрастающей интенсивностью (от $1x10^4$ до $4x10^{11}$ фотонов/мм^2/мс). Каждое сочетание длительности/интенсивности повторяли по 10 раз с интервалом 15 секунд.

Последующая обработка записанных ответов включала корректировку нулевой линии и дополнительную фильтрацию (низкочастотный фильтр Бесселя 30 Гц). Затем определяли амплитуду ЭРГ как разницу между нулевой линией и минимальным значением напряжения после стимуляции.

Анализ поведения тараканов. Видеозаписи экспериментов обрабатывали покадрово. Поведение тараканов оценивали индивидуально. Анализировали груминг, локомоторную активность, периоды покоя («остановки»), в том числе полной неподвижности («замирания»), когда таракан прекращал круговые движения антенн. Для оценки локомоторной активности животных тестовую камеру разделяли на 4 равных квадранта и подсчитывали количество посещенных квадрантов за одну сессию эксперимента. Полученные данные вносили в таблицу MS Excel для статистической обработки.

Статистическая обработка данных. Для оценки достоверности наблюдаемых различий использовали онлайн-калькулятор (http://vassarstats.net/), выборки тестировали на нормальность с помощью теста Колмогорова-Смирнова (http://contchart.com/goodness-of-fit.aspx) и при отсутствии статистически значимых отличий применяли параметрический t-критерий Стьюдента, а при наличии таковых – непараметрический тест Манна-Уитни и парный тест Вилкоксона. При множественных сравнениях применяли поправку Бенджамини-Хохберга. Точный тест Фишера использовали для сравнения частоты конкретных форм поведения. Двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с последующим тестом Тьюки использовали для сравнений экспериментальных параметров при освещении светом разной интенсивности. Данные представлены как среднее ± ошибка среднего или медиана (1 квартиль:3 квартиль).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Поведение таракана в начале скотофазы

В начале скотофазы, в период наибольшей активности, взрослые самцы американских тараканов покидают дневное убежище. При попадании в новую обстановку (чистую тестовую камеру) таракан демонстрирует ориентировочно-исследовательское поведение, выражающееся в обследовании тестовой камеры и высокой локомоторной активности (95±16 квадрантов по сравнению с 35±8 во второй сессии, $P<0.01$, тест Стьюдента).

По данным нашего исследования локомоторная активность в первые 30 минут эксперимента при темно-красном свете занимает около 85% времени наблюдения. Периодически таракан останавливается и чистится.

Спустя 40 минут эксперимента насекомое уменьшает локомоторную активность, увеличивает время остановок с 90±40 до 650±160 секунд ($P<0.01$, тест Стьюдента), а груминг остается на прежнем уровне. Таракан не прекращал движения антеннами в первой сессии, однако во второй сессии у двух тараканов отмечены краткие периоды полной неподвижности длительностью 36 (30:42) с. Пропорции замирающих и останавливающихся животных не отличались между сессиями ($P>0.05$, точный тест Фишера).

Снижение уровня локомоторной активности, по-видимому, связано с угасанием ориентировочно-исследовательского поведения. Груминг, помимо основной функции ухода за поверхностью тела, служит для увеличения остроты и временного разрешения в рецепции одорантов (Жуковская, 2011; Böröczky, 2013), а возможно, и других сенсорных стимулов, что позволяет животному лучше ориентироваться в пространстве, адекватно и вовремя отвечать на сигналы из окружающей среды.

Стресс новизны, сопровождаемый нейроэндокринными процессами, меняет поведение, в том числе паттерн груминга. Наблюдаемые в наших экспериментах изменения параметров груминга между 1 и 2 сессией, такие как уменьшение частоты чисток антенн (с 13.1±1.3 до 6.8±1.2 за 30 минут, $P<0.01$, тест Стьюдента) и увеличение длительности чисток антенн (с 7(7:9) до 9(8:10) секунд, $P<0.01$, тест Вилкоксона) и передних ног (с 6 (5:7) до 7 (6:8) секунд, $P<0.05$, тест Вилкоксона), увеличение длительности последовательностей чисток (с 26.1±2.7 до 48±10 секунд, $P<0.05$, тест Стьюдента), свидетельствуют о снижении стресса новизны, вызванного попаданием насекомого в чистую камеру (Zhukovskaya, 2014; Новикова, Жуковская, 2015).

Свет как фактор стресса

По мере увеличения интенсивности освещения длительность последовательностей груминга сперва увеличивается в меньшей степени, чем в контроле при темно-красном свете, а затем, при освещении зеленым светом средней и высокой интенсивности уменьшается, что говорит об усилении стресса при световой стимуляции. Достоверные отличия от контроля показаны только для зеленого освещения средней и высокой интенсивности (Рис. 1).

Понятно, что в представленных экспериментах ключевую роль играет уровень изменений условий освещения: чем ярче освещение, тем больше проявляется реакция стресса. В естественных условиях постепенные изменения освещения свидетельствуют о смене дня и ночи и участвуют в регуляции суточных ритмов активности (Roenneberg, Foster, 1997). Однако,

резкое освещение может быть связано с повреждением убежища, в котором насекомое находится в течение дня, и возможной опасностью, что запускает реакцию убегания, при этом время реакции не превышает нескольких секунд (Salazar et al., 2013). Однако, в наших экспериментах насекомые не могут скрыться в убежище. Как внезапное яркое освещение, так и невозможность избежать его могут быть причиной повышенного уровня стресса у насекомого.

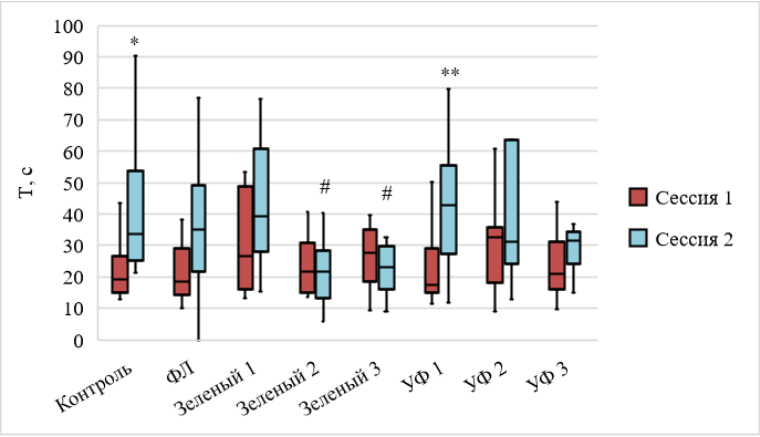

Рис. 1. Длительность последовательностей чисток у интактных тараканов дикого типа. Показаны медианы и квартили. Контроль – серия «Контроль Красный», освещение темно-красным светом. ФЛ/Зеленый/УФ – освещение во 2 сессии белым/монохроматическим зеленым/УФ светом. 1-3 – интенсивности монохроматического освещения (низкая, средняя и высокая). Звездочками показаны достоверные различия между сессиями: * – P<0.05, ** – P<0.01, тест Вилкоксона. Решетками показаны достоверные отличия от контроля: # – P<0.05, тест Манна-Уитни.

Изменения активности, вызванные светом с разной длиной волны

Монохроматическое коротковолновое и длинноволновое освещение вызывает противоположные по знаку изменения в поведении. Так, УФ освещение приводит к снижению активности вплоть до полной неподвижности (Рис. 2). При зеленом освещении уровень локомоторной активности таракана значительно возрастает, и таракан практически не останавливается (Рис. 3). Увеличение интенсивности зеленого света при сохранении высокой локомоторной активности вызывает увеличение числа и времени остановок и появление реакции замирания у значительной части особей (Рис. 2). По-видимому, это связано с неспецифической активацией коротковолновых фоторецепторов ярким светом, даже если он не содержит коротковолновой части спектра, за счет остаточной чувствительности

пигмента в длинноволновой области. Кроме того, такая ситуация может возникнуть в связи с дальнейшей обработкой зрительной информации в оптических ганглиях, получающих сигналы от УФ и зеленочувствительных фоторецепторов, причем результат взаимодействия зависит от силы стимуляции через каждый канал.

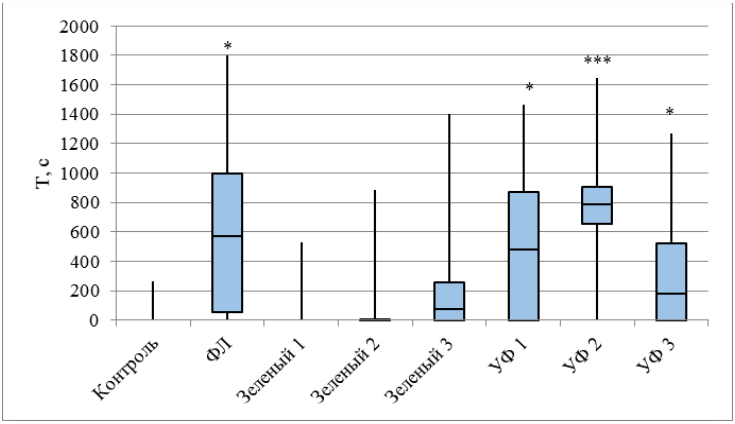

Рис. 2. Суммарное время замираний у интактных тараканов дикого типа. Показаны медианы и квартили. Звездочками показаны достоверные отличия от контроля: * – P<0.05, *** – P<0.001, тест Манна-Уитни, поправка Бенджамини-Хохберга.

Увеличение локомоторной активности в связи с активацией длинноволновых рецепторов объясняется ожидаемой реакцией убегания. Замирание не похоже на известные формы пассивного избегания из-за постепенного развития реакции и отсутствия корреляции длительности замирания с локомоторной активностью (r=0.30, P=0.4) (Metspalu et al., 2002; Miyatake et al., 2008). По-видимому, замирание таракана на свету можно интерпретировать как наступление неактивного состояния, характерного для светлого времени суток (эффект маскинга, Mrosowsky, 1999). Наблюдаемые нами изменения активности согласуются с полученными на таракане *Rhypharobia maderae* в последний год (Arnold et al., 2020) и свидетельствуют о возможном наличии двух внутренних биологических часов в медулле, работающих в противофазе. Таким образом, сигнал, поступающий от длинноволновых фоторецепторов перед началом скотофазы, повышает уровень локомоторной активности, а сигнал, поступающий от коротковолновых фоторецепторов в начале фотофазы, приводит к снижению активности и переходу в сноподобное состояние.

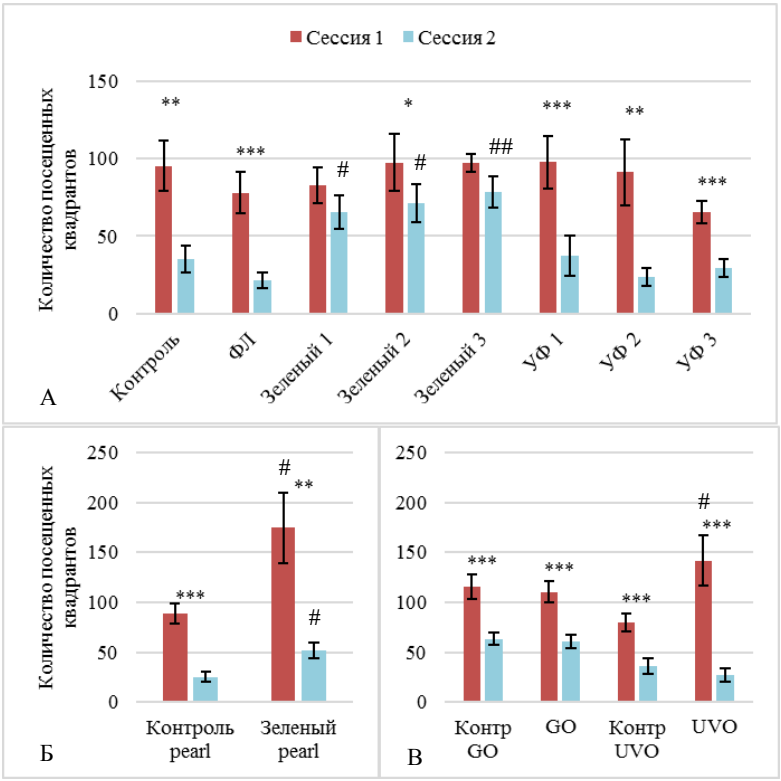

Рис. 3 Локомоторная активность у тараканов дикого типа (А), линии *pearl* (Б) и тараканов с РНК-интерференцией (В). Показаны средние и ошибки средних. Контроль – серия «Контроль Красный», освещение темно-красным светом. ФЛ/Зеленый/УФ – освещение белым/монохроматическим зеленым/УФ светом во второй сессии. 1-3 – интенсивности монохроматического освещения (низкая, средняя и высокая). Контр GO/UVO – инъекция раствора Рингера, GO/UVO – инъекция РНК pGO1/pUVO в Рингере, зеленое/УФ освещение во второй сессии. Звездочками показаны достоверные различия между сессиями: * – P<0.05, ** – P<0.01, *** – P<0.001, тест Стьюдента. Решетками показаны достоверные отличия от контроля: # – P<0.05, ## – P<0.05.

Изменения активности тараканов в период смены скотофазы на фотофазу

Проявление сноподобного состояния у ночного животного в активную фазу цикла при освещении является частным случаем эффекта маскинга

(Altimus et al., 2008; Tsai et al., 2009). Однако, внешние проявления сна и поведение в неактивную фазу у американского таракана до этого момента не было описано. Для проверки гипотезы о том, что замирание при освещении в активную фазу суточного цикла соответствует сноподобному состоянию в неактивную фазу суточного цикла, была выполнена серия экспериментов с регистрацией поведения тараканов в убежище в начале фотофазы.

Перед началом фотофазы несколько тараканов уже находятся в убежище в состоянии покоя: практически не двигаются, мало чистятся, стоят значительную часть времени абсолютно неподвижно. По-видимому, у этих особей период работы их внутренних часов меньше 24 ч. Было показано, что у американских тараканов в одной популяции присутствуют особи с периодом суточного ритма активности как чуть больше, так и чуть меньше 24 часов (Lipton, Sutherland, 1970). С началом фотофазы тараканы, находящиеся за пределами убежища, в течение нескольких минут возвращаются в него – у этих особей период суточного ритма более 24 часов.

Описанные нами горизонтальные повороты брюшком были обнаружены в поведении при переходе от активной к неактивной фазе суточного цикла как у самцов, так и у самок (Рис. 4). Значение этого поведения пока не ясно. Вероятно, повороты брюшком связаны с более тщательной чисткой каудального конца тела и/или крыльев и могут рассматриваться как форма груминга.

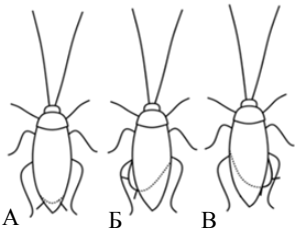

Рис. 4. Горизонтальные повороты брюшком у тараканов в убежище в начале фотофазы. Схематично изображены исходное положение тела таракана (А) и крайние отклонения брюшка при поворотах (Б, В).

Периоды полной неподвижности проявлялись у большинства особей и занимали значительную долю времени (около 50%) в начале фотофазы, что подтверждает нашу гипотезу о возникновении эффекта маскинга при освещении в скотофазу.

В начале фотофазы некоторые тараканы изредка чистятся. Груминг в неактивную фазу отличается низкой суммарной продолжительностью (30 (0:100) секунд по сравнению с 160 (120:230) в начале скотофазы ($P<0.001$, тест Манна-Уитни) и высокой длительностью чисток отдельных частей тела (антенны 17 (15:21) и 9 (8:10) секунд ($P<0.001$), передние ноги 11 (9:13) и 7

(6:8) секунд ($P<0.05$), средние и задние ноги 20 (15:27) и 11 (8:12) секунд ($P<0.01$) в начале фотофазы и скотофазы соответсвенно, тест Манна-Уитни). Кроме того, в начале фотофазы тараканы относительно больше чистят каудальный конец тела (48-82% всего груминга по сравнению с 16% в начале скотофазы).

Ответы на свет при даун-регуляции длинноволнового зрительного пигмента глаза

Уменьшение на порядок амплитуды ответов глаза на зеленый свет, показанное с помощью разработанного нами метода неинвазивного отведения ЭРГ, однозначно свидетельствует в пользу эффективности даун-регуляции зеленочувствительного пигмента глаз методом РНК-интерференции. Этот пигмент имеет значительную чувствительность в УФ (до 30% от максимальной чувствительности в зеленой области по данным микроспектрофотометрии и внутриклеточных отведений), и можно было ожидать уменьшение ответов на УФ, однако мы, напротив, наблюдали увеличение амплитуды ответов на коротковолновое освещение. По-видимому, коротковолновые фоторецепторы значительно повышают свою чувствительность, компенсируя низкую чувствительность глаза в длинноволновой области, в связи с высокой пластичностью периферического отдела зрительной системы (Meinertzhagen, 2001).

Изменения груминга соответствовали ранее описанным (Zhukovskaya, 2014; Новикова, Жуковская, 2015), и могут рассматриваться как возникновение стресса новизны при входе в тестовую камеру и его угасание во второй сессии экспериментов всех серий.

Морфологический контроль показал, что использованный нами метод введения двуцепочечной РНК не нарушает целостность надглоточного ганглия.

Двигательная активность тараканов с контрольной инъекцией и даун-регуляцией была в целом сходна с описанными ранее изменениями для интактных тараканов, а именно достоверно уменьшалась во второй сессии при освещении коротковолновым светом или оставалась на достаточно высоком уровне при освещении длинноволновым светом (Рис. 3). Даун-регуляция УФ-чувствительного опсина привела к существенному усилению локомоторной активности при темно-красном освещении. Фоновая темно-красная подсветка слабо возбуждает зеленочувствительные фоторецепторы (Mote, Goldsmith, 1970), однако при инактивации коротковолновых фоторецепторов, по-видимому, вклад длинноволновых рецепторов в общий ответ глаза возрастает, приводя к усилению локомоторной активности, характерной для длинноволнового света.

У тараканов с даун-регуляцией УФ-чувствительного пигмента проявлялась реакция замирания в ответ на коротковолновое освещение, как

и у интактных особей. Уменьшение длительности замираний у тараканов опытной группы «UVO» при коротковолновом освещении (появление замираний до 30 секунд) свидетельствует в пользу того, что эта форма поведения связана с возбуждением УФ-чувствительных фоторецепторов. Поскольку при проведении этих экспериментов тараканы демонстрировали некоторые нарушения суточного ритма активности, а именно гораздо меньше животных покидало убежище при наступлении темновой фазы, а те, которые все-таки выходили в вольер, делали это позже, чем интактные особи, можно считать, что фоторецепторы к УФ излучению связаны с синхронизацией суточных ритмов активности с внешними условиями. Увеличение числа замирающих особей и более частое проявление реакции замирания у тараканов с даун-регуляцией опсина UVO, возможно, вызвано изменением состояния по крайней мере части тараканов, которая находилась в неактивном состоянии, соответствующим фотофазе.

Интересно отметить, что единичные случаи замираний обнаружены в 1 сессии у тараканов с даун-регуляцией как УФ, так и зеленочувствительного пигмента, что не встречалось среди тараканов других серий экспериментов. Такие изменения в поведении при снижении уровня экспрессии зрительных пигментов, по нашему мнению, связано с нарушениями формирования ритмов активности, поскольку нервные пути, связывающие фоторецепторы и структуры внутренних часов, показаны как для коротковолновых, так и длинноволновых типов фоторецепторов у таракана *R. maderae* (Arnold et al, 2020).

Поскольку при РНК-интерференции зрительный пигмент не исчезает полностью, как у генетических мутантов (Yamaguchi et al., 2008), наблюдалась частичная сохранность поведенческих реакций, возникающих при стимуляции фоторецепторов исследуемого спектрального класса. Пластичность нервной системы также вносит свой вклад в подстройку к среднему уровню ответов фоторецепторов глаза на свет, уменьшающемся в результате нокдауна зрительных пигментов.

Особенности реакции тараканов на монохроматический зеленый свет низкой интенсивности при отсутствии экранирующего пигмента глаза

Тараканы мутантной линии *pearl* обладают такой же спектральной чувствительностью, что и особи дикого типа, однако длина рабдома и абсолютная чувствительность фоторецепторов у них меньше (Saari et al., 2018 a). Таким образом, тараканы линии *pearl* являются удобной моделью для изучения светозависимого поведения при снижении чувствительности сразу всех типов фоторецепторов. Отсутствие экранирующего пигмента, однако, позволяет свету проходить через омматидии и стимулировать больше фоторецепторов, чем в пигментированном глазу. У особей дикого типа наблюдалась зависимость поведенческих ответов от интенсивности

зеленого света, в отличие от УФ, для которого четких зависимостей от интенсивности не наблюдалось. Соответственно, для оценки роли экранирующего пигмента было выбрано монохроматическое зеленое освещение. В наших экспериментах при освещении монохроматическим зеленым светом низкой интенсивности мутантные особи с отсутствующим экранирующим пигментом глаза при сохранении высокого уровня локомоторной активности больше останавливаются и замирают, т.е. проявляют реакции, характерные для дикого типа при более высокой интенсивности освещения (Рис. 2). При этом, реакции стресса обнаружено не было, что соответствует промежуточной реакции особей дикого типа при зеленом свете низкой и средней интенсивности.

Фоторецепторы мутантных тараканов обладают более низкой абсолютной чувствительностью и меньшим размером по сравнению с диким типом, что соответствует состоянию фоторецепторов при длительной световой адаптации (Saari et al., 2018 a). Однако, поведенческие данные говорят о более сильной реакции на световой стимул у мутантных особей, что может быть связано с большей засветкой каждого отдельного фоторецептора и ответов большего количества рецепторных клеток на одинаковый стимул из-за отсутствия экранирующего пигмента. Кроме того, мы не можем исключить, что плейотропное действие мутации *pearl* вносит дополнительные изменения в физиологию животного и его реакцию на световую стимуляцию. Отсутствие экранирующих пигментов, оммохромов, может быть вызвано нарушениями в кинурениновом пути обмена триптофана, как происходит при мутации гена *snow* у пчел *Apis mellifera* (Лопатина и др., 2004). Более того, изменение уровня отдельных кинуренинов приводит к снижению активности насекомого и замедляет развитие стрессовых реакций, в связи с чем может быть связано снижение активности тараканов линии *pearl* и отсутствие реакции стресса в наблюдаемые первые полчаса после воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования был предложен комплексный подход к изучению роли сложных глаз американского таракана в формировании поведенческих ответов на освещение.

Методы сенсорной физиологии и методы анализа поведения насекомых позволили выявить две альтернативные реакции на свет у американского таракана: коротковолновый свет вызывает замирание, характеризующееся полной неподвижностью, а длинноволновый – увеличение локомоторной активности. Яркий свет любого спектрального состава приводит насекомое в состояние стресса, выражающееся в изменении паттерна груминга.

Использование животных мутантной линии *pearl* позволило выявить особенности реакции на световые стимулы насекомых с отсутствующим экранирующим пигментом глаза, более короткими рабдомами и низкой чувствительностью к свету отдельных фоторецепторов: активность при освещении длинноволновым светом низкой интенсивности соответствовала поведению тараканов дикого типа при более ярком свете.

Выборочный сайленсинг генов фоторецепторных белков (pGO1 и pUVO) методом РНК-интерференции позволил оценить изменения в поведении при падении экспрессии соответствующих зрительных пигментов и величины ответов фоторецепторов, описанных в литературе. Морфологический контроль с инъекцией красителя подтвердил успешное распространение инъецируемого раствора по головной капсуле и отсутствие повреждений надглоточного ганглия и внутренних органов. Метод электроретинографии подтвердил эффективность даун-регуляции фоторецепторных белков. Однако, эффект нокдауна на поведенческий ответ оказался небольшим, что указывает на высокую адаптивность зрительной системы таракана.

Детальный анализ поведения группы тараканов в убежище при переходе от скотофазы к фотофазе выявил особенности поведения насекомых в этот период и позволил выделить характерные черты состояния покоя в естественном циркадном цикле. Формы поведения американского таракана, характерные для дневной фазы суточного цикла в убежище: длительная чистка брюшка и генитального аппарата, периодические вздрагивания и горизонтальные повороты брюшком. Описанные нами периоды полной неподвижности обнаруживались у большинства особей и занимали значительную долю времени в начале фотофазы, что подтверждает предложенную нами гипотезу о проявлении эффекта маскинга при освещении в темновую фазу цикла.

ВЫВОДЫ

1. Стимуляция таракана в начале скотофазы светом разного спектрального состава вызывает разные поведенческие эффекты: белым или коротковолновым светом вызывает реакцию «замирания», длинноволновым - повышение локомоторной активности.

2. Стимуляция светом высокой интенсивности (от 2.4 x 10^{14} фотонов/с/см^2 для УФ и от 9.7 x 10^{13} фотонов/с/см^2 для зеленого света) вызывает изменения груминга, характерные для состояния стресса.

3. Поведенческие ответы на монохроматический свет при даун-регуляции зрительного пигмента частично сохранялись, несмотря на значительное снижение ответов фоторецепторных клеток глаза.

4. У тараканов линии *pearl* с отсутствующим экранирующим пигментом глаз чувствительность насекомого к длинноволновому свету повышается, несмотря на снижение чувствительности отдельных фоторецепторов.

5. Замирание при коротковолновом освещении в скотофазу относится к проявлению эффекта маскинга. Маскинг, как и сноподобное состояние, характеризуется периодами полной неподвижности, однако другие изученные формы поведения, свойственные активной фазе, сохраняются.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах:

1. **Новикова Е.С.**, Жуковская М.И. Октопамин, гормон стресса насекомых, изменяет паттерн груминга таракана Periplaneta americana //ЖЭБФ. – 2015 – Т.51 – №2 – С. 139-141.

2. **Новикова Е. С.**, Жуковская М. И. Реакция замирания под действием яркого света у американского таракана, Periplaneta americana //Сенсорные системы. – 2017. – Т. 31. – №. 1. – С. 44-50.

3. Zhukovskaya M., **Novikova E.**, Saari P., Frolov R.V. Behavioral responses to visual overstimulation in the cockroach Periplaneta americana L //Journal of Comparative Physiology A. – 2017. – Т. 203. – №. 12. – С. 1007-1015.

4. Saari, P., Immonen, E.V., Kemppainen, J., Heimonen K., Zhukovskaya M., **Novikova E.**, French A.S., Torkkeli P.H., Liu H., Frolov R.V. Changes in electrophysiological properties of photoreceptors in Periplaneta americana associated with the loss of screening pigment //Journal of Comparative Physiology A. – 2018. – Т. 204. – №. 11. – С. 915-928.

5. **Новикова Е. С.**, Северина И. Ю., Исавнина И. Л., Жуковская М. И. Даунрегуляция ультрафиолет-чувствительного зрительного пигмента таракана уменьшает эффект маскинга при коротковолновом освещении //Сенсорные системы. – 2021. – Т. 35. – №. 1. – С. 22-29.

Тезисы докладов:

1. Zhukovskaya M., **Novikova. E.** Stress-induced grooming in insect: similarity with rodent model //Proceedings of ICN 2014, Sapporo, Japan. – 2014 – P. 1148.

2. **Новикова Е.С.**, Жуковская М.И. Поведенческие и физиологические механизмы ориентации самцов таракана в феромонном облаке // Ориентации и навигации животных. Тезисы научной конференции, Москва. М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2014 – С. 44.

3. Zhukovskaya M.I., **Novikova E.S.** Threshold and suprathreshold pheromone stimuli in isolated Periplaneta americana males //Abstracts of 14th ESITO. – 2015 – P. 29.

4. Zhukovskaya M.I., **Novikova E.S.** Pheromone and non-pheromone odor cleanup from an insect antenna: the role of grooming //Abstracts of the 9th

International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry: From molequles to macrophysiology, Krakow. – 2015 – P. 102.

5. **Novikova E.S.**, Zhukovskaya M.I. UV-light-induced freezing in cockroach Periplaneta americana: sleep or passive avoidance? //Abstracts of 21st East European Conference of the International Society for Invertebrate Neurobiology, Zvenigorod. – 2016 – P. 61.

6. **Novikova E.S.**, Rodionov I.A., Zhukovskaya M.I. Bright light induces freezing behavior and stress-like changes in grooming in the cockroach, Periplaneta americana //Abstracts of 23rd International "Stress and Behavior" Neuroscience and Biopsychiatry Conference, Saint-Petersburg. – 2016 – V.5 – P. 39-40.

7. **Новикова Е.С.**, Жуковская М.И., Мильцын А.А., Кавокин К.В., Чербунин Р.В., Коптева Н.Е. Спектральные характеристики поведенческих реакций ночного насекомого на свет //Тезисы докладов Первой российской конференции «Физика – наукам о жизни», СПб.: ФТИ им. А.Ф. Иоффе. – 2016. – С. 66.

8. **Новикова Е.С.**, Лычаков Д.В., Жуковская М.И. Асимметрия антенн насекомого: морфометрия и груминг //Пятнадцатое Всероссийское Совещание с международным участием и восьмая Школа по эволюционной физиологии. Сборник материалов, СПб.: ВВМ. – 2016. – С. 177.

9. Zhukovskaya M.I., **Novikova E.S.** Behavioral response to lighting during scotophase in the cockroach: light wavelength and intensity //“Visionarium” quindecimus XV at Tvarminne Zoological Station, University of Helsinki. – 2016 – P. 42-43.

10. **Novikova E.S.**, Zhukovskaya M.I. Complete mating behavior in males Periplaneta americana in response to sex pheromone requires additional unknown volatile //Abstracts of 15th ESITO. – 2017 – P. 25-26.

11. **Новикова Е.С.** Флуктуирующая ассиметрия груминга отражает уровень стресса у насекомого //Материалы VI Всероссийской конференции по поведению животных, М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2017 – С. 110.

12. **Новикова Е.С.**, Жуковская М.И. Поведение ночного насекомого в течение дневной фазы суточного цикла //Интегративная физиология: Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 170-летию со дня рождения И.П. Павлова. Тезисы докладов, Спб.: Ин-т физиологии им. И.П. Павлова РАН. – 2019 – С.182-183.

13. **Новикова Е.С.**, Жуковская М.И. Роль экранирующего пигмента глаза таракана Periplaneta americana L. в локомоторных реакциях на свет. Ориентации и навигации животных //Тезисы научной конференции, Москва. М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2019 – С.52.

14. **Новикова Е.С.**, Жуковская М.И. Поведение самцов и самок таракана Periplaneta americana при переходах между активной и неактивной фазами суточного цикла //Материалы XVI Всероссийской конференции с международным участием “Совещание по эволюционной физиологии имени академика Л.А. Орбели” и IX Школы по эволюционной физиологии, Санкт-Петербург, Россия. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2020 – Т. 56 – Дополнительный выпуск № 7 – С. 660.

15. Жуковская М.И., **Новикова Е.С.**, Северина И.Ю., Исавнина И.Л. Даунрегуляция зрительных пигментов таракана с помощью метода РНК-интерференции //Материалы XVI Всероссийской конференции с международным участием “Совещание по эволюционной физиологии имени академика Л.А. Орбели” и IX Школы по эволюционной физиологии, Санкт-Петербург, Россия. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2020 – Т. 56 – Дополнительный выпуск № 7 – С. 587.

16. **Новикова Е.С.**, Жуковская М.И. Снижение экспрессии ультрафиолет-чувствительного зрительного пигмента приводит к небольшим изменениям поведения при коротковолновом освещении у таракана Periplaneta americana //Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология», посвященная 95-летию Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Тезисы докладов. – СПб.: Ин-т физиологии им. И.П. Павлова РАН. – 2020 – С. 60.