

СРАВНИТЕЛЬНАЯ
ФИЗИОЛОГИЯ СЛУХА

УДК 595.786.591.185.5

ПРОЦЕССЫ ЗАХВАТА И СОПРОВОЖДЕНИЯ АКУСТИЧЕСКОГО СИГНАЛА
СЛУХОВОЙ СИСТЕМОЙ СОВОК (Noctuidae Lepidoptera)

© 2004 г. Д. Н. Лапшин, Д. Д. Воронцов*

Институт проблем передачи информации РАН 127994 г. Москва, Б. Каретный пер., 19

* Институт биологии развития РАН 117808 г. Москва, ул. Вавилова, 26

Поступила в редакцию 14.01.2004 г.

На совках *Amphipyra pyramidea* L. проведено измерение частотно-пороговых характеристик в условиях закрепленного полета и в электрофизиологических экспериментах при отведении активности от слуховых интернейронов проторакального ганглия. У интактных совок в диапазоне частот выше 80 кГц наблюдалось снижение порогов с ростом частоты, в то же время, в условиях острого опыта, при регистрации реакций слуховых интернейронов, на высоких частотах наблюдался резкий подъем порогов - в среднем на 15 дБ в диапазоне 70-100 кГц. Цель данной работы - исследовать причины несовпадения результатов, получаемых в разных экспериментальных условиях. Было показано, что через 30-50 мин после начала электрофизиологического опыта, когда снижалось действие хлороформного наркоза, в диапазоне частот 70-100 кГц в ответах слуховых интернейронов наблюдались признаки настройки на несущую частоту входного сигнала: пороги, измеренные при плавном уменьшении амплитуды стимулов, были ниже по сравнению с уровнями, при которых возникла ответная реакция нейронов на фоне постепенного увеличения амплитуды. Максимальная разница порогов составляла от 7 дБ на частоте заполнения 70 кГц до 17 дБ на 90 кГц. По комплексу характерных признаков, в частности, динамике нарастания и спада нейронной импульсации при воздействии стимулов с околопороговыми интенсивностями можно сделать вывод, что при превышении стимулом "верхнего" порога в тимпанальном органе происходила перестройка высокочастотного резонанса из области, заведомо превышающей 100 кГц вниз по частоте. Этот процесс не действует у наркотизированного или сильно поврежденного насекомого, поэтому в условиях острого опыта обычно не наблюдаем. У интактных бабочек диапазон изменений порогов в процессе перестройки перекрывает разницу в значениях порогов, измеренных в разных экспериментальных условиях. Показано также, что при увеличении температуры тела подопытной бабочки от 20 до 30° ее слуховые пороги пропорционально снижаются в среднем на 7 дБ без существенного изменения формы частотно-пороговой характеристики.

Ключевые слова: совки, слуховая чувствительность, частотная настройка, тимпанальный орган, пороговая кривая, температура.

ВВЕДЕНИЕ

В данной работе представлены результаты очередного этапа изучения процессов динамической перестройки частотных параметров слуховой системы совок (Noctuidae).

Уже давно известно, что ночные чешуекрылые способны воспринимать ультразвук. Обнаружив эхолокационные сигналы летучих мышей, бабочки совершают специфические маневры и таким образом избегают нападения хищника (Roeder, Treat, 1957; 1961). Помимо этого, представители наиболее крупного семейства бабочек - совки (Noctuidae) издают в полете ультразвуковые щелчки, используемые при эхолокации (Лапшин и др., 1993; Лапшин, Воронцов, 2000в, 2003а). Для успешного решения столь разных задач слуховая система этих насекомых должна обеспечивать оптимальное восприятие сигналов, различающихся по своим физическим параметрам и биологическому значению.

Ранее при изучении влияния условий полета на слуховую чувствительность совок мы обнаружили, что мгновенная форма поведенческих частотно-пороговых характеристик варьирует в зависимости от фазы взмаха (Лапшин, Воронцов, 2000б).

С учетом полученных данных и выявленных ранее физических закономерностей восприятия звука уровне тимпанального органа (Adams, 1972) была предложена гипотеза о возможности быстрых изменений частоты резонанса тимпанальной мембраны у летящих бабочек (диапазон варьирования 20–50 кГц). Эта идея впоследствии получила теоретическое и экспериментальное подтверждение (Воронцов, Лапшин, 2002; Лапшин, Воронцов, 2003б).

Логично было бы предположить, что насекомые, способные изменять оптимальную частоту акустического восприятия, могут настраиваться на биологически важные сигналы, добываясь при этом более высокой чувствительности с одновременным улучшением отношения сигнала к шуму. Кроме того, такая слуховая система потенциально способна осуществлять последовательный частотный анализ звуков. Однако не все закономерности акустического восприятия совок можно было объяснить их способностью перестраивать частоту резонанса тимпанальной мембраны. Сопоставление частотно-пороговых графиков, полученных в условиях острого опыта, и результатов акустического тестирования интактных бабочек показало устойчивое расхождение данных в области частот выше 70 кГц: "электрофизиологические" графики в большинстве своем имели

крутой подъем в сторону высоких частот, в то время как ветви "поведенческих" аудиограмм в этой области располагались либо горизонтально относительно оси абсцисс, либо даже с отрицательным градиентом.

Анализ математической модели механической части тимпанального органа (ТО) показал, что "загиб" вниз правых ветвей частотно-пороговых графиков можно объяснить действием добавочного резонанса с центральной частотой около 100 кГц (Лапшин, Воронцов, 2003б). Тем не менее оставался вопрос, почему в условиях электрофизиологического эксперимента действие этого резонанса проявляется очень редко, а в поведении - практически всегда?

Условия акустического тестирования интактных бабочек и электрофизиологических препаратов существенно различны как по физиологическому состоянию насекомого, так и по специфике используемой стимуляции. Оставалась неопределенной также степень влияния на получаемые результаты температуры тела летящей бабочки. Поскольку речь идет о сравнении данных, получаемых в разных экспериментальных условиях, необходимо было оценить значимость перечисленных факторов, а также влияние наркоза и возможных суточных колебаний чувствительности слуховой системы.

Таким образом, задачей нашей работы стало определение причин несовпадения формы аудиограмм в области частот от 70 до 100 кГц, измеренных на интактных насекомых и в условиях острого опыта.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Всего в опытах было использовано 22 экземпляра совок *Amphipyra pyramidea* L. обоего пола, отловленных на пищевой аттрактант (збродившая смесь пива с медом).

Выбор объекта определялся следующими соображениями: *A. pyramidea* - массовый вид в садах и парках, хорошо привлекается пищевыми приманками. По нашим наблюдениям, экземпляры *A. pyramidea*, издающие в лабораторных условиях щелчки, встречаются значительно реже по сравнению с видами, на которых ранее проводились опыты по оценке эхолокационной чувствительности: *Crino satura* и *Enargia paleacea* (Воронцов, Лапшин, 2002; Лапшин, Воронцов, 2000а, 2003а). В этой связи совки *A. pyramidea* лучше подходили для проведения тех измерений, которые не требовали собственной акустической эмиссии бабочек.

В поведенческих экспериментах (первая серия - 12 опытов) бабочку приклеивали воском к концу поводка датчика механического смещения, позволявшего регистрировать маневры летящего насекомого в горизонтальной плоскости. Излучатель акустических стимулов был установлен сбоку от бабочки на расстоянии 12 см. Фиксация насекомого на поводке позволяла удержать его в узко ограниченной области

пространства перед излучателем и тем самым повысить точность измерений.

Подопытное насекомое стимулировали тональными посылками (пульсами) длительностью 3 мс и периодом следования 30 мс. Длительность фронтов нарастания и спада тональных посылок составляла 0.5 мс. Частоту заполнения пульсов в ходе опытов варьировали в пределах 10-100 кГц. Для повышения вероятности поведенческого ответа пульсы в ходе одного предъявления были сгруппированы в четыре пачки со средней длительностью 0.2 с каждая, разделенные близкими им по времени беззвучными промежутками.

Регистрацию реакций бабочек в полете (отклонения в горизонтальной плоскости) производили визуально по стрелочному индикатору, соединенному с выходом датчика движений. Экспериментатор при каждом предъявлении стимула определял уровни звукового давления, при которых бабочка начинала отвечать стереотипными колебательными движениями, возникавшими синхронно с подачей стимула (рыскающий полет). За реакцию принимали колебания с амплитудой, в два и более раза превышавшие сходные по форме спонтанные отклонения насекомого за предшествовавшие 4 с наблюдений (рис. 1). Основная схема определения порога была следующая: при уровне стимула, который мы принимали как подпороговый (на 2 дБ ниже порога), в трех последовательных предъявлениях только один раз могла наблюдаться реакция; в трех последующих предъявлениях, уже при пороговом уровне стимула, реакция должна была повториться 2-3 раза. В сомнительных случаях в зависимости от конкретной ситуации либо увеличивали период наблюдения за фоновой активностью, либо повторяли предъявления с околопороговыми уровнями.

Параллельно с визуальным измерением порогов производилась компьютерная регистрация осциллограмм маневров подопытного насекомого. Эти данные просматривали после опыта. На основе их анализа производили коррекцию значений найденных ранее порогов в пределах 1-3 дБ.

Данная методика основана на регистрации очень малых изменений аэродинамической тяги летящей бабочки. Возможно, что такие реакции не имели самостоятельного биологического значения и возникали вследствие активизации прямых синаптических связей слуховой и моторной систем на уровне грудных ганглиев (Madsen, Miller, 1987).

По сравнению с поведенческими реакциями на звук ответы слуховых нейронов регистрируются более уверенно и остаются стабильными на протяжении интервалов времени, достаточных для проведения сложных измерений (Лапшин, Воронцов, 2003б). По этой причине основные исследования в рамках задач данной работы были проведены в условиях электрофизиологического эксперимента.

Отведение электрической активности слуховых интернейронов (*вторая и третья экспериментальные серии*)

осуществляли стеклянными микроэлектродами от слухового нейропиля проторакального ганглия. Подробно методика препаровки и отведения активности нейронов была описана ранее (Лапшин, Воронцов 2003б). Перед препаровкой бабочку в течение 10-15 с наркотизировали хлороформом. Исследование зависимости акустических порогов слуховых интернейронов от температуры тела насекомого проводили при 20, 28 и 33°C. Общее время измерений в трех температурных точках составляло примерно 40 мин. Всего во второй серии было проведено десять опытов, результаты восьми из них использованы в дальнейшей обработке. В трех опытах проведены также измерения слуховых порогов при температуре 38°. В качестве критерия порога в данной работе принята вероятность появления ответа, равная 0.8. Источником тепла при нагреве препарата служила лампа накаливания стандартного осветителя, поставляемого в комплекте с бинокляром МБС-9. Дополнительный нагрев в диапазоне 33-38° осуществляли миниатюрным тепловым рефлектором мощностью 200 Вт. Последний располагали на расстоянии 10-15 см от препарата и включали по мере необходимости.

У бабочки в условиях полета температура тела увеличивается из-за мышечного разогрева, поэтому в большинстве (восьми) опытов температуру препаратов меняли в сторону увеличения от исходной, т.е. от 20° и выше, но в двух случаях в качестве контроля - в обратном порядке. Для того чтобы не наносить дополнительных повреждений подопытному насекомому, датчик температуры (термопару) располагали снаружи, под грудным отделом. Термопара подключалась к цифровому измерителю "Center 303" (Center Technology Corp.). Предварительными промерами была определена температурная разница снаружи и внутри бабочки и соответствующие поправки внесены в окончательные результаты.

В первой и второй сериях по три эксперимента были проведены в ночное время (01-03 ч по местному астрономическому времени), остальные - днем.

В третьей (дополнительной) серии в начале опыта измеряли индивидуальные частотно-пороговые характеристики при температуре 28°, затем через 30-50 мин, исследовали характер настройки слуховой системы совок на частоту предъявляемого сигнала. Третья серия включала 12 опытов.

Акустический стимул в электрофизиологических экспериментах представлял собой непрерывную последовательность тональных посылок (пульсов), длительностью 5 мс, с фронтами нарастания и спада 0.5 мс и с периодом повторения 40-60 мс. Большая по сравнению с поведенческими экспериментами длительность стимула была выбрана для удобства определения типа исследуемого нейрона по характеру его импульсации на фоне дрящегося сигнала.

Конденсаторный акустический излучатель был установлен сбоку от препарата на расстоянии 25 см. Излучающим элементом служила мембрана размером

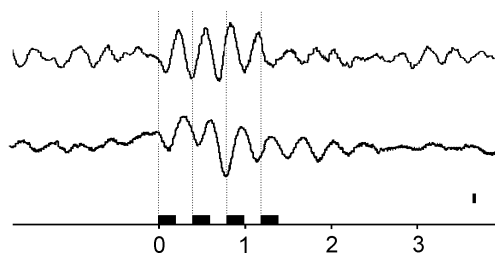


Рис. 1. Примеры поведенческих реакций интактных совок в ответ на акустическую стимуляцию. В правой части рисунка вертикальной чертой дан масштаб горизонтального смещения насекомого (0.1 мм).

4x3 см из полимерной пленки с металлическим напылением.

Измерения порогов во всех трех сериях проводили на одной и той же аппаратуре, откалиброванной по пиковому уровню акустического давления измерителем V&K 2235 (Brüel & Kjaer) совместно с 1/4" микрофоном V&K 4135 (со снятым защитным колпачком). Измерительную систему V&K в свою очередь проверяли с помощью калибратора 05 000 MMF (VEB Metra Meß Frequenztechnik). За 0 дБ принято значение 20 мкПа.

Методика калибровки стимулирующей аппаратуры и техника проведения поведенческих и электрофизиологических опытов более подробно была описана ранее (Лапшин, Воронцов, 1999; 2003б).

Эксперименты проводили в лабораторных условиях в августе - сентябре 2003 г. при температуре воздуха 18-20°C. Место проведения работы - биостанция ИБР РАН "Кропотово" (105 км к юго-востоку от Москвы).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Поведенческие эксперименты

Измерение частотно-пороговых характеристик. В 10 из 12 опытов наблюдались две зоны наиболее низких порогов: одна - в диапазоне частот 15-30 кГц (в шести случаях - на 30, в трех - на 20, в одном на 15 кГц), а вторая - на частотах 50-70 кГц (в пяти случаях на 60, в трех - на 70 кГц). Несколько примеров индивидуальных аудиограмм приведено на рис. 2. Какую-либо корреляцию между значениями центральных частот двух оптимумов установить не удалось. На девяти индивидуальных аудиограммах в диапазоне 80-100 кГц наблюдался отрицательный градиент, т.е. "загиб" терминальных ветвей графиков в сторону низких порогов. В целом, как видно на усредненной аудиограмме (рис. 3), минимальные пороги поведенческих реакций (49 дБ УЗД) наблюдались в диапазоне частот 50-60 кГц.

Электрофизиологические эксперименты

Форма частотно-пороговых графиков и абсолютные значения порогов. Усредненная частотно-пороговая характеристика, построенная по результатам измерений в условиях острого опыта при температуре 28°C,

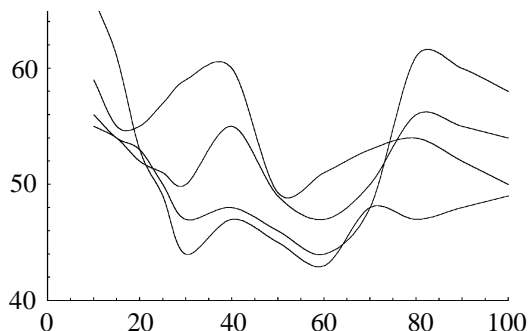


Рис. 2. Примеры индивидуальных поведенческих аудиограмм совков. Стимуляция сериями тональных посылок длительностью 3 мс и периодом следования 30 мс.

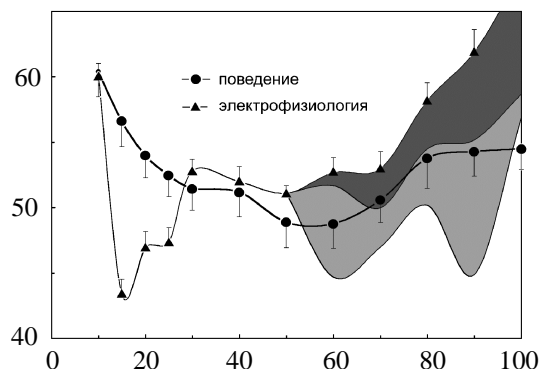


Рис. 3. Усредненные аудиограммы: график, отмеченный кружками - результаты поведенческих опытов, отмеченный треугольниками - данные электрофизиологических экспериментов при температуре препарата 28°. Темно-серым обозначена область между ветвью частотно-порогового графика, построенного по данным электрофизиологических экспериментов, и графиком средних значений "нижнего" порога $Th(n)$. Светло-серым цветом обозначена область между графиками средних и минимальных значений "нижнего" порога. Указаны ошибки средних.

приведена на рис. 3 (кривая отмечена треугольниками). Следует учитывать, что в поведенческих и электрофизиологических опытах были использованы тональные посылки разной длительности: 3 мс в первом случае и 5 мс во втором. Пороги реакций слуховых рецепторов с увеличением длительности стимула снижаются (Surlykke et al., 1988). Согласно приведенному в упомянутой работе графику, при стимуляции посылками длительностью 3 и 5 мс разница в порогах должна составлять 2-3 дБ. Этот вывод нами был проверен и подтвержден в двух опытах. Для адекватного сопоставления результатов поведенческих и электрофизиологических экспериментов усредненный частотно-пороговый "электрофизиологический" график на рис. 3 был смещен в сторону больших значений (вверх) на 3 дБ.

Основной минимум порогов реакций слуховых

интернейронов наблюдался на частотах 15-25 кГц. На десяти индивидуальных аудиограммах в этой области наблюдались два расположенных рядом пика примерно одинаковой добротности, еще в трех случаях на ветви графика в месте второго предполагаемого пика наблюдался излом. Индивидуально наиболее устойчивым был пик на 15 кГц, за счет стабильности его положения на суммарном графике он выражен наиболее отчетливо. Центральная частота второго минимума порогов у разных экземпляров варьировала в диапазоне 25-30 кГц. На суммарной аудиограмме ему соответствует уступ на 20-25 кГц.

В диапазоне 30-70 кГц почти на всех индивидуальных графиках наблюдалась еще одна область пониженных порогов, однако центральные частоты этих зон существенно различались. По этой причине на усредненном графике соответствующий оптимум не выражен - график следует волнообразно на уровне 51-53 дБ УЗД. Выше 70 кГц начинался подъем порогов - в среднем на 15 дБ в диапазоне 70-100 кГц. Крутизна этого подъема индивидуально варьировала в весьма широких пределах: от 3 до 53 дБ/окт.

Исследование зависимости акустических порогов от температуры. Пороги слуховых интернейронов во всем частотном диапазоне монотонно снижались с ростом температуры (рис. 4, а). Эта закономерность сохранялась до 33°. Однако при дальнейшем увеличении температуры (от 33 до 38°) тенденция могла смениться на обратную - пороги повышались (на 4-7 дБ по данным трех опытов). По результатам этих экспериментов сложилось впечатление, что ЦНС бабочек на фоне высоких температур начинает работать неустойчиво. Помимо снижения слуховой чувствительности отмечался также сильный шум, создаваемый близкими к точке отведения нейронами, самопроизвольное появление длительных пачек высокочастотных разрядов, напоминавших по динамике потенциалы повреждения. При снижении температуры от 38 до 33° спустя 5-10 мин нервная система подопытного насекомого начинала функционировать в обычном режиме, слуховые пороги при этом вновь снижались до уровня, зарегистрированного ранее у того же экземпляра. Исходя из этих наблюдений, было принято решение в последующих опытах не поднимать температуру препарата выше 33°. При обратном переходе от 33 до 20° пороги монотонно росли, т.е. характер их зависимости от температуры оставался прежним. Однако требовалось большее время для стабилизации слуховой чувствительности при промежуточных значениях температуры.

Регистрация порогов во всем диапазоне частот последовательно в каждой температурной точке была необходима, поскольку на протяжении всего опыта сохранялась возможность самопроизвольных перестроек слуховой системы, приводящих к существенному изменению формы результирующих частотно-пороговой кривых (Лапшин, Воронцов, 2003б). На рис. 4, б приведен пример такого модифицированного графика: в период времени, когда измерялись пороги при 33°, произошло

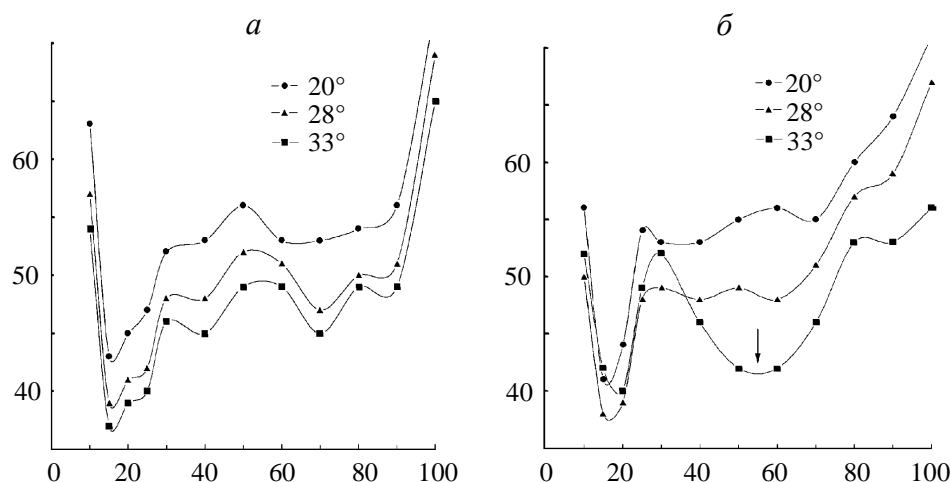


Рис. 4. Примеры частотно-пороговых характеристик, измеренных при разных температурах: *а* - параллельное смещение графиков вниз по мере роста температуры тела насекомого; *б* - аналогичный опыт, в конце которого при температуре 28° произошла самопроизвольная частотная перестройка слуховой системы. График, обозначенный кружками, был измерен при 20°С, треугольниками - при 28°С и квадратами - при 33°С. Стрелкой показан участок частотной характеристики, на котором заметен наиболее существенный сдвиг порогов.

перераспределение слуховой чувствительности по частотному диапазону. Наибольший видимый эффект показан на рисунке стрелкой. В этом опыте при снижении порогов в диапазоне частот 40-60 кГц одновременно наблюдался их рост на частоте около 20 кГц и обострение пика антирезонанса на частоте 30 кГц. Такие изменения можно объяснить увеличением частоты резонанса тимпанальной мембраны в пределах 10-15 кГц. Перестройки, подобные описанной, наблюдались ранее и в стабильных температурных условиях (Лапшин, Воронцов, 2003б). Они сопряжены, скорее всего, с постепенным уменьшением влияния наркоза.

При обработке результатов оценку изменений порогов на фоне температурных сдвигов проводили на тех частотах, где форма аудиограмм визуально сохранялась стабильной. Например, на графиках рис. 4, *а* можно сопоставлять пороги на частотах 20 и 50 кГц. На рис. 4, *б* видно, что при признаках существенной частотной перестройки полученные результаты нельзя использовать для оценки влияния температурного сдвига. Всего в данной серии было два подобных опыта, в остальных восьми опытах графики, полученные при различных значениях температуры, были сходными по форме.

В среднем, при нагреве препарата от 20 до 28° слуховые пороги снижались на 5.0 ± 0.59 дБ; при переходе от 28 до 33° - на 3.94 ± 0.54 дБ (в обоих случаях указана ошибка средней для $N = 16$ отсчетов). Для первого температурного диапазона средняя крутизна изменения порогов составляла 0.63 ± 0.07 дБ/град., а для второго - 0.79 ± 0.11 дБ/град.

В этих же экспериментах выяснилось, что температура препарата в установившемся режиме достигает 28-30° при использовании стандартного осветителя и при токе накала его лампы около 90% от максимального. Таким образом, малую разницу между значениями "электрофизиологических" и "поведенческих" порогов (рис. 3) можно объяснить сходством температурных условий в тораксе препарата и летящей бабочки.

Оценка суточных изменений слуховой чувствительности. Разница в слуховых порогах, измеренных в дневное и ночное время, если и была, то перекрывалась индивидуальными различиями. Несущественность влияния времени суток на получаемые результаты была характерна как для поведенческих, так и для электрофизиологических опытов. Ранее к аналогичному выводу на основе собственных наблюдений пришли Мэдсен и Миллер (Madsen, Miller, 1987).

Изучение эффекта несовпадения порогов на фоне восходящей и нисходящей лестницы, (т.е. постепенного изменения уровня стимулов).

В ходе регистрации активности слуховых интернейронов в одном опыте было обнаружено ранее не описанное явление: на высоких частотах (70-100 кГц) значения слуховых порогов, зарегистрированные при плавном уменьшении амплитуды стимулов, оказались существенно ниже по сравнению с пороговыми значениями при постепенном увеличении уровня стимуляции. Для изучения этого феномена, напоминавшего гистерезис, нами была проведена отдельная серия экспериментов (12 опытов).

В большинстве случаев эффект несовпадения порогов становился заметным спустя 30-50 мин после начала эксперимента. При этом из 12 проведенных опытов в двух пороги различались на частотах 80 кГц и выше, в пяти опытах эффект проявлялся в более широком диапазоне частот - от 70 до 100 кГц, в одном опыте несовпадение порогов наблюдалось с 50 кГц и выше, в четырех опытах эффект не был выражен, т.е. пороги не различались.

Весьма специфическим был характер ответов слуховых интернейронов в зоне "неопределенности" между минимальным и максимальным значениями порогов. При постепенном уменьшении амплитуды стимулов в подпороговой области (нисходящая лестница) количество спайков в ответах постепенно уменьшалось, а затем, когда нейрон уже отвечал одним спайком, начинала снижаться вероятность ответа от 1 до 0 (рис. 5, *а*).

Латентный период реакций нейронов при уменьшении амплитуды стимулов монотонно увеличивался. В целом ничего необычного в таком поведении слуховых нейронов не было, следует только отметить сравнительно большой амплитудный диапазон существования одного спайка в ответе - 6 дБ по сравнению с 3 дБ при регистрации активности слуховых рецепторов в тимпанальном нерве (Лапшин, Федорова, 1996) и резко выраженный порог ($Th(n) = 66$ дБ УЗД на рис. 5, а). Однако, если после исчезновения ответов нейрона на подпороговые сигналы амплитуду стимулов постепенно увеличивали (восходящая лестница), то выше найденного ранее порога нейрон не давал устойчивого ответа, но иногда появлялись отдельные спайки или даже серии спайков. Такая эпизодическая активность могла сменяться полностью пассивными периодами, несмотря на то, что амплитуда стимуляции продолжала увеличиваться. Затем при достижении второго, "верхнего" порога $Th(v)$, за 0.2-0.5 с происходил быстрый рост ответа до нескольких (3-4) спайков (рис. 5, б). Во время переходного процесса латентный период ответа быстро уменьшался примерно на 1 мс, а затем начинал увеличиваться. Разница порогов $D = Th(v) - Th(n)$ индивидуально варьировала от нескольких дБ до 17 дБ, т.е. "верхний" порог мог превышать "нижний" в 7 раз. При непрерывной стимуляции с уровнем $Th(v)$ среднее количество спайков в ответе на один пульс постепенно уменьшалось с трех до двух. Одновременно латентный период ответа возрастал на 1-1.5 мс. В обобщенном виде данные по разности между порогами D на различных частотах представлены на рис. 3 (область в правой части рисунка, закрашенная серым цветом).

Аналогичный эффект в низкочастотной части диапазона был обнаружен только у одного экземпляра, причем максимальная разность порогов составила $D = 4$ дБ на 30 кГц. В четырех опытах в области минимума на 15 кГц пороги при увеличении стимулирующего сигнала были ниже на 1-2 дБ по сравнению с порогами, измеренными на фоне постепенного уменьшения амплитуды, т.е. эффект был обратным по отношению к процессам на высоких частотах ($D < 0$) и выражен значительно слабее.

Частоты, на которых разность значений "верхних" и "нижних" порогов была максимальной, отличались от опыта к опыту: у одного экземпляра наиболее существенные различия наблюдались на частоте 60 кГц (6 дБ), у двух - на 90 кГц (8 и 17 дБ) и у пяти экземпляров - на 100 кГц (5-16 дБ). В последней группе перепады в выраженности эффекта на 90 и 100 кГц от опыта к опыту варьировали в пределах $|D_{(90)} - D_{(100)}| = 2-12$ (дБ)

Как уже было сказано выше, в четырех опытах эффект несовпадения порогов не был выражен, но у трех экземпляров из этой группы в высокочастотной области наблюдалась флуктуация порогов в такт с видимыми дыхательными движениями насекомого в

пределах 1-3 дБ, а у двух бабочек сдвиги порогов "вниз" на 4-9 дБ могли быть вызваны механической стимуляцией кончика брюшка.

ОБСУЖДЕНИЕ

Аудиограммы, измеренные при стимуляции интактных совок, имеют наиболее явно выраженный минимум в средней части частотного диапазона (рис. 2). По этому признаку они устойчиво отличаются от "электрофизиологических" аудиограмм. Возможная причина различия формы графиков уже была подробно рассмотрена ранее (Лапшин, Воронцов, 2003,6) - речь идет о способности совок изменять продольное растяжение тимпанальной мембраны и, как следствие, варьировать частоту ее основного резонанса. Растяжение мембраны происходит при мышечной деформации торакса (Callahan, Carlisle, 1972). При малом растягивающем усилии частота резонанса мембраны составляет примерно 20 кГц (± 5 кГц). Такой режим настройки ТО у совок обычно реализуется в условиях острого опыта, а у летящих бабочек характерен для тех периодов времени, когда крылья в процессе взмаха приближаются к крайней нижней точке (Лапшин, Воронцов, 2000,6). При натяжении мембраны частота ее резонанса сдвигается из области 20 кГц в среднюю часть частотного диапазона (40-50 кГц). Этот режим настройки наиболее вероятен при "верхнем" положении крыльев летящей совки или при эмиссии бабочкой эхолокационного щелчка (Воронцов, Лапшин, 2002). Если моменты предъявления тональных посылок определяются независимым генератором, не связанным с активностью самого насекомого, то индивидуальная поведенческая аудиограмма представляет собой результат усреднения нескольких состояний слуховой системы. Эффектом усреднения можно объяснить "гладкость" поведенческих кривых без выраженных резонансных пиков, столь характерных для аудиограмм, построенных по результатам электрофизиологических экспериментов (рис. 2 и 3).

Сдвиг резонанса тимпанальной мембраны "вверх" должен приводить к перераспределению пороговых уровней во всем диапазоне частот, однако на высоких частотах (70-100 кГц и выше) нами был обнаружен иной, более действенный механизм настройки на воспринимаемый сигнал. По комплексу признаков - существенной разнице между "верхним" и "нижним" порогами на близких частотах (например, на 90 и 100 кГц), величине этой разницы (до 17 дБ), отсутствию в большинстве случаев проявлений эффекта в области средних частот - можно предположить, что в ответ на предъявление высокочастотного сигнала в ТО происходит перестройка некоего высокочастотного резонанса (или системы близко расположенных резонансов) из области заведомо превышающей 100 кГц "вниз" по частоте.

Внешне настройка на воспринимаемый сигнал должна проявляться в снижении порогов реакций. На рис. 3 видно, что диапазон изменений порогов при этом перекрывает разницу между "поведенческой" и

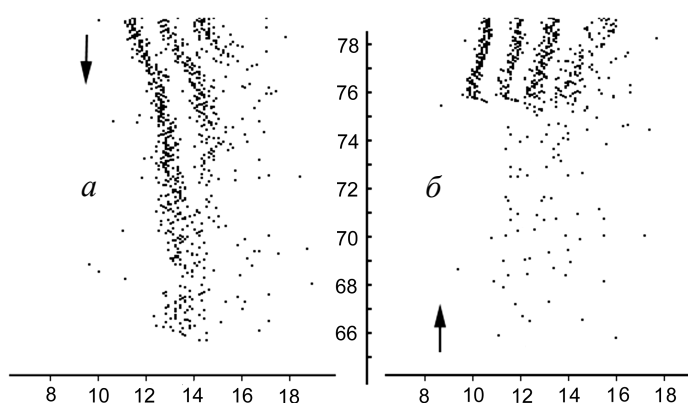


Рис. 5. Распределение спайков в ответах слухового интернейрона проторакального ганглия при нисходящем (а) и восходящем (б) "лестничном" изменении амплитуды стимула.

Точками обозначены отдельные спайки, стрелками - направление изменения амплитуды стимула. По горизонтальным осям - время (в мс) от начала действия тональной посылки в непрерывной последовательности (длительность посылки 5 мс, период следования 40 мс, частота заполнения 100 кГц); по вертикальной оси - пиковый уровень звукового давления в дБ УЗД. На каждой "ступеньке" лестницы, равной 1 дБ, проводилось по 40 однотипных предъявлений; каждая из диаграм построена по результатам 600 предъявлений.

"электрофизиологической" аудиограммами. Случайным положением центральной частоты высокочастотного резонанса в условиях электрофизиологического эксперимента можно объяснить также широкий разброс градиентов правых ветвей частотно-пороговых графиков, полученных в условиях острого опыта (3-53 дБ/окт.). Ход поведенческих кривых около точки 100 кГц (рис. 2 и 3) подразумевает повышенную чувствительность совок к ультразвукам и за пределами исследованного диапазона.

О механизме перестройки высокочастотного резонанса можно делать определенные выводы, проанализировав динамику спайковой активности после достижения "верхнего" порога. На рис. 5, б видно, что резкое увеличение ответа нейрона занимало вполне определенное время. Процесс настройки проявляется в самом начале бурной реакции нейрона в виде закономерного уменьшения латентного периода. Такое явление очень сходно с "захватом" сигнала следящей системой. В процессе "захвата" частота резонанса сдвигается к несущей входного сигнала (система настраивается). Во внешнем проявлении настройка должна сопровождаться ростом силы ответа и уменьшением его латентного периода. Именно такой комплекс признаков наблюдался в наших опытах. Для обнаружения такой системой сигнала необходимы также самопроизвольные, т.е. без внешнего воздействия, сдвиги резонанса в сторону низких частот. Только в процессе таких сдвигов могут появиться спайковые ответы слухового рецептора A_1 , необходимые для замыкания петли обратной связи через ЦНС.

"Затянутая" в сторону низких порогов область односпайковых ответов (рис. 5, а) может быть следствием сопровождения слуховой системой слабого сигнала с постепенной оптимизацией настройки на его несущую частоту. Случайная дестабилизация,

возможно возникавшая под влиянием дыхательных движений подопытного насекомого, приводила к срыву сопровождения сигнала и, как следствие, резкому исчезновению ответных спайков.

Предположительно, объектом механических перестроек является многорезонансная система упругих тяжей, включающая сколопарииум, лигамент и тимпанальный нерв (Adams, 1972). Наблюдавшееся в одном опыте несовпадение порогов разностью 6 дБ на частоте 60 кГц, скорее всего, было следствием перестройки резонанса тимпанальной мембраны "вверх" по частоте примерно так, как это отображено на рис. 4, б. По-видимому, необходимым условием наблюдения перестроек обоих типов в условиях острого опыта является снижение либо прекращение действия наркоза.

Остается пока невыясненным источник активности интернейронов в области между "нижним" порогом (порогом сопровождения) и "верхним" (порогом захвата). Эта активность эпизодически проявлялась в виде отдельных спайков или их групп. В другом масштабе времени моменты появления этих спайков тяготели к области латентных периодов слуховых ответов (рис. 5, б). В этой связи можно предположить, что разряды возникали вследствие слабого возбуждающего притока с контралатеральной части слуховой системы, которая в процессе собственных частотных перестроек в отдельные моменты времени могла оказаться более чувствительной по сравнению с ипсилатеральной стороной. Если принять эту гипотезу, то следует вывод, что две симметричные части слуховой системы функционируют в определенной степени независимо.

Таким образом, у совок в процессе эволюции сформировался акустический приемник, имеющий практически равномерную амплитудно-частотную характеристику в диапазоне шириной более 100 кГц. Такая широкополосность достигается за счет динамической перестройки резонансов, присущих механической части тимпанального

органа. Следует отметить, что описанный метод расширения диапазона воспринимаемых частот не приводит к пропорциональному увеличению уровня шумов, поскольку в каждый момент времени восприятие осуществляется преимущественно в пределах тех двух или нескольких резонансных полос, на которые "настроена" слуховая система бабочек. Имея возможность в течение нескольких десятков миллисекунд менять форму амплитудно-частотной характеристики входного акустического тракта, бабочки приобрели очень гибкий инструмент для оптимизации процесса восприятия сигналов самых разных типов как моночастотных, так и широкополосных.

Авторы выражают благодарность заведующему Кропотковской биостанции ИБР РАН канд. биол. наук В.В. Цыганову за помощь при проведении экспериментов. Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 02-04-48256 и № 02-04-63036К).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Воронцов Д.Д., Лапшин Д.Д. Частотная перестройка слуховой системы акустически активных бабочек-совок (Noctuidae, Lepidoptera) // Доклады РАН. 2002. Т. 386. С. 415-417.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д. Чувствительность к звуку шелкопрядов *Bombyx mori* (Bombycidae, Lepidoptera) // Сенсорные системы. 1999. Т. 13. № 4. С. 317-329.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д. Реакции ночных бабочек-совок (Lepidoptera, Noctuidae) на ретранслированные эхосигналы // Сенсорные системы. 2000а. Т. 14. № 2. С. 156-166.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д. Частотная настройка слуховой системы совок (Lepidoptera, Noctuidae) // Сенсорные системы. 2000б. Т. 14. № 4. С. 304-313.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д. Ультразвуковая эмиссия совок (Lepidoptera, Noctuidae): основные параметры и возможные механизмы их генерации // Зоол. журн. 2000в. Т. 79. № 10. С. 1189-1202.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д. Чувствительность совок *Enargia paleacea* Esp. (Lepidoptera, Noctuidae) к эхоподобным стимулам // Доклады РАН. 2003а. Т. 390. № 4. С. 565-567.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д. Частотная перестройка тимпанальных органов совок (Noctuidae, Lepidoptera) // Сенсорные системы. 2003б. Т. 17. № 3. С. 223-230.
- Лапшин Д.Н., Федорова М.В. Реакции тимпанальных органов совок (*Amphipyra perflua*: Noctuidae) на импульсные ультразвуковые сигналы // Сенсорные системы. 1996. Т. 10. № 1. С. 5-17.
- Лапшин Д.Н., Федорова М.В., Жантиев Р.Д. Эхолокация у совок (Lepidoptera, Noctuidae) // Зоол. журн. 1993. Т. 72. № 9. С. 93-105.
- Adams W.B. Mechanical tuning of the acoustic receptor of *Prodenia eridania* (Cramer) (Noctuidae) // J. Exp. Biol. 1972. V. 57. P. 297-304.
- Callahan P.S., Carlyle T.C. Comparison of the epaulette and micronodules on the tympanic membrane of the corn ear-worm moth with those of the cabbage looper // Ann. Entomol. Soc. Amer. 1972. V. 65. P.918-925.
- Madsen B.M., Miller L.A. Auditory input to motor neurons of the dorsal longitudinal flight muscles in a noctuid moth (*Barathra brassicae* L.) // J. Comp. Physiol. 1987. V.160. P.23-31.
- Roeder K.D., Treat A.E. Ultrasonic reception by the tympanic organ of noctuid moths // J. Exp. Zool. 1957. V. 134. P. 127-158.
- Roeder K.D., Treat A.E. The detection and evasion of bats by moths // Am. Sci. 1961. V. 49. P. 135-148.
- Surlykke A., Larsen O.N., Michelsen A. Temporal coding in the auditory receptor of the moth ear // J. Comp. Physiol. 1988. V. 162. P. 367-374.

Tuning to and Following the Acoustic Signal by the Auditory System in Noctuid Moths (Noctuidae, Lepidoptera)

D. N. Lapshin, D. D. Vorontsov*

Institute/or information transmission problems RAS 101447, Bolshoi Karetnyi per., 19, Moscow *
N.K. Koltsov Institute of developmental biology RAS 117808, Vavilova, 26, Moscow

The measurement of frequency threshold curves under different experimental conditions was performed in moth *Amphipyra pyramidea*. We compared data obtained from an intact animal in tethered flight experiment, and the curves measured in electrophysiological experiment. In the latter case the activity of auditory interneurons of prothoracic ganglion was recorded. In intact moths the decrease in thresholds with the frequency rise was observed above 80 kHz while in responses of auditory interneurons thresholds dramatically increased from 70 to 100 kHz by 15 dB on average. In this paper we examined the reasons for non-coincidence of results obtained in behavioral and electrophysiological experiments. It was shown that, after 30 min since electrophysiological experiment start when the effect of chloroform narcosis was reduced there was an evidence of auditory system tuning to the stimulus carrier frequency in the range from 70 to 100 kHz: auditory thresholds measured by decreasing the stimulus amplitude were lower than the ones measured by increasing the amplitude ("upper thresholds"). The maximal difference in auditory thresholds obtained using the measurement scheme described above varied from 7 dB at 70 kHz to 17 dB at 90 kHz. Basing on several features of auditory responses recorded, particularly on the dynamics of neuronal firing in the near-threshold area, we conclude that when stimulus level exceeded the "upper threshold" in our experiments some high-quality resonance within the tympanic organ shifted downwards from above 100 kHz. This effect is not observed in narcotized or heavily injured insect and this is the reason why one usually cannot demonstrate the effect in electrophysiological experiment. The range of threshold changes during frequency tuning in intact moth exceeds the difference in thresholds measured under various experimental conditions. We have also found that during experimental warming up of a moth body from 20 to 30°C auditory thresholds proportionally decreased by 7 dB on average without considerable changes in the shape of frequency threshold curve.

Key words: noctuid moths, acoustic sensitivity, frequency tuning, tympanic organ, threshold curve, temperature.