

**ВОСПРИЯТИЕ АКУСТИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ
САМЦАМИ КОМАРОВ
(DIPTERA, CHIRONOMIDAE)
В УСЛОВИЯХ ИМИТАЦИИ ПОЛЁТА**

© 2010 г. Д.Н. Лапшин

*Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН
127994 Москва, ГСП-4, Б.Каретный переулок, 19
E-mail: lapshin@iitp.ru*

Поступила в редакцию 03.11.2009 г.

Репродуктивное поведение самцов комаров включает акустическое обнаружение самки и её локализацию в пространстве. До настоящего времени физиологические характеристики слуховой системы комаров изучали в стационарных условиях. Между тем в полёте на органы чувств насекомого действует сильная вибрация, вызванная работой крылового аппарата. Так как рецепторы характеризуются нелинейностью, подобное переменное воздействие может весьма существенно изменить характер сенсорного восприятия. Задача исследования - оценка влияния условий полета на функционирование джонстоновых органов (органов слуха) самцов *Chironomus plumosus* L.

Для имитации условий полёта вокруг закреплённого комара периодически (с частотой 400 Гц) в дорсовентральном направлении смещался небольшой объём воздуха. Переменный ток воздуха увлекал за собой перистые антенны насекомого, заставляя жгутик антенны вибрировать. Далее вибрация передавалась на расположенные в основаниях антенн джонстоновы органы. В условиях имитации полёта комарам предъявляли ещё один низкоамплитудный синусоидальный стимул, частоту которого варьировали в ходе эксперимента. Отведение ответной импульсной активности нейронов джонстоновых органов на действие этого стимула осуществляли стеклянным микроэлектродом. В разрядах нейронов обнаружены два ритма амплитудной модуляции ответа, сформировавшихся вследствие нелинейных преобразований в рецепторах: один с частотой, равной разности частот имитации полёта и предлагаемого стимула; второй ритм соответствовал биениям комбинационных частот. По сравнению со стимуляцией в стационарных условиях при имитации полёта была обнаружена дополнительная область акустической чувствительности в диапазоне 440-600 Гц (зеркальный канал). В области основного порогового минимума (200-320 Гц) также наблюдалось снижение акустических порогов в среднем на 7 дБ (в 2.2 раза). При сопоставлении спектра акустического излучения самки и частотно-пороговых характеристик самцов обнаружено соответствие второй спектральной гармоники и порогового минимума в зеркальном канале.

Анализ результатов, полученных в условиях имитации полёта, показал, что механическое воздействие, связанное с локомоторной активностью животного, не только создаёт помехи сенсорным системам, но может существенно влиять на их функционирование в плане повышения чувствительности и приобретения новых свойств.

Ключевые слова: джонстоновы органы, нелинейность, Chironomidae, комар, акустическая коммуникация.

ВВЕДЕНИЕ

Репродуктивное поведение комаров включает акустическое обнаружение самками пролетающей самки и её локализацию в пространстве. Восприятие комарами звуковых колебаний, издаваемых крыльями другой особи, осуществляется джонстоновыми органами, расположенными во втором

членике антенн. Вызванные звуковыми волнами вибрации антеннального жгутика передаются сенсиллам джонстонова органа и затем преобразуются в переменные электрические потенциалы.

Американские исследователи Хой с коллегами (Cator et al., 2009) на основании данных электрофизиологических экспериментов и регистрации акустического взаимодействия самцов и самок

комаров *Aedes aegypti* L. сделали вывод, что при сближении особей осуществляется взаимная настройка за счёт изменения частоты крыловых взмахов. Авторы считают, что такая настройка происходит путём совмещения второй гармоники сигнала, излучаемого самцом, и третьей гармоники самки (отношение соответствующих частот взмахов 3:2).

Если между самцами и самками комаров действительно происходит акустическое взаимодействие, то для подстройки частоты взмахов каждая особь должна обладать физиологическим механизмом сравнения сигналов (один из сигналов внешний, а второй - собственный моторный ритм). Однако такой механизм до сих пор известен не был. В этой связи весьма перспективным представляется исследование влияния условий полёта на восприятие комарами внешних сигналов.

Известно, что все рецепторные системы животных в той или иной степени нелинейны. В общем случае при нелинейном преобразовании суммы двух периодических сигналов с частотами F_1 и F_2 формируются комбинационные гармоники $|mF_1 \pm nF_2|$, где m и n - целые числа (Харкевич, 1962). Как правило, амплитуда комбинационных гармоник быстро убывает с ростом m и n .

В сенсорных системах животных эффекты, связанные с нелинейностью, наиболее заметны при кодировании высокоамплитудных сигналов, в своем действии захватывающих область насыщения рецепторов. Поскольку комары воспринимают внешние звуки в полёте, в качестве такого сильного воздействия может выступать вибрация тела летящего насекомого и звуковые волны, исходящие от его крыльев.

При нелинейном преобразовании смеси двух сигналов с отношением частот 3:2 возникает принципиально важный эффект. При точном выполнении соотношения на выходе нелинейного преобразователя будут также совпадать значения двух комбинационных частот с малыми значениями множителей m и n : $F_B - F_C$ и $2F_C - F_B$, где F_B - частота крыловых взмахов самца и F_C - частота воспринимаемого сигнала (т.е. частота взмахов крыльев конспецифической самки). Компонент $2F_C$ необязательно должен быть продуктом нелинейного преобразования, в этой роли может также выступать вторая гармоника акустического излучения самки.

При нестрогом соотношении $F_B : F_C$ значения частот комбинационных гармоник $F_B - F_C$ и $2F_C - F_B$ будут различаться и при их взаимодействии возникнут дополнительные биения. В рассматриваемом случае при отклонении частоты внешнего

сигнала F_C на величину ΔF частота биений между комбинационными частотами изменится на $3\Delta F$. Такие биения вполне могут выступать в качестве сигналов рассогласования в процессе подстройки частоты взмахов самца к тону полёта самки. При достижении соотношения частот $F_B : F_C = 3:2$ автоматически совпадут и значения второй гармоники акустического излучения самца и третьей гармоники самки, но это будет только внешним признаком согласования, а не условием взаимной подстройки.

Биения комбинационных частот сами по себе не несут информации о знаке частотного рассогласования. В качестве дополнительного условия можно предположить, что комар в процессе настройки на воспринимаемый сигнал "знает", увеличивает он собственный темп крыловых взмахов или уменьшает, либо настройка частоты взмахов каждый раз происходит по одному фиксированному алгоритму и не зависит от знака частотного рассогласования.

Следует отметить, что все эти рассуждения не опираются на конкретный механизм передачи возбуждения со жгутика антенны на сенсиллы джонстонова органа комара. Следовательно, можно предположить, что ожидаемые эффекты, связанные с нелинейными преобразованиями в рецепторной системе, будут наблюдаться у представителей разных таксономических групп насекомых. В этом смысле представлялось перспективным исследование акустического восприятия самцов семейства Chironomidae, в котором также известна акустическая коммуникация как элемент репродуктивного поведения (Ogawa, Sato, 1993), но морфология джонстоновых органов самцов Chironomidae и Culicidae существенно различается (Жантиев, Федорова, 1999).

Основной объём данных о частотных характеристиках джонстонова органа ранее был получен на основе спектрального анализа так называемого "микрофонного потенциала", регистрируемого в органе на фоне акустической стимуляции (Жантиев и др., 2000). Однако пока ещё нет чёткого представления, какая именно часть информации, представленной в микрофонных потенциалах, реально используется в центральной нервной системе комаров в процессе обработки и интерпретации внешних звуковых потоков.

Пробные опыты с самцами хирономид показали, что в области, где пролегает антеннальный нерв, с высокой вероятностью можно зарегистрировать импульсную нейрональную активность. Эта особенность позволила изучать характеристики джонстонова органа с большей надёжностью.

тью с точки зрения информационной значимости измеряемых параметров.

Задача данного исследования - оценка влияния условий полёта на функционирование джонстоновых органов самцов комаров семейства Chironomidae.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа выполнена на 22 самцах *Chironomus plumosus* L., отловленных в природе на свет электрической лампы. В ходе опытов насекомым в дорсовентральном направлении предъявляли одновременно два акустических стимула: один - с частотой полёта самцов и высокой амплитудой колебаний воздушной среды (имитация полёта), а второй - с околопороговой амплитудой (внешний сигнал). Регистрацию ответной импульсной активности нейронов джонстоновых органов (ДО) осуществляли стеклянными микроэлектродами.

Методика регистрации электрической активности исключала возможность использования вибростимулов для имитации условий полёта, так как устойчивость отведения очень критична к стабильности положения кончика электрода относительно исследуемого нейрона. Однако с той же целью можно было ритмически смещать воздушную массу в небольшом объёме, окружающем подопытное насекомое. На антенны комара при этом действовало переменное усилие, пропорциональное мгновенной скорости воздушного потока. При определённой частоте и амплитуде колебаний воздуха, возникала деформация сочленения антенны с капсулой ДО приблизительно в той же мере, как это происходит в условиях реального полёта. Такое воздействие далее в тексте будет обозначено как "имитационная стимуляция" или "имитация полёта". При этом подразумевается, что речь идёт об имитации влияния только первой гармоники вибрации, возникающей при работе крылового аппарата комара.

Камера для акустической стимуляции состояла из двух симметричных частей, каждая из которых в свою очередь представляла собой трубу из прозрачного пластика с внутренним диаметром 120 мм и длиной 45 мм (рис. 1). Динамики WS 13 BF (1045) фирмы "Visaton" (Германия) были установлены в торцевых частях труб диффузорами навстречу друг другу и электрически соединены противофазно через резистивную схему балансировки. Одна половина акустической камеры укреплена стационарно на виброизолирующей подвеске, вторая присоединялась к первой в ходе

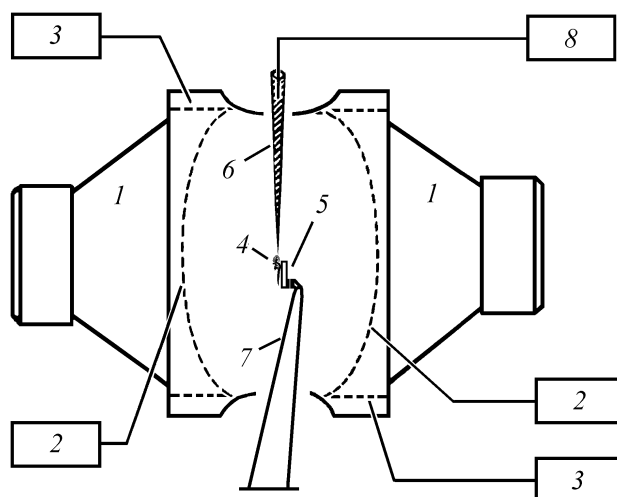


Рис. 1. Схема экспериментальной установки.

1 - динамик; 2 - экранирующая сетка; 3 - пластмассовая труба; 4 - подопытное насекомое; 5 — поворотный столик; 6 - электрод; 7 - держатель препарата; 8 - предварительный усилитель.

опыта после помещения в центр камеры поворотного столика с насекомым. Стеклянный микроэлектрод и держатель препарата подвели в центральную зону камеры через боковые отверстия в цилиндрической стенке.

С целью уменьшения наводок на препарат от электрических цепей динамиков перед диффузорами были установлены сетчатые металлические экраны. Сеткам придана вогнутая форма для предотвращения возможного дребезга их элементов в процессе стимуляции.

Аналогичная конструкция установки ранее была использована при проведении физиологических экспериментов на интернейронах церкальной системы сверчков (Лапшин, Рожкова, 1997; Лапшин и др., 1997).

На низких частотах, когда длина акустической волны больше расстояния между диффузорами собранной установки, скорость воздуха внутри камеры практически равна скорости движения диффузоров. Чем лучше соблюдается симметрия акустических параметров динамиков, тем выше точность соответствия скорости воздуха и диффузоров. Из-за нарушения симметрии возрастает уровень переменного звукового давления внутри трубы. Это давление можно измерить микрофоном, введенным через боковое отверстие в стенке камеры. Выравнивание акустической отдачи динамиков осуществлялось балансным регулятором в цепях их питания. При правильной балансировке уровень звукового давления внутри камеры резко снижался.

Калибровку стимулирующих динамиков осуществляли двумя независимыми способами. Первый способ состоял в измерении амплитуды колебаний диффузора оптическим методом по движению контрастной метки в свете стробоскопа. Частоту вспышек стробоскопа устанавливали на 1 Гц выше частоты колебаний диффузора. Действующее значение колебательной скорости V (мм/с) вычисляли по формуле

$$V = \frac{\sqrt{2}}{2} \pi f A_{p-p} \quad (1)$$

где $\pi = 3.141...$, f , Гц – частота управляющего сигнала на входе динамиков и A_{p-p} , мм – полный размах колебаний диффузора (от пика до пика).

Для контроля уровня стимуляции при произвольных значениях частоты около центра диффузора одного из динамиков был установлен электромагнитный адаптер M75-6S (Shure Inc.), который по принципу своего действия является широкополосным датчиком колебательной скорости. Механический контакт адаптера с центральным куполом динамика был отрегулирован таким образом, чтобы обеспечить максимальную амплитудную линейность при передаче низкочастотных колебаний от диффузора на адаптер.

В рамках второго метода в качестве измерителя колебательной скорости воздуха внутри экспериментальной камеры использовали ленточный микрофон "Октава" МЛ-53 (Россия), предварительно откалиброванный в свободном поле по измерителю звукового давления В&К 2235 (Brüel & Kjær, Дания). При сопоставлении результатов обоих методов на частоте 300 Гц была получена разность показаний в 1 дБ (10%). Такая точность принята как вполне достаточная.

Все данные измерений в работе приведены к логарифмической шкале в единицах децибел. За 0 дБ принято значение колебательной скорости $4.85 \cdot 10^{-5}$ мм/с, которое в условиях свободного поля соответствует стандартному значению звукового давления $2 \cdot 10^{-5}$ Па в соответствии с формулой

$$V = P/\rho c, \quad (2)$$

где P – звуковое давление, ρ – плотность воздуха и c – скорость звука при температуре 20 °С.

Синусоидальные стимулирующие сигналы формировались двумя цифроаналоговыми преобразователями ЛА-ЦАПн10м1 и GSPF052 ("Руднев и Шиляев", Россия).

Комара в экспериментальной зоне фиксировали на пластинке (столике) из металлизирован-

ного стеклотекстолита в форме удлинённого треугольника размером 10 x 5 мм. Столик в свою очередь крепили на держателе при помощи двух миниатюрных магнитов. Конструкция позволяла ориентировать подопытное насекомое под произвольным углом относительно стимулирующих динамиков.

Для закрепления комара на столике использовали клей на основе крахмала с добавлением физраствора с целью увеличения его электропроводности. Такой клей, нанесённый тонким слоем на токопроводящую поверхность столика, помимо механической фиксации комара, выполнял роль индифферентного электрода и предохранял подопытное насекомое от высыхания.

Микроэлектроды изготавливались из боросиликатного стекла 1B100F-4 (WPI Inc.). Электрическое сопротивление электродов, заполненных 1%-ным раствором NaCl, после прокола мягкой кутикулярной мембраны в основании ДО составляло 5 – 10 МОм. Сигнал с электрода поступал на усилитель постоянного тока с входным сопротивлением более 30 ГОм. Выходной сигнал через дополнительный усилитель переменного тока подавали на вход магнитографа SR-30S (Teac, Япония). Одновременно по другим каналам магнитографа вели регистрацию данных о действовавших стимулах.

Эксперименты проводили в лабораторных условиях при температуре воздуха 18–22 °С в августе – октябре 2009 г. на базе биостанции Института биологии развития РАН "Кропотово" (105 км к юго-востоку от Москвы).

Анализ полученных результатов проводили с использованием специализированных компьютерных программ. Программный пакет разработан научным сотрудником ИБР РАН к.б.н. Д.Д. Воронцовым.

Достоверность различий в данных, полученных при имитации полёта и в стационарных условиях (при выключенной имитации полёта), оценивали по непараметрическому T -критерию Уилкоксона (Лакин, 1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Предварительные измерения. В рамках подготовки к электрофизиологическим экспериментам в лабораторных условиях были измерены спектры полёта самок и самцов *C. plumosus* из одной популяции. На основании этих измерений основная частота крыловых взмахов самок принята равной 260–280 Гц, а самцов – 400 Гц. Последнее зна-

чение установлено в качестве основного при настройке стимула-имитатора условий полёта.

Затем необходимо было определиться с выбором уровня имитационного стимула. Поскольку заранее ничего не известно о характере влияния условий полёта на функционирование ДО, была проведена серия из шести опытов с самцами хирономид. Основная задача этих экспериментов состояла в оценке зависимости порогов ДО от уровня имитационной стимуляции. Как оказалось, при частоте малоамплитудного тестирующего стимула 260 Гц в диапазоне амплитуд имитации полёта от 60 до 80 дБ заметный минимум на амплитудно-пороговой характеристике ДО не выражен. Другими словами, в этом диапазоне изменение амплитуды имитационного стимула не влияло существенно на получаемые результаты. За пределами диапазона амплитуд имитации ниже 60 и выше 85 дБ прогрессирующе росли пороги на тестирующий стимул. В дальнейшем, в ходе основной серии экспериментов действующее значение скорости колебаний воздуха при имитации полёта было установлено на уровне 76 дБ и не менялось от опыта к опыту.

Схема типового опыта включала измерение частотно-пороговых характеристик, как в условиях имитации полёта, так и при стационарном состоянии препарата, когда имитатор был выключен.

Удлинение общего времени измерений потребовало введения текущего контроля чувствительности исследуемого нейрона. Он заключался в периодических измерениях порога на одной и той же частоте (обычно на 260 Гц). Если в одних и тех же условиях стимуляции было обнаружено смещение порогового уровня на 2 дБ и более, вносилась соответствующая поправка в текущие данные или проводились повторные измерения.

Описание реакций нейронов. На рис. 2 приведены примеры реакций нейронов ДО самцов хирономид на стимуляцию смесью двух синусоидальных сигналов. Один из компонентов в смеси ($F_B = 400$ Гц), имевший по сравнению с другим в 6 раз большую амплитуду, служил для имитации механических возмущений, связанных с полётом комара, второй (F_C) - внешний сигнал.

На рис. 2, а приведена осциллограмма ответа нейрона. В данном опыте амплитуда зарегистрированных импульсов не зависела от уровня стимуляции, поэтому можно предположить исходно спайковую природу этих потенциалов. Рисунок 2, б - график колебаний скорости воздушной массы около подопытного насекомого. Частота стимула в данном опыте составляла $F_C = 360$ Гц, а основная комбинационная частота $F_B - F_C = 400 - 360 = 40$ Гц. Разряды нейрона в этом отведении следовали синхронно с биениями $F_B - F_C$.

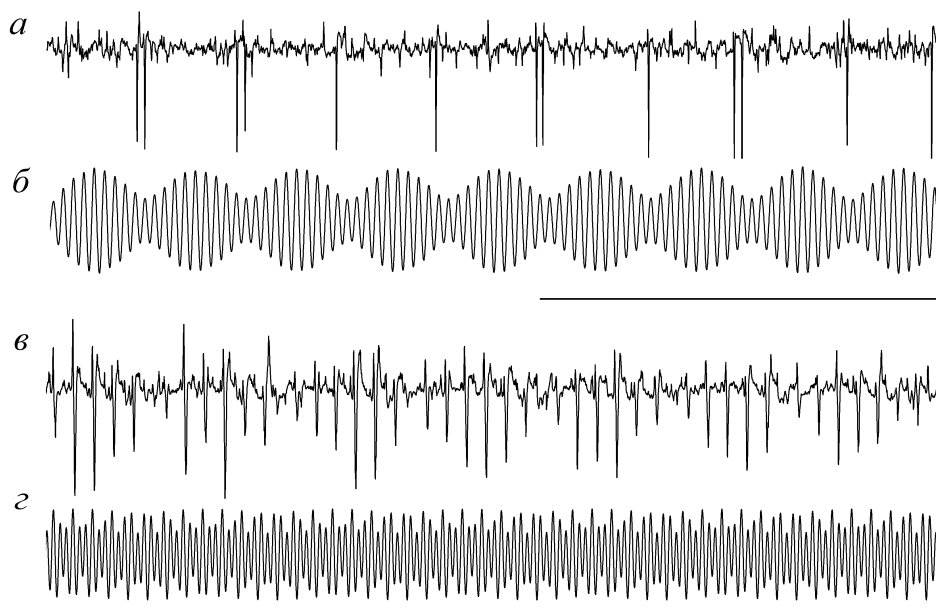


Рис. 2. Осциллограммы ответов нейронов джонстонова органа самцов *C. plumosus* при совместном действии двух синусоидальных стимулов.

а, в - реакции на амплитудные биения; б, г - осциллограммы суммарных сигналов, действовавших на джонстонов орган комара. Условия стимуляции: а, б - 400 Гц, 76 дБ в сумме с 360 Гц, 60 дБ; в, г - 400 Гц, 76 дБ в сумме с 260 Гц, 60 дБ. Осциллограмма "б" получена с частичным уменьшением высокоамплитудного компонента для лучшего выявления биений результирующего стимула. Масштаб времени 100 мс.

На рис. 2, в приведён пример иного типа активности нейронов ДО: в этом и аналогичных ему случаях амплитуда коротких отрицательных всплесков зависела от уровня стимуляции. Другими словами, зарегистрированные импульсы не были отражением потенциалов действия, а представляли скорее всего разновидность генераторных потенциалов. Так же как и в предыдущем случае, отрицательная полярность физиологических ответов указывает на внеклеточную локализацию отведения.

На фрагменте записи рис. 2, в хорошо заметны два ритма модуляции ответа: один с периодом около 7 мс, второй - с периодом 50 мс. Меньшему периоду соответствует частота биений, равная разности $F_g - F_c = 400 - 260 = 140$ Гц, тогда как медленные амплитудные волны возникли в ответ на биения двух комбинационных частот: $(F_b - F_c) - (2F_c - F_b) = 2F_b - 3F_c = 20$ Гц (период амплитудной модуляции ответа 50 мс). Следует отметить, что биения с этой частотой визуально почти незаметны на осциллограмме стимула (рис. 2, г), тогда как в нейрональной активности соответствующая им модуляция имела доминирующий характер. При установке частоты стимула 240 Гц период амплитудной модуляции ответа уменьшился до 12.5 мс (частота 80 Гц). Таким образом, характер ответов сенсиллярного аппарата ДО вполне соответствовал теоретическим ожиданиям.

В процессе измерения характеристик ДО обнаружены существенные различия в активности отдельных чувствительных элементов. Неоднократно был зарегистрирован устойчивый ответ на частоту имитации полёта (400 Гц). В то же время выявлены клетки, на ответы которых дополнительная стимуляция с частотой полёта практически не влияла: характер ответной активности этих нейронов и пороги их чувствительности не менялись при включении имитации полёта.

Гистерезис порогов. При проведении первых же экспериментов было обнаружено, что нейронам ДО в околороговой области свойственен гистерезис: пороги, измеренные при увеличении амплитуды стимула из подпороговой области ("верхний" порог, $th\uparrow$), превышали пороговые значения, полученные при плавном уменьшении уровня стимуляции ("нижний" порог, $th\downarrow$). Разница в значениях порогов $th\uparrow - th\downarrow$ составляла 3-5 дБ. Если уровень сигнала в процессе увеличения амплитуды был зафиксирован несколько ниже "верхнего" порога ($th\uparrow - 2$ дБ), то наблюдалось постепенное увеличение ответа нейрона за время 1-5 с. Возможно, эффект гистерезиса возникал вследствие эфферентной регуляции чувствительности ДО. Во всех последующих измерениях в качестве меры порога принято "верхнее" значение $th\uparrow$.

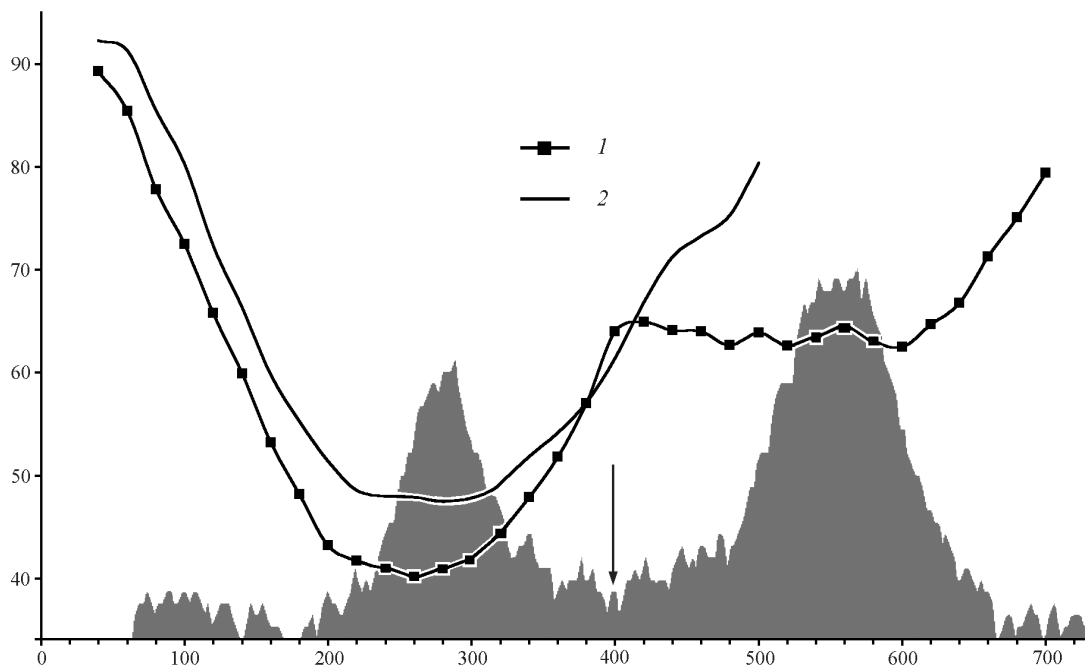


Рис. 3. Усреднённые частотно-пороговые характеристики джонстонова органа самцов *C. plumosus*, измеренные в условиях имитации полёта (1) и моночастотной стимуляции (2).

Положение частоты имитации полёта (400 Гц) указано стрелкой. Графики приведены на фоне спектра звукоизлучения самки того же вида. По горизонтальной оси - частота, Гц; по вертикальной оси - физиологические пороги, дБ.

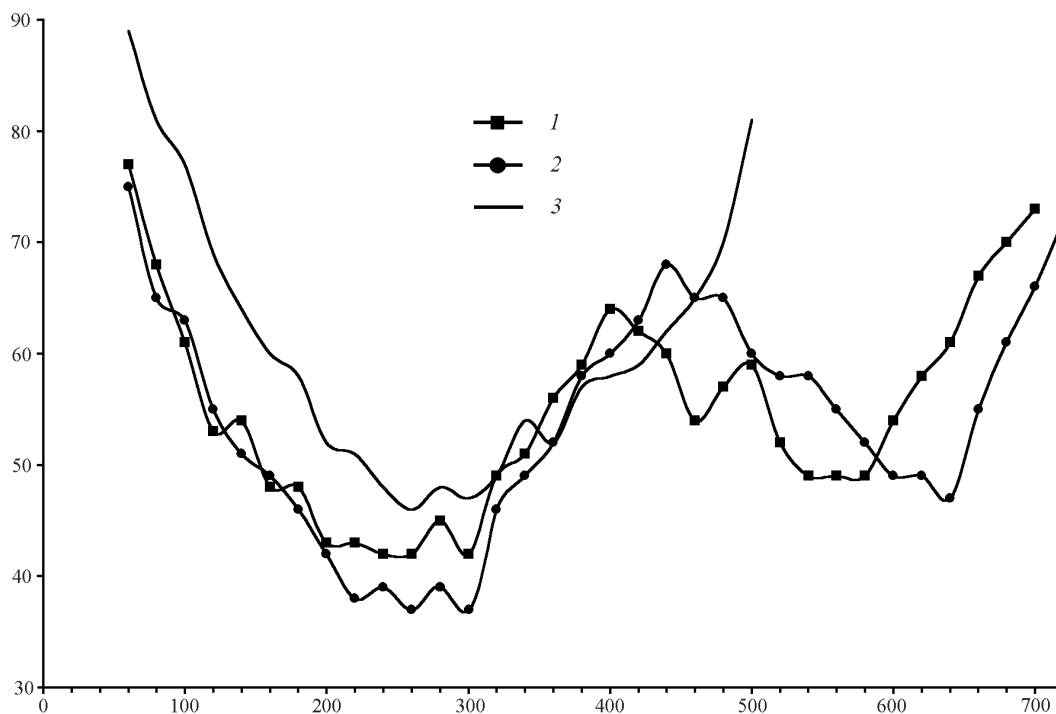


Рис. 4. Частотно-пороговые характеристики джонстонова органа самца *C. plumosus*, измеренные в условиях имитации полёта при частоте 400 Гц (1), 430 Гц (2) и моночастотной стимуляции (3). По горизонтальной оси - частота, Гц; по вертикальной оси - физиологические пороги, дБ.

Частотно-пороговые характеристики. В наиболее важном диапазоне частот, т.е. в области локализации первой гармоники звука летящей самки (260 - 300 Гц), пороги сенсилл ДО в условиях имитации полёта составляли в среднем 40 - 42 дБ. Эти значения оказались на 6 - 8 дБ ниже порогов, измеренных в условиях моночастотной стимуляции (рис. 3); диапазон разброса на частоте 260 Гц от опыта к опыту составил 3 - 19 дБ (по данным 16 опытов, достоверность различий $p > 0.99$). Тенденция к снижению порогов в условиях имитации полёта у большинства исследованных экземпляров сохранялась и в области низких частот (в 12 опытах из 16, достоверность различий $p > 0.99$). У четырёх экземпляров пороги в этом диапазоне не зависели явным образом от дополнительной стимуляции.

В диапазоне от 320 до 400 Гц влияние имитации полёта не сказывалось определённым образом на чувствительности ДО: в девяти опытах пороги оказались ниже, чем при моночастотной стимуляции, в четырёх опытах - примерно равны и в трёх опытах - выше.

В двух опытах удалось последовательно зарегистрировать частотно-пороговые характеристики от разных клеток с взаимно смещёнными оптимумами чувствительности (разница между оптимумами составляла 40 - 60 Гц). Согласно этим наблюдениям, комплекс сенсилл ДО образован элементами

с различающимися характеристиками, т.е. отличия в форме измеренных частотно-пороговых графиков не были следствием только индивидуального разброса, а определялась также свойствами выбранной для регистрации сенсиллы.

На частотах выше 400 Гц в условиях имитации полёта частотно-пороговые характеристики имели либо горизонтальный участок (с чередующимися локальными колебаниями формы, рис. 3), либо содержали выраженный минимум (в 9 опытах из 16). Ширина этого минимума в среднем составляла 50 Гц, его положение существенно варьировало от опыта к опыту (490 - 620 Гц). Этим обстоятельством можно объяснить отсутствие выраженного минимума на усреднённой диаграмме в области частот от 400 до 600 Гц (рис. 3).

Положение на графиках правых ("высоко-частотных") границ участков повышенной чувствительности (точек перегиба кривых) коррелировало с положением точек перегиба левых ("низко-частотных") ветвей пороговых характеристик в области основного минимума ($r = 0.62$, достоверность оценки $p > 0.95$). При изменении в ходе опыта частоты имитационного стимула изменялось и положение "высоко-частотной" границы: при увеличении (уменьшении) частоты границы смещались по частотному диапазону в сторону увеличения (уменьшения) (рис. 4).

При моночастотной стимуляции (т.е. при выключенной имитации полёта) большая часть исследованных нейронов в диапазоне выше 440 Гц вообще переставала отвечать даже при существенном (до 105 дБ) увеличении амплитуды стимула. Можно сделать вывод, что комбинационные гармоники с частотами выше 440 Гц также не будут восприниматься рецепторным аппаратом ДО. Под это ограничение, в частности, попадают все гармоники с частотами $mF_b + nF_c$ при условии $n = m = 1$ или $m \geq 2$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Восприятие внешних сигналов джонстоновыми органами комара в условиях имитации полёта характеризуется тремя основными особенностями:

- снижением порогов в среднем на 7 дБ по сравнению со стимуляцией в стационарных условиях;
- формированием дополнительной зоны чувствительности на частоте второй гармоники акустического сигнала самки;
- модуляцией ответов нейронов ДО в соответствии с биениями комбинационных частот. Такая модуляция может быть использована в центральной нервной системе комара в качестве сигнала частотного рассогласования ритмов взмахов самца и самки.

Снижение порогов ДО в условиях имитации полёта. Первый фактор, вызывающий снижение порогов, это смещение слабых сигналов в надпороговую область при их суммации с вибрационным воздействием со стороны моторной системы. Такой эффект близок по смыслу к стохастическому резонансу (Bezrukov, Vodyanov, 1997).

В качестве второго фактора могут выступать процессы взаимодействия комбинационных частот на уровне сенсилл ДО (рис. 2, в). Низкочастотные продукты такого взаимодействия вызывают сильную амплитудную модуляцию электрической активности нейронов, что должно приводить к снижению результирующих порогов.

Формирование комбинационных частот возможно также при восприятии сигналов других самцов, особенно при их близком пролёте относительно воспринимающего звук насекомого. Если частоты взмахов двух самцов различаются, то на выходе ДО возникнут характерные биения, аналогичные изображенным на рис. 2, а. Эти биения сходны с продуктами взаимодействия комбинационных частот при восприятии звука полёта самки (рис. 2, в). Не исключено, что подобное

сходство в физиологических откликах вызывает у хируномид ошибочные поведенческие реакции (Fyodorova, Azovsky, 2003).

Возникновение дополнительной области чувствительности в высокочастотной части диапазона (более 400 Гц) является следствием нелинейного преобразования на уровне сенсилл смеси сигнала имитационного стимула (F_b) и внешнего сигнала (F_c). В результате такого преобразования формируется комплекс комбинационных гармоник с частотами, равными разности $|mF_b - nF_c|$. Например, при $F_c = 600$ Гц и $n = m = 1$ основная комбинационная гармоника будет равна $600 - 400 = 200$ Гц. При нелинейном преобразовании происходит перенос части энергии внешнего сигнала в низкочастотный диапазон, где нейроны имеют более высокую чувствительность. В радиофизике это явление давно известно, и дополнительная область повышенной чувствительности получила название "зеркальный канал". В то же время в стационарных условиях (при выключенной имитации полёта) сигналы с частотой 600 Гц сенсиллами ДО восприниматься не будут (рис. 3 и 4).

Частотная характеристика механической части антенны не эквивалентна кривой, построенной по результатам моночастотной стимуляции ДО. Этот вывод следует уже из самой возможности формирования зеркального канала. Наклон (значение первой производной) правой "высокочастотной" ветви настройки антенны можно определить по графику, приведённому в работе Жантиева с соавторами (Жантiev и др., 2000): он составляет примерно 6 дБ на 100 Гц в области точки 400 Гц. Согласно собственным электрофизиологическим данным, полученным при моночастотной стимуляции и учитывающим влияние сенсилл (рис. 3), аналогично ориентированный наклон равен 19 дБ на 100 Гц, т.е. разница в 13 дБ (значение первой производной во втором случае в 4.5 раза больше). Этот итог указывает на преобладающий вклад сенсиллярного аппарата в формирование частотной характеристики ДО.

В области зеркального канала при смещении частоты сигнала в большую сторону амплитуда вызванных колебаний антенны уменьшается (пороги растут), а комбинационная частота $F_c - F_b$ том же смещении сдвигается в область меньших порогов, т.е. параллельно действуют два конкурирующих процесса.

Возможность реализации "горизонтального участка" в области зеркального канала (рис. 3) или выраженного минимума (рис. 4) определяется соотношением разнонаправленных наклонов частотных характеристик сенсилл ниже по частоте

зоны основного минимума (первая производная t_1) и механики антенны в высокочастотной части (t_2). При равенстве абсолютных значений обеих производных ($|t_1| = |t_2|$) в области зеркального канала формируется горизонтальный участок, в случае переменности t_1 или t_2 - либо минимум, либо последовательность локальных максимумов и минимумов.

Правая граница зеркального канала (примерно от 600 Гц и выше) ограничена ветвью, характеризующейся резким увеличением порогов. При приближении по частотной оси к точке излома кривой производные конкурирующих факторов становятся близкими по абсолютной величине, но затем начинает преобладать подъём характеристики самой антенны ($|t_2| > |t_1|$). В целом по данным всех экспериментов на такое соответствие дополнительно указывает корреляция между частотами перегиба отрицательного ската характеристики в районе 200 Гц и началом подъёма порогов в правой части зеркального канала (в районе 600 Гц).

При сопоставлении спектра акустического излучения конспецифической самки и частотно-пороговой характеристики самца (рис.3) видно, что в область зеркального канала попадает второй спектральный пик сигнала самки. В контексте эффективности отдельных спектральных компонентов воспринимаемого сигнала действие этой гармоники может оказаться значимым, так как комар, как излучатель, на удвоенной частоте в 2 раза более эффективен (Лепендин, 1978). Кроме того, влияние второй гармоники ($2F_c$), поддержанной зеркальным каналом, должно быть существенным при возбуждении биений комбинационных гармоник ($2F_c - F_B$ и $F_B - F_c$).

Способность к восприятию биений фактически открывает путь к частотному анализу входного сигнала, вернее, к оценке степени его рассогласования с ритмом собственного полёта. При взаимной подстройке ритмов по биениям автоматически обеспечивается температурная инвариантность канала акустической связи между самцами и самками. Это преимущество будет сохраняться при условии пропорционального изменения частоты взмахов самцов и самок на фоне колебаний температуры окружающего воздуха. Для комаров семейства Culicidae в существовании такой пропорциональности можно убедиться на основании ранее опубликованных измерений (Sotavalta, 1947).

Относительно функционирования гипотетического механизма анализа биений следует отметить, что точное согласование частот собственных взмахов и внешнего сигнала невозможно,

так как при этом частота биений будет стремиться к нулю. Даже если рецепторный аппарат комара способен воспринимать колебания с частотой в несколько герц, время последующего анализа станет недопустимо большим (пропорционально периоду биений). Поэтому в реальности согласование скорее всего осуществляется с некоторой расстройкой по частоте, при которой ещё возможно эффективное восприятие и анализ сенсорной системой низкочастотных биений.

Соотношение $F_B : F_c = 3:2$ является только одним из возможных вариантов, при реализации которых совпадают частоты нескольких комбинационных гармоник. Например, аналогичные эффекты возникают, когда частота крыловых взмахов самца в 2 раза выше частоты воспринимаемого сигнала ($F_B : F_c = 2:1$). В этом случае при нелинейном преобразовании комбинационная гармоника $F_B : F_c$ войдёт в биения с самим сигналом F_c . При сдвиге частоты внешнего сигнала F_c на величину ΔF частота биений изменится на величину $2\Delta F$. Существуют и другие соотношения $F_B : F_c$, при небольшой расстройке которых могут возникнуть заметные биения. Экспериментальная реализация одного из таких вариантов приведена на рис. 3, а, б: в этом случае значимые для возбуждения нейронов биения возникали в результате нелинейного преобразования исходных сигналов F_c и F_B .

Из приведённых примеров следует вывод о неоднозначности настройки с использованием эффекта биений комбинационных частот. Для снижения такой неоднозначности, по-видимому, и служит частотная избирательность ДО, особенно с учётом селекции второй гармоники сигнала самки в области зеркального канала. Так как частота второй гармоники по определению в 2 раза выше основной частоты полёта, то её совмещение по частоте с зеркальным каналом значительно критичнее по сравнению с основным тоном в границах области основного оптимума чувствительности ДО. Кроме того, точность такого совмещения существенно зависит от частоты взмахов самца (рис. 4). Таким образом, вторая гармоника акустического излучения самки может выполнять функцию видоспецифического сигнала на этапе сближения особей.

Итак, анализ результатов, полученных в условиях имитации полёта, показал, что механическое воздействие, связанное с локомоторной активностью животного, не только создаёт помехи сенсорным системам, но может также существенно влиять на их работу в плане повышения чувствительности и приобретения новых свойств.

Автор выражает признательность директору Кротововской биостанции Института биологии развития РАН **В.В. Цыганову** за содействие при проведении работ на базе биостанции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Жантиев Р.Д., Федорова М.В. Ультраструктура джонстонова органа *Chironomus plumosus* (Diptera, Chironomidae) // Энтомол. обозрение. 1999. Т. 78. № 2. С. 287-295.
- Жантиев Р.Д., Федорова М.В., Чуканов В.С., Есипович Н.Г. Морфофункциональная организация антенн и джонстоновых органов комаров-звонцов (Diptera, Chironomidae) // Сенсорные системы. 2000. Т. 15. № 1. С. 73-84.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк. 1990. 352 с.
- Лапшин Д.Н., Рожкова Г.И. Установка для исследования ветрочувствительных систем насекомых // Сенсорные системы. 1997. Т. 11. № 2. С. 168-174.
- Лапшин Д.Н., Рожкова Г.И., Веденина В.Ю. О параметрах стимула, определяющих реакции церкальных интернейронов // Сенсорные системы. 1997. Т. 11. №2. С. 175-180.
- Лепендин Д.Ф. Акустика. М.: Высш. шк., 1978. 448 с.
- Харкевич А.А. Основы радиотехники. М.: Связьиздат, 1962. 350 с.
- Bezrukov S.M., Vodyanoy I. Stochastic resonance in non-dynamical systems without response threshold // Nature. 1997. V. 385. № 23. P. 319-321.
- Cator L.J., Arthur B.J., Harrington L.C., Hoy R.R. Harmonic convergence in the love songs of the dengue vector mosquito // Science. 2009. V. 323. № 5917. P. 1077-1079.
- Fyodorova M. V., Azovsky A.I. Interactions between swarming *Chironomus annularius* (Diptera, Chironomidae) males: Role of acoustic behavior // J. Insect Behavior. 2003. V. 16. № 2. P. 295-306.
- Ogawa K., Sato H. Relationship between male acoustic response and female wingbeat frequency in a chironomid midge, *Chironomus yoshimatsui* (Diptera, Chironomidae) // Jpn. J. Sanit. Zool. 1993. V. 44. № 4. P. 355-360.
- Sotavalta O. The flight-tone (wing-stroke frequency) of insects / Acta Entomol. Fennica. 1947. V. 4. P. 1-117.

Auditory Perception in Male Mosquitoes (Diptera, Chironomidae) During Flight Simulation

D.N. Lapshin

Institute for information transmission problems (A.A. Kharkevich Institute) RAS
127994 Moscow, Bolshoy Karetny per, 19

As a part of mating behavior male mosquitoes detect and locate females by the sound generated by their wingbeats. Up to date the auditory physiological properties in mosquitoes were studied in a steady preparation. However, sensory organs of a flying insect are affected by a strong vibration induced by the wings and flight muscles. This effect can sufficiently modify the perception since receptor cells possess non-linear characteristics. The aim of this study was to demonstrate the effect of flight conditions on the functioning of the Johnston's organs (hearing organs) in male *Chironomus plumosus* L.

To simulate the flight conditions around the mosquito a small amount of air was shifted at 400 Hz along the dorso-ventral axis. These air oscillations carried the mosquito feather-like antennae causing vibrations of the antennal flagellum that are transmitted to and sensed by Johnston's organ.

Along with the flight simulation the mosquitoes were stimulated by a low-amplitude sinusoidal auditory signals of different frequencies. The responses were recorded from Johnston's organ neurons using glass microelectrode.

Auditory responses contained two rhythms of amplitude modulation which were produced due to non-linear processes in receptors: the first rhythm had the difference frequency of flight simulation and the stimulus; the second rhythm corresponded to the beating of heterodyne frequencies.

Compared to the steady-state conditions the additional optimum of auditory sensitivity was found at 440-600 Hz (so-called image channel) during flight simulation. The second harmonic of conspecific female sound corresponds to this optimum. Also the improvement of sensitivity by 7 dB (2.2-fold) was observed at the main optimum (200-320 Hz).

We conclude that mechanical influence caused by locomotor movements not only adds noise to the sensory system but also can improve its sensitivity or add new properties.

Key words: Johnston's organ, non-linearity, Chironomidae, mosquitoes, acoustic communication.