____ СЛУХОВАЯ И ВЕСТИБУЛЯРНАЯ ____ СИСТЕМЫ

УДК595.786; 591.185.5

ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПАРАЛЛЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ ИНФОРМАЦИИ В СЛУХОВОЙ СИСТЕМЕ БАБОЧЕК (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)

© 2010 г. Д. Н. Лапшин

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

Поступила в редакцию: 12.01.2010 г.

Ночные бабочки - совки (Lepidoptera, Noctuidae) способны обнаруживать летучих мышей, воспринимая их эхолокационные сигналы. В ответ на громкий ультразвук, сигнализирующий о приближении хищника, у летящих насекомых рефлекторно включается защитная поведенческая программа, выраженная в резком и непредсказуемом маневрировании. Так как в одной местности одновременно могут охотиться несколько летучих мышей, акустическое слежение за двумя и более хищниками является для бабочек жизненно важной задачей. Работа посвящена изучению принципов параллельной обработки независимых ритмических сигналов в центральных отделах слуховой системы совок.

Подопытным насекомым одновременно предъявляли две непрерывные последовательности ультразвуковых (40 кГц) пульсов с разными периодами повторения (две модели эхолокационных трелей летучих мышей). Ответную активность слуховых интернейронов регистрировали с помощью микроэлектродной техники.

Обнаружено, что на интервалах времени, где ожидались ответы нейронов на очередные пульсы, в соответствии со структурой каждой из ритмических последовательностей формировались зоны повышенной слуховой чувствительности (зоны выделения). Совместно с зонами выделения в ответах нейронов наблюдались также области с резко сниженной нейронной активностью (зоны подавления и режекции).

Зоны выделения можно интерпретировать как проявление выжидательного внимания к появлению на входе слуховой системы эхолокационных сигналов нападающего хищника. Формирование зон внимания предполагает параллельное развитие тормозных областей, отображением которых могут быть зоны подавления.

Ключевые слова: Noctuidae, совки, защитное поведение, летучие мыши, параллельная обработка информации, внимание.

ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что ночные бабочки – совки (Lepidoptera, Noctuidae) способны обнаруживать в воздухе летучих мышей по их эхолокационным сигналам (Roeder, Treat, 1961). В ответ на громкий ультразвук, сигнализирующий о приближении хищника, у летящих насекомых рефлекторно включается защитная поведенческая программа, выраженная в резком и непредсказуемом маневрировании.

Фуллард, исследовавший адаптивность слуховой системы совок в условиях сильного "давления" летучих мышей, предложил в качестве параметра "хищнической среды" некий "суммарный спектр", в котором интегрированы характеристики локационных сигналов всех насекомоядных летучих мышей, обитающих в данной "среде". Особенности слухового восприятия симпатрических видов бабочек могут отражать стремление обнаружить максимальное количество типов сигналов хищников (Fullard, 1982). У бабочек из тех районов, где мыши особенно многочисленны и активны, наблюдается расширение воспринимаемого частотного диапазона и увеличение чувствительности тимпанальных органов (Fullard et al, 1983; Fullard, 1988).

В то же время состояние перманентного испуга или бегства может оказаться для насекомых не менее вредным, нежели незнание о близкой опасности, поэтому для успешного обитания в "хищнической среде" бабочки должны уметь ориентироваться в акустической обстановке и различать виды мышей по специфике их эхолокационных сигналов.

Вероятность обнаружения бабочкой летучей мыши растет пропорционально площади местности, ограниченной радиусом акустической чувствительности насекомого к сигналам этих хищников. Как следствие, слабые ультразвуки, поступающие от летучих мышей с больших расстояний, будут регистрироваться слуховой системой бабочки значительно чаще, чем громкие (в среднем пропорционально дальности до источника звука).

Однако слабые по уровню эхолокационные трели летучих мышей нельзя сводить к неким малозначимым шумам, действующим на фоне наиболее громкого сигнала от ближайшего хищника. Даже при незначительном изменении угловой ориентации летучей мыши в пространстве бабочка может оказаться в поле её эхолокационного восприятия. Соответственно, сигнал, который на входе слуховой системы насекомого до этого мог иметь небольшую амплитуду, после такого манёвра практически мгновенно станет доминирующим.

Общую картину взаимодействия бабочек и летучих мышей дополнительно усложняет то обстоятельство, что совки сами используют эхолокацию при ориентации в пространстве (Лапшин, 2005). Как следствие, в процессе коэволюции двух групп трофически связанных объектов неизбежно должны модифицироваться параметры всех функциональных элементов эхолокаторов как хищников, так и их жертв (Лапшин, 2002).

Для многих видов летучих мышей характерна тенденция к снижению громкости зондирующих сигналов. Например, представители крупного семейства подковоносов (Rhinolophidae) при нападении на бабочек резко снижают амплитуду эхолокационных сигналов, либо вообще перестают их излучать, ориентируясь при этом исключительно на звуки самих насекомых (Айрапетьянц, Константинов, 1970). Такая особенность поведения хищников также требует от насекомых повышенного внимания к сравнительно "тихим" эхолокационным сигналам.

Восприятие бабочками биологически значимой информации осуществляется на фоне нейтральных акустических потоков, как правило, также имеющих регулярную временную структуру. Это в основном шумы полёта самой бабочки (Waters, Jones, 1994; Лапшин, Воронцов, 2007), призыв-

СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ том 24 №3 2010

ные сигналы прямокрылых или цикад, либо сигналы летучих мышей, специализирующихся на ловле мелких насекомых и не представляющих серьёзной опасности для более крупных чешуекрылых (Swift, Racey, 1983; Funakoshi, Yamamoto, 1996).

В рамках защитного поведения слуховая система совок обеспечивает решение двух задач: обнаружение сигналов хищных летучих мышей на фоне других акустических потоков и их последующий анализ. Результаты решений характеризуются в свою очередь двумя сопряжёнными параметрами: вероятностью обнаружения (для анализа - правильной интерпретации) сигнала и вероятностью ложной тревоги (ошибкой интерпретации). При пропуске сигнала (ошибке обнаружения) велика вероятность гибели насекомого при нападении летучей мыши из-за сокращения времени на защитный манёвр. При повышении вероятности ложных тревог бабочки не может эффективно реализовать свои основные функции (питание, размножение и т.д.). Выбор оптимальной поведенческой стратегии насекомым, как правило, носит компромиссный характер и должен иметь специфические черты для каждого вида с учётом особенностей среды его обитания.

Поскольку внешние акустические потоки разной природы и их сочетания могут быть весьма разнообразными, можно предположить, что функционирование нейронных механизмов, обеспечивающих обнаружение и последующую интерпретацию значимых акустических сигналов, осуществляется в центральной нервной системе совок по каким-то универсальным алгоритмам.

Предлагаемая работа посвящена начальному этапу изучения принципов обработки многокомпонентных сигналов в центральных отделах слуховой системе тимпанатных чешуекрылых - совок.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на совках четыpëx видов: Amphipyra pyramidea L. (10 экз.), Autographa gamma L. (8 экз.), Scoliopteryx libatrix L. (4 экз.), Xestia c-nigrum L. (8 экз.). Насекомые были отловлены в природе на свет лампы или пищевой аттрактант (забродившая смесь пива с мёдом). В каждом опыте использовали одну бабочку. Всего была исследована активность 106 интернейронов, получающих слуховой вход и локализованных в про- и мезоторакальном (1tg и 2tg) ганглиях.

Перед опытом совку, наркотизированную хлороформом, крепили за крылья вентральной стороной вверх на столике с шарнирным креплением. Затем металлическими скобами отводили вперёд коксы первой пары ног. Проторакальный ганглий у совок расположен между основаниями первой и второй пар кокс. Для того чтобы открыть ганглий, непосредственно над ним удаляли небольшой участок тонкой кутикулы. Более подробно методика подготовки препарата была описана ранее (Лапшин, Воронцов, 2003). Для доступа к мезоторакальному ганглию удаляли стернит, расположенный перед второй парой кокс.

Нормальная активность слуховых интернейронов восстанавливалась примерно через один час после окончания действия наркоза.

Обычно в начале отведения регистрацию нейронных потенциалов осуществляли внутриклеточно, но в ходе последующей программы тестирования, которая могла длиться несколько часов, удобнее было использовать внеклеточное отведение, как более устойчивое к мелким движениям подопытного насекомого и пульсирующему протоку гемолимфы, омывающему исследуемый ганглий.

При регистрации электрической активности нейронов использовали стеклянные микроэлектроды, заполненные 1%-ным раствором NaCl. Электрическое сопротивление электродов после прокола наружной оболочки ганглия составляло 20 - 60 МОм. Сигнал с электрода поступал на усилитель постоянного тока с входным сопротивлением более 30 ГОм (Первис, 1983). Далее с выхода усилителя (коэффициент усиления по напряжению 10) сигнал подавался на один из входов магнитографа SR-30С (Теас, Япония). Так как в процессе одного опыта могли происходить переходы от внутри- к внеклеточному отведению и обратно, в системе регистрации потенциалов был использован дополнительный усилитель с регулируемым коэффициентом усиления. Информация с его выхода поступала на второй канал магнитографа.

Преобразование величин интервалов между нейронными спайками в цифровой код и компьютерный анализ данных проводили после эксперимента с использованием специализированных программ. На этом же этапе в данные вносилась поправки, учитывающие время формирования огибающей тональных посылок в электронном ключе и задержку распространения звука от излучателей до подопытной бабочки (суммарно 2 мс). Программный пакет обработки электрофизиологических данных разработан научным сотрудником ИБР РАН, канд. биол. наук Д.Д. Воронцовым.

Каждый из стимулирующих сигналов представлял собой непрерывную последовательность (серию) повторяющихся пульсов. Длительность



Рис. 1. Схематичное изображение акустических стимулов:

а - серия тональных пульсов с периодом повторения 50 мс (первый стимул); *б* - серия с периодом 48 мс (второй стимул); *в* - вид фрагмента суммарного сигнала на уровне ипсилатерального тимпанального органа подопытного насекомого. Масштаб времени 50 мс.

отдельного пульса 5 мс, длительность фронтов нарастания и спада амплитудной огибающей пульса 0.5 мс. Период повторения пульсов в первом стимуле составлял 50 мс. Значение периода повторения пульсов во втором стимуле можно было перестраивать в пределах 48 ± 2 мс. Далее в тексте серия с периодом следования пульсов 50 мс обозначена как "первый стимул", в то время как под термином "второй стимул", подразумевается последовательность с варьируемым периодом повторения пульсов.

Частота заполнения (несущая частота) в обеих последовательностях формировалась одним генератором (цифроаналоговый преобразователь ЛА-ЦАПн10м1) и не менялась от опыта к опыту. Из наших более ранних исследований было известно, что форма аудиограмм бабочек может самопроизвольно перестраиваться (Лапшин, Воронцов, 2005) в том числе и в условиях электрофизиологического опыта. С учётом этого обстоятельства частота заполнения стимулирующих пульсов 40 кГц была выбрана из того диапазона, в котором индивидуальные слуховые пороги бабочек (у большинства исследованных видов в данной работе) в процессе таких перестроек варьируют в минимальной степени. Фазовый сдвиг между несущими частотами обоих стимулов на уровне ипсилатерального тимпанального органа бабочки (TO) был установлен примерно 120°. Амплитуда суммы двух равных синусоидальных сигналов с таким фазовым сдвигом равна амплитуде каждого из слагаемых - это позволило избежать существенных изменений уровня суммарного сигнала при совпадении во времени тональных посылок, принадлежавших к разным стимулирующим последовательностям (рис. 1).

Конденсаторный излучатель первого стимула был расположен справа от препарата под углом 90° относительно продольной оси тела подопыт-

ного насекомого и на расстоянии 20 см. Излучающим элементом служила мембрана размером 4 х 3 см из металлизированной полимерной плёнки толщиной 35 мкм. На мембрану подавался управляющий синусоидальный сигнал в сумме с поляризующим напряжением +180 В.

В качестве излучателя второго стимула был использован пьезоэлемент цилиндрической формы размером $\Phi 10 \ge 25$ мм из цирконата титаната свинца (ЦТС-19). Пьезоэлемент располагался рядом с конденсаторным излучателем под углом примерно 110° относительно продольной оси бабочки.

При калибровке стимулирующего тракта на место, где в опыте располагался ипсилатеральный по отношению к излучателям тимпанальный орган, помещали конденсаторный микрофон B&K 4135 (¼"), подключённый к измерителю акустического давления B&K 2235 (Brüel & Kjær, Дания). За 0 дБ УЗД принято стандартное среднеквадратичное значение звукового давления 20 мкПа.

Эксперименты проводили в лабораторных условиях при температуре воздуха 18 - 20°С в августе-октябре 2007 - 2008 гг. на базе биостанции Института биологии развития РАН "Кропотово" (105 км к юго-востоку от Москвы).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У совок нерв, включающий волокна сенсорных нейронов заднего крыла и два аксона рецепторов A_1 и A_2 тимпанального органа (TO), входит в метаторакальный (третий грудной, 3tg) ганглий дорзально в передней его части (Surlykke, Miller, 1982). Ветвление коллатералей аксона рецептора A_2 не распространяется за пределы мета- и мезоторакального (2tg) ганглиев. Наиболее чувствительный к звуку рецептор A_1 образует связи с интернейронами во всех трех грудных ганглиях и далее простирается в шейный коннектив (Roeder, 1966; Coro, Alonso, 1989).

Из семи слуховых интернейронов с известной морфологией, тела которых локализованы в третьем и втором грудных ганглиях, шесть восходящие: аксоны этих нейронов уходят через проторакальный (первый грудной, 1tg) ганглий к подглоточному ганглию (Boyan, Fullard, 1986).

Таким образом, согласно морфологическим данным, активность тимпанального рецептора A_1 и большинства слуховых интернейронов должна быть представлена в первом грудном ганглии.

Описание наиболее типичных реакций слуховых нейронов. В четырёх областях первого грудного ганглия совок (рис. 2) с наибольшей вероятно-

СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ том 24 №3 2010



Рис. 2. Схема проторакального ганглия совки (1tg). Овалами обведены области, в которых были зарегистрированы ответы слуховых интернейронов: dp - (regio) dextra posterior, sp - (regio) sinistra posterior, da -(regio) dextra anterior, sa - (regio) sinistra anterior. Вверху рисунка стрелками показана ориентация акустических излучателей относительно препарата: 1 - излучатель первого стимула и 2 – излучатель второго стимула. Линейный масштаб 0.2 мм.

стью можно было обнаружить ответную активность нейронов, получающих слуховой вход. Характер ответов нейронов, зарегистрированных в ипси- и контрлатеральных (относительно стимулирующих излучателей) частях ганглия, принципиально не отличался (в рамках применённых в данной работе методов анализа активности нейронов). В большей части внутриклеточных регистрации наблюдалась либо волна деполяризации (рис. 3, а), либо волна (волны) деполяризации в сочетании с одним - четырьмя импульсами на вершине (рис. 3, б). Волны деполяризации и малоамплитудные импульсы скорее всего отражают синаптический приток от восходящих интернейронов, локализованных в ганглиях 3tg и 2tg. Такой вывод следует из устойчивости регистрации этих потенциалов при повреждении нейропиля отводящим электродом. Естественно предположить, что высокоамплитудные импульсы (спайки) распространялись электротонически в пределах исследуемого нейрона от места их генерации к точке отведения электрической активности.

Иной тип ответов наблюдался при отведении потенциалов от аксонов в коннективах. Волна медленной деполяризации при этом отсутствовала, пиковая амплитуда спайков в отведении обычно составляла 10 - 25 мВ. Сходные по форме потенциалы были зарегистрированы в пределах проторакального ганглия (рис. 3, в), из чего мож-



Рис. 3. Примеры осциллограмм вызванной нейронной активности:

а - волны деполяризации без признаков спайковой активности (A. pyramidea, 1tg, область sp, уровень стимула 62 дБ УЗД); δ - активность слухового интернейрона при одновременном действии двух ритмических стимулов (S. libatrix, 1tg, область da, уровень стимулов 67 и 62 дБ УЗД); в - активность "аксонального типа" (A. pyramidea, 1tg, область da, уровень стимула 62 дБ УЗД). Пульсы стимулирующих серий условно показаны под осциллограммами. Калибровка времени 50 мс, калибровка амплитуды 10 мВ.

но предположить, что регистрация в этих случаях производилась от крупных терминалей трансганглиозных нейронов.

Активность нейронов мезоторакального (2tg) ганглия выглядела сходным образом. Однако отведения в этом ганглии необратимо повреждались при самопроизвольных движениях подопытного насекомого: ответ либо полностью исчезал, либо существенно менялся его характер. В то же время из анализа синаптических притоков, наблюдавшихся при регистрации активности нейронов 2tg, можно было получить дополнительную информацию. Это было существенным преимуществом, реализуемым с большей надёжностью, если уже были известны физиологические характеристики выходов интернейронов 2tg, т.е. после регистрации нейронной активности в 1tg.

Латентные периоды спайковых компонентов реакций интернейронов 1*tg* в зависимости от отведения варьировали от 10 до 22 мс. Наибольшее число нейронов отвечало с задержкой в диапазоне 12 - 16 мс. Исследованные в данной работе нейроны 2*tg* типично отвечали с задержками в диапа-

зоне от 8 до 16 мс (максимально 17 мс). Из числа описанных Бояном и Фуллардом восходящих интернейронов 2tg совок, этому диапазону задержек может соответствовать только тип 502 (по классификации Boyan, Fullard, 1986).

Латентный период ответов рецепторов A_1 на уровне проторакального ганглия составляет 4.5-6 мс (Лапшин, 2005). Так как слуховые рецепторы образуют развитые колатерали в нейропиле всех трёх грудных ганглиев (Surlykke, Miller 1982), можно предположить, что реакции, по крайней мере, некоторых исследованных интернейронов дополнительно активировалась коротколатентными рецеторными входами (пример такой активности приведён на рис. 4, *a*). Это обстоятельство существенно затрудняло классификацию исследованных нейронов по времени задержки их ответов относительно очередного пульса в стимуле.

Диаграммы построчного разложения спайков в интервалах между тональными посылками. Для иллюстрации распределения во времени реакций нейронов на сумму двух ритмических потоков в работе использованы диаграммы построчного разложения спайковой активности (рис. 4). Каждая строка диаграммы отсчитывается от начала очередного тонального пульса из синхронизирующей последовательности, причём в качестве синхронизирующей могла выступать любая из двух последовательностей по выбору экспериментатора. Заполнение диаграммы происходит слева направо и сверху вниз так, как читается страница книги. По горизонтальной оси диаграммы откладываются моменты регистрации спайков (обозначены на диаграмме точками) в интервале между двумя последовательными пульсами ("быстрое время"). По вертикальной оси диаграммы откладывается текущее время регистрации ("медленное время"). При построении диаграммы это время равно числу строк, умноженному на период следования пульсов в том стимуле, от которого ведётся синхронизация строчной развёртки.

При заполнении диаграммы все события синхронные с началом строк, например, вызванные отдельными пульсами спайки, при стабильном латентном периоде выстраиваются в вертикальные (рис. 4, a), либо изогнутые линии, в тех случаях, когда латентный период ответа нейрона менялся в ходе стимуляции (рис. 4, δ). Число таких линий при действии на препарат одиночной серии пульсов соответствует количеству спайков в ответе на один пульс.

Ответы нейрона на пульсы, принадлежавшие другой стимулирующей последовательности, на поле диаграммы располагаются вдоль наклонных линий. Направление наклона каждой такой линии

СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ том 24 №3 2010



Рис. 4. Строчные диаграммы распределения спайков в ответах нейронов:

a - X. c-nigrum, 1tg, область dp, одиночная серия пульсов с амплитудой 65 дБ УЗД; $\delta - X. c-nigrum, 1tg$, область dp, одиночная серия пульсов с амплитудой 56 дБ УЗД; $\epsilon - A. gamma, 1tg$, область dp, включение второго стимула на фоне действия первого (синхронизирующего), уровень обоих стимулов 64 дБ УЗД; $\epsilon - A. pyramidea$, отведение от контрлатеральной стороны 2tg, включение первого стимула на фоне действия второго (синхронизирующего), уровень обоих стимула на фоне действия второго (синхронизирующего), уровень обоих стимулов 62 дБ УЗД. По горизонтальной оси - время (мс), ограниченное одним периодом следования пульсов синхронизирующей серии. Точка 0 соответствует началу очередного пульса в серии (условное изображение пульса длительностью 5 мс приведено в начале горизонтальной оси. По вертикальной оси - текущее время регистрации (с). Зачернёнными прямоугольниками, примыкающими к вертикальным осям, обозначены интервалы подачи одного стимула на фоне другого (ϵ, ϵ).

определяется знаком рассогласования периодов двух последовательностей (рис. 4, *в*, *г*).

Построчное представление электрофизиологических реакций дало возможность наблюдать динамику процессов, происходящих в нервной системе на фоне стимуляции, причём не только в зоне вызванного ответа, но и во всём интервале между пульсами синхронизирующей последовательности. Если необходимо было сравнить реакции одного и того же нейрона на действие каждого из стимулов, можно было последовательно построить строчные диаграммы, синхронизованные сначала первым, а затем вторым стимулом.

Для упрощения анализа экспериментальных данных применялись последовательности, существенно различавшиеся по амплитуде пульсов, но не по периоду их повторения. Как показали многочисленные наблюдения, разница в значениях периодов 1-4 мс не влияла заметным образом

СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ том 24 №3 2010

на характер реакций слуховых интернейронов. В то же время, сходство временной структуры двух стимулов способствовало наглядности при графическом представлении данных.

Торможение ответов нейронов при одновременном действии двух стимулов. При одновременном действии двух стимулов более громкий из них вызывал частичное или полное торможение ответов интернейронов на стимул с меньшим уровнем. При близких значениях уровней стимулов (± 2 дБ), как правило, наблюдалось неполное взаимное подавление, выраженное в увеличении латентных периодов и уменьшении числа спайков в единичных ответах на каждый из пульсов в смеси (рис. 4, e).

Эффект подавления реакций на более слабый стимул при действии суммарного сигнала наблюдался в активности большинства исследованных интернейронов, из чего можно сделать вывод, что такая регуляция осуществляется в центральной нервной системе (ЦНС) бабочек на ранних этапах обработки акустической информации. Скорее всего, пороги реакций слуховых интернейронов подстраивались пропорционально уровню доминирующего сигнала на входе.

При подготовке к первым экспериментам оба стимула устанавливали равными (±1 дБ) по амплитуде (при расположении измерительного микрофона в области ипсилатерального по отношению к излучателям ТО подопытной бабочки). Однако в ходе тестирования выяснилось, что объективно равные по амплитуде сигналы у разных экземпляров подопытных насекомых вызывали разные по эффекту электрофизиологические ответы. Рисунок 4, г иллюстрирует такой случай: включение одного стимула на фоне действия другого (при равенстве их уровней) привело к сильному подавлению ответа на фоновый стимул. С учётом этого обстоятельства выравнивание стимулов по амплитуде в последующих экспериментах проводилось в начале тестирования на основании критерия близкого сходства ответов исследуемого нейрона на каждый из стимулов (по среднему числу спайков в ответ на пульс). Затем в ходе измерений амплитуду стимуляции варьировали относительно уже найденных таким образом значений в пределах от-10 до +10 дБ.

Локальная зона подавления (зона режекции). Представление экспериментальных данных в форме строчных диаграмм позволило обнаружить эффект выборочного подавления (режекции) спайковой активности слуховых интернейронов. Подавление возникало на тех временных интервалах, где ожидалось совпадение ответов на пульсы, принадлежавших разным последовательностям. Соответствующие области на строчных диаграммах обозначены как "зоны режекции" (R на рис. 5). Если один стимул был включён на фоне другого, имевшего меньшую амплитуду, то зона режекции формировалась с некоторой задержкой (рис. 5, a).

В процессе длящейся стимуляции зона режекции могла самопроизвольно возникнуть и потом исчезнуть (рис. 5, δ). Кроме того, в ходе нескольких последовательных сеансов предъявления одного стимула на фоне другого такая зона могла



Рис. 5. Формирование зон режекции (*R*) в ответах слуховых интернейронов:

а - Х. с-nigrum, 1*tg*, область *sp*, амплитуда первого стимула (синхронизирующего) 54 дБ УЗД, второго - 58 дБ УЗД; *б* - амплитуда первого (синхронизирующего) стимула 64 дБ УЗД, второго - 62 дБ УЗД; *в* - амплитуда первого стимула 62 дБ УЗД, второго (синхронизирующего) - 64 дБ УЗД; *г* - амплитуда обоих стимулов 64 дБ УЗД; (*б*, *в*, *г*) – *А. ругатidea*, контрлатеральный коннектив 2*tg* - 1*tg*. Остальные обозначения на диаграмме аналогичны рис. 4.

наблюдаться только в одном из сеансов, т.е. процесс её формирования не был строго детерминированным.

На диаграммах, синхронизованных со стимулом, имевшим наибольший уровень, зоны режекции выглядели как узкие полоски, внутри которых наблюдалось полное подавление спайковой активности (рис. 5, *в*). Этот эффект сохранялся и при увеличении уровня исходно менее громкого стимула (рис. 5, *г*).

Анализ внутриклеточной активности нейронов показал сильное периодическое торможение на тех интервалах, где пульсы двух стимулирующих последовательностей частично или полностью совпадали во времени (эти моменты отмечены на рис. 6 стрелками). Период повторения таких совпадений и соответственно период торможения определялся отношением $T_1 \cdot T_2/(T_1-T_2)$, где T_1 и T_2 - периоды следования пульсов в первом и втором стимулах соответственно.

Помимо подавления импульсной активности торможение было выражено в уменьшении амплитуды волн деполяризации (рис. 6, a) или формировании гиперполяризационных потенциалов (рис. 6, b, c). Абсолютная амплитуда последних заметно увеличивалась при полном совпадении акустических пульсов обеих стимулирующих серий, причём резкий фронт гиперполяризационных скачков (рис. 6, c) указывает на спайковую природу пресинаптических потенциалов.

Избирательное подавление ответов нейронов (динамическая фильтрация) в области совпадения ответов на пульсы, принадлежащих разным ритмическим сигналам (зона режекции, рис. 5, 6, 7, б) предположительно снижает вероятность ошибок распознавания этих сигналов. Неизбежно возникающие при этом лакуны в анализируемых последовательностях представляют для систем анализа меньшее "зло", нежели неопределённая смесь тех же сигналов. В то же время элиминация некоторой части информации из общего потока может привести к пропуску признаков опасности. По-видимому, эпизодическое "включение и выключение" зон режекции отражает компромиссный характер выбора между противоречивыми требованиями к полноте информации со стороны анализирующих центров.

Латентность зон режекции не всегда чётко соответствовала области формирования реакций нейрона на пульсы синхронизирующего стимула: наблюдались случаи дополнительной задержки зоны или её "опережения" относительно ответов нейрона. Из этих наблюдений следует вывод, что задержка зоны относительно входного сигнала является варьируемым параметром.



Рис. 6. Эффекты подавления активности интернейронов в моменты слияния пульсов, принадлежащих различным стимулирующим последовательностям:

а - А. gamma, 1tg, область da, амплитуда обоих стимулов 60 дБ УЗД; δ - Х. c-nigrum, ипсилатеральная сторона 2tg, амплитуда первого стимула 66 дБ УЗД, второго - 62 дБ УЗД; в - фрагмент осциллограммы δ в другом временном масштабе. Стрелками указаны моменты наиболее полного совпадения пульсов, принадлежащих разным последовательностям. Калибровка амплитуды на всех трёх осциллограммах 10 мВ.

Зоны режекции зарегистрированы у представителей всех четырёх исследованных видов совок в 15 опытах.

Локальная зона выделения и зоны подавления I и II типа. Помимо зоны режекции в вызванной активности интернейронов бабочек был зарегистрирован эффект локального усиления ответов во временном интервале, где ожидалось появление реакции на синхронизирующий стимул (рис. 7, a). Такой эффект не является функциональной альтернативой рассмотренной выше зоне режекции, так как оба эти явления наблюдались одновременно (зона R рис. 7, δ). Области локального усиления ответов названы "зонами выделения". Также как и в случаях с зонами режекции, зоны выделения формировались от более слабого стимула, а "заполнявшие" зону спайки являлись ответами на стимул с большей амплитудой.

При увеличении уровня синхронизирующего стимула ширина зоны уменьшалась, и на её фоне начинали выделяться синхронные ответы нейрона. В случаях примерного равенства уровней обоих стимулов относительно каждого из них формировалась своя зона выделения (рис. 7, *в*, *г*), причём зоны, приуроченные к разным стимулам,

СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ том 24 №3 2010



Рис. 7. Формирование зон выделения и сопряженных зон подавления в ответах слуховых интернейронов совок:

а - *А. gamma*, контрлатеральная сторона 2*tg*, предъявление второго стимула на фоне действия первого (синхронизирующего), амплитуда первого стимула 66 дБ УЗД, второго - 64 дБ УЗД; *б* - *А. gamma*, контрлатеральная сторона 2*tg*, предъявление первого стимула на фоне действия второго (синхронизирующего), амплитуда первого стимула 64 дБ УЗД, второго - 62 дБ УЗД; *в* - *А. gamma*, 1*tg*, область *da*, предъявление второго стимула на фоне действия второго (синхронизирующего), амплитуда обоих стимулов 58 дБ УЗД; *г* - *А. gamma*, 1*tg*, область *da*, предъявление первого стимула на фоне действия второго (синхронизирующего), амплитуда обоих стимулов 58 дБ УЗД; *г* - *А. gamma*, 1*tg*, область *da*, предъявление первого стимула на фоне действия второго (синхронизирующего), амплитуда обоих стимулов 58 дБ УЗД; *д* - *А. pyramidea*, ипсилатеральная сторона 2*tg*, предъявление первого стимула на фоне действия второго (синхронизирующего), амплитуда обоих стимулов 58 дБ УЗД; *д* - *А. pyramidea*, ипсилатеральная сторона 2*tg*, предъявление первого стимула на фоне действия второго (синхронизирующего), амплитуда обоих стимулов 58 дБ УЗД; *д* - *А. pyramidea*, ипсилатеральная сторона 2*tg*, предъявление первого стимула на фоне действия второго (синхронизирующего), амплитуда обоих стимулов 56 дБ УЗД; *е* - *А. pyramidea*, 1*tg*, область *da*, предъявление первого стимула на фоне действия второго (синхронизирующего), амплитуда обоих стимулов 56 дБ УЗД. Стрелки указывают на области формирования зоны режекции *R* (*б*) или зон подавления *I* и *II* (*d*, *e*). Остальные обозначения аналогичны рис. 4.

могли быть по-разному смещены во времени относительно синхронизирующего фактора.

Постепенное формирование зоны выделения можно было наблюдать при включении одного стимула на фоне другого, при этом зона выделения чаще формировалась с некоторой временной задержкой (порядка 2 с) относительно начала действия второго стимула (рис. 7, *a*, *d*). Затем ширина зоны постепенно уменьшалась.

Зоны выделения зарегистрированы в 24 опытах у представителей всех четырёх исследованных видов совок. Совместно с зоной выделения в ответах нейронов наблюдались также две зоны подавления *I* и *II*, визуально "контрастирующие" зону выделения на поле диаграмм (рис. 7). Зона *I* расположена в интервале перед зоной выделения, а зона *II* - после. При суммарном предъявлении двух стимулов области подавления формировалась почти одновременно с зоной выделения, но иногда формирование одной из них задерживалось. При сильной выраженности эффекта подавления зоны *I* и *II* объединялись на смежных периодах (рис. 7, *a*, *б*).

Все три элемента (зона выделения и две зоны подавления) могли наблюдаться по отдельности, например, только зона выделения (рис. 7, *г*), одна зона подавления *I* (рис. 7, *в*), постепенное развитие зоны *II* при отсутствии выраженной зоны выделения (рис. 7, *г*).

На всех диаграммах рис. 7 приведены также фрагменты с накоплением ответов интернейронов на одиночный ритмический стимул (в начале и в конце каждой регистрации). Хорошо видно, что реакции интернейронов на действие одиночного стимула и двухкомпонентного сигнала радикально различались.

Нейроны, в активности которых наблюдались описанные эффекты, локализованы в областях *da* ига проторакального ганглия (рис. 2). Во втором грудном ганглии (2tg) нейроны с аналогичным типом ответов не обнаруживали конкретной локализации. Такое различие можно объяснить развитым ветвлением слуховых интернейронов во всём объёме второго грудного ганглия (Boyan, Fullard, 1986; 1988).

Если графически изобразить наиболее типичный комплекс трёх зон (рис. 7, a, δ) как функцию передачи канала обработки акустических сигналов, то получится кривая, изображённая на рис. 8, a, - модуляционная функция и соответствующие её частям зона подавления I, зона выделения и зона подавления I. Согласно экспериментальным данным, влияние составляющих модуляционной функции является градуальным, вплоть до выборочного отсутствия на диаграмме проявлений любой из зон (рис. 7, e - e). В тех случаях, когда зоны подавления не были выражены, в области зоны выделения тем не менее было заметно усиление ответов на стимулы по сравнению с соседними участками.

Особо следует отметить случаи, когда зона подавления I наблюдалась на диаграмме в области малых латентных периодов (рис. 7, *e*, *d*). В этой области какие-либо изменения в активности интернейронов не могли возникнуть под действием непосредственно предшествовавшего звукового пульса из-за латентности слуховых рецепторов (4.5—6 мс на уровне 1tg (Лапшин, 2005)). Мож-

СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ том 24 №3 2010

но сделать вывод, что зона подавления *I* в этих случаях формировалась под влиянием пульсов, поступивших на вход слуховой системы на один или несколько периодов ранее.

Таким образом, модуляционная функция является отображением амплитудного "профиля" соответствующего ей сигнала на протяжении нескольких периодов, т.е. фактически является его образом.

Исследованные в данной работе нейроны, предположительно, функционируют в сетях, осуществляющих анализ внешних сигналов с последующей оценкой степени опасности их источников для бабочки. Эта оценка необходима насекомому для выбора адекватной формы поведения: продолжать свою нормальную деятельность, или активировать один из вариантов избегания опасности.

Реакции испуга на очень громкие ультразвуки, когда бабочка при нападении летучей мыши предпринимает резкие манёвры, либо, складывая крылья, падает на землю (Roeder, 1962; 1967), по-видимому, никак не регулируется высшими нервными центрами — в этих случаях просто нет времени для сложного анализа. В таких случаях работают простые механизмы, основанные на прямых связях высокопороговых слуховых рецепторов A_2 с моторными центрами (Roeder, Treat, 1961; Madsen, Miller 1987). За счёт этого достигается малая латентность поведенческих реакций бабочек (порядка 40-50 мс) при нападении летучей мыши (Roeder, 1967).

Обнаруженные на строчных диаграммах зоны выделения по существу представляют собой примеры визуализации областей выжидательного внимания ЦНС к тем сигналам, которые могут служить для бабочки признаками потенциальной опасности. Пока такие сигналы по уровню не-



Рис. 8. Схематичное изображение потенциала модуляционной функции (a); δ – осциллограмма ответа слухового интернейрона на тональную посылку (ϵ). *I* и *II* - области формирования зон подавления.

значительны, поведенческие реакции на них не развиваются, а основное внимание направлено на доминирующий по амплитуде сигнал. Но если в зоне внимания будут обнаружены синхронные разряды (рис. 7, *в*, *г*), это уже может являться признаком приближения ещё одного хищника.

Следует отметить, что наблюдение зон характерной модуляции нейронной активности оказалось возможным только при одновременном предъявлении бабочке двух ритмических стимулов. При простых вариантах стимуляции (одной серией пульсов) такие зоны либо не формировались, либо были ненаблюдаемыми из-за отсутствия на диаграмме полей спайков, инициированных другим стимулом. Возможно также, что переключение нейросетей на различные типы алгоритмов обработки сигналов происходит в соответствии с общим количеством независимых ритмических потоков на входе слуховой системы.

Формирование зон внимания предполагает одновременное развитие тормозных эффектов вне области внимания, графическим аналогом которых могут быть зоны подавления I и II (рис. 7). Снижение активности интернейронов в этих зонах уменьшает информационную нагрузку на слуховую систему и, как следствие, способствует повышению вероятности обнаружения новых сигналов. В физиологическом плане комплексы зон выделения и подавления, скорее всего, являются отображениями потенциальных профилей нескольких (по количеству одновременно действующих сигналов) модуляционных функций. Вполне возможно, что модуляционная функция, одновременно представляющая собой некую модель воспринимаемого сигнала, служит основой для работы механизма вероятностного прогнозирования (Галунов, Королева, 1988), позволяющего частично восстановить неизбежные пропуски информации, облегчая тем самым работу центров распознания сигналов.

Проблема обеспечения синхронизации активных зон. Реализация модулирующей функции подразумевает фиксацию точки её отсчета относительно комплементарного сигнала. При восприятии одного сигнала определение такой временной точки не представляет сложности. Другое дело, если в акустическом потоке одновременно присутствуют две или несколько ритмических последовательностей - в таких случаях возможны существенные ошибки, особенно при слиянии во времени элементов разных последовательностей (рис. 1).

Выявленные на строчных диаграммах зоны модуляции нейронной активности указывают на функционирование в ЦНС очень эффективного алгоритма детекции синхронизирующих факторов. Эта задача, в частности, может быть решена путём формирования узкой временной зоны выделения очередного пульса в непрерывной последовательности ("окна прозрачности"). Для эффективной работы такого детектора необходим стабилизирующий осциллятор, который определяет моменты открывания "окон прозрачности", непосредственно перед появлением ожидаемого сигнала.

Устойчивая синхронизация относительно каждого ритмического компонента сложного сигнала может быть обеспечена несколькими типами осцилляторов.

Первый тип представляет собой пейсмекер, генерирующий последовательность разрядов со стабильным периодом и обладающий определённой инерционностью в изменении характеристик генерации. Такой пейсмекер совместно с контуром управления его периодом может синхронизироваться с точностью до фазы с внешним ритмическим сигналом. В случае нарушения ритма синхронизации, которое может возникнуть при взаимодействии на входе ТО нескольких сигналов, разряды пейсмекера в строго определённые моменты "подменяют" неустойчивый синхронизирующий фактор и тем самым обеспечивают стабильность обработки воспринимаемого потока.

Второй тип осциллятора генерирует только один разряд через временной интервал, несколько меньший, чем период следования пульсов. Запуск отсчёта временного интервала при этом идёт от предшествовавшего пульса ритмической серии, а окончание предшествует моменту ожидаемого появления следующего пульса из той же серии. Этот вариант хорошо согласуется с идеей формирования в ЦНС амплитудно-временной модели воспринимаемого сигнала. Однако оба способа синхронизации весьма чувствительны к резкому изменению периода повторения стимулирующих пульсов.

Серия опытов, в которых в процессе стимуляции происходило скачкообразное изменение периода следования пульсов, дала неожиданные результаты: такие вариации периода практически не влияли на качество синхронизации зон и характер ответов рецепторов (рис. 9). Таким образом, факты заставляют пересмотреть оба гипотетических механизма синхронизации.

Поскольку излучатели двух стимулов располагались под разными углами относительно подопытного насекомого (90 и 110°), можно предположить, что разделение поступающих на вход слуховой системы сигналов у бабочек осуществляется в ЦНС с использованием бинауральной информации. При взаимном вычитании нейрокоррелятов акустических потоков, поступающих от двух тимпанальных органов, можно добиться значительного подавления одного из компонентов



Рис. 9. Устойчивость зон режекции (*a*) и выделения (*б*) при резком изменении периода следования пульсов синхронизирующего стимула (параметры второго стимула в процессе накопления не изменялись).

На диаграмме a - одновременное включение обоих стимулов (точка 0 на вертикальной шкале), затем, примерно через 23 с, следовало изменение периода синхронизирующего стимула от 50 до 40 мс. Амплитуда первого и второго стимулов 62 и 60 дБ УЗД соответственно (*A. gamma*, 1*tg*, область *da*). На диаграмме δ - период синхронизирующего стимулов 66 дБ УЗД (*A. gamma*, контрлатеральная сторона 2*tg*). Стрелками указаны моменты изменения периода, остальные обозначения аналогичны рис. 4.

и соответственно устойчивого выделения ритмической составляющей другого сигнала. Такое разделение должно происходить ещё до этапа формирования динамического порога под действием более громкого стимула (рис. 4, г), иначе информация о малоамплитудном сигнале будет либо потеряна, либо существенно искажена. Далее на основе выделенной ритмики каждого из стимулов возможно формирование параллельных управляющих каналов, модулирующих ответы нейронов основного тракта проведения возбуждения.

В заключение следует отметить, что задача одновременного восприятия нескольких периодических сигналов, либо активного выделения одного из них из сложного фона, является также актуальной для других акустически активных животных. После преобразования звуковой информации в нейрофизиологические коды вся последующая обработка уже напрямую не связана со слухом - это открывает перспективы аналогичных исследований сенсорных систем других модальностей.

ВЫВОДЫ:

- Реакции нейронов центрального отдела слуховой системы совок на действие одиночной по следовательности ультразвуковых пульсов и суммы из двух сходных последовательностей радикально различались.
- При предъявлении сложного акустического сигнала в активности слуховых интернейронов совок наблюдались эффекты выборочного выделения ответов на каждый из компонентов входного воздействия.

СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ том 24 №3 2010

- Формирование зон локальной модуляции активности нейронов наблюдалось как непосредственно после включения стимулов, так и произвольно на фоне длящейся стимуляции.
- Представление вызванной активности слуховых нейронов в виде строчных диаграмм позволило визуализировать работу механизмов параллельной обработки информации.
- Активацию нейронной активности во временных окнах, где ожидалось появление сигналов, и её подавление в областях вне этих зон можно интерпретировать как проявление выжидательного внимания центральной нервной системы насекомого к биологически важной информации.

Автор выражает свою глубокую признательность директору Кропотовской биостанции Института биологии развития РАН, к.б.н. В.В. Цыганову за содействие при проведении экспериментов на базе биостанции.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №06-04-48147).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Айрапетьянц Э.Ш., Константинов А.И. Эхолокация в природе. Л.: Наука, 1970. 379 с.
- Галунов В.И., Королева И.В. Обеспечение помехоустойчивости при обработке информации в слуховой системе // Сенсорные системы. 1988. Т. 2. № 3. С. 211-219.
- *Лапшин Д.Н.* Противостояние эхолокационных стратегий летучих мышей и ночных чешуекрылых // Plecotus et al., pars spec. 2002. С. 110-112.

- *Лапшин Д.Н.* Эхолокационная система бабочек. М.: Наука, 2005. 207 с.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д. Частотная перестройка тимпанальных органов совок (Noctuidae, Lepidoptera) // Сенсорные системы. 2003. Т. 17. № 3. С. 223-230.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д. Механизмы динамического формирования частотной характеристики слуховой системы совок (Noctuidae, Lepidoptera) // Сенсорные системы. 2005. Т. 19. № 4. С. 304-312.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д. Акустическое излучение от летящих совок (Lepidoptera, Noctuidae) // Зоологический журнал. 2007. Т. 86. № 12. С. 1452-1463.
- Первис Р. Микроэлектродные методы внутриклеточной регистрации и ионофореза. М.: Мир, 1983. 208 с.
- Boyan G.S., Fullard J.H. Interneurones responding to sound in the tobacco budworm moth *Heliothis vire*scens (Noctuidae): morfological and physiological characteristics // J. Corp. Physiol. 1986. V. 158. P. 391-404.
- Boyan G.S., Fullard J.H. Information processing at a central synapse suggests a noise filter in the auditory pathway of the noctuid moth // J. Сотр. Physiol. 1988. V. 164. P. 251-258.
- Coro F, Alonso N. Cell responses to acoustic stimuli in the pterothoracic ganglion of two noctuid moths // J. Corp. Physiol. 1989. V. 165. P. 253-268.
- *Fullard J.H.* Echolocation assemblages and their effects on moth auditory systems // Canad. J. Zool. 1982. V. 60. P. 2572-2576.
- *Fullard J.H.* The tuning of moth ears // Experientia. 1988. V. 44. № 5. P. 423-428.

- Fullard J.H., Fenton M.B., Furlonger C.L. Sensory relationships of moths and bats sampled from two Nearctic sites // Canad. J. Zool. 1983. V. 61. P. 1752-1757.
- *Funakoshi S,, Yamamoto T.* Moths, containing several species of *Amphipyra*, eaten by different bats at two sites // Trans. Soc. Japan. 1996. V. 47. № 3. P. 201-208.
- 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. Сотр. Physiol. 1987. V. 160. P. 23-31.
- *Roeder K.D.* The behavior of free flying moths in the presence of artificial ultrasonic pulses//Anim. Behav. 1962. V. 10. № 3. P. 300-304.
- Roeder K.D. Interneurons of the thoracic nerve cord activated by tympanic nerve fibres in noctuid moths // J. Insect. Physiol. 1966. V. 12. P. 1227-1244.
- *Roeder K.D.* Turning tendency of moths exposed to ultrasound while in stationary flight // J. Insect. Physiol. 1967. V. 13. P. 873-888.
- *Roeder K.D., Treat A.E.* The detection and evasion of bats by moths //Am. Sci. 1961. V. 49. P. 135-148.
- Surlykke A., Miller L.A. Central branchings of three sensory axons from a moth ear (Agrotis segetum, Noctuidae) // J. Insect. Physiol. 1982. V. 28. № 4. P. 357-364.
- Swift S.M., Racey P.A. Resource partitioning in two species of vespertilionid bats (Chiroptera) occupying the same roost // J. Zool. Lond. 1983. V. 200. P. 249-259.
- Waters D.A., Jones G. Wingbeat-generated ultrasound in noctuid moths increases the discharge rate of the batdetecting Al cell // Proc. R. Soc. Lond. 1994. B 258. P. 41-46.

Central mechanisms of parallel information processing in the moth auditory system (Lepidoptera, Noctuidae)

D. N. Lapshin

Institute for Information Transmission Problems (A.A. Kharkevich Institute), RAS 127994, Moscow, GSP-4, Bolshoy Karetny per. 19

Noctuid moths (Lepidoptera, Noctuidae) are able to detect bats by listening to their echolocation calls. When exposed to loud ultrasound that corresponds to a predator approaching moths demonstrate unpredictable evasive maneuvers. Since several bats could hunt simultaneously at the same site, to be able to listen out for each of them is critically important to a moth. The current study examines the principles of parallel processing of independent rhythmic signals in the central parts of moth auditory system.

Moths were presented with two continuous trains of ultrasonic (40 kHz carrier) pulses of different repetition rate (this kind of stimulation imitated the echolocation signals of two bats). The responses were recorded from auditory interneurons by means of microelectrodes.

It was found that within the interval when the next pulse would have appear (according to each of the two stimulation trains) interneurons demonstrated higher sensitivity (the emphasis zones). Along with higher sensitivity zones the intervals with abrupt response decrease were observed (the suppression or rejection zones).

One could interpret the emphasis zones as an evidence of expectant attention paid by a moth to the signals of a bat. The appearance of moments of attention should cause the suppression zones to develop in parallel.

Key words: Noctuidae, noctuid moths, defensive behavior, bats, parallel information processing, attention.

254