
**СЛУХОВАЯ
СИСТЕМА**

УДК 595.786; 591.185.5

**ОБРАБОТКА СУММЫ ДВУХ РИТМИЧЕСКИХ ПОТОКОВ
В ЦЕНТРАЛЬНЫХ ОТДЕЛАХ СЛУХОВОЙ СИСТЕМЫ БАБОЧЕК
(LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)**

© 2011 г. Д. Н. Лапшин

*Учреждение Российской академии наук
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: 21.11.2010 г.

Ранее было показано, что характер реакций слуховых интернейронов бабочек существенно зависит от количества независимых акустических сигналов на входе их слуховой системы (Лапшин, 2010). Эти данные были получены при стимуляции подопытных насекомых двумя ритмическими последовательностями тональных пульсов с близкими временными и частотными характеристиками. Следующий этап состоял в проверке устойчивости обнаруженных эффектов в ответах нейронов на предъявление сигналов с разными периодами следования и частотным заполнением.

В данной работе проведено исследование реакций слуховых интернейронов первого грудного ганглия совок (Noctuidae) на сумму двух ритмических последовательностей пульсов с тональным (частота заполнения 40 кГц) и шумовым (ширина спектра 35 - 120 кГц) заполнением. Спектральные параметры шумовых пульсов выбраны сходными с характеристиками шумов, сопровождающими полёт бабочек.

Показано, что слуховая система совок способна обнаруживать тональные сигналы, имеющие амплитуду на 1.5 - 2 порядка меньшую по сравнению с ритмическим шумом, предъявляемым в фоновом режиме.

На интервалах времени, где ожидался ответ нейронов на очередные пульсы, в соответствии со структурой каждой из ритмических последовательностей формировались зоны повышенной чувствительности (зоны выделения). В комплексе с зонами выделения наблюдались также области с резко сниженной нейронной активностью (зоны подавления и режекции). Вариации периода повторения пульсов в диапазоне 24 - 50 мс не сказывались принципиальным образом на общей картине формирования этих зон.

Возникновение зон выделения и подавления в активности слуховых интернейронов можно интерпретировать как признак развития внимания бабочек к значимым акустическим сигналам.

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

ВВЕДЕНИЕ

Открытие способности к эхолокации ночных бабочек - совок (Noctuidae) показало удивительный параллелизм в развитии этого явления у представителей разных таксонов (Лапшин, 2005). К настоящему времени известны ещё четыре группы животных, использующих акустическую локоцию при ориентации в пространстве: летучие мыши, водные млекопитающие (китообразные и ластоногие), птицы, обитающие в пещерах (гуахаро, саланганы), грызуны и насекомоядные

животные (землеройки и тенреки) (Айрапетьянц, Константинов, 1974). Из сопоставления локационных систем позвоночных и насекомых, имеющих принципиально разную организацию слуховых анализаторов, возник вопрос, как далеко простирается параллелизм в логике обработки информационных потоков у этих животных.

Морфология слуховой системы совок вполне соответствует традициям экономного решения физиологических задач у насекомых: восприятие и последующая обработка акустической информации

осуществляется у этих бабочек системой, состоящей всего из четырёх слуховых рецепторов и нескольких десятков интернейронов, образующих высшие отделы слуховой системы (Roeder, Treat, 1957; Boyan, Fullard, 1986).

При исследовании характеристик слуха насекомых наиболее широкое распространение получил метод стимуляции препарата сериями однотипных звуковых посылок определённой длительности и частотного заполнения. К более сложным видам стимуляции можно отнести предъявление подопытным насекомым моделей призывных сигналов, также имеющих чётко выраженную ритмическую структуру. Использование такой упрощенной стимуляции оправдано наглядностью получаемых результатов и простотой их вербальной интерпретации. Несомненное преимущество упомянутых методик - сопоставимость результатов, полученных на нейронах, относящихся к различным отделам центральной нервной системы (ЦНС), а также данных тестирования представителей разных видов животных.

Между тем даже из простых наблюдений акустической обстановки в естественных условиях очевидно, что присутствие только одного ритмического сигнала в зоне слуховой чувствительности насекомого является скорее исключением, нежели правилом. Перед животным стоит задача выбора из всего многообразия акустических потоков самого разного происхождения одного или нескольких сигналов, представляющих наибольший интерес в контексте питания, репродуктивной функции или признака опасности. Этому выбору должен предшествовать процесс упорядочивания поступающей извне информации в аспекте приоритетности стоящих задач. Такой процесс упорядочивания по существу представляет собой форму внимания. В свою очередь внимание животного, как объект исследования, по определению требует одновременного использования в качестве стимулов нескольких моделей биологически актуальных стимулов.

Для совок жизненно важной задачей является своевременное восприятие эхолокационных трелей летучих мышей. Обнаружив сигналы нападающего хищника, бабочка совершает резкие и непредсказуемые манёвры и таким образом снижает вероятность собственной гибели (Roeder, Treat, 1957; 1961). Однако и спастись бегством после каждого случая восприятия ультразвука для насекомого не выгодно, так как при этом падает эффективность выполнения основных функций имаго: расселения и размножения. К этому следует добавить, что в моменты излучения собствен-

ных локационных щелчков совки обнаруживают себя перед хищными рукокрылыми, поэтому акустический мониторинг пространства у этих бабочек органично сопряжён со стратегией использования эхолокатора (Лапшин, 2005).

В реальной обстановке восприятие совками биологически значимой информации осуществляется на фоне других, как правило, нейтральных акустических потоков, также имеющих ритмическую структуру. Можно назвать, как минимум, три группы таких сигналов: во-первых, это шумы полёта самой бабочки (Лапшин, Воронцов, 2007), во-вторых, призывные сигналы массовых видов прямокрылых, например, *Tettigonia cantans* (Heller, 1988) и, в-третьих, сигналы летучих мышей, специализирующихся на ловле более мелких насекомых и, следовательно, не представляющих серьёзной опасности для самой бабочки (Swift, Racey, 1983; Funakoshi, Yamamoto, 1996). К последней группе можно также причислить сигналы опасных для бабочек летучих мышей, но находящихся на большом расстоянии от воспринимающего звук насекомого. Таким образом, выделение из всего многообразия ультразвуковых потоков тех последовательностей, источники которых представляют реальную угрозу безопасности, является для насекомого жизненно важной задачей.

Изобилие в природе животных, излучающих сигналы с сильными гармониками в ультразвуковом диапазоне, порождает высокое разнообразие суммарных сигналов на входе слуховой системы. В этой связи логично предположить, что функционирование нейронных механизмов, обеспечивающих обнаружение ритмических последовательностей на фоне помех, осуществляется в ЦНС по каким-то универсальным алгоритмам, не специализированным к конкретным сочетаниям сигналов.

При планировании экспериментов с предъявлением насекомому двух или нескольких стимулов следовало учитывать то обстоятельство, что на ответы слуховых интернейронов могут влиять как сам факт множественности разнородных входных сигналов, так и различия в их параметрах. По этой причине на первом этапе исследования в качестве акустических стимулов использованы две ритмические последовательности с минимальными различиями во временной структуре (Лапшин, 2010). Было показано, что на интервалах времени, где ожидалось ответы нейронов на очередные пульсы, в соответствии со структурой ритмической последовательности формировались зоны повышенной слуховой чувствительности (зоны выделения). Совместно с зонами выделения в

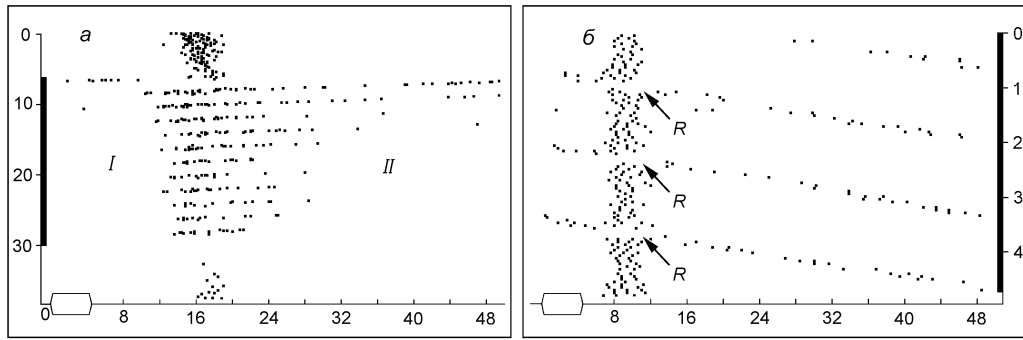


Рис. 1. Строчные диаграммы:

a - формирование зоны выделения и сопряженных зон подавления (*I* и *II*) в ответах слуховых интернейронов совки *A. gamma*; *б* - зоны режекции, формирующиеся в моменты совпадения ответов нейрона на импульсы обеих последовательностей (указаны стрелками *R*), *A. pyramidea*. Оба стимула представляли собой непрерывные последовательности тональных импульсов с периодами следования 48 и 50 мс. По горизонтальной оси диаграмм - время (мс), ограниченное одним периодом следования импульсов синхронизирующей серии. Точка 0 соответствует началу очередного импульса в серии (условное изображение импульса 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 (Лапшин, 2010).

ответах нейронов также наблюдались области с резко сниженной нейронной активностью (зоны подавления). Одна такая зона предшествовала во времени зоне выделения, а вторая возникала после неё (рис. 1, *a*). Комплексы сопряженных зон выделения и подавления формировались в ЦНС бабочек относительно временных профилей предъявляемых ритмических серий.

На основании полученных данных была сформулирована гипотеза, что для каждого ритмического сигнала в ЦНС бабочек формируется модуляционная функция, в соответствии с которой происходит адаптивная подстройка параметров слуховой системы. В ходе дальнейшего развития этого направления исследований, опираясь на уже известные данные, можно приступить к изучению активности слуховых интернейронов при действии двух независимых ритмических стимулов, существенно различающихся по своим амплитудно-частотным характеристикам.

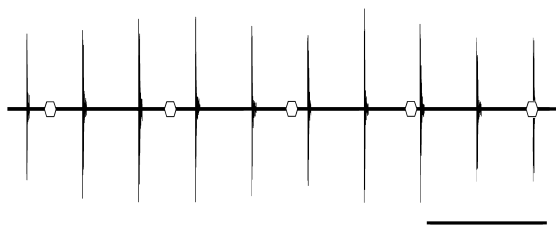


Рис. 2. Схематичное изображение результирующего акустического сигнала при одновременной стимуляции препарата шумовыми и тональными стимулами.

Амплитуда шумовых всплесков относительно тональных импульсов на иллюстрации уменьшена в 3 раза по сравнению с реальным соотношением. Масштаб времени 50 мс.

В этой связи были сформулированы экспериментальные задачи, решение которых представлялось актуальным для подтверждения гипотезы о формировании в ЦНС амплитудно-временных образов (моделей) воспринимаемых акустических потоков:

- определить выраженность эффектов формирования зон выделения и подавления при суммарном действии двух ритмических стимулов, существенно различающихся по своим спектральным и временным параметрам (рис. 2);

- исследовать способность слуховых интернейронов бабочек формировать модуляционную функцию от сигнала со сложным амплитудно - временным профилем.

Решению этих вопросов посвящена данная работа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на совках *Amphipyra pyramidea* L. (13 экземпляров), *Agrochola macilenta* (Hübner) (7 экз.), *Agrochola circellaris* Hufn. (7 экз.), *Autographa gamma* L. (14 экз.), *Scoliopteryx libatrix* L. (4 экз.). Бабочки были отловлены в природе на свет или пищевой аттрактант. Всего в последующей обработке использованы данные, полученные в 45 экспериментах.

Общий методический подход состоял в регистрации электрической активности слуховых интернейронов первого грудного ганглия бабочек при одновременном действии двух акустических ритмических последовательностей, имевших разный период повторения

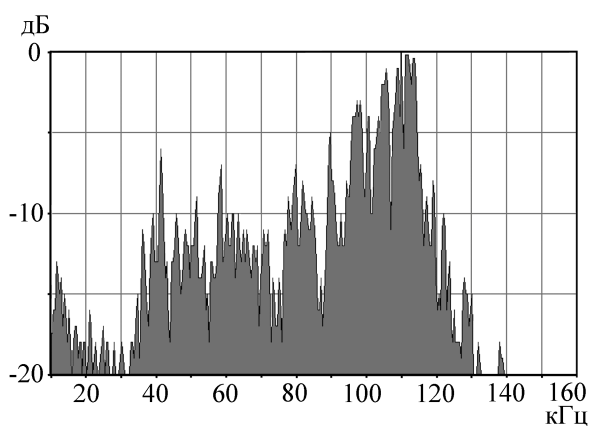


Рис. 3. Спектр отдельной шумовой посылки. По оси абсцисс - частота, по оси ординат - уровень спектральных составляющих в логарифмическом масштабе относительно максимального спектрального пика (0 дБ).

отдельных элементов и характер их заполнения (шумовые всплески и тональные пульсы (рис. 2), либо шумовые всплески и парные щелчки).

Методика подготовки препарата, порядок формирования стимулов, регистрации активности слуховых интернейронов и принципы обработки данных в целом соответствовали приёмам, использованным ранее при изучении активности слуховых интернейронов бабочек при одновременном предъявлении двух последовательностей тональных пульсов (Лапшин, 2010).

Регистрацию потенциалов проводили от вентральной стороны первого грудного ганглия. Отведение активности интернейронов осуществляли как внутри - так и внеклеточно, причём предпочтение отдавали внеклеточным формам отведения, как более устойчивым на длительных (порядка 40 мин) интервалах времени.

Электрическую активность нейронов отводили стеклянными микроэлектродами, заполненными физиологическим раствором (сопротивление 20 - 60 МОм). На первом этапе усиления использовали усилитель постоянного тока с входным сопротивлением более 30 Гом и коэффициентом усиления, равным 10. Падение амплитуды потенциалов при переходе от внутри- к внеклеточной регистрации, компенсировали дополнительным усилением.

Как было показано ранее, основные эффекты, регистрируемые в первом грудном ганглии (1 *tg*) на фоне акустической стимуляции, формируются при взаимодействии нейронов второго грудного ганглия (2 *tg*) (Лапшин, 2010), и уже потом специфическая

активность транслируется в 1 *tg* по восходящим аксонам. Поскольку сами нейроны и области отведения их активности были морфологически разделены, получаемые результаты оказались устойчивыми к неизбежным механическим повреждениям, сопровождающим погружение электрода в нейропилль ганглия.

Преобразование величин интервалов между нейронными спайками в цифровой код и последующий анализ данных осуществляли при помощи компьютерных программ, разработанных научным сотрудником ИБР РАН, к.б.н. Д.Д. Воронцовым.

Стимулы. Первая стимулирующая последовательность была образована периодическими короткими (длительность порядка 0.5 мс) "всплесками" широкополосного шума, следовавшими с периодом 24 - 26 мс. Такой стимул по своим физическим параметрам сходен с призывками, сопровождающими маховые движения крыльев летящих совок. Спектр шумовых всплесков имел избыточность в высокочастотной части спектра (рис. 3), аналогично спектрам импульсных шумов, сопровождающих полет бабочек (Лапшин, Воронцов, 2007). Пиковая амплитуда шумов полёта совок на расстоянии 6 см от тела насекомого варьирует в пределах 55 - 65 дБ УЗД (уровень звукового давления). Из-за близкого положения источников импульсных помех (проксимальных отделов передних крыльев) к слуховым органам амплитуда шумов, действующих на вход слуховой системы, примерно на полтора порядка превышает уровень, измеренный при помощи микрофона (85 - 95 дБ УЗД). При стимуляции совок модельными шумовыми всплесками их уровень во всех опытах был установлен постоянным 95 дБ УЗД.

В качестве второго стимула в данной работе использована непрерывная последовательность тональных пульсов с периодом следования 50 мс, частотой заполнения и длительностью каждого пульса 40 кГц и 5 мс соответственно.

Шумовые и тональные стимулы формировали в двух независимых электроакустических каналах.

Третий тип стимулов - парные щелчки - ритмически следовали с периодом 50 мс. Генерацию щелчков осуществляли цифроаналоговым формирователем (Lapshin, Vorontsov, 2009) Интервал между щелчками в паре 10 мс, длительность каждого щелчка 100 мкс, пиковая амплитуда 90 дБ УЗД. Спектр щелчков широкий с максимумами на частотах 60 и 90 кГц. Стимулирование бабочек сериями парных щелчков на фоне шумовых всплесков дало возможность оценить характер и

динамику перестроек активности интернейронов слуховой системы совок при действии сигналов со сложным амплитудным профилем.

Конденсаторный излучатель тональных или щелчковых стимулов был установлен справа от препарата на расстоянии 20 см. Излучателем шумовых пульсов служил пьезоэлемент цилиндрической формы, который располагали рядом с конденсаторным излучателем.

В конце опыта на то место, где до этого располагался ипсилатеральный по отношению к излучателю тимпанальный орган подопытного насекомого, помещали измерительный микрофон 40 DP (1/8") совмещенный с предусилителем 26 АВ (G.R.A.S.) и проводили калибровку обоих стимулирующих трактов. При проверке абсолютных уровней стимулов использовали также калибратор акустического давления 05 000 MMF (VEB Metra Meß Frequenztechnik). За 0 дБ УЗД принято значение 20 мкПа.

Эксперименты проводили в лабораторных условиях при температуре воздуха 18 - 20°C в сентябре - октябре 2006 - 2008 гг. на базе биостанции Института биологии развития РАН "Кропотово" (105 км к юго-востоку от Москвы).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Особенности реакций слуховых интернейронов на ритмическую шумовую стимуляцию. В начале предъявления стимула нейроны реагировали весьма активно: среднее количество спайков на отдельный шумовый всплеск могло составлять от 3 до 6 (рис. 4, а). Однако спустя 1 - 3 с уровень активности снижался в 1.5 - 4 раза в основном за счёт уменьшения количества спайков и пропусков ответов (рис. 4, б). Дальнейшее изменение уровня активности происходило неравномерно: участки полного отсутствия реакций длительностью 100 - 200 мс могли сменяться интервалами с высокой вероятностью генерации спайков на каждый всплеск. В ходе экспериментов были также зарегистрированы ответы четырех интернейронов, которые не проявляли признаков снижения активности в процессе длительной шумовой стимуляции.

Активность интернейронов при одновременной стимуляции шумовыми всплесками и тональными пульсами. Как правило, серии тональных посылок начинали предъявлять бабочке после адаптации ее слуховой системы к ритмическому шуму. Исходную амплитуду тональных стимулов устанавливали

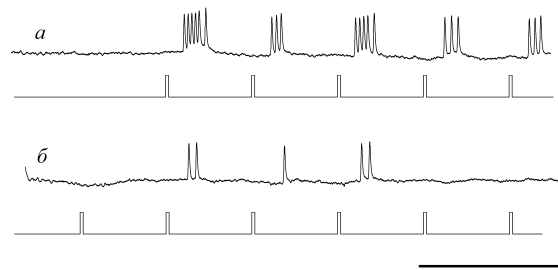


Рис. 4. Два фрагмента ответов слухового интернейрона совки *A. circellaris* на последовательность шумовых стимулов: *а* - реакции на начальном этапе сразу после включения стимуляции; *б* - установившийся процесс, третья секунда регистрации от начала подачи стимулов. Моменты появления шумовых всплесков условно обозначены прямоугольниками на осях под каждой осциллограммой. Масштаб времени 50 мс, амплитудный масштаб 10 мВ.

на 30 - 40 дБ (в 30 - 100 раз) меньшей по отношению к среднеквадратичному уровню шумовых всплесков, следовавших в фоновом режиме.

На рис. 5 приведен пример реакций интернейрона на последовательность из десяти серий по 40 тональных пульсов. Активность нейрона в начале регистрации и в промежутках между тональными сериями образована его ответами на ритмические шумовые всплески. Первое же предъявление серии тональных пульсов привело к подавлению ответов нейрона на шум, повторный и последующие сеансы тональной стимуляции вызывали ещё более глубокое подавление активности нейрона в последствии.

На диаграмме функции плотности спайков в ответах другого типа нейрона (рис. 6, а, 2) также видно, что тональная стимуляция вызывала частичное подавление реакций на шумовые всплески. При этом реакции на сами серии тональных пульсов

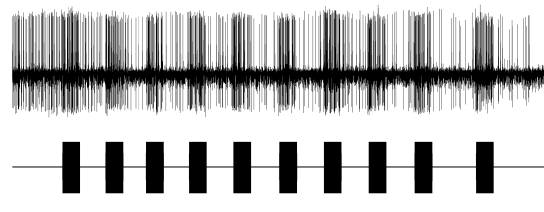


Рис. 5. Реакции интернейрона совки *A. gamma* на включение и выключение серий тональных пульсов. Серии, содержавшие по 40 пульсов с амплитудой 60 дБ УЗД, условно изображены под осциллограммой в виде зачернённых прямоугольников. Стимуляция происходила на фоне непрерывно действовавшей ритмической шумовой стимуляции.

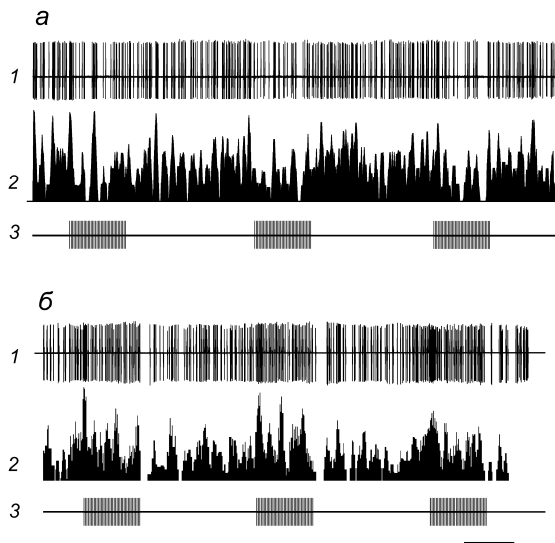


Рис. 6. Реакции интернейрона совки *A. circellaris* на серии тональных посылок, предъявляемых на фоне шумовой модуляции.

Амплитуда тональных посылок: *a* - 58 дБ УЗД, *б* - 68 дБ УЗД. Обозначения: 1 - спайковая активность нейрона, внеклеточная регистрация; 2 - функция плотности спайков (Szűcs, 1998); 3 - условное обозначение серий из 40 тональных импульсов. Масштаб времени 2 с.

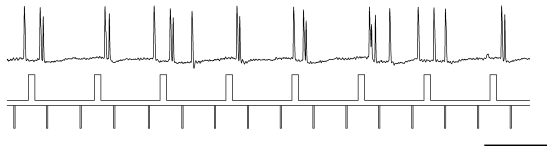


Рис. 7. Осциллограмма фрагмента ответа слухового интернейрона (*A. pyramidea*) на суммарное действие тональной (амплитуда импульсов 60 дБ УЗД) и шумовой стимуляции в установившемся режиме.

Тональные импульсы условно обозначены под осциллограммой прямоугольниками с положительной полярностью, шумовые импульсы - прямоугольниками с отрицательной полярностью. Масштаб времени 50 мс, амплитудный масштаб 10 мВ.

не были выражены. При увеличении на 10 дБ уровня тональной стимуляции на фоне усиления эффекта подавления реакций на шум одновременно произошло акцентирование ответов нейрона на тональные импульсы (рис. 6, б). Более подробный анализ показал, что в течение нескольких периодов после включения очередной тональной серии нейроны отвечали на оба типа стимула. На диаграмме функции плотности разрядов этому режиму соответствует резкий пик, приуроченный к началу серий (рис. 6, б, 2).

У всех исследованных экземпляров совков наблюдалось явление периодической модуляции уровня ответа нейронов на фоне совместного действия серий шумовых и тональных импульсов. На рис. 6, б приведён пример реакции нейрона с выраженным эффектом периодических колебаний активности. Анализ данных показал, что частота такой модуляции численно близка к значению разности $1/T_{ш} - 2/T_c$, где $T_{ш}$ и T_c - периоды повторения шумовых всплесков и тональных стимулов. Другими словами, это явление с высокой вероятностью связано с биением некротных частот повторения импульсов обеих стимулирующих последовательностей.

Локальные зоны выделения и подавления активности нейронов. На рис. 7 приведен пример осциллограммы ответов слухового интернейрона на совместное действие шумовых и тональных стимулов. Визуально на осциллограмме не видно какой-либо закономерности в распределении спайков.

Более наглядную картину активности нейронов дают строчные диаграммы (рис. 8). На этих диаграммах отдельным точкам соответствуют моменты появления спайков. Каждая строка начинается (синхронизируется) от подачи очередного импульса ритмической последовательности. Заполнение диаграммы происходит справа налево и сверху вниз так, как читается страница книги. При этом все вызванные синхронизирующими импульсами спайки выстраиваются в вертикальные или слабо наклонные линии. В то же время ответы нейрона на импульсы второй последовательности, несоответствующей по периодичности с первой, на поле диаграммы располагаются вдоль наклонных линий.

По горизонтальной оси диаграммы откладываются моменты появления спайков в интервале между двумя последовательными импульсами ("быстрое время"), а по вертикальной оси - "медленное время", пропорциональное числу строк, умноженному на период следования импульсов в том стимуле, от которого ведётся синхронизация.

Преимущество представления результатов в виде строчных диаграмм заключается в возможности отображать динамику перестроек нейронной активности, причём не только в зоне синхронного ответа, но и во всём интервале между двумя последовательными импульсами синхронизирующей серии.

Вид диаграмм, синхронизированных тональными импульсами, которые следовали с периодом 50 мс (рис. 1, а; рис. 8, в), мало отличался от аналогичных примеров, опубликованных ранее

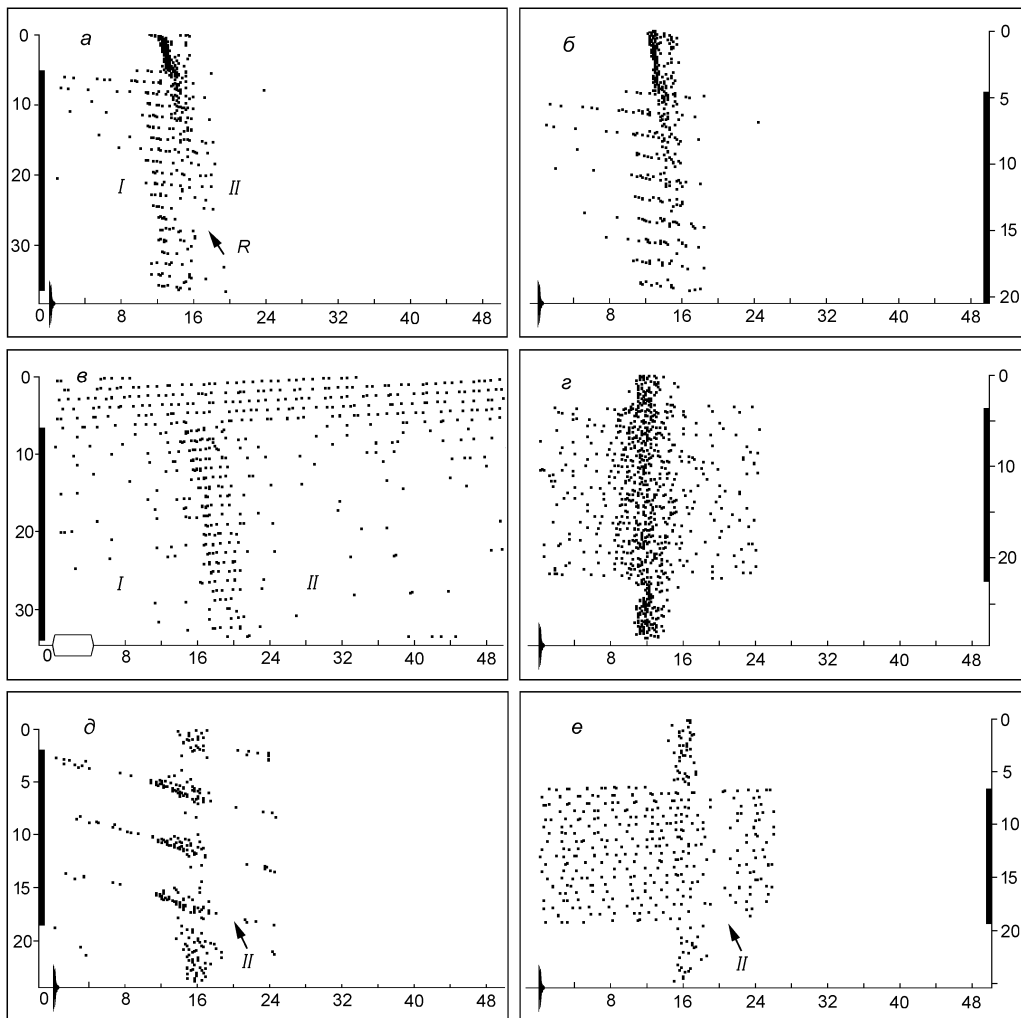


Рис. 8. Формирование зон выделения и сопряженных зон подавления в ответах слуховых интернейронов совок. Строчные диаграммы: *a* - предъявление тональных стимулов на фоне действия шумовой последовательности (синхронизация от шумовых всплесков), амплитуда тонального стимула 62 дБ УЗД; *б* - данные, представленные на фрагменте (*a*), но в другом временном масштабе: на диаграмме виден процесс постепенной замены ответов на шумовые пульсы зоной выделения; *в* - диаграмма, построенная при синхронизации от тональных пульсов (модель тонального пульса изображена в начале горизонтальной оси); *а, б, в* - *S. libatrix*, активность одного нейрона; *г* - формирование зоны выделения без сопряженных зон подавления, *A. macilenta*; *д* - зона выделения и зона подавления II, *A. pyramidea*; *е* - зона подавления II без выраженной зоны выделения и зоны подавления I, *A. pyramidea*. По горизонтальной оси - время (мс), ограниченное одним периодом следования пульсов синхронизирующей серии. Точка 0 соответствует началу очередного пульса в серии (условное изображение тонального пульса (*в*) или шумового всплеска (*а, б, г-е*) 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 действия другого. Стрелки указывают на области формирования зоны режесии *R* (*a*) или зон подавления II (*д, е*).

(Лапшин, 2010). По этой причине в данной работе основное внимание уделено визуализации и анализу ответов интернейронов на последовательность шумовых всплесков, следовавших с периодом повторения 24 - 26 мс.

При включении одного ритмического стимула на фоне действия другого в вызванной активности интернейронов бабочек был зарегистрирован эффект локального усиления ответов в том временном интервале, где ожидалось появление

реакции на синхронизирующий стимул ("зоны выделения", рис. 8, *a*). Формирование зоны выделения, как правило, происходило постепенно за время порядка нескольких секунд, её положение на диаграмме совпадало либо несколько опережало нейронные ответы на синхронизирующие пульсы. В конкретном примере на рис. 8, *б* в ходе стимуляции ширина зоны постепенно уменьшалась, затем произошло частичное снижение активности нейрона в зоне выделения.

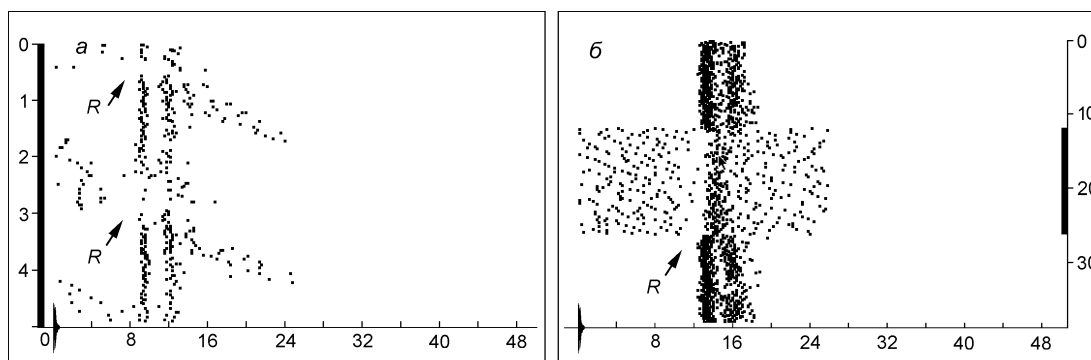


Рис. 9. Зоны режекции (R) в реакциях слуховых интернейронов: a — *A. gamma*; b — *A. circellaris*. Обозначения на диаграмме аналогичны рис. 8.

Уменьшение ширины зоны, возможно, связано с постепенным развитием смежных зон подавления или формированием особой зоны режекции (об этих явлениях будет сказано ниже). На рис. 8, a , b также видно, что при постепенном замещении зоной выделения ответа на синхронизирующие пульсы сохранялась тенденция к росту величины латентного периода.

Синхронизация строчных диаграмм сериями тональных пульсов, которые включали на фоне уже действовавшей шумовой стимуляции, дала сходную картину формирования зон выделения (рис. 8, $в$). Важно отметить, что спайки, заполняющие эту зону на диаграммах, принадлежали нейронным ответам на альтернативные стимулы: при синхронизации диаграмм шумовыми всплесками зоны выделения заполнялись ответами на тональные пульсы и, наоборот, при синхронизации тональными пульсами в этой зоне выделялись ответы на шумовые всплески.

Совместно с зоной выделения в ответах нейронов формировались также зоны подавления: одна в интервале до зоны выделения (I), а вторая (II) — после неё (рис. 8, a , b). В зонах подавления реакции на шумовые всплески были либо ослаблены, либо отсутствовали полностью. В ходе непрерывной стимуляции зоны подавления обычно сливались на смежных периодах серии, за счёт чего на диаграмме визуально присутствовала только зона выделения.

Три зоны модуляции нейронной активности наблюдались как по отдельности (16 опытов), так и в комплексе (в 20 опытах). Например, на рис. 8, $г$ в ответах нейрона сформировалась только зона выделения, без зон подавления; на рис. 8, $д$ представлены зона выделения и зона подавления II -го типа, на рис. 8, $е$ — только зона подавления II , в то время как зона выделения в активности нейрона не выражена.

В первом грудном ганглии неоднократно была зарегистрирована активность нейронов, в которой проявлялась либо целостная картина, включающая три зоны, либо её редуцированный вариант с отсутствием одной или двух характерных зон.

Из сопоставления полученных результатов с предшествующими данными (Лапшин, 2010) можно заключить, что период повторения входных сигналов не сказывался принципиальным образом на общей картине формирования зон модуляции нейронной активности.

Формирование зон режекции. Согласно полученным ранее данным, зоны режекции могут возникать в периоды совпадения во времени ответов, инициированных пульсами разных ритмических последовательностей (Лапшин, 2010). При внутриклеточных регистрациях активности нейронов в интервалах режекции наблюдались явные признаки подавления синаптического притока или даже инверсии его знака. На точечных диаграммах зоны расположены в области пересечения распределений ответов на синхронный (вертикальный компонент) и несинхронный (наклонные ветви) стимулы (рис. 1, $б$). Как оказалось, при действии стимулов с существенно разными временными параметрами эффект формирования зон режекции сохранялся (рис. 9). В ходе данного исследования в шести опытах была зарегистрирована аналогичная активность нейронов.

Зоны режекции могли быть смещены во времени относительно синхронизирующего фактора (рис. 9, $б$). В данном примере такая зона отличается от зоны подавления 7-го типа хорошо заметным эффектом частичного торможения ответов на синхронизирующие стимулы. Формированием зоны режекции можно также объяснить снижение вероятности возникновения спайков в локальной области R диаграммы на рис. 8, $а$.

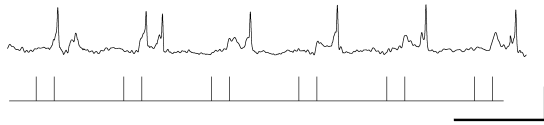


Рис. 10. Осциллограмма ответов слухового интернейрона совки *A. pyramidea* на действие серии парных щелчков с амплитудой, близкой к порогу (80 дБ УЗД). Моменты появления щелчков условно обозначены под осциллограммой вертикальными линиями. Масштаб времени 50 мс, амплитудный масштаб 10 мВ.

Восприятие серий парных щелчков на фоне ритмической шумовой стимуляции. В реальной обстановке сигналы, поступающие на вход слуховой системы, могут иметь сложный амплитудный профиль. Если модулирующая функция действительно является отображением воспринимаемой ритмической последовательности, то её влияние на активность нейронов должно коррелировать с амплитудной огибающей.

Для проверки этой гипотезы были проведены опыты, в которых в качестве второго стимула использовались ритмические серии парных ультразвуковых щелчков с периодом следования пар 50 мс. Каждая пара щелчков могла быть интерпретирована как один сигнал со сложной структурой или как сумма двух простых сигналов. Опыты проводили с теми нейронами, которые до этого уже показали способность формировать зоны выделения при совместном действии шумовых и тональных стимулов.

Более ранние электрофизиологические исследования показали, что взаимное влияние ответов слуховых рецепторов на щелчки, следующие в паре, перестаёт быть существенным при интервале между щелчками более 7 мс (Лапшин, Фёдорова, 1996). На основании этой оценки в данной работе был выбран интервал

между щелчками в паре 10 мс. Таким образом, можно было предположить, что тимпанальные рецепторы будут воспринимать парный щелчок как два независимых сигнала. Однако на уровне интернейронов наблюдалось взаимодействие ответов на парные стимулы. На рис. 10 приведён фрагмент реакции на щелчки с амплитудой, несколько превышающей порог нейрона. Генерация спайков происходила преимущественно на второй щелчок в паре. Этот вывод был подтверждён также статистически при анализе постстимульных гистограмм.

При увеличении амплитуды стимулов на 6 дБ и более относительно порога исследованные нейроны отвечали на каждый щелчок равновероятно. На диаграмме рис. 11, *а* показано распределение реакций интернейрона на непрерывную серию парных щелчков с пиковой амплитудой 88 дБ УЗД, предъявляемых в тишине. Среднестатистический интервал между ответами примерно соответствовал интервалу между щелчками, т.е. 10 мс.

Иное распределение спайков наблюдалось, если стимуляция щелчками осуществлялась на фоне непрерывно действовавшей последовательности шумовых всплесков (рис. 11, *б*). В этих условиях сначала возникла зона выделения, шириной примерно 17 мс, захватывающая области ответов на оба щелчка в паре. Затем примерно с восьмой секунды от начала регистрации эта зона разделилась на два рукава, каждый из которых был приурочен к соответствующей области ожидаемых ответов на щелчок. В ходе длительной стимуляции можно было также наблюдать неоднократные слияния и разделения зон, ассоциированных с каждым из щелчков в паре. При резком переключении стимуляции с последовательности тональных пульсов на парные щелчки время перенастройки зон было весьма небольшим: уже с второго - третьего предъявления парных

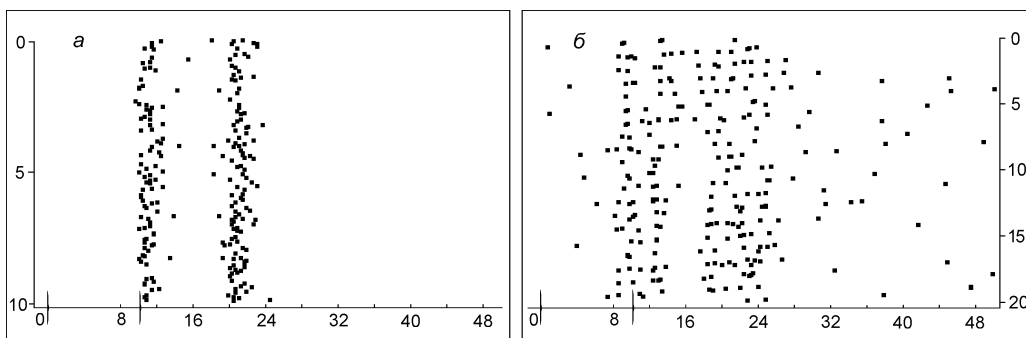


Рис. 11. Строчные диаграммы ответной активности слуховых интернейронов совки *A. macilentae* на непрерывную последовательность парных щелчков (*а*); - на стимуляцию парными щелчками на фоне действия серии шумовых всплесков (*б*). На диаграмме (*б*) видно постепенное формирование зон выделения относительно каждого щелчка в паре (с восьмой секунды регистрации). Условное обозначение стимулирующих щелчков дано вертикальными линиями на горизонтальных осях диаграмм. Остальные обозначения аналогичны рис. 8.

щелчков (100 - 150 мс) зона выделения расширялась и смещалась на поле диаграммы в соответствии с ожидаемым положением ответов на щелчки. Как и в случаях с тональной стимуляцией, в зонах выделения наблюдались спайки, инициированные шумовыми всплесками. Результаты семи опытов показали сходную картину реакций слуховых интернейронов при таком варианте стимуляции.

ОБСУЖДЕНИЕ

Основной функцией экстрарецепторной сенсорной системы является восприятие и выделение значимой информации из общего потока внешних сигналов и шумов. Как уже было сказано ранее, для ночных бабочек - совок помимо обнаружения сигналов хищных летучих мышей стоит также задача слежения за двумя или более сигнальными потоками, исходящих от разных особей хищников.

Выбор адекватной схемы стимуляции, при которой насекомому предъявляли не одну последовательность тональных стимулов, а одновременно две (т.е. при имитации акустического потока от двух источников), был осложнён отсутствием предварительных знаний о влиянии на восприятие тех или иных параметров сигналов, составляющих сумму. По этой причине на первом этапе были использованы две ритмические последовательности пульсов с одинаковым частотным заполнением и минимальными различиями во временной структуре (Лапшин, 2010).

Исходно можно было полагать, что на получаемые результаты будет сильно влиять относительная амплитуда одновременно действующих стимулов. В целом это предположение подтвердилось, но неожиданностью стало специфическое влияние более слабого сигнала на общую картину распределения спайков слуховых интернейронов. Было показано, что на интервалах времени, где ожидалась ответы нейронов на очередные пульсы, в соответствии со структурой ритмической последовательности формировались зоны повышенной слуховой чувствительности (зоны выделения). При небольшой относительной амплитуде одного из стимулов ответы на него частично или полностью подавлялись, но соответствующая слабому сигналу зона выделения при этом всё равно формировалась.

Совместно с зонами выделения в ответах нейронов также наблюдались области с резко сниженной нейронной активностью (зоны подавления). Одна такая зона предшествовала во времени зоне выделения, а вторая возникала после неё (рис. 1, а).

Комплексы сопряженных зон выделения и подавления формировались в ЦНС бабочек относительно временных профилей каждой из предъявляемых ритмических серий и следовали синхронно с ними.

Следующий этап работы состоял в проверке устойчивости эффекта формирования зон при одновременном действии на слуховую систему бабочек сигналов с разными временными и частотными характеристиками. Перебор всех возможных комбинаций параметров двух сигналов мог привести к неоправданному усложнению экспериментов, поэтому работа была основана на методике предъявления подопытным насекомым двух стимулов, параметры которых существенно различались.

Один из таких стимулов представлял собой последовательность коротких шумовых всплесков и по своим физическим параметрам был сходен с призвуками, сопровождающими полёт совок. Другой стимул, серия тональных пульсов с частотой заполнения 40 кГц, был идентичен использованному в предыдущей работе, что способствовало сравнимости данных, полученных в двух экспериментальных сериях.

Результаты второго этапа оказались сходными с данными предыдущей работы. Тем самым с большей долей уверенности можно было заключить, что общая логика обработки информационных потоков в ЦНС бабочек сохраняется в широком диапазоне варьирования спектральных и временных параметров входных сигналов.

Анализ данных, полученных при тестировании насекомых сочетаниями тональных, шумовых и импульсных стимулов, позволил сформулировать несколько гипотез.

Синхронное подавление. Эксперименты показали, что слуховая система совок способна выборочно подавлять (полностью или частично) нейронные отклики, соответствующие определённым ритмическим последовательностям, поступающим в смеси с другими сигналами.

В норме подавление реакций на шумовой стимул происходило не полностью (рис. 4, б). При дальнейшей обработке сильно ослабленный сигнал мог анализироваться в ЦНС уже как нормированный по амплитуде ритмический поток. Усиление активности нейронов при добавлении ещё одного стимула, имевшего значительно меньшую амплитуду (рис. 5; 6, б), указывает, что ослабление реакций на ритмический шум носило выборочный характер.

В промежутках между шумовыми посылками чувствительность восстанавливалась и тем самым появлялась возможность воспринимать другие более слабые сигналы. Подавление реакций на шумовые всплески резко активировалось при появлении на входе ещё одного сигнала (рис. 5; 6, *a*), что также указывает на активный характер обработки нейронных откликов на шум.

Вместе с тем в слуховой системе совок существуют также пассивные механизмы, позволяющие заметно снизить загрузку высших отделов слуховой системы при действии высокоамплитудного шума:

- частотная фильтрация в периферических отделах слуховой системы. У интактных бабочек дополнительное подавление обеспечивается специфической низкочастотной настройкой тимпанальных органов в те моменты, когда происходит генерация импульсных призывков полёта (Лапшин, Воронцов, 2000; 2007);
- ограничение физиологических ответов слуховых рецепторов за счет нелинейности их передаточной характеристики (Лапшин, Федорова, 1996) и, возможно, даже инверсия ответов при сильном входном сигнале (Perez, Cogo, 1985).

Зоны режекции на строчных диаграммах (рис. 9) отображают особый режим модуляции активности нейронов, при котором происходит подавление спайковых ответов в моменты совпадения пульсов, принадлежащих разным ритмическим последовательностям. Этот эффект впервые был показан при одновременной стимуляции подопытных насекомых двумя ритмическими стимулами с синусоидальным заполнением пульсов (рис. 1, *b*; рис. 9, *a*). Было высказано предположение, что избирательное подавление ответов нейронов в этих областях снижает вероятность ошибок распознавания сигналов. Задержка зоны режекции относительно синхронизирующих пульсов не всегда точно соответствовала латентному периоду реакций нейрона при действии простого ритмического стимула (рис. 9, *b*).

Синхронное детектирование. Синхронное детектирование характеризуется избирательным акцентированием реакций на воспринимаемый сигнал путём формирования последовательности "зон выделения", следующих синфазно с ритмом сигнала. Как показали данные экспериментов, в ЦНС совок при совместном действии двух ритмических стимулов комплементарно каждому из них формируется собственная последовательность

зон выделения. В процессе настройки слуховой системы ширина такой зоны может изменяться, как правило, в сторону уменьшения.

Детектирование подразумевает не только выделение значимой части сигнала, но и подавление всего того, что не входит в область выделения. В этом, по-видимому, состоит смысл формирования зон подавления двух типов (*I* и *II*). Снижение активности слуховых интернейронов вне зоны выделения потенциально снижает общую информационную загрузку системы и тем самым способствует повышению быстродействия при запуске моторных программ.

При стимуляции препарата парными щелчками на фоне действия непрерывной последовательности шумовых всплесков сначала формировалась зона выделения, общая для ответов на оба щелчка в паре, но при дальнейшей стимуляции зона выделения распадалась на две части в соответствии с положением каждого щелчка (рис. 11, *b*). Таким образом, функция, управляющая активностью слуховых интернейронов (модулирующая функция), повторяла амплитудный профиль ритмического стимула. Так как длительность каждого щелчка в паре была на два порядка меньше интервала между ними (100 мкс и 10 мс соответственно), можно считать, что ширина соответствующей щелчку зоны определялась только свойствами формирователя модулирующей функции. Из экспериментальных данных следует, что минимальная ширина зоны выделения составляет порядка 6 мс (как, например, на рис. 11, *b*; в интервале 15 - 20 с).

При постепенном увеличении амплитуды синхронизирующего стимула от подпороговых значений признаки соответствующих зон наблюдаются ещё до появления спайковых ответов на данный стимул. Можно сделать вывод, что формирование модулирующей функции осуществляется в ЦНС в самостоятельном канале, действующем параллельно основному пути обработки акустической информации.

Возникает вопрос, генерируется ли модулирующая функция одновременно, или характерный комплекс зон возникает при последовательной каскадной обработке, в которой каждый каскад реализует отдельный элемент управления (например, формирование одной из зон). В нескольких опытах в пределах одного ганглия последовательно была зарегистрирована активность разных нейронов, в которых наблюдалась либо целостная картина, включающая все три зоны, либо неполный комплект с выпадением признаков одной из зон.

Такие наблюдения указывают на высокую вероятность реализации в ЦНС бабочек каскадной обработки информации.

Модулирующие функции, сформированные для каждого из сигналов, могут вступать во взаимодействие друг с другом, в каких-либо фазах своей активности взаимно складываясь, а в каких-то вычитаясь. Подобное взаимодействие может порождать большое разнообразие проявлений, регистрируемых как характерные типы активности нейронов. Пример такого взаимодействия - ритмическое затухание спайковых ответов с периодом, определяемым биениями частот следования пульсов двух стимулирующих последовательностей (рис. 6).

Таким образом, предъявление подопытным насекомым двух независимых периодических сигнальных последовательностей инициирует специфическую активность слуховых интернейронов, которая кардинально отличается от результатов, получаемых при действии простых ритмических стимулов. На строчных диаграммах это различие отчётливо выражено в виде специфических перестроек нейронных ответов после включения одного стимула на фоне действия другого (рис. 1, а; рис. 8).

У животных, в том числе и насекомых, на всех этапах анализа сенсорной информации должна работать система фильтров, задача которых - не допустить в высшие отделы нервной системы потоки, вызванные собственным движением и жизнедеятельностью (аутошумы). Одним из важнейших признаков аутошумов является их высокая коррелированность с ритмом движения животного (Лапшин, 2005; Poulet, Hedwig, 2006). По этому критерию в рамках физиологического эксперимента затруднительно было обеспечить иллюзию корреляции шумового сигнала с собственным моторным ритмом бабочки. Однако эффективность подавления шумовых всплесков в ЦНС подопытных насекомых указывает на частичную независимость процессов обработки аутошумов от моторной эфферентации.

Итак, задача разделения двух сигналов из суммарного потока переходит в задачу генерации модулирующих функций, производных от каждого ритмического компонента, составляющих сумму. Длительность такой функции либо соизмерима, либо больше одного периода повторения комплементарного сигнала, её влияние выражается в формировании комплексов зон модуляции нейронной активности. Такие зоны по существу представляют собой примеры визуализации областей внимания ЦНС к тем сигналам, которые могут служить для бабочки

признаками потенциальной опасности, т.е. эхолокационным трелям летучих мышей. Пока такие сигналы по уровню незначительны, поведенческие реакции на них не развиваются, а основное внимание направлено на доминирующий по амплитуде сигнал, который определяется по синхронным разрядам в пределах соответствующей ему зоны выделения (Лапшин, 2010).

В пользу гипотезы об обострении в ЦНС бабочек внимания к конкретному сигналу говорит тот факт, что зоны выделения формировались от более слабых стимулов, не вызывавших спайковые ответы в восходящих нейронах слуховой системы. В таких случаях наблюдаемая картина выглядит несколько парадоксально, поскольку в зоне выделения присутствуют ответы не на сам сигнал, от которого формируется зона, а на другой, несинхронный. Это противоречие можно снять, если предположить, что особую важность для насекомого имеет увеличивающийся по амплитуде сигнал. В таком случае при определённом его уровне в зоне выделения появляется синхронный ответ, который может выступать в качестве пускового для моторной программы защитного маневрирования.

В заключение следует отметить, что после преобразования слуховыми рецепторами акустических стимулов в последовательность электрических потенциалов, вся дальнейшая обработка ритмических потоков уже напрямую не связана с акустикой. Высшие отделы слуховой системы бабочек можно рассматривать в обобщённом виде как нейросеть, адаптированную к разделению и анализу информационных потоков. В этом смысле логика параллельной обработки нескольких ритмических сигналов может оказаться в определённых пределах универсальной, а не только отражать специфические особенности нервной системы насекомых.

Автор выражает благодарность заслуженному деятелю науки Российской Федерации, д.б.н., профессору Н.А. Тамариной за продуктивное обсуждение материалов данного исследования.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Айрапетьянц Э.Ш., Константинов А.И.* Эхолокация в природе. Л.: Наука, 1974. 512 с.
- Лапшин Д.Н.* Эхолокационная система бабочек. М.: Наука, 2005. 207 с.

- Лапшин Д.Н.* Центральные механизмы параллельной обработки информации в слуховой системе бабочек (Lepidoptera, Noctuidae) // Сенсорные системы. 2010. Т. 24. № 3. С. 242 - 254.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д.* Частотная настройка слуховой системы совок (Lepidoptera, Noctuidae) в полете // Сенсорные системы. 2000. Т. 14. № 4. С. 304 - 313.
- Лапшин Д.Н., Воронцов Д.Д.* Акустическое излучение от летящих совок (Lepidoptera, Noctuidae) // Зоологический журнал. 2007. Т. 86. № 12. С. 1452 - 1463.
- Лапшин Д.Н., Фёдорова М.В.* Реакции тимпанальных органов совок (*Amphipyra perflua*: Noctuidae) на импульсные ультразвуковые сигналы // Сенсорные системы. 1996. Т. 10. № 1. С. 5 - 17.
- Boyan G.S., Fullard J.H.* Interneurons responding to sound in the tobacco budworm moth *Heliothis virescens* (Noctuidae): morphological and physiological characteristics // J. Comp. Physiol. 1986. V. 158. P. 391 - 404.
- 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.
- Heller K.-G.* Bioakustik der europäischen Laubheuschrecken. Weikersheim: Verlag Josef Margraf. 1988. 358 s.
- Lapshin D.N., Vorontsov D.D.* The dependence of behavioral auditory thresholds on the delay of echo-like signals in noctuid moths (Lepidoptera, Noctuidae) // J. Integrative Neuroscience. 2009. V. 8. № 1. P. 1-12.
- Perez M., Coro F.* Physiological characteristics of the tympanic organ in noctuid moths // J. Comp. Physiol. 1985. V. 156. P. 689 - 696.
- Poulet J.F.A., Hedwig B.* The cellular basis of a corollary discharge // Science. 2006. V. 311. P. 518-522.
- 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.
- 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.
- Szücs A.* Applications of the spike density function in analysis of neuronal firing patterns // J. Neuroscience Methods. 1998. V. 81. P. 159 - 167.

The processing of a mixture of two rhythmic signals by the auditory system in noctuid moths (Lepidoptera, Noctuidae)

D. N. Lapshin

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

We have reported earlier that the responses of auditory interneurons essentially depends on the number of independent acoustic signals arriving at the ears of a noctuid moth (Lapshin, 2010). These results were obtained as a response to stimulation consisting of two trains of tonal pulses which had almost similar frequency and temporal parameters.

The next stage of our work was to check whether the same kind of responses will remain when the two stimulation signals will be significantly different: i.e. when they will vary in pulse period and frequency spectrum.

In the present study the responses of prothoracic interneurons of noctuid moths (Noctuidae) to the mixture of two rhythmic signals were recorded. Both signals were a pulse trains; first with a tonal (40 kHz) pulses and second with a noise-filled (35-120 kHz) pulses. The characteristics of the noise pulses were selected to be similar to the natural noise produced during a moth's flight and were presented as a background stimulation. It was found that the auditory system of noctuid moths is able to detect tonal signals having 30-100 times lower amplitude than the background rhythmic noise.

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