

УДК 595.771 ; 591.498

© Д. Н. Лапшин

**БИОАКУСТИКА КОМАРОВ: ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ
СЛУХОВОЙ СИСТЕМЫ САМЦОВ CULEX PIPIENS PIPIENS L.
(DIPTERA, CULICIDAE) В УСЛОВИЯХ ИМИТАЦИИ ПОЛЕТА**

[D. N. LAPSHIN. MOSQUITO BIOACOUSTICS: AUDITORY PROCESSING
IN MALES OF CULEX PIPIENS PIPIENS L. (DIPTERA, CULICIDAE) DURING FLIGHT SIMULATION]

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что самцы комаров при сближении с самками ориентируются на звук их полета. Слуховая система самцов при этом последовательно решает задачи акустического обнаружения пролетающей самки, ее локализации в пространстве и, возможно, определения видовой принадлежности. Восприятие звуковых колебаний у комаров осуществляется антеннами и джонстоновыми органами (ДО), расположенными в основании антенн (Johnston, 1855; Roth, 1948; Tischner, Schief, 1955; Belton, 1974). Вызванные звуковыми волнами вибрации жгутика антенн передаются сенсиллам ДО и затем преобразуются в переменные электрические потенциалы (Tischner, 1953; Belton, 1962).

Основной объем данных о частотной избирательности слуховой системы комаров ранее был получен на основе анализа «микрофонного» потенциала, который можно зарегистрировать с помощью металлического электрода, введенного в полость ДО (Tischner, 1953; Тамарина и др., 1980). На основании измерений параметров такого потенциала был сделан вывод, что обобщенную частотную характеристику слуховой системы комаров определяют резонансные свойства антенн и собственная настройка сенсилл ДО. Однако пока нет четкого представления о том, насколько адекватно характеристики микрофонного потенциала отражают реальные возможности слуховой системы комаров. Для выяснения этого вопроса необходимо использовать иные методы регистрации активности сенсилл или интернейронов, получающих слуховой вход.

Ранее изучение слуховой системы комаров традиционно проводили на обездвиженных насекомых. Между тем самцы, как правило, воспринимают издаваемый самками звук в полете. Сильная вибрация и звуковые волны, исходящие от крыльев летящего насекомого, могут существенно изменить характер восприятия внешних сигналов.

Рецепторы животных являются нелинейными элементами, и рецепторный аппарат комаров в этом смысле не составляет исключения (Jackson, Robert, 2006). Процессы, развивающиеся в нелинейных системах под воздействием сильной вибрации, должны подчиняться хорошо известным физическим закономерностям. В общем случае в результате нелинейного преобразования суммы двух периодических сигналов F_1 и F_2 формируются ком-

бинационные гармоники с частотами $|mF_1 \pm nF_2|$, где m и n — целые числа (Харкевич, 1962). Как правило, амплитуда комбинационных гармоник быстро убывает с ростом значения $k = m + n$. Можно ожидать, что наиболее значимыми для слухового восприятия комарами окажутся четыре гармоники $F_B - F_C$, $2F_C - F_B$, $3F_C - F_B$, $3F_C - 2F_B$, попадающие (не одновременно) в область наибольшей чувствительности сенсилл ДО (F_B — частота полета комара и F_C — частота внешнего сигнала).

Первая же экспериментальная проверка влияния полетной вибрации на слуховую систему комаров показала, что в ответах сенсилл ДО звонцов *Chironomus plumosus* L. в условиях имитации полета действительно наблюдаются эффекты, связанные с нелинейным преобразованием входных сигналов (Лапшин, 2010). В ходе этих экспериментов впервые была зарегистрирована спайковая активность слуховых нейронов и тем самым открылась перспектива надежного измерения физиологических характеристик слуховой системы комаров.

В данном исследовании были поставлены следующие задачи: 1) зарегистрировать активность слуховых нейронов самцов комаров *Culex pipiens pipiens* и 2) определить характер влияния условий полета на функционирование слуховой системы этих насекомых.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Электрофизиологическая часть работы выполнена на 48 самцах *Culex pipiens pipiens* L. из природной популяции. В ходе опытов насекомым в дорсовентральном направлении предъявляли одновременно два акустических стимула: один — с частотой полета самцов данного вида и высокой амплитудой колебаний воздушной среды (имитация акустических условий, действующих на насекомое в полете), а второй — с околороговой амплитудой (модель внешнего сигнала). Регистрацию ответной импульсной активности нейронов ДО осуществляли стеклянными микроэлектродами.

Для имитации механической вибрации, действующей на антенны летящего комара, в объеме, окружающем подопытное насекомое, двумя противофазно включенными динамиками возбуждались периодические колебания воздушной массы. На антенны комара при этом действовало переменное усилие, пропорциональное мгновенной скорости воздушного потока. При определенной частоте и амплитуде колебаний воздуха возникала деформация сочленения антенны с капсулой ДО приблизительно в той же мере, как это происходит в условиях реального полета. Такое стимулирующее воздействие далее в тексте обозначено как «имитация условий полета». При этом подразумевается, что речь идет об имитации влияния только первой гармоники вибрации антенн, возникающей при работе крылового аппарата комара.

Второй, тестовый стимул, используемый при измерении характеристик нейронов ДО, представлял собой либо последовательность тональных пульсов с определенной амплитудой и частотным заполнением, либо непрерывный тон. Длительность тональных пульсов устанавливали в пределах 80—200 мс в зависимости от характера ответов исследуемого нейрона. Амплитудная огибающая в начале и конце отдельного пульса имела участки постепенного нарастания и спада длительностью 10 мс каждый.

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

На низких частотах, когда длина акустической волны больше расстояния между диффузорами динамиков, скорость воздуха внутри камеры практически равна скорости движения диффузоров. Чем лучше соблюдается симметрия акустических па-

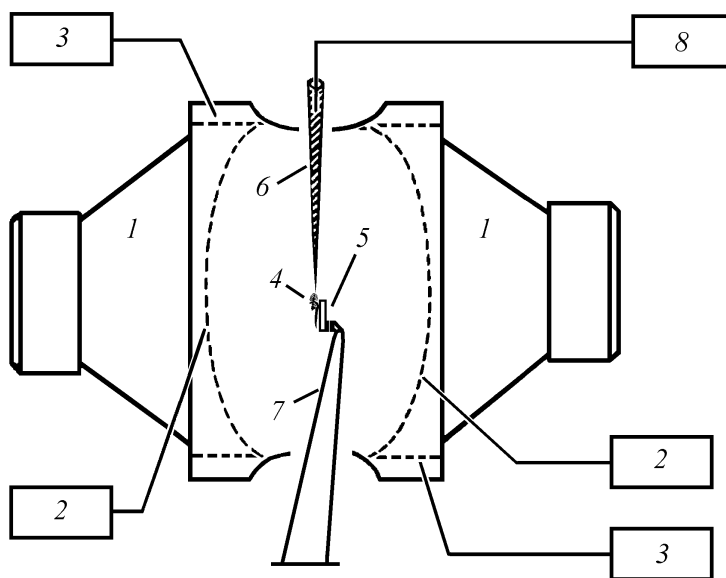


Рис. 1. Схема экспериментальной установки.

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

раметров динамиков, тем выше точность такого соответствия. Из-за нарушения симметрии возрастает уровень переменного звукового давления внутри камеры. Это давление можно контролировать микрофоном, введенным через боковое отверстие в стенке пластиковой трубы. Выравнивание акустической отдачи динамиков осуществлялось балансным регулятором в цепях их питания. При правильной балансировке уровень звукового давления внутри камеры резко снижался.

Акустическая калибровка экспериментальной установки осуществлялась двумя независимыми способами. Первый способ состоял в измерении амплитуды колебаний диффузора одного из динамиков оптическим методом по движению контрастной метки в свете стробоскопа. Частоту вспышек стробоскопа устанавливали на 1 Гц выше управляющего синусоидального сигнала на входе динамиков. Далее, действующее значение колебательной скорости V (мм/с) вычисляли по формуле:

$$V = \frac{\sqrt{2}}{2} \pi f A_{p-p}$$

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

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

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

Синтез управляющих электрических сигналов осуществлялся двумя программируемыми цифро-аналоговыми преобразователями (ЦАП) ЛА-ЦАПн10м1 и GSPF052 («Руднев и Шилиев», Россия) под управлением авторской программы. Сигналы с выходов ЦАП после дополнительного усиления и регулировки уровней объединялись на резистивном сумматоре непосредственно перед клеммами динамиков.

Линейность системы стимуляции была измерена ленточным микрофоном МЛ-53 («Октава», Россия), установленным в центре камеры, при одновременном включении двух стимулов с частотами 290 и 500 Гц (при амплитуде обоих стимулов 90 дБ УКС). Спектральный анализ усиленного сигнала с выхода микрофона показал, что использованная в экспериментах акустическая система отличалась высокой линейностью: уровень комбинационных гармоник не превышал -80 дБ от амплитуды стимулов.

Перед опытом комара фиксировали на столике из металлизированного пластика клеем на основе крахмала с добавлением 1% -ного раствора NaCl. Такой клей, нанесенный тонким слоем на токопроводящую поверхность столика, помимо механической фиксации комара выполнял функцию индифферентного электрода и предохранял подопытное насекомое от высыхания.

Столик, в свою очередь, крепился на держателе с помощью двух миниатюрных магнитов. Конструкция позволяла ориентировать подопытное насекомое в геометрическом центре камеры под произвольным углом относительно стимулирующих динамиков. Микроэлектрод и держатель с препаратом подводили в центральную зону камеры через боковые отверстия в цилиндрической стенке.

Основная проблема в методике регистрации активности нейронов заключалась в том, что острие стеклянного электрода легко ломалось в процессе прокола кутикулы. Однако при подготовке к экспериментам удалось подобрать такой термический режим обработки заготовок из боросиликатного стекла, при котором полученные электроды в ходе опыта сохраняли свои характеристики в допустимых пределах (рабочее сопротивление электрода 5—10 МОм).

Сигнал с микроэлектрода поступал на усилитель постоянного тока с высоким входным сопротивлением (более 10 ГОм) и далее с его выхода подавался на аналогово-цифровой преобразователь (АЦП) Е14-440 («Л-Кард», Россия). Одновременно по другим каналам АЦП производилась регистрация данных о действовавших стимулах.

Помимо АЦП сигнал с выхода усилителя после дополнительного усиления поступал на вход амплитудного дискриминатора, уровень срабатывания которого был установлен несколько выше стационарных шумов в конкретном отведении. Признаком превышения стимулом порога чувствительности исследуемого нейрона служило резкое учащение импульсации на выходе дискриминатора, коррелировавшее с подачей очередного стимулирующего пульса.

Измерение физиологического порога нейрона на определенной частоте проводили последовательно 3 или 4 раза при постепенном увеличении амплитуды тестового стимула из подпороговой области.

В ходе экспериментов существовала опасность возникновения вибраций микроэлектрода, на который, так же как и на препарат, действовали колебания воздушной среды внутри камеры. Для контроля влияния таких вибраций в конце цикла измерений к дистальному концу антенны комара микроманипулятором подводили проволочный держатель, которым можно было механически зафиксировать антенну. Затем повторяли замеры порогов на разных частотах.

Регистрацию звуков, издаваемых летавшими комарами, производили микрофоном D40S («АКГ», Австрия), расположенным на расстоянии 5 см от стенки марлевого садка с насекомыми. Сигнал с выхода микрофона через предварительный усилитель поступал на вход звуковой карты компьютера и сохранялся в цифровом виде. Спектральный анализ зарегистрированных сигналов осуществляли с помощью программы «Sound Forge 5.0». Всего было проведено по 6 регистрации звуков полета самцов и самок.

Эксперименты выполнены в лабораторных условиях при температуре воздуха 18—22° С в периоды с августа по октябрь 2009 и 2010 гг. на базе биостанции Института биологии развития РАН «Кропотово» (105 км к юго-востоку от Москвы).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Акустические измерения. При подготовке к электрофизиологическим экспериментам были измерены спектры звуков полета самок и самцов *Cx. p. pipiens* из природной популяции. На основании этих измерений диапазон изменчивости частоты крыловых взмахов самок принят

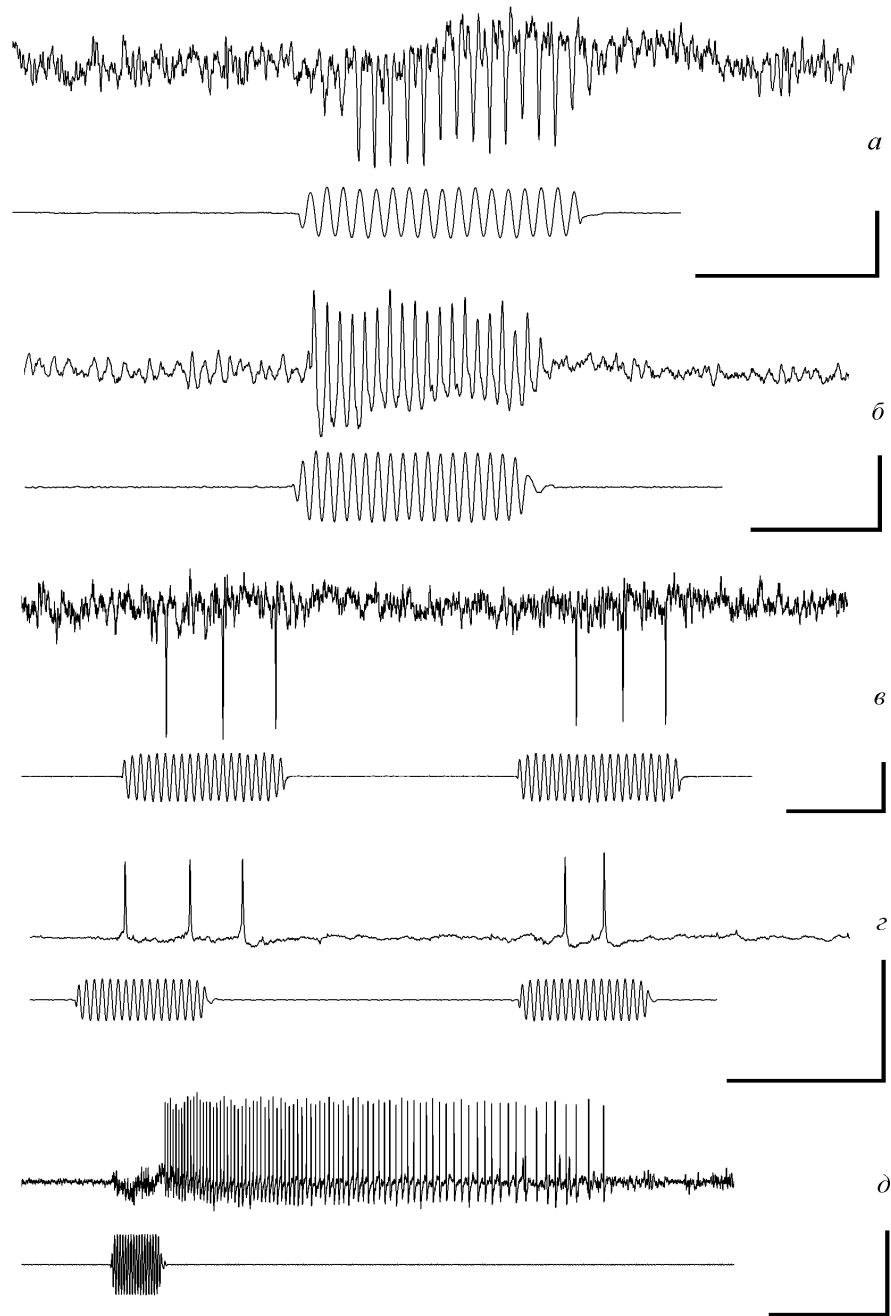


Рис. 2. Осциллограммы ответов слуховых нейронов самцов *Culex pipiens pipiens* L. на тональные посылки (изображены под каждой из осциллограмм).

a, б — реакции сенсилл; *в* — спайковые ответы нейронов, внеклеточное отведение активности; *з, д* — внутриклеточное отведение активности нейронов. Условия стимуляции: *a* — 220 Гц, 60 дБ УКС; *б* — 210 Гц, 66 дБ УКС; *в* — 240 Гц, 40 дБ УКС; *з* — 200 Гц, 56 дБ УКС; *д* — 220 Гц, 58 дБ УКС. Масштаб времени: 50 мс (*a, б, в*), 100 мс (*з*) и 0.2 с (*д*); амплитудный масштаб для осциллограмм ответов нейронов: 1 мВ (*a*), 2 мВ (*б, в*), 20 мВ (*з*) и 5 мВ (*д*).

260—340 Гц (среднее значение 280 Гц), а самцов — 460—530 Гц (среднее значение 500 Гц). В последующих электрофизиологических экспериментах частота имитации условий полета самцов была установлена 500 Гц за исключением тех случаев, когда проводились исследования влияния этого параметра на форму частотно-пороговых характеристик слуховых нейронов.

Р е а к ц и и с е н с и л л Д О. При электрическом контакте микроэлектрода с поверхностью кутикулы в основании ДО на фоне акустической стимуляции уверенно регистрировался периодический ответ, сильно обогащенный высшими гармониками (микрофонный потенциал). После прокола электродом кутикулы амплитуда этого потенциала возрастала в среднем до 200 мкВ, но при дальнейшем погружении электрода в направлении антеннального нерва его амплитуда снижалась. Затем ответный сигнал возрастал вновь и приобретал характерную форму с отрицательными выбросами (рис. 2, *a*). Можно предположить, что в этом случае происходила внеклеточная регистрация вызванных потенциалов сенсилл ДО.

Основная отличительная особенность активности сенсилл — зависимость амплитуды ответных потенциалов от уровня тестового стимула и фазовая синхронизация с синусоидальным заполнением (рис. 2, *a*). На рис. 3, *a* приведены строчные диаграммы реакций сенсилл при ступенчатом увеличении амплитуды стимула, а на рис. 3, *б* — при увеличении частоты заполнения стимулов в пределах зоны оптимума восприятия сенсиллы. На этих диаграммах отдельными точками обозначены моменты превышения (по модулю) нейронными ответами порога срабатывания амплитудного дискриминатора. Верхняя строка на диаграмме соответствует ответу клетки на первое предъявление тонального пульса, вторая строка — второму предъявлению и т. д. В соответствии с реакцией, изображенной на рис. 2, *a*, таких точек, расположенных в горизонтальный ряд с интервалом 4.55 мс (период частоты 220 Гц), на одной строке диаграммы рис. 3, *a* должно быть 17.

Цифро-аналоговый преобразователь, в котором формировался синусоидальный сигнал, не был синхронизирован с генератором, определявшим период следования пульсов. За счет изменения временного сдвига между управляющими сигналами линии, в которые выстраивались серии точек, получались наклонными. Естественно, что в зависимости от частоты заполнения пульсов такой сдвиг происходил с разной скоростью. По этой причине точки, соответствующие амплитудным выбросам потенциала, при разных частотах стимуляции выстраивались на отрезках, имевших разный наклон к осям диаграммы (рис. 3, *б*). На частотах 190 Гц и ниже происходило отставание фазы синусоидального заполнения пульса относительно его начала, а с частоты 210 Гц и выше фаза синусоидального заполнения менялась во времени с опережением.

На фоне имитации условий полета колебательные ответы сенсилл получали дополнительную амплитудную модуляцию. Такое влияние, в частности, заметно на рис. 3, *a* в околопороговой области (44—47 дБ УКС) в виде периодического «выпадения» нескольких точек, соответствующих амплитудным выбросам в каждой реакции.

При дальнейшем погружении электрода иногда наблюдалось скачкообразное изменение ответа: сигнал инвертировался при сохранении общей временной структуры, и его амплитуда возрастала в 2—3 раза (рис. 3, *б*). Одновременно в ответе резко снижалась относительная мощность высших гармоник. При слуховом контроле отведения с использованием наушников такой эффект производил субъективное впечатление перехода слушателя в очень большую и гулкую комнату. Тестирование препаратов стимулами с разным частотным заполнением показало, что эффект «гулкости» определялся избирательностью нейронов к частотам около 200 Гц (в разных опытах это значение варьировало от 190 до 210 Гц). При спектральном анализе

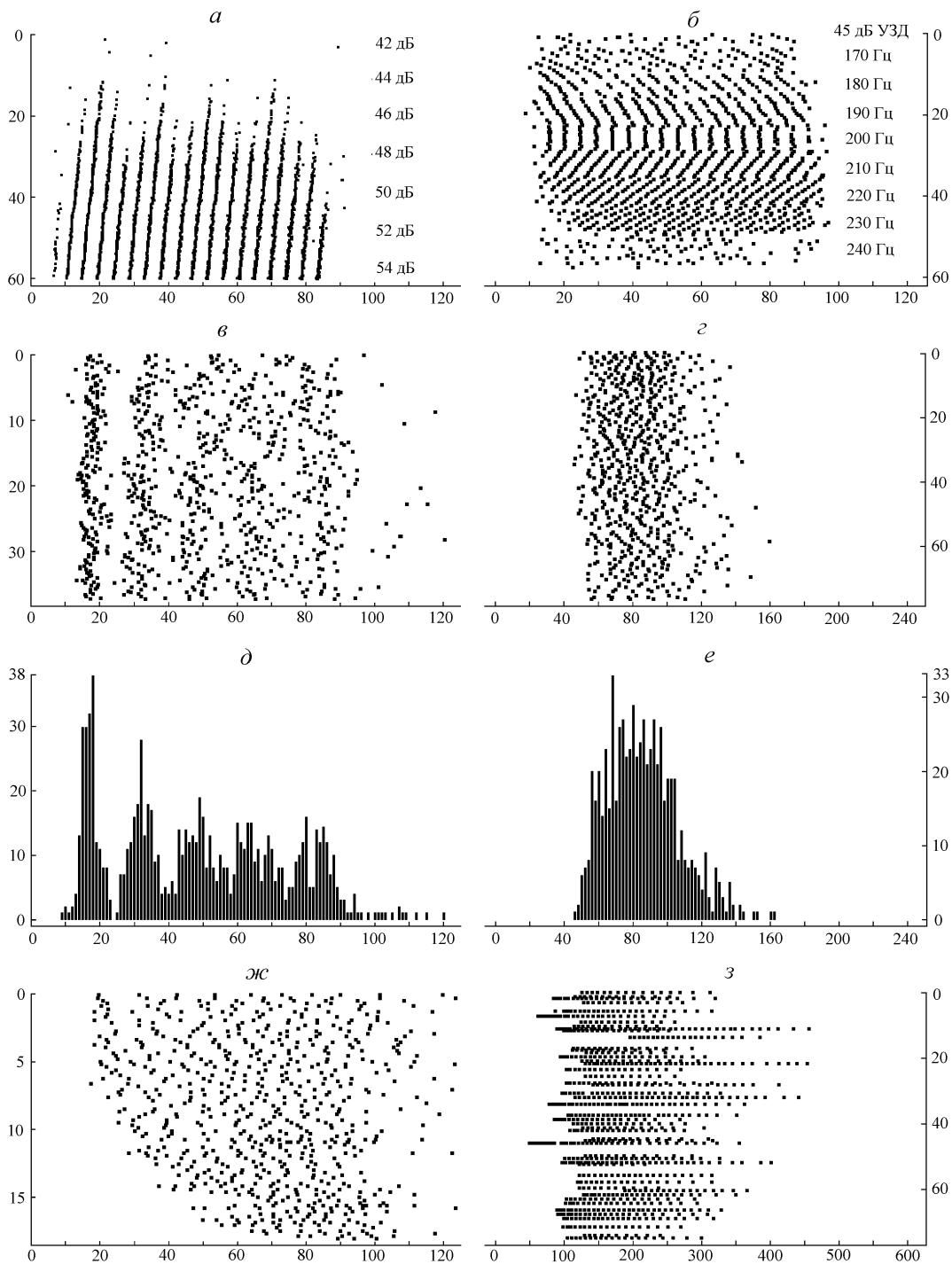


Рис. 3. Строчные диаграммы распределения импульсной активности в ответах нейронов. *a* — ответ сенсиллы при ступенчатом увеличении амплитуды стимула на фоне имитации условий полета; *б* — ответ сенсиллы при ступенчатом увеличении частоты заполнения тональных пульсов; *в*, *ж*, *з* — спайковые ответы нейронов; *д* и *е* — постстимульные гистограммы, соответствующие диаграммам *в* и *г*. Условия стимуляции: *a* — 200 Гц; *б* — 45 дБ УКС; *в*, *д* — 220 Гц, 50 дБ УКС; *г*, *е* — 240 Гц, 54 дБ УКС; *ж* — 240 Гц, 62 дБ УКС; *з* — 200 Гц, 56 дБ УКС. Длительность стимулирующих пульсов 80 мс (*a*—*ж*), 200 мс (*з*). По оси абсцисс — «быстрое» время (мс), точка «0» соответствует началу очередного пульса в серии. По оси ординат — текущее время регистрации («медленное» время, с).

шумовой дорожки в условиях тишины обнаружена избыточность в том же частотном диапазоне. При последующем сдвиге электрода назад происходил возврат к исходной форме потенциала (рис. 3, *a*). По комплексу признаков можно предположить, что описанные эффекты отражали переходы от внеклеточной формы регистрации активности сенсилл к внутриклеточной и обратно. Всего было протестировано шесть нейронов с активностью такого типа.

Все исследованные сенсиллы ДО условно можно разделить на две группы: в одной группе имитация условий полета оказывала существенное влияние на характер ответа клеток. Например, непосредственно на осциллограммах были видны биения комбинационных частот (более подробно об этих эффектах речь пойдет ниже). На активность сенсилл второй группы имитация условий полета практически никак не влияла.

Спайковая активность нейронов. Наряду с ответами сенсилл в той же области в основании ДО с высокой вероятностью можно было зарегистрировать спайковую активность нейронов (рис. 2, *в*). Основное отличие этих потенциалов от ответов сенсилл — независимость их амплитуды от уровня акустического стимула. Как правило, такие «спайки» имели отрицательную полярность и синхронизировались не с синусоидальным заполнением каждого пульса, а с его началом. На строчной диаграмме рис. 3, *в* признаком такого типа синхронизации является группировка первых, вторых и т.д. спайков в вертикальные полосы. Строчную диаграмму можно преобразовать в постстимульную гистограмму (ПСТГ) путем суммации всех точек на горизонтальной оси (рис. 3, *д*). Понятно, что отображение активности в форме ПСТГ имеет смысл только при стабильной временной структуре ответов нейронов.

В случае внутриклеточной регистрации (рис. 2, *з*) амплитуда спайков могла достигать 20 мВ. Электрическая стимуляция нейронов гиперполяризующим током с амплитудой 3 нА через отводящий электрод приводила к сильному ослаблению или даже подавлению генерации спайков. Собственно, на основании такого теста можно было судить о внутриклеточном характере отведения. Использование обычного признака (отрицательного скачка потенциала в несколько десятков милливольт) оказалось в данных опытах неэффективным, так как по мере смещения электрода к антеннальному нерву потенциал на электроде многократно менялся как в отрицательную, так и в положительную стороны.

В области антеннального нерва была зарегистрирована спайковая активность нейронов, которые можно сгруппировать по четырем основным типам.

Первая группа нейронов характеризовалась стабильным латентным периодом первого спайка 15—20 мс (рис. 3, *в*, *д*). Разряд на один пульс мог содержать от 2 до 8 спайков в зависимости от амплитуды стимула в сочетании с еще какими-то пока невыясненными факторами. Вероятность обнаружения нейрона такого типа зависела прежде всего от навыка экспериментальной работы и реализовалась примерно в двух из трех последовательных опытов.

Для второй группы нейронов (четыре однотипных отведения) характерен латентный период 40—60 мс и сравнительно большая дисперсия распределения спайков (рис. 3, *з*). Количество разрядов в ответе на один пульс варьировало от 4 до 20. Из-за большой дисперсии латентного периода соответствующая ПСТГ не отражала реальной временной структуры ответов нейрона (рис. 3, *е*).

Третий тип нейронов (наиболее редкий вариант — два отведения) характеризовался существенным ростом латентного периода регистрации первого спайка, сопряженного с уменьшением количества спайков в ответе на единственный пульс (рис. 3, *ж*).

Для вызванной активности нейронов, отнесенных к четвертому типу, типичны длительные разряды с большим и сильно изменчивым латентным периодом (рис. 2, *д*; рис. 3, *з*). Так как латентный период ответа нейрона (60—110 мс) зачастую превышал длительность стимулирующего пульса (80 мс), возникло предположение, что такие реакции провоцировались не началом, а окончанием пульсов. Для решения этого вопроса длительность стимулов была увеличена до 200 мс, но характер ответов нейронов при этом не изменился. Имитация условий полета также не влияла видимым образом на функционирование нейронов этого типа.

По-видимому, аксоны нейронов третьего и четвертого типов анатомически расположены очень близко друг к другу, так как в одном из опытов наблюдался самопроизвольный переход от одного типа активности к другому.

Вероятность зарегистрировать нейроны четвертого типа высокая (в среднем в каждом втором опыте). Сложность регистрации определялась узкой частотной настройкой нейронов и отсутствием градуальности в количестве спайков в ответах при вариациях амплитуды стимула.

На ответы нейронов всех типов накладывались стереотипные низкочастотные колебания, также возникавшие в ответ на акустическую стимуляцию. Вклад этих колебаний, в частности, заметен на осциллограммах рис. 2, *а* и *д*. В ходе опыта медленные колебания потенциала с небольшими вариациями формы можно было зарегистрировать в разных точках головы комара без четкой локализации их источника.

Особенности реакций сенсилл ДО на стимулы, предъявляемые в условиях имитации условий полета. Как уже было сказано выше, сенсиллы ДО условно можно разделить на две группы в зависимости от степени влияния имитации полета на их функционирование. Одну группу составляют клетки, невосприимчивые к влиянию такого стимула (пример реакции приведен на рис. 2, *б*). Вместе с тем сенсиллы другой группы, электрофизиологические ответы которых на моночастотную стимуляцию внешне ничем не отличались от ответов предыдущей группы, показывали сильную модуляцию своей активности при взаимодействии тестового стимула и имитатора полета (рис. 4).

Наиболее заметная модуляция в нейронных ответах возникала при соотношении частот тестового стимула и имитатора, близком к точкам консонанса: $F_b = 2F_c$ (рис. 4, *а*, *б*), $F_b = 3F_c$ (рис. 4, *в*), $2F_b = 3F_c$, $F_b = F_c$ (рис. 4, *г*), где F_b — частота имитации условий полета (500 Гц) и F_c — частота тестового стимула. Период модуляции при этом определялся частотной расстройкой сигнала относительно условия консонанса и коэффициентом при значении F_c в приведенных выше равенствах. Например, при околооктавном соотношении частот (т.е. близком к 2 : 1) сдвиг на 10 Гц от условия консонанса приводил к амплитудной модуляции ответа с частотой $10 \times 2 = 20$ Гц (период модуляции 50 мс, рис. 4, *а*, *б*). Такой же сдвиг частоты стимула F_c при соотношении, близком $F_b = 3F_c$ или $2F_b = 3F_c$ вызывал амплитудную модуляцию ответа сенсилл с частотой $10 \times 3 = 30$ Гц (период 33 мс). В последних примерах следует иметь в виду, что точная установка частоты тестового стимула в соответствии с приведенными выше равенствами была невозможна, так как при частоте имитации $F_b = 500$ Гц значение $\frac{1}{3}F_b = 166(6)$ Гц, и соответственно $\frac{2}{3}F_b = 333(3)$. При программировании ЦАП дробные значения частот не могли быть представлены в целочисленном коде. В то же время при выборе близкого к расчетному значения частоты стимулов 167 Гц либо 333 Гц в ответах сенсилл из-за нестрогого выполнения условия консонанса возникала медленная амплитудная модуляция с периодом около 1 с (рис. 4, *в*).

При близком к единице соотношении значений F_b и F_c частота амплитудной модуляции электрофизиологических ответов была примерно равна

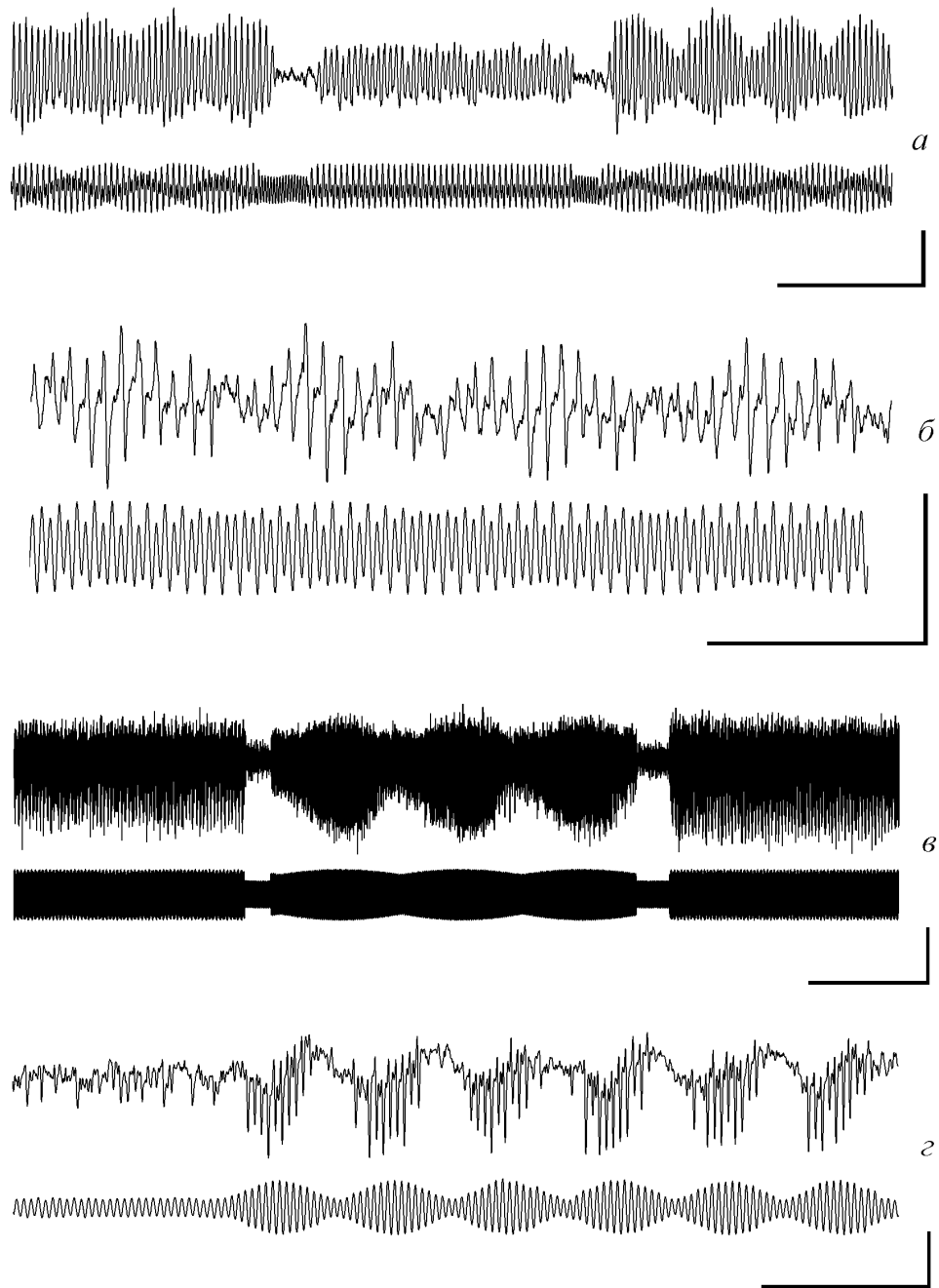


Рис. 4. Примеры осциллограмм ответов сенсилл на тональные стимулы, предъявляемые в режиме имитации условий полета.

а — последовательное переключение частоты тестового стимула 240—250—260 Гц, амплитуда 60 дБ УКС; *б* — биения в электрической активности сенсиллы при действии тестового стимула с частотой 260 Гц (50 дБ УКС); *в* — переключение частоты тестового стимула в пределах 157—167—177 Гц, амплитуда 60 дБ УКС; *г* — включение тестового стимула с частотой 530 Гц и амплитудой 66 дБ УКС. Под осциллограммами нейронной активности приведены соответствующие осциллограммы результирующего акустического сигнала, полученные с уменьшением высокоамплитудного компонента (имитации условий полета) на 20 дБ для лучшего графического отображения биений результирующего сигнала (*а—в*). Масштаб времени 100 мс (*а*), 50 мс (*б, г*), и 1 с (*в*); амплитудный масштаб для всех осциллограмм ответов нейронов 2 мВ.

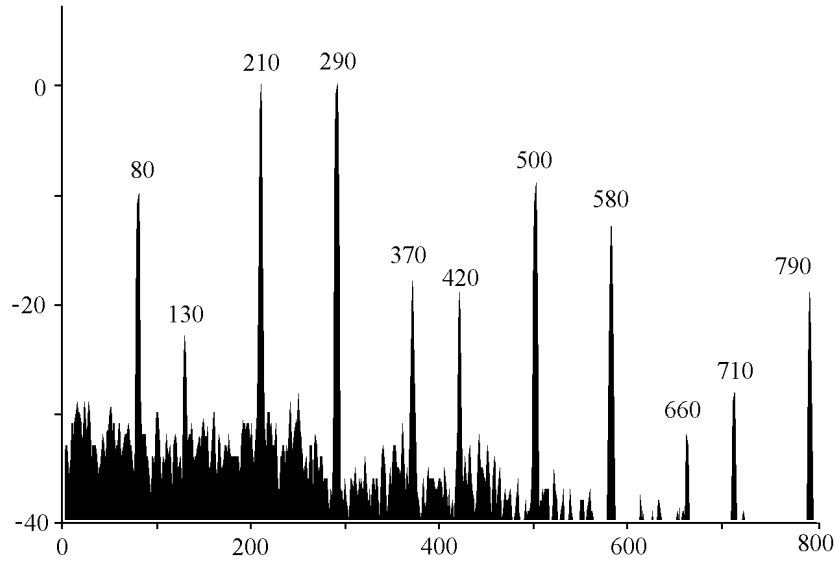


Рис. 5. Спектр ответа сенсиллы на акустическую стимуляцию в условиях имитации полета. Частота заполнения тестового стимула 290 Гц (60 дБ УКС), имитатора полета 500 Гц (80 дБ УКС).

Цифрами над отдельными спектральными пиками указаны их центральные частоты (Гц). По оси абсцисс — частота, Гц; по оси ординат — уровень спектральных составляющих в дБ относительно амплитуды максимальных пиков (210 и 290 Гц).

модулю разности $|F_B - F_C|$. Например, при $F_C = 530$ Гц (рис. 4, з) частота биений составляла 30 Гц (период 33 мс).

Может создаться впечатление, что сенсиллы ДО наиболее активно реагируют на амплитудно-модулированные стимулы, а нелинейные эффекты имеют второстепенное значение. На самом деле это не так. На рис. 5 приведен спектр ответа сенсиллы ДО на тестовый стимул с частотой 290 Гц на фоне имитации условий полета (500 Гц). Одна из наиболее мощных гармоник соответствовала разностной частоте $F_B - F_C = 210$ Гц, а вторая — самому стимулу $F_C = 290$ Гц. Эти гармоники, взаимодействуя, порождали низкочастотные биения $F_C - (F_B - F_C) = 2F_C - F_B = 80$ Гц, которые хорошо были заметны на осциллограммах ответов сенсиллы. Процесс последующего выделения огибающей модулированного сигнала в виде самостоятельного компонента (пик 80 Гц на спектрограмме) аналогичен амплитудному детектированию и также является следствием нелинейного преобразования.

Далее приведены формулы для всех значимых гармоник в диапазоне частот от 0 до 800 Гц (рис. 5):

$$\begin{aligned}
 80 \text{ Гц} &= 2F_C - F_B, & k &= 3; \\
 130 \text{ Гц} &= 2F_B - 3F_C, & k &= 5; \\
 210 \text{ Гц} &= F_B - F_C, & k &= 2; \\
 290 \text{ Гц} &= F_C, & k &= 1; \\
 370 \text{ Гц} &= 3F_C - F_B, & k &= 4; \\
 420 \text{ Гц} &= 2F_B - 2F_C, & k &= 4; \\
 500 \text{ Гц} &= F_B, & k &= 1; \\
 580 \text{ Гц} &= 2F_C \text{ (вторая гармоника тестового стимула)}, & k &= 2; \\
 660 \text{ Гц} &= 4F_C - F_B, & k &= 5; \\
 710 \text{ Гц} &= 2F_B - F_C, & k &= 3; \\
 790 \text{ Гц} &= F_B + F_C, & k &= 2.
 \end{aligned}$$

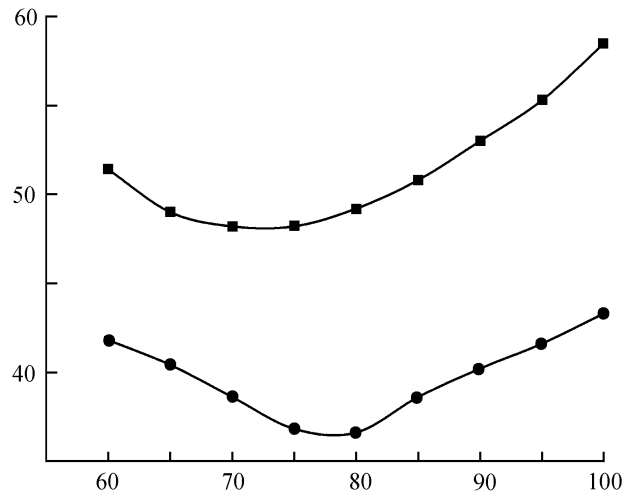


Рис. 6. Зависимости порогов реакций сенсилл ДО комаров *Culex pipiens pipiens* L. от уровня стимула — имитатора условий полета (500 Гц).

Частоты тестовых стимулов 260 Гц (черные кружки) и 360 Гц (черные квадраты). По оси абсцисс — амплитуда колебательной скорости имитации полета, дБ УКС; по оси ординат — пороги реакций сенсилл, дБ УКС. Ошибка средней на частотах 360 и 260 Гц не превышала соответственно 1.2 и 2 дБ. Графики построены по данным 6 опытов.

Добавление к отклику на тестовый стимул еще одного мощного спектрального компонента ($F_b - F_c$) должно было приводить к снижению порогов акустической чувствительности, причем в случае нелинейного преобразования степень выраженности эффекта будет определяться также амплитудой имитационного воздействия. В экспериментах на комарах такие закономерности действительно наблюдались.

Измерение порогов реакций нейронов ДО. Перед исследованием частотно-пороговых характеристик нейронов ДО необходимо было определиться с выбором уровня имитационного стимула, оценив характер влияния его амплитуды на величину измеряемых порогов.

Как оказалось, при частоте тестового стимула 260 Гц в диапазоне амплитуд имитации условий полета 75—85 дБ УКС на амплитудно-пороговой характеристике сенсилл ДО наблюдался минимум (рис. 6). При частоте 360 Гц аналогичный график имел сходную форму, но со смещением на 5 дБ по горизонтальной оси в область меньших амплитуд имитационного стимула. В дальнейшем, в ходе основной серии экспериментов, действующее значение скорости колебаний воздуха при имитации условий полета устанавливали на уровне 75 или 80 дБ УКС в зависимости от индивидуальных особенностей исследуемого нейрона.

Частотно-пороговые характеристики нейронов ДО. Схема типового опыта включала последовательное измерение частотно-пороговых характеристик нейрона в условиях имитации условий полета и в стационарном состоянии препарата, т. е. когда имитатор был выключен. Увеличение в два раза длительности эксперимента потребовало введения текущего контроля чувствительности исследуемого нейрона. Контроль заключался в неоднократном возвращении в ходе опыта к измерению порога на частоте 260 Гц. Если при повторных замерах было выявлено смещение этой величины на 2 дБ или более, то вносили соответствующую поправку в текущие данные или проводили повторные измерения. Особенно важно было проводить эту операцию после измерения порогов в терминальных точках частотного диапазона, так как в этих случаях для получения реакции нейрона требовалось существенно увеличивать амплитуду стимулов (до 105 дБ УКС).

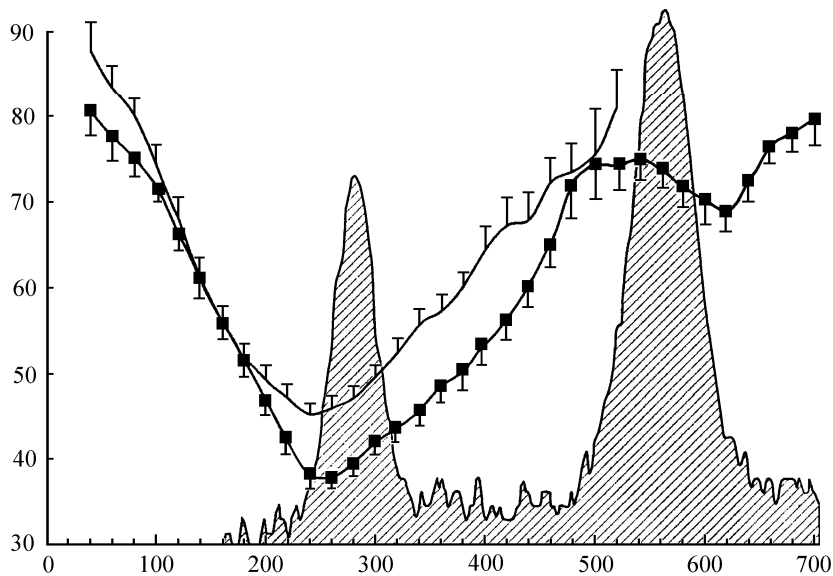


Рис. 7. Частотно-пороговые характеристики сенсилл джонстонова органа самцов *Culex pipiens pipiens* L., измеренные при имитации условий полета при частоте 500 Гц (черные квадраты) и моночастотной стимуляции (кривая без маркеров).

Кривые построены по данным усреднения результатов 12 опытов. Штриховкой показан пример типичного спектра звука полета самки комара того же вида. По оси абсцисс — частота, Гц; по оси ординат — физиологические пороги, дБ УКС. Указаны ошибки средних.

По форме частотно-пороговых характеристик все исследованные в данной работе нейроны можно разделить на две большие группы: широкополосные и узконастроенные. Широкополосные элементы, в свою очередь, разделились две группы по степени влияния на них имитации условий полета (влияла или не влияла).

Частотные характеристики широкополосных нейронов в области основного минимума имели стереотипную форму, сходную с усредненной кривой, приведенной на рис. 7. Ширина диапазона чувствительности составляла 170—180 Гц по уровню +10 дБ от минимума.

Влияние имитации условий полета выражалось в уменьшении порогов реакций в среднем на 7 дБ в области основного частотного оптимума восприятия (во всех 12 опытах, где проводились сравнительные измерения пороговых характеристик сенсилл) и появлении дополнительной зоны чувствительности в диапазоне выше частоты имитации условий полета (рис. 7). Различия в форме и положении этой зоны по результатам разных опытов было весьма существенным (рис. 8).

При изменении частоты имитации полета происходило пропорциональное смещение левой (низкочастотной) границы зоны дополнительной чувствительности. Эта тенденция была прослежена в диапазоне от 440 до 540 Гц как в ходе сравнительных измерений в рамках одного опыта, так и в специальной экспериментальной серии с постоянно установленной частотой имитации 440 Гц (6 опытов). На рис. 9 приведены примеры графиков, построенных по результатам измерения спячной активности двух нейронов ДО в ходе одного опыта. Видно, что излом на графике расположен на частоте 440 Гц, т. е. на частоте имитации полета в данном опыте. Для сравнения на графиках рис. 7 и 8 аналогичные изломы расположены примерно на частоте 500 Гц, соответствующей частоте имитации полета, при которой были получены эти данные.

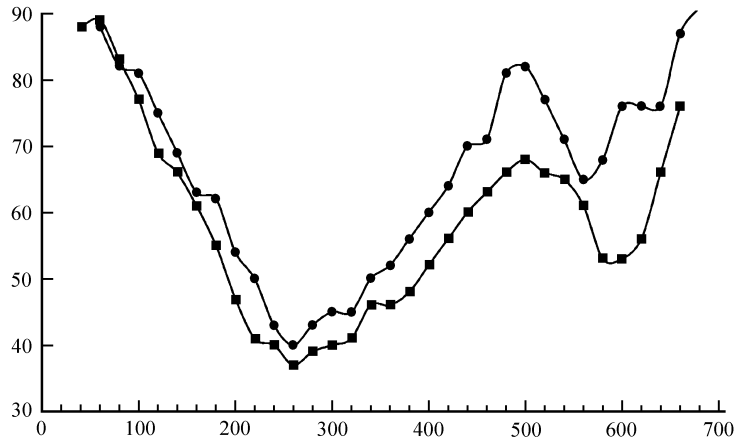


Рис. 8. Примеры индивидуальных частотно-пороговых характеристик джонстоновых органов самцов *Culex pipiens pipiens* L., измеренных при имитации условий полета (500 Гц). По оси абсцисс — частота, Гц, по оси ординат — физиологические пороги, дБ УКС.

В рассмотренном выше примере (рис. 9) выраженного оптимума в высокочастотной части графика нет, однако в двух других опытах из этой серии наблюдались глубокие минимумы (примерно как на рис. 8, но на частотах 460 и 540 Гц).

При выключенной имитации полета исследованные нейроны не реагировали на звук в диапазоне частот выше 520 Гц даже при существенном (до 105 дБ УКС) увеличении амплитуды стимула. Сходные результаты были получены ранее при измерении микрофонных потенциалов ДО комаров (Тамарина и др., 1980).

Частотно-пороговые характеристики группы широкополосных нейронов, невосприимчивых к условиям имитации условий полета, не отличались от характеристик восприимчивых нейронов, измеренных при выключенной имитации.

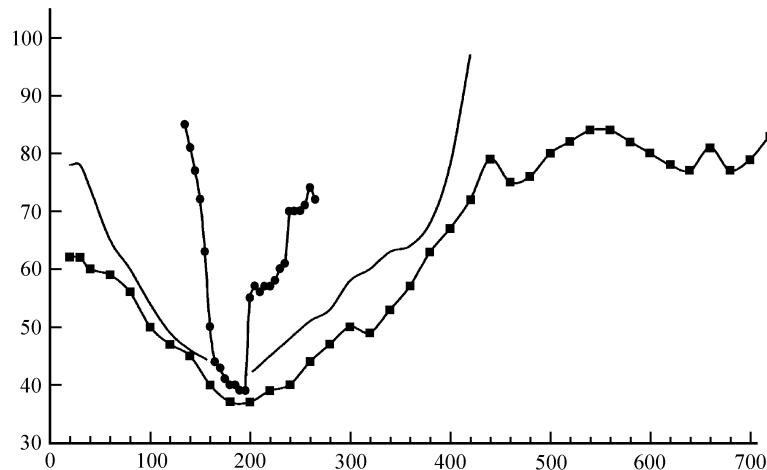


Рис. 9. Частотно-пороговые характеристики двух нейронов джонстонова органа самца *Culex pipiens pipiens* L. (данные одного опыта), измеренные при имитации условий полета (частота 440 Гц; черные квадраты) и моночастотной стимуляции (кривая без маркеров). Характеристика второго, узконастроенного нейрона (черные кружки) получена в условиях моночастотной стимуляции.

По оси абсцисс — частота, Гц; по оси ординат — пороги реакций, дБ УКС.

Узконастроенные нейроны. Использование метода внутриклеточной регистрации активности нейронов позволило выявить в слуховой системе комаров совершенно новый тип элементов, характеризующихся узкой частотной полосой реагирования. На рис. 9 представлены характеристики двух нейронов, которые по типу ответной активности принадлежали к группе коротколатентных со стабильной последовательностью разрядов (рис. 2, в; рис. 3, в, д) и без заметных признаков адаптации. Устойчивая регистрация спайков и выраженный тонический тип разрядов позволили подробно измерить их пороги на разных частотах. Особенно эти качества оказались важными при тестировании нейрона с узкой настройкой, так как для подробного описания формы его частотно-порогового графика шаг изменения частоты необходимо было сократить до 3—5 Гц против 20 Гц в обычных измерениях.

Более доступными в смысле высокой вероятности обнаружения, но трудными для измерений частотных характеристик оказались длиннолатентные нейроны (6 однотипных регистраций), принадлежавшие к четвертому типу (рис. 2, д; 3, з). Сложность измерений порогов обуславливалась отсутствием градуальности в числе спайков в отдельном ответе при плавном изменении амплитуды стимула — пачечный разряд нейрона либо возникал, либо нет. Эти клетки были только узконастроенными, причем за границами собственной настройки такие нейроны вообще переставали реагировать на акустические стимулы, независимо от их амплитуды.

Для всех узконастроенных нейронов характерна полоса реагирования порядка 30 Гц по уровню +10 дБ от минимума, асимметрия и сложная форма боковых ветвей. Точки оптимумов чувствительности были локализованы по результатам разных опытов в пределах 180—220 Гц (рис. 9). Имитация условий полета не влияла на ответы таких клеток.

В заключение следует отметить, что среди исследованных сенсилл ДО не удалось обнаружить аналогов узконастроенных типов нейронов. Сенсиллы, которые демонстрировали резонансные свойства (рис. 2, б), имели заведомо более широкую частотную характеристику.

Контроль влияния микроэлектрода на активность нейронов ДО. Внутри экспериментальной установки колебания воздуха в зоне расположения препарата увлекали в вибрационные движения перистые антенны подопытного комара. Однако те же воздушные волны создавали поперечное усилие и на стеклянном микроэлектроде. Существовала опасность, что механические вибрации электрода передавались на его кончик и, следовательно, на сенсиллу, с которой электрод находился в контакте на момент отведения электрической активности.

Для контроля влияния вибраций микроэлектрода в конце цикла измерений порогов сенсилл ДО к дистальному концу антенны комара микроманипулятором подводили проволочный стержень, которым можно было механически зафиксировать вершину антенны. Затем повторяли измерения порогов на разных частотах. Если бы фиксация антенны привела к резкому росту порогов реакций сенсилл, то можно было бы утверждать, что вклад микроэлектрода в регистрируемые эффекты значительно меньше, нежели вклад антенн комара.

Действительно, при фиксации вершины антенны пороги реакций сенсилл ДО в зоне оптимума возрастали на 16—25 дБ (т. е. примерно на порядок), из чего следовал вывод о незначительном влиянии микроэлектрода на реакции исследованных нейронов. Наблюдаемая остаточная чувствительность вполне могла быть обеспечена при восприятии звуковых волн центральной и проксимальной частями опущенной антенны.

Более сложной оказалась проблема контроля влияния механической деформации структур ДО, которая неизбежно должна была возникать при вве-

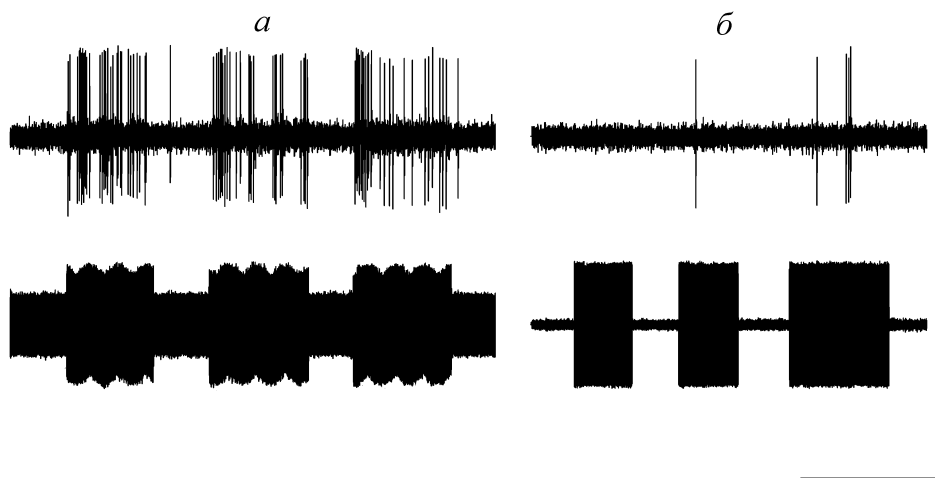


Рис. 10. Реакции интернейрона, локализованного в головном ганглии самца комара *Culex pipiens pipiens* L., на тестовые стимулы с частотой заполнения 333 Гц, предъявляемые в условиях имитации полета (500 Гц) (а) и при выключенной имитации (б). Отображение амплитуды стимула — имитатора полета на рисунке искусственно уменьшено на 16 дБ. Масштаб времени 4 с; амплитудный масштаб для осциллограмм ответов нейронов 2 мВ.

дении электрода в область антеннального нерва. Можно было допустить, что нелинейность, проявлявшаяся в форме специфических эффектов, возникала вследствие именно таких нарушений. В этой связи самым разумным путем реализации контроля представлялся поиск и исследование центральных слуховых интернейронов, регистрация активности которых не приводила бы к деформации ДО и прилежащих структур. Решение этой задачи было осложнено тем, что ранее никто не отводил спайковую активность от интернейронов слуховой системы комаров. Отсутствовала также конкретная информация об их локализации. Тем не менее поиск клеток, расположенных вне области ДО и получающих слуховой вход, принес плоды: дважды была зарегистрирована специфическая активность нейронов, предположительно локализованных в протоцеребруме.

На рис. 10 приведены примеры осциллограмм реакций слухового интернейрона на тональные посылки с частотой 333 Гц, которые были зарегистрированы последовательно в условиях имитации полета (рис. 10, а) и при выключенной имитации (рис. 10, б). На осциллограммах хорошо видно, что реакции нейрона на тестовые стимулы в наибольшей степени выражена на фоне имитации условий полета, причем в распределении спайков заметна коррелированность с амплитудными биениями, возникавшими при совместном действии тонов тестового стимула и имитатора. Таким образом, эффекты, связанные с нелинейностью сенсилл, не вызваны деформацией электродом кутикулярных покровов подопытного насекомого. Дополнительными аргументами в пользу этого вывода могут служить факты регистрации активности клеток, невосприимчивых к воздействию имитатора полета.

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным электрофизиологических экспериментов, восприятие внешних сигналов на уровне сенсилл ДО в условиях имитации полета характеризуется 4 основными особенностями.

1. Амплитудной модуляцией ответов сенсилл, параметры которой зависят от соотношения частот тестового стимула и имитатора полета.
2. Снижением слуховых порогов в среднем на 7 дБ по сравнению с данными измерений, выполненных в стационарных условиях.

3. Возникновением дополнительной зоны акустической чувствительности в диапазоне выше частоты имитации полета

4. Наличием в ДО сенсилл, невосприимчивых к условиям имитации полета.

Несмотря на то, что первые 3 эффекта из перечисленных представляют разные стороны одного процесса, их можно рассматривать по отдельности в контексте основных задач слуховой системы самцов комаров: акустического обнаружения, пространственной локализации и, возможно, видовой идентификации летящей самки.

Амплитудная модуляция ответов сенсилл ДО и возможность частотного анализа внешних сигналов в условиях полета. Американские исследователи (Cator et al., 2009) на основании регистрации «медленных потенциалов» в ДО и наблюдений эффектов акустического взаимодействия самцов и самок комаров *Aedes aegypti* L. сделали вывод, что при сближении особей происходит взаимная настройка частоты взмахов крыльями. Авторы считают, что такая настройка возможна путем совмещения второй гармоники сигнала, излучаемого самцом, и третьей гармоники самки (отношение соответствующих частот взмахов 3 : 2).

Если между самцами и самками комаров действительно происходит акустическое взаимодействие, то для адекватной подстройки частоты взмахов каждая особь должна обладать физиологическим механизмом сравнения сигналов (один из сигналов внешний, а второй — собственный моторный ритм). Однако в стационарных экспериментальных условиях у комаров не были выявлены механизмы, с помощью которых можно было бы осуществлять столь тонкий частотный анализ внешних звуков.

В условиях имитации полета при выполнении соотношения $F_B : F_C = 3 : 2$ в выходном сигнале сенсилл будут также совпадать значения доминирующих комбинационных гармоник: $F_B - F_C = 2F_C - F_B = \frac{1}{2}F_C$. Однако при нестрогом соотношении ($F_B : F_C \approx 3 : 2$) значения комбинационных гармоник $F_B - F_C$ и $2F_C - F_B$ будут различаться и при их взаимодействии возникнут дополнительные амплитудные биения, причем весьма значительные по амплитуде. В рассматриваемом примере при отклонении частоты внешнего сигнала F_C на величину ΔF частота биений между комбинационными гармониками изменится на $3\Delta F$. Такие биения вполне могут выступать в качестве сигналов рассогласования в процессе подстройки частоты взмахов самца к тону полета самки. Способность к восприятию амплитудных биений фактически открывает путь к частотному анализу входного сигнала, вернее, к оценке степени его рассогласования с ритмом собственного полета.

При взаимной подстройке ритмов по биениям автоматически обеспечивается температурная инвариантность канала акустической связи между самцами и самками. Это преимущество будет сохраняться при условии пропорционального изменения частоты взмахов самцов и самок на фоне колебаний температуры окружающего воздуха. Известно, что такая зависимость действительно наблюдается (Sotavalta, 1947).

Биения комбинационных гармоник сами по себе не несут информации о знаке частотного рассогласования между внешним сигналом и ритмом собственного полета. В качестве дополнительного условия можно предположить, что комар в процессе настройки на воспринимаемый сигнал «знает», увеличивает он собственный темп крыловых взмахов или уменьшает. При достижении в процессе взаимной настройки отношения частот взмахов 3 : 2 автоматически совпадут значения второй гармоники акустического излучения самца и третьей гармоники самки, но это будет только внешним проявлением частотного согласования, а не условием взаимной настройки.

Следует отметить, что точное согласование частот собственных взмахов и внешнего сигнала с использованием эффекта амплитудных биений невоз-

можно, так как при этом частота биений будет стремиться к нулю. Даже если рецепторный аппарат комара способен воспринимать колебания с частотой в несколько герц, последующий анализ потребовал бы недопустимо много времени (пропорционально периоду биений). Поэтому в реальной обстановке согласование, скорее всего, осуществляется с некоторой расстройкой по частоте, при которой еще возможен эффективный анализ низкочастотных биений в высших отделах слуховой системы комаров.

Соотношение $F_B : F_C = 3 : 2$ является только одним из возможных вариантов, при реализации которых совпадают частоты нескольких комбинационных гармоник. Например, аналогичный эффект амплитудных биений возникает, когда частота крыловых взмахов самца в два раза выше частоты воспринимаемого сигнала (октавное соотношение, $F_B : F_C = 2 : 1$). В этом случае комбинационная гармоника $F_B - F_C$, возникшая в результате нелинейных преобразований, войдет в биения с самим сигналом F_C (например, как на рис. 4, а, б). При соотношении частот, близком к октавному, сдвиг частоты внешнего сигнала F_C на величину ΔF приведет к удвоенному изменению частоты амплитудных биений ($2\Delta F$). Существуют и другие соотношения $F_B : F_C$, при небольшой расстройке которых в выходном сигнале сенсилл могут возникнуть заметные амплитудные биения. Экспериментальная реализация одного из таких вариантов приведена на рис. 4, г: в этом случае биения возникли в результате нелинейного преобразования исходных сигналов F_C и F_B .

Из приведенных примеров следует вывод о неоднозначности критерия настройки с использованием эффекта амплитудных биений. Снижение такой неоднозначности, по-видимому, обеспечивается частотной избирательностью сенсилл ДО и последующей обработкой слуховой информации на уровне интернейронов.

Теоретические ожидания, построенные на учете эффектов нелинейности периферических отделов слуховой системы комаров, были ранее подтверждены данными электрофизиологических экспериментов (Лапшин, 2010) с самцами звонцов *Chironomus plumosus*. Сходство результатов, полученных на представителях разных семейств комаров, не должна удивлять, так как за ней стоят одни и те же физические закономерности, которые не зависят от систематической принадлежности объектов исследований. Удивление вызывают, скорее, факты невосприимчивости некоторых сенсилл ДО к воздействию имитатора полета. Именно эту особенность можно рассматривать как биологическое приспособление, причем механизмы обеспечения такой невосприимчивости пока совершенно непонятны. В то же время на основании самого факта существования подобных нейронов можно сделать вывод, что вклад механической части воспринимающего звук аппарата (в первую очередь антенн) в нелинейные преобразования пренебрежимо мал по сравнению с сенсиллами ДО.

Присутствие в ответах сенсилл, восприимчивых к имитации условий полета, комбинационных гармоник с частотами выше 540 Гц (рис. 5) также показывает, что нелинейные преобразования происходят непосредственно в сенсиллах. В противном случае такие высокочастотные компоненты были бы подавлены непосредственно в антеннальном комплексе.

Экспериментальные данные о частотной избирательности сенсилл ДО вошли в противоречие с результатами, полученными ранее группой под руководством Хоя (Cator et al., 2009). Эти исследователи зарегистрировали медленные гиперполяризационные потенциалы в ДО комаров *Aedes aegypti* при предъявлении пульсов с синусоидальным заполнением с частотой 1.2 кГц. Между тем в рамках данной работы неоднократные попытки получить ответы сенсилл при действии столь высоких частот результатов не дали.

Реакции ДО на высокочастотные звуки лимитируются двумя факторами: прогрессирующим падением механической чувствительности антенн к

внешнему сигналу с ростом его частоты выше резонанса антеннального комплекса (Göpfert et al., 1999) и неспособностью большей части сенсилл ДО при стационарном расположении препарата реагировать на колебания с частотой выше 520 Гц (рис. 7). Конечно же, можно допустить, что наблюдаемые различия определяются принадлежностью изученных комаров к двум разным родам, однако возможно и другое объяснение: «медленные» потенциалы, описанные коллегами Хоя, имели ту же природу, что и потенциалы, многократно зарегистрированные в нашем исследовании в разных точках головы комара (рис. 2, а, д). Такие потенциалы могут формироваться в головных ганглиях в ответ на информацию о внешних звуках, поступающую не только от сенсилл ДО, но и от других источников сенсорной информации, например, от волосковых сенсилл, локализованных на антеннах или теле насекомого и не входящих в состав джонстоновых органов. Функционирование волосковых сенсилл не лимитируется частотными свойствами антенны, поэтому такие рецепторные элементы могут сохранять высокую чувствительность в широком диапазоне частот (Shimozawa, Kanou, 1984).

Снижение порогов ДО в условиях имитации условий полета. Общий принцип влияния имитации условий полета на восприятие внешних сигналов — это порождение дополнительных составляющих (комбинационных гармоник), которые попадают в область максимальной чувствительности сенсилл ДО (рис. 5). Энергия комбинационных гармоник определяется характером нелинейности, энергией тестового сигнала и, что особенно важно, энергией стимула-имитатора полета. В результате «перекачки» части энергии от имитатора к комбинационным гармоникам последние могут оказаться по амплитуде больше тестового сигнала (Харкевич, 1962).

В примере, изображенном на рис. 5, уровень комбинационной гармоники $F_b - F_c$ (210 Гц) равен отклику сенсиллы на входной сигнал F_c (290 Гц). Размах биений при взаимодействии этих составляющих примерно в 2 раза превышает амплитуду каждой из гармоник, что может вызвать на частоте 290 Гц снижение порога на 6 дБ.

Формирование комбинационных гармоник возможно также при восприятии сигналов других самцов в процессе сближения летящих особей. Если частоты взмахов двух самцов различаются, то на выходе сенсилл ДО возникнут характерные биения, аналогичные изображенным на рис. 4, з.

Возникновение дополнительной области чувствительности выше частоты имитации условий полета также является следствием нелинейного преобразования на уровне сенсилл смеси сигнала имитационного (F_b) и тестового (F_c) стимулов. В результате такого преобразования формируется комплекс комбинационных гармоник с частотами, равными разности $|mF_b - nF_c|$, часть из которых попадает в область чувствительности сенсилл ДО. Например, при $F_c = 640$ Гц, $F_b = 500$ Гц и $n = m = 1$ основная комбинационная гармоника будет равна $640 - 500 = 140$ Гц. Сигнал с такой частотой сенсиллы ДО могут воспринимать (рис. 7). В этом случае также происходит перенос части энергии внешнего сигнала в низкочастотный диапазон. В радиофизике аналогичное явление давно известно, и дополнительная область повышенной чувствительности получила название «зеркальный канал».

В области зеркального канала при смещении частоты стимула в большую сторону амплитуда вызванных колебаний антенны уменьшается (пороги растут) за счет увеличения частотного рассогласования сигнала и механического резонанса антенны (Göpfert et al., 1999). В то же время комбинационная гармоника $F_c - F_b$ при таком же смещении частоты стимула сдвигается в область меньших порогов, т. е. одновременно действуют 2 конкурирующих процесса. Возможность реализации горизонтальных участков на графике в области зеркаль-

ного канала (рис. 9) или выраженного минимума (рис. 8) определяется соотношением разнонаправленных наклонов частотных характеристик сенсилл ниже центральной частоты зоны основного минимума (<200 Гц) и антенны в высокочастотной части (>500 Гц) (Лапшин, 2010). При равенстве абсолютных значений наклонов в области зеркального канала формируется горизонтальный участок, в случае переменности этих параметров — либо минимум, либо последовательность локальных максимумов и минимумов.

Вариации формы частотно-пороговых графиков могли возникнуть из-за индивидуальных различий физических характеристик антенн либо быть следствием отведения активности от сенсилл, имевших разные частоты оптимумов.

Способность самцов комаров воспринимать акустические сигналы в зеркальном канале создает базу для акустического взаимодействия особей в рое. Можно предположить два типа такого взаимодействия.

1. При акустических контактах самцов комаров происходит постепенная консолидация частот взмахов отдельных особей. Самцы при взаимной настройке, близкой к унисонной, при этом будут создавать минимальные акустические помехи друг другу.

2. В результате сопоставления частот взмахов (по эффекту биений) в моменты акустических контактов сообщество комаров в рое постепенно разделяется на несколько групп с выраженным разнесением частот между группами. Самцы при этом могут воспринимать звуки других особей при взаимном сближении в пространстве. Такая стратегия позволяет поддерживать определенную плотность комаров в рое.

Следует отметить, что оба варианта акустического взаимодействия требуют наличия механизма подстройки и последующего поддержания частоты взмахов на определенном уровне. Этот механизм должен сохранять стабильность ритма полета на протяжении времени, соизмеримого со средним интервалом между акустическими контактами самцов в рое.

При сопоставлении спектра излучения конспецифической самки и частотно-пороговой характеристики самца (рис. 7) видно, что в область зеркального канала попадает второй спектральный пик сигнала самки. Действие этой гармоникой может оказаться значимым, так как акустическое излучение от комара на удвоенной частоте более эффективно по сравнению с первой гармоникой (Лепендин, 1978). Кроме того, положение минимума зеркального канала зависит от частоты взмахов воспринимающего звук самца. Эта особенность открывает дополнительные возможности для подстройки характеристик слуховой системы к воспринимаемому сигналу. Следует также учитывать то обстоятельство, что по мере сближения особей критерии оптимальности восприятия сигналов могут меняться. Например, с уменьшением расстояния требования к качеству амплитудно-частотного согласования снижаются из-за резкого увеличения уровня сигнала от летящей самки. В то же время на выходе сенсилл ДО возрастает амплитуда комбинационных составляющих и тем самым облегчается взаимная частотная настройка особей. Можно также предположить, что признаком конспецифичности самки является динамика изменения частоты ее крыловых взмахов в процессе сближения с самцом по схеме, предложенной Хоем с соавт. (Cator et al., 2009).

В ходе данного исследования впервые были зарегистрированы ответы узконастроенных нейронов. Формирование частотной характеристики с узкой полосой реагирования можно реализовать двумя путями: либо нейрон получает вход от сенсиллы ДО, имеющей столь же узкую настройку, либо результирующая характеристика формируется путем взаимного вычитания сигналов от двух или нескольких сенсилл с разной частотой основного порогового минимума («комбинаторный» тип формирования характеристики).

Специфика формы частотно-пороговых графиков узкополосных нейронов говорит, скорее, о «комбинаторном» методе их формирования. На такую схему обработки сигналов указывает выраженная асимметрия и ступенчатая форма боковых ветвей характеристик узконастроенных нейронов (рис. 9). Процедура взаимного вычитания выходов нескольких частотных каналов аналогична по смыслу явлению латерального торможения, которое обеспечивает в зрительной системе беспозвоночных обострение контрастных границ элементов изображения (Францевич, 1980). Однако пока нет экспериментальных данных, четко подтверждающих разделение сенсилл в пределах одного ДО на группы с разной частотной настройкой.

Обращает на себя внимание тот факт, что частоты оптимумов всех зарегистрированных узконастроенных нейронов не превышали 220 Гц, тогда как первая гармоника звука полета самок при той же температуре располагалась выше: 260—340 Гц при среднем значении 280 Гц. Однако если частотная характеристика формируется в результате операции вычитания сигналов нескольких каналов, то возникает естественное предположение о возможности перестройки центральной частоты узконастроенных нейронов путем динамического изменения связей с соответствующими входами.

Подводя общий итог работы, можно отметить, что нейронный комплекс слуховой системы самцов комаров образован несколькими функциональными подсистемами, существенно различающимися по частотным характеристикам. Часть параметров этих подсистем может динамически перестраиваться в соответствии с изменением частоты крыловых взмахов воспринимающего звук самца, что резко расширяет возможности насекомых в решении задач обнаружения и анализа внешних сигналов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Лапшин Д. Н. Восприятие акустических сигналов самцами комаров (Diptera, Chironomidae) в условиях имитации полета // Сенсорные системы. 2010. Т. 24, № 2. С. 129—138.
- Лепендин Д. Ф. Акустика. М.: «Высшая школа», 1978. 448 с.
- Тамарина Н. А., Жантиев Р. Д., Федорова М. В. Частотные характеристики звуков полета и Джонстоновых органов симпатрических видов комаров рода *Aedes* (Culicidae) // Паразитология. 1980. Т. 14. С. 398—402.
- Францевич Л. И. Зрительный анализ пространства у насекомых. Киев: Наукова думка, 1980. 287 с.
- Харкевич А. А. Основы радиотехники. М.: Связьиздат, 1962. 350 с.
- Belton P. The physiology of sound reception in insects // Proc. Entomol. Soc. Ont. 1962. Vol. 92. P. 20—26.
- Belton P. An analysis of direction finding in male mosquitoes // Browne L. B. (ed.). Analysis of insect Behaviour. Berlin: Springer, 1974. P. 139—148.
- Cator L. J., Arthur B. J., Harrington L. C. R., Hoy R. R. Harmonic convergence in the love songs of the dengue vector mosquito // Science. 2009. Vol. 323, № 5917. P. 1077—1079.
- Göpfert M. C., Brigel H., Robert D. Mosquito hearing: sound-induced antennal vibrations in male and female *Aedes aegypti* // J. Exp. Biology. 1999. Vol. 202. P. 2727—2738.
- Jackson J. C., Robert D. Nonlinear auditory mechanism enhances female sounds for male mosquitoes // Proc. Natn. Acad. Sci. USA. 2006. Vol. 103, № 45. P. 16734—16739.
- Johnston G. Auditory apparatus of the *Culex* mosquito // Q. J. Microsc. Sci. 1855. Vol. 3. P. 97—102.

- R o t h L. M. A study of mosquito behaviour. An experimental laboratory study of the sexual behaviour of *Aedes aegypti* Linnaeus // *Am. Midi. Nat.* 1948. Vol. 40. P. 265—352.
- Shimozawa T., Kanou M. The aerodynamics and sensory physiology of range fractionation in the cereal filiform sensilla of the cricket *Gryllus bimaculatus* // *J. Corp. Physiol.* 1984. Vol. 155, № 4. P. 495—505.
- Sotavalta O. The flight-tone (wing-strokefrequency) of insects // *Acta Entomol. Fenn.* 1947. Vol. 4. P. 1—117.
- Tischner H. Über den Gehörsinn von Stechmücken // *Acustica Suisse.* 1953. Vol. 3. P. 335—343.
- Tischner H., Schief A. Fluggeräusch und Schallwahrnehmung bei *Aedes aegypti* L. (Culicidae) // *Zool. Anz.* 1955. Bd. 18 (Suppl.). P. 453—460.

Институт проблем передачи информации
им. А. А. Харкевича РАН,
Москва.

Поступила 16 V 2011.

SUMMARY

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

To simulate the flight conditions around the mosquito a small amount of air was shifted at 500 Hz along the dorso-ventral axis. These air oscillations carried the mosquito feather-like antennae, causing the vibration of the antennal flagellum which, in its turn, was transmitted to and sensed by the Johnston's organ.

Along with the flight simulation the mosquito was stimulated by a low-amplitude sinusoidal auditory signals of different frequencies. The responses were recorded from neurons using glass microelectrode.

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

Compared to the steady-state conditions, the additional optimum of auditory sensitivity was found at 540—640 Hz (so-called image channel) during flight simulation. The second harmonic of conspecific female sound corresponds to this optimum. Also the improvement of sensitivity by 7 dB (2.2-fold) was observed at the main optimum (220—320 Hz).

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