

УДК 595.771; 591.498

**ПРОСТРАНСТВЕННАЯ И ЧАСТОТНАЯ ИЗБИРАТЕЛЬНОСТЬ
СЛУХОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ КОМАРОВ-ЗВОНЦОВ
(DIPTERA, CHIRONOMIDAE)**

© Д. Н. Лапшин

Институт проблем передачи информации им. А. А. Харкевича РАН
пер. Большой Каретный, 19, Москва, 127051, ГСП-4, Россия
E-mail: lapshin@iitp.ru
Поступила 13.04.2015

Измерены характеристические частоты и диаграммы направленности рецепторов джонстоновых органов звонцов *Chironomus plumosus* L. методом стимуляции подопытных насекомых в контуре положительной обратной связи. Управление акустическим излучателем при этом осуществлялось усиленными потенциалами, регистрируемыми стеклянным микроэлектродом в антеннальном нерве от аксонов рецепторов джонстонова органа. При выполнении условий амплитудного и фазового согласования положительной обратной связи в системе стимуляции возникали автоколебания на частоте, близкой к характеристической частоте исследуемого рецептора.

Выявлены 3 группы рецепторов со средними частотами 180, 221 и 264 Гц. Эти группы различались по преимущественной локализации максимумов диаграмм направленности. Диаграммы направленности низкочастотной группы рецепторов в основном ориентированы в дорсовентральном направлении, рецепторы средне- и высокочастотных групп своими диаграммами обеспечивают круговой обзор в плоскости, перпендикулярной жгутику антенны.

На основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод, что один джонстонов орган хирономид в комплексе с антенной способен обеспечить восприятие конспецифического сигнала, пространственную локализацию его источника и первые этапы частотного анализа.

Ключевые слова: джонстоновы органы, Chironomidae, комар, акустическая коммуникация, положительная обратная связь, частотная настройка, диаграмма направленности.

Самцы комаров-звонцов (Chironomidae) формируют рои на открытых пространствах, как правило, недалеко от мест выплода. Конспецифическая самка залетает в рой и там копулирует с первым успевшим к ней подлететь самцом. При сильной конкуренции со стороны других особей в рое быстрая успешная реакция самца на самку является критическим фактором в обеспечении его конкурентоспособности. По этой причине параметры сенсорных систем, определяющие латентный период обнаружения и локализации самки в пространстве, должны находиться под сильным давлением отбора, направленным на модификацию всех последовательных этапов анализа сигналов в сторону уменьшения времени их обработки или исключения тех механизмов, которые создают принципиальные ограничения в скорости передачи и обработки информации.

В процессе поиска самки роящиеся самцы комаров ориентируются на звук ее полета. Самцы воспринимают акустические волны перистыми антеннами, в основании которых расположены джонстоновы органы. Каждый орган содержит около 20 000 механочувствительных сенсилл. Наиболее многочисленные сенсиллы включают в себя по 2 рецептора (Жантиев, Федорова, 1999). Рецепторы преобразуют колебания антенны в электрические потенциалы, с некоторыми искажениями повторяющие динамику акустического сигнала, вызвавшего вибрацию антенн. Далее эти потенциалы без преобразования в спайки распространяются по аксонам антеннального нерва (Лапшин, 2010) в зоны первичной обработки акустической информации (Ignell et al., 2005).

Согласно последним экспериментальным данным, рецепторы джонстоновых органов звонцов настроены на разные частоты в диапазоне от 100 до 380 Гц (Лапшин, 2013). Таким образом, слуховая система этих насекомых потенциально способна к спектральному анализу, основанному на информации от нескольких частотных каналов.

Для целенаправленного сближения с самкой самец должен обладать системой пространственной локализации источника акустических волн. Естественно, на все звенья этой системы также должен действовать половой отбор в сторону увеличения ее быстродействия. Радиальное расположение механочувствительных сенсилл в джонстоновом органе (Жантиев, Федорова, 1999) предполагает возможность одномоментного определения направления прихода звука к соответствующей антенне. Так как начальное угловое положение самки относительно воспринимающего звук самца исходно не определено, слуховая система самца должна иметь возможность проводить спектральный анализ независимо от плоскости колебания антенн. Другими словами, следует ожидать, что группы сенсилл в каждом радиальном секторе джонстоновых органов включают наборы рецепторов, достаточные для частотного анализа конспецифических сигналов. Задача работы – экспериментальная проверка этой гипотезы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В экспериментах были использованы самцы комаров-звонцов *Chironomus plumosus* L., отловленные в роях на берегу р. Оки (54°51'44" с. ш., 38°21'28" в. д.). Всего проведено 46 экспериментов. Как правило, в ходе одного опыта последовательно проводили стереотипные циклы измерений от двух точек антеннального нерва.

Работа заключалась в определении относительной пороговой чувствительности слуховых рецепторов в зависимости от пространственной ориентации вектора акустических волн, действовавших на антенну насекомого. Графическое представление этих данных в полярных координатах называют диаграммами направленности, или дирекционными характеристиками.

Ранее процедуру измерения диаграммы направленности осуществляли либо путем изменения пространственного положения акустического излучателя относительно подопытного объекта (Daley, Camhi, 1988; Лапшин, Рожкова, 1997; Kämper, Vedenina, 1998), либо вращением воспринимающего звук объекта относительно стационарно расположенных излучателей (Рожкова, 1980). Однако в данной работе был использован иной принцип варьирования направления движения звуковых волн около подопытного насекомого.

Основу стимулирующей части экспериментальной установки составляла конструкция из двух динамических излучателей Scandinavia 3C (DLS, Швеция), взаимно ориентированных своими осями под прямым углом (рис. 1). Подопытное насекомое фиксировали на пересечении акустических осей обоих излучателей таким образом, чтобы жгутик антенны в комплексе исследуемого джонстонова органа был ориентирован в целом перпендикулярно плоскости, образуемой осями излучателей.

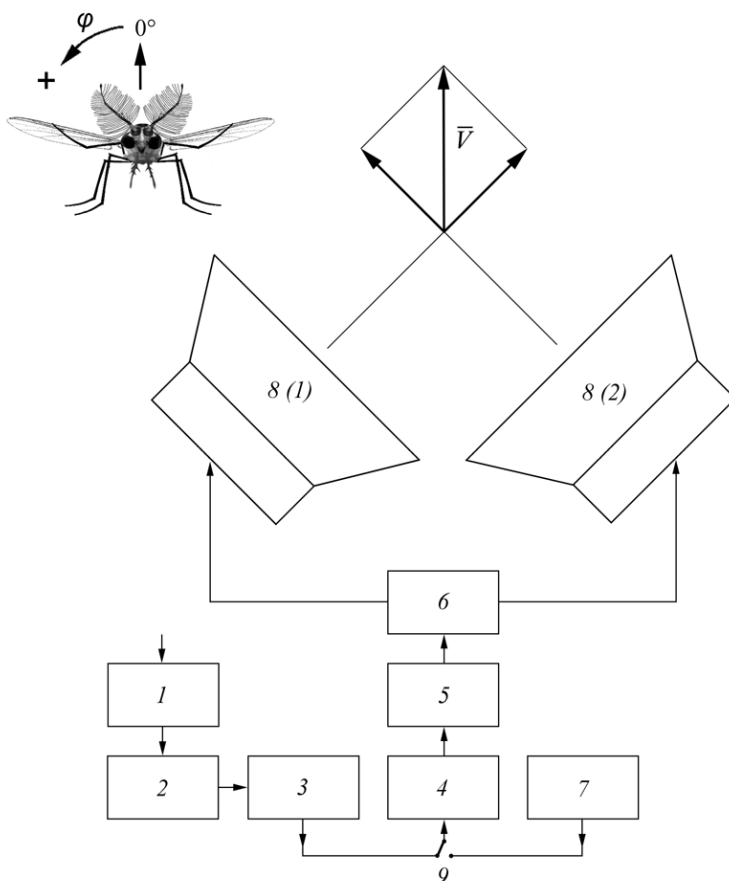


Рис. 1. Схема формирователя акустических стимулов.

1 — микроэлектродный усилитель, 2 — усилитель биопотенциалов, 3 — фазовый корректор, 4 — аттенуатор, 5 — усилитель мощности, 6 — SC-преобразователь, 7 — цифроаналоговый преобразователь, 8 (1) и 8 (2) — первый и второй акустические излучатели, 9 — коммутатор источников сигналов. Стрелкой на врезке показано направление положительного отсчета угла поворота акустического вектора (φ).

Излучатели питали от усилителя мощности ($K_U = 4$) через пассивный SC- (Sin-Cos) преобразователь, в котором формировались два производных сигнала с амплитудой:

$$A_1 = 0.25 \cdot U \cdot \cos \left(\frac{\pi}{180} (\varphi + 45) \right) \quad (1)$$

$$A_2 = 0.25 \cdot U \cdot \sin \left(\frac{\pi}{180} (\varphi + 45) \right), \quad (2)$$

где A_1 и A_2 — амплитуда управляющих сигналов соответственно для первого и второго излучателя; U — переменное напряжение на входе SC-преобразователя; φ — угол между вертикалью в точке крепления насекомого и направлением вектора скорости колебаний частиц воздуха. Увеличению угла φ соответствовал поворот вектора скорости против часовой стрелки при взгляде спереди на голову подопытного насекомого (рис. 1, врезка).

Результирующее направление колебательной скорости частиц воздуха в системе стимуляции определялось векторной суммой сигналов, индуцированных обоими из-

лучателями. Изменение направления звуковых волн относительно подопытного насекомого с шагом 15° обеспечивалось электрической коммутацией делителей напряжения в SC-преобразователе. Инверсия полярности сигналов для тех углов, при которых функции $\sin(\)$ или $\cos(\)$ приобретали отрицательные значения, осуществлялась переключением клемм излучателей. Используемый в данной работе метод варьирования направления акустических волн не требовал перемещения каких-либо механических конструкций в экспериментальной зоне, что заметно ускоряло процесс измерений.

Излучатели имели низкую частоту резонанса подвижной системы (90 Гц). Из-за большой инерционности диффузора и его подвески фазовая задержка при преобразовании электрического сигнала в акустические колебания с увеличением частоты возрастала вплоть до инверсии. Для стабилизации фазового сдвига в цепь управления излучателями был добавлен фазовый корректор.

Акустическую калибровку стимулирующей аппаратуры осуществляли с помощью конденсаторного дифференциального микрофона NR-231-58-000 (Knowles Electronics, США). Этим же микрофоном контролировали угловую ориентацию акустического вектора в области расположения подопытного насекомого.

В ходе подготовки к экспериментам дифференциальный микрофон, дополненный микрофонным усилителем, был прокалиброван в условиях свободного акустического поля совместно с измерителем звукового давления B&K 2235, оснащенный микрофоном B&K 4176 (Brüel & Kjær, Дания).

Результаты измерений приведены к логарифмической шкале в единицах децибел. За 0 дБ принято среднеквадратичное значение уровня колебательной скорости (УКС) $4.85 \cdot 10^{-3}$ мм/с, которое в условиях свободного поля соответствует стандартному значению звукового давления $2 \cdot 10^{-5}$ Па.

В процессе измерения пространственных и частотных характеристик слуховой системы комаров был использован разработанный ранее метод включения слуховых рецепторов подопытных насекомых в цепь положительной обратной связи (Лапшин, 2013; Lapshin, Vorontsov, 2013). Принцип тестирования заключался в том, что в качестве управляющих сигналов для акустических излучателей были использованы усиленные потенциалы самих рецепторов. Для обеспечения положительной обратной связи колебания воздуха от излучателей должны были вызывать синфазный с управляющим сигналом отклик рецепторного потенциала в области расположения острия микроэлектрода. При соблюдении условий автовозбуждения в системе возникали периодические колебания, основная частота которых характеризовала в первую очередь собственную настройку (характеристическую частоту) исследуемого рецептора (Лапшин, 2013; Lapshin, Vorontsov, 2013).

Перед опытом насекомое фиксировали на столике из металлизированного пластика клеем на основе крахмала с добавлением 0.9%-ного раствора NaCl. Такой клей, нанесенный тонким слоем на токопроводящую поверхность столика, помимо механической фиксации комара выполнял функцию индифферентного электрода. Столик в свою очередь крепился на держателе с помощью двух миниатюрных ферритовых магнитов. Конструкция позволяла ориентировать подопытное насекомое под произвольным углом относительно акустических излучателей. При измерении диаграмм направленности в большинстве опытов комаров ориентировали дорсальной стороной вверх.

В то же время стереотипная схема фиксации подопытных насекомых могла привести к преимущественной регистрации одних и тех же групп рецепторов. Чтобы избежать такой селекции, ориентацию препарата периодически изменяли, фиксируя комара либо вентральной стороной вверх, либо путем его разворота на 180° в горизонтальной плоскости. Полученные в таких опытах данные затем корректировали с учетом ориентации тела насекомого относительно стимулирующей системы.

Электрические потенциалы от рецепторных аксонов в антеннальном нерве регистрировали внеклеточно микроэлектродами из боросиликатного стекла 1B100F-4 (WPI Inc.), заполненными 0.9%-ным раствором NaCl. Сопротивление кончика электрода составляло 10–40 МОм. В ходе работы была использована внеклеточная регистрация активности рецепторов, так как она более стабильна на длительных интервалах времени по сравнению с внутриклеточной регистрацией.

Сигнал с микроэлектрода поступал на вход усилителя постоянного тока (УПТ; Первис, 1983) (входное сопротивление более 10 ГОм, $K_U = 10$) и далее — на аналогово-цифровой преобразователь (АЦП) E14-440 («Л-Кард», Россия). Одновременно по

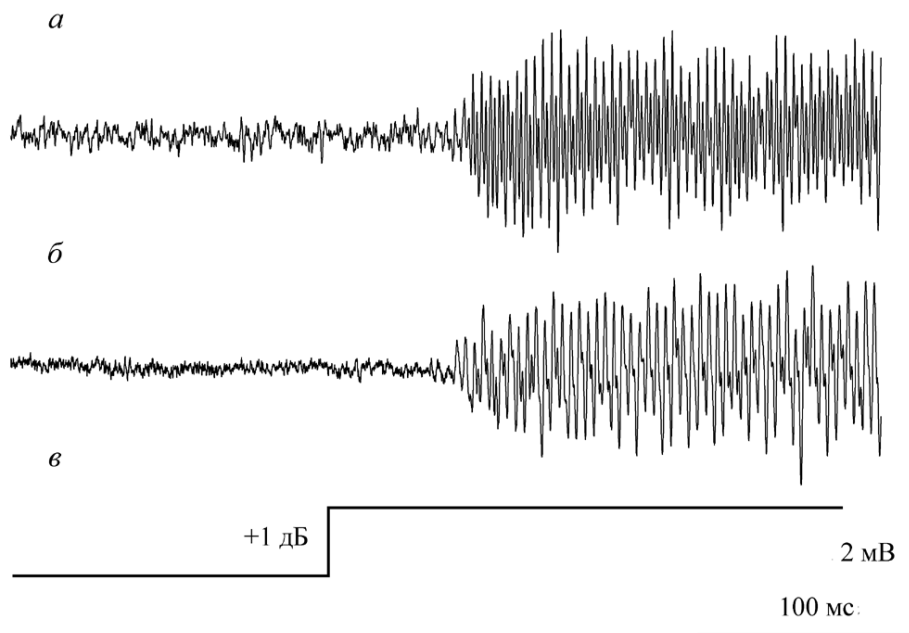


Рис. 2. Нарастание электрической активности рецептора в контуре положительной обратной связи после превышения порога автовозбуждения.

а — реакция рецептора, *б* — акустический сигнал обратной связи, *в* — увеличение коэффициента передачи в цепи обратной связи на 1 дБ (условное изображение). Калибровка по напряжению указана для осциллограммы (*а*).

другому каналу АЦП производилась регистрация усиленного сигнала от дифференциального микрофона, установленного рядом с подопытным насекомым (контроль акустического стимула). После преобразования в цифровой код эти данные фиксировали в памяти компьютера.

Помимо АЦП сигнал с выхода УПТ после дополнительного усиления по переменному току ($K_U = 100$ в частотном диапазоне 5 – 5000 Гц) поступал на вход цифрового аттенуатора и на амплитудный дискриминатор. Последний использовался при измерении порогов реакций рецепторов на внешние синусоидальные стимулы. С помощью аттенуатора можно было регулировать уровень стимулов с шагом 1 дБ.

В начале опыта по мере смещения электрода в антеннальном нерве на препарат непрерывно действовали последовательно тональных пульсов (частота синусоидального заполнения пульсов 240 Гц, амплитуда 60 дБ УКС, длительность 80 мс и период следования 0,6 с). Поскольку в синусоидальных акустических волнах в течение каждого периода направление скорости частиц воздуха меняется на противоположное, можно было ожидать активации рецепторов, чувствительных к наклону антенны, как в прямом, так и в противоположном направлениях. Однако в ходе поиска отведения оставался риск не заметить рецепторы, чувствительные в плоскости, ортогональной качанию антенны под действием стимула, поэтому направление вектора акустических волн периодически изменяли на 90° соответствующим переключением установок SC-преобразователя.

После резкого увеличения амплитуды ответных электрофизиологических реакций стимулирующую систему переключали в режим положительной обратной связи и регуляцией ее уровня добивались возникновения автовозбуждения (т. е. генерации автоколебаний). За порог был принят тот уровень, при котором система переходила в режим автовозбуждения после очередного шага увеличения коэффициента передачи на выходе аттенуатора (+1 дБ, рис. 2). В результате одного цикла измерений получали набор значений цифровых установок аттенуатора, соответствующих порогам автовозбуждения $Th_1 \dots Th_i \dots Th_{24}$, при разной угловой ориентации акустического вектора $15^\circ \dots i \cdot 15 \dots 360^\circ$ (i — целое число от 1 до 24). Поскольку процесс одного цикла измерений мог быть весьма длительным, для проверки стабильности

отведения периодически (не менее двух раз за цикл) проводили повторные измерения на определенных ракурсах (обычно на углах 45 и 315°).

При последующей обработке данных в массиве значений, измеренных в ходе одного отведения, находили максимальное Th_{max} . Далее по формуле $A_i = Th_{max} - Th_i$ получали производный набор чисел, характеризующих чувствительность рецептора в зависимости от направления действия акустических волн на антенну. При построении по этим данным диаграмм направленности секторам с максимальной чувствительностью соответствовали минимальные зарегистрированные пороги, а центральной точке «0» — значение Th_{max} . Направлениям акустического вектора, при которых возбуждение с исходной частотой не наблюдалось, присваивали значение $A_i = 0$.

Для оценки абсолютной чувствительности рецепторов в 24 опытах после циклов тестирования в режиме обратной связи были проведены сходные измерения порогов на тональные (синусоидальные) пульсы в зависимости от направления действия акустических волн. Стимулы формировали с помощью цифроаналогового преобразователя ЛА-ЦАПн10м1 (Руднев-Шиляев, Россия).

Методика измерения физиологических порогов слуховых рецепторов была описана ранее (Лапшин, 2010; Lapshin, Vorontsov, 2013). Признаком превышения стимулом порога чувствительности рецептора служило резкое учащение импульсации на выходе амплитудного дискриминатора, коррелировавшее с предъявлением очередного акустического пульса в непрерывной серии.

Далее в тексте для терминологического различения форм представления результатов, полученных с использованием метода положительной обратной связи либо стимуляцией тональными пульсами, в первом случае форма названа «диаграммой направленности», а во втором — «дирекциональной характеристикой».

На дирекциональных характеристиках, построенных по результатам тестирования препарата тональными пульсами, определяли угловую ширину области чувствительности по уровню –6 дБ от ее максимума. Для оценки углового диапазона чувствительности рецепторов были использованы дирекциональные характеристики, а не диаграммы направленности, так как условия получения первых более соответствовали естественному режиму функционирования рецепторного аппарата джонстонова органа.

Электрофизиологические эксперименты проводили в лабораторных условиях при температуре воздуха 19–21°C в августе–сентябре 2014 г. на базе биостанции «Кропотово» Института биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН.

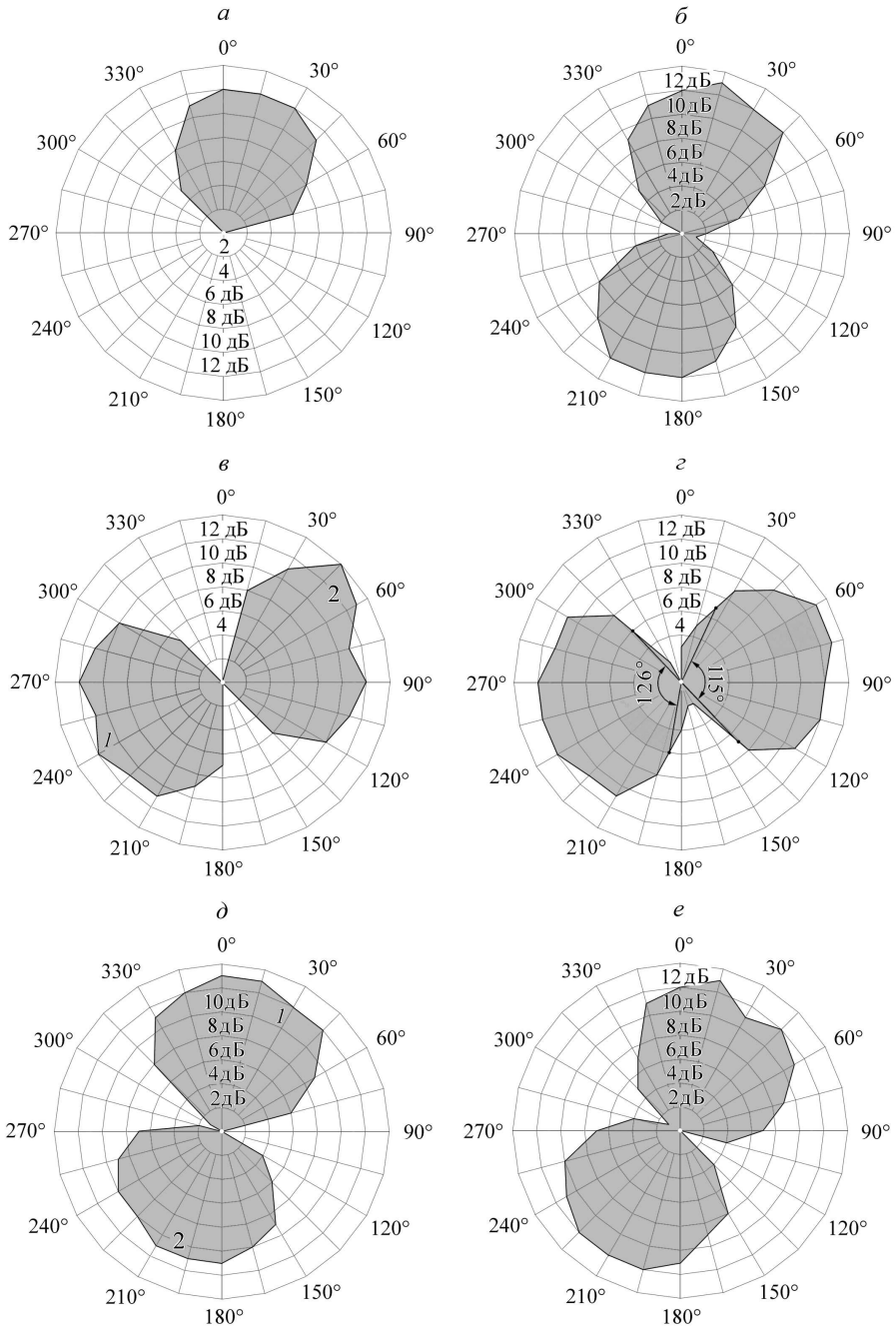
РЕЗУЛЬТАТЫ

Началом активной фазы сбора данных в эксперименте можно было считать тот момент, когда в процессе поступательного смещения микроэлектрода в антеннальном нерве амплитуда рецепторных ответов на тональные пульсы превышала 1 мВ. После этого уже при фиксированном положении микроэлектрода стимулирующую установку переключали в режим положительной обратной связи и далее при пошаговом изменении направления акустического вектора последовательно измеряли пороги перехода рецепторов в автоколебательный режим.

На рис. 3, *a* приведен пример диаграммы направленности одиночного рецептора, т. е. такого рецептора, который в конкретной точке отведения откликался на стимуляцию в единственном числе. Поскольку положительная обратная связь чувствительна к фазе акустических волн, действовавших на

Рис. 3. Примеры диаграмм направленности,

a — диаграмма одиночного рецептора (характеристическая частота 204 Гц); *б* — дирекциональная характеристика того же рецептора (порог в области максимальной чувствительности 33 дБ УКС на частоте 210 Гц); *в* — диаграммы двух сопряженных рецепторов, противофазно реагирующих на стимуляцию (характеристическая частота рецептора с диаграммой «1» 256 Гц, с диаграммой «2» — 224 Гц); *г* — обобщенная дирекциональная характеристика рецепторов *1в* и *2в*, полученная в ходе тестирования препарата синусоидаль-



ными стимулами (частота заполнения стимулов 210 Гц, порог в области максимальной чувствительности 21 дБ УКС); *д* — примеры диаграмм направленности сопряженной системы из 3 рецепторов (1 — 234 Гц, 2 — одновременное автовозбуждение на двух частотах 186 и 284 Гц); *е* — обобщенная дирекциональная характеристика системы рецепторов 1 *д* и 2 *д* (частота заполнения стимулов 210 Гц, порог в области максимальной чувствительности 27 дБ УКС). На диаграммах по периметру указаны значения углов между вектором акустического стимула и вертикальной (дорсальной) осью в точке крепления насекомого (см. врезку на рис. 1), по радиусу диаграмм — относительная чувствительность в дБ. Данные пространственных характеристик рецепторов, представленных на фрагментах *а* и *б*, *в* и *з* и соответственно *д* и *е*, получены в трех опытах и в каждом — при неизменном положении электрода в антеннальном нерве. На фрагменте *з* приведена схема оценки ширины дирекциональной характеристики на уровне -6 дБ от максимума как среднего по двум измерениям (результаты конкретных измерений: 126 и 115°, среднее значение 121°).

антенну, диаграмма направленности одиночного рецептора имела вид лепестка, расположенного асимметрично относительно центра полярных координат. На противоположных по отношению к диаграмме ракурсах рецептор также реагировал на звук, но фаза регистрируемых в антеннальном нерве электрических колебаний сдвигалась на 180° . Как следствие, система стимуляции переходила в режим, при котором автовозбуждение в рецепторе не поддерживалось.

На рис. 3, б приведена дирекциональная характеристика одиночного рецептора, которая по форме близка к характеристике классического дифференциального приемника.

Всего было исследовано 9 одиночных рецепторов. В условиях положительной обратной связи в этих клетках возникали автоколебания на характеристических частотах в пределах диапазона 182 – 224 Гц, направление максимума индивидуальных диаграмм направленности варьировало в диапазоне от 15° до 180° .

В большинстве опытов при фиксированном положении электрода в области антеннального нерва наблюдалась активность двух рецепторов с разными характеристическими частотами и диаграммами направленности, ориентированными в противоположные стороны относительно точки «0» (рис. 3, в). Другими словами, в одной и той же области нерва с большой вероятностью ($N = 56$, $p = 0.64$) можно было зарегистрировать рецепторы, противофазно реагирующие на одно и то же смещение антенны. Ориентация оси диаграмм таких рецепторов могла быть самой разной. После механического смещения острого электрода в нерве на фоне стимуляции начинала откликаться другая пара рецепторов с иными характеристическими частотами, причем их диаграммы при сохранении взаимно-зеркальной ориентации могли располагаться под произвольными углами относительно предыдущей пары. Это указывает на согласованность пространственных характеристик рецепторов, образующих пары. Угловая ориентация дирекциональной характеристики, полученной путем тестирования тех же рецепторов синусоидальными стимулами, с небольшими отклонениями совпадала с осью, объединяющей их индивидуальные диаграммы (рис. 3, г). Небольшую взаимную рассогласованность углового положения осей диаграмм направленности и дирекциональных характеристик, измеренных в ходе тестирования одних и тех же рецепторов, можно объяснить проникновением в канал регистрации электрических потенциалов от других аксонов, расположенных вблизи точки отведения.

Ширину индивидуальной характеристики по уровню -6 дБ от максимума вычисляли как среднее от двух измерений угловой ширины ее симметричных частей (рис. 3, г). Среднее значение ширины дирекциональной характеристики по всему массиву данных составило 124° ($N = 24$, среднеквадратичная ошибка $\sigma = 12^\circ$). Пороги чувствительности рецепторов в области максимумов характеристик варьировали от опыта к опыту в пределах 21 – 43 дБ УКС (среднее значение 34 дБ УКС, $\sigma = 6.1$ дБ).

В 14 опытах в пределах границ диаграммы направленности наблюдалось одновременное автовозбуждение на двух частотах в диапазонах соответственно 170 – 190 и 255 – 275 Гц. Это означает, что оба источника откликались синфазно на механические колебания антенны. Сравнение значений таких парных частот позволило выявить определенную закономерность: их отношение в разных опытах оказалось близким к 1.5 ($M = 1.50$, $\sigma = 0.02$). В то же время признаками независимости двух источников колебаний могли служить различия в изменении характеристических частот около границ диаграммы направленности, т. е. в областях неустойчивого возбуждения. На противоположном угловом ракурсе возбуждение наблюдалось только на одной частоте, значение которой не совпадало с двумя первыми. Форма диа-

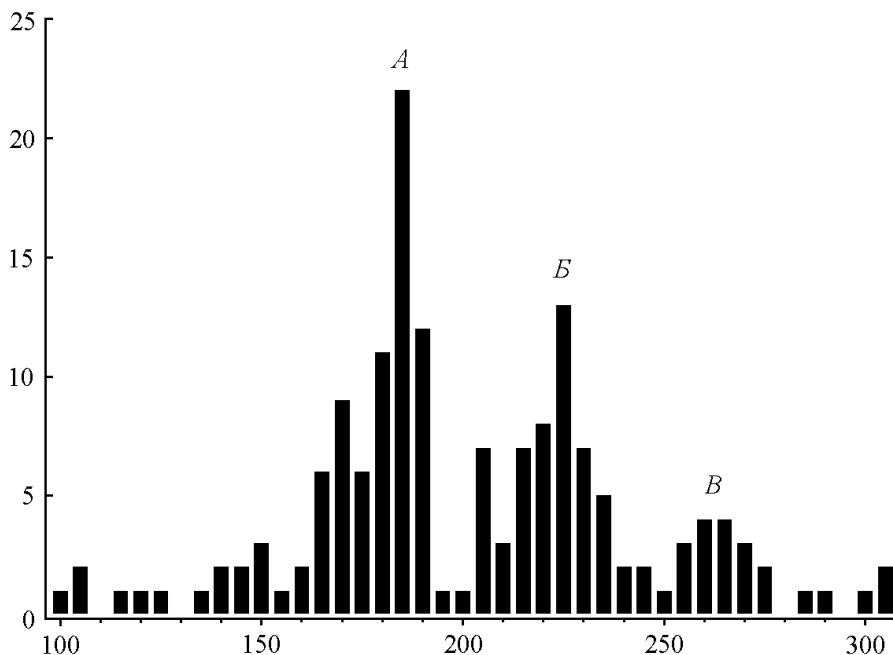


Рис. 4. Гистограмма распределения характеристических частот рецепторов джонстоновых органов самцов *Chironomus plumosus* L.

Буквами отмечены три основные частотные группы: 165—190 Гц, максимум на 185 Гц (А); 205—245 Гц (В); 255—275 Гц (В). По горизонтальной оси — частота, Гц; по вертикальной оси — количество зарегистрированных рецепторов с характеристической частотой в пределах частотной полосы шириной 5 Гц.

грамм направленности (рис. 3, д) и дирекциональных характеристик таких тройных систем (рис. 3, е) принципиально не отличалась от аналогичных характеристик парных рецепторов с взаимно зеркальными диаграммами (рис. 3, в, з).

Гистограмма распределения значений характеристических частот рецепторов, построенная по данным 165 измерений, приведена на рис. 4. На распределении выделяются 3 пика: первый и наиболее выраженный (А) с максимумом на 185 Гц (средняя частота 180 Гц в пределах группы 165–190 Гц), два других пика расположены в диапазонах соответственно 205–245 Гц (В, средняя частота 221 Гц) и 255–275 Гц (В, средняя частота 264 Гц). Большинство рецепторов группы В входило в состав тройных систем, описанных выше: из 16 единиц этой группы 14 были сопряжены как пространственно, так и по частоте с рецепторами, объединенными в первом пике (отношение частот близко к 1.5).

Вероятность случайного пространственного совпадения диаграмм двух сопряженных по частоте рецепторов, зарегистрированных в одном отведении, можно рассчитать по формуле Бернулли для биномиального распределения (Лакин, 1990). Если в качестве нулевой гипотезы принять два равновероятных положения диаграмм рецепторов в паре (совпадение диаграмм или их симметричное расположение относительно центра), то вероятность ее реализации при 14 совпадениях в 16 опытах получается весьма малой: $H_0 < 2 \cdot 10^{-3}$. Для трех возможных вариантов взаимной ориентации диаграмм ($360^\circ/124^\circ \approx 3$) вероятность реализации нулевой гипотезы уже близка к нулю: $H_0 < 3 \cdot 10^{-6}$. Таким образом, одновременная активность двух рецепторов в пределах одной диаграммы направленности является неслучайной даже без учета характерного соотношения частот в таких парах.

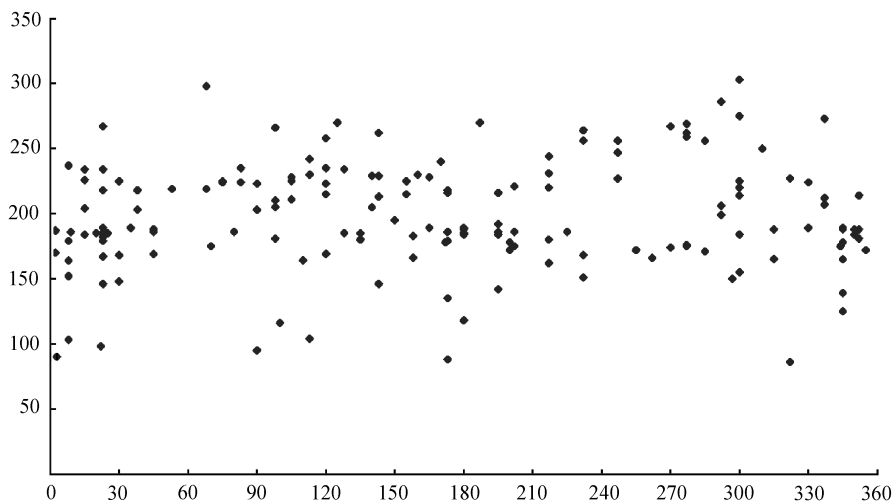


Рис. 5. Распределение параметров исследованных рецепторов джонстоновых органов самцов *Chironomus plumosus* L.

По горизонтальной оси — угловое положение максимумов диаграмм направленности (в градусах), по вертикальной оси — характеристическая частота, Гц.

Из 66 исследованных рецепторов группы *A* пары с рецепторами группы *B* были зарегистрированы 24 раза (отношение частот в парах 1.25, $\sigma = 0.09$), в 5 случаях оба рецептора имели близкие значения характеристических частот, в 8 случаях второй рецептор в паре был настроен на более низкую частоту (отношение частот в паре 0.82, $\sigma = 0.05$). На основании этих данных можно предположить, что присутствие слабо выраженного пика на гистограмме рис. 4 в области 140 – 150 Гц является закономерным.

Общее распределение результатов тестирования рецепторов джонстоновых органов в координатах «угловое положение максимумов диаграмм направленности рецепторов» и «характеристическая частота» представлено на рис. 5. На рисунке видно, что большая часть угловых ракурсов обеспечена активностью как минимум двух рецепторов с разными характеристическими частотами. Однако плотность точек вдоль горизонтальной оси в зонах около 60 и 240° визуальна снижена по сравнению с зонами 0 – 30° или 150 – 180°, поэтому предстояло выяснить, прослеживается ли связь между характеристическими частотами рецепторов и их пространственной ориентацией.

Как оказалось, три группы рецепторов (*A*, *B*, *B*, рис. 4) действительно по-разному распределены в соответствии с ориентацией их диаграмм направленности (рис. 6). Диаграммы рецепторов группы *A* в основном ориентированы в пределах 15 – 45° и 165 – 235°. Максимумы диаграмм большей части группы *B* сосредоточены в диапазоне 15 – 235°. Поскольку дирекционные характеристики рецепторов джонстоновых органов симметричны (рис. 3, б, г, е), такое распределение означает, что рецепторы группы *B* обеспечивают полный круговой обзор в плоскости, перпендикулярной жгутику антенны. В распределении пространственных характеристик высокочастотной группы *B* четких тенденций не выявлено. В последнем случае такая неопределенность, скорее всего, является следствием малости выборки. Однако, как это было показано ранее, большая часть рецепторов этой группы и пространственно, и по частоте сопряжена с группой *A*. Два случая, не вошедшие в эту группу, на гистограмме рис. 6, в обозначены черным цветом. Таким образом, группа *A* неоднородна по составу.

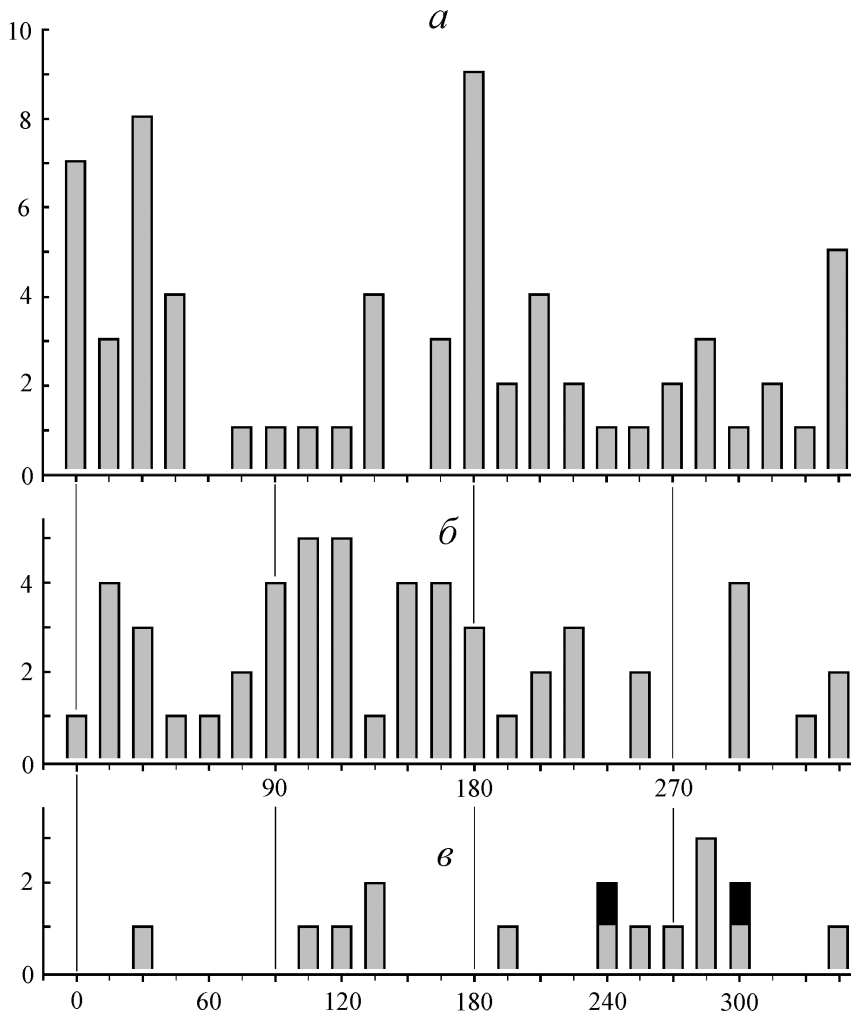


Рис. 6. Распределение значений углового положения максимумов диаграмм направленности трех основных частотных групп рецепторов джонстоновых органов самцов *Chironomus plumosus* L.

a: 165—190 Гц, *б:* 205—245 и *в:* 255—275 Гц. По горизонтальной оси — угол (градусы), по вертикальной оси — количество рецепторов.

Гистограмма на рис. 7 получена после вычета из группы *A* всех пространственно сопряженных с группой *B* элементов. Преимущественная ориентация диаграмм направленности оставшейся части рецепторов в вертикальном направлении ($0 - 15^\circ$ и $180 - 195^\circ$) на гистограмме видна вполне отчетливо. Этот же вывод подтверждают результаты статистического анализа [по критерию χ^2 (Лакин, 1990), $H_0 < 0.02$].

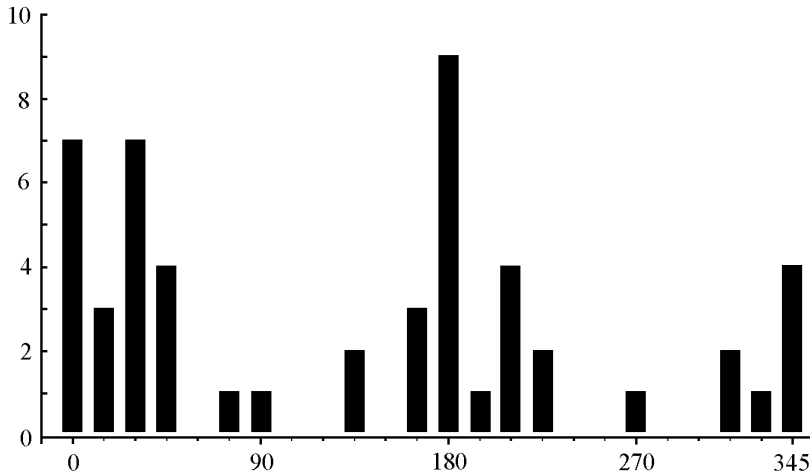


Рис. 7. Распределение значений углового положения максимумов диаграмм направленности рецепторов группы *A* (165—190 Гц, рис. 4) после вычета из этой группы элементов, сопряженных с группой *B*.

Обозначения, как на рис. 6.

ОБСУЖДЕНИЕ

Число исследованных в данной работе рецепторов ($N = 165$) составляет только малую часть от их общего количества в составе джонстонова органа, однако даже такая небольшая выборка, по-видимому, может обеспечить спектральный анализ акустических сигналов с любого ракурса (рис. 5).

Средняя ширина дирекциональной характеристики рецептора *Chironomus plumosus* составляет 124° . Исходя из этой оценки, можно сделать вывод, что достаточно четырех сходных по частотной настройке элементов в джонстоновом органе, чтобы полностью обеспечить «круговой обзор» источников акустических сигналов на одной характеристической частоте. Как видно на рис. 6, в, это условие выполняется даже для наименее представительной группы, которая объединяет в себе синфазные рецепторы двух частотных диапазонов: 165 – 190 Гц (*A*) и 255 – 275 Гц (*B*).

В то же время нескольких рецепторов может оказаться совершенно недостаточно для обеспечения необходимой точности определения угловых координат источника звука. Согласно наблюдениям Белтона (Belton, 1974), самцы кровососущих комаров (*Culicidae*) не привлекаются акустическими сигналами от источников, расположенных на большом расстоянии от роя, даже если эти сигналы содержат частоты, характерные для звуков полета конспецифических самок. Самцы *Ch. plumosus* во время роения совершают полет галсами. Анализируя в своем движении степень параллактического смещения источников звуков, они, по-видимому, так же как и *Culicidae*, могут определять их дальность. В таком случае область внимания комаров будет ограничена преимущественно объемом роя с игнорированием в той или иной степени звуковых потоков, исходящих с больших расстояний. Пространственная селективность реагирования на акустические сигналы способствует стабилизации положения роя на местности и повышению помехоустойчивости канала связи между самками и самцами. Однако решение задачи текущей триангуляции накладывает жесткие требования на точность и быстрдействие системы угловой локализации источников сигналов. Этим

можно объяснить кажущуюся избыточной сложность строения джонстоновых органов комаров.

Согласно данным Р. Д. Жантиева с соавт. (Жантиев и др., 2001), частота взмахов крыльями у самцов *Ch. plumosus* превышает аналогичный показатель у самок на 170 Гц. Это значение попадает в диапазон наиболее выраженного пика *A* на гистограмме рис. 4. Можно предположить, что рецепторы этой группы обеспечивают восприятие и последующий анализ комбинационной гармоника, частота которой равна разности между частотой взмахов крыльями воспринимающего звук самца и первой гармоникой звука полета самки [вопросы формирования комбинационных гармоник при восприятии звуков летящими насекомыми подробно рассмотрены в более ранних работах (Лапшин, 2010, 2012)].

Большинство рецепторов группы *A* ориентировано в дорсовентральном направлении с некоторым смещением ($+15^\circ$) в сторону больших углов (рис. 7). В уже упомянутой выше работе Р. Д. Жантиева с соавт. (Жантиев и др., 2001) есть указание, что самцы, догоняя самку в полете, приближаются к ней сверху. Таким образом, источник звука для самца (т. е. самка) будет располагаться в нижнем угловом секторе (180° в принятой в данной работе системе отсчета углов), т. е. в области расположения максимумов диаграмм направленности рецепторов группы *A*.

Как было выяснено в нашей работе, существует многочисленное представительство парных рецепторов, различающихся по характеристической частоте и с зеркально ориентированными диаграммами направленности (рис. 3, 6). Это означает, что при одном и том же направлении механического смещения антенны в аксонах парных рецепторов возникают противофазные электрические сигналы. Известно также, что основными структурными элементами в джонстоновых органах хирономид являются сенсиллы, содержащие по два биполярных рецептора (Жантиев, Федорова, 1999). Общее количество сенсилл такого типа авторы оценивают в пределах 20 – 21 тыс. единиц. Допустимо предположить, что аксоны рецепторов одной такой сенсиллы по антеннальному нерву следуют в общей оболочке. Тогда высокую вероятность регистрации противофазных рецепторов в составе пары можно объяснить тем, что при попадании острия электрода под общую оболочку регистрировалась электрическая активность одновременно обоих аксонов. В то же время использование метода положительной обратной связи позволяло отдельно исследовать индивидуальные характеристики этих рецепторов.

В попарном объединении разнополярных сигналов в рецепторной системе комаров просматривается аналогия с организацией оппонентного кодирования цветов в сетчатке глаза животных (Svaetichin, MacNichol, 1958; Daw, 1973). Оппонентность слуховых рецепторов с разными характеристическими частотами может облегчить организацию торможения на последующих этапах обработки акустической информации в тех случаях, когда спектр сигнала сплошной (т. е. шумоподобный), а не линейчатый, каким он должен быть при восприятии сигнала от летящей самки.

Присутствие в реакциях рецепторов только гармоника, близкой к разностной частоте, не является достаточным признаком конспецифического сигнала. Электрические отклики рецепторов содержит также частотные составляющие, кратные основному тону звука полета самки (Лапшин, 2010). Для правильной интерпретации акустического сигнала в комплексе с рецепторами, настроенными на разностную частоту, необходимо также участие рецепторов с иными характеристическими частотами. На их роль хорошо подходят пространственно сопряженные элементы с полукратным отношением частот в системах синфазных рецепторов. Поскольку автовозбуждение на обеих частотах одновременно возникало в одном и том же угловом секто-

ре, можно с большой уверенностью предположить морфологическую связанность источников этих сигналов как в самом джонстоновом органе, так и в пределах антеннального нерва. Кроме того, стабильное соотношение характеристических частот рецепторов в парах (около 1.5) указывает на физиологическую обусловленность их параметров.

Ранее с помощью методики включения объекта исследования в цепь положительной обратной связи было получено статистическое распределение значений характеристических частот рецепторов джонстоновых органов самцов *Ch. plumosus* (Лапшин, 2013). При сравнении этого распределения с гистограммой на рис. 4 можно выделить две пары сходных по положению пиков: 140 – 190 и 165 – 190 Гц (группа А); 240 – 290 и 255 – 275 Гц (группа В). Область максимальной акустической чувствительности на частотно-пороговой характеристике самцов комаров *Ch. plumosus* (Лапшин, 2010) совпадает с положением пика В.

В то же время при сопоставлении формы двух распределений видны и различия: у пика В (рис. 4) нет аналога на распределении, полученном ранее, но зато на том же распределении наблюдается высокочастотная группа 320 – 370 Гц. Такие расхождения в данных можно объяснить тем, что в предшествующем исследовании использовалась стимуляция исключительно в дорсовентральном направлении, тогда как в настоящей работе тестирование осуществлялось на всех угловых ракурсах. Поскольку многие рецепторы, образующие группу В, ориентированы в латеральном направлении (рис. 6, б), при дорсовентральной стимуляции в этой частотной области должно наблюдаться снижение количества активных рецепторов. По-видимому, аналогичное объяснение применимо и к высокочастотному пику (320 – 370 Гц): рецепторы с такими характеристическими частотами с наибольшей вероятностью откликались на стимуляцию в дорсовентральном направлении.

На основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод, что один джонстонов орган хирономид в комплексе с антенной способен обеспечить восприятие конспецифического сигнала, пространственную локализацию его источника и первые этапы частотного анализа. Этот вывод подтверждается уже давно известным фактом, что комары с одной антенной способны правильно ориентироваться на источник звука (Roth, 1948).

Таким образом, частотная и пространственная многоканальность слуховой системы хирономид в сочетании с короткими путями электротонического проведения по аксонам антеннального нерва могут обеспечить существенное ускорение обработки акустической информации без ущерба для качества анализа.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает признательность директору Института биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН Н. Д. Озернюку и руководителю Кропотовской биологической станции А. В. Широковой за содействие при проведении экспериментов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Жантеев Р. Д., Федорова М. В. 1999. Ультрасруктура джонстонова органа *Chironomus plumosus* (Diptera, Chironomidae). Энтомологическое обозрение. 78 (2): 287—295.
- Жантеев Р. Д., Федорова М. В., Чуканов В. С, Есипович Н. Г. 2001. Морфофункциональная организация антенн и джонстоновых органов комаров-звонцов (Diptera, Chironomidae). Сенсорные системы. 15 (1): 73—84.

- Лакин Г. Ф. 1990. Биометрия. М.: Высшая школа. 352 с.
- Лапшин Д. Н. 2010. Восприятие акустических сигналов самцами комаров (Diptera, Chironomidae) в условиях имитации полета. Сенсорные системы. 24 (2): 129—138.
- Лапшин Д. Н. 2012. Биоакустика комаров: функционирование слуховой системы самцов *Culex pipiens pipiens* L. в условиях имитации полета. Энтомологическое обозрение. 91. 1: 36—57.
- Лапшин Д. Н. 2013. Частотные характеристики слуховых рецепторов комаров-звонцов (Diptera, Chironomidae). Сенсорные системы. 27 (1): 35—46.
- Лапшин Д. Н., Рожкова Г. И. 1997. Установка для исследования ветрочувствительных систем насекомых. Сенсорные системы. 11 (2): 168—174.
- Первис Р. 1983. Микроэлектродные методы внутриклеточной регистрации и ионофореза. М.: Мир. 208 с.
- Рожкова Г. И. 1980. Дирекциональная чувствительность нейронов церкальной системы сверчка при различных положениях тела в гравитационном поле. Нейрофизиология. 12 (6): 604—611.
- Belton P. 1967. Trapping mosquitoes with sound. Proceedings of the California Mosquito Control Association. 35: 98.
- Daley D. L., Camhi J. M. 1988. Connectivity pattern of the cereal-to-giant interneuron system of the American cockroach. Journal of Neurophysiology. 60 (4): 1350—1367.
- Daw N. W. 1973. Neurophysiology of color vision. Physiological Reviews Published. 53 (3): 571—611.
- Ignell R., Dekker T., Ghaninia M., Hansson B. S. 2005. Neuronal architecture of the mosquito deutocerebrum. Journal of Comparative Neurology. 493: 207—240.
- Kämper G., Vedenina V. Yu. 1998. Frequency-intensity characteristics of cricket cereal interneurons: units with high-pass functions. Journal of Comparative Physiology. 182: 715—724.
- Lapshin D. N., Vorontsov D. D. 2013. Frequency tuning of individual auditory receptors in female mosquitoes (Diptera, Culicidae). Journal of Insect Physiology. 59 (8): 828—839.
- Roth L. M. 1948. A study of mosquito behavior: an experimental laboratory study of the sexual behavior of *Aedes aegypti* (Linnaeus). American Midland Naturalist. 40: 265—352.
- Svaetichin G., MacNichol E. F. 1958. Retinal mechanisms for chromatic and achromatic vision. Annals of the New York Academy of Sciences. 74: 385—404.

DIRECTIONAL AND FREQUENCY CHARACTERISTICS OF AUDITORY RECEPTORS IN MIDGES (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

D. N. Lapshin

Key words: Johnston organ, Chironomidae, midges, intraspecific communication, positive feedback, frequency characteristic, directional characteristic, auditory receptor.

SUMMARY

Individual characteristic frequencies and directional sensitivity of the Johnston organ auditory receptors were measured in midges (*Chironomus plumosus* L.). The method of positive feedback stimulation was used: responses of receptors recorded from their axons in antennal nerve using a glass microelectrode were amplified and fed to the stimulating loudspeaker. Provided that the amplitude and the phase of stimulating signal were properly adjusted the whole feedback loop fell into auto-excitation with frequency of oscillations being close to the characteristic frequency of a given receptor.

Three separate groups of receptors were found with average frequencies at 180, 221 and 264 Hz. These groups differ in their directional properties: low-frequency receptors are mostly sensitive dorsoventrally, while the directional maxima of mid- and high-frequency receptors are combined to provide equal sensitivity in the plane perpendicular to antenna flagellum.

Our data suggest that in Chironomidae a single Johnston organ together with antenna can provide spatial localization of conspecific sound and can also perform initial stages of frequency analysis.