

УДК 595.771; 591.498

**НИЗКОЧАСТОТНЫЕ ЗВУКИ ОТПУГИВАЮТ САМЦОВ КОМАРОВ
Aedes diantaeus N. D. K. (DIPTERA, CULICIDAE)**© Д. Н. Лапшин,¹ Д. Д. Воронцов²

¹ Институт проблем передачи информации им. А. А. Харкевича РАН
Б. Каретный переулок, 19, стр. 1, Москва, 127051, Россия
E-mail: lapshin@iitp.ru

² Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН
ул. Вавилова, 26, Москва, 119334, Россия
E-mail: colupaika@gmail.com
Поступила 10.01.2018

Впервые экспериментально показано, что тональные акустические сигналы с несущей частотой 140—200 Гц оказывают на самцов комаров сем. Culicidae репеллентное действие. Роящихся самцов *Aedes diantaeus* в естественных условиях привлекали к вспомогательному акустическому излучателю, имитировавшему звук полета конспецифических самок (несущая частота 280—320 Гц). С помощью второго излучателя образовавшееся скопление насекомых стимулировали тестовыми сигналами с варьируемыми амплитудой и частотой заполнения. В качестве критериев поведенческих реакций комаров на стимуляцию было принято направление их разлета относительно источника тестового стимула и изменение количества насекомых в контролируемом пространстве над вспомогательным привлекающим излучателем.

Выраженные реакции избегания роящихся комаров наблюдали в диапазоне несущих частот тестового стимула 140—200 Гц. Большинство особей в течение одной секунды после начала стимуляции покидало контролируемую область над вспомогательным излучателем. Основное направление их разлета — вверх, вбок и назад по отношению к направлению прихода акустических волн.

Можно предположить, что на основе анализа слуховой информации у комаров формируется защитное поведение при нападении хищных насекомых. Ограничение частотного диапазона реализации отрицательного фонотаксиса определяется в высокочастотной его части спектром звуков полета конспецифических самок, а со стороны низких частот — прогрессирующим ростом уровня атмосферных шумов.

Ключевые слова: Culicidae, *Aedes diantaeus*, комары, частотная настройка, акустическая стимуляция, репеллентность, отрицательный фонотаксис.

У большинства видов комаров сем. Culicidae встреча самцов и самок происходит в полете. Давно установлено, что в ближней зоне (несколько десятков сантиметров) самцов привлекает звук полета самки (Roth, 1948). После обнаружения характерного сигнала самцы, ориентируясь на направление прихода звуковых волн, резко ускоряют полет и устремляются к источнику сигнала. Согласно современным представлениям, слуховая система комаров обеспечивает встречу полов и, возможно, взаимную видовую идентификацию (Charlwood, Jones, 1979; Cator et al., 2009; Simões et al., 2016, 2017).

Приемниками звуковых колебаний у комаров являются перистые антенны, в основании которых находятся специализированные джонстоновы органы (ДО), содержащие несколько десятков тысяч высокочувствительных механорецепторов (Boo, Richards, 1975). Реакции самцов комаров на синтезированные акустические сигналы, по тем или иным параметрам близкие к звукам полета самок, неоднократно исследовали многие авторы (Roth, 1948; Wishart, Riordan, 1959; Апасов и др., 1986; Ikeshoji, 1986). В качестве учетного параметра, как правило, принимали число особей, прилетевших к акустическому излучателю во время стимуляции, либо попавших в специальные ловушки рядом с источником звука. Таким образом, при постановке экспериментов ставилась цель изучить степень привлекательности для комаров тех или иных сигналов. Однако при подобном подходе затруднительно зарегистрировать какие-либо иные формы реакций насекомых на акустическую стимуляцию. Ограниченность методик акустического тестирования стала особенно заметной, когда выяснилось, что слуховые интернейроны самцов *Culex pipiens pipiens* L. существенно различаются по своим частотным характеристикам (Лапшин, 2011). Такое разнообразие логично объяснить функциональными связями нейронов с рецепторами ДО, имевшими разную частотную настройку. В более поздней работе было показано, что слуховые рецепторы комаров действительно настроены на разные частоты (Lapshin, Vorontsov, 2017).

Первые экспериментальные данные о частотной обусловленности различных форм поведения комаров были получены при исследовании реакций на звук мелких роившихся хирономид *Cladotanytarsus* sp. (Diptera, Chironomidae). Акустические стимулы с несущей частотой 140—200 Гц вызывали у этих насекомых массовое движение в сторону от источника звука (отрицательный фонотаксис), но при частотах 280—320 Гц знак фонотаксиса менялся на противоположный (Адаев и др., 2016). Следует отметить, что у самцов Chironomidae, так же как у Culicidae, рецепторы ДО образуют несколько групп с разной частотной настройкой (Лапшин, 2013, 2015; Lapshin, Vorontsov, 2017). Это может означать, что у представителей обоих семейств есть необходимые физиологические механизмы, позволяющие реализовать частотный анализ акустических сигналов. Естественно было бы предположить, что сигналы с разным спектральным составом вызывают у этих насекомых разные формы поведенческих ответов (например, положительный и отрицательный фонотаксис). Однако в процессе проверки этой гипотезы на роях *Culex pipiens pipiens* L. не удалось пока получить убедительных результатов из-за сильной изменчивости направления и скорости полета насекомых в рое. В связи с возникшими методическими трудностями нами были выбраны иные объекты исследования и изменена схема эксперимента: роящихся на местности самцов *Aedes diantaeus* концентрировали в небольшом объеме пространства около вспомогательного источника звука, используя эффект положительного фонотаксиса. После формирования локального скопления комаров стимулировали акустическими тональными сигналами с варьлируемыми амплитудой и несущей частотой.

Нами была поставлена задача — определить частотную специфичность поведенческих реакций самцов комаров на звук. В предлагаемой работе приведены описание и результаты этих экспериментов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа выполнена на комарах *Aedes diantaeus* N. D. К. Самцы этого вида роятся под пологом леса около потенциального прокормителя, т. е. в области, где выше вероятность появления конспецифических самок (Тамарина, Александрова, 1977).

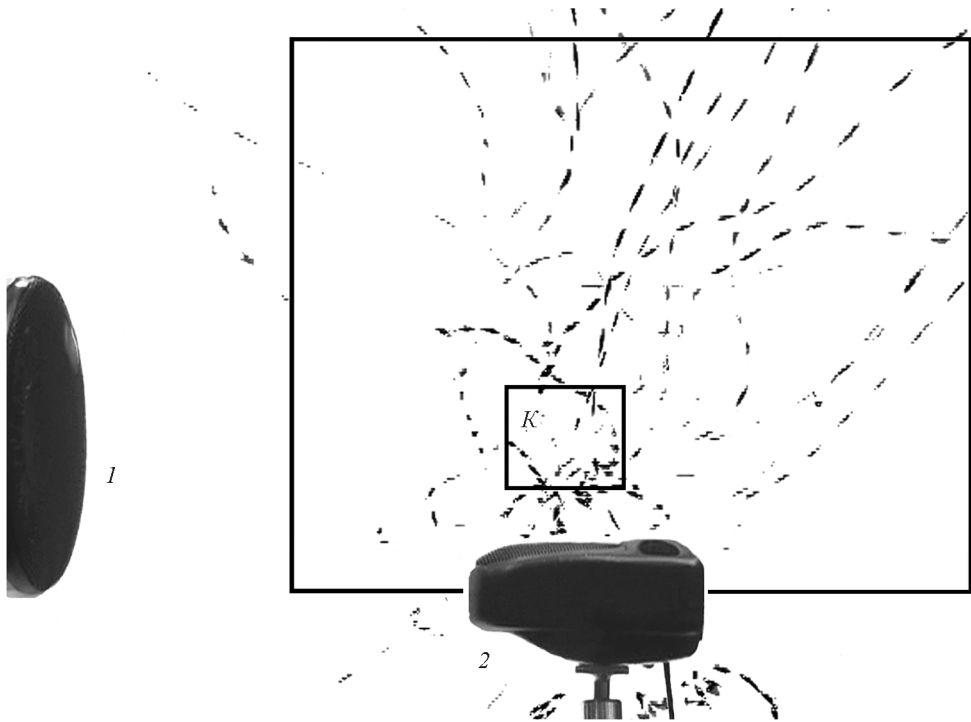


Рис. 1. Схема экспериментальной установки.

1 — излучатель тестовых стимулов, 2 — излучатель привлекающего стимула, *K* — область контроля акустического уровня стимулирующих сигналов. На схему в том же масштабе наложены границы области регистрации (большой прямоугольник) и примеры траекторий движения комаров в момент акустической стимуляции тональным сигналом с несущей частотой 160 Гц. Отдельные черточки — изображения летевших комаров на последовательности видеок кадров (период кадровой развертки 20 мс).

Эксперименты проводили в дневное время в смешанных елово-березовых лесах Подмосквья в окр. поселков Башкино (55.32° с. ш., 36.66° в. д.), Дачная (55.55° с. ш., 37.04° в. д.) и Покровка (56.23° с. ш., 36.84° в. д.). Места для экспериментов выбирали около болотистых лесных полян. Всего были проведены три однотипных серии опытов в период с 5 по 25 июня 2016 г. в сухую погоду при скорости ветра менее 2 м/с. Температура воздуха во время экспериментов составляла $14\text{--}21^\circ\text{C}$.

Стимуляцию роящихся насекомых осуществляли с помощью двух активных акустических излучателей, сконструированных в лаборатории на базе динамических головок MJ420 (Mistery, Китай) и 0.5ГДШ-1 (Россия).

Управляющие сигналы для обоих излучателей были синтезированы в цифровом виде при подготовке экспериментов с помощью программы Sound Forge 10 Pro (Sony, Япония). В качестве источника управляющих сигналов для излучателей применяли плеер iRiver S100 (Южная Корея).

Уровень стимулирующих сигналов контролировали в области пересечения осей излучателей (зона *K* на рис. 1). Акустическую калибровку осуществляли конденсаторным дифференциальным микрофоном NR-231-58-000 (Knowles Electronics, США). Микрофон предварительно был прокалиброван в условиях свободного акустического поля с помощью измерителя звукового давления В&К 2235 в комплекте с микрофоном В&К 4176 (Brüel & Kjær, Дания). Результаты измерений приведены к логарифмической шкале в единицах децибел. За 0 дБ принято среднеквадратичное значение уровня колебательной скорости воздуха (УКС) $4.85 \cdot 10^{-5}$ мм/с, которое в условиях сво-

бодного поля соответствует стандартному значению звукового давления $2 \cdot 10^{-5}$ Па.

Излучатель для привлечения самцов комаров располагали на высоте 30 см над землей и ориентировали акустической осью вверх. Генерируемый сигнал представлял собой непрерывный тон с частотой 280—320 Гц и амплитудой 63 дБ УКС. Конкретное значение частоты выбирали по критерию максимальной привлекательности стимула для самцов в месте проведения эксперимента.

Излучатель тестовых стимулов располагали горизонтально на высоте 35 см над поверхностью земли и на удалении 20 см от оси излучателя привлекающих стимулов (рис. 1). Длительность тестовых синусоидальных посылок составляла 1 с, длительность фронтов нарастания и спада амплитудной огибающей 100 мс. Амплитуду и частоту заполнения (несущую частоту) тестовых посылок варьировали в ходе эксперимента в пределах 100—260 Гц.

Для фиксации быстрых изменений в поведении комаров на фоне стимуляции использовали видеокамеру Panasonic NV-G5500 (Япония), установленную на расстоянии 70 см от излучателя привлекающего сигнала. Частота кадровой развертки видеозаписи 50 Гц. Для увеличения контраста изображений насекомых за установкой был установлен белый матерчатый экран.

В качестве критериев поведенческих реакций комаров на акустические стимулы приняты направление их разлета относительно вектора тестового стимула и снижение количества насекомых в контролируемом пространстве размером в проекции 28×22 см над привлекающим излучателем (рис. 1).

Подсчет комаров в области регистрации производили независимо двумя способами: 1) вручную в каждом пятом кадре при последовательном просмотре исходной видеозаписи и 2) автоматизированными алгоритмами (плагин SpotCounter) в среде Fiji (Schindelin et al., 2012). Для второго способа видеозапись предварительно подвергали обработке в программе VirtualDUB (версия 1.10.4, лицензия GNU) (инвертирование, контрастирование, удаление чересстрочности и кадрирование). Применение обоих методов дало сходные результаты. Для статистических оценок были использованы данные ручного подсчета.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При выключенных источниках звука самцы *A. diantaeus* совершали быстрый челночный полет на освещенных солнцем участках поблизости от места проведения экспериментов. В качестве привлекающего комаров фактора выступал человек, управлявший экспериментальной установкой.

После включения привлекающего акустического стимула наблюдалось увеличение концентрации самцов над поверхностью излучателя 2 (рис. 1). Среднее количество комаров, летавших в области регистрации, варьировало от опыта к опыту в пределах от 10 до 25 особей. Тестовый стимул подавали в период стабилизации такого локального скопления. Выраженные реакции избегания роящихся комаров на тестовые стимулы наблюдали в диапазоне несущих частот 140—200 Гц.

На начальном этапе стимуляции (0—0.4 с) роившиеся над излучателем комары еще не успевали покинуть область регистрации. Более того, к ним присоединялись особи, находившиеся до начала стимуляции за излучателем, перед ним или ниже. Это приводило к увеличению числа особей в области регистрации на интервале 0.2—0.5 с после начала действия стимула (рис. 2, а; рис. 3: 6, 10 и 14-я секунды). Затем, вследствие радиального разлета комаров, их учетное количество начинало быстро снижаться. Этот про-

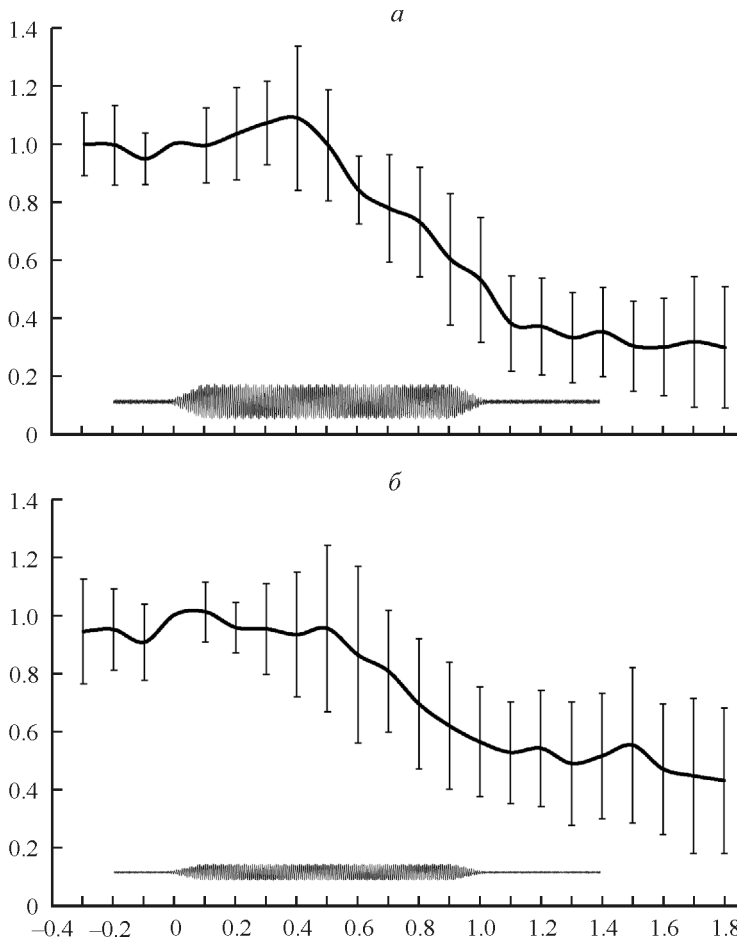


Рис. 2. Относительное изменение количества самцов комаров в зоне действия тестового стимула с несущей частотой 160 Гц.

a — амплитуда 69 дБ УКС, *б* — амплитуда 61 дБ УКС. Осциллограмма тональной стимулирующей посылки длительностью 1 с показана в нижней части рисунка. На графиках указаны доверительные интервалы ($N = 8$ для каждого графика). По горизонтальной оси — время, с; по вертикальной оси — относительное изменение количества комаров n/n_0 (n_0 — количество особей в области регистрации на момент начала тональной стимулирующей посылки).

цесс продолжался еще некоторое время после окончания действия стимула. Несколько особей (обычно 3 или 4), как правило, оставались в области регистрации.

Основное направление разлета комаров — вверх, вбок и назад относительно источника тестовых стимулов (рис. 1). Подобные реакции мы многократно ($N = 38$) наблюдали во всех без исключения наших опытах в диапазоне несущих частот 140—200 Гц. Достоверность явления по критерию биномиального распределения $p > 0.999$ (Лакин, 1990). После выключения тестовой стимуляции самцы в течение нескольких секунд не возвращались к привлекающему источнику, иногда этот эффект растягивался до минуты и более. В таких случаях для возобновления работы необходимо было на несколько минут выключать звук от обоих излучателей. Только после перерыва самцы начинали повторно скапливаться около источника привлекающего сигнала.

Измерение поведенческих частотно-пороговых характеристик не проводили по причине неопределенности, возникавшей из-за дополнительного

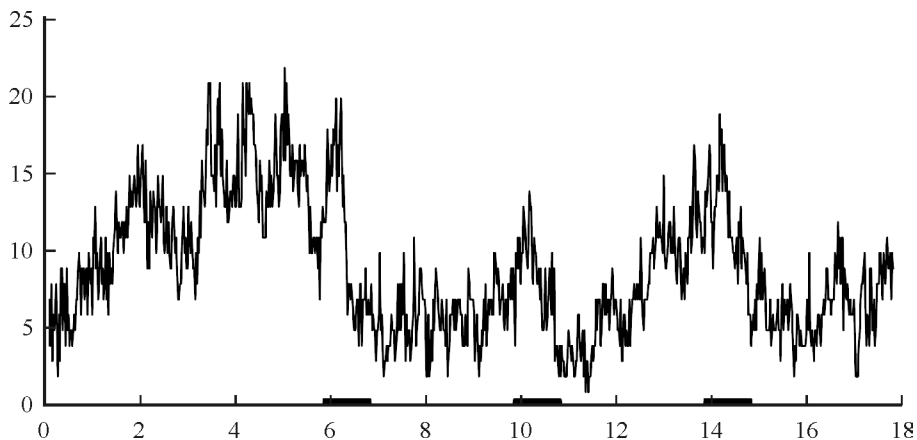


Рис. 3. Результат анализа видеозаписи, показывающей активность самцов комаров в процессе трехкратной стимуляции тестовыми стимулами с несущей частотой 160 Гц и амплитудой 67 дБ УКС.

По горизонтальной оси — время, с; по вертикальной оси — число комаров в области регистрации. Анализ произведен автоматически в среде Fiji. Три темными прямоугольниками над горизонтальной осью обозначены интервалы стимуляции длительностью 1 с каждый.

влияния постоянно звучавшего привлекающего сигнала. Однако при уменьшении амплитуды тестового стимула на 10 дБ (до уровня 61 дБ УКС) характер реакций комаров принципиально не изменялся (ср. рис. 2, а и 2, б). Минимальная амплитуда тестового стимула, при котором еще были заметны реакции комаров, составляла 57 дБ УКС. При более низких уровнях в диапазоне несущих частот ниже 200 Гц самцы переставали реагировать на тестовую стимуляцию.

В качестве альтернативной гипотезы можно было бы предположить, что наблюдавшиеся реакции комаров возникали вследствие испуга насекомых при действии субъективно громких звуков. Однако независимость характера поведенческих реакций комаров от амплитуды акустической стимуляции вплоть до пороговых значений указывает на истинную репеллентность тестовых стимулов.

В области 80—130 Гц реакции комаров становились менее выраженными, ниже 70 Гц поведенческие ответы не наблюдались.

При увеличении несущей частоты выше 200 Гц репеллентность тестовых стимулов снижалась. На частотах 220—260 Гц часть самцов из скопления над излучателем привлекающего стимула перелетала к источнику тестовых сигналов, в то время как другие особи по-прежнему стремились улететь из зоны действия звука. В целом поведение комаров на этих частотах можно охарактеризовать как результат конкурентного влияния двух привлекающих акустических источников.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно современным представлениям, акустическое поведение комаров включает две формы реакций: положительный фонотаксис, выраженность которого снижается при отклонении несущей частоты стимула от области 320—360 Гц в сторону больших или меньших значений (Апасов и др., 1986), и взаимная подстройка индивидуальных частот взмахов крыльями в пропорции 3 : 2 на конечных этапах сближения самца и самки (Cator et al., 2009).

Как показали наши эксперименты, сигналы с несущими частотами 140—200 Гц оказывают на комаров *A. diantaeus* репеллентное действие. Аналогичные результаты были получены ранее при акустической стимуляции роев мелких хирономид *Cladotanytarsus* sp. Такое сходство в поведении насекомых, относящихся к разным семействам, показывает, что в основе репеллентности низкочастотных звуков лежат причины, напрямую не связанные с видовой принадлежностью.

Самцы обоих видов (*Cladotanytarsus* sp. и *Aedes diantaeus*) роятся в светлое время суток. Опасными хищниками для них могут быть мелкие ктыри (Diptera, Asilidae), мокрецы (Diptera, Ceratopogonidae) (Downes, 1978) или стрекозы (Odonata), которые также активны днем. Комары, роящиеся в сумерках, в дневное время кормятся нектаром (Van Handel, 1984; Smith, Gadawski, 1994), поэтому вероятность нападения на них хищных насекомых также велика.

Наиболее простым маневром жертвы, снижающим вероятность ее гибели, является движение перпендикулярно направлению прихода пугающего звука, позволяющее быстро улететь с предполагаемой траектории полета хищника. Реакции разлета самцов веером из области акустической стимуляции, которые мы наблюдали в наших экспериментах, вполне соответствуют такой стратегии.

Диапазон реализации отрицательного фонотаксиса у комаров со стороны высоких частот ограничен, скорее всего, спектром звуков полета конспецифичных самок. В низкочастотной области (ниже 140 Гц) основным лимитирующим фактором становятся атмосферные шумы (Кажан и др., 2015).

У самцов Culicidae как минимум три группы рецепторов имеют максимальную чувствительность в диапазоне 140—200 Гц (Lapshin, Vorontsov, 2017), т. е. слуховая система этих насекомых потенциально способна проводить спектральный анализ сигналов. Наличие развитой рецепторной системы указывает на биологическую значимость акустического восприятия в этом диапазоне. Можно предположить, что слух у самцов Culicidae и Chironomidae обеспечивает не только репродуктивную функцию, но и защитное поведение при нападении хищников.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать три основных вывода.

1. Тональные звуки с несущей частотой 140—200 Гц оказывают на самцов комаров *Aedes diantaeus* репеллентное действие.
2. При изменении несущей частоты от 200 до 260 Гц растет вероятность направленного движения самцов в сторону источника звука.
3. Частотная обусловленность поведенческих реакций *A. diantaeus* указывает на способность этих насекомых к спектральному анализу акустических сигналов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Адаев М. Б., Гринченко В. Д., Груздев Г. А., Лапшин Д. Н. 2016. Исследование реакций роящихся хирономид *Cladotanytarsus* (Chironomidae, Diptera) на акустические стимулы. Бюллетень МОИП. 121 (5): 26—32.
- Апасов С. Г., Жантиев Р. Д., Тамарина Н. А., Федорова М. В. 1986. Акустическая ориентация самцов *Aedes diantaeus* при спаривании. Паразитология. 20 (5): 351—355.
- Кажан В. Г., Мошков П. А., Самохин В. Ф. 2015. Природный фон при проведении акустических испытаний самолетов на аэродроме базирования малой авиации. Наука и образование. МГТУ им. Н. Э. Баумана. 7: 146—170.
- Лакин Г. Ф. 1990. Биометрия. М.: Высшая школа. 352 с.
- Лапшин Д. Н. 2011. Частотные характеристики слуховых интернейронов самцов комаров *Culex pipiens pipiens* L. (Diptera, Culicidae). Доклады Академии наук. 439 (2): 279—282.

- Лапшин Д. Н. 2013. Частотные характеристики слуховых рецепторов комаров-звонцов (Diptera, Chironomidae). Сенсорные системы. 27 (1): 35—46.
- Лапшин Д. Н. 2015. Пространственная и частотная избирательность слуховых рецепторов комаров-звонцов (Diptera, Chironomidae). Энтомологическое обозрение. 94 (4): 761—776.
- Тамарина Н. А., Александрова К. В. 1977. Наблюдения за *Aedes diantaeus* в природе и опыт культивирования в лаборатории. Медицинская паразитология. 1: 19—23.
- Boo K. S., Richards A. G. 1975. Fine structure of the scolopidia in the Johnston's organ of male *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). International Journal of Insect Morphology and Embryology. 4: 549—566.
- Cator L. J., Arthur B. J., Harrington L. C., Hoy R. R. 2009. Harmonic convergence in the love songs of the dengue vector mosquito. Science. 323: 1077—1079.
- Charlwood J. D., Jones M. D. R. 1979. Mating behaviour in the mosquito, *Anopheles gambiae* s. l. I. Close range and contact behaviour. Physiological Entomology. 4: 111—120.
- Downes J. A. 1978. Feeding and mating in the insectivorous Ceratopogoninae (Diptera). The Memoirs of the Entomological Society of Canada. 110 (S104): 1—62.
- Ikeshoji T. 1986. Distribution of the mosquitoes, *Culex tritaeniorhynchus* in relation to disposition of sound traps in a paddy field. Japanese Journal of Sanitary Zoology. 37: 153—159.
- Lapshin D. N., Vorontsov D. D. 2017. Frequency organization of the Johnston organ in male mosquitoes (Diptera, Culicidae). Journal of Experimental Biology. 220: 3927—3938.
- Roth L. M. 1948. A study of mosquito behavior. An experimental study of the sexual behavior of *Aedes aegypti* (Linnaeus). The American Midland Naturalist. 40: 265—352.
- Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., Preibisch S., Rueden C., Saalfeld S., Schmid B., Tinevez J. Y., White D. J., Hartenstein V., Eliceiri K., Tomancak P., Cardona A. 2012. «Fiji: an open-source platform for biological-image analysis». Nature Methods. 9 (7): 676—682.
- Simões P. M. V., Ingham R. A., Gibson G., Russell I. J. 2016. A role for acoustic distortion in novel rapid frequency modulation behaviour in free-flying male mosquitoes. Journal of Experimental Biology. 219: 2039—2047.
- Simões P. M., Gibson G., Russell I. J. 2017. Pre-copula acoustic behaviour of males in the malarial mosquitoes *Anopheles coluzzii* and *Anopheles gambiae* s. s. does not contribute to reproductive isolation. Journal of Experimental Biology. 220: 379—385.
- Smith S. M., Gadawski R. M. 1994. Nectar feeding by the early-spring mosquito *Aedes provocans*. Medical and Veterinary Entomology. 8 (3): 201—213.
- Van Handel E. 1984. Metabolism of nutrients in the adult mosquito. Mosquito News. 44: 573—579.
- Wishart G., Riordan D. F. 1959. Flight responses to various sounds by adult males of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). The Canadian Entomologist. 91: 181—191.

LOW-FREQUENCY SOUNDS REPEL MALE MOSQUITOES
AEDES DIANTAEUS N. D. K. (DIPTERA, CULICIDAE)

D. N. Lapshin, D. D. Vorontsov

Key words: Culicidae, *Aedes diantaeus*, mosquitoes, frequency tuning, acoustic stimulation, repellent effect, negative phonotaxis.

SUMMARY

We experimentally demonstrate that tonal acoustic signals with a carrier frequency of 140—200 Hz exert a repellent effect on male mosquitoes (Culicidae). The swarming males of *Aedes diantaeus* were concentrated in a small volume of space near the auxiliary attracting sound source which simulated the flight sound of the conspecific females (carrier frequency 280—320 Hz). Then, from a second loudspeaker, the resulting cluster of attracted mosquitoes was stimulated with test signals of a variable amplitude and carrier frequency. The direction of mosquito flight from the source of test sounds as well as the decrease in their number above the attracting sound source were accepted as the criteria of behavioural response.

Pronounced avoidance responses (negative phonotaxis) of swarming mosquitoes were observed in the range of 140—200 Hz. Most of the mosquitoes left the area above the attracting sound source during one second from the onset of test signal. Mosquitoes mostly flew up, sideways and backwards in relation to the source of the test signal acoustic waves.

We presume that mosquitoes develop defensive behaviour against attacking predatory insects based on the analysis of auditory information. The range of negative phonotaxis is limited, at higher frequencies, by the spectrum of conspecific females' flight sounds, and, in the low frequency range, by the progressive increase of the atmospheric noises level.