

УДК 612.014.421

**УСТАНОВКА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ
ВЕТРОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ НАСЕКОМЫХ**

© 1997 г. Д.Н. ЛАПШИН, Г.И. РОЖКОВА

*Институт проблем передачи информации РАН
127994, Москва, Б. Каретный пер., 19*

Поступила в редакцию 10.02.97 г.

Описана установка для стимуляции ветрочувствительных систем насекомых, позволяющая наглядно оценивать действующий фактор сигнала (смещение воздушных частиц, их скорость, ускорение и т.д.), измерять пороги по скорости и латентные периоды реакций.

Ключевые слова: насекомые, зеркальная система.

Введение

В практике изучения ветрочувствительных систем насекомых (например, зеркальной системы) наибольшее распространение получили стимулы, представляющие собой тональные послышки с плавными фронтами подъема и спада огибающей амплитуды. Использование тестирующих сигналов такого типа позволяет наиболее прямым способом оценить частотные свойства исследуемых структур. Кроме того, электронная аппаратура для формирования синусоидальных посылок сравнительно проста по устройству, что также способствовало широкому распространению соответствующих методик. Однако такая система стимуляции имеет и ряд недостатков.

Во-первых, по результатам экспериментов трудно определить действующий параметр стимула (смещение воздушной массы, скорость потока воздуха, ускорение и т.д.). Обычно такие оценки производят на основе анализа крутизны ветвей частотно-пороговых характеристик. Но так как форма аудиограмм, как правило, определяется свойствами нескольких элементов одновременно (для зеркальной системы - чувствительными волосками, прилежащими структурами, временными характеристиками рецепторов и интернейронов) [4, 5], то оценка действующего параметра стимула может быть только предположительной.

Во-вторых, нет стабильного соответствия между электрическими сигналами, возбуждающими динамик, и реальными стимулами из-за фазовых искажений динамика. Как правило, в иллюстративном материале работ, посвященных изучению ветрочувствительных систем, авторы приводят осциллограммы электрических сигналов, управлявших работой динамиков. Обычно действующие стимулы существенно отличаются по форме от управляющих сигналов уже тем, что пропорциональны первой или второй производной функции смещения (т.е. скорости или ускорению) диффузора динамика. Само это смещение также имеет фазовый сдвиг относительно питающего тока, который изменяется при разных частотах заполнения акустической послышки в пределах от 0 до π . Все эти фазовые сдвиги в совокупности резко затрудняют определение величины латентного периода ответа исследуемого нейрона.

В-третьих, амплитудная калибровка ветрового стимула - достаточно сложная процедура, успешно решаемая на данное время только с помощью лазерного анемометра [3].

В-четвертых, многие нейроны, принадлежащие зеркальной системе, на низких частотах генерируют пачки импульсов синхронно с синусоидальным сигналом [1], т.е. количество спайков в ответе зависит от частоты заполнения стимула. При околопороговых интенсивностях вероятность появления разрядов исследуемого нейрона увеличивается пропорционально частоте, что осложняет процесс определения порогов.

Из сказанного ясно, что традиционную методику тестирования желательно совершенствовать и дополнять, используя, в частности, современные компьютеризированные генераторы, позволяющие формировать электрические сигналы практически любой формы. В данной работе описан вариант системы, которая, в принципе, обеспечивает возможность определять действующий фактор ветрового стимула.

Основной принцип системы стимуляции

В качестве источника ветрового стимула использована синхронно работающая пара динамиков. Форма управляющего электрического сигнала выбрана таким образом, чтобы амплитудные и временные характеристики смещения, скорости и ускорения потока воздуха радикально различались.

Конструкция стимулирующей установки

Схема стимулирующей установки аналогична предложенной ранее [2]. Акустическая камера состоит из двух симметричных частей, каждая из которых в свою очередь представляет собой трубу из прозрачного пластика с внутренним диаметром 120 мм и длиной 45 мм (рис. 1). Динамики WS 13 BF (1045) фирмы "Visaton" установлены в торцевых частях труб навстречу друг другу и электрически соединены параллельно и противофазно. Основные параметры использованных динамиков: частота первого резонанса диффузора $F_0 = 40$ Гц; добротность колебательной системы $Q = 0,5-0,6$; длина рабочего хода диффузора 6 мм; пиковая мощность 60 Вт; электрическое сопротивление по постоянному току 6 Ом. Одна половина акустической камеры укреплена на кронштейне, вторая присоединяется к первой в ходе опыта после помещения в центр камеры столика с насекомым. Микроэлектрод подводится к препарату сверху через специальное отверстие.

Поскольку подавляющее большинство ветровых рецепторов обладают чувствительностью к направлению сигнала, было целесообразно обеспечить возможность изменения в ходе опытов взаимной ориентации препарата и источника стимула. По этой причине была предусмотрена возможность поворота всей камеры.

С целью уменьшения электрических наводок на микроэлектрод и препарат перед динамиками установлены сетчатые металлические экраны. Сеткам придана вогнутая форма для предотвращения возможного дребзга ее элементов в процессе стимуляции.

На низких частотах, когда длина акустической волны намного больше расстояния между диффузорами, скорость воздуха внутри отрегулированной камеры практически равна скорости движения диффузоров. Чем лучше соблюдается симметричность акустических параметров динамиков, тем выше точность функционального соответствия скорости воздуха и электрического тока, питающего динамики. Неизбежный разброс параметров динамиков приводит к увеличению уровня переменного звукового давления внутри трубы. Это давление легко можно обнаружить микрофоном, введенным через верхнее отверстие в стенке камеры (вместо микроэлектрода) перпендикулярно ее продольной оси.

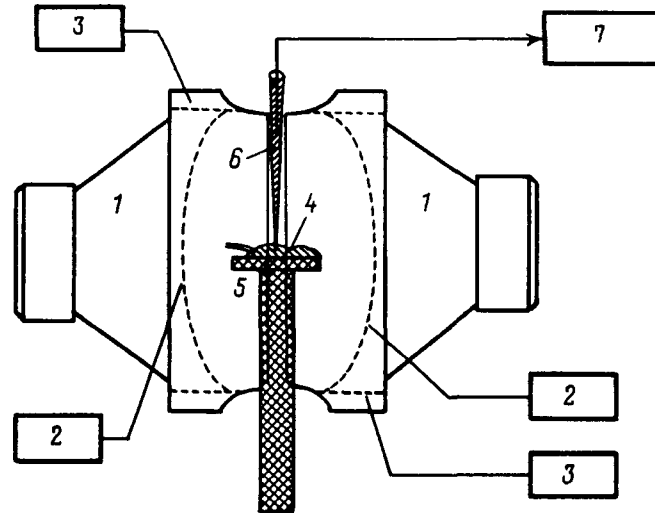


Рис. 1. Схема экспериментальной установки.

1 — динамик, 2 - экранирующая сетка, 3 - пластмассовая труба, 4 — подопытное насекомое, 5 - столик, 6 - электрод, 7 - усилитель

Формирование управляющего сигнала осуществлено с помощью электронной системы "Эксперт" в составе компьютера IBM PC-486. Частота дискретизации 20 кГц. Электрический сигнал с выхода ЦАП системы после фильтрации (ФНЧ с частотой среза 1 кГц) поступает на усилитель мощности и далее на динамики.

Общее описание стимула

Сигнал, управляющий работой динамиков, представляет собой композицию из трех последовательных фрагментов параболических функций:

$$\begin{aligned}
 U(t) &= kt^2 & 0 < t < T_0, & \\
 U(t) &= U_m - k(t - 2T_0)^2 & T_0 \leq t < 3T_0, & \\
 U(t) &= k(t - 4T_0)^2 & 3T_0 \leq t < 4T_0, & \\
 U(t) &= 0 & t \geq 4T_0, &
 \end{aligned}
 \tag{1}$$

где $U_m = 2,5$ В (максимальное напряжение), $T_0 = 0,125$ с;

$$k = U_m / 2T_0^2 = 80 \text{ (В/с}^2\text{)}.$$

Компоненты управляющего сигнала подобраны таким образом, чтобы для него самого и его первой производной выполнялось условие плавности результирующей функции (т.е. без разрывов и резких скачков) на протяжении всего времени действия. Суммарная длительность сигнала $4T_0 = 0,5$ с. Для сравнения, период собственных колебаний диффузоров динамиков равен $1/F_0 = 0,025$ с, т.е. в 20 раз меньше. Известно, что резонансная система (диффузор совместно с элементами подвески представляет собой резонансную систему) следует за медленным вынуждающим воздействием с некоторым запаздыванием. Компьютерные расчеты, выполненные методом Дюамеля с учетом параметров динамиков, дают время задержки отклика порядка $\tau = 4$ мс. Эта величина мала по сравнению с длительностью управляющего сигнала и в первом приближении можно считать, что функция отклонения диффузоров от положения равновесия $S(t)$ пропорциональна $U(t - \tau)$ (рис. 2, график "S"):

$$S(t) = gU(t - \tau) \text{ при } t > \tau. \tag{2}$$

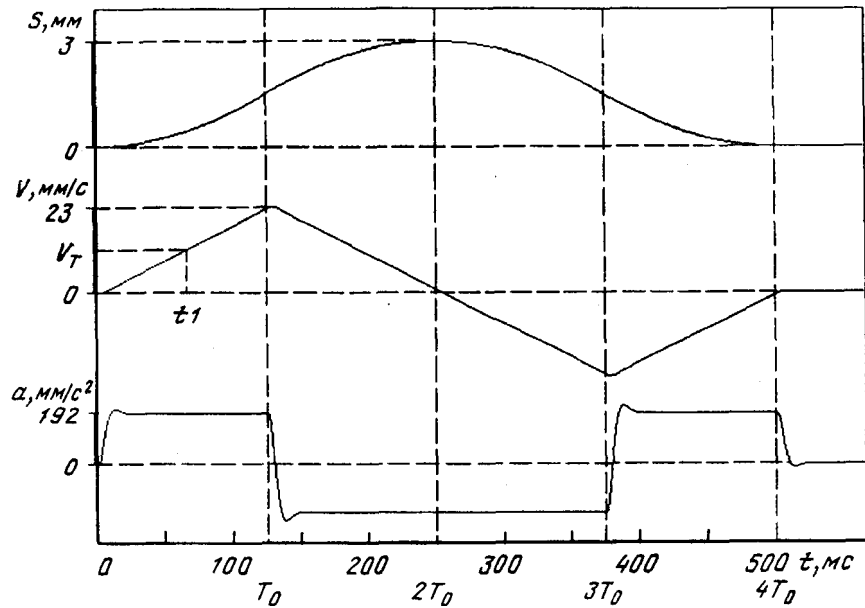


Рис. 2. Графики функций смещения $S(t)$ диффузора динамика "S", его скорости $V(t)$ "V" и ускорения $a(t)$ "a". По горизонтальной оси - время с момента подачи на динамик управляющего напряжения. Расчеты проведены при $Q = 0,6$.

Функция смещения определяется также статической передаточной характеристикой динамиков g (мм/В), которую легко измерить в лабораторных условиях, так как она численно равна линейному смещению диффузора при подаче на вход динамика постоянного напряжения 1 В. Для использованных в установке динамиков $g = 1,2$ мм/В.

$$S_m = gU_m = 3 \text{ (мм)}, \quad (3)$$

где S_m - амплитуда максимального смещения. Эта величина не должна превышать половины длины рабочего хода диффузора динамика.

Как уже было сказано, скорость потока воздуха на низких частотах фактически равна скорости диффузоров, т.е. первой производной функции их смещения:

$$V(t) = dS(t) / dt.$$

Скорость возрастает на интервале $\tau < t < T_0$ по линейному закону, на интервале $T_0 + 3\tau < t < 3T_0$ убывает также линейно, становясь отрицательной после момента $2T_0 + \tau$, а на интервале $3T_0 + \tau < t < 4T_0 + 3\tau$ возвращается к нулю (рис. 2, график "V"). Максимальную скорость V_m диффузоры развивают вблизи точек перегиба функции $S(t)$ (моменты $T_0 + \tau$ и $3T_0 + 3\tau$ с учетом запаздывания):

$$V_m = 0,965S_m / T_0 = 0,965gU_m / T_0 = 23 \text{ (мм/с)}. \quad (4)$$

Из формул (3) и (4) следует, что калибровка стимула сводится к определению с нужной степенью точности либо значения g , либо S_m . Задача измерения линейного смещения твердых предметов, каким является диффузор динамика, технически несравненно проще измерения скорости воздуха в малых объемах. Временные параметры сигналов определяются работой ЦАП, стабильность которого очень высока, поэтому влиянием погрешности величин t и T_0 на выходной сигнал мы пренебрегаем.

Для определения ускорения диффузоров следует продифференцировать функцию скорости:

$$a(t) = dV(t) / dt$$

Так как в нашем случае скорость меняется большую часть времени линейно, то график ускорения представляет собой ступенчатую функцию с переходами между уровнями, определяемыми инерционностью подвижной системы динамиков (рис. 2, график "а"). Величина ускорения (высота ступени) рассчитывается по формуле

$$a_m = S_m / T_0^2 = gU_m / T_0^2 = 192 \text{ (мм/с}^2\text{)}. \quad (5)$$

График имеет четыре участка перепада уровней в окрестностях моментов 0 , T_0 , $3T_0$ и $4T_0$, причем после точек T_0 и $3T_0$ амплитуда скачков равна $2a_m$. Расчетная длительность переходных процессов примерно равна 3τ (12 мс). Соотношение между величинами S_m и a_m выполняется строго, т.е. точность определения максимального ускорения зависит только от погрешности измерения S_m . Собственная частота F_0 и добротность Q подвижной системы динамика не оказывает влияния на амплитуду ускорения a_m на стационарных интервалах.

Таким образом, функция смещения частиц воздуха около препарата $S(t)$ не имеет точек инверсии знака, функция скорости $V(t)$ имеет одну точку ($2T_0 + \tau$), а функция ускорения $a(t)$ - две ($T_0 + 2\tau$, $3T_0 + 2\tau$), причем моменты инверсии знака скорости и ускорения не совпадают.

Направление векторов смещения, скорости и ускорения на интервале $0 - T_0$ принято положительным при движении частиц воздуха от головы насекомого к его церкам.

Естественно, выбор величины U_m и, следовательно, S_m , V_m , и a_m определяется конкретными задачами эксперимента на основании предварительных данных о свойствах исследуемых нейронов и с учетом ограничений, связанных с линейностью динамиков.

Выбор типа динамиков для стимулирующей камеры

На основе приведенных формул (3) - (5) можно сформулировать общие соображения относительно выбора типа динамиков для установки. Как показали расчеты, задержка механического отклика диффузора относительно управляющего сигнала определяется в первую очередь частотой собственного резонанса (F_0). Приближенно можно считать, что время переходных процессов равно половине периода собственных колебаний динамика ($3\tau = 0,5 / F_0$). Таким образом, для уменьшения временных искажений следует выбирать динамики с наибольшей частотой собственного резонанса. Однако при данной паспортной мощности динамик с большей резонансной частотой, как правило, имеет меньший запас рабочего хода диффузора, в результате чего расчетная амплитуда смещения S_m может выйти за пределы диапазона линейности. Длина рабочего хода диффузора ограничивает также максимальную скорость воздушного потока, особенно для медленных процессов (не только для описанных в данной работе сигналов, но и для тональных посылок в диапазоне частот заполнения ниже F_0). Допустимый размах колебаний диффузора в среднем растет с увеличением паспортной мощности динамика и, следовательно, его размеров. В данной работе были выбраны динамики, имевшие максимальную длину рабочего хода диффузора при приемлемых внешних габаритах.

Методика исследования нейронов

Предположим, что исследуемый элемент (к примеру, рецептор или интернейрон церкальной системы насекомого) является датчиком скорости воздуха. На первом участке ($0 - T_0$) скоростного стимула $V(t)$ следует ожидать появления реакции после того момента, когда скорость воздушного потока станет больше физиологического порога нейрона.

На самом деле из-за латентности ответ будет наблюдаться несколько позже - в момент t_1 (рис. 2) от начала действия управляющего сигнала. Пороговый уровень скорости V_T связан со временем t_1 следующим соотношением:

$$V_T = 1,04 V_m (t_1 - \tau - l) / T_0, \quad (6)$$

где l - латентный период ответа нейрона.

Определить величину l можно двумя способами: а) стимулируя нейрон короткими щелчками с околопороговой амплитудой и б) измеряя t_1 и t_2 при двух максимальных скоростях V_{m1} и V_{m2} , различающихся в 1,5-2 раза. Величина t_2 имеет тот же смысл, что и t_1 в уравнении (6). В случае "б", на основе полученных данных, легко вычислить латентный период ответа нейрона и порог его чувствительности, используя систему двух уравнений с двумя неизвестными:

$$\begin{aligned} V_T &= 1,04 V_{m1} (t_1 - \tau - l) / T_0, \\ V_T &= 1,04 V_{m2} (t_2 - \tau - l) / T_0. \end{aligned} \quad (7)$$

Если исследуемый нейрон отвечает на стимул тонически, то мгновенная частота спайков на уровнях выше порога в целом будет соответствовать его амплитудной характеристике. Исследование характера ответов на участке уменьшения скорости ($T_0 - 2T_0$) позволит также оценить симметрию характеристик исследуемого нейрона. За полное время предъявления стимула происходит инверсия направления скорости потока воздуха (в момент $2T_0 + \tau$). Анализируя распределение спайков в ответах при положительных и отрицательных скоростях, можно получить сразу две точки на диаграмме дирекциональной чувствительности.

Все эти соотношения справедливы только в тех случаях, когда для исследуемого нейрона действующий параметр стимула - скорость воздушного потока. Обычно это заранее не известно, поэтому необходим предварительный анализ распределения спайков на фоне стимула и в течение некоторого времени после его окончания. Если исследуемый элемент чувствителен к ускорению потока воздуха, то рисунок паттерна его разряда будет претерпевать наиболее существенные изменения непосредственно после моментов 0 , T_0 , $3T_0$ и $4T_0$, когда действующий параметр испытывает резкие скачки уровня, в том числе, с инверсией знака. Совместное действие на нейрон двух факторов - скорости и ускорения - приведет к усложнению рисунка паттерна. В этом случае может помочь сравнительный анализ ответов на участках, когда векторы скорости и ускорения действуют в противофазе ($T_0 - 2T_0$; $3T_0 - 4T_0$) и на участках с однонаправленным положением векторов ($0 - T_0$ и $2T_0 - 3T_0$).

При анализе действующего фактора может возникнуть неоднозначность в тех случаях, когда реакции исследуемой клетки по времени приурочены к интервалу $0 - T_0$, т.е. к первой четверти стимула. На этом участке все три функции - смещение, скорость и ускорение - положительные и возрастающие. Один из способов решения этой проблемы - повтор эксперимента с разворотом стимулирующей трубы на 180° относительно ее первоначального положения.

В заключение следует отметить, что предложенный в данной работе тип стимула является лишь частным случаем несинусоидальных воздействий. Например, если исследуемый нейрон чувствителен к ускорению, вполне логично применить управляющий сигнал такой формы, при котором бы график функции ускорения $a(t)$ был сходен с графиком скорости $V(t)$ в данной работе. Нетрудно определить, что управляющий сигнал в этом случае будет представлять собой последовательную комбинацию кубических парабол, но без возврата к нулю в конце времени стимуляции.

Авторы выражают благодарность В. Шуле и Г. Кемперу за содействие в реализации экспериментальной установки и А.К. Панютину за разработку компьютерных программ и техническую помощь. Работа выполнена при поддержке международного научного фонда "Volkswagen- Stiftung", код проекта: Az. I/69911.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рожкова Г.И. Нейрофизиология церкальной системы насекомых. М.: Наука, 1993. 176 с.
2. Kanou M., Shimozawa T. A threshold analysis of cricket cercal interneurons by an alternating air-current stimulus // J. Comp. Physiol. 1984. V. 154. № 3. P. 357-365.
3. Ruckaiier C. Kurze Einführung in die Technik der Laser Doppler Anemometer // Archiv für technischen Messen. 1975. Blatt V 1246-4. S. 93-96.
4. Shimozawa T., Kanou M. Varieties of filiform hairs: Range fractionation by sensory afferents and cercal interneurons of a cricket // J. Comp. Physiol. 1984. V. 155. № 4. P. 485-493.
5. Shimozawa T., Kanou M. The aerodynamics and sensory physiology of range fractionation in the cercal filiform sensilla of the cricket *Gryllus bimaculatus* II J. Comp. Physiol. 1984. V. 155. № 4. P. 495-505.
6. Tautz J. Reception of particle oscillation in a medium - an unorthodox sensory capacity // Naturwissenschaften. 1979. Bd. 66. № 9. S. 452 - 461.

EXPERIMENTAL SETUP FOR STUDYING WINDSENSITIVE SYSTEMS OF INSECTS

D.N. LAPSHIN, G.I. ROZHKOVA

*Institute of Information Transmission RAS
127994 Moscow, Bolshoy Karetniy per. 19*

The stimulation setup for windsensitive systems of insects has been elaborated which allows to determine the driving force (displacement, velocity, acceleration) activating receptors and central neurons as well as to measure treshold velocities and response latencies.

Key words: insects, cercal system.