

*На правах рукописи*



**ЖЕМЧУЖНИКОВ**  
Михаил Константинович

**ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСА ДИСТАНТНЫХ  
МЕХАНОРЕЦЕПТОРНЫХ СИСТЕМ СВЕРЧКОВ  
НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА**

**03.03.01 – физиология**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Санкт-Петербург**  
**2012**

Диссертационная работа выполнена в лаборатории сравнительной физиологии сенсорных систем Учреждения Российской Академии Наук Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН.

Научный руководитель: кандидат биологических наук, доцент  
**Князев Александр Николаевич**

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор  
**Лопатина Нина Георгиевна**

доктор биологических наук, профессор  
**Даринский Юрий Анатольевич**

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный Университет»

Защита диссертации состоится «14» февраля 2012 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 002.127.01 при Учреждении Российской академии наук Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН по адресу: 194223, г. Санкт-Петербург, проспект М. Тореза, 44.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения Российской академии наук Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 20 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор биологических наук, профессор



М.Н. Маслова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Представители семейства *Gryllidae*, или Настоящие сверчки, давно стали «классической моделью» при изучении сложных форм поведения и механизмов их реализации (Alexander, 1961; Huber, 1962; Попов, 1975; Князев, 2000, 2010), в том числе биокоммуникации (Alexander, 1962; Busnel, 1963; Sebeok, 1977; Elsner, Popov, 1978; Жантиев, 1981; Попов, 1985). Поющие сверчки, как животные с ярко выраженным акустическим компонентом биокоммуникации, форму проявления которого в лабораторных условиях можно предсказать с высокой долей вероятности, являются перспективным объектом для данных исследований. В частности, представляет интерес изучение различных компонентов дистантного механорецепторного комплекса сверчков этологическими методами (Князев, 1986; Князев и др., 1999).

У сверчков сем. *Gryllidae* восприятие механических возмущений среды, в том числе и звуковых, обеспечивается механорецепторными системами органов, важнейшими из которых являются тимпанальная, церкальная, подколенная и, по-видимому, джонстонова (Жантиев, 1981). По данным электрофизиологических исследований, все системы совокупно охватывают широкий частотный диапазон от 0,1 до 100 кГц (Попов, 1985). Набор дистантных механорецепторных систем информационно обеспечивает сложное поведение сверчков, связанное в первую очередь с внутривидовой акустической коммуникацией и избеганием хищников (Жантиев, 1981; Попов, 1985). Относительно простым и удобным для наблюдения проявлений реакции на звуковую стимуляцию является двигательная активность животного. В электрофизиологических экспериментах получены данные, указывающие на участие в реализации двигательных реакций саранчи *Locusta migratoria migratorioides* L. нескольких механорецепторных систем (Busnel, Burkhardt, 1962). В этологических исследованиях было показано, что запуск двигательных реакций у самок и самцов сверчков *Gryllus bimaculatus* Deg. при предъявлении тонального звукового сигнала в диапазоне 100–200 Гц осуществляется через церкальную систему, а в диапазоне 4–50 кГц – через тимпанальную систему. На основании этих данных была выдвинута гипотеза о взаимодействии дистантных механорецепторных систем и о существовании единого сенсорного комплекса, необходимого для реализации адекватного поведения насекомых (Князев, 1986).

В представленной работе продемонстрирован характер развития акустического репродуктивного поведения на начальных этапах имагинального онтогенеза, а так же показана необходимость взаимодействия сенсорных систем в ходе его реализации. Работа выполнена в рамках научного проекта, поддержанного грантом РФФИ № 09-04-01042 («Мультисенсорная интеграция в репродуктивном поведении насекомых»).

### **Цель и задачи исследования.**

**Целью** исследования было изучение особенностей функционирования и взаимодействия дистантных механорецепторных систем сверчка *Gryllus*

*argentinus* Sauss. при обеспечении внутривидового поведения на разных этапах онтогенеза.

Для успешного достижения цели исследования необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Установить продолжительность онтогенеза самцов и самок сверчка *G. argentinus* в лабораторной культуре, на основании доминирующих форм акустического репродуктивного поведения определить сроки периодов имагинального онтогенеза.
2. Выявить оптимальные параметры звука, вызывающие отчетливые двигательные реакции некопулировавших самок на призывной и агрессивный внутривидовые сигналы самцов.
3. Описать формы направленных двигательных реакций самок и проанализировать соотношение этих форм в норме при предъявлении призывного и агрессивного внутривидовых сигналов самцов на разных этапах имагинального онтогенеза.
4. Исследовать направленные двигательные реакции самок в условиях обратимой инактивации церкального органа при предъявлении призывного и агрессивного внутривидовых сигналов самцов на отдельных этапах имагинального онтогенеза.
5. Изучить направленные двигательные реакции самок после двухсторонней личиночной овариоэктомии при предъявлении призывного внутривидового сигнала самцов в пределах репродуктивного периода имагинального онтогенеза.

**Научная новизна.** С использованием этологических акустических критериев впервые был изучен онтогенез *G. argentinus*. Продемонстрировано, что в процессе развития акустической сигнализации у самцов сначала появляется агрессивный сигнал, и только после него – призывной.

С применением метода «trackball» исследовано развитие фоноактивности самок в первой четверти имагинального онтогенеза – в пределах предрепродуктивного и репродуктивного периодов. Продемонстрировано, что в имагинальном онтогенезе при переходе самки от предрепродуктивного к репродуктивному периоду происходит значительное увеличение доли положительного фонотаксиса с 0 % и 20 % на 2 и 7 сут (начало и завершение предрепродуктивного периода) до 60 % на 12 сут (начало репродуктивного периода). Агрессивный сигнал не вызывает ярко выраженного отрицательного (0 %) или положительного фонотаксисов (0–10 %) как в пред-, так и в репродуктивный периоды онтогенеза, и преобладающими формами реакций являются реакции затаивания.

Показана роль отдельных компонентов комплекса сенсорных систем (тимпанальная и церкальная системы) в реализации адекватного акустического поведения на разных этапах имагинального онтогенеза девственных самок, а так же гонад в ходе репродуктивного периода. В условиях инактивации церкального органа одной тимпанальной системы оказывается недостаточно для реализации адекватного поведения и при интактной тимпанальной системе акустическое репродуктивное поведение подавляется или менее выражено по

сравнению с поведением животных из контрольной группы. Такой же эффект достигается после гонадэктомии.

Продемонстрирована ключевая роль гуморальной регуляции в деятельности сенсорных систем и формировании адекватного акустического поведения насекомых.

**Основные положения, выносимые на защиту.** Основные положения, защищаемые в данной работе, можно сформулировать следующим образом:

1. В ходе имагинального онтогенеза самок соотношение направленных двигательных реакций различного типа на внутривидовой призывной сигнал изменяется. Доля реакций положительного фонотаксиса, не проявляемых в предрепродуктивный период, постепенно увеличивается к 12 и 17 сут и становится преобладающей к началу репродуктивного периода.
2. Интактная тимпанальная система в условиях инактивации церкального органа не может обеспечить адекватное акустическое репродуктивное поведение самок. Реакции положительного фонотаксиса в этих условиях проявляются достоверно слабее. Вместо них реакции затаивания и стресс-реакции становятся более выраженными.
3. Овариоэктомия приводит к нарушению репродуктивного акустического поведения самок при наличии интактного сенсорного входа на 12 сут имагинального онтогенеза. Из всех типов реакций после операции проявляются только реакции затаивания.

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные в работе данные расширяют имеющиеся представления о функциональной организации комплекса дистантных механорецепторных систем и роли отдельных его компонентов в реализации адекватного акустического внутривидового поведения. В работе рассматриваются вопросы эволюционной физиологии сенсорных систем, а так же принципы взаимодействия сенсорных систем и нейроэндокринной регуляции их работы применимо к гипотезе «динамической нейроэндокринной интеграции деятельности сенсорных систем насекомых» (Князев, 2000, 2010).

Материал диссертации может быть использован при чтении лекционных курсов «Физиология сенсорных систем», «Поведение животных», «Биология развития». Данные по эндокринной регуляции деятельности сенсорных систем могут быть применены для разработки новых высокоизбирательных средств борьбы с насекомыми-вредителями городского и сельского хозяйства.

**Апробация работы.** Результаты исследований были предоставлены на:

1. Международном семинаре «Евроазиатская Региональная Ассоциация Зоопарков и Аквариумов» (Москва, 2009);
2. VIII Всероссийской конференции нейроэндокринологов «Нейроэндокринология-2010» (Санкт-Петербург, 2010);
3. VII Международной заочной научно-практической конференции «Современные вопросы науки – XXI век» (Тамбов, 2011);
4. Межвузовской конференции «Герценовские чтения» (Санкт-Петербург, 2011);

5. Международной научной конференции «Фундаментальные проблемы энтомологии в XXI веке» (Санкт-Петербург, 2011);
6. 7th International Interdisciplinary Congress «Neuroscience for Medicine and Psychology» (Sudak, Crimea, Ukraine, 2011);
7. III Съезде физиологов СНГ (Украина, Ялта, 2011);
8. XIV Международном совещании по эволюционной физиологии, посвященном памяти академика Л.А. Орбели (Санкт-Петербург, 2011);
9. II Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы эволюционной морфологии животных» (Санкт-Петербург, 2011).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 14 работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы с изложением материала и методов исследования, главы с результатами исследования и их обсуждением, заключения, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 132 источника, 75 из которых зарубежные. Работа изложена на 102 страницах машинописного текста, содержит 12 рисунков и 11 таблиц.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Экспериментальные животные.** Работа выполнена на сверчках из круглогодичной лабораторной культуры *Gryllus argentinus Sauss.* ИЭФБ РАН. Личинки были получены в 1997 г. из Музея естественной истории (Париж, Франция), которые были привезены в музей в том же году из Эквадора (Южная Америка). Возраст этой культуры в настоящее время составляет 14 лет.

Для исследования онтогенеза было использовано 3 726 яиц, 2 329 личинок первого возраста, 72 из которых были доведены до стадии имаго. Для исследования имагинального онтогенеза методом «открытое поле» было использовано 10 самцов (имаго) и 10 самок (имаго). Для определения порогов двигательных реакций самок сверчка *G. argentinus* на акустические сигналы самцов было использовано 10 особей. Для исследований направленных двигательных реакций самок с помощью метода «trackball» было использовано 35 особей (имаго).

### **Методы ведения лабораторной культуры.**

**Условия содержания и методы культивирования.** На протяжении всего цикла развития особи содержались в постоянных микроклиматических и фотопериодических условиях: среднесуточная относительная влажность 60 %, среднесуточная температура воздуха 26 °С, соотношение световой и темновой фаз – 12 часов света и 12 часов темноты.

В ходе экспериментов для анализа развития лабораторной «популяции» были использованы три способа культивирования:

1. Метод группового культивирования в садках площадью 0.25 м<sup>2</sup> и высотой 0.4 м;

2. Метод попарного содержания имаго (самец и самка) в садках площадью 225 см<sup>2</sup> и высотой 10 см с последующей рассадкой личинок первого возраста в чашки Петри;
3. Индивидуальное содержание имаго в садках площадью 50 см<sup>2</sup> и высотой 7 см.

#### **Метод «открытое поле».**

**Периодизация и этологическая характеристика имагинального онтогенеза.** Длительность периодов имагинального онтогенеза определяли этологическим методом, исследуя элементы репродуктивного и агрессивного поведения самцов и самок методом «открытое поле». Самцов, начиная с первых сут после линьки на имаго, ежедневно ссаживали в небольшие садки с не копулировавшими половозрелыми самками или с половозрелыми самцами, после чего регистрировали формы проявления акустического поведения – излучение агрессивного и/или призывного сигнала. Самок, начиная с первых сут после линьки на имаго, ежедневно ссаживали с половозрелыми не копулировавшими самцами, после чего регистрировали наличие/отсутствие репродуктивной формы поведения – копуляции. На основании полученных данных был проведен хронометраж хода имагинального онтогенеза и определены его отдельные стадии у самцов и самок.

#### **Метод «trackball».**

Эксперименты проводили в темной звукозаглушенной анэхоидной термостабилизированной камере объемом 349 000 см<sup>3</sup>. Животное закрепляли на держателе боком относительно звукоизлучателя M-AUDIO Studiophile DX4. В качестве опоры, или имитации субстрата, использовали пенопластовый шар весом 1,5 г и диаметром 5,5 см. Расстояние между излучателем и объектом составляло 25 см. В качестве стимулов использовали модели естественного призывного и агрессивного сигналов самцов этого вида.

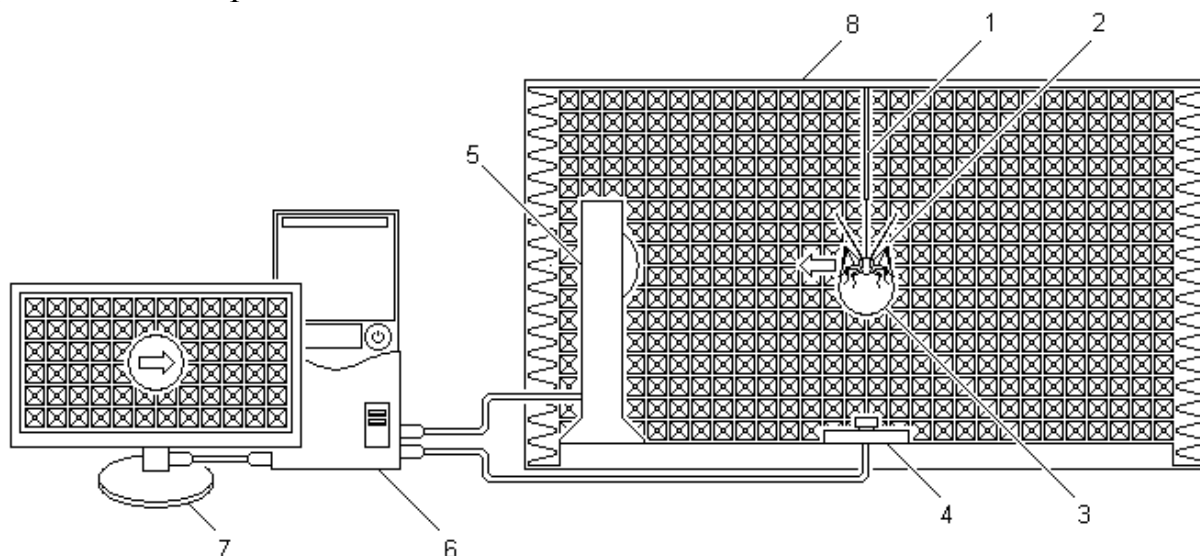


Рис. 1. Схема экспериментальной установки.

Обозначения: 1 – держатель, 2 – объект, 3 – шар-опора, 4 - инфракрасная видеочка, 5 – звукоизлучатель, 6 – системный блок, 7 – монитор, 8 – темная звукозаглушающая анэхоидная камера; стрелками указаны направление движения сверчка в камере и направление вращения шара-опоры на мониторе.

Предварительно уровень звукового давления измеряли в точке расположения объекта. Поведение животного при подаче стимула регистрировали с помощью инфракрасной видеокамеры ПЗС КВ 941, изображение с которой выводилось на экран компьютера и записывалось (рис. 1).

**Акустическая стимуляция.** В качестве акустической стимуляции использовали модели звуковых сигналов из репертуара самцов сверчков *G. argentinus* – призывного и агрессивного. Основные гармоники этих сигналов составляют 4 кГц, а их специфичность определяется временной структурой. Модель призывного сигнала представляет собой повторяющиеся двухпульсовые посылки с межпосылочными интервалами – 2030.0 мс, длительностью первого пульса – 22.6 мс, длительностью второго пульса – 26.7 мс и расстоянием между пульсами в посылке – 30.0 мс. Модель агрессивного сигнала имеет резко отличную временную структуру от модели призывного сигнала. Она характеризуется повторяющимися четырехпульсовыми посылками с межпосылочным интервалом – 992.4 мс, длительностью первого пульса – 23.4 мс, длительностью второго пульса – 23.5 мс, длительностью третьего пульса – 20.8 мс, длительностью четвертого пульса – 21.3 мс, расстоянием между первым и вторым пульсами в посылке – 29.3 мс, расстоянием между вторым и третьим пульсами в посылке – 36.5 мс и расстоянием между третьим и четвертым пульсами в посылке – 30.2 мс. (Орлов, 2003).

**Определение порогов двигательных реакций самок на акустические сигналы самцов.** Объектом исследований были взрослые половозрелые (10-15 сут) неспаривавшиеся самки сверчка *G. argentinus*. Регистрировали и учитывали однотипные реакции, сгруппированные следующим образом. Первую группу составили реакции на звук (фонотаксисы) без перемещения животного по поверхности шара-опоры: «сканирование» пространства антеннами, повороты головы, реакции «вздрагивания». Вторая группа – фонотаксисы в форме направленных двигательных реакций (НДР) по поверхности шара-опоры «к» или «от» источника звука. Эксперимент с каждым из типов сигналов (призывным и агрессивным) состоял из двух серий опытов – с постепенным снижением уровня звукового давления от 107 до 67 дБ УЗД (шаг – 5 дБ УЗД) и с постепенным повышением уровня звукового давления от 67 до 107 дБ УЗД (шаг – 5 дБ УЗД).

**Исследование направленных двигательных реакций самок сверчка *Gryllus argentinus* Sauss. на акустические сигналы самцов в норме, при сенсорной патологии и при эндокринной патологии.** Объектом исследования были не копулировавшие самки сверчка *G. argentinus* в возрасте 2 сут. (начало предрепродуктивного периода), 7 сут (конец предрепродуктивного периода, время начала пения агрессивного сигнала самцами того же возраста), 12 сут (начало репродуктивного периода) и 17 сут (репродуктивный период, исследовались реакции только на призывной сигнал). Животные указанных возрастов были выбраны исходя из результатов исследования жизненного цикла этих сверчков в соответствии с периодизацией имагинального онтогенеза.



Проведены три группы экспериментов – на интактных животных (норма), на сверчках с обратимо инактивированными церками (сенсорная патология) и на животных с двухсторонней овариоэктомией (эндокринная патология). Обратимую инактивацию церкальных рецепторов проводили путем обработки поверхности церков глицерином с помощью мягкой кисти. После завершения эксперимента глицерин смывали дистиллированной водой (Князев и др., 2000). После этой процедуры исходные двигательные реакции восстанавливались до уровня реакций у животных из контрольной группы. Замазывание глицерином участков тела, не участвующих в восприятии звука, не приводило к нарушению акустического поведения. Удаление яичников (овариоэктомию) проводили на дейтонимфах (личинках последнего возраста). Перед овариоэктомией проводили холодовую иммобилизацию насекомого, помещая его в холодильную камеру с температурой 5 °С на 300 с. Яичники извлекались через надрезы длиной 3 мм на плеуритах на границе 4 и 5 брюшных сегментов. После окончания экспериментов проверяли чистоту удаления гонад. Ранее было продемонстрировано, что ложноперирированные животные (операция без удаления гонад) показывали уровень реакций, не отличающийся достоверно от показателей в контрольной группе (Князев, 1999).

Для проведения исследований использовался вышеописанный метод «trackball». Тип НДР определяли по направлению вращения (или по неподвижности) шара-опоры. Каждая серия экспериментов состояла из 5 предъявлений модели либо призывного, либо агрессивного сигналов. Первое предъявление осуществлялось через 600 с после помещения сверчка в экспериментальную установку. Длительность каждого предъявления составляла 10 с. Промежуток времени между предъявлениями составлял 60 с. В начале каждого предъявления сверчок и шар были неподвижны. Если самка проявляла моторную активность по истечении 60 с после предыдущего предъявления, интервал между предъявлениями мог увеличиваться.

При описании акустического поведения использовали метод регистрации форм НДР и анализа поведения, разработанный ранее для исследования поведения и НДР сверчков *G. bimaculatus* (Князев, Чудакова, 1990). Для описания акустического поведения регистрировали НДР четырех типов. Репродуктивное поведение самок оценивали по реакциям положительного фонотаксиса (PP — positive phonotaxis). Оборонительное поведение проявлялось в форме отрицательного фонотаксиса (NP – negative phonotaxis) или реакции «затаивания» (ZP – zero phonotaxis). В последнем случае сверчок оставался на месте и фонотаксис не проявлялся. В ряде экспериментов регистрировали неопределенные реакции самок (IP – indefinite phonotaxis), определяемые как «реакции панического бегства».

**Статистическая обработка данных.** Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета Statistica 7.1 (© StatSoft, Inc. 1984—2006). Для обработки данных были использованы непараметрические методы для малых выборок с определением минимальных и максимальных значений, квартилей, медиан. Для сравнения значений медиан использовались Mann-Whitney U-test и Wilcoxon Matched Pairs Test (Tukey, 1977; Тюрин, 1995).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Жизненный цикл.

**Стадия яйца.** Яйцо, как и у других сверчковых, имеет овально-удлиненную форму длиной  $3.37 \pm 0.03$  мм ( $n=56$ ) и диаметром  $0.6 \pm 0.02$  мм ( $n=56$ ). Глубина залегания яиц в грунте составляет  $9.63 \pm 0.12$  мм ( $n=145$ ). Количество яиц в кладке равняется 2–4 ( $\min = 1$ ,  $\max = 11$ ). За весь период яйцекладки самка способна отложить более 1100 ( $\max = 1143$ ) жизнеспособных яиц. Длительность эмбрионального развития составляет 18 сут (рис. 2, медиана).

**Стадия личинки.** Общая продолжительность личиночного развития составляет 97 сут (по сумме медиан). Длительность личиночных возрастов с первого по девятый (L1–L9) составляет 5, 6, 6, 6, 8, 10, 13, 14 и 29 сут (рис. 2, медианы) соответственно. Одновременное присутствие в популяции личинок разных возрастов варьирует, но не превышает 6. Число особей в «лабораторной микропопуляции» при стабилизированных абиотических факторах - температуре, влажности, фотопериоде, а так же в отсутствии конкуренции, хищничества, заболеваний, при полноценном питании в ходе индивидуального развития постепенно уменьшается. До стадии имаго дошло 72 особи, что составляет около 2 % от отложенных яиц – 3726 шт. Выживаемость особей относительно предыдущей стадии развития варьирует в широких пределах – от 40 % (L2 относительно L1) до 96 % (L7 относительно L6). Наименьшая выживаемость (менее 55 %) была зафиксирована в трех случаях - при переходах L1 - L2, L7 - L8 и L9 – Im.

В основе выбора микроклиматических условий при содержании сверчков *G. argentinus* были данные по онтогенезу другого представителя рода *Gryllus* – *G. bimaculatus*. Термопреферендум *G. bimaculatus* в природных условиях находится в пределах 18–24 °С (Amougіq, 1957), а в лабораторных условиях он определен в 26 °С (Rivney, Ziv, 1963; Князев, 1985).

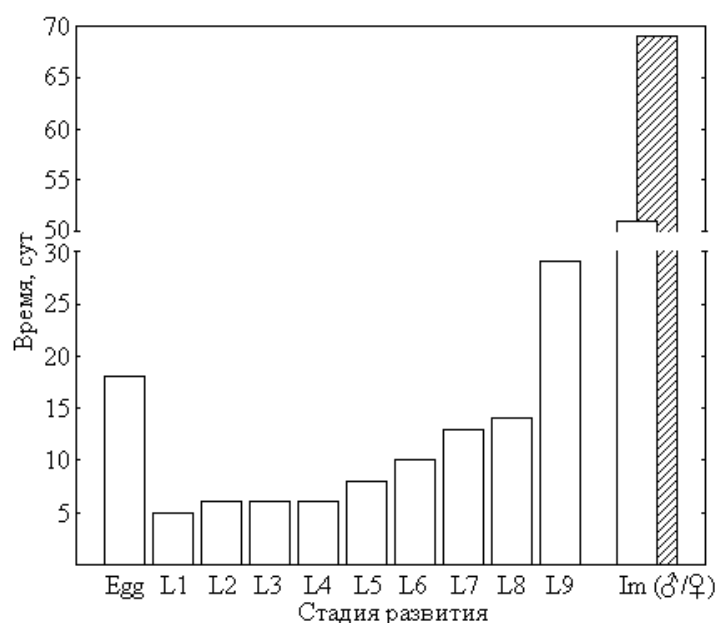


Рис. 2. Длительность стадий онтогенеза.

Обозначения: Egg – яйцо, L1–L9 – личинки 1–9 возрастов, Im (♂/♀) – имаго (самцы / самки).

Относительная среднесуточная влажность при исследовании онтогенеза *G. bimaculatus* составила 49 % (при суточных колебаниях 42–66 %), а соотношение световой и темновой фаз – 12 часов света и 12 часов темноты. Для *G. argentinus* при сходных условиях содержания эти сроки составили: развитие яйца (эмбриогенез) – 18 сут, личиночное развитие – 97 сут, имагинальный онтогенез – 51 и 69 сут у самцов и самки соответственно (рис. 2).

**Имагинальный онтогенез.** Продолжительность жизни имаго составляет 51 сут у самцов и 69 сут у самок (рис. 2, приведены значения медиан). В имагинальном онтогенезе выделено 3 периода: предрепродуктивный, репродуктивный и пострепродуктивный. Самцы достигают репродуктивного периода (начинают генерировать призывной сигнал) на 9 (8-13) сут (рис. 3). Самки достигают репродуктивного периода (способны к положительной реакции на призывной сигнал самца и к копуляции) на 9 (8–10) сут (рис. 3). Откладка яиц начинается на следующий день после первой копуляции. Репродуктивный период длится 40 (15–59) сут у самцов и 58 (21–70) сут у самок (рис. 3).

Пострепродуктивный период начинается у самок с момента окончания яйцекладки, а у самцов – с исчезновения репродуктивного поведения – пения призывного сигнала. Период завершается смертью животного. Продолжительность периода составляет 2 (1–4) сут (рис. 3).

Показано, что у самцов способность генерировать звуковые сигналы разного биологического значения и формы акустического поведения в ходе индивидуального развития проявляются постепенно. Установлено, что первым на предрепродуктивной стадии появляются агрессивный сигнал и соответствующая форма оборонительного поведения – 6 (5 – 8) сут, и только на 9 (8 – 13) сут – призывной сигнал и репродуктивное поведение (уровень достоверности  $p < 0.05$ ; рис. 3). Появление призывного сигнала самца совпадает по времени с появлением репродуктивного поведения самок, проявляющегося в готовности к копуляции (уровень достоверности  $p > 0.05$ ; рис. 3).

Ранее считалось общепринятым и очевидным, что весь комплекс звуковых сигналов (призывной, агрессивный, копулятивный = «сигнал

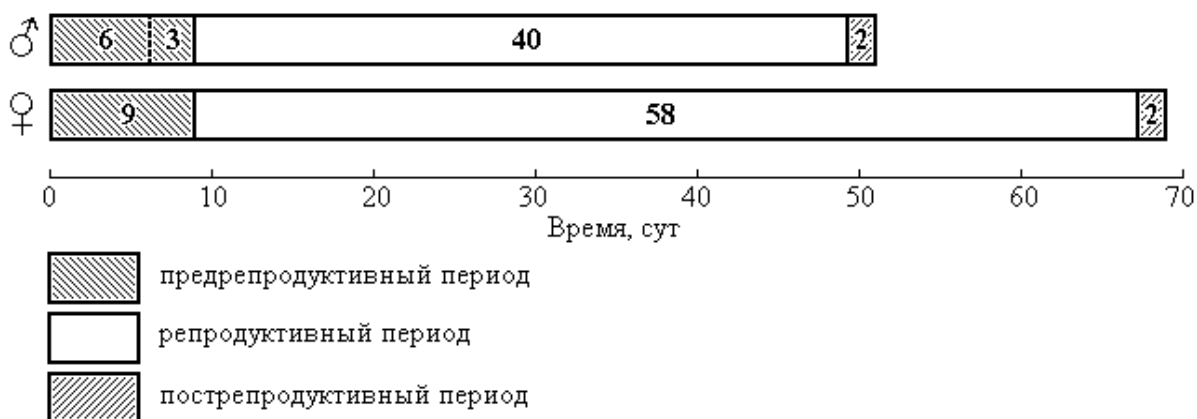


Рис. 3. Периоды имагинального онтогенеза.

Обозначения: пунктир – время появления агрессивного сигнала самца, цифры на графике – длительности периодов (медианы).

ухаживания») у имаго самцов сверчков появляется одновременно (Жантiev, 1981; Попов, 1985). Нам удалось установить, что агрессивный сигнал появляется первым в пределах предрепродуктивного периода, а появление призывного сигнала характеризует начало репродуктивного периода. Если принять положение о том, что «в онтогенезе (эмбриогенезе) повторяются основные этапы филогенеза» (Северцов, 1939), то можно заключить, что агрессивный сигнал с эволюционной точки зрения, по-видимому, более молодой, чем призывной. Особенно важно то, что появилась возможность исследования агрессивного акустического поведения «в чистом виде» до появления в онтогенезе репродуктивной формы поведения.

**Пороговые и оптимальные интенсивности стимулов для исследования направленных двигательных реакций самок на внутривидовые сигналы.** Одним из необходимых условий лабораторных исследований является адекватная биологически значимая стимуляция животного. В частности, в акустических экспериментах при дистантном воздействии на механорецепторы (стимуляция двигательной активности самок сверчка внутривидовыми [призывным и агрессивным] сигналами самцов) необходимо проанализировать пороги слышимости и выявить оптимальную необходимую и достаточную для проявления исследуемых форм поведения (двигательной активности) интенсивность стимула. Особый интерес может представлять способ определения пороговых и около пороговых интенсивностей, как путем постепенного увеличения, так и уменьшения уровня звукового давления. В лабораторных экспериментах это является имитацией приближения или удаления источника звука (в данном случае «виртуального» самца) относительно самки сверчка – «приемника» сигнала, что постоянно происходит в природных условиях.

Установлено, что у самок величина порога восприятия призывного сигнала, определяемая при регистрации реакций первой группы, составила 78.5 дБ (здесь и далее – медиана), как в случае постепенного увеличения, так и в случае постепенного уменьшения интенсивности, а порог восприятия агрессивного сигнала составил 76.0 дБ при постепенном уменьшении и 72.0 дБ при постепенном увеличении интенсивности стимула.

Оптимальная интенсивность стимула для исследования НДР (вторая группа) составила 94.5 дБ для призывного и 89.0 дБ для агрессивного сигнала. За оптимальный принимали уровень звукового давления, при котором НДР («к» источнику и «от» него) проявлялась четко и определено.

**Развитие полового и оборонительного акустического поведения в имагинальном онтогенезе самок.** На имагинальной стадии онтогенеза наряду с равнокрылыми и чешуекрылыми прямокрылые насекомые обладают полностью сформированным тимпанальным (слуховым) органом, что позволяет им осуществлять «достаточно совершенный анализ звуковых сигналов» (Тыщенко, 1977). Лабораторные эксперименты по исследованию цикла развития сверчка *G. argentinus* с использованием методов этологии («открытое поле») показали следующее. Как и у *G. bimaculatus*, имагинальный онтогенез *G. argentinus* включает 3 периода – предрепродуктивный, репродуктивный и пострепродуктивный (Knyazev, 1990). Для каждого периода характерен особый

комплекс форм акустического поведения, а также набор, соотношение и величина направленных двигательных реакций (НДР) (Кnyazev, Chudakova, 1990; Орлов, 2003).

**Направленные двигательные реакции на предъявление модели призывного сигнала.** Анализ данных по НДР на призывной сигнал показал, что в ходе предрепродуктивного периода преобладает ZP (60 %), а в начале репродуктивной фазы имеются две преобладающих формы НДР – PP (60 %) и ZP (20 %). На 17 сут имагинального онтогенеза из всех форм фонотаксисов наиболее выражен PP (40%). Как в предрепродуктивном, так и в репродуктивном периоде не проявляется NP (0 %). В имагинальном онтогенезе при переходе самки от предрепродуктивного к репродуктивному периоду происходит значительное увеличение доли PP с 0 % и 20 % на 2 и 7 сут (начало и завершение предрепродуктивного периода) до 60 % на 12 сут (начало репродуктивного периода) (рис. 4,  $p < 0,05$ ) и 40 % на 17 сут (рис. 4,  $p < 0,05$ ). Одновременно доля ZP снижается с 60 % (2 сут) до 20 % (12 сут) и 0 % (17 сут) (рис. 4,  $p < 0,01$ ). Колебания величин IP на 2, 7, 12 и 17 сут (0–20 %) достоверно не отличаются (рис. 4,  $p > 0,05$ ). Преобладание PP с начала репродуктивного периода, по-видимому, необходимо для встречи половых партнеров, а наличие ZP, вероятно, позволяет самке как заблаговременно избегать встречи с хищниками (защитная функция, оборонительное поведение), так и корректировать направление движения к источнику призывного сигнала – к самцу (репродуктивная функция, половое поведение). Причем чередование PP и ZP, возможно обеспечивает самке возможность не только коррекции

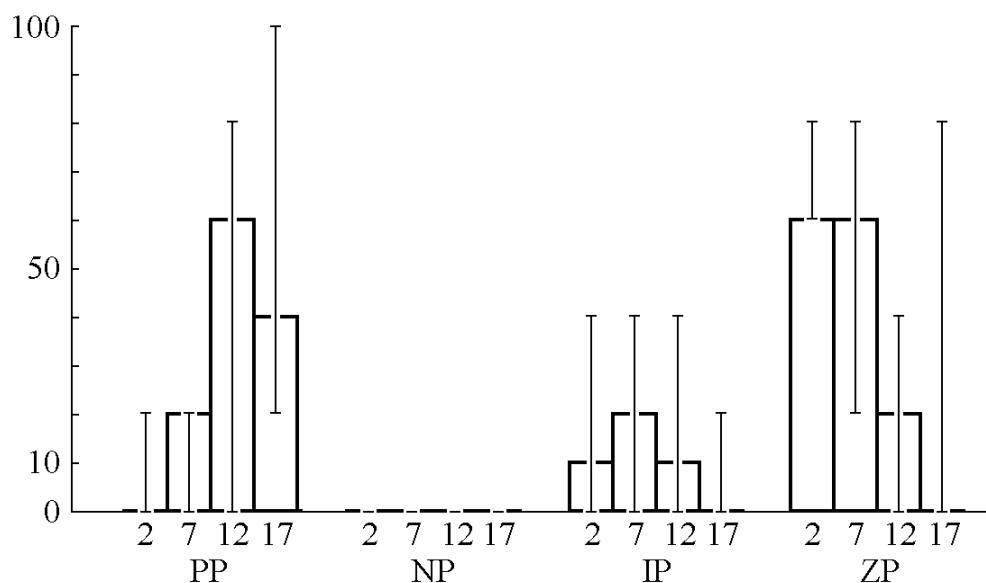
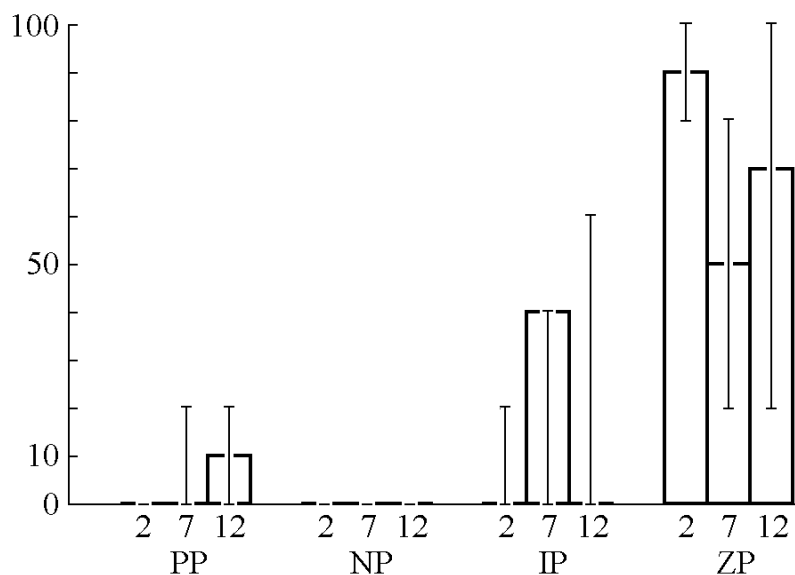


Рис. 4. Изменение долей однотипных направленных двигательных реакций самок сверчков на предъявление модели призывного сигнала самца в ходе имагинального онтогенеза. Обозначения: PP – положительный фонотаксис, NP – отрицательный фонотаксис, ZP – отсутствие реакции (реакция затаивания), IP – неопределенная реакция (реакция панического бегства). По горизонтали – тип направленной двигательной реакции (снизу) и время (сут, сверху), по вертикали – доля типичной направленной двигательной реакции от общего числа реакций (медианы, квартили, %). Стимул – модель призывного сигнала самца с основной частотой 4 кГц, интенсивность стимула – 95 дБ УЗД, число животных на 2 сут – 10, число предъявлений стимула – 50, число животных на 7 сут – 15, число предъявлений стимула – 75, число животных на 12 сут – 14, число предъявлений стимула – 70, число животных на 17 сут – 7, число предъявлений стимула – 35.

направления движения, но и выбора партнера, то есть в каждой точке остановки (ZP) позволяет выбрать из нескольких поющих источников (обычно в природе одновременно поют несколько самцов) наиболее предпочтительного (например, поющего громче других) и направиться именно к нему (Попов, 1985; Князев и др., 1999).

**Направленные двигательные реакции на предъявление модели агрессивного сигнала.** Анализ характера и величины НДР при предъявлении модели агрессивного сигнала самца показал, что преобладающими формами НДР на агрессивный сигнал были ZP (2 сут – 90 %, 12 сут – 70 %) или ZP в сочетании с IP (7 сут – 50 % ZP и 40 % IP). Судя по полученным нами данным, агрессивный сигнал не вызывает ярко выраженного NP (0 %) или PP (0–10 %) как в пред-, так и в репродуктивный периоды онтогенеза (рис. 5). Вероятно, ZP и/или IP реализуются как защитный механизм при детекции агрессивного сигнала самца. При этом ZP является пассивной оборонительной реакцией – реакцией «затаивания», а IP – активной, но «хаотичной». IP чаще всего принимает форму реакции «панического бегства» (Князев и др., 1999б; Knyazev et al., 2003).

Рис. 5. Изменение долей типичных направленных двигательных реакций самок сверчков на предъявление модели агрессивного сигнала самца в ходе имагинального онтогенеза. Обозначения: см. рис. 4. Стимул – модель агрессивного сигнала самца с основной частотой 4 кГц, интенсивность стимула – 84 дБ УЗД, число животных на 2, 7, 12 сут – по 10, число предъявлений стимула – по 50.



Результаты экспериментов показали, что данные, полученные методом «шара-опоры» («trackball»), хорошо согласуются с результатами многочисленных полевых, а также и лабораторных исследований, полученных другими методами («V-образный лабиринт», «открытое поле» = «арена», «компенсатор движения»). Этот метод («trackball») является вполне адекватным для исследований такого рода и позволяет изучать в условиях лаборатории сложные формы акустического поведения, например поисковое половое поведение, включающее комбинацию НДР разных типов.

Известно, что наряду с тимпанальной (слуховой) системой важным компонентом, участвующим в реализации адекватного репродуктивного и оборонительного поведения, является церкальная механорецепторная система (Князев, 2007). В связи с этим, можно предположить, что постепенное изменение соотношения НДР на звук и постепенное «созревание» PP самок сверчков в ходе имагинального онтогенеза связано, в том числе, и с неравномерным созреванием отдельных компонентов сенсорного комплекса

(периферических и центральных). Их взаимодействие в репродуктивном периоде онтогенеза является обязательным условием успешной реализации адекватного репродуктивного поведения (Князев, 2007).

**Взаимодействие дистантных механорецепторных систем при реализации акустического поведения.**

**Сравнение направленных двигательных реакций (НДР) на предъявление модели призывного сигнала в норме и в условиях сенсорной патологии.** Обратимая инактивация церкальных рецепторов у самок *G. argentinus* приводит к нарушению механизмов реализации нормального репродуктивного поведения на 7, 12 и 17 сут онтогенеза. Это выражается в статистически достоверном снижении доли реакций PP самок на модель призывного сигнала самца у особей с сенсорной патологией по сравнению с животными из контрольной группы (норма). На 7 сут (завершающий этап предрепродуктивного периода) она снижается с 20 до 0 % ( $p < 0.05$ ; рис. 6, б), на 12 сут (начало репродуктивного периода) – с 60 до 20 % ( $p < 0.05$ ; рис. 6, в), на 17 сут (репродуктивный период) – с 40 до 10 % ( $p < 0.05$ ; рис. 6, з). При инактивации церкальных рецепторов так же наблюдается увеличение доли реакций IP самок при предъявлении модели призывного

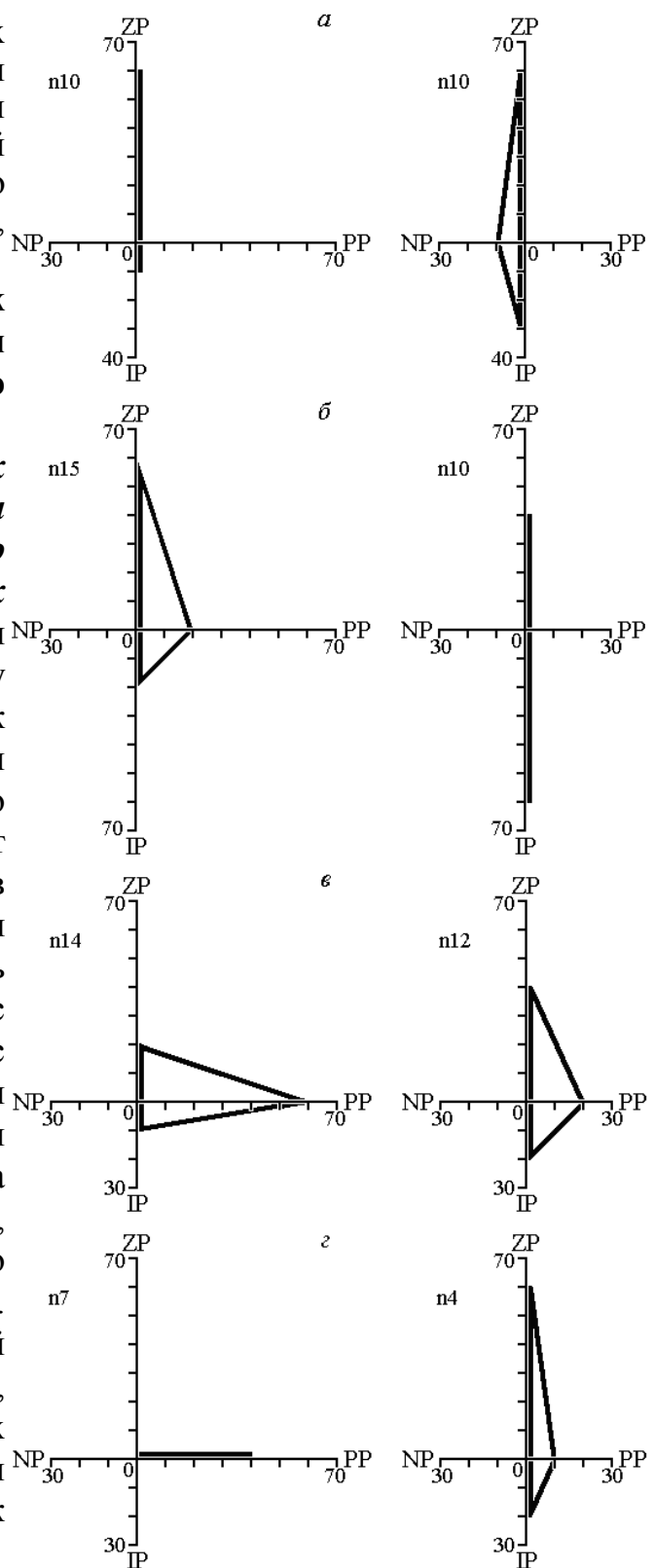
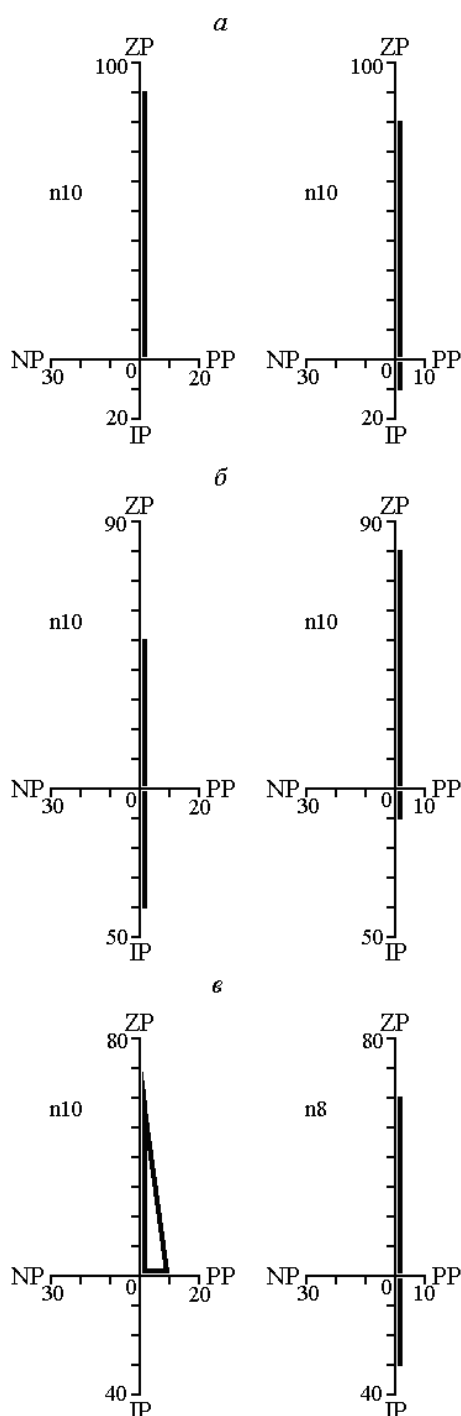


Рис. 6. Соотношение направленных двигательных реакций самок сверчков при предъявлении модели призывного сигнала самца в норме (слева) и при сенсорной патологии (справа) на 2 (а), 7 (б), 12 (в) и 17 сут (з) имагинального онтогенеза. Обозначения: PP – положительный фонотаксис, NP – отрицательный фонотаксис, ZP – отсутствие реакции, IP – неопределенная реакция (реакция панического бегства), n – число сверчков. По осям – величина реакций фонотаксиса (медианы, %), цена деления – 10 %. Стимул – модель призывного сигнала самца с основной частотой 4 кГц, интенсивность стимула – 95 дБ УЗД.

сигнала самца по сравнению с показателем в контрольной группе: 2 сут – с 10 до 30 % ( $p > 0.05$ ; рис. 6, а), 7 сут – с 20 до 60 % ( $p < 0.01$ ; рис. 6, б), 12 сут – с 10 до 20 % ( $p > 0.05$ ; рис. 6, в), 17 сут – с 0 до 20 % ( $p > 0.05$ ; рис. 6, г). Доля ZP и NP при предъявлении призывного сигнала особям с сенсорной патологией достоверно не изменяется по сравнению с животными из контрольной группы ( $p > 0.05$ ; рис. 6, а-г).



**Сравнение направленных двигательных реакций (НДР) на предъявление модели агрессивного сигнала в норме и в условиях сенсорной патологии.** При предъявлении самкам с отключенными церками модели агрессивного сигнала самца изменений доли типичных НДР по сравнению с нормой не наблюдается. Как и в контрольной группе преобладали реакции ZP и IP. Реакции PP и NP не проявлялись (рис. 7).

Анализ данных показал, что у самок *G. argentinus* интактная тимпанальная система в условиях инактивации церкальных рецепторов не может обеспечить реализацию нормального репродуктивного поведения. В условиях патологии резко снижается вероятность проявления ожидаемой (имеющей биологическое значение для вида) реакции в форме PP на призывной сигнал самца. Сходные данные были получены при исследовании влияния инактивации церкальных рецепторов на реализацию репродуктивного поведения у некопулировавших самок сверчков *G. bimaculatus* – у 7-суточных (начало репродуктивного периода) особей при предъявлении модели внутривидового призывного сигнала самца доля реакций PP снижалась с 50 % (норма) до 0 % (сенсорная патология) (Князев и др., 1999).

Ранее считалось, что для внутривидовой акустической коммуникации сверчки используют только тимпанальную (слуховую) систему (Тыщенко, 1977; Жантиев, 1981; Попов, 1985). По данным, полученным на сверчках *G. bimaculatus* (Князев и др., 1999), и по нашим данным по *G. argentinus* в условиях инактивации церкального органа одной тимпанальной системы оказывается недостаточно для реализации адекватного поведения. В этом случае (при

Рис. 7. Соотношение направленных двигательных реакций самок сверчков при предъявлении модели агрессивного сигнала самца в норме (слева) и при сенсорной патологии (справа) на 2 (а), 7 (б) и 12 сут (в) имагинального онтогенеза. Обозначения: см. рис. 6. Стимул – модель агрессивного сигнала самца с основной частотой 4 кГц, интенсивность стимула – 84 дБ УЗД.



интактной тимпанальной системе) акустическое поведение либо подавляется, либо значительно менее выражено по сравнению с поведением животных из контрольной группы (по сравнению с нормой). Действие «дополнительной, неслуховой» церкальной системы по данным, полученным на сверчках *G. bimaculatus*, имеет модулирующий эффект и влияет на функционирование «доминантной» тимпанальной системы (Князев, 2001).

Результаты изучения поведения сверчков *G. argentinus* подтвердили ранее выдвинутую гипотезу о взаимодействии дистантных механорецепторных систем и о существовании единого сенсорного комплекса, необходимого для реализации адекватного поведения насекомых, которая была сформулирована на основании результатов исследования сверчков *G. bimaculatus* (Князев, 2000).

**Нейроэндокринное взаимодействие при реализации акустического поведения.** Предъявляя половозрелым не спаривавшимся здоровым самкам *G. argentinus* (возраст 12 сут), а также животным с экспериментальной эндокринной патологией призывной сигнал самцов и сравнивая их НДР, удалось оценить характер участия и роль отдельных компонентов механосенсорного комплекса и компонентов эндокринной системы в реализации адекватного акустического поведения. Исследованы и проанализированы соотношения типовых НДР самок на модель призывного сигнала самцов в условиях эндокринной (двухсторонняя личиночная овариэктомия – ОЭ) патологии. Получены следующие соотношения типовых НДР (медианы): PP = 0 %, NP = 0 %, IP = 0 %, ZP = 100 %. В группе с эндокринной патологией достоверно по сравнению с нормой увеличивается доля ZP с 20 до 100 % (рис. 8,  $p \leq 0,05$ ). Между долями НДР других типов отличия не достоверны. Результаты сенсорной и эндокринной патологий сходны и приводят к существенному нарушению адекватного акустического поведения самок.

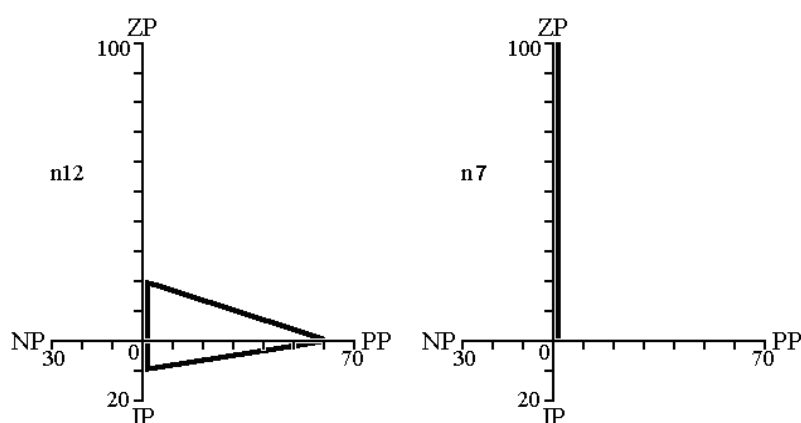


Рис. 8. Соотношение направленных двигательных реакций в норме (слева) и при эндокринной патологии (овариэктомии, справа) на 12 сутки имагинального онтогенеза самок при предъявлении внутривидового призывного сигнала самца. Обозначения: см. рис. 6. Стимул – модель призывного сигнала самца с основной частотой 4 кГц, интенсивность стимула – 95 дБ УЗД.

Полученные результаты совпадают с результатами исследований репродуктивного акустического поведения другого объекта – самок *G. bimaculatus* (Князев и др., 1996).

Кастрация самок (овариоэктомия) двух видов имеет схожий эффект: 1. резко снижается доля положительного фонотаксиса (с 50 до 0 % у *G. bimaculatus* и с 60 до 0 % у *G. argentinus*); 2. резко повышается % случаев, в которых фонотаксис не проявляется (с 40 до 80 % у *G. bimaculatus* и с 20 до 100 % у *G. argentinus*). Ранее было показано, что функционирование и формирование в онтогенезе гонад зависит от деятельности гормонов желез ретроцеребрального комплекса (в частности ювенильного гормона прилежащих тел).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Онтогенетическое развитие самок сверчков включает три периода: предрепродуктивный, репродуктивный (в котором чередуются этапы копуляции и заполнения сперматеки самки) и пострепродуктивный. Каждый период характеризуется своим набором, величиной и соотношением НДР. Инактивация церкального органа у *G. argentinus* приводит к нарушению проявляемого в норме у самок соотношения НДР, что продемонстрировано при предъявлении модели призывного сигнала. Наличие тимпанальной системы не может в полной мере обеспечить адаптивность поведения. Положительный фонотаксис не исчезает полностью, но его доля существенно снижается. Схожая картина наблюдалась при изучении реакций самок *G. bimaculatus* в условиях сенсорной патологии (Князев и др., 1999). Дистантные механорецепторные системы, обеспечивающие восприятие различных компонентов звуковой волны, работают как единый комплекс. «Выключение» церкальной системы, воспринимающей волны смещения частиц среды, в условиях сохранения интактной тимпанальной системы, воспринимающей волны давления, существенно снижает вероятность детекции источника сигнала на близком расстоянии, т.е. при достаточно сильной интенсивности стимула в искусственных условиях.

Было продемонстрировано изменение доминирующих форм поведения в ответ на предъявление биологически значимых стимулов в ходе имагинального онтогенеза. Достоинством примененного нами метода является возможность продемонстрировать постепенность смены соотношения форм таксисов. Видимо, это происходит следом за изменением уровня гормонов в гемолимфе.

Кастрация самок продемонстрировала ключевую роль гонад в реализации акустического поведения самок, что ранее было показано на *G. bimaculatus* (Князев и др., 1996).

Полученные нами результаты подтверждают ряд пунктов выдвинутой и впоследствии доработанной гипотезы «динамичной нейроэндокринной интеграции деятельности сенсорных систем насекомых» (Князев, 2000; Князев, 2010, Князев, 2011). Нарушение функционирования церкальной системы значительно уменьшает вероятность проявления адекватного акустического

поведения, а сохранность только тимпанальной системы – необходимое, но недостаточное условие его обеспечения. Сенсорные механорецепторные системы – церкальная и тимпанальная – функционируют не автономно, а в составе единого комплекса, а их нормальное взаимодействие в составе комплекса зависит от гормонов гонад.

Таким образом, удалось экспериментально подтвердить, что акустическое поведение и его развитие в норме контролируется нейроэндокринной и эндокринной системами путем влияния на взаимодействие сенсорных систем в составе единого сенсорного комплекса.

## ВЫВОДЫ

1. Длительность онтогенеза *G. argentinus* составляет составляет 166 сут у самцов и 184 сут у самок. Имагинальный онтогенез *G. argentinus* включает три периода – предрепродуктивный (9 сут), репродуктивный (самцы – 40 сут, самки – 58 сут) и пострепродуктивный (2 сут).
2. У самцов агрессивный сигнал появляется первым в пределах предрепродуктивного периода (6 сут), а появление призывного сигнала характеризует начало репродуктивного периода (9 сут). У самок при предъявлении агрессивного сигнала преобладают реакции затаивания и реже стресс-реакции.
3. Смена преобладающих фонотаксисов при предъявлении девственным самкам призывного сигнала самцов происходит постепенно, что предполагает лежащий в основе эндокринный механизм регуляции. От 2 к 17 сут увеличивается доля реакций положительного фонотаксиса одновременно со снижением доли реакций затаивания.
4. У самок *G. argentinus* интактная тимпанальная система в условиях инактивации церкальных рецепторов не может обеспечить реализацию нормального репродуктивного акустического поведения. Уменьшается доля реакций положительного фонотаксиса и увеличивается доля реакций затаивания и стресс-реакций.
5. Эндокринная патология приводит к существенному нарушению адекватного акустического репродуктивного поведения половозрелых самок. Исчезают проявляемые в норме реакции положительного фонотаксиса.
6. Сравнение НДР на звук сверчков *G. argentinus* в норме, при сенсорной и эндокринной патологиях позволяет сделать вывод о том, что этологический эффект гонадэктомии сходен с эффектом обратимой сенсорной депривации и, следовательно, именно гуморальная регуляция деятельности сенсорных систем играет существенную роль в формировании адекватного акустического поведения.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи

1. **Жемчужников М.К.**, Князев А.Н. Онтогенез сверчка *Gryllus argentinus* Sauss. (Orthoptera, Gryllidae) // Энтотомол. Обозр. – 2011. – Т. 90. – № 4. – С. 798-808.

2. **Жемчужников М.К.**, Князев А.Н. Развитие полового и оборонительного поведения самок сверчков *Gryllus argentinus* Sauss. в предрепродуктивный и репродуктивный периоды имагинального онтогенеза // Ж. эвол. биохим. и физиол. – 2011. – Т. 47. – № 6. – С. 480-484.
3. **Жемчужников М.К.**, Князев А.Н. Изменение характера направленных двигательных реакций самок сверчков *Gryllus argentinus* Sauss. на внутривидовые сигналы в условиях сенсорной патологии на разных этапах имагинального онтогенеза // Ж. эвол. биохим. и физиол. – 2011. – Т. 47. – № 6. – С. 485-490.

#### Тезисы

4. **Жемчужников М.К.**, Князев А.Н. Сравнительный микроанатомический анализ топографии желез ретроцеребрального комплекса сверчков // Тезисы докладов VIII Всероссийской конференции «Нейроэндокринология-2010», СПб. – 2010. – С. 67-69.
5. Манида И.С., Орлов А.В., Князев А.Н., **Жемчужников М.К.** Цикл развития сверчка *Gryllus argentinus* Sauss. в условиях лабораторного содержания // Материалы Четвертого Международного семинара «Беспозвоночные животные в коллекциях зоопарков и инсектариев», М. – 2011. – С. 131-133.
6. Орлов А.В., Луничкин А.М., **Жемчужников М.К.**, Князев А.Н. Сравнение основных параметров жизненных циклов сверчков родов *Gryllus*, *Grylloides* и *Phaeophilacris* в лабораторных условиях // Материалы Четвертого Международного семинара «Беспозвоночные животные в коллекциях зоопарков и инсектариев», М. – 2011. – С. 109-112.
7. **Жемчужников М.К.**, Луничкин А.М., Князев А.Н. Исследование уровней чувствительности самок сверчка *Gryllus argentinus* Sauss. к агрессивному и призывному сигналам самцов // VII Международная заочная научно-практическая конференция «Современные вопросы науки – XXI век». Выпуск VII, часть 4: сб. научных трудов, Тамбов. – 2011. – С. 51-52.
8. **Жемчужников М.К.**, Луничкин А.М., Князев А.Н. Пороги двигательных реакций самок сверчка *Gryllus argentinus* Sauss. на акустические сигналы самцов // Тезисы межвузовской конференции «Герценовские чтения», СПб. – 2011. – С. 51-52.
9. **Жемчужников М.К.**, Князев А.Н. Развитие полового и оборонительного поведения самок сверчков *Gryllus argentinus* Sauss. В предрепродуктивный и репродуктивный периоды имагинального онтогенеза // Материалы Международной научной конференции «Фундаментальные проблемы энтомологии в XXI веке», СПб. – 2011. – С. 48.
10. **Жемчужников М.К.**, Князев А.Н. Онтогенез сверчка *Gryllus argentinus* Sauss. // Материалы Международной научной конференции «Фундаментальные проблемы энтомологии в XXI веке», СПб. – 2011. – С. 47.
11. **Zhemchuzhnikov M.K.**, Knyazev A.N. New evidence for existence of the integrated complex of distant mechanoreceptor systems providing adequate acoustic behavior in insects // International Congress “Neuroscience for Medicine and Physiology”, Ukraine, Sudak. – 2011. – P. 171-172.
12. **Жемчужников М.К.**, Князев А.Н. Сравнительный анализ направленных двигательных реакций самок *Gryllus argentinus* на призывной сигнал

- самцов в норме и в условиях сенсорной или эндокринной паталогий // III Съезд физиологов СНГ, Украина, Ялта. – 2011. – С. 113.
13. **Жемчужников М.К.**, Князев А.Н. Сравнительный анализ направленных двигательных реакций самок *Gryllus argentinus* на призывной сигнал самцов в норме и в условиях сенсорной патологии на разных этапах имагинального онтогенеза // В сб. XIV Международное совещание по эволюционной физиологии, посвященное памяти академика Л.А. Орбели, СПб. – 2011. – С. 74-75.
  14. **Жемчужников М.К.**, Князев А.Н. Микроанатомический анализ топографии желез ретроцеребрального комплекса сверчков родов *Gryllus* и *Phaeophilacris* // Материалы II Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы эволюционной морфологии животных», СПб. – 2011. – С. 142-145.