

На правах рукописи

Луничкин Александр Михайлович

ВКЛАД ЦЕРКАЛЬНОГО ОРГАНА В ОРГАНИЗАЦИЮ ДВИЖЕНИЯ У
СВЕРЧКОВ

03.03.01 - Физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург - 2020

Работа выполнена в Лаборатории сравнительной физиологии сенсорных систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук.

Научный руководитель:

Жуковская Марианна Исааковна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Фролов Андрей Николаевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией сельскохозяйственной энтомологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений Российской академии наук.

Жуков Валерий Валентинович, кандидат биологических наук, доцент Института живых систем Балтийского Федерального университета им. Иммануила Канта.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук, Москва

Защита состоится « 19 » января 2021 года в 11 часов на заседании диссертационного совета Д 002.127.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте эволюционной физиологии и биохимии им И.М. Сеченова Российской академии наук (194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44, тел. (812)552-79-01, электронная почта office@iephb.ru, сайт <http://iephb.ru>)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова (Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44), с авторефератом - на сайте ВАК РФ, с авторефератом и диссертацией - на сайте Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова <http://iephb.ru/sovet.htm>

Автореферат разослан « _____ » _____ 2020 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Р.Г. Парнова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Дистантная механосенсорная чувствительность формирует поведение насекомых, обеспечивая внутри- и межвидовую коммуникацию и ориентацию в пространстве. В ходе эволюции в разных отрядах возникают органы механорецепции, специализирующиеся на восприятии различных физических свойств анализируемого сигнала: частотного диапазона, звукового давления, смещения частиц среды. В филогенетических рядах насекомых роль этих органов меняется в соответствии с экологическими условиями и эволюционной историей вида.

Представители семейства *Gryllidae* обладают высокоразвитой системой генерации и детекции акустических сигналов, демонстрируют ограниченный набор четко выраженных поведенческих реакций. Появление тимпанального органа и акустической сигнализации у сверчков, связывают с привлечением полового партнера и встречей полов (Hoy, Robert, 1996; Horch et. al., 2017). Показано, что тимпанальный орган сверчков воспринимает также ультразвуковые сигналы летучих мышей, позволяя избегать этих хищников (Popov, Shuvalov, 1977; Nolen, Hoy, 1987; Marsat, Pollack, 2005; 2006). Вибрация субстрата, воспринимаемая подколенным органом, расположенным в голених всех ног сверчка, может участвовать во внутривидовой коммуникации и служить сигналом о приближении хищника (Šokl et. al., 1995; Hill, 2009). Другой орган, участвующий в своевременном обнаружении угрозы - церкальный. Обнаруженный им механосенсорный стимул обрабатывается нервной цепочкой из небольшого числа нейронов, что запускает реакцию избегания (Shimozawa et. al., 2003; Dangles et. al, 2004; Magal et. al., 2006; Dupuy et. al., 2011). Важную роль в поддержании чувствительности механосенсорных органов, а, следовательно, и в реализации поведенческих ответов, играет регулярная чистка насекомым периферических отделов своих сенсорных систем - груминг (Жуковская, 2011; Zhukovskaya, 2014).

Наряду с развитыми органами механорецепции и разнообразием форм поведения, сверчки не требовательны к содержанию, обладают высокой плодовитостью, крупными размерами, сохраняют в стабильных лабораторных условиях параметры развития и характерные для естественной среды реакции. Это делает их удобными модельными объектами для изучения организации механосенсорной чувствительности, позволяя выделить и исследовать отдельные акты акустического поведения (Ronacher et al., 2015; Horch. et. al., 2017).

При сравнительно-физиологическом исследовании механорецепторных органов сверчков *Gryllus bimaculatus* (Князев, 1986; Knyazev, 1990), *Gryllodes supplicans* (Князев, Орлов, 2001) и *Gryllus locorojo* (Жемчужников, Князев, 2011) было показано, что они функционируют не автономно, а в составе единого «комплекса», причем - тимпанальный доминирует, а другие - подколенный и церкальный - оказывают модулирующее влияние. На

основании этих данных была сформулирована гипотеза «о наличии у насекомых единого комплекса механосенсорных систем». Известно, что у личинок последнего возраста, обладающих акустической коммуникацией видов, характеристики и количество сенсорных единиц тимпанального органа - хордотональных сенсилл, полностью соответствует взрослому состоянию, однако только после линьки на имаго, когда появляются морфологически оформленные тимпанальные мембраны, проводящие звуковые колебания в голень передней ноги, орган становится полностью функциональным (Ball, Young, 1974; Nishino et. al., 2019).

Среди сверчков известно много случаев вторичной эволюционной потери акустической коммуникации и тимпанальных органов (Otte, 1992, Desutter-Grandcolas, 2004). Причинами, которые вызывают эти процессы, могут быть: сложность распознавания акустического сигнала в ряде специфических экологических условиях (пещеры, лесная подстилка) (Heidelbach, Dambach, 1997), развитие новых форм сигнализации, в том числе ольфакторных (Barranco et. al., 2013), влияние паразитов и хищников (Zuk, Kolluru, 1998; Zuk et. al., 2018), акустическая конкуренция с близким видом (Zuk, Simmons, 1997). В ряде случаев происходит утрата стридуляционного аппарата (Heinen-Kay et. al., 2018; Zuk et. al., 2018) или акустического сигнала (Zuk, Simmons, 1997; Zuk, Kolluru, 1998), которые в свою очередь ведут к исчезновению тимпанального органа. В других случаях, в начале теряется тимпанальный орган, воспринимающий акустический сигнал, в связи с переходом к колониальному образу жизни и, вследствие этого, к другим формам коммуникации, а затем происходит эволюционная утрата песни (Barranco et. al., 2013). Подобные эволюционные преобразования приводят к развитию новых форм сигнализации и сенсорных систем, морфо-функциональной перестройке системы органов чувств в целом (Otte, 1992; Dessutter-Grandcolas, 1995, 2013; Heidelbach, Dambach, 1997). Одной из групп сверчковых, в которой обнаруживаются разные стадии утраты слуха и акустической коммуникации, является подсемейство *Phalangopsinae*. Наиболее далеко эти процессы зашли у представителей рода *Phaeophilacris*, в частности, у вида *Ph. bredoides* (Dessutter-Grandcolas, 1995; Heidelbach, Dambach, 1997), что можно рассматривать как переход к размножению на стадии с неразвитыми имагинальными чертами - неотению. Особенности организации и функционирования комплекса механосенсорных органов у видов, полностью утративших тимпанальный орган, а также личинок поющих видов, ранее не изучались. Однако, можно предположить, что взаимодополняющий характер работы этих органов обнаруживается на различных онтогенетических стадиях и в разных филогенетических группах сверчков, являясь универсальным принципом работы комплекса дистантной механосенсорной чувствительности.

Цель исследования – определить вклад церкального органа сверчка, утратившего в ходе эволюции тимпанальный орган, в организацию

двигательного ответа на механические стимулы, в его сравнении с личинками «поющего» вида.

Для успешного достижения данной цели были поставлены и последовательно решены следующие задачи:

1. Определить периоды жизненного цикла сверчка *Ph. bredoides*, в которых выявляются внутривидовые поведенческие реакции, обеспечиваемые работой церкального органа, и оценить их продолжительность.

2. Описать морфологические характеристики церкальных органов имаго сверчка *Ph. bredoides* и личинки последнего возраста сверчка *G. bimaculatus* детектирующих дистантные механосенсорные стимулы.

3. Сравнить электрические ответы церкального органа сверчка *Ph. bredoides* на механические стимулы в контроле и при инактивации его сенсилл путем нанесения на него слоя глицерина при помощи электрофизиологических методов.

4. Охарактеризовать амплитудно-частотные диапазоны работы церкальных органов имаго сверчка *Ph. bredoides* и личинок сверчка *G. bimaculatus*, вызывающие защитный поведенческий ответ.

Научная новизна исследования.

Впервые выполнено морфологическое описание сенсорных элементов, расположенных на церкальном органе сверчка *Ph. bredoides*. Определен характер первичного рецепторного ответа нитевидных сенсилл церков сверчка на адекватный механический стимул. Впервые получены электрофизиологические доказательства снижения чувствительности церкальных механосенсорных сенсилл при нанесении на них слоя вязкой жидкости. Этологическим методом подтверждена обратимость снижения чувствительности церкального органа имаго *Ph. bredoides* и личинок последнего возраста сверчка *G. bimaculatus*. Выделены и описаны основные формы внутривидового механосенсорного поведения сверчка *Ph. bredoides*, с их использованием дана этологическая характеристика каждого периода имагинальной стадии обоих полов. Исследованы характеристики внутривидовой механосенсорной сигнализации самцов *Ph. bredoides*, сменившей утраченный в ходе эволюции акустический сигнал. Определена ключевая роль церкального органа в обеспечении внутривидового поведения *Ph. bredoides* - полового и агонистического. Установлен характер двигательного ответа на звук имаго сверчка, утратившего в ходе эволюции тимпанальный орган, и личиночной стадии «поющего» вида, у которой тимпанальный орган не сформировался полностью. Анализ поведенческих ответов показал, что церкальный орган сверчков способен воспринимать звук

выше 0.5 кГц, однако его роль в запуске движения на звуковой стимул различается у разных филогенетических рядов сверчковых.

Теоретическая и практическая значимость.

Полученные в работе данные о разной функциональной нагрузке компонентов механосенсорного комплекса имеют фундаментальное значение для изучения вопросов, связанных с эволюцией сенсорных систем, биокommunikацией насекомых, а также компенсаторными механизмами, сопровождающими утрату тимпанального органа в процессе эволюции. Предложенный комплексный подход, включающий электрофизиологический, морфологический и поведенческий методы, позволит проводить сравнительное исследование дистантных механосенсорных систем у разных отрядов насекомых. Результаты работы подтвердили гипотезу об универсальном принципе взаимодополняющей работы компонентов механосенсорного комплекса сверчков. Электрофизиологическим и этологическим методами было обосновано использование обратимой инактивации церкального сенсорного входа путем нанесения глицерина. Разработанный новый метод оценки первичного рецепторного ответа церков - электроцеркография - найдет применение в физиологических исследованиях работы церкального сенсорного входа и его вклада в организацию поведения. Материал диссертации может быть использован при чтении вузовских лекционных курсов «Физиология сенсорных систем», «Поведение животных», «Биология развития», для разработки новых высокоизбирательных средств борьбы с насекомыми-вредителями городского, сельского хозяйства, для разработки специфических каналов связи между искусственными управляемыми системами и биоботами, а так же для уточнения параметров развития насекомых в условиях лабораторной и промышленной зоокультур.

Методология и методы исследования.

Для решения поставленных экспериментальных задач были применены общепринятые и оригинальные электрофизиологические, этологические и морфологические методы и подходы, среди которых этологические методы анализа поведения животного в открытом поле и регистрации изменения позы закрепленного животного, электрофизиологический метод электроцеркограммы, сканирующая электронная микроскопия, методы сенсорной физиологии, которые включали в себя стимуляцию животного акустическим стимулом и обратимую инактивацию сенсорного органа.

Положения, выносимые на защиту

1. Увеличение числа и размеров нитевидных сенсилл, расположенных на церкальном органе *Ph. bredoides* является следствием потери этим видом звуковой коммуникации и тимпанального органа, и переходу к использованию во внутривидовой сигнализации потоков воздуха, создаваемых крыловыми махами.
2. Величина электрофизиологических ответов церков и вероятность поведенческих реакций сверчка на механическую стимуляцию зависит от функционального состояния церкального органа, поддерживаемого грумингом.
3. Двигательный ответ имаго *Ph. bredoides* на звук, при нарушении работы церкального органа, может быть обеспечен в области низких частот работой других механосенсорных органов, прежде всего, подколенного. Иные механосенсорные органы личинок *G. bimaculatus*, помимо церкального, не могут вызвать ответное движение на звук интенсивностью менее 100 дБ, в то время как движение на стимулы выше 100 дБ определяются работой хордотональных сенсилл формирующегося тимпанального органа и подколенным органом.
4. Принцип взаимозависимого функционирования элементов комплекса дистантной механосенсорной чувствительности половозрелых насекомых подтверждается для эволюционной линии сверчков, утратившей тимпанальный орган, что указывает на его универсальный характер.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были представлены и обсуждены на международных и всероссийских конференциях: Межвузовская конференция молодых ученых «Герценовские Чтения» (Санкт-Петербург, 2010, 2011); IV Международный семинар Евроазиатской Региональной Ассоциации Зоопарков и Аквариумов «Беспозвоночные Животные в Коллекциях Зоопарков и Инсектариив» (Москва 2010); Всероссийская конференция с международным участием «Механизмы регуляции физиологических систем организма в процессе адаптации к условиям среды», посвященная 85-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, 2010); Международная научно-практическая конференция «Современные вопросы науки XXI век» (Тамбов, 2011); VII International Interdisciplinary Congress «Neuroscience for Medicine and Psychology» (Sudak, 2011); Международная конференция «Биология – Наука XXI века» (Москва, 2012); XIV Съезд Русского Энтомологического Общества (Санкт-Петербург, 2012); XIV International Conference on Invertebrate Sound and Vibration (Glasgow, 2013); XXII Съезд Физиологического общества имени И.П. Павлова (Волгоград, 2013); VI Всероссийская конференция-школа, посвященная памяти чл.-корр. АН СССР Г.В. Гершуни «Физиология Слуха и Речи» (Санкт-Петербург, 2013); Всероссийская молодежная конференция «Нейробиология интегративных функций мозга» (Санкт-Петербург, 2013); XXI Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry «Stress and Behavior» (Saint-Petersburg,

2014); IV Съезд физиологов СНГ (Сочи – Дагомыс, 2014); III Всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы эволюционной морфологии животных» к 110-летию со дня рождения академика А.В. Иванова (Санкт-Петербург, 2016); V Съезд физиологов СНГ (Сочи – Дагомыс, 2016); XV Всероссийское совещание с международным участием и VIII Школа по эволюционной физиологии, посвященные памяти академика Л.А. Орбели и 60-летию ИЭФБ РАН (Санкт-Петербург, 2016); Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология» (Санкт-Петербург, 2019).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 24 работы, в том числе 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ для размещения материалов кандидатских диссертаций, 19 тезисов докладов всероссийских и международных конференций.

Личный вклад автора. Автор планировал диссертационное исследование и разрабатывал дизайн экспериментов, поддерживал культуру лабораторных животных. Все экспериментальные результаты, приведенные в диссертационной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии. Автор проводил статистическую обработку полученных данных, анализировал и обобщал их, принимал участие в подготовке публикаций по материалам работы, представлял результаты на всероссийских и международных конференциях. Имена соавторов указаны в соответствующих публикациях.

Финансовая поддержка работы. Работа выполнена за счет средств государственного бюджета по госзаданию № АААА-А18-118013090245-6, грантов Российского фонда фундаментальных исследований №№ 13-04-00610; 14-04-31042.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, включающего 262 источник (из них 241 иностранных). Текст диссертации изложен на 143 страницах, содержит одну таблицу и 30 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные животные. Исследования проводили на сверчках *Phaeophilacris bredoides* Kalt., 1986, и личинках последнего возраста (2-7 сутки после линьки на последний возраст) сверчка *Gryllus bimaculatus* Deg. 1773 из круглогодичной лабораторной культуры. Насекомых содержали в постоянном микроклимате: температура 26°C, влажность воздуха 60%. Световой режим – 12 ч света и 12 ч темноты.

Изучение жизненного цикла и внутривидового поведения сверчка *Ph. bredoides*. Из 4111 яиц, отобранных для прослеживания длительности онтогенетических стадий, была получена 281 личинка первого возраста и 61 имаго (45 самцов и 19 самок). В исследовании репродуктивного поведения использовано 10 самцов и 10 самок. Длительности стадий личиночного онтогенеза определяли как разность между днем, когда на этот возраст перелиняло 50% насекомых и днем, когда 50% культуры перелиняло на последующий возраст. Продолжительность периодов имагинального онтогенеза определяли по медианам выборок индивидуальных длительностей имагинальных периодов. Периодизацию имагинального онтогенеза и описание репродуктивного поведения изучали методом открытого поля. Для описания элементов внутривидового поведения к самцам в садок объемом 450 см³ подсаживали некопулировавших половозрелых самок или половозрелых самцов. Для записи экспериментов использовали видеокамеру Samsung НМХ-Н300RP (матрица 5 МП (1/4")).

Описание морфологических типов сенсилл. Было изучено 4 церка имаго *Ph. bredoides* (2 церка самца, 2 церка самки) и 4 церка личинки *G. bimaculatus* (2 церка личинки-самца, 2 церка личинки-самки). Перед удалением церок животных наркотизировали при помощи СО₂. Морфометрия сенсилл имаго *Ph. bredoides* проводилась на основе фотографий, сделанных в Российском государственном педагогическом университете имени А.И. Герцена при помощи сканирующего электронного микроскопа Zeiss Evo-40 (напыление золотом). Церкальные сенсиллы личинок *G. bimaculatus* изучали при помощи сканирующего электронного микроскопа FEI - Quanta 250 (напыление платиной) в Зоологическом Институте РАН. Размеры сенсилл определяли в программе PhotoM 1.21 (разработка программы: Черниговский, 2000–2004).

Метод инактивации церкального органа. Для инактивации церкального органа применяли метод нанесения на него вязкой жидкости – глицерина, который при нанесении на церок, заполнял чашечки волосковых сенсилл, препятствуя смещению нитевидного волоска и возбуждению нейрона. Глицерин не токсичен для сверчков, не нарушает их двигательного поведения и легко очищается в процессе груминга.

Изучение электрофизиологических ответов изолированных церков сверчка *Ph. bredoides*. Для изучения активности церкального органа использовали оригинальную методику отведения электроцеркограммы. Церок удаляли у наркотизированного (при помощи СО₂) животного вблизи основания и помещали в держатель. Хлорсеребряные электроды контактировали с дистальным и проксимальным концами церка с помощью смоченных в растворе Рингера для насекомых (Zhukovskaya, Kapitsky, 2006) полосок фильтровальной бумаги. Места контактов изолировали от центральной части церка при помощи валиков пластилина. Предусилитель с входным сопротивлением 100 МОМ и коэффициентом усиления $K_{yc}=10$, находился внутри экранированной камеры. Выходной сигнал подавался на

вход усилителя Intracellular Electrometer Model 3100 (A-M Systems, США), $K_{\text{ус}}=10$, низкочастотный фильтр 5 кГц, а затем оцифровывался с помощью осциллографа PPS 10 (Velleman Instruments, США) и сохранялся в виде текстовых файлов на компьютере. Стимулом был поток воздуха со скоростью 1.3 м/с, который подавался из трубки диаметром 2 мм под углом около 15° к оси церка, по направлению к его основанию, с длительностью 1 с. ЭЦГ регистрировали в течение 5 с; интервал между предъявлениями стимула - 30 секунд. Регистрировали по пять контрольных электроцеркограмм и от покрытых глицерином церков. Использовали 20 церков от 12 самцов. Обработку данных проводили в программе MS Excel. Определяли величины on- и off- пиков и плато ответов. Уровень шума рассчитывали как среднеквадратическое отклонение для значений напряжения последних трех секунд записи. Значения измеренных параметров представляли как средние значения со стандартной ошибкой.

Методы изучения двигательных ответов на стимуляцию звуком. Частотно-амплитудные диапазоны сигналов, запускающих двигательный ответ имаго *Ph. bredoides* и личинок *G. bimaculatus*, определяли методом регистрации позы закрепленного животного в ответ на звуковой стимул. Опыты проводили в звукозаглушенной анэхоидной камере объемом 349000 см³, при температуре 26 °С. Животное подвешивали в фиксированной точке камеры в воздухе. Стимулами были синусоидальные сигналы частотой от 0.1 до 10 кГц с шагом 0.1 кГц, длительностью 1 с и фронтами нарастания и убывания амплитуды 50 мс, сгенерированные в программе Adobe Audition 3.0. Источником сигнала был динамический мониторный громкоговоритель M-AUDIO Studiophile DX4, расположенный сзади от сверчка, на расстоянии 15 см. Интенсивность сигнала измеряли в точке расположения объекта с помощью микрофона MPA201 через анализатор спектра ZET 017-U2 (Zetlab, программное обеспечение оборудования). Каждый стимул подавали животному в виде серии из пяти предъявлений. Интервал между предъявлениями - 10 с. Интервал между разными по интенсивности и частоте сериями - 60 с. Изучили двигательные ответы при следующих интенсивностях стимула: 110, 100, 90 и 80 дБ УЗД. Реакции фиксировали при помощи инфракрасной видеокамеры Genius e-Face 2025, изображение с которой записывали в программе CrazyTalk CamSuite PRO. Двигательным ответом считали резкие «вздрагивания» животного, сопровождающиеся движениями конечностей и антенн - фонокинез.

Было проведено три серии экспериментов при каждой интенсивности стимула.

- 1) Стимул предъявляли интактным животным.
- 2) Стимул предъявляли животным с инактивированным (с помощью глицерина) церкальным органом.

3) Стимул предъявляли животным, очистившим церкальный орган от глицерина путем груминга.

Для *Ph. bredoides* все три серии опытов проводили на одних и тех же животных, по 10 особей (5 самцов, 5 самок) для каждой интенсивности сигнала. Для *G. bimaculatus* все серии опытов проводили на разных животных, по 10 особей (5 самцов, 5 самок) для каждой интенсивности и серии опытов. Уровень двигательной активности каждого животного определяли как число ответов на пять последовательных предъявлений стимула. Для выборки из 10-ти животных рассчитывали медиану этой величины. Порогом считали уровень двигательной активности равный единице. Вклад церкального органа вычисляли как разницу уровней двигательной активности животных с интактными и инактивированными церками.

Методы статистического анализа. Статистическую обработку результатов, построение графиков и гистограмм проводили в программе MS Excel 14 (© Microsoft, 2010) и программном пакете Statistica 10 (© StatSoft, Inc., 2010). Нормальность распределения данных в выборках определяли при помощи теста Колмогорова-Смирнова. Достоверными считали различия при $P < 0.05$. Анализ данных по продолжительности периодов имагинального онтогенеза самцов и самок проводили, используя U-критерий Манна-Уитни. Достоверность различий параметров электроцеркограмм до и после покрытия церок глицерином, а также в группах с различным уровнем ответа оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. В поведенческих экспериментах сравнение выборок интактных животных, животных с инактивированным церкальным органом и животных, очистивших его путем селф-груминга, для имаго *Ph. bredoides* проводили по T-критерию Вилкоксона, для личинок *G. bimaculatus* по U-критерию Манна-Уитни. Для сравнения двигательных ответов самцов и самок и оценке отличий двигательной активности от максимального уровня использовали U-критерий Манна-Уитни.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Периоды жизненного цикла сверчка *Ph. bredoides*, в которых выявляются поведенческие реакции, инициируемые церкальным органом.

Продолжительность эмбрионального развития *Ph. bredoides* составляет 28 суток ($n=277$). Общая продолжительность стадии личинки в выбранных стандартизированных условиях - 230 сут ($n=61$), делящаяся на 25 возрастов. Длительность стадии имаго не различается для самцов и самок и составляет 126 сут ($n=9$) и 125 сут ($n=10$), соответственно.

У *Ph. bredoides* выделены формы внутривидового коммуникационного поведения: репродуктивное и агонистическое (оборонительное и агрессивное), несущие ту же функцию, что и у поющих видов. Это позволило выработать критерии периодизации имагинального онтогенеза вида.

Ключевая форма сигнализации самцов - крыловые махи, которые появляются на 4 (3–6) сут имагинального онтогенеза (n=10). Они представляют собой резкое движение надкрыльями по дуге 180° вдоль продольной оси тела и являются элементом репродуктивного и агонистического поведения самцов. Частотные параметры внутривидовых сигналов самцов *Ph. bredoides*, видимо, схожи с таковыми у близкого вида *Ph. Spectrum*, крыловые махи которого формируют воздушный поток с частотой 8-12 Гц, распространяющийся в сторону другой особи и воспринимаемый церкальным органом (Heidelbach, Dambach, 1991, 1997).

В имагинальном онтогенезе обоих полов выделяются предрепродуктивный, репродуктивный и пострепродуктивный периоды (рис. 1). В предрепродуктивный период самцы в присутствии самки не проявляют специфических реакций, а на присутствие самца отвечают защитными реакциями. Самки не отвечают на ухаживания самцов. Длительность предрепродуктивного периода составляет у самцов 4 (3–6) сут (n=9), у самок - 5 (2–7) сут (n=10) и статистически достоверно не отличается ($P>0.05$, U-критерий). Репродуктивный период у самцов длится 119 (98–135) сут (n=9) и характеризуется наличием сигнализации крыловыми махами, у самок - 116 (97–133) сут (n=10) ($P>0.05$, U-критерий). В течение всего периода самцы и самки демонстрируют брачное поведение, которое заканчивается спариванием. Для самцов характерно агрессивное поведение, которое появляется на 4 (3–7) сут (n=9), что совпадает с проявлением репродуктивного поведения ($P>0.05$, U-критерий). Пострепродуктивный период начинается с момента исчезновения полового поведения и завершается гибелью. У самцов этот период продолжается 3 (2–3) сут (n=9), у самок - 4 (2–7) сут (n=10) ($P>0.05$, U-критерий).

Таким образом, в ходе имагинального онтогенеза происходит последовательная смена оборонительного поведения на агрессивное и репродуктивное у самцов и репродуктивное у самок, а затем в конце жизни быстрое угасание этих форм поведения и возвращение оборонительного поведения. Эволюционная утрата сверчком *Ph. bredoides* акустического сигнала и тимпанального органа компенсируется появлением в коммуникации вида нового механосенсорного сигнала: структурированного во времени воздушного потока. Церкальный орган является главной структурой, которая воспринимает этот сигнал, обеспечивая тем самым внутривидовое поведение, характерное для репродуктивного периода имагинального онтогенеза.



Рис. 1. Периоды имагинального онтогенеза *Ph. bredoides*, в которых присутствуют поведенческие реакции, инициируемые церкальным органом. Цифры – длительности периодов (медианы).

Морфологическая характеристика церкального органа имаго *Ph. bredoides*.

Длина церкального органа *Ph. bredoides* составляет 16 ± 1.5 мм ($n=10$, достоверных отличий между самцами и самками не обнаружено, $p > 0.05$, U-критерий Манна-Уитни). Церкальный орган покрыт большим количеством нитевидных сенсилл, которые характеризуются наличием длинного волоска и окружающей его основание кольцевидной кутикулярной чаши. Такие сенсиллы обнаруживаются на всем церке, их общее число составляет 1110 ± 16 ($n=4$). Минимальный диаметр чаши 12 мкм, максимальный - 40 мкм (среднее - 23 ± 0.4 мкм, $n=290$). Длина волосков колеблется в пределах от 450 до 2200 мкм ($n=130$). Распределение волосков по длине соответствует нормальному (тест Колмогорова-Смирнова) (рис. 2).

От длины волоска зависит резонансная частота колебаний и, соответственно, частота воспринимаемого нитевидной сенсиллой сигнала. Наибольшая чувствительность сенсилл с волоском менее 200 мкм лежит в области 0.1-0.5 кГц (Kumagai et. al. 1998). С увеличением длины волоска, чувствительность смещается в сторону более низких частот. Исходя из того, что у *Ph. bredoides* подавляющее большинство нитевидных сенсилл обладает длинными волосками (более 800 мкм, $n=130$), церкальный орган данного вида наиболее приспособлен к рецепции низкочастотных сигналов и потоков воздуха, соответствующих характеристикам внутривидовых сигналов.

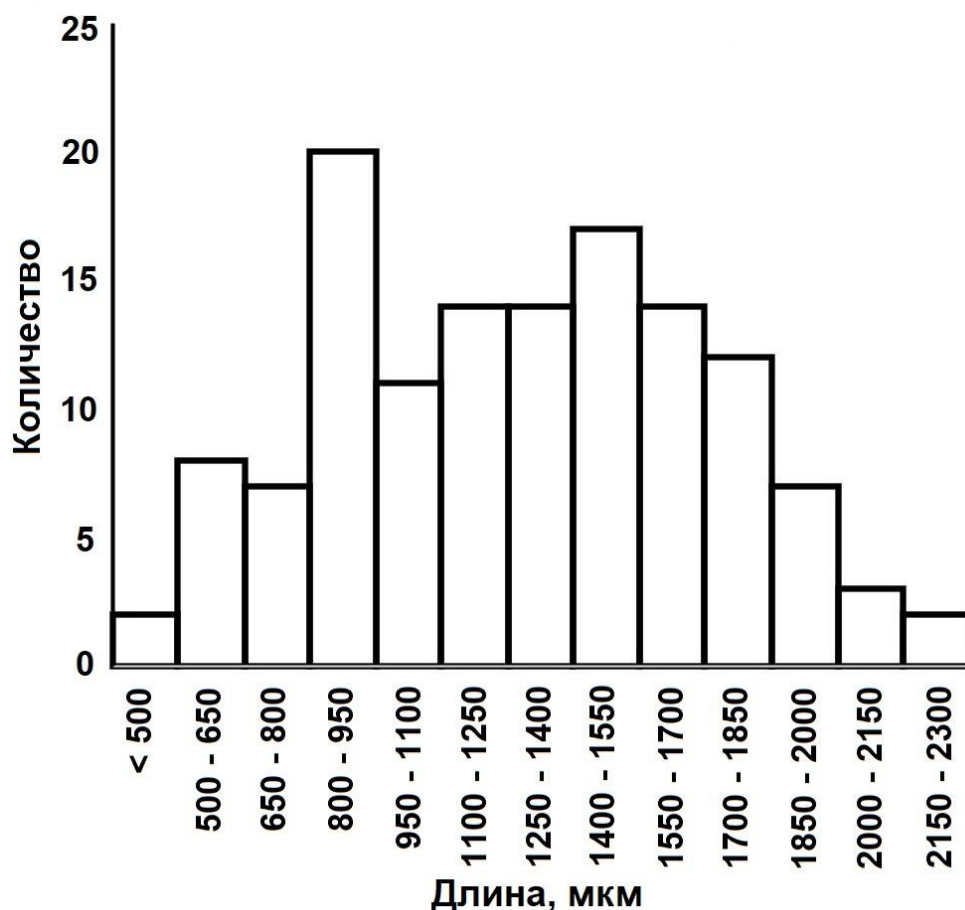


Рис 2. Распределение нитевидных сенсилл церкального органа личинок имаго *Ph. bredoides* согласно длине кутикулярного волоска.

Морфологическая характеристика церкального органа личинок *G. bimaculatus*.

Длина церкального органа личинки последнего возраста сверчка *G. bimaculatus* составляет 6.0 ± 0.4 мм ($n=10$, достоверных отличий между самцами и самками не обнаружено, $p > 0.05$, U-критерий Манна-Уитни). Число нитевидных сенсилл на одном церке 845 ± 27 ($n=4$). Размеры волосков нитевидных сенсилл варьируют от 20 до 1310 мкм ($n=205$). Размеры чаш от 9 до 83 мкм ($n=166$). Преобладают сенсиллы с волосками менее 200 мкм, которые по данным ряда авторов способны воспринимать стимулы до 2 кГц (Князев, Попов, 1977; Shimosawa, Kanou, 1984) (рис. 3).

Церок личинки *G. bimaculatus*, в сравнении с имаго *Ph. bredoides*, значительно короче. Он несет меньшее число нитевидных сенсилл, а размеры их волосков в основном короче, тех, которые обнаруживаются у *Ph. bredoides*. Наоборот, волоски длиной более 1300 мкм у *G. bimaculatus* отсутствуют. Таким образом, церкальный орган личинок *G. bimaculatus* соответствует более высокочастотной акустической среде, в сравнении с низкочастотными сигналами, наблюдаемыми в коммуникации *Ph. bredoides*.

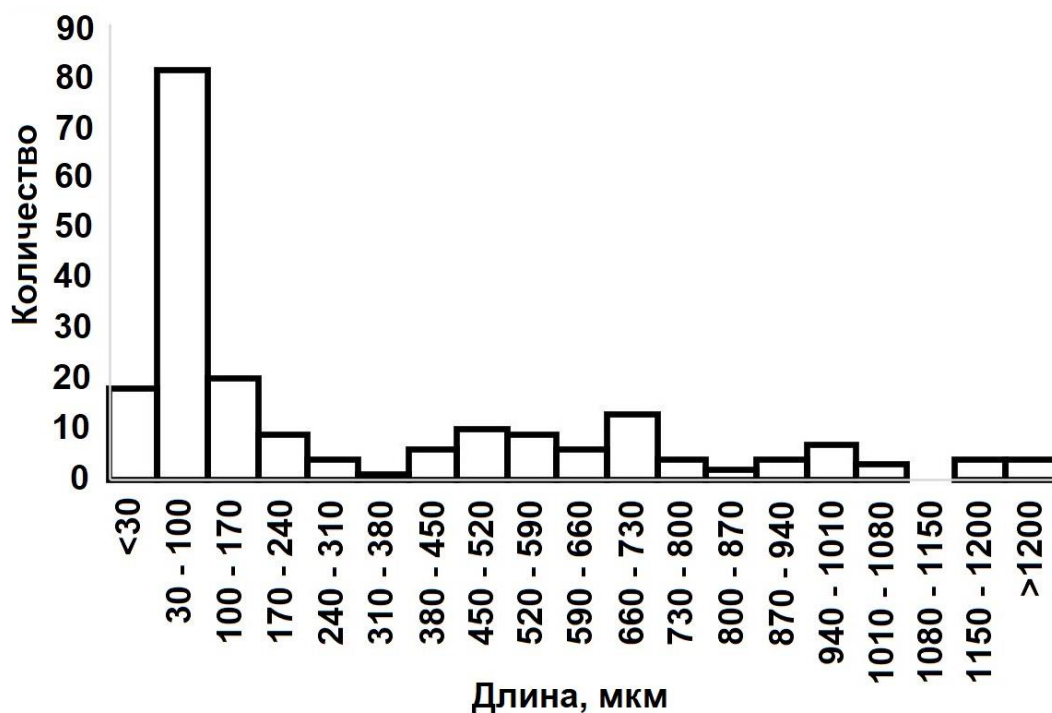


Рис. 3. Распределение нитевидных сенсилл церкального органа личинок *G. bimaculatus* согласно длине кутикулярного волоска.

Электрофизиологические ответы церка *Ph. bredoides* в контроле и при инактивации (путем нанесения слоя глицерина).

Основной вклад в генерацию суммарного электрического ответа церкального органа вносит рецепторный потенциал – первичная электрическая реакция сенсорных клеток, при этом величина ответа зависит как от интенсивности стимула, так и от количества реагирующих сенсилл на участке, от которого регистрируется ответ (Kapitskii, Gribakin, 1992; Жуковская и др., 2017). Электрический ответ церка на толчок воздуха состоял из негативного колебания потенциала – оп-ответа, переходящего в плато, и ответа на выключение – положительного off-ответа. Средняя величина негативного оп-ответа составила 0.37 ± 0.04 мВ, плато – 0.14 ± 0.02 мВ, положительного off-ответа - 0.43 ± 0.02 мВ ($n=20$). Уровень шума составлял 0.07 ± 0.01 мВ (рис. 4).

Электрофизиологическое исследование ответов церка на стимуляцию потоком воздуха показало, что нанесение на церок слоя глицерина достоверно уменьшает регистрируемые ответы и, в большинстве случаев, делает их неразличимыми на уровне шума ($p < 0.01$, t-критерий Стьюдента). Величина оп-ответа составила 0.13 ± 0.02 мВ, плато – 0.072 ± 0.02 мВ, off-ответа 0.15 ± 0.02 мВ ($n=20$) (Рис. 4). Уровень шума, наблюдаемый после нанесения на церок слоя глицерина достоверно снизился и составил 0.05 ± 0.01 мВ ($p < 0.05$, t-критерий Стьюдента). Однако, это снижение составляло только 30% от изначального

уровня. По-видимому, это связано с уменьшением подвижности кутикулярных отделов сенсилл. Оставшиеся 70% включают спонтанную активность церкальных нейронов и шум регистрирующей аппаратуры. Электрическое сопротивление для контрольных и инактивированных церков статистически не различалось и составляло 0.8 ± 0.2 и 0.9 ± 0.1 МОм, соответственно.

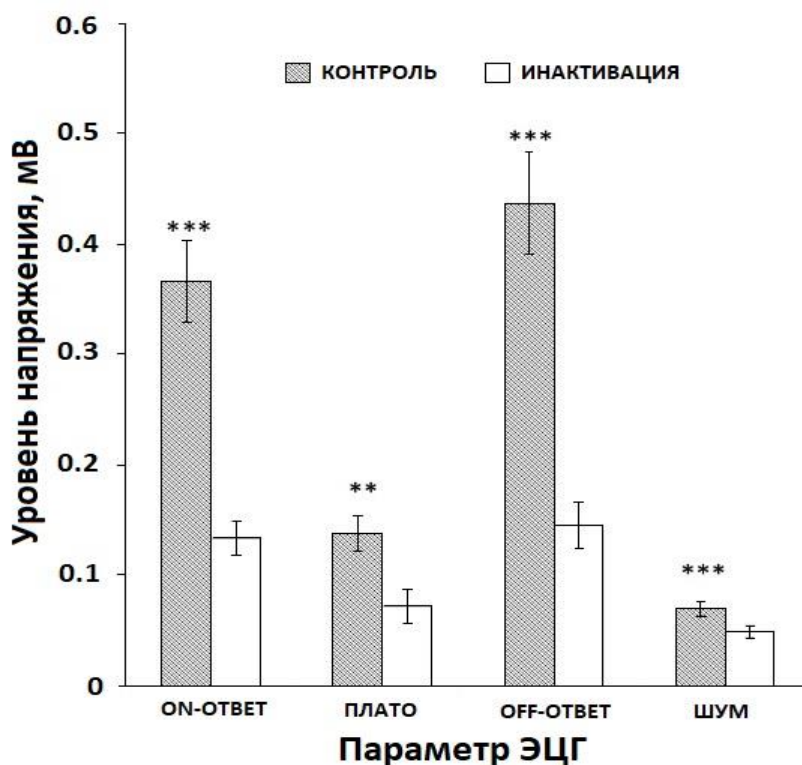


Рис. 4. Параметры ЭЦГ ответов на толчок воздуха (мВ). Звездочками обозначены достоверные - различия между группами «контроль» и «инактивация»: ** - $p < 0.01$; * - $p < 0.001$, t-критерий**

Наблюдаемое в ряде случаев превышение ответов инактивированного церка над уровнем шума может быть связано с высокой интенсивностью выбранного стимула. Скорость потока, использовавшегося в опыте 1.3 м/с в несколько раз больше скоростей внутривидовых сигналов, которые описаны для сверчков рода *Phaeophilacris* (для *Ph. spectrum* - 0.3–0.4 м/с, по Heidelberg, Dambach, 1991). Звуковые сигналы и толчки воздуха, близкие по интенсивности к естественным, не будут выходить за уровень шума.

Электрофизиологическая оценка периферических ответов церка, проведенная при помощи нового разработанного метода электроцеркографии, подтверждает эффективность метода нанесения глицерина. Показано, что инактивация им церкального органа ограничивает детекцию церками механосенсорных стимулов (в том числе, звука и сигналов ближнего поля).

Это позволяет применить метод нанесения глицерина для поведенческих исследований.

Двигательные ответы имаго *Ph. bredoides* и личинок *G. bimaculatus* на стимуляцию звуком.

Характер двигательных ответов на звук был одинаков для стимулов разной частоты и интенсивности. Двигательная активность самцов и самок как *Ph. bredoides*, так и *G. bimaculatus*, достоверных отличий не имела ($p > 0.05$, U-критерий Манна-Уитни) ни в одном из экспериментов, поэтому для дальнейшей обработки пол животного не учитывали.

При увеличении интенсивности стимула у *G. bimaculatus* происходит расширение частотного диапазона стимулов, в ответ на которые наблюдается двигательная активность. Двигательных реакций при интенсивности звука менее 80 дБ не наблюдалось. При интенсивности 80 дБ ответы обнаруживаются в диапазоне 0.1–0.6 кГц; при 90 дБ - 0.1–1.3 кГц; при 100 дБ - 0.1–1.5 кГц; при 110 дБ - 0.1–6 кГц. Для всех интенсивностей характерна схожая динамика изменения двигательной активности вдоль частотного диапазона: в низкочастотной области диапазона она максимальна, с повышением частоты начинает снижаться вплоть до полного исчезновения. При интенсивности 80 дБ снижение начинается с 0.4 кГц, при 90 дБ - с 0.5 кГц; при 100 дБ - с 1.4 кГц; при 110 дБ - с 4.6 кГц.

После инактивации церкального органа наблюдается снижение уровня ответов и сужение диапазона частот, в которых они возникают. При интенсивности 80 дБ уровень ответа достоверно отличался от интактных животных для сигналов в диапазоне 0.1–0.7 кГц; при 90 дБ - 0.5–1.3 кГц; при 100 дБ - 0.9–1.5 кГц; при 110 дБ 3.3–5.9 кГц ($p < 0.05$, W-критерий Вилкоксона). Полностью исчезали ответы на стимулы частотой 0.5–0.6 кГц при 80 дБ; 0.9–1.3 кГц при 90 дБ; 1.2–1.5 кГц при 100 дБ. При интенсивности стимула 110 дБ снижался уровень двигательной активности, но частотный диапазон не изменялся. После очистки церкального органа уровень двигательной активности, характерный для интактных животных, полностью восстанавливался. Таким образом, вклад церкального органа *Ph. bredoides*, рассчитанный как разница между показателями для насекомых с интактным и инактивированным церкальным аппаратом, в запуск ответного движения на звук меняется в зависимости от интенсивности стимула (рис. 5), а именно сдвигается в сторону высоких частот при усилении сигнала. В низкочастотной области его вклад маскируется работой других механосенсорных органов, прежде всего, - подколенного органа, который способен воспринимать механические колебания в пределах до 2 кГц (Cokl et al, 1995; Peljhan, Strauß, 2018). В области средних частот наблюдается совместная работа церкального и подколенного органов: при инактивации церков ответы остаются, хотя их уровень снижается.

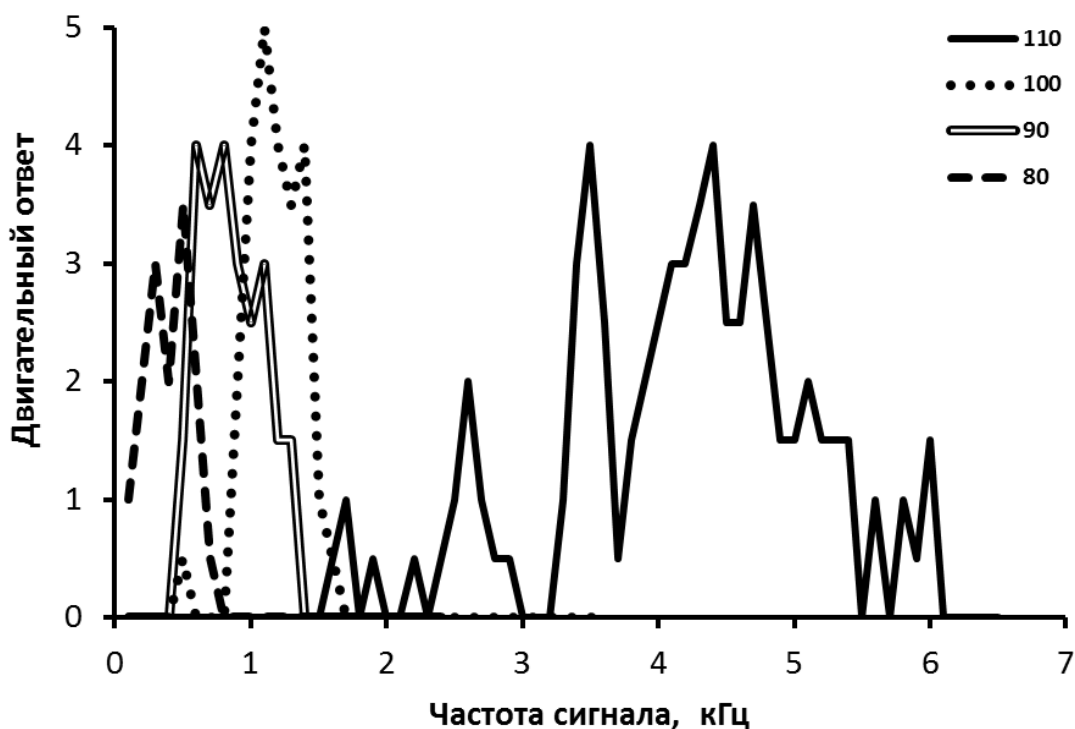


Рис. 5. Вклад церкального органа имаго *Ph. bredoides* в запуск двигательного ответа на звук от 0.1 до 7 кГц (n=50). Тип линии соответствует интенсивности звука, Дб.

У личинок *G. bimaculatus*, также как и у имаго *Ph. bredoides*, при увеличении интенсивности стимула, происходит расширение частотного диапазона, в котором наблюдается двигательная активность. При интенсивности 90 дБ ответы обнаруживаются в диапазоне 0.1–0.8 кГц; при 100 дБ - 0.1-1.4 кГц; при 110 дБ - 0.1–6.6 кГц. При интенсивности 90 дБ сверчки отвечают на каждый предъявленный стимул только на сигналы частотой 0.3 кГц; при 100 дБ УЗД на сигналы в диапазоне 0.1-0.6 кГц; при 110 дБ - 0.1-5.6 кГц.

После инактивации церкального органа достоверные отличия между животными с интактными и инактивированными церками обнаружены для сигналов в диапазоне 0.1–0.4 кГц при интенсивности 90 дБ и в диапазоне 0.1–1.3 кГц при 100 дБ ($p < 0.05$, U-критерий Манна-Уитни). При интенсивности 90 дБ после инактивации пропали ответы на стимулы частотой выше 0.3 кГц, при 100 – выше 0.9 кГц. Уровень ответов на стимулы интенсивностью 110 дБ не изменялся. Также как и у *Ph. bredoides*, после груминга уровень двигательной активности восстанавливался. Таким образом, вклад церкального органа необходим для ответов на стимулы интенсивностью 90 и 100 дБ, его инактивация не может быть компенсирована работой других механосенсорных органов (рис. 6). Однако, ответы на очень громкие звуки 110 дБ полностью обеспечиваются подколенным органом и, вероятно,

хордотональными сенсиллами тимпанального органа, а участие церков в реализации ответа на стимулы не существенно.

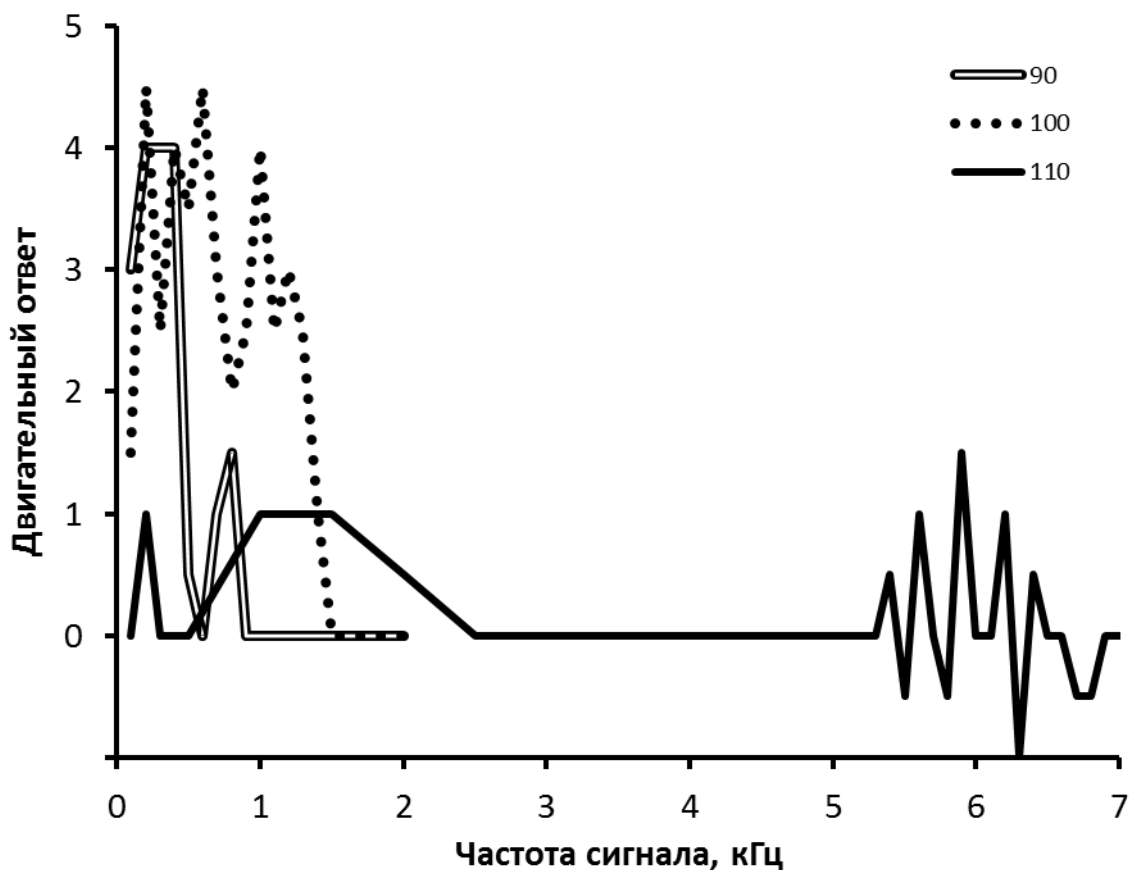


Рис. 6. Вклад церкального органа личинок *G. bimaculatus* в запуск двигательного ответа на звук от 0.1 до 7 кГц (n=50). Тип линии соответствует интенсивности звука, Дб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования был предложен комплексный подход к изучению церкального механосенсорного органа и его роли в формировании поведенческих ответов на механические, в том числе акустические, стимулы. Подход включает в себя общепринятые и оригинальные электрофизиологические, этологические и морфологические методы и подходы. Сравнительное изучение морфо-физиологической организации и частотно-амплитудных диапазонов работы церкального органа сверчков, различных онто- и филогенетическими стадий обнаружило, что роль церков в организации их поведения различается. Во-первых, инактивация церкального органа личинок *G. bimaculatus* приводит к более масштабным нарушениям двигательного поведения, вплоть до его полного исчезновения, при физиологических значениях интенсивности. Во-вторых, при экстремальной

интенсивности стимула, в запуск ответного движения личинок ключевой вклад начинают вносить сенсиллы формирующегося тимпанального органа.

Изучение потерявшего в ходе эволюции тимпанальный орган и видоспецифическую «песню» африканского пещерного сверчка *Ph. bredoides*, показало ряд компенсаторных изменений в образе жизни и коммуникации. К ним относятся: появление новых способов механосенсорной сигнализации, развитие церкального органа, изменение роли разных механосенсорных органов в формировании поведенческого ответа.

Внутривидовые сигналы *Ph. bredoides*, так же как акустический сигнал поющих видов, воспринимаются комплексом механосенсорных органов. Полученные данные подтверждают гипотезу о соподчиненном характере работы механосенсорных систем насекомых: они функционируют не автономно, а в составе единого комплекса, причем одна из систем доминирует, а другие оказывают модулирующее влияние. Экспериментальное ограничение чувствительности церкального органа значительно уменьшает вероятность проявления поведенческого ответа, но до некоторой степени компенсируется работой иных компонентов комплекса.

ВЫВОДЫ

1. В имагинальной стадии самцов и самок *Ph. bredoides* выделены три периода: предрепродуктивный, репродуктивный и пострепродуктивный. Церкальный орган участвует в реализации полового и агонистического поведения в репродуктивном периоде, воспринимая внутривидовые низкочастотные сигналы, продуцируемые крыловыми махами.
2. Выявлено значительное развитие церкального органа *Ph. bredoides* по сравнению с личинками *G. bimaculatus*, которое выражается в большем числе нитевидных сенсилл с длинными волосками, позволяющими детектировать внутривидовые механосенсорные сигналы.
3. Суммарный электрический ответ церкального органа *Ph. bredoides* на толчок воздуха состоит из трех элементов: on-пика, плато и off-пика. Инактивация церков глицерином снижает величину всех элементов ответа, что позволяет использовать данный метод для ограничения механосенсорной чувствительности церкального органа.
4. Имаго *Ph. bredoides*, лишённые тимпанального органа, и личинки *G. bimaculatus*, у которых формирование этого органа не завершено, способны отвечать на звуковые стимулы благодаря работе церкального и других механосенсорных органов. При увеличении интенсивности стимула расширяется частотная область, в которой наблюдается ответ.
5. Двигательные реакции личинок *G. bimaculatus* в ответ на механические колебания во всем диапазоне частот инициируются церкальным органом при интенсивности стимула 90-100 дБ УЗД. При интенсивностях более 100 дБ УЗД церкальный орган не требуется для запуска движения.

6. У имаго *Ph. bredoides*, лишившегося в ходе эволюции тимпанального органа, церки полностью обеспечивают формирование ответа на механические колебания в высокочастотной области, частично - в области средних частот. При низких частотах церкальный орган не является необходимым для запуска двигательного ответа.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах:

1. Луничкин А.М., Жемчужников М.К., Князев А.Н. Онтогенез сверчка *Phaeophilacris bredoides* Kaltenbach (*Orthoptera, Gryllidae*) // Энтомологическое обозрение. - 2012. - Т. 91 - № 3. - С. 506–519.
2. Луничкин А.М., Жемчужников М.К., Князев, А.Н. Основные элементы внутривидового поведения сверчка *Phaeophilacris bredoides* Kaltenbach (*Orthoptera, Gryllidae*) // Энтомологическое обозрение - 2013. - Т. 92 - № 4, - С. 673–683.
3. Луничкин А.М., Князев А.Н. Участие структур механосенсорного комплекса сверчка *Phaeophilacris bredoides* Kaltenbach (*Orthoptera, Gryllidae*) в запуске двигательных ответов на звук // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2017. – Т. 53 - №6. - С. 425–436.
4. Луничкин А.М., Князев А.Н. Участие структур механосенсорного комплекса личинок сверчка *Gryllus bimaculatus* Deg. (*Orthoptera, Gryllidae*) в запуске двигательных ответов на звук // Журнал эволюционной биохимии и физиологии – 2018. – Т. 54 - № 2. - С. 128–138.
5. Луничкин А.М., Баулин Ю.А., Жуковская М.И., Князев А.Н. Оценка метода инактивации церкальных сенсилл сверчка с помощью электроцеркограммы // Сенсорные системы – 2019. – Т. 33. - №. 4. – С. 351–354.

Тезисы докладов:

1. Луничкин А.М., Князев А.Н. Жизненный цикл и биокоммуникация Африканского пещерного сверчка (*Phaeophilacris bredoides* Kaltenbach) // Материалы Межвузовской конференции молодых ученых «Герценовские Чтения», Санкт-Петербург - 2010. – Выпуск 10. - С. 156–158.
2. Луничкин А.М., Жемчужников М.К. Внутривидовая механоакустическая коммуникация сверчка *Phaeophilacris bredoides* // Тезисы докладов Конференции молодых ученых «Механизмы регуляции физиологических систем организма в процессе адаптации к условиям среды», Санкт-Петербург – 2010. – С. 65–66.

3. Князев А.Н., Орлов А.В., Жемчужников М.К., **Луничкин А.М.** Сравнение основных параметров жизненных циклов сверчков родов *Gryllus*, *Gryllodes* и *Phaeophilacris* в лабораторных условиях // Материалы Четвертого Международного семинара «Беспозвоночные Животные в Коллекциях Зоопарков и Инсектариев», Москва. – 2011. – С. 102–105.

4. **Луничкин А.М.**, Жемчужников М.К., Князев А.Н. Цикл развития сверчка *Phaeophilacris bredoides* Kalt. в условиях лабораторного содержания // Материалы Четвертого Международного семинара «Беспозвоночные Животные в Коллекциях Зоопарков и Инсектариев», Москва. – 2011. – С. 118–120.

5. **Луничкин А.М.**, Жемчужников М.К., Князев А.Н. Возможна ли внутри и/или межвидовая акустическая сигнализация у сверчков *Phaeophilacris bredoides* Kalt. // В сборнике научных трудов Международной научно-практической конференции «Современные вопросы науки - XXI век», Тамбов, - Выпуск VII. – Ч. 4. - С. 93–94.

6. **Луничкин А.М.**, Жемчужников М.К., Князев А.Н. Диапазон звуковых частот, воспринимаемых сверчком *Phaeophilacris bredoides* Kalt. // Материалы Межвузовской конференции молодых ученых «Герценовские Чтения», Санкт-Петербург - 2011. – Выпуск 11. - С. 59–61.

7. **Lunichkin A.M.**, Zhemchuzhnikov M.K., Knyazev A.N. Can crickets *Phaeophilacris bredoides* Kalt. perceive sound signals // International Congress “Neuroscience for Medicine and Physiology”, Ukraine, Sudak. – 2011.- P. 272–273.

8. **Луничкин А.М.**, Жемчужников М.К., Князев А.Н. Исследование базовых принципов акустической коммуникации на модельных объектах – насекомых (*Orthoptera*, *Gryllidae*) // Материалы международной конференции «Биология – наука XXI века», Москва. – 2012. – С. 503–505.

9. **Луничкин А.М.**, Жемчужников М.К., Князев А.Н. Как осуществляется внутри- и/или межвидовая сигнализация у сверчков *Phaeophilacris bredoides* Kalt.? // Материалы XIV съезда Русского энтомологического общества, Санкт-Петербург. – 2012. – С. 256.

10. **Lunichkin A.M.**, Zhemchuzhnikov M.K., Knyazev A.N. Do the cave crickets *Phaeophilacris bredoides* Kalt. perceive the sound signals? // XIV International Conference on Invertebrate Sound and Vibration, Glasgow, United Kingdom. - 2013. – P. 92.

11. **Луничкин А.М.**, Жемчужников М.К., Князев А.Н. Звуковые частоты, воспринимаемые самцами и самками пещерного сверчка *Phaeophilacris bredoides* Kalt. // Тезисы докладов XXII Съезда Физиологического общества имени И.П. Павлова, Волгоград. – 2013. – С. 310.

12. Луничкин А.М., Жемчужников М.К., Князев А.Н. Акустическое восприятие и возможность коммуникации у пещерных сверчков *Phaeophilacris bredoides* Kaltenbach. // Тезисы докладов VI Всероссийской конференции-школы, посвященной памяти чл.-корр. АН СССР Г.В. Гершуни «Физиология Слуха и Речи», Санкт-Петербург. – 2013. – С. 82 – 83.

13. Луничкин А.М., Жемчужников М.К., Князев А.Н. Стабилизация призывного сигнала сверчка в онтогенезе // Сборник тезисов докладов Всероссийская молодежная конференция «Нейробиология интегративных функций мозга», Санкт-Петербург. – 2013. – С. 48–49.

14. Zhukovskaya M.I., Lunichkin A.M., Knyazev A.N. Novelty stress, odor and sound differently affect insect grooming // Proceeding and program 21th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry “Stress and Behavior”, St-Peterburg. - 2014. – P. 24.

15. Луничкин А.М., Князев А.Н. Особенности функционирования механосенсорного комплекса сверчка *Phaeophilacris bredoides* Kalt. // Научные труды IV съезда физиологов СНГ, - Сочи-Дагомыс. – 2014. – С. 93–94.

16. Луничкин А.М., Князев А.Н. Морфологические типы церкальных сенсилл у имаго сверчков родов *Gryllus* Linnaeus, *Phaeophilacris* Walker и *Gryllotalpa* Latreille // Материалы III Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы эволюционной морфологии животных» к 110-летию со дня рождения академика А.В. Иванова, Санкт-Петербург. - 2016. – С. 77–78.

17. Луничкин А.М., Князев А.Н. Двигательные ответы личинок сверчка *Gryllus bimaculatus* на звуковые посылки // Сборник материалов XV Всероссийское совещание с международным участием и VIII Школа по эволюционной физиологии, посвященные памяти академика Л.А. Орбели и 60-летию ИЭФБ РАН, Санкт-Петербург. – 2016. – С. 82.

18. Луничкин А.М., Князев А.Н. Двигательные ответы сверчка *Phaeophilacris bredoides* на звук в норме и с инактивированным церкальным аппаратом // Научные труды V съезда физиологов СНГ, - Сочи-Дагомыс. – 2016. –Т. 1. - С.177-178.

19. Жуковская М.И, Луничкин А.М., Баулин Ю.А., Князев А.Н. Детекция механосенсорных сигналов церкальным аппаратом сверчков: электрофизиологический и этологический подходы // Тезисы докладов Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология», - Санкт-Петербург – 2019. – С. 97-98.