



НОВЫЙ ПОДХОД К ЭКСПЕРИМЕНТУ В «ODOR PSYCHOPHYSICS» (НА МАТЕРИАЛЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РЫБ)

СЕЛИВАНОВА Л. А., *Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, Москва*

Настоящая работа по сравнению со всем предыдущим периодом разработки данной тематики представляет собой научный обзор и обобщение основных достижений в области психофизики обоняния рыб за последние 25 лет. Обзор позволяет рассмотреть результаты отечественных исследований в контексте мировых научных тенденций и оценить значение междисциплинарного и экологического подхода к эксперименту при решении зоопсихофизических задач.

Ключевые слова: обоняние, чувствительность, различение, ключевые стимулы, эффективность действия, необученные рыбы.

Обзор «Odor psychophysics in vertebrates» (Passe, Walker, 1985) был опубликован 25 лет назад. Он представляет собой весьма обширное исследование, в котором специалистами по психофизике обоняния млекопитающих (D. H. Passe) и птиц (J. C. Walker) предложен анализ работ 1970–1984 годов, а также сопоставление их результатов с теми, что были известны на момент оформления психофизики животных (Animal Psychophysics) в отдельное экспериментальное направление (начало 70-х годов прошлого века). Таким образом, в обзор вошли все заслуживающие, по мнению авторов, внимания работы по обонятельной чувствительности позвоночных (рыб, амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих, исключая человека), опубликованные начиная с первой трети XIX века (Audubon, 1826), т.е. задолго до появления понятия «психофизика». В обзоре упомянута единственная работа отечественных авторов, посвященная психофизике обоняния собак (Мызников, 1958). Из 128 процитированных в обзоре работ 25 представляют собой теоретические, методические и обзорные (по отдельным классам позвоночных) исследования, остальные (13 из которых посвящены психофизике обоняния рыб) содержат оригинальный экспериментальный материал.

Первые исследования остроты и избирательности обоняния животных, включая рыб, имели главным образом познавательный характер. С середины прошлого века почти все экспериментальные задачи по психофизике обоняния рыб так или иначе диктуются практическими потребностями человека. Так, при промышленном, спортивном и любительском рыболовстве используются искусственные приманки, запах которых должен имитировать запах излюбленного объекта питания и привлечь рыб к снастям. При разведении и выращивании рыб до товарных кондиций на рыбоводных фермах применяются искусственные корма, которым для успешного скармливания тоже необходимо придать запах естественно-го или «идентичного натуральному».

Во время нерестовых (из моря или озера в реку, так называемый хоминг) и покатных (из реки в море или озеро) миграций природных популяций проходных видов рыб (осетровых, лососевых, угревых и др.) нельзя допустить их попадания в водозаборы ГЭС и другие



гидротехнические сооружения. В этом случае нужно, применяя репелленты и аттрактанты, направлять потоки мигрирующих особей в специальные рыбоходы. Во всех вышеперечисленных случаях человек воздействует на поведение рыб. Для успешного *управления поведением рыб с помощью химических стимулов* необходимо знать показатели их хемочувствительности. К числу таких показателей относятся: «ключевые» стимулы, которые отбираются из числа претендентов либо по критерию *чувствительности* рыб к ним, либо по их *относительной эффективности действия*; *пороги детекции* или минимальные концентрации стимулов, запускающие требуемую поведенческую реакцию; связь интенсивностей стимула и ответа, т. е. *зависимость типа «доза–ответ»*; *дифференциальная чувствительность* рыб к определенным химическим веществам как показатель способности ориентироваться в градиенте стимула, а также *предел различения* веществ близкого качества, с одной стороны, и минимальный набор компонентов, хорошо имитирующий действие естественного многокомпонентного запаха, т.е. *предел неразличимости*, – с другой.

В работах, представленных в вышеупомянутом обзоре, в качестве стимулов чаще всего применялись аминокислоты (АК), а также спирты (органические основания) и некоторые многокомпонентные смывы и экстракты растительного и животного происхождения; осуществлялись попытки оценить эффективность действия АК и определить чувствительность к ним рыб, о чем речь пойдет ниже. Выбор АК объясняется тем, что они в свободном виде содержатся в объектах питания и в экскретах рыб и других гидробионтов, стимулируют пищевое поисковое поведение, а также могут служить сигналами при внутри- и межвидовой хемокоммуникации, т.е. являются потенциальными ключевыми стимулами.

В большинстве работ у предварительно обученных рыб определялись наименьшие, т.е. пороговые, концентрации стимулов, вызывающие условную (кардиальную, пищевую или локомоторную) реакцию. Авторы обзора отождествляют эти пороговые концентрации с абсолютными порогами (АП), однако это не всегда верно, зачастую это только *пороги детекции*, или, как их именуют сами исследователи, *пороги реакции* (reaction thresholds). Все эксперименты по определению порогов, в том числе и с АК (Holland, Teeter, 1981; Johnstone, 1980; Little, 1981), проводились в природной воде. Поскольку АК в ощутимых концентрациях присутствуют в природной воде, измеряемые пороги являются не абсолютными, а разностными, или дифференциальными (ДП). Но для оценки дифференциальной чувствительности рыб к той или иной аминокислоте необходимо вычислять относительный дифференциальный порог (ОДП), т. е. соотносить дифференциальный порог с концентрацией АК в природной воде. В целях методической корректности при исследовании чувствительности рыб и других гидробионтов к любым природным соединениям, содержащимся в их тканях и экскретах, а следовательно, и в природной воде, для определения абсолютного порога (АП) необходимо очистить от них используемую в эксперименте воду, а для определения ОДП параллельно с психофизическим экспериментом проводить химический анализ ее состава. При исследовании чувствительности рыб к синтетическим веществам, которые в норме в природной воде отсутствуют, можно допустить, что измеренные пороги являются абсолютными.

У обученного угря *Anguilla anguilla* L. АП реакции фоботаксиса (ненаправленных изменений курса движения) на β -фенилэтанол составляет 3×10^{-19} М (Teichmann, 1959). Для другого органического спирта бензола и его производных, включая фенол, у обученной интактной плотвы *Leuciscus rutilus* в поведенческих опытах зарегистрированы АП в диапазоне от 1.44×10^{-6} М до 76.0×10^{-6} М; при этом у рыб с разрушенными органами обоняния АП ре-



акции на нитро- и оксипроизводные бензола в 1.36–24.7 раз выше, чем у интактных рыб (Marcstrom, 1959). Последний факт говорит о том, что рыбы воспринимают растворенные в воде вещества главным образом, но не только, с помощью обоняния. У обученного голяна *Phoxinus sp.* АП реакции на синтетические органические вещества разных классов составляют: сахарин – 6.5×10^{-7} М и гидрохлорид квинина (хинина) – 4.1×10^{-8} М (Glaser, 1966), метилантранилат – $10^{-4.50}$ М, изоэвгенол – $10^{-4.67}$ М и резорцинол – $10^{-4.04}$ М (Neuhaus, Appelbaum, 1980). Приведенные данные о чувствительности рыб к синтетическим веществам имеют практическое значение. Некоторые из органических спиртов, например фенол, в результате сбросов предприятий содержатся в природной воде, и некоторые виды обученных рыб с низким порогом детекции этих вредных веществ можно использовать для определения чистоты питьевой или поливной воды. Сверхвысокая чувствительность рыб к β -фенилэтанолю (используется в парфюмерии как ароматизатор с запахом цветов) позволяет применять в микродозах это безвредное соединение для маркировки привычных мест нереста лососевых рыб и затем управлять нерестовой миграцией взрослых лососей, запомнивших этот запах в личиночном или мальковом возрасте в период импринтинга.

В одной из работ (Johnstone, 1980) у обученной трески по методу условного кардиального рефлекса были определены ОДП для простейшей АК – глицина. Эксперименты проводились при трех искусственных средах глицина (от 10^{-4} М до 2.625×10^{-4} М), значительно перекрывающих естественный фон глицина (10^{-7} М). Результат – ОДП в диапазоне 50–90% – плохо согласуется с рыболовецкой практикой, так как при ярусном лове треска способна за 100 и более метров учуять приманку и направленно перемещаться к ней по весьма пологому градиенту запаха. Различия в экспериментальных и практических данных здесь объясняются тем, что измерения ОДП проводились при неестественно высоком фоне глицина, причем фоновый проток направлялся непосредственно в ноздри рыб. Согласно результатам нашей работы (Селиванова, Скотникова, 2007), при определении у молодежи осетра ОДП для глицина и еще четырех АК наименьшие ОДП были получены при фоновых концентрациях, близких к природным, а при крайних концентрациях фонового диапазона, например, 10^{-4} М и 10^{-10} М, ОДП были на один-два порядка выше наименьших. Кроме того, обмывание полости ноздри раствором высокой концентрации может нарушить обонятельную чувствительность уже на рецепторном уровне.

В другой из рассматриваемых в обзоре работ рыбы свободно плавали в фоновом растворе синтетического вещества и их ОДП оценивались по условному локомоторному ответу. Согласно результатам этого эксперимента, у обученного голяна *Phoxinus sp.* при фоновых концентрациях метилового эфира антраниловой кислоты в диапазоне 10^{-4} – 10^{-5} М ОДП для прибавок составляют 147.31–4233.33% от фоновой концентрации (Neuhaus, Appelbaum, 1980). Здесь диапазон фоновых концентраций колеблется в небольших пределах от предварительно установленного значения АП ($10^{-4.50}$ М), и объяснить столь низкую дифференциальную чувствительность можно либо длительным пребыванием подопытных рыб в этом растворе, либо искусственной природой стимула. Для сравнения: при использовании в качестве обонятельного стимула Cl^- – иона природных солей – у обученного по методу условного кардиального рефлекса карпа *Cyprinus carpio* при концентрации в фоне ионов Cl^- порядка 0.3×10^{-3} М ОДП для ионов Cl^- составляет 0.33–6.66% для прибавления и 10% для уменьшения стимула (Сергеева, 1975). Данные результаты уже лучше описывают способность рыб ориентироваться в градиенте солёности.



В обзоре не упомянуты работы, в которых обонятельная чувствительность рыб изучалась с помощью метода парного выбора. Например, в опытах, проведенных по этому методу с предварительно обученными рыбами, ОДП для экстрактов из *Nereis* и *Mytilus*, приготовленных на морской воде, ОДП у морских собачек *Blennius gattorugine* и *B. pholis* составляют 100 % на прибавление и 50 % на уменьшение экстракта (Bull, 1928, 1930), а ОДП для самой морской воды при ее базовой солености 35‰ у трески *Gadus morhua*, пикши *Melanogrammus aeglefinus* и других видов морских рыб составляют примерно 1% на прибавление и 10 % на уменьшение солености воды (Bull, 1952). Метод парного выбора хорош для измерения ОДП (особенно для природных стимулов) тем, что при его применении не нужно делать химический анализ фоновой воды – «фоном» служит (обусловленная или нет, но задаваемая экспериментатором, т.е. известная) концентрация стимула в одном из рукавов лабиринта. Недостатком же этого метода является необходимость проводить опыты именно в тот период, когда у рыб есть мотивация для выбора между двумя близкими концентрациями. Например, при нерестовой миграции из соленой воды в пресную некоторые виды рыб ориентируются по градиенту солености и в этот период демонстрируют высокую чувствительность к ионам солей, а в другие периоды не демонстрируют таковой. Кроме того, и в «чувствительный» период не всякая ощущаемая рыбами разница в концентрациях значима настолько, чтобы делать выбор, и тогда рукава лабиринта выбираются случайным образом. Возможно, именно поэтому метод парного выбора применяют главным образом при изучении способности рыб различать запахи по их качеству, а не количеству (концентрации).

В обобщающей работе Хары (Hara, 1975b) – мэтра психофизики обоняния рыб – упомянуто его исследование сравнительной эффективности действия АК (которому целиком посвящена другая, не вошедшая в данный обзор работа, – Hara, 1975a). Сравнительная эффективность действия АК или их так называемая *относительная стимуляторная эффективность* (relative stimulatory effectiveness, RSE) определяется следующим образом. Разные АК предъявляются животным в одинаковой концентрации, обычно 10^{-2} М, 10^{-3} М или 10^{-4} М. Полученные ответы ранжируются по величине. Как правило, разница в величине ответов на наиболее и наименее стимульные (эффективно действующие) АК составляет не более 50%. В то же время концентрации отдельных АК в природной воде не одинаковы и отличаются отнюдь не на доли процентов, а в несколько раз или даже на два-три порядка, и это означает, что настолько же отличаются по концентрации прибавки отдельных аминокислот от их фонового содержания. Чтобы при определении RSE иметь единую для всех АК точку отсчета, необходимо использовать искусственную воду, где АК либо отсутствуют, либо добавлены в одинаковых концентрациях. При использовании естественной воды для выравнивания «стартовых позиций» отдельных АК или других природных соединений можно применять равные по величине прибавки с учетом фоновой концентрации тестовых веществ. Например, если концентрация сравниваемых по RSE тестовых веществ в фоне составляет 10^{-7} , 10^{-8} и 10^{-9} М, то прибавки должны быть соответственно с концентрацией 10^{-3} , 10^{-4} и 10^{-5} М, и тогда величина прибавки, или «дельты», будет на четыре порядка выше фоновой для каждого тестового вещества. До начала 80-х годов прошлого века при определении порогов детекции и RSE фоновая концентрация АК не учитывалась и искусственная вода (artificial water, AW, и ее разновидности: соленая морская – sea, ASW, и пресная речная, ключевая – fresh, AFW, или прудовая – pond, APW) не применялась. Использовалась «charcoal-filtered tap water» – водопроводная вода, отфильтрованная через активиро-



ванный уголь (см. работы группы американских исследователей, возглавляемой J. Caprio), «seawater, filtered through aquarium floss» – морская вода, отфильтрованная через аквариумный фильтр, «well-water» – колодезная или родниковая вода, «aged tap water» – просто отстоянная водопроводная хлорированная вода, «water from holding tanks» – вода из резервуаров, где содержатся подопытные животные, и т. п. Все вышеперечисленные виды воды отличаются тем, что в них отдельные АК обычно присутствуют в концентрации от долей наномоля до долей микромоля. Сейчас известно, что даже при самом строгом способе очистки воды – при пропускании через активированный уголь – адсорбируются стероидные компоненты, а АК в воде остаются (см., например, результаты анализа водопроводной воды, прошедшей такую обработку, в работе Mearns, 1989). Из-за летучести АК процедура дистилляции (перегонки путем испарения) природной воды тоже не помогает от них избавиться. Результаты, полученные при естественном аминокислотном фоне, позволяют строить ранжированные по RSE ряды АК для некоторых практических целей, например, при разработке рецептуры искусственных кормов. Но увязывать эти результаты со структурой аминокислот, как это делали Т. Дж. Хара с сотрудниками и их многочисленные последователи, оснований нет, хотя сама по себе гипотеза о «structure-active relationships of amino acids and analogs» имеет право на существование и даже весьма привлекательна.

В двух работах (Teichmann, 1959; Walker, Hasler, 1949) была показана *способность* угря *Anguilla anguilla* и американского голяка *Hyborhynchus notatus* после обучения различать потоки с чистой или ароматизированной безусловным запахом водой и водой, в которую добавлен условный стимул (β -фенилэтанол или экстракты из растительного и животного материала); данные подтверждают одну из гипотез механизма хоминга (см. ниже), а также доказывают перспективность обучения молоди ценных видов рыб заводского воспроизводства запоминанию запахов, с помощью которых можно управлять ее перемещением после выпуска в реку или море или удерживать в фиордах, как это делают сейчас с атлантическим лососем (семгой) норвежские рыболовы.

В вошедших в обзор работах для изучения обонятельной способности рыб использовались три вида методик, основанных на регистрации обусловленных и необусловленных ответов, измеряемых по частоте сердечных сокращений, обусловленных локомоторных ответов и обусловленного пищевого отвращения. Таким образом, почти все данные по психофизике обоняния рыб были получены на предварительно обученных рыбах. Распространить практику выработки условных рефлексов на природные популяции невозможно, да и не нужно, так как применение метода условных рефлексов зачастую мешает выявлению природных способностей рыб. Так, методика обусловленного отвержения запаха (в сводке при обсуждении методических подходов упомянута одна работа: Little, 1977) поначалу сулила быстрое и точное определение у рыб порогов детекции условного стимула, а также способности различать условный и безусловный стимул. Однако по мере распространения этой методики обнаружилось, что для рыб условным становится не только данное химическое соединение, но и его концентрация, т. е. порог детекции предопределен используемой при обучении концентрацией стимула. Варьировать концентрации для устранения этого эффекта невозможно, так как отвержение вырабатывается с одного сочетания. При этом обученные рыбы отвергают все, что мало-мальски похоже по запаху на условный стимул, поскольку он ассоциирован с солью LiCl, вызывавшей отравление и рвоту.

Итак, 25 лет назад был подведен определенный итог в исследованиях по психофизике обоняния рыб, отмечены достигнутые за более чем 70-летний период успехи, однако боль-



шинство задач остались нерешенными, как представляется, из-за отсутствия у ихтиологов и физиологов необходимых знаний в области психофизики, био- и гидрохимии, а также адекватных задач методик тестирования. За прошедшие с момента опубликования обзора 25 лет подход к эксперименту изменился. Насколько он оказался результативным, рассмотрим на конкретных примерах.

«Ключевые» стимулы. В настоящий момент существуют две гипотезы механизма хоминга лососевых рыб. Первая гипотеза, принадлежащая канадским исследователям (см. итоговую монографию: Hasler, Scholtz, 1983), предполагает, что в основе хоминга лежит импринтинг (запечатление) молодью лососевых рыб запахового образа родного ручья, а ключевой составляющей этого образа являются АК, растворенные в воде ручья. Половозрелые особи, идя на нерест, находят родной ручей по запечатленному образу. Вторая гипотеза, принадлежащая норвежцам (см. первую статью с изложением этой гипотезы: Nordeng, 1977), предполагает, что в основе хоминга лежит ориентация взрослых особей, идущих на нерест, на феромоны молодежи своей популяции, скатывающейся в море. Половозрелые особи идут в родной ручей как бы по следу, оставленному молодью. В роли феромонов выступают компоненты желчи (ЖК) стероидной природы (желчные кислоты и соли), которые содержатся в фекалиях молодежи и маркируют грунт ручья. В пользу импринтинговой гипотезы говорят опыты с синтетическим спиртом β -фенилэтанолом, который в критический для импринтинга период добавляли в воду с заводской молодью. Экспонированную молодежь метили, и, когда через несколько лет определенный ручей маркировали β -фенилэтанолом, помеченные особи приходили на нерест в этот ручей. Норвежцы для доказательства своей феромонной гипотезы измерили у лососей *пороги детекции АК и ЖК*. Для ЖК они оказались в среднем на два порядка ниже, чем для АК (Doving et al., 1980). Авторы построили следующее логическое рассуждение: поскольку «чувствительность» (вопрос – какая?) к ЖК в 100 раз выше, чем к АК, следовательно, ключевые для хоминга вещества – ЖК.

Спустя 20 лет, когда аналитическая гидрохимия достигла больших успехов в определении в пробах природной воды сверхмалых количеств (доли пикомолей) веществ разных классов, группа японских исследователей повторила эксперименты норвежцев с определением порогов детекции и дополнила их *анализом содержания АК и ЖК в природной фоновой воде* (Shoji et al., 2000). Оказалось, что пороги детекции отдельных ЖК, добавляемых в воду, на один-два порядка ниже их фонового содержания, а пороги детекции отдельных АК ниже их фонового содержания на три и более порядка. Следовательно, чувствительность (в данном случае дифференциальная) к АК у лососевых рыб выше, чем к ЖК, и ключевые стимулы – АК. Здесь следует напомнить, что при пропускании природной воды через активированный уголь на нем адсорбируются стероидные компоненты, а АК остаются в воде. Поэтому некоторые исследователи используют этот прием для разделения аминокислотной и желчнокислотной фракций используемой в эксперименте воды, чтобы идентифицировать ключевые вещества, определяющие привлекательность запаха родной реки для лососевых рыб (Ueda, 1985). Эти работы показывают, что для грамотного решения задачи выявления ключевых стимулов необходимо развивать *междисциплинарный подход*, привлекая специалистов разных научных направлений. С середины 80-х годов прошлого века ведется активное исследование хемокоммуникации рыб посредством половых феромонов, которые определяются, исходя из значения порога детекции. Недавно впервые появились данные о концентрации этих веществ в природной воде, и теперь можно правильно оценить чувствительность рыб к кандидатам в феромоны.



Относительная стимуляторная эффективность АК. С середины 1980-х появилась возможность использовать в экспериментах искусственную морскую (ASW) и пресную (AFW и APW) воду, что позволило методически корректно определять RSE АК, но только электрофизиологическим методом (путем регистрации электроолифактограммы, ЭОГ, или ответов от обонятельной луковицы). Поведенческий психофизический эксперимент при определении RSE или АП невозможен, поскольку свободно плавающая рыба постоянно выделяет АК, ЖК и другие продукты обмена в воду. Гарантировать чистоту фона можно только в том случае, если фоновый поток искусственной воды направлен непосредственно в ноздри рыбы. Для этого рыбу надо фиксировать в станке, где невозможно наблюдать ее основную поведенческую (локомоторную) реакцию. В этих условиях можно регистрировать электрофизиологический ответ от различных отделов обонятельной системы, а также движения плавников или жаберных крышек и частоту сердечных сокращений. Два последних вида реакций могли бы «пойти в зачет» наравне с кожно-гальванической реакцией (компонентом ориентировочного рефлекса), регистрируемой в психофизическом эксперименте у человека, но до сих пор такие опыты с рыбами поставлены не были. Тем не менее, имеющиеся данные представляют интерес и для зоопсихофизиков. Все они получены в опытах с наивными, т. е. *необученными*, рыбами четырех видов: лимонной акулы *Negaprion brevirostris* (Zeiske et al., 1986), белого амура *Ctenopharyngodon idella* (Johnsen et al., 1988), данио *Danio rerio* (Michel, Lubomudrov, 1995) и желтохвоста *Seriola quinqueradiata* (Kohbara et al., 2000). Тестируемые виды рыб как минимум принадлежат к разным родам и отличаются диетой, поэтому неудивительно, что ранжированные по RSE ряды АК для них не совпадают. Однако в большинстве этих рядов на первых позициях (как наиболее эффективные стимулы для рыб) оказываются одни и те же АК: глутамин (разной изомерии) или L-глутаминовая кислота, L-аргинин и L-аланин. Этот результат нельзя расценивать как случайный, и, таким образом, при методически корректном эксперименте RSE как показатель хемочувствительности рыб к АК свое предназначение выполняет – позволяет отбирать ключевые стимулы. В этих работах в ранжированных по RSE рядах АК связь структуры аминокислот с эффективностью их действия отнюдь не столь очевидна, как в работах Т. Дж. Хары (Hara, 1975а и др.) и его последователей.

Пороги детекции и абсолютная чувствительность. Число работ, в которых измерялись пороги детекции (пороговые концентрации), значительно возросло по сравнению с предыдущим периодом и не в последнюю очередь за счет расширения спектра используемых веществ и видов тестируемых рыб. Качественно новым шагом стало определение АП для *природных веществ*, правда, как и в случае с RSE, электрофизиологическим методом. Нам эти данные интересны тем, что эксперименты проводили с *необученными особями*, поэтому измеренные АП отражают *природную чувствительность рыб*, а не их способность к обучению. У серебряного караса *Carassius auratus* АП для ионов Ca^{2+} равен $5 \times 10^{-5} M$ и для ионов Na^{+} равен $3.7 \times 10^{-3} M$ (Hubbard et al., 2002). АП для отдельных АК зарегистрированы у лимонной акулы *Negaprion brevirostris* (Poeg) и белого амура *Ctenopharyngodon idella* (Johnsen et al., 1988), у данио *Danio rerio* (Michel, Lubomudrov, 1995) и желтохвоста *Seriola quinqueradiata* (Kohbara et al., 2000). Наименьшие АП для отдельных АК зарегистрированы у пресноводного белого амура и составляют 10^{-9} – $10^{-8} M$ (Johnsen et al., 1988). У данио *Danio rerio*, кроме АП, для АК: для цистеина и аргинина – $10^{-7} M$ и для глутамина – $10^{-6} M$; также зарегистрированы АП для ЖК: для ТСА (таурохолиевой кислоты) – $10^{-8} M$ и для CDCA (хенодеоксихолиевой кислоты) – $10^{-6} M$ (Michel, Lubomudrov, 1995). На практике данные



об АП, как и о RSE, нужны для выявления ключевых стимулов из числа имеющихся кандидатов. В случае рыб вида данио *Danio rerio* данных по АП для АК и ЖК для построения ранжированного по АП ряда слишком мало, но по имеющимся данным видно, что диапазоны АП АК и ЖК перекрываются.

Дифференциальная чувствительность. Детекция аттрактивного запаха у рыб ведет к поиску его источника. Для успешного поиска рыбы должны ощущать направление (вектор) наискорейшего изменения – роста или убывания концентрации, т.е. градиент запаха. Задача экспериментатора – определить минимальное изменение концентрации запаха, ощущаемое рыбами при разных исходных концентрациях, т.е. дифференциальную чувствительность (ДЧ) рыб к запахам. Зная скорость движения рыб, частоту приноживания (sniffing) и ДЧ, можно рассчитать интенсивность стимула, необходимую для эффективного управления движением рыб. Для определения ДЧ свободно плавающих необученных рыб нами разработана методика, сочетающая психофизический «метод постоянных стимулов» и широко используемый в этологии метод «привыкание–различение». Эта методика позволяет исследовать способность рыб к различению минимальных качественных или количественных отличий пары последовательно предъявляемых химических стимулов.

Эксперименты с наивной молодью осетра проводились в дельте Волги в *заводских условиях, максимально приближенных к природным*; также был проведен *анализ АК волжской воды*, которая служила для молодежи естественным фоном. В результате получены *зависимости типа «доза–ответ»* для АК и натуральных экстрактов, содержащих АК, а также определены пороги детекции и ОДП для отдельных АК при естественном фоне, ОДП для отдельных АК и натуральных экстрактов при искусственных фонах в широком диапазоне концентраций и предел качественного различения АК. ОДП рыб составляют в среднем 0.1% для отдельных АК и 1% для многокомпонентных химических стимулов – натуральных экстрактов (Селиванова, Скотникова, 2007).

На сегодняшний день наша работа остается единственным комплексным междисциплинарным исследованием, где для изучения хемочувствительности рыб одновременно применялись методы психофизики, этологии и поведенческой экологии, а также аналитической гидрохимии. Но за прошедший период наметился прогресс в проведении комплексных исследований в области «химической зоопсихофизики»; к ним можно отнести вышеупомянутую работу японских исследователей по выявлению ключевых для хоминга лососевых рыб веществ (Shoji et al., 2000), норвежскую работу, в которой одновременно с определением у начавших питаться наивных личинок кумжи *Salmo trutta* и атлантического лосося *Salmo salar* порогов детекции АК методом ионообменной хроматографии были определены концентрации этих АК в фоновой водопроводной воде (Mearns, 1989). Полученные результаты позволяют вычислить ОДП у личинок лососевых рыб для отдельных АК: L-аланин – 190% и L-пролин – 250% – у обоих видов, глицин – 14.5% – у атлантического лосося и 1453.5% – у кумжи и L-аргинин – 125% – у атлантического лосося.

Предел различения для рыб на поведенческом уровне – это различение химически неразличимых оптических L – левовращающих и D – правовращающих изомеров АК (Селиванова, Скотникова, 2007). Ранее с помощью электрофизиологического метода было показано, что налим *Lota lota* L. с помощью обоняния распознает структурные изомеры (α - и β - формы) ароматического вещества ионона (Doving, 1966), а радужная форель *S. gairdneri* с помощью обоняния (MacLeod, 1976), сомик *I. punctatus* с помощью наружного вкуса и обоняния (Caprio, 1978; Caprio et al., 1993; Kohbara et al., 1992) и беломорская треска *Gadus*



morhua marisalbi с помощью тригеминальной системы, т.е. хеморецепторов головы и наружного вкуса (Малюкина и др., 1990), распознают оптические изомеры отдельных АК. Таким образом, наш результат логично завершает ряд исследований предела различения АК на уровне разных отделов хемосенсорной системы.

В последние годы достигнуты большие успехи в анализе энантиомерного состава растительных и животных тканей, а также природных вод. Химический анализ показал, что и ткани, и природные воды содержат значимые количества D-изомеров АК, т.е. природная вода – это смесь (в той или иной пропорции) D- и L-изомеров АК с перевесом в пользу L-изомеров. Ранее, когда считалось что ткани и экскреты животных и растений содержат только L-изомеры АК, именно они использовались в качестве тестовых соединений при изучении хемочувствительности гидробионтов. Теперь стало ясно, что, применяя в качестве стимулов L-изомеры АК, при естественном фоне мы рискуем задачу количественного различения (чувствительности) подменить задачей распознавания. Это еще один пример необходимости знаний в области био- и гидрохимии, т.е. *междисциплинарного подхода*, при изучении психофизики обоняния рыб.

Предел неразличимости. За прошедшие четверть века тематика работ по химической психофизике человека и рыб неуклонно смещалась в сторону исследования проблемы восприятия смесей запахов и возможности маскирования и имитации одних запахов другими. Изыскания в области психофизики человека отвечают на вопросы экологической безопасности и охраны окружающей среды, а также удовлетворяют запросам пищевой и парфюмерной промышленности. В рыбоводстве существует проблема эффективного скармливания искусственных кормов при выращивании рыб в условиях хозяйств. Корма готовятся из качественного сырья с учетом физиологических потребностей рыб, но, как шутят рыбоводы, представляют собой «весь комплексный обед в одном судочке» и не являются привлекательными для рыб ни по запаху, ни по вкусу. Следовательно, искусственные корма необходимо ароматизировать пищевыми запахами. Аналогичная проблема возникает и при изготовлении химических приманок для лова рыб. В процессе разработки данной проблемы сначала был проанализирован биохимический качественный и количественный состав (белки, пептиды, отдельные АК, компоненты ДНК, липиды и сахара) тканей и водных вытяжек из природных объектов питания рыб, затем выявлены наиболее привлекательные для рыб соединения – это главным образом отдельные АК и пептиды. Следующим этапом стало моделирование смесей из минимального числа АК, которые бы, судя по пищевой реакции, хорошо имитировали запах привычного и излюбленного естественного корма. Результаты последнего этапа разработки рецептуры кормов составляют коммерческую тайну, поэтому о достижениях в этой области исследований можно судить только по публикациям, касающимся общетеоретической стороны проблемы. Так, учениками и сотрудниками лаборатории Дж. Кэприо в электрофизиологических опытах без обучения и в поведенческих опытах с обучением на фоне водопроводной, т.е. имеющей природный состав, воды показано, что кошачьи сомики отличают все отдельные компоненты смесей АК от самой двух-, трех- и многокомпонентной смеси АК. Однако они не обучаются отличать 13- и 12-компонентные эквимольные смеси, если 12 компонентов в этих смесях одинаковы (Valenticic, Kose, 2000). Отсюда, в частности, следует вывод, что для полноценной имитации натурального запаха несколькими ключевыми компонентами не обойтись, требуется делать смесь из достаточно большого числа его компонентов. История решения проблемы неразличимости природного запаха и моделирующей его смеси показывает, что и здесь



необходимо проводить *междисциплинарное* – психофизическое и биохимическое – исследование.

Итак, за прошедшие 25 лет с момента предыдущего подведения итогов в области психофизики обоняния рыб благодаря междисциплинарному подходу с применением методов биохимии и аналитической гидрохимии методически корректно решены задачи выявления природных ключевых стимулов, определена дифференциальная чувствительность рыб к отдельным природным соединениям и многокомпонентным запахам, на поведенческом уровне подтвержден предел различения аминокислот, сделаны успехи в исследовании механизма действия смесей одинарных запахов и появились предпосылки для определения абсолютных порогов и относительной стимуляторной эффективности природных соединений. Произошли изменения и в выборе методов исследования опосредованной обонянием поведенческой реакции рыб. Ранее в зоопсихофизических исследованиях доминировал основной метод зоопсихологии – классический условный рефлекс и его разновидности. Результаты опытов с предварительно обученными рыбами отражают не столько их природные способности к восприятию запахов, сколько способность к обучению, и поэтому их применение на практике для управления поведением природных популяций рыб весьма проблематично. Ныне благодаря следованию принципам поведенческой экологии, т. е. тестированию необученных особей в природных или аналогичных условиях, в психофизике обоняния рыб достигнуты полезные для практики результаты. Со своей стороны зоопсихологи, в том числе и отечественные (Мешкова, 1986, 1988; Фабри, 1981, 1988), обновив и расширив спектр методов исследований, нашли применение своим наработкам в ихтиопсихологии. Однако по сей день ощущается нехватка методического инструментария для решения психофизических задач. Метод парного выбора не позволяет делать точных оценок способности к распознаванию запахов и хемочувствительности рыб. Достаточно точный метод, основанный на регистрации компонентов ориентировочной реакции (частоты сердцебиений, движений жаберных крышек и плавников), для изучения реакций необученных, фиксированных в станке рыб пока не применялся, а для свободно плавающих рыб еще не разработан. Предложенный нами метод, сочетающий ранее известные методы психофизики и этологии, впервые позволил обнаружить высокую и сопоставимую с практическими наблюдениями дифференциальную чувствительность рыб к природным химическим стимулам, а также предел различения аминокислот. Поэтому он заслуживает отдельного подробного рассмотрения, которое, возможно, поможет его освоению другими исследователями или натолкнет их на мысль о разработке своей версии.

Литература

- Малюкина Г. А., Марусов Е. А., Девицына Г. В., Червова Л. С. Хеморецепция и ее роль в поведении некоторых видов рыб Белого моря // Биол. ресурсы Белого моря. 1990. Вып.7. С. 178–185.
- Мешкова Н. Н. Поведение рыб в ситуациях новизны и его изучение в связи с задачами промышленного рыболовства // Расчет, проектирование и эксплуатация рыбопромысловой техники. Калининград: 1986. С. 102–115.
- Мешкова Н. Н. Об изучении психологических механизмов адаптации рыб в ситуации лова // Промышленное рыболовство. Калининград: 1988. С. 72–76.
- Мызников Н. М. Чувствительность обонятельного анализатора у служебных собак и методы ее повышения // ЖВНД им. И. П. Павлова. 1958. Т.8. № 5. С. 744–756.
- Селиванова Л. А., Скотникова И. Г. Исследование различительной хемочувствительности рыб // Психологический журнал. 2007. Т. 28. № 2. С. 95–105.



- Сергеева Л. И. Чувствительность и дифференциальные пороги хеморецепторов костистых рыб к де-стиллерной жидкости и хлоридам // Изв. ГОСНИОРХ'а. 1975. Т. 93. С. 139–142.
- Фабри К. Э. Введение в общую и прикладную ихтиопсихологию. М.: Изд. МГУ, 1988. 49 с.
- Фабри К. Э. Задачи современной зоопсихологии // Психологический журнал. 1981. Т. 2. № 5. С. 68–80.
- Audubon J. J. Account of the habits of the turkey buzzard (*Vultur aura*) particularly with the view of exploding the opinion generally entertained of its extraordinary power of smelling // Edinburgh New Phila J. 1826. V. 2. P. 172–185.
- Bull H. O. Studies on conditioned responses in fishes. Part I // J. Marine Biol. Assoc. U.K. 1928. V. 15. № 2. P. 485–533.
- Bull H. O. Studies on conditioned responses in fishes. Part II // J. Marine Biol. Assoc. U.K. 1930. V. 16. P. 615–637.
- Bull H. O. An evaluation of our knowledge of fish behavior in relation to hydrography // Rapp. Reunions Cons. Permanent Intern. Explor. Mer. 1952. V. 131. № 7. P. 8–23.
- Caprio J. Olfaction and taste in channel catfish: An electrophysiological study of the responses to amino acids and derivatives // J. Comp. Physiol. A. 1978. V. 123. № 4. P. 357–371.
- Caprio J., Brand J. G., Teeter J. H., Valentincic T., Kalinoski D. L., Kohbara J., Kumazawa T. & Wegert S. The taste system of channel catfish: from biophysics to behavior // TINS. 1993. V. 16. № 5. P. 192–197.
- Doving K. B. The influence of olfactory stimuli upon the activity of secondary neurones in the burbot (*Lota lota* L.) // Acta Physiol. Scand. 1966. V. 66. № 3. P. 290–299.
- Doving K. B., Selset R., Thommesen G. Olfactory sensitivity to bile acids in salmonid fishes // Acta Physiol. Scand. 1980. V. 108. № 2. P. 123–131.
- Glaser D. Untersuchungen uber die absoluten Geschmacksschwellen von Fischen // Z. Vergl. Physiol. 1966. V. 52. P. 1–25.
- Hara T. J. Molecular structure and stimulatory effectiveness of amino acids in fish olfaction // Olfaction and Taste V / Eds. D. A. Denton, J. P. Coghlan. New York: Academic Press. 1975a. P. 223–226.
- Hara T. J. Olfaction in fish // Progr. in Neurobiology (Oxford). 1975b. V. 5. Part 4. P. 271–335.
- Hasler A. D., Scholtz A. T. Olfactory imprinting and homing in salmon. Investigations into the mechanism of imprinting process. Springer, 1983. In collab. with R. W. Goy.
- Holland K. N., Teeter J. H. Behavioral and cardiac reflex assays of the chemosensory acuity of channel catfish to amino acids // Physiol. Behav. 1981. V. 27. P. 699–707.
- Hubbard P. C., Ingleton P. M., Bendell L. A., Barata E. N., Canario A. V. M. Olfactory sensitivity to changes in environmental $[Ca^{2+}]$ in the freshwater teleost *Carassius auratus*: an olfactory role for the Ca^{2+} -sensing receptor? // J. Exp. Biol. 2002. V. 205. № 18. P. 2755–2764.
- Johnsen P. B., Zhou H., Adams M. A. Olfactory sensitivity of herbivorous grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, to amino acids // J. Fish Biol. 1988. V. 33. № 1. P. 127–134.
- Johnstone A. D. F. The detection of dissolved amino acids by the Atlantic cod, *Gadus morya* L. // J. Fish Biol. 1980. V. 17. P. 219–230.
- Kohbara J., Hidaka I., Morishita T. & Miyajima T. Gustatory and olfactory sensitivity to extracts of jack mackerel muscle in young yellowtail *Seriola quinqueradiata* // Aquaculture. 2000. V. 181. № 1-2. P. 127–140.
- Kohbara J., Michel W., Caprio J. Responses of single facial taste fibers in the channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to amino acids // J. Neurophysiol. 1992. V. 68. № 4. P. 1012–1026.
- Little E. E. Conditioned aversion to amino acid flavors in the catfish, *Ictalurus punctatus* // Physiol. Behav. 1977. V. 19. P. 743–747.
- Little E. E. Conditioned cardiac response to the olfactory stimuli of amino acids in the channel catfish, *Ictalurus punctatus* // Physiol. Behav. 1981. V. 27. P. 691–697.
- MacLeod N. K. Spontaneous activity of single neurons in the olfactory bulb of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and its modulation by olfactory stimulation with amino acids // Exp. Brain Res. 1976. V. 25. № 3. P. 267–278.
- Marcstrom A. Reaction thresholds of roaches (*Leuciscus rutilus* L.) to some aromatic substances // Arkiv for zoologi. 1959. Bd. 12. Ht. 4. P. 335–338.
- Mearns K. J. Behavioral responses of salmonid fry to low amino acids concentrations // J. Fish Biol. 1989. V. 34. № 2. P. 223–232.
- Michel W. C., Lubomudrov L. M. Specificity and sensitivity of the olfactory organ of the zebrafish, *Danio rerio* // J. Comp. Physiol. A. 1995. V. 177. № 2. P. 191–199.



- Neuhaus von W., Appelbaum S.* Quantitative Bestimmung der Geruchsadaptation bei *Phoxinus laevis* L. und die Bedeutung der Adaptation bei der Geruchsorientierung der Wanderfische // Zool. Jahrb. Physiol. 1980. V. 84. № 4. P. 458–471.
- Nordeng H.* A pheromone hypothesis for homeward migration in anadromous salmonids // Oikos. 1977. V. 28. № 2-3. P. 155–159.
- Passe D. H., Walker J. C.* Odor psychophysics in vertebrates // Neurosci. Biobehav. Rev. 1985. V. 9. № 3. P. 431–467.
- Shoji T., Ueda H., Ohgami T., Sacamoto T. et al.* Amino acids dissolved in stream water as possible home stream odorants for masu salmon // Chem. Senses. 2000. V. 25. № 5. P. 533–540.
- Teichmann H.* Über die Leistung des Geruchssinnes beim Aal (*Anguilla anguilla* L.) // Z. Vergl. Physiol. 1959. V. 42. P. 206–254.
- Ueda K.* An electrophysiological approach to the olfactory recognition of homestream waters in chum salmon // NOAA Techn. Rept. NMFS. 1985. № 27. P. 97–102.
- Valenticic T., Koce A.* Coding principles in fish olfaction as revealed by single unit, EOG and behavioral studies // Pflugers Arch. – Eur. J. Physiol. 2000. V. 439. Suppl. P. R193–R195.
- Walker T.J., Hasler A.D.* Detection and discrimination of odors of aquatic plants by the bluntnose minnow (*Hyborhynchus notatus*) // Physiol. Zool. 1949. V. 22. P. 45–63.
- Zeiske E., Caprio J., Gruber S.H.* Morphological and electrophysiological studies on the olfactory organ of the lemon shark, *Negaprion brevirostris* (Poeg) // Indo-Pacific Fish Biology. Proc. Second Int. Conf. Indo-Pacific Fishes / Eds. T. Uyeno, R. Arai, T. Taniuchi, K. Matsuura. Tokyo: 1986. P. 381–391.

A NEW APPROACH TO EXPERIMENTS IN «ODOR PSYCHOPHYSICS» (ON THE RESEARCH OF THE OLFATORY SENSITIVITY OF FISH)

SELIVANOVA L. A., *A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of RAS, Moscow*

This work represents a scientific review and synthesis of the major achievements in the field of psychophysics of a fish's olfaction over the past 25 years compared with all prior period of the development of the subject. This review allows one to analyze the results of national studies in the context of world scientific trends and to assess the importance of an interdisciplinary and ecological approach to an experiment in solving of zoo-psychophysical problems.

Keywords: olfaction, sensitivity, discrimination, the key incentives, the effectiveness of actions, untrained fish.

Transliteration of the Russian references

- Maljukina G. A., Marusov E. A., Devicyna G. V., Chervova L. S.* Hemorepcija i ee rol' v povedenii nekotoryh vidov ryb Belogo morja // Biol. resursy Belogo morja. 1990. Vyp.7. S. 178–185.
- Meshkova N. N.* Povedenie ryb v situacijah novizny i ego izuchenie v svjazi s zadachami promyshlennogo rybolovstva // Raschet, proektirovanie i jekspluatacija rybopromyslovoj tehniki. Kaliningrad: 1986. S. 102–115.
- Meshkova N. N.* Ob izuchenii psihologicheskikh mehanizmov adaptacii ryb v situacii lova // Promyshlennoe rybolovstvo. Kaliningrad: 1988. S. 72–76.
- Myznikov N. M.* Chuvstvitel'nost' obonjatel'nogo analizatora u sluzhebnyh sobak i metody ee povyshenija // ZhVND im. I. P. Pavlova. 1958. T.8. № 5. S. 744–756.
- Selivanova L. A., Skotnikova I. G.* Issledovanie razlichitel'noj hemochuvstvitel'nosti ryb // Psihologicheskij zhurnal. 2007. T. 28. № 2. S. 95–105.
- Sergeeva L. I.* Chuvstvitel'nost' i differencial'nye porogi hemoreceptorov kostistyh ryb k destillirnoj zhidkosti i hloridam // Izv. GOSNIORH'a. 1975. T.93. S. 139–142.
- Fabri K. Je.* Vvedenie v obvuju i prikladnuju ihtiopsihologiju. M.: Izd. MGU, 1988. 49 s.
- Fabri K. Je.* Zadachi sovremennoj zoopsihologii // Psihologicheskij zhurnal. 1981. T.2. № 5. S. 68–80.