

普通伏翼蝠下丘神经元基本声反应特性

李安安^① 任雪萍^② 吴飞健^① 刘双喜^① 王景玉^① 陈其才^{①*}

(^① 华中师范大学生命科学院 武汉 430079; ^② 商丘师范学院生物学系 商丘 476000)

摘要: 自由声场条件下,采用单单位胞外微电极记录方法,研究了普通伏翼蝠(*Pipistrellus abramus*)下丘神经元基本声反应特性。结果发现,在所得的65个下丘神经元中,特征频率在18.9~76.7 kHz(42.94 ± 11.29)之间,最小阈值在29.1~80.1 dB SPL(58.65 ± 12.62)之间,潜伏期在3.1~10.4 ms(6.10 ± 1.47)之间,特征频率随记录深度的增加而增大,与最小阈值之间没有显著相关性;发放类型包括相位型(73.85%)、梳齿型(15.38%)和紧张型(10.77%)3种基本类型;频率调谐曲线均为开峰型,多数神经元(72.30%)调谐曲线较宽阔,少数(27.70%)较狭窄,并且多数神经元的频率调谐曲线高频边比低频边陡。

关键词: 普通伏翼蝠;下丘;频率调谐曲线

中图分类号:R338,Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2005)04-06-06

Acoustic Response Properties of the Inferior Colliculus in *Pipistrellus abramus*

LI An-An^① REN Xue-Ping^② WU Fei-Jian^① LIU Shuang-Xi^① WANG Jing-Yu^① CHEN Qi-Cai^①

(^① Central China Normal University, Wuhan 430079; ^② Shangqiu Teachers' College, Shangqiu 476000, China)

Abstract: The present paper deals with the acoustic response properties of the inferior colliculus in *Pipistrellus abramus* based on the method of single unit extracellular recording with microelectrode in free field conditions. In the 65 recorded neurons, the results show: characteristic frequency (CF), minimum threshold (MT) and response latency were between 18.9 and 76.7 kHz (42.94 ± 11.29), 29.1 and 80.1 dB SPL (58.65 ± 12.62), 3.1 and 13.4 ms (6.10 ± 1.47), respectively; CFs increased with the recording depth, but CF and MT were not correlated; there were three different types of discharge patterns in the inferior colliculus: phasic pattern (73.85%), chopper (15.38%) and tonic (10.77%); the types of frequency tuning curves (FTC) were all V-shaped, most of which were wide types and few were narrow types. In addition, the high-frequency slope was often steeper than the low-frequency slope.

Key words: *Pipistrellus abramus*; Inferior colliculus; Frequency tuning curve (FTC)

回声定位蝙蝠可以在完全黑暗的环境中通过发出超声并感知其回声来回避障碍物和进行捕食,其精确的回声定位能力依赖于发声、听觉和运动3个系统的协调活动,听觉系统在该过程中起关键作用。因此,与其他哺乳动物相比,回声定位蝙蝠具有高度发达的听觉系统^[1,2]。

中脑下丘(inferior colliculus, IC)是哺乳动物听觉中枢系统重要的中继站,他一方面接受并整合来自低位脑干的声信息,另一方面他又是内

侧膝状体(medial geniculate body, MGB)和初级听皮层(primary auditory cortex, AI)重要的信息来源。

普通伏翼蝠(*Pipistrellus abramus*)又名家蝠

基金项目 国家自然科学基金(No. 30470564, 2002-3021120640);

* 通讯作者, E-mail: qcchen2003@yahoo.com.cn;

第一作者介绍 李安安,男,硕士研究生,研究方向:感觉神经生理学。

收稿日期 2004-11-15, 修回日期 2005-03-30

(House bat) 东亚家蝠 (Japanese house bat) 或日本伏翼蝠 (Japanese pipistrelle), 隶属于小蝙蝠亚目 (Microchiroptera) 蝙蝠科 (Vespertilionidae) 伏翼蝠属 (*Pipistrellus*), 在我国广泛分布^[3]。现存的对普通伏翼蝠的报道仅限于对其生态、行为及生化方面的研究^[4,5], 未见其神经生理特性方面的报道。我们对普通伏翼蝠 IC 神经元的声反应基本特性进行了研究和探讨, 为深入研究其生理、行为和生态特性提供基础。

1 材料与方法

1.1 普通伏翼蝠的 IC 定位 有关蝙蝠 IC 的定位研究在大棕蝠 (*Eptesicus fuscus*) 和髭须蝠 (*Pteronotus parnellii*) 等都有过详细描述^[6], 而关于普通伏翼蝠的 IC 定位至今未见报道。本研究中以普通伏翼蝠的前囟 (矢状缝和人字缝的交点) 为参考点, 在该点处垂直于矢状缝的方向定为 ML 轴 (正中间值为 0, 两侧值均为负), 矢状缝即为 AP 轴 (前囟以前值为正, 以后值为负), 背腹方向以 DV 表示。根据实验前后对 5 只普通伏翼蝠的测量结果, 其 IC 位于 AP: -0.80 ~ -2.30 mm, ML: -0.20 ~ -1.50 mm, DV: 0.20 ~ 2.20 mm。实验中电极实际记录范围为 AP: -1.0 ~ -2.0 mm, ML: -0.50 ~ -1.50 mm, DV: 0.20 ~ 2.0 mm。

1.2 动物手术和电极制备 8 只普通伏翼蝠 (雌雄不拘) 用于本研究, 体重 5.5 ~ 6.5 g, 于华中师范大学草坪上空用捕网捕得, 以面包虫喂养。一周后开始实验, 手术时用戊巴比妥钠 (nembutal) 腹腔注射麻醉 (用量为每千克体重 40 ~ 50 mg) 随后剪去动物头部的毛, 头顶正中切开头皮, 暴露头顶颅骨, 除去表面肌肉和结缔组织, 并用 95% 酒精棉球反复擦拭, 使颅骨表面脱脂。将一根 1.8 cm 长的平头铁钉用 502 强力胶粘定在头顶颅骨上, 并用牙科水泥加固, 供记录时固定动物。用利针在颅骨的 IC 所在部位钻一个 200 ~ 500 μm 的小孔, 并挑破脑膜, 以供插入微电极, 维持动物于浅麻醉状态。临实验前, 将单管玻璃微电极毛坯 (外径 1.5 mm) 在微电极拉制器 (bioscience Co, UK) 上拉成单管微电极 (尖端直径 < 1 μm), 管内灌注 2 mol/L

的 NaCl 溶液, 阻抗 5 ~ 10 M Ω 。

1.3 声刺激系统和信号记录系统 自由声场刺激喇叭固定于垂直方位 (elevation) 的 0° 平面 (该平面与动物口眼线保持同一水平) 和水平方位 (azimuth) 电极记录侧的对侧 40°。声刺激系统有函数信号发生器 (GFG-8016G, Good Will Instrument Co., LTD), 短声发生器 (自制), 声强衰减器 (LAT-45, LEADER, Japan), 高频功率放大器 (自制) 和扬声器 (AKG model CK 50, $\phi = 1.5 \text{ cm}$, 1.2 g 频响: 1 ~ 100 kHz)。声刺激系统用声级计 (B & K-2610, Denmark) 和 1/4 英寸麦克风 (4936, B & K) 校正。玻璃微电极由微电极推进器 (Kopf 640, USA) 从 IC 表面垂直推进, 神经元声反应动作电位引导至生物电信号放大器 (ISO-DAMWPI, USA) 放大后, 经模/数 (A/D) 转换输至计算机采样, 32 次刺激的反应叠加并转换成刺激后时间直方图 (post-stimulus-time histogram, PSTH) 储存, 供进一步分析处理。反应信号同时送至数字式实时示波器 (TDS21, Tektronix, USA) 监视, 至监听装置 (AM9, GRASS, USA) 监听。

1.4 声刺激和神经元声反应的记录 刺激声选用短纯音, 时程为 4 ms, 起落时间各为 0.5 ms。电极从 IC 表面垂直推进, 以视/听结合方法寻找声敏感神经元, 并记录如下数据: 由微电极推进器上读出并记录其深度 (depth); 调整声刺激信号的频率和声强, 测定神经元的特征频率 (characteristic frequency, CF) 和最小阈值 (minimum threshold, MT); 从 MT 开始, 按 10 dB 幅度依次递增 CF 声强, 纯音频率分别向低频边和高频边改变, 测出神经元频率调谐曲线 FTC; 在阈上 20 dB、频率为 CF 时, 叠加神经元对 32 次声刺激的反应, 记录下 PSTH。

1.5 数据分析 神经元声反应电信号经模/数 (A/D) 转换后进入计算机, 由专用程序进行收集存储, 有关数据经由 Origin 6.0 和 SigmaPlot 2000 软件作进一步分析、处理、作图。本文所有数据以平均值 \pm 标准差 (Mean \pm Standard deviation) 表示。

2 结果

实验共获得 65 个 IC 神经元,这些神经元的深度范围为 226 ~ 2 008 μm (998 ± 456);CF 范围为 18.9 ~ 76.7 kHz(42.94 ± 11.29);MT 范围为 29.1 ~ 80.1 dB SPL(58.65 ± 12.62)。

2.1 神经元的发放类型 神经元的反应形式通过 PSTH 来确定。图 1 所示为某个 IC 神经元对一次声刺激反应的波形图,其中反应波形上方的线为甄别线,凡反应波波峰达到甄别线以上即记为一次发放,数字式实时示波器上的信

号经 A/D 转换后进入计算机,由专用程序记录发放,累加 32 次刺激的全部发放即可得到 PSTH。图中反应波形下方通道示刺激声声波。根据神经元阈上 20 dB 的 PSTH,65 个 IC 神经元的发放类型可分为 3 种基本类型。其中相位型(phasic pattern)(图 2 :A, B)最为普遍,共有 48 个神经元,占总数的 73.85%;其次为梳齿型(chopper)(图 2 :C),共有 10 个神经元,占总数的 15.38%,最少的为紧张型(tonic)(图 2 :D),共有 7 个神经元,占总数的 10.77%。

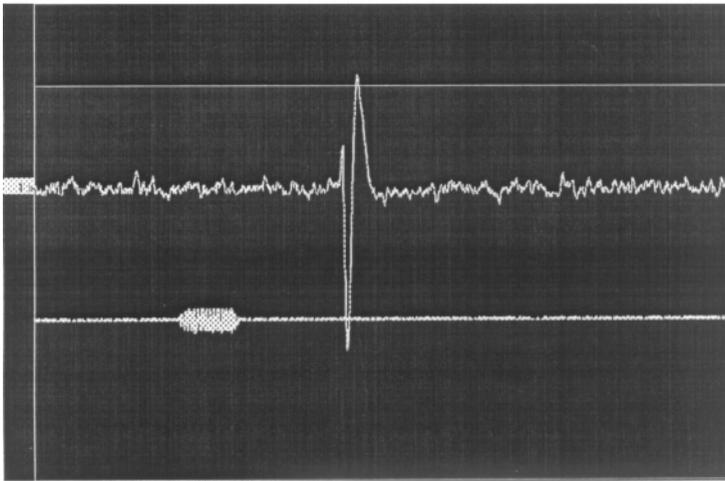


图 1 普通伏翼蝙蝠 IC 神经元对声反应波形图

Fig.1 Response wave of one representative IC neuron in *Pipistrellus abramus* to tone burst stimulus

图中最上面的线和最下面的线分别示甄别线刺激短声,中间波形示 IC 神经元对该声反应的波形图。

该神经元的记录深度、CF 和 MT 分别为 564 μm 、24.9 kHz 和 53.8 dB SPL。

The line upside and downside represent screened line and acoustic respectively, and the wave in the middle panel represents the acoustic response of IC neuron to tone burst stimulus.

The recording depth, CF and MT of this representative IC neuron are 564 μm , 24.9 kHz, and 53.8 dB SPL respectively.

2.2 CF 的分布情况及与深度的关系 65 个 IC 神经元的 CF 分布情况如图 3 :A 所示,可见,CF 大多分布在 30 ~ 45 kHz 之间,这些神经元共有 44 个,占神经元总数的 67.69%;另外一个分布较密集的区域为 50 ~ 60 kHz 之间,这些神经元共有 13 个,占神经元总数的 20%。

图 3 :B 所示为 IC 神经元的 CF 与记录深度的关系,由图可见,随记录深度的增加,其相应神经元的 CF 逐步增大,根据统计学分析,结果具有显著相关性 ($P < 0.001$)。

2.3 阈上 20 dB 反应潜伏期和最小阈值的分布及最小阈值与最佳频率的关系 阈上 20 dB 时 IC 神经元反应潜伏期的分布在 3.1 ~ 13.4 (6.10 ± 1.47)ms 之间,大多数分布在 4.5 ~ 7.5 ms 之间,这类神经元共有 47 个,占神经元总数的 72.31%(图 4 :A)。

65 个 IC 神经元的最低阈值的分布范围在 29.1 ~ 80.1 dB SPL(58.65 ± 12.62)之间,其中最密集分布区为 40 ~ 50 dB SPL,这部分神经元共有 24 个,占总数的 36.92%(图 4 :B)。

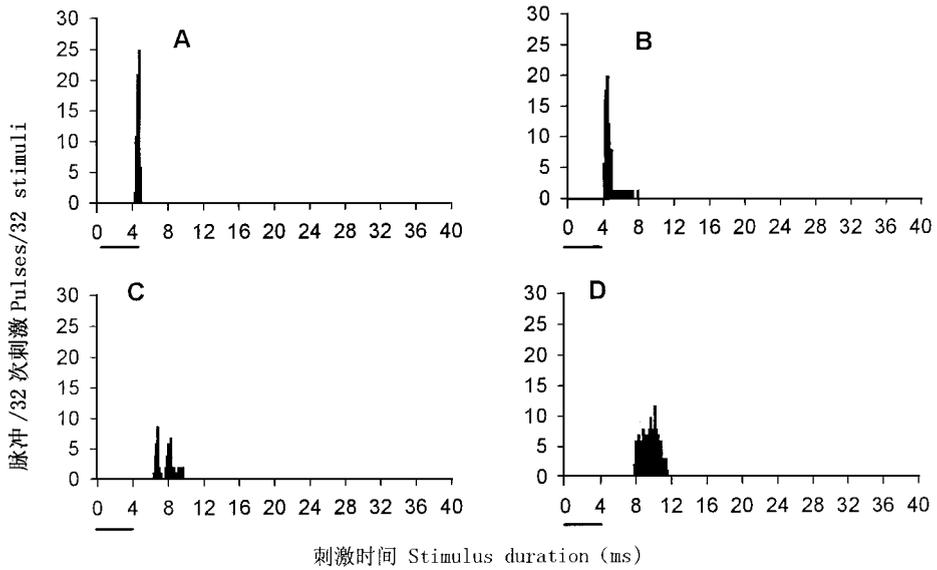


图 2 普通伏翼蝠 IC 神经元不同种类的发放类型(刺激时间为 4 ms)

Fig.2 Different types of discharge pattern of the IC neurons in *Pipistrellus abramus*(the duration of stimulus is 4 ms)

A, B. 为相位型; C. 为梳齿型; D. 为紧张型。坐标下面的短横线代表声刺激。

A, B. phasic pattern; C. chopper; D. tonic. The bar under the abscissa represents the acoustic stimulus.

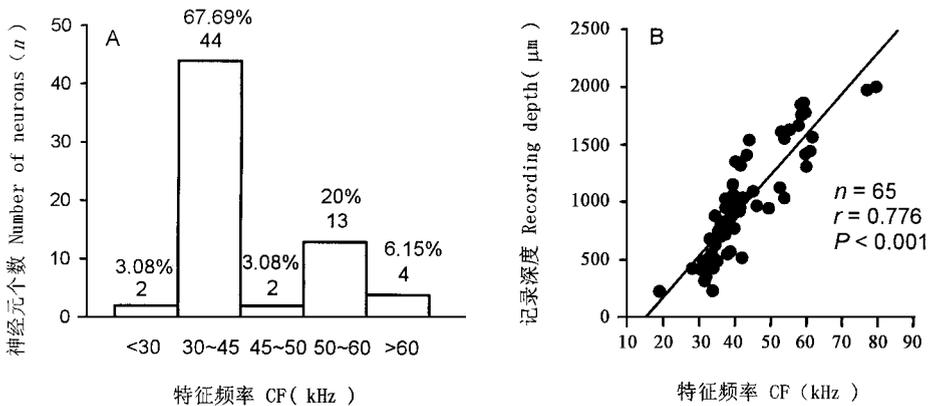


图 3 普通伏翼蝠 IC 神经元 CF 的分布情况(A)和 CF 与记录深度的关系(B)

Fig.3 Distribution of CFs of the IC neurons in *Pipistrellus abramus* (A) and the relationship between CFs and recording depth (B)

图 4 :C 所示为 IC 神经元 MT 与 CF 的关系。经统计学分析, MT 与 CF 之间没有显著相关性 ($P > 0.05$)。

2.4 频率调谐曲线的特征 65 个 IC 神经元的 FTC 全部为开放型(V-shape), Q_{10} 值介于 1.80 ~ 12.44 之间。其中大多数神经元的 FTC 为宽阔型(图 5 :A, B, C), 其 Q_{10} 值小于 5, 这类神经元

共有 47 个, 占总数的 72.30%, 剩下的为狭窄型(图 5 :D), 其 Q_{10} 值大于 5, 这类神经元共有 18 个, 占总数的 27.70%。在这 65 个神经元中, 大多数 FTC 高频边要比低频边陡(32, 49.23%), 另有一部分为两侧对称型(26, 40%), 只有少数为低频边比高频边陡(7, 10.77%)。图 5 :A, B, C 分别示上述 3 种类型。

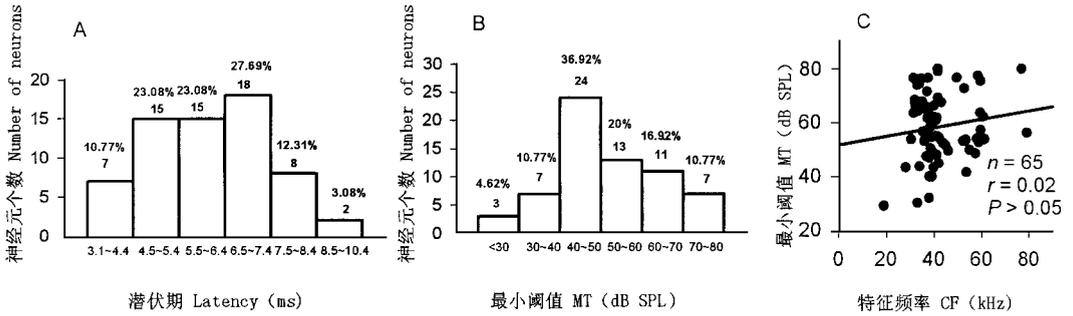


图4 普通伏翼蝠下丘神经元潜伏期(A)与MT(B)的分布情况及CF与MT的关系(C)

Fig.4 Distribution of latency(A) and MT(B) of the IC neurons in *Pipistrellus abramus* and the relationship between CFs and MT(C)

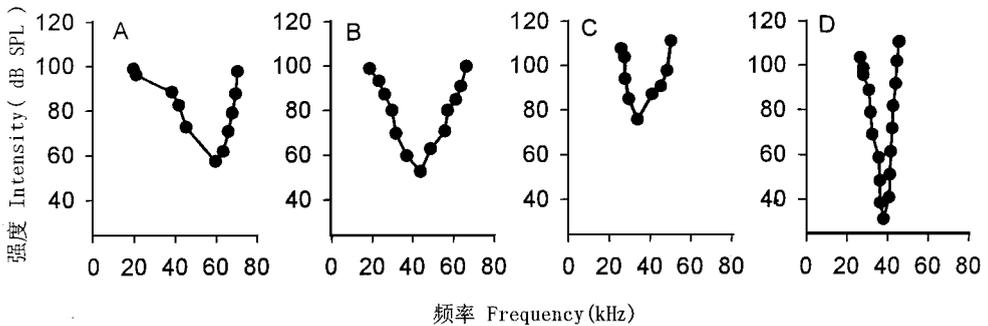


图5 普通伏翼蝠IC神经元不同类型的FTC

Fig.5 Different types of FTCs of the IC neurons in *Pipistrellus abramus*

A. 为高频边较陡型; B. 为两侧对称型; C. 为低频边较陡型, A、B、C均为宽阔型, 其 Q_{10} 值分别为2.37、2.22、2.97; D. 为狭窄型, 其 Q_{10} 值为8.81。

A. steeper slope on high-frequency limb; B. symmetrical slope on both limbs; C. steeper slope on low-frequency limb. A, B and C are all wide types the Q_{10} value of which is 2.37, 2.22, 2.97 respectively; D. represents narrow type and the Q_{10} value is 8.81.

3 讨论

神经元的发放类型可以反映出该神经元对刺激时间的编码情况。相位型(phasic pattern)有利于标记声信号之间的时间间隔, 而紧张型(tonic)则可以实时反映外界刺激的情况^[7,8]。梳齿型(chopper)介于以上两种类型。在所记录到的普通伏翼蝠 IC 神经元中, 很大一部分反应类型为相位型(73.85%), 只有极少数为紧张型(10.77%), 说明普通伏翼蝠 IC 神经元大多数用以标记声信号间的时间间隔, 少数是用来实时反映刺激时程的, 这一特性在其他蝙蝠, 如大棕蝠(*Eptesicus fuscus*)中同样存在。

由于由声刺激所引发的神经冲动从耳蜗到 IC 不只一条神经通路, 且不同通路中神经元间的兴奋-抑制整合特性不一, 因此, 听中枢神经元的潜伏期表现出差异性^[9]。研究证实, 这是听觉系统处理声信号时相(temporal)信息所采取的编码策略之一。本研所得 IC 神经元潜伏期范围较广(3.1 ~ 10.4 ms)也证实了这一点。然而, 本研究所测得的 IC 神经元大多数分布在 4.5 ~ 7.5 ms (占总数的 72.31%), 提示普通伏翼蝠从耳蜗到 IC 的神经通路集中在某些特定路径上。普通伏翼蝠的 MT (29.1 ~ 80.1 dB SPL), 最集中分布区为 40 ~ 50 dB SPL) 较高, 这与其生态特性较一致, 一般认为, 高强度

声波被用于开阔地带,而低强度声波被用于较复杂的环境^[10,11],实验所用普通伏翼蝠均在草坪上空捕获,其捕食环境相当宽阔。

频率分析是听觉系统最重要的功能之一。先前在不同种类动物的 IC,包括很多哺乳动物和鸟类,均证实其 IC 具有较严格的音频拓扑表征,即音频拓扑组构(tonotopic organization),且 CF 与 MT 有一定的相关性^[12~14]。研究发现,普通伏翼蝠的 IC 也具有音频拓扑表征结构,即从背侧到腹侧,CF 逐渐升高($P < 0.001$)。然而,并未发现 MT 与 CF 之间有显著相关性($P > 0.05$),后者究竟是和种属特性有关还是与本研究神经元数量不足有关,尚待进一步探究。从 CF 的分布看,在普通伏翼蝠所得的 IC 神经元一个较密集的分布区为 50 ~ 60 kHz(占总数的 20%),该频率分布区与冯江等在普通伏翼蝠飞行状态下测出的声波主频(58.14 ± 3.80 kHz)相吻合^[3]。这种对应现象最近在另外一种 FM 蝙蝠(*Molossus molossus*)上同样被观察到^[15]。回声定位蝙蝠的听觉系统除接收自己所发的回声定位声以外,同时还可以接收其他种类的声音,如与其他蝙蝠之间的通讯声以及被捕食对象的发声等^[13,14]。因此,我们在普通伏翼蝠 IC 所发现 CF 分布最普遍的神经元(30 ~ 45 kHz)占总数的 67.69% 可能是其在非回声定位情况下听觉系统的最佳听阈范围。与 CF-FM 蝙蝠具有较狭窄的 FTC 不同,FM 蝙蝠一般都具有较宽阔的 FTC,在所得到的 65 个 IC 神经元的 FTC 中,全部为开放型,而且大多数(72.30%)FTC 都较宽($Q_{10} < 5$),同样证实了这一点。另外,我们所得到的 FTC 有很大一部分(49.23%)为高频边比低频边陡,只有极少数(10.77%)为低频边比高频边陡,这种现象在大棕蝠中也同样观察到^[9],可能与这两种蝙蝠均对高频声变化敏感有关。

参 考 文 献

- [1] Cynthia F Moss, Shiva R Sinha. Neurobiology of echolocation in bats. *Curr Opin Neurobiol* 2003, **13**: 751 ~ 758.
- [2] Gorge D Pollak, Michael Burger R, Achim Klug. Dissecting the circuitry of the auditory system. *Trends in Neurosci* 2003, **26**: 33 ~ 39.
- [3] 冯江,刘颖,陈敏等.普通伏翼蝠回声定位及母婴交流行为研究.自然科学进展,2003, **12**: 247 ~ 252.
- [4] 王晓琴,齐敦武,胡锦涛.中国翼手目研究进展.四川动物,2004, **23**: 153 ~ 157.
- [5] 谷晓明,韩建领,彭有等.蝙蝠科七种蝙蝠的核型.兽类学报,2003, **23**: 127 ~ 132.
- [6] Esser K H, Condon C J, Suga N, et al. Auditory cortical neuron in the FM-FM area of the mustached *Pteronotus parnellii*. *Proc Natl Sci USA* 1997, **94**: 14 019 ~ 14 024.
- [7] Covey E. Brainstem mechanisms for analyzing temporal patterns of echolocation sounds: a model for understanding early stage of speech processing. *Speech Communication* 2003, **41**: 151 ~ 163.
- [8] Jen P H S, Feng R B. Bicuculline application affects discharge pattern and pulse-duration tuning characteristics of bat inferior collicular neurons. *J Comp Physiol A* 1999, **184**: 185 ~ 194.
- [9] Jen P H S, Schlegel P A. Auditory physiological properties of the neurons in the inferior colliculus of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *J Comp Physiol* 1982, **147**: 351 ~ 363.
- [10] 张树义,赵辉华,冯江等.蝙蝠回声定位与捕食对策的研究.动物学杂志,1999, **34**(6): 47 ~ 50.
- [11] 马杰,沈钧贤,赵辉华等.回声定位蝙蝠及其声通讯.动物学杂志,2002, **37**(6): 79 ~ 82.
- [12] Casseday J H, Covy E. Frequency tuning properties of neurons in the inferior colliculus of an FM Bat. *J Comp Neurol* 1992, **319**: 34 ~ 50.
- [13] Stiebler I, Ehret G. Inferior colliculus of the House Mouse. I. a quantitative study of tonotopic organization, frequency representation, and tone-threshold distribution. *J Comp Neurol* 1985, **76**: 65 ~ 76.
- [14] Sarah M N Woolley, Casseday J H. Response properties of single neurons in Zebra Finch auditory midbrain: response patterns, frequency coding, intensity coding, and spike latencies. *J Neurophysiol* 2004, **91**: 136 ~ 151.
- [15] Mora E C, Macías S, Vater M, et al. Specializations for aerial hawking in the echolocation system of *Molossus molossus* (Molossidae, Chiroptera). *J Comp Physiol A* 2004, **190**: 561 ~ 574.