

恒频-调频蝙蝠下丘神经元的恢复周期决定 声脉冲跟随率 *

唐 佳^{1)**} 付子英^{1)**} JEN PHILIP H.-S.²⁾ 陈其才^{1)***}

⁽¹⁾ 华中师范大学生命科学学院, 湖北省遗传调控与整合生物学重点实验室, 武汉 430079;

⁽²⁾ Division of Biological Sciences and Interdisciplinary Neuroscience Program, University of Missouri, Columbia, MO 65211, USA)

摘要 为探究恒频-调频蝙蝠下丘神经元恢复周期特点及其对声脉冲跟随率的影响, 实验采用模拟的大蹄蝠(*Hipposideros armiger*)自然状态下的恒频-调频发声信号为声刺激, 在5只听力正常的大蹄蝠上记录了下丘神经元的声反应和恢复周期($n = 93$). 结果发现, 根据神经元恢复率达50%时的双声刺激间隔(inter pulse interval, IPI), 可将其分为长时恢复型(long recovery, LR; 47.4%)、中等时间恢复型(moderate recovery, MR; 35.1%)和短时恢复型(short recovery, SR; 17.5%). 每种类型依据其恢复率随IPI增加而呈现的不同变化又可进一步分为单IPI反应区神经元, 多IPI反应区神经元, 以及单调IPI反应神经元. LR, MR和SR型神经元恢复率达50%时的平均IPI分别为(64.0 ± 24.8), (19.6 ± 5.8)和(7.1 ± 2.4) ms ($P < 0.001$), 相对应的平均理论每秒声脉冲数分别为(18.2 ± 7.0), (55.4 ± 15.7)和(171.3 ± 102.9) Hz ($P < 0.001$). 结果提示, 单IPI和多IPI反应区神经元具有特殊IPI反应特性, 能对蝙蝠捕食和巡航期间所处的时相做出准确判断, 而单调IPI反应神经元对IPI变化的敏感性较强, 但时相判断性较差. 另外LR, MR和SR型神经元恢复周期和理论脉冲跟随率的平均结果均能与这种蝙蝠回声定位期间3个时相的发声行为相匹配, 且神经元恢复周期参与决定声脉冲跟随率, 满足了蝙蝠巡航、捕食的行为学需要.

关键词 下丘神经元, 恢复周期, 声脉冲跟随率, 大蹄蝠(*Hipposideros armiger*)

学科分类号 Q6, R338

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00039

已知自然界中小蝙蝠亚目动物的视觉退化, 依靠生物声纳系统的回声定位来感知周围环境, 故这类蝙蝠又称为回声定位蝙蝠^[1]. 根据回声定位声信号的频谱特征, 可将回声定位蝙蝠分为三个大类, 调频(frequency modulation, FM), 恒频-调频(constant frequency-frequency modulation, CF-FM)和Click蝙蝠^[2]. 使用不同回声定位信号的蝙蝠占据着各自独特的生态位, 无论何种蝙蝠都必须具有对靶物进行探测、分类和定位的能力^[3].

所有生物声纳蝙蝠在捕食等过程中, 为了从靶物获取更多的细节信息, 它们必须用生物声纳系统去“注意”和“凝视”靶物, 这就需要在接近靶物的过程中, 不断地缩短发声时程和提高发声与回声脉冲重复率, 使动物能更加精确和快速地采样一个声纳靶物(a sonar target)的位置和细微特征^[4], 而且听中枢神经元也能及时地对高声脉冲重复率做出相应处理^[5-6]. 先前的研究已经证实, 听中枢内神经

元处理脉冲重复率的能力受神经元恢复周期的影响^[7]. 前一个声刺激引起的神经元兴奋性改变, 直接影响到神经元对相继刺激的反应程度, 这对回声定位蝙蝠而言, 显得尤为重要. 早期有关蝙蝠听神经元恢复周期及其影响的研究, 基本采用纯音或FM刺激, 且主要集中于FM蝙蝠^[5, 8-9], 研究结果显示可能有多种因素参与恢复周期的形成^[10-12]. 而利用CF-FM信号进行回声定位的蝙蝠通常在丛林等复杂环境中进行搜索^[13], 在发射一段长时程的CF声波后连接一段短时程的FM扫频. CF部分属

* 国家自然科学基金(30970972), 教育部重点科技基金(108096)和湖北省遗传调控与整合生物学重点实验室基金资助项目.

** 共同第一作者.

*** 通讯联系人.

Tel: 027-67867229, E-mail: qcchen2003@yahoo.com.cn

收稿日期: 2010-01-18, 接受日期: 2010-03-22

于窄带信号, 它仅激活少数传递这些信息的通道, 精确计算角度的能力也较弱^[6], 但回声中的 CF 成分是一种理想的回声探测和速度测定信号, 其振幅和频率变化可很好地用于编码昆虫的翅振频率、翅的大小和其他特种信息^[14-15], 而 CF 尾部的 FM 成分则可用于计算目标距离和识别目标表面质地^[16]. 那么, CF-FM 蝙蝠在受到不同间隔或不同重复率的 CF-FM 声刺激时, 听中枢神经元的恢复周期将怎样变化, 目前尚未见有相关研究报道.

本研究以 CF-FM 蝙蝠 - 大蹄蝠 (*Hipposideros armiger*) 为研究对象, 采用模拟自然状态 CF-FM 蝙蝠发出的回声定位信号作为声刺激, 记录下丘 (inferior colliculus, IC) 神经元的反应, 研究 CF-FM 蝙蝠 IC 神经元恢复周期反应特点及其生物学意义.

1 材料和方法

本实验所用方法, 基本参照本实验室以往的研究^[17-18].

1.1 动物手术和记录电极制备

本实验选用从安徽省九华山捕获到的 5 只听力正常的大蹄蝠 (*Hipposideros armiger*, 4 雄 1 雌) 为实验动物, 体重 43~50 g (46.5 ± 2.7 g). 手术时用戊巴比妥钠 (nembutal, 按动物体重 45~50 mg/kg) 腹腔注射麻醉, 头顶正中切开头皮, 除去表面的肌肉和结缔组织, 暴露头顶颅骨, 并用 95% 酒精棉球擦拭, 使颅骨表面脱脂. 将 1 根 1.8 cm 长的平头铁钉用 LOTITE 406 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 IC 所在部位的颅骨上钻一个直径 200~500 μm 的小孔, 并挑破脑膜, 暴露 IC, 以供插入微电极. 临实验前, 动物腹腔补注射镇静剂 (按动物体重酚酞尼 0.08 mg/kg, 氟哌利多 4 mg/kg) 使其处于安静和浅麻醉状态, 将动物移入无回声屏蔽室中 (室内温度 28~30℃) 并行固定. 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) 上拉成单管记录用微电极 (尖端直径 < 1 μm), 管内灌注 2 mol/L NaCl 溶液, 电极阻抗 5~10 M Ω .

1.2 声刺激和神经元声反应的记录

自由声场刺激, 喇叭固定在俯仰方位 (Elevation) 0 的平面 (该平面与动物鼻眼线保持同一水平) 和水平方位 (Azimuth) 对侧 30°. 声刺激系统包括函数信号发生器 (GFG-8016G, GFG-8026A, Good Will Instrument Co., LTD; Agilent 33220A, Malaysia)、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, 直径 1.5 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, 超声喇叭的输出分贝以声压水平 (dB SPL) 表示, 0 dB 相当于 20 μPa . 实验用的声刺激信号则依据所录制 (D980, Pettersson Elektronik AB, Sweden) 到的大蹄蝠的发声信号声谱图 (图 1) 来模拟所发出的 CF-FM 声信号, 先由信号发生器给出一个 7 ms CF 声, FM 成分的产生是对整个声时程的后 2 ms 用线性 Ramp 斜波调制^[19], 使其频率线性下扫, 其中 FM 声调频范围为神经元最佳频率 (best frequency, BF) 下扫到其 80%, 而 CF 成分的频率与记录到的神经元的 BF 相同, 强度均为最小阈值 (minimum threshold, MT) 上 10 dB, 刺激呈现率为 2 Hz.

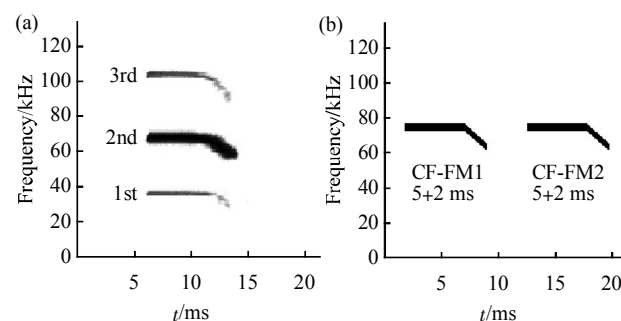


Fig. 1 Recorded sonogram of an echolocation call from *Hipposideros armiger* and the sound stimulation pattern in this experiment

(a) Sonogram of an echolocation call from *Hipposideros armiger* during free flight, the frequencies of first, second and third harmonics were 33.4, 66.8 and 100.2 kHz, respectively. (b) CF-FM stimulation of 7-ms duration used in this experiment.

记录用玻璃微电极由微电极推进器 (Kopf 640, USA) 从 IC 表面垂直推进, 将记录到的神经元反应引导至生物电信号放大器 (ISO-DAM, WPI, USA) 放大后, 并联输至示波器 (PM3084, Fluke, USA) 监视、监听装置 (AM9, GRASS, USA) 监听, 以及经模/数 (A/D) 转换后进入计算机采样, 32 次刺激的反应叠加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. 在实验中, 先用 CF 声寻找声敏感性神经元, 确定神经元的 BF、MT 和记录深度 (recording depth). 在对找到的神经元进行恢复周期测定时, 给 2 个

7 ms 的 CF-FM 声, 以第一个 7 ms 的 CF-FM 声为条件刺激, 以第二个 7 ms 的 CF-FM 声为测试刺激, 设定的系列声脉冲间隔(Inter pulse interval, IPI, onset-onset)值为 1、2、4、8、10、15、20、30、40、50、75、100 ms; 在实验中以随机方式给出所设定的全部刺激间隔的双声刺激. 用第二个声刺激引起的反应发放数除以第一个声刺激引起的反

应发放数, 其比值(恢复率)与对应双声间隔曲线即为恢复周期曲线. 实验以 50%恢复率为标准, 观察和记录在 CF-FM 声刺激模式下神经元的恢复周期变化情况(图 2). 当一个神经元的恢复周期曲线出现多个恢复率达 50%的 IPI 值时, 则仅取第一个恢复率达 50%的 IPI 值, 这也可以称为关键 IPI 值(critical IPI value).

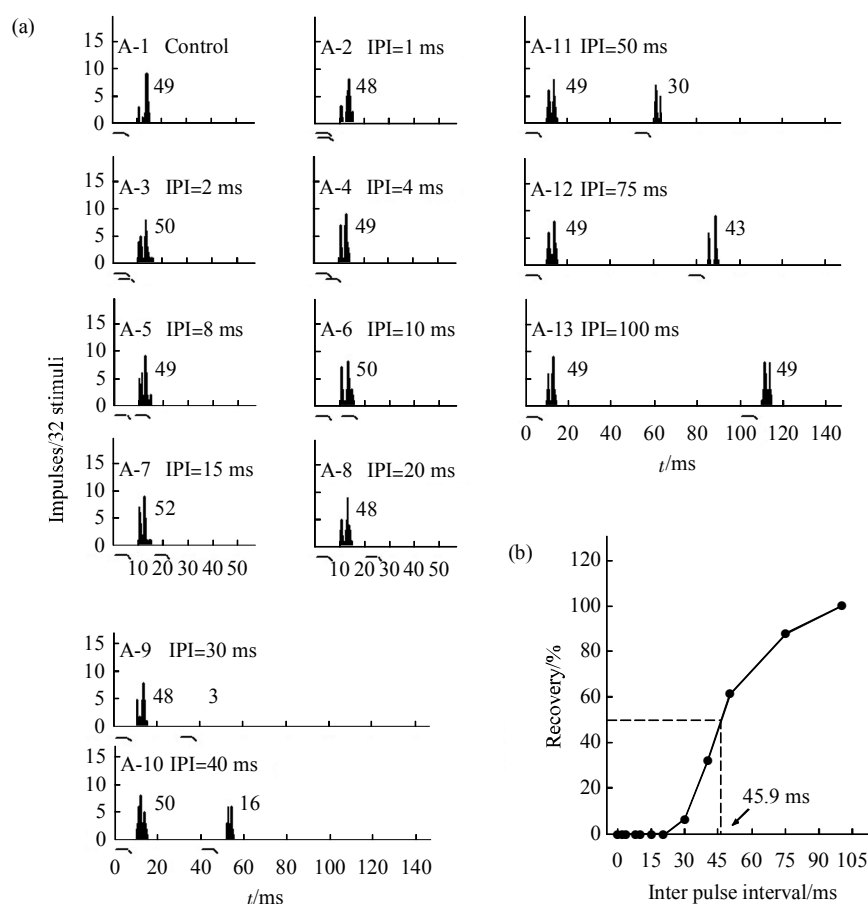


Fig. 2 The method measuring the recovery cycle of IC neurons and the recovery cycle of a representative IC neuron under 7-ms CF-FM sound stimulation condition

(a) The PSTHs from 32 stimuli, the number of spikes were shown beside each PSTHs and the sound envelope is sketched below each histogram. (b) The relationship between sound stimulation interval and recovery rate, neurons' recovery rate increased with the increasing of two tone stimulation interval, the 50% recovery inter pulse interval was 45.9 ms. The recording depth (μm), best frequency (kHz) and minimal threshold (dB SPL) were 3008, 66.1 and 73, respectively.

1.3 数据分析

用 Spss 13.0 和 SigmaPlot 2000 软件对实验数据进行分析并作图. 经统计分析后的结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并用 One-way ANOVA 和 t 检验比较变化是否具有显著性差异.

2 结 果

本实验共记录到 133 个 IC 声敏感神经元, 全部神经元的记录深度范围 $432 \sim 4493 (2820.6 \pm 891.9) \mu\text{m}$, BF 范围 $8.2 \sim 84.0 (53.2 \pm 20.0) \text{ kHz}$, MT 范围 $33 \sim 103 (71.8 \pm 15.0) \text{ dB SPL}$, 潜伏期 (latency)

范围 $6.3 \sim 24.8(11.5 \pm 3.4)$ ms.

93 个 IC 神经元做了恢复周期测定, 根据恢复率达 50% 时的双声刺激间隔值, 可将其分为长时恢复型(long recovery, LR; IPI > 30 ms; 46/93, 47.4%, 图 3a)、中等时间恢复型 (moderate recovery, MR; IPI 10 ~ 30 ms; 34/93, 35.1%, 图 3b)和短时恢复型(short recovery, SR; IPI < 10 ms; 13/93, 17.5%, 图 3c), 其中 LR 型所占比例最大, SR 型所占比例最小.

由于每种类型神经元的恢复率随 IPI 增加而变化的情况有所不同, 又可进一步将其分成不同亚

型, 如 LR 神经元($n = 46$)又可分为三种亚型: 单 IPI 反应区神经元(single-IPI response area neuron)(图 3aA-1; 11/46, 23.9%), 该神经元恢复率达到某一最高值后随之下降, 形成尖峰状恢复周期曲线, 并以恢复达 50% 及其以上构成一个 IPI 反应区; 多 IPI 反应区神经元(multi-IPI response area neuron)(图 3aA-2; 12/46, 26.1%), 该神经元形成多峰状恢复周期曲线, 构成多个 IPI 反应区; 以及单调 IPI 反应神经元(monotonic-IPI response neuron)(图 3aA-3; 23/46, 50.0%), 此类神经元的曲线呈现出随 IPI 增加而恢复率逐渐升高直至完全恢复的变化趋势, 形

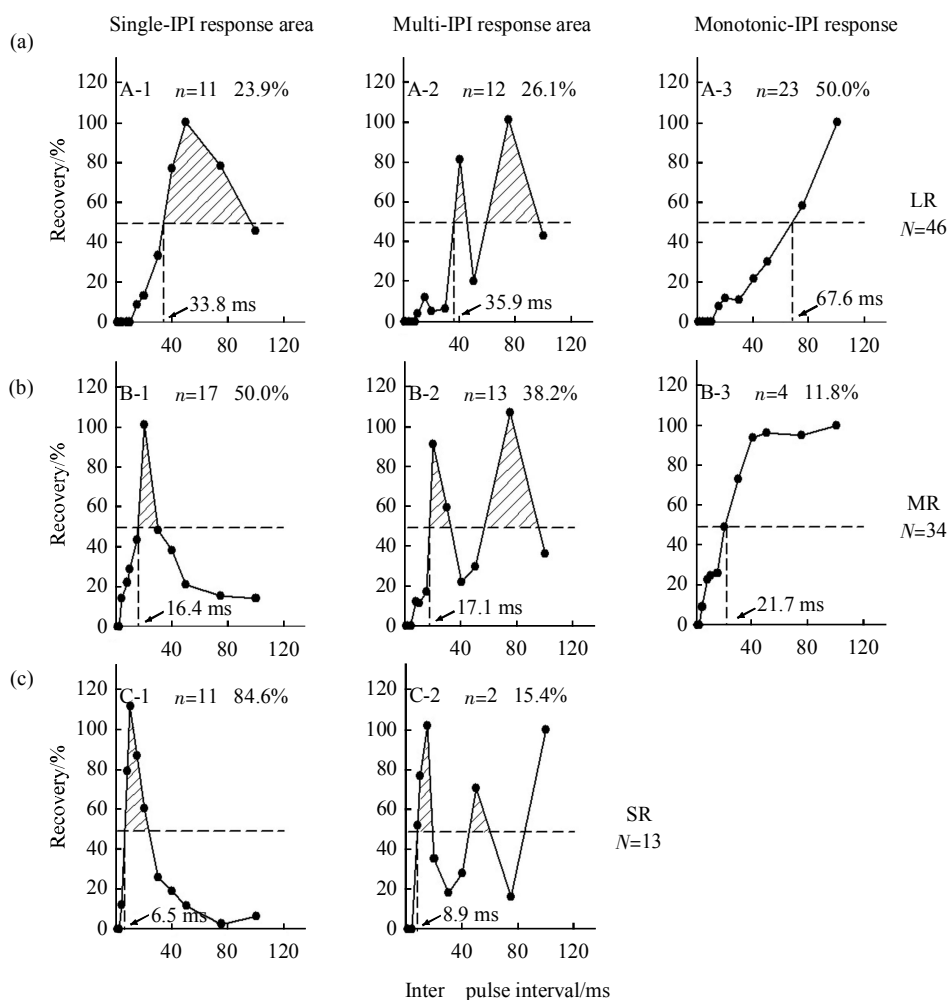


Fig. 3 The types and sub-types of IC neurons' recovery cycle

(a) LR neurons, A-1 ~ A-3 were the recovery cycle curves of single-IPI response area (diagonally stiped area), multi-IPI response area (diagonally stiped area) and monotonic-IPI response neurons, respectively. (b) MR neurons, B-1 ~ B-3 were the recovery cycle curves of single-IPI response area (diagonally stiped area), multi-IPI response area (diagonally stiped area) and monotonic-IPI response neurons, respectively. (c) SR neurons, C-1 and C-2 were the recovery cycle curves of single-IPI response area (diagonally stiped area) and multi-IPI response area (diagonally stiped area) neurons, respectively. The recording depth (μm), best frequency (kHz) and minimal threshold (dB SPL) were 2447, 62.9, 73 (A-1); 2650, 60.7, 68 (A-2); 2793, 68.3, 33 (A-3); 3440, 67.1, 65 (B-1); 4159, 65.6, 58 (B-2); 2556, 53.8, 81 (B-3); 3182, 67.4, 90 (C-1) and 2650, 68.3, 61 (C-2). See text for abbreviations.

成典型的恢复周期曲线。MR 型神经元($n=34$)同 LR 一样, 亦可分成单 IPI 反应区神经元(图 3bB-1; 17/34, 50.0%), 多 IPI 反应区神经元(图 3bB-2; 13/34, 38.2%)和单调 IPI 反应神经元(图 3bB-3; 4/34, 11.8%), 但各类型比例与 LR 相比有较大差异。而 SR 型神经元($n=13$)只分为 2 种亚型, 即单 IPI 反应区神经元(图 3cC-1; 11/13, 84.6%)和多 IPI 反应区神经元(图 3cC-2; 2/13, 15.4%)。

另外, 从 LR 到 MR 再到 SR, 单 IPI 反应区神经元的比例越来越大(23.9% → 50.0% → 84.6%), 而多 IPI 反应区神经元的比例(26.1% → 38.2% → 15.4%)变化规律不明显, 单调 IPI 反应神经元的比例(50% → 11.8% → 0%)变得越来越小。

进一步计算 3 类型神经元恢复率达到 50% 时的平均 IPI, 并按周期的倒数等于频率(Hz)的计算法则, 计算出每种类型的神经元跟随声脉冲重复率的理论每秒脉冲数(pulse per-second, PPS)或脉冲重复率(pulse repetition rate, PRR)。LR, MR 和 SR 神经元恢复率达到 50% 时的平均 IPI 分别为(64.0 ± 24.8), (19.6 ± 5.8)和(7.1 ± 2.4) ms(图 4, □), 组间比较有显著性差异(One-way ANOVA $P < 0.001$), 跟随声脉冲重复率的平均理论跟随率分别为(18.2 ± 7.0), (55.4 ± 15.7)和(171.3 ± 102.9) Hz(图 4, ■), 组间比较同样有显著性差异(One-way ANOVA $P < 0.001$)。

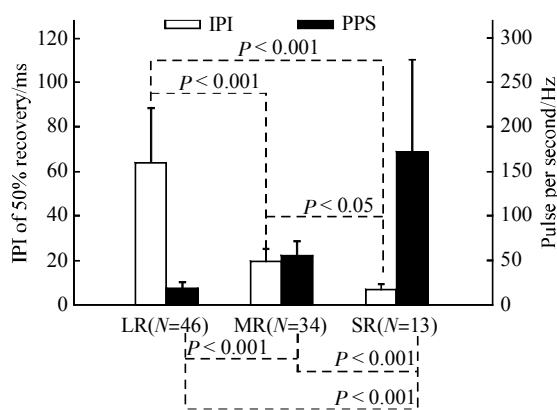


Fig. 4 Mean IPI of 50% recovery and calculated theoretically following pulse repetition rate in three types of IC neurons

The mean IPIs (□) of 50% recovery in LR, MR and SR neurons were (64.0 ± 24.8), (19.6 ± 5.8) and (7.1 ± 2.4) ms, respectively. The calculated theoretically following pulse repetition rate (■) according to the mean IPIs of 50% recovery in three types of IC neurons were (18.2 ± 7.0), (55.4 ± 15.7), (171.3 ± 102.9) Hz, respectively. There is a significant difference between each group (One-way ANOVA $P < 0.001$).

3 讨 论

从本实验所录制到的大蹄蝠发声信号来看, 是一种典型的 CF-FM 信号(图 1), 带有 3 个谐波, 第一谐波频率为 33.4 kHz, 声能量较低, 第二谐波频率为 66.8 kHz, 声能量最高, 故称之为主频(dominant frequency, DF)谐波, 第三谐波频率为 100.2 kHz, 声能量也较低。第一谐波与第二谐波之间频率相差 1 个音阶(octave), 而第三谐波与第二谐波之间频率相差 1/2 个音阶, 这与先前在同种和其他种 CF-FM 蝙蝠上的研究结果基本相似, 略有生态地域差异^[20-21]。可以认为这种谐波间规律性的频率差, 有助于蝙蝠识别发生于各回声谐波中的任何细微的频率和强度的变化, 并从中提取有生物学意义的回声信息和感知周围环境。

所有生物声纳蝙蝠在接近靶物的过程中, 不断地缩短发声时程和提高发声与回声脉冲重复率, 使动物能更加精确和快速地采样一个声纳靶物的位置和细微特征^[4]。恢复周期成为影响听神经元感受高脉冲重复率刺激的因素之一。先前的研究表明, 在不同动物上测得的神经元的恢复周期, 联系到动物的行为和功能, 所采取的分类标准和所获得的类型也有所不同^[5, 8, 12]。即或同样是 FM 蝙蝠, 从采用纯音或 FM 声刺激在下丘所获得的结果来看, 神经元的恢复周期亦呈现出不同类型^[8-9]。恢复周期可直接影响神经元跟随脉冲重复率的高低, 而脉冲重复率或 / 和脉冲间隔又可影响神经元多方面的反应特性^[7, 22]。因此, 本实验模拟动物的 CF-FM 发声模式来给声刺激, 研究了 CF-FM 蝙蝠下丘神经元的恢复周期(图 2), 并用恢复率达 50% 时的 IPI 值来评价神经元的恢复特性^[9, 12]。根据所测定的神经元($N=93$)恢复率达 50% 时的 IPI 值, 可将其分为 LR 型(IPI > 30 ms, $N=46$; 图 3a)、MR 型(IPI 10 ~ 30 ms, $N=34$; 图 3b)和 SR 型(IPI < 10 ms, $N=13$; 图 3c)三类。CF-FM 蝙蝠与 FM 蝙蝠一样, 依据在捕食或回声定位期间所发出的脉冲重复率, 可将其航行划分为 3 个不同时期^[23], 这 3 类神经元基本可与捕食期间的 3 个时期相对应。这些具有不同恢复周期类型的神经元, 除了表明它们对不同刺激脉冲重复率信息处理有不同的分工^[24-25]外, 从它们之间的比例(LR > MR > SR)来看, 推测蝙蝠从搜索到捕食成功, 大部分时间是用于搜索、发现和跟踪猎物, 需要较多的 LR 和 MR 神经元参与, 而捕获猎物时由于耗时较短, 提示仅需较少的特异性 SR 神经元

即可。

CF-FM 蝙蝠通常是在丛林等复杂环境中进行搜索和捕食^[1]，其生物声纳系统的演化自然与之相适应。本研究通过对 LR、MR 和 SR 型神经元做进一步分析，根据它们的恢复周期随 IPI 增加而呈现的变化，每种类型又可分为单 IPI 反应区神经元(图 3aA-1, bB-1 和 cC-1)，多 IPI 反应区神经元(图 3aA-2, bB-2 和 cC-2)和单调 IPI 反应神经元(图 3aA-3 和 bB-3)。长期以来，人们对观察到的听神经元恢复周期随 IPI 增加而出现的起伏变化，认为是一种波动。而经本研究分析，认为这些变化表明了这种蝙蝠听中枢神经元功能的特异性与多样性，而且有其特殊的生物学意义。先前的研究发现，在下丘存在大量对兴奋性和抑制性输入联合敏感的神元，也正是由于这些听中枢神经元经特殊神经回路组合，以及兴奋性与抑制性输入间的相互作用及整合，介导了这种蝙蝠不同的神经功能^[10-11]，如不同类型恢复周期的形成和特殊的生物声纳行为^[12]。Pollak 的实验室近期研究报道中利用在体和离体全细胞钳记录技术研究了 IC 神经元反应特性，结果显示抑制性电流输入在定型 IC 神经元的频率调谐和发放模式等方面发挥重要作用^[26-27]。因此，推测中枢内不同的听觉结构至 IC 的抑制性输入有可能参与了单 IPI 反应区和多 IPI 反应区的形成。

单 IPI 和多 IPI 反应区神经元具有特异性 IPI 反应特性，如单 IPI 反应区神经元只对某一范围的脉冲重复率反应，尤其是对来自非感受范围之内的声脉冲重复率不具有敏感性和较强的抗干扰能力，而且能对蝙蝠在捕食和巡航期间所处的不同时相做出准确判断^[4]，因此，这类神经元似乎可以说是特殊时相神经元。而多 IPI 反应区神经元能对多范围的 IPI 和多种重复率反应，似乎可称之为跨时相神经元，如蝙蝠在一次成功地捕食后，或许也包括捕食对象成功地逃逸后，由接近相(approach phase)或终末相(terminal phase)回到搜寻相(search phase)均非跳跃式，而是逐渐地改变声脉冲重复率和声时程以回到搜寻相^[20]，这种类型的神经元正好能满足这一需要。而单调 IPI 反应神经元则具有非特异性 IPI 反应特性，随 IPI 的增加而呈典型的正相关变化曲线，这种类型的神经元对 IPI 的变化具有较强的敏感性，但对其选择性较差，可对广范围的 IPI 和声刺激脉冲重复率产生反应，表现出较差时相判断性和抗干扰性。因此，这种类型的神经元或许是在定性回声的有无方面发挥重要的作用。另外，由图 3

还可见，从 LR 到 MR 再到 SR，单 IPI 反应区神经元的比例越来越大(23.9% → 50.0% → 84.6%)，而单调 IPI 反应神经元的比例(50% → 11.8% → 0%)变得越来越小。这些结果也支持了上述的推测，CF-FM 蝙蝠从搜寻相到接近相，再到终末相，单调 IPI 反应神经元所起的作用越来越小。由于单 IPI 反应区神经元具有专门时相反应特性和较强的抗干扰的能力，在蝙蝠靠近猎物到捕获猎物过程中，所起的作用越来越大，保证了对猎物的精确判断和捕获。

LR、MR 和 SR 神经元恢复率达到 50%时的平均 IPI 结果也显示出依次缩短的趋势((64.0±24.8), (19.6±5.8)和(7.1±2.4) ms)，组间比较有显著性差异($P < 0.001$)(图 4, □)。根据周期(IPI)的倒数等于频率的计算法则，将 LR、MR 和 SR 型神经元的平均 IPI 值转换成理论每秒脉冲数 PPS 或 PRR 后，对声脉冲重复率的平均理论跟随率分别为(18.2 ± 7.0), (55.4 ± 15.7)和(171.3 ± 102.9) Hz，组间比较同样有显著性差异($P < 0.001$)(图 4, ■)，且基本对应于 CF-FM 蝙蝠回声定位期间的 3 个时相^[23]，即搜寻相(search phase)，接近相(approach phase)和终末相(terminal phase)或捕获相(catch phase)。

综上所述，下丘神经元所对 CF-FM 声刺激的间隔选择性不仅与声脉冲跟随能力相关，而且参与决定神经元对声脉冲的跟随率，从而较好地满足了这种蝙蝠巡航、捕食的行为学需要。

参 考 文 献

- [1] Griffin D R. Listening in The Dark. New York: Dover Publications. Inc. 1958: 57-80
- [2] Neuweiler G. Evolutionary aspects of bat echolocation. J Comp Physiol A, 2003, **189**(4): 245-256
- [3] Simmons J A, Saillant P A, Wotton J M, *et al.* Composition of biosonar images for target recognition by echolocating bats. Neural Networks, 1995, **8**(7-8): 1239-1261
- [4] Ulanovsky N, Moss C F. What the bat's voice tells the bat's brain. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, **105**(25): 8491-8498
- [5] Wang X, Luo F, Wu F J, *et al.* The recovery cycle of bat duration-selective collicular neurons varies with hunting phase. Neuroreport, 2008, **19**(8): 861-865
- [6] Schnitzler H U, Kalko E K V. Echolocation by insect-eating bats. Bioscience, 2001, **51**(7): 557-569
- [7] Chen Q C, Jen P H S. Pulse repetition rate increased the minimum threshold and latency of auditory neurons. Brain Res, 1994, **654**(1): 155-158
- [8] Pollak G D, Bodenhamer R, Marsh D S, *et al.* Recovery cycles of single neurons in the inferior colliculus of unanesthetized bats

- obtained with frequency-modulated and constant-frequency sounds. *J Comp Physiol*, 1977, **120**(2): 215–250
- [9] Wu M, Jen P H S. Recovery cycles of neurons in the inferior colliculus, the pontine nuclei and the auditory cortex of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *Chin J Physiol*, 1998, **41**(1): 1–8
- [10] Sanchez J T, Gans D, Wenstrup J J. Glycinergic "inhibition" mediates selective excitatory responses to combinations of sounds. *J Neurosci*, 2008, **28**(1): 80–90
- [11] Nataraj K, Wenstrup J J. Roles of inhibition in creating complex auditory responses in the inferior colliculus: facilitated combination-sensitive neurons. *J Neurophysiol*, 2005, **93**(6): 3294–3312
- [12] Lu Y, Jen P H S, Zheng Q Y. GABAergic disinhibition changes the recovery cycle of bat inferior collicular neurons. *J Comp Physiol A*, 1997, **181**(4): 331–341
- [13] Neuweiler G, Metzner W, Heilmann U, *et al.* Foraging behaviour and echolocation in the rufous horseshoe bat (*Rhinolophus rouxi*) of Sri Lanka. *Behav Ecol Sociobiol*, 1987, **20**(1): 53–67
- [14] Suga N, Jen P H S. Further studies on the peripheral auditory system of CF-FM bats specialized for fine frequency analysis of Doppler-shifted echoes. *J Exp Biol*, 1977, **69**(1): 207–232
- [15] Kober R, Schnitzler H U. Information in sonar echoes of fluttering insects available for echolocating bats. *J Acoust Soc Am*, 1990, **87**(2): 882–896
- [16] Simmons J A, Vernon J A. Echolocation: discrimination of targets by the bat, *Eptesicus fuscus*. *J Exp Zool*, 1971, **176**(3): 315–328
- [17] Luo F, Metzner W, Wu F J, *et al.* Duration Sensitive Neurons in the Inferior Colliculus of Horseshoe Bats: adaptations for using CF-FM echolocation pulses. *J Neurophysiol*, 2008, **99**(1): 284–296
- [18] Wang X, Jen P H S, Wu F J, *et al.* Preceding weak noise sharpens the frequency tuning and elevates the response threshold of the mouse inferior collicular neurons through GABAergic inhibition. *Brain Res*, 2007, **1167**: 80–91
- [19] Suga N, Zhang Y F, Yan J. Sharpening of frequency tuning by inhibition in the thalamic auditory nucleus of the mustached bat. *J Neurophysiol*, 1997, **77**(4): 2098–2114
- [20] Neuweiler G, Bruns V, Schuller G. Ears adapted for the detection of motion, or how echolocating bats have exploited the capacities of the mammalian auditory system. *J Acoust Soc Am*, 1980, **68**(3): 741–753
- [21] Zhang S Y, Zhao H H, Feng J, *et al.* Relationship between echolocation frequency and body size in two species of hipposiderid bats. *Chin Sci Bull*, 2000, **45**(7): 1587–1590
- [22] Jen P H S, Chen Q C. The effect of pulse repetition rate, pulse intensity, and bicuculline on the minimum threshold and latency of bat inferior collicular neurons. *J Comp Physiol A*, 1998, **182**(4): 455–465
- [23] O'Neill W E, Suga N. Encoding of target range and its representation in the auditory cortex of the mustached bat. *J Neurosci*, 1982, **2**(1): 17–31
- [24] Pinheiro A D, Wu M, Jen P H S. Encoding repetition rate and duration in the inferior colliculus of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *J Comp Physiol A*, 1991, **169**(1): 69–85
- [25] Hou T, Wu M, Jen P H S. Pulse repetition rate and duration affect the responses of bat auditory cortical neurons. *Chin J Physiol*, 1992, **35**(4): 259–278
- [26] Xie R, Gittelman J X, Pollak G D. Rethinking tuning: *in vivo* whole-cell recordings of the inferior colliculus in awake bats. *J Neurosci*, 2007, **27**(35): 9469–9481
- [27] Xie R, Gittelman J X, Li N, *et al.* Whole cell recordings of intrinsic properties and sound-evoked responses from the inferior colliculus. *Neuroscience*, 2008, **154**(1): 245–256

Recovery Cycle of Inferior Collicular Neurons Determine Pulse Following Rate in CF-FM Bat*

TANG Jia^{1)**}, FU Zi-Ying^{1)**}, JEN PHILIP H.-S.²⁾, CHEN Qi-Cai^{1)***}

⁽¹⁾ College of Life Sciences and Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology,
Central China Normal University, Wuhan 430079, China;

⁽²⁾ Division of Biological Sciences and Interdisciplinary Neuroscience Program, University of Missouri, Columbia, MO 65211, USA)

Abstract The characteristics of recovery cycles in inferior collicular (IC) neurons of leaf-nosed bat (*Hipposideros armiger*) and effect of the recovery cycle on the following pulse repetition rate were studied using mimic CF-FM sound stimuli emitted by free flying bat. Recovery cycle of 93 IC neurons were obtained from IC of five bats with normal hearing. These neurons were classified into three types, i.e. long recovery (LR, 47.4%), moderate recovery (MR, 35.1%), and short recovery (SR, 17.5%), according to their inter pulse interval (IPI) (ms) of 50% recovery under two CF-FM sound stimulation condition. Each type of the neurons could also be categorized into different sub-types according to changes induced by IPI increasing such as single-IPI response area neurons, multi-IPI response area neurons, and monotonic-IPI response neurons. Mean IPIs of 50% recovery of LR, MR, and SR neurons were (64.0 ± 24.8) , (19.6 ± 5.8) , and (7.1 ± 2.4) ms, respectively ($P < 0.001$). The calculated theoretically following pulse repetition rate (pulse per second, Hz) of LR, MR, and SR neurons by mean IPI of 50% recovery for each type were (18.2 ± 7.0) , (55.4 ± 15.7) , and (171.3 ± 102.9) Hz, respectively ($P < 0.001$). These three types of IC neurons were well corresponding to their three hunting phases, search, approach, and catch phases. The sub-types of single-IPI response area neurons and multi-IPI response area neurons had hunting phase selectivity, and sub-type of monotonic-IPI response neurons had well sensitivity to IPI change, but their hunting phase selectivity was of a sort. These results demonstrated that recovery cycle of IC neurons determined the ability to follow pulse repetition rate and matched this bat's echolocation behavior.

Key words inferior collicular neurons, recovery cycle, following pulse repetition rate, leaf-nosed bat (*Hipposideros armiger*)

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00039

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30970972), Key Scientific and Technological Foundation of Ministry of Education (108096) and Foundation of Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology.

**These authors contributed equally to this work.

***Corresponding author.

Tel: 86-27-67867229, E-mail: qcchen2003@yahoo.com.cn

Received: January 18, 2010 Accepted: March 22, 2010