

普氏蹄蝠下丘谐波内外神经元处理多普勒频移补偿信息的差异*

李琳** 付子英** 王丽萍 危晨雪 邹丽芳 陈其才 唐佳***

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

摘要 为了探讨普氏蹄蝠下丘神经元在处理多普勒频移补偿后回声定位信号中的作用, 实验采用双声刺激模式模拟蝙蝠不同飞行状态下产生多普勒频移补偿后的脉冲-回声对, 即发声频率改变, 回声频率维持恒定的情况下, 研究下丘神经元对不同补偿值下的回声反应恢复率。结果发现: 根据神经元在某一补偿值下对回声信号反应的恢复率是否超过 70%, 可将其分为具有选择性(S)和无选择性(NS)的两类神经元。且谐波内 S 神经元所占比例(68%)远超过非谐波内 S 神经元(39%)。分析神经元的发放模式发现谐波内 S 神经元中相位型发放模式比例(44.3%)明显高于其他三种类型神经元。另外, 虽然 S 和 NS 神经元的强度-潜伏期函数类型均以饱和型为主, 但谐波内 S 神经元强度-潜伏期函数的最佳强度(best amplitude, BA)(95.3±14.0) dB SPL 低于 NS 神经元的 BA(104.1±10.2) dB SPL($P < 0.01$), 同时也低于非谐波内 S 神经元的 BA(109.7±7.9) dB SPL($P < 0.01$)。以上实验结果表明, 在下丘水平, 神经元就已对多普勒频移补偿后回声定位信号的处理有了分工, 集中在谐波内的 S 神经元通过提高对某一补偿值下回声信号反应的恢复率实现, 对回声信息的精确编码, 避免其他杂波干扰信息。同时, 谐波内 S 神经元的发放模式和强度-潜伏期函数特点也满足其在复杂环境中精确声学成像的需求。

关键词 多普勒频移补偿, 谐波, 发放模式, 强度-潜伏期函数, 普氏蹄蝠

学科分类号 Q6, R338

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2014.00145

普氏蹄蝠(Pratt's roundleaf bat, *Hipposideros pratti*) 属菊头蝠科(Rhinolophidae)蹄蝠属(*Hipposideros*), 俗名马蹄蝠或黄大蹄蝠, 喜集群生活, 常与大蹄蝠(*Hipposideros armiger*)、中菊头蝠(*Rhinolophus affinis*)、棕果蝠(*Rousettus leschenaulti*)共栖一洞, 以振翅昆虫为食, 主要分布于陕西、江苏、浙江、安徽、湖南、江西、云南、贵州、四川等地, 为我国特有蝠种, 包括指明亚种(*Hipposideros pratti pratti*, Thomas, 1891)和马来亚种(*Hipposideros pratti lylei*, Thomas, 1913)两个亚种^[1]。普氏蹄蝠是典型的恒频-调频(constant frequency-frequency modulation, CF-FM)蝙蝠, 使用其特有的回声定位信号来感知周围环境, 躲避障碍物和捕获猎物等。早期研究指出回声定位蝙蝠通过分析发声与回声间细微的差异进行回声定位。蝙蝠回声定位信号一般包含多个谐波成分^[2], 其中频率最低的为基频, 称第一谐波; 高次谐波为基频的整数倍, 基

频两倍的为第2谐波, 三倍的为第3谐波, 以此类推, 并将能量最高的谐波频率称为主频。普氏蹄蝠的回声定位信号一般包含三个谐波, 每一个谐波都包含一段时程较长的恒频成分(CF)以及末尾的调频信号(FM), 其中能量最高的为第二谐波^[3-4], 本室录制结果与上述报道一致(图1)。陈敏等^[4]在有关普氏蹄蝠回声定位声波的研究显示, 普氏蹄蝠在飞行时的发声频率低于悬挂状态, 提示在其回声定位过程中存在多普勒频移补偿行为(Doppler-shift compensation, DSC)。

* 国家自然科学基金资助项目(31000959)和湖北省自然科学基金(2014CFB653)资助项目。

** 共同第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 027-67867229, E-mail: bobaytang2013@126.com

收稿日期: 2014-05-21, 接受日期: 2014-08-18

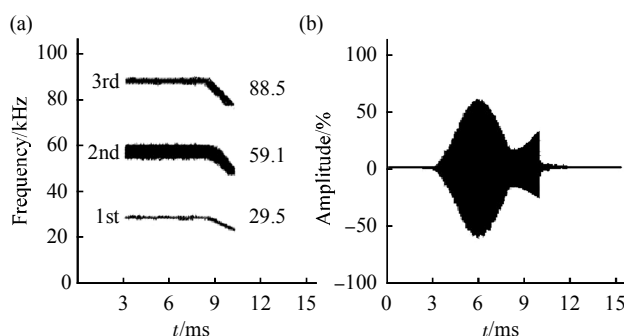


Fig. 1 Echolocation call of *Hipposideros pratti*

(a) Spectrogram spectrum of echolocation call. (b) Amplitude spectrum of echolocation call. The three values in (a) are the frequencies of the CF components of three harmonics.

DSC 是 CF-FM 蝙蝠特有的一种听-声反馈机制, 是对多普勒效应适应性的表现. 多普勒效应是由于波源与观察者间的相对运动而引起观察者感知的波频发生变化, 即频率发生漂移的现象^[1]. 这一现象在日常生活中普遍存在, 并被广泛应用于移动通信、医学诊断、雷达测速等方面, 然而现代化的各类设备敏感性与准确性远不及生物本身, 因此深入研究生物体中的神经机制将能更好地改进现有的设备甚至创造新的设备, 更好地为人类服务. 早在 1967 年, Schnitzler^[6-7]首次报道了马铁菊头蝠 (*Rhinolophus ferrumequinum*) 和地中海菊头蝠 (*Rhinolophus euryale*) 在飞行和着陆阶段存在着 DSC. 之后不断有研究者证明分布在旧大陆的菊头蝠科和蹄蝠科 (*Hipposiderinae*) 以及新大陆髯蝠科 (*Mormoopidae*) 裸背蝠属 (*Pteronotus*) 的部分 CF-FM 蝙蝠均存在 DSC 行为. 蝙蝠在飞行过程中与靶物间产生相对运动, 进而使其感知到回声频率的变化. 在蝙蝠靠近靶物时回声频率升高, 此时蝙蝠会主动降低自身的发声频率进而对升高的回声频率进行补偿, 从而将回声维持在一较恒定水平, 即基准频率 (reference frequency, RF). 同理, 在远离靶物时蝙蝠会升高自身的发声频率来补偿逐渐降低的回声频率. 因此 DSC 包括降低发声频率实现对升高回声频率的正向补偿以及升高发声频率的负向补偿两种^[8]. CF-FM 蝙蝠通过调整发声中 CF 成分的频率对多普勒频移后的回声频率进行补偿, 从而保证接收的回声频率始终维持在基准频率附近^[9-12], 该基准频率位于其听觉最敏感范围内, 略高于静息状态时的主频频率, 在菊头蝠、髯蝠中约高

150~200 Hz, 蹄蝠中约高 300~600 Hz. 有趣的是在 CF-FM 蝙蝠的耳蜗基底膜上存在一个与 DSC 行为相适应的区域, 称听觉中央凹, 中央凹频率范围一般集中在某一谐波 (多为主频) 附近的狭窄区域内^[13], 但其占据了基底膜很大比例, 使蝙蝠可以感知主频附近更加精细的频率变化, 如在帕氏髯蝠中 54~70 kHz 频率范围可占基底膜长度的 50%, 而在中央凹区域外各频率范围在基底膜上所占比例大致相同. 这样中央凹处神经元对回声定位信号的主频存在过表达, 且频率调谐曲线极尖锐, 并且在整个听觉通路中均存在对主频过表达的区域^[14-15], 因此, 这样特化的听觉系统可分辨极小的频率差异并快速准确地对回声信息进行编码. 然而, 先前有关 CF-FM 蝙蝠 DSC 的研究方法主要是依靠摆钟实验 (将蝙蝠固定悬挂, 面向墙壁做单摆运动) 和录音回放模拟回声频率漂移现象, 研究不同因素对菊头蝠和帕氏髯蝠 (*Pteronotus parnellii*) DSC 的影响, 而利用神经电生理方法研究 DSC 的报道甚少, 无法确认下丘 (inferior colliculus, IC) 这一听觉中枢重要核团是如何处理多普勒频移信息的.

另外, 有关蝙蝠如何处理回声定位信号的研究多采用双声刺激模拟蝙蝠回声定位中的发声与回声, 系统地改变双声间的间隔, 并将回声恢复到对照 (单声水平) 下特定水平 (一般为 50%) 时的双声间隔 (interpulse interval, IPI), 即恢复周期 (recovery cycle) 作为反应恢复的指标来进行判断^[16-18], 研究还发现恢复周期变化范围很大, 并且沿听觉通路逐渐上行, 恢复周期逐渐增大^[16]. 对于回声定位蝙蝠而言, 神经元的恢复周期直接决定了其对靶物的感知能力. 在整个回声定位过程中, 蝙蝠不断改变发声信号的参数^[19-21]以适应周围环境, 而听中枢神经元则需要快速地作出反应以处理回声信息, 恢复周期特性就是衡量蝙蝠能否准确快速提取回声信息的重要基础^[22]. 此外, 也有相关报道用在固定双声间隔下神经元对回声的恢复水平 (放电数恢复比例), 即恢复率 (recovery rate)^[16]来进行判断, 神经元在固定时间间隔下恢复率越高表明感知回声能力越强. 在马铁菊头蝠 DSC 研究中发现, 蝙蝠最长仅能对相对于发声延迟约 20 ms 的回声进行 DSC^[23], 这就对神经元在短时间脉冲间隔下的恢复率提出了更高的要求.

基于上述, 本研究以普氏蹄蝠为对象, 采用调节发声频率保持回声频率不变的双声刺激模式, 模拟自然状态下 CF-FM 蝙蝠经 DSC 后的脉冲-回声

对. 记录 IC 神经元在特定 IPI 下对不同补偿值脉冲 - 回声对中回声反应的恢复情况, 根据其在不同补偿值下的恢复率判断是否具有对某些补偿值的偏好特性, 并比较 IC 神经元处理回声信息的差异, 进一步研究 IC 神经元对不同 DSC 后信号的反应及其生物学意义.

1 材料与方法

1.1 动物手术和电极制备

实验动物为 7 只听觉正常的普氏蹄蝠, 5 雄 2 雌, 体重为 $38 \sim 60 (47.4 \pm 9.1)$ g. 手术前对蝙蝠的回声定位信号进行录制, 确定普氏蹄蝠回声定位信号特征. 动物实验手术处理及电极制备参照本实验室以往研究^[24]. 手术麻醉药物为 0.48% 戊巴比妥钠, 采用腹腔注射 ($45 \sim 50$ mg/kg, b.w.t) 的方法进行术前麻醉. 动物麻醉后, 剪去头顶毛发, 剪开头皮, 钝性分离头部肌肉与结缔组织, 暴露头部颅骨. 用 95% 酒精棉球擦拭颅骨表面进行脱脂处理, 将一根长度约 1.8 cm 的小钉利用超强力胶 LOTITE 496 固定于颅骨表面, 牙科水泥加固, 防止小钉在实验过程脱落. 使用利针在人字缝附近, IC 上方突出的颅骨处钻一个直径在 $200 \sim 500$ μm 的小孔. 将小孔表面碎骨剔除干净, 挑破 IC 上方脑膜, 暴露 IC, 供记录微电极插入. 手术完成后, 在屏蔽室内将实验动物固定, 实验过程中屏蔽室内温度始终维持在 $24^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$. 每次实验前, 使用微电极拉制器 (Bioscience Co, UK) 将外径为 1.5 mm 单管微电极毛坯拉制成尖端直径小于 1 μm 的单管微电极, 实验中电极管内灌注液为 2 mol/L 的 NaCl, 电极阻抗保持在 $5 \sim 10$ M Ω .

1.2 声刺激和信号记录

实验采用自由声场刺激, 声刺激系统包括 4 台函数发生器 (GFG-8016G, GFG-8216A, Good Will Instrument Co., LTD; Agilent 33220A, Malaysia)、2 台短声发生器 (自制)、2 台衰减器 (LAT-45, LEADER, Japan)、1 台高频功率放大器 (自制) 以及 1 个高频扬声器 (AKMG model CK50, 直径 1.5 cm, 频响范围为 $1 \sim 100$ kHz). 实验前, 声刺激系统经声级计 (B&K-2610, Denmark) 和 1/4 英寸麦克风 (4936, B&K) 校正. 超声喇叭垂直方位保证与蝙蝠鼻眼线相平, 水平位于记录下丘对侧 30° , 此时超声喇叭正对蝙蝠外耳道. 实验中的双声均为 CF-FM 复杂声, CF-FM 声刺激是通过自制的短声发生器首先将函数发生器产生的连续声信号包络成

时程为 7 ms、起落时间为 0.5 ms、刺激率为 2 Hz 的 CF 纯音, 之后该纯音经另一函数发生器产生的 Ramp 斜波调制加工生成包含 5 ms CF 成分和 2 ms FM 成分的复杂声, 其中 FM 成分的频率为 CF 频率下扫至 80%.

实验过程中细胞外记录电极通过微电极液压推进器 (Kopf 640, USA), 从蝙蝠 IC 表面垂直推进. 声刺激诱发的神经元动作电位经生物电信号放大器 (ISO-80, WPI, USA) 放大, 经模 / 数 (A/D) 转化输入计算机采样. a. 实验首先利用单个时程为 7 ms 的纯音寻找声敏感神经元, 确定声刺激诱发神经元产生动作电位发放的最佳频率 (best frequency, BF)、最小阈值 (minimum threshold, MT) 和此时的记录深度 (recording depth), 绘制神经元的强度 - 潜伏期函数, 并参照录音结果, 将神经元 BF 位于各谐波中 CF 成分频率 ± 2 kHz 范围内的神经元定义为谐波内神经元, 其他为非谐波内神经元; 记录对照组, 神经元对频率为最佳频率, 强度为阈上 20 dB (MT+20), 时程为 (5+2) ms 的单个 CF-FM 的反应. b. 采用双声刺激 CF-FM 脉冲 - 回声对模式, 测定神经元对不同多普勒频移补偿值脉冲 - 回声对的反应. ① 设置双声信号 CF 频率均为神经元的 BF, 时程均为 5+2 ms, 强度 MT+20 dB. 改变双声刺激间隔为 1、2、4、10、20、30、40、50、75、100、150、200 ms, 以随机方式给出, 记录不同 IPI 下神经元对脉冲回声对的反应; 并利用神经元对第二个声刺激的动作电位发放率与对照组的动作电位发放率的比值, 绘制神经元的恢复周期曲线 (recovery cycle curves), 确定神经元恢复率达到 50% 的双声间隔 (50% IPI), 定义其为标准 50% IPI. ② 保证双声信号的强度、时程不变. 改变双声刺激中模拟发声的第一个声信号的 CF 频率为 BF+4、BF+3、BF+2、BF+1、BF+0.5、BF-0.5、BF-1、BF-2、BF-3、BF-4、BF-6、BF-8 kHz, 第二个声信号频率仍为神经元 BF, 模拟不同多普勒频移补偿值下脉冲 - 回声对, 固定双声刺激间隔为标准 50% IPI, 测定不同补偿值下神经元对第二个声信号的动作电位发放数, 计算其与对照组发放数比值确定恢复率, 绘制不同补偿值下的恢复率 (Doppler shift compensation-recovery) 曲线.

1.3 数据分析

实验数据用 Spss 13.0 进行统计分析, 应用 SigmaPlot 10.0 软件绘图. 利用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和配对 t 检验分析数据之间的差

异是否显著。

2 实验结果

2.1 IC 神经元对不同多普勒频移补偿值的选择性

实验共记录到声敏感神经元 268 个, 神经元的 BF 为 10.0~91.1(46.1 ± 17.2) kHz, MT 的范围是 10.3~99.4(62.4 ± 13.8) dB SPL, 记录深度范围是 573~5 040($2 654.5 \pm 806.2$) μm . 通过观察神经元最佳频率与记录深度间的关系, 发现随记录深度的增加神经元 BF 逐渐上升, 具有显著正相关性($r = 0.81$, $P < 0.01$), 即可见沿背腹轴存在拓扑组构关系, 因此下丘记录部位是中央核. 绘制神经元的多普勒频移补偿值 - 恢复率曲线, 其中 BF 分布于第一谐波和第二谐波的谐波内神经元 103 个, 非谐波内神经元 31 个. 根据神经元在标准 IPI 下对回声

信号反应的恢复率是否超过 70%, 可将记录到的神经元分为对部分多普勒频移补偿值具有偏好的选择性神经元(selectivity neurons, S)和在各补偿值下恢复率无较大差异且均不超过 70%的无选择性神经元(non-selectivity, NS). 其中对多普勒频移补偿值有选择性的神经元又可分为偏好正向补偿值、偏好负向补偿值, 以及对正负补偿值均偏好的三类神经元(图 2).

分析谐波内和非谐波内各类神经元所占比例(图 2e, f), 发现谐波内 S 神经元的比例(70/103, 68%)较非谐波内的要高(12/31, 39%). 其中位于谐波内的 S 神经元中偏好正向补偿、负向补偿和正负补偿均偏好的神经元分布的比例分别为 35%, 13%, 20%; 非谐波内的 S 神经元中各类型所占比例依次为 23%, 10%, 6%.

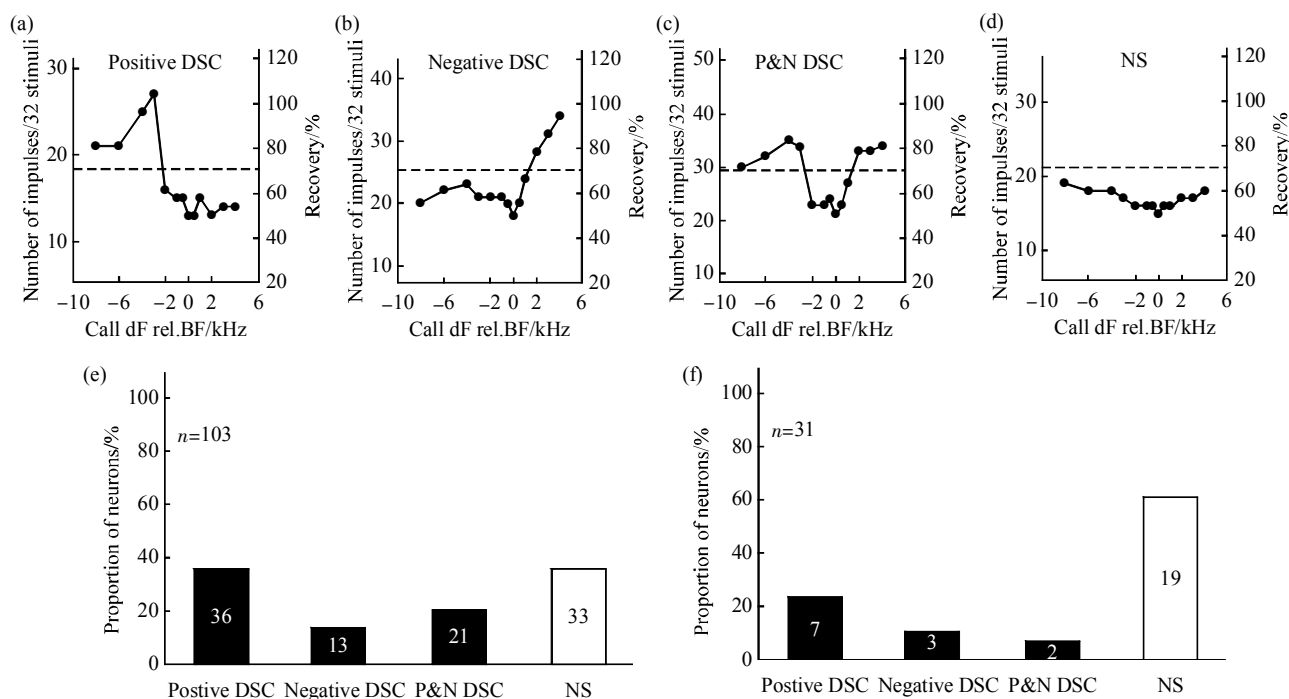


Fig. 2 Four representative positive, negative, P&N, and non-selective neurons and proportion of the four types

(a~c) Indicate Doppler shift compensation-recovery curves of 3 selective neurons. (a) Shows a representative neuron which is preferred positive compensation. (b) Shows a representative neuron which is preferred negative compensation. (c) Shows a representative neuron which is preferred double direction. (d) Shows a Doppler shift compensation-recovery curve of non-selective neuron. (e, f) Show the proportions of these four types of harmonic and non-harmonic IC neurons, respectively. The number of each type is shown in the bar. The BF (kHz), recording depth (μm), MT (dB SPL) of these representative neurons were 59.3, 3313, 54.3 (a, 100513); 58.5, 1745, 58.7 (b, 102723); 58.7, 2691, 52.3 (c, 091223); 30.7, 3102, 81.4 (d, 102641), respectively.

2.2 S 和 NS 神经元的发放模式

根据记录到的神经元刺激后放电时间直方图(post-stimulus time histogram, PSTH)可以将记录的

神经元发放模式分为以下 4 种类型: 相位型(phasic, P)(图 3a)、相位爆发型(phasic burst, PB)(图 3b)、紧张型(tonic, T)(图 3c)和梳齿型(chopper, C)

(图 3d). 统计发现, 谐波内神经元和非谐波内神经元发放模式均以 PB 为主, 分别占 40%(41/100)和 52%(16/31). 进一步分析 S 和 NS 神经元的发放模式差异, 结果显示, 谐波内 S 神经元以 P 型发放为主, 其比例(31/70 44%)高于其他 3 种类型(PB: 24/70 34%, T: 12/70 17%, C: 3/70 4%), 而 NS 神经元以 PB 型发放为主(P: 5/30 17%, PB:

17/30 57%, T: 7/30 23%, C: 1/30 3%); 在非谐波内神经元中, 无论是 S 神经元(P: 3/12 25%, PB: 7/12 58%, T: 2/12 17%)还是 NS 神经元(P: 5/19 26%, PB: 9/19 47%, T: 3/19 16%, C: 2/19 11%)其发放模式均以 PB 为主, 各发放类型的神经元数目详见图 3e 和 f.

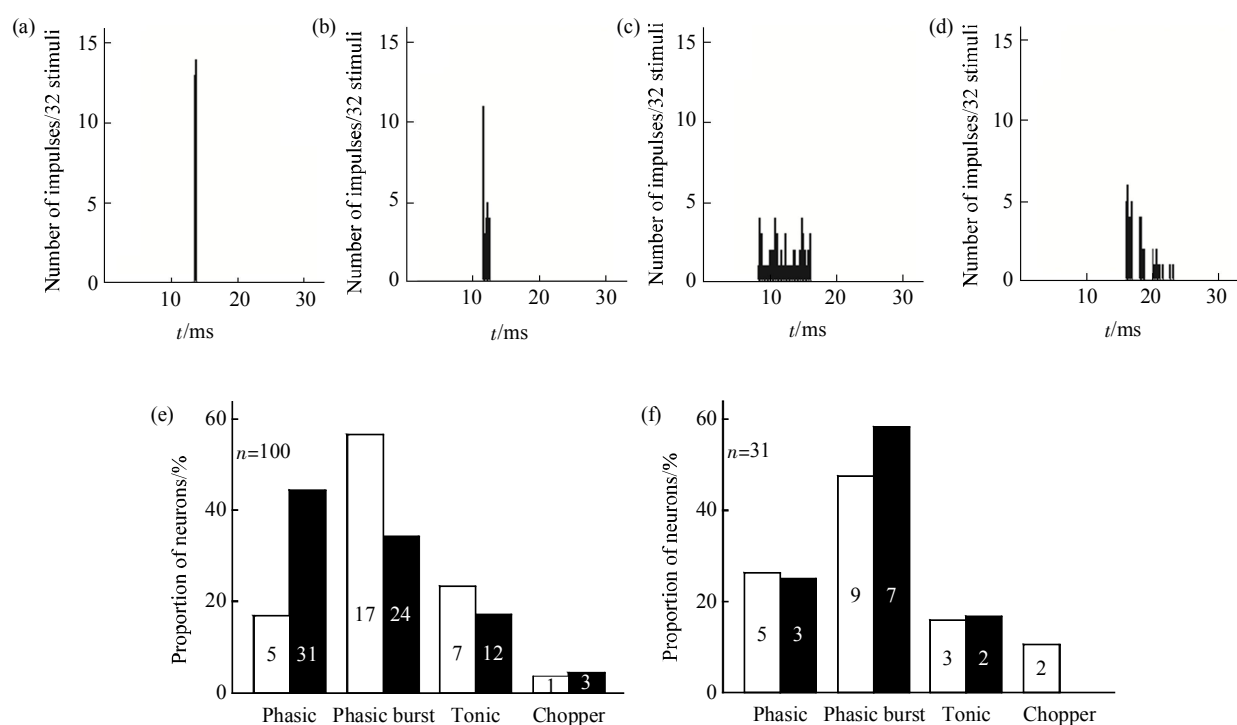


Fig. 3 The discharge patterns of IC neurons of harmonic and non-harmonic

(a~d) The peri-stimulus-time (PST) histograms showing the discharge patterns of four representative IC neurons. (a) Phasic responder. (b) Phasic burster. (c) Tonic responder. (d) Chopper responder. (e, f) Show distribution of different discharge patterns of non-selective and selective neurons of harmonic and non-harmonic IC neurons, respectively. The unfilled bar denote the non-selective neuron, filled bar denote the selective neuron. The neuron's number of each pattern is shown in the bar. The BF (kHz), recording depth (μm), MT (dB SPL) of these representative neurons were 32.5, 1888, 58 (a, 102712); 59.1, 4701, 45.6 (b, 082142); 58.8, 3525, 53.1 (c, 112041); 58.8, 2437, 46.1 (d, 082034), respectively. $\square$: NS; $\blacksquare$: S.

2.3 S 和 NS 神经元的强度-潜伏期函数

实验记录到神经元的强度-潜伏期函数类型包括潜伏期随强度升高而递减的单调型(图 4a), 潜伏期随强度增大降低至某一水平并趋于平稳的饱和型(图 4b)以及潜伏期随强度先减小后增加的 V 形非单调型三类(图 4c). 比较谐波内和非谐波内神经元中强度-潜伏期函数类型和比例发现并无明显差异(单调型: 17/82 21% vs 3/22 14%, 饱和型: 57/82 70% vs 17/22 77%及非单调型: 8/82 10% vs 2/22 10%)(图 4d 和 e), 且不论谐波内外 S 神经元与 NS

神经元各类型均无明显差异(谐波内 S 神经元各类型比例分别为 11/56 20%、38/56 68%、7/56 12%, NS 神经元中各类型所占比例分别为 6/26 23%、19/26 73%、1/26 4%; 谐波外 S 神经元各类型所占比例分别为 1/9 11%、7/9 78%、1/9 11%, NS 神经元中各类型所占比例分别为 2/13 15%、10/13 77%、1/13 8%)(图 4d, e), 但通过计算神经元强度-潜伏期函数的最佳幅度(best amplitude, BA)发现, 谐波内 S 神经元的 BA 比 NS 神经元 BA 低(95.3 ± 14.0 vs 104.1 ± 10.2 dB SPL,

$P < 0.01$), 另外, 谐波内 S 神经元的 BA 也显著低于非谐波内 S 神经元的 BA (95.3 ± 14.0 vs 109.7 ± 7.9 dB SPL, $P < 0.01$) (图 4f). 而 S 和 NS 神经元强度 - 潜伏期函数的动态范围(dynamic range, DR)及斜率(slope)则无显著差异(图 4g, h), 表现为谐波内

S 神经元 DR 值与 slope 分别为 (15.3 ± 8.4) dB SPL 和 $(1 \pm 0.8)\%/dB$, NS 神经元分别为 (19.4 ± 12.4) dB SPL 和 $(0.8 \pm 0.6)\%/dB$; 非谐波内 S 神经元的 DR 值与 slope 为 (17.6 ± 12.2) dB SPL 和 $(1.0 \pm 1.2)\%/dB$, NS 神经元分别为 (17.1 ± 10.3) dB SPL 和 $(0.6 \pm 0.5)\%/dB$.

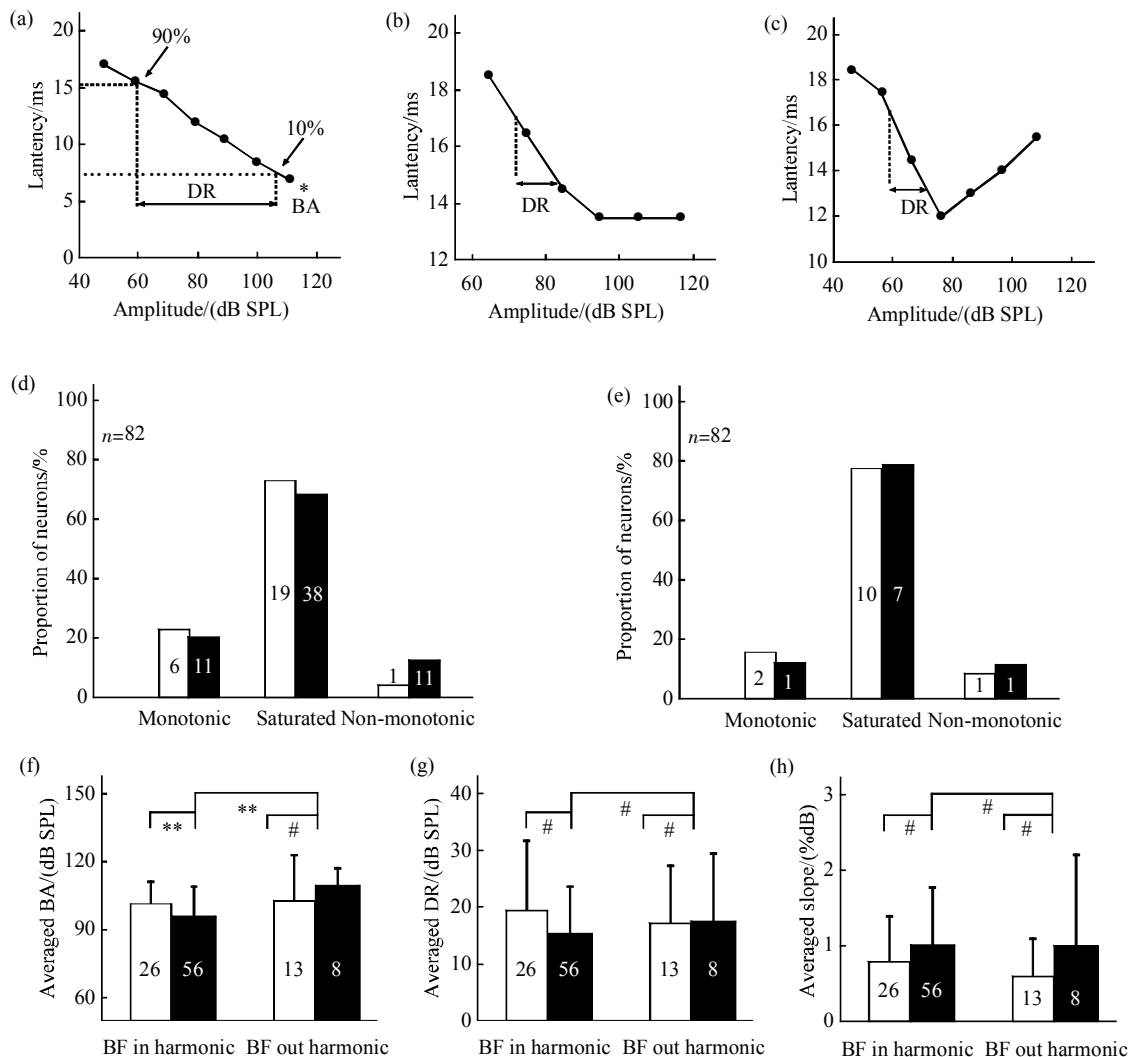


Fig. 4 The intensity-latency curves of IC neurons and comparisons of the average BA, DR and slope of non-selective and selective neurons of harmonic and non-harmonic

(a ~ c) Show three representative intensity-latency curves. (a) Monotonic. (b) Saturated. (c) Nonmonotonic. (d, e) Show distribution of different intensity-latency curves of non-selective and selective neurons of harmonic and non-harmonic IC neurons, respectively. The unfilled bar denote the non-selective neuron, filled bar denote the selective neuron. (f ~ h) Show comparisons of the average best amplitude (BA), dynamic range (DR) and slope of the intensity-latency functions between S and NS neurons. The number of each type is shown in the bar. The BF (kHz), recording depth (μ m), MT (dB SPL) of these 3 representative neurons were 60.2, 2542, 48.6 (a, 042911); 58.0, 2360, 50.5 (b, 101921); 29.0, 1622, 64.2 (c, 111221), respectively. $**P < 0.01$, $\#P > 0.05$. $\square$: NS; $\blacksquare$: S.

3 讨 论

实验发现, 普氏蹄蝠 IC 神经元对不同补偿值

下的脉冲 - 回声对反应不同, 可分为对某些补偿值有偏好的 S 神经元和无偏好的 NS 神经元两类, 其中谐波内 S 神经元的比例(68%)较非谐波内(39%)的

高(图 2)。行为学研究表明, 在自然飞行状态中, DSC 行为主要发生在能量最高的谐波中, CF-FM 蝙蝠通过降低或升高发声频率将回声频率保持在主频附近^[6], 因此实验中 S 神经元 BF 集中于主频则满足了 CF-FM 蝙蝠精确处理多普勒频移补偿后回声信息的需求。由于 CF-FM 蝙蝠不断靠近猎物时, 会降低自己的发声频率进行正向补偿, 而在远离目标和着陆的过程中则会发生负向补偿^[14], 并且蝙蝠在靠近靶物的过程中, 随着关注角度的变化, 补偿值也会发生相应的变化^[7], 因此 IC 中 S 神经元可以通过提高特定补偿值下的回声反应恢复率, 优先对特定靶物信息进行处理, 提高回声定位效率。那些偏好正向补偿、负向补偿和正负均偏好的 S 神经元(图 2a~c), 推测其可以分工处理不同补偿值下的回声信息, 与蝙蝠不同飞行状态下的 DSC 行为相适应。另外, 由于高频声在空气中衰减较快, 因此推测分布于第一谐波的 S 神经元则可能在探测远距离靶物时发挥重要的作用; 并且不同频率的各个谐波有助于蝙蝠识别不同大小的目标, 从而更有利于从复杂立体环境中识别靶物^[26-28], 由此可见, BF 在谐波附近的 S 神经元对处理补偿后的回声信息显得特别重要。

为进一步了解 IC 中 S 和 NS 神经元编码声信号的差异, 本研究还探讨了这两类神经元的发放模式有何差异。实验记录到普氏蹄蝠 IC 神经元的发放模式主要包括 P(44/131 34%)、PB(57/131 44%)、T(24/131 18%)和 C(6/131 4%) 4 种类型, 其中 PB 神经元比例最高(图 3)。O'Neill^[29]有关胡须蝠 IC 神经元发放模式的研究也发现 6 种发放模式中 PB 所占比例最大, 与本实验结果较为一致。听神经元的发放模式可以对声刺激信号的时程、刺激起始与终止进行编码^[30]。不同的发放类型在声信号处理中发挥不同的作用。如 P 型神经元对编码声刺激快速变化的信息尤为重要, 主要表现为时相编码和相位锁定^[31-32]。T 神经元主要进行静态声信息的编码^[33], 普遍认为对声刺激时程具有很好的编码能力^[33-35]。在有关小棕蝠下丘神经元不同发放模式神经元对强度变化编码的研究中发现, T 和 C 神经元的潜伏期较长且反应异变导致其锁相特性下降, 更适于对长时程的调幅声作出反应, 这部分声刺激信号的特点更加符合蝙蝠被动接收昆虫的发声、种间交流信息和自然界中其他发声^[31]。本实验记录到的 S 神经元发放模式主要集中在 P 型, 而 NS 神经元主要为 PB 型, 但 S 神经元在谐波内外分布有所差异, 谐

波内以 P 型为主, 而谐波外以 PB 居多(图 3e, f)。由于 P 与 PB 相比具有更强的锁相能力, 且之前研究报道, P 神经元潜伏期短而精确, 可以对短时程不连续的超声信号准确编码^[36], 推测 P 型 S 神经元可以更加及时准确地标记发声与回声的时间间隔, 准确地表示目标所在范围^[37-38], 满足蝙蝠在追逐目标发出高重复率脉冲时快速准确地编码回声信息的需求。因此, 谐波内高比例的 P 型 S 神经元在蝙蝠发生 DSC 行为时可满足其快速精确分析靶物距离等信息的需求。

同时分析普氏蹄蝠 IC 不同类型神经元的强度-潜伏期函数, 发现谐波内和非谐波内神经元中 S 和 NS 神经元在函数类型上并没有差异, 各类型神经元中均以饱和型所占比例最高(图 4d, e)。关于强度潜伏期函数的类型, 不同研究报道有不同的说法^[39-40]。虽然这种潜伏期随刺激强度上升而缩短的单调型变化趋势在视觉、听觉和躯体感觉中普遍存在, 但对于听觉系统而言, 饱和型神经元在各级核团中均占优势^[40], 与本研究结果一致。这类神经元潜伏期在缩短到一定程度后不受强度影响, 可能在精确编码回声定位到达时间中发挥重要作用^[36]。对于非单调型(亦有研究称 paradoxical latency shift, PLS)神经元而言, 之前大量研究报道其在下丘及以上核团较为常见^[40-44], 该类神经元在高强度下潜伏期增长, 从而对声强较高的发声与经空气衰减的回声分别编码, 且低强度的回声潜伏期更短, 能够很好地编码脉冲-回声对延迟时间、确定靶物范围^[42-43], 并有相关研究报道推测其在处理复杂交流声^[45-46]及编码具有强度差的连续声刺激间隔中发挥重要作用^[40, 47]。进一步比较了强度-潜伏期函数的各项指标后发现, 谐波内 S 神经元强度潜伏期函数的 BA 值较其他类型神经元低(图 4f), 说明这部分神经元对低强度的回声更加敏感, 在较低声强的回声信号刺激下反应的潜伏期即可达到最短, 能够及时对回声信号作出反应, 完成精确回声定位。然而分析 S 和 NS 神经元强度-发放率函数时发现其 BA、DR 及 slope 均具有显著差异(本实验室待发表结果)。推测差异原因可能是由于随着刺激强度增大, 神经元发放数与潜伏期的变化程度不一致导致的, 即随声强的不断上升神经元发放数变化显著而潜伏期则变化较小。

综上所述, 普氏蹄蝠下丘 S 神经元对多普勒频移补偿后的回声定位信号具有高度敏感性和分工处理特性。神经元通过选择性增强它所偏好的补偿值

下的回声反应恢复率, 从而对特定补偿值下的脉冲 - 回声对信息进行优先处理, 同时这部分神经元的发放模式和潜伏期变化特点, 满足了 CF-FM 蝙蝠精确回声定位的需求。

参 考 文 献

- [1] 潘清华, 王应祥, 岩 昆. 中国哺乳动物彩色图鉴. 北京: 中国林业出版社, 2007: 98
Pan Q H, Wang Y X, Yan K. A field guide to the mammals of China. Beijing: China Forestry Publishing House, 2007: 98
- [2] Schnitzler H U, Kalko E K V. Echolocation by Insect-Eating Bats We define four distinct functional groups of bats and find differences in signal structure that correlate with the typical echolocation tasks faced by each group. *Bioscience*, 2001, **51**(7): 557-569
- [3] 冯 江, 刘 颖, 陈 敏, 等. 4 种蹄蝠回声定位声波特征与体型的相关性. 东北师大学报, 2001, **33**(4): 81-85
Feng J, Liu Y, Chen M, *et al.* *J Northeast Normal Univ*, 2001, **33**(4): 81-85
- [4] 陈 敏, 冯 江, 李振新, 等. 普氏蹄蝠(*Hipposideros pratti*)回声定位声波、形态及捕食策略. 应用生态学报, 2002, **13**(12): 1629-1632
Chen M, Feng J, Li Z X, *et al.* *Chin J Appl Ecol*, 2002, **13**(12): 1629-1632
- [5] Zhang A, Hu F, He Q, *et al.* Doppler shift removal based on instantaneous frequency estimation for wayside fault diagnosis of train bearings. *J Vib Acoust*, 2014, **136**(2): 021019
- [6] Schnitzler H U. Kompensation von dopplereffekten bei hufeisenfledermausen. *Naturwissenschaften*, 1967, **54**(19): 523
- [7] Schnitzler H U. Die Ultraschall-ortungslaute der hufeisenfledermause (chiroptera-rhinolophidae) in verschiedenen orientierungs-situationen. *Z Vergl Physiol*, 1968, **57**(4): 376-408
- [8] 王绪中, 胡开良, 韦 力, 等. 大蹄蝠多普勒正负补偿效应的声波特征与比较. 动物学研究, 2010, **31**(6): 663-669
Wang X Z, Hu K L, Wei L, *et al.* *Zoo Res*, 2010, **31**(6): 663-669
- [9] Mantani S, Hiryu S, Fujioka E, *et al.* Echolocation behavior of the Japanese horseshoe bat in pursuit of fluttering prey. *J Comp Physiol A*, 2012, **198**(10): 741-751
- [10] Hiryu S, Katsura K, Lin L K, *et al.* Doppler-shift compensation in Taiwanese leaf-nosed bat (*Hipposideros terasensis*) record with a telemetry microphone system during flight. *J Acoust Soc Am*, 2005, **118**(6): 3927-3933
- [11] Gaioni S J, Riquimaroux H, Suga N. Biosonar behavior of mustached bats swung on a pendulum prior to cortical ablation. *J Neurophysiol*, 1990, **64**(6): 1801-1817
- [12] Smotherman M, Guillenservent A. Doppler-shift compensation behavior by wagner's mustached bat, *pteropus personatus*. *J Acoust Soc Am*, 2008, **123**(6): 4331-4339
- [13] Guppy A, Coles R B. Acoustical and neural aspects of hearing in the Australian gleaner bats, *Macroderma gigas* and *Nyctophilus gouldi*. *J Comp Physiol A*, 1988, **162**(5): 653-668
- [14] Metzner W, Zhang S, Smotherman M. Doppler-shift compensation behavior in horseshoe bats revisited: auditory feedback controls both a decrease and an increase in call frequency. *J Exp Biol*, 2002, **205**(11): 1607-1616
- [15] Schnitzler H U, Denzinger A. Auditory fovea and Doppler shift compensation: adaptations for flutter detection in echolocating bats using CF-FM signals. *J Comp Physiol A*, 2011, **197**(5): 541-559
- [16] Grinnell A D. The neurophysiology of audition in bats: temporal parameters. *J Physiol*, 1963, **167**(1): 67-96
- [17] 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
- [18] Wang X, Luo F, Jen P H S, *et al.* Recovery cycle of neurons in the inferior colliculus of the FM bat determined with varied pulse-echo duration and amplitude. *Chinese J Physiol*, 2010, **53**(2): 119-129
- [19] Ghose K, Moss C F. The sonar beam pattern of a flying bat as it tracks tethered insects. *J Acoust Soc Am*, 2003, **114**(2): 1120-1131
- [20] Schnitzler H U, Moss C F, Denzinger A. From spatial orientation to food acquisition in echolocating bats. *Trends Ecol Evol*, 2003, **18**(8): 386-394
- [21] Surlykke A, Moss C F. Echolocation behavior of big brown bats, *Eptesicus fuscus*, in the field and the laboratory. *J Acoust Soc Am*, 2000, **108**(5): 2419-2429
- [22] Chen Q C, Jen P H S. Pulse repetition rate increases the minimum threshold and latency of auditory neurons. *Brain Res*, 1994, **654**(1): 155-158
- [23] Schuller G. Echo delay and overlap with emitted orientation sounds and Doppler-shift compensation in the bat, *Rhinolophus ferrumequinum*. *J Comp Physiol*, 1977, **114**(1): 103-114
- [24] 陈其才, 詹 P H S, 吴飞健. γ -氨基丁酸能抑制可锐化大棕蝠听皮层神经元频率调谐. 动物学报, 2002, **48**(3): 346-352
Chen Q C, Jen P H S, Wu F J. *Acta Zoo Sin*, 2002, **48**(3): 346-352
- [25] Gooler D M, O'Neill W E. Central control of frequency in biosonar emission of the mustached bat. *Animal Sonar*. Springer US, 1988: 265-269
- [26] 张树义, 赵辉华, 冯 江, 等. 两种蹄蝠回声定位频率与体型的相关性. 科学通报, 2000, **45**(7): 740-743
Zhang S Y, Zhao H H, Feng J, *et al.* *Chin Sci Bull*, 2000, **45**(7): 740-743
- [27] Mora E C, Macias S, Hechavarría J, *et al.* Evolution of the hetero harmonic strategy for target-range computation in the echolocation of Mormoopidae. *Front Physiol*, 2013: 4: 141
- [28] Ho Y Y, Fang Y P, Chou C H, *et al.* High duty cycle to low duty cycle: echolocation behaviour of the hipposiderid bat *Coelops frithii*. *PLoS one*, 2013, **8**(5): e62938
- [29] O'Neill W E. Responses to pure tones and linear FM components of the CF-FM biosonar signal by single units in the inferior colliculus of the mustached bat. *J Comp Physiol A*, 1985, **157**(6): 797-815
- [30] Nelken I, Chechik G, Mrsic-Flogel T D, *et al.* Encoding stimulus information by spike numbers and mean response time in primary auditory cortex. *J Comput Neurosci*, 2005, **19**(2): 199-221
- [31] Sivaramakrishnan S, Oliver D L. Distinct K currents result in

- physiologically distinct cell types in the inferior colliculus of the rat. *J Neurosci*, 2001, **21**(8): 2861–2877
- [32] Liu H H, Luo F, Wang X. The role of the ventral nucleus of the lateral lemniscus in sound signal processing and auditory ascending transmission. *Acta Physiologica Sinica*, 2014, **66**(3): 358–364
- [33] Warchol M E, Dallos P. Neural coding in the chick cochlear nucleus. *J Comp Physiol A*, 1990, **166**(5): 721–734
- [34] Rhode S H, P H Smith. Physiological studies on neurons in the dorsal cochlear nucleus of cat. *J Neurophysiol*, 1986, **56**(2): 287–307
- [35] Tsuchitani C. Discharge patterns of cat lateral superior olivary units to ipsilateral tone-burst stimuli. *J Neurophysiol*, 1982, **47**(3): 479–500
- [36] Condon C J, White K R, Feng A S. Neurons with different temporal firing patterns in the inferior colliculus of the little brown bat differentially process sinusoidal amplitude-modulated signals. *J Comp Physiol A*, 1996, **178**(2): 147–157
- [37] Simmons J A. The resolution of target range by echolocating bats. *J Acoust Soc Am*, 1973, **54**(1): 157–173
- [38] Feng A S, Simmons J A, Kick S A. Echo detection and target-ranging neurons in the auditory system of the bat *Eptesicus fuscus*. *Science*, 1978, **202**(4368): 645–648
- [39] Yin S H, Gong S S, Yan K S, *et al.* Effects of neuroglobin gene transfer *in vivo* on hearing response properties of neurons in the inferior colliculus in mice after administration of sodium salicylate. *Acta physiologica Sinica*, 2005, **57**(4): 529–536
- [40] Klug A, Khan A, Burger R M, *et al.* Latency as a function of intensity in auditory neurons: influences of central processing. *Hear Res*, 2000, **148**(1): 107–123
- [41] Olsen J F, Suga N. Combination-sensitive neurons in the medial geniculate body of the mustached bat: encoding of relative velocity information. *J Neurophysiol*, 1991a, **65**(6): 1254–1274
- [42] Olsen J F, Suga N. Combination-sensitive neurons in the medial geniculate body of the mustached bat: encoding of target range information. *J Neurophysiol*, 1991b, **65**(6): 1275–1296
- [43] Sullivan W E. Possible neural mechanisms of target distance coding in auditory system of the echolocating bat *Myotis lucifugus*. *J Neurophysiol*, 1982, **48**(4): 1033–1047
- [44] Hechavarría J C, Kössl M. Footprints of inhibition in the response of cortical delay-tuned neurons of bats. *J Neurophysiol*, 2014, **111**(8): 1703–1716
- [45] Hall J, Feng A S. Neural analysis of temporally patterned sounds in the frog's thalamus: processing of pulse duration and pulse repetition rate. *Neurosci Lett*, 1986, **63**(3): 215–220
- [46] Suga N. Auditory neuroethology and speech processing: complex-sound processing by combination-sensitive neurons. Edelman G M, Gall W E, Cowan W M. Auditory Function. *Neurobiological Bases of Hearing*. New York: Wiley, 1988: 679–720
- [47] Berkowitz A, Suga N. Neural mechanisms of ranging are different in two species of bats. *Hear Res*, 1989, **41**(2): 255–264

Differences Between Harmonic and Non-harmonic Neurons Processing Doppler-shift Compensation Information in Inferior Colliculus of *Hipposideros pratti**

LI Lin**, FU Zi-Ying**, WANG Li-Ping, WEI Chen-Xue, ZOU Li-Fang, CHEN Qi-Cai, TANG Jia***

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

Abstract In order to investigate the role of inferior colliculus (IC) neurons in Pratt's roundleaf bats' Doppler-shift compensation (DSC), we recorded the responses of IC neurons to the echoes by using simulated pulse-echo pairs of bats' DSC. According to the recovery rate of neural responses to echo signals at different frequency shifts of DSC, neurons were classified into two types: selective neurons (S neurons) whose recovery rate was more than 70% at some specific frequency shifts of DSC and non-selective neurons (NS neurons) whose recovery rate was less than 70% at any frequency shifts of DSC. Further analysis revealed that the proportion of S neurons of harmonic neurons (68%) was greater than the non-harmonic neurons (39%), and firing patterns of most harmonic S neurons was phasic (44.3%). Although the intensity-latency curves were similar in S and NS neurons, the harmonic neuron's best amplitude (BA) of the functions in S neurons (95.3 ± 14.0 dB SPL) were notably lower than NS neurons (104.1 ± 10.2 dB SPL) ($P < 0.01$), and there was a very significant difference in BA between the S neurons of harmonic and non-harmonic neurons (95.3 ± 14.0 vs 109.7 ± 7.9 dB SPL, $P < 0.01$). These results suggested that there is a clear division of labour in IC neurons processing and analyzing echo information during the DSC. S neurons which concentrated in the harmonics can effectively encode the echo information and avoid disturbances of other clutter information by increasing the recovery rate of responses to echo under specific frequency shifts of DSC. And the characteristics of firing patterns and intensity-latency functions of S neurons of harmonic neurons were different than other neurons, which met the need in precise acoustic imaging at complex environments.

Key words Doppler-shift compensation, harmonic, discharge pattern, intensity-latency functions, *Hipposideros pratti*

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2014.00145

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31000959) and Hubei Provincial Natural Science Foundation(2014CFB653).

**These authors contributed equally to this work.

***Corresponding author.

Tel: 86-27-67867229, E-mail: bobaytang2013@126.com

Received: May 21, 2014 Accepted: August 18, 2014