中国科学(B辑)
第24卷 第4期 SCIENCE IN CHINA (Series B) 1994年4月

鸣鸣蝉发声的神经控制*

蒋锦昌 杨新宇 王永兵 徐慕玲 陈 浩 唐 欢
(中国科学院生物物理研究所,北京 100101)

摘 要

本文描述了蝉类发声神经(SN)的一种新类型及其胸腹神经节对叫声的影响. 鸣鸣蝉(*Oncotympana maculaticollis* Motsch)的SN为复合神经,巨轴突直径约20μm,并含有若干个直径约1—5μm左右的细轴突,其轴突分别由多层结构的轴系膜所包围. SN电刺激发声的潜伏期平均为10.3±1.2ms. SN对发声肌(SMc)的发声运动具有复合支配特性,其三相动作电位的前电位呈明显的双峰结构. SN的发放兴奋SMc产生的肌电和叫声的潜伏期分别为5.8±0.5ms和11.2±1.2ms. 与SN紧挨的副发声神经下行至SMc前端分开,擦SMc前端内侧肌膜绕行至声门开闭肌.

去脑对两侧SMc发声运动的时域和颤动特性无显著影响. 但是去前胸神经节(PG)对两侧SMc发声运动的时域特性有显著影响,而对颤动特性无显著影响,去1/2中胸神经节(MG)对两侧SMc发声运动的时域和颤动特性都有显著影响. 可见,两侧SMc的发声运动仍可能受到PG和MG的调节和控制.

关键词 鸣鸣蝉、胸腹神经节、发声神经、神经控制

有关蝉类的发声神经目前认为有3种结构形式. 某些种类蝉的发声神经是听神经的单根分支[1]. 例如,囊蝉(*C. saundersii*)的发声神经为听神经穿过腹板管后的单根分支,轴突直径约20μm[2, 3]. 但是,17年蝉(*M. cassini*)发声神经虽然是听神经的分支,轴突直径约25μm,但轴突外区至少有3个直径约1—6μm的细轴突,即为复合神经[4,5]. 某些蝉类的发声神经为单独结构,并沿背内壁下行至发声肌[6]. 例如,黑蝉(*C. atrata* Fabr.)发声神经的直径约70μm,并沿气室膜下行至发声肌腹面钻入,并在其内蔓生许多小分支[7]. 同时,蝉类的胸腹神经系统分为前胸和中胸神经节[1],或前胸、中胸和位于中胸的后胸腹经节[2—5],或第I,II和位于中胸的第III胸神经节[7],并分别认为发声神经起源于中胸、后胸腹和第III胸神经节.

本文的结果表明,鸣鸣蝉的SN为含有若干个细神经的独立结构的复合神经,明显不同于上述报道的蝉类SN的3种结构形式. SN对SMc的发声运动具有复合支配特性,其动作电位的前电位呈双峰结构. 与SN紧挨而下行的副发声神经(aSN)的分支支配气室声门的开闭

1993-02-11收稿,1993-09-16收修改稿.
*国家自然科学基金资助项目.

肌．同时，分别阻断前胸和中胸神经节对叫声都有明显的不同影响．可见，具有独特变音调叫声的鸣鸣蝉[8]，其发声过程不仅受到 SN 和 aSN 等协调的多重支配，而且位于后胸腹神经节的发声核团纤维有可能继续上行到前胸和中胸神经节．

1　实 验 方 法

1.1　发声神经(SN＝sounding nerve)的结构观察

实验动物采于北京西山樱桃沟．新鲜的 SN 在 10% 福尔马林溶液中固定 24h，乙醇逐次脱水，石蜡包埋，切片厚约 10μm．Harris 氏苏木精染色，在 Olympus-BH-2 型荧光显微镜下观察和照像．同时，新鲜的 SN 取出后即放入冷戊醛液中固定 2h，冷缓冲液冲洗 3 次，每次 30 min[9]．然后，在冷锇酸液中固定 1h，缓冲液冲洗，分别由乙醇和环氧丙烷脱水，Epon 812 包埋．LKB 型切片机超薄切片，醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色，JEM100CX 型透射电子显微镜观察和照像．

1.2　胸腹神经的阻断发声

暴露脑以下的胸腹神经系统(图 1(a))，加适量的蝉盐水[9]．分别切断图 1(b) 中的 ns(去脑)和有关的神经节，自发叫声由 CDZ1-1 型拾音器检测和 SM-2700 型 FFT 分析仪记录和存储．

1.3　SN 电刺激发声和动作电位的测量

暴露发声肌(SMc＝sounding muscle)，其前端附近挑起 SN．铂丝双电极(尖端直径约 0.1mm，间距约 0.2mm)由三分相定位仪定位后直接搭在图 1(c) 中的 SN 上，刺激信号由 JJC-4 型电刺激器和 GTII 型恒流光隔离输出器给出，刺激信号和同步叫声(CDZ1-1 型拾音器检测)由 SM-2700 型 FFT 分析仪双道平行记录．SN 的动作电位由铂丝电极直接搭在图 1(c) 中的 SN 上记录，参考电极由第 2 足附近侧向插入，动作电位和同步叫声(CDZ1-1 型拾音器检测)由 SM-2700 型 FFT 分析仪双道平行记录．分析频带都选为 20kHz，每 K 字节 20ms，每通道 32K 字节，采样长度 640ms，并由 8.89cm(3.5in)磁盘存储，分析结果由 SR6620 型数字绘图仪给出．

2　胸腹神经系统和发声神经

鸣鸣蝉的胸腹神经系统和发声神经(SN)，见图 1．

图 1(a) 中，脑以下的胸腹神经系统贴近胸腹板中央，由位于前胸近后端的 PG 和位于中胸的 MG 和 MAG 组成，与其它蝉类相类似．图 1(b) 中，tn，SN/aSN，an，san 和 vnc 等由 MAG 末端分离，并都穿过胸腹隔板中央狭缝底部下行．其中，SN 和 aSN 紧挨一起沿背内壁气室膜绕行至 SMc 前端的 tp 下近端(图 1(a))才分开(图 1(c))，即都与穿过腹板管的听神经(an)分开的单独结构．

挑起 SN(图 1(c))，不仅可看到 SN 由 SMc 的腹面(tp 下面)钻入，而且可看到与 SN 紧挨的 aSN 在 SMc 前端分开，并紧擦 SMc 前端内侧肌膜(但未钻入)向下绕行，其分支进入气室声门(第 3 气门)的开闭肌．同时，在对黑蝉的比较研究中也观察到与 SN 紧挨下行的 aSN，但有关黑蝉 SN 的报道中未提到 aSN[7]．钻入 SMc 前的 SN 和 aSN 横切显微照片(图 1(d))表明，SN 和 aSN 的外径(e 为界)分别约 50μm 和 38μm，即 SN 粗于 aSN；两者的间距约 30μm，即呈紧密相挨；但轴突直径(m 为界)相接近，都约为 20μm，即 SN 的轴突直径与囊蝉和 17 年蝉的 SN(听神经单根分支)相接近[2,5]．同时，可看到 SN 外周没有剥离的气室膜(acm)组织．

SN 的亚显微结构，见图版 I．

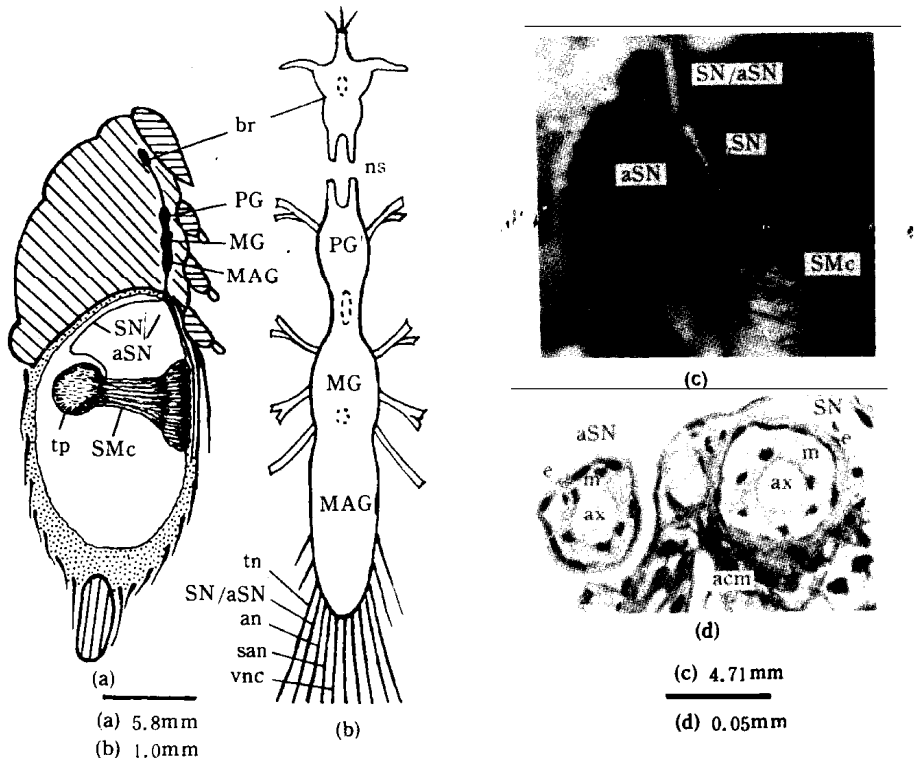

图1 鸣鸣蝉的胸腹神经系统((a),(b))和发声神经((c),(d))

(a)图中br——脑,PG——前胸神经节,MG——中胸神经节,MAG——后胸腹神经节,SN/aSN——发声神经/副发声神经,SMc——发声肌,tp——腱盘,(b)图中ns——神经干,tn——张神经,an——听神经,san——细腹神经,vnc——腹神经索,SN/aSN同(a),(c)图中SN, aSN, SMc同(a), (d)图中SN,aSN同(a), ax——轴突,m——轴系膜,e——神经束膜,acm——气室膜

图版I中,SN的轴突(ax)外区有若干个sax(a图),直径分别约1.0—1.6μm和3.8—4.8μm(c图). 同时,SN轴突和细神经轴突各有多层结构的轴系膜(m)包围,分别约10和7层(b和d图),明显多于某些昆虫的外周运动神经[10]. 同时,可见Sc,gg和mt等结构. 可见,鸣鸣蝉的SN不仅是由巨轴突和若干细轴突组成的复合神经,而且是与听神经分开的独立结构,明显不同于已报道的蝉类发声神经的其它3种结构形式.

3 神经系统的控声功能

3.1 脑和胸腹神经节对SMc发声运动的影响

图2(a)和(b)表明,切断ns,即去脑后10min和30min仍能自发鸣叫,叫声的波形结构基本不变. 两侧SMc有规则的交替动作,并分别驱动同侧SM振动产生P_1和P_2,并都由$SP_{1,2}$组成. P_1和$SP_{1,2}$的持续时间分别为4.55±0.21ms和2.67±0.06ms, 1.89±0.19ms (n=24), P_2和$SP_{1,2}$的持续时间分别为5.90±0.19ms和2.83±0.07ms, 3.07±0.19 ms(n=24). 同时,叫声的频谱特性基本相同(图3(a)),BS的主峰频率(MPF)为3850—3650Hz,其幅值分别比UP_1的MPF(6250—6300 Hz)高12.3—11.8 dB,比UP_2的MPF(都为13600 Hz)高18.6—14.0dB,即都是以BS为主音.

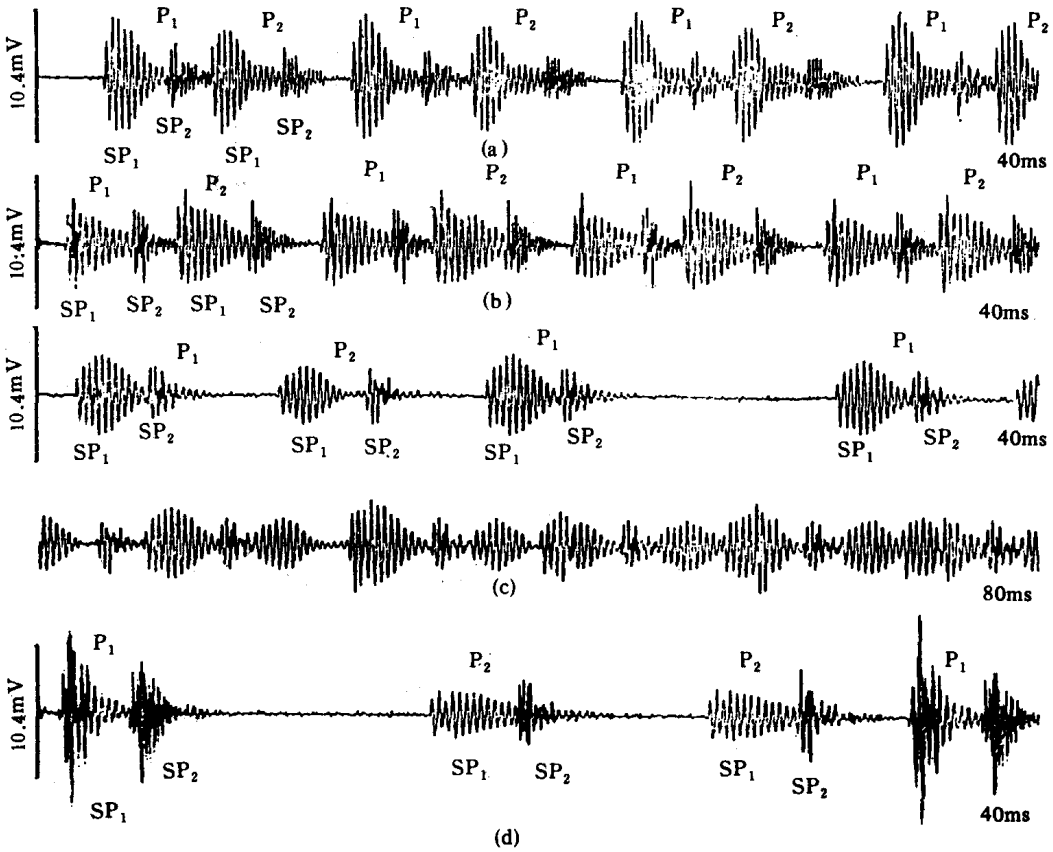

图 2　胸腹神经系统阻断后叫声的时间波形

(a)和(b)——图 1(b) 中 ns 切断后 10min 和 30min，(c)——图 1(b) 中 PG 和 MG 之间阻断，(d)——图 1(b) 中切断 1/2MG; P_1 和 P_2——两侧 SMc 交替动作驱动同侧发声膜(SM=sounding membrane)振动产生的声脉冲(pulse)，$SP_{1,2}$——$P_{1,2}$ 的亚脉冲(subpulse)

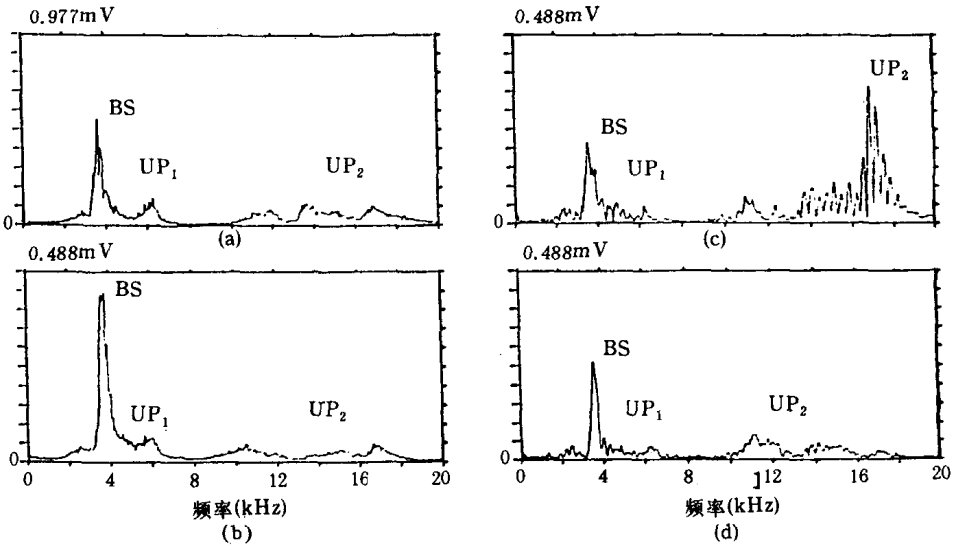

图 3　图 2 中(b)，(c)和(d)的频谱

(a)和(b)——对应于图 2(b) 和(c)，(c)和(d)——对应于图 2(d) 中的 P_1 和 P_2; BS——基本音(basic sound)，$UP_{1,2}$——陪音(upper partials)

可见，去脑后的叫声仍保持稳定的时域和频谱特性，并与正常个体叫声基本相同[8]. 这表明，脑对两侧SMc交替动作的时域特性和驱动SM的颤动特性基本上无影响.

图2(c)表明，PG和MG之间阻断，即去PG后叫声中的P_1和P_2明显失去稳定的时域特性，而且P_2的SP_2消失或与P_1的SP_1重叠. 28个P_1中，P_1的持续时间为4.71±0.20ms和7.04±1.44ms各占42.9%和57.1%，SP_1的持续时间差异不大，平均为3.13±0.19ms(n=28)；而SP_2的持续时间变化较大，1.56±0.21ms，2.94±0.46ms，4.69±0.51ms和7.93ms各占46.4%，25.0%，25.0%和3.6%. 28个P_2中，P_2的持续时间为3.26±0.41ms，4.41±0.47ms和

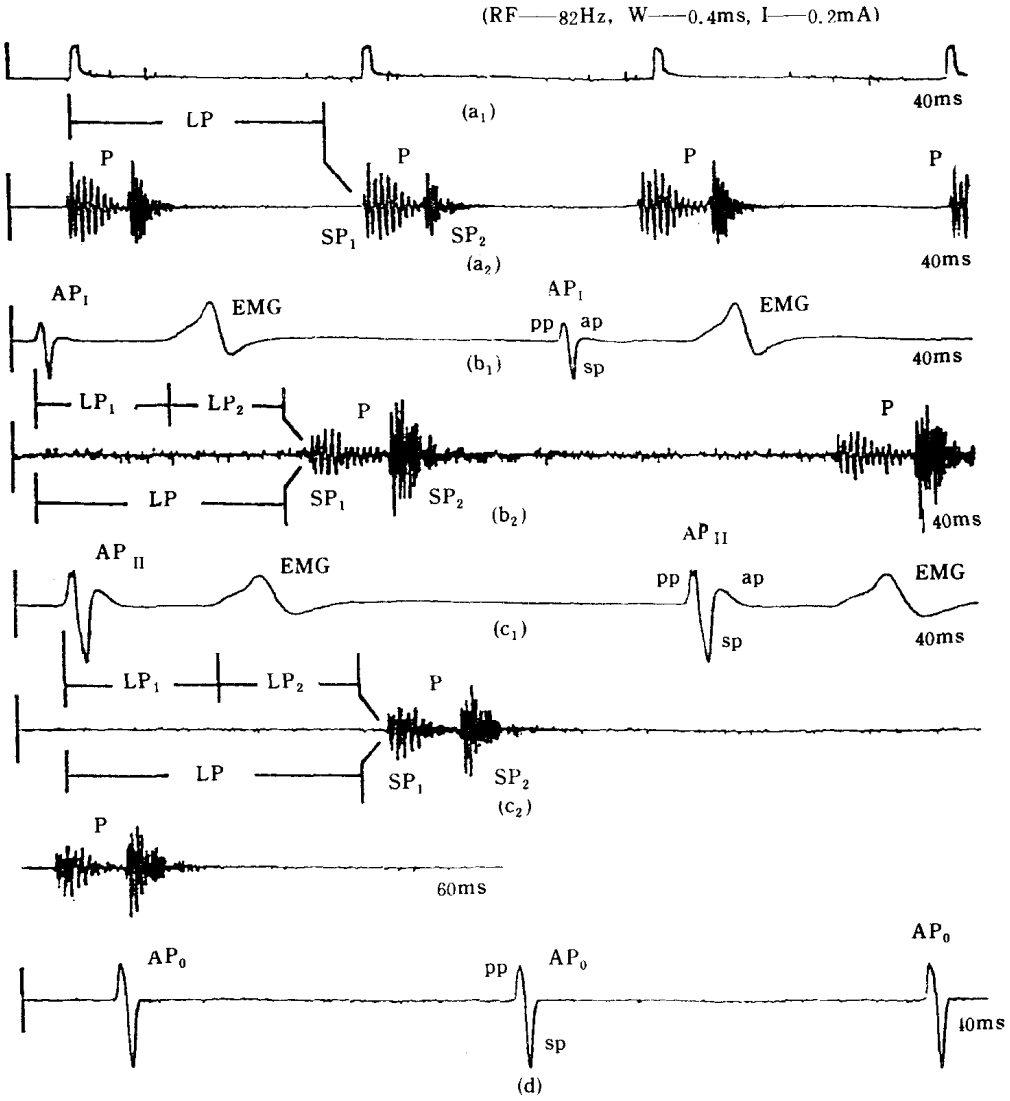

图4 SN电刺激发声、SN的动作电位和叫声的时间波形

($a_{1,2}$)—— 电刺激脉冲(RF—— 重复频率，W—— 宽度，I —— 电流强度)和同步鸣声(P —— 声脉冲，$SP_{1,2}$ —— 亚脉冲)，($b_{1,2}$) —— SN的动作电位(AP_I:pp —— 前电位，sp —— 峰电位，ap —— 后电位)和同步叫声，($c_{1,2}$) —— SN的动作电位(AP_{II})和同步叫声，(d) —— 未能引起SMc发声运动的SN的动作电位(AP_0)；LP，$LP_{1,2}$ —— 潜伏期，EMG—MSc的肌动电图；标尺：(a_1) —— 2.78V，(a_2)，(b_1)，(c_1) —— 11.11mV，(b_2) —— 2.22 mV，(c_2)，(d) —— 5.56mV

7.42±1.05ms 各占 67.9%, 25.0% 和 7.1%; SP_1 的持续时间差异不大，平均为 3.25±0.37ms (n=28); SP_2 消失的占 67.9%, 其它 9 个 SP_2 的持续时间为 0.78±0.12ms, 1.49±0.45ms 和 4.04±1.17ms 各占 44.4%,33.3% 和 22.2%. 但是，P_1 和 P_2 的频谱特性(图 3(b)) 基本相同，BS 的 MPF(3800 Hz) 幅值分别比 UP_1 和 UP_2 的 MPF(6050 Hz 和 16700 Hz) 高 16.9dB 和 19.4dB, 即以 BS 为主音.

可见，前胸神经节对两侧 SMc 交替运动的时域特性有明显的影响，即去 PG 后两侧 SMc 失去有规则的交替运动，出现一侧 SMc 的发声运动尚未结束，另侧 SMc 就开始动作的现象，使得一侧 SM 产生的 SP_2 与另侧 SM 产生的 SP_1 重叠或消失. 但对两侧 SMc 的颤动特性无明显影响，即驱动同侧 SM 产生的 P_1 和 P_2 的频谱特性基本相同.

图 2(d) 表明，切断 1/2MG 后叫声中的 P_1 和 P_2 虽然各自具有稳定的时域特性，即 26 个 P_1 和 $SP_{1,2}$ 的持续时间分别为 7.13±0.24ms(占 80.8%) 和 2.86±0.06ms(占 100%),4.26±0.22ms (占 80.8%),25 个 P_2 和 $SP_{1,2}$ 的持续时间分别为 6.96±0.27ms(占 72.0%) 和 3.53±0.19ms(占 100%),3.45±0.25ms(占 72.0%). 但是，P_1 和 P_2 的间隔明显不一致，有的相挨，有的间隔数 ms, 有的间隔约 20ms; 并出现错乱，即有时接连为 P_1, 有时接连为 P_2. 同时，P_1 和 P_2 的频谱特性有明显差异，P_1 以 UP_2 为主音，其 UP_2 的 MPF(16850Hz) 幅值分别比 BS 和 UP_1 和 MPF (3600Hz 和 6250Hz) 高 4.6dB 和 17.8dB(图 3(c));P_2 以 BS 为主音，其 BS 的 MPF (3500Hz) 幅值分别比 UP_1 和 UP_2 的 MPF(6350Hz 和 17000Hz) 高 17.3 dB 和 20.5 dB(图 3(d)).

可见，中胸神经节对两侧 SMc 发声运动的时域和颤动特性都有明显的影响，即切断 1/2MG 后两侧 SMc 不仅失去交替动作的协调性，而且失去颤动的一致性.

3.2　发声神经(SN)的功能依据

这里所给出的 SN 电刺激发声和 SN 支配 SMc 发声运动的发放特性(图 4, 5)，仅仅为确认 SN 和它的复合支配功能提供依据，有关的功能特性另文论述.

图 4($a_{1,2}$) 表明，SN 在 RF=82Hz,W=0.4ms 和 I=0.2mA 的电脉冲刺激下，引起 SMc 收缩

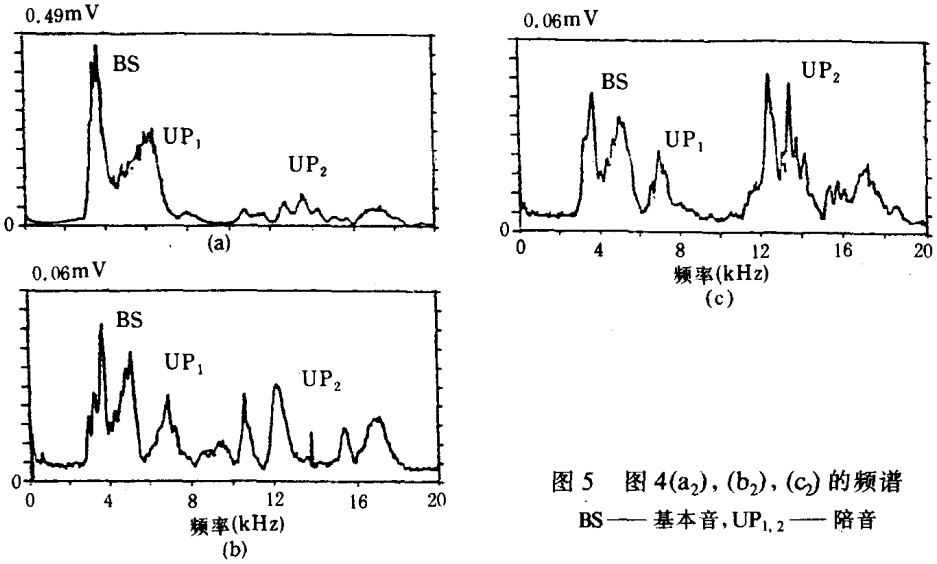

图 5　图 4(a_2), (b_2), (c_2) 的频谱

BS —— 基本音，$UP_{1,2}$ —— 陪音

运动,并驱动发声膜振动产生 LP 平均为 12.0±0.5ms(22 个 P) 的叫声,每个 P 都由 $SP_{1,2}$ 组成,其频谱由 3 个频带(BS 和 $UP_{1,2}$)组成,BS 和 $UP_{1,2}$ 的主峰频率(MPF)分别为 3700Hz 和 6400Hz, 13500Hz(图 5(a)). 8 只蝉的实验结果表明,SN 在 RF=80—83Hz,W=0.4ms 和 I=0.2—0.4mA 的电刺激下,叫声的潜伏期(LP)平均为 10.5±1.1ms, 叫声的每个 P 都由图 4(a_2) 所示的 $SP_{1,2}$ 组成,其频谱都由图 5(a) 所示的 3 个频带(BS 和 $UP_{1,2}$)组成,BS 和 $UP_{1,2}$ 的 MPF 分别为 3688±327 Hz 和 6413±612 Hz, 13569±1304Hz. 同时,进一步实验表明,图 1(b) 中 MG 和 MAG 之间的细腰部位阻断,实验动物虽然明显失去发声功能,但给 SN 适宜的电刺激便能发声,叫声潜伏期、波形结构和频谱特性都基本不变.

图 4($b_{1,2}$) 表明,SN 支配 SMc 发声运动的动作电位(AP_I)由前电位(pp)、峰电位(sp)和后电位(ap)组成的三相动作电位,并先引起 SMc 兴奋,产生肌动电图(EMG),接着 SMc 产生收缩运动而驱动发声膜振动发声. LP_1, LP_2 和 LP 分别为 5.6±0.1ms; 5.8±0.1ms 和 11.4±0.1ms (10 个 P). 同时,每个 P 都由图 4(b_2) 所示的 $SP_{1,2}$ 组成,叫声的频谱由 BS 和 $UP_{1,2}$ 组成,其 MPF 分别为 3700Hz 和 6900Hz,12250 Hz(图 5(b)).

图 4($c_{1,2}$) 表明,SN 支配 SMc 发声运动的动作电位(AP_{II})的三相结构形式和继后的支配过程,及其叫声的波形和频谱结构(图 4(c_2) 和图 5c) 与图 4($b_{1,2}$) 和图 5(b) 基本相同,但是前电位(pp)呈明显的双峰结构,显示 SN 具有复合神经的活动特性. LP_1, LP_2 和 LP 分别平均为 6.2±0.1ms,7.0±0.3ms 和 13.2±0.3ms(15 个 P), 图 5(c) 中 BS 和 $UP_{1,2}$ 的 MFP 分别为 3700Hz 和 7000Hz, 12450Hz.

8 只蝉的实验结果表明,SN 支配 SMc 发声运动的 LP_1, LP_2 和 LP 分别为 5.8±0.5ms, 5.7±0.9ms 和 11.0±1.2ms, 同步叫声的每个 P 都由 $SP_{1,2}$ 组成,BS 和 $UP_{1,2}$ 的 MPF 分别为 3725±122Hz 和 6300±806 Hz,12538±2055Hz.

图 4(d) 中,AP_0 虽然有与 $AP_{I,II}$ 基本相同的前电位(pp)和峰电位(sp),但没有后电位(ap). 这可能与剥离 SN 周围粘贴的气室膜(图 1(d) 中的 acm) 和电极与 SN 的接触时造成 SN 的局部损伤有关. 局部受损的 SN 虽然仍能以一定的周期(图 4(d) 中 9 个 AP_0 的平均周期为 16.1±1.1ms) 发放 AP_0, 但沿轴突的传递受障,而失去对 SMc 发声运动的支配功能.

上述结果表明,SN 电刺激和自发放引起 SMc 发声运动所产生的叫声潜伏期、波形和频谱结构都基本相同,而且叫声的波形和频谱结构、BS 和 $UP_{1,2}$ 的 MPF 与可控条件下的自鸣声基本相同[8];SN 自发放引起 SMc 兴奋所产生的 EMG 的波形和叫声的潜伏期,与发声时在 SMc 上直接记录的 EMG 和叫声的潜伏期基本相同[1)];SN 和 AP_0 与 $AP_{I,II}$ 结构上的差异,而导致 AP_0 不能引起 SMc 的发声运动;及其 AP_{II} 的前电位呈明显的双峰特征. 这足以说明 SN 确实是支配 SMc 发声运动的发声神经,而且具有复合支配特性.

4 讨 论

蝉类的发声器类同组合式音响装置[11], 除某些种无鼓盖外,其它结构的配置相同. 但是要产生不同种特性的鸣声,不仅依赖于发声器各部分的结构和声学特性,还必须依赖于可动结构的协调动作,尤其是变音调鸣声的蝉类[12—16]. 显然,发声器可动结构的协调动作是在有关神经的支配下进行的. 鸣鸣蝉鸣声的每个变音节"Weiying"不仅由基本音(BS)为主音的

1)杨新宇等,声学学报,待发表.

"Wei"、低强度伴音(UP_1)和第二陪音(UP_2)为主音的"ying"所合成，而且伴随着有节奏的腹部运动，而失去腹部运动就失去变音调特性[8]. 这表明，其 SMc 的动作特性与腹部运动(气室的共鸣特性)必须协调. 在可控条件下叫声特性发生变化时，发声肌的 EMG 呈单双峰演变过程[1)]，而且 SMc 的颤动特性也发生变[8]. 这显然与 SN 复合支配下的 SMc 可产生不同模式的兴奋活动有关，即为产生变音调鸣声提供了原初机制. 但还必须配合腹部的节奏运动的调控才能发出变音调鸣声. 由可控条件下黑蝉腹部运动时声门对气室内气流变化的调控来看[16]，声门可通过有节奏的张闭运动调节气室内压力的变化来改变其共鸣特性，进而调控音调的变化. 这表明，复合结构的 SN 和 aSN 的兴奋过程对所支配的效应器动作过程的协调性，是产生变音调鸣声的关键. 这也许对变音调蝉类具有一定的普遍性. 事实上，常见的变音调蝉类鸣叫时都伴随着不同形式的有节奏的腹部运动[13,15]. 据此，可以推断 SN 和 aSN 兴奋活动的协调性必然受到高一级神经的控制. 由前胸和中胸神经节对鸣声脉冲时域特性和 SMc 颤动特性的影响来看，也许正是它们参与了这一控制过程. 但是，17 年蝉的发声神经中枢投射的研究只观察到感觉纤维上行到中胸和前胸神经节[4]，因此，前胸和中胸神经节参与调控的神经通路的进一步研究，对揭示蝉类发声的神经控制机理具有重要意义.

与细胞内微电极记录相比较[17]，本文给出的 $AP_{I,II}$ 是机体容积导体中 SN 的综合电活动，虽然不能精确反映 SN 单细胞的活动特性，但却反映出 SN 对 SMc 复合支配的综合特性. 同时，实验中，SMc 强有力的收缩运动使固定的动物体仍有相当大的抖动，所以一般麻醉状态下的微电极记录难以适用. 因此蝉类发声神经控制的精确研究，尚待技术上得到进一步的发展.

致谢　本文的电生理实验结果得到北京大学生物系生物物理教研室罗林儿和程会文副教授的有益的帮助，表示谢意.

参　考　文　献

[1] Kato, M., *Study of Cicadidae*, Sansentan, 1932, 56—66.
[2] Young, D., *J. Comp. Physiol.*, 1972, **79**: 343—362.
[3] Simmons, P., Young, D., *J. Exp. Biol.*, 1978, **76**: 27—45.
[4] Wohlers, D. W. *et al.*, *Cell Tissue Res.*, 1979, **203**: 35—51.
[5] Wohlers, D. W., Bacon, J., *Cell Tissue Res.*, 1980, **209**: 371—382.
[6] Pringle, J. W. S., *J. Exp. Biol.*, 1954, **131**: 527—560.
[7] 陈去恶，昆虫学报，1958, **8**(4): 361—368.
[8] 蒋锦昌等，中国科学，B 辑，1990, (9): 933—941.
[9] Usherwood, P. N. R. *et al.*, *J. Neurophysiol.*, 1965, **28**: 497—518.
[10] Usherwood, P. N. R. (ed.), *Insect Muscle*, Academic press, London, 1975, 151—206.
[11] Jiang Jinchang *et al.*, *Chinese Journal of Acoustics*, 1986, **5**(2): 174—184.
[12] 蒋锦昌等，生物物理学报，1987, **3**(2): 105—111.
[13] 蒋锦昌等，中国科学，B 辑，1988, (9): 927—938.
[14] Jiang Jinchang *et al.*, *Chinese Journal of Acoustics*, 1990, **9**(2): 161—169.
[15] 蒋锦昌等，昆虫学报，1991, **34**(2): 159—164.
[16] 蒋锦昌等，中国科学，B 辑，1989, (12): 1263—1271.
[17] Aidley, D.J.著，周培爱等译，可兴奋细胞的生理学，北京大学出版社，北京，1983, 36—40.