

切断鸣管神经支对红嘴相思鸟鸣声的影响

吴敏[#], 吕源[#], 郑志强[#], 林桂霞, 王怡淳, 王松华, 李东风^{*}

华南师范大学 生命科学学院, 广东省高等学校生态与环境科学重点实验室, 广东 广州 510631

摘要: 该研究以红嘴相思鸟 (*Leiothrix lutea*) 为材料, 分析对其鸣管神经支 (NXIIts) 进行断单侧和断双侧处理后的鸣声声学变化, 探讨鸣管神经支配特性。结果表明, 断单侧 NXIIts 后红嘴相思鸟均可发出常见叫声, 但鸣声音节间隔拉长, 音节时程缩短, 调频指数下降, 且断左侧 NXIIts 的作用效果明显大于断右侧 NXIIts。即 NXIIts 支配具单侧性, 且呈左侧优势, 此外, 左侧 NXIIts 还具有产生音节高频成分和谐波的作用。断双侧 NXIIts 后, 红嘴相思鸟鸣声音调唯一, 响度大幅下降, 音节脉冲数增加。

关键词: 红嘴相思鸟; 鸣管神经支; 鸣声; 侧别优势

中图分类号: Q62 文献标志码: A 文章编号: 0254-5853-(2013)06-0556-08

Effects of syringeal denervation on the vocalization in red-billed *Leiothrix (Leiothrix lutea)*

Min WU, Yuan LV, Zhi-Qiang ZHENG, Gui-Xia LIN, Yi-Chun WANG, Song-Hua WANG, Dong-Feng LI^{*}

The Key Laboratory of Ecology and Environmental Science in Higher Education of Guangdong Province, School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China

Abstract: In this study, the unilateral and bilateral syrinx nerve (NXIIts) were resected in the red-billed *Leiothrix (Leiothrix lutea)* to assess the roles of NXIIts in vocalization. Wavesurfer and Sound Analysis Pro were used to analyze pre- and postsurgical acoustic changes. After resecting of unilateral NXIIts, red-billed *Leiothrix* produced the common calls with lengthened syllable interval, shortened duration and a declined FM index. The effects of left NXIIts resection on temporal and spectral characteristics of syllables were more significant than that of right NXIIts. These results indicated that the neural control of NXIIts was unilateral and left-side dominated. Moreover, the left NXIIts could produce high frequency components and harmonic waves. After resecting of bilateral NXIIts, the calls were characterized by monotone, reduced loudness and increased syllable pulse numbers.

Keywords: *Leiothrix lutea*; NXIIts; Vocalization; Lateralization

发声是鸟类重要的信息交流手段。鸣禽具有最强的发声交流能力, 鸣曲类型丰富多样, 鸣声也最为婉转动听, 并因其鸣唱学习与人类的语言学习十分相似而成为研究动物发声通讯的重要模型 (Li, 2001)。

人的语言中枢具有左侧优势。在大多数鸣禽的发声中枢中, 也存在左侧优势现象。Zhao et al (2003) 发现鸣禽栗鹀 (*Emberiza rutila Pallas*) 高级发声中枢和中脑对叫声的调控存在明显的左侧优势。Okanoya et al (2001) 发现雄性白腰文鸟

(*Lonchura striata domestica*) 左侧高级发声中枢 (high vocal center, HVC) 在发声控制及鸣声辨别中均起主导作用。然而, Williams et al (1992) 及 Zeng & Li (2013) 对雄性斑胸草雀 (*Taeniopygia guttata*) 进行单侧损毁核团及单侧去神经支配实验, 发现雄性斑胸草雀的 HVC、弓状皮质核 (robust nucleus of the arcopallium, RA) 及丘间复合体背内侧核 (dorsomedial nucleus of the intercollicular, DM) 在鸣声控制上具右侧优势。

收稿日期: 2013-07-23; 接受日期: 2013-10-01

基金项目: 国家自然科学基金 (31172092); 2012 年华南师范大学大学生创新性实验项目

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: dfliswx@126.com

[#]共同第一作者 (Authors contributed equally to this work)

由于高级中枢控制发声的侧别差异性, 低级中枢 (nXIIIts) 发出的外周神经 (NXIIIts) 对发声器官的支配也存在侧别差异。研究者们通过单侧去鸣管神经支配实验发现, 大多数鸣禽, 如金丝雀 (*Serinus canarius*) (Nottebohm et al, 1976)、爪哇禾雀 (*Padda oryzivora*) (Seller, 1979)、金翅雀 (*Carduelis sinica*) (Li et al, 1999) 和白腰文鸟 (*Lonchura striata domestica*) (Secora et al, 2012) 等, 其 NXIIIts 对发声器官的支配功能均呈左侧优势。

红嘴相思鸟 (*Leiothrix luteal*) 属雀形目画眉科相思鸟属, 鸣声婉转动听, 是驰名国内外的观赏鸟。目前对其鸣声的研究仅有国内一篇报道 (Liao et al, 2006), 且仅涉及基本鸣声类型。本实验利用声谱分析法, 对红嘴相思鸟断 NXIIIts 前、后鸣声进行比较分析, 首次对该物种进行鸣管神经支配功能研究, 为鸣禽发声调控机制提供声学依据。

1 材料与方 法

1.1 实验对象

健康成年雄性红嘴相思鸟 12 只, 大于 90 日龄, 购于广州花地湾花鸟虫鱼市场, 饲养于笼内, 自然采光, 14:10 h 明/暗交替, 喂食谷物, 室温 25~30 ℃, 相对湿度 60%~80%, 单只笼养一周后进行实验。实验动物使用符合国家和学校动物伦理委员会规定并遵守国际惯例。

1.2 实验方法

1.2.1 NXIIIts 切断术

在红嘴相思鸟个体的胸大肌注射 ~0.05 mL 10% 水合氯醛 (chloral hydrate, Sigma, 47335-U) 进行轻度麻醉, 固定于手术台上; 剪去颈羽, 切开皮肤, 用玻璃分针在气管侧面分离出鸣管神经支 (NXIIIts), 剪去 ~0.5 cm; 缝合皮肤。

1.2.2 鸣声录制

使用 DVR556 Recorder 录音笔记录手术前、后

的鸟鸣声, 麦克风距离鸟笼 ~20 cm。进行录音的个体单独置于笼内。手术前、后每个个体均进行 3 次声音采样。术前声音采样在个体笼养一周后进行, 术后第 3 d 开始连续采样 3 d, 采样频率为 8 000 Hz, 单声道, 16 位分辨率 (默认), 保存为 wav 格式音频文件。

1.2.3 鸣声分析

鸣禽鸣声主要有两大声学特征: 时域特征和频域特征。将采集到的声音文件用计算机软件进行处理和分析。用 Wavesurfer 软件制作原始波形图 (waveform)、语图 (sonogram) 和功率频谱 (能量) 图 (power spectrum), 读出基频 (fundamental frequency, FF)、音节间隔 (syllable interval, SI)、脉冲个数 (pulse number, PN)、基本音 (basic sound, BS)、谐波 (harmonic wave, HW) 等参数值, 分析鸣声的时域特征。用 SAP 软件进行语图分析, 读出音节时程 (syllable duration, SD)、音调 (pitch)、主峰频率 (peak frequency, PF)、调频 (frequency modulation FM)、振幅 (amplitude, Amp)、熵 (entropy)、音质 (goodness) 等参数值, 对断神经前、后鸣声进行对比分析。

将声谱分析得到的实验数据导入 Origin 软件进行统计分析, 并绘制柱形图。数值用 mean±SEM 表示, *t*-test 计算差异显著性, $P<0.05$ 为显著性差异, $P<0.01$ 为极显著差异。

2 结 果

2.1 红嘴相思鸟正常鸣声结构

红嘴相思鸟鸣声响亮, 擅长长鸣 (long call), 即连续发出多声鸣叫。鸣声以音节 (syllable) 为基本结构。鸣声类型分为单鸣声、双鸣声和多鸣声, 分别包含单个、两个和多个音节, 并以脉冲 (pulse) 为基本单位 (图 1)。正常状态下, 红嘴相思鸟多以单鸣声和多鸣声进行同伴间的联系和交流。

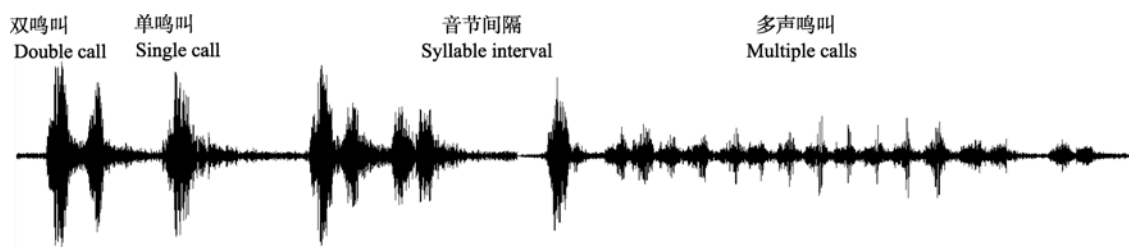


图 1 红嘴相思鸟常见鸣声脉冲图
Figure 1 Vocalization waveform of *Leiothrix luteal*

2.2 断单侧 NXIIIs 对红嘴相思鸟鸣声的影响

2.2.1 断单侧 NXIIIs 对单鸣声的影响

图 2 显示红嘴相思鸟正常状态和断 NXIIIs 后

单鸣声的时间波形图 (图 2A)、语图 (图 2B) 和功率谱图 (图 2C), 图 3A-F 则为相应状态下鸣声参数的统计及对比分析。

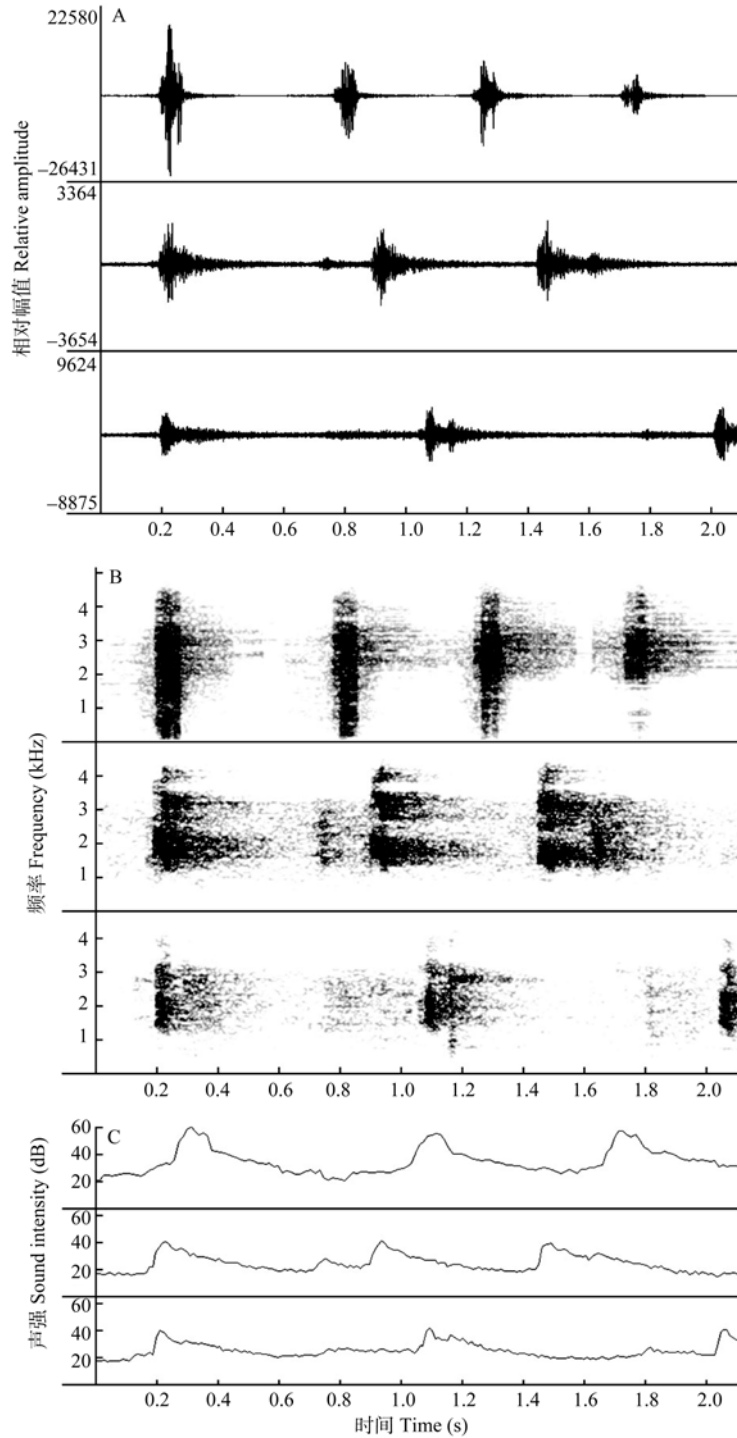


图 2 断单侧 NXIIIs 前、后红嘴相思鸟单鸣声比较

Figure 2 Single call comparison of unilateral resected NXIIIs

A: 正常与断一侧神经的波形图; B: 正常与断一侧神经的语图; C: 正常与断一侧神经的功率谱图; A, B, C 图中自上而下分别为正常、断右侧神经及断左侧神经组。

A: Waveform of normal and one-side resected NXIIIs; B: Sonogram of normal and one-side resected NXIIIs; C: Power spectrum of normal and one-side resected NXIIIs; In A, B, C, from top to down, each panel shows normal, right resected and left resected NXIIIs, respectively.

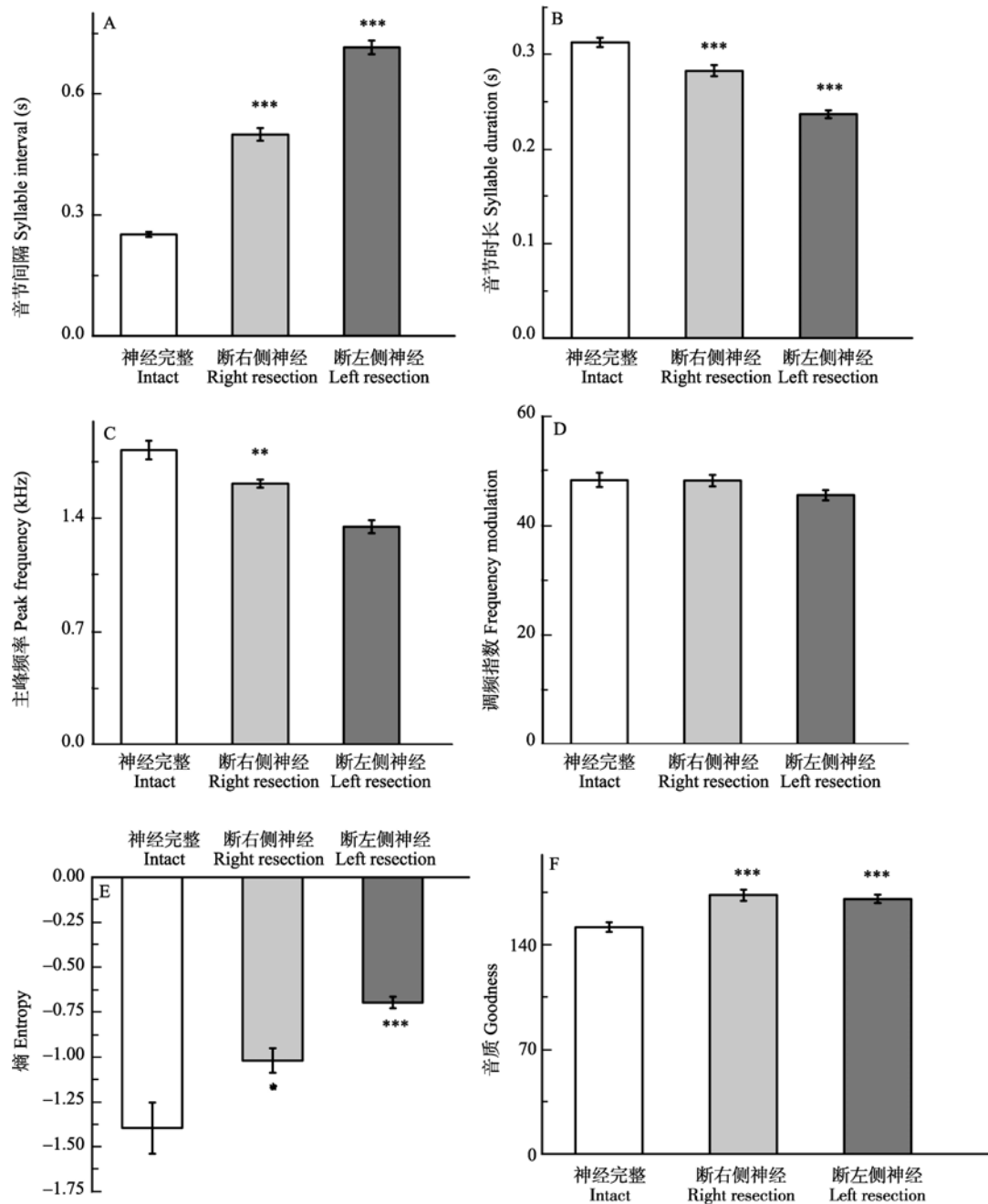


图3 断单侧NXIIIts前、后单鸣声各声学参数统计结果比较 (n=20)

Figure3 Acoustic parameters of single call before and after unilateral resection of NXIIIts

A: 音节间隔; B: 音节时程; C: 主峰频率; D: 频率调制; E: 熵; F: 音质。

A: SI; B: SD; C: PF; D: FM; E: Entropy; F: Goodness. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

红嘴相思鸟断单侧NXIIIts后鸣声音节间隔(SI)明显变长(图2),与术前差异显著(3B,C),断左侧和右侧NXIIIts分别使鸣声SD缩短~10%和24%(图3)。即,断左侧NXIIIts对SI和SD的影响更加显著,NXIIIts对鸣声的时域控制具左侧优势。

正常情况下,红嘴相思鸟鸣声单调,以基本音(BS)为主,频率范围为2.50~3.80 kHz,主峰频率

(PF)为 (1.82 ± 0.06) kHz。切断任何一侧NXIIIts后,鸣声响度及能量均呈下降趋势。断右侧NXIIIts后,BS频率范围下移,集中在1.80~2.50 kHz,PF为 (1.62 ± 0.03) kHz,较术前降低~200 Hz,调频指数(FM)变化不显著。断左侧NXIIIts后,BS频率为1.80~3.00 kHz,出现小幅度失稳,PF大幅度下降($P < 0.01$),为 (1.35 ± 0.04) kHz,调频指数(FM)

明显降低 ($P < 0.05$), 熵 (entropy) 由术前的 -1.40 ± 0.14 上升至 -0.70 ± 0.03 ($P < 0.01$)。断右侧和断左侧神经均使音质 (goodness) 得到提高 (图 3)。

2.2.2 断单侧 NXIIIts 对双鸣声的影响

红嘴相思鸟双鸣声发出前常伴有一个单鸣声, 正常状态下, 两者时间间隔较长, 断单侧神经后, 间隔缩短, 但两实验组间无明显差异 (图 4A)。

断右侧 NXIIIts 后, 双鸣声频带出现明显的上升支和下降支, 呈单变调声, 且音节谐波 (harmonic wave, HW) 成分明显, 鸣声音调 (pitch) 升高 (图 4B)。断左侧 NXIIIts 后, 前导的单音节以及双鸣声中的音节脉冲数 (PN) 均增加, 由术前的单脉冲结构变为双脉冲或多脉冲结构, 且双鸣声极弱 (图 4C)。

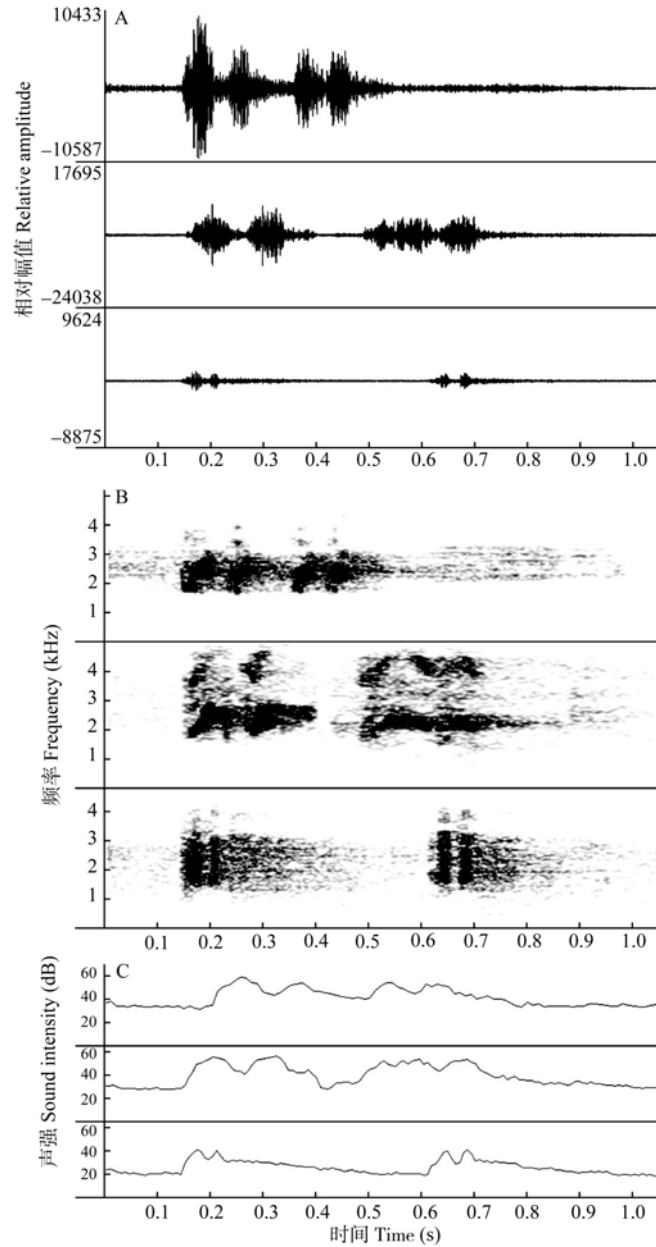


图 4 断单侧 NXIIIts 前、后双鸣声比较

Figure 4 Double call comparison of unilateral resected NXIIIts

A: 正常与断一侧神经的波形图; B: 正常与断一侧神经的语图; C: 正常与断一侧神经的功率谱图; A, B, C 图中自上而下分别为正常, 断右侧神经及断左侧神经组。

A: Waveform of normal and one-side resected NXIIIts; B: Sonogram of normal and one-side resected NXIIIts; C: Power spectrum of normal and one-side resected NXIIIts; In A, B, C, from top to down, each panel shows normal, right resected and left resected NXIIIts, respectively.

2.2.3 断单侧 NXIIIts 对多鸣声的影响

红嘴相思鸟多脉冲长鸣声的响度大，可持续 3 s 以上，包含 30 个以上的音节及重复频率。各脉冲持续时间大致相等，振幅基本相持，能量分布均匀，基频 (FF) 之上有模糊的谐波 (HW) 结构 (图 5A, B)。

断右侧 NXIIIts 后，长鸣声依然响亮，音节数变化不显著，单个音节在基频之上可见明显的谐波结

构 (图 5B)。断左侧 NXIIIts 后，长鸣声出现频率明显降低，基本音 (BS) 频带变窄，声强下降，音节数减少 35%~50%。鸣叫能力明显下降 (图 5C)。

2.3 断双侧 NXIIIts 对鸣声的影响

红嘴相思鸟断双侧 NXIIIts 后，音节数减少 (≤ 3 个)，音节间隔不等 (图 6)。每个音节均由 2~5 个脉冲构成，各脉冲相似，频率范围为 (7.81~

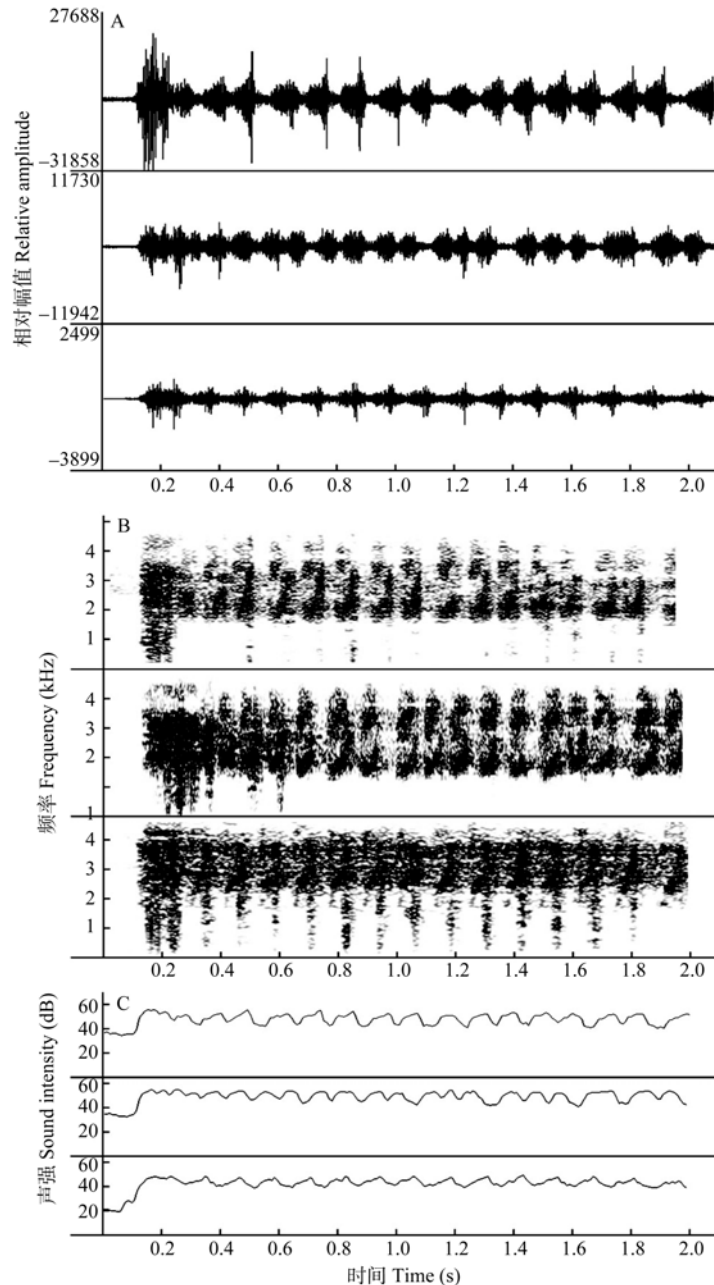


图 5 断单侧 NXIIIts 前后多鸣声比较

Figure 5 Multiple calls comparison of unilateral resected NXIIIts

A: 正常与断一侧神经的波形图; B: 正常与断一侧神经的语图; C: 正常与断一侧神经的功率谱图; A, B, C 图中自上而下分别为正常, 断右侧神经及断左侧神经组。

A: Waveform of normal and one-side resected NXIIIts; B: Sonogram of normal and one-side resected NXIIIts; C: Power spectrum of normal and one-side resected NXIIIts; In A, B, C, from top to down, each panel shows normal, right resected and left resected NXIIIts, respectively.

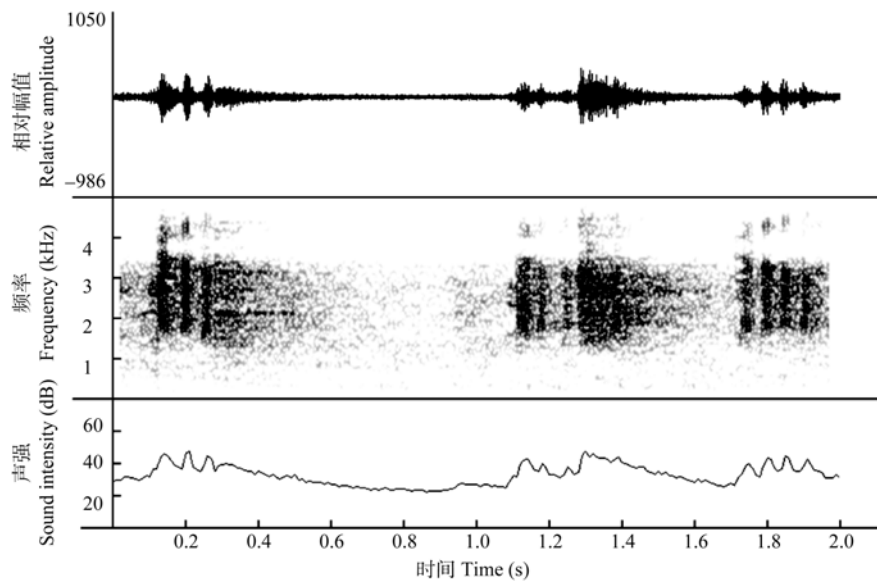


图 6 断双侧 NXIIIts 后鸣声的变化
Figure 6 Call of bilateral resected NXIIIts

3992.20) Hz, 音节振幅为 (34.03 ± 0.44) dB, 主峰频率 (PF) 为 (2.85 ± 0.01) kHz。频率调制成分消失。

3 讨论

鸣禽通过鸣管左、右两侧鸣肌运动调控鸣膜振动而发声, 而鸣肌受控于同侧舌下神经气管鸣管支 (NXIIIts)。因此, 切断 NXIIIts 会影响鸣声的产生及其音节特性 (Seller et al, 1979; Liao & Li, 2012; Pan et al, 2004)。

正常情况下, 红嘴相思鸟鸣叫时气流冲击量较大, 鸣声响亮, 为以基本音为主的单调叫声, 熵值较低, 且音节主要由一致性较高的单脉冲构成, 振幅大, 音调高。研究发现, 任何一侧 NXIIIts 被切断的红嘴相思鸟均可发出常见鸣声, 验证了“双声源理论”, 即两侧鸣管均可独立发声, NXIIIts 对鸣肌的支配具有单侧性 (Suthers, 1997)。断单侧 NXIIIts 对红嘴相思鸟鸣声的时域特征和频域特征均具有一定影响, 这与每侧神经所支配的鸣肌收缩呼吸动力学特性有关 (Geng et al, 2005)。断单侧 NXIIIts 对鸣声时域特性的影响主要体现在音节间隔和音节时程上。断任何一侧 NXIIIts 均可明显延长鸣声音节间隔, 并缩短音节时程, 且断左侧 NXIIIts 的作用效果更为明显, 即 NXIIIts 的鸣声时域控制具左侧优势。

在鸣声频率调制方面, 断单侧 NXIIIts 可引起单鸣声多项频率参数如音调、基本音、主峰频率和谐

频等的变化, 且断左侧 NXIIIts 作用效果显著高于断右侧。断左侧 NXIIIts 后, 基本音明显失稳, 音调稳定性下降, 熵上升 $\sim 50\%$, 音节高频成分丢失, 主频大幅度下降, 调频指数显著降低。即左侧 NXIIIts 对单鸣声频率调制的影响更为显著, 且对单鸣声高频成分的控制具主导作用。

去单侧神经支配后, 由于鸣声中携带的气流冲击量减少, 声强降低, 声音频带更为清晰, 故音质参数增大。并且, 由鸣声语图可见, 断右侧神经后谐波数量增加, 即鸣声中含有更多的谐波成分, 鸣声和谐程度增大, 音质得到更大程度的提高。据此推断, 红嘴相思鸟左、右两侧 NXIIIts 对鸣声谐波调节具有拮抗作用, 左侧 NXIIIts 调节谐波的产生, 而右侧 NXIIIts 则抑制鸣声谐波的产生。该结果与 Secora et al (2009) 的研究结果相似, 即断左侧神经后, 白腰文鸟鸣声为强音、高频率及低熵, 而断右侧神经后, 则为低幅、低频及较高熵。本研究中红嘴相思鸟鸣声熵值变化与白腰文鸟相反, 可能是种间差异所致。

断右侧 NXIIIts 除增加谐波 (HW) 数量外, 还产生了音调多变且快速调频特性增加的新的多鸣声。而断左侧 NXIIIts 后, 多鸣声较少出现, 音节个数少于断右侧, 且音调唯一。据此推断, 红嘴相思鸟的鸣声频率调制主要由左侧 NXIIIts 控制。断右侧 NXIIIts 解除了右侧 NXIIIts 对和谐鸣声的抑制, 左侧 NXIIIts 发挥更大的调控作用, 快速调频进一步加快,

从而使鸣声音调起伏增大。

断左侧 NXIIIts 后, 鸣声时域控制和调频能力明显下降, 基本音失稳, 音节高频缺失, 断右侧 NXIIIts 后, 左侧 NXIIIts 的调控作用增强, 音节谐波数量增加, 双鸣声及多鸣声出现变调音节。因此, 左侧 NXIIIts 在鸣声时频调控上起主导作用, 这与 Wild et al (2000) 对于金丝雀的工作吻合, 说明呼吸与发声的协调整合, 由 RA 下行投射到延髓舌下神经气

管鸣管亚核 (nXIIIts, 司发声) 和后疑核 (nRAm, 司呼吸), 再通过 NXIIIts 支配鸣肌。

断双侧 NXIIIt 后鸣声音调唯一, 每个音节均由两个以上脉冲组成。红嘴相思鸟正常鸣声中气流冲击量较大, 两侧 NXIIIts 均被切断后, 鸣肌失去神经支配, 鸣声发出主要依靠呼吸运动呼出的气流振动鸣膜产生, 鸣声响度大幅度降低, 音节时程短, 故只能通过增加音节的脉冲数, 维持或延长原有的音节时程。

参考文献:

Geng H, Li DF, Jiang JC. 2005. Avian vocal organ and vocal control mechanism. *Acta Biophysica Sinica*, **21**(6): 397-403. [耿慧, 李东风, 蒋锦昌. 2005. 鸟类的发声器官及其调控机制. *生物物理学报*, **21**(6): 397-403.]

Li DF. 2001. The Neural mechanism of vocal learning and memory in songbirds. *Natural Science Progress*, **11**(3): 225-231. [李东风. 2001. 鸣禽发声学习记忆的神经机制. *自然科学进展*, **11**(3): 225-231.]

Li DF, Jiang JC, Li J, Yang XY, Wang DW, Chen H. 1999. Effect of tracheosyringeal denervation on call in greenfinch (*Carduelis sinica*). *Science in China (Series C)*, **42**(6): 561-569.

Liao CS, Li DF. 2012. Effect of vocal nerve section on song and ZENK protein expression in Area X in adult male zebra finches. *Neural Plasticity*, 2012, Article ID 902510, 7, doi: 10.1155/2012/902510.

Liao WB, Li C, Chen SY, Hu JC, Liu CZ, Jia YW. 2006. Basic call of *Leiothrix lutea* in Sichuan Laojunshan nature reserve. *Sichuan Journal of Zoology*, **25**(4): 710-712. [廖文波, 李操, 陈守云, 胡锦鑫, 刘朝中, 贾延文. 2006. 红嘴相思鸟鸣声的初步探讨. *四川动物*, **25**(4): 710-712.]

Nottebohm F, Stockes F, Leonard CM. 1976. Central control of song in the canary, *Serinus canarius*. *Journal of Comparative Neurology*, **165**(4): 457-486.

Okanoya K, Ikebuchi M, Uno H, Watanabe S. 2001. Left-side dominance for song discrimination in Bengalese finches (*Lonchura striata* var. *domestica*). *Animal Cognition*, **4**(3-4): 241-245.

Pan HH, Xiao P, Li DF. 2004. The function of the avian vocal organ in

birdsong. *Life Science Research*, **8**(4): 108-112. [潘鸿辉, 肖鹏, 李东风. 2004. 鸣禽发声器官在鸣啭过程中的功能. *生命科学研究*, **8**(4): 108-112.]

Secora KR, Peterson JR, Urbano CM, Chung B, Okanoya K, Cooper BG. 2012. Syringeal Specialization of Frequency Control during Song Production in the Bengalese Finch (*Lonchura striata domestica*). *PLoS ONE*, **7**(3): e34135.

Seller TJ. 1979. Unilateral nervous control of the syrinx in Java Sparrows (*Padda oryzivora*). *Journal of Comparative Physiology*, **129**(3): 281-288.

Suthers RA. 1997. Peripheral control and lateralization of birdsong. *Journal of Neurobiology*, **33**(5): 632-652.

Wild JM, Williams N, Suthers RA. 2000. Neural pathways for bilateral vocal control in songbirds. *Journal of Comparative Neurology*, **423**(3): 413-426.

Williams H, Crane LA, Hale TK, Esposito MA, Nottebohm F. 1992. Right-side dominance for song control in the zebra finch. *Journal of Neurobiology*, **23**(8): 1006-1020.

Zeng XY, Li DF. 2013. Lateral differences in the forebrain and midbrain control of learned vocalizations in adult male Zebra Finch (*Taeniopygia guttata*). *Zoological Research*, **34**(1): 1-7. [曾贤燕, 李东风. 2013. 成年雄性斑胸草雀前脑与中脑对习得性发声控制的侧别差异. *动物学研究*, **34**(1): 1-7.]

Zhao J, Jiang JC, Li DF. 2003. Control pattern of vocal center for vocalization in ruddy bunting (*Emberiza rutila*). *Science in China Series C: Life Sciences*, **46**(6): 615-622.