螽斯鸣声声学特征及发声锉结构研究

The Acoustic Signals and Stridulatory Files in Katydid

马兰, 周志军*, 石福明

动物系统学与应用重点实验室, 生命科学学院, 河北大学, 保定 071002

*通讯作者邮箱: zhijunzhou@163.com; zhijunzhou@hbu.edu.cn

引用格式: 马兰, 周志军, 石福明. (2021). 螽斯鸣声声学特征及发声锉结构研究. *Bio-101* e1010660. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010660.

How to cite: Ma, L., Zhou, Z.J. and Shi, F.M. (2021). The acoustic signals and stridulatory files in katydids. *Bio-101* e1010660. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010660. (in Chinese)

摘要: 声通讯是昆虫种内个体间信息交流的主要方式之一。螽斯鸣声声学特征及发声锉结构均存在较高的种间差异。本文以优雅蝈螬 (*Gampsocleis gratiosa*) 为例, 介绍了鸣声录制、声学特征分析及发声锉扫描电镜观察方法。

关键词: 螽斯, 发声锉, 声学特征

研究背景

声通讯是昆虫种内个体间信息交流的主要方式之一, 对种间识别、求偶、种群延续至关重要。鸣声分化源于性选择行为的差异, 吸引异性和宣示领地; 但这种分化形式较为随机, 分化产生的结果具有一定的不可预见性 (Iwasa and Pomiankowski, 1995)。螽斯通过前翅闭合运动时左翅腹面上的发声锉与右翅内缘 (刮器) 相互摩擦而发声。雄性螽斯利用鸣声进行通讯、吸引异性和威慑竞争对手; 部分种类雌性亦可发出鸣声应和雄性, 如硕螬亚科 (Bradyptorinae) 部分种类两性具有相似的发声器 (Elaevaa and Korsunovskaya, 2012); 拟叶螬亚科 (Pseudophyllinae) 的 *Panoploscelis specularis* 雌性发声器与雄性明显不同 (Montealegre-Z. et al., 2003)。声学信号在螽斯等鸣虫的物种形成、种内交流和保持种间生殖隔离方面具有重要作用 (Korsunovskaya, 2008 and 2009)。Ragge (1987) 对欧洲西部 170 余种直翅目昆虫鸣声特征进行了分析, 并提出了一门新的交叉学科——鸣声分类学 (Phonotaxonomy)。

常用的音频文件格式有：CD、WAVE (*.WAV)、AIFF、AU、MP3、MIDI、WMA、RealAudio、VQF、OggVorbis、AAC、APE 等。音频文件压缩方法分为无损压缩与有损压缩。常见的无损压缩格式有 WAV，APE 和 FLAC。WAV 格式支持多种音频位数、采样频率和声道，是 PC 上流行的音频文件格式，缺点是文件过大，只能用于存储较短的声音片段。APE 和 FLAC 格式相对较小，可以毫无损失地保留原有音质。为了记录完整的螽斯鸣声特征，一般应采用 WAV 格式；在用于科普宣传时，则可压缩转化为 MP3 格式。

鸣声特征分析最常用的指标包括：时域特征 (Time-domain characteristics) 和频域特征 (Frequency-domain characteristics)。本文以优雅蝈螬 (*Gampsocleis gratiosa*) 为例，介绍了鸣声录制、声学特征分析及发声锉扫描电镜观察方法。

材料与试剂

自然环境下多数种类螽斯在夏末秋初大量成熟。捕捉时间不宜太早，捕捉数量要有所节制，尽可能使鸣虫在自然界留下后代。

仪器设备

1. 数码录音笔 (SONY PCM-D100)
2. 直径与高均约为 10cm 的纸筒
3. T 型木质支架
4. 50 目窗纱
5. 眼科手术剪
6. 眼科镊子
7. 体视显微镜
8. 临界点干燥仪
9. 真空镀膜仪
10. 扫描电子显微镜

软件

1. Cool Edit Pro 2.1

2. Audacity
3. Raven Lite 1.0
4. Excel
5. SPSS

实验步骤

1. 鸣声录制

将 50 目窗纱粘在直径与高均约为 10 cm 的纸筒一端，并把 T 型木质支架安放在纸筒内。将优雅蝈螬罩在组装好的饲养纸筒内供其攀爬，如图 1 所示。

为减少其他杂音干扰，可将野外采集到的雄性优雅蝈螬成体带回室内。待其恢复正常鸣叫后，使用 SONY PCM-D100 数码录音笔在距离鸣叫个体约 10 cm 处进行录音，录制声波的频率范围为 $20-2 \times 10^4$ Hz，鸣叫停止 5-10 s 后，关闭录音笔。录制前给不同的螬斯个体进行编号，每个个体录制 3-5 段鸣声，并详细记录录制时的环境温度及对应的音频文件名称。

图 1. 优雅蝈螬饲养纸筒。 A. T 型木质支架；B. 组合好的纸筒。

2. 使用 Cool Edit Pro 2.1 软件进行鸣声降噪处理

将鸣声文件导入到电脑中。安装并打开 Cool Edit Pro 2.1，点击工具栏中的“文件”，在下拉菜单中选择“打开”，找到录制好的鸣声文件，选择并点击“打开”，即可在

Cool Edit Pro 2.1 主界面中显示该文件的波形图，通过鼠标滚轮，查看放大或缩小后的波形图，结果如图 2 所示：

图 2. Cool Edit Pro 2.1 导入鸣声文件

将光标定位在一段仅含背景杂音的波段开始位置，按住鼠标左键并拖动光标至结束位置释放，如图 3 所示。点击工具栏中的“效果”，依次点击“噪音消除”和“降噪器”，进入降噪器页面进行降噪处理，如图 4 所示。

图 3. Cool Edit Pro 2.1 进行鸣声噪音选择

图 4. Cool Edit Pro 2.1 进行鸣声降噪处理

点击“噪音采样”，显示选中波段的背景杂音图形。然后点击“保存采样”，保存背景杂音采样数据，默认格式为“*.fft”。返回到波形界面，**Ctrl + A** 选取全部波形后，再点击工具栏中“效果”，下拉菜单选择“噪音消除”和“降噪器”进入降噪器页面。点击采样栏中的“加载采样”，选择保存的背景杂音文件“*.fft”，并打开。点击降噪器页面中的“预览”，试听降噪后的鸣声，点击“确定”即可对整段鸣声进行降噪，结果如图 5 所示。如果试听后发现降噪后的鸣声失真明显，则需要重新采样，或调整参数。

图 5. Cool Edit Pro 2.1 降噪器界面

Cool Edit Pro 2.1 降噪器界面参数设置说明如下：

- 1) 采样快照：该值影响降噪速度，值越大，降噪用时越长，对降噪精度影响小。
 - 2) 降噪级别：0-100，数字越大，降噪程度越大，但随之对原波形的损伤也越大。
 - 3) 快速傅里叶变换 (FFT)：一般为默认设置，也可自行调节。
 - 4) 精度因素：该值越大，噪音特征越精确。
 - 5) 噪音衰减：降噪过程中噪音衰减的分贝数，数值越低，噪声越小，对原音的损伤越大。
 - 6) 平滑总量：该值越小，噪音越低，对原音破坏越大。默认值为 1，建议修改至 6。
 - 7) 转换宽度：声道宽度的转换控制。
3. 使用 Audacity 软件进行鸣声特征 (时域和频域) 分析

安装并打开 Audacity，点击工具栏中的“文件”，下拉菜单中选择“打开”找到经 Cool Edit Pro 2.1 软件降噪处理好的鸣声文件，点击“确定”，在主界面即可显示蓝色波形图。如图 6 所示：

图 6. Audacity 软件导入鸣声文件

点击工具栏中的放大或缩小图标，即可查看鸣声中的脉冲数量、脉冲组数量，音节数量等时域特征。通过鼠标选取相应的鸣声时域特征的相应部位，在底部菜单栏“选区的起点和长度”中即可查看该段波形的起止时间，以及持续时间，如图 7 所示。将录制的同一物种的多段鸣声分别导入，并将脉冲数量、脉冲组数量，音节数量，脉冲持续时间，脉冲组持续时间，音节持续时间，脉冲组周期等时域特征统计在 Excel 中，通过 SPSS 统计软件，计算得出平均值 $\pm$ 标准差。

图 7. Audacity 软件时域分析

鸣声频域特征分析，选择一段波形，点击工具栏中的“分析”，下拉菜单选择“频谱分析”，轴 (A) 一般选择“线性频率”，其他参数默认，通过频谱图可以看出鸣声频谱宽度及主能峰频率等信息，如图 8 所示。既可通过抓屏方式保存分析结果，亦可导出数据再使用 Excel 等软件进行后续作图。

图 8. Audacity 软件频域分析

4. 使用 Raven Lite 1.0 软件进行鸣声频谱分析

安装并打开 Raven Lite 1.0, 点击菜单栏“File”, 下拉菜单栏点击"Open sound files", 导入降噪后的鸣声文件, 即可查看鸣声的频谱, 如图 9 所示:

图 9. Raven Lite 1.0 频谱分析

5. 发声器扫描电镜样品制备及观察

在不损坏前翅完整性的情况下，用镊子将螽斯左前翅取下并置于 5% 的 NaOH 溶液浸泡处理 3-5 min。取出置于生理盐水中，用超声波清洗 5 min。在体视显微镜下确定发声锉位置，小心剪取发声锉部分（大小以略小于扫描电镜样品台为宜）。依次置于 70%、80%、90%、95% 及无水乙醇（2 次）中进行脱水处理 10 min；再分别用纯丙酮、醋酸异戊酯置换 15 min。接通临界点干燥仪电源并预热 5 min 后，将样品置于样品室中，并用无水乙醇覆盖；接入 CO₂ 使样品室温度降至 0 °C（处理时间不超过 3 min）；冷却至 0 °C 后开启填充阀进行 CO₂ 填充（约 2 min）；打开清洗阀，在通入 CO₂ 的同时逐渐排出乙醇直至彻底排干；待乙醇被 CO₂ 完全替代后，加热升温至 40 °C、压力 1,200 Pa 时停止加热并保持 4 min；以 100 Pa/min 速率逐渐降低样品压力至 0 Pa 后，取出样品。在体视显微镜下用镊子将样本腹面向上用导电胶粘在电镜台上。将样品台置于真空镀膜仪中，接通电源抽真空至 5 Pa 以下后，开始镀膜，时间 1 min。制备好的样品置于扫描电子显微镜下观察并拍照。每种螽斯至少观察 3 个以上电镜样本，便于后续统计分析。优雅蝈螬发声锉如图 10 所示。

图 10. 优雅蝈螬发声锉电镜观察结果（引自 Zhantiev and Korsunovskaya, 2019）

鸣声及发声锉描述常用术语

1. 螽斯鸣声声学特征描述常用术语

时域特征：声音强度随时间变化的一类特征。在鸣声分析过程中，常用的时域特征参数 (Walker *et al.*, 1988) 包括：

脉冲 (Pulse)：时域波形图中最小波形的最小组合；

脉冲组 (Pulse group): 鸣声中重复的最小单元;

脉冲组中单脉冲个数 (Number of pulse in the pulse group): 构成 1 个脉冲组所包含的所有脉冲个数;

脉冲组持续时间 (Chirp duration): 脉冲组从开始到结束所用的时间;

脉冲组间隔时间 (Chirp interval): 相邻 2 个脉冲组之间的间隔时间;

脉冲组周期 (Chirp period): 1 个脉冲组持续时间与间隔时间的总和构成 1 个脉冲组周期;

脉冲组重复率 (Rate of chirp): 脉冲组周期的倒数即为脉冲组的重复率。

频域特征: 鸣声在某一特定范围内的频率结构。在分析频域特征时, 最常选用的特征参数有: 频谱结构、主频率 (Dominant frequency, DF)、频率分布范围等。其中, 主频率是指鸣叫过程中能量最 o'iiiiiuu 哦 ii'ikiuuuu 为集中的点对应的频率值, 在频域特征图中表现为最高点所对应的频率值。

2. 发声锉描述常用术语

螽斯发声锉 (Stridulatory file) 由左前翅 Cu2 脉特化形成, 由一系列数目不等的发声齿组成。常用的描述术语(Anichini *et al.*, 2017)包括:

发声锉长 (Length of stridulatory file): 从基部至端部的最长直线距离;

发声齿 (Stridulatory teeth): 着生在 Cu2 脉腹面的突起, 是摩擦发声的最小结构;

发声齿数 (Number of stridulatory teeth): 构成发声锉的发声齿数目, 末端排列不规则的发声齿不计;

发声齿间距 (Interteeth distance): 相邻两个发声齿间的距离;

发声齿密度 (Density of stridulatory teeth): 1 mm 内的发声齿数目。

致谢

研究团队受到河北省自然科学基金 (C2021201002) 资助, 特此致谢。

参考文献

1. Anichini M., Kuchenreuther S. and Lehmann G.U.C. (2017). [Allometry of male sound-producing structures indicates sexual selection on wing size and stridulatory](#)

- [teeth density in a bush cricket](#). *Journal of Zoology* 301: 271–279.
2. Elaev N.F. and Korsunovskaya O.S. (2012). [Ecology and Sound Signaling of Relict Katydid *Deracantha onos* \(Pallas, 1772\) \(Orthoptera, Tettigoniidae, Bradyporinae\)](#). *Moscow University Biological Sciences Bulletin* 67(3-4): 111–116.
3. Iwasa, Y. and Pomiankowski, A. (1995). [Continual change in mate preferences](#). *Nature* 377(6548): 420-422.
4. Korsunovskaya, O.S. (2008). [Acoustic signals in katydids \(Orthoptera, Tettigoniidae\). Communication 1](#). *Entomol Rev* 88(9): 1032-1050.
5. Korsunovskaya, O.S. (2009). [Acoustic signals in katydids \(Orthoptera, Tettigoniidae\). Communication 2](#). *Entomol Rev* 89(1): 16-20.
6. Montealegre-Z. F., Guerra P.A. and Morris G.K. (2003). [Panoploscelis specularis \(Orthoptera: Tettigoniidae: Pseudophyllinae\): extraordinary female sound generator, male description, male protest and calling signals](#). *Journal of Orthoptera Research* 12(2): 173-181.
7. Ragge, D.R. (1987). [The songs of the western European grasshoppers of the genus *Stenobothrus* in relation to their taxonomy \(Orthoptera: Acrididae\)](#). *Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology* 55: 393-424.
8. Walker, T. J., Ragge, D. R. and Reynolds, W. J. (1988). [The songs of the grasshoppers and crickets of Western Europe](#). The Natural History Museum. London. ISBN: 9780946589494.
9. Zhantiev, R.D. and Korsunovskaya, O.S. (2019). [Acoustic signals of katydids of the tribe Gampsocleidini \(Orthoptera, Tettigoniidae\) in Russia](#). *Entomol Rev* 99(6): 705-710.