

昆虫性外激素嗅觉过程的神经生物学研究

景 键 吴 才 宏*

(北京市神经外科研究所)

提 要

本文从外周、中枢和行为三个不同层次,探讨昆虫对性外激素感受的嗅觉过程。通过对大量昆虫的性外激素组分化学结构鉴定,以及结构-活性关系的研究,促进了对嗅觉机制的了解。对于嗅觉中枢过程的了解是很初步的,有待进一步深入研究。

对昆虫性外激素感受过程的兴趣首先来自实用目的,即对害虫防治的需要。另一方面,也为嗅觉神经生物学的研究提供一个简单、方便而有用的模型。本文试图综述昆虫嗅觉过程的神经生物学机制。

一、方法学概述

自 Schneider 在 1957 年第一次在昆虫触角上记录到一个呈慢相、递级、综合的感受器电位——触角电图 (Electroantennogram, EAG) 以来, EAG 已被成功地用于嗅觉机制及各种信息化合物的结构鉴定的研究中(图 1)。近年

同时产生的感受器电位的总和。在高强度气味刺激时,能引起几种具有不同反应特征(比如脉冲振幅大小)的感受细胞同时产生感受器电位, EAG 就只能表现几种感受细胞的总体特征^[2]。

Boeckh (1962) 首先在触角的毛形感器基部^[3]; Kaissling (1974) 在触角毛形感器尖端记录到了单个嗅觉感受细胞的反应。单细胞记录比 EAG 对于嗅觉过程的了解提供了更多的信息^[4-7]。单细胞反应能区分出不同的感受细胞对性外激素各个组分的特异敏感性(根据神经冲动振幅的大小判断),还能识别输入到中枢的神经冲动序列的编码。

Kaissling 发现柞蚕 EAG 的上升相与下降相的速度都比单细胞反应要快一些,但其基本形状是一致的^[4]。EAG 仍不失为昆虫信息素研究的一个主要手段^[8,9]。

性外激素引起昆虫的性行为有^[10]: 兴奋(振翅等)、逆风飞向激素源、在气味源附近着陆、发现释放者、交配前行为、交配。性外激素的引诱效果以前均用野外诱捕法^[11]测量,但由于环境的变量太多,且又很难控制,因而降低了此方法的可信度。近年来发展的风洞实验法^[10]使实验条件能得到较为严格的控制,因而是行

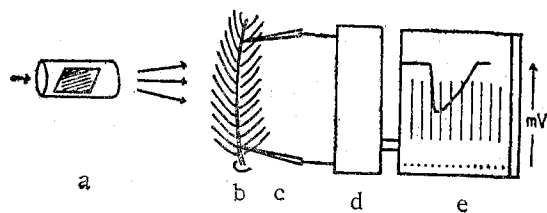


图 1 EAG 测量的模式图

a. 刺激源 b. 触角 c. 电极 d. 放大器 e. 记录仪

来, GLC (气、液相色谱)-EAG 记录联机使用, 应用于内源(即从性腺中分离出)的或合成的性外激素及其类似物的活性测定, EAG 还可有效地用于鉴别昆虫的分类关系^[1]。Schneider 认为 EAG 是触角中许多嗅觉感受细胞

* 北京大学生物学系。

为分析比较理想的方法。

电生理技术能获得大量的信息,但对这些信息的分析与解译常比得到数据还困难,因此有必要应用计算机来分析嗅觉过程的许多信息。在动作电位(脉冲)的信号处理方面,应用计算机可作:定量计数、描图显示,不同的脉冲频率区分,平均分析等。这样,对感受细胞的特征及其类型以及物种之间的区别等都成为可能,并且其结果更令人信服。

以前常用剂量-反应关系曲线比较各种气味化合物的生物活性^[7-9]。我们应用了两因素的方差分析来讨论实验中不同样品与剂量两因素对柞蚕 EAG 振幅的影响,证明了这两因素无交互作用;于是我们又用多重比较法来检验样品因素中的三个不同样品,即一性外激素组分及其两个异构体,对 EAG 振幅的影响,证明它们之间的差别是显著的。

二、柞蚕性外激素及其异构体的作用

Kochansky 等(1975)鉴定出 E-6, Z-11-16:ac* 为多音天蚕蛾(*Antheraea polyphemus*)的性外激素的主要成分,次要成分为 E-6, Z-11-16:al, 并发现触角的毛形传感器中有两类感受细胞,分别称为 AC-型细胞与 AL-型细胞,前者对 E-6, Z-11-16:ac 敏感,发放大脉冲;后者对 E-6, Z-11-16:al 敏感,发放小脉冲。从野外生测可得具有最佳引诱效应的组分为酯:醛=9:1^[12]。由于柞蚕(*Antheraea pernyi*)与多音天蚕同属大蚕蛾科,上述两组分也用于柞蚕的电生理研究^[4,7,13]。Kaissling 证实,与多音天蚕相反,柞蚕对 E-6, Z-11-16:al 发放大脉冲,对 E-6, Z-11-16:ac 则发放小脉冲,由此推测雄性柞蚕触角毛型传感器中也有 AC-型细胞与 AL-型细胞,它们分别对相应的 16 酯与 16 醛起反应^[4]。Zack 还通过对柞蚕与多音天蚕的单细胞记录,研究了嗅觉感受细胞的适应现象^[7]。Bestmann 等鉴定了 E-6, Z-11-16:al, E-6, Z-11-16:ac, E-4, Z-9-14:ac 是柞蚕性外激素系统的三个组分,前两者的比例为酯:醛=5:1^[14]。吴才宏等在柞蚕触角短毛感

器中证实了有对 E-4, Z-9-14:ac 敏感的嗅觉感受细胞存在,称此种细胞为 AC-2 型细胞^[6]。

EAG 和感受器电位的大小与刺激化合物的剂量有关。Minks 等^[8]在棉卷蛾(*Adoxophes orana*)等昆虫上发现,对于刺激剂量小于 $10^{-2} \mu\text{g}$ 的性外激素的变化, EAG 反应振幅变化不大,若剂量为 10^{-1} — $10 \mu\text{g}$ 时,反应振幅变化率最大, $10 \mu\text{g}$ 以上,振幅增加又不明显。Kaissling 发现在家蚕(*Bombyx mori*)也有类似现象;柞蚕和多音天蚕均被证实有同样的现象^[7]。在 S 形的剂量-反应曲线中,一定的剂量范围内斜率最大,这表明感受细胞具有识别气味化合物的剂量差异的能力^[3]。大多数昆虫对其性外激素系统中的主要组分的反应有相同的阈值。

昆虫触角还能识别气味化合物的微小的结构差异,如性外激素及其几何异构体。Roelofs 和 Comeau 发现红带卷蛾性引诱剂 Z-11-14:ac 所引起的 EAG 振幅比异构体引起的 EAG 振幅要大^[9]。我们还证明柞蚕性外激素(E-6, Z-11-16:ac)的两异构体(E-6, E-11-16:ac, Z-6, E-11-16:ac)的 EAG 振幅是该性外激素组分的 EAG 振幅的 1%—20%。Priesner 在综述某些鳞翅目夜蛾科(Noctuidae)与卷叶蛾科(tortricidae)的实验结果以阐明结构与功能的关系时指出:具有 Z 构象的性外激素的 E 异构体的感受器电位的振幅,在夜蛾科中要减小到 1/10, 在卷蛾科中则要减小到 1/100 甚至 1/1000^[15]。Silverstein 阐述了有关气味化合物分子结构与生物活性的关系。昆虫触角不仅能识别几何异构体,而且还能识别不同的光学异构体。两个成对映关系的化合物的物化性质是完全一致的,但昆虫却能有效地区分,这说明了昆虫嗅觉感受细胞膜上存在特异性的受体^[16]。

结构与功能关系的电生理学研究已提出一种配体(指性外激素或其类似物)与感受细胞膜上受体的柔性结合(flexible interaction)模型,来取代刚性的钥匙-锁原则。Priesner 指

* E = 反, trans; Z = 顺, cis。

出,这种结合很可能起始于极性末端(如 E-6, Z-11-16:ac 的 ac 末端),引导该分子接近连接点,以便与受体蛋白的氨基酸残基结合;然后,部分已结合的键的构象重组,使其余的片段与其相应的亚连接点(Subsites)进行完全结合^[15]。Bestmann 等利用单细胞记录发现,柞蚕的信号分子在与其树突膜上受体结合中,末端功能基团与键的总长是影响活性的两个重要因素^[15]。

三、嗅觉的外周感受过程

毛形感器是昆虫感知性外激素的外周器官^[1,3,4,19](图 2),柞蚕毛形感器一般含有 2—3 个感受细胞。

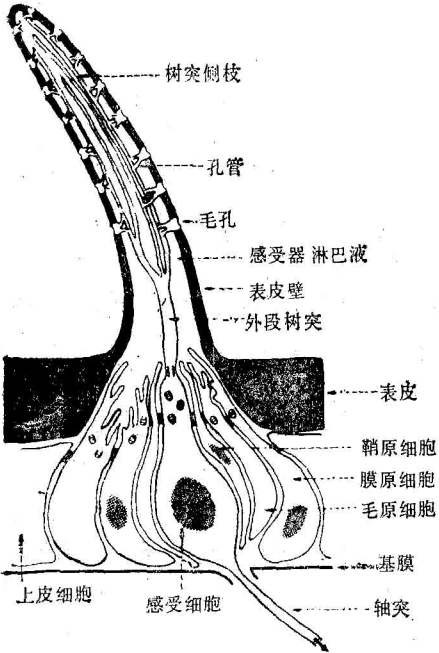


图 2 毛形嗅觉感受器模式图^[17]
图示一个感受细胞,三个辅助细胞。

嗅觉毛的作用是摄取性外激素分子。气味分子经毛孔进入充满感受器淋巴液的腔内(图 2);已证明毛腔内存在大量的激素分子^[19]。这些分子与受体蛋白结合,引起受体分子的构象发生变化,使离子通道打开,离子进入细胞形成去极化电流^[7]。

嗅觉失活是嗅觉过程的必要步骤,对于失

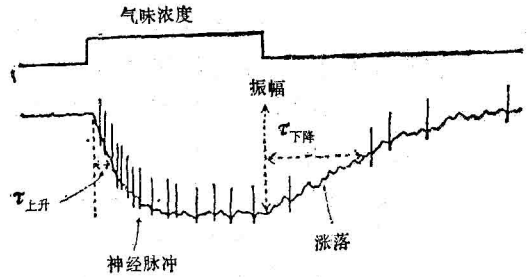


图 3 典型的感受器电位模式图^[12]

活过程有两种解释,一是气味分子从结合状态快速返回淋巴液,与淋巴液中的结合蛋白结合;二是激素分子被分解,引起离子通道关闭,并产生复极化。实验发现,对触角高剂量气味的刺激尚未终止,感受器电位就已达饱和(图 3),对于气味分子的早期快速失活(Early or Rapid Inactivation)现象,酶解失活不能解释^[13,19]。

单个气味分子引起的单个离子通道的打开而产生单位感受器电位,表现为产生感受器电位之前小的电位涨落^[13](图 3),同一感受细胞上的大量的单位感受器电位形成的平均去极化,就是感受器电位。单细胞的感受器电位的振幅可达 30mV^[19]。感受器电位扩布到胞体在轴丘部位产生神经冲动。

前已说明,毛形感器的不同类型的感觉细胞只对特定的气味分子起反应^[4,6,7,12]。形态学研究表明柞蚕长毛感器中通常存在大、小不同的两类细胞,一类为 AL-型细胞(发放大脉冲),较大;另一类为 AC-型细胞(发放小脉冲),较小^[20]。

实际上,具有不同振幅与频率的脉冲序列是一种编码的信息^[15,19],它们沿着感受细胞轴突进入中脑的触角叶。

四、嗅觉通路

大多数昆虫的性外激素的感受细胞传入端沿触角神经投射到同侧的中脑触角叶(Antennal Lobe)^[17,18],在触角叶内,性外激素感受细胞的轴突直接终止于触角叶背侧的巨型球状体(Macrogglomerulus)内。而非性外激素,即一般的嗅觉感受细胞轴突及其他感觉细胞(比

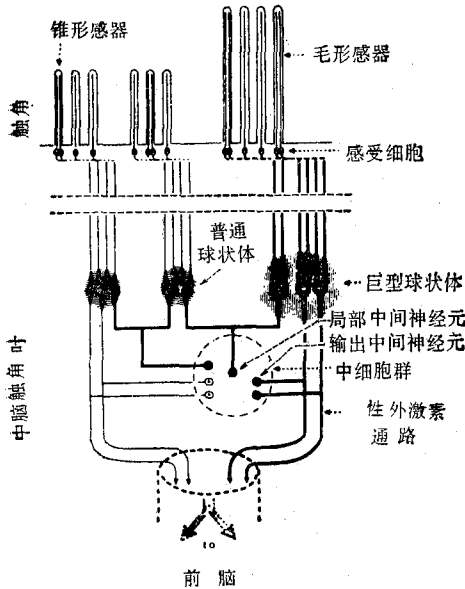


图 4 昆虫嗅觉系统示意图^[17]

粗线表示从性外激素来的信息所经过的通路；细线表示从其他普通嗅觉刺激物来的信息通路。

如机械感受)的传入枝则投射到触角叶腹侧的普通球状体 (glomerulus) 内^[18]。

中脑触角叶的第二级神经元,即中间神经元,其胞体位于中细胞群 (Neuronal Cluster) 内,中间神经元分两类:一类是局部中间神经元,其神经突起在各神经节小球内均有分枝,但不离开触角叶;另一类是输出中间神经元,它只在单一的神经节小球内形成突触,然后发出上行轴突,通过嗅径 (tractus olfactorioglobularis) 进入前脑^[18]。在前脑的神经侧囊 (Calves of corpora pedunculata) 和前脑外侧叶 (Lateral protocerebral Lobe) 中均发现这些轴突的神经末梢^[1]。(图 4, 参见图 5)

五、嗅觉的中枢过程

与研究水蛭 (Leech) 和海兔 (*Aplysia*) 的简单神经系统的情况类似,神经生物学在激素控制的昆虫行为研究方面,一个重要步骤是研究嗅觉信息在中枢各级神经元上是如何进行转换与整合,最终又是如何导致行为反应的。即建立整个神经元回路模式图,以及各个神经元在恰当刺激下所作出的神经反应的模式。

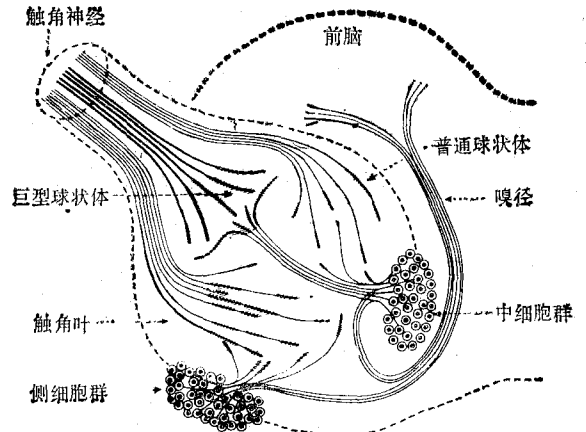


图 5 触角叶的嗅觉通路^[17]

图 5 是雄性柞蚕触角到中脑的嗅觉通路模式图 (参见 [17])。次级神经元的胞体位于触角叶的侧细胞群或中细胞群内。Boeckh 等 (1979) 用细胞外记录方法发现柞蚕与多音天蚕感受性外激素的次级神经元的胞体只位于中细胞群内^[19]。

神经节球状体是神经纤维网的一个独立的亚单位,其输出中间神经元与前脑的不同区域相联系。雄性蜉蝣 (*Periplaneta*) 巨型球状体可支配 15 个输出中间神经元,比较进入巨型球状体的感受细胞的数目,我们就会发现,在感受细胞与中脑的输出中间神经元之间具有 5000:1 的会聚比率^[17]。

每个输出中间神经元在前脑的不同部位都有神经投射。这些神经元的轴突沿嗅径,在蘑菇体 (mushroom body) 分枝,一枝进入孟 (Calices) 中,另一枝进入前脑外侧叶。在孟中,这些神经元的突起又分枝,对性外激素敏感的单个输出中间神经元就有 70 个末梢。这些末梢分布在中脑的所谓微球状体 (microglomeruli) 内,与可能来自球状体 (globule) 细胞的至少 10 至 20 个突起之间形成突触。如果这些突起都分属于不同的球状体细胞,我们就可推算出在中脑输出中间神经元与蘑菇体的神经元之间有 1:700 到 1:1400 的辐散比率^[17]。

感受细胞与输出中间神经元之间的会聚,可使输出中间神经元对气味分子具有高度敏感

性,并使其对复合的气味刺激也具有敏感性。此外,局部中间神经元还起着巨型球状体与其他球状体之间的联系作用(图4)。局部中间神经元的背景放电对输出中间神经元有抑制作用^[48],因而这种自发放电频率的模式是将嗅觉信息从触角叶转换到前脑的重要而经济的方式。所以,中脑的中间神经元不仅起一个会聚信息的作用,而且还将信息进行了转换加工。

中脑输出中间神经元具有广泛的辐散特性。经过中脑加工的嗅觉信息在前脑有广泛的分布,这种性质决定了前脑的信息整合进入了更高水平。Light^[48]提出,前脑的功能可能有三种:1)对真实环境的性外激素(比如一定方向的气流所含的气味物质)进行抽象与重建,需要多种感觉通道,这些通道的信息在前脑得到整合;2)由于先期刺激的持续作用,前脑某些神经元回路对多感觉通道传来的一系列刺激可同时编码,产生新的适宜输出,因而前脑可对系列的环境事件进行反应。3)进入前脑广泛分布的信息可能转换成运动指令,并编码运动方向。

这样,似乎传入通路的整合有一确定过程,然而我们对中脑的神经元回路及其在前脑的投射还知之甚少^[47],因而,昆虫嗅觉的中枢过程研究依然是初步的。

六、结 语

近十年来神经科学研究领域内已采用几项新技术,一是重组DNA,单克隆抗体技术及原位杂交技术在神经系统研究中的应用;二是采用膜片钳制技术研究离子通道机制;三是神经细胞标记与示踪方法的革新等。这几项技术在昆虫性外激素嗅觉过程的研究中,还尚未被广

泛采用。随着这些技术的广泛应用,将使我们昆虫嗅觉的神经生物学过程有更深入的了解。

参 考 文 献

- [1] Mustaparta, H.: *Chemistry Ecology of Insect* (Bell W. J. and Cardre, R. T. eds), Chapman and Hall Ltd., London, 1984, 37—70.
- [2] Schneider, D.: *Science*, 1969, **163**, 1031.
- [3] Boeckh, J.: *Insect Communication* (Lewis, T. ed.), Academic Press, Inc. London, 1984, 83—102.
- [4] Kaissling, K. E.: *Chemical Ecology: Odour Communication in Animals* (Ritter, F. J. ed.), Elsevier North-Holland Biomed. Press, 1979, 43—56.
- [5] Bestmann, H. J. et al.: *Z. Naturforsch.*, 1978, **42c**, 435.
- [6] 吴才宏等:《科学通报》,1989,Vol. **34**, No. 15.
- [7] Zack, C.: *Sensory Adaptation in the Sex Pheromone Receptor Cell of Saturniid Moths*, Ludwig Maximilians-Universität, München, 1979, 1—99.
- [8] Minks, et al.: *J. Insect Physiol.*, 1974, **20**, 1659.
- [9] Roelofs, W. L. et al.: *J. Insect Physiol.*, 1971, **17**, 1969.
- [10] Miller, J. R. et al.: *J. Chem. Ecol.*, 1978, **4**, 187.
- [11] Roelofs, W. L. et al.: *Ann. Rev. Entomol.*, 1977, **22**, 377.
- [12] Kochansky, J. et al.: *J. Insect Physiol.*, 1975, **121**, 1977.
- [13] Kaissling, K. E.: *Int. Symp. Olfaction and Taste 5* (LeMagnen, J. et al. eds) Information Retrieval, London, 1977, 9—16.
- [14] Bestmann, H. J. et al.: *Z. Naturforsch.*, 1987, **42c**, 631.
- [15] Priesner, E.: *Chemical Ecology: Odour Communication in Animals* (Ritter, F. J. ed.), Elsevier North-Holl and Biomed. Press., 1979, 60.
- [16] Silverstein, R. M.: *Insect Communication* (Lewis, T. ed.), Academic Press, Inc. London, 1984, 105—119.
- [17] Boeckh, et al.: *J. Insect Physiol.*, 1984, **30**, 15.
- [18] Light, D. M.: *Mechanisms in Insect Olfaction* (Payne, T. L. et al. eds), Clarendon Press, Oxford, 1986, 287—302.
- [19] Kaissling, K. E.: *Ann. Rev. Neurosci.*, 1986, **9**, 121.
- [20] Steinbrecht, R. A. et al.: *Cell Tissue Research*, 1984, **235**, 25—45.

[本文于1988年1月29日收到]

(上接第179页)

- [9] Drickamer, K. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1986, **261**, 6878.
- [10] Ikuta, K. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1987, **84**, 819.
- [11] Yamamoto, T. et al.: *Cell*, 1984, **39**, 27.
- [12] Ullrich, A. et al.: *Nature*, 1984, **309**, 418.
- [13] Ullrich, A. et al.: *Nature*, 1985, **313**, 756.
- [14] Itoh, H. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1986,

83, 3776.

- [15] Mercken, L. et al.: *Nature*, 1985, **316**, 647.
- [16] Ikeda, K. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1987, **262**, 7451.
- [17] Schumacher, M. et al.: *Nature*, 1986, **319**, 407.
- [18] Massague, J.: *Trends in Biochem. Sci.*, 1985, **10**, 237.
- [19] Tanaka, T. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1984, **259**, 8063.

[本文于1988年2月4日收到]