

Agrotis segetum 雄蛾触角叶神经元的时相编码特性^{*}

项 辉¹, SYLVIA Anton², BILL S Hansson²

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275;

2. Department of Ecology, Lund University, Lund s22362, Sweden)

摘 要: 应用细胞内记录神经放电方法, 研究 *Agrotis segetum* 雄蛾触角叶 MGC 神经元对性信息素的反应特征及时相编码特点。在此种雄蛾 MGC 中, 投射神经元对性信息素的反应呈现一种双相反应模式。26 个 MGC 神经元均可对 1, 3 Hz 频率的每个刺激有明显的双相反应, 14 个神经元可对 5 Hz 频率的每个刺激引起明显的双相反应, 4 个神经元仅能识别 7 Hz 频率的每个刺激, 1 个神经元可识别高至 10 Hz 频率的每个刺激。神经元对性信息素频率刺激的反应能力与神经元自发放电频率、反应时的超极化幅度等都有一定的相关关系。

关键词: *Agrotis segetum* 雄蛾; 触角叶; 投射神经元; 性信息素; 时间编码

中图分类号: Q6-3; Q579.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2002) 02-0085-04

性信息素在空气中的传播频率影响雄蛾寻找性信息素源的飞行模式。给持续刺激, 雄蛾会沿着风向交叉飞行 (across wind flight)^[1], 给性信息素频率刺激而且频率高于 5 Hz 时, 雄蛾几乎是向性信息素源直线飞行^[2]。雄蛾触角嗅感受神经元 (olfactory receptor neurons, ORN) 能模拟性信息素频率刺激的时相模式。昆虫的触角叶 (antennal lobe, AL) 作为初级嗅处理中枢由许多嗅球体 (glomeruli) 神经网络组成^[3], 处理性信息素信息的神经元主要汇集在巨球复合体 (macroglomerular complex, MGC), 在这里 ORN、局部中间神经元 (local interneurons, LN) 和投射神经元 (projection neurons, PN) 相互之间形成突触连接, 信息在这里经过初步的处理加工。而 ORN、LN 与 PN 之间不同的突触组织方式使 PN 表现出不同的时相编码特点, 在 *Manduca sexta*, PN 对性信息素刺激呈现一种三相反应模式^[4]。本研究要了解 *A. segetum* 的 PN 对性信息素频率刺激的时相编码特点。

1 材料和方法

1.1 动物

A. segetum 雄蛾由 LUND 大学生态系实验室培育。实验用动物为 1~3 天龄的雄性成虫。将雄蛾放于 1 mL 移液管的一截内, 蛾子头部刚可以伸出细管口外, 用软蜡 (KERR) 封住粗端并固定好蛾子头部。小心移去头部外壳, 并把针状长吻、气管及肌肉等组织剔除, 暴露脑组织。挑除包裹脑组织特别是 AL 部位的白色壳膜, 便于玻璃微电极插入脑组织中。暴露的脑用生理溶液灌流^[5], 生理溶液

成分包含 (mmol/L): 149.9 NaCl, 3.0 KCl, 3.0 CaCl₂, 10.0 N tris [hydroxymethyl] methyl 2 aminoethanesulfonic acid (TES), 25.0 葡萄糖, 调 pH 6.9。

1.2 气味刺激和电生理记录

经碳粉过滤的空气流以 0.5 m/s 的速度吹着触角以减少机械刺激的影响到最小程度, 空气流流经一个蒸馏水瓶子以保持空气的湿润。空气流最后经内径为 8 mm 的玻璃管传送到触角, 玻璃管口距触角约 10 mm。4 种性信息素单一成分 (Z5-10: OAc, Z5-12: OAc, Z7-12: OAc 和 Z9-14: OAc), 及由这 4 种成分按质量比 1:0.1:5:2.5 组成的混合物分别溶解在重蒸的己烷中^[6], 每种性信息素按实际质量 10 ng 吸取溶液放于 5 mm×15 mm 大小的滤纸片上, 此滤纸片放入 Pasteur 玻璃管中。另作一个重蒸己烷作空白对照管。把内有滤纸片 Pasteur 玻璃管插入空气流玻璃管中, 此处位置距触角约 150 mm。Pasteur 玻璃管由嗅的刺激器 (SYN-TECH, Hilversum, The Netherlands) 控制以 5 mL/s 给出单个或一定频率的连续 5 个含性信息素气流入空气流玻璃管中。玻璃微电极用 Sutter P-87 拉制。按常规细胞内电生理方法操作, 神经活性经示波器 (Gould) 观察并用录相机记录在录相带上。

1.3 数据处理

实验一般先给 500 ms 单刺激试溶媒对照品, 然后试性信息素混合物; 在 *A. segetum*, MGC 中的 PN 对性信息素反应主要呈现这样一种模式^[2]: 每个刺激引起一个放电爆发过程即去极化相, 随后跟着一个抑制过程即超极化相。如对混合物有较强反应, 那么就试验神经元对混合物频率刺激的反应,

^{*} 收稿日期: 2001-05-08

给连续 5 个刺激, 频率从 1 Hz 开始, 接着试 3, 5, 7 到 10 Hz; 在 1, 3, 5, 7 Hz 频率刺激时, 每个刺激持续 100 ms; 10 Hz 刺激时每个刺激持续 50 ms。如此时还接触良好, 可继续试其他的单一成分。一个神经元取可以对某一性信息素刺激分辨最高频率反应得到的一组数据。利用 AUTOSPIKE 程序采集神经元放电信号, 计算神经元的自发放电频率(neuron frequency, NF)、给单刺激时的超极化相内的超极化电位幅度(hyperpolarization potential, HP), 放电抑制时间(inhibition duration, ID), 如图 1 所示。

性信息素的刺激频率用 SF (stimulation frequency) 表示。一个典型的神经元频率反应模式如图 2。用 SPSS 10 和 MICROSOFT EXCEL 软件进行 T 检验和相关分析。

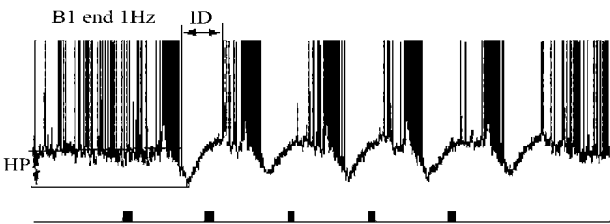


图 1 数据的采取方法

Fig 1 Here showed the methods of data collection

下线是一个刺激标记, 在刺激标记与神经元放电反应间有一个时间差, 是由于性信息素传递及神经元反应需要时间而引起的

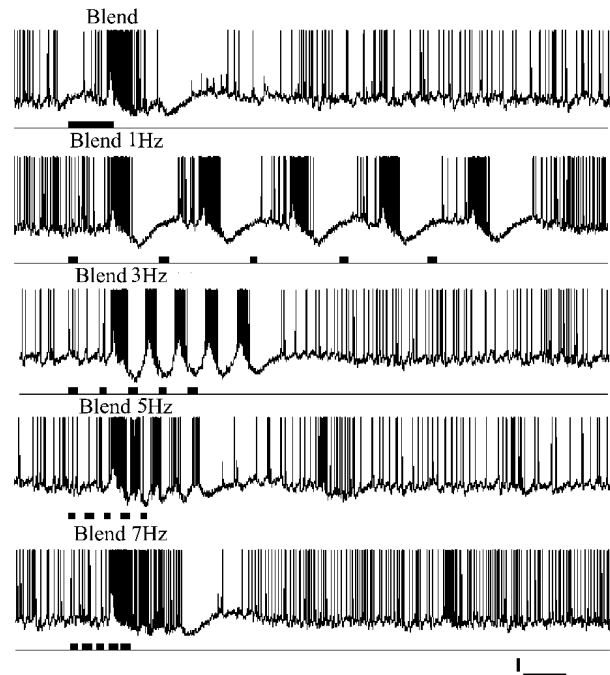


图 2 MGC 中一个神经元对性信息素混合物单个刺激及一定频率 5 个刺激的反应

Fig 2 Responses of one MGC neuron to single and pulsed stimulation

此神经元可对 7 Hz 性信息素混合物频率刺激反应, 归于可对 5 Hz 性信息素反应的神经元之列

标记标示: 纵标= 10 mV, 横标= 500 ms

2 结果

从 43 头蛾子收集了 AL 的 MGC 中对性信息素有反应神经元的数。在 26 个神经元上测试了对性信息素的频率反应。这些神经元都对性信息素某种或某几种成分或混合物有较强的反应, 其峰电位幅度差不多都超过 50 mV, 神经元自发放电频率在 6~50 Hz 范围内。神经元对性信息素某一单一成分或混合物的反应都呈现一种双相反应模式。

在 26 个对性信息素反应的 MGC 神经元中, 所有神经元均可分辨 1, 3 Hz 的 5 个性信息素连续刺激, 5 个刺激中每一个均可引起明显的双相反应; 12 个神经元仅止于此, 不能进一步分辨更高频率的每个刺激。在其他的 14 个神经元中, 10 个神经元只能分辨到 5 Hz 频率的每个刺激, 不能对更高频率的每个单刺激引起明显的双相模式反应。同理, 剩下 4 个神经元能分辨到 7 Hz 频率的每个刺激, 最后只有 1 个神经元可识别高至 10 Hz 频率的每个刺激。在此分析了神经元的特性, 结果表明, 神经元对性信息素频率刺激的反应能力与神经元的自发放电频率、对性信息素反应时的超极化幅度等都有一定的关系 (表 1, 2)。

表 1 MGC 中神经元对性信息素频率反应能力与其电生理特性的比较¹⁾

Tah 1 Compared with the resolved ability of MGC neurons to frequencies carrying pheromone and the characteristics of these neurons

SF/Hz	NN/n	NF/Hz	HP/mV	ID/ms
1	22			
3	22	35±9.3	-6.7±2.11	508±209.1
5	14	24±9.4	-12.3±3.01	643±157.1
7	4	22±9.8	-16.1±5.28	840±336.1
10	1	9	-13.6	1301

1) $x \pm SD$; NN 为能分辨一定性信息素频率刺激的神经元数目

表 2 MGC 中神经元对性信息素频率反应能力与其电生理特性的 Spearman 相关分析

Tah 2 Spearman correlative analysis between the resolved ability of MGC neurons to frequencies carrying pheromone and the characteristics of these neurons

	项目	NF	HP	ID	SF
NF	相关系数	1.000	0.608	-0.688	-0.623
	显著性检验		0.001	<0.001	0.001
HP	相关系数	0.608	1.000	-0.566	-0.861
	显著性检验	0.001	0.003	<0.001	
ID	相关系数	-0.688	-0.566	1.000	0.563
	显著性检验	<0.001	0.003	0.003	
SF	相关系数	-0.623	-0.861	0.563	1.000
	显著性检验	0.001	<0.001	0.003	

神经元自发放电频率较低, 能分辨的性信息素频率刺激就较高。而当神经元对性信息素反应时超极化幅度越大, 神经元才能识别高频的性信息素刺激。也就是说, MGC 中神经元本身的生理特性决定了神经元对一定频率性信息素刺激的反应能力。

实验过程还发现 2 个典型的情况而且可以重复, 如图 3 所示的神经元对单一成分 Z9-14: OAc 的频率刺激有较强的反应能力, 可分辨高达 7 Hz 频率的每个刺激, 对其他单一成分有反应而频率反应能力较弱, 对混合物却没有反应; 图 4 所示的神经元对 Z7-12: OAc 的频率刺激无反应能力, 但可观察到它可对此单一成分产生反应, 此神经元对其它单一成分和混合物频率刺激均有反应能力。这说明神经元的频率反应能力还与神经元的特异性有关。空气中断断续续的性信息素气流所造成的频率刺激会影响雄性蛾子对异性的定位寻找, 可能是由于不同特性神经元对性信息素频率的反应特点而编码, 传到中枢决定了其飞行行为。

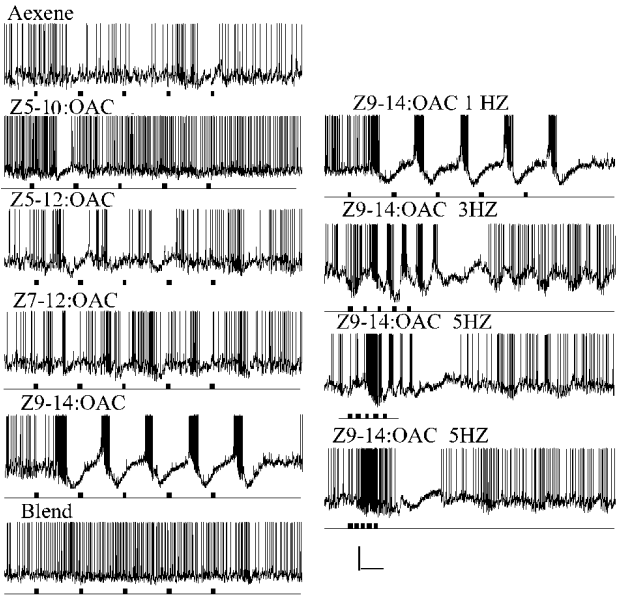


图 3 MGC 中神经元对性信息素单一成分 Z9-14:OAc 的频率刺激反应

Fig 3 response of one MGC neuron to 4 components and 4-component blend pulses
标记显示: 纵标= 25 mV, 横标= 500 ms

3 讨 论

结果表明, *A. segetum* 雄蛾 MGC 中许多神经元对行为相关的性信息素频率刺激有反应能力, 不同神经元对范围 1 ~ 10 Hz 的性信息素频率刺激反应能力有所不同。在 *A. segetum* 的 MGC 中, 对性信息素反应的 PN 无一例外地都显示一种双相反应模式 (+/-), 这种双相反应模式的超极化相是决定神经元对性信息素频率刺激反应能力的一个重要因素

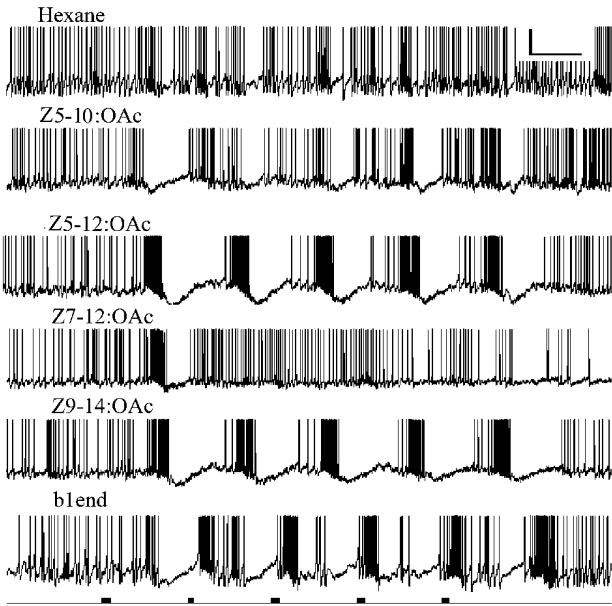


图 4 MGC 中神经元对性信息素单一成分及混合物频率刺激的反应

Fig 4 This neuron responded to all 4 components and 4-component blend
标记显示: 纵标= 25 mV, 横标= 500 ms

(表 1, 2)。这种双相反应模式既可用性信息素单一成分刺激得到, 也可用 4 种成分的混合物刺激得到 (如图 2-4)。这种反应模式似乎不依赖于成分间相互作用, 表明混合物中每种成分对 *A. segetum* 雄蛾定位寻找同种雌蛾的行为都是同样重要^[7], 但大量行为实验显示全成分性信息素在性信息素源发现过程中的重要性^[8], 这说明决定动物行为是神经中枢对各单一成分反应信息进行编码的结果。MGC 作为嗅性信息素传入的初级中枢, 也有初级处理功能。图 3 所示的神经元可对单一成分 Z9-14:OAc 有频率反应, 而且对其他单一成分也有反应, 但却对由这四种单一成分组成的复合物没有反应, 这说明此神经元得到的信息是经过编码的。图 4 所示的神经元对 Z7-12:OAc 没有频率反应, 但对其他单一成分及复合物均有频率反应, 这都说明在昆虫 MGC 中, 性信息素频率刺激的神经编码是综合的, 有很多不同特性的神经元参与到时相编码中。

ORN PN 和 ORN LN PN 所形成的神经回路很可能是这种双相反应模式的机制。ORN 直接与 PN 形成兴奋性突触, 当有刺激时, 引起 PN 的去极化反应 (形成去极化相); 同时 ORN 可能兴奋 GABA 能的 LN 而产生抑制性输入到 PN, 从而中断了 PN 的兴奋性反应而形成超极化相^[9]。另外, 在蛾子 *M. sexta* 上得到一种三相反应模式 (-/+/-)^[10], 其神经机制研究表明, 在 AL 中 ORN 很少与 PN 直接形成突触, 而是 LN 与 ORN 形成单突触接受信息

传入，然后通过多突触复合体相互作用把信息传给 PN。可见不同动物在 MGC 中有各自的神经回路，不同动物间对性信息素刺激的时相编码机制是不同的。

参考文献:

[1] HANSSON B S. Olfaction in lepidoptera[J] . Experientia, 1995, 51: 1003— 1027.
[2] LEI H, HANSSON B S. Central processing of pulsed pheromone signals by antennal lobe neurons in the male moth *Agrotis segetum*[J] . J Neurophysiol, 1999, 81: 1113— 1122.
[3] HANSSON B S, ANTON S. Function and morphology of the antennal lobe: new developments[J] . Annu Rev Entomol, 2000, 45: 203— 231.
[4] CHRISTENSEN T A, WALDROP B R, HILDEBRAND J G. Multitasking in the olfactory system: context-dependent responses to odors reveal dual GABA-regulated coding mechanisms in single olfactory projection neurons[J] . J Neuroscience, 1998, 18(15): 5999— 6008.
[5] CHRISTENSEN T A, HILDEBRAND J G. Functions, organi-

zation, and physiology of the olfactory pathways in lepidopteran brain//GUPTA Q P. Arthropod Brain: Its Evolution, Development, Structure and Functions[M] . New York: Wiley, 1987: 457— 484.
[6] WU W, LOFSTEDT C, HANSSON B S. Electrophysiological and behavioural evidence for a fourth sex pheromone component in the turnip moth, *Agrotis segetum*[J] . Physiol Entomol, 1995, 20: 81— 92.
[7] HANSSON B S, LJUNGBERG H, HALLBERG E, et al. Functional specialization of olfactory glomeruli in a moth[J] . Science, 1992, 256: 1313— 1315.
[8] CHRISTENSEN T A, HILDEBRAND J G. Coincident stimulation with pheromone components improves temporal pattern resolution in central olfactory neurons[J] . J Neurophysiol, 1997, 77: 775— 781.
[9] DISTLER P G, BOECKH J. Synaptic connection between identified neuron types in the antennal lobe glomeruli of the cockroach, *Periplaneta americana* I. Uniglomerular projection neurons[J] . J Comp Neurol, 1997, 378: 307— 319.
[10] CHRISTENSEN T A, HILDEBRAND J G. Frequency coding by central olfactory neurons in the sphinx moth *Manduca sexta*[J] . Chem Senses, 1988, 13: 123— 130.

Time Coding of Neurons Responding to Sex Pheromone in the Antennal Lobe of the Male Moth *Agrotis segetum*

XIANG Hui¹, SYLVIA Anton², BILL S Hansson²

(1. School of Life Sciences, Sun Yat-sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China;
2. Department of Ecology, Lund University, Lund s22362, Sweden)

Abstract: In addition to the needs of evaluating the quality and quantity of the pheromone signal, the male moth also needs to resolve the filamentous structure of the pheromone plume. Air puffs delivered at frequencies of 1, 3, 5, 7, or 10 Hz were used to carry the stimulus. In this study, 26 neurons in MGC of *A. segetum* responding to sex pheromone were observed by intracellular recordings. Response of MGC PN to sex pheromone is one kind of biphasic pattern, which consist of a depolarization phase and followed by a hyperpolarization phase. In *Agrotis segetum*, The most common type neurons of MGC could resolve at least 1, 3 Hz pulses, 14 neurons could resolve 5 Hz, 4 neurons resolved 7 Hz, one neuron until 10 Hz. The resolution of MGC neurons to frequencies carrying sex pheromone correlated with the characteristics of these neurons.

Key words: *Agrotis segetum*; antennal lobe; projection neuron; sex pheromone; time coding