

多音天蚕和柞蚕的嗅觉感受细胞 对性外激素组分的反应特性

孟联忠

(北京大学生物系, 北京 100871)

K. E. Kaissling

(德国 Max-Planck 行为生理研究所,

D-8130 Seewiesen)

摘要 观察了多音天蚕 *Antheraea polyphemus* 及柞蚕 *Antheraea pernyi* 雄蛾触角上毛形感器 (*Sensillum trichodeum*) 的形态、数量和分布,并用单细胞记录方法研究嗅觉感受细胞对性外激素组分的反应特性。两种雄蛾的触角上的每个毛形感器内都存在有 1 至 3 个数目不等的嗅觉感受细胞,即 AC_1 -细胞, AC_2 -细胞和 AL-细胞,它们分别对各自的性外激素组分产生具有高度特异性的反应。

关键词 多音天蚕 柞蚕 性外激素 单细胞记录

昆虫在生活过程中的许多行为习性,如寻偶交配、群集和告警以及对寄主的定向和选择等,都普遍利用环境中的化学信息。鳞翅目昆虫中的蛾类,以及一些鞘翅目、直翅目等昆虫,都是以化学引诱作为两性识别的主要方式。研究资料表明,大多数雌蛾的性外激素系统是由多种化学组分构成,而且含量极微,效应极大 (Silverstein 和 Young, 1976; Carde 和 Baker, 1984)。雄蛾触角只要捕获到数百个性外激素分子,就可以激起某些性行为反应,甚至逾越几米或更远的距离寻觅配偶,最终完成它们繁殖后代的功能 (Kaissling 和 Priesner, 1970)。

家蚕 *Bombyx mori* 雄蛾触角的每个毛形感器内存在有两个化学感受细胞,每个感受细胞只对其中一种组分(关键化合物)产生特异性反应 (Butenandt, 1963; Steinbrecht 等, 1971; Kaissling 等, 1978)。多音天蚕 *Antheraea polyphemus* 和柞蚕 *A. pernyi* 是两种体形较大的野蚕,雄蛾触角上都生着大量的毛形感器,每个毛形感器内有 1 至 3 个不等数量的感受细胞 (Gnatzy 等, 1984; Keil, 1984)。对雌蛾性腺体的化学分析结果表明,多音天蚕的雌性外激素是由 E6,Z11-十六碳二烯乙酸酯 (AC_1) 和 E6,Z11-十六碳二烯醛 (AL) 两种组分构成 [Kochansky 等, 1975]。通过对柞蚕雌蛾的性腺体的化学分析鉴定表明,它的雌性外激素有三种组分: AC_1 、AL 和 E4,Z9-十四碳二烯乙酸酯 (AC_2) (Bestmann 等, 1987)。在这两种蛾类中,是否也存在着像在家蚕中看到的雄蛾触角上的感受细胞的与雌性外激素组分的对应关系,尚不清楚。

本文旨在用单细胞记录方法进一步研究在这两种雄蛾的毛形感器内是否也存在着对应于性外激素各个组分的感受细胞,以及这些感受细胞对性外激素反应的特点和它们之间的相互关系。

材 料 与 方 法

实验用羽化后成熟的多音天蚕和柞蚕的雄蛾。在羽化前就将处于滞育状态的雌蛹和雄蛹分开,置于室温下(18—25℃)羽化。电生理记录常用羽化后第二天或第三天的蛾子。

用光学显微镜和扫描电镜(Zeiss Novascan 30)分别观察和测量触角、侧枝及毛形传感器的长度、数量及分布。

在离体触角的毛形传感器上进行单细胞记录(Kaissling 和 Thorson, 1980)。在雄蛾的触角上取下鞭节的一个突起(简称侧枝),将充满血淋巴生理溶液的玻璃微电极(尖端直径大约 30—40 μm)插入侧枝的基部,该电极既作为实验标本的支持物,又作为参考电极。在解剖镜下,用专门磨制过的镊子切断嗅毛数根,并在切断处敷以一薄层凡士林。用微操纵器仔细地将充满感受淋巴生理溶液的玻璃微电极(尖端直约 5—10 μm)套在被切断的嗅毛上。为了防止感受淋巴液从嗅毛的切断处溢出,在记录电极的尖端吸入少量的 PVP 溶液(每 5ml 的感受淋巴溶液中溶入 1g 聚乙烯吡咯烷酮)。

实验使用的性外激素组分 $\text{AC}_1(\text{E6}, \text{Z11-16:AC})$ 、 $\text{AC}_2(\text{E4}, \text{Z9-14:AC})$ 和 $\text{AL}(\text{E6}, \text{Z11-16:AL})$ 均为人工合成化合物。每种组分分别配制成每 10 μl 的正己烷溶剂内含有从 $10^{-4}\mu\text{g}$ 至 $10^{-1}\mu\text{g}$ 的系列浓度。分别取该系列样品溶液 10 μl 滴在 1cm^2 大小的滤纸片上。然后将滤纸片置入直径为 0.7cm, 长度为 5cm 的一端磨口的玻璃管内。这种装有外

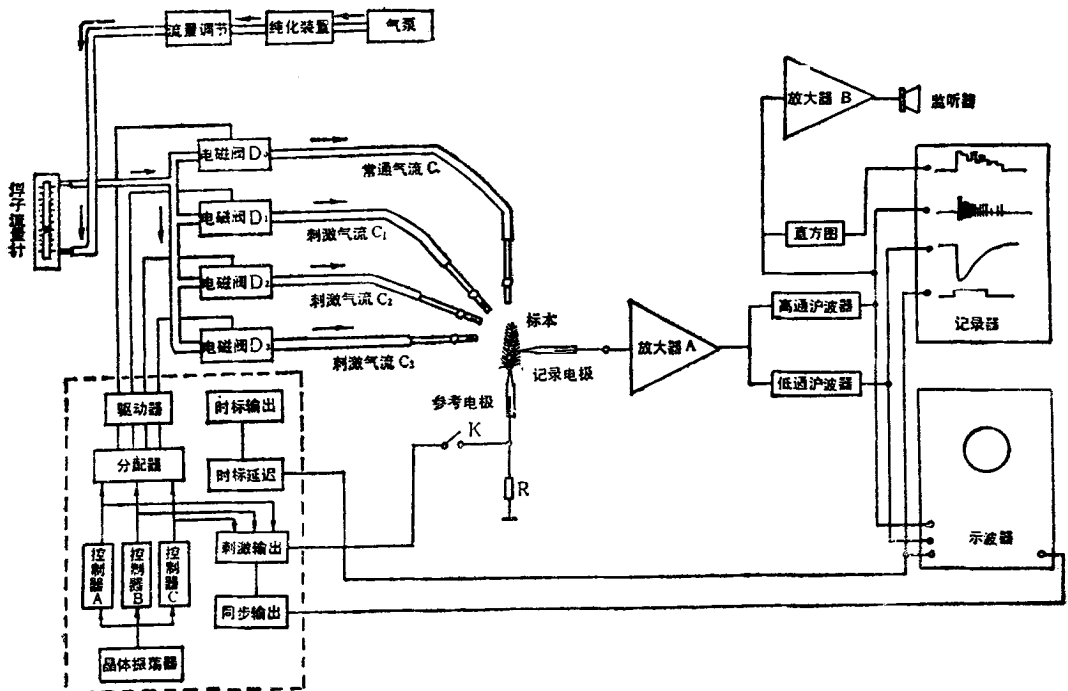


图 1 电生理实验框图

由气流分配器的 A、B 和 C 三个控制器的电磁阀 D_1 、 D_2 和 D_3 , 分别控制刺激气流 C_1 、 C_2 和 C_3 , 刺激时间、间隔和顺序由分配器预置。电磁阀 D_4 控制常通的清洁气流。

激素样品的玻璃管置于-20℃的冷藏箱内保存,可以长时间和多次使用。

刺激气流的时间、相互间隔和顺序由气流分配器控制。在未给予刺激气流时,电磁阀 D₀ 处于常开状态,连续不断地给实验标本吹过新鲜空气。一旦控制刺激气流的电磁阀 D₁、D₂ 或 D₃ 中的任意一个被打开时,电磁阀 D₀ 则关闭(图 1)。样品玻璃管的出口处距标本 5cm。气流速率为 100ml/s。

结 果

一、触角和毛形感器 多音天蚕和柞蚕的两种雄蛾触角形状基本相似,均为羽状,但大小不同。前者稍大,其外周面积平均为 105±22.6mm², 后者为 63.5±12.7mm² (表 1)。触角的鞭节分成若干亚节,每一亚节上向两侧对称地着有 4 个侧枝(图 2A 和 B)。多音

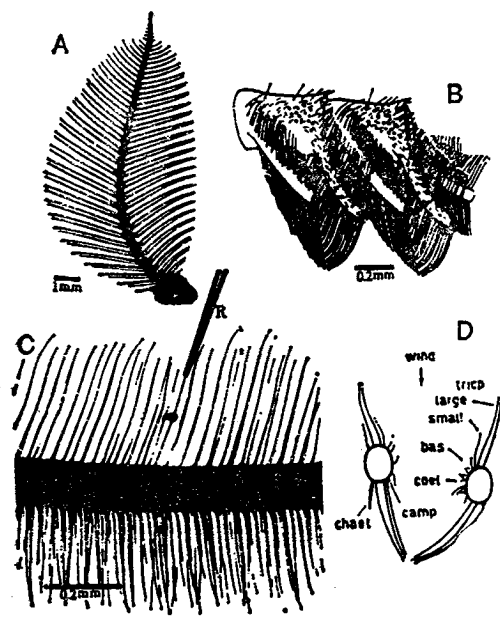


图 2 多音天蚕雄蛾的触角

A. 触角的鞭节分成约 30 个亚节,每个亚节对称地向两侧着有 4 个突起(侧枝)。B. 两个亚节的模式图,相邻的两个侧枝上的毛形感器排成漏斗状。C. 示电生理记录,玻璃微电极 R 套在已被切断顶端的毛形感器上面。D. 示相邻的两个侧枝的横断面,其断面上有各种感器: trich large 毛形感器(长毛); trich small 毛形感器(短毛);bas 锥形感器;coel 腔锥形感器;camp 钟形感器;chaet 刚毛;wind 示风的方向(引自 Kaissling, 1987)。

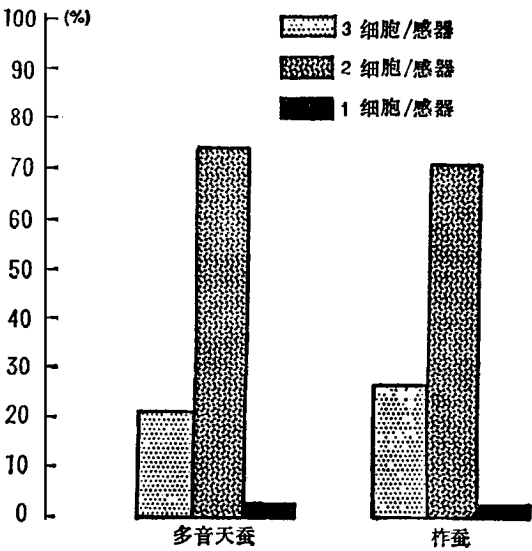


图 3 多音天蚕和柞蚕两种雄蛾触角毛形感器内含有感受细胞的分布。统计数据分别取自多音天蚕的 180 个毛形感器和柞蚕的 75 个毛形感器。细胞/感器: 每个毛形感器内的感受细胞数目

天蚕的每个触角上侧枝总长度平均为 412.8±55.4mm, 柞蚕为 243.3±36.1mm (表 1)。每一侧枝上密布着各种感器(图 2D), 其中只是分布在侧枝两侧的毛形感器为雄蛾的嗅觉器官,其它感器则分别感受机械、温度和湿度的刺激 (Kaissling, 1987)。

多音天蚕的每个触角上平均有毛形感器 59000 个, 柞蚕有 37000 个。毛形感器的长

表 1 多音天蚕和柞蚕雄蛾触角的外周面积和侧枝长度

触 角	外周面积/触角 (mm^2)		侧枝长度/触角 (mm)	
	多音天蚕	柞蚕	多音天蚕	柞蚕
1	150.0	71.5	530.0	268.7
2	102.5	71.3	413.7	264.2
3	100.5	74.7	411.0	290.6
4	96.3	57.8	376.0	224.4
5	91.3	53.7	372.5	211.6
6	89.1	46.2	371.3	200.5
平均	105.0 ± 22.6	63.5 ± 12.7	412.8 ± 55.4	243.3 ± 36.1

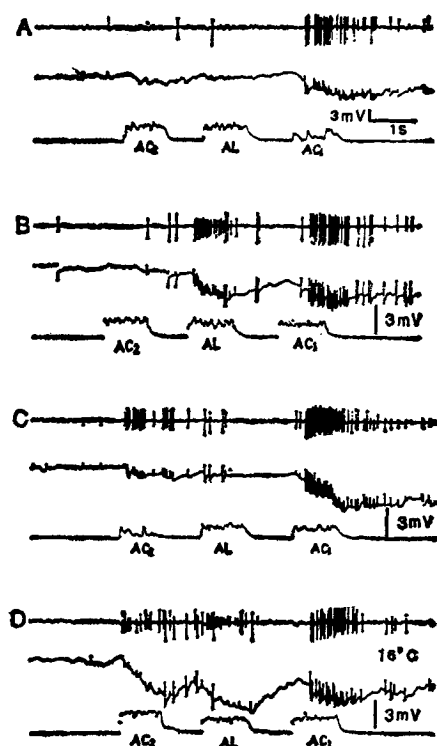


图 4 用三种不同的雌性外激素组分在多音天蚕雄蛾触角的单根毛形感器上记录到的感受细胞典型反应。A、B、C、D 分别为四个不同的毛形感器的记录。在每个记录中的上图为 AC 耦合，记录感受细胞的神经脉冲；下图是记录在被测标本附近的温度传感器的变化，以示刺激气流抵达标本的时间及间期。刺激物 AC_1 、 AC_2 、AL 分别为 E6, Z11-16:AC, E4, Z9-14:AC, E6, Z11-16:AL。刺激量皆为 $10^{-3} \mu\text{g}$ 。在 A 记录中，毛形感器内只含有一个感受细胞；B 和 C 记录中，毛形感器内含有两个感受细胞。D 记录的毛形感器内含有三个感受细胞。

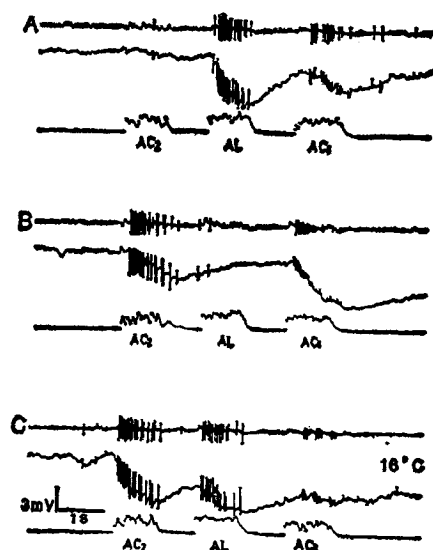


图 5 用三种不同的雌性外激素组分在柞蚕雄蛾触角的单根毛形感器上记录到的感受细胞的反应。

(说明见图 4)

度约为 160 至 360 μm , 顶端直径约为 3 至 6 μm 。本文中将长度小于 200 μm 的毛形感器称为短毛, 其余则称为长毛。根据蛾子趋向飞行时触角转动方位, 侧枝分为迎风侧和逆风侧。短毛的数量较少, 约占整个触角的毛形感器总数的 25%, 且绝大部分都分布在迎风侧(图 2C)。

二、嗅觉感受细胞对性外激素组分反应的特异性 多音天蚕和柞蚕的两种雄蛾触角的毛形感器内确实存在着三种嗅觉感受细胞(图 4 和 5)。本文的电生理测定结果也同样表明绝大多数的毛形感器内只含有两个感受细胞, 少数毛形感器有三个或只有一个感受细胞(图 3)。如毛形感器内有两个感受细胞, 主要是对 AC_1 和 AL 呈特异性反应的两种感受细胞, 前者称为 AC_1 -细胞, 后者称为 AL -细胞。

根据不同感受细胞所发放的神经冲动的幅度, 比较容易地区分开三种感受细胞的反应。在多音天蚕中, AC_1 -细胞发放幅度较大的神经冲动, AL -细胞和 AC_2 -细胞(对 E_4 , Z_9 -14: AC 反应敏感的细胞)产生幅度较小的神经冲动(图 4)。与在多音天蚕中看到情况相反, 柞蚕的 AC_1 -细胞发放的神经冲动的幅度较小, 而 AL -细胞和 AC_2 -细胞都发放较大幅度的神经冲动(图 5)。

两种蚕蛾的三种不同感受细胞对性外激素组分的剂量-反应曲线表明, 随着刺激浓度的增加, 感受细胞神经冲动的发放率也随之上升。在多音天蚕中, AC_1 -细胞最为敏感, 而在柞蚕中 AL -细胞最为敏感。在两种蚕蛾中, AC_2 -细胞的反应都较弱, 且易受到 AC_1 和 AL 的影响(图 6 和 7)。

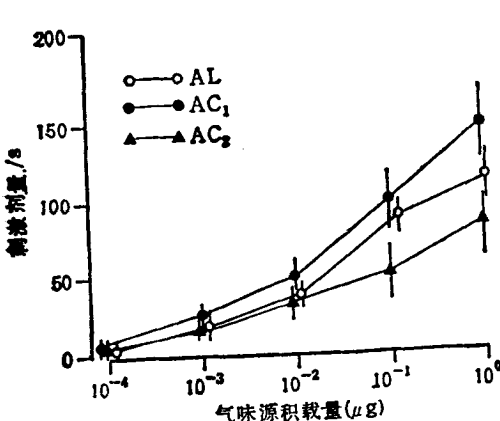


图6 多音天蚕的三种感受细胞剂量-反应曲线。统计数分别取自 20 个 AC_1 -细胞, 20 个 AL -细胞和 10 个 AC_2 -细胞。刺激剂量只表示在滤纸上的总样量, 并不表示化学气味物质实际到达毛形感器的数量

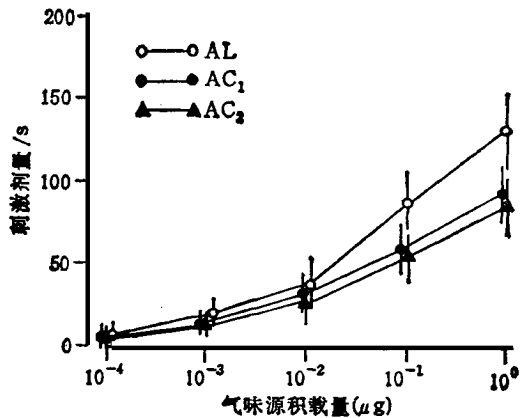


图7 柞蚕感受细胞的剂量-反应曲线。统计数分别取自 20 个 AC_1 -细胞, 20 个 AL -细胞和 9 个 AC_2 -细胞。其它见图 6 说明

三、嗅觉感受细胞的适应 当雄蛾的触角受到连续的或重复的性外激素组分刺激后, 引起感受细胞产生适应现象, 使它们对这些刺激物的反应减弱, 甚至消失。但在低浓度刺激下, 一旦刺激停止, 感受细胞将逐步去适应, 直至完全恢复反应。当把 AC_1 作为条件刺激(第一个刺激), AL 作为检测刺激(第二个刺激), 其结果表明, 无论两种刺激的间隔时间多少, AL -细胞对性外激素组分的反应, 不受条件刺激物 AC_1 的影响(图 8a 和 c)。同样把 AL 作为条件刺激, AC_1 作为检测刺激, AC_1 -细胞对性外激素组分的反应

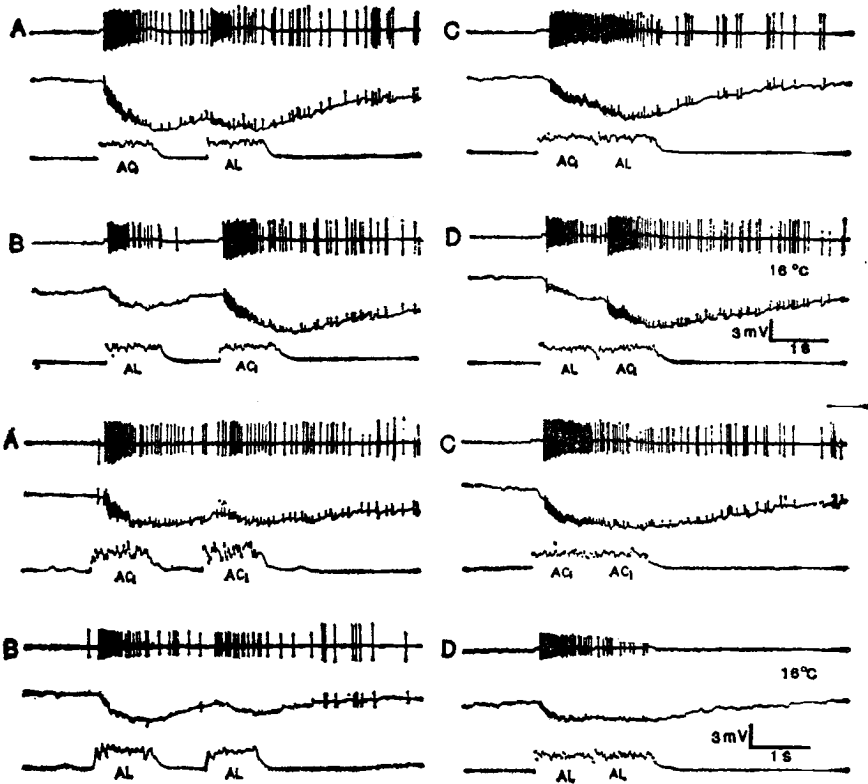


图8 多音天蚕的 AC_1 -细胞和 AL-细胞的适应性实验

条件刺激(第一个刺激)与检验刺激(第二个刺激)用不同的刺激气味物质。两个刺激的刺激时间分别为1秒。刺激间隔在A和B为1秒,在C和D为0秒。刺激剂量为 $10^{-3} \mu g$

图9 多音天蚕的 AC_1 -细胞和 AL-细胞的适应性实验。

条件刺激与检验刺激用相同的刺激气味物质。其它见图8说明

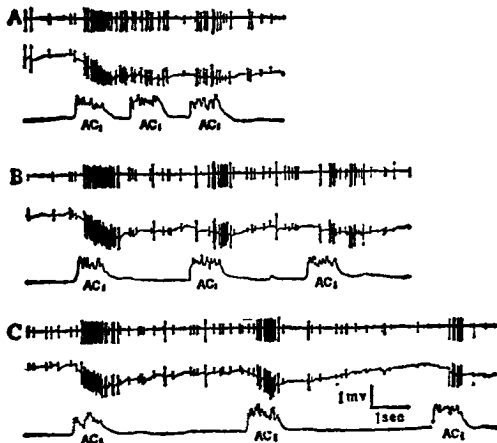


图10 多音天蚕的 AC_1 -细胞对 E6,Z11-16:AC 重复刺激的影响。刺激剂量为 $10^{-3} \mu g$

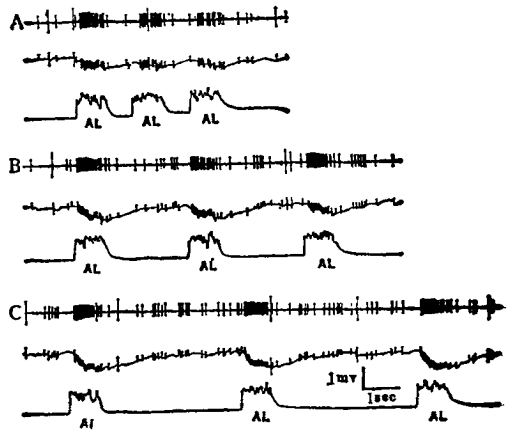


图11 多音天蚕的 AL-细胞对 E6,Z11-16:AC 重复刺激的影响。刺激剂量为 $10^{-3} \mu g$

也不受条件刺激物 AL 的影响(图 8b 和 d)。但是,如果用同一种刺激物分别作为条件

刺激和检测刺激,结果表明,无论 AC_1 -细胞(图 9a 和 c)或 AL-细胞(图 9b 和 d)都可以产生明显的自适应现象。

感受细胞受到同一化学气味物质多次重复刺激后,所形成的适应期间的长度取决于细胞类型和刺激的强度。不同感受细胞的去适应时间也不相同。在同等刺激强度的条件下,AL-细胞的恢复速度要比 AC_1 -细胞快一些(图 10 和 11)。

讨 论

家蚕雌蛾分泌的性外激素是由两种组分组成,即蚕蛾醇和蚕蛾醛。形态学观察和电生理记录结果表明,雄蛾触角的每个毛形感器内存在着两个感受细胞,它们伸向毛腔内的树突的外节的直径大小显著不同(Steinbrecht 等,1971)。两个感受细胞中的一个对蚕蛾醇反应敏感(醇细胞),另一个则对蚕蛾醛反应敏感(醛细胞)(Kaissling 等,1978)。前者发放的神经冲动的幅度较大,后者发放的神经冲动的幅度较小。如何从细胞的形态学上判断哪一个细胞发放大脉冲,哪一个细胞发放小脉冲尚有困难。曾有学者推测,树突外节直径大的感受细胞发放大脉冲,树突直径小的感受细胞发放小脉冲(Keil, 1984)。 AC_1 AL 和 AC_2 是多音天蚕和柞蚕共同具有的性外激素组分。与在家蚕中看到的情况类似,上述两种雄蛾的触角上也存在着与性外激素的每一组分相对应的感受细胞。在多音天蚕中的 AC_1 -细胞是雄蛾的触角上主要感受细胞;柞蚕中,AL-细胞则是雄蛾触角上主要的感受细胞。

由于鳞翅目蛾类的种间通讯大都利用多组分的化学气味分子,其中除主要组分,还有次要组分。在电生理实验中,如用单细胞记录,比较容易区别不同的感受细胞对性外激素组分反应的不同特征。通常每种感受细胞只对其相应的组分发生最大反应。通过对同一感器内感受细胞的反应特征的比较,如反应时程和模式、脉冲幅度的大小、多次自适应和互适应实验的比较等等,可以大致判断出感器内可能存在的感受细胞的种类和数目。但是,由电生理实验得到的结论并不一定都能同形态学观察相吻合。例如,由电生理的记录分析,柞色卷蛾 *Choristoneura fumiferana* 和茶小卷叶蛾 *Adoxophyes orana* 雄蛾触角的每个毛形感器内应各有 5 个不同的感受细胞(Priesner,1979; Priesner 和 Schroth,1983),小眼夜蛾 *Panolis flammea* 雄蛾触角的每个毛形感器内应有 4 个感受细胞(Priesner 和 Schroth, 1983)。但是从电子显微镜观察的结果表明,从未发现雄蛾触角的一个毛形感器内存在有超过三个感受细胞的(Den Otter 等,1978)。出现这种现象的原因,可能在于感受细胞对性外激素的反应特征不仅与细胞本身的生理功能和形态结构有关,还可能与这种感受细胞在触角上的位置有关[Hanson 等,1986]。

昆虫嗅觉感受细胞对性外激素反应的特异性,是用来说明感受细胞对某些化学气味物质具有较高的敏感性和选择性。但上述特性并不表示这类感受细胞只对性外激素组分发生反应,它也可能对这类组分的其它类似物发生反应。如柞蚕中的 AC_1 -细胞,不仅能对 AC_1 产生特异性反应,而且对它的类似物 Z11-16:AC 也能产生敏感的反应,诱发出小脉冲。但用后者作为刺激,要获得与用 AC_1 刺激的同等水平的反应,其刺激强度必须提高 1000 倍(Kaissling, 1977)。虽然嗅觉感受细胞由外界环境中所获的信息,必须经过中枢神经系统的分析和整合后才能影响昆虫的行为,但是通过调节或改变外周感受细胞

的兴奋模式,无疑会对昆虫的行为产生重要的影响。

参 考 文 献

- Bestmann, H. J., A. B. Attygalle, T. Brosche, J. Erler, H. Platz, J. Schwarz, O. Vostrowsky, C. H. Wu, K.-E. Kaissling & T. M. Chen 1987 Identification of three sex pheromone components of the female Saturniid moth *Antheraea pernyi*. *Z. Naturforsch* 42c: 631—6.
- Butenandt, A. 1963 A bombycol, the sex attractive substance of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Endoc.* 27: 9.
- Carde, R. T. & T. C. Baker 1984 In: Chemical Ecology of Insects, eds. W. J. Bell and R. T. Carde, London: Cheman & Hall.
- Den Otter, C. D., H. A. Sehuil & A. S. Osten 1978 Reception of hostplant odours and female sex pheromone in *Adoxophyes orana*: electrophysiology and morphology. *Entomol. Exp. Appl.* 24: 570—8.
- Gnatzy, W., W. Mohren & R. A. Steinbrecht 1984 Pheromone receptors of *Bombyx mori* and *Antheraea pernyi*. II Morphometric data. *Cell Tissue Res.* 235: 35—42.
- Hanson, B. S., E. Hallberg & C. Lofstedt 1986 Spatial arrangement of different type of pheromone-sensitive sensilla in male moth. *Naturwissenschaften* 73: 269—70.
- Kaissling, K.-E. & E. Priesner 1970 Die Riechschwelle des Seidens-pinner. *Naturwissenschaften* 57: 23—8.
- Kaissling, K.-E. 1977 Structures of odour molecules and multiple activities of receptor cells. In Int Symp. Olfaction and Taste VI, eds. J. Le Magnen, and P. MacLeod, pp. 9—16, London.
- Kaissling, K.-E., G. Kasang, H. J. Bestmann, W. Stransky & O. Vostrowsky 1978 A new pheromone of the silkworm moth *Bombyx mori*. Sensory pathway and behavioral effect. *Naturwissenschaften* 65: 382—4.
- Kaissling, K.-E. & J. Thorson 1980 Insect olfactory sensilla: structural, chemical and electrical aspects of the functional organization. In receptors for neurotransmitters, hormones and pheromones in insects, eds. D. B. Sattelle, L. M. Hall and J. G. Hildebrand, pp. 261—282, Amsterdam: Elsevier/North-Holland.
- Kaissling, K.-E. 1987 R. H. Wright Lectures on insect olfaction. K. Colbow (ed) Simon Fraser University, Brunaby, BC, Canada.
- Keil, T. A. 1984 Reconstruction and morphometry of silkworm olfactory hairs: a comparative study of sensilla trichodea on the antennae of male *Antheraea polyphemus* and *Antheraea pernyi*. *Zoomorphology* 104: 147—56.
- Kochansky, J., E. F. Taschenberg, R. T. Carde, K.-E. Kaissling, & W. Roelofs 1975 Sex pheromone of the moth *Antheraea polyphemus*. *J. Insect Physiol.* 21: 1977—83.
- Priesner, E. 1979 Specificity studies on pheromone receptors of noctuid and tortricid Lepidoptera. In Chemical Entomology: Odor Communication in Animals (F. J. Ritter ed.), pp. 57—71, Elsevier/North-Holland Amsterdam.
- Priesner, E. & M. Schroth 1983 Supplementary data on the sex attractant system of *Panolis flammea*. *Z. Naturforsch* 38C: 870—3.
- Silverstein, R. M. & J. C. Young 1976 Insects generally use multicomponent pheromones. In Pest management with insect sex attractants and other behavior-controlling chemicals (M. Beroza, ed.), pp. 1—29, Am Chem Soc., Washington D. C.
- Steinbrecht, R. A. & B. Müller 1971 On the stimulus conducting structures in insect olfactory receptors. *Z. Zellforsch.* 117: 570—5.

SPECIFICITIES OF RESPONSE TO SEX PHEROMONE COMPONENTS OF OLFACTORY RECEPTOR CELLS IN *ANTHERAEA* *POLYPHEMUS* AND *ANTHERAEA PERNYI*

MENG LIAN-ZHONG

(Department of Biology, Peking University, Beijing 100871)

K. E. KAISLING

(Max-Planck Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen D-8130, Germany)

The number, shape and distribution of sensilla trichodea on the antennae of male silkworm moths *Antheraea polyphemus* and *A. pernyi* were observed and their quantitative difference was measured. The specificities of response to the components of sex pheromones of olfactory cells were investigated by single cell recording. The result indicated that there were 1 to 3 receptor cells in each olfactory sensillum on the antennae of male moths and they could be nominated as the AC_1 -cell, AC_2 -cell and AL-cell respectively. It was shown that each type of the receptor cells was highly specialized to one kind of the the components of the sex pheromones and there was certain difference in the response specific to the insect species.

Key words *Antheraea polyphemus*—*Antheraea pernyi*—sex pheromone—single cell recording