

虾类的嗅觉系统*

OLFACTION IN CRUSTACEAN

项 辉

(中山大学生命科学院 广州 510275)

嗅觉系统在大多数动物的生存和繁殖中起着重要作用。在陆生昆虫及一些水生生物中,性外激素有助于配偶的定位寻找,聚集素便于同种的集合,产卵激素诱导或中止动物的产卵,植物的挥发性物质有助于动物对食物的发现,等等。所有这些相互作用都有赖于嗅觉系统。由于生存环境的差别,不同动物嗅刺激物质是不同的。对水生动物来说,嗅觉的刺激物一般能溶于水,如酸和蛋白质之类;对陆生动物来说,可能是脂溶性的或水溶性的。由于嗅觉在摄食、交配及社会行为等多方面起着重要作用,研究嗅觉机理对了解这些行为是至关重要的。目前嗅觉的研究在哺乳动物、陆生昆虫、甲壳动物及鱼类报道较多,在此作者主要综述水生动物虾类嗅觉的研究进展并相应介绍所涉及的有关内容。

1 嗅觉系统的结构组成

据 Hansson 1995 年报道,无脊椎动物中无论是虾还是昆虫,其附肢触角是主要的嗅器,在昆虫成虫触角上有约 100 000 个感器,每个感器含有许多嗅感受器细胞。其树突伸到感器角质部分的腔中,被感器淋巴包围,对嗅分子(如性外激素)起反应,其轴突汇集集成触角神经投射到嗅初级处理中枢——中脑的触角叶 (AnL)。许多种昆虫和虾类(如龙虾 *Panulirus argus*)嗅中脑是嗅觉研究的动物模型。

1.1 虾类中脑的形态结构

据 Schmidt 等 1997 年和 Langworthy 等 1997 年报道,龙虾中脑由 4 个成对部分组成:大的嗅叶 (OL) 1 对和附叶 (AL) 1 对,相对小的嗅球束 (OGT) 1 对和中脑连合 (DCN) 1 对。OL 和 AL 都是球状神经网络。OL 有大约 1 100 个柱状小球,分成 3 层。AL 的小球较小,呈球状,约有 40 000 个,组成 AL 的 3 层,围绕在锥形纤维束的周围。OGT 是个很松散无定形结构的神经网络。DCN 的神经纤维网较致密可分成两个小的叶。3 个纤维束把这些神经纤维网联系在一起并与其他脑区相连:嗅球束包含从嗅中脑到侧前脑的上行投射纤

维; DCN 的连合纤维; 联络同侧 OL 和 AL 的 OL-AL 束。嗅中脑神经元组成两大成对的丛:外侧细胞丛含 200 000 上行投射神经元的胞体,内侧细胞丛含约 100 000 个局部中间神经元的胞体。

1.2 虾类中脑神经元

Mellon 1997 年报道,龙虾中脑主要含 4 种神经元:(1)嗅感受器神经元 (ORN) 感受嗅或机械刺激,传入纤维终止于 OL 的嗅球。(2)上行投射神经元 (PN),其树突在 OL 和 AL 内分支。(3)几种类型的局部中间神经元 (LN),其突起局限于 OL 和/或 AL。(4)来源于前脑的下行神经元,特异性支配嗅中脑的胞体丛。节肢动物嗅中脑主要的输出是中脑上行投射神经元。上行投射神经元轴突沿着 OGT,终止在昆虫前脑蘑菇体,或是甲壳纲的半椭圆体^[8]。十足类甲壳动物的嗅感受器细胞在两对头肢的第一对上,第二对可能起机械感受作用。近年研究表明每个 ORN 的嗅分子受体类型有所不同,其轴突投射到相对独特的嗅球。故某个嗅球与其他嗅球在功能上是不同的。Schmidt 1996 年报道龙虾 PN 的树突伸入到很多嗅球中,其轴突投射到脑的两侧。这种模式与昆虫的组织有所不同,Hanna Mustaparta 1996 年报道昆虫中脑的 PN 总是同侧投射,并仅在单个或少数嗅球中有树突分支。尽管有这些差别,Friedrich 1995 年报道 18SrRNA 分析的多基因研究或发育特征结果表明甲壳纲比其他无脊椎动物与昆虫更接近。

2 嗅识别及转导的分子生物学

2.1 嗅识别的机理

环境中总是有许多分子在不断地冲击动物的触角,有些分子是与行为相关的,在触角上进化了检测

* 广东省自然科学基金资助项目 984129 号

作者:项辉,出生于 1966 年,博士,副教授,研究方向:神经生物学。E-mail:lssxh@zsu.edu.cn

收稿日期:2000-10-24;修回日期:2001-04-16

这些分子的感受器。当嗅分子接触到感器,它被吸附在表面,并被还未知的机制传递到感器孔。穿过感器孔,嗅分子到达充满淋巴液的感器腔。Padó Pelósi 1996 年报道淋巴液的主要成分是气味物质结合蛋白(OBPs),不同的 OBPs 可能专一性地结合不同结构类型的气味物质,OBPs 的功能还不是很清楚,可能有利于浓缩粘液中的气味物质,把它们转送到与之同源的受体;或通过清除气味物质,快速恢复和更新嗅觉敏感性。OBPs 浓度很高,在昆虫中鉴定了两类主要的 OBPs,据 Vogt 等 1991 年报道,一种是外激素结合蛋白(PBP),另一种是一般嗅分子的结合蛋白(GOBP)。据 Hildebrand 等 1997 年报道,昆虫 GOBPs 和 PBPs 主要是螺旋蛋白,有相对狭窄的配体专一性。关于其功能有 3 个方面的假说:(1) PBP 可以与外激素结合快速失活刺激过程,PBP-外激素复合体可充当传感器酶的底物而起失活激素的作用。(2) 高浓度 PBPs 及对外激素的高亲和力表明 PBPs 参与溶解疏水性分子并把它们传到感受器位点,引起感觉。(3) PBP 也许在传递外激素和失活外激素两方面都是有效的。

2.2 感受器电位的产生

用基因克隆技术能够分离出嗅分子受体(OR)基因。Kerry 1994 年报道,在包括人在内的哺乳动物的 DNA,大约有 1 000 个基因编码,1 000 个不同的嗅分子受体,OR 被表达在成千个 ORN 内。OR 属于 G 蛋白偶联受体,有 7 个作为跨膜 α 螺旋的疏水区域。Buck 1996 年认为气味物质与 OR 的结合似乎通过两种第二信使途径产生感受器电位:多数物质刺激嗅纤毛上 OR 的腺苷酸环化酶 III 型,引起 cAMP 的增加,激活环核苷酸门控离子通道,诱发感受器电位;其他物质刺激磷脂酶 C,可能通过三磷酸肌醇途径,诱发感受器电位。感受器电位诱发产生动作电位还了解不多。ORN 对气味物质反应的时间性差异(如延迟和潜伏期)可能与气味的编码有联系。Ache 1995 报道,在龙虾中,嗅分子与 ORN 上某类嗅分子受体结合升高 IP₃,导致质膜阳离子通道激活而兴奋感受器细胞;当嗅物质与某类嗅分子受体使 cAMP 增加,则激活外向 K⁺ 电流而产生与兴奋相对活动。两种第二信使途径存在于同一 ORN 中介导相对的电导,这表明嗅系统可编码二维信息。

3 嗅觉反应的外周神经机制

动物嗅系统感觉到的气味物质通常都是混合物,由各种不同的组分(单一化合物)以不同的比例组合刺激嗅系统,形成了不同的嗅感觉。嗅混合物的性质在于每个组分的特性和组分比率。Hansson 1995 年

报道,在一些蛾中,外激素各成分正常比例的轻微变化可能彻底搞乱生理和行为反应。食植物昆虫有着检测短脂肪链醇类、醛类和乙酸类物质的感受器,这些物质组成了绿叶气味分子的重要部分。在水生环境中,氨基酸类、四胺类、核苷类和有机酸类是鱼和无脊椎动物常见的食物刺激剂,据 Steullet 等 1997 年报道,腐肉中氨基酸对氨的比例随着时间的增加会降低,这似乎成了甲壳动物评估食物质量的标准。中枢神经系统(CNS)通过对外周嗅系统传入的信息进行整合决定气味的性质,并导致相应的行为。在甲壳动物中,一般认为 ORN 有不同的反应方式,但这些感觉细胞的空间分布和至 CNS 的投射模式还不清楚。

3.1 感受器上的嗅分子受体

为了解细胞怎样编码混合物的性质,了解混合物中每个组分的作用模式是必要的。如果所有单一组分通过同样的嗅分子受体起作用,细胞对混合物的反应是单一组分间竞争作用的精确模拟。如果每种组分作用于不同的受体,混合物的作用就不完全依赖单一组分的效果。所以,了解混合物编码首先要了解单个嗅感受器神经元是否表达一种或几种嗅分子受体类型。很多嗅细胞,尤其对非信息素刺激有反应的细胞,能对包含多种组分的化合物有反应,这可能提示每种感受器神经元有不只一种嗅分子受体,这样化合物效用的差别也可归于不同的树突或受体不同的亲和力。分子生物学研究表明,脊椎动物单个嗅神经元表达一种或有限几种嗅分子受体,但这些受体的结合特性和功能表述还不清楚。Kang 等 1997 年报道,生理学和生化研究也表明单个感受器神经元有不只一种嗅分子受体。Sengupta 1996 年报道,在一个细胞中的多个受体可能有两种相对的转导途径(如兴奋和抑制),如龙虾、鱿鱼、蟾蜍等。Dionne 1994 年提出在线虫 *Caenorhabditis elegans* 的化学感觉神经元上也有多种类型的受体存在。这样,“多种不同类型的受体被功能表达在单个嗅神经元上”这个观点对我们了解嗅编码是很重要的,而且这个问题在很多嗅神经元和嗅觉系统中都还没有解决。

3.2 外周神经系统对混合物的编码

嗅神经对混合物的编码第一步应是对混合物气味性质的编码。嗅神经元对混合物性质的编码对了解动物怎样识别自然界化学信号是很重要的。混合物的特性首先由专一对某种组分起反应的 ORN 的活动来编码。Cromarty 等 1997 年报道,ORN 对混合物反应的强度依赖于 ORN 的转导途径,包括受体蛋白,第二信使系统和离子通道。对很多种类的 ORN 来说,对混合物的反应强度是:(1) 常很少根据对混合物中单个成

分的反应来预测对混合物的反应；(2) 常少于对单个成分反应的总和；(3) 常少于对最有效成分的反应。如果了解混合物的每种组分对细胞转导途径的影响，反应是可以很好预测的。这包括不仅知道每种组分的单独作用，也知道当各种组分一起存在时，组分之间对转导的相互调节。

混合物对感受器细胞的作用会产生比混合物中各单个组分所起作用的期望值降低或增强的效果。对混合物反应小于从模型得到的希望值，为混合物抑制；反应大于者为混合物增强。嗅混合物相互作用在甲壳类、昆虫和哺乳动物均有报道。在龙虾外周嗅系统中混合物相互作用多数是抑制作用，但也有增强的报道。混合物的相互作用强度和趋势依赖于混合物中各种组分的比例。混合物抑制的机制可能包括混合物中各种组分激活相对的离子通道，或组分直接与离子通道结合抑制了其他组分的激活。也可能是抑制结合相互作用，即某些组分抑制了其他组分与受体位点的结合。这种抑制结合相互作用可以是竞争性的，各组

分可以竞争激活受体或不激活受体。抑制结合相互作用也可以是非竞争的，各组分与受体分子不同的位点结合，但仍然有相互间与位点结合的同分异构抑制。

混合物反应模式有两种常用模型^[2]。一类是竞争模型，假定每种单一成分与相同的感受器结合，激活相同的转导过程。另一类模型是假定单一成分有着独立的作用，与不同的感受器相互作用，转导因素也不同。现也有包含两种情况的复杂模型应用，这就是由抑制结合相互作用修正的非竞争模型 NCBI 来精确预测。实验结果与模型的拟合在于揭示 ORN 上是否存在多种嗅分子受体及多种不同的转导途径；在于揭示各组分是否作用于不同的 ORN 上，并探讨组分间最合适比例的嗅混合物。

4 中枢机制

作为嗅信息的初级处理中枢，在大多数动物中是一种球状结构，在昆虫和甲壳纲动物通常称触角叶 (AnL)；而在哺乳动物通常叫嗅球。无论是无脊椎动

表 1 一些动物中嗅系统嗅球及神经元的数量

种 类	ORNs	嗅球	LN _s	PN _s
<i>Manduca sexta</i> , male	300 000	66	360	900
<i>Periplaneta americana</i> , male	200 000	125	300	700
<i>Drosophila melanogaster</i>	1 200	43	-	200
<i>Locusta migratoria</i>	106 000		300	700
<i>Schistocerca</i> sp.		1 000		830
<i>Apis mellifera</i> , 工蜂	65 000	166		
<i>Apis mellifera</i> 雄蜂	3 000	107	750	1 000
<i>Panulirus argus</i> 龙虾	350 000	1 100	100 000	200 000
大鼠	8 300 000	3 000	3 100 000	230 000

注：“-”为未计数。

物或是脊椎动物，其嗅初级处理中枢都由有大量的似球形的致密神经网络组成，每个致密神经网络称嗅球^[7]。嗅球数量与动物种类有关(表 1)。各种神经元之间在嗅球中相互形成突触。

在许多用性外激素通讯的昆虫中，研究发现嗅球有性二态^[6]。鳞翅目、网翅目、膜翅目雄性昆虫 AL 有一个或几个大的嗅球，在蛾和蜜蜂这些大的嗅球形成大嗅球复合体(MGC)，在樟螂叫大嗅球(MG)。同种雌性昆虫中没有 MGC 或 MG。MGC 或 MG 专一性接受来自性外激素敏感 ORN 的传入。在大量研究的种类中^[4]，

性外激素特异性 ORN 或多或少存在某种嗅拓扑投射模式。MGC 中每个嗅球接受一种类型的 ORN 传入。嗅球可能是某类感受器神经专一性的投射站，因此表现出嗅特异性。传入的信息经与 LN 或 PN 形成突触而向高级传递。LN_s 在大多数 AL 的嗅球中有分支，因此此神经元很少有专一性神经支配模式，它们能把传入的信息分散到整个 AL。而 PN_s 通常只在单一嗅球中有树突分支，可与同一嗅球相关的专一性 ORN 进行比较。Hansson 1992 年报道，性外激素有多种成分组成，在触角上有某类成分的专一性 ORN，投射到 AL

中专一性的嗅球,再由专一性的 PN 向更高级中枢传递对某类成分反应的信息。PNs 的神经支配模式目前在很多种类动物中正进行研究, MGC 的 PN 神经支配模式第一个详细研究是在 *M. sexta* 中进行的^[1],对相同性外激素成分反应的 PNs 总是在相同的 MGC 嗅球形成神经分支,缺陷是没有相关的性外激素专一性 ORN 精确投射模式。许多研究者企图比较 PN 的树突神经支配模式和 ORN 投射模式,但结果不尽一致。

PNs 为 γ 氨基丁酸 (GABA) 能的神经元。Laurent 1997 年报道,在一些昆虫的 AL, GABA 中可引导出抑制反应。PNs 对嗅物质的反应不仅与嗅物质的性质有关,也与嗅物质刺激的时相模式有关;GABA 及 GABA 激动剂和拮抗剂会影响到 PNs 的反应模式。

总之,在 AnL 或 OL 中,嗅球是一种嗅觉功能单位,不同的小球可能是由不同的气味激活。小球的位置是固定的,确保一定的气味在同种类动物大脑引出同样的活动模式^[5]。发自小球的信号被传送到嗅皮层,在那里加工处理,识别气味。嗅觉识别是一种时空识别模式,嗅球内神经元放电活动呈现一种时间上独特的、空间上分布的反应模式,以此形成不同的编码,产生嗅觉。

5 研究意义

虾产品目前是世界水产品中最重要、最受欢迎的一项产品。在世界范围内,虾的养殖是广泛的;我国是当今世界上产量最高的养虾大国。1998 年,我国的对虾养殖生产取得了较好的收成,养殖总产量达 143 086 t,广东省 44 767 t。1999 年,全国的对虾养殖生产继续向着多模式、多品种的方向发展,单产和效益水平比以往都有所提高。随着对虾养殖的发展,科学技术的应用将越来越重要。对虾病害防治、高效饲料研制、养殖环境的保护等重大问题都需要科学指导。

为了解水生动物在水环境中的状态和作用,掌握水生动物所处的水化学环境对动物生理和行为方面的影响是必要的。专一性化学信号的功能在一个管理的生物系统(如水产养殖池或养殖箱)中是很重要的,这个系统的最优化有助于某种水生种类的生产,因为这些化学信号可调节食物行为,也可能控制个体的繁殖。通过电生理学、嗅分子与嗅受体结合及行为学等的综合研究,对水生动物虾类的嗅觉系统已经有了初步的了解。如龙虾 *Panulirus argus*, 现已知道,在其触角上有对一磷酸腺苷、三甲基甘氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、氯化铵、牛磺酸、琥珀酸酯等物质反应的感受器,这些物质的存在及其比例会直接影响到虾的摄食行为^[3]。在水产养殖中饲料是重要的费用,化学引诱剂或称饲料刺激剂在改善适口性和全饲料配方,减少饲料浪费等方面的重要性是公认的。虾类饲

料引诱剂或刺激剂统称为 ASIE 物质,是 Attractants, Stimulants, Incitants, Excitants 的首字母缩写,近 15 年美国有此方面专利约 10 条。应该说,这都是水生动物嗅觉研究成果的应用。

参考文献

- Christensen T. A., Waldrop B. R. and 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. of Neuroscience*, 1998, 18(15): 5999 ~ 6008
- Cromarty S. I., Derby C. D. . Inhibitory receptor binding events among the components of complex mixtures contribute to mixture suppression in responses of olfactory receptor neurons of spiny lobsters, *J. Comp. Physiol.*, 1998, 183: 699 ~ 707
- Derby C. D. . Learning from spiny lobster about chemosensory coding of mixtures, *Physiology and Behavior*, 2000, 69: 203 ~ 209
- Hansson B. S. and Anton S. . Function and morphology of the antennal lobe: new developments, *Annu. Rev. Entomol.*, 2000, 45: 203 ~ 231
- Kensaku M., Hiroshi N., Yoshihiro Y. . The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information, *Science*, 1999, 286: 711 ~ 715
- Lei H. and Hansson B. S. . Central processing of pulsed pheromone signals by antennal lobe neurons in the male moth *Agrotis segetum*, *J. neurophysiol.*, 1999, 81: 1113 ~ 1122
- Lessing D., Carlson J. R. . Chemosensory behavior: the path from stimulus to response, *Current Opinion in Neurobiology*, 1999, 9: 766 ~ 771
- Strausfeld N.J. and Hildebrand J. G. . Olfactory systems: common design, uncommon origins?, *Current Opinion in Neurobiology*, 1999, 9: 634 ~ 639

辅助参考文献

- Ache B. W., Aslbek Z. . Dual second messenger pathways in olfactory transduction, *Current opinion in neurobiology*, 1995, 5: 461 ~ 466
- Cromarty S. I., Derby C. D. . Multiple excitatory receptor types on individual olfactory neurons: implications for coding of mixtures in the spiny lobster, *J. comp. Physiol.*, 1997, 180: 481 ~ 491
- Friedrich M., Tautz D: Ribosomal DNA phylogeny of the major extant arthropod classes and the evolution of myriapods, *Nature*, 1995, 376: 165 ~ 167
- Hansson B. S., Ljungberg H., Hallberg E. Letd. . Functional specialization of olfactory glomeruli in a moth, *Science*, 1992, 256: 1313 ~ 1315
- Hanna M. . Central mechanisms of pheromone information processing, *Chem. Senses*, 1996, 21: 269 ~ 275
- Hansson B. S. . Olfaction in lepidoptera, *Experientia*, 1995, 51: 1003 ~ 1027

- Hildebrand J. G., Shepherd G. M. . Mechanism of olfactory discrimination: Converging evidence for common principles across phyla, *Ann. Rev. Neurosci.*, 1997, 20: 595 ~ 631
- Kang J., Caprio J. . In vivo responses of single olfactory receptor neurons of channel catfish to binary mixtures of amino acids, *J. Neurophysiol.*, 1997, 77: 1 ~ 8
- Kerry J., Ressler, Susan L., Sullivan, Linda, B. Buck. A molecular dissection of spatial patterning in the olfactory system, *Current Opinion in the Neurobiology*, 1994, 4: 588 ~ 596
- Langworthy L. *et al.* . Amines and peptides in the brain of the American lobster: immunocytochemical localization patterns and implications for brain function, *Cell tissue Res.*, 1997, 288: 191 ~ 206
- Laurent G. . Olfactory processing: maps, time and codes, *Current Opinion in Neurobiology*, 1997, 7: 547 ~ 553
- Mellon Jr. D. F. and Alones V. E. . Response properties of higher level neurons in the central olfactory pathway of the crayfish, *J. Comp. Physiol.*, 1997, 181: 205 ~ 216
- Schmidt M., Ache B. W. . Immunocytochemical analysis of glomerular regionalization and neuronal diversity in the olfactory deutocerebrum of the spiny lobster, *Cell Tissue Res.*, 1997, 287: 541 ~ 563
- Sengupta P., Chou J. H. . Bargmann C1 odr - 10 encodes a seven transmembrane domain olfactory receptor required for responses to the odorant diacetyl, *Cell*, 1996, 84: 899 ~ 909
- Steuillet P., Derby C. D. . Coding of blend ratios of binary mixtures by olfactory neurons in the Florida spiny lobster, *Panulirus argus*, *J. Comp. Physiol.*, 1997, 180: 123 ~ 135
- Paolo P. . Receptor events in olfaction, *J. of Neurobiology*, 1996, 30(1): 3 ~ 19
- Vogt R. G., Rybczynski R., Lerner M. R. . Molecular cloning and sequencing of general odorant binding proteins GOBP1 and GOBP2 from the tobacco hawk moth *Manduca sexta* - comparisons with other insect OBPs and their signal peptides, *J. Neurosci.*, 1991, 11: 2972 ~ 2984

(本文编辑 : 刘珊珊)