

■ 昆虫触角电位（行为）测量专题

- 昆虫触角电位的基本理论
- 昆虫触角电位图仪的原理
- 昆虫研究相关仪器设备
- 昆虫仪器设备的应用

■ 前言

在自然界里，随着新物种的发现，昆虫家庭日趋庞大，已占到动物物种的 2/3 以上。昆虫在亿万年的进化过程中具备了自己独特的适应环境的能力。择食、取食、觅偶、交配、繁殖、栖息、防御、迁移等等，这些适应性行为比其他动物更依赖于环境化学、物理因子的调节，昆虫触角是接受外来化学信号的主要器官。随着分子生物学的崛起，利用昆虫自身的生理生化微观特性探索其宏观行为的奥妙，已作为害虫防治中的新方向，其中触角感器的研究倍受重视，而且已取得显著进展。

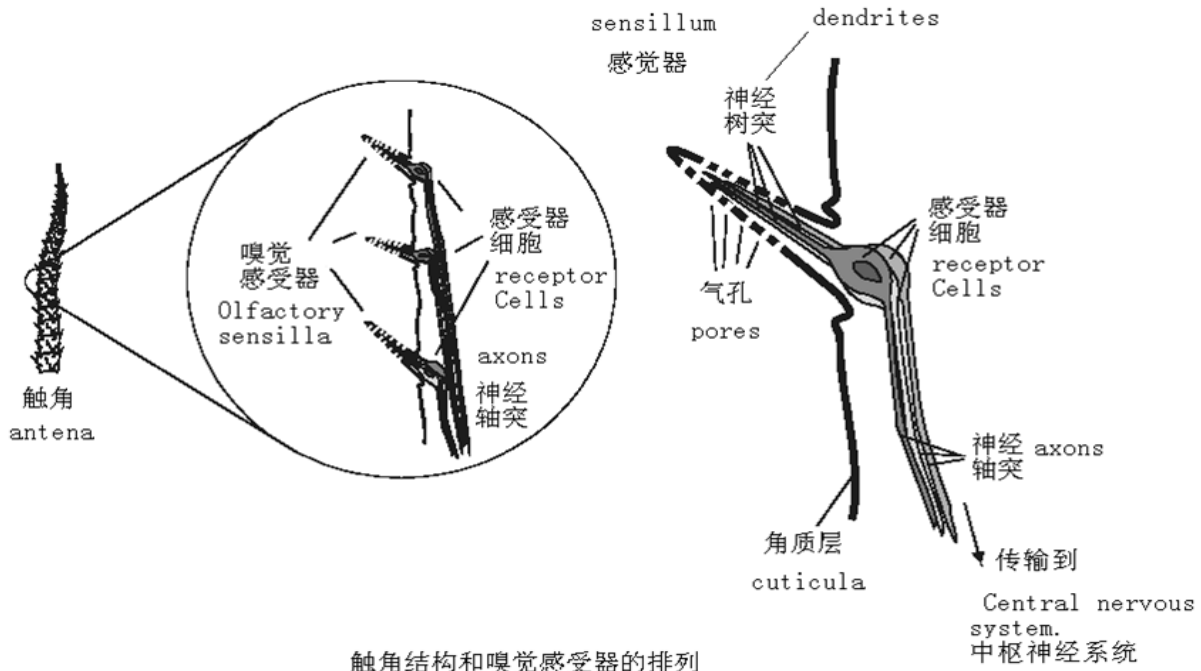
在快速检测触角对气味的反应活性和敏感性方面，触角电位图 (Electroantennogram, EAG) 是个非常重要的生物测定方法。EAG 技术自 1957 被 Schneider 发明以来，由于它具有很高的敏感性和选择性，被广泛地应用于昆虫嗅觉研究中，成为昆虫信息素及其它挥发性信息化合物生物测定非常得力的工具之一。

SYNTECH 公司由 EAG 发明人 Schneider 于 1971 年创立，40 年来一直致力于昆虫对嗅觉及味觉的敏感性研究，主要科研设备有昆虫触角电位 (EAG)、单细胞触角电位 (SSR)、昆虫味觉系统 (TasteProbe)、触角电位 - 气相色谱连用 (GC-EAD) 以及昆虫轨迹球 (Locomotion Compensation)。我公司作为 SYNTECH 中国唯一官方许可的销售及技术服务中心，将为广大昆虫及植保研究者提供更好的设备及技术服务。



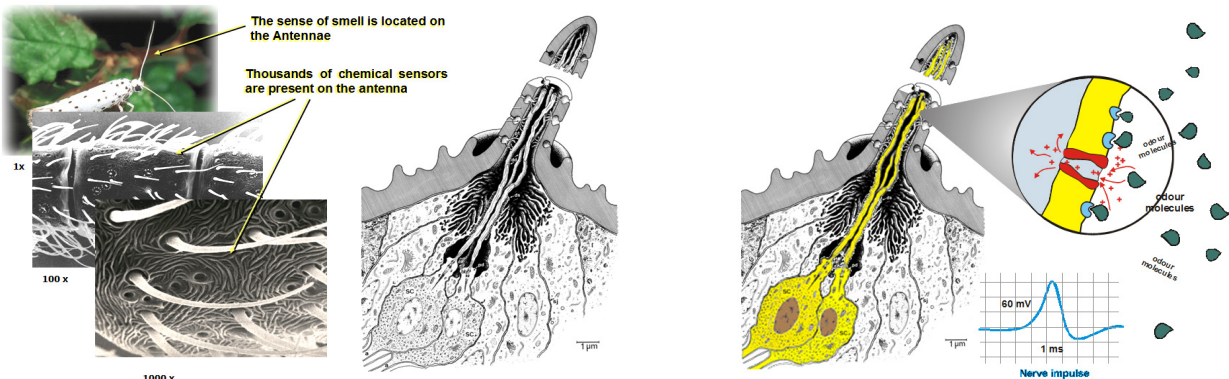
昆虫触角电位的基本理论

昆虫通常总是在左右上下不停地摆动触角，好像两根天线或雷达时刻在接受电波和追踪目标。因为触角上有许多感觉器和嗅觉器，与触角窝内的许多感觉神经末梢相连，又直接与中枢神经连网，非常灵敏，既能感触物体、感觉气流，又能嗅到各种气味，甚至是远距离散发出来的。



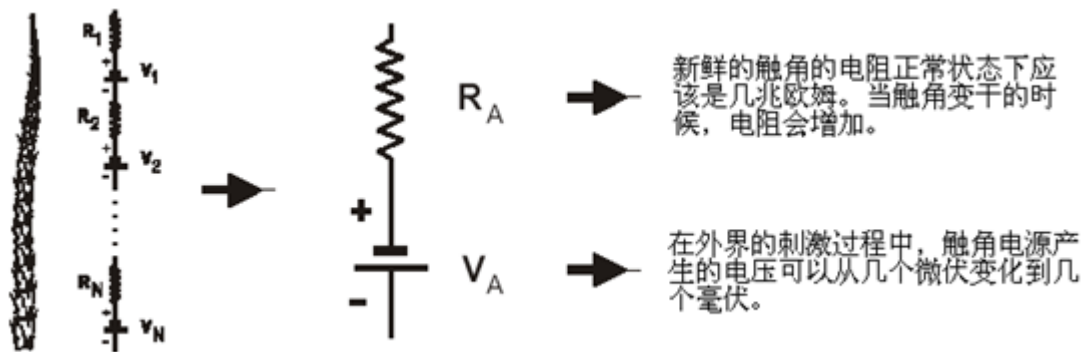
当受到外界刺激后，中枢神经便可支配昆虫进行各种活动。如二化螟的触角，可凭借水稻的气味刺激寻找到它的食物水稻，菜粉蝶的触角可根据接受到的芥子油气味很快发现它的食物十字花科植物。嗅觉最灵敏的是印第安月亮蛾，能从11千米以外的地方察觉到配偶的性外激素。有些姬蜂的触角可凭借害虫体上散发出的微弱红外线，准确无误地搜寻到躲在作物或树木茎杆中的寄主。

对于某些昆虫，触角还有其他作用。例如水生的仰泳在仰泳时，将触角展开有平衡身体的作用；水龟虫用触角帮助呼吸；萤火虫的幼虫用触角捕捉猎物；芫菁的雄虫在交配时用触角来抱握雌虫的身体；云斑鳃金龟的雄虫用触角发声，像蟋蟀一样，用于招引雌虫。





昆虫触角上存在丰富多样的化学传感器，特别是毛形传感器和锥形传感器，主要感受环境中的化学气味。气味通过传感器上的微孔进入传感器淋巴液中，与淋巴液内的气味结合蛋白 (OBP) 相结合，形成气味—OBP 复合物，复合物再与感受细胞的树突膜相互作用，产生动作电位。动作电位信号通过轴突传入昆虫中枢神经系统，引起昆虫的行为反应。触角上的每个感受细胞可以被看作一个电源和一个电阻，一般电源电压非常微弱，几个微伏 (V) 到几个毫伏 (mV)，而电阻很大，有几兆欧 ($M\Omega$)，而且这个阻值会在试验中随着触角慢慢干燥而增大。触角基部和端部之间有很多这样的感受细胞，蛾类昆虫的每根触角上就有约 55000 个这种细胞。当受到活性气味化合物刺激时，大量的感受细胞会产生相应的电生理反应，从而在触角基部和端部记录，可得到一个总的电位变化，这就是所谓的触角电位图。这个电位的变化幅度与化合物的种类和浓度相关 (赵新成等, 2004)。



■ 昆虫触角电位图原理 (EAG)

触角电位图仪 (Electroantennography, 以下简称 EAG) 作为一种生物鉴定仪器被广泛的使用在试验昆虫学方面，它主要用于检测那些通过触角来感知世界的昆虫。检测的方法是基于 Schneider (1957) 的发现。当时 Schneider 记录了在外界激素的作用下昆虫触角的尖端和根部之间有一个很小的电压波动。尽管 EAG 信号背后的精密仪器不为人所知，但是它一般被假定为由昆虫触角里的嗅觉神经元被电化消磁所引起的有规则的电压波动。

EAG 响应信号的振幅随刺激素的浓度增长而增长，直到达到了饱和状态。振幅的变化更依赖于刺激素的种类，昆虫的种类，昆虫的性别以及一些没有被很好定义的因素。

有严格的理论说明，不使用 EAG 将会被认为是一种经验主义的做法。经验主义的方法可以提供有一个有实际经验的评价，但是不能提供昆虫嗅觉接受器的机理在生物学方面的基本数据。不过有实际经验的评价还是很值得考虑的。

EAG 方法可以被用在很多用途上。例如筛选生物学上有活性的化合物，净化萃取物，鉴定有活





性的馏分，选择有活性的人造化合物，作为气相色谱分析的检测头在野外的浓度测量。

EAG 的数据记录在技术上相对简单，不需要使用很复杂的仪器。不过 EAG 的信号品质取决于很多因素，这些因素常常不能被很好认识到。大量不同种类的昆虫需要一个灵活的方法，同时还需要操作者即兴发挥的能力。

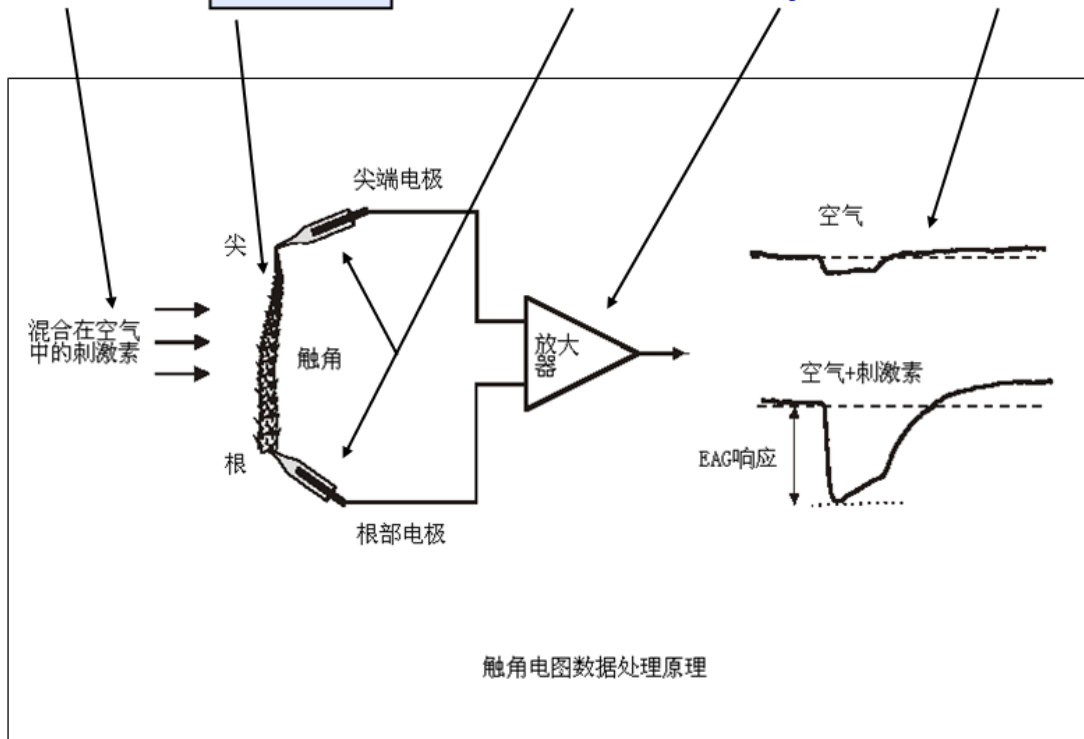


记录触角电压的微小变化需要灵敏的仪器，而且这个仪器不能影响触角的生理学过程，细小的电压波动必须被仔细的摘录下来，然后放大到足够大的水平来驱动记录仪器，例如示波器，绘图仪，计算机系统。

现代微电子学利用集成电路提供了一个高性能放大器的范围，这个范围非常适合用来处理 EAG 信号，这种类型的放大器通常是被称为可操作放大器或者运算放大器。

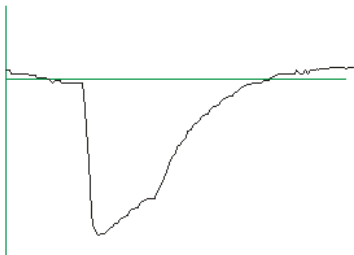
针对这个系统的说明主要是在触角试样和放大器输入电路方面。为了理解输入电路里的电子现象以及如何优化这个系统，触角试样和放大器输入电路需要被考虑成简化的电源和电阻，就好像触角可以被简化成电源和电阻一样，放大器的输入部分同样可以被简化成为一个电源和电阻的组合，但是，由于高质量的放大器输入部分电源的电压值是一个很低的常数。这个电源在分析输入电路的时候通常可以被忽略。

Stimulus → Antenna → Electrodes → Amplifier → EAG Signal





一旦触角被连接到放大器的输入终端上，电路就闭和了。这个闭和的电路是由三部分组成的：1、触角里的电源；2、触角里的电阻；3、放大器的输入电阻（放大器的电源部分被忽略）。如果我们熟悉了著名的欧姆定律，这个电路就变的非常的明显了，触角电阻两端的电压和放大器输入电阻两端的电压是由这两个电阻的比值决定的。换句话说，也就是放大器输入电阻比触角电阻高的越多，放大器输入部分两端的电压也就越大。这就是我们要测量的 EAG 响应。



例如：触角电源产生的电压为 1 毫伏，触角电阻是 10 兆欧姆，放大器的输入电阻是 1 兆欧姆，那么输入电路的电流就是 $I = V_a / (R_a + R_i) = 10^{-3} / (10^7 + 10^6) = 10^{-10}$ 安培（= 0.1 毫微安培），那么测量的放大器输入部分两端电压为 $10^{-10} \times 10^6 = 10^{-4} \text{ V} = 0.1$ 毫伏。在这种情况下，从放大器里采集的电压大约是触角电源产生的电压的十分之一。这是因为放大器的输入电阻只是触角电阻的十分之一。

一。如果放大器输入电阻是触角电阻的十倍的话，那么测得的电压值就几乎和触角电源产生的电压一样了。这样对后期的信号放大很有好处。

通过这个欧姆定律的联系，我们可以得到以下结论。放大器输入端的电阻应该远远大于触角电阻，这样就可以精确的测量出触角电源产生的电压。现在使用的运算放大器的电阻阻值通常都是 $10^{12} \Omega$ ，甚至更大。

■ 相关仪器

EAG 昆虫触角电位测量系统

应用：EAG 昆虫触角电位测量系统用于记录昆虫触角电位在施加不同刺激物时的变化，研究昆虫的电生理，用于植保、生物防治、森林病害等研究领域。

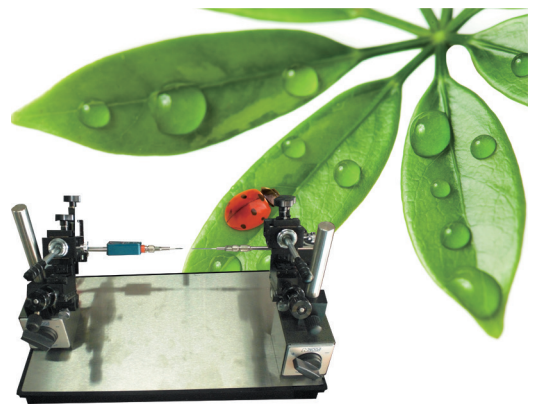
原理：收集来自昆虫试验体的非常微弱的原始电信号，然后在软件（自动）控制下放大，生成比较强的电信号。

● 组成部分：

- ◆ IDAC-2 双通道 USB 接口数据采集控制器；
- ◆ EAG 和 GC/EAD 信号记录分析软件；
- ◆ PRG-2 昆虫触角电位探头；
- ◆ CS-55 刺激气流控制单元（内置气泵）；（可选 CS-01 刺激气流控制单元，需要实验室有 4-10bar 压缩空气泵）。

● 可选件：

- ◆ MP-15 显微操作台，当测量昆虫比较小时，建议选购；



- ◆ EC-03 (EC-05) 气相色谱连接器，用于连接气相色谱。

● 系统性能特点：

● IDAC-2 双通道 USB 接口数据采集控制器

- ◆ 用于记录 EAG 和 GC-EAD 信号的双通道数据采集器控制器；
- ◆ 采用 USB 通讯端口，可以很方便和台式电脑或笔记本连接使用；
- ◆ 可自动或人工控制信号漂移，控制设置过滤器；

器；

- ◆ 兼容 Syntech EAG 和 GC-EAD 软件；

● EAG 和 GC/EAD 信号记录分析软件

- ◆ 用于 Syntech IDAC 数据采集系统；
- ◆ 触发信号到达时，软件能够使记录时间、信号基线自动归零；

- ◆ 实时记录并显示触角电位图 (EAG) ；

- ◆ 实时记录及显示气相色谱触角电位检测 (GC/EAD) 系统输出信号，最多可连续记录 5 小时；

- ◆ GC-EAD 跟踪记录时能够分析计算峰值区域，并对峰值区起止时间做标记；

- ◆ 幅度及时间单位可作放大缩小操作，使图形具备更好的外形，便于观察；

- ◆ 可为数据记录增加注释；

- ◆ 支持 Windows 标准格式图形输出；

- ◆ 所有生成的图形及数据都可打印；

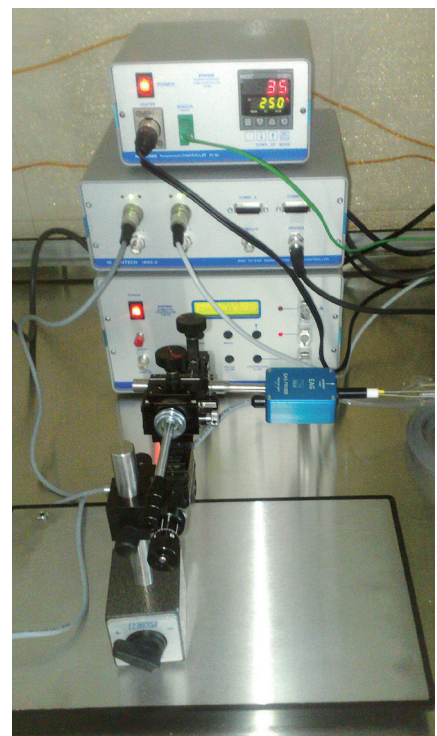
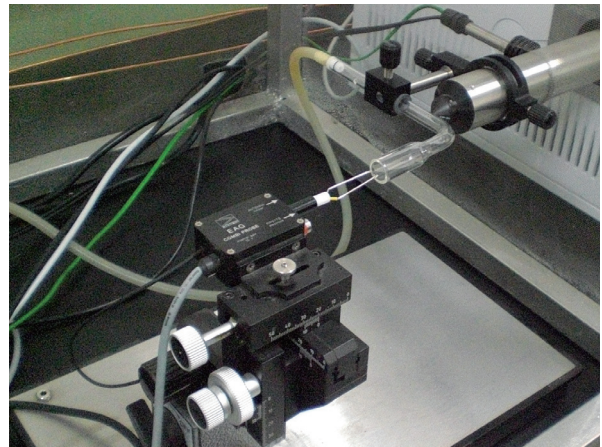
- ◆ 支持 ASCII 数据格式输出。

● PRG-2 昆虫触角电位探头

- ◆ 专为采用导电胶连接昆虫触角的方式设计；
- ◆ 包括 3 个可更换的为不同尺寸的昆虫触角设计的固定器；
- ◆ 能使用纤维状的昆虫触角；
- ◆ 连接表面镀金处理；
- ◆ 高输入阻抗，10 级输入放大倍数调节；
- ◆ 可直接与 IDAC 连接。

● CS-55 刺激气流控制单元

- ◆ 不需要实验室建立空气过滤压缩系统；
- ◆ 内置空气泵具备消震功能；
- ◆ 内置活性炭过滤器，更换方便；
- ◆ 可提供连续和脉冲气流；





- ◆ 采用 LCD 显示屏调节控制；
- ◆ 流量 10-50ml/s 可调，不需要校准；
- ◆ 脉冲气流在 0.1-60 秒之间可调，调节步长 0.1 秒；
- ◆ 脉冲气流重复：间隔时间 1 - 60 秒可调；
- ◆ 输出信号兼容 SYNTECH 数据采集系统；
- ◆ 包括脚踏开关。

● MP-15 显微操作台

- ◆ 磁性吸附底座，装备有两个 X-Y-Z 三向可调的操作臂；
- ◆ 20×30cm 不锈钢底座保持定位；
- ◆ 右手操作臂采用非常易用精确的操作杆进行调节；
- ◆ 可调节刺激；
- ◆ 左操作臂上安装有高阻抗探头及电极夹；
- ◆ 能够与 IDAC 数据采集器直接连接；
- ◆ 与 IDAC 相连接不需要额外的放大器；
- ◆ 不需要静电屏蔽罩。



● EC-03 (30 cm)、EC-05 (50 cm) 气相色谱连接器

- ◆ 含加热功能；
- ◆ 数字控制加温，最大可达 350 摄氏度；

●产地：德国

SSR 昆虫触角单感受器电位记录系统

用途： SSR 昆虫触角单细胞感受器电位记录系统用于记录昆虫触角单细胞 / 感受器在施加不同刺激物时电位的变化，研究昆虫的电生理，用于植保、生物防治、森林病害等研究领域。该系统完全兼容 EAG 昆虫触角电位仪。

原理：收集来自昆虫试验体的非常微弱的原始电信号，然后在软件自动控制下放大，生成比较强的电信号。

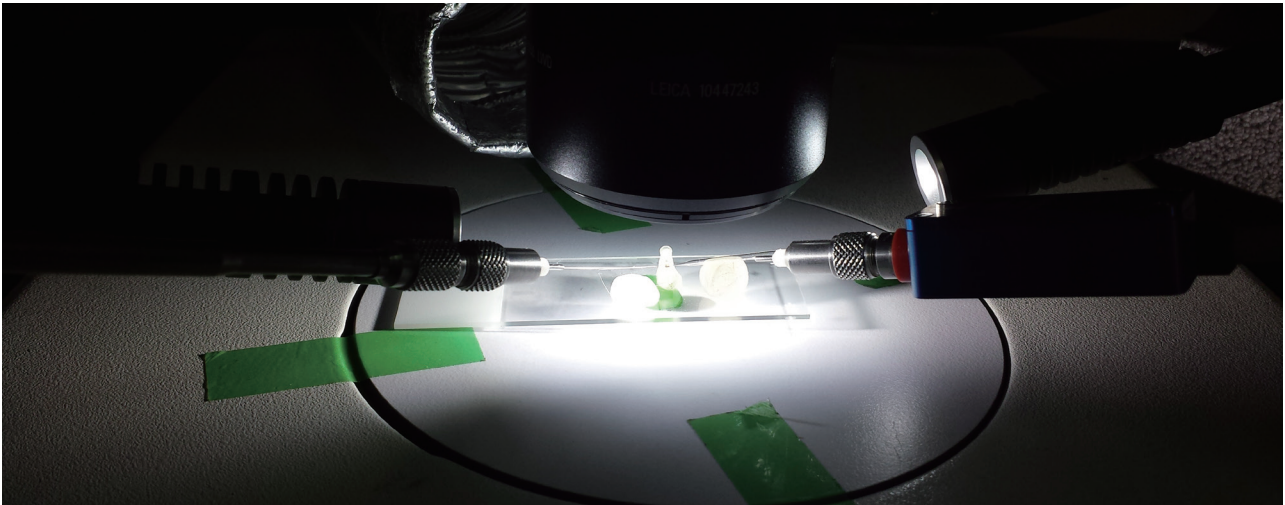
●系统组成：

- ◆ IDAC-4 四通道 USB 接口信号采集控制器（含 AutoSpike 软件）
- ◆ PRS-1 通用单端探头（含钨丝电极固定器）
- ◆ CS-55 刺激气流控制器
- ◆ MP-22 显微操作台



- ◆ Spiker 触角信号模拟器
- ◆ 钨丝电极生成器
- ◆ 玻璃吸液管拉长器
- ◆ 减震操作台

●产地：德国



轨迹球昆虫行为记录仪

系统设计用以研究和分析很小的生物体（比如，昆虫类，幼虫和螨类等）运动和方向的行为，数据通过 RS232 口在提供的软件里实时以 X-Y 坐标显示和记录。数据直接储存在计算机里。根据分析对象大小的不同，有二种型号可供选择。

● LC-100 型（针对比较小的昆虫）：

100mm 的伺服控制，分析对象约为 0.05-1mm，速度补偿 0-50mm/s，内置彩色显示系统，RS232 接口，实时速度和方向。

● LC-300 型（针对比较大的昆虫）：

300mm 的伺服控制，分析对象约为 1-10mm，速度补偿 0-30cm/s，内置彩色显示系统，RS232 接口，实时速度和方向。

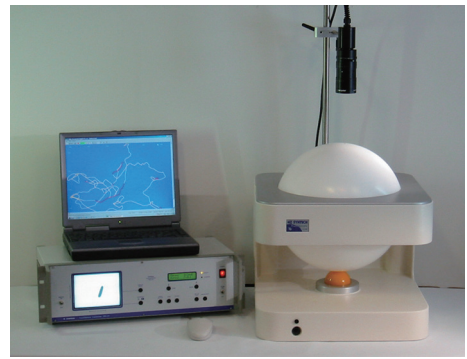
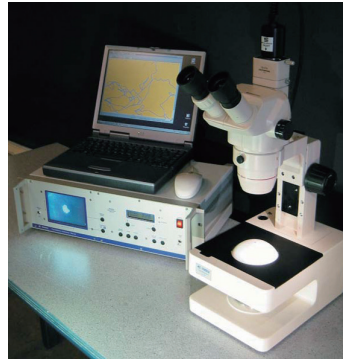
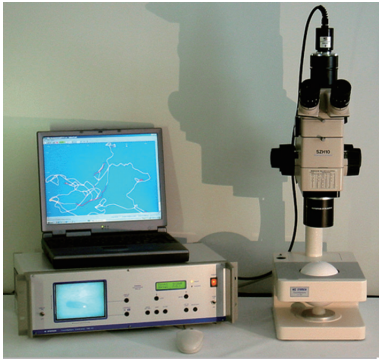
●详细配置：

型号	LC-100	LC-300
轨迹球	√	√
控制系统	√	√



传感器	CMOS 摄像头	CMOS 摄像头，含放大系统
光学系统	三目立体缩放显微系统	不需要
光源	可调红外、可见光光源	红外、可见光光源
TrackSphere 软件	√	√

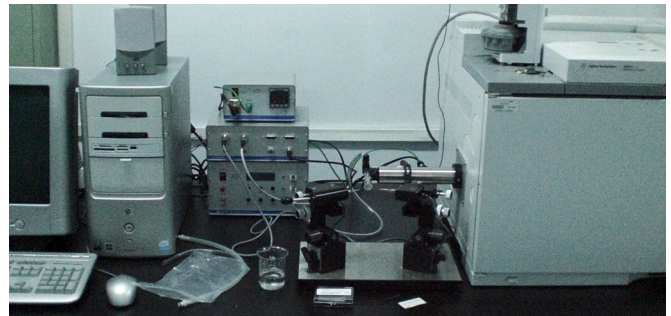
●产地：德国



EAG 昆虫触角电位测量系统的扩展

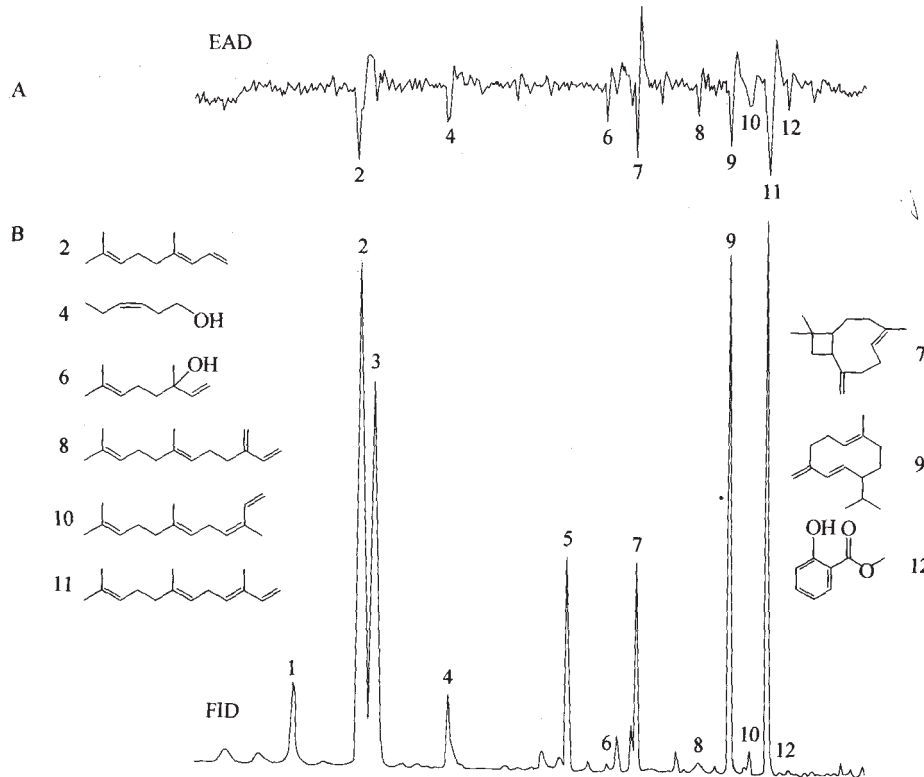
●气相色谱与昆虫触角电位的联用 (GC-EAD)

气相色谱 - 触角电位连用由两大部分组成：气相色谱仪（推荐使用安捷伦 6890/7890）和昆虫触角电位仪，它是一个连用系统。有气相色谱柱分离的气体成分被分离成为均匀的两部分，一部分进入气相色谱检测器，另一部分与清洁气体混合进入昆虫触角。这样气相色谱的波峰就可以和 EAG 的波峰对应起来，收集的气体混合物就被筛选，不必对每一个化学组分进行分析提取就能知道哪个成分有生物活性，而没有 EAG 反应的成分就被排除（赵惠燕，2010）。





Bengtsson 等 (2001) 利用 GC-EAD 技术, 研究了苹果枝挥发物对苹果蠹蛾雌蛾反映的活性成分, 结果如图所示:



苹果蠹蛾雌蛾对带苹果枝挥发物反应的 GC-EAD 图

A. 触角反应的 EAD; B. GC 的 FID 结果

活性成分分别是 4,8-dimethyl-1,3 (E),7-nonatriene (2); (Z) 3-hexenol (4); linalool (6); β -caryophyllene (7); (E)-farnesene (8); germacrene D (9); (Z,E)-and (E,E)-R-farnesene (10, 11); methyl salicylate (12)。触角不反应的成分是 (E)- β -ocimene (1); (Z) 3-hexenyl acetate (3); β -bourbonene (5) (Bengtsson et al., 2001)

■ 相关应用

Effect of Age on EAG Response and Attraction of Female *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) to Ammonia and Carbon Dioxide

雌性加勒比按实蝇对氨气及二氧化碳 EAG 响应的年龄效应

Current ammonia-based lures vary considerably in their ability to attract *Anastrepha* fruit flies in the field. This report presents results from electroantennography (EAG) and behavioral bioassays that examined the effect of age on by response to ammonia and carbon dioxide, two volatile chemicals released from commercial ammonium bicarbonate lures. EAG measurements from female Caribbean fruit flies, *Anastrepha suspensa* (Loew), showed that ammonia generated a greater EAG response in sexually immature females compared with mature females. Conversely,

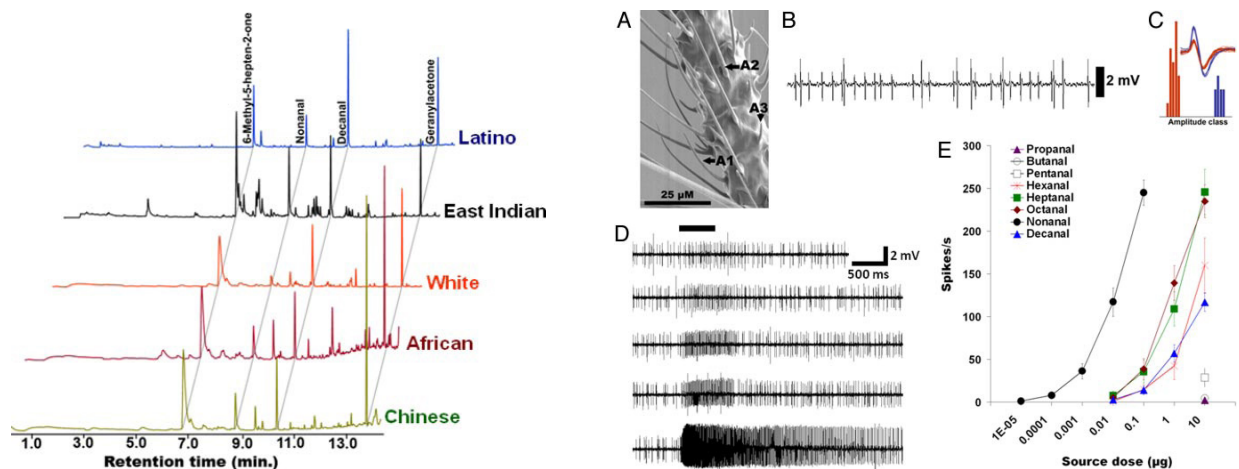


carbon dioxide elicited stronger EAG responses in sexually mature females. In bright tunnel bioassays, females from both age groups were captured in response to ammonia ranging from 60 to 3840 g/h, but captures declined with increasing ammonia concentration. In bioassays with the two highest ammonia release rates, captures of immature females were significantly lower than captures of mature females. Carbon dioxide, ranging from 300 to 7200 g/h, did not capture any flies when presented alone in the bright tunnel bioassay. However, for sexually mature flies, carbon dioxide in combination with ammonia was more attractive than ammonia alone. These age-related differences in response to ammonia and carbon dioxide may account for some of the variability observed in field tests with ammonium bicarbonate lures.

Acute olfactory response of *Culex* mosquitoes to a human- and bird-derived attractant

库蚊对不同地区人类和鸟类气味的嗅觉响应

West Nile virus, which is transmitted by *Culex* mosquitoes while feeding on birds and humans, has emerged as the dominant vector borne disease in North America. We have identified natural compounds from humans and birds, which are detected with extreme sensitivity by olfactory receptor neurons (ORNs) on the antennae of *Culex pipiens quinquefasciatus* (*Cx. quinquefasciatus*). One of these semiochemicals, nonanal, dominates the odorant spectrum of pigeons, chickens, and humans from various ethnic backgrounds. We determined the specificity and sensitivity of all ORN types housed in different sensilla types on *Cx. quinquefasciatus* antennae. Here, we present a comprehensive map of all antennal ORNs coding natural ligands and their dose-response functions. Nonanal is detected by a large array of sensilla and is by far the most potent stimulus; thus, supporting the assumption that *Cx. quinquefasciatus* can smell humans and birds. Nonanal and CO₂ synergize, thus, leading to significantly higher catches of *Culex* mosquitoes in traps baited with binary than in those with individual lures.

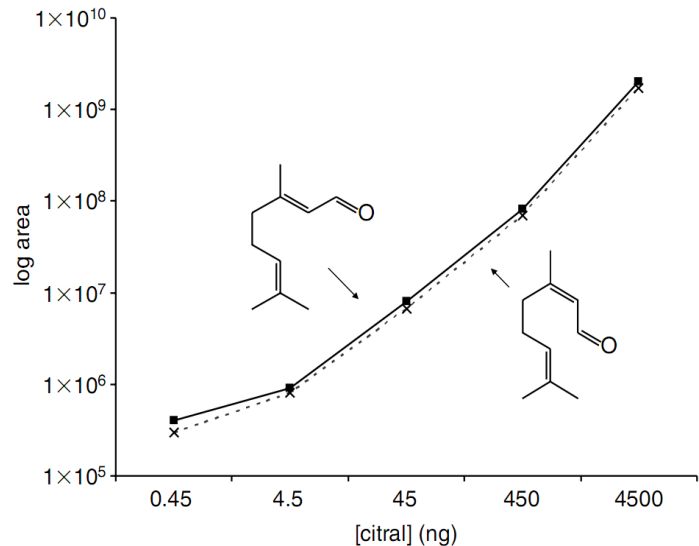




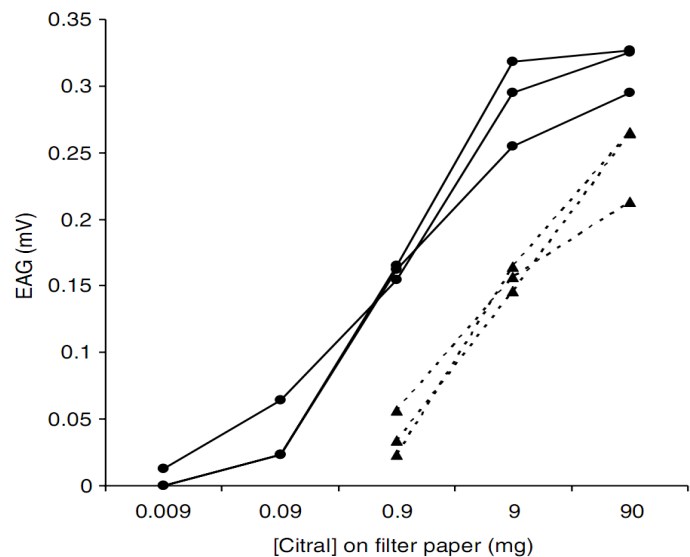
Male sex pheromone release and female mate choice in a butterfly

雄性蝴蝶性信息素的释放与雌性蝴蝶的选择

In butterflies female mate choice is influenced by both visual and olfactory cues, the latter of which are important at close range. Males of the green-veined butterfly, *Pieris napi*, are known to release citral (mixture of geranial and neral, 1:1), but its role(s) and conditions of release are not known. Here, we show that male *P. napi* release citral when interacting with conspecific males, conspecific females, heterospecific males and also when alone. The amount of citral released correlated strongly with male flight activity, which explained more than 70% of the variation. This suggests that males do not exercise control over turning release on or off, but rather that citral is emitted as a passive physical process during flight. Electroantennogram experiments showed that female antennal response was ten times more sensitive to citral than male response. Females expressed acceptance behavior when exposed to models made with freshly excised male wings or those treated with citral following chemical extraction, but not to ones with extracted wings only. Hence, these behavioral and electrophysiological tests provide strong evidence that citral is a signal from the male directed to the female during courtship, and that it functions as a male sex pheromone.



The logarithmic calibration curve of citral, separated into geranial (solid line) and neral (dotted line), as assessed by SPME and GC-MS.



Electroantennography dose-response curves to citral (neral and geranial, 1:1) for both sexes of *Pieris napi*, with the female response above (black lines) and the male response below (broken lines). The responses to different doses of citral for one individual are connected by a line.

Spectral preference and temporal modulation of photic orientation by Colorado potato beetle on a servosphere

基于伺服球的科罗拉多马铃薯甲虫的光谱偏好和光线导向研究

The Colorado potato beetle (CPB), *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae), is a diurnal insect that strongly relies on visual cues to guide its walk. In the present study, we investigated the orientation behavior of non-diapausing walking CPB in response to emissive colors produced by light emitting diodes (LEDs) in a dual choice arena adapted to a servosphere, where the only illumination available came from the photo-stimuli. Our results demonstrate that CPB show positive phototactic behavior when stimulated with different wavelengths of light; they preferred to orient towards white (420–775 nm), ultraviolet (UV) (351 nm), blue (472 nm), green (570 nm), yellow (585 nm), orange (590 nm), and red (660 nm) over darkness when both alternatives



were offered, but no orientation responses were elicited by infrared (940 nm). Both males and females preferred yellow and green over other colors, but did not show any particular preference between them, thus correlating with their preference for wavelengths reflected by vegetation. Sexual differences were noted in that male CPB preferred white over either red or UV, whereas female CPB did not show any preferences when offered these colors. Female CPB preferred UV and blue over red, whereas males

showed no preferences when these colors were offered. Colorado potato beetles turned at higher angles and performed more tortuous walks in complete darkness and when infrared vs. darkness were offered compared with the rest of the colored lights. Both sexes preferred continuous over pulsed yellow light. Colorado potato beetles subjected to pulsed yellow light showed a temporal alteration of their walking performance by walking less, slower, and turning at a higher rate. The results are discussed with regard to the role of color in the CPB attraction to host plants and conspecifics as well as the role of intermittent photic stimuli in their orientation behavior. The information provided here provides a basis for the improvement of trapping devices for detection and survey of incipient or invasive CPB, and development of alternate control strategies for this important pest of potatoes and other solanaceous crops.





参考文献

- ◆ 那杰, 于维熙, 李玉萍等. 昆虫触角传感器的种类及其生理生态学意义. 沈阳师范大学学报(自然科学版), 2008, 26(2): 213-216
- ◆ 马瑞燕, 杜家纬. 昆虫的触角感器. 昆虫知识, 2000, 37(3): 179-183
- ◆ 赵新成, 阎云花, 王睿. 昆虫神经生物学研究技术: 触角电位图记录. 昆虫知识, 2004, 41(3): 270-274
- ◆ 赵惠燕. 昆虫研究方法. 科学出版社, 2010: 172-176
- ◆ Zainulabeuddin Syed, Walter S.Leal. Acute olfactory response of Culex mosquitoes to a human- and bird-derived attractant. Proceeding of the National Academy of Sciences, 2010, 107(34), 16023-16027
- ◆ Johan Andersson, Anna-Karin Borg-Karlson, Namphung Vongvanich, et. al. Male sex pheromone release and female mate choice in a butterfly. The Journal of Experimental Biology, 2007, 210, 964-970
- ◆ Marie Bengtsson, Anna-Carin Backman, Ilme Liblikas, et. al. Plant Odor Analysis of Apple: Antennal Response of Codling Moth Females to Apple Volatiles during Phenological Development. J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 3736-3741
- ◆ Paul E. Kendra, Wayne S. Montgomery, Daniel M. Mateo, et. al. Effect of Age on EAG Response and Attraction of Female Anastrepha suspensa (Diptera: Tephritidae) to Ammonia and Carbon Dioxide. Environ. Entomol. 2005, 34(3): 584-590
- ◆ Fernando Otálora-Luna¹, Joseph C. Dickens. Spectral preference and temporal modulation of photic orientation by Colorado potato beetle on a servosphere. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2011, 138(2), 93-103

服务网络



北京渠道科学器材有限公司

地址: 北京市海淀区大钟寺 13 号华杰大厦 7B15 室
邮编: 100098
电话: 010-62111044/62152442/62118532/62118533
传真: 010-62114847

综合仪器网站: www.Qudao.com.cn
系统集成网站: www.QudaoSystem.com
自有产品网站: www.Channeleco.com