

果蝇产卵行为的偏好和可塑性实验模型*

王艺瑾** 温省云** 龚海韵 龚哲峰*** 刘力***

(中国科学院生物物理研究所, 脑与认知科学国家重点实验室, 北京 100101)

摘要 我们用经典的 Sherrington 模型构建了一个以食物环境为输入, 果蝇产卵行为为输出的神经行为学模型, 并且对这个模型的敏感性以及可塑性进行了探索性研究. 通过给果蝇提供不同的食物成分和浓度, 我们发现, 果蝇在不同浓度的食物上产卵量有明显偏好差异, 并表现出很好的敏感性和稳定性. 而当阻断了果蝇的嗅觉感受神经元后, 产卵的浓度偏好受到了影响. 另一方面, 我们用经典条件化的学习方式对果蝇的产卵行为进行训练后, 发现果蝇也可以学会将光照条件和产卵行为偶联起来. 这也证明了这个模型具有很好的可塑性. 这个模型将为今后进一步研究果蝇食物偏好、产卵行为、条件化学习等的神经和分子机制奠定良好的基础.

关键词 果蝇, 产卵行为, 偏好, 行为可塑性

学科分类号 Q189, Q6

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00522

自从 Charles Sherrington 提出了神经系统的整合作用模型以来(图 1a), 神经学家们一直在努力解析各种感觉/运动通路^[1-2]. 经典的研究方法一般是通过改变感觉输入条件或是影响神经系统来观察动物运动输出的变化^[3-4]. 于是, 建立一个稳定并且能对条件改变有敏感反应的动物行为范式就显得尤为重要.

自摩尔根首先将果蝇应用于遗传学研究以来, 果蝇已经成为经典的模式生物, 对遗传与发育生物学做出了突出的贡献. 20 世纪 70 年代, 美国加州理工学院科学家 Benzer 首先应用果蝇来研究行为的神经机制及其分子基础, 这使得果蝇行为学开始发展成为一个崭新的研究领域^[5-6]. 果蝇具有丰富的遗传资源和基因操作手段, 使我们不仅可以对果蝇的神经系统进行精细操作, 还可以观察个体或者群体样本的行为输出. 现在果蝇中比较成熟的行为范式有睡眠、打架、求偶、觅食、爬行等等^[7-11], 还有通过训练的行为可塑性研究: 嗅觉和视觉的学习记忆、抉择^[12-16]等等.

在果蝇的生活史中, 食物环境对于它们的生存繁衍至关重要. 传统的研究主要是集中在食物环境对于果蝇发育和寿命等方面的影响上. 而在行为方

面, 针对食物的变化, 果蝇反应更加敏感, 可塑性也更强. 在这方面, 主要是对果蝇进食行为进行研究, 但是由于很难对果蝇的进食量进行实时观测和精确量化, 所以在这方面的研究一直徘徊不前^[17].

考虑到食物环境对于果蝇繁衍下一代, 物种存续的重要性, 我们建立一个新的行为范式. 在这个模型中, 我们选择了食物环境作为感觉输入模块, 而果蝇的产卵行为作为模型的输出模式(图 1b). 相比进食行为来说, 果蝇的产卵行为更易观察和数据量化. 在本文中, 通过改变输入端的食物环境, 来检测后端产卵输出的变化, 并且探索了该范式是否可以运用于行为可塑性的研究. 这个行为模型的成功建立, 将为我们进一步研究偏好行为的可塑性奠定坚实的基础.

* 国家自然科学基金(31030037, 31070944)和中国科学院国际合作(GJHZ1005)资助项目.

** 共同第一作者.

*** 通讯联系人.

刘力. Tel: 010-64888550, E-mail: liuli@sun5.ibp.ac.cn

龚哲峰. Tel: 010-64888527, E-mail: zfgong@moon.ibp.ac.cn

收稿日期: 2011-11-19, 接受日期: 2012-04-12

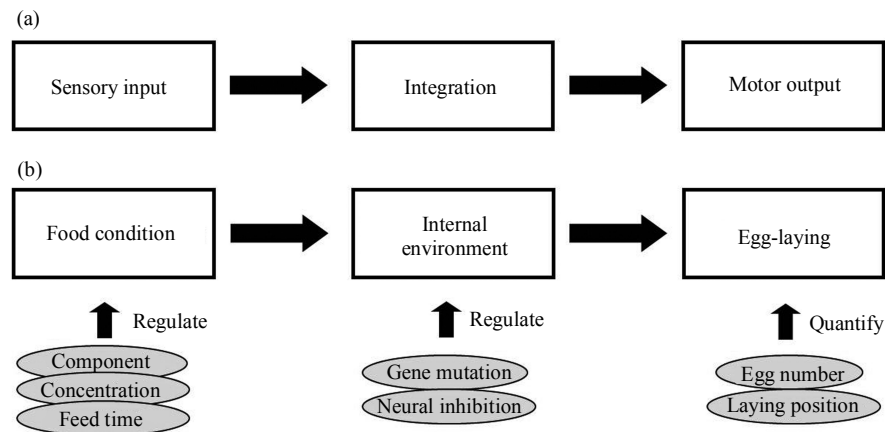


Fig. 1 Model system for analyzing behavioral preference and plasticity in *Drosophila* egg-laying

(a) Schematic diagram of Sherrington's model. (b) Schematic diagram of *Drosophila* egg-laying model.

1 材料与方法

1.1 实验材料

野生型果蝇(Wild-type *Canton-S*), *or83b-Gal4* 转基因果蝇品系来自美国印第安纳大学的果蝇品系中心(Bloomington *Drosophila* Stock Center); UAS-DTI 来自纽约大学 Justin Blau 实验室(纯和致死, 带 TM3 平衡子, 为改造过的非温敏型白喉毒素果蝇); 葡萄糖、果糖和麦芽糖购自 Sigma 公司; 酵母购自梅山酵母公司; 琼脂购自石狮子市狮头琼脂有限公司. 果蝇饲养在 25℃, 湿度 60% 的培养环境中, 采用德国的标准食物(standard food, SF) 配方^[18].

1.2 实验方法

1.2.1 果蝇对不同食物环境的产卵偏好.

a. 不同浓度食物的配制: 首先按质量比配制 1% 的琼脂溶液, 加热到 60℃ 以上备用. 按质量/体积比选取不同质量的糖或酵母和一定体积的琼脂溶液配制不同浓度的糖食物或酵母食物. 其中糖浓度选取了 5%~60% 之间梯度为 5% 的 12 个浓度; 酵母浓度选取了 2.5%~25% 之间的 6 个浓度.

b. 产卵板的制作: 选用 12 孔培养板, 包括底板(85 mm×125 mm)和盖子两部分. 底板有 12 孔(孔径 25 mm, 孔深 5 mm), 底板和盖子之间有 0.8 cm 的高度. 对应糖食物, 一种浓度的糖食物加入一个孔内 1.5 ml, 而对于酵母食物, 一种浓度的酵母食物加 2 个孔, 各加 1.5 ml. 为了避免位置对果蝇产卵造成的影响, 不同浓度的食物在 12 孔板

上随机分布.

c. 产卵实验步骤: 每个产卵板上放置 10 只羽化后 5~7 日龄的成熟雌蝇, 盖上盖子. 在黑暗中避光产卵 24 h 后计数分布在产卵板上不同浓度孔中的产卵数. 然后用每个孔中的产卵数除以这个产卵板上总的产卵数, 得出的百分数来进行统计比较得出偏好. 每组数据做 10 次. 在统计上, 将 10 次的的数据累加统计之后做百分数的频数分布直方图, 再用 χ^2 检验对于不同组之间的分布进行比较, 观察产卵的分布是否有改变.

1.2.2 果蝇产卵行为的条件化学习. 因为我们发现, 果蝇在只有琼脂的培养基上不产卵, 而在加了生酵母的食物中, 果蝇产卵会增加, 所以我们设计了利用光照作为条件刺激, 食物环境作为非条件化刺激来对果蝇的产卵进行训练的范式. 羽化后 3~5 日龄的果蝇饲养在 9:00~21:00 光照, 21:00~9:00 黑暗的环境中. 根据培养基的不同, 分为 6 组, 每组 5 瓶, 每瓶 5 只雌蝇, 3 只雄蝇.

LA: 9:00~21:00 在琼脂里喂养, 21:00~9:00 在标准^[18]食物里喂养.

DA: 9:00~21:00 在标准食物里喂养, 21:00~9:00 琼脂里喂养.

LY: 9:00~21:00 在加有生酵母的标准食物里喂养, 21:00~9:00 在标准食物里喂养.

DY: 9:00~21:00 在标准食物里喂养, 21:00~9:00 在加有生酵母的标准食物里喂养.

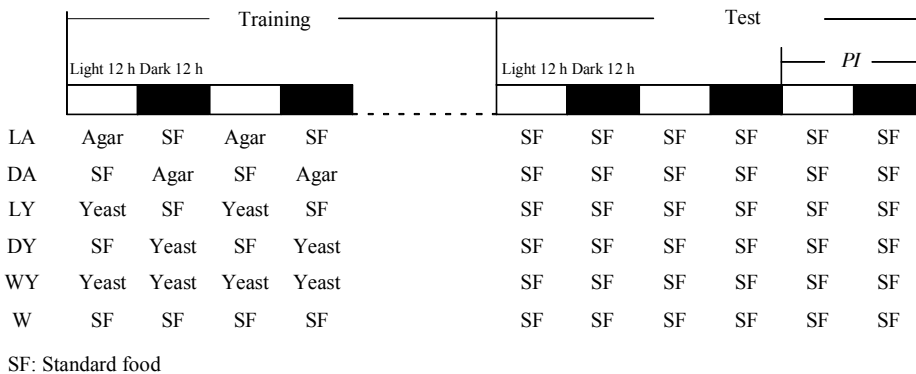
W: 在标准食物里喂养果蝇.

WY: 在加了生酵母的标准食物里喂养果蝇.

如图 2 所示, 我们把 6 组果蝇平行分别训练 4 天, 6 天, 9 天, 12 天后. 恢复到标准食物状态, 然后统计果蝇在恢复后的第 3 天的产卵数.

$PI = (9:00 \sim 21:00 \text{ 的产卵数} - 21:00 \sim 9:00 \text{ 的产卵数}) / \text{产卵总数}$

在统计学上我们把 PI 值和零值进行 t 检验, 比较显著性.



$$PI = \frac{\text{Egg Number}_{\text{light}} - \text{Egg Number}_{\text{dark}}}{\text{Egg Number}_{\text{light}} + \text{Egg Number}_{\text{dark}}}$$

Fig. 2 Schematic diagram of egg-laying conditioning training in *Drosophila*

1.3 统计分析

1.3.1 果蝇对不同环境的产卵偏好. 我们用果蝇在产卵板上不同浓度糖的孔中的产卵数除以这个产卵板上总的产卵数, 得出的百分数进行统计得出偏好. 每组实验做 10 次. 用 origin8.0 统计后, 用 $\bar{x} \pm s$ 的柱状图表示出分布结果. 为了检验果蝇的偏好浓度, 将同种糖组内的结果进行了百分比的假设检验, 因为果蝇是在 12 个浓度梯度中进行产卵实验的, 平均分布的百分比为 8.33%(1/12). 为了确定果蝇偏好的浓度区间, 将数据和 8.33%进行假设 t 检验, 均值高于 8.33%, 且 $P < 0.05$ 的浓度就代表果蝇在这个浓度上有产卵偏好. 在酵母上的产卵实验, 是在 6 个浓度梯度中进行的, 平均分布的百分比为 16.67%(1/6), 因此与 16.67%进行 t 检验. 另一方面, 对于果蝇在不同种类糖上产卵的分布是否具有显著性差异, 我们将 10 次的数据累加统计之后进行行列交联 χ^2 检验, 用表格把统计结果表现出来. 当 $P < 0.05$ 时代表果蝇在不同种类糖上的偏好分布有显著区别.

1.3.2 阻断嗅觉受体对于产卵偏好的影响. 检验阻断嗅觉是否对于产卵偏好产生影响的实验中, 我们将亲本对照组和实验组果蝇的产卵偏好用 $\bar{x} \pm s$ 的

曲线图表示出产卵分布, 并与 8.33%进行比较, 确定偏好浓度. 同时为了检测实验组和对照组的产卵分布是否有显著区别, 我们也将实验组和对照组进行了 χ^2 检验, 用表格把统计结果表现出来. 当 $P < 0.05$ 时代表果蝇在不同种糖上的偏好分布显著不同. 另外, 将实验组和对照组每个浓度的百分比分别进行 one-way ANOVA 的方差检验, 以检验嗅觉阻断是否对于果蝇的产卵浓度偏好发生影响.

1.3.3 产卵模型的可塑性研究. 在产卵的条件化实验中, 统计上我们把每组 PI 值和零值进行 t 检验, 比较显著性. 当 $P < 0.05$ 时表示在训练后, 果蝇的产卵对于光照环境有了显著偏好.

2 结 果

2.1 果蝇对不同种类的糖和不同糖浓度的产卵偏好

在以 5%为梯度的不同浓度糖食物环境的产卵实验里, 我们可以看到, 在葡萄糖中, 果蝇偏好在浓度为 15%~25%的区域产卵(图 3a). 对于果糖, 果蝇偏好在 10%~20%的浓度区域产卵(图 3b), 而在麦芽糖中, 果蝇偏好在 5%~15%的区域产卵(图 3c). 在糖浓度高于 50%的区域, 产卵量接近于零, 这说明果蝇是回避在这样的高糖环境下产卵

的. 同时比较 3 组实验数据我们还可以发现, 果蝇的产卵分布随着糖浓度的梯度变化, 也呈现出一个渐次的变化, 这代表果蝇可以识别糖的浓度变化, 并且可以在产卵行为上产生偏好反应. 另外, 我们

对在不同浓度糖上的产卵分布进行了不同糖组间的 χ^2 检验(表 1), 发现果蝇的产卵偏好分布有显著性差异, 揭示了果蝇在产卵行为上, 对于不同糖类, 在浓度上的产卵偏好是不同的.

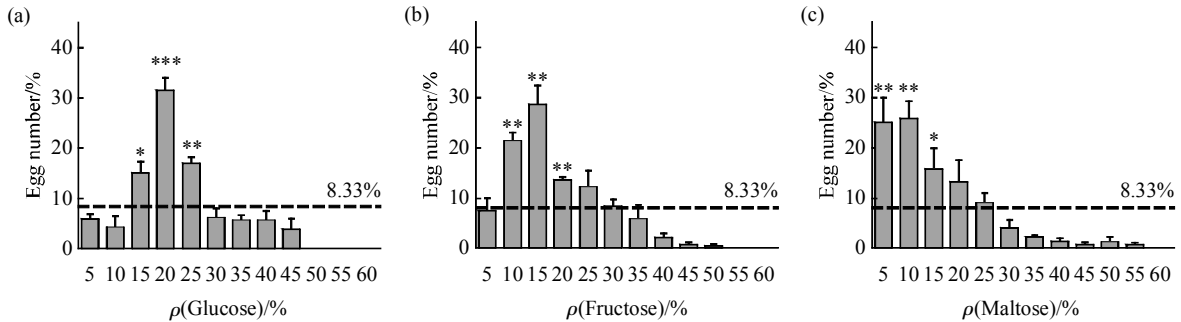


Fig. 3 The preference of egg-laying on sugar food in wild type flies

(a) Distribution of egg number on the glucose food at different concentrations, t -test, $P_{15\%} = 0.0302$, $P_{20\%} = 0.0002$, $P_{25\%} = 0.0015$. (b) Distribution of egg number on the fructose food at different concentration, $P_{10\%} = 0.0094$, $P_{15\%} = 0.0066$, $P_{20\%} = 0.0082$. (c) Distribution of egg number on the maltose food at different concentrations, $P_{5\%} = 0.0071$, $P_{10\%} = 0.0047$, $P_{15\%} = 0.0362$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Table 1 χ^2 tests and mean percentage of eggs on different sugar food shown in Figure 3

	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%	40%	45%	50%	55%	60%
Glucose	5.79	4.25	16.00	32.41	18.58	8.08	5.55	5.56	3.78	0	0	0
Fructose	6.84	21.37	28.71	13.66	12.04	8.25	5.86	2.14	0.61	0.27	0.10	0.14
Maltose	26.43	27.59	14.83	15.11	6.12	3.01	2.14	1.25	0.68	2.21	0.53	0
	Glucose vs Fructose				Glucose vs Maltose				Fructose vs Maltose			
χ^2	28.49				54.42				25.11			
P /Significance	0.0023 / **				9.89×10^{-8} / ***				0.0088 / **			

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

2.2 果蝇对不同浓度酵母食物的产卵偏好

除了测试糖类食物环境之外, 我们还测试了以蛋白质为主的酵母食物环境. 由于酵母的溶解度较低, 所以只测试了以 2.5%~25%之间 6 个浓度梯度下的产卵偏好. 可以看到, 果蝇对于 5%的酵母显示出了极强的产卵偏好, 这与产卵分布随着糖浓度有渐变分布的糖食物环境不同, 果蝇在酵母的其他浓度上没有体现出一个渐变的趋势(图 4). 这很可能是因为果蝇对于蛋白质和糖的感受机制不同导致的.

2.3 阻断嗅觉受体对于产卵偏好的影响

前面的实验主要都是在 Sherrington 模型中的感觉输入端进行改变, 观察输出端的行为变化. 而随着神经科学的发展, 我们现在有了越来越多的工具和技术来调控神经系统, 改变处理信息的神经回

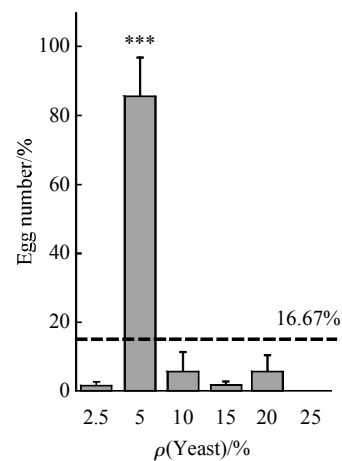


Fig. 4 The preference of egg-laying on yeast food in wild type flies

$P_{5\%} = 0.0009$. *** $P < 0.001$.

路来帮助我们理解神经系统的工作原理. 在产卵模型的建立中, 我们利用果蝇中成熟的 Gal4-UAS 系统, 利用 *Or83b-Gal4*^[19]和 UAS-DTI^[20]在果蝇的嗅觉感受神经元中表达白喉毒素来杀死特定的嗅觉感受神经元, 以观测这些嗅觉感受神经元对产卵偏好的影响. 如图 5 所示, 我们在葡萄糖的梯度环境中观测嗅觉感受神经元被阻断的果蝇产卵偏好, 与野生型相同, 亲本果蝇对葡萄糖在 15%~25% 的浓度上表现出显著性的产卵偏好 ($P < 0.05$), 而嗅觉阻断的果蝇则对 35%~45% 的浓度表现出产卵偏好 ($P < 0.05$). 对于在不同浓度葡萄糖上的产卵分布, 嗅觉阻断的果蝇与亲本对照果蝇都有显著差别 (表 2). 相比对照组, 嗅觉阻断的果蝇在葡萄糖 10%~20% 区间的产卵比例有明显降低, 而在 35%~50% 的区间, 果蝇的产卵比例有显著性的增高 (表 3). 这表明, 当果蝇的嗅觉感受神经元遭到破坏时, 果蝇在葡萄糖食物环境下的产卵偏好有所改变, 这也提示嗅觉通路对果蝇产卵偏好的影响.

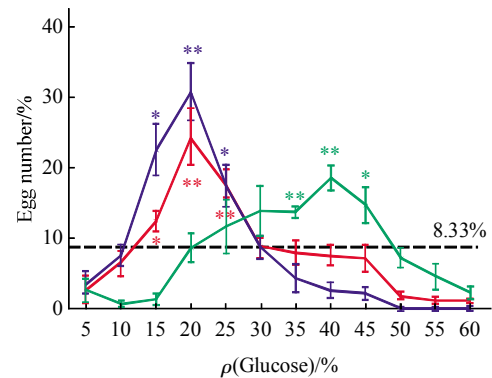


Fig. 5 Distribution of egg number on the glucose food in flies with olfactory defects

t-test, *Or83b-Gal4*: $P_{15\%}=0.0344$, $P_{20\%}=0.0092$, $P_{25\%}=0.0091$. UAS-DTI/TM3: $P_{15\%}=0.0114$, $P_{20\%}=0.0026$, $P_{25\%}=0.0276$. *Or83b-Gal4/UAS-DTI*: $P_{35\%}=0.0012$, $P_{30\%}=0.0020$, $P_{25\%}=0.0475$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. —: *Or83b-GAL4*; —: UAS-DTI/TM3; —: *Or83b-GAL4/UAS-DTI*.

Table 2 χ^2 tests and mean percentage of eggs on glucose food shown in Figure 5

	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%	40%	45%	50%	55%	60%
<i>Or83b-Gal4</i>	3.44	7.08	12.53	23.73	17.22	8.80	8.03	7.65	7.17	1.91	1.24	1.14
UAS-DTI/TM3	2.42	8.95	22.89	34.52	14.96	8.43	4.09	2.04	1.66	0	0	0
<i>Or83b-Gal4/UAS-DTI</i>	2.61	0.65	1.30	8.65	11.68	13.91	13.75	18.55	14.70	7.26	4.58	2.29
	<i>Or83b-Gal4 vs UAS-DTI/TM3</i>				<i>Or83b-Gal4 vs Or83b-Gal4/UAS-DTI</i>				UAS-DTI/TM3 vs <i>Or83b-Gal4/UAS-DTI</i>			
χ^2	17.86				194.21				86.67			
P/Significance	0.0849 / ns				1.54×10 ⁻²⁹ / ***				1.26×10 ⁻⁹ / ***			

*** $P < 0.001$. ns: Not significant.

Table 3 One-way ANOVA tests of the results shown in Figure 5

		<i>Or83b-Gal4/UAS-DTI vs Or83b-Gal4</i>											
		5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%	40%	45%	50%	55%	60%
P		0.994 0	0.027 9	0.01	0.014 9	0.372 8	0.304 2	0.049 8	1.72×10 ⁻⁴	0.037 7	0.001	0.097 5	0.318 9
Significance		ns	*	**	*	ns	ns	*	***	*	***	ns	ns
		<i>Or83b-Gal4/UAS-DTI vs UAS-DTI/TM3</i>											
		5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%	40%	45%	50%	55%	60%
P		0.892 5	0.012 9	2.81×10 ⁻⁵	0.001 2	0.402 4	0.310 5	0.001 9	2.34×10 ⁻⁶	9.58×10 ⁻⁴	6.05×10 ⁻⁵	0.021 5	0.025 3
Significance		ns	*	***	**	ns	ns	**	***	***	***	*	*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. ns: Not significant.

2.4 产卵模型的可塑性研究

以产卵行为作为一个新的实验范式, 除了用前面的实验检测对感觉输入端和系统整合层面的反应之外, 我们还想通过检测产卵行为的可塑性, 来确

认能否在今后用它来做一些高级认知功能的研究, 例如条件化学习记忆的研究. 曾经有学者用产卵作为模型做过果蝇抉择的研究^[12]. 在以前的试验中我们发现, 一天之内, 果蝇在琼脂上基本上不产卵,

而加了生酵母的食物, 能促使果蝇大量产卵, 所以在这里我们设计的是一个经典条件化的训练模式. 利用作为非条件化刺激的食物环境把作为条件化刺激的光照和产卵联系起来. 如图 6 所示, 分别检测了果蝇 4 天, 6 天, 9 天和 12 天训练后的产卵结果. 发现在训练 4 天后, 用琼脂作为食物进行条件化训练的果蝇, 能够学会将产卵时间和光照时间对

应起来. 而用酵母食物进行训练的果蝇, 这个时候还不能学会, 一直要训练 9 天后, 酵母食物训练的果蝇才学会将产卵时间和光照时间对应起来. 这个结果证明了我们可以利用这个模型进行学习记忆、抉择等高级功能的行为可塑性研究, 果蝇的产卵行为可以进行以食物环境为非条件化刺激的经典条件化学习.

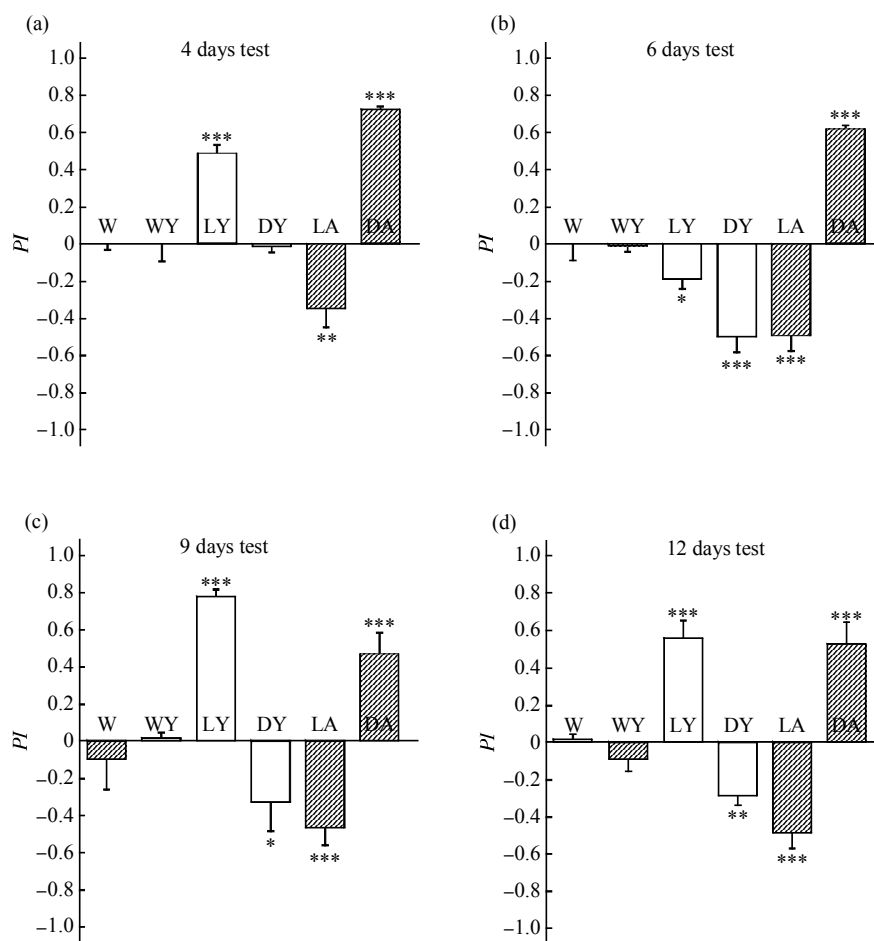


Fig. 6 Wild type flies could maintain egg-laying memory after conditioning

(a) Wild type flies could maintain egg-laying memory after 4 days agar food training. $P_{LY} = 0.0006$, $P_{LA} = 0.0043$, $P_{DA} < 0.0001$. (b) Wild type flies could maintain egg-laying memory after 6 days agar food training. $P_{LY} = 0.0424$, $P_{DY} = 0.0008$, $P_{LA} = 0.0009$, $P_{DA} < 0.0001$. (c) Wild type flies could maintain egg-laying memory after 9 days agar and yeast food training. $P_{LY} = 0.0001$, $P_{DY} = 0.0442$, $P_{LA} = 0.0006$, $P_{DA} = 0.0009$. (d) Wild type flies could maintain egg-laying memory after 12 days agar and yeast food training. $P_{LY} = 0.0001$, $P_{DY} = 0.0442$, $P_{LA} = 0.0006$, $P_{DA} = 0.0008$. $n = 10$ for each group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. □: Yeast training; ▨: Agar training.

3 讨 论

在生物界, 繁衍后代对于物种的延续至关重要, 所以动物对于繁衍下一代的环境和时间选择, 在动物的进化和行为学上都具有重要的意义. 在本文中, 我们构建了一个从以食物环境为条件输入,

果蝇产卵行为作为输出的研究模型. 并且对于这个模型的稳定性, 敏感性以及可塑性进行了探索性研究.

首先, 我们研究了不同食物成分对果蝇产卵的影响. 糖类作为果蝇天然食物——腐烂水果中的重要组分, 为果蝇提供了其日常活动的绝大部分能

源。所以我们的假设认为果蝇可能对于食物中糖的种类与浓度变化会很敏感，并选择较优的营养环境进行产卵，有利后代的繁衍。在这里我们选择了分布最广的单糖葡萄糖，水果中含量高的单糖果糖，还有双糖麦芽糖作为测试的糖类。从结果中可以看出，果蝇的产卵量在不同糖浓度上显示出了不同的偏好，并且随着浓度的梯度变化，呈现出一个从最偏好浓度向两侧渐变的趋势，对高糖浓度体现出回避，这充分说明了果蝇在产卵上对于糖浓度是可以分辨的。这个发现可以帮助我们以后利用这个模型研究浓度敏感的机制。我们都知道，在人类，食物的味道会影响我们的食欲和其他反应，适宜的甜度有利于摄取食物中的糖分，但糖浓度过高会引起我们的回避和厌恶反应，这也是进化中动物的一种自我保护机制。虽然我们现在已经找到了很多特异性的糖受体^[21-22]，但是对于神经系统是如何整合浓度信息的，还尚不清楚，而现在的这个具有很好糖浓度敏感性的果蝇产卵范式就可以为这方面的研究提供很好的筛选模型。

而对于3种不同糖果蝇所产生的浓度偏好分布不同，可能是由于3种糖的甜度不同引起的，也有可能是由于果蝇可以识别不同糖造成的，这个原因需要以后的实验进一步证实。不过，根据以前对于果蝇进食偏好的研究显示，这更可能是因为甜度的原因导致的^[23]。

作为食物中的另一重要组分，蛋白质的作用也不可忽视。在这里我们用了熟酵母作为食物进行测试，结果发现果蝇产卵对于酵母浓度有着强烈的偏好，而且没有体现出对糖浓度梯度的渐次分布。迄今为止，很多对糖特异性的受体蛋白和神经元已经被发现，而在哺乳动物中发现了针对谷氨酸的umami受体^[24]，但昆虫对蛋白质的偏好和检测机制还尚不清楚。同样在我们只提供蛋白质食物的时候，可以通过观察产卵的偏好反应来研究果蝇对蛋白质的反应机制。

这个模型里最大的优势就是果蝇作为模式生物，有清楚的基因背景和众多的转基因果蝇品系可以操作。从基因层面上，我们建立了稳定的行为模型，可以在这个基础上利用众多突变体品系进行筛选，找到那些和野生型的行为输出有明显差异的品系，以此进一步深入研究食物偏好和产卵偏好的分子通路。同样，我们也可以用Gal4-UAS系统来调节神经元的活性用来揭示参与这些过程的神经回路。其中我们在这里展示了一个用白喉毒素来阻断

果蝇嗅觉神经元的实验。众所周知，嗅觉对于动物寻找食物至关重要^[25]。Or83b是在昆虫中一种高度保守的嗅觉受体。在果蝇中被发现这种嗅觉受体是一种广泛非特异性的，可以作用于大多数的果蝇嗅觉感受神经元^[26]。在果蝇中，味觉系统对于食物的味道鉴别至关重要，但是之前也有研究表明，以Or83b为代表的嗅觉系统对于果蝇识别食物成分也很重要，并且进一步影响到它的寿命^[26]。所以这里我们也想知道Or83b神经元是否对产卵偏好有影响，我们用白喉毒素敲除了Or83b神经元后发现，嗅觉阻断的子代果蝇产卵分布与亲本果蝇产卵分布的卡方检验有显著差异。相比亲本组，嗅觉阻断的子代果蝇在10%~20%葡萄糖浓度区间产卵比例有明显降低，而在35%~50%区间的产卵比例有显著性的增高。这说明了嗅觉系统对果蝇产卵偏好的影响。进一步，从结果上可以看出，嗅觉神经元阻断后，果蝇仍然对产卵浓度有所偏好，所以说明嗅觉系统并不是直接决定糖浓度分辨能力的直接因素。我们希望利用毒素和不同表达模式的Gal4品系，对不同的神经元进行功能筛选，并结合其他实验方法最终确定一条完整的神经通路，这对于解码行为的神经编码机制将有很大的帮助。

上面的实验，都是通过改变食物或者果蝇本身来观察它的一个直接行为反应，接下去我们又设计了一个经典条件化的实验范式来检测这个模型是否可以对于行为可塑性进行研究。学习和记忆属于动物的高级功能，这种能力对于行为适应食物环境的改变至关重要^[27]。在自然界，由于季节的影响，光照时间和果实成熟时间有相关性，这对于昆虫的生存影响很大。所以我们在这里把食物环境和光照对应起来，想观察果蝇是否能学会以食物为非条件化刺激，将光照和黑暗作为条件化刺激和产卵结合起来。结果我们发现一段时间的训练后，果蝇可以成功地学会并且控制产卵的时段。这证明了通过训练，果蝇的产卵行为是具有可塑性的。这也就为我们以后用这个模型研究行为可塑性提供了基础。

综上所述，我们用经典的Sherrington模型构建了一个以食物环境为输入，果蝇产卵行为为输出的神经行为学的模型。并且通过对食物环境和果蝇自身系统的改变，检测了这个系统的有效性和可塑性，接下来我们将用这个模型进行对于食物偏好、产卵行为、条件化学习等等的神经和分子机制更加深入的研究。

参 考 文 献

- [1] Luo L, Rodriguez E, Jerbi K, *et al.* Ten years of Nature Reviews Neuroscience: insights from the highly cited. *Nat Rev Neurosci*, 2010, **11**(10): 718-726
- [2] 刘 力. 中国神经科学十年进程. *生物物理与生物化学进展*, 2011, **38**(8): 702-705
Liu L. *Prog Biochem Biophys*, 2011, **38**(8): 702-705
- [3] 李 洋, 唐 佳, 付子英, 等. 听觉中枢神经元对声信号的识别和处理. *生物物理与生物化学进展*, 2011, **38**(6): 499-505
Li Y, Tang J, Fu Z Y, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2011, **38**(6): 499-505
- [4] 朱 静, 郭兴焱, 马 园, 等. 小鼠对不同拓扑性质图形的识别. *生物物理与生物化学进展*, 2010, **37**(6): 613-617
Zhu J, Guo X Y, Ma Y, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2010, **37**(6): 613-617
- [5] Benzer S. Behavioral mutants of *Drosophila* isolated by countercurrent distribution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1967, **58**(3): 1112-1119
- [6] Bellen H J, Tong C, Tsuda H. 100 years of *Drosophila* research and its impact on vertebrate neuroscience: a history lesson for the future. *Nat Rev Neurosci*, 2010, **11**(7): 514-522
- [7] Gong Z F. Innate preference in *Drosophila melanogaster*. *Sci China Life Sci*, 2012, **55**(1): 8-14
- [8] Harbison S T, Mackay T F, Anholt R R. Understanding the neurogenetics of sleep: progress from *Drosophila*. *Trends Genet*, 2009, **25**(6): 262-269
- [9] Dahanukar A, Ray A. Courtship, aggression and avoidance: pheromones, receptors and neurons for social behaviors in *Drosophila*. *Fly (Austin)*, 2011, **5**(1): 58-63
- [10] Ferveur J F. *Drosophila* female courtship and mating behaviors: sensory signals, genes, neural structures and evolution. *Curr Opin Neurobiol*, 2010, **20**(6): 764-769
- [11] Griffith L C, Ejima A. Courtship learning in *Drosophila melanogaster*: diverse plasticity of a reproductive behavior. *Learn Mem*, 2009, **16**(12): 743-750
- [12] Yang C H, Belawat P, Hafen E, *et al.* *Drosophila* egg-laying site selection as a system to study simple decision-making processes. *Science*, 2008, **319**(5870): 1679-1683
- [13] 龚哲峰, 刘 力. 果蝇幼虫的视觉系统. *生物物理学报*, 2011, **27**(7): 588-595
Gong Z F, Liu L. *Acta Biophysica Sinica*, 2011, **27**(7): 588-595
- [14] Tang S, Guo A. Choice behavior of *Drosophila* facing contradictory visual cues. *Science*, 2001, **294**(5546): 1543-1547
- [15] Wang Z, Pan Y, Li W, *et al.* Visual pattern memory requires foraging function in the central complex of *Drosophila*. *Learn Mem*, 2008, **15**(3): 133-142
- [16] Jiang H, Hou Q, Gong Z, *et al.* Proteomic and transcriptomic analysis of visual long-term memory in *Drosophila melanogaster*. *Protein Cell*, 2011, **2**(3): 215-222
- [17] Ja W W, Carvalho G B, Mak E M, *et al.* Prandiology of *Drosophila* and the CAFE assay. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(20): 8253-8256
- [18] Guo A, Li L, Xia S Z, *et al.* Conditioned visual flight orientation in *Drosophila*: dependence on age, practice, and diet. *Learn Mem*, 1996, **3**(1): 49-59
- [19] Larsson M C, Domingos A I, Jones W D, *et al.* *Or83b* encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron*, 2004, **43**(5): 703-714
- [20] Mazzoni E O, Desplan C, Blau J. Circadian pacemaker neurons transmit and modulate visual information to control a rapid behavioral response. *Neuron*, 2005, **45**(2): 293-300
- [21] Thorne N, Chromey C, Bray S, *et al.* Taste perception and coding in *Drosophila*. *Curr Biol*, 2004, **14**(12): 1065-1079
- [22] Clyne P J, Warr C G, Carlson J R. Candidate taste receptors in *Drosophila*. *Science*, 2000, **287**(5459): 1830-1834
- [23] Masek P, Scott K. Limited taste discrimination in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(33): 14833-14838
- [24] Yarmolinsky D A, Zuker C S, Ryba N J. Common sense about taste: from mammals to insects. *Cell*, 2009, **139**(2): 234-244
- [25] 李安安, 饶小平, 吴瑞琪, 等. 磁共振脑功能成像在小动物嗅觉研究中的应用. *生物物理与生物化学进展*, 2010, **37**(1): 14-21
Li A A, Rao X P, Wu R Q, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2010, **37**(1): 14-21
- [26] Libert S, Zwiener J, Chu X, *et al.* Regulation of *Drosophila* life span by olfaction and food-derived odors. *Science*, 2007, **315**(5815): 1133-1137
- [27] 魏楚光, 李勇辉, 韩 锦, 等. 食欲素神经肽在应激过程中的作用. *生物物理与生物化学进展*, 2010, **37**(7): 713-719
Wei C G, Li Y H, Han J, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2010, **37**(7): 713-719

A Model System for Analyzing Behavioral Preference and Plasticity in *Drosophila* Egg-Laying*

WANG Yi-Jin**, WEN Sheng-Yun**, GONG Hai-Yun, Gong Zhe-Feng***, LIU Li***

(State Key Laboratory of Brain and Cognitive Science, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract Understanding the connection between sensory input and motor output is challenging. There is a need for good model systems to evaluate the molecular and neural mechanism of animal behavior. Here we show a new system for analyzing preference and plasticity of *Drosophila* egg-laying behavior. We found that selection of egg-laying site in flies is a good model to investigate the food preference in *Drosophila*. On sugar food with lower concentration, flies showed significant preference that was reduced upon the inhibition of olfactory pathway. Moreover, to examine the plasticity of egg-laying behavior, a new learning paradigm was devised. We associated light-dark cycle of egg-laying with different food conditions and found that flies could maintain egg-laying memory at least 3 days after training. This egg-laying system provides the basis for further study of molecular and neural mechanism underlying the relationship between environment and behavior.

Key words *Drosophila*, egg-laying, preference, behavioral plasticity

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00522

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31030037, 31070944) and the External Cooperation Program of Chinese Academy of Sciences (GJHZ1005).

**These authors contributed equally to this work.

***Corresponding author.

LIU Li. Tel: 86-10-64888550, E-mail: liuli@sun5.ibp.ac.cn

GONG Zhe-Feng. Tel: 86-10-64888527, E-mail: zfgong@moon.ibp.ac.cn

Received: November 19, 2011 Accepted: April 12, 2012