

研究简报

pH 对鱼类化学感觉的影响

THE EFFECTS OF pH ON CHEMORECEPTION IN FISHES

Peter B. Johnson

(Monell Chemical Senses Center, University
of Pennsylvania U. S. A.)

周洪琪

(上海水产大学)

Zhou Hongqi

(Shanghai Fisheries University)

彼得·约翰逊

(美国宾夕法尼亚大学,蒙尼尔化学感觉中心)

关于硬骨鱼类的嗅、味感觉器官在解剖学和生理学方面的研究成果,许多学者都发表过综述文章(Kleerekoper 1969, Bardach 和 Atema 1971, Bardach 和 Villars 1974, Kapoor 等 1976, Brown 和 Hara 1982, Tucker 1983),最近十几年,对于鱼类化学感觉的电生理研究,主要在于一些天然物质、氨基酸及其衍生物对于嗅、味觉系统的相对刺激效果,刺激物的分子结构与刺激效果的关系,以及刺激物与感受细胞膜上的感受点相互作用的机制,而对于人为因素如捕捞、环境因素 pH、污染对鱼类嗅、味觉的影响报导甚少(Hara 1976, 1978, Konishi 等 1969, Tucker 1973, Silver, 1978, Cancelon 1980, Hidaka 1970)。

鱼类的嗅、味觉在鱼类生命活动如摄食、洄游、生殖、逃避敌害、群体的控制等等行为中起重要的作用,当人们利用鱼类嗅、味觉的一些生理活动规律为生产实践服务时, pH 是不可忽视的一个因素,本试验以重要的生物信息分子氨基酸为刺激物,研究 pH 对于鱼类嗅、味觉系统对氨基酸敏感性的影响。

材料与方 法

嗅觉试验以斑点叉尾鲟(*Ictalurus punctatus*)为材料,试验鱼体长 16~20cm,暂养在室温水族箱内。味觉试验以罗非鱼(*Tilapia zillii*)为材料,试验鱼体长 6~11cm,暂养在控温(25.5~28.5°C)充气的水族箱内。二种试验鱼周日每天投饵一次。实验前,MS 222 麻醉试验鱼(1:20000),然后肌肉注射箭毒(0.1mg/100g 体重),湿纸包裹鱼体,侧卧于鱼台上,整个试验过程中保持活性碳过滤,充气的水自口腔流入,下面一侧的鳃裂流出,保证试验鱼的正常呼吸。

嗅电图(Electro-olfactogram EOG)的描记:剪去前后鼻孔之间的鼻瓣,暴露嗅囊,二个甘汞电极分别与二个充满了 Ringer 琼脂的毛细管相连,一根毛细管置于嗅囊中央作记录电极,另一根毛细管置于嗅囊附近的头部作参考电极,上唇接地,嗅觉生物电讯号由二根毛细管盐桥经甘汞电极、前置放大器,显示在示波器上,记录在描笔记录仪上。

面神经的味觉反应描记:摘除试验鱼上侧眼球,暴露和分离面神经,将面神经分支置于二个铂电极上,滴3~4滴矿物油在神经上,以免神经干燥,味觉生物电讯号由铂电极经前置放大器,显示在示波器上,记录在描笔记录仪上。

嗅觉试验时,每周配制 $10^{-3}M$ 精氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸和丙氨酸的刺激原液,保存于8°C冰箱中,试验当天稀释为 $10^{-4}M$ 的刺激液,按实验需要调节 pH。味觉试验时,每周配制 $10^{-2}M$ 天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸和丙氨酸刺激原液,保存于8°C冰箱中,试验当天稀释为 $10^{-3}M$ 刺激液,按实验需要调节 pH。

刺激液由样品注射器送到斑点叉尾鲟的嗅上皮或罗非鱼的上唇, Commodore 64 微机控制选择样品、样品注射阀以及描笔记录仪,每次给予 1ml 刺激液。记录嗅电图时,刺激时间间隔为 150 秒,记录味觉反应时,刺激时间间隔为 210 秒,在间隔期间连续流水经过嗅上皮或上唇。光电比色法确定流到嗅上皮或上唇的刺激液至少被稀释 23%。

结 果

一、pH 对嗅觉的影响

浓度为 $1.0 \times 10^{-4} M$ 的三种不同类型氨基酸: 精氨酸、半胱氨酸和天冬氨酸, 在不同 pH 条件下刺激斑点叉尾鲟的嗅上皮, 记录嗅电图 (EOG), 反应的大小由反应的底线到顶峰的间距表示。以丙氨酸诱发的反应的大小为 100%, 计算三种氨基酸的相对刺激效果 (表 1, 表 2 和表 3), 结果近等电点的氨基酸刺激可以得到最大的嗅觉反应, 精氨酸在 pH 为 11.3 时相对刺激效果最大, 半胱氨酸在 pH 为 5 时相对刺激效果最大, 天冬氨酸在 pH 为 3 时相对刺激效果最大 (图 1, 图 2 和图 3)。

表 1 $1.0 \times 10^{-4} M$ 精氨酸在不同 pH 条件下对斑点叉尾鲟嗅上皮的相对刺激效果 (RSE)

Tabel. 1 Relative stimulatory efficacy of $1.0 \times 10^{-4} M$ Arginine tested at different pH in channel catfish

pH	相对刺激效果 %丙氨酸 $\bar{x} \pm S. D$
6.8	95.7 \pm 58.9
9.9	228.1 \pm 199.8
10.9	261.5 \pm 151.8
11.3	485.8 \pm 292.9

表 2 $1.0 \times 10^{-4} M$ 半胱氨酸在不同 pH 条件下对斑点叉尾鲟嗅上皮的相对刺激效果 (RSE)

Tabel. 2 Relative stimulatory efficacy of $1.0 \times 10^{-4} M$ Cysteine tested at different pH in channel catfish

pH	相对刺激效果 %丙氨酸 $\bar{x} \pm S. D$
4	212.5 \pm 83.3
5	268.4 \pm 95.7
7	163.3 \pm 97.9
8	205.5 \pm 93.7

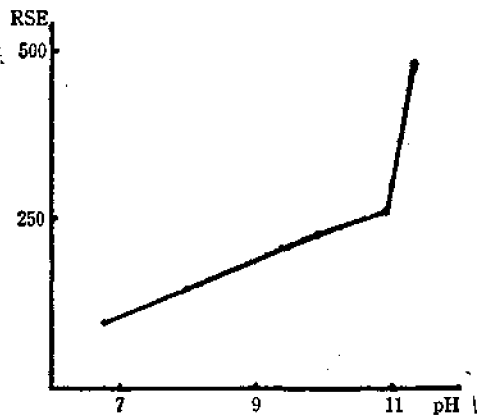


图 1 $1.0 \times 10^{-4} M$ 精氨酸的嗅觉反应与 pH 的关系

Fig. 1 Olfactory response-pH relations of $1.0 \times 10^{-4} M$ Arginine

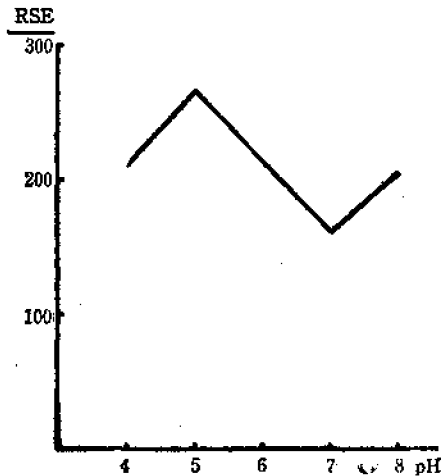


图 2 $1.0 \times 10^{-4} M$ 半胱氨酸的嗅觉反应与 pH 的关系

Fig. 2 Olfactory response-pH relations of $1.0 \times 10^{-4} M$ Cysteine

表 3 $1.0 \times 10^{-4}M$ 天冬氨酸在不同 pH 条件下对斑点叉尾鲷嗅上皮的相对刺激效果(RSE)

Table 3 Relative stimulatory efficacy of $1.0 \times 10^{-4}M$ aspartic acid tested at different pH in channel catfish

pH	相对刺激效果 %丙氨酸 $\bar{x} \pm S. D$
2.3	249.5 \pm 123.1
3	262.5 \pm 123.2
5.8	20 \pm 24.7
8.9	114.5 \pm 2.9

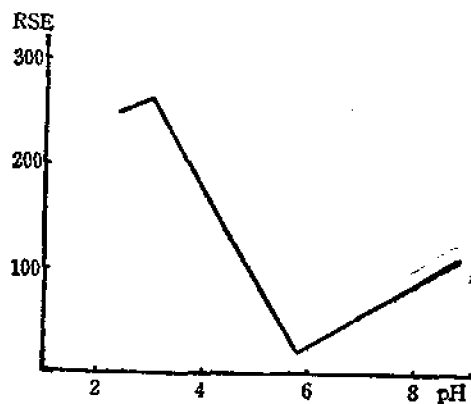


图 3 $1.0 \times 10^{-4}M$ 天冬氨酸的嗅觉反应与 pH 的关系

Fig. 3 Olfactory response-pH relations of $1.0 \times 10^{-4}M$ aspartic acid

二、pH 对味觉的影响

罗非鱼对氨基酸味觉反应的试验结果指出, $1.0 \times 10^{-4}M$ 精氨酸、天冬氨酸和谷氨酸是强的味刺激物, 它们的 pH 分别为 9.1、3.4 和 3.6, 为了试验 pH 对味觉反应的影响, 调节每种氨基酸溶液的 pH 分别为 7.5, 刺激罗非鱼上唇, 记录面神经分支上的味觉生物电反应, 以反应的底线到顶峰的间距表示反应的大小, 丙氨酸诱发的反应为 100%, 计算精氨酸、天冬氨酸和谷氨酸的相对刺激效果, T 检验结果, pH 显著地影响谷氨酸和天冬氨酸的刺激效果, 对精氨酸无显著性影响(表 4)。

表 4 pH 对精氨酸、谷氨酸和天冬氨酸刺激效果的影响

Table 4 pH effects on stimulatory effectiveness of arginine, glutamic acid and aspartic acid

$1.0 \times 10^{-4}M$ 氨基酸	pH	相对刺激效果 %丙氨酸 $\bar{x} \pm S. D$	T 检验
精氨酸	9.1	145.4 \pm 28.2	$P > 0.05$
	7.5	121.3 \pm 34.2	
谷氨酸	3.6	161.6 \pm 40	$P < 0.01$
	7.5	67.2 \pm 25	
天冬氨酸	3.4	158.4 \pm 66.8	$P < 0.01$
	7.5	40.8 \pm 6.3	

讨 论

酸性氨基酸天冬氨酸、碱性氨基酸精氨酸和中性氨基酸半胱氨酸在不同 pH 条件下刺激斑点叉尾鲷嗅上皮的试验结果指出, 对于不同的氨基酸, 嗅觉反应与 pH 的关系是各不相同的, 然而却存在着共同的规律性, 即近等电点的氨基酸刺激可以得到最大的相对刺激效果(图 1、图 2 和图 3), 相同的刺激浓度 $1.0 \times 10^{-4}M$, pH 为 5 时, 半胱氨酸的相对刺激效果为最大; pH 为 3 时, 天冬氨酸的相对刺激效果最大; pH 为 11.3 时, 精氨酸的相对刺激效果最大。Hara (1976) 记录虹鳟 (*Salmo gairdneri*) 嗅球反应 (EEG) 时也观察到相似的结果。斑点叉尾鲷的嗅感受器上存在四种不同类型的感受点, 它们分别与酸性氨基酸、碱性氨基酸、亲水性中性氨基酸以及疏水性中性氨基酸结合 (Caprio 1984)。氨基酸溶液的 pH 变化

影响到氨基酸分子中氨基和羧基的游离,等电点时的氨基酸带着相同的正负离子呈电中性,很可能近等电点的天冬氨酸与酸性氨基酸感受点的亲和性最大,近等电点的半胱氨酸与中性氨基酸感受点的亲和性最大,近等电点的精氨酸与碱性氨基酸感受点的亲和性最大,因而能够得到最大的嗅觉反应,然而对于鱼类嗅觉感受器上感受点的化学本质还有待于今后进一步研究。

目前鱼类的味感受机制尚在研究之中。一般说味觉主要涉及二个因素,味刺激物和味感受器的分子识别。

味刺激物具有不同的滋味,主要是由于不同的化学键结构而产生的,如质子键、盐键、氢桥、范德华键的结构分别是产生酸、咸、甜、苦的定味基,氨基酸是多官能团分子,具有酸、咸、甜、苦、鲜各种滋味,不同的氨基酸由于分子结构上的差异,它们的滋味也是不同的,如谷氨酸和天冬氨酸具有酸性侧链结构,其味以酸为主,略带咸鲜味,精氨酸具有碱性侧链结构,其味以苦为主,略带甜味。在中性溶液里氨基酸

有 $\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\ | \\ \text{RCHCO}_2^- \end{array}$ 、 $\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\ | \\ \text{RCHCO}_2\text{H} \end{array}$ 、 $\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ | \\ \text{RCHCO}_2^- \end{array}$ 等不同形式,当 pH 变化,这些不同形式的平衡将有改变,所以氨

基酸的味道也发生相应的变化。浓度相同的条件下,近等电点的谷氨酸和天冬氨酸的溶液为酸性,这些溶液的酸味比中性的谷氨酸和天冬氨酸溶液的酸味更强,这种变味对罗非鱼很适口,罗非鱼偏爱带酸味的饵料,Adams等(待发表)对罗非鱼的摄食行为试验中观察到,添加柠檬酸的饵料能促进试验鱼摄食。浓度相同的条件下,近等电点的精氨酸溶液为碱性,其味比中性的精氨酸溶液更苦,苦味是鱼类所厌恶的,Hidaka等(1976)观察到东方鲀(*Fugu pardalis*)即使把含有奎宁的淀粉团吃到嘴里也会立即吐出来。

pH 所引起的氨基酸变化也影响到味觉的分子识别。味感的初始反应是味刺激物与味受体之间构像的相互匹配,继而产生质子的中和、盐键的交换、疏水键合等化学反应,受体的构像发生相应的变化,结果就产生了特殊的味感信号,经过味神经纤维传入中枢,pH 导致的氨基酸变化直接影响到氨基酸与味受体之间的构像匹配以及键合作用,因而味感信号、味神经上生物电变化也发生了相应的变化。

由此可见,pH 对于鱼类味感受器对氨基酸敏感性的影响,主要通过二个途径,一是改变氨基酸本身的滋味,二是影响味感受器对分子的识别,如果受 pH 影响的氨基酸滋味变得更为适口、又有利于该氨基酸与味受体之间的构像匹配以及键合作用,味感受器对这样的氨基酸如谷氨酸和天冬氨酸的敏感性就显著增加,反之 pH 使氨基酸变味的结果为鱼所厌恶、又有碍于氨基酸与味受体的构像匹配,味感受器对这种氨基酸如精氨酸的敏感性不发生显著性的变化,也可能使敏感性减少。精氨酸的摄食试验效果还有待于今后进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 曾广植、魏诗泰, 1984. 味觉的分子识别. 科学出版社.
- [2] Bardach, J. E. and J. Atema, 1971. The sense of taste in fishes. In L. M. Beidler (ed.). Handbook of sensory physiology. 4: 293—336. Springer-Verlag, Berlin.
- [3] Bardach, J. E. and T. Villars, 1974. The chemical senses of fishes. In P. T. Grant and A. M. Mackie (eds.). Chemoreception in marine organisms. 49—104. Academic Press, New York.
- [4] Brown, S. B. and T. J. Hara, 1982. Biochemical aspects of amino acid receptors in olfaction and taste. In T. J. Hara (ed.). Chemoreception in fishes. 159—180. Elsevier, Amsterdam.
- [5] Cancalon, P., 1980. Effect of salts, pH and detergents on the catfish olfactory mucosa. In H. Van der Starre (ed.). Olfaction and taste VII: 73—76. IRL Press, London.
- [6] Caprio, J. and R. P. Byrd, 1984. Electrophysiological evidence for acidic, basic and neutral amino acid olfactory receptor sites in the catfish. *J. Gen. Physiol.*, 84: 403—422.
- [7] Hara, T. J., 1975. Olfaction in fish. *Prog. Neurobiol.*, (Oxford). 5: 271—335.
- [8] —, 1976. Effects of pH on the olfactory responses to amino acids in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 54A: 37—39.
- [9] Kapoor, B. G. et al., 1975. The gustatory system in fish. *Adv. Mar. Biol.*, 13: 53—108.
- [10] Kleerekoper, H., 1969. Olfaction in fishes, 222. Indiana University Press, Bloomington.
- [11] Tucker, D., 1983. Fish chemoreception: Peripheral anatomy and physiology. In Davis, R. E. and R. G. Northcutt (eds.). *Fish neurobiology*. 1: 812—849.