

南方鲇上下颌须神经分支的电生理研究^{*}

赵 磊¹, 龙天澄²

(1. 广州医学院生理教研室, 广东 广州 510282

2. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 南方鲇头面部的皮肤受外界机械和化学物质刺激时采用电生理技术记录其面神经主要感觉支 (上下颌须神经) 的诱发放电。结果表明: 由须的基部到顶端上下颌须神经对机械刺激的反应频率和幅度逐渐增强; 上颌须神经相对下颌须神经有更高的味觉敏感性, 其反应的幅度和频率更大, 且阈值较低变化率大。两者都有脱敏和适应性现象; 上下颌须神经含有 3 种类型单纤维, 这 3 类单纤维及其联系的味蕾感受器可能构成 3 种基本的味觉单元。

关键词: 南方鲇 (*Silurus meridionalis* Chen), 上颌须神经; 下颌须神经; 诱发放电

中图分类号: Q424 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2007) 06-0069-05

鱼类的味觉器官——味蕾分布于鱼类身体表面、口腔、咽部和食道区域的皮肤和粘膜之中形成特有的口外和口内味觉。分布于体表的味蕾受面神经支配形成口外味觉系统。鱼类利用口外味觉定位食物, 还能辨别生活环境中的各种可溶性信息物质^[1]。所以鱼类在水环境中摄食行为与其发达的口外味觉感受功能密切相关。早有行为学的研究证实鱼类的味蕾对氨基酸物质敏感, 会引起鱼类的竞争性摄食行为^[2-3]。但是鱼类口外味觉与化学刺激物之间的相互关系研究不多。而探讨鱼类的口外味觉机理, 首先要从其传入神经——面神经入手, 这样不仅能阐明动物化学感觉功能外周表达的一般原则, 而且为后来味觉信息的中枢处理模式研究提供了基础。不同种的鱼类由于其生活环境、体形、食性等不同造成其口外味觉效应也不同, 具有种属特异性。而同种的鱼类其味蕾的着生部位、形态不同, 造成的口外味觉反应也有变化, 所以不同的面神经分支其味觉功能也有差别。南方鲇为广东省普遍养殖的经济鱼类, 底栖喜食浮游生物、小型鱼虾等活饵。由于其体表遍布数量繁多的味蕾成为味觉研究的动物模型。本文在对南方鲇外周味觉感受器和中枢神经系统形态学研究的基础^[4], 应用电生理学方法记录面神经不同感觉分支的味觉反应, 从而探讨面神经的不同神经分支所支配的不同部位皮肤的味觉反应特性和氨基酸作为促摄饵物质的可能性, 以及味觉感受在行为控制上的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

五月龄南方鲇 (*Silurus meridionalis* Chen), 450~650 g 尾, 体长 30 cm, 雌雄不拘。购于广东省水产研究所南海养殖基地。实验室 24 h 循环水中饲养, 7 d 后使用。

1.2 上下颌须神经的复合动作电位记录

选取南方鲇 30 尾。含 MS222 (150 mg/L) 的水中麻醉后手术, 手术过程中通以含 MS222 (90 mg/L) 循环水进行人工呼吸。暴露上和下颌须神经分支, 游离周围组织, 在两条神经各自的外周端放置一对 Ag—AgCl 电极记录神经放电。10 mL/min 过滤水各自流经上颌须和下颌须表面皮肤, 在水流中添加 0.5 mL 10^{-3} mol/L 的刺激物质 6 种 L 型氨基酸 (丙氨酸、精氨酸、组氨酸、甘氨酸、甲硫氨酸和赖氨酸) 和奎宁 (pH 7.1~7.8)。

1.3 上下颌须神经的单纤维动作电位记录

选取南方鲇 30 尾。麻醉如 1.2 所述。体视显微镜下用游丝镊和玻针剥去神经膜, 细分神经纤维。分离出来的纤维细丝搭在单极银丝电极上, 判明其反应为“全或无”式的, 且放电幅度相同, 即可记录单纤维的传入冲动。单纤维的信号以刺激后 3 s 内的脉冲个数代表反应强度。

1.4 交叉适应性试验

选取南方鲇 10 尾。各用 10^{-3} mol/L 的 L-丙氨

* 收稿日期: 2007-04-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30070104)

作者简介: 赵磊 (1979 年生), 女, 讲师, 通讯联系人: 龙天澄, E-mail: crys@zhu1979@yahoo.com.cn

酸或 L-精氨酸做适应性刺激物代替水流冲洗上颌须或下颌须 10 min, 然后停用刺激物质, 用水流冲洗 10 min 后, 再在水流中添加同样浓度物质刺激上颌须或下颌须 10 min。

所有实验引导出的脉冲信号进入多通道生物信号采集系统 (BI420E⁺) 进行数据记录与分析。

2 结 果

2.1 机械刺激反应的电生理记录

图 1 表明上下颌须神经在上下颌须表面皮肤受到机械刺激时诱发产生的放电情况。上下颌须神经对机械刺激的反应由须的基部到顶端, 频率和幅度逐渐增强。而同样须的顶端部位, 上颌须神经的反应更强。且机械刺激的效应具有明显的开始和结束效应。

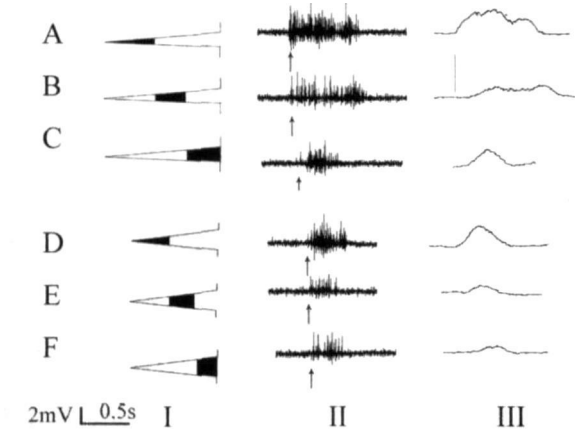


图 1 上下颌须神经分支受到机械刺激时产生的诱发放电
Fig 1 When the maxillary and mandibular beards are stimulated mechanically evoking discharges are recorded

A→C: 刺激部位由上颌须顶端部位到基部; D→F: 刺激部位由下颌须顶端部位到基部; I: 胡须刺激模式图; II: 机械刺激产生的诱发放电; III: 诱发放电的积分图形; 箭头指刺激开始

2.2 复合动作电位记录

当化学物质溶液流经上下颌须表面, 从两种神经分支可记录到神经冲动信号。结果表明 6 种氨基酸和奎宁都能引起上颌须和下颌须味蕾的味觉反应。分别以味觉反应相对强度的对数值为纵坐标, 刺激物浓度的对数值为横坐标, 做出剂量反应特性曲线 (图 2)。反映出刺激物浓度趋于负无穷时, 反应的相对强度趋于零; 在一定范围内, 随着刺激物浓度的增加, 味觉反应增强。但当浓度增加到一定程度后, 各种物质引起的味觉反应强度的增长变缓。各反应特性曲线的延长线与对照实验 (清水冲击产生的反应) 相交点得出此时对应的刺激物

浓度, 以此作为该刺激物的感觉阈值。采用 Weber—Fechner 模型: $N = A \lg S + B$ (N : 相对反应强度; S : 刺激物质浓度) 对两者的关系进行回归分析, 得出相对反应强度随刺激物浓度 (S) 的变化率 (A)。表 1 比较了这 6 种氨基酸物质和奎宁在上下颌须引起反应的感觉阈值和 A 值。从表中可以看出, 上颌须味蕾相比下颌须味蕾对 5 种物质 (L-丙氨酸、L-精氨酸、L-甘氨酸、L-甲硫氨酸和 L-赖氨酸) 有较高的味觉敏感性, 这些物质在上颌须引起的反应幅度和频率更强, 且阈值更低变化率更大。而下颌须味蕾对 2 种物质 (L-组氨酸和奎宁) 有较高的味觉敏感性。各物质的刺激效应不同, 其中 L-丙氨酸、L-精氨酸、L-组氨酸和奎宁反应明显。

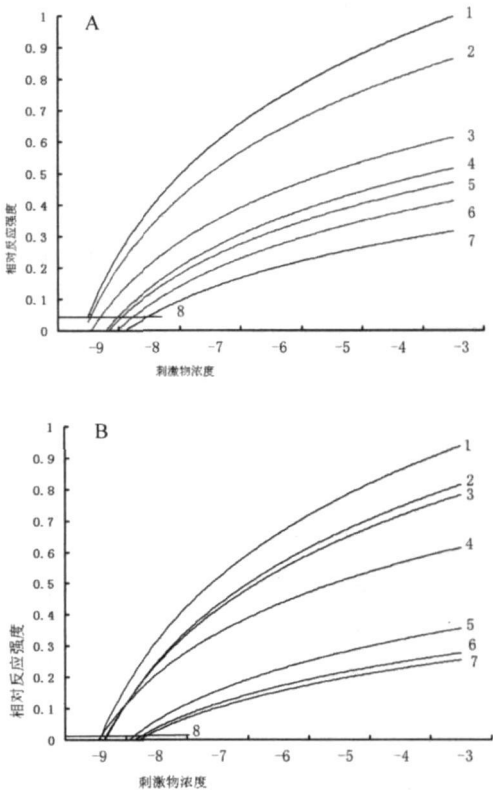


图 2 6 种氨基酸和奎宁在上颌须支 (A) 和下颌须支 (B) 引起的味觉反应

Fig 2 The connections between the evoking taste responses and the concentration of 6 amino acids and quinine from the maxillary and mandibular branches

1: L-丙氨酸; 2: L-精氨酸; 3: 奎宁; 4: L-组氨酸; 5: L-赖氨酸; 6: L-甘氨酸; 7: L-甲硫氨酸; 8: 水流冲击

2.3 单纤维反应

在记录的 400 根单纤维中, 80% 同时对机械刺激和味觉刺激有反应, 10% 只对机械刺激有反应,

表 1 6种氨基酸和奎宁对不同部位的味觉相对效应

Tab 1 Comparative taste responses of 6 amino acids and quinine in different positions		
刺激物质	变化率 (A)	阈值
L-丙氨酸 (L-Ala)	0.498*	$10^{-9 \pm 0.6}$
L-精氨酸 (L-Arg)	0.489**	$10^{-9 \pm 0.4}$
L-组氨酸 (L-His)	0.455*	$10^{-9 \pm 0.5}$
L-赖氨酸 (L-Lys)	0.430**	$10^{-9 \pm 0.3}$
L-甘氨酸 (L-Gly)	0.324**	$10^{-8 \pm 0.6}$
奎宁 (QHCL)	0.323*	$10^{-8 \pm 0.6}$
L-甲硫氨酸 (L-Met)	0.432**	$10^{-9 \pm 0.8}$
L-丙氨酸 (L-Ala)	0.305*	$10^{-8 \pm 0.1}$
L-精氨酸 (L-Arg)	0.179**	$10^{-7 \pm 0.8}$
L-组氨酸 (L-His)	0.263*	$10^{-7 \pm 0.2}$
L-赖氨酸 (L-Lys)	0.234**	$10^{-7 \pm 0.1}$
L-甘氨酸 (L-Gly)	0.214*	$10^{-6 \pm 0.8}$
奎宁 (QHCL)	0.199**	$10^{-6 \pm 0.6}$

* 刺激部位为上颌须, ** 刺激部位为下颌须

10%只对味觉刺激有反应。复合神经冲动信号测得的相对反应强度较大的味觉刺激物,记录到反应的单纤维数也较多。单纤维电活动的记录结果表明,神经纤维对刺激物的反应与否、反应的强弱呈现一定的规律。从特性来看,此种味觉反应呈典型的位相性反应,即在受到有味物质刺激后,立即产生高频率的向中发放,发放神经冲动的时间却较短。随着刺激物浓度的增加,电冲动发放增强。大部分纤维只限于对单种刺激物有反应,少数纤维对2种刺激物有反应。其中对味觉刺激有反应的单纤维中,约50%的纤维对单种刺激物质(L-丙氨酸、L-精氨酸、L-组氨酸和奎宁)敏感有较大频率的放电反应(I),对 10^{-3} mol/L丙氨酸有反应的I型纤维放电频率为5~6次/s;20%的纤维同时对两种刺激物质(L-丙氨酸+L-精氨酸, L-组氨酸+奎宁)有最大频率的放电反应(II),对 10^{-3} mol/L丙氨酸+精氨酸有反应的II型纤维放电频率为6~9次/s;30%的神经纤维对其他刺激物质(L-赖氨酸、L-甘氨酸和L-甲硫氨酸)有反应,但反应都较弱,放电频率较小(III)。同时I、II型细胞无自发放电背景,但对机械刺激有反应。且II型细胞对机械刺激的敏感性高于I型细胞。II型细胞有低自发放电率,但是对机械刺激没有反应。这3类纤维及其联系的味蕾感受器可能构成3种基本的味觉单元。图3是I、II和III型单纤维传入冲动的记录图。

2.4 适应性反应

交叉适应性反应如图4 将L-丙氨酸作为适

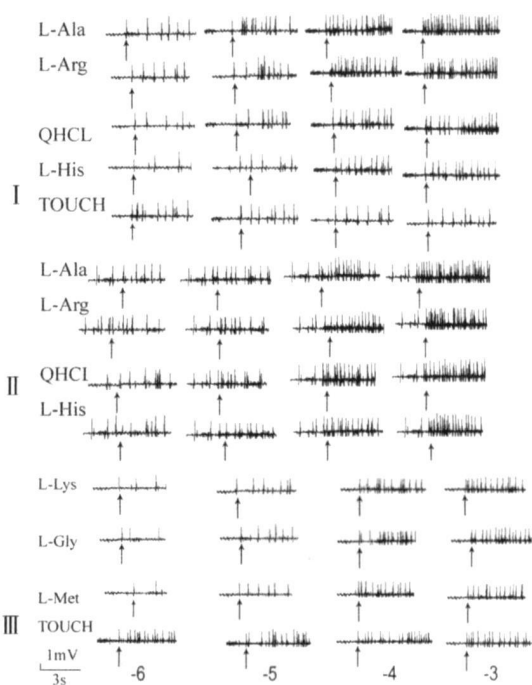


图3 I、II和III型单纤维在不同化学和机械刺激作用下的传入冲动图

Fig. 3 The evoking discharges of type I, II and III filament when they are stimulated by the different chemical and mechanical stimulus

I: I型单纤维对 10^{-6} mol/L→ 10^{-3} mol/L L-丙氨酸、L-精氨酸、L-组氨酸、奎宁和机械刺激下的传入冲动图; II: II型单纤维对 10^{-6} mol/L→ 10^{-3} mol/L L-丙氨酸+L-精氨酸, L-组氨酸+奎宁刺激下的传入冲动图; III: III型单纤维对 10^{-6} mol/L→ 10^{-3} mol/L浓度L-赖氨酸、L-甘氨酸、L-甲硫氨酸和机械刺激下的传入冲动图
(箭头表示刺激物质开始到达胡须表面)

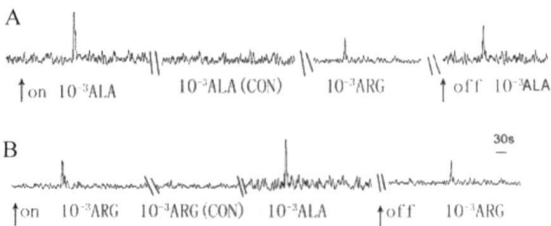


图4 L-丙氨酸(L-ALA)和L-精氨酸(L-ARG)引起的上颌须神经(A)和下颌须神经(B)的相互交叉适应性反应

Fig. 4 Reciprocal cross-adaptation studies indicate the presence of relatively independent receptor mechanisms for alanine and arginine for the maxillary (a) and mandibular (b).

应性物质代替水流连续不断冲洗外周皮肤, 10min后在上颌须和下颌须神经上记录到的原有放电信号消失, 出现脱敏现象, 但是对L-精氨酸的反应不变未受影响。停用L-丙氨酸改用水流冲洗, 10min后对L-丙氨酸反应重新出现。说明两种氨

基酸的反应互相不受影响。用 L-精氨酸作适应性刺激物同样出现适应性和脱敏现象。

3 讨 论

3.1 触觉和味觉的重叠效应

早期研究已证明鱼类的味觉是通过面神经、舌咽神经和迷走神经进行传导的。面神经主要调节控制口外的头部、体部等皮肤的味觉与触觉的感受。鱼类整个身体表面遍布味蕾。与其味觉功能相适应,面神经分支颇多。包括有眼部浅支、颊支、颚支、舌颌支、上颌须和下颌须支。其中最主要的是上下颌须神经分支^[4]。已知鱼类的摄食行为同时与其受到的机械和化学物质刺激有关^[3 5-8]。在鱼类的味觉信息图谱中机械和化学刺激引起的反应图谱发生重叠,提供了将触觉和味觉相互联系进行研究的神经结构平台。尽管单独的化学刺激也可以引起摄食行为的产生,但是水流伴随产生的机械刺激通过降低味蕾的感受阈值来加强味觉效果。不仅仅是鱼类,例如蛙类、鼠类和羊类的孤束核^[9-11]也存在这种现象。

3.2 味觉反应特性

当味觉物质溶液流经南方鲇上下颌须表面,记录到瞬时增加的神经冲动信号。由于实验过程中使用了可以阻断中枢神经传出影响的麻醉剂,同时一直采用清水灌洗皮肤,消除了系统中机械刺激的影响,保证记录结果是味觉感受的传入信号。用作实验的氨基酸和奎宁都能引起味觉反应,呈现典型的位相性反应,这是一般快反应感受器的特征。因此,此味蕾属于快适应的化学感受器。快适应有利于接受新刺激,以便不断进行探测性的活动。电生理记录的味觉反应相对强度随着刺激物浓度的增加而增加,当刺激物的浓度很低时,反应逐渐下降,趋近于零。从剂量反应的关系中还可看出,当刺激物浓度较大时,曲线渐趋于平缓,再增大刺激,也难以观察到味觉反应强度的增加,此现象意味着感觉饱和,是化学感受器一般都具有的特性,与感受器膜上受体数量有关。研究发现,味觉刺激作用较强的物质,更容易引起饱和。由单纤维记录的结果表明,上下颌须部的味觉有一些基本的味觉单元,某些刺激物能够引起特定味觉单元的反应。就目前的研究,可区分出 3 种基本味觉单元。其中 I 和 II 型属于“专用”型,反应谱较窄,具有相对固定的反应模式,能对较稳定和可预知的环境因素作出反应。II 型属于“通用”型,具有较宽的反应谱,对变化和根本不可预知的环境因素作出反应,使鱼类适应复杂的环境。

3.3 味觉敏感性和交叉适应性

鱼类味觉对刺激物的剂量反应关系,取决于鱼的种类和用于实验的各种刺激物^[12-14]。对南方鲇上下颌须部味蕾在同一浓度下不同物质刺激下的相对反应强度进行比较,可以看出刺激物质、刺激部位不同,其味觉敏感性的高低不同。通常认为相对反应强度较大,阈值较低的刺激物,味觉反应的敏感性较高,其刺激效应也较强。电生理记录表明在 7 种物质中,在上下颌须敏感性最高的都是 L-丙氨酸。其中: L-丙氨酸 > L-精氨酸 > 奎宁 > L-组氨酸 > L-赖氨酸 > L-甘氨酸 > L-甲硫氨酸。除了 L-组氨酸和奎宁,其他刺激物质在上颌须引起的反应更强,阈值更低,变化率更大,而 L-组氨酸和奎宁刚好相反。而且 L-精氨酸和 L-丙氨酸的交叉适应性反应说明在这两种神经外周分布区域中皮肤的味觉受体细胞具有 2 种氨基酸独立的接受位点,彼此不受影响,既可以同时也可以各自产生反应。这种味觉敏感性的不同,可能是因为上下颌须表面味觉感受器受体的结构不同或作用机理不一样,也可能是由于长期适应不同的生活环境产生的味觉变化,需要作进一步研究。

参考文献:

- [1] ATEMA J. Structures and functions of the sense of taste in the catfish *Ictalurus natalis* [J]. *Brain Behave Evolution* 1971; 4: 273-294.
- [2] CAPRID J. Olfaction and taste in the channel catfish: an electrophysiological study of the responses to amino acids and derivatives [J]. *Comparative Physiology* 1978; 123: 357-371.
- [3] CAPRID J, BRAND JG, TEETER JH, et al. The taste system of the channel catfish: From biophysics to behavior [J]. *Trends Neuroscience* 1993; 16: 192-219.
- [4] 赵磊, 梁剑弦, 龙天澄. 鲇鱼延脑初级味觉中枢的比较研究 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2005; 44(2): 127-129.
- [5] FINGER TE. The Gustatory System in Teleost Fish [M] // *Fish Neurobiology* Mich Ganj. University of Michigan Press; 1983: 286-288.
- [6] FUJIYAMA, BARDACH JE. A comparison between the external taste sense of marine and freshwater fishes [J]. *Bulletin Japan Society Science Fish* 1966; 32: 45-56.
- [7] ISHIDA Y, HIDAKA J. Gustatory response profiles for amino acids, glycinebetaine and nucleotides in several marine teleosts [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1987; 53(8): 1391-1398.
- [8] JOHNSON P B, TEETER JH. Spatial gradient detection

of chemical cues by catfish[J]. Comparative Physiology 1981 140 95—99

[9] HANAMORI T NAKASHIMA M ISHIKO N Responses of cerebellar cortex to electrical stimulation of the glossopharyngeal nerve in the frog [J]. Neuroscience Letter 1986 68 (3): 345—350

[10] KERR FW. Facial vagal and glossopharyngeal nerves in the cat[J]. Achieve Neurology 1962 19 211—222

[11] MISIREITA CM How the anterior tongue and taste responses are mapped onto the NST in fetal and perinatal sheep[J]. Chemistry Senses 1988 13 719—720

[12] JOHNSON P B ADAMS M A. Chemical feeding stimulants for the herbivorous fish Tilapia zillii [J]. Comparative Biochemistry Physiology 1986 83A 109—112

[13] KIKOHARA S YAMASHITA S HARADA S High sensitivity of minnow gustatory receptors to amino acids [J]. Physiology Behavior 1981 24 1103—1108

[14] REUTHER K. Taste organ in the Bullhead Teleostei [J]. Cell Biology 1978 55(1): 1—98

The Electrophysiological Research on the Maxillary and Mandibular
Branches of Silurus meridionalis Chen

ZHAO Lei LONG Tian chen

- (1. Department of Physiology Research, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510282, China;
2. School of Life Sciences, SunYat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract When the surface skins of southern catfish were stimulated by the mechanical and chemical subjects the evoking discharges were recorded from the main sense branches (maxillary and mandibular branches) of the facial nerve by the electrophysiological techniques. The results are: The frequencies and scopes of evoking discharges from the beards base to the top by the mechanical stimulus are raised. The maxillary branch has higher taste sensitivity, lower value, bigger rate, frequency and scope than the mandibular branch. All have the insensitivity and adaptation. There are three types of filaments in the maxillary and mandibular branches. The three type filament and their connected taste buds constitute three basic taste units.

Key words southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen); maxillary branch; mandibular branch; evoking discharge