

奥尼罗非鱼嗅上皮对小肽和蛋白酶解物的 EOG 反应

梁春梅 1, 潘庆 1* 汪小东 2 何芬 1 毕英佐 1

(1. 华南农业大学动物科学学院水产养殖系, 广东 广州, 510642;

2. 广东海大实业集团, 广东 广州, 511400;

摘要: 通过记录奥尼罗非鱼嗅上皮产生的嗅电图 (electro-olfactogram, EOG) 反应, 研究了几种小肽 (谷胱甘肽 GSH、丙谷二肽、肌肽、双甘氨肽、阿斯巴甜) 和几种蛋白酶解物 (鱼粉酶解物、两种大豆酶解物) 对罗非鱼嗅觉刺激效果。结果表明: 刺激物引发罗非鱼嗅上皮产生的 EOG 反应是一个单相负电位, 刺激结束后 EOG 反应即恢复到基线水平。EOG 反应幅值随着刺激浓度的升高而增大。在几种小肽中, 罗非鱼嗅囊对 GSH 刺激产生的 EOG 反应最强烈, 在刺激浓度为 2mM 时, 反应电位幅值显著大于其它四种小肽 ($P < 0.05$); 在浓度为 5、10mM 时差异极显著 ($P < 0.01$)。在三种酶解物中, 同一浓度下鱼粉酶解物刺激产生的 EOG 反应大于其它两种大豆酶解物, 刺激浓度为 50、200mg/L 时差异显著。结果说明奥尼罗非鱼嗅上皮对 GSH 和鱼粉酶解物更敏感。

关键词: 小肽; 蛋白酶解物; 罗非鱼; 嗅电图

EOG Responses Induced by Short-chain Peptide and Protein Hydrolysate from Olfactory Epithelium of Tilapia *Oreochromis niloticus* × *O.aureus*

Liang Chun-mei¹, Pan Qing¹, Wang Xiao-dong², He Fen¹, Bi Yin-zuo¹

(1. Department of Aquaculture, College of animal science technology, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China; 2. Guangdong Haid Feed Co., Ltd, China Guangdong, 511400)

Abstracts: Electro-olfactogram (EOG) induced from olfactory epithelium was recorded to investigate effects of several short-chain peptides (GSH, L-Alanyl-L-Glutamine, L-Carnosine, Glycineglycine and Aspartame) and protein hydrolysates (soybean hydrolysate and fish meal hydrolysate) on olfactory response in tilapia. The result showed that EOG response induced by stimulant was a single-phase negative voltage, and it reverted to baseline soon after the stimulus stopped. The EOG amplitude induced by GSH was the highest among the short-chain peptides. And it was significantly greater than those induced by other peptides at the concentration of 2 mM ($P < 0.05$), as well as 5 mM and 10 mM ($P < 0.01$). EOG amplitude induced by fish meal hydrolysate was significantly greater than those induced by two kinds of soybean hydrolysate. And the differences were significant at the concentration of 50、200mg/L. The results suggest that olfactory epithelium of tilapia were more sensitive to GSH and fish meal hydrolysate.

Key words: Short-chain peptides; Protein hydrolysates; Tilapia; EOG

鱼类的嗅觉器官主要是嗅囊, 以外鼻孔与外界相通。它在鱼类摄食、求偶、洞游、警戒、识别、集群、学习和记忆等行为中有重要意义^[1]。了解水产动物的嗅觉器官对水溶物的反应有助于水产动物诱食剂的研究开发。

嗅电图 (electro-olfactogram, 简称 EOG) 是在嗅上皮上记录到的一种慢的电位变化, 只有在嗅感觉细胞存在的时候才能记录到, 它代表着嗅感觉细胞集体产生的感受器电位的总和^[2,3]。近年来, 国内外关于鱼类嗅电图的研究已有很多相关报道。鱼类的嗅觉与摄食行为有密切的关系, 而嗅电图是研究嗅觉反应的一个重要指标。关于诱食剂对鱼类嗅觉的影响的研究主要是关于氨基酸的研究^[4,5]。但是关于生物活性肽对鱼类的嗅觉的影响尚未见相关报道。

有研究表明 GSH 能显著提高罗非鱼的摄食率，显著促进罗非鱼的生长^[6]。阿斯巴甜二肽 (Aspartame) 的学名为 α -L-天门冬氨酸-L-苯丙氨酸甲酯。是一种新型甜味剂，具有增强食品风味的效能^[7]。肌肽是一种天然的二肽，其组成为 β -丙氨酸-L-组氨酸，具有抗氧化、抗衰老、促进细胞能量代谢等多种生物学功能。丙谷二肽可促进大鼠小肠上皮细胞的分裂增殖^[8]。双甘氨肽由两个甘氨酸以一个肽键结合而成。目前关于双甘氨肽的生物学功能报道较少。蛋白质原料经过蛋白酶处理后，形成多肽和小分子物质的混合物，其物理特性和营养特性比蛋白质和氨基酸具有许多优点，例如溶解性好，粘度低，能抑制蛋白质凝胶，比蛋白质和氨基酸更易于消化吸收，促进微生物发酵、低抗原性等^[9]。

本实验拟测定几种小肽和蛋白酶解物刺激罗非鱼嗅上皮产生的 EOG 反应，探讨生物活性肽对鱼类促生长作用的生理学机理。

1 材料和方法

1.1 实验动物 奥尼罗非鱼购自华南农业大学农贸市场，体重范围是 500-650g，平均体重 591.5 克。暂养 3 天，待鱼的生理状态稳定后挑选健康活泼的鱼进行实验。实验鱼分成两组，分别是小肽组与蛋白酶解物组，每组五个重复，每个重复一尾鱼。

1.2 试剂的配制 小肽包括谷胱甘肽 (Amresco 公司，纯度 > 98%)、丙谷二肽 (天津天成制药有限公司，纯度为 99.4%)；肌肽 (Sigma，纯度 > 98%)、双甘氨肽 (Amresco 公司，纯度 > 99%)、阿斯巴甜 (NutraSweet 公司，N-L- α -天门冬氨酸-L-苯丙氨酸甲酯纯度为 99.3%)。刺激浓度梯度为 0.01、0.5、0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 mM。标准刺激物为 2mM 的 L-谷氨酸溶液。

酶解物包括大豆酶解物 A (含 10% 大豆肽) 由华南理工大学化工厂提供；乐能肽 (含 40% 大豆肽，氨基酸总量 46.85，粗蛋白含量 53.55) 由乐能生物工程股份有限公司提供；鱼粉酶解物 (粗蛋白含量 53.5%) 由广东海大实业有限公司提供。刺激浓度梯度为 20、50、100、200、500、1000、2000 mg/L。标准刺激物为 200mg/L 的 L-谷氨酸溶液。所有溶液用蒸馏水配置，用前置于 4℃ 冰箱保存，一周内用完。

1.3 主要仪器 本实验使用的主要仪器有 MS-4000 生物信息分析系统 (广州市龙飞达科技有限公司)、232 型甘汞电极 (上海罗素科技有限公司)。

1.4 EOG 的测定 罗非鱼 EOG 的测定方法参考 Frade 等^[10]所述，并有所改进。

试验中共用两个甘汞电极，一个电极尖端浸没在流向嗅囊的液体中，用架子固定，作为测定电极；另一个与鱼体的同侧皮肤接触，作为参考电极。两个电极与 MS4000 生物信息分析系统连接，嗅囊受到刺激后产生的电信号通过电极传送到生物分析系统并进行分析。另外，用一根导线接触鱼的尾部，接地。实验装置见图 1。

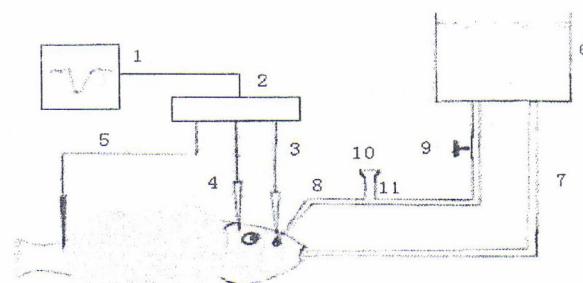


图 1 罗非鱼嗅电图测定装置示意图

Fig 1. The EOG determining setting

- | | | |
|-----------|--------------------|-----------|
| 1. 计算机 | 2. MS4000 生物信息分析系统 | 3. 测定甘汞电极 |
| 4. 参考甘汞电极 | 5. 鱼体接地线 | 6. 供水箱 |
| 7. 往鳃供水管 | 8. 往嗅囊供水管 | 9. 水速调节钮 |
| 10. 加液管 | 11. 三通管 | |

流向嗅囊的水流速为 75mL/min。刺激物被流水稀释后达到嗅囊的有效刺激浓度为 29%。第一组中, 以 2mM 的 L-谷氨酸刺激引起 EOG 反应幅值为 100%, 求其它各种刺激物相对刺激效应; 第二组中, 以 200mg/L L-谷氨酸刺激引起 EOG 反应幅值为 100%, 求其它各种刺激物相对刺激效应。

1.5 数据的统计分析 利用 SPSS 10.0 软件对数据进行统计, 试验结果采用平均数±标准误表示, P 值设为 0.05, 在 P 值小于 0.05 时, 再把 P 设为 0.01 进行统计。

2 结果

2.1 几种高纯度小肽诱发的罗非鱼嗅电图

罗非鱼嗅囊被小肽溶液刺激后产生的嗅电图是一个单相负电位: 当刺激液刚刚接触到嗅囊时, 电位快速上升, 然后随着刺激的结束, 电位很快恢复至波幅的 50%, 然后缓慢地回到基线位置(见图 2)。



图 2 罗非鱼嗅囊对几种高纯度小肽刺激产生的嗅电图

Fig 2. Tilapia EOG responses induced by short-chain peptides

注: (1) 图中标记为“刺激物+刺激浓度”, 例如标记为“GLU 0.1”表示: 刺激浓度为 0.1mM 的 GLU。

(2) 图形中纵向每一小格表示 0.51mv, 横向每一小格表示 5s 时间。

各种小肽不同浓度对罗非鱼嗅囊刺激产生的 EOG 相对 2mM L-谷氨酸的反应幅值见表 1。

刺激浓度在 0.1-1mM 之间时, 各种小肽诱发的 EOG 反应并没有显著性差异($P > 0.05$), 在 2mM 时, 谷氨酸与 GSH 刺激产生 EOG 反应幅值显著大于双甘氨肽、肌肽与阿斯巴甜等三种小肽($P < 0.05$), 谷氨酸、GSH 以及丙谷二肽之间、双甘氨肽、肌肽与阿斯巴甜之间差异不显著($P > 0.05$)。

在 5mM 时, 谷氨酸与 GSH 刺激产生 EOG 反应幅值极显著大于双甘氨肽、肌肽、阿斯巴甜以及丙谷二肽 ($P < 0.01$), 谷氨酸与 GSH 之间、双甘氨肽、肌肽、阿斯巴甜以及丙谷二肽之间差异不显著 ($P > 0.05$); 当刺激浓度达到 10mM 时, 谷氨酸与 GSH 刺激产生 EOG 反应幅值极显著大于其它四种小肽 ($P < 0.01$), 而且 GSH 显著大于 GLU ($P < 0.05$)。

谷氨酸以及五种小肽引起的 EOG 反应幅值都随着刺激物浓度的升高而呈对数上升, 呈剂量依赖效应, 并且在本实验刺激浓度范围内, 反应幅值没有出现一个稳定水平。刺激浓度 X (mM) 与罗非鱼 EOG 反应幅值 Y (mv) 的相关方程与相关系数见表 2。为了计算刺激阈浓度, 求出刺激浓度为 0.1-1mM 的刺激浓度 X (mM) 与罗非鱼 EOG 反应幅值 Y (mv) 的相关方程 (见表 3)。L-谷氨酸: 在 0.1-1mM 范围内, EOG 反应幅值随着刺激浓度的升高而增大, 但变化不显著 ($P > 0.05$), 在 2mM 时, EOG 反应幅值显著高于除了 1mM 以外的低浓度值, 并随着刺激浓度继续升高, EOG 反应幅值逐步显著增大 ($P < 0.05$), 根据相关方程 $y = 0.5378x - 0.0579$ 推算出反应阈浓度为 0.11mM。GSH: 在 0.1-1mM 范围内, EOG 反应幅值随着刺激浓度的升高而增大, 但差异不显著 ($P > 0.05$), 当刺激浓度在 2mM 时, EOG 反应幅值显著高于低浓度组, 并随着刺激浓度继续升高, EOG 反应幅值逐步显著增大 ($P < 0.05$), 根据相关方程 $y = 0.674x - 0.0041$ 推算出反应阈浓度为 0.006mM。丙谷二肽、肌肽、双甘二肽、阿斯巴甜: EOG 反应呈明显的剂量依赖性。0.1-5mM 之间反应值差异不显著 ($P > 0.05$), 1-10mM 反应幅值差异不显著 ($P > 0.05$), 10mM 反应值显著高于 0.1-0.5mM ($P < 0.05$), 根据相关方程推算出反应浓度阈值在 0.01-0.06mM 之间。

表 1 各种小肽对罗非鱼嗅囊刺激产生的 EOG 相对反应幅值, M±SE, n=5

Table 1. Tilapia EOG amplitudes to short-chain peptides, M±SE, n=5

刺激物 浓度 (mM)	GLU	GSH	丙谷二肽	肌肽	双甘氨肽	阿斯巴甜	P
0.1	0±0 ^w	0±0 ^w	0±0 ^w	0.14±0.14 ^w	0±0 ^w	0±0 ^w	> 0.05
0.2	3.31±1.25 ^w	4.00±1.50 ^w	0±0 ^w	6.16±5.85 ^w	9.67±6.05 ^w	2.49±1.91 ^w	> 0.05
0.5	7.97±2.28 ^w	7.42±3.42 ^w	8.70±5.41 ^w	6.99±3.22 ^w	10.56±5.47 ^w	4.93±3.79 ^w	> 0.05
1	34.83±11.35 ^{wx}	13.97±2.89 ^w	38.73±17.42 ^{wx}	13.98±4.33 ^{wx}	17.48±5.83 ^{wx}	19.56±7.35 ^{wx}	> 0.05
2	100±0 ^{bx}	97.07±18.43 ^{bx}	44.46±3.78 ^{abwx}	23.50±6.46 ^{awx}	16.43±7.47 ^{awx}	26.39±8.94 ^{awx}	< 0.05
5	289.06±57.92 ^{by}	385.78±38.99 ^{by}	55.65±22.21 ^{awx}	21.72±8.23 ^{awx}	29.83±14.57 ^{awx}	33.17±11.18 ^{awx}	< 0.01
10	387.43±17.59 ^{bz}	485.62±41.31 ^{cz}	78.10±21.35 ^{ax}	40.28±22.45 ^{ax}	47.82±21.59 ^{ax}	46.11±17.57 ^{ax}	< 0.05
10	387.43±17.59 ^b	485.62±41.31 ^b	78.10±21.35 ^a	40.28±22.45 ^a	47.82±21.59 ^a	46.11±17.57 ^a	< 0.01

注: 同一行数据右上角有相同字母 (a, b, c) 的表示差异不显著; 同一列数据右上角有相同字母 (w, x, y, z) 的表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 2 小肽刺激浓度 X (mM) 与罗非鱼 EOG 反应幅值 Y (mv) 的相关关系

Table 2. The relationship between short-chain peptides stimulating concentrations and EOG amplitudes of Tilapia

刺激物	相关方程	相关系数 R
Glu	$y = 0.5378x - 0.0579$	0.99
GSH	$y = 0.674x - 0.0041$	0.95
丙谷二肽	$y = 0.0284x + 0.0247$	0.97
肌肽	$y = 0.0237\ln(x) + 0.066$	0.96
双甘氨肽	$y = 0.0385x + 0.0204$	0.99
阿斯巴甜	$y = 0.0437x + 0.0461$	0.97

表3 低刺激浓度 X (mM) 与 EOG 反应幅值 Y (mv) 的相关方程以及刺激阈浓度
Table 3. The relationship between short-chain peptides stimulating concentrations and EOG amplitudes of Tilapia in low concentrations

刺激物	低浓度 (0.1-1mM) 相关方程	相关系数 R	阈浓度 (mM)
Glu	$y = 0.5378x - 0.0579$	0.99	0.11
GSH	$y = 0.674x - 0.0041$	0.95	0.006
丙谷二肽	$y = 0.0663x - 0.0033$	1.00	0.05
肌肽	$y = 0.0237\ln(x) + 0.066$	0.96	0.06
双甘氨肽	$y = 0.18x - 0.01$	1.00	0.06
阿斯巴甜	$y = 0.1094x - 0.0012$	1.00	0.01

2.2 几种酶解物对罗非鱼嗅电图的影响

几种蛋白酶解物刺激嗅囊测得的嗅电图也是一个单相负相电位。记录结果见图 3。



图3 罗非鱼嗅囊对几种蛋白酶解物刺激产生的 EOG

Fig 3. Tilapia EOG responses induced by hydrolysates

注：图中标记为“刺激物+刺激浓度”，例如标记为“a 20”表示：刺激浓度为 20mg/L 的 a 物质；图形中纵向每一小格表示 0.51mv，横向每一小格表示 5s 时间。a：大豆酶解物；b：乐能肽；c：鱼粉酶解物

以 200mg/L 的 L-谷氨酸刺激测得的 EOG 反应幅值为 100%，求其它刺激物相对刺激效应，结果见表 4。

在刺激浓度为 20、100、500、1000、2000mg/L 时，三种酶解物刺激引起的 EOG 反应值差异不显著 ($P > 0.05$)；50mg/L 时，鱼粉酶解物引起的 EOG 反应幅值显著高于其它两种大豆酶解物 ($P < 0.05$)；200mg/L 时，鱼粉酶解物引起的 EOG 反应幅值显著高于大豆酶解物 A ($P < 0.05$)；在 100、500、1000mg/kg 时，鱼粉酶解物引起的 EOG 反应幅值也大于其它两种大豆酶解物，但差异不显著 ($P > 0.05$)。在每个浓度下，两种大豆酶解物的刺激效果差异均不显著 ($P > 0.05$)。

三种酶解物刺激所产生的 EOG 反应幅值都呈明显的剂量依赖性，并且在本实验刺激浓度范围内，反应幅值没有出现一个稳定水平。刺激浓度 X (mg/L) 与罗非鱼 EOG 相对反应幅值 Y (mv) 的相关方程与相关系数见表 5。不同浓度的大豆酶解物 A 刺激产生的 EOG 反应幅值比较：20-200mg/L 之间刺激效果差异不显著 ($P > 0.05$)，500mg/L 显著高于 20mg/L ($P < 0.05$)；1000mg/L

显著高于 20-200mg/L ($P < 0.05$)；2000mg/L 显著高于 20-1000mg/L ($P < 0.05$)，根据相关方程推算，刺激阈浓度为 12.6mg/L。鱼粉酶解物 20-100mg/L 差异不显著 ($P > 0.05$)；200-1000 显著高于 20mg/L ($P < 0.05$)；2000mg/L 又显著高于 20-100mg/L ($P < 0.05$)，根据相关方程推算，刺激阈浓度为 12.3mg/L。乐能肽：20-500 差异不显著 ($P > 0.05$)；1000mg/L 显著高于 20mg/L ($P < 0.05$)；2000mg/L 又显著高于 20-500mg/L ($P < 0.05$) 根据相关方程推算，刺激阈浓度为 13mg/L。

表 4 罗非鱼对不同蛋白酶解物刺激产生的 EOG 相对反应幅值 M \pm SE, n=5

Table 4. Tilapia EOG amplitudes to hydrolysates, M \pm SE, n=5

刺激物浓度(mg/L)	GLU	大豆酶解物 A	鱼粉酶解物	乐能肽	P 值
20	16.61 \pm 7.10 ^w	12.74 \pm 11.06 ^w	1.15 \pm 1.15 ^w	7.14 \pm 2.47 ^w	> 0.05
50	15.62 \pm 7.74 ^{aw}	23.46 \pm 12.53 ^{awx}	67.90 \pm 10.03 ^{bwx}	22.15 \pm 12.94 ^{awx}	< 0.05
100	44.80 \pm 6.33 ^w	36.02 \pm 6.75 ^{wx}	89.27 \pm 15.01 ^{wx}	42.35 \pm 27.11 ^{wx}	> 0.05
200	100 \pm 0 ^{bw}	37.97 \pm 10.59 ^{awx}	98.00 \pm 19.85 ^{bxy}	45.68 \pm 24.76 ^{abwx}	< 0.05
500	364.82 \pm 114.96 ^{bwx}	77.39 \pm 9.81 ^{axy}	118.31 \pm 41.78 ^{axy}	70.82 \pm 33.18 ^{awx}	< 0.05
1000	694.93 \pm 187.48 ^{bxy}	109.45 \pm 16.41 ^{ay}	155.66 \pm 35.98 ^{axy}	97.35 \pm 29.49 ^{axy}	< 0.01
2000	962.93 \pm 201.96 ^{by}	198.38 \pm 40.10 ^{az}	188.16 \pm 40.38 ^{ay}	176.39 \pm 38.23 ^{ay}	< 0.01

注：同一行数据右上角有相同字母(a, b, c)的表示数据之间差异不显著 ($P > 0.05$)；同一列数据 P 设为 0.05 统计，右上角有相同字母 (w, x, y, z) 表示数据之间差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 5 酶解物刺激浓度 X (mg/L) 与罗非鱼 EOG 反应幅值 Y (mv) 的相关关系与刺激阈浓度

Table 5. The relationship between hydrolysates stimulating concentrations (x, mg/L) and EOG amplitudes (y, mv) of Talapia

刺激物	相关方程	R	刺激阈值 (mg/L)
大豆酶解物 A	$y = 0.0007x - 0.0088$	0.95	12.6
鱼粉酶解物	$y = 0.0918\ln(x) - 0.2307$	0.98	12.3
乐能肽	$y = 0.0805\ln(x) - 0.2066$	0.99	13

3 讨论

3.1 几种小肽对罗非鱼嗅电图的影响

在对莫桑比克罗非鱼的研究^[10]中发现，鱼的 EOG 反应对很多氨基酸都很敏感，包括 L-丝氨酸、L-精氨酸、半胱氨酸，记录得到的电信号图形是鱼类的经典嗅电图：刺激开始时电位快速上升，然后较快的恢复到 50% 的反应幅值，然后随着刺激的结束，电位慢慢恢复到基线；反应幅值呈剂量依赖效应。在本实验中，用 L-谷氨酸、GSH、阿斯巴甜、双甘氨肽、丙谷二肽、肌肽以及几种酶解物刺激所记录得到的 EOG 反应波形与 Frade 等的报道相似。

本实验中测定 GSH 刺激所产生的 EOG 反应幅值最高达到 18mv，而 GLU 所测的最高是 17.72mv，其它的三种小肽所测得最高均在 1mv 之内。证明 GSH 对罗非鱼嗅觉有强烈的刺激作用，此作用甚至比 L-谷氨酸还强。而其它的小肽对罗非鱼的嗅觉也有一定的刺激作用，只是比 GSH 及氨基酸稍弱。

焦彩虹^[6]研究发现，在饲料中添 100、200、400mg/kg 的 GSH 对罗非鱼幼鱼摄食率都有显著的促进作用，而本论文的第一部分试验也发现 GSH 对罗非鱼的生长有显著的促进作用。结合本试验电生理测定结果，可以推测 GSH 可能可以通过对鱼类的嗅觉产生刺激作用，影响鱼的摄食行为，进而产生对鱼类的促生长作用。

3.2 酶解物对罗非鱼嗅觉的影响

蛋白质原料经过蛋白酶处理后，含有大量的小肽。试验证明，大豆经过木瓜蛋白酶水解后，由于水解产生疏水性短肽而形成苦味，而原有的豆腥味减弱^[9]。余杰等^[11]研究发现，经浓缩干燥的龙头鱼酶解提取物具有浓郁的海鲜香味。经过胰酶、肠肽酶水解后鱼粉测得酶解物中主要含有短肽，

肽链由3-9个氨基酸组成，肽含量达80.75%^[12]。草鱼日粮中添加一定比例的鱼粉酶解物可以显著提高鱼的特定生长率、饲料表观消化率，增加鱼体血液中生物活性肽的含量^[12]。王碧莲^[13]发现，饲料中添加多肽产品喂大快可以明显提高欧鳗的摄食率，表明适量饲喂这种多肽产品对欧鳗具有诱食作用，可能喂大快中某种构型的小肽对欧鳗具诱食作用。

本实验中，两种大豆酶解物和一种鱼粉酶解物对罗非鱼的嗅囊都有很明显的刺激作用，并且刺激效应都呈剂量依赖性。其中在同一浓度下鱼粉酶解物的刺激效果显著高于其它两种酶解物。原因可能是鱼粉酶解物中含有大量的小肽和氨基酸等成分，使其呈味性提高。

3.3 鱼类对刺激物产生 EOG 反应的敏感性

鮰鱼嗅感觉细胞膜上存在酸性、碱性和中性氨基酸等三种以上的受体位点，它们分别与一种或多种氨基酸结合^[14,15]。Rerio 等^[5]也报道了罗非鱼嗅囊内分别具有对氨基酸和胆酸的专门受体。研究表明，异育银鲫对牛磺酸、乳酸、复合氨基酸的 EOG 反应阈浓度在 0.001-1mM 之间^[16]。Frade 等^[10]研究表明，L-丝氨酸、L-精氨酸、L-半胱氨酸、L-酪氨酸对罗非鱼 EOG 反应刺激阈浓度分别为 $10^{-6.9}$ M、 $10^{-7.6}$ M、 $10^{-8.0}$ M、 10^{-6} - 10^{-5} M。由此可知，鱼类嗅上皮对氨基酸的敏感性较高。在本实验中，L-谷氨酸、GSH、丙谷二肽、肌肽、双甘氨肽、阿斯巴甜二肽对罗非鱼 EOG 反应的刺激阈浓度在 0.006-0.11mM 之间，其中 GSH 的阈浓度最低，可见罗非鱼嗅囊对 GSH 的刺激是最敏感的。在酶解物当中，鱼粉酶解物的刺激阈浓度低于两种大豆酶解物，可见在罗非鱼嗅囊对鱼粉酶解物较为敏感。

参考文献

- [1]柴敏娟, 陈荣, 黄志勇. Ca^{2+} 对鱼类 EOG 的影响及其解毒作用的探讨[J]. 福建水产, 1999, (4): 7-13.
- [2]王伯扬. 神经生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1989. 285-287.
- [3]奥托森. 神经系统生理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 330-334.
- [4]柴敏娟, 曾建平, 于森. 罗非鱼嗅觉对 15 种常见氨基酸的 RSE 探讨[J]. 台湾海峡, 2001, 20 (4): 63-68.
- [5]Danio rerio, W. C. Michel, D. S. Derbidge. Evidence of distinct amino acid and bile salt receptors in the olfactory system of the zebrafish[J]. Brain Research, 1997, 764 : 179-187.
- [6]焦彩虹. 谷胱甘肽对罗非鱼生长的影响及其机理研究. 华南农业大学硕士论文, 2004.
- [7]王电. 阿斯巴甜在酸奶生产中的应用[J]. 中国奶牛. 1999, (3): 54-55.
- [8]赵元珍, 高春芳. 谷氨酰胺二肽胃肠外营养对短肠大鼠小肠上皮细胞的增殖作用[J]. 实用医药杂志, 2003, 20 (7): 520-522.
- [9]肖凯军, 高孔荣, 曾庆孝. 酶解大豆分离蛋白的特性研究[J]. 广州食品工业科技, 1995, 11 (2): 5-11.
- [10]P. Frade, P. C. Hubbard, E. N. Barata, A. V. M. Canario. Olfactory sensitivity of the Mozambique tilapia to conspecific odours[J]. Journal of Fish Biology, 2002, 61: 1239-1254.
- [11]余杰, 陈美珍. 酶法制取龙头鱼水解蛋白及海鲜风味料的研究[J]. 食品与发酵工业, 2000, 26 (3): 39-43.
- [12]冯健. 鱼粉酶解物中小肽对幼龄草鱼生长性能的影响[J]. 水产学报, 2005, 29 (2): 222-226.
- [13]王碧莲, 徐加锐, 钱雪桥. 小肽制品对欧鳗生长特征的影响[J]. 淡水渔业, 2001, 31 (2): 42-43.
- [14]Sveinsson T, Hara T J. Multiple olfactory receptors for amino acids in Arctic char (*Selvelinus alpinus*) evidenced by cross-adaptation experiments[J]. Comp Biochem and Physiol, 1990, 97A: 289-293.
- [15]Capri O J, Byrd R P. Electrophysiological evidence for acidic, basic and neutral amino acid olfactory receptor sites in the catfish[J]. J Gen Physiol, 1984, 84: 403-422.
- [16]赵月红, 曹海宁, 薛敏, 等. 不同浓度刺激物对异育银鲫 EOG 反应的影响. 第五届世界华人鱼虾营养学术研讨会, 2004.