

コイ・ニジマスの左右嗅覚器刺激による  
嗅球誘起脳波の周波数分析について

阪上潤二郎\*, 竹村 暘, 小井土 隆

Frequency Analysis of the Olfactory Responses  
to Bilateral Stimulation  
in Carp and Rainbow Trout

Junjiro SAKAGAMI\*, Akira TAKEMURA and Takashi KOIDO

Induced wave in the olfactory bulb of carp and rainbow trout has been used as a convenient index of the olfactory responses. Most of studies have been carried out on stimulation of the unilateral olfactory organs. In present study, influence of the bilateral nasal sac stimulation upon the induced wave was examined to clarify the function of the bilateral olfactory organs. The induced wave recorded from unilateral organ when NaCl solution with various concentration was infused into the bilateral nasal sac. The induced wave was analyzed as several frequency spectra. As results, although the olfactory responses in carp were different from those in rainbow trout, olfactory responses of both of carp and rainbow trout suggested the centrifugal influence from the olfactory organs of one side to the other side. It seems to be considered that this centrifugal influence subserves to detect the difference between concentration of solution infused into the right and left side nalis.

Key words : コイ carp ; ニジマス rainbow trout ; 嗅球反応 olfactory response ; 刺激 stimulus ; 周波数分析 spectral analysis

魚類の嗅覚は摂餌・社会行動などに関与しており、左右嗅覚器の作用について明らかにすることは行動生態を研究する上で重要である。これまで匂いに対する嗅覚応答の研究では、嗅球誘起脳波がよく用いられてきたが、それらの多くは片側の嗅覚器のみについてであり<sup>1-13)</sup>、両嗅覚器の相互作用が嗅球誘起脳波に与える影響についての研究はほとんど行われていない。本研究では、真骨魚類の中でも嗅球の位置が異なるコイとニジマスを用いて、両嗅覚器の相互作用を明らかにするため左右の鼻孔に刺激液を流した時、嗅球上に誘起される脳波について電気生理学的に検討した。

方 法

コイ (*Cyprinus carpio*, 尾叉長25~38cm, 体重180~840g) 及びニジマス (*Salmo gairdneri*, 尾叉長28~35cm, 体重300~480g) を実験に用いた。これらの魚は購入後屋外飼育池で一週間以上馴致し、実験のおよそ一週間前にエア一濾過した屋内水槽に移した。この間、餌は与えなかった。MS-222 (0.02%) で導入麻酔し、Curare (6 mg/kg bodyweight) で不動化し、実験装置内に固定してエアレーションした汲みおきの水 (流速55ml/s., 水温は夏期23℃, 冬期18℃) を口から鰓に灌流させた (Fig. 1)。嗅覚

\* 名古屋大学農学部水産学科 (名古屋千種区不老町)

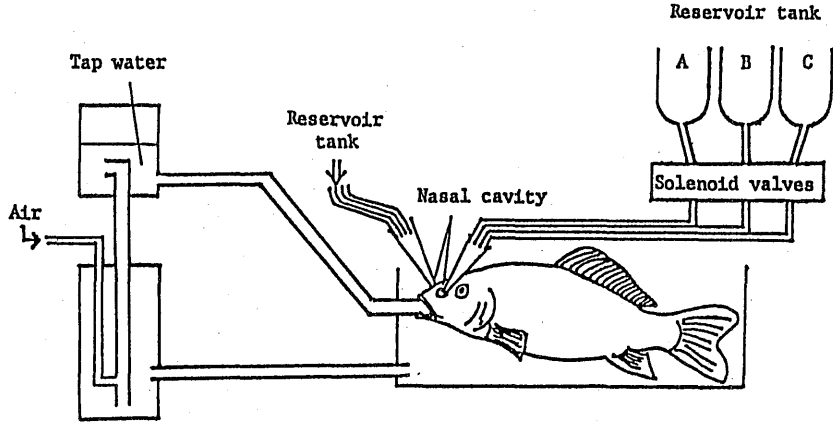


Fig. 1. Schematic diagram of experimental apparatus.

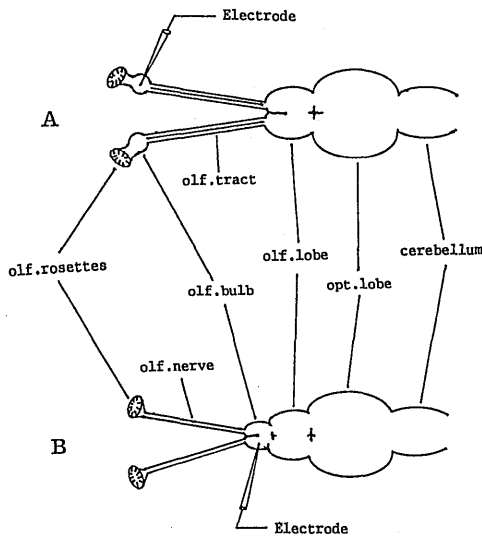


Fig. 2. The electrode setting on the surface of olfactory bulb in carp (A) and rainbow trout (B).

刺激物質は、これまでの研究に<sup>14-16)</sup> おいてよく用いられてきた塩化ナトリウムを用い、様々な濃度に希釈して刺激溶液とした。刺激装置は Fig. 1 に示すように、BとCのタンクに刺激溶液を入れ、Aタンクにリンス液として脱イオン水を入れ、左右の鼻孔内を溶液が流れるように固定した。溶液の流入の切り替えは、電磁弁により遠隔制御した。刺激時間は20秒または40秒間(0.6ml/s)とし、その後リン

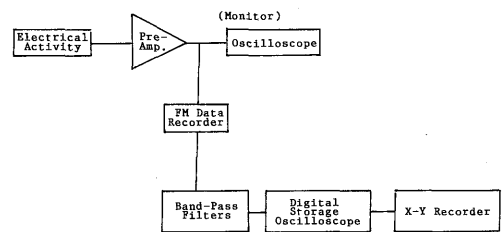


Fig. 3. System of frequency analysis of olfactory responses.

ス液を240秒間流した。嗅球での誘起脳波の記録は銀・塩化銀電極(直径0.2mm)による単極導出とした<sup>17-18)</sup>。コイ及びニジマスの脳を露出させ、マイクロコンピュータで記録電極を嗅球上部に、参照電極(銀・塩化銀電極, 直径2mm)を脳上部の脂肪中に置いた(Fig. 2)。嗅球での電氣的応答の記録・分析の回路図を Fig. 3 に示す。電氣的応答は、生態用増幅器(日本光電, 時定数0.1s., Low-cut フィルター1.5Hz, High-cut フィルター150Hz)を通して、FMデータレコーダー(TEAC R-61)に記録した。その後、記録全周波数帯並びに1/3オクターブバンドパスフィルターによる6.3, 8, 10, 12.5, 16の各周波数帯における応答の時系列的变化により、嗅球誘起脳波の解析を行った。5Hz以下の周波数帯は雑音の影響を強く受けるため、今回の研究では扱わなかった。

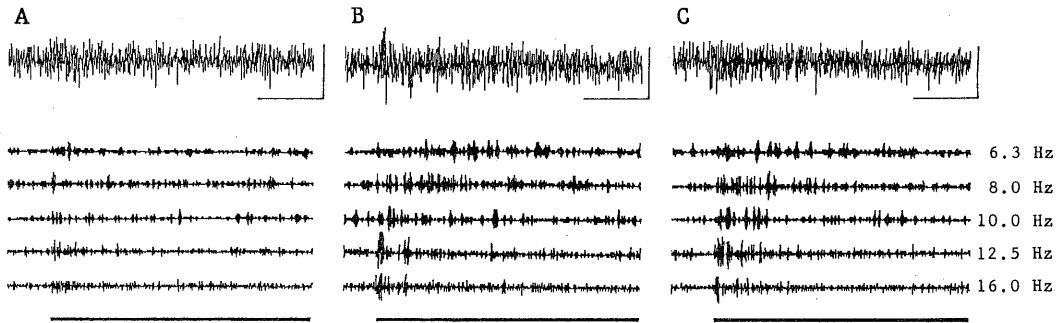


Fig. 4. Frequency response patterns of the response in the ipsilateral olfactory bulb by stimulation with various NaCl concentration in the ipsilateral nasal sac in carp. The stimulation signals are indicated by bold lines under the lowermost traces. Vertical calibration;  $50\mu\text{V}$ , Horizontal calibration; 10s. The ipsilateral nasal infusion: A;  $0.5 \times 10^{-2}\text{M}$ , B;  $10^{-2}\text{M}$ , C;  $2.5 \times 10^{-2}\text{M}$ .

## 結 果

### 1. 電極挿入側嗅覚器への刺激に対する応答

種々の濃度の刺激溶液を導出側鼻孔にのみ与えて、嗅球誘起脳波を調べた。

コイでは各濃度に対して、6.3–16Hzの各帯域で応答が観察され、刺激濃度が高くなるにつれ応答が大きくなった。刺激の持続にもかかわらず12.5及び16Hz帯ではすぐに順応するのに対し、10Hz以下の低周波帯域では長時間応答が持続した (Fig. 4)。

一方、ニジマスでもコイと同様に6.3–16Hzの各帯域での応答が観察された。しかし、コイに比べて、16Hz帯での順応がやや早いのが観察された (Fig. 5)。また、高濃度になるにつれ応答が大きくなった。

### 2. 反対側嗅覚器への刺激に対する応答

刺激溶液を嗅球誘起脳波導出側とは反対側鼻孔にのみ与えて、反対側からの導出側嗅球誘起脳波への影響を検討した。

高濃度刺激にもかかわらず、コイ及びニジマスともいずれの周波数帯域においても応答はほとんど観察されなかった。(Fig. 6)。

### 3. 左右両嗅覚器への刺激に対する応答

左右の刺激溶液の濃度勾配が嗅球誘起脳波に与え

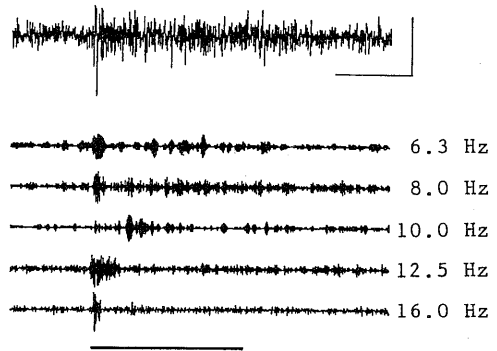


Fig. 5 Frequency response pattern of the response in the ipsilateral olfactory bulb by stimulation with  $2 \times 10^{-2}\text{M}$  NaCl concentration in the ipsilateral nasal sac in rainbow trout. The stimulation signals are indicated by bold lines under the lowermost traces. Vertical calibration;  $50\mu\text{V}$ , Horizontal calibration; 10 s.

る影響を、左右嗅覚器へ同濃度で刺激を加えた場合、反対側に導出側より高濃度で刺激を加えた場合、反対側に導出側より低濃度で刺激を加えた場合の3通りについて嗅球誘起脳波を解析した。なお、今回の実験では左右の刺激溶液の濃度勾配は電極挿入側嗅覚器を刺激した際に得られる各濃度に対する応答の変化の顕著な濃度帯 (塩化ナトリウム水溶液; 0.1

$\times 10^{-2} \sim 4.0 \times 10^{-2} \text{M}$  の範囲内に設定した (Fig. 7)。

1) 左右嗅覚器へ同濃度で刺激した場合

$0.1 \times 10^{-2}$ ,  $0.5 \times 10^{-2}$ ,  $0.8 \times 10^{-2}$ ,  $10^{-2} \text{M}$  の4種の濃度の刺激溶液に対するコイの嗅球誘起脳波

をそれぞれ Fig. 8 に示した。 $0.1 \times 10^{-2} \text{M}$  では応答が小さく、低周波帯域にのみ観察された。12.5及び16Hz帯では $0.8 \times 10^{-2} \text{M}$  まで次第に応答が増大するが、 $10^{-2} \text{M}$  では応答が弱く、特に16Hz帯での応答が小さくなるのが観察された。導出側のみの刺激と比べやや応答が大きくなるが、濃度の増加に

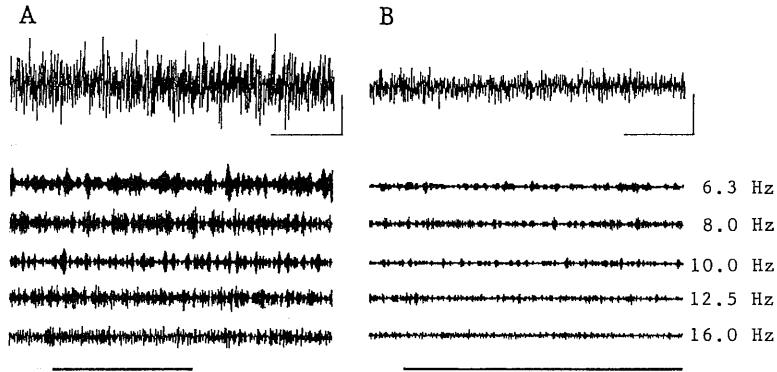


Fig. 6 Frequency response patterns of the response in the ipsilateral olfactory bulb by stimulation with NaCl concentration in the contralateral nasal sac in carp (A;  $10^{-2} \text{M}$ ) and rainbow trout (B;  $2 \times 10^{-2} \text{M}$ ). The stimulation signals are indicated by bold lines under the lowermost traces. Vertical calibration;  $50 \mu\text{V}$ , Horizontal calibration; 10s.

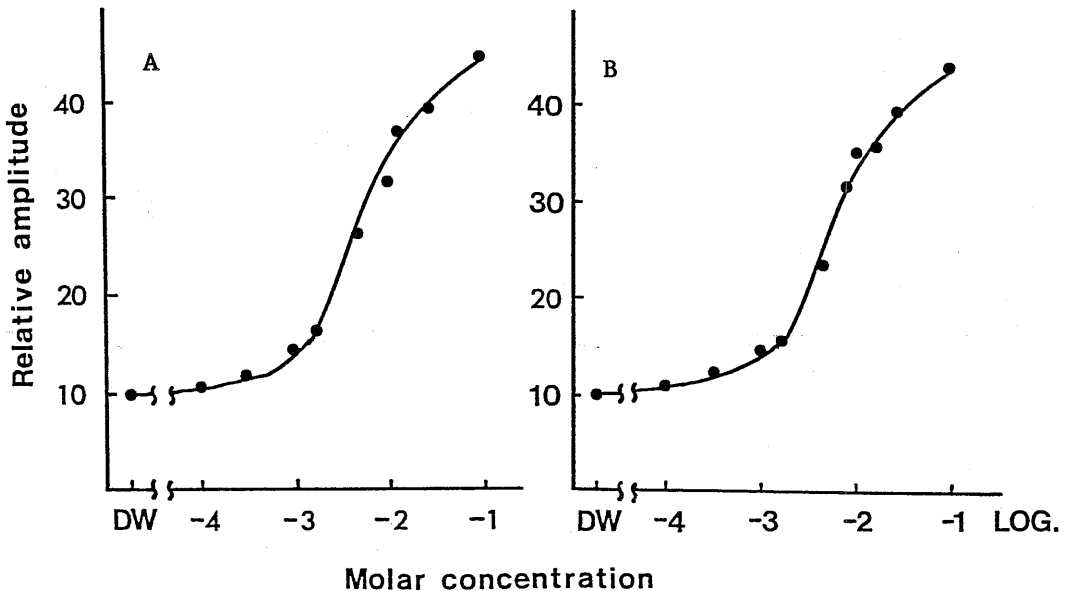


Fig. 7. Relationships between response and NaCl concentration in carp (A) and rainbow trout (B).

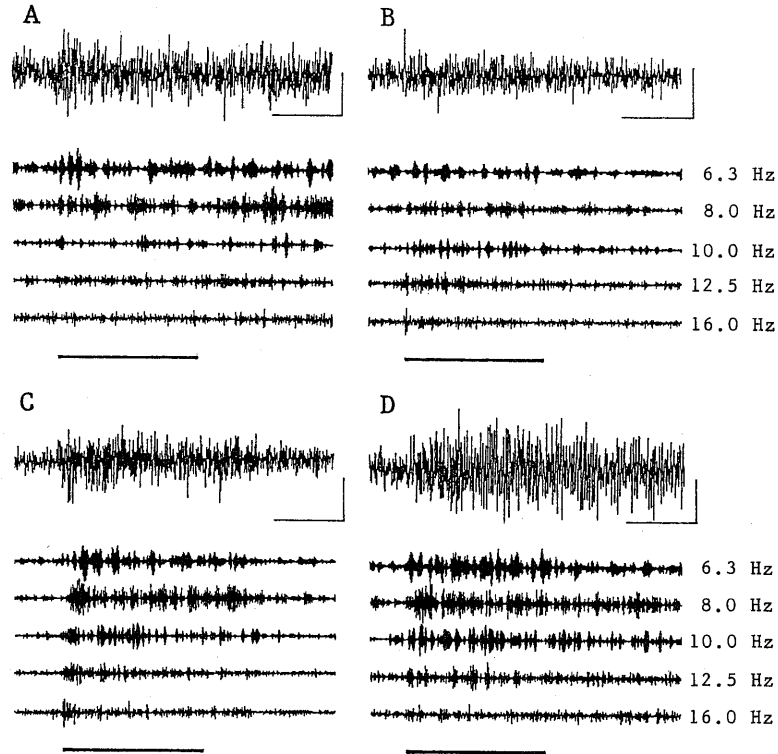


Fig. 8. Frequency response patterns of the response in the ipsilateral olfactory bulb by stimulation with various NaCl concentration in the contralateral nasal sac in carp. The stimulation signals are indicated by bold lines under the lowermost traces. Vertical calibration;  $50\mu\text{V}$ , Horizontal calibration; 10s. The ipsilateral and contralateral nasal infusion are same concentration: A;  $0.1 \times 10^{-2}\text{M}$ , B;  $0.5 \times 10^{-2}\text{M}$ , C;  $0.8 \times 10^{-2}\text{M}$ , D;  $10^{-2}\text{M}$ .

伴い応答が大きくなる同様の傾向が観察された (Fig. 4, 8)。さらに、刺激への順応は高周波帯域でも、導出側のみの刺激時に比べ遅くなることが観察された (Fig. 4, 8)。

ニジマス (Fig. 9) でも、 $0.5 \times 10^{-2}$ ,  $0.7 \times 10^{-2}$ ,  $10^{-2}$ ,  $2 \times 10^{-2}\text{M}$  と濃度の増加に伴い応答が大きくなる傾向が認められた。 $0.5 \times 10^{-2}\text{M}$  と  $0.7 \times 10^{-2}\text{M}$  では 8 及び 12.5Hz 帯にやや顕著な応答が観察され、 $10^{-2}\text{M}$  と  $2 \times 10^{-2}\text{M}$  では 6.3–16Hz の帯域にわたって顕著な応答が認められた。また、順応は 8 Hz 帯で遅く、より高周波帯では早かった。

2) 反対側に電極側より高濃度で刺激をした場合  
コイ (Fig. 10) では、応答が 6.3–16Hz の帯域

で観察され、反対側に高濃度の刺激が加わるとどの周波数帯でも応答の順応に時間がかかることが観察された。また、左右とも同濃度で刺激したときに比べ、10–16Hz 帯ではどの刺激濃度でも応答が顕著になった (Fig. 8, 10)。

しかし、ニジマス (Fig. 11) では 6.3–16Hz の帯域で応答が観察されたが、高周波帯域での応答はいずれも順応が早く、濃度差が大きくなると 16Hz 帯では応答自体が観察されなくなった。また、8 Hz の帯域でも順応が早く起こるのが観察された。

3) 反対側に導出側より低濃度の刺激をした場合  
コイでは 8–16Hz の帯域に応答が観察され、濃度差の増大に伴い応答が小さくなった。しかし、12.5Hz での応答はむしろ顕著になり、順応も早く

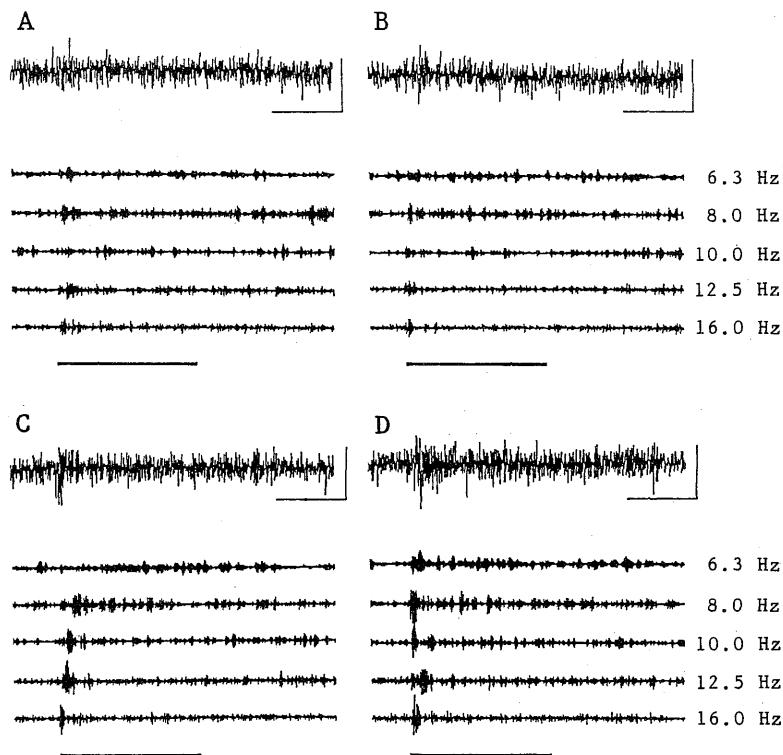


Fig. 9 Frequency response patterns of the response in the ipsilateral olfactory bulb by stimulation with various NaCl concentration in the contralateral nasal sac in rainbow trout. The stimulation signals are indicated by bold lines under the lowermost traces. Vertical calibration;  $50\mu\text{V}$ , Horizontal calibration; 10s. The ipsilateral and contralateral nasal infusion are the same concentration: A;  $0.5 \times 10^{-2}\text{M}$ , B;  $0.7 \times 10^{-2}\text{M}$ , C;  $10^{-2}\text{M}$ , D;  $2 \times 10^{-2}\text{M}$ .

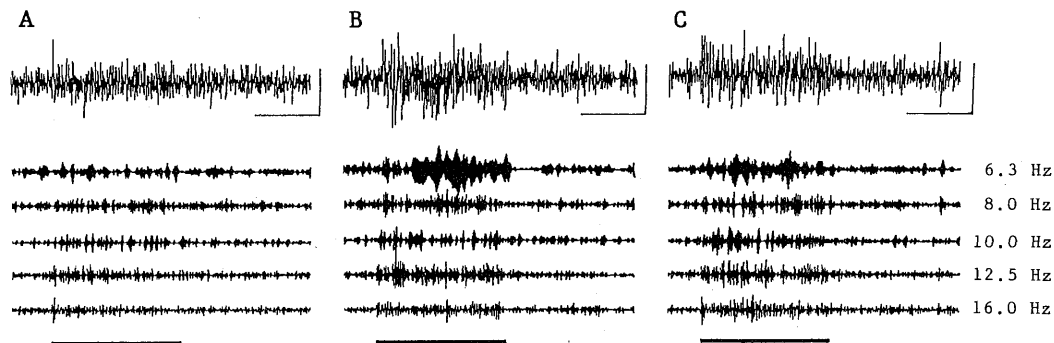


Fig. 10 Frequency response patterns of the response in the ipsilateral olfactory bulb by stimulation to the contralateral nasal sac with higher NaCl concentration than to the ipsilateral one in carp. The stimulation signals are indicated by bold lines under the lowermost traces. Vertical calibration;  $50\mu\text{V}$ , Horizontal calibration; 10s. The ipsilateral nasal infusion is  $0.5 \times 10^{-2}\text{M}$  NaCl. The contralateral nasal infusion: A;  $0.5 \times 10^{-2}\text{M}$ , B;  $0.8 \times 10^{-2}\text{M}$ , C;  $10^{-2}\text{M}$ .

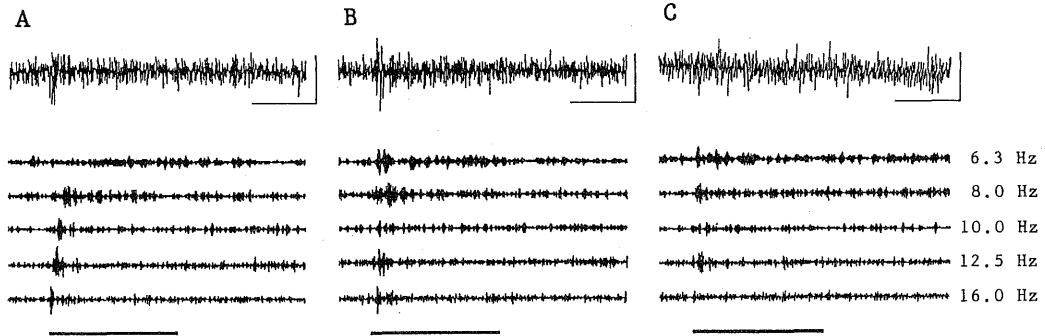


Fig. 11 Frequency response patterns of the response in the ipsilateral olfactory bulb by stimulation to the contralateral nasal sac with higher NaCl concentration than to the ipsilateral one in rainbow trout. The stimulation signals are indicated by bold lines under the lowermost traces. Vertical calibration;  $50\mu\text{V}$ , Horizontal calibration; 10s. The ipsilateral nasal infusion is  $10^{-2}\text{M}$  NaCl. The contralateral nasal infusion: A;  $10^{-2}\text{M}$ , B;  $2 \times 10^{-2}\text{M}$ , C;  $4 \times 10^{-2}\text{M}$ .

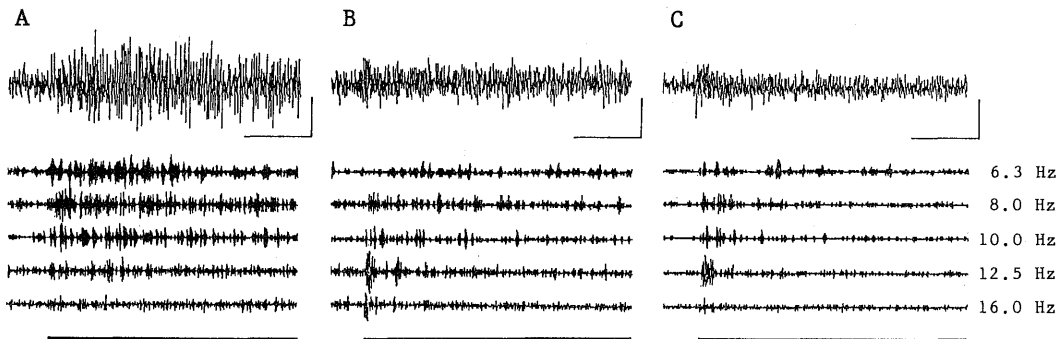


Fig. 12 Frequency response patterns of the response in the ipsilateral olfactory bulb by stimulation to the contralateral nasal sac with lower NaCl concentration than to the ipsilateral one in carp. The stimulation signals are indicated by bold lines under the lowermost traces. Vertical calibration;  $50\mu\text{V}$ , Horizontal calibration; 10 s. The ipsilateral nasal infusion is  $10^{-2}\text{M}$  NaCl. The contralateral nasal infusion: A;  $10^{-2}\text{M}$ , B;  $0.7 \times 10^{-2}\text{M}$ , C;  $0.5 \times 10^{-2}\text{M}$ .

なるのが観察された。また、低周波帯域での応答は順応が遅いままであった (Fig. 12)。

ニジマス (Fig. 13) では 8-16Hz の帯域に応答が観察された。低周波帯域での応答には変化は観察されなかったが、濃度差の増大に伴い 12.5 及び 16 Hz 帯での応答が小さくなるのが観察された。また、それらの順応は早いものであった。

## 考 察

前述のごとく、一方の嗅覚応答が他方のそれに与える影響について、コイ・ニジマスともに反対側のみの刺激では電極挿入側にほとんど応答が観察されなかった。魚類の左右の嗅覚器を用いたこれまで嗅球誘起脳波を用いた電気生理学的実験では、Satou<sup>14)</sup> はコイを用いて導出側の鼻孔を餌料抽出溶液で、反対側を塩化ナトリウムと餌料抽出溶液で刺激した場

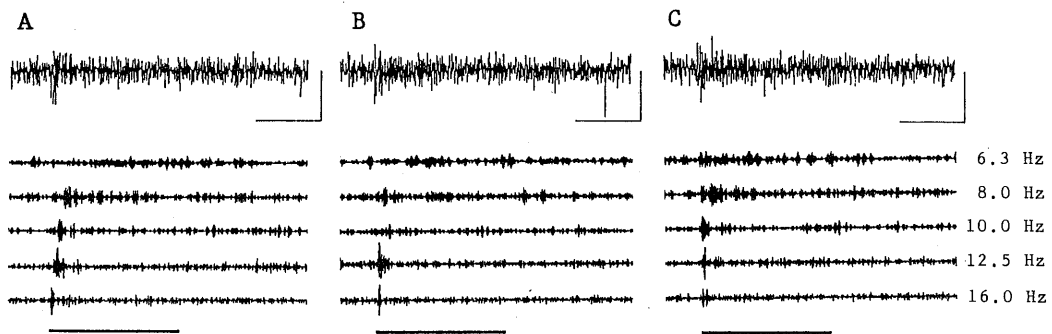


Fig. 13 Frequency response patterns of the response in the ipsilateral olfactory bulb by stimulation to the contralateral nasal sac with lower NaCl concentration than to the ipsilateral one in rainbow trout. The stimulation signals are indicated by bold lines under the lowermost traces. Vertical calibration;  $50\mu\text{V}$ . Horizontal calibration; 10s. The ipsilateral nasal infusion is  $10^{-2}\text{M}$  NaCl. The contralateral nasal infusion: A;  $10^{-2}\text{M}$ , B;  $0.7 \times 10^{-2}\text{M}$ , C;  $0.2 \times 10^{-2}\text{M}$ .

合、反対側を刺激しなかった場合に比べて、その電気的応答にほとんど変化が観察されないと報告している。一方、Hara and Gorbman<sup>19)</sup>が金魚を用いて反対側の鼻孔をスクロースまたは塩化ナトリウムで刺激し、導出側の鼻孔を塩化ナトリウムで刺激したときの嗅覚応答について、わずかな抑制効果が観察されたと報告している。また、ヒメマスについて、反対側を餌料抽出溶液で刺激した際に応答が観察されたとの報告がある<sup>20)</sup>。

本研究において、左右嗅覚器を同濃度で刺激した場合、コイ・ニジマスともに、電極挿入側のみを刺激したときと同じ様に刺激濃度の増加に伴い応答が大きくなる傾向が観察された(Fig. 4, 5, 8, 9)。ただし、刺激溶液の濃度が同じ場合に電極側のみを刺激した場合と左右嗅覚器を刺激した場合とを比較すると、ニジマスでは(Fig. 5, 9)両者の応答にほとんど変化は観察されなかったが、コイでは(Fig. 4, 8)電極挿入側のみを刺激に比べて左右刺激は各周波数帯域での応答が大きくなった。さらに、 $10^{-2}\text{M}$ では高周波帯域で応答が小さく、その順応が長くなった。これは、左右嗅覚器を同濃度で刺激した場合、反対側からの影響の可能性が示唆される。

一方、左右嗅覚器に濃度差のある刺激を与えた場合、同濃度で刺激した場合に比べて、コイ・ニジマスともにいくつかの周波数帯域で順応に差が現れ、高周波帯域では応答にも変化が現われた(Fig. 8

-13)。左右同濃度で刺激した場合、ニジマスでは反対側からの影響はみられなかったが、濃度差のある場合にはコイ・ニジマスともに反対側からの影響があると考えられる。ただし、コイとニジマスとでは応答及び順応の変化に差があった。

反対側からの影響を反映すると思われる遠心性の入力は嗅球誘起脳波の応答周波数成分に影響を与えると考えられているが<sup>21,22)</sup>、本研究では上述のごとくこれを示唆する結果を得た。したがって、コイ及びニジマスは、左右の嗅覚受容器が相互作用を持ち、嗅覚刺激物の濃度勾配の感知力並びに種独自の応答周波数成分を持つ可能性が示唆される。

しかし、このコイ及びニジマスの応答の差異が嗅球の位置的な違いによるものなのか、また、反対側からの刺激による応答を反映すると考えられる遠心性入力が嗅球誘起脳波のどの周波数成分に反映されるかについては、さらに研究を積み重ねる必要がある。

## 謝 辞

共立女子大学家政学部上田一夫教授並びに東京大学理学部佐藤真彦博士には、実験手法ならびに多大なご助言を頂いた。ここに厚くお礼を申し上げる。



## 参 考 文 献

- 1) Hara, T. J. (1973) : Olfactory responses to amino acids in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol., **44A**, 407-416.
- 2) Hara, T. J. (1976) : Effects of pH on the olfactory responses to amino acids in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol., **54A**, 37-39.
- 3) Satou, M. and Ueda, K. (1975) : Spectral analysis of olfactory responses to amino acids in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol., **52A**, 359-365.
- 4) Goh, Y., Tamura, T. and Kobayashi, H. (1979) : Olfactory responses to amino acids in marine teleosts. Comp. Biochem. Physiol., **62A**, 863-868.
- 5) Goh, Y. and Tamura, T. (1980) : Olfactory and gustatory responses to amino acids in two marine teleosts—red sea bream and mallet. Comp. Biochem. Physiol., **66C**, 217-224.
- 6) Byrd, R. P. Jr. and Caprio, J. (1982) : Comparison of olfactory receptor (EOG) and bulbar (EEG) responses to amino acids in the catfish, *Ictalurus punctatus*. Brain Research, **249**, 73-80.
- 7) Kobayashi, H. and Goh, Y. (1985) : Comparison of the olfactory responses to amino acids obtained from receptor and bulbar levels in a marine teleost. Exp. Biol., **44**, 199-210.
- 8) Kobayashi, H. and Fujiwara, K. (1987) : Olfactory response in the yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **53**, 1717-1725.
- 9) Hara, T. J., Ueda, K. and Gorbman, A. (1965) : Electroencephalographic studies of homing salmon. Science, **149**, 884-885.
- 10) Ueda, K., Hara, T. J. and Gorbman, A. (1967) : Electroencephalographic studies on olfactory discrimination in adult spawning salmon. Comp. Biochem. Physiol., **21**, 133-143.
- 11) Ueda, K., Hara, T. J., Satou, M. and Kaji, S. (1971) : Electrophysiological studies of olfactory discrimination of natural waters by hime salmon, a land-locked pacific salmon, *Oncorhynchus nerka*. J. Fac. Sci., Univ. Tokyo, Sec. N, **12**, 167-183.
- 12) Kaji, S., Satou, M., Kudo, Y., Ueda, K. and Gorbman, A. (1975) : Spectral analysis of olfactory responses of adult spawning chum salmon (*Oncorhynchus keta*) to stream waters. Comp. Biochem. Physiol., **51A**, 711-716.
- 13) Kudo, Y. and Ueda, K. (1980) : Spectral analysis of telemetered olfactory bulbar responses in free swimming carp, *Cyprinus carpio* L. Proc. of 5th Inter. Sympto. on Biotelemetry, 107-110.
- 14) Satou, M. (1971) : Electrophysiological study of the olfactory systems in fish I. Bulbar responses with special reference to adaptation in the carp, (*Cyprinus carpio* L.). J. Fac. Sci., Univ. Tokyo, Sec. N, **12**, 183-218.
- 15) Satou, M. and Ueda, K. (1978) : Synchronized rhythmic discharges of the secondary olfactory neurons in carp. Brain Research., **158**, 313-329.
- 16) Yamaguchi, K. and Ueda, K. (1984) : Rhythmic discharge of mitral cells in the carp olfactory bulb. Brain Reserch., **322**, 378-381.
- 17) Kudo, Y. and Ueda, K. (1980) : Spectral analysis of telemetered olfactory bulbar responses in free swimming carp, *Cyprinus carpio* L. Proc. of 5th Inter. Sympto. on Biotelemetry, 107-110.
- 18) Kudo, Y. and Ueda, K. (1980) : The measurement of the electric activity of the olfactory bulb in free swimming carp (*Cyprinus Carpio* L.) by underwater telemetry systems. IEEE Trans. on Biomed. Eng., **27** (12), 694-698.
- 19) Hara, T. J. and Gorbman, A. (1967) : Electrophysiological studies of the olfactory system of the goldfish, *Carassius auratus* L. -I. Modification of the electorical activity of the olfactory bulb by other central nervous structures. Comp. Biochem. Physiol., **21**, 185-200.
- 20) Satou, M. (1974) : Electrical response at various levels of the olfactory pathway in hime salmon, (*Oncorhynchus nerka*). Jap. J. Physiol., **24**, 389-402.
- 21) Fujita, I., Satou, M. and Ueda, K. (1988) : Morphology of physiologically identified mitral

cells in the carp olfactory bulb. A light microscopic study after intracellular staining with horseradish peroxidase. *J. Comp. Neuro.*, **267**, 253–268.

22) Yamaguchi, K., Satou, M. and Ueda, K. (1988): Induced wave and its generation mechanism in the carp olfactory bulb. *Comp. Biochem. physiol.*, **89A**, 605–608.