

# 鱼类脂味觉的行为学检测

刘宁宁<sup>1</sup> 魏书磊<sup>1</sup> 李林芳<sup>1</sup> 张敏<sup>1</sup> 徐艳萍<sup>1</sup> 刘振辉<sup>1,2,3\*</sup>

(<sup>1</sup> 中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266003)

(<sup>2</sup> 中国海洋大学海洋生物多样性与进化研究所, 青岛 266003)

(<sup>3</sup> 教育部海洋生物遗传学与育种重点实验室 中国海洋大学, 青岛 266003)

**摘要** 选取斑马鱼和蓝鲨为代表, 设计并改进了一系列味觉行为学实验方法来探索鱼类的味觉感受。结果表明, 斑马鱼和蓝鲨除了具有对苦味和鲜味的感受外, 很可能具有对脂肪酸的味觉感受。研究发现, 蓝鲨对甜味具有偏好性, 这与斑马鱼无甜味感受能力的报道不同。

**关键词** 鱼类 脂味觉 行为学检测

中图分类号 S917.4 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2012)06-0023-06

## Behavioral test of fat taste in fish

LIU Ning-ning<sup>1</sup> WEI Shu-lei<sup>1</sup> LI Lin-fang<sup>1</sup> ZHANG Min<sup>1</sup>

XU Yan-ping<sup>1</sup> LIU Zhen-hui<sup>1,2,3\*</sup>

(<sup>1</sup> College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003)

(<sup>2</sup> Institute of Evolution and Marine Biodiversity, Ocean University of China, Qingdao 266003)

(<sup>3</sup> Key Laboratory of Marine Genetics and Breeding, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003)

**ABSTRACT** In humans (and probably other mammals), it is generally agreed that there are five basic taste qualities: sweet, bitter, umami, salty and sour. Recent compelling evidence from rodent and human studies raise the possibility for an additional sixth taste modality devoted to the perception of lipids (fat taste). It has been shown that zebrafish can perceive amino acids, bitter tastant as taste stimulants, then what about fat taste? Until now, it has not been reported yet. Based on this, behavioral experiments were conducted to detect the existence of fat taste in *Danio rerio* and *Pangasius sutchi*. It was shown that fish can perceive not only bitter and amino acids tastants, but also fatty acids. In addition, we found that *P. sutchi* had a preference for sweet taste, which is inconsistent with the previous report that there was no sweet taste in zebrafish.

**KEY WORDS** Fish Fat taste Behavioral test

味觉是动物对目标食物采取接受或拒绝行为而进行化学感受的最后一步, 对于动物摄取食物的安全及动物合理的营养需要十分重要。传统上认为, 人和小鼠等哺乳动物具有5种基本味觉, 即: 酸、甜、苦、咸和鲜

教育部新世纪优秀人才项目(NCET-08-0501)和国家“863”项目(2008AA092603)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: zhenhui@ouc.edu.cn, Tel: (0532)82032092

收稿日期: 2012-03-08; 接收日期: 2012-04-25

作者简介: 刘宁宁(1986-), 男, 主要从事鱼类味觉机制的研究。E-mail: k57719299@163.com, Tel: (0532)82032092

(Umami)(Lindemann *et al.* 2001; Yoshida *et al.* 2009; Vandenbeuch *et al.* 2008)。最近的研究表明,除上述5种基本味觉外,还存在第6种基本味觉,即:脂味觉。Laugerette等(2005)用CD36缺陷型小鼠令人信服地证明了脂味觉的存在,并且认为CD36是候选的脂味觉受体,在其检测小鼠味觉行为的双瓶实验中,发现CD36的缺失能够完全消除野生型小鼠对富含长链脂肪酸溶液的偏好,而甜味偏好和苦味厌恶感并不会因为CD36的缺失而改变。

有关鱼类摄食行为与感觉器官之间关系的研究目前主要集中于视觉(Holmes *et al.* 1986; Zaret *et al.* 1980),然而鱼类的摄食行为是多种感觉器官共同作用的结果(王新安等 2007)。鱼类属于低等脊椎动物,也具有味觉器官味蕾,被食物或者溶液中某些化学刺激之后可产生反应。不同种类脊椎动物味蕾的形态特征是相似的,但并不完全相同(杨秀平等 1996; 方静等 1996),其味觉感受与哺乳动物有哪些异同点,是一个令人感兴趣的问题。由于鱼类生活在水中,给有关味觉行为学实验带来了难度。一般来说,鱼的摄食行为是由多个连续的步骤组成的:1)视觉、嗅觉或机械感觉引起鱼的注意;2)追逐到食物旁边,接近食物;3)先用吻、唇、触须或者表皮小心翼翼地试探,感到可食就摄入口中;4)决定吃掉它或者吐出来。鱼类口腔的作用是识别和决定吞入口中是饵还是其他异物,是咽下去还是吐出来。嗅觉、味觉或机械感觉都参与了前三步的摄食行为,而味觉系统则在第四步中起主要的作用(Valenticic *et al.* 1994)。因此,要判断鱼类对某特定促味剂是否具有感受能力,关键是观察其对食物有无最终吃掉。

日本学者通过用荧光染料[DiI<sub>12</sub>(3)]对饵料进行标记,对鱼类的味觉行为学研究进行了有益的探讨(Aihara *et al.* 2008)。他们的研究表明,斑马鱼对鲜味和苦味具有感受能力,但不具有对甜味的感知能力(Valenticic *et al.* 1994)。问题是鱼类对脂肪酸饵料是否也有味觉感受呢?近年来,国内外研究证实,海洋鱼类需要3种多不饱和脂肪酸(分别是DHA、EPA和ARA)来维持正常生长和发育(Castell *et al.* 1994; Koven *et al.* 1990),这3种脂肪酸被认为是海水鱼类的必需脂肪酸(常青等 2009; 刘镜恪 2002),显示了鱼类对脂类食物的营养需求。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验与动物

本研究所用斑马鱼 *Danio rerio* 体长3cm; 蓝鲨 *Pangasius sutchi* 体长11cm, 2010年5月购买自青岛市南山市场,用充氧袋运回实验室,饲养于实验室大玻璃缸内。连续充气,放置恒温加热棒,温度控制在25~27℃,自然光周期。每天08:00和20:00喂食。每次喂食1h,换水1/3。

### 1.2 各种促味剂饵料的制备

#### 1.2.1 斑马鱼荧光染料标记饵料的制备

仿照 Aihara 等(2008)的方法,制备含有各种促味剂的饵料。1) A' 促味剂溶液的制备: 7.5 ml 溶液包含 200 mmol/L L-脯氨酸、100 mmol/L L-丝氨酸、100 mmol/L L-谷氨酸单钠盐、20 mmol/L 的肌苷酸二钠盐 (IMP) 和 100 mmol/L 的苦精(苯甲地那铵, Denatonium benzoate); B' 促味剂溶液的制备: 7.5 ml 溶液包含 300 mmol/L 亚油酸、100 mmol/L 的花生四烯酸和 100 mmol/L 的苦精; C' 促味剂溶液的制备: 包含 100 mmol/L 的苦精水溶液 7.5 ml。2) 在 3 种 7.5 ml 促味剂溶液中分别加入 60℃ 的水, 同 2% 的 span 80 配成 150 ml 的水溶液。3) 制备 DiI<sub>12</sub>(3) 酒精溶液。用大约 15 g 的三软脂酸甘油酯与 1 ml 的 10 mmol/L 的 DiI<sub>12</sub>(3) 的酒精溶液形成一个脂相溶液(70℃)。4) 把 3) 中的脂相溶液和 2) 中的 150 ml 的水溶液分别加热到 60℃, 然后混合, 用乳化器以 10 000 r/min 搅拌 5 min, 充分混匀, 使脂相溶液分散在水相中。然后加入 75 g 马铃薯淀粉, 用玻璃棒混合搅拌, 迅速凝胶。5) 把上述混合物放在水浴中蒸发, 使淀粉凝固, 样品放入液氮下迅速冷却, 在研钵中研磨成小颗粒, 然后冷冻干燥。6) 分别把 3 种饵料放在筛网上, 筛选出大小合适的颗粒饵料, 得到 3 种含不同促味剂的荧光饵料: 包含氨基酸和苦精的颗粒饵料 A, 包含脂肪酸和苦精的颗粒饵料 B, 只包含苦精的颗粒饵料 C(对照)。

### 1.2.2 蓝鲨含促味剂饵料的制备

制备包含几种促味剂的颗粒饲料:由于蓝鲨进食的饵料比较大,可以清晰地看到蓝鲨吞吐的颗粒数,不需加入荧光染料,而是在进食 10 min 之后观察剩余饵料数量,进而计算出蓝鲨吃掉的饵料数量。因此选择商业大颗粒饵料(鳄鱼王牌高档血鹦鹉专用饲料)。1)用蒸馏水反复浸泡商业颗粒饲料 3 次,每次 30 min,尽量减少颗粒饵料本身的味道,60℃烘箱烘干 1 h。把烘干去味的颗粒饵料平均分为 4 份,分别浸泡于 100 mmol/L 的苦精溶液中 30 min,使之带有苦味,60℃烘箱再烘干 1 h。2)制备含有促味剂的溶液,E' 溶液中包含 200 mmol/L 甜味剂糖精;F' 溶液中包含 200 mmol/L 的亚油酸和 100 mmol/L 花生四烯酸;G' 溶液包含 200 mmol/L L-丝氨酸、200 mmol/L L-脯氨酸、100 mmol/L L-谷氨酸单钠盐和 20 mmol/L 肌苷酸二钠盐(IMP)。3)把步骤 1)处理过的颗粒饵料分别用步骤 2)中的 3 种包含不同促味剂的溶液浸泡 1 h,然后冷冻干燥,即得到 4 种含不同促味剂的饵料:包含苦味的颗粒饵料 D(对照),包含甜味促味剂的颗粒饵料 E,包含脂肪酸促味剂的颗粒饵料 F 和包含氨基酸促味剂的颗粒饲料 G。

### 1.3 斑马鱼的味觉行为学检测方法

将 15 只生长健康、体长均匀的斑马鱼随机分成甲、乙、丙 3 组,甲、乙组为试验组,丙组为对照组。甲组饲喂包含氨基酸的颗粒饵料 A,乙组饲喂包含促味剂脂肪酸的颗粒饵料 B,丙组饲喂饵料 C(对照)。

3 组斑马鱼饥饿 24 h 后,分别取 10 mg 的上述 3 种饵料,喂养 3 组斑马鱼,肉眼观察并用数码摄像机记录斑马鱼对饵料的摄食过程。2 min 后每组分别取两条斑马鱼,解剖鱼体,取肠部分,制作切片,放荧光显微镜下观察荧光密度。重复 3 次。

### 1.4 蓝鲨的味觉行为学检测方法

将 12 只生长健康、体长均匀的蓝鲨随机分成 I、II、III、IV 4 组,分别放进大小相同的方形鱼缸中,I 组饲喂饵料 D,为对照组,II、III、IV 组为试验组,分别投喂饵料 E、F 和 G。由于蓝鲨晚上活动觅食,因此选择 24:00 进行实验。称取相同质量的 4 种颗粒饵料(每组颗粒饵料的数目接近),分别饲喂 I、II、III、IV 组蓝鲨,观察并记录蓝鲨对饵料摄食。10 min 后,统计各组剩余颗粒饵料的数量,计算吞食饵料的数量。重复 3 次。

## 2 结果

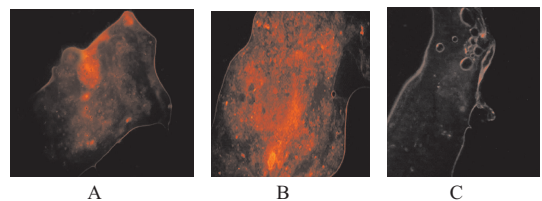
### 2.1 斑马鱼的味觉行为检测

在斑马鱼摄食的初始阶段,喂养含苦味剂 C 饵料的丙组斑马鱼,有明显的吞进食物然后再把食物吐出现象,而在喂养含氨基酸的饵料 A 和含脂肪酸的饵料 B 时,则没有看到斑马鱼有明显的吐出食物的现象。

斑马鱼进食 2 min 后对肠进行解剖,用荧光显微镜进行镜检(图 1),很明显地观察到喂养含氨基酸和脂肪酸的饵料的荧光密度要远远大于喂养含苦味剂的饵料的荧光密度,而喂养含脂肪酸的饵料的荧光密度也大于喂养含氨基酸的饵料的荧光密度。斑马鱼对 3 种促味剂的味觉喜好情况为:脂肪酸>氨基酸>苦味剂。

### 2.2 蓝鲨的味觉行为学检测

称取一定质量 4 种不同种类的饵料,记下总颗粒数,倒入鱼缸中,观察蓝鲨咬食后吐出饵料颗粒的次数。10 min 后,统计鱼缸中剩余颗粒饵料数目,计算吞食下去饵料数量占饵料总颗粒数的百分比。3 次重复实验后



A: 喂养含氨基酸饵料; B: 喂养含脂肪酸饵料;  
C: 喂养含苦味剂饵料

A: Feed with food A (amino acids); B: Feed with food B (fatty acids);  
C: Feed with food C (denatonium benzoate)

图 1 斑马鱼肠道中饵料的荧光照片

Fig. 1 The fluorescence photo from the digested food in zebrafish gut

取平均值,如表1所示。数据显示,添加甜味剂饵料的Ⅱ组咬食后又吐出颗粒的次数最少,仅有3.3颗次(总投喂颗粒数51颗),对照组Ⅰ组添加苦味剂,咬食后又吐出颗粒的次数最多,有61颗次(总投喂颗粒数56.7颗),而Ⅲ、Ⅳ组中,咬食后又吐出颗粒的次数分别为18.3颗次(总投喂颗粒数53.3颗)和17.7颗次(总投喂颗粒数52.7颗)。

表1 蓝鲨对含不同促味剂饵料的摄食情况

Table 1 Comparison of the number of consumed food pellet containing different tastants by *Pangasius sutchi*

摄食情况(颗) Feeding situation	含不同促味剂的饵料 Diet containing different tastants			
	对照组Ⅰ Control I	甜味组Ⅱ Sweet treatment II	脂肪酸组Ⅲ Fatty acid treatment III	氨基酸组Ⅳ Amino acid treatment IV
初始颗粒数 Number of initial pellet	56.7	51.0	53.3	52.7
咬食后又吐出颗粒次数 Number of pellet bit and spitted out	61.0	3.3	18.3	17.7
剩下颗粒数 Number of pellet left	44.0	2.7	13.7	14.3
吃掉颗粒数 Number of pellet eaten	12.7	48.3	39.7	38.3

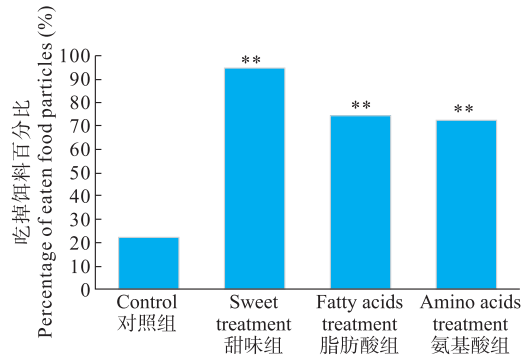
进一步计算每一组中吃掉饵料的颗粒数占饲喂饵料总颗粒数的百分比。结果显示,对照组Ⅰ组吃掉饵料的颗粒数占饲喂饵料总颗粒数的22.4%,Ⅱ组吃掉饵料的颗粒数占饲喂颗粒总数的94.9%,Ⅲ组吃掉饵料的颗粒数占饲喂颗粒总数的74.3%,Ⅳ组吃掉饵料的颗粒数占饲喂颗粒总数的72.8%(图2)。统计学分析,Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组与对照组Ⅰ组差异极显著( $P < 0.01$ ),Ⅱ组与Ⅲ、Ⅳ组差异极显著( $P < 0.01$ ),而Ⅲ组与Ⅳ组之间差异不显著( $P > 0.05$ )(图2)。蓝鲨对甜味剂糖精的味道非常喜欢,有明显的偏爱,而对脂肪酸和氨基酸的味道次之,有一定的偏爱,对苦味剂则表现出厌恶感。

### 3 讨论

#### 3.1 颗粒饵料的改进

因为鱼类生活在水中,给味觉行为学实验带来难度。Aihara等(2008)通过用荧光染料对饵料进行标记,借助于荧光显微镜观察斑马鱼肠中摄入饵料的荧光信号密度,来判断斑马鱼对不同味道饵料的感知能力大小。这似乎不失为一巧妙检测鱼类味觉的行为学方法。在斑马鱼的味觉行为学实验中,作者仿照了Aihara等(2008)的方法。

制备4种分别包含氨基酸、脂肪酸、苦味剂和空白对照的颗粒饵料,在荧光显微镜下观察斑马鱼肠中摄入的饵料时,发现饲喂含苦味剂的饵料的荧光密度比其他组小得多,表明斑马鱼对苦味剂比较厌恶;但饲喂含氨基酸、脂肪酸和空白对照组的饵料的荧光密度彼此之间没有明显差异,用肉眼基本无法分辨大小,也就很难直观检测斑马鱼对氨基酸和脂肪酸的偏好性。推测的原因是制备饵料时加入的淀粉是斑马鱼比较喜欢的食物(已验证),如果再加入氨基酸或者脂肪酸也是斑马鱼喜爱的味道,就很难明显地看出对照组与实验组之间的差别。作者对Aihara等(2008)的方法做出改进,在3种饵料中都加入等量的苦味剂,其中一份作为对照,另两种



数值用平均值±标准差来表示,3次重复。

与对照组存在显著差异( $P < 0.01$ )的组用星号\*\*表示  
The values in each treatment are shown as Mean±SD,  
 $n=3$ . Significant differences( $P < 0.01$ )  
are indicated by double asterisks (\*\*)

图2 蓝鲨吃掉含不同促味剂颗粒饵料占饲喂总颗粒饵料的百分比

Fig. 2 Percentage of eaten food particles versus total food particles

分别加入脂肪酸和氨基酸。加苦味剂是让淀粉本身带有苦味,使其成为斑马鱼不喜欢吃的食物,在此基础上加入脂肪酸和氨基酸。这个改进使作者能够观察到斑马鱼对氨基酸和脂肪酸的偏好性。对蓝鲨的味觉行为学实验也使用了同样的方法。

### 3.2 试验对象的选取及检测方法的异同

本研究中,分别选用了斑马鱼和蓝鲨作为研究对象。斑马鱼是典型的模式生物,其遗传背景比较清楚,已有的鱼类味觉的研究成果很大一部分即以斑马鱼为研究对象。因此,选取斑马鱼进行味觉行为学实验,有利于与已有研究成果的比较及后续的系统研究。但斑马鱼行动迅速,进食速度比较快,不利于观察。作者又选择了另一种行动缓慢、进食速度比较慢,而且进食大颗粒饵料的鱼类(蓝鲨)作为研究对象。用不同大小颗粒的饵料、不同的研究对象进行鱼类味觉行为学研究,达到取长补短、相互补充的目的。

用斑马鱼做研究对象时发现,可能由于食物表面光学对比等原因,斑马鱼更喜欢漂浮在水面上的食物而不是在水底的食物。这意味着,必须制作出能够漂浮在水面的饵料。同时,只有鱼类咬到饵料,饵料中的促味剂接触到鱼类的味蕾的时候,才能表现出鱼类的味觉感受行为。制作的颗粒饵料中包含三软脂酸甘油酯,使得饵料的密度比水小,会漂浮在水面上;同时,饵料中含有淀粉,使得饵料上有很多小孔,鱼在咬饵时促味剂可以释放出来。因此,制作的饵料适合斑马鱼味觉行为学的检测。另外,对斑马鱼喂养的是细小的颗粒饵料,用肉眼观察无法准确地定量进食的数量。因此,在制作的饵料中添加荧光标记物  $\text{DiIc}_{12}(3)$ ,投饵后,把解剖后的肠道放在荧光显微镜下检测,摄入的饵料由于有  $\text{DiIc}_{12}(3)$  的存在,会发出红色荧光。通过观察荧光密度,能够较准确地比较斑马鱼的进食量,进而分析斑马鱼对各种饵料的偏好性。

用蓝鲨做研究对象,喂养的是大颗粒饵料,非常便于记下颗粒饵料的数量。蓝鲨栖息于水体的中下层,到水面活动觅食,咬到食物之后游回底层,当它们的味蕾触到促味剂的时候,会分辨出是否喜欢,进而决定是吃下去还是吐出来。由于选择了漂浮性能很好的饵料,它吐出的饵料会从底层飘到水面,用肉眼观察非常清晰,利于记录蓝鲨吐出饵料的次数。同时,对剩余的颗粒饵料也很容易观察,从而计算吃下去的数量。根据与对照组的显著差异与否,可以判断蓝鲨对几种颗粒饵料的偏好性。

### 3.3 鱼类的味觉行为及进化

鱼类的味觉行为学反应已有零星的研究。Ogawa 等(1997)研究表明,L-谷氨酸、L-丝氨酸、L-脯氨酸、L-谷氨酸单钠盐和 IMP 二钠盐的混合物是鱼类喜欢的促味剂。同时,他们描述了味觉神经对一些促味剂有厌恶的反应,比如奎宁盐酸盐(Quinine hydrochloride)、咖啡因(Caffeine)和苦精等苦味剂。Lamb 等(1995)也报道含有苦味剂奎宁盐酸盐的食物颗粒被金鱼吞进嘴里然后吐出来。Oike 等(2007)观察到斑马鱼进食含苦味剂苦精食物要明显少于不含苦精的食物。通过斑马鱼味觉行为学实验,不但支持以上结论,还发现斑马鱼对脂肪酸也象对氨基酸一样偏好,甚至更喜欢脂肪酸的味道。对蓝鲨的味觉行为学实验也支持了这一结论。

鱼类对含不同促味剂的食物有不同的偏爱,其摄食活动常有一定的程式,程式各阶段涉及不同的感受器,包括视觉的、机械的、电的和化学的,感受器有时起决定性作用。咽部的味觉感受器——味蕾,能触发吞咽反射或是排斥反射(张琳琳等 2008)。有研究表明,味觉受体 T1R 和 T2R 有着相互排斥的表达模式和不同类型的味蕾,并因此可能负责分辨对促味剂的偏好和厌恶(Mueller *et al.* 2005)。小鼠和人的候选脂味觉受体 CD36 是否也在鱼类中担负着脂味觉感受的受体角色,这是一个令人感兴趣的问题。对鱼类 CD36 味觉感受功能的研究将有助于进一步阐明鱼类的脂味觉感受机制。

蓝鲨对甜味剂糖精有非常大的偏爱,这个结果与 Oike 等(2007)的研究结果有差异。Oike 等(2007)认为,斑马鱼味觉受体 T1R2/3 对 L-氨基酸有反应,而对糖或糖精没有反应。这种差异是否是由于不同鱼种引起的还有待进一步验证。该问题对于揭示脊椎动物味觉的进化具有重要意义。

综上所述,对于鱼类味觉行为学研究表明,鱼类除了具有对苦味和氨基酸味的感受外,还具有对脂肪酸的味觉感受。还发现蓝鲨对甜味具有偏好性,说明鱼类可能具有甜味的味觉感受,这与斑马鱼情况不一致,还需要进一步研究。

**致谢:** 本研究论文的顺利完成得到了中国海洋大学生化试验室刘晨光教授和赵士睿同学在实验仪器和理论知识上给予的支持和帮助。

## 参 考 文 献

- 王新安,马爱军. 2007. 化学感觉和机械感觉与鱼类摄食行为关系的研究进展. 海洋水产研究, 28(6):104~108
- 方 静,谢 林,周 毅. 1995. 齐口裂腹鱼味蕾及上皮细胞的扫描电镜观察. 四川动物, 14(3):105~106
- 刘镜恪. 2002. 海鱼早期阶段必需脂肪酸和磷脂的研究现状与展望. 海洋水产研究, 23(2):58~64
- 杨秀平,黄祥柱,张训蒲,金晓萍,潘 璠. 1996. 鳊的口、咽腔味蕾形态和数量的初步研究. 华中农业大学学报, 15(4):365~367
- 张琳琳,曾 慧,张佳明,艾庆辉,麦康森. 2008. 中草药对鲈鱼诱食活性的研究. 海洋水产研究, 29(4):101~105
- 常 青,梁萌青,张汉华,陈四清,王家林. 2009. 海水仔稚鱼的营养需求与微颗粒饲料研究进展. 渔业科学进展, 30(1):130~136
- Aihara, Y., Yasuoka, A., Iwamoto, S., Yoshida, Y., Misaka, T., and Abe, K. 2008. Construction of a taste-blind medaka fish and quantitative assay of its preference-aversion behavior. *Genes Brain Behav.* 7(8):924~932
- Castell, J. D., Bell, J. G., Tocher, D. R., and Sargent, J. R. 1994. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 128(3-4):315~333
- Holmes, R. A., and Gibson, R. N. 1986. Visual cues determining prey selection by the turbot, *Scophthalmus maximus* L. *J. Fish Biol.* 29(Suppl A):49~58
- Koven, W. M., Tandler, A., Kissil, G. W., Sklan, D., Friezlander, O., and Harel, M. 1990. The effect of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids on growth, survival and swim bladder development in *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture*, 91(1-2):131~141
- Lamb, C. F., and Finger, T. E. 1995. Gustatory control of feeding behavior in goldfish. *Physiol. Behav.* 57(3):483~488
- Laugerette, F., Passilly-Degrace, P., Patris, B., Niot, I., Febbraio, M., Montmayeur, J. P., and Besnard, P. 2005. CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions. *J. Clin. Invest.* 115(11):3177~3184
- Lindemann, B. 2001. Receptors and transduction in taste. *Nature*, 413(6852):219~225
- Mueller, K. L., Hoon, M. A., Erlenbach, I., Chandrashekar, J., Zuker, C. S., and Ryba, N. J. 2005. The receptors and coding logic for bitter taste. *Nature*, 434(7030):225~229
- Ogawa, K., Marui, T., and Caprio, J. 1997. Quinine suppression of single facial taste fiber responses in the channel catfish. *Brain Res.* 769(2):263~272
- Oike, H., Nagai, T., Furuyama, A., Okada, S., Aihara, Y., Ishimaru, Y., Marui, T., Matsumoto, I., Misaka, T., and Abe, K. 2007. Characterization of ligands for fish taste receptors. *J. Neurosci.* 27(21):5584~5592
- Valentincic, T., and Caprio, J. 1994. Consummatory feeding behavior to amino acids in intact and anosmic channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Physiol. Behav.* 55(5):857~863
- Vandenbeuch, A., Clapp, T. R., and Kinnamon, S. C. 2008. Amiloride-sensitive channels in type I fungiform taste cells in mouse. *BMC Neurosci.* 9:1~13
- Yoshida, R., Miyauchi, A., Yasuo, T., Jyotaki, M., Murata, Y., Yasumatsu, K., Shigemura, N., Yanagawa, Y., Obata, K., Ueno, H., Margolskee, R. F., and Ninomiya, Y. 2009. Discrimination of taste qualities among mouse fungiform taste bud cells. *J. Physiol.* 587:4425~4439
- Zaret, T. M. 1980. Predation in freshwater communities. New Haven and London University Press, London, England. 1~187