

不同刺激强度训练后一日龄小鸡 的记忆形成^{1) *}

郑丽 王建军

翁旭初 匡培梓

(南京大学, 210093)

(中国科学院心理研究所, 北京, 100012)

摘 要 一日龄小鸡, 分别接受不同浓度的回避性刺激物邻氨基苯甲酸甲酯(MeA)训练, 间隔一定时间后测试记忆保持。主要结果为: 5%和20%MeA训练, 分别使动物记忆保持15分钟和50分钟左右, 相当于记忆形成多阶段模型中的STM和ITM阶段。40%MeA训练, 记忆保持到训练后8—10小时, 相当于不依赖新糖蛋白合成的LTM形成的早期阶段。只有60%以上浓度的MeA训练才使记忆保持至少24小时。上述结果提示, 利用弱化训练的方法, 不仅可以使STM, ITM和LTM分离开, 而且可把LTM形成的早期阶段分离出来独立研究, 增加了对LTM新的理解, 为进一步探讨记忆形成机制提供了一条新的途径。

关键词 一日龄小鸡, 训练刺激强度, 记忆阶段。

1 引 言

记忆形成的阶段性已广为认同, 争议在于具体分为几个阶段及各阶段的时程和内在机制上。实验心理学和神经心理学认为记忆至少存在快速形成的短时记忆(short term memory, STM)和较慢形成的长时记忆(long term memory, LTM)两个阶段^[1]。而在小鸡一次性被动回避记忆模型上, Gibbs和Ng根据训练后记忆对致遗忘药物敏感性的时间特点得出STM, 中时记忆(immediate term memory, ITM)和LTM三个次序依赖的阶段^[2]。Rose及其合作者利用此模型进一步发现, 记忆形成伴随突触部位糖代谢增强、蛋白磷酸化和即刻早基因(immediate-early genes, IEGs)表达增加等早期细胞活动, 以及糖蛋白合成和突触形态变化等晚期细胞活动, 阻断上述活动中的许多环节均可引起遗忘^[3]。这些结果对Gibbs和Ng的具有精确起止时间的三阶段模型提出了挑战。

若能按记忆各阶段分开独立研究, 将有助于使行为上的结果和生化机制更好地联系起来。因此, 许多人试图探讨如何更好地地区分记忆形成的不同阶段。近年来人们注意到, 刺激强度可影响记忆保持时程, 我们和其它两个实验室的研究表明, 弱强化训练后, 记忆仅能保持到某一特定阶段^[4-6], 提示从训练强度的角度有可能独立得到各相应的记忆阶段。

1) 本文初稿于1996年7月3日收到, 修改稿于1996年10月8日收到。

* 本课题得到国家自然科学基金及国家科委项目中科院匹配经费资助。

2 一般方法

2.1 动物

雄性一日龄小鸡(北京花 938), 体重 40g 左右, 健康活泼, 于实验当日购于北京市种禽公司种鸡场。

2.2 实验程序

实验程序已有文献详细阐述^[4, 5, 7], 在此仅作简单介绍。(1)预训练 用直径 4mm 的白色塑料小圆珠训练两次, 间隔 30 分钟。(2)训练 把蘸有回避性刺激物邻氨基苯甲酸甲酯(methyl anthranilate, MeA)的金属小圆珠(直径 3mm)呈现给小鸡 10 秒钟(用不同浓度的 MeA 控制刺激强度), 小鸡啄食 MeA 后立即表现强烈的厌恶反应, 凡 10 秒内不啄食的少数小鸡, 在后面数据处理时都被排除。(3)测试 根据实验要求在训练后不同的时间间隔内进行, 用同样大小和形状的干燥金属小圆珠呈现给小鸡 10 秒。10 秒内拒绝啄食, 或同时伴有惊叫、闭眼、逃避和摇头等表现的个体, 被视为记忆保持良好。

上述三个序列都通过与微机相连的小键盘, 记录每只小鸡啄食的次数和第一次啄食的潜伏期。每一组均为 20 只小鸡, 每只仅进行一次训练和测试。

2.3 数据处理

以测试时每一组动物对金属小珠的回避率作为记忆保持水平的指标, 回避率越高, 表明记忆保持越好。其计算方法如下。

回避率 = 测试时拒绝啄食的动物数 / 训练时啄食 MeA 小圆珠的动物数 × 100%, 以 100%MeA 训练组作为对照组, 差异用 χ^2 检验。

3 实验一 不同刺激强度训练后的记忆保持

3.1 目的与方法

训练后 30 分钟和 24 小时是普遍采用的测试 STM 和 LTM 的时间点^[1, 3, 4]。尽管 Gibbs 和 Ng 认为训练后 1 小时形成 LTM, 记忆就比较稳定了^[4], 但 Rose 发现训练后 5—8 小时记忆仍可被蛋白合成抑制剂破坏^[6]。因此本实验选择训练后 24 小时、6 小时和 30 分钟分别进行测试, 旨在观察不同训练强度与记忆形成各阶段之间的关系。

3.2 结果与讨论

由图 1A 可见, 训练后 24 小时, 除 60%MeA 训练组外, 其它各组的回避率均显著低于对照组, 提示接受浓度低于 60% 的 MeA 训练的小鸡, 记忆保持不到 24 小时。图 1B 显示, 训练后 6 小时, 40% 和 60%MeA 训练组的回避率接近于对照组, 其它组都显著低于对照组; 由图 1C 可看出, 30 分钟时, MeA 浓度在 10% 以下各组回避率显著低于对照组, 而 20% 以上的各组均与对照组无明显差异。上述结果提示, 40%MeA 训练的小鸡, 其记忆保持在 6—24 小时之间, 20%MeA 训练可能使记忆保持到 30 分钟与 6 小时之间的某一时期, 10% 以下浓度训练的动物记忆保持均不到 30 分钟。为了确切地了解不同刺激强度训练的记忆保持情况, 以下实验分别观察了 5%、20% 和 40%MeA 训练的记忆保持时程。

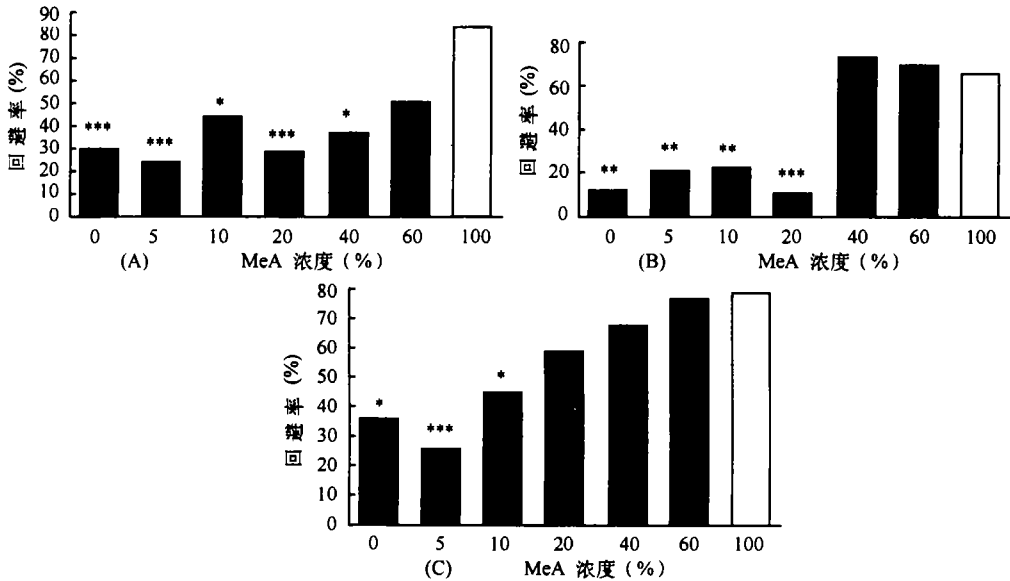


图 1 不同刺激强度训练后小鸡的记忆保持

(A): 训练后 24 小时测试 (B): 训练后 6 小时测试 (C): 训练后 30 分钟测试

* P<0.05 **P<0.025 ***P<0.01 (与 100%MeA 比较)

4 实验二 5%MeA 训练后的记忆保持时程

4.1 目的与方法

由实验一可知, 5%MeA 训练组 30 分钟已明显表现出遗忘, 为获得 5%MeA 训练时较精确的记忆保持时程, 本实验分别选择训练后 5、10、15 和 20 分钟进行测试。

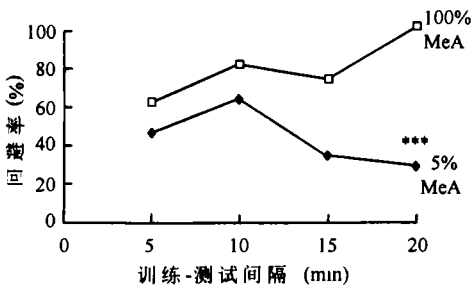


图 2 5% MeA 训练后的记忆保持时程 ***P<0.01

4.2 结果与讨论

图 2 显示, 5%MeA 训练的动物对小圆珠的回避率在 5 和 10 分钟时与对照组接近, 15 分钟开始下降, 20 分钟时则显著低于对照组。表明此训练强度下, 记忆保持 15 分钟左右。Gibbs 和 Ng 根据行为药理学资料提出 STM 形成于训练后 5 分钟, 持续至

训练后 15 分钟即开始衰减^[4]。因此本实验条件下, 5%MeA 训练的小鸡很可能仅形成了 STM。

5 实验三 20%MeA 训练后的记忆保持时程

5.1 目的与方法

实验一显示, 20%MeA 训练组在训练后 30 分钟的记忆保持水平接近于对照组, 6 小

时表现出遗忘。而 Crowe 等用 20%MeA 训练, 记忆可保持至训练后 40—45 分钟^[4]。因此本实验分别在训练后 40、50 和 60 分钟测试, 以观察 20%MeA 训练后记忆保持的确切时间。

5.2 结果与讨论

图 3 显示, 20%MeA 训练的动物的回避率在 40 分钟时与对照组接近, 50 分钟开始下降, 60 分钟时显著低于对照组, 表明其记忆保持 50 分钟左右。Gibbs 和 Ng 发现, 不论训练前或训练后颅内注射钠泵抑制剂, 都会在训练后 10 分钟引起遗忘, 他们称这一依赖钠泵的时期为 ITM^[2]。因此, 本实验条件下, 20%MeA 训练的小鸡很可能形成了 STM 和 ITM, 但未能形成 LTM。有资料表明, 训练后 30 分钟可检测到 PKC 活动及由此引起的 52KD 蛋白的磷酸化, 但颅内注射 PKC 抑制剂即使动物在训练后 1—3 小时出现遗忘^[3]。Rose 据此认为 PKC 的激活是形成 LTM 的“分子开关”, 通过蛋白磷酸化触发 LTM 的形成^[3]。本文 20%MeA 这样低的刺激强度可能不足以激活 PKC, 信息储存不能转化为较为稳定的 LTM, 行为上表现出遗忘。

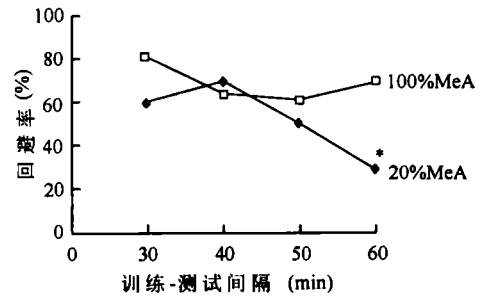


图 3 20% MeA 训练后的记忆保持时程 *P<0.05

6 实验四 40%MeA 训练后的记忆保持时程

6.1 目的与方法

实验一中 40%MeA 训练组在训练后 30 分钟和 6 小时的回避率都保持较高水平, 24 小时出现严重的遗忘。Rose 及其合作者发现, 100%MeA 训练后 5—8 小时脑内有新糖蛋白分子合成, 阻断此环节可导致遗忘^[6]。若实验一中 40%MeA 训练的结果也与此环节有关, 则 40%MeA 训练的动物的遗忘应发生在 8 小时左右。故本实验分别选择训练后 8 和 10 小时进行测试。

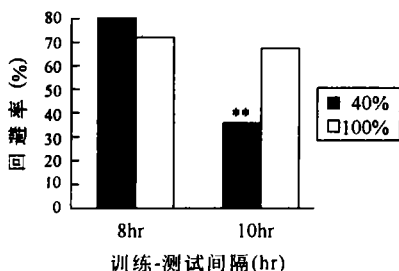


图 4 40% MeA 训练后的记忆保持时程 ***P<0.01

40%MeA 训练未能导致新的糖蛋白合成, 而使记忆得不到进一步的巩固。

6.2 结果与讨论

由图 4 可见, 40%MeA 训练的动物的回避率在 8 小时与对照组相近, 10 小时则显著低于对照组。提示此训练强度下, 动物的记忆保持时间为 8—10 小时。这一时间稍晚于 Rose 提出的新糖蛋白合成时间, 因此我们倾向于认为

7 总讨论

近年来, 记忆形成的神经机制研究取得了一系列重要进展。递质释放、受体激活等记忆环路早期活动被认为是 STM 的生理基础^[1]。这些活动进一步通过第二信使引起细胞内一系列级联反应, 如各种蛋白激酶激活、蛋白磷酸化、即刻早基因表达增加和蛋白

质合成等,使 STM 向 LTM 转化^[3]。新的蛋白质尤其是糖蛋白的合成以及由此引起的突触连接的结构变化使记忆得以长期稳定地保持^[8]。我们曾推测,上述过程中,LTM 形成可能需要一定的内在触发机制^[注 1]。本文 5%MeA 训练的动物只形成 STM,20%MeA 训练的动物没有形成 LTM。这表明训练刺激强度可能是影响记忆形成各阶段相互转化,尤其是触发 LTM 形成的重要因素。有证据表明,没有形成 LTM 的动物,其脑内检测不到与长时记忆密切相关的 GAP43 蛋白的磷酸化变化^[9]。因此推测弱刺激训练可能由于仅诱导出一些记忆形成早期的细胞活动,使行为上只表现出短暂的记忆^[注 2]。

一般认为,LTM 一旦形成,记忆就不易受其它因素干扰^[1],本文却发现,40%MeA 训练的动物的记忆保持至 10 小时仍可出现遗忘。Rose 实验室发现,脑内注射糖蛋白合成抑制剂,使动物分别在训练后 1—2 小时和 5.5—8 小时出现记忆障碍。高强度刺激训练的动物在训练后 1—2 小时和 5.5—8 小时脑内各出现一次糖蛋白的合成高峰,并有证据表明前者主要为翻译后蛋白的糖基化修饰,后者才是真正新糖蛋白合成^[6]。他们采用 10%MeA 训练时,记忆仅保持 6—8 小时,而且检测不到新糖蛋白的合成,从而说明新糖蛋白合成是记忆长期稳定保持所必需的^[8]。本实验 40%MeA 训练得到相似的时间参数,但所用的刺激强度更高。这一差异可能与孵化条件不同有关。Rose 实验室所用的小鸡为 12 小时光周期下孵化的^[8],而本文所有小鸡均在完全黑暗的环境下孵化。最近一项预实验发现,孵化期光照的确可易化小鸡的学习记忆^[注 3]。

总之,利用不同刺激强度训练不仅可把早期的 STM 和 ITM 两个阶段分离开,而且也可区分出 LTM 形成过程中早晚两个内在机制不同的时期。这为研究记忆各阶段的生物学机制提供了一个可行的手段。

注 1 翁旭初 γ -氨基丁酸能系统在小鸡记忆形成过程中的作用。中国科学院心理研究所博士论文 1995, 7。

注 2 Steven Rose 个人通信 1995, 6, 21。

注 3 隋南 未发表资料。

参 考 文 献

- 1 Squire L R. Memory and Brain. Oxford: Oxford University Press, 1987: 134 — 150.
- 2 Gibbs M E, Ng K T. Psychobiology of memory: Towards a model of memory formation. *Biobehavioural Reviews*, 1977; 1: 113 — 136.
- 3 Rose A P R. How chicks make memories: the cellular cascade from c-fos to dendritic remodelling. *Trends in Neuroscience*. 1991; 14: 390 — 397.
- 4 Crowe S F, Ng K T, Gibbs M E. Memory formation processes in weakly reinforced learning. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1989; 33: 881 — 887.
- 5 翁旭初, 陈双双, 匡培梓. 小鸡一次性被动回避模型行为特点的研究. *心理学动态*, 1995; (3): 51 — 53.
- 6 Rose S P R. Cell-adhesion molecules, glucocorticoids and long-term memory formation. *Trends in Neuroscience*. 1995; 18: 502 — 506.
- 7 翁旭初, 匡培梓, 陈双双. 中枢胆碱能系统在小鸡记忆形成过程中的作用. *心理学报*, 1996; 28: 82 — 87.
- 8 Rose S P R. Glycoproteins and memory formation. *Behavioural Brain Research*, 1995; 66: 73 — 78.
- 9 Zhao W Q, Sedman G, Gibbs M E et al. Phosphorylation. changes following weakly reinforced learning and ACTH-induced memory consolidation for a weak learning experience. *Brain Research Bulletin*, 1995; 36 (2):

MEMORY FORMATION FOLLOWING VARIOUSLY REINFORCED TRAINING IN DAY-OLD CHICKS

Zheng Li Wang Jianjun

(Nanjing University, 210093)

Weng Xuchu Kuang Peizi

(Institute of Psychology, Chinese Academy of Science, Beijing, 100012)

Abstract

Day-old chicks were trained with varying concentrations of a taste aversant, methyl anthranilate (MeA), and tested for retention at different time-points after training. Chicks trained with 5% and 20%MeA preserved memory about 15 minutes and 50 minutes respectively, fitting the STM and ITM of the multiple-stage model of memory formation, while those trained with 40%MeA yielded high retention level up to 8—10 hours, this time-course appeared to correspond with the glycoprotein-synthesis-independent stage of the LTM. Only MeA over 60% resulted in good retention lasting at least 24 hours. The results demonstrated that the weak-learning paradigm not only could dissociate the traditional three main stages of memory formation (STM, ITM, LTM), but also could differentiate the LTM into an early and a later phase. This could open a new approach to the further investigations of the mechanisms of memory formation.

Key words day-old chick, memory stage, intensity of training stimulus.