

鱼类在游泳期间的代谢生理研究

D.J. 兰德尔

林浩然

(不列颠哥伦比亚大学动物系)

(中山大学生物学系)

鱼类在不同条件下进行游泳活动时的代谢生理变化是近十年来鱼类生理学新发展的研究课题之一,具有重要的理论和实际意义^(7,8)。

目前对处于不同游泳速度的鱼类进行代谢生理各个方面的动态研究,在实验方法上有了很大改进。本文综合介绍现今采用的比较先进的实验方法和1980年在加拿大 Bamfield 海洋实验站取得的一些研究结果。

实验方法

一、呼吸测定装置

目前普遍采用管道式呼吸测定装置研究鱼类游泳期间的代谢生理活动⁽⁴⁾。它们主要有Blazka型⁽³⁾和Brett型⁽⁴⁾。

我们使用的是Brett型(图1),它由环形管道组成,鱼类呼吸室位于管道正中⁽²⁾。

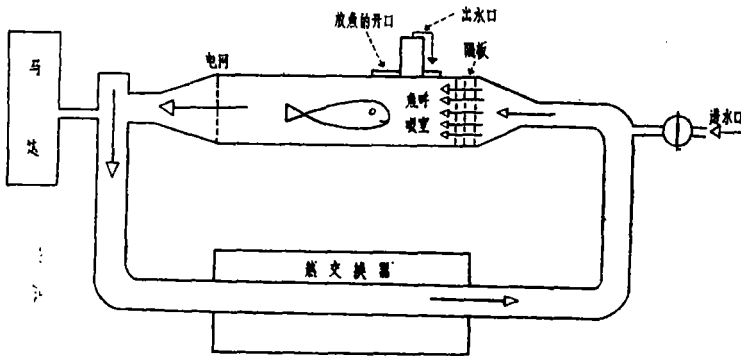


图1 Brett型管道呼吸测定装置

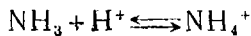
呼吸室前面的进水处设置筛状隔板以造成湍流,使马达推进的水流能以均匀平整的流速通过呼吸室。呼吸室的后面设置电网以促使试验鱼不断向前逆水游动。呼吸室上方有圆形开口供放入或取出试验鱼。新鲜水源不断输入呼吸室,过多的水由上方开口的出水口流出。测定鱼类呼吸代谢时可关闭各个开口,使整个装置内的水不断循环流动。调节马达的转速能产生一定的水流速度,并使鱼朝呼吸室前面逆水游动,水流速度就代表鱼

● 本文1982年11月收到。

的游泳速度。输入呼吸室的水都经过热交换器的温度调节处理，使水温保持稳定。

试验鱼在不断循环流动的密闭呼吸测定装置内，由于代谢活动将会消耗水中的氧并把 CO_2 、 NH_3 等代谢产物排到水中。如果水中含氧量持续降低就会出现缺氧现象而影响试验鱼的正常代谢活动。因此，实验期间必需定期用50毫升的注射器把纯氧注入水中，使水中氧分压不低于110 mmHg。注入的纯氧溶解于水中并在30分钟内均匀混合。如果注入的纯氧经过精确定量测定，而在实验开始和结束时水中氧分压保持一致，则注入水中的氧就等于鱼在试验期间消耗的氧。

当水的pH在7~8范围内，下列反应均向右方进行：



鱼体排出的 CO_2 和 H^+ 会使pH降低，而 NH_3 会使pH升高。在一般情况下， CO_2 的排出量要比 NH_3 大得多，因此，在密闭的呼吸测定装置内，水中pH将会降低并影响试验鱼的代谢活动与游泳能力。需要经常监测水中pH变化并通过Harvard Linear置换泵以0.5~2.5毫升/分钟的速率向呼吸室内注射0.25N的纯NaOH以保持pH的稳定。用一小型电比较器和Radiometer酸度分析仪(PHM-65)及监测水中pH的电极输出相联系以操纵置换泵；当水中pH降低到预先规定的水平时，泵就会启动而把NaOH注入，使pH恢复原来水平^[18]。控制水中pH变化不超过0.02。

试验鱼放入呼吸室后易受惊动，因此，至少需要一天时间让它适应环境，熟悉回避电网以及在不同流速的水流中逆水游动。有些鱼类回避光线，可用黑塑料布复盖呼吸室；有些鱼类喜欢趋光，可在呼吸室前方保持光亮。

管道式呼吸测定装置特别适合于以尾柄摆动尾鳍进行快速游泳的纺锤形鱼类^[9]；对主要依靠胸鳍、腹鳍或背鳍推动身体前进的鱼类则不太合适。体形扁平的鱼类不能在这种呼吸室中进行水平游动。最近，Priede等(1980)^[10]已设计一种倾斜式呼吸测定装置用以研究扁平形鱼类的游泳代谢生理活动。

二、游泳速度的调节

鱼类的游泳活动方式很多，而不同种类和个体的游泳能力不同。为了统一标准和便于分析比较，Hoar和Randall^[9]提出以下基本术语来说明鱼类游泳活动的特点：

(一)持续性游泳(Sustained swimming)：指鱼类能长期保持的游泳速度而不会疲劳(对实验观察来说是指连续保持200分钟以上的游泳速度)。由需氧代谢提供能量。包括长距离回游，结群游泳，觅食活动等。

(二)突发性游泳(Burst swimming)：短暂而高速的突然游动，持续时间不到15秒。主要由不需氧代谢提供能量。

(三)延长性游泳(Prolonged swimming)：包括持续性游泳和突发性游泳之间的游泳速度范围。

(四)疲劳(Fatigue)：指鱼经过一段时间游泳后不能继续保持一定的游泳速度。

(五)临界游泳速度(Critical swimming speed, 以 U_{crit} 表示)：指鱼类在达到疲劳前的最大游泳速度。对于比较各种鱼类在不同条件下的游泳速度，这是很有用的标准。测定某种鱼的临界游泳速度是把它放在呼吸室内逐步增加游泳速度，直到疲劳。例

如, 某种鱼能保持10厘米/秒的游泳速度60分钟(通常每级游泳速度的持续时间是60分钟), 但以12厘米/秒的游泳速度只游30分钟就疲劳, 这样, 临界游泳速度可以计算为:

$$10\text{厘米} + \left[(12\text{厘米} - 10\text{厘米}) \times \frac{30\text{分钟}}{60\text{分钟}} \right] = 11\text{厘米/秒}.$$

每级的持续时间和游泳速度的增量会影响所测定的临界游泳速度, 因而需要有一个合理而统一的范围。目前普遍采用的每级持续时间为60分钟, 每级游泳速度的增量是半个体长/秒, 而从1个体长/秒的游泳速度开始测定。用体长/秒来表示游泳速度是便于在不同大小的鱼之间进行比较。此外, 为了比较同种鱼不同个体在不同生理状况下游泳能力, 常采用50%或80%的临界游泳速度。

三、鱼类的血管导管手术和取血样

部份试验鱼需要在背大动脉设置导管^[12], 以便在游泳时取血样进行分析测定。

试验鱼先用1:20,000的MS-222(tricaine methanesulphonate)麻醉, 置于手术台的吊网中, 通过两条胶管向左右鳃腔不断灌注冷却的1:50,000 MS-222溶液, 使鱼继续保持麻醉状态并有氧气供给。插入血管导管之前, 用粗注射针将麻醉鱼上颌在鼻腔附近刺穿, 插入一长约3~4厘米的粗塑料管, 以备手术后将血管导管引出体外; 又用手术钩针穿线后在口腔顶部正中线的上皮系上两个活结, 前后相距约1厘米, 以便把导管固定在口腔顶部上皮用。然后, 用特制的塑料外套管和插入套管内的长注射针在咽腔上壁第一对鳃弓和第二对鳃弓之间的正中中线以30°角斜刺入上皮组织以及在其下方的背大动脉(图2)。此时, 一手将塑料套管轻轻稳住, 另一手将注射针头取出, 并立即把装满含肝素鱼用生理盐水^[11]的塑料小管沿着塑料套管仔细插入已经刺破的背大动脉内。这



图2 示塑料套管内的长注射针刺入背大动脉

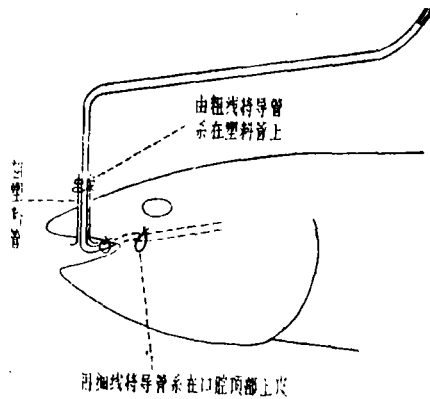


图3 把塑料小管(导管)结扎在口腔顶部上皮后通过鼻腔的粗塑料管引出体外

时,一手用镊子轻轻夹住塑料小管,将它的位置稳住,另一手慢慢将塑料外套小心移出。把塑料外套管移出一段距离后,便可用原先系在口腔顶部上皮的两个活结将塑料小管结扎在口腔上皮上,使其位置固定。接着,把塑料外套完全取出,让塑料小管通过已穿过鱼上颌的粗塑料管引出体外(图3),再用粗线将粗塑料管结扎紧。最后,通过塑料小管把少量生理盐水注入背大动脉以补充手术过程的失血,使整个塑料小管充满生理盐水而没有气泡,并用大头针将塑料小管(亦即做好的背大动脉导管)末端塞紧。手术后鱼移入有新鲜流水与充气的水簇箱中让其苏醒与恢复,2天后才开始实验。试验鱼在呼吸室游泳时,让导管自然飘动于鱼头部后上方;取血样时从呼吸室开口取出导管,用注射针从导管末端吸取血样后应注入少许生理盐水以补充失血,再把导管放回呼吸室内。

四、样品测定方法

采用 Radiometer 酸硷分析仪(RHM-71)和附属的恒温电极分别测定血样和水样中的 PO_2 、 PCO_2 和pH。总 CO_2 含量按照 Cameron^[6]法用同样型号的酸硷分析仪和 CO_2 电极测定。水中的碳酸氢根离子浓度用微量滴定法测定。

试验鱼的耗氧量根据呼吸测定装置的水容量、水中含氧量和注入的纯氧量计算。 CO_2 排出量根据水中总 CO_2 含量的变化而换算。

血液中红血球内的pH用Zeidler和Kim(1977)^[10]的快速冰冻法测定。取血样约0.5毫升在塑料小管内离心使红血球沉淀,用干冰—乙醇混合物使之快速冰冻,把含冰冻红血球的塑料小管末端切下,在室温下解冻,用Radiometer 酸硷分析仪和pH电极测定已溶解破裂的红血球内pH值。

研究结果

体重0.5~1.0公斤的性未成熟银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*),其中有一部份做背大动脉导管手术,置于容积为120立升的有天然海水(盐度 $32 \pm 1\%$,温度 $13^\circ C$)输入的大型管道式呼吸测定装置内。通过调节海水流速以及海水pH和碳酸氢根离子浓度,使试验鱼在不同的pH和碳酸氢根离子浓度的海水中以不同的游泳速度游泳,测定其耗氧量、 CO_2 和 H^+ 排出量,动脉血的 PO_2 、 PCO_2 、pH和总 CO_2 含量,以及红血球的pH,并分析比较 CO_2 和 H^+ 排出量的变化:

1. 银大麻哈鱼在正常海水中(pH7.95)以80%临界游泳速度,在游泳开始后10~30分钟,血液中的血球容量、 PO_2 、 PCO_2 、pH、总 CO_2 含量、血浆pH和红血球pH略有变化,但1小时后都和游泳前的水平相近。游泳期间它们主要以分解代谢体内贮存的脂肪而得到能量,气体呼吸交换比率略小于0.7,表明有少量 CO_2 存留在体内。

2. 用120%临界游泳速度促使银大麻哈鱼突发性游泳疲劳后30分钟,在血液各种生理参数中以血液 PO_2 降低、 PCO_2 升高和血浆pH降低较为明显,这和银大麻哈鱼在突发性游泳时进行不需氧代谢,将葡萄糖酵解为乳酸而得到能量有关。

3. 银大麻哈鱼分为四组分别在下述四种不同情况下:第1组在pH为7.95的正常海水中以80%临界游泳速度游泳;第2组在pH为7.95但 HCO_3^- 浓度降低的海水中以80%临界游泳速度游泳;第3组在pH降低为7.1的海水中以50%临界游泳速度游泳;第4组

在pH为7.95的正常海水中进行突发性游泳使体内的pH降低后以50%临界游泳速度游泳6小时的实验表明:

①海水pH降低或进行突发性游泳使血液中pH降低后,影响体内酸碱平衡,会导致耗氧量降低,并影响鱼的游泳能力。

②当海水 HCO_3^- 浓度降低时, CO_2 排出量保持正常而耗氧量降低,使气体呼吸交换比率超过正常的0.7而达到0.74; H^+ 排出量降低而小于 CO_2 排出量。

③海水的 H^+ 浓度增加,pH降低到7.1,使 CO_2 、特别是 H^+ 的排出量明显降低;大量 H^+ 和 CO_2 存留鱼体内,影响体内正常的酸碱平衡,致使耗氧量降低,气体呼吸交换系数小于0.7,鱼的游泳能力和速度均下降。

④在正常海水中,银大麻哈鱼进行突发性游泳时,由不需氧代谢提供能量,体内积累大量乳酸,它们离解产生 H^+ ,致使pH降低, H^+ 的排出量大于 CO_2 排出量,耗氧量亦降低,气体呼吸交换比率接近0.7,鱼的游泳能力亦下降。

由此可见,鱼类通过鳃排出 CO_2 和 H^+ 的量并不是互相联系和一致的,外界环境条件和鱼体生理状态的变化,特别是pH的变化,对 CO_2 和 H^+ 的排出以及气体呼吸交换比率,都会产生明显不同的影响。对银大麻哈鱼来说,pH偏低的海水会影响它们的游泳速度和能力而不利于产卵回游。

参 考 文 献

- (1) Beamish, F. W. H., Swimming capacity, In *Fish physiology*, 1978, Vol. 7, P. 101-187, (eds W. S. Hoar and D.J. Randall), Academic press, New York.
- (2) Bell, W. H. and Terhune, L. D. B., Water tunnel design for fisheries research, *Fish Res. Bd. Can. Tech. Report*, 195 (1970).
- (3) Blazka, P., Volf, M. and Cepela, M., A new type of respirometer for the determination of the metabolism of fish in the active state., *Physiologia bohemoslov*, 1976, 9, 553-558.
- (4) Brett, J. R., The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon, *J. Fish Res. Bd. Can.*, 21(1964), 1183-1226.
- (5) Cameron, J. N., A rapid method for determination of total carbon dioxide in small blood samples, *J. Appli. Physiol.*, 31(1971). 632-634.
- (6) Hoar, W. S. and D. J. Randall, *Fish Physiology*, 1978, Academic press, New York.
- (7) Jones, D. R. and Randall, D. J., The respiratory and circulatory systems during exercise, In *Fish Physiology*, 1978, Vol. 7, P. 425-501, (eds w. S. Hoar and D. J. Randall), Academic Press, New York.
- (8) Kiceniuk, J. W. and Jones, D.R., The oxygen transport system in trout (*Salmo gairdneri*) during sustained exercise, *J. Exp. Biol.*, 69(1977), 247-260.

- (9) Lindsey, C. C., Form, function and locomotory habits in fish, In *Fish Physiology*, 1978, Vol.7, P.1-100 (eds w. S. Hoar and D.J. Randall), Academic Press, New York.
- (10) Priede, I.G. and Holliday, F.G.T., The use of a new tilting tunnel respirometer to investigate some aspects of metabolism and swimming activity of the plaice (*Pleuronectes platessa L.*). *J. Exp. Biol.*, 85(1980). 295-309.
- (11) Randall, D.J. and Hoar, W.S., Special techniques. In *Fish physiology*, 1971, Vol. 6, P.511-528 (eds W. S. Hoar and D.J. Randall), Academic press, New York.
- (12) Smith, L. S. and Bell, G.R., A technique for prolonged blood sampling in free swimming salmon, *J. Fish Res. Bd. Can.*, 21(1964), 711-717.
- (13) Van der Thillart, Randall, D.J. and Lin Hao-ren, CO₂ and H⁺ excretion by swimming coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, (in press).
- (14) Zeidler, R, and Kim, H.D., Preferential hemolysis of post natal calf red cells induced by internal alkalinization, *J. Gen. Physiol.*, 70(1977). 385-401.

The Studies on Metabolism of Fish during Swimming

D.J.Randall

Lin Haoren

(Zoology Department
University of British Columbia
Vancouver, B. C., Canada)

(Biology Department
Zhongshan University
Guangzhou, China)

Abstract

The experimental methods for studies of swimming in fish were described. Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, were swum at constant speed in a Brett-type tunnel respirometer. Blood PO₂, PCO₂ and pH as well as total CO₂ content and red blood cell pH were unchanged during swimming. The respiratory exchange ratio was slightly less than 0.7 when the fish was swimming in normal seawater indicating some CO₂ retention by the fish. Lowering seawater bicarbonate concentration increased CO₂ excretion, presumably because of passive bicarbonate loss, whereas a reduction in seawater pH from 7.95 to 7.1 sharply reduced both CO₂ and hydrogen ion excretion. Hydrogen ion excretion was elevated during prolonged swimming following burst swimming activity. It would appear that CO₂ and hydrogen ion excretion by fish need not be matched and changing internal and external conditions can have a marked and separate effect on hydrogen ion and CO₂ excretion and therefore on the value of respiratory exchange ratio.