

剪鳃对鲫静止代谢率的影响*

李永利, 段婷, 李格, 谢航, 罗毅平

(西南大学淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要:为探讨鳃交换面积变化对鱼类静止代谢率的影响,采用剪除部分鳃弓处理了体质量为(47.6±1.0)g的鲫(*Carassius auratus*);实验设对照组、剪2个鳃弓组和剪4个鳃弓组,测定鲫剪鳃前后的代谢率、呼吸频率及鳃小片的相关参数。结果表明:剪鳃前,各组的静止代谢率、呼吸频率均无显著差异。剪鳃后,代谢率随时间延长先降低再升高,然后逐渐降低至剪鳃前水平;对照组呼吸频率处理时间点前后变化不显著,剪鳃弓组处理后呼吸频率随剪鳃弓数量的增多而显著增高。鳃小片密度及平均面积在各组间差异均不显著,剪鳃前、后也无显著变化。研究表明,剪鳃造成鲫的呼吸交换面积减小,该种鱼则可通过调节呼吸频率维持代谢需要而不依赖于鳃形态的可塑性;因此,在鱼类生理学实验操作中,通过剪鳃改变鳃呼吸面积是一种可行的方法。

关键词:鲫;剪鳃;静止代谢率

中图分类号:Q175

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2016)04-0027-05

静止代谢率指外温动物在禁食、静息状态下维持身体需要的最低代谢率,是衡量外温动物生理功能的重要参数,常以耗氧率表示^[1-3]。静止代谢率与多种生命活动相关,受生物和环境因素影响^[4-6]。鳃是多数鱼类的主要呼吸器官,鳃丝上的鳃小片是气体交换的主要场所^[7-8]。呼吸器官的交换面积对于动物体的代谢能力具有关键的限制作用,交换面积的大小可能限制代谢水平的高低^[9-12]。一些鱼类的鳃具有一定可塑性,在高温或缺氧条件下,鳃小片交换面积增大,如欧鲫(*Carassius carassius*)和金鱼(*Carassius auratus*);这提示供氧能力受限时,鱼类可发生鳃形态的补偿性变化^[8,13-14]。一些鱼类还可提高呼吸频率^[15-16],增加血红蛋白的氧亲和力^[14],以满足代谢对氧的需求。对于相关问题的研究已逐渐成为鱼类生理生态学的研究热点之一,但目前尚不清楚交换面积的改变是否导致代谢水平发生变化。除了环境因子处理外,直接采用手术剪除鳃的方式改变鱼类的呼吸交换面积,在可控的过程中观测交换面积变化对代谢水平的效应,可能成为一种新的研究思路和技术手段。但直接剪鳃可能造成较大的胁迫,甚至导致鱼体失血过多死亡,相关问题缺乏文献报道。剪除部分鳃后,鱼类的呼吸交换面积减少,是否会改变代谢水平或者发生剩余鳃面积的适应性变化,这些问题均需要实验检验。

鲫(*Carassius auratus*)是一种广泛分布在温带水域的杂食性鱼类,也是常用于生理生态学研究的实验对象^[17-18]。本研究以鲫为研究对象,通过直接剪除部分鳃的方法改变呼吸交换面积,并观察剪鳃处理对鲫静止代谢率的影响及剩余鳃面积的变化,从而提供有关鳃面积与代谢水平关系的基础资料,进而为建立改变鱼类呼吸交换面积的方法提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼及其驯化

实验动物鲫购买于重庆北碚区歇马镇,将体质量为45g左右的实验鱼40尾置于实验室循环水养殖箱中驯化14d。养殖箱中水温以每日1℃的速度调节至实验所需水温(25.0±1)℃,每日18:00按实验鱼体质量的1%投喂1次商业饲料。驯化期间每2日更新1/2曝气自来水,以确保水中溶氧量大于5mg·L⁻¹,氨氮质量浓度维持在0.015mg·L⁻¹以下。

* 收稿日期:2016-03-23 修回日期:2016-04-18 网络出版时间:2016-07-07 16:33

资助项目:国家自然科学基金(No. 31000958);重庆市自然科学基金(No. CSTC2013jcyjA80023);重庆市食品药品检验检测研究院项目(No. 2015092)

作者简介:李永利,女,研究方向为鱼类生理生化,E-mail: 348096196@qq.com;通信作者:罗毅平,研究员,E-mail: luoguo@swu.edu.cn

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20160707.1633.040.html>

1.2 实验设计及耗氧率的测定

设置 1 个对照组和 2 个处理组,其中对照组中实验鱼不被剪去鳃弓;剪 2 个鳃弓组中实验鱼被剪除左侧第一、二鳃弓;剪 4 个鳃弓组中实验鱼被剪除左侧第一、二、三、四鳃弓;每组实验鱼数量不低于 8 尾。实验开始前,随机挑选体型相近的鲫鱼禁食 24 h,避免摄食代谢的影响^[17]。然后将鲫鱼称重后置于流水式呼吸仪相应的呼吸室中适应过夜,期间调节流速,使呼吸室进出口溶氧差值在 $0.5 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间。第二日 9:00 开始测定耗氧率和呼吸频率,每 1 h 测定 1 次,连续测定 6 h,分别取其中最低的 3 个值的平均值作为鲫的处理前的静止代谢率和静止呼吸频率。14:00 测定结束后,取出处理组实验鱼,分别剪除 2 个或 4 个鳃弓,然后放回各自原来的呼吸室中,剪下的鳃弓保存于固定液中。15:00 开始,继续每 1 h 测定 1 次各组的耗氧率和呼吸频率,至 24 h,取耗氧率恢复至处理前水平后的最低 3 个点的平均值作为处理后的代谢率和呼吸频率,其中剪 4 个鳃弓组有 1 尾鱼至 24 h 仍未恢复至剪鳃前代谢水平。测完耗氧率后,将实验鱼剩余的鳃弓剪下,编号保存固定。本实验中,对照组、剪 2 个鳃弓组和剪 4 个鳃弓组实际使用鱼数量分别为 8,11 和 13 尾;其中剪 2 个鳃弓组死亡 3 尾,剪 4 个鳃弓组死亡 5 尾;最终样本量均为 8 尾。

每组分别取 3 尾鱼的鳃弓固定样品切片,在显微镜下测定单位长度鳃丝上的鳃小片数量即鳃小片的密度和平均面积。对照组和剪 4 个鳃弓组取左侧 4 个鳃弓的平均值作为处理前密度,右侧 4 个鳃弓的平均值作为处理后密度。剪 2 个鳃弓组取左侧 2 个鳃弓的平均值作为实验鱼处理前密度,右侧 4 个鳃弓的平均值作为实验鱼处理后密度。3 组实验鱼均取左侧第二鳃弓鳃小片平均面积作为处理前鳃小片面积,右侧第二鳃弓鳃小片平均面积作为处理后的鳃小片面积。

采用流水式呼吸仪测定耗氧率,作为代谢率^[19]。实验鱼单尾放置于呼吸室中,每组实验均设有 1 个空白对照。利用便携式多参数数字化分析仪(HQ30d, Hash Company, Loveland CO, USA)测定呼吸室出水口中的溶氧浓度。每尾鱼的个体耗氧率(M_{O_2} ,单位: $\text{mg} \cdot \text{h}^{-1}$)由以下公式计算:

$$M_{O_2} = \Delta V_{O_2} \times v。$$

其中 M_{O_2} 为实验鱼的个体耗氧率, ΔV_{O_2} 为空白组和实验组的溶氧量差值(单位: $\text{mg} \cdot \text{h}^{-1}$), v 为相应呼吸室的水流速度(单位: $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$)。

1.3 实验相关参数

采用以下参数描述剪鳃前后鲫的代谢相关特征:1) 处理前静止代谢率(单位: $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$):实验鱼在未剪鳃前的 3 个最低耗氧率的平均值;2) 处理后静止代谢率(单位: $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$):实验鱼在剪鳃后的 3 个最低耗氧率的平均值;3) 代谢率峰值(单位: $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$):实验鱼在剪鳃后恢复过程中的最大耗氧率;4) 代谢率峰值时间(单位:h):实验鱼剪鳃后最大耗氧率出现的时间;5) 恢复时间(单位:h):实验鱼在剪鳃后耗氧率恢复至剪鳃前水平所需的时间;6) 呼吸频率(单位:次 $\cdot \text{min}^{-1}$):实验鱼单位时间内的鳃盖张合次数;7) 呼吸频率峰值(单位:次 $\cdot \text{min}^{-1}$):实验鱼剪鳃后呼吸频率的最大值;8) 每次呼吸耗氧量(单位: $\mu\text{g} \cdot \text{次}^{-1}$):实验鱼张合鳃盖 1 次的耗氧量。

1.4 数据处理

实验数据用 EXCEL 2003 进行常规计算后,用 SPSS 22.0 软件进行方差分析、多重比较(LSD)及 t 检验。不同组间个体耗氧率的差异,以体质量为协变量,采用协方差分析。其余各参数的组间比较采用单因素方差分析和多重比较,对于只有处理组观测的参数采用独立样本 t 检验。实验前后各参数之间的对比采用配对样本 t 检验。结果用“平均值 \pm 标准误”描述,差异显著性水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果

各组鲫的体质量无显著差异,剪鳃前,静止代谢率也无组间差异(表 1)。剪鳃后,代谢率随时间延长先降再升,然后逐渐降低至剪鳃前水平(图 1a)。剪 2 个鳃弓组的特定体质量代谢率峰值为 $165.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,剪 4 个鳃弓组的特定体质量代谢率峰值为 $151.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,两组的代谢率分别在剪鳃后 3.5,2.5 h 恢复至与对照组无显著性差异的水平。恢复时间点后,各组的特定体质量代谢率均低于处理前的静止水平,但在剪 4 个鳃弓组差异不显著。各组的代谢率随时间延长都呈下降趋势,下降比例在组间差异不显著。

剪鳃对鲫的呼吸频率有明显影响(图 1b)。剪鳃前,各组的呼吸频率差异不显著;剪鳃后,呼吸频率随剪鳃弓数量的增多而增高,且各组间均有显著差异($p < 0.05$)。对照组呼吸频率在处理时间点前后变化不显著,而剪鳃

弓组处理后呼吸频率显著增加($p < 0.05$)(表 1)。

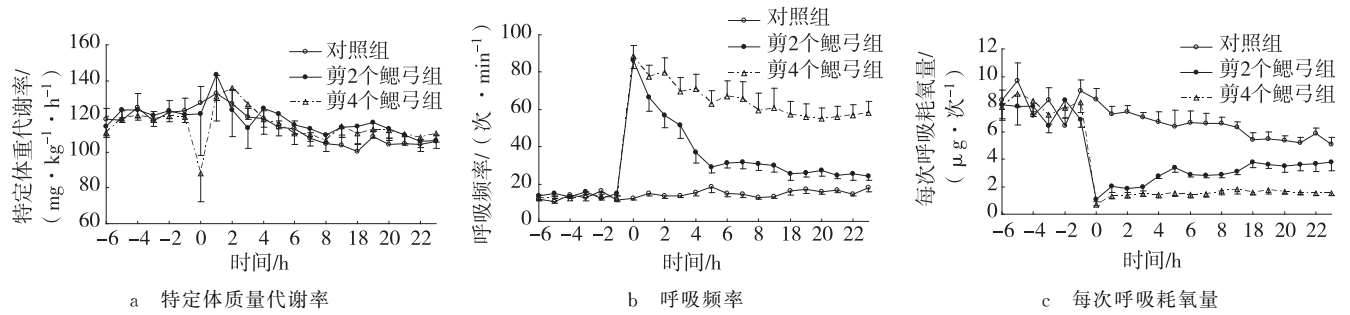


图 1 不同剪鳃处理前后鲫代谢率、呼吸频率及每次呼吸耗氧量的变化

Fig. 1 The changes in metabolic rate, ventilation frequency, and oxygen consumption per ventilation of the crucian carp pre- and post-shearing gills

表 1 剪鳃对鲫代谢率的影响

Tab. 1 Effects of shearing gills on metabolic rate of the crucian carp

	剪鳃弓数量			F	p
	0	2	4		
样本量/尾	8	8	8		
体质量/g	47.6±1.2	48.2±1.3	46.8±0.9	0.369	0.696
处理前特定体质量静止代谢率/(mg·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	113.7±5.4 ^x	115.8±4.2 ^x	112.7±2.5	0.135	0.874
恢复后特定体质量静止代谢率/(mg·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	97.9±4.6 ^y	101.7±5.2 ^y	102.6±5.6	0.239	0.789
特定体质量代谢率下降百分比/%	13±4	12±5	9±6	0.229	0.798
代谢率峰值/(mg·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	—	165.3±13.5	151.6±10.0	0.156	0.699
代谢率峰值时间/h	—	2.1±0.4	3.0±0.6	1.291	0.275
恢复时间/h	—	3.5±0.8	2.5±0.7	0.387	0.544
处理前静止呼吸频率/(次·min ⁻¹)	11.7±0.8	14.0±1.0 ^x	12.0±1.0 ^x	1.762	0.196
恢复后静止呼吸频率/(次·min ⁻¹)	14.8±1.0 ^a	29.4±2.3 ^{by}	59.3±7.9 ^{cy}	22.709	<0.001
呼吸频率增加百分比/%	32±13 ^a	115±22 ^b	409±66 ^c	23.572	<0.001
呼吸频率峰值/(次·min ⁻¹)	—	88.00±5.09	100.38±4.03	2.098	0.170
处理前每次呼吸耗氧量/(μg·次 ⁻¹)	8.5±0.9 ^x	7.1±0.5 ^x	8.0±0.6 ^x	0.957	0.400
恢复后每次呼吸耗氧量/(μg·次 ⁻¹)	5.5±0.2 ^{ay}	3.0±0.3 ^{by}	1.5±0.2 ^{cy}	75.597	<0.001
每次呼吸耗氧量下降百分比/%	30±7 ^a	56±5 ^b	81±4 ^c	19.839	<0.001

注:a,b,c:不同字母表示同一行数值差异显著($p < 0.05$);x,y:不同字母表示处理前后数值差异显著($p < 0.05$)。

剪鳃前,每次呼吸耗氧量无组间差异。剪鳃后,每次呼吸耗氧量随剪鳃弓数量增多而降低,且组间均差异显著($p < 0.05$)(表 1)。3 组实验鱼每次呼吸耗氧量随时间延长均呈下降趋势,下降的比例在组间差异显著($p < 0.05$)(图 1c)。

对照组的左右两侧鳃小片密度及平均面积差异不显著。鳃小片密度及平均面积在各组间差异均不显著,两个剪鳃弓组在剪鳃前后上述指标也无显著变化(表 2)。

3 讨论

实验中,剪鳃弓处理仅造成较少的个体发生死亡,剪 2 个鳃弓组的死亡率为 27.3%,剪 4 个鳃弓组的死亡率为 38.5%,仍有较多个体存活。结果表明,剪鳃后鲫的代谢率会出现波动,但可在数小时内恢复,提示剪鳃后鲫能通过生理调节维持正常的静止代谢率。因此,从实际操作来看,直接剪鳃改变鱼类鳃面积的方法应当是可行的。当然,鲫在相对缺氧条件下可能存在以酒精为产物的无氧代谢^[20],剪鳃后的耗氧率是否能够完全代表代谢率有待进一步研究。

表 2 剪鳃前后鲫鳃小片参数的变化

Tab. 2 The changes in the branchial lamellae variables of the crucian carp pre- and post-shearing gills

	剪鳃弓个数			F	p
	0	2	4		
样本量/尾	3	3	3		
体质量/g	49.7±1.5	47.9±1.7	47.8±2.3	0.299	0.752
处理前鳃小片密度/(个·mm ⁻¹)	28.6±0.6	27.1±0.4	28.2±0.9	1.558	0.285
处理后鳃小片密度/(个·mm ⁻¹)	27.9±0.4	28.6±0.9	28.5±1.0	0.201	0.823
处理前鳃小片面积/mm ²	0.085±0.004	0.091±0.001	0.082±0.003	2.069	0.207
处理后鳃小片面积/mm ²	0.086±0.008	0.086±0.003	0.083±0.003	1.162	0.375

剪鳃虽然导致鳃的呼吸交换面积大幅减小,剩余鳃弓的鳃面积也足以维持鱼体代谢需要,呼吸交换功能应发生补偿性变化。但剪鳃后剩余鳃小片密度以及平均面积均无显著变化,提示剪鳃后维持代谢需要可能不依赖于鳃的可塑性。鱼类除了改变鳃面积外,还可通过增加呼吸频率^[15-16]、提高血红蛋白对氧的亲合力^[14]等方式维持自身需氧。本实验结果中,随着剪鳃弓数量增多,鲫的呼吸频率加快,同时每次呼吸耗氧量降低,表明鲫可通过提高呼吸频率以维持身体对氧气的需求。而每次呼吸耗氧量降低,可能与鳃面积减少有关。

剪鳃后代谢率比剪鳃前虽有显著性下降($p < 0.05$),但下降程度组间无显著差异,该现象可能与实验时间延长所导致的饥饿程度增加有关^[21]。对照组的左右两侧鳃小片密度及平均面积差异不显著,因此在研究中可选取任意一侧鳃弓作为观测相关参数的实验材料。

参考文献:

- [1] 陈松波,陈伟兴,范兆廷. 鱼类呼吸代谢研究进展[J]. 水产学杂志,2004,17(1):82-89.
Chen S B, Chen W X, Fan Z T. Advances in studies on the metabolism in fish[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2004, 17(1):82-89.
- [2] Brett J R, Groves T D D. Physiological energetic in "fish physiology"[M]. New York: Academic Press, 1979: 279-352.
- [3] Priede I G. Metabolic scope in fishes[M]//Priede I G. Fish energetics: new perspectives. London: Croom Helm Ltd, 1985:33-64.
- [4] Brown J H, Gillooly J F, Allen A P, et al. Toward a metabolic theory of ecology[J]. Ecology, 2004, 85(7): 1771-1789.
- [5] Clark T D, Farrell A P. Effect of body mass on physiological and anatomical parameters of mature salmon: evidence against a universal heart rate scaling exponent[J]. Journal of Experimental Biology, 2011, 214(6):887-893.
- [6] Careau V, Thomas D, Humphries M M, et al. Energy metabolism and animal personality[J]. Oikos, 2008, 117(5): 641-653.
- [7] Evans D H, Piermarini P M, Choe K P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste [J]. Physiological Reviews, 2005, 85(1):97-177.
- [8] Sollid J, Nilsson G E. Plasticity of respiratory structures- Adaptive remodeling of fish gills induced by ambient oxygen and temperature[J]. Respiratory Physiology and Neurobiology, 2006, 154(s1/s2): 241-251.
- [9] Hughes G M. Scaling of respiratory areas in relation to oxygen consumption of vertebrates[J]. Experientia, 1984, 40(6):519-524.
- [10] West G B, Brown J H, Enquist B J. The fourth dimension of life: fractal geometry and allometric scaling of organisms[J]. Science, 1999, 284(5420):1677-1679.
- [11] Oikawa S, Itazawa Y. Gill and body surface areas of the carp in relation to body mass, with special reference to the metabolism-size relationship[J]. Journal of Experimental Biology, 1985, 117(7): 1-14.
- [12] Glazier D S. Effects of metabolic level on the body-size scaling of metabolic rate in birds and mammals[J]. Proceedings of the Royal Society B, 2008, 275(1641): 1405-1410.
- [13] Sollid J, De Angelis P, Gundersen K, et al. Hypoxia induces adaptive and reversible gross morphological changes in crucian carp gills[J]. Journal of Experimental Biology, 2003, 206(20):3667-3673.
- [14] Sollid J, Kjærnsli A, De Angelis P M, et al. Cell proliferation and gill morphology in anoxic crucian carp (*Carassius carassius*) [J]. American Journal of Physiology-regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2005, 289(4): 1196-1201.
- [15] Millidine K J, Metcalfe N B, Armstrong J D. The use of ventilation frequency as an accurate indicator of metabolic

- rate in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2008, 65 (65):2081-2087.
- [16] Frisk M, Skov P V, Steffensen J F. Thermal optimum for pikeperch (*Sander lucioperca*) and the use of ventilation frequency as a predictor of metabolic rate [J]. Aquaculture, 2012, 324(1):151-157.
- [17] Fu S J, Zeng L Q, Li X M, Pang X, et al. Effect of meal size on excess post-exercise oxygen consumption in fishes with different locomotive and digestive performance [J]. Journal of Comparative Physiology B, 2009, 179(4):509-517.
- [18] 唐国伟, 曹振东, 付世建. 温度、种内标准代谢差异与鲫幼鱼力竭运动后过量耗氧的关系 [J]. 生态学杂志, 2013, 32(12):3255-3260.
- Tang G W, Cao Z D, Fu S J. Relationships between water temperature and intraspecies standard metabolic rate difference and juvenile *Crucian caratus* excess oxygen consumption after exhaustive exercise [J]. Chinese Journal of Ecology, 2013, 32(12):3255-3260.
- [19] Luo Y P, Xie X J. Effects of temperature on the specific dynamic action of the southern catfish, *Silurus meridionalis* [J]. Comparative Biochemistry Physiology A, 2008, 149(2):150-156.
- [20] Shoubridge E A, Hochachka P W. Ethanol: novel end product of vertebrate anaerobic metabolism [J]. Science, 1980, 209(4453):308-309.
- [21] 谢小军, 邓利, 张波. 饥饿对鱼类生理生态学影响的研究进展 [J]. 水生生物学报, 1998, 22(2):181-188.
- Xie X J, Deng L, Zhang B. Advances and studies on eco-physiological effects of starvation on fish [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1998, 22(2):181-188.

Animal Sciences

Effects of Shearing Gills on the Resting Metabolic Rate of the Crucian Carp

LI Yongli, DUAN Ting, LI Ge, XIE Hang, LUO Yiping

(Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development (Ministry of Education), Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: To explore the effects of gill exchange area on resting metabolic rate of fish, the crucian carp (*Carassius auratus*) (47.6 ± 1.0 g) were treated by shearing gill arch. The fish were sheared 0 (control group), 2 and 4 branchial arches. The metabolic rate, ventilation frequency, and several parameters of branchial lamellae were determined before and after shearing, respectively. Resting metabolic rates did not differ among treatments before gill shearing. After gill shearing, the metabolic rate reduced rapidly, then rose up, and finally reduced gradually to the pre-treated level. No significant difference in ventilation frequency was observed among groups prior to gill shearing. After gill shearing, ventilation frequency increased significantly with the shearing level. The ventilation frequency of the control group did not changed during the processing time. However, the ventilation frequency of the gill sheared fish increased significantly after shearing. The branchial lamellae density and average area were not significantly different among the three groups prior to gill shearing, and did not changed post shearing. Our results suggest that even the respiratory area of gill of the crucian carp was reduced by gill shearing, can keep the normal resting metabolic rate through physical adjustment after shearing the gills, its metabolic demand can be maintained by up-regulating ventilation frequency, rather than relying on the plasticity of the gill morphological structure. It also suggests that gill shearing can be used as a workable method to change the gill respiratory area of fish in future fish physiological study.

Key words: *Carassius auratus*; shearing gills; resting metabolic rate

(责任编辑 方 兴)