Journal of Chongqing Normal University (Natural Science)

Vol. 27 No. 2

动物科学

DOI :10.3969/J. ISSN. 1672-6693.2010.02.004

力竭性运动后瓦氏黄颡鱼幼鱼乳酸和血糖变化*

朱晏苹,曹振东,付世建

(重庆师范大学 进化生理与行为学实验室 重庆市动物生物学重点实验室,重庆 400047)

摘要 本研究以广泛分布于长江、珠江等水系的经济鱼类瓦氏黄颡鱼($Pelteobagrus\ vachelli\ Richardson$)幼鱼为实验对象,选取实验鱼 42 尾,体重和体长分别为(13.10 ± 0.59) g_s (9.63 ± 0.15) em ;在(25 ± 1) $^{\circ}$ 的条件下,分别测定了其静止状态和力竭性运动后恢复时间为 0.1.2.4.8 和 16 h 时的肌肉乳酸含量和血糖浓度。结果显示,瓦氏黄颡鱼幼鱼静止状态时肌乳酸浓度为(5.16 ± 0.34) $\mu mol/g$;力竭性运动后肌乳酸迅速上升,并在运动后恢复 0 h 达到峰值(16.11 ± 1.06) $\mu mol/g$ 经计算其变化倍率约为 3.1 随后逐渐下降,恢复 4 h 后与静止水平无显著性差异 乳酸清除速率为 2.4 $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot g^{-1}$;瓦氏黄颡鱼幼鱼恢复过程中肌乳酸含量随时间变化的拟合曲线方程为 Y=5.219 9 + 11.233 $3e^{-0.436.6s}$ ($R^2=0.839$ 5 p<0.001 p=36)。血糖浓度呈现先下降后上升随后又下降的变化趋势,运动后在恢复 0 h 时显著下降并达到(4.31 ± 0.48) m mol/L 这一最低水平(p<0.05)。经与其它几种鱼类的相关资料比较,本研究提示力竭运动后瓦氏黄颡鱼幼鱼的肌乳酸峰值水平较低、恢复时间较短;推测该实验鱼的无氧代谢能力可能较弱,但短期内具有较强的重复运动能力。

关键词:力竭性运动;瓦氏黄颡鱼 乳酸;血糖中图分类号:1,0955

文献标识码:A

文章编号:1672-6693(2010)02-0014-04

鱼类的生活史中常常会面临环境缺氧、捕食或逃逸等情况,进而导致机体供氧不足,因此通过无氧代谢方式以应对组织缺氧来满足能量需求是鱼类的一种普遍性适应^[1]。力竭性运动(Exhaustive exercise)是一种以无氧代谢为主的短时运动^[2-3],这种运动方式会导致白肌中 ATP、磷酸肌酸、肝糖原的迅速消耗和乳酸等产物的大量累积^[4-6],其肌乳酸的峰值水平已普遍作为评估无氧代谢能力的一个重要指标^[7],近年来相关研究不仅考查鱼类力竭性运动后肌乳酸峰值水平,还通过分析变化趋势、建立拟合方程考查肌乳酸的清除时间^[18],并以此评估鱼类的重复运动能力。

瓦氏黄颡鱼(Pelteobagrus vachelli Richardson)是一种广泛分布于长江、珠江等水系的经济鱼类^[9]。近年来以瓦氏黄颡鱼为对象的研究涉及多个领域 ^{10-12]} :本研究组在相关研究中曾监测了包括其在内的 4 种不同鱼类力竭性运动后的过量耗氧(Excess post-exercise oxygen consumption ,EPOC) ^{13-14]} ,

然而关于该鱼力竭运动后血糖和肌乳酸的变化情况尚未见报道。为此,本研究以瓦氏黄颡鱼幼鱼为对象,考查实验鱼力竭性运动后肌肉乳酸峰值水平及其清除速率和血液葡萄糖含量的变化,从而考察实验鱼的无氧运动能力,旨在为鱼类运动生理的相关研究提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 实验鱼的来源与驯化

将 2009 年 6 月在重庆合川区水产学校实习渔场购买的瓦氏黄颡鱼幼鱼放入重庆师范大学进化生理与行为学实验室自净化循环控温水槽(规格为 $1.2~m\times0.55~m\times0.55~m$,实际水量 250~L,专利号: 200520010485.9)剔养 30~d。然后选取大小相近(体重、体长分别为(13.10 ± 0.59)g、(9.63 ± 0.15)cm)身体健康的实验鱼 48~尾,分别放入 2~个水槽的 24~个养殖单元中驯化 2~周。其中每个水槽内放置 12~个以丝绢(60~目)为底的圆桶状(直径 20~cm)养殖单元,

^{*} 收稿日期 2009-10-15 修回日期 2009-11-06 资助项目 国家自然科学基金(No. 30700087)

各单元分别供水。每 2 d 以新鲜鲢鱼肉块作饵料饱足投喂一次,投喂前清除桶内的残饵和粪便。实验驯养及驯化期间的水温均为(25 ± 1) $^{\circ}$,以充气泵不断向水体充入空气使其溶氧量接近饱和,日换水量约为水槽总水体的 10% ,光照周期为光照 14 h: 黑暗 10 h。

1.2 实验方案与操作

实验鱼禁食 3 d 后,将其放入外径 60 cm、内径 28 cm 且总容量为 30 L 的环形水道内,用手不断追赶约 5 min 以使鱼持续力竭性运动;处于力竭运动的鱼通常失去平衡并当继续追赶时不再有明显反应^[14]。以实验前处于静止状态的实验鱼作为对照组,力竭性运动后 0、1、2、4、8、16 h 作为恢复处理组,各组实验鱼均为随机取样,每组 6 尾。力竭运动后立即对 0 h 处理组的实验鱼进行样品采集,其它组的实验鱼则单尾分别置于养殖单元内进行不同时间的恢复,在恢复期间始终处于禁食状态。

取样前将实验鱼放入浓度为 0.1 g/L 的 MS-222 溶液中进行麻醉 ,麻醉时间约为 $3 \text{ min}^{[15]}$;然后立即称重并测体长、断尾取血 ,取血过程在 1 min 之内完成 [16]。血液样品用内壁附有抗凝剂(肝素钠)的离心管收集 ,在 $4 \text{ \mathbb{C}}$ 下静置 2 h 后以 $4 \text{ \mathbb{C}}$ 、3000 r/min 离心 10 min ,然后吸取上层血清置于 $-80 \text{ \mathbb{C}}$ 下保存待测。将取血后的鱼体立即置于冰块上 ,迅速取尾部肌肉放入液氮罐中,随后再将样品转移至 $-80 \text{ \mathbb{C}}$ 超低温冰箱中保存待测。

乳酸、血糖测定方法分别为对羟基联苯比色法^[17]和邻甲苯胺法^[16],其中乳酸含量以每克实验鱼样品中所含肌乳酸的微摩尔数表示,血糖浓度单位为 mmol/L。

1.3 参数计算和数据处理

对恢复过程肌乳酸含量随时间的变化采用通式 $Y = a + be^{-cx}$ 进行拟合 $^{[1]}$;式中 a 值可近似地作为静止时肌乳酸含量的理论值 ,b 值是力竭运动后肌乳酸上升的幅度 ,c 值为乳酸下降系数。乳酸清除速率(Lactate clearance rate ,LCR)计算公式为 $LCR = (Lac_{max} - Lac_0)/\Delta t$ 。其中 Lac_{max} 为力竭运动后肌乳酸达到峰值时的含量 ; Lac_0 为恢复到静止水平的肌乳酸含量 ; Δt 为肌乳酸峰值恢复至静止水平所经历时间。乳酸变化倍率(Lactate factorial scope ,LFS)计算公式为 $LFS = Lac_{max}/Lac_{rest}$ 。其中 Lac_{max} 表示力竭

运动后肌乳酸达到峰值时的含量 Lac_{rest} 表示静止水平肌乳酸含量。

实验数据采用 EXCEL 2000 进行数据常规计算,然后采用 STATISTICA 6.0 进行单因素方差分析 (ANOVA)和回归方程分析,如差异显著再采用多重比较(LSD 法)。统计数值均以平均值 \pm 标准误 (Mean \pm SE)表示,差异显著性水平为 p < 0.05。

2 结果

2.1 肌乳酸含量变化

图 1 显示了瓦氏黄颡鱼幼鱼静止以及力竭性运动后恢复 0.1.2.4.8 和 16 h 后肌肉中乳酸含量的变化情况(图中带不同上标的字母表示差异显著(p < 0.05)横坐标 -2 处表示实验鱼静止状态时的情况)。 肌乳酸在力竭性运动后恢复 0 h 即迅速上升到峰值(16.11 ± 1.06) $\mu mol/g$ 经计算其 LFS 值约为 3.1 恢复 4 h 后回到静止水平且与恢复 8 h 的乳酸水平无显著差异 平均 LCR 值为2.4 $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot g^{-1}$ 。

图 1 也显示了瓦氏黄颡鱼幼鱼恢复过程中肌乳酸含量随时间的变化的拟合曲线 ,其方程为 $Y=5.2199+11.2333e^{-0.4366x}$ ($R^2=0.8395p<0.001$, n=36)。其中计算得到的 a 值即 5.22 μ mol/g 与静止对照组的实测值(5.16 ± 0.34) μ mol/g 十分接近并无显著差异 $\mu+b$ 代表瓦氏黄颡鱼幼鱼力竭运动后的 Lac_{max} 值 ,计算得到的该值 16.45 μ mol/g 与实测值(16.11 ± 1.06) μ mol/g 也十分接近。

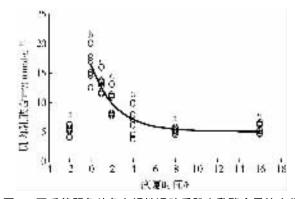


图 1 瓦氏黄颡鱼幼鱼力竭性运动后肌肉乳酸含量的变化 Fig. 1 Lactate concentrations of muscle tissue in juvenile darkbarbel catfish (*P. vachelli*) after exhaustive exercise

2.2 血糖浓度变化

实验结果显示瓦氏黄颡鱼幼鱼在力竭运动前静止状态下的血糖浓度为(8.60 ± 0.71) mmol/L; 力竭运动后血糖含量存在快速下降的现象,随后伴随乳酸水平的下降呈现先上升后下降趋势。运

动后恢复 0 h 血糖浓度立即下降到最低值(4.31 ± 0.48) mmol/L ,与对照组差异显著(p < 0.05) ;随后开始上升并接近对照组水平(1.05) 表 1.05

3 讨论

3.1 肌乳酸浓度的峰值

多数鱼类力竭运动后肌乳酸浓度迅速上升即刻达到峰值,然后呈负指数下降^[1,4],通常乳酸峰值水平可以反映鱼类的无氧运动能力^[18]。本研究发现瓦氏黄颡鱼幼鱼力竭性运动后肌乳酸浓度也迅速上升,恢复0h达到峰值,其*LFS*值约为3.1。通过比较发现实验鱼与鲇鱼幼鱼(*Silurus asotus* Linnaeus)

的乳酸峰值水平较为接近,其变化倍率也相当^[3] 然而明显小于虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*),海七鳃鳗(*Petromyzon marinus*)等鱼类(表 2),如果仅根据乳酸峰值水平进行评价,瓦氏黄颡鱼幼鱼的无氧代谢能力可能较弱。又有研究证明鱼类的无氧运动能力与鱼的体重大小呈明显的正相关^[18-19];本实验室开展的有关体重对鲇鱼力竭运动后过量耗氧影响的研究发现,体重越大其有氧适应性越低,而无氧代谢能力却有较大的提高^[20]。本研究的实验鱼平均体重为13.10 g,均小于表 2 中其它鱼类;因此瓦氏黄颡鱼幼鱼无氧代谢能力相对较弱是否与实验鱼体重较小有关还需要进一步研究。

表 1 瓦氏黄颡鱼幼鱼力竭运动后血液葡萄糖变化及相关参数

Tab. 1 Glucose concentrations of blood and relative variables in juvenile darkbarbel catfish (P. vachelli) after exhaustive exercise

参数	静止状态	力竭运动后恢复时间/h						
		0	1	2	4	8	16	
体重 /g	12.28 ± 1.83	13.75 ± 1.85	14.30 ± 1.60	13.10 ± 1.61	12.55 ± 1.10	12.83 ± 1.52	13.19 ± 1.43	
体长/cm	9.52 ± 0.38	9.70 ± 0.44	9.86 ± 0.35	9.67 ± 0.53	9.42 ± 0.26	9.50 ± 0.18	9.88 ± 0.47	
血糖浓度/(mmol·L ⁻¹)	$8.60 \pm 0.71^{\mathrm{e}}$	4.31 ± 0.48^{ad}	$6.65 \pm 0.92^{\rm bce}$	$6.30 \pm 0.54^{\text{bed}}$	5.47 ± 1.03^{ac}	3.95 ± 0.62^{a}	4.59 ± 0.89^{ab}	

同一行数值中带不同上标的字母表示差异显著(p < 0.05)。

表 2 力竭运动后不同鱼类肌组织乳酸含量及相关参数

Tab. 2 Muscle lactate concentrations and relative variables after exhaustive exercise in some species of fish

种类	温度∕℃	体重 /g	乳酸峰值/(μmol·g ⁻¹) LC	$R/(\mu \text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1})$	LFS	恢复时间/h
虹鳟(O. mykiss)	12 ± 1	207 ± 15	30.0	2.5	6.0	>6
海七鳃鳗(P. marinus)	8 ~ 10	300 ~400	25.0	4.3	12.5	>4
二倍体溪红点鲑幼鱼(S.fontinalis)	9	200	29.0	5.3	8.7	4
三倍体溪红点鲑幼鱼(S. fontinalis)	9	200	27.0	11.5	5.8	2
鲱鱼幼鱼(C. harengus Linnaeus)*	12		40.3	72	5.8	1
鲇鱼幼鱼(S. asotus Linnaeus)	25 ± 1	32.5 ± 0.8	12.1	0.9	3.0	8
瓦氏黄颡鱼幼鱼(P. vachelli)	25 ± 1	13.10 ± 0.59	16.11	2.4	3.1	4

表中鱼类有关数值从上到下依次来源于文献 21][5][22][22][1][3]和本研究;*:该鱼为孵化7~9d的幼鱼,体重数据不详。

3.2 肌乳酸的恢复

鱼类的力竭性运动会导致能量底物的迅速消耗和乳酸等代谢产物的大量累积^[46] 能量底物供给不足和无氧代谢产物肌乳酸的过度累积是造成鱼类游泳疲劳的主要因素。鱼类肌乳酸的清除途径通常为:合成肌糖原、合成葡萄糖或被彻底氧化并提供能量^[1] 因此肌乳酸的迅速清除可以为鱼类提供能量进行再次的重复运动,这对于鱼类捕食、逃逸或洄游等生存策略具有重要的作用。采用负指数方程对力

竭运动后肌乳酸、EPOC 的恢复过程进行拟合 $^{[120]}$,有助于实验数据的理论分析,进而可以揭示动物生理反应的内在机制。由于研究所采用的拟合方程中的 c 值与肌乳酸清除速度有关,故可以将其作为肌乳酸清除系数,c 值绝对值越大,肌乳酸清除的越快,短期内鱼体的重复运动能力越强。根据文献提供的数据计算,鲱鱼(Clupea harengus Linnaeus)幼鱼在 12 ℃条件下的该值为 6.76 ,其肌乳酸平均清除速率为 72 μ mol·h $^{-1}$ ·g $^{-1}$ [1]。而瓦氏黄颡鱼幼鱼

的 c 值为 0.44 ,肌乳酸的平均清除速率为 2.4 μ mol· h^{-1} · g^{-1} 。然而瓦氏黄颡鱼幼鱼肌乳酸峰值水平明显低于鲱鱼幼鱼 ,这可能是造成 c 值较小的一个原因 ,但是瓦氏黄颡鱼幼鱼运动后肌乳酸的恢复时间仅为 4 h 相比于其它鱼类较快。据此可以推测瓦氏黄颡鱼幼鱼可能具有较强的重复游泳能力。

由于自然水体的含氧水平不仅远低于陆地,而且在空间和时间上还会急剧变动,鱼类生理进化的基本特征是对这种水体氧环境的适应。而其中一种重要的适应方式即为利用无氧代谢产生能量以满足生命过程的需求。因此研究以揭示不同鱼类之间在此方面的差异,探讨不同类型环境对鱼类的影响无疑具有重要的理论意义。

参考文献:

- [1] Franklin C E Johnston I A Batty R S et al. Metabolism recovery in herring larvae following strenuous activity [J]. Journal of Fish Biology 1996 48 207-216.
- [2]付世建,曹振东 彭姜岚.不同时间间隔重复力竭运动对南方鲇幼鱼耗氧率的影响[J].重庆师范大学学报(自然科学版)2009 26(1):13-16.
- [3]李黎 曹振东 付世建. 力竭性运动后鲇鱼幼鱼的乳酸, 糖原和葡萄糖水平的变动. 水生生物学报 2007 31(6): 880-885.
- [4] Richards J G ,Heigenhauser G J F ,Wood C M. Exercise and recovery metabolism in the pacific spiny dogfish(*Squalus acanthias*) [J]. Journal Comparative Physiology , 2003 , 173B 463-474.
- [5] Boutilier R G ,Ferguson R A ,Henry R P ,et al. Exhaustive exercise in the sea lamprey(*Petromyzon marinus*) relationship between anaerobic metabolism and intraeellular acidbase balance[J]. Journal of Experimental Biology ,1993 , 178 71-88.
- [6] Baldwin J Seymour R S Webb G J W. Scaling of anaerobic metabolism during exercise in the estuarine crocodile Crocodylus porosus X J J. Comparative Biochemistry and Physiology 1995 112A 285-293.
- [7] Virani N A ,Rees B B. Oxygen consumption ,blood lactate and interindividual variation in the gulf killfish ,Fundulus grandis ,during hypoxia and recovery [J]. Comparative Biochemistry and Physiology 2000 ,126A 397-405.
- [8] Milligan C L ,Giard S S. Lactate metabolism in rainbow trout J J. Journal of Experimental Biology 1993 180 175-193.
- [9]付世建 曹振东 彭姜岚. 追赶和空气曝露时间对瓦氏黄

- 颡鱼耗氧率的影响[J]. 动物学杂志 2007 42(2):111-
- [10] 李文祥, 王桂堂, 吴山功, 等. 黄颡鱼河鲈源吸虫和黄颡前驼形线虫的季节动态和频率分布[J]. 水生生物学报, 2008, 32(2):195-200.
- [11]段中华,孙建贻. 瓦氏黄颡鱼的繁殖生物学研究[J]. 水生生物学报,1999,23(6),610-616.
- [12] 赵文学 杨星 彭智 等. 黄颡鱼属物种的 RAPD 分子鉴 定及杂种遗传分析[J]. 水生生物学报 2006 30(1): 101-106.
- [13] Fu S J Zeng L Q. Effect of meal size on excess post- exercise oxygen consumption in fishes with different loco- motive and digestive performance [J]. Journal Comparative Physiology 2009, 179 509-517.
- [14]曹振东 彭姜岚 付世建. 体重对大鳍鳠力竭性运动后过量耗氧的影响[J]. 重庆师范大学学报(自然科学版),2009 26(4):17-19.
- [15] Kieffer J D ,Wakefield A M ,Litvak M K. Juvenile sturgeon exhibit reduced physiological responses to exercise[J]. Journal of Fish Biology 2001 204 #281-4289.
- [16] 罗毅平 袁伦强 漕振东 等. 嘉陵江大鳍鳠和瓦氏黄颡 鱼血液指标的研究[J]. 水生生物学报 2005 ,29(2): 161-166.
- [17] 张龙翔 涨庭芳 李令媛. 生化实验方法和技术[M]. 北京 高等教育出版社 ,1997 ;422-427.
- [18] Ferguson R A ,Kieffer J D ,Tufts B L. The effects of body size on the acid-base and metabolite status in the white muscle of rainbow trout before and after exhaustive exercise [J]. Journal of Experimental Biology ,1993 ,180 :195-207.
- [19] Goolish E M. The scaling of aerobic and anaerobic muscle power in rainbow trout (Salmo gairdneri) [J]. Journal of Experimental Biology 1989 147 493-505.
- [20] 彭姜岚, 曹振东, 付世建. 鲇鱼力竭性运动后的过量耗 氧及其体重的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(3): 380-386.
- [21] Milligan C L ,Hooke G B ,Johnson C. Sustained swimming at low velocity following a bout of exhaustive exercise enhances metabolic recovery in rainbow trout [J]. Journal of Experimental Biology 2000 203 921-926.
- [22] Hyndman C A ,Kieffer J D ,Benfey T J. The physiological response of diploid and triploid brook trout to exhaustive exercise J J. Comparative Biochemistry Physiology ,2003 , 134A 167-179.

Animal Sciences

Muscle Lactate and Blood Glucose Levels of Juvenile Darkbarbel Catfish (*Pelteobagrus vachelli* Richardson) in Response to Exhaustive Exercise

ZHU Yan-ping , CAO Zhen-dong , FU Shi-jian

(Laboratory of Evolutionary Physiology and Behaviour , Chongqing Key Laboratory of Animal Biology , Chongqing Normal University , Chongqing 400047 , China)

Abstract: Juvenile darkbarbel catfish (*Pelteobagrus vachelli* Richardson) , an economic fish species distributed widely in the Yangtze River and Pearl River , are chosen as the research animal. The body weight and body length of total 42 experimental fish are (13. 10 ± 0.59) g and (9. 63 ± 0.15) cm , respectively. Muscle lactate and blood glucose levels of juvenile darkbarbel catfish are measured at rest(resting controls) and during different recovery periods (0 ,1 ,2 ,4 ,8 ,16 h) after exhaustive exercise at (25 ± 1) °C in the study. The results reveal: the muscle lactate levels of juvenile darkbarbel catfish were (5. 10 ± 0.34) μ mol/g at rest (resting controls), then it increased rapidly after exhaustive exercise, and peaked immediately (recovery 0 h) at (16. 11 ± 1.06) μ mol/g μ hen gradually decreased. It returned to resting levels within 8. 4 h of recovery and its lactate clearance rate (LCR) was 1.3μ mol/(10 ± 0.34) 10 ± 0.34 $10 \pm$

Key words: exhaustive exercise; darkbarbel catfish; lactate; glucose

(责任编辑 方 兴)