

DOI: 10.5846/stxb201907301604

彭敏锐, 郑雪丽, 李平, 李秀明, 夏继刚. 温度和重复测定对秦岭细鳞鲑快速启动反应、游泳性能及力竭后代谢特征的影响. 生态学报, 2021, 41(6): 2505-2514.

Peng M R, Zheng X L, Li P, Li X M, Xia J G. Effects of temperature and repeat measurement on fast-start, swimming performance and post-exhaustion metabolic characteristics in *Brachymystax lenok tsinlingensis*. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(6): 2505-2514.

温度和重复测定对秦岭细鳞鲑快速启动反应、游泳性能及力竭后代谢特征的影响

彭敏锐¹, 郑雪丽¹, 李平², 李秀明¹, 夏继刚^{1,*}

1 进化生理与行为学实验室, 重庆市动物生物学重点实验室, 重庆师范大学生命科学院, 重庆 401331

2 陕西省水产研究所, 西安 710086

摘要: 在全球气候变暖背景下, 冷水性鱼类的温度适应性备受关注。秦岭细鳞鲑 (*Brachymystax lenok tsinlingensis*) 是目前世界上分布最南端的两种鲑科鱼类之一, 为国家 II 级重点保护水生野生动物。尽管温度是决定该物种生存与分布的关键因子, 然而其热生物学相关研究至今鲜见报道。研究考察了驯化温度 (6°C、12°C 和 18°C) 和重复测定对秦岭细鳞鲑生态相关的重要指标如快速启动反应、游泳性能及力竭后代谢特征的影响。结果发现: (1) 快速启动反应时滞 (Latency time, $T_{latency}$) 随温度升高而变短 ($P < 0.05$), 但温度和重复测定对反应率 (Reaction rate, R) 无显著影响 ($P > 0.05$); (2) 温度对步法转换速度 (Gait transition speed, U_{gait}) 和匀加速游泳速度 (Constant acceleration test speed, U_{cat}) 影响显著 ($P < 0.05$), 重复测定对 U_{gait} 和 U_{cat} 无显著影响 ($P > 0.05$); (3) 温度对日常代谢率 (Routine metabolic rate, RMR) 和最大代谢率 (Maximum metabolic rate, MMR) 影响显著 ($P < 0.05$), 对代谢空间 (Metabolic scope, MS) 无显著影响 ($P > 0.05$), 重复测定对 MMR 和 MS 均无显著影响 ($P > 0.05$); (4) 低温驯化方向 (6—12°C) 生理参数的 Q_{10} 值较大, 而高温驯化方向 (12—18°C) 生理参数的 Q_{10} 值较小。研究结果提示: (1) 高温下秦岭细鳞鲑快速启动反应更为迅速, 但该物种对低强度机械刺激主要采用静息而非逃逸的策略; (2) 秦岭细鳞鲑游泳性能对温度变化的敏感性较高, 游泳性能的最适温度估计介于 12—18°C 之间; (3) 秦岭细鳞鲑具备较好的代谢恢复与重复运动能力, 但总体上游泳性能较弱, 可能易受生境水温和水流环境变化的限制。

关键词: 温度; 重复测定; 快速启动; 游泳性能; 代谢; 秦岭细鳞鲑

Effects of temperature and repeat measurement on fast-start, swimming performance and post-exhaustion metabolic characteristics in *Brachymystax lenok tsinlingensis*

PENG Minrui¹, ZHENG Xueli¹, LI Ping², LI Xiuming¹, XIA Jigang^{1,*}

1 Laboratory of Evolutionary Physiology and Behavior, Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China

2 Shaanxi Fisheries Institute, Xi'an 710086, China

Abstract: Temperature is one of the most important abiotic factors for ectothermic animals and has been called the “ecological master factor” for fish. In the context of global climate warming, the temperature adaptability of cold-water fish has become a focus of interest and concern. *Brachymystax lenok tsinlingensis*, a threatened fish in Qinling Mountain region, is a second-class state-protected wild animal in the China Red Data Book of Endangered Animals, and is generally regarded

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31770442); 陕西省水利科技项目 (2018slkj-20)

收稿日期: 2019-07-30; 网络出版日期: 2021-01-15

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jigangxia@163.com

as one of the two southernmost-distributed Salmonid fish worldwide. Remarkably, the lowest elevation at which *B. lenok tsinlingensis* occurs has risen by about 300 m, likely reflecting shifting thermal ranges in response to changing climate. Although water temperature is crucial for the survival and distribution of *B. lenok tsinlingensis*, information on the thermal biology of this species remains largely unknown. In this study, we investigated the effects of temperature and repeat measurement on fitness-related parameters (i. e. fast-start, swimming performance and post-exhaustion metabolic characteristics) in *B. lenok tsinlingensis*. The results showed that: (1) the latency time (T_{latency}) of fast-start in *B. lenok tsinlingensis* became shorter as the temperature increased ($P < 0.05$), but temperature and repeat measurement had no significant effect on the reaction rate (R) ($P > 0.05$). (2) Both gait transition speed (U_{gait}) and constant acceleration test speed (U_{cat}) were significantly affected by temperature ($P < 0.05$), while those were not affected by repeat measurement ($P > 0.05$). (3) Temperature had a significant effect on the routine metabolic rate (RMR) and the maximum metabolic rate (MMR) ($P < 0.05$), but had no significant influence on the metabolic scope (MS) ($P > 0.05$). Besides, the MS and MMR were not significantly affected by repeat measurement ($P > 0.05$). (4) The Q_{10} values of physiological parameters was larger in the direction of low acclimation temperature (6—12°C), and smaller in the direction of high acclimation temperature (12—18°C). The results indicated that: (1) *B. lenok tsinlingensis* could react more rapidly at high temperature, but it mainly adopted the strategy of “keeping still” rather than escaping in response to the low-intensity mechanical stimulation. (2) The swimming performance of *B. lenok tsinlingensis* was sensitive to temperature changes, and the optimum temperature for swimming performance was estimated to be between 12°C and 18°C. (3) *B. lenok tsinlingensis* showed excellent performance in metabolic recovery and repeat swimming performance, however, due to the relatively weak swimming ability of this species, it may be vulnerable to changes in habitat water temperature and flow environment.

Key Words: temperature; repeat measurement; fast-start; swimming performance; metabolism; *Brachymystax lenok tsinlingensis*

温度是水生生态系统中决定鱼类等外温动物生存与分布的关键因子^[1-5]。气候变化模型预测本世纪末全球将升温 0.3—4.8°C^[6]。温度增加将造成很多鱼类物种丧失其最佳的栖息地环境,生理功能受限进而导致其适合度下降^[7-11]。在全球气候变暖的背景下,迫切需要对鱼类(特别是冷水性鱼类)的温度适应性问题进行深入系统的探究。

温度显著影响鱼类的代谢率^[10-12]。代谢率体现了能量吸收、转化和分配的速率,是基本生物学速率^[13],与动物的运动能力、生长性能、热适应特性等密切相关^[13-15]。正如遗传理论被认为是进化生物学研究的基础一样,生态代谢理论(Metabolic theory of ecology)被认为是大部分生态学研究的基础^[13]。有关鱼类应对温度升高的生理响应,Sandblom 等^[11]形象地提出了“可塑的底层与凝固的天花板(Plastic floors and concrete ceilings)”假说,即温度升高将导致鱼类维持能量消耗(标准代谢率 Standard metabolic rate, SMR)增加,而最大代谢率(Maximum metabolic rate, MMR)却保持不变甚至下降,其结果是导致有氧代谢空间(Metabolic scope, MS)变小。 MS 是动物各种生理功能可能占用的潜在代谢空间, MS 变小被认为主要是与高温下心鳃系统供氧功能不足以满足机体的氧需求有关(基于氧供需能力限制的热忍耐假说 Oxygen- and capacity-limited thermal tolerance, OCLTT)^[12,16],这种生理功能的限制最终将对鱼类的游泳性能、生长发育、繁殖等产生抑制效应^[9-12,15]。

由于水体环境的特殊性,游泳运动作为鱼类集群、洄游、觅食及逃避捕食者等行为实现的主要方式,为鱼类的生存与繁衍提供了基本保证,与其适合度密切相关^[15,17]。鱼类为实现不同生理活动所采用的游泳方式不同。快速启动(Fast-start)是鱼类逃避天敌得以生存的基本方式,体现了鱼体运动系统和神经系统的整体性能^[15];快速启动持续时间通常少于 1 s,但与鱼类的捕食或逃逸对策密切相关^[18-19]。步法转换速度(Gait transition speed, U_{gait})指随着水流速度增加,鱼体开始出现“爆发-滑行”姿态变化且在水流中相对位置上下移

动这一行为时的游泳速度,该速度有时也被认为是鱼类的最大有氧运动速度,之后鱼体开始大量动用白肌提供能量完成高速游泳^[20-21]。匀加速游泳速度(Constant acceleration test speed, U_{cat})通常指以恒定的加速度持续增加水流速度直至鱼体出现力竭状态时的游泳速度,匀加速游泳是一种快速的高能耗游泳运动,在鱼类捕食—逃避敌害、尤其是穿越激流寻找适宜生境等生存活动中发挥重要作用^[15,22-23]。然而,由于加速游泳主要依赖于无氧代谢供能,导致白肌中 ATP、磷酸肌酸和糖原的大量消耗以及肌肉和肝脏中乳酸的累积^[24-27],力竭运动后的代谢恢复能力将直接影响鱼类后续的加速游泳性能^[25,28]。鱼类的游泳性能易受温度变化的影响^[5,23,27,28],对不同温度下重复游泳性能及其力竭后代谢特征的评估是十分必要的,有助于洞察温度影响下鱼类生理功能与生态表现的稳定性与可持续性。

秦岭细鳞鲑(*Brachymystax lenok tsinlingensis*)隶属于鲑形目、鲑科、细鳞鲑属,是目前世界上分布最南端的两种鲑科鱼类之一,为国家Ⅱ级重点保护水生野生动物^[5,29-31]。该物种是第四纪冰川时期自北方南移的残留物种,为典型的陆封型冷水性山麓鱼类,地域分布范围狭窄、生境特殊、主要分布于秦岭山系海拔 900—2300 m 的山涧溪流及深潭中^[29-30]。调查研究发现,该物种对生境水温有严格要求,易受全球气候变化和人为活动的影响,近 20 年来,其生存海拔下限已显著提升了 200—300 m^[5,31-32]。然而,尽管水温是决定该物种生存与分布的关键因子,迄今为止其热生物学相关研究十分匮乏。游泳性能对秦岭细鳞鲑生存繁衍至关重要,为其生殖洄游(需具备较强的有氧运动能力)、穿越激流等复杂生境(需要具备较强的加速游泳能力)以及快速追击捕食(需具备较强的快速启动能力)提供了基本保障,加之气候变化和筑坝等人为活动导致生境水流变化又对其游泳性能提出了更高的要求^[33]。本研究考察了温度和重复测定对秦岭细鳞鲑快速启动反应、游泳性能及力竭后代谢特征的影响,以为该物种的保护生理学研究与实践提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

秦岭细鳞鲑幼鱼((22.1 ± 0.98) g, (11.4 ± 0.14) cm, $n=27$)采自陕西太白河水珍稀水生生物国家级自然保护区($33^{\circ}744'N$, $107^{\circ}460'E$),将实验鱼于自净化循环控温系统(500 L)驯养 21 d 以使之适应实验室环境。驯养条件如下:实验用水为充分曝气脱氯并经过活性炭过滤的自来水,水温(13.5 ± 0.5) $^{\circ}C$ (与采样点的温度接近),水体溶氧 $\geq 90\%$ 饱和溶氧,氨氮浓度 <0.01 mg/L,水体底部放置若干大石块以模拟自然生境;每日 8:00 饱足投喂黄粉虫幼虫(*Tenebrio molitor*)一次,投喂 20 min 后,吸去残饵并更换 1/5 水体以保持水质清洁。

1.2 实验方案

本研究共设置 6 $^{\circ}C$ 、12 $^{\circ}C$ 和 18 $^{\circ}C$ 3 个生态相关的温度梯度(其中,18 $^{\circ}C$ 代表了实验鱼栖息地夏季最热月份的平均温度,6—12 $^{\circ}C$ 为实验鱼的繁殖适宜温度,当春季温度高于 6 $^{\circ}C$ 时实验鱼向上游产卵洄游而当冬季温度低于 6 $^{\circ}C$ 时向下游越冬洄游^[5])。适应结束后,将实验鱼随机平均分为 3 组,每组 9 尾($n=9$),分别移养至 3 个相同的自净化循环控温水槽;然后,将各组水温从(13.5 ± 0.5) $^{\circ}C$ 开始以 1 $^{\circ}C/d$ 的速率升温或降温至设定的 3 个驯化温度(6、12、18 $^{\circ}C$),并将实验鱼在各自相应的温度下驯化 21 d。温度驯化期间,除了水温不同外,其余水质环境条件以及喂养水平等与驯养适应期间保持一致。

驯化结束后,将实验鱼禁食 24 h,连续两次测定其快速启动表现,两次测试的时间间隔为 15 min。之后,将实验鱼放回原有驯养水体恢复适应 24 h,24 h 后连续两次测定其游泳性能及力竭前后的代谢特征,两次测试的时间间隔为 30 min。最后,分析驯化温度(6、12、18 $^{\circ}C$)和重复测定(测定 I、测定 II)及其交互作用对实验鱼快速启动反应、游泳性能以及力竭后代谢特征的影响。驯化和测试期间,水温精度控制在 $\pm 0.1^{\circ}C$ 。

1.3 快速启动测定

将单尾实验鱼转入直径为 1 m 的圆形水槽并给予 15 min 的适应期以消除转移胁迫。水槽中水深 15 cm,水温与实验鱼驯化温度一致。为减少外界环境干扰,水槽置于独立的行为观测室,观测室四周避光,水槽正上方 3 m 处设有一 5 W 的节能灯,高速摄像机(500 帧/s, BASLER A504K, Germany)置于水槽正上方 2 m 处。

通过玩具枪在距离实验鱼尾部约 10 cm 处射入直径为 0.5 cm 的子弹,以刺激实验鱼检测其快速启动表现。在子弹射出的同时开启高速摄像机对实验鱼进行拍摄,拍摄历时 2 s,通过摄像机捕获的图像以子弹接触水面的瞬间作为刺激起始时刻。采用图像处理软件(nEO iMAGING 和 ACDsee 12)对拍摄的图像进行处理,采用软件 TpsUtil 和 TpsDig(<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>)将图像数字化以测量实验鱼质心位移,依据鱼体的状态变化和质心轨迹计算出反应率(Reaction rate, R)、反应时滞(Latency time, T_{latency})、快速逃逸(实验鱼逃离原有位点,质心发生显著偏移)比例等参数^[15,19]。其中, R 是对环境刺激有响应的个体数占实验鱼总数的百分比,测定时将刺激有反应的个体记为 1、无反应的个体记为 0; T_{latency} 是指从环境刺激发生到鱼体作出可被察觉的行为反应所经历的时间^[15]。

1.4 游泳性能及力竭前后代谢特征测定

1.4.1 日常代谢率(Routine metabolic rate, RMR)

采用鱼类游泳代谢仪(实验装置图详见 Penghan 等^[23])对实验鱼的游泳性能及力竭前后代谢特征进行测定^[5,28]。测定时,将单尾实验鱼放入游泳管中适应 1 h 以使其适应微水流环境(12 cm/s,约为每秒一倍体长)。之后,密闭游泳管,使用溶氧仪(HQ30, Hach Company, Loveland, CO, USA)对游泳管内水体的溶氧水平进行测定,每 1 min 测定 1 次,连续测定 20 min,得出实验鱼的日常代谢率(Routine metabolic rate, RMR)($\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$)^[26-27]。RMR 以实验鱼的呼吸耗氧率 $\dot{M}\text{O}_2$ 表示,计算公式如下:

$$\dot{M}\text{O}_2 = (DO_k - DO_{k+1})V / (t \times m^{0.75})$$

式中, DO_k 和 DO_{k+1} 分别为测定时间点 k 及 $k+1$ 时刻呼吸室内的溶氧水平(mg/L); $V(\text{L})$ 为呼吸室体积与实验鱼体积的差值; $t(\text{h})$ 为时间点 k 与 $k+1$ 的时间间隔; $m(\text{kg})$ 为实验鱼的体重。为了消除体重差异对代谢率测定的影响,将实验鱼体重标准化为 1 kg,0.75 为体重校正指数^[5,31,34]。

1.4.2 U_{gait} 和 U_{cat}

RMR 测定完成后,将游泳管中的水流速度以 0.167 cm/s^2 的加速度持续增加(游泳管连接计算机,管内的水流速度由编写的程序控制),直至实验鱼到达运动力竭状态。将实验鱼首次出现“爆发-滑行”姿态变化且在水流中相对位置上下移动这一行为时的游泳速度记为 U_{gait} ,将实验鱼力竭时的水流速度记为 U_{cat} 。力竭状态的评判标准为实验鱼无力前进游泳并停留在游泳管末端筛板 20 s 以上^[23,28,35]。为避免造成低氧胁迫,每次加速测定前短暂打开游泳管后盖以实现内外水体交换(时长为 20 s),然后再密闭游泳管。

1.4.3 力竭后代谢特征

U_{gait} 和 U_{cat} 测定结束后(实验鱼力竭后),将游泳管内的水流降至 12 cm/s(与适应期相同),立即使用溶氧仪对游泳管内水体的溶氧水平进行测定,每 1 min 测定 1 次,连续测定 30 min,得出实验鱼代谢率随力竭后恢复时间延长的变化特征。将实验鱼代谢恢复过程中的最大代谢率记为 MMR,将 MMR 与 RMR 的差值记为 MS ^[28]。实验鱼代谢恢复过程中游泳管内水体溶氧不低于饱和溶氧的 80%^[5]。

1.5 数据分析

采用 SPSS 19.0 对数据进行统计分析。首先对实验数据进行正态性(Shapiro-Wilks 检验)和方差齐性检验。若数据满足正态性和方差齐性,采用双因素方差分析(Two-way ANOVA)和 Tukey's HSD 多重比较检验差异显著性;若数据不满足正态性和方差齐性,采用 Scheirer-Ray-Hare 分析^[19]检验差异显著性。数据均以平均值 \pm 标准误表示,显著性水平设为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 温度和重复测定对实验鱼快速启动反应的影响

温度和重复测定对实验鱼的反应率 R 均无显著影响($P > 0.05$,表 1,图 1)。温度对实验鱼的反应时滞 T_{latency} 影响显著($P < 0.05$,表 1,图 1), T_{latency} 随温度升高而变短。此外,温度和重复测定对实验鱼快速逃逸比例无影响,前后两次测试每个温度处理组均只有 1 尾鱼展现出快速逃逸行为。

表 1 温度和重复测定对秦岭细鳞鲑快速启动反应、游泳性能及力竭后代谢特征的影响

Table 1 Effects of temperature and repeat measurement on fast-start, swimming performance and post-exhaustion metabolic characteristics in *Brachymystax lenok tsinlingensis*

	变量 Variables	温度效应 Temperature effect	重复测定效应 Repeat measurement effect	交互作用 Interaction effect
快速启动 Fast-start	$R/\%$	$H_{2,54} = 2.21$, $P = 0.121$	$H_{1,54} = 0.421$, $P = 0.520$	$H_{2,54} = 0.105$, $P = 0.900$
	$T_{\text{latency}}/\text{ms}$	$F_{2,42} = 26.2$, $P < 0.001$	$F_{1,42} = 0.046$, $P = 0.831$	$F_{2,42} = 0.186$, $P = 0.831$
游泳性能 Swimming performance	$U_{\text{gait}}/(\text{cm/s})$	$F_{2,54} = 6.754$, $P = 0.003$	$F_{1,54} = 0.475$, $P = 0.494$	$F_{2,54} = 0.438$, $P = 0.648$
	$U_{\text{cat}}/(\text{cm/s})$	$F_{2,54} = 7.397$, $P = 0.002$	$F_{1,54} < 0.001$, $P = 0.988$	$F_{2,54} = 0.099$, $P = 0.906$
代谢特征 Metabolic characteristics	$\text{RMR}/(\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1})$	$F_{2,27} = 12.22$, $P < 0.001$	—	—
	$\text{MMR}/(\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1})$	$F_{2,54} = 4.787$, $P = 0.013$	$F_{1,54} = 0.012$, $P = 0.912$	$F_{2,54} = 0.543$, $P = 0.585$
	$\text{MS}/(\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1})$	$F_{2,54} = 1.255$, $P = 0.294$	$F_{1,54} = 0.013$, $P = 0.910$	$F_{2,54} = 0.566$, $P = 0.572$

R : 反应率 Reaction rate; T_{latency} : 反应时滞 Latency time; U_{gait} : 步法转换速度 Gait transition speed; U_{cat} : 匀加速游泳速度 constant acceleration test speed; RMR: 日常代谢率 Routine metabolic rate; MMR: 最大代谢率 Maximum metabolic rate; MS: 代谢范围 Metabolic scope

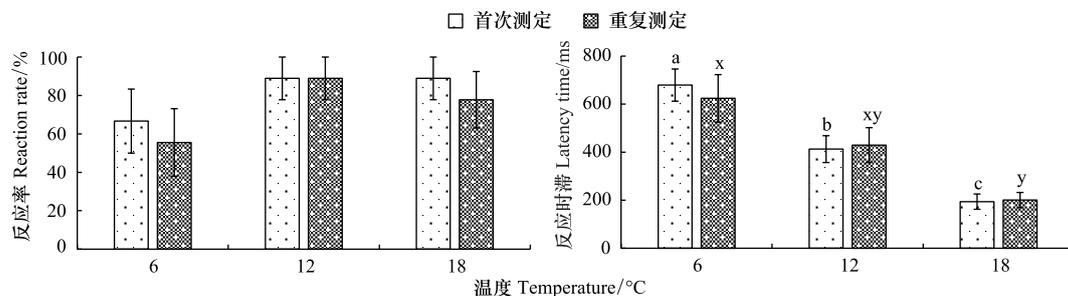


图 1 温度和重复测定对实验鱼快速启动反应的影响

Fig.1 Effects of temperature and repeat measurement on fast-start of *Brachymystax lenok tsinlingensis*

a—c 上标字母不同表示首次测定不同温度组间差异显著 ($P < 0.05$); x, y 无共同上标字母表示重复测定不同温度组间差异显著 ($P < 0.05$)

2.2 温度和重复测定对实验鱼游泳性能的影响

温度对实验鱼的 U_{gait} 和 U_{cat} 影响显著 ($P < 0.05$, 表 1, 图 2), 重复测定对实验鱼的 U_{gait} 和 U_{cat} 无显著影响 ($P > 0.05$, 表 1, 图 2)。

2.3 温度实验鱼运动前日常代谢率 RMR 的影响

温度对实验鱼的 RMR 影响显著 ($P < 0.05$, 表 1), RMR 随驯化温度的升高而升高, 6°C、12°C、18°C 驯化下的 RMR 分别为 (118.6 ± 10.1) 、 (151.4 ± 9.11) 、 $(182.0 \pm 7.86) \text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 。

2.4 温度和重复测定对实验鱼力竭后代谢特征的影响

不同温度下的实验鱼力竭后的代谢恢复特征见图 3。无论是初次运动后的代谢恢复期 I 还是再次运动后的恢复期 II, 实验鱼代谢率都急剧上升达到峰值, 随后快速下降并逐步恢复到运动前水平。温度对实验鱼的 MMR 影响显著 ($P < 0.05$, 表 1, 图 4)、对实验鱼的 MS 无显著影响 ($P > 0.05$, 表 1, 图 4), 重复测定对实验鱼的 MMR 和 MS 均无显著影响 ($P > 0.05$, 表 1, 图 4)。

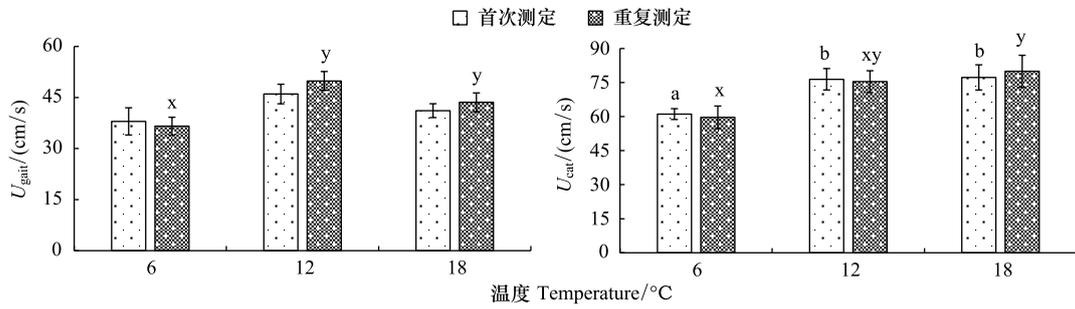


图2 温度和重复测定对实验鱼游泳性能的影响

Fig.2 Effects of temperature and repeat measurement on swimming performance of *Brachymystax lenok tsinlingensis*

U_{gait} : 步法转换速度 Gait transition speed; U_{cat} : 匀加速游泳速度 Constant acceleration test speed; a-b 上标字母不同表示首次测定不同温度组间差异显著 ($P < 0.05$); x, y 无共同上标字母表示重复测定不同温度组间差异显著 ($P < 0.05$)

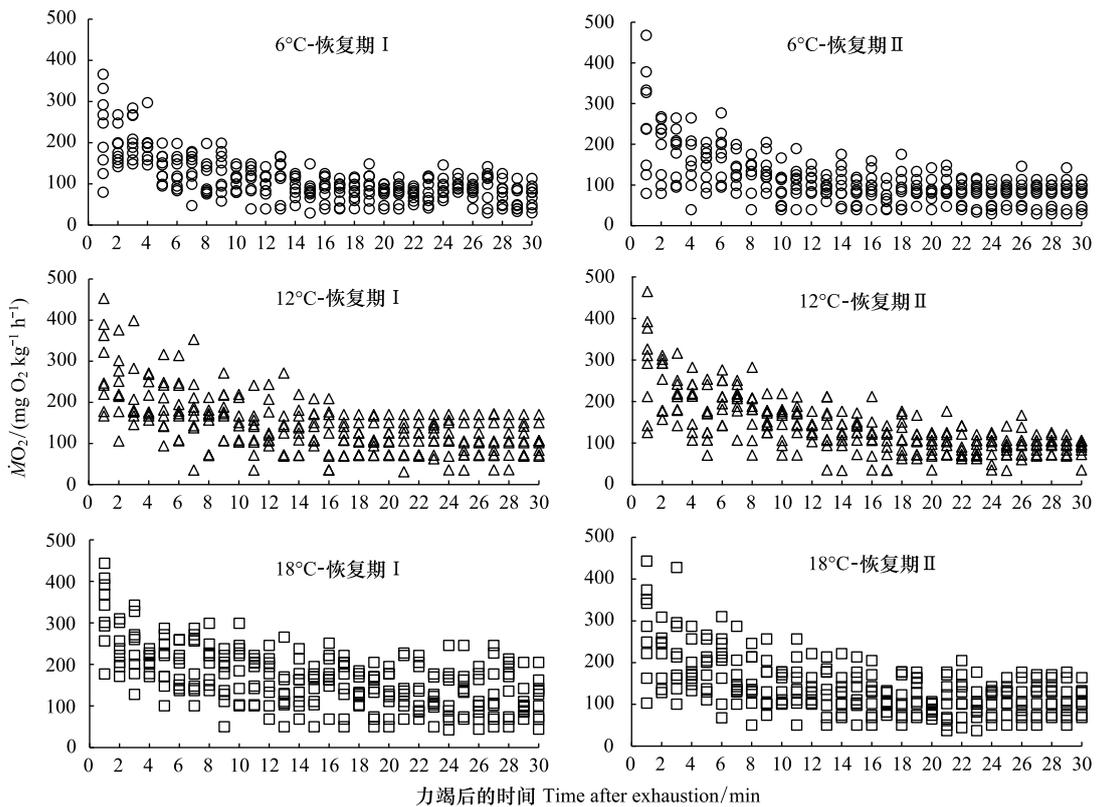


图3 不同温度下实验鱼力竭后的代谢恢复特征

Fig.3 Metabolic recovery after exhaustive swimming in *Brachymystax lenok tsinlingensis* at different acclimation temperature

2.5 温度系数 Q_{10}

特定温度范围内实验鱼不同生理参数的温度系数 Q_{10} 见表 2。无论是首次测定还是重复测定,相较于 6—12°C 范围内生理参数的 Q_{10} 值,12—18°C 范围内所有生理参数的 Q_{10} 值均较小。6—12°C 范围内,首次测定 U_{gait} 的 Q_{10} 值小于重复测定,而 MMR 和 MS 的 Q_{10} 值大于重复测定;12—18°C 范围内,首次测定各种生理参数的 Q_{10} 值与重复测定相近。

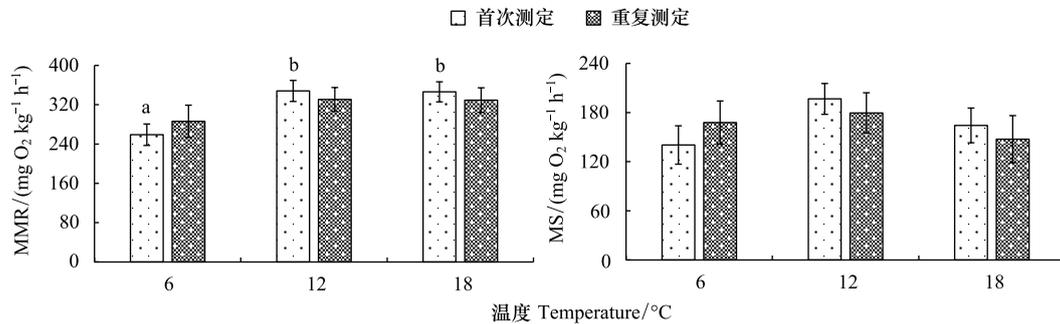


图 4 温度和重复测定对实验鱼力竭后代谢特征的影响

Fig. 4 Effects of temperature and repeat measurement on metabolic characteristics after exhaustive swimming in *Brachymystax lenok tsinlingensis*

MMR: 最大代谢率 Maximum metabolic rate; MS: 代谢范围 Metabolic scope; a-b 上标字母不同表示首次测定不同温度组间差异显著 ($P < 0.05$)

表 2 秦岭细鳞鲑不同生理参数的热敏感性

Table 2 The thermal sensitivity of different physiological parameters in *Brachymystax lenok tsinlingensis*

	Temperature (°C)	Q_{10} 值				
		$U_{gait}/$ (cm/s)	$U_{cat}/$ (cm/s)	RMR/ (mg O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	MMR/ (mg O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	MS/ (mg O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)
首次测定	6°C	1.38	1.45	1.50	1.64	1.75
The first measurement	12°C	0.83	1.02	1.36	0.99	0.74
	18°C					
重复测定	6°C	1.68	1.48	—	1.27	1.12
The second measurement	12°C	0.80	1.10	—	0.99	0.72
	18°C					

Q_{10} : 温度系数; $Q_{10} = (X_{T_2}/X_{T_1})^{10/(T_2-T_1)}$, 式中 X_{T_1} 和 X_{T_2} 分别为温度 T_1 和 T_2 时的生理参数

3 讨论

3.1 温度和重复测定对实验鱼快速启动的影响

鱼类快速启动游泳的温度效应与物种的热敏感性、热经历、生理状态以及生态对策等均有关联^[15,19,36-37]。由于温度影响机体能量供给和肌肉收缩时间^[38],在一定范围内,鱼类的快速启动游泳能力往往随着温度的升高而提升。例如,Yan 等^[37]发现,采用电刺激下草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*)、鲫鱼 (*Carassius carassius*)、中华倒刺鲃 (*Spinibarbus sinensis*)、鳊鱼 (*Parabramis pekinensis*)、鲤鱼 (*Cyprinus carpio*)、白甲鱼 (*Onychostoma sima*) 等几种鲤科鱼类的快速逃逸能力(逃逸最大速度、逃逸距离)在 25°C 下与 15°C 下相比均显著提升。诚然,逃逸反应是多数鱼类遭遇环境风险刺激时的主要生存对策,但是作为另一种适应性选择,也有一些鱼类会表现出隐匿行为或者惊恐状的静息僵直(Freezing behavior)或退缩行为(Withdrawal behavior)^[39-40],例如欧洲鲷(*Solea solea*)、比目鱼(*Hippoglossus*)等一些隐蔽性强的鱼类和具有保护性盔甲的鱼类,在遭遇环境刺激时往往采取静息不动的行为策略以降低被捕食的风险^[39]。由于鱼类对各种环境刺激方式的敏感性不同,快速启动的测定方法目前尚未统一。以往研究中,采用电刺激的方法由于重现性较好、易于控制和标准化,并且能够更准确地检测鱼体逃逸反应动力学参数,在相关研究中被广泛采用^[15,19,36-37],然而其缺点是难以模拟鱼类在自然界遭遇的真实环境,生态关联度不强,并且容易陷入实验动物伦理的争议中,近年来已不被该研究领域的多数科学家所接受。本研究采用的刺激方式更为接近自然界真实状况,因此检测结果也更能反映动物真实的快速启动表现。但遗憾的是,该刺激方式仅检测出了实验鱼的快速启动反应(认知响应能力),并不能有效诱导实验鱼的快速逃逸行为(爆发逃逸能力)。作者也曾尝试采用食物诱导、化学捕食信号等其他方式刺激,

效果均不理想。未来研究中,在其野生生境下实测其快速启动表现可能是必要的。有幸的是,本研究也发现了一些有趣的实验结果,随温度升高,秦岭细鳞鲑的 $T_{latency}$ 显著减少,但温度和重复测定对反应率 R 和快速逃逸比例均无显著影响,前后两次测试每个温度处理组均只有 1 尾鱼(占比 11.1%)展现出快速逃逸行为。由于秦岭细鳞鲑栖息生境主要为一些乱石底质的山涧溪流、易于隐匿,且其体色与周围环境相近、不易被发现。我们推测,静息不动可能是该物种适应于山涧溪流生境、应对低强度机械刺激一种有效的生态策略,为未来的野外生态学研究提供了有益启示。

3.2 温度和重复测定对实验鱼游泳性能的影响

鱼类游泳性能与温度的关系通常呈“钟型”曲线^[41-42],在适宜温度范围内,游泳性能随温度升高而上升。本研究中,温度对秦岭细鳞鲑 U_{gait} 和 U_{cat} 影响显著,6℃ 驯化组的 U_{gait} 和 U_{cat} 低于 12℃ 和 18℃ 驯化组,但 18℃ 和 12℃ 驯化组间并无差异。研究结果与 Xia 等^[5] 对秦岭细鳞鲑临界游泳速度(Critical swimming speed, U_{crit})的研究结果相一致。此外,由于 24℃ 条件已经对秦岭细鳞鲑造成了严重热胁迫、导致高死亡率,因此,依据“钟型”曲线模型,推测秦岭细鳞鲑游泳性能的最适温度介于 12℃ 和 18℃ 之间^[5]。相较于 12—18℃,6—12℃ 范围内秦岭细鳞鲑 U_{gait} 和 U_{cat} 的温度系数 Q_{10} 较高,其热敏感程度与变化趋势与 U_{crit} 相似^[5]。综合秦岭细鳞鲑 U_{gait} 、 U_{cat} 和与 U_{crit} 对温度的响应规律来看,该物种游泳性能对温度变化的敏感性较高。秦岭细鳞鲑 U_{gait} 和 U_{crit} 的值接近^[5],二者均显著小于 U_{cat} (6、12、18℃ 下 U_{gait} 分别为 U_{cat} 的 62.1%、60.2%、53.2%, U_{crit} 分别为 U_{cat} 的 61.2%、65.0%、60.2%),表明与有氧运动能力相比其无氧运动能力相对较强,这可能与该物种栖息的乱石底质生境及其水流环境特点有关。然而,值得注意的是,总体上该物种的运动性能较弱,无论是有氧运动能力还是无氧运动能力均弱于常见淡水鱼类,例如鲤科鱼类 U_{crit} 一般可达到体长的 6—8 倍, U_{cat} 通常可达到体长的 8—10 倍^[15],而不同温度下秦岭细鳞鲑 U_{gait} 和 U_{crit} 均在 5 倍体长以下, U_{cat} 均在 7 倍体长以下。提示气候变化和筑坝等人为活动导致生境水温和水流变化可能容易对其生存与分布造成限制^[33]。

由于生存活动的需要,鱼类通常需要多次重复游泳运动^[28,43-44]。Jain 和 Farrell^[43] 探究了季节温度变化对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)重复游泳能力的影响,发现低温(8.4℃)驯化下两次测定的 U_{crit} 值接近、而较高温(14.9℃)驯化下测定 II 的 U_{crit} 值显著低于测定 I,认为高温下重复游泳能力的降低主要和机体乳酸积累等代谢功能损伤有关。MacNutt 等^[44] 发现,无论是急性(48 h)和亚慢性(21 d)驯化,驯化温度对克拉氏鲑(*Oncorhynchus clarki clarki*)重复游泳 U_{crit} 值的恢复率均无显著影响。Pang 等^[28] 发现,较低温度(10、15、20℃)驯化下,中华倒刺鲃测定 II 和测定 I 的 U_{cat} 值无显著差异、而高温(25、30℃)驯化下测定 II 的 U_{cat} 值显著低于测定 I。本研究中,不同温度下测定 I 与测定 II 秦岭细鳞鲑的 U_{gait} 和 U_{cat} 无显著差异,提示该物种游泳性能具备较佳的恢复力和可重复性,研究结果与 MacNutt 等相近^[44]。

3.3 温度和重复测定对实验鱼力竭前后代谢特征的影响

温度通过影响外温动物的生化反应与合成速率显著影响其代谢水平^[45]。鱼类 RMR 通常随温度升高而升高^[41],但 MMR 与温度的关系尚无一致观点。有研究者认为,MMR 与温度的关系呈“钟型”曲线^[28,41],也有研究者认为 MMR 与温度的关系是线性的、随温度升高而上升^[42]。例如,急性温度增加可以导致尖吻鲈(*Lates calcarifer*)MMR 持续升高直至 38℃(已接近其临界温度上限)^[46]。本研究中,温度对秦岭细鳞鲑的 MMR 影响显著,测定 I 中 6℃ 驯化组的 MMR 显著低于 12℃ 和 18℃ 驯化组。低温下 MMR 降低主要是由于心鳃循环系统功能下调致机体摄氧能力降低所致^[47]。然而,测定 II 中不同温度组间 MMR 的差异性消失,并且 6—12℃ 范围 MMR 的 Q_{10} 值也从测定 I 中 1.64 下降到 1.27,提示低温下前期运动锻炼对动物 MMR 的提升可能具有积极作用。运动力竭后的代谢恢复包括能量代谢底物的恢复、代谢产物的清除以及内环境(体液酸碱度、渗透压等)的重新平衡,代谢恢复能力将决定后续加速游泳能力的发挥^[48]。值得关注的是,无论初次运动后的恢复期 I 还是再次运动后的恢复期 II,秦岭细鳞鲑代谢率都急剧上升达到峰值,随后快速下降并逐步恢复到运动前水平,并且重复测定对其力竭后的代谢参数(MMR 和 MS)均无显著影响,暗示该物种具备较佳的代谢恢复能力。

综上,秦岭细鳞鲑对低强度机械刺激主要采用静息而非逃逸的生态策略,高温下的快速启动反应更为迅速。秦岭细鳞鲑游泳性能对温度变化的敏感性较高,最适温度估计介于 12—18℃。尽管不同温度处理下,该物种的代谢恢复与重复运动能力较佳,但总体上该物种的游泳性能较弱,提示生境水温和水流变化可能对其生存与分布造成限制。

参考文献 (References):

- [1] Huey R B, Stevenson R D. Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *American Zoologist*, 1979, 19 (1): 357-366.
- [2] Sabatés A, Martín P, Lloret J, Raya V. Sea warming and fish distribution: the case of the small pelagic fish, *Sardinella aurita*, in the western Mediterranean. *Global Change Biology*, 2006, 12(11): 2209-2219.
- [3] Eliason E J, Clark T D, Hague M J, Hanson L M, Gallagher Z S, Jeffries K M, Gale M K, Patterson D A, Hinch S G, Farrell A P. Differences in thermal tolerance among sockeye salmon populations. *Science*, 2011, 332(6025): 109-112.
- [4] Nguyen K D T, Morley S A, Lai C H, Clark M S, Tan K S, Bates A E, Peck L S. Upper temperature limits of tropical marine ectotherms: global warming implications. *PLoS One*, 2011, 6(12): e29340.
- [5] Xia J G, Ma Y J, Fu C, Fu S J, Cooke S J. Effects of temperature acclimation on the critical thermal limits and swimming performance of *Brachymystax lenok tsinlingensis*: a threatened fish in Qinling Mountain region of China. *Ecological Research*, 2017, 32(1): 61-70.
- [6] IPCC. Climate Change 2014 Synthesis Report Summary for Policymakers. Geneva: IPCC, 2014.
- [7] Casselman J M. Effects of temperature, global extremes, and climate change on year-class production of warmwater, coolwater, and coldwater fishes in the Great Lakes Basin//McGinn N A, ed. *Fisheries in a Changing Climate*. Bethesda: American Fisheries Society, 2002: 39-59.
- [8] Ficke A D, Myrick C A, Hansen L J. Potential impacts of global climate change on freshwater fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2007, 17(4): 581-613.
- [9] Pörtner H O, Farrell A P. Physiology and climate change. *Science*, 2008, 322(5902): 690-692.
- [10] Kelly N I, Burness G, McDermid J L, Wilson C C. Ice age fish in a warming world: minimal variation in thermal acclimation capacity among lake trout (*Salvelinus namaycush*) populations. *Conservation Physiology*, 2014, 2(1): cou025.
- [11] Sandblom E, Clark T D, Gräns A, Ekström A, Brijs J, Sundström L F, Odelström A, Adill A, Aho T, Jutfelt F. Physiological constraints to climate warming in fish follow principles of plastic floors and concrete ceilings. *Nature Communications*, 2016, 7(1): 11447.
- [12] Clark T D, Sandblom E, Jutfelt F. Aerobic scope measurements of fishes in an era of climate change: respirometry, relevance and recommendations. *Journal of Experimental Biology*, 2013, 216(15): 2771-2782.
- [13] Brown J H, Gillooly J F, Allen A P, Savage V M, West G B. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 2004, 85(7): 1771-1789.
- [14] Humphries M M, McCann K S. Metabolic ecology. *Journal of Animal Ecology*, 2014, 83(1): 7-19.
- [15] 付世建, 曹振东, 曾令清, 夏继刚, 李秀明. 鱼类游泳运动——策略与适应性进化. 北京: 科学出版社, 2014.
- [16] Pörtner H O, Knust R. Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. *Science*, 2007, 315(5808): 95-97.
- [17] Blake R W. Fish functional design and swimming performance. *Journal of Fish Biology*, 2004, 65(5): 1193-1222.
- [18] Domenici P, Blake R. The kinematics and performance of fish fast-start swimming. *Journal of Experimental Biology*, 1997, 200(8): 1165-1178.
- [19] Xia J G, Ma Y J, Guo W M, Huang L, Fu S J. Temperature-dependent effects of PFOS on risk recognition and fast-start performance in juvenile *Spinibarbus sinensis*. *Aquatic Biology*, 2015, 24(2): 101-108.
- [20] Drucker E G. The use of gait transition speed in comparative studies of fish locomotion. *American Zoologist*, 1996, 36(6): 555-566.
- [21] Peake S J. Gait transition speed as an alternate measure of maximum aerobic capacity in fishes. *Journal of Fish Biology*, 2008, 72(3): 645-655.
- [22] Langerhans R B, Reznick D N. Ecology and evolution of swimming performance in fishes: predicting evolution with biomechanics//Domenici P, Kapoor B G, eds. *Fish Locomotion: An Etho-Ecological Perspective*. British Isles: Science Publishers, 2009: 200-248.
- [23] Penghan L Y, Cao Z D, Fu S J. Effect of temperature and dissolved oxygen on swimming performance in crucian carp. *Aquatic Biology*, 2014, 21 (1): 57-65.
- [24] Wood C M. Acid-base and ion balance, metabolism, and their interactions, after exhaustive exercise in fish. *Journal of Experimental Biology*, 1991, 160(1): 285-308.
- [25] Li K G, Cao Z D, Peng J L, Fu S J. The metabolic responses and acid-base status after feeding, exhaustive exercise, and both feeding and exhaustive exercise in Chinese catfish (*Silurus asotus* Linnaeus). *Journal of Comparative Physiology B*, 2010, 180(5): 661-671.
- [26] Pang X, Fu S J, Li X M, Zhang Y G. The effects of starvation and re-feeding on growth and swimming performance of juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 2016, 42(4): 1203-1212.

- [27] Peng J, Cao Z D, Fu S J. Effects of temperature and digestion on the swimming performance of juvenile Chinese bream. *Aquatic Biology*, 2014, 21(3): 183-189.
- [28] Pang X, Yuan X Z, Cao Z D, Zhang Y G, Fu S J. The effect of temperature on repeat swimming performance in juvenile qingbo (*Spinibarbus sinensis*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015, 41(1): 19-29.
- [29] Xia J G, Peng M R, Huang Y, Elvidge C K. Acute warming in winter eliminates chemical alarm responses in threatened *Qinling lenok* *Brachymystax lenok tsinlingensis*. *Science of The Total Environment*, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142807>.
- [30] Zhao Y H, Zhang C G. Threatened fishes of the world; *Brachymystax lenok tsinlingensis* Li, 1966 (Salmonidae). *Environmental Biology of Fishes*, 2009, 86(1): 11-12.
- [31] 夏继刚, 陈梅, 肖静, 付世建. 秦岭细鳞鲑代谢及低氧耐受能力对温度驯化的响应. *水生生物学报*, 2017, 41(1): 201-205.
- [32] 任剑, 梁刚. 千河流域秦岭细鳞鲑资源调查报告. *陕西师范大学学报: 自然科学版*, 2004, 32(S2): 165-168.
- [33] Xenopoulos M A, Lodge D M, Alcamo J, Märker M, Schulze K, Van Vuuren D P. Scenarios of freshwater fish extinctions from climate change and water withdrawal. *Global Change Biology*, 2005, 11(10): 1557-1564.
- [34] Fu S J, Fu C, Yan G J, Cao Z D, Zhang A J, Pang X. Interspecific variation in hypoxia tolerance, swimming performance and plasticity in cyprinids that prefer different habitats. *Journal of Experimental Biology*, 2014, 217(4): 590-597.
- [35] Zhou L Y, Yan X Y, Li X M, Fu X, Xia J G, Fu S J. Effect of exercise training on swimming performance, survival under predation and hypoxia tolerance in an endangered fish species in China. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 2019, 52(2): 67-82.
- [36] Xia J G, Cheng M L, Cai R Y, Fu S J, Cooke S J, Elvidge C K. Ontogenetic changes in chemical alarm cue recognition and fast-start performance in guppies (*Poecilia reticulata*). *Ethology*, 2017, 123(12): 916-923.
- [37] Yan G J, He X K, Cao Z D, Fu S J. The trade-off between steady and unsteady swimming performance in six cyprinids at two temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 2012, 37(6): 424-431.
- [38] Guderley H. Metabolic responses to low temperature in fish muscle. *Biological Reviews*, 2004, 79(2): 409-427.
- [39] Godin J G J. Evading predators//Godin J G J, ed. *Behavioural Ecology of Teleost Fishes*. Oxford: Oxford University Press, 1997: 191-236.
- [40] Ward A B, Azizi E. Convergent evolution of the head retraction escape response in elongate fishes and amphibians. *Zoology*, 2004, 107(3): 205-217.
- [41] Zeng L Q, Cao Z D, Fu S J, Peng J L, Wang Y X. Effect of temperature on swimming performance in juvenile southern catfish (*Silurus meridionalis*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2009, 153(2): 125-130.
- [42] Norin T, Clark T D. Measurement and relevance of maximum metabolic rate in fishes. *Journal of Fish Biology*, 2016, 88(1): 122-151.
- [43] Jain K E, Farrell A P. Influence of seasonal temperature on the repeat swimming performance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Experimental Biology*, 2003, 206(20): 3569-3579.
- [44] MacNutt M J, Hinch S G, Farrell A P, Topp S. The effect of temperature and acclimation period on repeat swimming performance in cutthroat trout. *Journal of Fish Biology*, 2004, 65(2): 342-353.
- [45] Angilletta Jr M J, Niewiarowski P H, Navas C A. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of thermal Biology*, 2002, 27(4): 249-268.
- [46] Norin T, Malte H, Clark T D. Aerobic scope does not predict the performance of a tropical eurythermal fish at elevated temperatures. *Journal of Experimental Biology*, 2014, 217(2): 244-251.
- [47] Zeng L Q, Zhang Y G, Cao Z D, Fu S J. Effect of temperature on excess post-exercise oxygen consumption in juvenile southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen) following exhaustive exercise. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2010, 36(4): 1243-1252.
- [48] Kieffer J D. Limits to exhaustive exercise in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2000, 126(2): 161-179.