



运动强度对罗氏沼虾运动行为和能量代谢的影响

李江涛, 邱小龙, 黄菲菲, 邱晓桐, 方俊超,

梁日深, 李清清, 林 鑫*, 吕晓静*

(仲恺农业工程学院, 广州市水产病害与水禽养殖重点实验室, 广东 广州 510225)

摘要: 为查明运动过程中罗氏沼虾的行为特征及其与肌肉能量代谢的关系, 实验设置了对照、低、中、高 4 种不同强度的游泳和弹跳实验, 研究了运动后罗氏沼虾的行为、能量来源和相关代谢酶活性。游泳强度通过在特定时间内设置不同的水流速度来确定, 对照、低、中、高强度的水流速度分别为 0 (自由运动)、5 (200 min)、10 (200 min) 和 15 cm/s (游泳至疲劳)。弹跳强度通过在特定时间内设置不同触碰频率来确定, 对照、低、中、高强度的触碰频率分别为 0 (自由运动)、0.033 (5 min)、0.050 (5 min) 和 0.067 Hz (弹跳至疲劳)。结果显示, 罗氏沼虾各运动组游泳足和尾肢的最大摆动频率和最大摆动幅度均显著高于对照组。各运动强度组肌肉蛋白质含量与对照组之间无显著差异, 肌肉糖原含量均显著小于对照组, 低强度游泳组肌肉甘油三酯含量小于对照组。中、高强度游泳组游泳足肌肉乳酸脱氢酶 (LDH) 活性和乳酸含量显著高于对照组, 低强度游泳组游泳足肌肉丙酮酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶和脂肪酶活性显著高于对照组。无论弹跳强度高低, 罗氏沼虾腹部肌肉 LDH 酶活性和乳酸含量均显著高于对照组。研究表明, 罗氏沼虾通过增加肌肉能量代谢强度来满足运动所需能量, 游泳行为能量来源与游泳强度有关, 弹跳行为主要依靠厌氧代谢获取能量。本研究结果丰富了虾类行为生理学理论知识, 为罗氏沼虾的健康养殖提供基础数据。

关键词: 罗氏沼虾; 游泳; 弹跳; 能量代谢; 运动行为

中图分类号: S 966.12

文献标志码: A

运动对水生动物的生存至关重要^[1]。运动行为既是水生动物躲避捕食和攻击的主要手段, 也是其摄食、洄游、求偶和交配的关键^[2-3]。目前水生动物的运动行为学研究主要集中在鱼类^[4], 被广泛应用于水产养殖^[5]、增殖放流^[6]、鱼道设计^[7]和捕捞技术改良^[8]等。

虾类运动行为学研究近年来已逐渐引起重视。虾类运动主要包括 3 种模式: 游泳、爬行和弹跳^[9]。游泳是虾类日常活动的主要运动方式, 如巡游、

觅食等^[10-11]。弹跳是速度最快的运动方式, 通常持续时间较短, 主要用于虾类躲避攻击、打斗等^[12]。虾类游泳主要依靠游泳足摆动完成, 弹跳则主要通过弯曲腹部并配合尾肢摆动来实现^[13]。上述行为的完成需要额外消耗能量, 能量主要源自肌肉糖原、甘油三酯和蛋白质等能量物质的分解^[14]。能量物质的分解方式与氧气供应程度有关, 氧气供应充足则能量物质通过有氧代谢分解供能, 氧气供应不足则通过厌氧糖酵解获取能量^[15]。

收稿日期: 2021-03-13 修回日期: 2021-04-07

资助项目: 国家自然科学基金 (32002375); 广东省教育厅青年创新人才项目 (2020KQNCX029); 广东省基础与应用基础研究基金 (2020A1515410006)

第一作者: 李江涛 (照片), 从事虾类行为生理学研究, E-mail: lijiantao@zhku.edu.cn

通信作者: 林鑫, 从事水产健康养殖研究, E-mail: linli@zhku.edu.cn;

吕晓静, 从事水产健康养殖及农业资源学研究, E-mail: xjinglv@zhku.edu.cn



罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 又称马来西亚大虾、淡水长臂虾, 自 1976 年从日本引进中国大陆后, 因其个体大、生长快、易养殖、高蛋白、低脂肪等特点, 目前已成为我国重要的水产养殖品种^[16]。罗氏沼虾作为一类“运动型”虾类, 领域行为明显、好打斗, 弹跳活动明显, 虽然游泳频率较低, 但应激励迫下其游泳频率显著升高, 尤其是现阶段罗氏沼虾养殖大多采用高密度模式, 其运动活力会进一步增加^[17-18]。然而目前关于虾类运动行为学研究主要集中于斑节对虾 (*Penaeus monodon*)^[19]、日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*)^[20]、凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)^[21] 和中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*)^[22-23] 等。关于罗氏沼虾运动期间的行为和能量代谢研究报道相对较少, 尤其是运动强度发生变化时罗氏沼虾行为和能量代谢如何响应, 目前仍未得知。本研究重点针对罗氏沼虾的游泳和弹跳两类运动行为, 测量在不同强度游泳和弹跳后, 罗氏沼虾肌肉蛋白质、甘油三酯和糖原含量, 以及糖酵解、三羧酸循环和呼吸链关键酶活性变化, 并测量了罗氏沼虾在游泳和弹跳过程中游泳足和尾肢的摆动频率与摆动幅度, 以期丰富虾类运动行为学内容, 为罗氏沼虾养殖提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验对象

罗氏沼虾来自广东海兴农集团有限公司。随机挑选 100 尾罗氏沼虾, 放入室内循环水养殖系统暂养 1 周。暂养期间, 水温维持在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 溶解氧含量大于 6 mg/L , 光照周期为 14 h 光照: 10 h 黑暗。实验虾每天饱食投喂 2 次配合饲料。暂养结束后, 随机挑选 80 尾实验虾 [平均湿重 $(4.39 \pm 0.28)\text{ g}$, 平均体长 $(5.18 \pm 0.11)\text{ cm}$] 用于后续实验。

1.2 实验设计

游泳和弹跳实验装置参考 Li 等^[24] 的设计并进行了改进, 主体为长 $100\text{ cm} \times$ 宽 $30\text{ cm} \times$ 高 30 cm 的长方形玻璃水槽。实验水槽实际水深为 25 cm , 通过控制电机转速来调控水流速度。水流速度采用精密水位流速测定仪 (Starflow 6526, 澳大利亚)。水槽上方悬挂 1 只 22 W 日光灯, 以保证观察槽的光照条件一致。实验期间所有环境因子与暂养时期相同。

实验操作符合仲恺农业工程学院动物实验伦

理委员会制定的规章制度。实验开始前罗氏沼虾禁食 24 h 。已有研究显示, 200 min 游泳和 5 min 弹跳已对虾类的能量代谢产生影响, 此时的运动强度介于低强度和高强度之间^[24]。预实验结果显示, 罗氏沼虾持续游泳 200 min 而未疲劳的最大水流速度是 10 cm/s ; 罗氏沼虾持续弹跳 5 min 而未疲劳的最大触碰频率是 0.05 Hz (用手抄网每隔 20 s 触碰罗氏沼虾额角基部 1 次)。因此, 本研究以 10 cm/s 的水流速度和 0.05 Hz 触碰频率作为罗氏沼虾中等强度游泳水平和中等强度弹跳的触碰水平。

游泳实验设置对照、低、中、高 4 种游泳强度, 对应的水流速度分别为 0 、 5 、 10 和 15 cm/s 。游泳实验共使用 40 尾罗氏沼虾, 每种游泳强度分别包含 10 尾实验虾。正式实验前, 实验虾单尾放入水槽适应 15 min ^[18]。对照组实验虾在静水条件下自由运动, 低强度组和中强度组实验虾在对应的水流速度下持续游泳 200 min , 高强度组实验虾在 15 cm/s 水流速度下持续游泳直至疲劳。游泳疲劳判断以实验虾停止游泳并被水流冲到水槽下游拦网上, 用小抄网将实验虾移动到水槽上游 3 次也不重新游泳为标准^[20]。

弹跳实验期间, 水槽电机关闭, 保证水槽水体处于静止状态。实验虾单尾放入水槽并适应 15 min 。在特定的时间内用手抄网 (总长 25 cm , 网袋口径 10 cm , 手柄长 15 cm) 的手柄尾部以固定频率触碰罗氏沼虾额角基部促使其弹跳。触碰频率通过控制 2 次触碰的时间间隔来实现。对照组 (不触碰, 0 Hz)、低强度组 (间隔 30 s 触碰 1 次, 约 0.033 Hz)、中强度组 (间隔 20 s 触碰 1 次, 0.050 Hz)、高强度组 (间隔 15 s 触碰 1 次, 约 0.067 Hz)。对照组实验虾自由运动, 低强度组触碰 10 次 (5 min), 中强度组触碰 20 次 (5 min), 高强度组持续触碰直至疲劳。弹跳疲劳判定标准: 实验虾连续受 3 次触碰仍不产生弹跳行为^[23]。

1.3 行为观察

通过测量游泳足和尾肢最大摆动频率和最大摆动幅度来定量分析罗氏沼虾的运动行为。实验期间水槽一侧放置摄像机, 每个运动强度均拍摄 2 min 视频, 分析最大摆动频率和最大摆动幅度。

游泳足和尾肢的最大摆动频率 $= T / F$

式中, T 为视频时间 (120 s), F 为 2 min 内实验虾游泳足或尾肢的摆动次数。游泳足和尾肢的最大

摆动幅度 = A/BL , A 为游泳足或尾肢运动期间摆动的最大距离 (cm), BL 为实验虾体长 (cm)。游泳足或尾肢运动期间摆动的最大距离 (A) 的测量参考 Li 等^[24], 即通过 Photoshop 软件将 2 min 视频转换为二维图片, 测量图片中实验虾游泳足或尾肢前后摆动的最大距离。

1.4 肌肉取样和生化测量

游泳或弹跳结束后, 用手抄网迅速捞出实验虾, 快速掐除头部处死, 分离出实验虾游泳足肌肉和第三腹节肌肉 (腹部肌肉)。腹部肌肉取 0.1 g, 游泳足肌肉取单尾实验虾 5 对游泳足的全部肌肉。肌肉样品加入 3 倍体积缓冲液进行匀浆, 匀浆液于 4 °C 和 2 500 r/min 条件下离心 10 min, 取上清液用于生化分析。本研究测量的生化指标: 能量物质 (蛋白质、甘油三酯和糖原)、糖酵解酶 (己糖激酶 HK 和乳酸脱氢酶 LDH) 活性、有氧代谢酶 (丙酮酸脱氢酶 PDH、苹果酸脱氢酶 MDH 和脂肪酶 LIP) 活性以及乳酸含量。

游泳足肌肉和腹部肌肉的糖原、蛋白质、甘油三酯以及乳酸含量使用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定, 测量方法参考试剂盒说明书。糖原、蛋白质、甘油三酯和乳酸测量过程中的吸光度分别为 620、595、540 和 530 nm。

游泳足肌肉和腹部肌肉中的 HK、LDH、MDH 和 LIP 活性测量试剂盒购自南京建成生物工程研究所。游泳足肌肉和腹部肌肉中的 PDH 活性使用北京索莱宝科技有限公司生产的试剂盒测定。HK 和 MDH 活性测量的吸光度均为 340 nm。LDH、PDH 和 LIP 活性测量的吸光度分别为 450、605

和 570 nm。

1.5 数据分析

数据为平均值±标准误 (mean±SE, $n=10$)。罗氏沼虾的行为和生化差异采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 若差异显著 ($P<0.05$), 则进一步采用最小显著差异法 (Least significant difference, LSD) 对不同运动强度进行两两对比。相关性分析采用曲线估计中的线性拟合, 检验方法为方差分析 (ANOVA)。所有统计分析均通过 SPSS 19.0 软件完成。

2 结果

2.1 游泳和弹跳行为

罗氏沼虾不同运动强度下的游泳和弹跳行为结果见表 1。游泳期间, 罗氏沼虾游泳足最大摆动频率随游泳强度增加而显著增加 ($y=0.219\ 8x+0.690\ 4$, $R=0.949$, $P<0.05$)。低、中、高强度组之间的游泳足最大摆动幅度无显著差异 ($P>0.05$), 但均显著高于对照组 ($P<0.05$)。与游泳行为相似, 罗氏沼虾弹跳期间, 尾肢最大摆动频率随弹跳强度增加而显著增加 ($y=0.949\ 8x+0.972\ 6$, $R=0.986$, $P<0.05$)。低、中、高强度组之间的尾肢最大摆动幅度无显著差异 ($P>0.05$), 但均显著高于对照组 ($P<0.05$)。

2.2 能量物质

不同运动强度后, 罗氏沼虾游泳足肌肉和腹部肌肉中的能量物质含量结果见表 2。无论游泳或弹跳, 不同运动强度之间肌肉蛋白质含量均无

表 1 罗氏沼虾不同运动强度下游泳和弹跳行为

Tab. 1 Swimming and tail-flipping behaviour during locomotion at different intensities in <i>M. rosenbergii</i>						
运动行为 locomotor behaviour	对照 control	低强度 low intensity	中强度 medium intensity	高强度 high intensity	F值 F value	P值 P value
游泳足(游泳) pleopods (swimming)						
最大摆动频率/Hz maximum beat frequency	0.83±0.11 ^d	1.61±0.07 ^c	2.84±0.19 ^b	4.08±0.13 ^a	120.719	<0.001
最大摆动幅度/(%/BL) maximum beat amplitude	6.90±0.26 ^b	12.84±0.13 ^a	12.76±0.18 ^a	12.96±0.17 ^a	246.720	<0.001
尾肢(弹跳) uropods (tail-flipping)						
最大摆动频率/Hz maximum beat frequency	0.001±0.001 ^d	0.032±0.001 ^c	0.045±0.004 ^b	0.056±0.002 ^a	170.002	<0.001
最大摆动幅度/(%/BL) maximum beat amplitude	1.78±0.55 ^b	69.30±3.13 ^a	68.19±2.88 ^a	70.73±1.61 ^a	217.59	<0.001

注: 同行不同字母表示差异显著 ($P<0.05$), 下同; BL. 体长。
Notes: different letters in same line indicate significant differences ($P<0.05$), the same below; BL. body length.

表 2 不同强度运动后罗氏沼虾游泳足肌肉和腹部肌肉中的能量物质含量

Tab. 2 Energy substances of pleopod and abdominal muscles after locomotion at different intensities in <i>M. rosenbergii</i>						
运动行为 locomotor behaviour	对照 control	低强度 low intensity	中强度 medium intensity	高强度 high intensity	F值 F value	P值 P value
游泳足肌肉(游泳) pleopods muscles (swimming)						
蛋白质/(g/L) protein	0.90±0.03	0.97±0.06	0.94±0.04	0.87±0.06	0.722	0.546
甘油三酯/(mmol/g prot) triglycerides	0.94±0.04 ^a	0.73±0.04 ^b	0.89±0.05 ^a	0.91±0.05 ^a	4.582	0.008
糖原/(mg/g 湿重) glycogen	1.32±0.05 ^a	1.19±0.06 ^b	0.96±0.05 ^c	0.70±0.03 ^d	31.843	<0.001
腹部肌肉(弹跳) abdominal muscles (tail-flipping)						
蛋白质/(g/L) protein	1.00±0.05	0.98±0.09	1.06±0.07	1.09±0.07	0.495	0.688
甘油三酯/(mmol/g prot) triglycerides	0.82±0.04	0.91±0.06	0.85±0.06	0.91±0.08	0.534	0.662
糖原/(mg/g wet mass) glycogen	1.14±0.03 ^a	0.90±0.05 ^b	0.78±0.04 ^c	0.59±0.04 ^d	29.506	<0.001

显著差异 ($P>0.05$)。

游泳运动结束后, 对照组、中、高强度组游泳足肌肉甘油三酯含量无显著差异 ($P>0.05$), 但均显著高于低强度组 ($P<0.05$)。游泳足肌肉糖原含量随游泳强度增加而显著下降 ($P<0.05$)。弹跳运动结束后, 不同弹跳强度之间腹部肌肉甘油三酯含量均无显著差异 ($P>0.05$), 但腹部肌肉糖原含量则随弹跳强度增加而显著下降 ($P<0.05$)。

2.3 糖脂代谢酶活性及乳酸含量

游泳运动 游泳运动后, 罗氏沼虾游泳足肌肉 HK 结果显示, 低强度组显著高于对照组 ($P<0.05$), 但是中、高强度组均显著小于对照组 ($P<0.05$)。高强度组游泳足肌肉 HK 活性显著小于中强度组 ($P<0.05$) (表 3)。

游泳足肌肉 LDH 结果显示, 低强度组与对照组间无显著差异 ($P>0.05$)。随着运动强度增加, 中、高强度组的游泳足肌肉 LDH 活性均显著大于对照组和低强度组 ($P<0.05$), 且高强度组游泳足肌肉 LDH 活性显著高于中强度组 ($P<0.05$)。

游泳足肌肉 PDH、MDH 和 LIP 展现出相似

的规律: 对照组、中、高强度组之间并无显著差异 ($P>0.05$), 但均显著小于低强度组 ($P<0.05$)。

游泳足肌肉乳酸结果显示, 对照组和低强度组无显著差异 ($P>0.05$), 但均显著小于中强度组和高强度组 ($P<0.05$)。高强度组乳酸含量显著高于中强度组 ($P<0.05$)。

弹跳运动 弹跳运动后罗氏沼虾腹部肌肉糖脂代谢酶活性及乳酸含量结果见表 4。腹部肌肉 HK 活性随弹跳强度增加显著下降 ($P<0.05$)。与之相反, 腹部肌肉 LDH 活性则随弹跳强度增加而显著上升 ($P<0.05$)。

腹部肌肉 PDH、MDH 和 LIP 活性展现出相似的规律, 不同弹跳强度之间无显著差异 ($P>0.05$)。

腹部肌肉乳酸结果显示, 随着弹跳强度增加, 腹部肌肉乳酸含量显著上升 ($P<0.05$), 中强度组乳酸含量接近对照组的 2 倍 ($P<0.05$), 高强度组乳酸含量显著高于中强度组 ($P<0.05$)。

2.4 运动行为与能量代谢关系

游泳运动 当游泳强度从对照水平增加至低强度水平时, 游泳足肌肉糖原含量随游泳强度

表 3 不同运动强度下罗氏沼虾游泳足肌肉糖脂代谢酶活性及乳酸含量

Tab. 3 Enzymes activities and lactate contents of pleopod muscles after different intensities of locomotion in <i>M. rosenbergii</i>						
产物 contents	对照 control	低强度 low intensity	中强度 medium intensity	高强度 high intensity	F值 F value	P值 P value
己糖激酶 HK	60.37±3.80 ^b	78.43±2.96 ^a	47.11±3.57 ^c	33.63±1.86 ^d	37.141	<0.001
乳酸脱氢酶 LDH	136.23±8.25 ^c	129.67±6.68 ^c	187.11±12.44 ^b	264.36±14.20 ^a	33.007	<0.001
丙酮酸脱氢酶 PDH	218.28±15.82 ^b	278.45±15.03 ^a	237.03±11.19 ^b	230.82±13.23 ^b	3.500	0.025
苹果酸脱氢酶 MDH	408.58±34.09 ^b	549.96±25.40 ^a	440.09±23.97 ^b	414.60±20.57 ^b	6.159	0.002
脂肪酶 LIP	5.29±0.67 ^b	8.54±0.55 ^a	5.91±0.75 ^b	6.05±1.03 ^b	3.446	0.027
乳酸含量 lactate	0.073±0.008 ^c	0.083±0.009 ^c	0.114±0.010 ^b	0.188±0.012 ^a	27.050	<0.001

表 4 不同强度运动后罗氏沼虾腹部肌肉糖脂代谢酶活及乳酸含量
Tab. 4 Enzymes activities and lactate contents of abdominal muscles after different intensities of locomotion in *M. rosenbergii*

产物 contents	对照 control	低强度 low intensity	中强度 medium intensity	高强度 high intensity	F值 F value	P值 P value
己糖激酶 HK	73.53±2.96 ^a	60.52±3.83 ^b	45.74±3.78 ^c	29.91±4.02 ^d	26.296	<0.001
乳酸脱氢酶 LDH	143.20±7.86 ^d	172.40±8.07 ^c	212.02±10.08 ^b	263.28±10.65 ^a	31.638	<0.001
丙酮酸脱氢酶 PDH	181.76±13.74	195.51±18.23	176.32±24.29	182.58±20.29	0.174	0.914
苹果酸脱氢酶 MDH	512.84±28.27	530.15±33.39	549.37±23.66	492.54±34.43	0.643	0.592
脂肪酶 LIP	9.39±0.86	8.58±0.96	8.87±1.48	9.44±0.79	0.157	0.925
乳酸含量 lactate	0.089±0.005 ^d	0.117±0.007 ^c	0.141±0.008 ^b	0.205±0.011 ^a	38.477	<0.001

增加而下降 (图 1-a)。游泳足肌肉 HK、PDH 和 MDH 活性与游泳足最大摆动频率呈显著线性正相关 (图 1-b, e, f)。游泳足肌肉甘油三酯含量与游泳足最大摆动频率呈显著线性负相关 (图 2-a)，而游泳足肌肉 LIP 活性则与游泳足最大摆动频率呈显著线性正相关 (图 2-b)。

当游泳强度从对照水平增加至中强度水平时，游泳足肌肉糖原含量和 HK 活性与游泳足最大摆动频率呈显著线性负相关 (图 1-a, b)。与之相反，游泳足肌肉 LDH 活性和乳酸含量与游泳足最大摆动频率呈显著线性正相关 (图 1-c, d)。

当游泳强度从对照水平增加至高强度水平时，游泳足肌肉糖原含量和 HK 活性随游泳强度增加而下降 (图 1-a, b)。游泳足肌肉 LDH 活性则随游泳强度增加而上升 (图 1-c)。与之类似，游泳足肌肉乳酸含量同样随着游泳强度增加而上升 (图 1-d)。

弹跳运动 弹跳强度从对照水平增加至低、中、高水平时，腹部肌肉糖原含量与尾肢最大摆动频率呈显著负相关 (图 3-a)。与之相似，腹部肌肉 HK 活性同样与尾肢最大摆动频率呈显著负相关 (图 3-b)。腹部肌肉 LDH 活性和乳酸含量表现出相似的规律，二者均与尾肢最大摆动频率呈显著正相关 (图 3-c~d)。

2.5 肌肉乳酸与糖酵解酶活性之间的关系

游泳运动后，罗氏沼虾游泳足肌肉 HK 活性与游泳足肌肉乳酸含量呈显著线性负相关 (图 4-a)；与之相反，游泳足肌肉 LDH 活性则与游泳足肌肉乳酸含量呈显著线性正相关 (图 4-b)。弹跳运动后罗氏沼虾腹部肌肉 HK 活性与腹部肌肉乳酸含量呈显著线性负相关 (图 4-c)，而腹部肌肉 LDH 活性则与腹部肌肉乳酸含量呈显著线性正相关 (图 4-d)。

3 讨论

3.1 游泳和弹跳行为

鱼鳍的最大摆动频率和最大摆动幅度可以用来定量分析鱼类的运动行为，相关研究已有大量报道^[25-28]。已有研究证实，虾类主要通过增加游泳足和尾肢的摆动频率来提高运动强度，运动强度变化通常与摆动幅度无关。Li 等^[24]研究发现，中国明对虾的运动强度与游泳足和尾肢摆动频率呈显著线性正相关，与摆动幅度并无显著关系。类似的研究在凡纳滨对虾中也有报道^[14]。在本研究中，罗氏沼虾各运动组游泳足和尾肢的最大摆动频率与运动强度呈显著线性正相关，与中国明对虾^[24]和凡纳滨对虾^[14]的研究结果一致，再次证实虾类主要通过增加游泳足和尾肢的摆动频率来提高运动强度。

3.2 游泳和弹跳行为与能量来源的关系

虽然动物能够分解多种能量物质来获取能量，但大部分能量主要源自蛋白质、脂肪和糖类^[29-31]。不同水生动物对蛋白质、脂肪和糖类的利用顺序有所不同，相关研究主要集中在鱼类。通常来说，鱼类在运动过程中主要依靠蛋白质和脂肪获取能量，对糖类利用相对较少^[32-34]；然而，少数鱼类在运动过程中优先利用糖类获取能量^[35-37]。

虾类运动过程中的能量来源与大多数鱼类有所不同。研究显示，虾类运动能量来源主要是糖原和甘油三酯，对蛋白质的利用相对较少。例如日本囊对虾在游泳和弹跳过程中主要消耗糖类以获取能量^[38]；凡纳滨对虾弹跳过程中主要消耗糖原以获取能量，游泳过程中主要利用糖原和甘油三酯来获取能量^[14]；中国明对虾游泳和弹跳过程中对蛋白质利用相对较少^[24]。在本研究中，无论

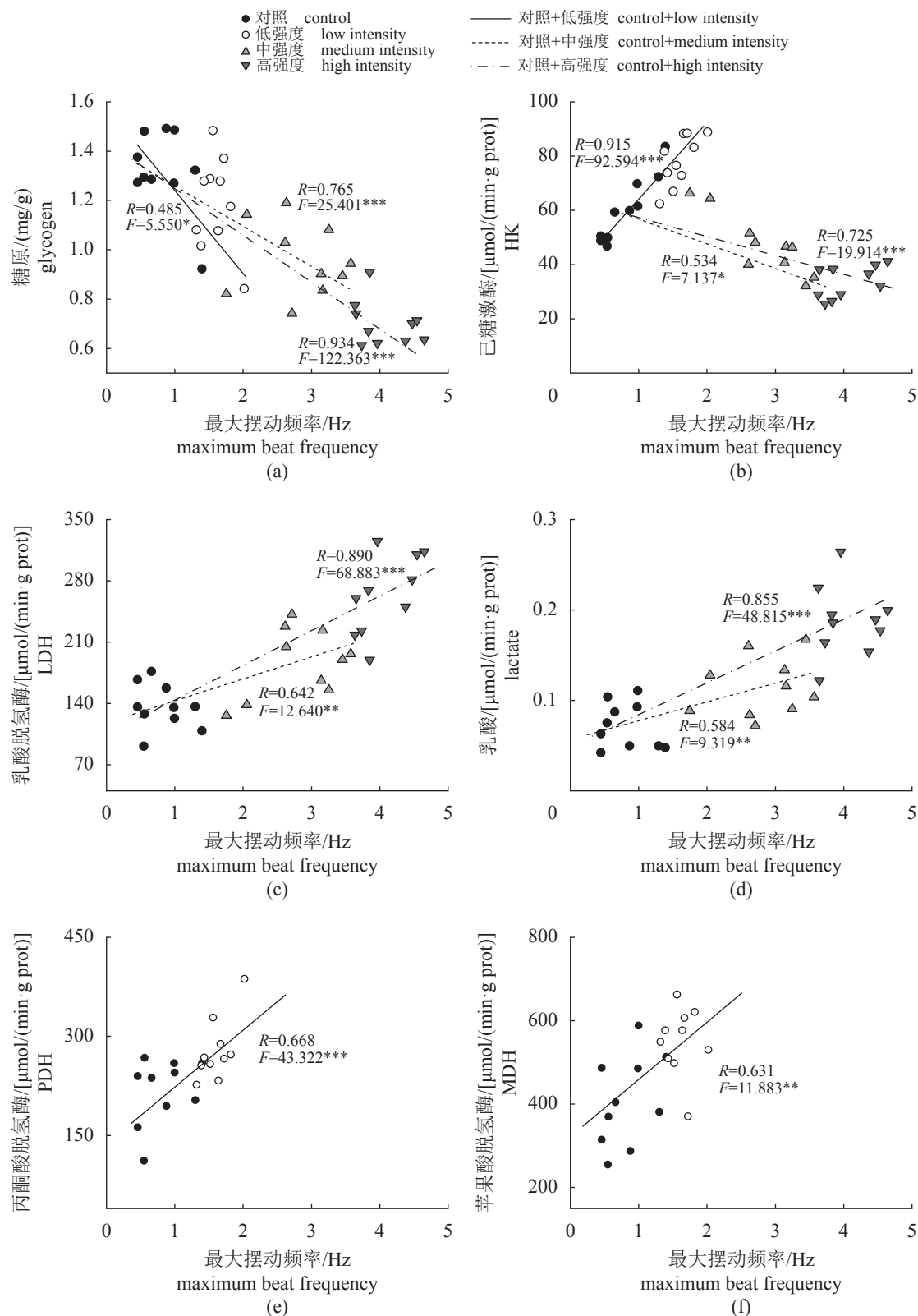


图1 罗氏沼虾游泳过程中游泳足肌肉糖代谢与游泳足摆动频率的关系

Fig. 1 Relationship between carbohydrate metabolism of pleopods muscles and maximum beat frequency of pleopods during swimming in *M. rosenbergii**. $P<0.05$, **. $P<0.01$, ***. $P<0.001$, the same below.

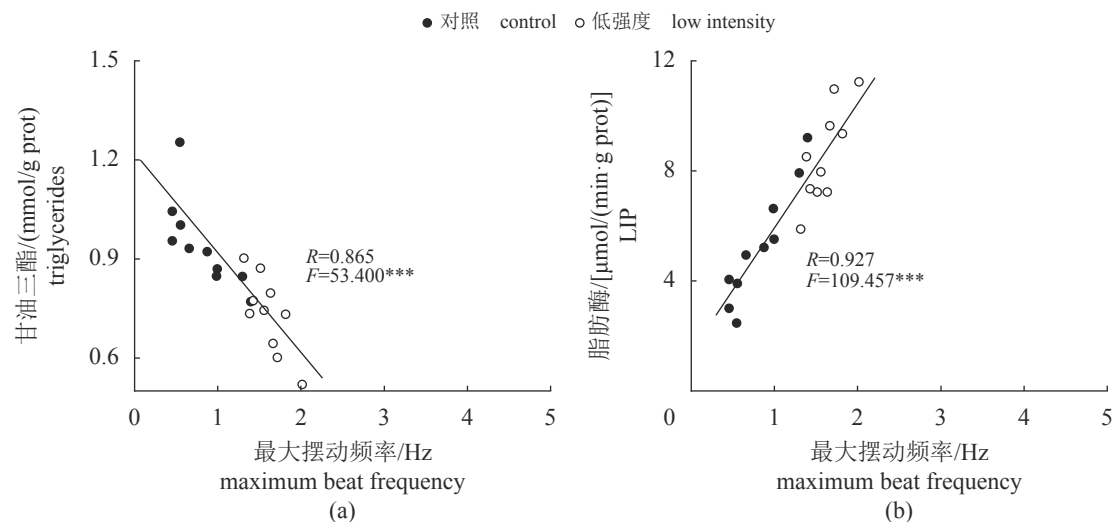


图2 罗氏沼虾游泳过程中游泳足肌肉脂肪代谢与游泳足摆动频率的关系

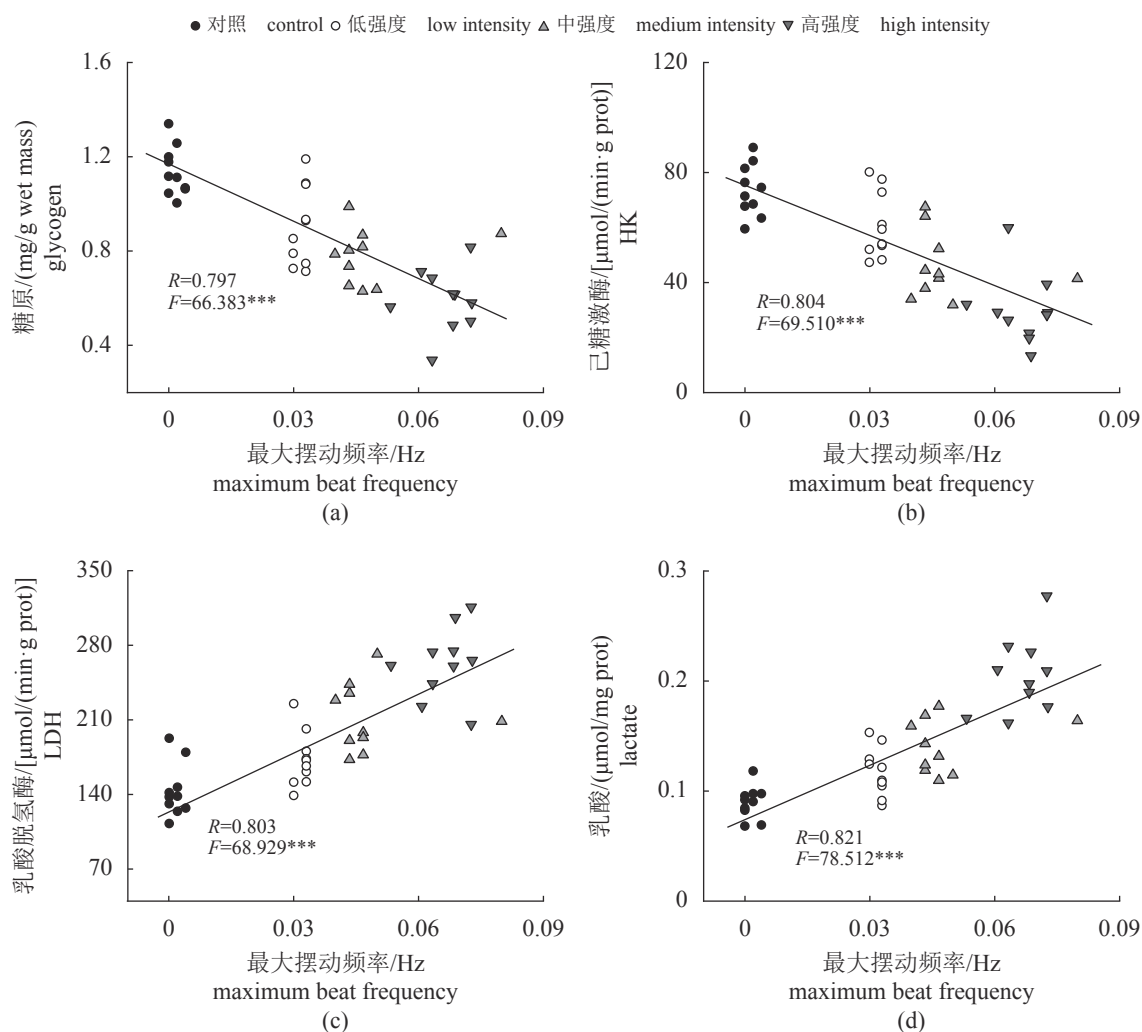
Fig. 2 Relationship between lipid metabolism of pleopods muscles and maximum beat frequency of pleopods during swimming in *M. rosenbergii*

图3 罗氏沼虾弹跳过程中腹部肌肉能量代谢与尾肢摆动频率的关系

Fig. 3 Relationship between energy metabolism of abdominal muscles and maximum beat frequency of uropods during tail-flipping in *M. rosenbergii*

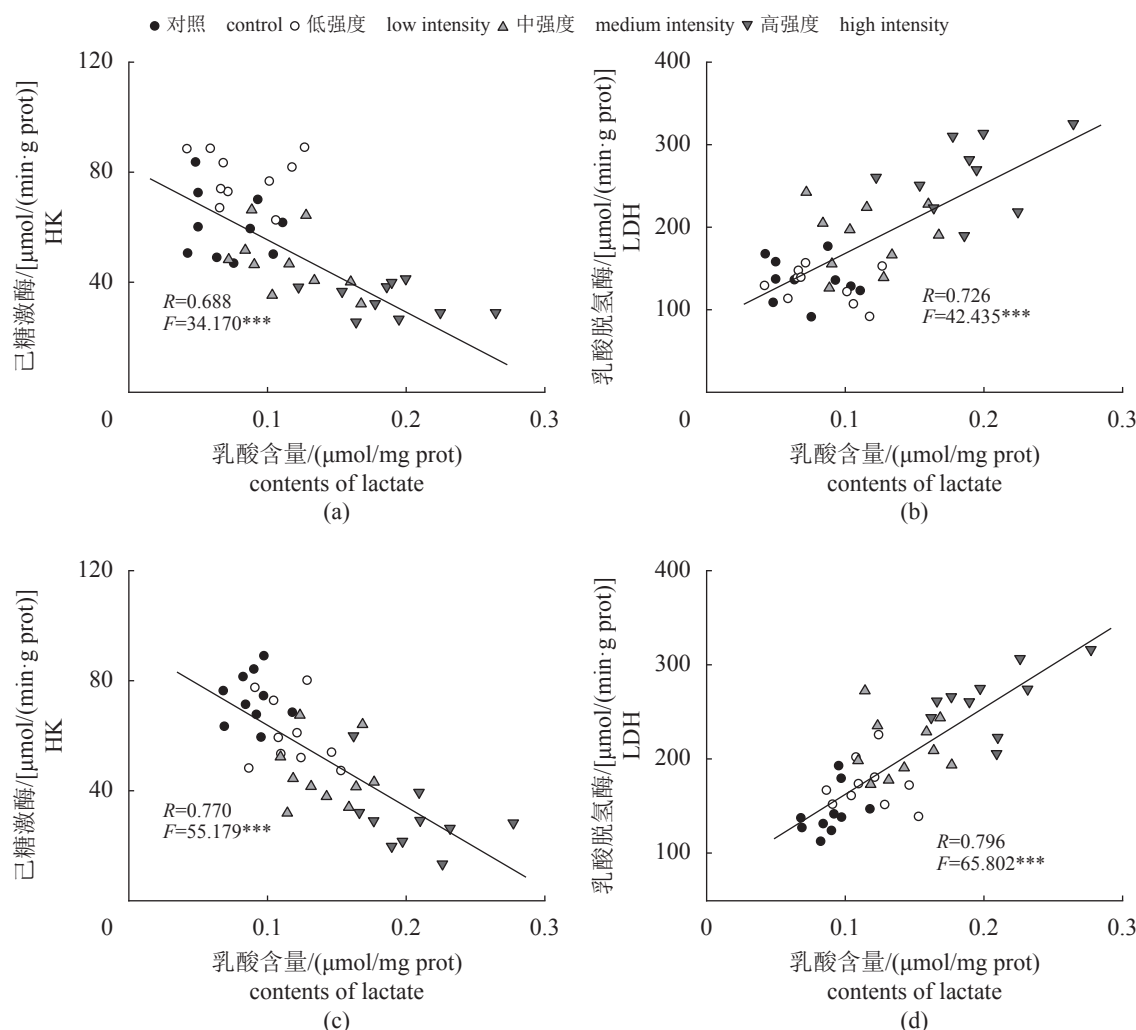


图4 罗氏沼虾糖酵解酶活性与肌肉乳酸含量的关系

(a) (b) 游泳足肌肉, (c) (d) 腹部肌肉。

Fig. 4 Relationship between enzymes activities of glycolysis and lactate contents in *M. rosenbergii*

(a) (b) pleopods muscles, (c) (d) abdominal muscles.

游泳或弹跳, 各运动组肌肉蛋白质含量与对照组均无显著差异, 表明罗氏沼虾运动过程中蛋白质能量供应相对较少, 能量主要来自糖原和甘油三酯。此外, 本研究发现罗氏沼虾游泳足和尾肢的摆动频率与肌肉糖原含量呈显著负相关, 表明肌糖原分解产生的能量主要用于游泳过程的游泳足摆动和弹跳过程的尾肢摆动。游泳足摆动频率和尾肢摆动频率随运动强度增加而增加, 意味着罗氏沼虾需要消耗更多的能量, 因此运动过程中肌糖原含量随运动强度增加而下降。

已有研究显示, 虾类在游泳期间对糖类和甘油三酯的利用顺序有所不同。Li 等^[24]研究发现, 当水流速度为 3 cm/s 时, 中国明对虾主要依靠游泳足肌肉甘油三酯分解供能; 当水流速度超过

3 cm/s 时, 游泳足肌肉糖原开始成为能量供应的主要物质。造成这种现象的原因主要与氧气供应有关。相比糖原, 甘油三酯热值更高, 完全氧化分解后释放能量更多^[39]。低速游泳时氧气供应充足, 因此虾类优先利用甘油三酯获取能量。游泳强度增加后, 氧气消耗剧增, 氧气可能成为限制性因子。相比脂肪, 产生相同分子 ATP 时糖原消耗更少的氧气^[36], 因此运动强度增加后, 虾类的主要能量来源由甘油三酯转为糖原。然而, 本研究却发现罗氏沼虾低强度游泳 (5 cm/s) 时主要消耗甘油三酯和糖原, 与中国明对虾研究结果有所不同^[24]。除了游泳强度差别以外, 造成上述现象的原因可能与两种虾类的洄游习性及生理特征有关。虾类洄游期间游泳速度相对较慢^[40], 甘油三

酯较高的热值使其更适合作为虾类洄游期间的能量来源, 因此中国明对虾在低速游泳时主要消耗肌肉中的甘油三酯。本研究中, 罗氏沼虾在正常情况下, 游泳足肌肉糖原含量为 1.32 mg/g, 高于中国明对虾的游泳足肌肉糖原含量 (0.86 mg/g)^[24]。罗氏沼虾游泳足肌肉储存较多的糖原则会减少对甘油三酯的消耗, 有利于其在洄游期间将甘油三酯分配于其他生命活动。这种能量代谢特征是罗氏沼虾长期进化过程中产生的一种适应策略, 从而保证罗氏沼虾洄游期间仍有充足的能量供应。

3.3 游泳和弹跳行为与代谢酶活性之间的关系

虾类高强度游泳主要依靠厌氧代谢获取能量, 已在日本囊对虾^[20, 38]和凡纳滨对虾^[41]中进行了相关研究。本研究中罗氏沼虾高强度组游泳足肌肉 LDH 活性和乳酸含量均显著高于对照组, 再次证明了虾类高速游泳时主要依靠厌氧代谢获取能量。此外, 本研究发现低强度组罗氏沼虾游泳足肌肉 PDH、MDH 和 LIP 活性均显著高于其他运动组, 表明罗氏沼虾在低速游泳过程中通过有氧代谢获取能量。低强度游泳时, 游泳足肌肉 PDH、MDH 和 LIP 活性均与游泳足最大摆动频率呈显著正相关, 表明有氧代谢的发生可能与游泳足摆动频率较低有关。相比厌氧代谢, 有氧代谢可提供更多能量, 但是需要充足的氧气供应^[42]。游泳足在低速摆动时需要相对较少的氧气, 因此罗氏沼虾低速游泳时主要通过有氧代谢以获取更多能量。

弹跳作为虾类一种剧烈的运动行为, 首先消耗体内储存的 ATP, 其次依靠磷酸肌酸分解和糖酵解供能^[43]。由于肌肉 ATP 和磷酸肌酸储存量较少, 虾类弹跳主要依靠厌氧糖酵解提供能量^[14, 24]。本研究发现, 无论弹跳强度高, 罗氏沼虾腹部肌肉 LDH 活性和乳酸含量均显著高于对照组, 再次证实虾类弹跳期间主要依靠厌氧代谢获取能量。原因可能与弹跳期间罗氏沼虾尾肢摆动幅度有关。本研究发现, 弹跳期间罗氏沼虾尾肢最大摆动幅度增加了将近 38 倍。弹跳期间大幅度增加的尾肢摆动需要在短时间内消耗大量能量, 厌氧代谢具有相对更快的能量供应速率^[44], 因此罗氏沼虾弹跳期间通过厌氧代谢获取能量。

肌肉乳酸含量升高能够降低血淋巴 pH, 从而抑制糖酵解酶活性^[43]。本研究中罗氏沼虾肌肉 HK 活性与乳酸含量呈显著负相关, 进一步证实了肌肉乳酸含量能够抑制肌肉糖酵解酶活性。糖

酵解酶活性下降导致运动期间能量供应减少, 进而使运动产生疲劳, 相关研究在鱼类^[45]和虾类^[21]中均有报道。Li 等^[24]研究发现, 中国明对虾肌肉乳酸含量达到对照水平 2 倍时并未产生运动疲劳, 造成运动疲劳的肌肉乳酸临界值是对照水平的 3 倍。类似的研究在鱼类也有报道。例如小口黑鲈 (*Micropterus dolomieu*) 达到运动疲劳时, 肌肉乳酸含量上升了 3 倍^[46]。然而, 本研究中罗氏沼虾产生运动疲劳时游泳足肌肉和腹部肌肉乳酸含量并未达到对照水平的 3 倍, 表明相对较低的肌肉乳酸即可导致罗氏沼虾产生运动疲劳。这可能是罗氏沼虾在长期进化过程中形成的一种适应策略。乳酸是厌氧糖酵解的副产物^[47], 乳酸过量蓄积不仅致使肌肉糖酵解酶活性处于较低水平, 还会损伤动物的器官组织^[48]。罗氏沼虾通过尽快达到运动疲劳来避免肌肉乳酸过量蓄积, 这种行为和生理特征有助于其在运动疲劳后仍保持一定的厌氧糖酵解能力。

本研究分析了罗氏沼虾在不同运动强度下的行为、能量来源和相关代谢酶活性。研究结果有助于了解罗氏沼虾在觅食、洄游、攻击和躲避敌害等运动相关生命活动时的行为和生理特征。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Oufiero C E, Garland Jr T. Repeatability and correlation of swimming performances and size over varying time - scales in the guppy (*Poecilia reticulata*)[J]. *Functional Ecology*, 2009, 23(5): 969-978.
- [2] 李江涛, 林小涛, 周晨辉, 等. 饥饿对食蚊鱼和唐鱼幼鱼能量物质消耗及游泳能力的影响[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(1): 282-290.
Li J T, Lin X T, Zhou C H, et al. Effects of starvation on the consumption of energy sources and swimming performance in juvenile *Gambusia affinis* and *Tanichthys albonubes*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(1): 282-290 (in Chinese).
- [3] 李江涛, 林小涛, 周晨辉, 等. 实验室条件下唐鱼两性异形及其与游泳能力关系[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(5): 1639-1646.
Li J T, Lin X T, Zhou C H, et al. Sexual dimorphism and its relationship with swimming performance in *Tanichthys albonubes* under laboratory conditions[J]. *Chinese*

- Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(5): 1639-1646 (in Chinese).
- [4] Kieffer J D. Perspective—exercise in fish: 50+ years and going strong[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2010, 156(2): 163-168.
- [5] Palstra A P, Planas J V. Fish under exercise[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2011, 37(2): 259-272.
- [6] Li J T, Li W T, Zhang X M. Effects of dissolved oxygen, starvation, temperature, and salinity on the locomotive ability of juvenile Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*[J]. *Ethology Ecology & Evolution*, 2019, 31(2): 155-172.
- [7] Peterson R H, Harmon P. Swimming ability of pre-feeding striped bass larvae[J]. *Aquaculture International*, 2001, 9(5): 361-366.
- [8] Yanase K, Eayrs S, Arimoto T. Influence of water temperature and fish length on the maximum swimming speed of sand flathead, *Platycephalus bassensis*: Implications for trawl selectivity[J]. *Fisheries Research*, 2007, 84(2): 180-188.
- [9] Wells R M G, Lu J, Hickey A J R, *et al.* Ontogenetic changes in enzyme activities associated with energy production in the spiny lobster, *Jasus edwardsii*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 130(3): 339-347.
- [10] Zhang P D, Zhang X M, Li J, *et al.* The effects of temperature and salinity on the swimming ability of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2007, 147(1): 64-69.
- [11] Yu X M, Zhang X M, Duan Y, *et al.* Effects of temperature, salinity, body length, and starvation on the critical swimming speed of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2010, 157(4): 392-397.
- [12] Robles-Romo A, Zenteno-Savín T, Racotta I S. Bioenergetic status and oxidative stress during escape response until exhaustion in whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2016, 478: 16-23.
- [13] Villamar D F, Brusca G J. Variation in the larval development of *Crangon nigricauda* (Decapoda: Caridea), with notes on larval morphology and behavior[J]. *Journal of Crustacean Biology*, 1988, 8(3): 410-419.
- [14] Li J T, Li W T, Zhang X M, *et al.* Physiological and behavioral responses of different modes of locomotion in the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) (Caridea: Penaeidae)[J]. *Journal of Crustacean Biology*, 2018, 38(1): 79-90.
- [15] Hagerman L, Vismann B. Anaerobic metabolism in the shrimp *Crangon crangon* exposed to hypoxia, anoxia and hydrogen sulfide[J]. *Marine Biology*, 1995, 123(2): 235-240.
- [16] 何竺柳, 王如鹁, Victor H, 等. 低盐度胁迫对罗氏沼虾行为的影响[J]. *浙江海洋大学学报(自然科学版)*, 2018, 37(1): 20-24.
- He Z L, Wang R Y, Victor H, *et al.* Effect of low salinity stress on the behavior of *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science Edition)*, 2018, 37(1): 20-24 (in Chinese).
- [17] Karplus I, Harpaz S. Preliminary observations on behavioral interactions and distribution patterns of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* under semi-natural conditions (Decapoda, Caridea)[J]. *Crustaceana*, 1990, 59(2): 193-203.
- [18] 于赫男. 环境胁迫对罗氏沼虾和凡纳滨对虾行为、生长及生理活动的影响 [D]. 广州: 暨南大学, 2007.
- Yu H N. Effects of environmental stress on behavior, growth and physiological activity of *Macrobrachium rosenbergii* and *Litopenaeus vannamei*[D]. Guangzhou: Jinan University, 2007 (in Chinese).
- [19] 陈梓聪, 陈丕茂, 袁华荣, 等. 恢复时间对力竭训练后的斑节对虾幼虾的抗氧化功能的影响[J]. *渔业科学进展*, 2020, 41(6): 58-65.
- Chen Z C, Chen P M, Yuan H R, *et al.* Effect of recovery time on antioxidant capacity of juvenile *Penaeus monodon* after exhaustive exercise[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(6): 58-65 (in Chinese).
- [20] Yu X M, Zhang X M, Zhang P D, *et al.* Critical swimming speed, tail-flip speed and physiological response to exercise fatigue in kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2009, 153(2): 120-124.
- [21] Duan Y, Zhang X M, Liu X X, *et al.* Effect of dissolved oxygen on swimming ability and physiological response

- to swimming fatigue of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. *Journal of Ocean University of China*, 2014, 13(1): 132-140.
- [22] Li J T, Xu X M, Li W T, *et al.* Effects of acute and chronic hypoxia on the locomotion and enzyme of energy metabolism in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*[J]. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 2018, 51(5): 275-291.
- [23] Li J T, Xu X M, Li W T, *et al.* Linking energy metabolism and locomotor variation to osmoregulation in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2019, 234: 58-67.
- [24] Li J T, Xu X W, Li W T, *et al.* Behavioural and physiological responses to low-and high-intensity locomotion in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*[J]. *Journal of Comparative Physiology A*, 2019, 205(1): 87-102.
- [25] Fu C, Cao Z D, Fu S J. The effects of caudal fin loss and regeneration on the swimming performance of three cyprinid fish species with different swimming capacities[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2013, 216(16): 3164-3174.
- [26] Behbahani S B, Tan X B. Design and modeling of flexible passive rowing joint for robotic fish pectoral fins[J]. *IEEE Transactions on Robotics*, 2016, 32(5): 1119-1132.
- [27] McClellan A D, Pale T, Messina J A, *et al.* Similarities and differences for swimming in larval and adult lampreys[J]. *Physiological and Biochemical Zoology*, 2016, 89(4): 294-312.
- [28] Nguyen P L, Jackson Z J, Peterson D L. Comparison of fin ray sampling methods on white sturgeon *Acipenser transmontanus* growth and swimming performance[J]. *Journal of Fish Biology*, 2016, 88(2): 655-667.
- [29] Lauff R F, Wood C M. Effects of training on respiratory gas exchange, nitrogenous waste excretion, and fuel usage during aerobic swimming in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1997, 54(3): 566-571.
- [30] Kieffer J D, Alsop D, Wood C M. A respirometric analysis of fuel use during aerobic swimming at different temperatures in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Journal of Experimental Biology*, 1998, 201(22): 3123-3133.
- [31] Weber J M. Metabolic fuels: regulating fluxes to select mix[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2011, 214(2): 286-294.
- [32] Walton M J, Cowey C B. Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry*, 1982, 73(1): 59-79.
- [33] Van Waarde A. Aerobic and anaerobic ammonia production by fish[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry*, 1983, 74(4): 675-684.
- [34] Felip O, Ibarz A, Fernández-Borràs J, *et al.* Tracing metabolic routes of dietary carbohydrate and protein in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using stable isotopes (^{13}C starch and ^{15}N protein): effects of gelatinisation of starches and sustained swimming[J]. *British Journal of Nutrition*, 2012, 107(6): 834-844.
- [35] Felip O, Blasco J, Ibarz A, *et al.* Beneficial effects of sustained activity on the use of dietary protein and carbohydrate traced with stable isotopes ^{15}N and ^{13}C in gilt-head sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2013, 183(2): 223-234.
- [36] Li D, Wei X L, Lin X T, *et al.* Effects of exercise training on carbohydrate and lipid catabolism in the swimming muscles of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2015, 99(5): 893-898.
- [37] Zhu Z M, Song B L, Lin X T, *et al.* Effect of sustained training on glycolysis and fatty acids oxidation in swimming muscles and liver in juvenile tinfoil barb *Barbonymus schwanenfeldii* (Bleeker, 1854)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2016, 42(6): 1807-1817.
- [38] Yu X M, Zhang X M, Zhang P D, *et al.* Swimming ability and physiological response to swimming fatigue in kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2009, 8(7): 1316-1321.
- [39] Livesey G, Elia M. Estimation of energy expenditure, net carbohydrate utilization, and net fat oxidation and synthesis by indirect calorimetry: evaluation of errors with special reference to the detailed composition of fuels[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1988, 47(4): 608-628.
- [40] Foulds J B, Roff J C. Oxygen consumption during simulated vertical migration in *Mysis relicta* (Crustacea,

- Mysidacea)[J]. *Canadian Journal of Zoology*, 1976, 54(3): 377-385.
- [41] Zhang P D, Zhang X M, Li J, *et al.* Swimming ability and physiological response to swimming fatigue in whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2006, 145(1): 26-32.
- [42] Childress J J, Seibel B A. Life at stable low oxygen levels: adaptations of animals to oceanic oxygen minimum layers[J]. *Journal of Experimental Biology*, 1998, 201(8): 1223-1232.
- [43] Baldwin J, Gupta A, Iglesias X. Scaling of anaerobic energy metabolism during tail flipping behaviour in the freshwater crayfish, *Cherax destructor*[J]. *Marine and Freshwater Research*, 1999, 50(2): 183-187.
- [44] Lage L P A, Plagnes-Juan E, Putrino S M, *et al.* Ontogenesis of metabolic gene expression in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*): new molecular tools for programming in the future[J]. *Aquaculture*, 2017, 479: 142-149.
- [45] Hammer C. Fatigue and exercise tests with fish[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology*, 1995, 112(1): 1-20.
- [46] Peake S J, Farrell A P. Fatigue is a behavioural response in respirometer - confined smallmouth bass[J]. *Journal of Fish Biology*, 2006, 68(6): 1742-1755.
- [47] Brizel D M, Schroeder T, Scher R L, *et al.* Elevated tumor lactate concentrations predict for an increased risk of metastases in head-and-neck cancer[J]. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 2001, 51(2): 349-353.
- [48] Zenteno-Savín T, Saldierna R, Ahuejote-Sandoval M. Superoxide radical production in response to environmental hypoxia in cultured shrimp[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2006, 142(3-4): 301-308.

Effects of locomotor intensities on the locomotor behavior and energy metabolism of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*

LI Jiangtao, QIU Xiaolong, HUANG Feifei, QIU Xiaotong, FANG Junchao,
LIANG Rishen, LI Qingqing, LIN Li*, LÜ Xiaojing*

(Guangzhou Key Laboratory of Aquatic Animal Diseases and Waterfowl Breeding,
Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: Locomotion is considered a fundamental property of most aquatic animals and is crucial for the survival of such animals. To explore the behavioral characteristics of locomotion and their relationships with muscle energy metabolism of *Macrobrachium rosenbergii*, the experiments of swimming and tail-flipping with four intensities (control, low, medium and high) were conducted. The behavior, energy sources and related metabolic enzyme activities of *M. rosenbergii* were determined after locomotion. The swimming intensities were obtained by setting different water velocities in a specific time period. The water velocities of control, low, medium and high intensity swimming were 0 (voluntary locomotion), 5 (200 min), 10 (200 min) and 15 cm/s (swimming until fatigue) respectively. The tail-flipping intensities were determined by setting different touch frequencies in a specific time period. The touch frequencies of control, low, medium and high intensity swimming were 0 (voluntary locomotion), 0.033 (5 min), 0.050 (5 min) and 0.067 Hz (tail-flipping until fatigue) respectively. Results showed that the maximum beat frequency ($f_{\max}$) and maximum beat amplitude ($A_{\max}$) of pleopods and uropods were significantly higher in each locomotor group than those in the control group. There were no significant differences in muscle protein contents among different locomotor groups. The contents of muscle glycogen were significantly decreased in each locomotor group compared with that in the control group. The lowest contents of triglyceride in pleopods muscles were observed in the low-intensity swimming group. The activities of lactate dehydrogenase (LDH) and lactate contents in pleopods muscles were significantly elevated in medium and high intensity swimming groups compared with those of control group. The activities of pyruvate dehydrogenase, malate dehydrogenase and lipase in pleopods muscles were significantly increased in low-intensity swimming group compared with those of control group. The LDH activities and lactate contents of abdominal muscles were significantly higher in each tail-flipping group than those of control group. Our findings indicate that the energies of locomotion are obtained by increasing the intensity of muscles energy metabolism in *M. rosenbergii*. The energy metabolism pathways of swimming vary according to swimming intensities. Tail-flipping is powered by anaerobic metabolism. These findings enhanced our understanding of physiology and behavior of locomotion in prawns, providing basic data for the healthy culture of *M. rosenbergii*.

Key words: *Macrobrachium rosenbergii*; swimming; tail-flipping; energy metabolism; locomotor behavior

Corresponding authors: LIN Li. E-mail: linli@zhku.edu.cn;

LÜ Xiaojing. E-mail: xjinglv@zhku.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (32002375); Youth Innovative Talents Project of Guangdong Provincial Department of Education (2020KQNCX029); Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (2020A1515410006)