

MS-222对鲢鱼种麻醉效果及生理生化指标的影响

罗相忠¹, 童杰², 梁宏伟¹, 李晓晖¹, 邹桂伟¹, 崔峰^{2*}

¹中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 武汉

²安徽科技学院生命与健康科学学院, 安徽 凤阳

收稿日期: 2023年8月1日; 录用日期: 2023年8月22日; 发布日期: 2023年9月5日

摘要

为研究麻醉剂MS-222对鲢的麻醉效果, 比较分析了MS-222在高浓度分别为50、70、90、110、130 mg/L下诱导鲢进入各个阶段麻醉期以及复苏期的时间, 及施麻后呼吸频率的变化。研究了10、20、30 mg/L MS-222低浓度下对鲢肝脏、脾脏、鳃组织的碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)、过氧化氢酶(CAT)的活性影响。结果表明: MS-222溶液在高浓度条件下, 110~130 mg/L为有效浓度, 麻醉效果最好, 适合对鲢进行短时间操作; 在低浓度条件下, 20~30 mg/L浓度试验组酶活高于对照组, 且在一定时间内保持稳定, 说明对鲢鱼种在长时间内保持麻醉效果, 适宜对鲢进行长途运输。

关键词

长丰鲢, MS-222, 呼吸频率, 碱性磷酸酶, 酸性磷酸酶, 过氧化氢酶

Effect of MS-222 on Anesthesia and Physiological and Biochemical Indicators of Silver Carp Fingerling

Xiangzhong Luo¹, Jie Tong², Hongwei Liang¹, Xiaohui Li¹, Guiwei Zou¹, Feng Cui^{2*}

¹Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan Hubei

²College of Life and Health Science, Anhui Science and Technology University, Fengyang Anhui

Received: Aug. 1st, 2023; accepted: Aug. 22nd, 2023; published: Sep. 5th, 2023

Abstract

In order to analyze the anesthetic effect of the anesthetic MS-222 on silver carp, the time of MS-222

*通讯作者。

文章引用: 罗相忠, 童杰, 梁宏伟, 李晓晖, 邹桂伟, 崔峰. MS-222 对鲢鱼种麻醉效果及生理生化指标的影响[J]. 水产研究, 2023, 10(3): 99-109. DOI: 10.12677/ojfr.2023.103012

inducing silver carp to entering various stages of anesthesia and resuscitation at high concentrations of 50, 70, 90, 110, 130 mg/L were studied. Effects of alkaline phosphatase (AKP), acid phosphatase (ACP) and catalase (CAT) in liver, spleen and gill tissues of silver carp at low concentrations of 10, 20, 30 mg/L were observed. The results showed the anesthesia effect is the best at the effective concentration 110~130 mg/L under high concentration groups, which is suitable for short-term operations on silver carp, such as surgery. Under the concentration ranged from 20 to 30 mg/L, the enzyme activity of the experimental group is higher than that of the control group, which may remain stable for a certain period of time, such as fish transportation.

Keywords

Silver Carp, MS-222, Respiratory Rate, Alkaline Phosphatase, Acid Phosphatase, Catalase

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)广泛分布于我国长江、珠江、黑龙江流域,是我国重要的大宗淡水养殖鱼类之一[1]。其具有营养丰富、食物链短、成活率高、养殖成本低,兼具低碳、水生生物资源养护、修复水域生态环境等优良特性;且对国内大宗水产品的稳定有效供给、食品安全及大食物观发展理念的贯彻,人们膳食结构改善方面起着至关重要的作用。据统计,2021年全国鲢养殖产量达383.66万吨,居我国淡水鱼类养殖产量的第二位,仅次于草鱼(575.51万吨)[2],可见鲢养殖在促进渔民增收、渔业增效及产业高质量发展方面成效显著。长丰鲢(Changfeng silver carp)为中国水产科学研究院长江水产研究所选育的我国“四大家鱼”的第一个水产新品种;与鲢相比,具有生长快、体型好、出肉率高、耐低氧、遗传稳定等优良性状[3],自2010年通过全国水产原种和良种审定委员会审定以来,已推广至全国27个省市、自治区可控的淡水水域进行增、养殖,产生显著的经济、社会与生态效益。此外,长丰鲢性情较鲢稍显温和,但受刺激亦易跳跃,在运输过程中往往造成鲢不同程度的损伤影响其成活率。为了减少鱼的应激反应,提高鲢运输途中的成活率,运输前对其进行麻醉是较好的策略。

鱼用麻醉剂有很多,包括MS-222(间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐)、丁香酚、CO₂、喹哪啶、美托咪酯等,其中MS-222应用较为普遍。MS-222(分子式C₁₀H₁₅NO₅S)其为白色结晶或粉末,易溶于水,水溶液透明无色,呈微酸性、耐高温。国际商品名称为Fingudi、Matacaine、Tricaine,麻醉时具有浓度低,诱导鱼体入麻时间快且复苏时间短,无毒副作用等优点,是当前世界各国广泛应用于水生动物中安全、有效的麻醉药物。在美国,经美国食品和药物管理局(FDA)认可,MS-222为唯一可用于食用鱼的麻醉剂[4],已经广泛用于鱼类的活体运输、标志放流。MS-222的大量使用可能导致其在水产品中产生残留,给水产品的食用安全性带来潜在的风险。为了保证水产品的食用安全性,国际上对MS-222在水产品中的使用进行了严格规定。如美国FDA规定经MS-222麻醉的食用鱼必须经21d休药期才可在市场上销售,加拿大规定的休药期为5d[5][6]。有关MS-222的检测方法主要有比色法[7]、气相色谱法、液相色谱法[8]、液相色谱串联质谱法、高效液相色谱-串联质谱法等[9]。国内,目前利用MS-222对水生动物进行麻醉的研究及生理生化影响已有相关报道,如半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)、中华鲟(*Acipenser sinensis*)、施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)、美洲鲟(*Alosa sapidissima*)、刀鲚(*Coilia nasus* Schlegel)、黄颡鱼(*Pelteobagrus*

fulvidraco)、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、四川华吸鳅(*Sinogastromyzon szechuanensis*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、鲫(*Carassius auratus*)、翘嘴鲌(*Culter alburnus*)、鲢、鳊(*Siniperca chuatsi*)、花鲈(*Lateolabrax maculatus*)、大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)、红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)、珍珠龙胆石斑鱼(*E. fuscoguttatus* (♀) x *E. lanceolatus* (♂))、长蛸(*Octopus minor*)等[10]-[26]。而鲜有研究鲢在 MS-222 麻醉下其效果及组织内酶活性的变化。本研究以鲢新品种为研究对象,通过比较 MS-222 在不同麻醉浓度、不同施麻时间条件下对鲢麻醉效果与组织内酶活指标的影响。参考杜浩等的研究方法[12],将 50~130 mg/L 浓度定义为高浓度,将 10~30 mg/L 浓度定义为低浓度,对鲢在高浓度下的生理指标的变化和在低浓度下麻醉剂溶液对肝脏、脾脏、鳃的抗氧化酶活性进行研究,探究高浓度条件下急性麻醉,低浓度条件下长效麻醉的最合适浓度,为在鲢和长丰鲢的运输中得到应用提供参考。

2. 试验材料与方法

2.1. 试验材料

2.1.1. 试验鱼

试验鲢采自中国水产科学研究院长江水产研究所梁子湖试验场,其规格体重为(105 ± 5.0) g,体长为(18 ± 2.0) cm,暂养试验场养鱼车间塑料桶(容积为 200 L)中 1 周,每个桶放 20 尾,气泵持续通气以维持氧浓度,水温为(17.8 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,溶氧量保持在(7.77 ± 0.30) mg/L。在试验中,选择健康、无伤、规格整齐的鲢进行试验。试验用水来自曝气后的自来水。

2.1.2. 试验试剂

本试验使用的试剂 MS-222 麻醉剂购买自于上海希格玛高技术有限公司,CAT 试剂盒,ACP 试剂盒,AKP 试剂盒购自南京建成生物工程研究所;蛋白浓度测定试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司合成。

2.2. 麻醉方法

试验鱼使用 MS-222 麻醉时使用一定量的碳酸氢钠调节实验容器水体的 pH 值,控制在 7.0~7.5 范围。

2.2.1. 高浓度麻醉方法

试验时,在塑料桶注入 30L 经曝气的自来水,分别加入 1.5、2.1、2.7、3.3、3.9 g 的 MS-222 粉末,充分搅拌使其溶解,配置成浓度为 50、70、90、110、130 mg/L 的麻醉剂溶剂,并设对照组。每个浓度设置三组重复。每个塑料桶中投放鲢 5 尾,同时计时观察。

2.2.2. 低浓度麻醉方法

试验时,在塑料桶注入曝气的自来水 200 L,并分别在塑料桶中加入 2.0、4.0、6.0 g 的 MS-222 粉末,充分搅拌使其溶解,配置成浓度为 10、20、30 mg/L 的麻醉剂溶剂,同时设空白对照组。每个浓度设置三组重复。每个塑料桶中放入鲢 20 尾,同时开始计时观察。放鱼后分别在 1、3、6、12、24 h 时间点每个塑料桶中各取出 5 尾鲢进行解剖,采集肝、脾、鳃组织后立即放入液氮中保存备用。

2.3. 样品处理方法

取低浓度 MS-222 麻醉处理 1、3、6、12、24 h 的组织样品解冻。将其肝脏、脾脏、鳃组织分别称取 0.1 g 以组织样:生理盐水 = 1 g:10 ml 混合。混合后在高速组织研磨仪中 60 HZ 低温研磨 30 s。匀浆后将匀浆液置高速冷冻离心机 4 $^{\circ}\text{C}$,2500 r/min,离心 10 min。取上清液即为 10%的组织匀浆,测定不同 MS-222 麻醉处理时间的鲢肝脏、脾脏、鳃组织中过氧化氢酶(CAT)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)活性,所有试剂盒均购自南京建成生物工程有限公司,参照说明书进行检测。吸光度使用 NP80 型超微量分光

光度计进行测定。得到结果代入公式 1、公式 2、公式 3 计算。由于酶活计算时需要各组织的蛋白浓度，所以使用试剂盒对各组织蛋白浓度进行测定并代入公式(见图 1)计算。

$$\text{组织的CAT活力(U/mgprot)} = (X_1 + X_2) \times 271 \times \frac{1}{60 \times \text{取样量}} \div \text{待测样品蛋白浓度(mgprot/ml)} \quad (\text{公式 1})$$

注释: X_1 代表对照 OD 值, X_2 代表测定 OD 值, 下同。

$$\text{ACP活力(金氏单位/gprot)} = \frac{x_2 - x_3}{x_4 - x_3} \times \text{酶标准品浓度}(0.1\text{mg/ml}) \div \text{待测样品蛋白浓度(gprot/ml)} \quad (\text{公式 2})$$

$$\text{AKP活力(金氏单位/gprot)} = \frac{x_2 - x_3}{x_4 - x_3} \times \text{酶标准品浓度}(0.1\text{mg/ml}) \div \text{待测样品蛋白浓度(gprot/ml)} \quad (\text{公式 3})$$

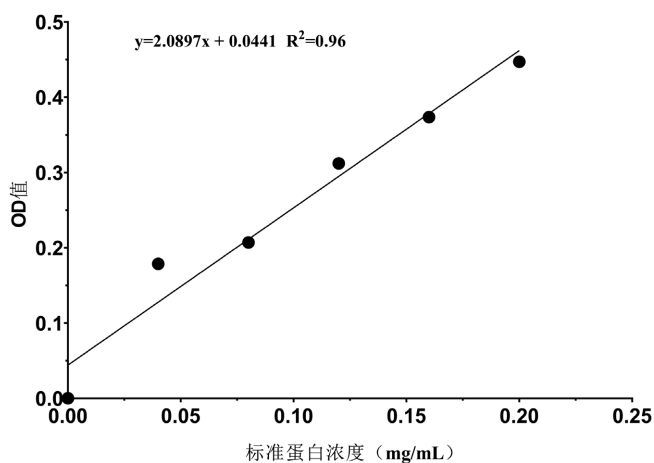


Figure 1. Standard protein curve
图 1. 标准蛋白曲线

2.4. 数据处理

使用 WPS office 和 SPSS 22.0 软件对数据进行处理及图表、表格的制作。统计值为平均值 \pm 标准差, 在单因素方差分析的基础上采用多重比较, $P < 0.05$ 代表数据之间存在显著差异。

3. 结果

3.1. MS-222 麻醉下鲢生理行为观察

3.1.1. 鲢麻醉及复苏阶段行为特征

在麻醉剂 MS-222 对鲢持续作用条件下, 不同浓度麻醉下鲢的行为特征及生理状态往往差别较大。本试验观察, 参照杜浩、刘长琳等[12] [27]对鱼类麻醉与苏醒的分期, 可将鲢的麻醉期间分为五个阶段, 其行为特征见表 1、苏醒期分为三个阶段, 其特征详见表 2。并结合本试验, 将 3 min 内进入麻醉阶段 A_4 期, 5 min 内进入恢复 R_3 期的浓度定义为有效浓度。

3.1.2. 麻醉状态下鲢呼吸频率变化

呼吸频率是鲢生理指标中重要的一部分, 能够较为直观的反应其麻醉程度。鲢在 MS-222 药物不同浓度下的呼吸频率如图 2 所示。在 MS-222 浓度为 50 mg/L 的溶液中, 鲢的呼吸频率出现小幅度上升后平稳下降。浓度分别为 70、90、110、130 mg/L 的溶液中, 鲢的呼吸频率呈明显下降趋势且未出现小幅度上升, 与对照组相比具有显著差异, 期间伴随着强烈的应激反应, 如迅猛游动, 撞击桶壁等。在 MS-222

浓度为 110 mg/L、130 mg/L 的溶液中,呼吸频率分别与对照组、50 mg/L、70 mg/L 浓度组相比差异显著。由此证明,随着 MS-222 麻醉剂浓度的不断增加,鲢的呼吸频率下降速度不断增加。这与郭丰红等研究 MS-222 对鳊的麻醉效果的研究结果一致[20]。

Table 1. Behavior pattern of silver carp anesthetized during anesthetic stages

表 1. 鲢麻醉各阶段的行为状况

麻醉阶段 Stages of anaesthesia	行为特征 Behavioral characteristics
A ₀ 正常期	呼吸频率正常,对外界刺激反应迅速 Normal opercular open and close, react to external stimuli
A ₁ 轻度镇定期	呼吸频率降低,对外界刺激反应降低,身体平衡性较好 Decrease in opercular open and close rate, slightly loss of reactivity to external stimuli, equilibrium open normal
A ₂ 深度镇定期	呼吸频率有规律缓慢,对外界刺激反应弱,身体失去平衡 Slow but regular opercular rate, loss of reactivity to external stimuli except strong pressure, loss of equilibrium
A ₃ 中度麻醉期	呼吸频率微弱无规律,失去反应能力,不再持续游动 Slow opercular movements and irregular, complete loss of reactivity without continuously swimming
A ₄ 深度麻醉期	呼吸停止,鱼侧躺底部 Opercular movements cease, the fish lay on its side at the bottom

Table 2. Stages of recovery and behavioral characteristics of silver carp

表 2. 鲢复苏阶段分期及各阶段行为特征

复苏阶段 Stages of recovery	行为特征 Behavioral characteristics
R ₁ 呼吸恢复期	呼吸恢复,鱼鳍开始晃动 Reappearance of opercular movement, fish fin begin moving
R ₂ 游动恢复期	开始缓慢游动,平衡性未恢复 Reappearance of swimming slowly, partial recovery of equilibrium
R ₃ 平衡恢复期	正常游动,平衡性恢复,应激恢复正常 Normal swimming, complete recovery of equilibrium, reappearance of response to external stimuli

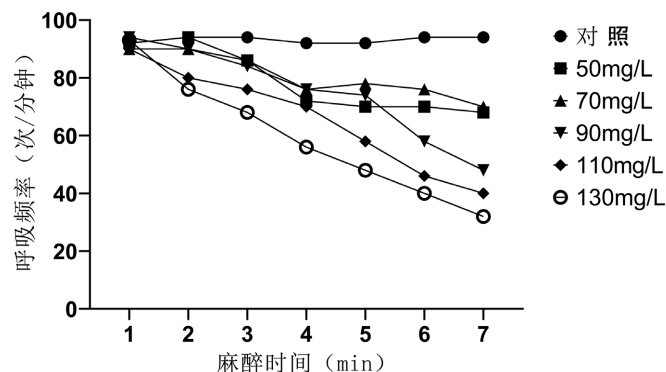


Figure 2. Changes of respiratory rate of silver carp under different concentrations of MS-222

图 2. MS-222 不同浓度下鲢呼吸频率的变化

3.1.3. 不同浓度下鲢进入不同麻醉阶段及复苏阶段的诱导时间

在 MS-222 不同浓度溶液下将鲢放入麻醉液中, 当鲢进入深度麻醉后再将鱼从麻醉溶液中捞出, 放入清水中供氧复苏。观察并记录。具体诱导与复苏时间分别见表 3、表 4。结果表明, 在 MS-222 浓度为 50 mg/L 和浓度为 70 mg/L 的溶液中, 鲢进入深度麻醉期的时间较长, 平均分别为 13 min、8 min, 但二者之间差异不显著。在 MS-222 浓度为 90 mg/L 的溶液中, 鲢进入深度麻醉期的时间平均为 6 min, 与浓度为 50 mg/L 麻醉时间差异显著。而在浓度为 110 mg/L 和 130 mg/L 的溶液中, 鲢能迅速进入深度麻醉期(3.52 min, 2.85 min), 与浓度分别为 50 mg/L、70 mg/L、90 mg/L 相比, 差异显著。进入深度麻醉后, 对鲢进行复苏操作, 结果表明: 鲢的复苏时间与 MS-222 麻醉剂浓度密切相关。在 MS-222 浓度为 50 mg/L 和浓度为 70 mg/L 的溶液中, 鲢进入深度麻醉期后仍然保持轻微呼吸, 并在 3 min 左右身体恢复平衡, 缓慢游动; 在浓度分别为 90 mg/L、110 mg/L 和 130 mg/L 的溶液中, 鲢能表现出明显的阶段性恢复过程, 且差异显著。

Table 3. Induction time of silver carp in different anesthesia stages under different concentrations of MS-222

表 3. MS-222 不同浓度下鲢进入不同麻醉阶段的诱导时间

MS-222 浓度(mg/L)	进入不同麻醉阶段的时间(min)				
	A ₀	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄
50	0	3.52 ± 1.56 ^a	5.12 ± 0.92 ^a	8.93 ± 3.22 ^b	13.22 ± 3.48 ^c
70	0	2.41 ± 0.61 ^a	3.68 ± 0.50 ^{ab}	6.52 ± 1.17 ^{bc}	8.17 ± 1.23 ^{cd}
90	0	—	2.53 ± 1.12 ^b	4.93 ± 1.13 ^c	6.22 ± 1.43 ^d
110	0	—	—	2.60 ± 0.75 ^d	3.52 ± 1.25 ^e
130	0	—	—	—	2.85 ± 1.37 ^f

注: 不同字母表示数值之间存在显著差异($P < 0.05$); “—”表示该阶段表现不明显或急促, 未观察到该阶段。

Table 4. Induction time of silver carp entering different recovery stages at different concentrations

表 4. 不同浓度下鲢进入不同复苏阶段的诱导时间

MS-222 浓度/(mg/L)	进入不同复苏阶段的时间/min		
	R ₁	R ₂	R ₃
50	0	—	2.58 ± 0.12 ^a
70	0	—	3.25 ± 0.82 ^a
90	0.52 ± 0.20 ^d	1.80 ± 0.57 ^e	3.98 ± 1.67 ^b
110	1.20 ± 0.42 ^d	2.22 ± 0.69 ^e	4.05 ± 1.08 ^b
130	1.42 ± 0.62 ^f	3.58 ± 1.20 ^e	5.52 ± 1.22 ^c

3.2. 麻醉剂 MS-222 长效麻醉下鲢生化指标变化

鲢在 MS-222 浓度分别为 10、20、30 mg/L 溶液中, 分别在麻醉为 1、3、6、12、24 h 时, 对其组织的肝、脾、鳃组织进行酶活测定, 酶活具体指标分别为 CAT 活性, ACP 活性, AKP 活性。

3.2.1. MS-222 对鲢组织 CAT 活性的影响

MS-222 对鲢 CAT 活性影响如表 5 所示。在同一时间下, 鲢肝组织试验组 CAT 活性相对于对照组均

有一定程度的下降,且差异显著。30 mg/L 麻醉浓度组酶活总体高于 10 mg/L 麻醉浓度组但低于对照组,且差异显著;20 mg/L 麻醉浓度组酶活虽在 3 h 后高于 10 mg/L 浓度组,但差异不显著。在相同浓度下,其他时间点酶活性均低于 1 h 酶活性,且差异显著,在 3 h 后基本保持稳定,差异不显著。在同一时间下,10 mg/L 麻醉浓度组鲢脾脏组织中酶活相比对照组有明显下降趋势,且差异显著。但在 20、30 mg/L 麻醉浓度组相比对照组,鲢酶活虽有一定程度下降,但是差异不显著。在相同浓度下,10 mg/L 的麻醉浓度组鲢脾组织的 CAT 活性在 3 h 出现上升现象后保持稳定,在 20 mg/L 的麻醉浓度下,鲢活性在下降 3 h 后保持平稳;30 mg/L 的麻醉浓度下,鲢活性则持续下降直至 12 h 保持平稳,且差异都不显著。在 10 mg/L 的麻醉浓度下,鲢鳃组织中 CAT 活性在 1 h 呈现一定的上升趋势且高于对照,3 h 后逐渐下降至对照以下,且差异显著。但在 20 mg/L、30 mg/L 的浓度下,下降趋势明显,在 6 h 后保持平稳,差异不显著。

Table 5. Changes of CAT activity in various tissues of silver carp

表 5. 鲢各组织 CAT 活性变化

组织	浓度/ (mg/L)	时间/h				
		1	3	6	12	24
肝	0	55.67 ± 1.04 ^{Aa}	47.63 ± 0.29 ^{Ba}	44.06 ± 0.34 ^{Ba}	48.65 ± 0.44 ^{Ba}	47.33 ± 0.35 ^{Ba}
	10	41.08 ± 0.54 ^{Ab}	25.25 ± 0.45 ^{Bb}	28.07 ± 0.42 ^{Bb}	28.47 ± 0.48 ^{Bb}	23.79 ± 0.68 ^{Bb}
	20	35.47 ± 0.26 ^{Ab}	34.33 ± 0.34 ^{Bb}	34.63 ± 0.28 ^{Bb}	31.74 ± 0.50 ^{Bb}	31.62 ± 0.10 ^{Bb}
	30	44.62 ± 0.10 ^{Ac}	40.73 ± 0.45 ^{Bc}	44.39 ± 0.39 ^{Bc}	43.40 ± 0.21 ^{Bc}	38.89 ± 0.24 ^{Bc}
脾	0	48.24 ± 0.21 ^{Aa}	41.82 ± 0.33 ^{ABa}	42.35 ± 0.06 ^{ABa}	40.89 ± 0.17 ^{ABa}	39.71 ± 0.22 ^{Ba}
	10	30.77 ± 0.51 ^{Ab}	37.86 ± 0.18 ^{ABb}	37.34 ± 0.85 ^{ABb}	38.20 ± 0.16 ^{ABb}	36.07 ± 0.17 ^{Bb}
	20	46.17 ± 0.08 ^{Aab}	36.8 ± 0.61 ^{ABab}	37.16 ± 0.41 ^{ABab}	37.76 ± 0.06 ^{ABab}	37.22 ± 0.17 ^{Bab}
	30	46.99 ± 0.31 ^{Aab}	42.75 ± 0.39 ^{ABab}	39.23 ± 0.50 ^{ABab}	30.01 ± 0.14 ^{ABab}	31.56 ± 0.10 ^{Bab}
鳃	0	29.61 ± 0.62 ^{Aa}	29.69 ± 0.62 ^{Aa}	30.35 ± 1.07 ^{Aa}	38.37 ± 2.51 ^{Aa}	32.58 ± 1.20 ^{Aa}
	10	33.39 ± 0.22 ^{Ab}	30.71 ± 0.29 ^{Ab}	27.37 ± 0.40 ^{Ab}	24.78 ± 0.13 ^{Ab}	24.41 ± 0.26 ^{Ab}
	20	13.71 ± 0.80 ^{Ac}	12.69 ± 0.72 ^{Ac}	10.89 ± 1.19 ^{Ac}	10.33 ± 0.44 ^{Ac}	9.81 ± 0.96 ^{Ac}
	30	8.88 ± 1.11 ^{Ac}	6.53 ± 1.03 ^{Ac}	7.73 ± 0.32 ^{Ac}	8.47 ± 0.75 ^{Ac}	7.41 ± 0.92 ^{Ac}

注:不同大写字母表示同一浓度不同麻醉时间之间存在显著差异($P < 0.05$);不同小写字母表示同一时间不同麻醉浓度之间存在显著差异($P < 0.05$)。

3.2.2. MS-222 对鲢组织 ACP 活性的影响

MS-222 对鲢 ACP 活性影响如表 6 所示。在相同时间下,试验组鲢肝组织中 ACP 活性相比于对照组 ACP 活性均有上升的趋势,差异显著。在浓度不变条件下,10 mg/L 麻醉浓度溶液中,鲢活性虽出现上升,并在后续保持一定平稳,而分别在 20、30 mg/L 的麻醉浓度下鲢活性上升后在 1 h 下降,在 6 h 后保持平稳,但差异均不显著。10 mg/L 麻醉浓度的鲢脾脏组织中 ACP 活性上升到 3 h 后出现迅速下降现象,随后保持平稳,差异不显著;分别在 20 mg/L、30 mg/L 的麻醉浓度下,鲢脾组织的 ACP 活性总体出现一定趋势的下降,差异显著;而在同一浓度下,随着时间增加,各浓度下酶活都呈下降趋势,且差异显著。各试验组的鲢鳃组织中 ACP 活性总体均高于对照组,差异显著。而在同一浓度下,10 mg/L 麻醉浓度组鲢 ACP 活性呈现先上升再下降,随后保持稳定趋势,但差异不显著;分别在 20 mg/L、30 mg/L 的麻醉浓度组,鲢 ACP 活性下降趋势明显,在 6 h 后保持平稳,差异亦不显著。

Table 6. Changes of ACP activity in various tissues of silver carp
表 6. 鲢各组织 ACP 活性变化

组织	浓度 (mg/L)	时间/h				
		1	3	6	12	24
肝	0	0.34 ± 0.01 ^{Aa}	0.35 ± 0.02 ^{ABa}	0.36 ± 0.05 ^{ABa}	0.36 ± 0.01 ^{Ba}	0.35 ± 0.01 ^{ABa}
	10	0.78 ± 0.01 ^{Ab}	0.84 ± 0.02 ^{ABb}	0.79 ± 0.03 ^{ABb}	0.46 ± 0.02 ^{Bb}	0.61 ± 0.01 ^{ABb}
	20	1.20 ± 0.01 ^{Aa}	0.91 ± 0.01 ^{ABa}	1.03 ± 0.01 ^{ABa}	0.84 ± 0.03 ^{Ba}	0.92 ± 0.02 ^{ABa}
	30	0.70 ± 0.01 ^{Ac}	0.57 ± 0.01 ^{ABc}	0.58 ± 0.01 ^{ABc}	0.55 ± 0.00 ^{Bc}	0.60 ± 0.01 ^{ABc}
脾	0	0.36 ± 0.01 ^{Aa}	0.31 ± 0.04 ^{ABa}	0.30 ± 0.01 ^{ABa}	0.29 ± 0.01 ^{ABa}	0.28 ± 0.01 ^{Ba}
	10	0.40 ± 0.01 ^{Aa}	0.26 ± 0.01 ^{ABa}	0.32 ± 0.01 ^{ABa}	0.27 ± 0.01 ^{ABa}	0.25 ± 0.01 ^{ABa}
	20	0.17 ± 0.01 ^{Ab}	0.12 ± 0.01 ^{ABb}	0.15 ± 0.01 ^{ABb}	0.17 ± 0.01 ^{ABb}	0.09 ± 0.01 ^{Bb}
	30	0.13 ± 0.01 ^{Abc}	0.18 ± 0.01 ^{ABbc}	0.19 ± 0.01 ^{ABbc}	0.25 ± 0.01 ^{ABbc}	0.16 ± 0.01 ^{Bbc}
鳃	0	0.28 ± 0.02 ^{Aa}	0.20 ± 0.01 ^{Ba}	0.19 ± 0.04 ^{Ba}	0.19 ± 0.01 ^{Ba}	0.21 ± 0.01 ^{Ba}
	10	0.63 ± 0.01 ^{Ab}	0.64 ± 0.02 ^{Bb}	0.62 ± 0.01 ^{Bb}	0.56 ± 0.01 ^{Bb}	0.48 ± 0.01 ^{Bb}
	20	0.70 ± 0.01 ^{Ac}	0.31 ± 0.01 ^{Bc}	0.31 ± 0.01 ^{Bc}	0.30 ± 0.01 ^{Bc}	0.36 ± 0.01 ^{Bc}
	30	0.68 ± 0.01 ^{Aa}	0.63 ± 0.01 ^{Ba}	0.53 ± 0.01 ^{Ba}	0.50 ± 0.01 ^{Ba}	0.50 ± 0.01 ^{Ba}

注：不同大写字母表示同一浓度不同麻醉时间之间存在显著差异($P < 0.05$)；不同小写字母表示同一时间不同麻醉浓度之间存在显著差异($P < 0.05$)。

3.2.3. MS-222 对鲢组织 AKP 活性的影响

MS-222 对鲢 ACP 活性影响如表 7 所示。试验组鲢肝组织的 ACP 活性相对于对照组总体呈现先上升后下降的趋势，差异显著。在 10 mg/L 麻醉浓度组，活性在 3 h 上升后保持一定平稳，差异不显著，而在 20、30 mg/L 的麻醉浓度下活性则在 1 h 时上升，在 3 h 后迅速下降保持稳定，差异亦不显著。在相同时间下，10 mg/L 麻醉浓度组鲢脾脏组织 CAT 活性显著高于对照组以及麻醉浓度分别为 20、30 mg/L 组。而麻醉浓度为 20、30 mg/L 组的活性水平相似，差异亦不显著。在 10 mg/L 麻醉浓度组，鲢脾组织的 AKP 活性上升到 3 h 后迅速下降，在 6 h 后保持平稳，但差异不显著；在 20 mg/L 的麻醉浓度组，鲢脾组织的 AKP 活性在 1 h 出现略微上升，随后缓慢下降在 12 h 保持平稳；在 30 mg/L 的麻醉浓度组，鲢 AKP 活性则始终呈现一定的波动，但两者差异都不显著。

Table 7. Changes of AKP activity in various tissues of silver carp
表 7. 鲢各组织 AKP 活性变化

组织	浓度 (mg/L)	时间/h				
		1	3	6	12	24
肝	0	29.23 ± 0.11 ^{Aa}	31.97 ± 1.40 ^{Aa}	30.47 ± 1.41 ^{Aa}	32.44 ± 1.41 ^{Aa}	37.11 ± 1.54 ^{Aa}
	10	35.25 ± 0.80 ^{Ab}	61.64 ± 0.73 ^{Ab}	67.28 ± 1.24 ^{Ab}	55.75 ± 1.27 ^{Ab}	61.33 ± 2.71 ^{Ab}
	20	61.57 ± 0.54 ^{Aac}	31.49 ± 0.86 ^{Aac}	30.76 ± 1.37 ^{Aac}	32.87 ± 1.57 ^{Aac}	31.65 ± 1.08 ^{Aac}
	30	83.67 ± 3.25 ^{Ab}	75.04 ± 1.78 ^{Ab}	77.90 ± 1.76 ^{Ab}	41.98 ± 0.28 ^{Ab}	32.64 ± 1.36 ^{Ab}

Continued

脾	0	72.10 ± 0.63 ^{Aa}	73.47 ± 0.42 ^{Aa}	71.54 ± 1.39 ^{Aa}	73.28 ± 0.48 ^{Aa}	74.11 ± 1.38 ^{Aa}
	10	154.13 ± 3.52 ^{Ab}	237.71 ± 7.79 ^{Ab}	100.99 ± 4.36 ^{Ab}	94.47 ± 1.61 ^{Ab}	109.76 ± 7.97 ^{Ab}
	20	86.51 ± 1.98 ^{Aa}	64.15 ± 2.87 ^{Aa}	77.59 ± 0.69 ^{Aa}	79.46 ± 3.07 ^{Aa}	60.32 ± 1.61 ^{Aa}
	30	53.81 ± 2.54 ^{Aa}	53.22 ± 2.14 ^{Aa}	78.52 ± 2.77 ^{Aa}	75.51 ± 2.01 ^{Aa}	65.54 ± 3.85 ^{Aa}
鳃	0	97.71 ± 1.69 ^{Aa}	91.69 ± 4.10 ^{ABa}	102.88 ± 2.74 ^{BCa}	97.13 ± 5.70 ^{Ca}	89.84 ± 1.86 ^{ABa}
	10	27.17 ± 1.36 ^{Ab}	43.19 ± 3.72 ^{ABb}	47.68 ± 1.30 ^{BCb}	59.67 ± 1.70 ^{Cb}	49.73 ± 0.86 ^{ABb}
	20	39.25 ± 2.46 ^{Ab}	38.43 ± 3.32 ^{ABb}	51.76 ± 1.70 ^{BCb}	57.74 ± 3.50 ^{Cb}	41.67 ± 1.22 ^{ABb}
	30	57.19 ± 4.10 ^{Ac}	58.01 ± 7.39 ^{ABc}	67.35 ± 2.85 ^{BCc}	89.84 ± 1.86 ^{Cc}	62.02 ± 6.17 ^{ABc}

注：不同大写字母表示同一浓度不同麻醉时间之间存在显著差异($P < 0.05$)；不同小写字母表示同一时间不同麻醉浓度之间存在显著差异($P < 0.05$)。

4. 讨论

4.1. MS-222 对鲢麻醉适宜的浓度范围

本试验鲢规格体质量为 105 g 左右, 在水温 17℃ 左右, 持续供氧条件下, MS-222 麻醉溶液在 110~130 mg/L 浓度时, 鲢在 3 min 左右时间内进入深度麻醉期, 麻醉后移放至清水水体 5 min 后可复苏, 其对鲢伤害较小。实验表明, MS-222 高浓度溶液(110~130 mg/L)适合对鲢鱼种进行短时间操作, 如短距离运输、手术、标记、生物学测定等短时间操作。MS-222 溶液在 20~30 mg/L 的浓度下, 麻醉剂能够在 24 h 及以上时间对鲢鱼种起持续作用, 适合对其进行较长时间运输作业, 如长途鲜活鲢运输等。对商品鲢(规格>1100 g)运输, 水温 12℃~15℃时, 其 MS-222 适合浓度 10~25 mg/L, 运输时间 70~73 h, 成活率可达 100% [26]。综合可得水温 12℃~17℃下, MS-222 溶液浓度 20~25 mg/L 可作为鲢鱼种和商品鲢远程运输较合适的浓度。

4.2. MS-222 对鲢麻醉后各组织酶活性的影响

CAT 广泛分布于生物体中, 具有特定的催化作用, 可以降解 H_2O_2 , 并存在于过氧化物酶体中[22]。体内某些活性氧, 自由基和对身体有毒的物质, 需要 CAT 来清除。因此, MS-222 作为一种具有高活性氧的麻醉剂, 作用于鲢后使其体内产生大量自由基, 引起机体 CAT 酶的变化。本试验中, 鲢各组织 CAT 酶都出现了一定下降的趋势。MS-222 在 10 mg/L 麻醉浓度下, 鲢肝和脾组织的 CAT 活性下降最为迅速, 且差异显著; 在 20~30 mg/L 的麻醉浓度下肝和脾组织的 CAT 活性下降缓慢, 并逐渐保持稳定。在 10 mg/L 的 MS-222 麻醉剂浓度下, 麻醉剂对鲢的影响较小; 在 20~30 mg/L 的麻醉浓度下, 其对鲢始终起作用。

ACP 是在酸性条件下催化磷酸单酯水解以及磷酸酶代谢的酶, 溶酶体生理功能与 ACP 也密切相关, 构成溶酶体的重要部分, 同时在吞噬和包囊反应中, 通常伴随着 ACP 的释放。本试验中, 鲢各组织的 ACP 活性在各个时间点均高于对照组, 且 20~30mg/L 的麻醉浓度下各组织的 ACP 活性下降较慢, 最终低于对照组, 说明在短时间内该浓度下鲢体内的 ACP 始终在组织内参与反应, 而随着麻醉剂的不断富集, 导致 ACP 活性最终低于对照组。

作为体内非常重要的调节酶, AKP 直接参与磷酸基团的转移, 并在免疫系统的调节中起重要作用[27]。本试验, 鲢肝脏和脾脏部位在 1 h 时, 各个 MS-222 麻醉浓度组的 AKP 活性均高于对照组, 在 3 h 后出现下降情况, 在麻醉前期, 麻醉剂对鲢具有显著的效果。在 20~30 mg/L 的麻醉浓度下, 试验组鲢组织 AKP 活性低于对照组, 可能是浓度过高, 导致 1 h 前已经出现下降现象, 而升高现象并未观测到。但是该浓度下 AKP 酶在 1 h 后基本保持稳定, 可能是该浓度下麻醉剂对鲢始终具有麻醉效果。

5. 小结

本实验对鲢麻醉效果研究表明 MS-222 溶液在高浓度条件下, 110~130 mg/L 为有效浓度, 麻醉效果最好, 适合对鲢进行短时间(0.5~2.0 h)操作。在 MS-222 浓度为 110、130 mg/L 的溶液中, 呼吸频率分别与 0 mg/L、50 mg/L、70 mg/L 浓度组相比差异显著, 随着 MS-222 麻醉剂浓度的不断增加, 鲢的呼吸频率下降速度不断增加。在 MS-222 溶液低浓度条件下, 20~30 mg/L 浓度鲢麻醉试验组的酶活性高于对照组(未麻醉长丰鲢组), 且在一定时间内保持稳定, 说明对鲢鱼种在长时间内保持麻醉效果, 适宜对鲢进行长途运输。

基金项目

财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-45-01); 中国水产科学研究院基本科研业务费(2020TD33); 国家淡水水产种质资源库(FGRC18537)。

参考文献

- [1] 唐启升, 韩冬, 毛玉泽, 等. 中国水产养殖种类组成、不投饵率和营养级[J]. 中国水产科学, 2016, 23(4): 729-758.
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2022.
- [3] 梁宏伟, 李忠, 罗相忠, 等. 长丰鲢与长江鲢形态差异与判别分析[J]. 水生生物学报, 2015, 39(5): 1059-1064.
- [4] Sink, T.D., Strange, R.J. and Sawyers, R.E. (2007) Clove Oil Used at Lower Concentrations is Less Effective than MS-222 at Reducing Cortisol Stress Responses in Anesthetized Rainbow Trout. *North American Journal of Fisheries Management*, **27**, 156-161. <https://doi.org/10.1577/M05-103.1>
- [5] Burka, J.F., Hammell, K.L., Horsberg, T.E., Johnson, G.R., Rainnie, D.J. and Speare, D.J. (1997) Drugs in Salmonid Aquaculture—A Review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **20**, 333-349. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1997.00094.x>
- [6] Scherpenisse, P. and Bergwerff, A.A. (2007) Determination of Residues of Tricaine in Fish Using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, **586**, 407-410. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.11.008>
- [7] 樊梅芳, 薛秀鸿, 钱红美, 等. 鱼中三卡因残留量的比色测定法[J]. 中国药科大学学报, 1996, 27(3): 191-192.
- [8] 任洁, 韩育章, 何静, 等. 鱼体组织中 MS-222 的高效液相色谱分析方法[J]. 水利渔业, 2000, 20(5): 6-8.
- [9] 黎智广, 杨宏亮, 王旭峰, 等. 高效液相色谱-串联质谱测定水产品中 MS-222 残留[J]. 中国渔业质量与标准, 2016, 6(1): 53-57.
- [10] 刘长琳, 陈四清, 何力, 等. MS-222 对半滑舌鲷成鱼的麻醉效果研究[J]. 中国水产科学, 2008, 15(1): 92-99.
- [11] 陈细华, 朱永久, 刘鉴毅, 等. MS-222 对中华鲟和施氏鲟的麻醉试验[J]. 淡水渔业, 2006, 36(1): 39-42.
- [12] 杜浩, 危起伟, 杨德国, 等. MS-222、丁香油、苯唑卡因对养殖美洲鲟幼鱼的麻醉效果[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(1): 20-26.
- [13] 严银龙, 施永海, 张海明, 等. MS-222、丁香酚对刀鲚幼鱼的麻醉效果[J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(2): 177-182.
- [14] 刘阳, 贾贵芳, 杨飞, 李忠利. 麻醉剂 MS-222 对运输胁迫黄颡鱼抗氧化系统的影响[J]. 安徽农学通报, 2021, 27(5): 67-69.
- [15] 汤保贵, 杨思楷, 郑素碧, 等. MS-222 和苯唑卡因麻醉后罗非鱼血清电解质变化及其与红细胞的相关性[J]. 广东海洋大学学报, 2015, 35(6): 25-29.
- [16] 陈小江, 熊俐灵, 吴建顾, 等. MS-222 和丁香酚对四川华吸鳅耗氧率和排氨率的影响[J]. 南方水产科学, 2020, 16(4): 69-74.
- [17] 陈永平, 韩现芹, 陈建, 等. MS-222 在草鱼、花鲈、鲫鱼组织中的富集与消除[J]. 水产科学, 2019, 38(4): 527-532.
- [18] 赵忠波, 胡培培, 刘汝鹏, 等. 运输时间和 MS-222 浓度对翘嘴鲈皮质醇、乳酸及氧气袋内水质的影响[J]. 淡水渔业, 2016, 46(2): 94-98.
- [19] 胡鑫, 丁晨雨, 叶勤, 等. 二氧化碳麻醉对鲢生理生化指标及神经调控相关基因表达的影响[J]. 淡水渔业, 2020, 50(1): 9-14.

-
- [20] 郭丰红, 汪之和. MS-222 对鳊鱼成鱼麻醉效果的研究[J]. 湖南农业科学, 2009(7): 150-153.
- [21] 王文豪, 董宏标, 孙永旭, 等. MS-222 和丁香酚在大口黑鲈幼鱼模拟运输中的麻醉效果[J]. 南方水产科学, 2018, 14(6): 52-58.
- [22] 杨博学, 李泊岩, 姜晨. MS-222 对红鳍东方鲀幼鱼血液生化指标的影响[J]. 河北渔业, 2018(2): 18-22.
- [23] 杨乐, 张晓林, 刘贤德. 丁香油、MS-222 和异丙酚对大黄鱼的麻醉效果分析[J]. 渔业现代化, 2021, 48(2): 91-96.
- [24] 吴勇, 严伟益, 潘传豪, 等. 不同麻醉药品对珍珠龙胆石斑鱼的麻醉效应研究[J]. 南方农业, 2020, 14(20): 143-149.
- [25] 朱之发, 边力, 刘心田, 等. 12 种麻醉剂对长鲟的麻醉效果[J]. 中国水产科学, 2020, 27(2): 195-203.
- [26] 任洁. MS-222 在活鱼运输中的应用研究[J]. 淡水渔业, 1993(6): 29-32.
- [27] 刘长琳, 何力, 陈四清, 等. 鱼类麻醉研究综述[J]. 渔业现代化, 2007, 34(5): 21-25.