

活体运输过程中冰片麻醉剂与 MS-222 对草鱼麻醉效果的对比研究

李晓璐, 刘妍, 淮亚红, 王琼, 张桂芝

(中山火炬职业技术学院生物医药系, 广东中山 528436)

摘要: 为提高水产品活体运输的存活率, 文章探明了将传统中药冰片作为麻醉剂应用于水产品活体运输的可能性。对比了不同浓度的 MS-222(间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐, 也称“鱼安定”)和冰片麻醉剂对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的麻醉效果, 并在 30 mg/L 的冰片麻醉剂和 20 mg/L 的 MS-222 中研究了水温对麻醉效果的影响, 最后在 20 °C 水温条件下分别在 30 mg/L 的冰片麻醉剂和 20 mg/L 的 MS-222 中进行了麻醉模拟运输试验并对关键生化指标进行比较分析。麻醉试验结果表明: 随麻醉剂浓度增加, 草鱼进入相同麻醉期时间缩短, 完全复苏时间延长, 20~40 mg/L 的冰片麻醉剂适于草鱼的麻醉运输。麻醉时间随水温降低而缩短, 复苏时间随着水温降低而增加, 20~25 °C 水温适于草鱼的冰片麻醉运输。麻醉模拟运输试验结果表明: 冰片麻醉运输 24 h 存活率为 100%, MS-222 麻醉运输 24 h 存活率为 70%。复苏时间随运输时间的增加而增加。冰片麻醉运输各项生化指标均优于 MS-222 麻醉运输。文章结果显示, 在 20~25 °C 水温条件下, 冰片麻醉运输保活效果优于 MS-222。

关键词: 冰片麻醉剂; 草鱼; MS-222; 麻醉运输。

文章编号: 1673-9078(2017)6-214-221

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.6.032

Comparative Study of the Anesthetic Effects of Borneol Anesthetic and MS-222 in Simulated Transportation of Live *Ctenopharyngodon idellus*

LI Xiao-lu, LIU Yan, HUAI Ya-hong, WANG Qiong, ZHANG Gui-zhi

(Department of Biomedicine of Zhongshan Torch Polytechnic Department of Biomedicine, Zhongshan 528436, China)

Abstract: To improve the survival rate of aquatic animals during live transport, the feasibility of traditional Chinese medicine borneol as an anesthetic was explored in this study. The anesthetic effects of borneol and MS-222 (tricaine methanesulfonate or fish diazepam) at different concentrations on *Ctenopharyngodon idellus* and the impact of water temperature on its anesthetic effects were studied following administration of 30 mg/L borneol and 20 mg/L MS-222. Additionally, simulated post-anesthesia transport was conducted at 20 °C after administration of 30 mg/L borneol and 20 mg/L MS-222, followed by comparative analysis of key biochemical indicators. Anesthesia test results showed that rising anesthetic concentrations shortened the time necessary for *C. idellus* to reach the same anesthetic depth, prolonged full-recovery time, and a concentration range between ~20 mg/L and 40 mg/L borneol was suitable for *C. idellus* anesthesia transport. Additionally, in the presence of decreasing water temperature, anesthesia time was shortened, but recovery time was increased, and a water temperature between ~20 °C and 25 °C was suitable for *C. idellus* transport. Simulated anesthesia-transportation test results showed that *C. idellus* survival rates after 24 h of transport following borneol or MS-222 administration were 100% and 70%, respectively. Furthermore, recovery time increased as transport duration increased, and all biochemical indicators associated with transport following borneol administration were better as compared with those following MS-222 administration. Therefore, the results of this study suggested that the effect of anesthesia-related transport using borneol on preservation was superior to that using MS-222 at a water temperature between 20 °C and 25 °C.

Key words: borneol anesthetic; *Ctenopharyngodon idellus*; tricaine methanesulfonate (MS-222); anesthesia transportation

我国是世界淡水养殖大国, 淡水产品产量世界第

收稿日期: 2016-08-26

基金项目: 国家 863 科技计划项目(2013AA102802-05); 广东省科技计划项目(2013B020411003); 中山市科技计划项目(2015B2352)

作者简介: 李晓璐(1982-), 女, 讲师, 研究方向: 食品生物工程

通讯作者: 刘妍(1983-), 女, 讲师, 研究方向: 食品科学

一, 淡水养殖面积 441 万 hm^2 , 淡水鱼类约 800 种, 占鱼类总数的 1/3, 淡水养殖品种约 140 种, 其产量的 70% 为青、草、鲢、鳙、鲤、鲫和鳊等“当家鱼”, 30% 为其它特种水产品; 我国目前的淡水鱼加工率不足 30%, 约 300 万 t, 远远低于发达国家 80% 以上水平。因贮藏、运输及加工条件的限制而造成的鱼类腐

败率高达 30%以上。随着人们生活水平的日益提高,对于水产品的需求,已经不只停留在关注样品的种类上,同时对水产品的质量和鲜活度也提出了更高的要求,促使人们越来越关注水产品的运输过程及其对水产品品质的影响^[1]。麻醉剂因有镇静作用就应用到了水产品的保活运输中^[2]。在运输过程中合理使用渔用麻醉剂,能够降低水产品的新陈代谢,减少损伤^[3],从而提高了水产品运输过程中的成活率因此麻醉剂在水产品运输过程中的应用也越来越广泛。用于水产品的麻醉剂种类很多,MS-222(间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐)也称“鱼安定”具有使用浓度低、入静快、作用时间长、复苏快、无残留和无毒副作用等优点^[4],而在国内外被广泛应用于水产动物的捕捉、运输、取样和测量等渔业生产和科学研究的过程中。但 MS-222 也有缺点,其溶液具有酸性,水产品用其进行深麻醉操作时,水产品的血浆皮质醇含量还在增加^[5],这是因为运输时 MS-222 不能降低水产品 CO₂ 排放^[6];因此 FDA 要求用 MS-222 麻醉过的水产品要在清水中饲养 21 d 清除体内多余的皮质醇才能出售。

渔用麻醉剂的作用方式为:首先抑制脑皮层,用于基底神经节和小脑,最后是脊髓^[7,8]。传统中药冰片亦称龙脑、龙脑香、梅花脑和梅花冰片等,功能开窍醒神、清热止痛,用于热病神昏、痉厥、中风痰厥、惊痫痰迷、喉痹齿痛、口疮痈疮、目赤,在心脑血管病治疗中应用尤其广泛。冰片对中枢神经兴奋性有较强的双向调节作用。方永奇等^[9]研究了冰片对实验小鼠中枢神经兴奋性的影响作用,结果表明冰片既有镇静安神作用,又有醒脑作用,具体表现为冰片能缩短戊巴比妥钠持续睡眠时间,还能延长苯巴比妥钠入睡时间,表现出醒脑和兴奋作用。目前对冰片的麻醉效果研究集中在实验小鼠上。没有利用冰片对水产品进行麻醉的研究报道。

本试验以四大家鱼中的草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)为研究对象,初步尝试利用冰片对中枢神经的双向调节的作用将冰片作为麻醉剂运用到水产品的活体运输中,并将其与传统 MS-222 的麻醉效果进行对比分析,为冰片麻醉剂和 MS-222 在草鱼及其他淡水水产品的麻醉及麻醉运输方面的应用提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

草鱼 2015 年 11 月 3 日采集自广东省中山市南朗镇左步村村民自养鱼塘,用充氧泵曝气原鱼塘养殖水进行活体运输,经过 1 h 的汽车运输到达实验室,用高锰酸钾溶液消毒后暂养 15 d。养殖水为曝气 3 d 以上的自来水, pH 7.0~8.0,溶氧 6.0~8.5 mg/L。实验时选用体重为(500±50) g 健康无伤病的鱼。

冰片麻醉剂的配制方法为,在 500 mL 纯化水中加入 100 g 白芨多糖, 10 g 冰片, 10 g PEG-300,充分溶解后补加纯化水至 1 L。实验时将冰片麻醉液配制成 10、20、30、40、50、60 和 70 mg/L 的浓度备用。

MS-222 购自湖南天成高分子材料有限公司。将 MS-222(纯度为 99.9%)溶于水配成 10、20、30、40、50、60 和 70 mg/L 的麻醉液备用。

糖元、乳酸和鱼血清皮质醇(Cortisol)酶联免疫分析试剂盒购自上海索莱宝生物科技有限公司;天冬氨酸氨基转移酶(AST)、葡萄糖(GLU)、尿素(UREA)和乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 麻醉试验

表 1 麻醉程度分期及鱼类行为特征

Table 1 Anesthesia stages and fish-behavior characteristics

麻醉程度分期	行为特征	备注
0(正常期)	对外界刺激反应明显,鳃盖张合频率及肌肉收缩正常	
1(轻度镇静期)	对外界刺激反应能力略微降低,鳃盖张合频率略微减少,身体平衡性较好	
2(深度镇静期)	除强刺激外反应能力完全丧失,鳃盖张合频率略微减少,身体平衡性较好	用于一般运输
3(平衡失调期)	部分丧失肌肉张力,游动无规律,鳃盖张合频率增加,只对强刺激或振动刺激有反应	
4(麻醉期)	完全丧失肌肉张力和平衡,鳃盖张合频率慢,脊髓反射丧失	最佳的操作时期
5(深度麻醉期)	完全丧失反应能力,鳃盖张合慢且不规律,心率变慢,失去所有反射能力	应立即进行复苏
6(延髓麻期)	鳃盖张合停止	无法复苏,死亡

将停食 24 h 的草鱼从水温 20 °C 的暂养池中转入到麻醉容器中,每组 4 尾鱼,鱼水比 1:15,观察鱼体的活动情况,用秒表记录鱼体进入不同麻醉阶段的时

间。麻醉 24 h 后记录草鱼存活率,然后将草鱼转入相同水温的清水中复苏,记录鱼体完全复苏的时间。麻醉和复苏时间均为最后一尾试验鱼进入到相应状态的

时间。

根据草鱼的麻醉、复苏时间及存活率,选择适宜的冰片麻醉剂和 MS-222 浓度,再设计不同的水温条件(10、15、20 和 25 °C)进行麻醉试验。在麻醉剂的作用下,草鱼在麻醉和复苏阶段会表现出一系列不同的行为变化^[10-14],文章结合草鱼的实际情况,参考文献^[15-17]将草鱼的麻醉过程分为 6 个时期(表 1),复苏过程分为 4 个时期(表 2)。

表 2 复苏过程分期及鱼类行为特征

复苏过程分期	行为特征
1	身体静止,呼吸恢复,鳃盖开始振动
2	部分平衡及运动恢复
3	平衡完全恢复,对外界反应恢复
4	行为完全恢复正常

1.2.2 麻醉模拟运输试验^[13]

在盛有 45 L、30 mg/L 冰片麻醉剂和 20 mg/L MS-222 溶液的水槽中各放入 10 尾停食 24 h 的健康草鱼,维持水温为 20 °C,当试验用鱼全部进入深度镇静状态进行模拟运输并计时。运输装置为 BF-SV-200 模拟运输振动台,设置振幅为 0~25.4 mm、转速为 100 r/min,分别模拟运输 0、3、10、17 和 24 h。观察每个时间结点运输后草鱼的存活率,同时测定鱼体肌肉及血的清生化变化,并将草鱼置于清水中复苏,测定复苏时间。同时与相同条件下不加麻醉剂运输前的鱼

进行比较。

1.2.3 肌肉中糖元、乳酸的测定^[13]

使用紫外可见分光光度计测定。

1.2.4 血清生化指标的测定^[13]

由于在实验设计条件下冰片麻醉剂无法使草鱼进入深度麻醉期,所以麻醉运输试验结束后从用冰片麻醉剂麻醉运输和用 MS-222 麻醉运输的草鱼中分别随机取 3 尾存活的草鱼用 150 mg/L 的 MS-222 快速麻醉后从尾静脉取血,不加抗凝剂,于冰箱冷藏室 4 °C 放置 2 h,待血液明显分层后以 3000 r/min 离心 20 min,分别收集每尾鱼的血清于 2 mL 的离心管中^[18]。鱼血清皮质醇(Cortisol)含量使用 SH-1000 Lab-全波长酶标仪测定。血清中天冬氨酸氨基转移酶(AST)、葡萄糖(GLU)、尿素(UREA)和乳酸脱氢酶(LDH)用 BS-200 全自动生化分析仪测定。

1.2.5 数据处理

用 Microsoft Excel 2007 和 SPSS 19.0 软件对试验结果进行统计分析。在单因素方差分析的基础上采用 Duncan 氏多重比较法进行分析,统计值为平均值±标准差,显著性水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的冰片麻醉剂和 MS-222 对草鱼

的麻醉效果

表 3 不同浓度 MS-222 对草鱼的麻醉效果

Table 3 Anesthetic effects of MS-222 at different concentrations on *Ctenopharyngodon idellus*

MS-222 浓度/(mg/L)	进入不同麻醉程度的时间/s						复苏时间/s	24 h 后存活率/%
	1	2	3	4	5	6		
10	165	475	-	-	-	-	387	100
20	163	310	-	-	-	-	791	100
30	105	256	1048	-	-	-	813	100
40	71	183	460	-	-	-	861	100
50	65	136	343	486	629	-	968	100
60	20	87	207	281	417	-	1812	50
70	10	50	110	153	275	21615	/	0

注:水温 20 °C; 1~6 对应表 1 的麻醉程度;“-”表示试验中没有观察到对应的麻醉状态;“/”表示鱼死亡无法复苏。

由表 3~4 可知随着冰片麻醉剂和 MS-222 浓度的增加,草鱼进入相同麻醉时期的时间缩短,而完全复苏的时间延长。MS-222 在较低的浓度下,10 和 20 mg/L,鱼体最终会维持在深度镇静期。浓度增加,鱼体的麻醉程度加深。用 10~50 mg/L 的 MS-222 麻醉 24 h 后鱼体依然存在呼吸,在清水中复苏能恢复到正常状态。当浓度达到 60 mg/L 时,鱼体进入深度麻醉状

态,麻醉 24 h 后一半的鱼停止呼吸,在清水中无法复苏。浓度进一步增加到 70 mg/L 时,麻醉 6 h 鱼体就全部停止呼吸,在清水中无法复苏。冰片麻醉剂 10、20、30 和 40 mg/L 浓度,鱼体最终会维持在深度镇静期。在实验设计浓度范围 10~70 mg/L 的冰片麻醉剂麻醉 24 h 后鱼体依然存在呼吸,在清水中复苏能恢复到正常状态。

表 4 不同浓度冰片麻醉剂对草鱼的麻醉效果

Table 4 Anesthetic effects of borneol at different concentrations on *Ctenopharyngodon idellus*

冰片麻醉剂浓度/(mg/L)	进入不同麻醉程度的时间/s						复苏时间/s	24 h 后存活率/%
	1	2	3	4	5	6		
10	209	490	-	-	-	-	287	100
20	188	390	-	-	-	-	480	100
30	169	361	-	-	-	-	650	100
40	142	325	-	-	-	-	780	100
50	130	231	396	520	-	-	860	100
60	80	140	209	325	-	-	996	100
70	35	90	160	198	-	-	1320	100

注：水温 20 °C。1~6 对应表 1 的麻醉程度，“-”表示试验中没有观察到对应的麻醉状态，“/”表示鱼死亡无法复苏。

2.2 不同水温下冰片麻醉剂和 MS-222 对草鱼的麻醉效果

由表 5~6 可知用 30 mg/L 的冰片麻醉剂和 20 mg/L 的 MS-222 在 10、15、20 和 25 °C 的水温下麻醉草鱼，

鱼体最终都维持在深度镇静期，麻醉 24 h 后鱼体都存在呼吸，在清水中都能恢复到正常状态。水温越低，进入相同麻醉状态的时间越短。在 10 °C 时，鱼体甚至已经处于轻度镇静期。然而，随着麻醉水温的降低，鱼体完全复苏的时间却在增加。10 °C 和 15 °C 的复苏时间远远高于 20 °C 和 25 °C 的复苏时间。

表 5 不同水温下冰片麻醉剂和 MS-222 对草鱼的麻醉效果

Table 5 Anesthetic effects of borneol and MS-222 on *Ctenopharyngodon idellus* at different water temperatures

水温/°C	进入不同麻醉程度的时间/s												复苏时间/s		24 h 后存活率/%	
	MS-222						冰片麻醉剂						MS-222	冰片麻醉剂	MS-222	冰片麻醉剂
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6				
10	0	95	-	-	-	-	0	120	-	-	-	-	4584	3698	100	100
15	53	125	-	-	-	-	78	168	-	-	-	-	2134	1014	100	100
20	132	310	-	-	-	-	155	392	-	-	-	-	780	667	100	100
25	275	515	-	-	-	-	309	553	-	-	-	-	349	221	100	100

注：冰片麻醉剂浓度为 30 mg/L；MS-222 浓度为 20 mg/L。1~6 对应表 1 麻醉程度，“-”表示试验中没有观察到对应的麻醉状态。

表 6 草鱼麻醉运输后存活率及复苏时间变化

Table 6 Changes in survival rate and recovery time of *Ctenopharyngodon idellus* after anesthesia-related transport

运输时间/h	存活率/%		复苏时间/s	
	MS-222	冰片麻醉剂	MS-222	冰片麻醉剂
0	100	100	40	35
3	100	100	780	625
10	100	100	1260	960
17	100	100	1680	1075
24	70	100	2880	2000

2.3 草鱼麻醉运输后存活率及复苏时间变化

在 20 °C 分别用 30 mg/L 的冰片麻醉剂和 20 mg/L 的 MS-222 麻醉运输草鱼。17 h 后用两种麻醉剂的草鱼均能保持 100% 的存活率，用 MS-222 麻醉运输 24 h 后存活率下降到 70% (表 5)；而用冰片麻醉剂麻醉运输 24 h 后依然能保持 100% 的存活率。将麻醉运输后的

鱼在适宜的条件下暂养一周，结果发现用 MS-222 麻醉运输 24 h 的鱼在一周内 4 尾相继死去，而其他运输时间的鱼能恢复正常，而用冰片麻醉剂麻醉运输 24 h 后的鱼在均能恢复正常一周内无死亡。麻醉运输后鱼的复苏时间随运输时间的增加而增加，但使用冰片麻醉剂麻醉运输的鱼复苏时间明显短于使用 MS-222 麻醉运输的鱼 (表 6)。

2.4 草鱼麻醉运输后肌肉及血清生化变化

由图 1A 可知草鱼在麻醉后糖元含量有轻微的降低，但变化并不显著，麻醉运输后，糖元含量随运输时间的增加显著下降 ($p < 0.05$)。用冰片麻醉剂运输比用 MS-222 麻醉运输糖原降低速度慢、降低量少，冰片麻醉剂运输 24 h 后比基础组降低了 30.7%，MS-222 麻醉运输 24 h 后比基础组降低了 37.3%。图 1B 显示，乳酸含量在麻醉后显著升高，且在麻醉运输过程中随运输时间的增加显著升高，用冰片麻醉剂运输比用

MS-222 麻醉运输乳酸升高速度慢、升高量少, 冰片麻醉剂运输 24 h 后比基础组升高了 57.9%, MS-222 麻醉运输 24 h 后比基础组升高了 102.6%。

表 7~8 显示了草鱼在麻醉后和麻醉运输后几项血清生化指标的变化。与各自的基础组相比, 用冰片麻醉剂和 MS-222 麻醉后血清皮质醇的含量均显著升高, 而在麻醉运输过程中血清皮质醇的含量差异不显著。冰片麻醉剂麻醉后及模拟运输的 24 h 内血清 AST (天冬氨酸氨基转移酶) 活性有轻微的升高, 但变化并不显著。MS-222 麻醉后血清 AST 活性有轻微的升高, 变化并不显著, 麻醉运输前 10 h, 血清 AST 活性的变化都不显著, 继续运输, 其活性显著升高。冰片麻醉剂麻醉运输的草鱼血清中 UREA (尿素) 的含量与基础组差异不显著。MS-222 麻醉运输前 10 h, 血清 UREA 的含量与基础组差异不显著, 随着运输时间的持续增加, 血清 UREA (葡萄糖) 含量显著升高。两种麻醉剂麻醉后血清 GLU 均显著升高, 且在麻醉运输过程中, 血清 GLU 含量也不断显著升高。麻醉后血清 LDH (乳酸脱氢酶) 的活性显著升高, 用冰片麻醉剂麻醉运输前 17 h, 其差异不显著, 继续运输, 血清 LDH 的活性显著升高, 用 MS-222 麻醉运输前 10 h, 其差异不显著, 继续运输, 血清 LDH 的活性显著升高。

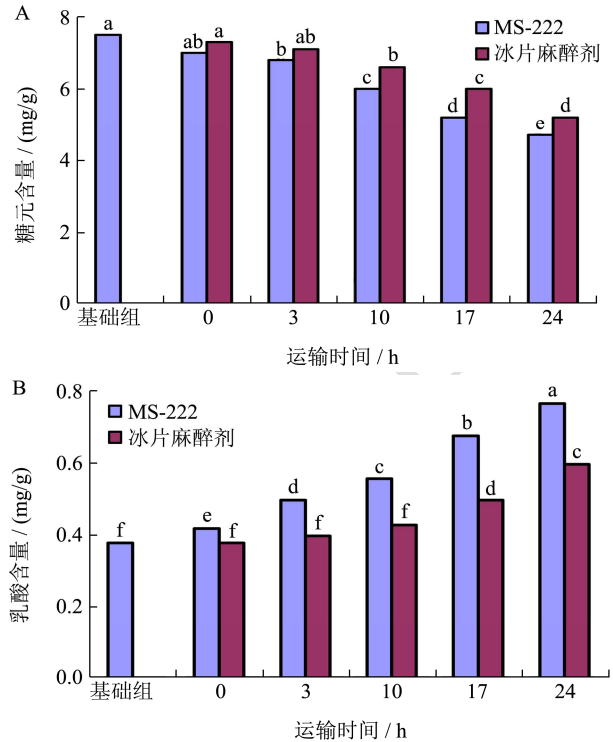


图 1 草鱼麻醉运输后肌糖元、乳酸变化

Fig.1 Changes in muscle glycogen and lactic acid content in *Ctenopharyngodon idellus* after anesthesia-related transport

注: 组间字母不同者差异显著(p<0.05)。

表 7 草鱼 MS-222 麻醉运输后血清生化变化

Table 7 Serum biochemical changes in *Ctenopharyngodon idellus* after MS-222-specific anesthesia-related transport

运输时间/h	皮质醇/(ng/L)	天冬氨酸氨基转移酶/(U/L)	尿素/(mmol/L)	葡萄糖/(mmol/L)	乳酸脱氢酶/(U/L)
基础组	254±12 ^b	11.0±1.00 ^c	1.05±0.06 ^c	2.68±0.10 ^c	433.0±32.6 ^d
0	275±26 ^a	12.5±0.95 ^c	1.03±0.06 ^c	3.59±0.21 ^d	771.0±38.8 ^c
3	280±10 ^a	12.3±0.70 ^c	1.00±0.06 ^c	3.71±0.13 ^d	676.8±53.2 ^c
10	273±15 ^a	13.2±0.79 ^c	1.03±0.07 ^c	4.78±0.17 ^c	670.0±41.5 ^c
17	275±9 ^a	20.1±1.20 ^b	1.33±0.05 ^b	5.62±0.31 ^b	1000.3±31.2 ^b
24	275±15 ^a	33.6±2.55 ^a	1.86±0.14 ^a	6.49±0.25 ^a	1262.4±110.2 ^a

注: 同列平均值间上标字母不同者差异显著(p<0.05)。

表 8 草鱼冰片麻醉剂麻醉运输后血清生化变化

Table 8 Serum biochemical changes in *Ctenopharyngodon idellus* after borneol-specific anesthesia-related transport

运输时间/h	皮质醇/(ng/L)	天冬氨酸氨基转移酶/(U/L)	尿素/(mmol/L)	葡萄糖/(mmol/L)	乳酸脱氢酶/(U/L)
基础组	218±12 ^b	9.0±1.00 ^c	1.02±0.05 ^c	2.55±0.12 ^c	390.0±26.8 ^d
0	240±26 ^a	10.5±0.95 ^c	1.03±0.06 ^c	3.31±0.19 ^d	565.0±29.8 ^c
3	246±10 ^a	10.5±1.00 ^c	0.98±0.08 ^c	3.42±0.16 ^d	478.8±49.3 ^c
10	240±15 ^a	12.8±0.88 ^c	1.02±0.05 ^c	4.13±0.18 ^c	460.0±38.9 ^c
17	243±9 ^a	15.5±1.10 ^c	1.09±0.04 ^c	4.99±0.27 ^b	497.8±33.6 ^c
24	241±15 ^a	18.0±2.55 ^c	1.16±0.05 ^c	6.04±0.27 ^a	727.6±36.5 ^b

注: 同列平均值间上标字母不同者差异显著(p<0.05)。

3 讨论

3.1 麻醉剂浓度和水温对草鱼麻醉的影响

活鱼运输时最佳的麻醉状态是深度镇静期,此状态下的鱼体对外界刺激几乎没有反应能力,代谢率下降,但依然能够保持平衡^[19],与轻度镇静期相比鱼体显得更为安定,而进一步的麻醉会使鱼体失去平衡,停止游动,可能会导致鱼体静卧池底缺氧窒息而死,或者与运输装置撞击发生机械损伤^[15],因而轻度镇静期和深度麻醉期都不适于活鱼运输。将深度麻醉的鱼及时放入清水复苏,会经历呼吸恢复、平衡恢复、反应恢复和行为完全恢复四个阶段^[17]。活鱼运输的目标是使鱼体在较短的时间内进入并维持在深度镇静期同时使鱼体完全复苏的时间最短、存活率最高。

文章结果显示,在 20℃时,浓度为 10~70 mg/L 的冰片麻醉剂均不会引起鱼体的死亡,并且在 10~40 mg/L 的冰片麻醉剂中的鱼体最终都维持在最适合活体运输的深度镇静期,而经 60 mg/L MS-222 麻醉 24 h 鱼体死亡率高达 50%,70 mg/L 的 MS-222 麻醉 6 h 后鱼体全部死亡。可见冰片麻醉剂能够在较宽的浓度范围对草鱼进行麻醉而又不致死。并且对实验设计的每个浓度的鱼体复苏时间进行比较结果均为冰片麻醉剂的复苏时间较 MS-222 短。究其原因可能是冰片对中枢神经具有双向调节作用,一方面,冰片可以对抗苦味兴奋中枢神经的作用,延长惊厥潜伏期而起镇静、抗惊厥作用;另一方面,冰片能延长常压缺氧存活时间^[20]。并且冰片麻醉剂中的白芨胶对失衡的鱼体有一定的保护做用,减少了鱼体的外伤。因此 30~40 mg/L 的冰片麻醉剂和 10~20 mg/L 的 MS-222 适于草鱼的麻醉运输,并且综合考虑活体运输对鱼体麻醉状态的要求,在实验设计的浓度范围内冰片麻醉剂的效果优于 MS-222。

麻醉时的水温对麻醉效果有明显影响。水温越低,入麻时间越短,即麻醉效果随温度的降低而增加,可能由于草鱼是温水性鱼类,较低的水温本身对鱼体就有一定的麻醉作用^[21]。但水温越低复苏时间越久,综合考虑 20~25℃的水温适于草鱼的麻醉运输。

3.2 麻醉运输作用对草鱼存活率及复苏时间的影响

试验表明运输时间越久,鱼体就越难复苏,这可能是由于长时间的药物麻醉使得鱼体内麻醉剂积累过多,所以需要较长的时间排除所致。但在实验设计的浓度范围冰片麻醉运输草鱼 24 h 依然保持 100%的存活率,在实际应用中具有重要的商业价值。MS-222 麻醉运输 24 h 后鱼体较静态麻醉组(表 5)死亡率高,可见运输过程中的振动对草鱼的存活影响很大,因而

在实际操作中应尽可能地减轻振动对鱼体的刺激。由麻醉运输后的肌肉和血清生化变化可以推测,肝脏、肾脏、心肌以及肌肉损伤,乳酸堆积是导致 MS-222 麻醉运输 24 h 鱼体死亡和迟发性死亡的重要原因,而冰片可以通过改善缺血组织的血氧供应,进而改善该区域的能量代谢,起到对鱼麻醉状态下的心脑保护作用,冰片麻醉剂中的白芨胶不仅能在鱼体周围形成保护性水膜其本身具有的收敛止血、消肿生肌的作用也能修复振动对鱼体造成的损伤,从而减少鱼体的死亡^[22]。

3.3 麻醉运输作用对草鱼肌肉及血清生化变化的影响

试验显示麻醉运输后,草鱼肌肉中的糖元呈下降趋势而乳酸均呈上升趋势。这可能是由于鱼体处于饥饿状态、加上振动、氨氮等不利条件的不断刺激,血液中的葡萄糖不能满足鱼体对能量的消耗,使得肌肉中的糖元快速分解所致^[23,24],糖元酵解产生能量的同时会伴随着乳酸的生成,LDH 活性增加也可导致乳酸含量的上升。但是使用冰片麻醉剂麻醉运输的草鱼肌肉中糖元下降速度和乳酸升高速度比使用 MS-222 麻醉运输的草鱼明显要慢,这也是使用冰片麻醉剂麻醉运输草鱼死亡率低的原因之一。

血液成分会随鱼体的生理和病理情况而相应地变化,是重要的生理、病理和毒理学指标^[24],被广泛地用来评价鱼类的健康状况、营养状况及对环境的适应状况。

在使用了麻醉剂后皮质醇迅速升高反映了麻醉对鱼体造成胁迫,鱼体产生应激^[25]。振动也能导致皮质醇含量的升高^[26],但在麻醉运输过程中皮质醇含量变化不明显,这可能是由于麻醉剂降低了鱼体对外界刺激的反应能力。

正常情况下血清中天门冬氨酸氨基转移酶 AST 活性很低而且相对稳定,但当肝脏受到损伤时血清 AST 活性会升高^[27,28]。MS-222 麻醉运输前 10 h,AST 活性变化不显著,继续运输,其活性显著升高,这说明长时间的运输导致草鱼供能不足,需要分解糖、脂质、蛋白质使肝脏受到了损伤。这也是长时间的麻醉运输导致鱼体死亡的原因之一。而冰片麻醉剂麻醉运输 24 h,AST 活性变化不显著,这说明冰片麻醉剂中的白芨胶在麻醉运输过程中对草鱼的肝脏有一定的保护做用^[29],冰片麻醉剂更适用于草鱼的活体长途运输。

当肾脏受到损失,血尿素的含量会增加。MS-222

麻醉运输 17 h 后, 血尿素含量显著升高, 这可能是由于草鱼的蛋白质代谢异常, 使肾脏受到了损伤。这也是长时间的麻醉运输导致鱼体死亡的另一个原因。但是冰片麻醉剂麻醉运输 24 h, UREA 升高不明显。

葡萄糖受神经和激素共同调节, 当机体发生应激反应时会导致血糖迅速上升。两种麻醉剂麻醉和麻醉运输后, 草鱼血清葡萄糖均显著升高, 说明麻醉和运输过程中由于外界刺激会使鱼体分解糖元。LDH 是糖代谢中催化丙酮酸向乳酸转化的酶, 无氧酵解^[30]、心肌梗死、肝脏疾病、血液病和肌肉损伤都会导致 LDH 的升高。两种麻醉剂麻醉后 LDH 的活性均显著升高, 可能由于麻醉时发生了无氧呼吸。MS-222 麻醉运输前 10 h, LDH 的活性差异不显著, 继续运输, LDH 的活性显著升高而冰片麻醉剂麻醉运输在 17 h 后, LDH 的活性才显著升高。所以冰片麻醉剂可以降低长时间运输导致的鱼体心肌、肝脏、肌肉损伤, 从而延长草鱼麻醉运输的时间, 提高存活率。

文章首次将传统中药冰片作为麻醉剂应用于草鱼的活体麻醉运输, 并且首次将中药白芨添加在冰片麻醉剂中起保护鱼体的作用。并将麻醉效果、复苏时间、鱼体存活率、肌肉和血清的生化指标几方面与目前使用最广泛的鱼用麻醉剂 MS-222 进行比较研究。结果显示冰片麻醉剂在草鱼活体运输的应用优于 MS-222。可以显著的减少长途鱼体的死亡率, 这具有极大的商业价值。所以有必要进一步开展冰片麻醉剂残留检测方法以及冰片麻醉剂在其他类型的水产品活体运输的应用等研究。

参考文献

- [1] Fotedar S, Evans L. Health management during handling and live transport of crustaceans: a review [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2011, 106(1): 143-152
- [2] King H R. Fish transport in the aquaculture sector: an overview of the road transport of *Atlantic salmon* in Tasmania [J]. *Journal of Veterinary Behavior*, 2009, 4(4): 163-168
- [3] Masopust J. *Clinical biochemistry* [M]. Czech: Karolinum Praha, 2000
- [4] 崔治建, 易有荣, 汪艳, 等. 高效液相色谱测定鱼体组织中鱼静安的浓度[J]. *中国生物工程杂志*, 2003, 23(6): 84- 86
CUI Ye-jian YI You-rong WANG Yan, et al. Determination of finguel in fish using high performance liquid chromatography [J]. *China Biotechnology*, 2003, 23(6): 84- 86
- [5] Bellg. An outline of anesthetic and anesthesia for salmonids, a guide for fish culturists in British Columbia [R]. Canadian Technical Report of Fisheries Aquatic Sciences, 1987, 1534
- [6] U.S. Food and Drug Administration. Fish and fish-ery products hazards and controls guidance (fourth edition)[S]
- [7] Thomas P, Robertson L. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidate [J]. *Aquaculture*, 1991, 96(1): 69-86
- [8] Gilderhus P A, Marking L L. Comparative efficacy of 16 anesthetic chemicals in rainbow trout [J]. *North American Journal of Fisheries Management*, 1987, 7(2): 288- 292
- [9] 方永奇, 邹衍衍, 李羚, 等. 芳香开窍药和祛痰药对中枢神经兴奋性的影响[J]. *中医药研究*, 2002, 18(3): 40-42
FANG Yong-qi, ZHOU Yan-yan, LI Ling, et al. Effects of FXKQY and QTY on CNS excitability [J]. *Research of Traditional Chinese Medicine*, 2002, 18(3): 40-42
- [10] Marking L L, Meyer F P. Are better anesthetics needed in fisheries [J]. *Fisheries*, 1985, 10(6): 2-5
- [11] Van Eenennaam J P, Bruch R, Kroll K. Sturgeon sexing, staging maturity and spawning induction workshop [C]// 4th International Sturgeon Symposium, Oshkosh, Wisconsin USA, 2001
- [12] 韩芳. 鲈鱼贮运过程中理化和质构变化的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011
HAN Fang. Studies on physicochemical parameters and texture changes of lateolabrax japonicus meat during storage and transportation [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011
- [13] 向建国, 何福林, 陈才, 等. MS-222 麻醉金鱼模拟运输试验[J]. *水利渔业*, 2005, 25(4): 13-15
XIANG Jian-guo, HE Fu-lin, CHEN Cai, et al. A simulation transport test by focusing golden fish with MS-222 [J]. *Reservoir Fisheries*, 2005, 25(4): 13-15
- [14] 周竹君, 宋智修, 周振红. 应用 MS-222 运输海水鱼初探[J]. *水利渔业*, 1999, 19(4): 54-55
ZHOU Zhu-jun, SONG Zhi-xiu, ZHOU Zhen-hong. Preliminary study on application of MS-222 in transportation of marine fish [J]. *Reservoir Fisheries*, 1999, 19(4): 54-55
- [15] Cooke S J, Suski C D, Ostrand K G, et al. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Aquaculture*, 2004, 239(1-4): 509-529
- [16] 魏锁成. 用于鱼类的麻醉剂及麻醉管理[J]. *西北民族大学学报: 自然科学版*, 2005, 26(1): 43-45

- WEI Suo-cheng. An esthetics and enesthesia management for fish [J]. J Northwest Univ. Nat., 2005, 26(1): 43-45
- [17] 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
- LIU Chang-lin, HE Li, CHEN Si-qing, et al. Review study of fish anesthesia [J]. Fishery Modernization, 2007, 34(5): 21-25
- [18] 张饮江,黎臻,谢文博,等.金鱼对低温、振动胁迫应激反应的试验研究[J].水产科技情报,2012,39(3):116-122
- ZHANG Yin-jiang, LI Zhen, XIE Wen-bo, et al. Experimental study on stress reaction of goldfish under low temperature and vibration stresses [J]. Fisheries Science & Technology Information, 2012, 39(3): 116-122
- [19] McFarland W N. A study of the effects of anaesthetics on the behaviour and physiology of fishes [J]. Marine Science Institute of University of Texas, 1959, 6: 23-55
- [20] 薛丽,谌小维,樊宏孝,等.冰片对长时连续作业大鼠前额叶皮层单胺类递质水平的影响[J].第三军医大学学报,2006, 28(18):1867-1869
- XUE Li, CHEN Xiao-wei, FAN Hong-xiao, et al. Effect of borneol on levels of monoamine neurotransmitters in Prefrontal cortex of rat after long-term continuous operations [J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2006, 28(18): 1867-1869
- [21] 廖国璋,庞世勋.MS-222 麻醉剂在鱼类运输中的应用[J].广东科技,1998,1:26-27
- LIAO Guo-zhang, PANG Shi-xun. Application of MS-222 anesthetic in fish transportation [J]. Guangdong Science & Technology, 1998, 1: 26-27
- [22] 何晓静,肇丽梅,刘玉兰,等.冰片注射液对小鼠实验性脑缺血的保护作用[J].广东药学院学报,2006,22(2):171-173
- HE Xiao-jing, ZHAO Li-mei, LIU Yu-lan, et al. Effects of borneol injection on experimental cerebral ischemia in mice [J]. Academic Journal Guangdong College of Pharmacy, 2006, 22(2): 171-173
- [23] 白艳龙,谭昭仪,邸向乾,等.黄颡鱼无水保活技术研究[J].食品工业科技,2013,34(1):334-337
- BAI Yan-long, TAN Zhao-yi, DI Xiang-qian, et al. Research of the keep-alive technology without water of yellow catfish [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(1): 334-337
- [24] 周玉,郭文场,杨振国,等.鱼类血液学指标研究的进展[J].上海水产大学学报,2001,10(2):163-165
- ZHOU Yu, GUO Wen-yang, YANG Zheng-guo, et al. Advances in the study of haematological indices of fish [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2001, 10(2): 163-165
- [25] 许源剑,孙敏.环境胁迫对鱼类血液影响的研究进展[J].水产科技,2010,3:27-31
- XU Yuan-jian, SUN Min. Research progress of effects of environmental stress on fish blood [J]. Fisheries Science & Technology, 2010, 3: 27-31
- [26] 王利娟,程守坤,张饮江,等.MS-222 在加州鲈鱼模拟运输中的麻醉效果[J].上海海洋大学学报,2015,24(2):235-241
- WANG Li-juan, CHENG Shou-kun, ZHANG Yin-jiang, et al. Anesthetic effects of MS-222 in simulated transportation of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2015, 24(2): 235-241
- [27] 张永嘉,吴泽阳,许其爵,等.网箱养殖罗非鱼综合症的血清分析[J].水利渔业,1994,2:8-9
- ZHANG Yong-jia, WU Ze-yang, XU Qi-jue, et al. Serum Analysis of cage aquaculture tilapia syndrome [J]. Reservoir Fisheries, 1994, 2: 8-9
- [28] 冯广朋,庄平,章龙珍,等.温度对中华鲟幼鱼代谢酶和抗氧化酶活性的影响[J].水生生物学报,2012,36(1):137-142
- FENG Guang-peng, ZHUANG Ping, ZHANG Long-zhen, et al. Effects of water temperature on metabolic enzyme and antioxidant activities in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser Sinensis*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36(1): 137-142
- [29] 冯敢生,郑传胜.中药白芨胶肝动脉栓塞治疗肝癌的应用研究[J].介入放射学杂志,1996,5(1):38-39
- FENG Gan-sheng, ZHENG Chuan-sheng. The research of traditional Chinese medicine bletilla glue hepatic artery embolization application on the treatment of liver cancer [J]. Journal of Interventional Radiology, 1996, 5(1): 38-39
- [30] BA Sardella, D Kültz. The physiological responses of green sturgeon (*Acipenser medirostris*) to potential global climate change stressors. [J]. Physiological & Biochemical Zoology, 2014, 87(3): 456-463