

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20210224001

http://www.yykxjz.cn/

王维鑫, 崔爱君, 徐永江, 李海宁, 柳学周, 王滨, 姜燕, 刘新富. MS-222 和丁香油对黄条鲮麻醉效果研究. 渔业科学进展, 2021, 42(6): 205-214

WANG W X, CUI A J, XU Y J, LI H N, LIU X Z, WANG B, JIANG Y, LIU X F. Anesthetic effect of MS-222 and clove oil on yellowtail kingfish. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(6): 205-214

MS-222 和丁香油对黄条鲮麻醉效果研究*

王维鑫^{1,2} 崔爱君² 徐永江^{2①} 李海宁³ 柳学周²
王滨² 姜燕² 刘新富²

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛海洋科学与技术试点国家实验室深蓝渔业工程联合实验室 山东 青岛 266071; 3. 东北林业大学生命科学学院 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要 黄条鲮(*Seriola aureovittata*)是一种全球水域广泛分布的具有长距离洄游特性的大型大洋性鱼类, 其生性凶猛、游泳速度快, 人工养殖条件下对环境刺激的应激反应强烈。为开发适宜黄条鲮实验和生产操作的低应激处理技术, 采用实验生态学、生理学手段, 首次研究了2种温度条件下(20℃和24℃)、2种麻醉剂(MS-222和丁香油)对1龄黄条鲮的麻醉效果, 通过行为判别与生理指标分析(皮质醇、肾上腺素和葡萄糖的水平), 确定了2种麻醉剂对黄条鲮的最适麻醉时间、复苏时间和麻醉剂量。根据黄条鲮麻醉和复苏时的行为特征, 将麻醉过程分为7个时期, 复苏过程分为6个时期。在水温为20℃和24℃时, MS-222麻醉黄条鲮的最佳浓度分别为100~120和100 mg/L, 而丁香油的最佳浓度均为40 mg/L。在此条件下, 实验鱼均可在3 min之内入麻, 5 min之内复苏。随着麻醉剂浓度的增加, 黄条鲮入麻时间呈缩短趋势, 复苏时间呈延长趋势。水温的升高降低了入麻时间, 而对复苏时间无明显影响。在水温20℃和24℃条件下, 40 mg/L的丁香油麻醉黄条鲮后, 血清皮质醇水平分别于6 h和12 h达峰值; 在水温24℃条件下, 100 mg/L的MS-222麻醉黄条鲮后, 血清肾上腺素水平于12 h达峰值, 其他各实验组血清肾上腺素、葡萄糖和皮质醇水平均在24 h达峰值。2种温度条件下, 实验鱼血清中3种应激相关生理指标在复苏72 h后均显著降低至初始水平以下。本研究结果可为制定规范化的黄条鲮实验与养殖生产操作技术提供参考依据。

关键词 黄条鲮; MS-222; 丁香油; 麻醉效果; 生理应答

中图分类号 S948 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2021)06-0205-10

黄条鲮(*Seriola aureovittata*)属鲈形目(Perciformes)、广泛分布、中上层暖温性、具有长距离洄游特性的大洋性经济鱼类(Chai *et al*, 2009)。黄条鲮在我国黄渤海科(Carangidae)、鲮属(*Seriola*), 是一种在全球水域

* 山东省支持青岛海洋科学与技术试点国家实验室重大科技专项(2018SDKJ0303-1)、国家重点研发计划项目(2019YFD0900901; 2018YFD0901204)、中国水产科学研究院创新团队(2020TD47)和财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系(CARS-47)共同资助 [This work was supported by Marine S&T Fund of Shandong Province for Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao) (2018SDKJ0303-1), National Key R&D Program of China (2019YFD0900901; 2018YFD0901204), Science and Technology Innovation Team of Chinese Academy of Fishery Sciences (2020TD47), and China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-47)]. 王维鑫, E-mail: wwxshou@163.com

① 通讯作者: 徐永江, 研究员, E-mail: xuyj@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2021-02-24, 收修改稿日期: 2021-03-31

海、东海和南海均有分布,因其生长速度快、个体大、肉质鲜嫩、营养丰富,深受广大消费者喜爱,具有广阔的市场前景和较高的经济价值。黄条鲮特别适宜深水网箱、工厂化循环水、工程化围栏和养殖工船等设施化生产方式,是我国发展深远海养殖的优良鱼类品种(柳学周等, 2017)。

黄条鲮游泳速度快,易受环境刺激而惊吓,尤其是在养殖生产过程中对其进行分池、倒池、运输、个体标记、生物学测量和人工采集精卵等操作时,鱼体会因剧烈挣扎而产生强烈的生理应激反应,容易导致鱼体受伤,甚至死亡,进而带来非生产性的经济损失。以往的科学实验和生产实践证明,科学合理地使用麻醉剂,能够最大程度地降低鱼体的应激反应,减轻对鱼体的伤害,提高成活率。近年来,麻醉剂已被广泛应用于鱼类的养殖生产和科学研究中,其中,MS-222和丁香油在国内外的应用最为广泛。丁香油的有效成分为丁香酚,其价格低廉,对鱼体无毒无害。相较于其他化学麻醉剂,丁香油作为鱼用麻醉剂不需要休药期(Kang *et al*, 2005)。MS-222是目前使用最广泛、最安全、最有效的水产麻醉剂,是经过美国食品药品监督管理局(FDA)认可的水产专用麻醉剂,对鱼体具有入麻和复苏时间快等特点(Mattson *et al*, 1989)。使用MS-222和丁香油作为麻醉剂用于鱼类的麻醉研究,国内外学者已有大量相关的报道,如暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*) (郝长杰等, 2019)、罗非鱼(*Tilapia mossambica*) (刘慧慧等, 2019)、黄斑篮子鱼(*Siganus oramin*) (曹晓聪等, 2019)、刀鲚(*Coilia nasus*) (严银龙等, 2016)、大口黑鲈(*Micropterus salmoides*) (王文豪等, 2018)、硬头鲮(*Salmon gairdneri*) (李乐等, 2019)、条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*) (杨敏等, 2013)、虹鲷(*Oncorhynchus mykiss*) (Bowman *et al*, 2019)、鲮鱼(*Silurus asotus*) (Park, 2019)、白梭吻鲈(*Sander lucioperca*) (Rozynski *et al*, 2019)、黄金鲈(*Perca flavescens*) (Zhai *et al*, 2018), 产生了良好的生产应用效果,大大降低了养殖鱼类的应激胁迫与死亡。目前,国内外尚未见对黄条鲮麻醉研究的相关报道。本实验通过研究MS-222丁香油2种麻醉剂在不同浓度、不同水温下对黄条鲮麻醉效果的影响,旨在探究黄条鲮对不同麻醉剂的行为和生理适应特性,为制定黄条鲮的养殖生产操作规范提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验于2019年8—10月在辽宁省大连富谷食

品有限公司完成。实验用鱼为规格均一、体质健康的1龄黄条鲮,平均全长为(36.2±1.3) cm,平均体质量为(636.3±90.3) g。实验开始前,实验鱼于容积为12 m³的圆形水泥池中暂养2周,水温为(17.0±0.5)℃,盐度为31~32,连续充气,溶解氧>6 mg/L,日换水率400%以上,并投喂海水鱼专用配合饲料。

实验所需MS-222标准品(纯度98%)和丁香油均购于国药集团化学试剂有限公司。为提高丁香油的溶解率,使用时按照丁香油:95%酒精=1:10的比例溶解于酒精,再溶于水。

1.2 麻醉和复苏过程分期及有效质量浓度确定

参考Woolsey等(2004)的研究,同时结合麻醉处理后黄条鲮的行为特征,对整个麻醉和复苏过程进行分期,将麻醉过程分为7期(A1~A7),将复苏过程分为6期(B1~B6)(表1)。

根据Marking等(1985)的研究结果,本研究中麻醉剂有效质量浓度标准定义为实验鱼在3 min内进入麻醉状态(达到A6期)、5 min内完全复苏(恢复至B6期)。实验鱼进入A7期麻醉状态后再持续3 min,然后转入清洁海水复苏,成活率为100%。

1.3 不同水温下MS-222和丁香油对黄条鲮的麻醉实验

在实验开始前,实验鱼饥饿24 h。实验容器为容积300 L的白色圆形塑料桶。设置温度为20℃和24℃,使用加热器控制水温(精确度为±1℃),MS-222浓度梯度为40、60、80、100和120 mg/L,丁香油浓度梯度为20、40、60、80、100和120 mg/L。麻醉实验开始前,先将暂养的鱼放到预先控制好温度(20℃和24℃)的水桶中适应2 h。每组随机选取5尾鱼,用于麻醉实验,观察每尾鱼的麻醉情况,分别记录每尾鱼达到不同麻醉状态(A1~A7期)所需要的时间。麻醉时间从实验鱼放入不同麻醉剂实验组(A1期)开始计时,至A6期结束,精确到秒。麻醉后的实验鱼,转移至清洁海水中复苏,分别记录每尾鱼达到不同复苏状态(B1~B6期)所需要的时间,复苏时间从实验鱼放入清洁海水中开始计时,至实验鱼行为达B6期状态时结束,精确到秒。

1.4 血液样品采集与血清激素指标测定

根据1.3的实验结果,选择容积300 L的白色圆形塑料桶为实验容器,配制100 mg/L的MS-222实验组和40 mg/L的丁香油实验组。实验开始前,将实验鱼饥饿24 h。实验开始后,在20℃和24℃下对黄条鲮进行麻醉,每个温度下、每个浓度组各放置10尾鱼,

表 1 黄条鲮麻醉和复苏阶段分期

Tab.1 Stages of anesthesia and resuscitation of yellowtail kingfish

阶段 Stage	行为特征 Behavior characteristics
麻醉 Anesthesia A1	正常游动, 鳃盖也运动正常 Normal swimming; opercular movement and normal general movement
麻醉 Anesthesia A2	游动速度减慢, 左右摇摆 Swimming speed slowed; rolling from side to side
麻醉 Anesthesia A3	鱼体部分失去平衡, 游动不稳定 Partial loss of equilibrium; swimming erratic
麻醉 Anesthesia A4	完全失去平衡, 胸鳍, 腹鳍和背鳍运动停止 Complete loss of equilibrium; pectoral fin, pelvic fin and dorsal fin movement stop
麻醉 Anesthesia A5	较镇静, 尾鳍和臀鳍运动停止 Little sedation; anal fin and tail fin movement stop
麻醉 Anesthesia A6	完全镇静, 仅有鳃盖运动 Perfect sedation; only opercular movement
麻醉 Anesthesia A7	鳃盖运动停止 Opercular movement ceased
复苏 Recovery B1	鳃盖恢复运动 Resume opercular movement
复苏 Recovery B2	胸鳍和尾鳍的优先运动 Preferential movement of pectoral fin and tail fin
复苏 Recovery B3	背鳍、腹鳍和臀鳍运动 Dorsal fin, pelvic fin and anal fin movement
复苏 Recovery B4	侧卧到直立开始翻滚运动 Swimming perfectly inside out
复苏 Recovery B5	游动不稳定, 恢复平衡 Swimming erratic; redress the balance
复苏 Recovery B6	正常游动, 视觉刺激反应正常 Normal swimming; responsiveness to visual stimuli

表 2 不同丁香油浓度和水温对黄条鲮麻醉时间和复苏时间的影响

Tab.2 Effects of different clove oil concentrations and water temperatures on anesthetic time and recovery time of yellowtail kingfish

剂量 Dose /($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	麻醉时间 Anesthetic time /s		复苏时间 Recovery time /s	
	20℃	24℃	20℃	24℃
20	335±63.2 ^a	269±98.6 ^a	589±129.6 ^b	361±77.9 ^{ab}
40	104±34.6 ^b	102±31.7 ^b	315±88.7 ^a	324±22.6 ^a
60	91±24.2 ^b	79±8.5 ^b	595±72.4 ^b	430±75.7 ^{bc}
80	76±6.1 ^b	74±10.2 ^b	547±71.4 ^b	464±81.4 ^c
100	112±50.9 ^b	74±10.1 ^b	577±86.8 ^b	512±30.7 ^c
120	61±15.1 ^b	71±7.4 ^b	709±70.4 ^b	741±92.9 ^d

注: 同一列不同小写字母表示不同处理组之间具有显著性差异($P<0.05$)。下同

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between different treatment groups ($P<0.05$). The same as below

表 3 不同 MS-222 浓度和水温对黄条鲮麻醉时间和复苏时间的影响

Tab.3 Effects of different concentrations of MS-222 and water temperature on anesthetic time and recovery time of yellowtail kingfish

剂量 Dose /($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	麻醉时间 Anesthetic time /s		复苏时间 Recovery time /s	
	20℃	24℃	20℃	24℃
40	—	—	112±52.9 ^a	87±5.1 ^a
60	—	616±87.2 ^a	261±34.1 ^b	186±1.4 ^b
80	255±7.1 ^a	284±16.5 ^b	153±16.6 ^a	286±42.4 ^c
100	152±16.1 ^b	126±2.2 ^c	250±73.3 ^b	211±29.6 ^b
120	139±5.8 ^b	81±2.8 ^c	283±53.9 ^b	361±93.3 ^d

注: “—”表示在此浓度和温度条件下, 麻醉状态达不到 A6 阶段

Note: “—” indicates that the anesthesia cannot reach A6 stage under this concentration and temperature condition

每次随机取3尾实验鱼进行静脉血液采集,分别于麻醉开始前(0 h)及麻醉后转入清洁海水中复苏1、2、6、12、24、48和72 h采集样品,每尾鱼每次在1 min内快速抽取1 mL血液,然后将实验鱼放回桶中。对照组未使用麻醉剂处理,其他操作同实验组。血液样本在室温下静置10 min后,4℃、4000 r/min离心10 min,提取血清并保存在-80℃冰箱。血清中皮质醇、肾上腺素采用ELISA法测定,葡萄糖采用比色法测定,试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,具体测定方法按照试剂盒说明书进行。

1.5 数据处理

实验数据均使用Excel 2016和SPSS 24.0软件进行处理。利用单因素方差分析法(one-way ANOVA)和Duncan多重分析法对麻醉时间、复苏时间和血清激素和葡萄糖水平进行显著性分析,同一时间点2种不同温度(20℃和24℃)条件下血清激素和葡萄糖水平采用成对样本*t*检验,所有结果以平均值±标准差(Mean±SD)表示,显著性水平*P*设定为0.05,当*P*<0.05时认为差异显著。

2 结果

2.1 不同水温下麻醉剂有效浓度的确定

2种温度条件下丁香油和MS-222对黄条鲫的麻醉效果见表2和表3。在水温20℃和24℃下,丁香油浓度>20 mg/L、MS-222浓度>80 mg/L时,实验鱼达A6期的平均时间<3 min;丁香油浓度为40 mg/L、MS-222浓度<120 mg/L时,实验鱼达到B6期的平均时间<5 min。在水温20℃下,MS-222浓度为120 mg/L时,实验鱼达到B6期的时间也<5 min。所有实验组的实验鱼入麻后再在A7状态下持续麻醉3 min,成活率均为100%。由此,确定2种水温条件下丁香油麻醉黄条鲫的最佳浓度均为40 mg/L,MS-222的最佳麻醉浓度分别为100~120 mg/L(20℃)、100 mg/L(24℃)。同一水温条件下,随着麻醉剂浓度的增加,实验鱼进入A6期的时间缩短,而恢复至B6期的复苏时间延长。

2.2 不同水温下麻醉剂的效果

在同一麻醉浓度条件下,水温的升高使实验鱼进入A6期麻醉状态的时间缩短,而对复苏时间没有明显影响(表2和表3)。在2种不同水温下,丁香油浓度为20 mg/L时,实验鱼进入A6期的时间与其他各浓度均存在显著性差异(*P*<0.05),其他各浓度组之间无显著性差异(*P*>0.05),而MS-222浓度为100 mg/L

和120 mg/L时,实验鱼进入A6期的时间无显著性差异(*P*>0.05),而与其他各浓度组之间均有显著性差异(*P*<0.05)。MS-222浓度为40 mg/L时,实验鱼在2种水温下都不能进入A6期麻醉状态;MS-222浓度为60 mg/L时,20℃水温下实验鱼仅能达到A5期状态,而24℃水温条件下实验鱼可达A6期麻醉状态。

不同的水温下,麻醉时间与复苏时间之比随丁香油浓度的升高整体呈下降趋势,至120 mg/L降到最低。水温为20℃时,丁香油浓度为20 mg/L和40 mg/L时与其他各浓度组均有显著性差异;24℃时,仅有20 mg/L与其他各浓度组存在显著性差异(*P*<0.05),其他浓度组之间无显著性差异(*P*>0.05)(图1)。不同的水温下,随着MS-222浓度的增加,麻醉时间与复苏时间之比显著降低(*P*<0.05),MS-222浓度为100 mg/L和120 mg/L时,二者之间无显著性差异(*P*>0.05),而与其他各浓度组均有显著性差异(*P*<0.05)(图2)。

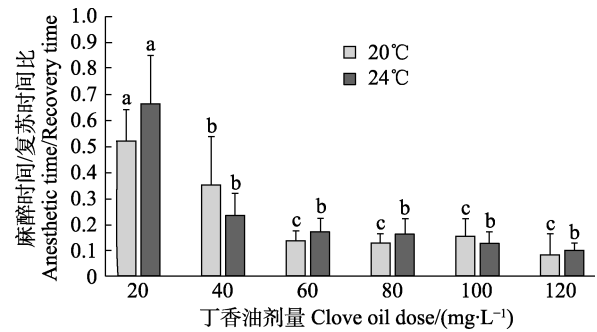


图1 不同水温与丁香油浓度下黄条鲫的麻醉时间/复苏时间比

Fig.1 The ratio of anesthetic time/resuscitation time at different water temperatures and clove oil concentrations of yellowtail kingfish

不同字母表示组间具有显著性差异。下同
Different letters indicate significant differences among groups. The same as below

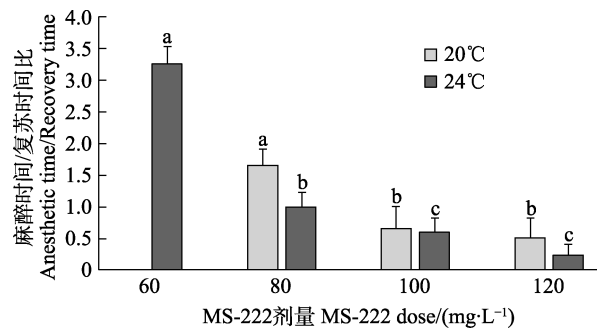


图2 不同水温与MS-222浓度下黄条鲫的麻醉时间/复苏时间比

Fig.2 The ratio of anesthetic time/resuscitation time at different water temperatures and MS-222 concentrations of yellowtail kingfish

2.3 不同水温下血清激素水平对麻醉剂的响应

实验开始前, 20℃下对照组实验鱼血清肾上腺素水平为(59.17±0.5006) pg/mL, 24℃下对照组血清肾上腺素水平为(60.36±0.2212) pg/mL。在 2 种温度条件下, 2 种麻醉剂处理的实验鱼复苏 1 h 后, 血清肾上腺素水平均显著升高($P<0.05$)(图 3A、B; 图 4A、B)。在 2 种温度条件下, 丁香油麻醉处理的实验鱼复苏后, 实验鱼血清肾上腺素水平均在 24 h 达峰值, 与其他各组均差异显著($P<0.05$)(图 3A、B)。MS-222 麻醉处理的实验鱼复苏后, 20℃下血清肾上腺素水平在 24 h 达峰值, 与其他各组差异显著($P<0.05$)(图 4A), 24℃下血清肾上腺素水平在 12 h 达峰值, 且与其他各组差异显著($P<0.05$)(图 4B)。在 2 种温度条件下, 丁香油和 MS-222 麻醉和复苏处理的实验鱼, 血清肾上腺素水平呈先上升后下降的趋势, 且高温组比低温组的肾上腺素水平上升快且恢复也快, 复苏 72 h 后均恢复到对照组水平以下(图 3A、B; 图 4A、B)。

实验开始前, 20℃下对照组黄条鲫血清葡萄糖水平为(40.38±0.4782) mol/L, 24℃下对照组血清葡萄糖水平为(40.45±0.7045) mol/L。在 2 种温度下, 2 种麻醉剂处理的实验鱼复苏 1 h 后, 血清葡萄糖水平显著

升高($P<0.05$)(图 3C、D; 图 4C、D)。20℃条件下, 丁香油麻醉的实验鱼复苏后 1~6 h 内, 血清葡萄糖水平升高缓慢, 且彼此无显著差异($P>0.05$)(图 3C); 而 MS-222 麻醉复苏后 6 h, 血清葡萄糖水平略有降低(图 4C)。24℃条件下, 丁香油麻醉的实验鱼复苏后 2 h, 血清葡萄糖水平降低(图 3D); 而 MS-222 麻醉复苏后 6 h, 血清葡萄糖水平降低(图 4D)。在 2 种温度条件下, 丁香油和 MS-222 麻醉处理的实验鱼复苏后, 血清葡萄糖水平在 24 h 均达峰值, 与其他各组差异显著($P<0.05$), 血清葡萄糖水平呈先上升后下降的趋势, 且高温组比低温组实验鱼血清葡萄糖水平上升快、下降也快, 复苏 72 h 后均恢复到对照组水平以下(图 3C、D; 图 4C、D)。

实验开始前, 20℃下对照组黄条鲫血清皮质醇水平为(4566.40±32.6385) ng/L, 24℃下对照组血清皮质醇水平为(5492.79±27.5517) ng/L。2 种温度下, 2 种麻醉剂处理的实验鱼复苏 1 h 后, 血清皮质醇水平显著升高($P<0.05$)(图 3E、F; 图 4E、F)。20℃条件下, 丁香油麻醉的实验鱼复苏后 6 h, 血清皮质醇水平达到峰值(图 3E); 而 MS-222 麻醉复苏后 6~12 h, 血清皮质醇水平略有降低, 经过 24 h 后达到峰值(图 4E)。24℃

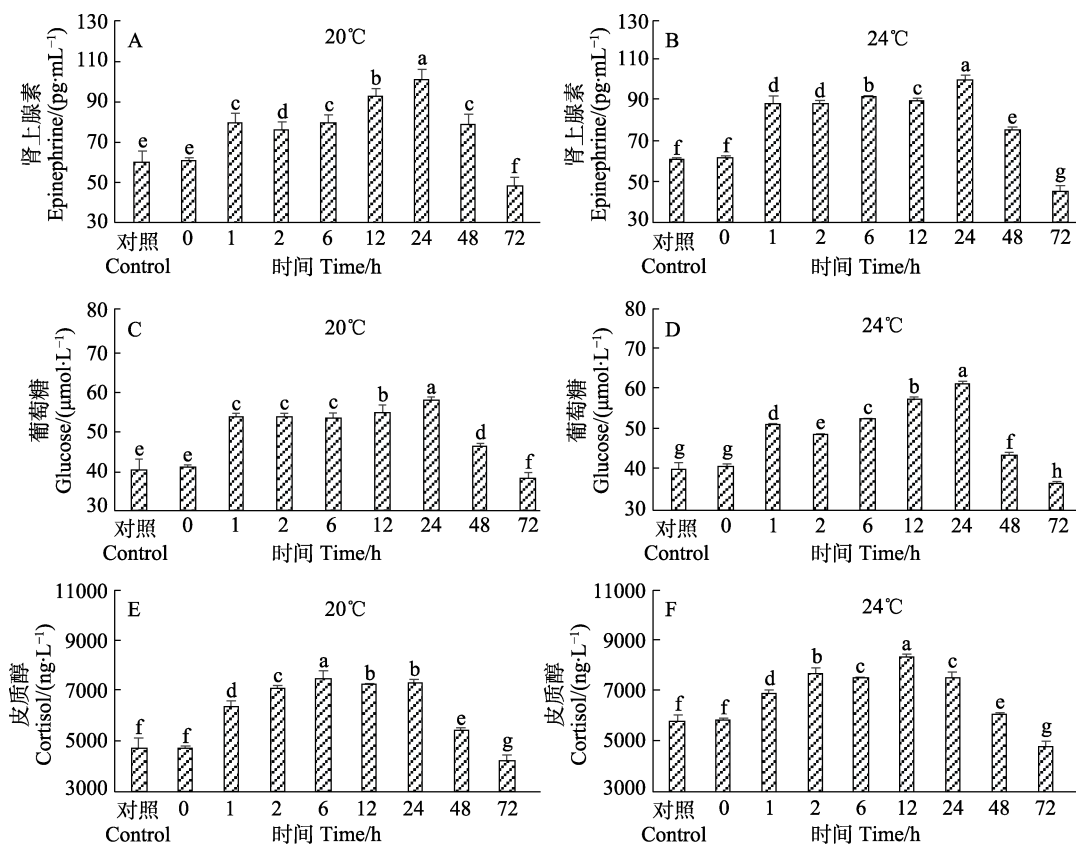


图 3 不同温度下丁香油麻醉后黄条鲫血清内激素含量变化

Fig.3 Changes of serum hormone levels in yellowtail kingfish after clove oil treatment under different temperatures

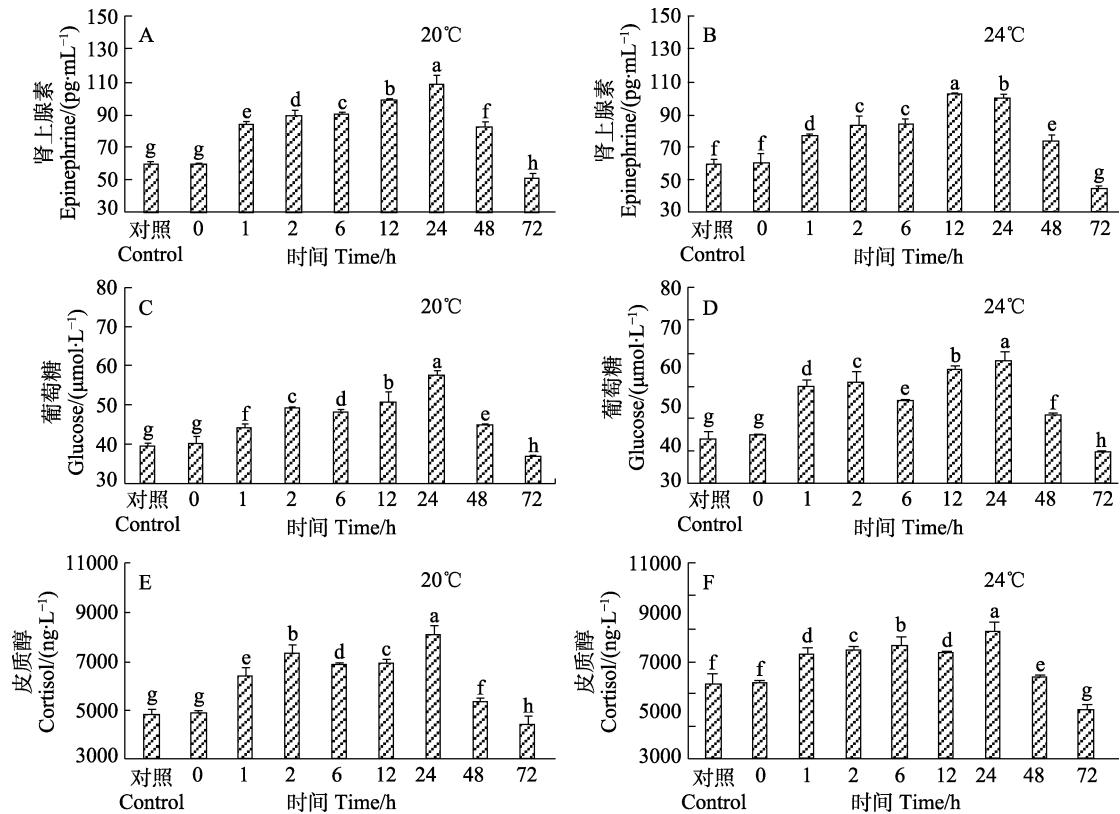


图4 不同温度下MS-222麻醉后黄条鲷血清内激素含量变化

Fig.4 Changes of serum hormone levels of yellowtail kingfish after MS-222 treatment under different temperatures

条件下,丁香油麻醉的实验鱼复苏后12 h,血清皮质醇水平达到峰值(图3F);而MS-222麻醉复苏后24 h,血清皮质醇水平达到峰值(图4F)。在2种温度条件下,丁香油和MS-222麻醉和复苏处理后,实验鱼血清皮质醇水平呈先上升后下降的趋势,且低温度组比高温组实验鱼血清皮质醇水平上升快、下降也快,复苏72 h后均恢复到对照组水平以下(图3E、F;图4E、F)。

3 讨论

3.1 麻醉剂的有效浓度和麻醉效果

麻醉剂的主要作用是抑制大脑皮质的中枢神经系统,从而对鱼体产生一定的麻痹作用,在面对外界环境胁迫的刺激时,降低鱼体应激反应,达到生理保护作用(Devi *et al.*, 2019)。因此,麻醉剂的浓度直接影响鱼类的麻醉效果,浓度过低起不到抗应激作用,浓度过高则容易导致鱼体受到生理胁迫伤害,甚至休克死亡。因此,在对鱼类进行不同的生产操作时需要明确不同的给药剂量,合适的麻醉浓度有利于生产操作,还能起到保活运输作用(Chanseau *et al.*, 2002)。

本研究结果显示,MS-222和丁香油对黄条鲷均具有较好的麻醉效果,随着2种麻醉剂浓度的增加,

黄条鲷入麻时间整体呈缩短趋势,而复苏时间整体呈延长趋势。这与对许氏平鲷(*Sebastes schlegeli*) (关键等, 2010)、大龙六线鱼(*Hexagrammos otakii*) (胡发文等, 2017)、鲢鱼(Park, 2019)等的研究结论一致。本研究结果表明,丁香油浓度为20 mg/L以上时,实验鱼均能够进入A6期麻醉状态,但20 mg/L丁香油麻醉处理的实验鱼复苏时间较长,可能与实验鱼个体的生理状态、代谢水平以及在麻醉液中的入麻时间过长有关。20°C条件下,MS-222浓度为40 mg/L和60 mg/L时,实验鱼无法达到A6期麻醉状态。而在24°C条件下,仅40 mg/L组不能进入A6期麻醉状态。因此,选择不同麻醉剂麻醉黄条鲷时,应选择适宜的麻醉浓度、麻醉时间和麻醉水温。水温分别为20°C和24°C时,MS-222对黄条鲷麻醉的浓度分别为100~120 mg/L和100 mg/L,丁香油浓度为40 mg/L,鱼体均可在3 min之内入麻,且在5 min之内复苏,可以将其确定为适宜的有效麻醉浓度。

3.2 水温对黄条鲷麻醉效果的影响

水温是影响麻醉剂对鱼类麻醉效果的关键因子之一,随着水温的升高,鱼体新陈代谢加快,呼吸频率上升,麻醉剂经过鳃丝渗透进入鱼体的速率随之加

快。Marking 等(1985)认为,在相同的麻醉浓度下,随着水体温度的升高,入麻时间相应缩短,鱼体到达最终麻醉状态的时间也随之缩短,这一观点被广泛接受。本研究中,随着温度升高,2种麻醉剂作用下黄条鲮达到 A6 期麻醉状态所需的时间减少,这与先前的研究报道一致。李乐等(2019)对硬头鳊、张涛等(2014)对四指马鲛鱼(*Eleutheronema rhadinum*)、管敏等(2020)对中华鲟(*Acipenser sinensis*)的研究结果也证实了这一点。

与温度对麻醉时间的影响不同的是,温度对鱼类麻醉后的复苏时间的研究结果却存在着分歧。部分学者研究认为,随着水温的增加,同一麻醉浓度下处理的实验鱼复苏时间明显延长,如对斑点叉尾鲟(*Ictalurus punctatus*)(张民强等,2014)、硬头鳊(李乐等,2019)、四指马鲛鱼(张涛等,2014)的研究。也有学者发现,随着水温的降低,麻醉处理的实验鱼复苏时间也会增加,如泥鳅(*Misgurnus anguillicau datus*)(包杰等,2014)、孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)(包杰等,2016)、杂交鲟(*Acipenser schrenckii* ♀ × *Acipenser baerii* ♂)(王昊龙等,2016)。本研究中,相同麻醉剂浓度下,随着温度的升高,黄条鲮的复苏时间无明显差异,这与赵明等(2010)对圆斑星鲈(*Verasper variegatus*)、管敏等(2020)对中华鲟的研究结果相似。水体温度对鱼类麻醉后复苏时间的影响可能与鱼种的适应温度、生活习性、规格大小和成熟度等有密切的关系。关于温度对麻醉效果影响的生理与分子机理,有待于进一步研究。

3.3 MS-222 和丁香油对黄条鲮血清生理指标的影响

皮质醇是衡量鱼体应激程度的常见指标,鱼体受到外界刺激后,下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴应答刺激,下丘脑分泌促肾上腺皮质激素增多,进而引起垂体分泌的促肾上腺皮质激素水平大幅升高,该激素会促进皮质醇的分泌增加(高仁法等,2020)。鱼类肾上腺激素均来自于前肾间组织,是鱼体初级应激反应中的重要产物。其在血清中的含量不仅能够判断应激是否发生和应激的程度,还可以用于判断鱼体的敏感性,因此,常用作量化鱼体应激反应的指标(丁晨雨,2018)。本研究结果显示,黄条鲮麻醉复苏后,血清中激素水平均在 24 h 达峰值(20℃、24℃下丁香油处理后血清皮质醇激素水平分别于 6 h、12 h 后达峰值,24℃下 MS-222 处理 12 h 后肾上腺皮质激素水平达峰值),表明黄条鲮 1 龄鱼对 2 种麻醉剂的生理应答过程类似。同时,麻醉处理的实验鱼在清水复苏 72 h 后血清中皮质醇和肾上腺素水平降低至对照组水平以下,表明在 2 种温度条件下,MS-222 和丁香油麻醉

处理的实验鱼血清中皮质醇水平均能恢复到初始水平,这也与 Park 等(2009)对条石鲷、李伟业等(2018)对东海带鱼(*Trichiurus haumela*)、高仁法等(2020)对鹦鹧鱼(*Amphilophus*)的研究结论一致。但 Park 等(2009)对条石鲷麻醉的研究表明,鱼体经过清水复苏仅 24 h,血清皮质醇就恢复到麻醉前的水平,丁晨雨(2018)对鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)的研究也发现,麻醉复苏后 24 h,血清肾上腺素水平就恢复到对照组水平,这种恢复时间的差异与鱼种的生活习性、生理状态、代谢水平以及应激水平等因素密切相关。黄条鲮作为大型海洋性鱼类,其应激反应较于其他鱼类更加剧烈,因此,在生产或者实验操作中,科学使用麻醉剂并降低养殖鱼的应激反应显得尤为重要。

葡萄糖是反映鱼体应激水平的一个重要生理指标,易受环境因子的影响而变化,通常运动能力强的鱼类比运动能力弱的鱼类体内的葡萄糖值高。Barton 等(1991)指出,鱼体受到应激反应后,首先体内皮质醇水平会先升高,而后机体为了维持内环境稳态,血糖代谢加快,葡萄糖水平后升高。Chang 等(1999)对鲮鱼(*Mugil cephalus*)的研究也证实了这一点。而本研究结果显示,麻醉处理再复苏后,黄条鲮血清葡萄糖和皮质醇水平同时升高,而后又同时降低,且在清水复苏 72 h 后,血清葡萄糖水平降低至对照组水平以下。而刘霞等(2018)对俄罗斯鲟(*Acipenser gueldenstaedti*)和 Park 等(2009)对条石鲷的研究发现,鱼体经过 24 h 就恢复到初始水平。另有研究表明,MS-222 麻醉东海带鱼(李伟业等,2018)和史氏鲟(*Acipenser schrenckii*)(冯广朋等,2010)复苏后,血清葡萄糖水平却呈现逐渐降低的趋势,这与本研究结果不相符。这种差异可能与麻醉剂量、处理方式以及不同鱼种的生理代谢水平和对应激的应答程度不同有关,值得开展深入的比较探讨分析。

综上所述,2种温度条件下,MS-222 和丁香油麻醉处理的实验鱼血清中皮质醇、肾上腺素和葡萄糖均能在 72 h 后恢复到初始水平,相较于其他鱼类,黄条鲮作为一种大型游泳性鱼类更易受到惊扰和胁迫,且适应性恢复时间较长,因此,在养殖生产和实验操作以及运输过程中,应更加注重操作的平缓 and 谨慎,以最达限度降低对鱼体的刺激和胁迫。

参 考 文 献

- BAO J, FENG F, YU Y H, *et al.* Study on the anesthetic effect of clove oil on *Poecilia reticulata*. *Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary*, 2016(6): 162-163 [包杰, 冯帆, 于业辉, 等. 丁香油对孔雀鱼麻醉效果的研究. 黑龙江畜

- 牧兽医, 2016(6): 162–163]
- BAO J, JIANG H B, LU H Y, *et al.* Study on the anesthetic effect of clove oil on *Misgurnus anguillicaudatus*. Journal of Shenyang Agricultural University, 2014, 45(5): 621–624 [包杰, 姜宏波, 卢焕云, 等. 丁香油对泥鳅麻醉效果的研究. 沈阳农业大学学报, 2014, 45(5): 621–624]
- BARTON B A, IWAMA G K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases, 1991, 1: 3–26
- BOWMAN J, HJELMSTEDT P, GRÄNS A. Non-invasive recording of brain function in rainbow trout: Evaluations of the effects of MS-222 anaesthesia induction. Aquaculture Research, 2019, 50(11): 3420–3428
- CAO X C, HUANG X L, SUN X Y, *et al.* Study on the anesthetic effect of eugenol on juvenile *Siganus canaliculatus*. Southern Fisheries Science, 2019, 15(3): 50–56 [曹晓聪, 黄小林, 孙莘溢, 等. 丁香酚对黄斑篮子鱼幼鱼麻醉效果的研究. 南方水产科学, 2019, 15(3): 50–56]
- CHAI X, LI X, LU R, *et al.* Karyotype analysis of the yellowtail kingfish *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae) from South Australia. Aquaculture Research, 2009, 40(15): 1735–1741
- CHANG Y J, HUR J W. Physiological responses of grey mullet (*Mugil cephalus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by rapid changes in salinity of rearing water. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1999, 32(3): 310–316
- CHANSEAU M, BOSCH S, GALIAY E, *et al.* The use of clove oil as anesthetic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and comparison of its effects with those of 2-phenoxyethanol. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture (France), 2002, 75(3): 579–589
- DEVI A A, KAMILYA D. Efficacy and effects of clove oil and MS-222 on the immune-biochemical responses of juvenile rohu *Labeo rohita*. Aquaculture Research, 2019, 50(3): 957–963
- DING CY. Physiological response of *Hypophthalmichthys molitrix* to carbon dioxide anesthetic and its mechanism. Master's Thesis of Southwest University, 2018 [丁晨雨. 鲢对二氧化碳麻醉的生理响应及其机理研究. 西南大学硕士学位论文, 2018]
- FENG G P, XU B, ZHUANG P, *et al.* Effects of chemical anesthetic and electric anesthesia on blood parameters of *Acipenser schrencki*. Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(20): 10731–10733, 1075 [冯广朋, 徐滨, 庄平, 等. 化学麻醉与电麻醉对史氏鲟幼鱼血液指标的影响. 安徽农业科学, 2010, 38(20): 10731–10733, 1075]
- GAO R F, LIU Y, CHEN S C, *et al.* The anesthetic effect of MS-222 on *Amphilophus*. Modern Agricultural Science and Technology, 2020(16): 172–174 [高仁法, 刘毅, 陈书畅, 等. MS-222 对鹦哥鱼的麻醉效果研究. 现代农业科技, 2020(16): 172–174]
- GUAN J, GUAN S G, ZHENG Y Y, *et al.* Experimental study on the anesthetic effect of 2-phenoxyethanol and eugenol on juvenile *Sebastes schlegelii*. Progress in Fishery Sciences, 2010, 31(6): 22–28 [关键, 官曙光, 郑永允, 等. 2-苯氧乙醇和丁香酚对许氏平鲷幼鱼麻醉效果的实验研究. 渔业科学进展, 2010, 31(6): 22–28]
- GUAN M, ZHANG D Z, RAO J, *et al.* The effect of temperature on the anesthetic effect of juvenile *Acipenser sinensis*. Journal of Ecology, 2020(2): 576–585 [管敏, 张德志, 饶军, 等. 温度对中华鲟(*Acipenser sinensis*)幼鱼麻醉效果的影响. 生态学杂志, 2020(2): 576–585]
- HAO C J, ZHUANG P, ZHAO F, *et al.* Comparative study on the anesthetic effects of MS-222 and eugenol on juvenile *Takifugu obscurus*. Marine Fisheries, 2019, 41(5): 546–554 [郝长杰, 庄平, 赵峰, 等. MS-222 和丁香酚对暗纹东方鲀幼鱼麻醉效果的比较研究. 海洋渔业, 2019, 41(5): 546–554]
- HU F W, LI L, LIU Y W, *et al.* The anesthetic effect of clove oil and MS-222 on juvenile *Hexagrammos otakii*. Journal of Dalian Ocean University, 2017, 32(6): 671–675 [胡发文, 李莉, 刘元文, 等. 丁香油和 MS-222 对大泷六线鱼幼鱼的麻醉效果. 大连海洋大学学报, 2017, 32(6): 671–675]
- KANG E J, KIM E M, KIM Y J, *et al.* Effect of lidocaine hydrochloride and clove oil as an anaesthetic on Korean rose bitterling, *Rhodeus uyekii* and oily bitterling, *Acheilognathus korensis*. Journal of Aquaculture, 2005, 18(4): 272–279
- LI L, FAN Y, WANG X L, *et al.* The anesthetic effect of MS-222 on juvenile steelhead, *salmon gairdneri* at different temperatures. Journal of Ocean University of China (Natural Science), 2019, 49(3): 155–160 [李乐, 樊英, 王晓璐, 等. 不同温度下 MS-222 对硬头鲑幼鱼的麻醉效果. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2019, 49(3): 155–160]
- LI W Y, XU Z J, LIU M H, *et al.* Study on the anesthesia effect of MS-222 on juvenile *Trichiurus lepturus* in the East China Sea. Journal of Dalian Ocean University, 2018, 33(5): 589–594 [李伟业, 徐志进, 柳敏海, 等. MS-222 对东海带鱼幼鱼的麻醉效果研究. 大连海洋大学学报, 2018, 33(5): 589–594]
- LIU H H, ZOU R J, LIU X J, *et al.* The effect of eugenol on reducing the stress of *Oreochromis mossambicus*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2019, 35(8): 141–145 [刘慧慧, 邹荣婕, 刘小静, 等. 丁香酚对降低罗非鱼捕捉应激的作用. 中国农学通报, 2019, 35(8): 141–145]
- LIU X Z, XU Y J, LI R, *et al.* Analysis and evaluation of the nutritional composition of *Seriola aureovittata*. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(1): 128–35 [柳学周, 徐永江, 李荣, 等. 黄条鲷(*Seriola aureovittata*)肌肉营养组成分析与评价. 渔业科学进展, 2017, 38(1): 128–135]
- LIU X, GAO Q, CHEN M K, *et al.* Effects of MS-222 on blood biochemical indicators of juvenile *Acipenser gueldenstaedti*. Hebei Fisheries, 2018(11): 6–10 [刘霞, 高乔, 陈明康, 等.

- MS-222 对俄罗斯鲟幼鱼血液生化指标的影响. 河北渔业, 2018(11): 6–10]
- MACIEJ R, MAREK H, KONRAD S, *et al.* Impact of fish size, water temperature, and MS-222 concentration on inducing general anesthesia in pikeperch (*Sander lucioperca*). Aquaculture Research, 2018, 49(8): 2774–2781
- MARKING L L, MEYER F P. Are better anesthetics needed in fisheries? Fisheries, 1985, 10(6): 2–5
- MATTSON N S, RIPLE T H. Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gadus morhua*) in comparison with benzocaine, MS-222, chlorobutanol, and phenoxyethanol. Aquaculture, 1989, 83(1/2): 89–94
- PARK I S. The anesthetic effects of clove oil and MS-222 on far eastern catfish, *Silurus asotus*. Development and Reproduction, 2019, 23(2): 183–191
- PARK M O, IM S Y, SEOL D W, *et al.* Efficacy and physiological responses of rock bream, *Oplegnathus fasciatus* to anesthetization with clove oil. Aquaculture, 2009, 287(3/4): 427–430
- ROZYNSKI M, ZIOMEK E, DEMSKAZAKÉŠ K, *et al.* Impact of inducing general anaesthesia with MS-222 on haematological and biochemical parameters of pikeperch (*Sander lucioperca*). Aquaculture Research, 2019, 50(8): 2125–2132
- WANG H L, XU H, AN M, *et al.* The anesthetic effect of MS-222 on juvenile hybrid sturgeon and simulated transportation experiment. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 2016, 35(1): 40–44 [王昊龙, 徐弘, 安苗, 等. MS-222 对杂交鲟幼鱼的麻醉效果及模拟运输试验. 山地农业生物学报, 2016, 35(1): 40–44]
- WANG W H, DONG H B, SUN Y X, *et al.* The anesthetic effect of MS-222 and eugenol in simulated transportation of juvenile *Micropterus salmoides*. Southern Fisheries Science, 2018, 14(6): 52–58 [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. 南方水产科学, 2018, 14(6): 52–58]
- WOOLSEY J, HOLCOMB M, INGERMANN R L. Effect of temperature on clove oil anesthesia in Steelhead fry. North American Journal of Aquaculture, 2004, 66(1): 35–41
- YAN Y L, SHI Y H, ZHANG H M, *et al.* The anesthetic effects of MS-222 and eugenol on juvenile *Coilia nasus*. Journal of Shanghai Ocean University, 2016, 25(2): 177–182 [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. 上海海洋大学学报, 2016, 25(2): 177–182]
- YANG M, WANG J T, HAN T, *et al.* The effect of MS-222 on cold stress response of *Oplegnathus fasciatus* and the choice of optimal anesthesia concentration at room temperature. Aquatic Science and Technology Information, 2013, 40(5): 258–262 [杨敏, 王骥腾, 韩涛, 等. MS-222 对条石鲷冷应激反应的影响及室温下最佳麻醉浓度的选择. 水产科技情报, 2013, 40(5): 258–262]
- ZHAI S W, SHEPHERD B S, YANG S, *et al.* Efficacy of tricaine methanesulfonate (MS-222) as an anesthetic agent for short-term anesthesia in juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). Israeli Journal of Aquaculture, 2018, 70: 1515–1525
- ZHANG M Q, WANG K Y, WANG J, *et al.* The effect of MS-222 on *Ictalurus punctatus* anesthesia. Fisheries Science and Technology Information, 2014, 41(1): 21–25 [张民强, 汪开毓, 王均, 等. MS-222 对斑点叉尾鲷麻醉效果的研究. 水产科技情报, 2014, 41(1): 21–25]
- ZHANG T, YANG Y, HOU J L, *et al.* Anesthetic effect of MS-222 and eugenol on *Eleutheronema tetradactylum* fingerlings. Fishery Information and Strategy, 2014, 29(2): 136–142 [张涛, 杨阳, 侯俊利, 等. MS-222、丁香酚对多鳞四指马(鲛)幼鱼麻醉效果的研究. 渔业信息与战略, 2014, 29(2): 136–142]
- ZHAO M, LIU X Z, XU Y J, *et al.* Study on the effect of MS-222 anesthetizing adult *Verasper variegatus*. Advances in Marine Science, 2010, 28(4): 531–537 [赵明, 柳学周, 徐永江, 等. MS-222 麻醉圆斑星鲈成鱼效果研究. 海洋科学进展, 2010, 28(4): 531–537]

(编辑 冯小花)

Anesthetic Effect of MS-222 and Clove Oil on Yellowtail Kingfish

WANG Weixin^{1,2}, CUI Aijun², XU Yongjiang^{2①}, LI Haining³, LIU Xuezhou²,
WANG Bin², JIANG Yan², LIU Xinfu²

(1. School of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Joint Laboratory for Deep Blue Fishery Engineering of Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, Shandong 266071, China;

3. College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040, China)

Abstract Yellowtail kingfish *Seriola aureovittata* is a globally distributed, circumtropical pelagic fish of importance in both commercial fisheries and aquaculture. It swims fast and has fierce behavior under artificial culture conditions. To develop a suitable manipulation technique with low stress for yellow tail kingfish, the anesthetizing effects of two anesthetics, MS-222 and clove oil, on one-year-old yellowtail kingfish under different temperature conditions (20°C and 24°C) were studied. The optimal anesthesia times, recovery times, and anesthesia dosages of the two anesthetics were determined based on the discrimination of swimming behavior and investigation of serum hormones levels, including cortisol, adrenaline, and glucose. According to the behavioral characteristic changes of the yellowtail kingfish during anesthesia and recovery, the anesthesia process was divided into seven stages, whereas the recovery process was divided into six stages. The results showed that the optimal concentrations for MS-222 for anesthetizing yellowtail kingfish were 100~120 mg/L and 100 mg/L at water temperatures of 20°C and 24°C, respectively. For clove oil, the optimal concentration for anesthetizing yellowtail kingfish was 40 mg/L at both temperatures. All the experimental yellowtail kingfish were anaesthetized within three minutes and recovered within five minutes. By increasing the anesthetic concentration, the time for the yellowtail kingfish to enter anesthesia was reduced and the recovery time prolonged. The increase in water temperature reduced the time to enter anesthesia, but had no obvious effect on the recovery time. When anesthetized with 40 mg/L clove oil at 20°C and 24°C, serum cortisol significantly peaked at 6 h and 12 h, respectively ($P<0.05$). At 24°C, the serum adrenaline level significantly peaked at 12 h ($P<0.05$) in yellowtail kingfish anesthetized with 100 mg/L of MS-222. The levels of serum adrenaline, glucose, and cortisol in the other experimental groups all significantly peaked after 24 h ($P<0.05$) in fish anesthetized using both anesthetics. Under the two temperature conditions, the two anesthetics caused the three serum hormone levels to all decrease significantly ($P<0.05$) to low levels that were lower than the initial levels after 72 h of recovery, indicating that yellowtail kingfish could be physiologically adaptive to the optimal treatment methods of clove oil and MS-222 under different temperatures. The results from the present study provide theoretical and technical support for the development of standard experimental and farming management technology for yellowtail kingfish.

Key words Yellowtail kingfish; MS-222; Clove oil; Anesthetic effect; Physiological response

① Corresponding author: XU Yongjiang, E-mail: xuyj@ysfri.ac.cn