

二氧化碳麻醉对罗非鱼生理及品质的影响

袁圆玥^{1,2}, 岑剑伟^{2,3}, 李来好², 杨贤庆², 黄 卉², 魏 涯², 郝淑贤²,
赵永强², 王悦齐², 林 织⁴

1. 上海海洋大学, 上海 201306
2. 中国水产科学研究院南海水产研究所/农业农村部水产品加工重点实验室, 广东 广州 510300
3. 大连工业大学/海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 辽宁 大连 116034
4. 广东顺欣海洋渔业集团有限公司, 广东 阳江 529800

摘要: 采用二氧化碳(CO₂)对罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)进行麻醉处理以减少其由操作过程引起的应激反应, 分析了麻醉及复苏过程中罗非鱼生理及鱼肉品质的变化。探索不同处理温度的麻醉效果, 确定了罗非鱼CO₂麻醉的最佳温度为15℃, 麻醉用时(101±18)s, 复苏用时(134±23)s。CO₂麻醉引起了罗非鱼血清皮质醇(COR)含量、血糖(GLU)浓度、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)和碱性磷酸酶(ALP)活性的显著升高, 复苏后显著降低。糖原(GLY)含量显著降低, 肝乳酸(LD)含量在麻醉复苏后达到最高点。麻醉使鱼体肌乳酸含量显著升高, 胁迫解除后显著下降。麻醉后观察到罗非鱼肝脏丙二醛(MDA)含量升高, 而超氧化物歧化酶(SOD)活性、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性、总抗氧化能力(T-AOC)降低。鱼片硬度、胶着性、咀嚼性受CO₂麻醉影响显著, 复苏24 h后可恢复到对照水平, 弹性水平基本保持稳定。研究表明, 短时饱和CO₂处理可以有效快速麻醉罗非鱼, 麻醉处理引起了罗非鱼机体的氧化应激反应, 胁迫解除后鱼体生理状态可得到恢复。

关键词: 罗非鱼; 二氧化碳麻醉; 血清指标; 代谢指标; 氧化应激

中图分类号: S 983

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Effect of carbon dioxide anesthesia on physiology and quality of tilapia

YUAN Yuanyue^{1,2}, CEN Jianwei^{2,3}, LI Laihao², YANG Xianqing², HUANG Hui², WEI Ya², HAO Shuxian²,
ZHAO Yongqiang², WANG Yueqi², LIN Zhi⁴

1. Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China
2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/Key Laboratory of Aquatic Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510300, China
3. Dalian Polytechnic University/Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian 116034, China
4. Guangdong Shunxin Ocean Fishery Group Co. Ltd., Yangjiang 529800, China

Abstract: We used carbon dioxide (CO₂) to anesthetize tilapia (*Oreochromis niloticus*) to reduce the stress response caused by operation, and analyzed the changes of physiology and meat quality of tilapia during anesthesia and resuscitation. By studying the anesthetic effects of different treatment temperatures, we found that the optimal temperature for CO₂ anesthesia of tilapia

收稿日期: 2021-08-26; 修回日期: 2021-12-03

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(CARS-46); 广州市科技计划项目(202002030199); 中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助(2020CY03); 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项(2019YFD0901601); 广东省现代农业产业技术体系海水鱼产业创新项目(2019KJ143); “扬帆计划”引进创新创业团队专项(2015YT02H109); 中国水产科学研究院基本科研业务费(2020TD73); 海南省自然科学基金面上项目(321MS099)

作者简介: 袁圆玥(1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产品加工与质量安全、水产品保鲜保活。E-mail: 1041986801@qq.com

通信作者: 李来好(1963—), 男, 研究员, 博士, 从事水产品加工与质量安全、食品生物技术研究。E-mail: laihao@163.com

was 15 °C; the duration of anesthesia was (101±18) s; the duration of resuscitation was (134±23) s. The serum indexes of hydrocortisone (COR), blood glucose (GLU), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) increased significantly after anesthesia, but decreased after resuscitation. The glycogen (GLY) content decreased significantly after anesthesia, while the lactic acid (LD) content in liver reached the maximum value after resuscitation. The LD content in muscle increased during anesthesia but decreased when the stress was relieved. High malondialdehyde (MDA) content but low superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and total antioxidant capacity (T-AOC) activity were observed during anesthesia. The hardness, adhesiveness and chewiness of the fillets were significantly affected by anesthesia, but could recover to the control group's level after 24 h, with stable flexibility. In conclusion, tilapia can be anesthetized effectively and quickly after CO₂ anesthesia treatment; anesthesia treatment causes oxidative stress response of tilapia; and the physiological state of tilapia can be restored after stress was relieved.

Keywords: *Oreochromis niloticus*; Carbon dioxide anesthesia; Serum index; Metabolic index; Oxidative stress

罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 富含优质蛋白和不饱和脂肪酸, 肉鲜刺少, 价格低廉, 深受广大消费者喜爱。2021 年中国渔业统计年鉴数据显示, 2020 年罗非鱼养殖产量达到 165.54 万吨, 是我国主要淡水养殖水产品之一^[1]。鱼类极易受不良环境因素影响而产生应激反应, 罗非鱼体侧高, 背鳍发达, 当受到外界刺激时, 鳍棘会竖起以防御, 具有一定的攻击性, 易对操作者和鱼体造成伤害, 不利于罗非鱼的流通、运输操作。为了减缓活鱼运输、包装、检查采样、转移搬运等流通环节引起的应激反应, 减少鱼体损伤, 提高操作便捷性及成活率, 通常采用麻醉技术抑制其神经系统并减弱对环境变化的敏感性, 降低鱼的活动能力, 使其新陈代谢处于低水平, 减少应激反应带来的负面影响。在众多麻醉剂中, 间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐 (MS-222)、丁香酚和二氧化碳 (CO₂) 常用于水产品领域, 但药用麻醉处理剂会在鱼体内富集, 多国明确规定了 MS-222、丁香酚等化学麻醉剂在鱼体内的最大残留量和休药期, 合规方可销售和食用^[2]。早在 1943 年, 已有学者提出将 CO₂ 作为麻醉剂^[3]。丁亚涛^[4] 研究发现, CO₂ 可以降低鳊鱼 (*Parabramis pekinensis*) 在运输时的生理生化反应, 延长保活时间。Oliveira 等^[5] 研究表明, CO₂ 可减轻细鳞鲷 (*Piaractus mesopotamicus*) 的生理应激。CO₂ 麻醉处理具有成本低、体内无残留、无药物消退期等优点, 且在通风条件下对于操作人员和环境均无伤害, 是一种安全、理想的药用麻醉剂替代品。本文主要探索了 CO₂ 麻醉罗非鱼的装备及技术条件, 研究 CO₂ 对罗非鱼的麻醉效果, 及其对罗非鱼的血清生化、呼吸代谢、氧化应激、肌肉质构特性等指标的影响, 为 CO₂ 麻醉在鱼类长途运输操作和

抗应激中的研究及应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

罗非鱼购于广州大江苑农贸市场, 体质量为 (700±100) g, 停食暂养于 50 L 水箱中 24 h, 暂养期间保持水体清洁及氧气泵正常工作, 保证供氧充足。

糖原、乳酸、丙二醛、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、总抗氧化能力测试盒均购自南京建成生物工程有限公司, 鱼皮质醇 ELISA 试剂盒购自江苏酶免实业有限公司。

1.2 仪器与设备

SF203000A 冷水机 (苏州肯道节能设备公司)、温度传感器 (上海 DFRobot 公司)、pH 电极传感器 (上海 DFRobot 公司)、Multi3630 IDS 便携式多参数水质分析仪 (德国 WTW 公司)、Synergy 全功能酶标仪 (美国 BioTek 公司)、CT3 质构仪 (美国 Brookfield 公司)、BS-800M 全自动生化分析仪 (深圳迈瑞生物医疗公司); 麻醉装置由麻醉桶、微孔曝气管、耐压导气管、二氧化碳减压阀、液化二氧化碳钢瓶组成 (图 1)。复苏装置由复苏池、气泵、气石等器件组成。

1.3 实验方法

1.3.1 实验步骤

微孔曝气管呈螺旋状均匀铺设于直径为 38 cm、高度 54 cm 的麻醉桶底部, 以气压 0.4 Mpa 向其中持续充入 CO₂, CO₂ 经耐压导气管到微孔曝气管进入水体, 得到 pH 为 4.7~5.0、溶解氧未检出的 CO₂ 饱和溶液, 并以 0.1 Mpa 气流持续通入 CO₂ 以维持饱和状态, 获得麻醉液。将罗非鱼转移至麻醉液中进行麻醉实验, 观察不同水温对鱼体的麻醉效果差

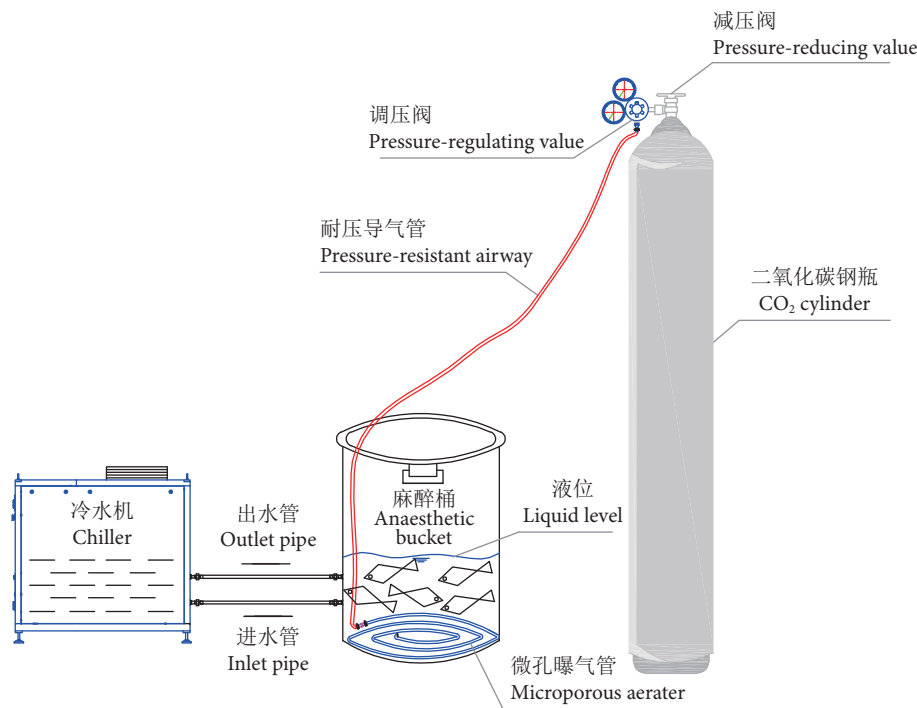


图1 二氧化碳麻醉装置示意图

Fig. 1 Schematic of CO₂ anesthesia device

异。麻醉完毕后，迅速将罗非鱼转移至复苏池进行复苏，复苏池溶解氧质量浓度为 8.30~9.30 mg·L⁻¹，水温为 20~25 ℃，并持续打氧，评价复苏效果。抽取不同阶段的样品，检测麻醉-复苏罗非鱼的血清生化指标、代谢产物指标、氧化应激指标、肌肉质构特性指标。

1.3.2 不同水温对 CO₂ 麻醉罗非鱼效果的影响

参照罗晶晶等^[6]和高仁法等^[7]的方法并稍作修改，本试验将麻醉程度分为 4 个阶段 (A1—A4)，复苏程度分为 4 个阶段 (R1—R4)。用抄网将停食暂养的鱼转移到麻醉液中浸泡，当鱼出现中度麻醉 (A3 期) 至深度麻醉 (A4 期) 反应现象，表明罗非鱼进入麻醉状态。麻醉时间从鱼体被放入 CO₂ 麻醉液开始计时至从麻醉液中捞出结束，复苏时间为麻醉的罗非鱼放入清水开始到 R4 期 (表 1)。

准备 5 个水箱，在鱼、水质量比为 1 : 2 的条件下，使用循环水冷机调整水温梯度为 5、10、15、20、25 ℃，制备好麻醉液。随机选取罗非鱼进行麻醉实验，每个温度 5 尾，平行 5 次，记录麻醉时间，麻醉完毕后将罗非鱼打捞至复苏池中进行复苏实验，记录复苏时间和复苏率，并记录 24 和 48 h 的成活率。

1.3.3 实验取样

以暂养状态下的罗非鱼为对照组，以 15 ℃ 麻

表1 罗非鱼在不同麻醉阶段和复苏阶段的行为特征

Table 1 Behavioral characteristics of tilapia at different anesthesia and resuscitation stages

阶段 Stage	行为特征 Behavioral characteristics
A1	保持平衡，游动正常，触觉灵敏，鳃盖张合频率正常
A2	保持平衡，不停游动，鱼头探出水面，鳃盖张合的频率下降
A3	平衡困难，尾部间或摆动，触觉大部分丧失，呼吸困难
A4	鱼体完全翻倒，尾部停止摆动，沉在底部，触觉丧失，呼吸停止
R1	呼吸逐渐恢复，鳃盖开始振动，但不能翻身游动
R2	身体部分平衡恢复，鳃盖振动趋于恒定，运动恢复
R3	鱼体平衡完全恢复，触觉恢复
R4	鱼体行为完全恢复正常

醉的罗非鱼为麻醉组，以 15 ℃ 麻醉并复苏的罗非鱼为复苏组，以 15 ℃ 麻醉后复苏存活 24 h 的罗非鱼为复苏 24 h 组，对比 4 组罗非鱼生理指标的变化。

对照组、麻醉组、复苏组、复苏 24 h 组中各取 3 尾鱼，置于冰盘上，断尾取血，全血不加抗凝剂，常温静置待血液凝固后 4 ℃ 冷藏过夜，当血清自然析出，以 4 ℃、3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min，取上层血清，保存备用。采血后迅速取肝脏和鱼背部

肌肉, 用生理盐水充分漂洗吸干水分后保存备用。

1.3.4 生理生化指标的测定

血清生化指标的测定: 谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT)、碱性磷酸酶 (ALP)、血糖 (Glu) 使用血液生化自动分析仪, 皮质醇 (COR) 含量使用南京建成生物工程有 限公司的皮质醇 ELISA 试剂盒, 对血清样品进行测定。

代谢产物指标的测定: 糖原 (GLY)、乳酸 (LD) 含量的测定使用南京建成生物工程有 限公司的糖原测定试剂盒和乳酸试剂盒, 对肌肉和肝脏样品进行测定。

氧化应激指标的测定: 丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、总抗氧化能力 (T-AOC) 使用南京建成生物工程有 限公司的测定试剂盒, 对肝脏样品进行测定。

肌肉质构特性指标测定: 将鱼背部肌肉修整为 8 cm×3 cm×1 cm 的鱼片, 使用 Brookfield LFRA-100 型质构仪及 P/44 平底圆柱形探头测定硬度、胶着性、咀嚼性、弹性, 在质地多面剖析 (TPA) 模式下循环压缩 2 次, 测试速度为 1 mm·s⁻¹, 触发点负载为 5.0 g, 下压距离 5 mm。每组取鱼片 6 片, 每片取 8 点进行测试。

1.4 数据分析

实验数据利用 Microsoft Excel 2010 和 JMP Pro14 软件进行统计分析, 均值比较采用独立样本

t 检验, 单因素方差分析采用 LSD 法, 数据以 “平均值±标准误 ($\bar{X}\pm SE$)” 表示, 差异显著的标准为 *P*<0.05。使用 Origin 2021 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同水温对 CO₂ 麻醉罗非鱼效果的影响

不同水温条件下 CO₂ 对罗非鱼的麻醉效果见表 2。在 15 ℃ 下 CO₂ 饱和溶液中, 罗非鱼的麻醉时间约为 101 s, 5、10、20 ℃ 需约 150 s 才能进入麻醉状态, 25 ℃ 则需约 326 s。不同麻醉温度条件处理后, 罗非鱼均可 100% 复苏成活, 罗非鱼在 15 ℃ 下 CO₂ 饱和溶液处理组的复苏时间约为 134 s, 其他处理组罗非鱼的复苏时间介于 251~396 s。CO₂ 作为麻醉剂对罗非鱼无致死作用, 5 组温度条件麻醉的罗非鱼 48 h 仍可存活。有研究认为, 理想的麻醉效果应是麻醉和恢复均较为迅速^[8]。本实验选择 15 ℃ 作为最佳麻醉处理温度, 在 15 ℃ 水温条件下 CO₂ 饱和溶液中相比其他处理组的麻醉用时和复苏用时均最短。本实验采用的曝气材料为纳米微孔管, 通气时微孔曝气管均匀扩张, 以 0.4 Mpa 向其中持续充气, 麻醉液 pH 值接近 5, 溶解氧浓度为 0 mg·L⁻¹, 表明麻醉液达到饱和状态, CO₂ 在水中呈现烟雾飘散状态, 与水的接触面增大, 上浮速度慢, CO₂ 溶解效果均匀, 提高了 CO₂ 的利用率。

表2 不同温度下二氧化碳麻醉罗非鱼的效果
Table 2 CO₂ anesthesia effect on tilapia at different temperatures

温度 Temperature/℃	麻醉时间 Anesthesia time/s	复苏时间 Resuscitation time/s	复苏率 Resuscitation rate/%	24 h 成活率 24 h survival rate/%	48 h 成活率 48 h survival rate/%
5	144±25 ^{bc}	349±27 ^a	100	100	100
10	151±26 ^b	251±24 ^b	100	100	100
15	101±18 ^c	134±23 ^c	100	100	100
20	153±24 ^b	258±24 ^b	100	100	100
25	326±33 ^a	397±36 ^a	100	100	100

注: 同列中标有不同字母者表示组间有显著性差异 (*P*<0.05), 标有相同字母者表示组间无显著性差异 (*P*>0.05), 下同。
Note: The values with different letters within the same column are significantly different (*P*<0.05), and those with the same letter are not (*P*>0.05). The same below.

2.2 CO₂ 麻醉对罗非鱼血清生化指标的影响

当鱼类遭受环境因子的胁迫时, 下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPA 轴) 兴奋性提高, 肾上腺分泌压力激素^[9-10]。在众多压力激素中, 皮质醇与胁迫因子的关系最为密切。多项研究表明, 皮质醇是应激反应的灵敏指标。齐红莉等^[11]对美洲鲈 (*Alosa sapi-*

dissima) 施加胁迫后发现, 其皮质醇含量迅速增加了约 48 倍。由图 2 可知, 经饱和 CO₂ 胁迫后的罗非鱼皮质醇质量浓度为 (89.97±3.78) ng·mL⁻¹, 与对照组相比显著升高, 复苏组和复苏 24 h 组与对照组无显著性差异, 但较麻醉组罗非鱼的皮质醇显著降低。CO₂ 环境胁迫激活了罗非鱼 HPA 轴, 促使

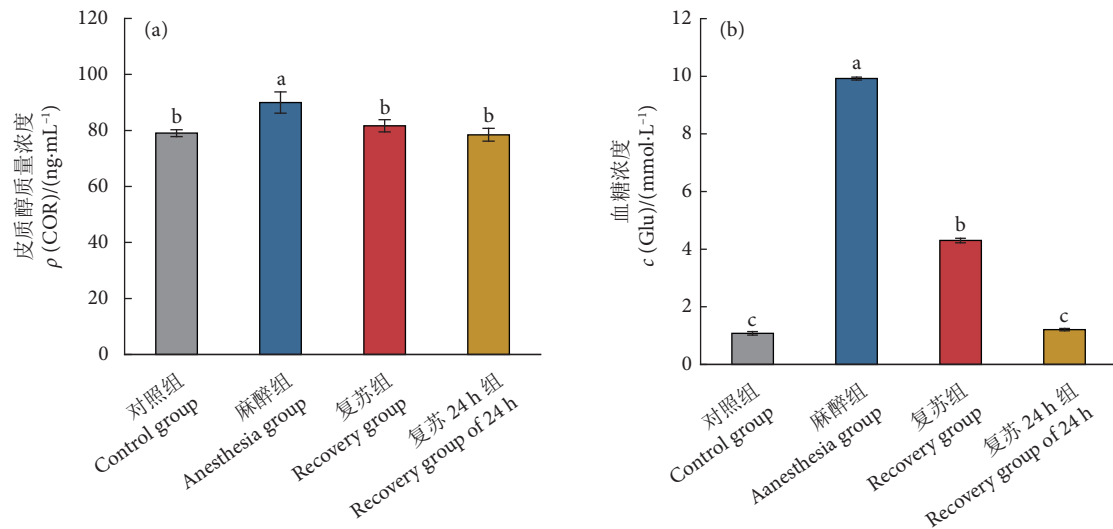


图2 二氧化碳麻醉对血清皮质醇和血糖浓度的影响

Fig. 2 CO₂ anesthesia effect on concentration of serum cortisol and blood glucose

皮质醇大量分泌,从而应对压力,罗非鱼皮质醇在胁迫解除后恢复到对照组水平。HPA轴是神经内分泌系统的重要部分,具有一套负反馈机制,大量的皮质醇又可以通过负反馈调节,抑制HPA轴继续产生压力激素^[12]。麻醉组血糖浓度为 $(9.92 \pm 0.05) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,显著高于其余实验组,出现典型的应激性高血糖症,高血糖可以给鱼体提供足够的能量以抵抗低氧环境。范兴^[13]研究了CO₂麻醉对罗非鱼和卵形鲳鲅(*Trachinotus ovatus*)离水保活的影响,结果表明,麻醉组样本血清皮质醇、血糖高于非麻醉组。血糖呈先升后降趋势与皮质醇一致,皮质醇属于一种糖皮质激素,可以增加肝糖原的合成,抑制组织对葡萄糖的利用,从而导致血糖上升^[14]。

对照组、麻醉组、复苏组、复苏24h组罗非鱼血清AST、ALT、ALP活性均呈现先上升后降低的趋势,变化显著(图3)。AST和ALT是鱼体新陈代谢过程中必不可少的“催化剂”。AST主要存在于心肌组织,其次是肝组织,ALT主要存在于肝脏组织细胞中。鱼体健康的状态下,AST和ALT在血清中的含量很低,当这两种酶活性变化时,表示肝脏组织和心肌组织受损。与其余实验组相比,麻醉组罗非鱼两种酶活性显著升高,可能是由于饱和CO₂水体对罗非鱼造成的胁迫致使鱼体肝脏组织和心肌组织损伤严重,细胞坏死或细胞膜通透性增加,导致AST和ALT被大量释放入血,引起血清中酶活性显著升高^[15]。复苏组罗非鱼两种酶活性较麻醉组均显著降低,但较对照组均显著升高,这可能是由于复苏组水中氧气充足,环境胁迫得到缓

解,但肝功能和心肌功能未完全恢复。复苏24h组AST、ALT活性低于麻醉组,但显著高于对照,说明鱼体自然恢复24h后,肝功能和心肌功能有一定程度缓解。

ALP广泛存在于各组织器官中,主要由肝脏合成分泌,也可以指示肝损伤。ALP是一种在碱性环境下能够去磷酸化的水解酶,参与机体生理代谢,加速物质的摄取和转运,参与调节机体磷代谢,为ADP磷酸化为ATP提供更多的无机磷,也是非特异性免疫系统重要的水解酶^[16]。麻醉组罗非鱼ALP活性显著高于对照组、复苏组和复苏24h组,提示麻醉处理对罗非鱼造成肝损伤,也间接反映鱼体免疫系统增强。但复苏组、复苏24h组ALP较对照组显著降低,有可能是ALP通过保持低活性来降低机体组织细胞的生理活动。

2.3 CO₂麻醉对罗非鱼代谢物质含量的影响

实验组罗非鱼糖原含量较对照组显著下降(图4)。糖原主要存在于肝脏和骨骼肌中,是鱼体储备的重要能源物质,抵抗胁迫时加速分解为机体供能。麻醉组、复苏组肝糖原显著低于初始状态,说明在无氧或低氧条件下,鱼体需要大量能量以抵抗胁迫因子对自身的伤害,此时将加速糖原的分解代谢^[17]。麻醉组、复苏组肌糖原含量较对照组显著下降,说明肌肉的无氧酵解过程被启动以提供能量,并伴随乳酸和ATP生成^[18]。复苏24h组肌糖原较麻醉组、复苏组显著增加,而复苏24h组肝糖原较麻醉组、复苏组显著降低,说明复苏24h罗非鱼主要是通过肝糖原的降解为机体供能。有研

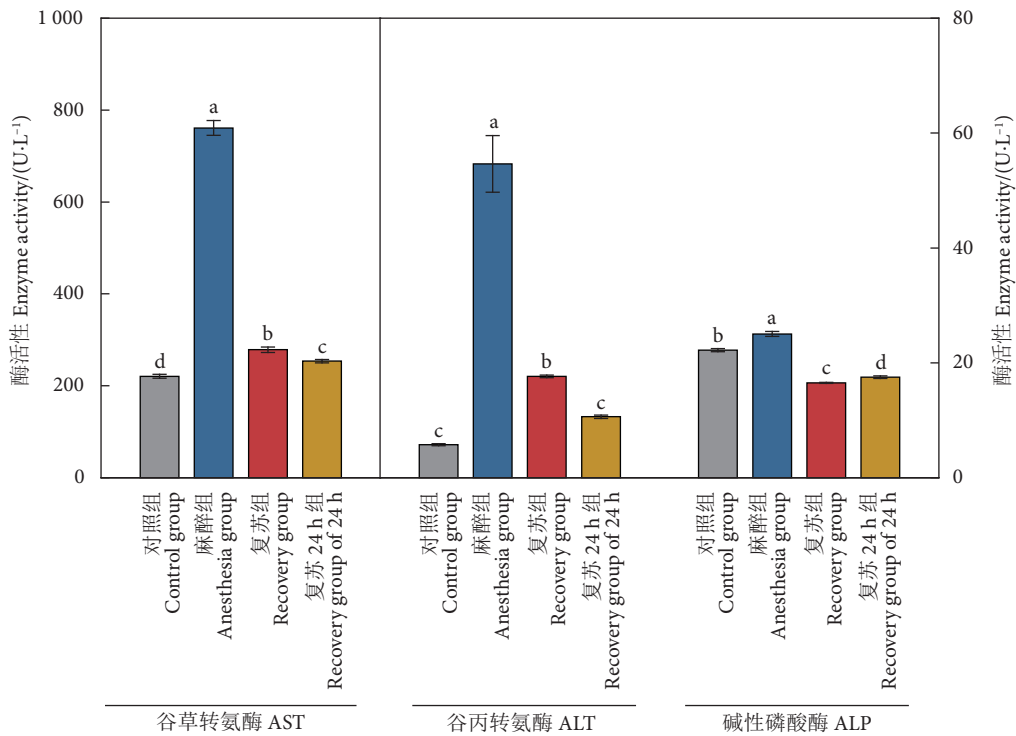


图3 二氧化碳麻醉对血清谷草转氨酶、谷丙转氨酶和碱性磷酸酶活性的影响

Fig. 3 CO₂ anesthesia effect on activities of serum aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase

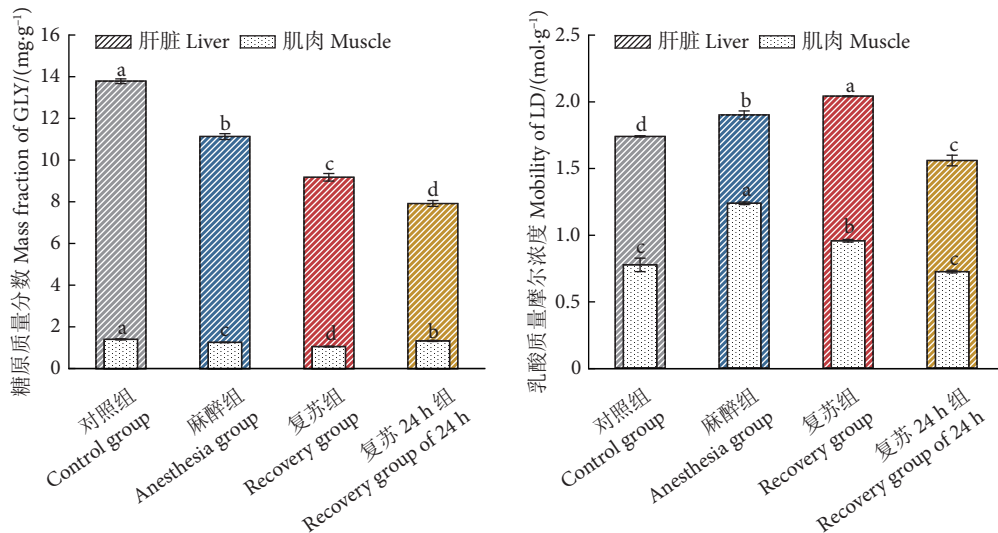


图4 二氧化碳麻醉对代谢物质含量的影响

Fig. 4 CO₂ anesthesia effect on content of metabolites

究表明, 饥饿胁迫状态下鱼优先动用肝脏内的储能物质作为能源, 通过肝糖原分解和糖异生作用维持血糖平衡^[19]。

罗非鱼乳酸含量先上升后下降 (图 4)。乳酸是葡萄糖发生无氧酵解的产物, 当组织处于应激反应或无氧环境时, 线粒体三羧酸循环中的丙酮酸不能有氧氧化而还原为乳酸。在麻醉过程中, 罗非鱼在缺氧状态的麻醉液中反应激烈, 糖酵解产生的乳酸是无氧呼吸的最终产物, 因此, 麻醉状态的罗非鱼

乳酸含量显著高于初始水平。本实验观察到, 复苏组罗非鱼在复苏过程中会出现快速游动甚至撞壁的现象, 可能是鱼体感受到环境从无氧到有氧的快速变化, 肌肉运动增强, 产生乳酸, 结果显示复苏组乳酸含量显著高于复苏 24 h 组。复苏 24 h 期间, 氧气充足, 鱼体恢复正常, 运动较少, 乳酸参与细胞和生物体的各项生命活动, 含量降低。复苏组罗非鱼肝乳酸含量较麻醉组显著上升, 而复苏组罗非鱼肌乳酸含量较麻醉组显著下降, 可能是由于复苏

需要大量能量, 肝脏通过血液摄取肌肉中的乳酸, 在乳酸脱氢酶的作用下进一步分解为 H_2O 和 CO_2 , 为鱼体提供能量^[20]。金一春等^[21] 在研究 CO_2 麻醉对白斑狗鱼 (*Esox lucius*) 的影响中发现, 相较麻醉前, 复苏后白斑狗鱼肝糖原显著降低, 肝乳酸显著升高, 与本实验结果一致。

2.4 CO_2 麻醉对罗非鱼氧化应激指标的影响

4 组罗非鱼肝脏中 MDA 水平呈现先上升后下降的趋势 (图 5)。正常生理条件下, 由抗氧化酶系统和抗氧化物质组成的抗氧化体系具有一定的修复能力, 不断消除自由基, 使自由基的产生及消除处于动态平衡, 而低氧胁迫会使机体发生氧化应激, 产生过量自由基^[22-23]。MDA 是过量的自由基与生物膜上的不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的终产物^[24]。麻醉组、复苏组 MDA 含量均显著高于对照组, 表明麻醉过程极度缺氧使罗非鱼产生了大量氧自由基, 且复苏组罗非鱼体内仍有大量氧自由

基。而复苏 24 h 组 MDA 含量较复苏组、麻醉组显著下降, 说明复苏 24 h 过程中鱼体的脂质过氧化程度得到一定缓解。为了抵抗自由基伤害, 机体需合成各类抗氧化酶和抗氧化物质以减轻鱼体的氧化损伤, 称之为氧化应激, 这是机体自我保护的一种机制^[25]。

4 组罗非鱼肝脏中 SOD、GSH-Px、T-AOC 均呈现先下降后上升的趋势 (图 5)。SOD 和 GSH-Px 等抗氧化酶是生物体抗氧化的第一道防线, SOD 可以有效清除氧自由基, 同时产生过氧化氢, GSH-Px 可以分解氢过氧化物, 也可以分解 MDA^[26]。麻醉组罗非鱼 SOD、GSH-Px 活性较对照组显著下降, 可能是由于鱼体不适应环境从有氧到无氧的快速变化, 抗氧化酶的活性下降, 整体代谢水平低, 另外, 鱼体通过消耗自身 SOD、GSH-Px 以抵抗氧化应激。将罗非鱼重新放入高溶氧量的复苏环境中, 鱼体抗氧化酶作用被激活, 复苏组、复苏 24 h 组 SOD 活性较麻醉组显著上升。复苏组、复苏 24 h 组 GSH-Px 活性较麻醉组也显著上升, 可能是由于 SOD 不足以完全清除过量的自由基, 需要大量 GSH-Px 的协同作用。

T-AOC 是一个体系内的各种抗氧化大分子、抗氧化小分子和酶的总体水平。对照组、麻醉组、复苏组 T-AOC 的变化趋势与 SOD、GSH-Px 的变化趋势基本一致。麻醉组 T-AOC 较对照组显著降低, 这可能是因为 CO_2 麻醉罗非鱼时, 鱼体积累了许多自由基, 机体不足以抵抗自由基。复苏组、复苏 24 h 组 T-AOC 与对照组无显著性差异, 进一步说明复苏组罗非鱼抗氧化体系被激活。复苏 24 h 后, 鱼体总抗氧化能力回升至对照组水平, 由 CO_2 麻醉对罗非鱼引起的氧化损伤可在 24 h 自然复苏后得到恢复。

2.5 CO_2 麻醉对罗非鱼肌肉质构特性指标的影响

对照组、麻醉组、复苏组、复苏 24 h 组罗非鱼背部肌肉的硬度呈先上升后下降的趋势, 弹性无显著性差异 (图 6)。麻醉组罗非鱼片的硬度显著高于其余实验组 ($P < 0.05$)。重度低氧胁迫时, 蛋白质分子内或分子间发生交联作用, 蛋白分子结构稳定性提高, 肌原纤维蛋白的降解被抑制, 影响鱼肉嫩度^[27]。且麻醉实验过程中肌肉收缩加剧, 糖原和 ATP 大量消耗, 乳酸积累, 线粒体活动增强, 使得硬度显著上升^[28]。胶着性、咀嚼性与硬度相关, 变化趋势基本一致。王彦波等^[29] 的研究表

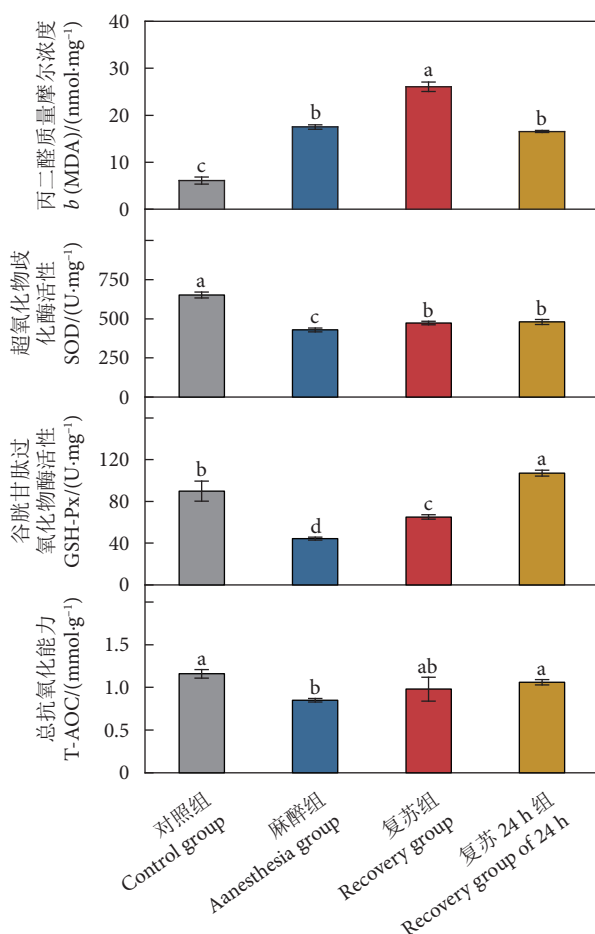


图5 二氧化碳麻醉对肝脏丙二醛、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、总抗氧化能力的影响

Fig. 5 CO_2 anesthesia effect on levels of MDA, SOD, GSH-Px and T-AOC in liver

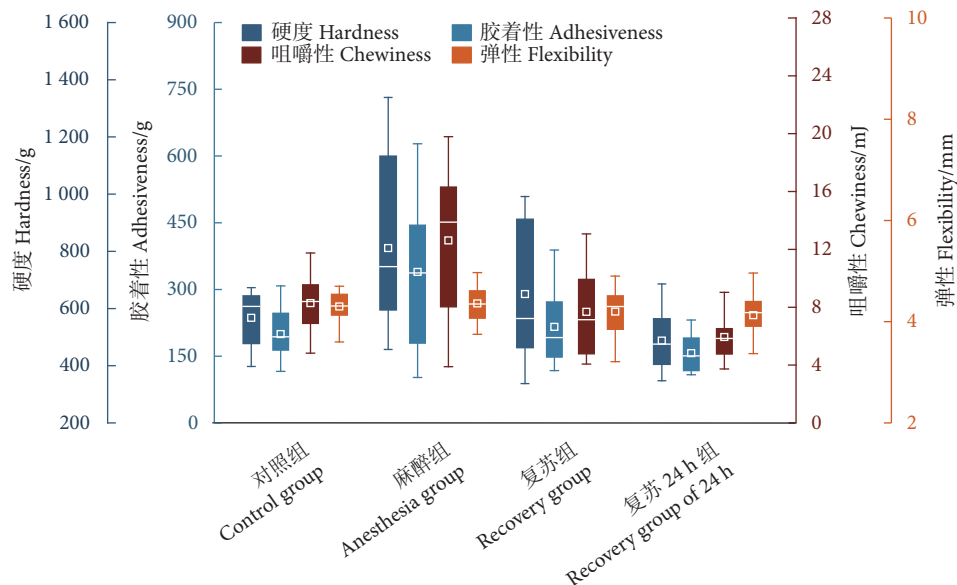


图6 二氧化碳麻醉对质构指标的影响

Fig. 6 CO₂ anesthesia effect on texture index

明, 氮气致死显著增加了鲫 (*Carassius auratus*) 的硬度、胶着性、咀嚼性, 对弹性无显著影响。

3 结论

本研究发现, 罗非鱼在 15 °C CO₂ 饱和水溶液中约 2 min 入麻, 复苏用时约为 3 min。在 CO₂ 麻醉过程中, 罗非鱼严重缺氧, 诱发机体产生氧化应激反应, 对机体造成严重的肝脏组织损伤和心肌组织损伤, 消耗大量能量物质。本文通过对血清生化指标、代谢物质含量指标、抗氧化指标、鱼肉质构特性指标进行评价, 得出 CO₂ 麻醉对罗非鱼的生理生化及鱼肉品质的影响。麻醉复苏 24 h 后, 鱼体生理生化指标基本恢复至对照组水平, 说明饱和 CO₂ 麻醉对罗非鱼造成的损伤是可逆的。因此, CO₂ 可应用于快速麻醉罗非鱼。目前产业上的应用主要采用曝气石将 CO₂ 导入水体得到 CO₂ 溶液, 该方法操作简便、成本低, 但产生的气体颗粒较大, 不利于鱼体吸收, 且 CO₂ 用量大^[30-32]。本研究利用微孔曝气管使水体通入 CO₂ 时形成纳米级气泡, 增大气体与水溶液的接触面积, 加快 CO₂ 饱和溶液的制备, 且细微的气泡颗粒更容易被鱼体吸收, 节约 CO₂ 用量, 减少 CO₂ 排放量, 更加节能环保, 且缩短了麻醉罗非鱼的时间。微孔曝气管的成本相对较高, 供气需配备 CO₂ 气瓶, 占用空间较大, 麻醉装置尚需改进。本研究结果可为罗非鱼的运输前准备提供技术参考, 但罗非鱼的

CO₂ 麻醉-复苏调控机制与 CO₂ 在鱼体内的代谢途径有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 2021 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 25.
- [2] 李晓芹, 朱振华, 翟纹静, 等. 渔用麻醉剂使用现状和检测技术研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2017, 45(29): 72-73, 170.
- [3] POET G. Carbonic acid anesthesia for aquatic organisms[J]. Prog Fish, 2011, 41(3): 142-144.
- [4] 丁亚涛. 鲈鱼保活运输技术的研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2019: 36-46.
- [5] OLIVEIRA FILHO P R C, OLIVEIRA P J M G, VIEGAS E M M, et al. Physiological stress and meat quality of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to CO₂ narcosis, hypothermia and electrical stunning[J]. Aquac Res, 2021, 52(10): 5034-5043.
- [6] 罗晶晶, 韩典峰, 孙玉增, 等. 丁香酚对罗非鱼的麻醉效果 [J]. 河北渔业, 2018(3): 5-8, 42.
- [7] 高仁法, 刘毅, 陈书畅, 等. MS-222 对鸚鵡鱼的麻醉效果研究 [J]. 现代农业科技, 2020(16): 172-174.
- [8] PURBOSARI N, WARSIKI E, SYAMSU K, et al. Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: a review[J]. Aquac Fish, 2019, 4(4): 129-133.
- [9] MOMMSEN T P, VIJAYAN M M, MOON T W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation[J]. Rev Fish Biol Fish, 1999, 9(3): 211-268.
- [10] 胡静, 叶乐, 吴开畅, 等. 急性盐度胁迫对克氏双锯鱼幼鱼血清皮质醇浓度和 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的影响 [J]. 南方水产科学, 2016, 12(2): 116-120.
- [11] 齐红莉, 梁拥军, 杨广, 等. 美洲鲈应激反应机理的研究 [J]. 华

- 北农学报, 2009, 24(1): 36-39.
- [12] 袁敏兰, 彭维雪, 马铎, 等. 创伤后应激障碍下丘脑-垂体-肾上腺轴研究进展 [J]. 国际精神病学杂志, 2015, 42(5): 62-65.
- [13] 范兴. 麻醉对罗非鱼和金鲳鱼离水保活的影响 [D]. 南宁: 广西大学, 2014: 30-37.
- [14] PÉREZ-CASANOVA J C, RISE M L, DIXON B, et al. The immune and stress responses of Atlantic cod to long-term increases in water temperature[J]. Fish Shellfish Immunol, 2008, 24(5): 600-609.
- [15] BERNET D, SCHMIDT H, WAHLI T, et al. Effluent from a sewage treatment works causes changes in serum chemistry of brown trout (*Salmo trutta* L.)[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2001, 48(2): 140-147.
- [16] 刘群芳, 曹俊明, 黄燕华, 等. β -葡聚糖与硒、维生素 E 联合添加对凡纳滨对虾生长、血清免疫和抗氧化指标及抗病力的影响 [J]. 中国水产科学, 2013, 20(5): 997-1006.
- [17] MCCLELLAND G B. Muscle remodeling and the exercise physiology of fish[J]. Exerc Sport Sci Rev, 2012, 40(3): 165-173.
- [18] 徐子伟, 门小明. 动物肌肉能量代谢特点及其与肉质性状的相关性 [C]//张宏福. 饲料营养研究进展. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2010: 87-94.
- [19] 范国燕, 李英文. 饥饿胁迫对南方鲇幼鱼糖代谢的影响 [J]. 重庆师范大学学报 (自然科学版), 2011, 28(3): 22-27.
- [20] 施兆鸿, 谢明媚, 彭士明, 等. 温度胁迫对银鲳 (*Pampus argenteus*) 幼鱼消化酶活性及血清生化指标的影响 [J]. 渔业科学进展, 2016, 37(5): 30-37.
- [21] 金一春, 胡萍华, 曲学伟, 等. 二氧化碳麻醉对白斑狗鱼的影响 [J]. 湖南农业科学, 2009(12): 138-140.
- [22] BOAVENTURA T P, SOUZA C F, FERREIRA A L, et al. The use of *Ocimum gratissimum* L. essential oil during the transport of *Lophosilurus alexandri*: water quality, hematology, blood biochemistry and oxidative stress[J]. Aquaculture, 2021, 531: 735964.
- [23] VINAGRE C, MADEIRA D, NARCISO L, et al. Effect of temperature on oxidative stress in fish: lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*[J]. Ecol Indic, 2012, 23: 274-279.
- [24] 徐卓然, 陈芳源, 沈莉菁, 等. 阿霉素对斑马鱼心脏毒性的评估及机制探索 [J]. 诊断学理论与实践, 2016, 15(1): 30-36.
- [25] 朱若岑, 蒋维维, 谭柱良, 等. 动物体内活性氧、氧化应激与细胞凋亡以及抗氧化剂研究进展 [J]. 中兽医医药杂志, 2015, 34(3): 21-25.
- [26] 李光辉, 任永红. 氧化应激对奶牛健康的危害及其防治措施的研究进展 [J]. 畜牧兽医杂志, 2021, 40(1): 35-37.
- [27] CIARAMELLA M A, NAIR N M, SUMAN S P, et al. Differential abundance of muscle proteome in cultured channel catfish (*Ictalurus punctatus*) subjected to ante-mortem stressors and its impact on fillet quality[J]. Comp Biochem Physiol D, 2016, 20: 10-18.
- [28] 方静, 黄卉, 李来好, 等. 不同致死方式对罗非鱼鱼片品质的影响 [J]. 南方水产科学, 2013, 9(5): 13-18.
- [29] 王彦波, 沈晓琴, 李学鹏, 等. 不同宰杀方式对鲫鱼肌肉质构和蛋白质组的影响 [J]. 中国食品学报, 2010, 10(6): 145-149.
- [30] 周翠平, 白洋, 秦小明, 等. 二氧化碳麻醉技术在罗非鱼无水保活运输中的应用研究 [J]. 渔业现代化, 2014, 41(4): 21-25.
- [31] 梁敏, 吉宏武, 郝记明, 等. 凡纳滨对虾在二氧化碳麻醉无水保活过程中呼吸代谢及免疫的变化 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(4): 280-284, 295.
- [32] WAGNER E, ARNDT R, HILTON B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methane sulfonate or carbon dioxide[J]. Aquaculture, 2002, 211(1): 353-366.