

二氧化碳麻醉对罗非鱼有水运输的影响

管维良, 陈德慰*

(广西大学轻工与食品工程学院, 广西 南宁 530004)

摘要: 将麻醉剂应用于罗非鱼的有水运输能够减轻鱼类在运输过程中的应激反应, 从而减少其氨氮排放, 最终达到延长运输时间的目的。本研究使用二氧化碳水溶液作为麻醉剂, 并以化学麻醉剂间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐 (MS-222) 作为阳性对照, 比较2种麻醉方式的优劣。结果表明: 罗非鱼在pH 6.2、9 mg/L二氧化碳麻醉液和质量浓度为20 mg/L的MS-222麻醉液中存活时间最久, 分别为548 min和710 min, 且有水保活4 h后的复苏率均达100%; 罗非鱼在相同条件充氧清水中的存活时间仅为362 min, 有水保活4 h后的复苏率为33%。因此, 适宜质量浓度的二氧化碳和MS-222麻醉液均能延长罗非鱼在有水保活过程中的存活时间。

关键词: 罗非鱼; 二氧化碳; 有水运输; 复苏率

Effect of Carbon Dioxide Anesthesia in Live Tilapia Transportation with Water

GUAN Weiliang, CHEN Dewei*

(College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: In this study, hyperoxic carbon dioxide solution was used for relieving the hypoxic stress response of tilapia during simulated transportation. Ammonia excretion was restrained by bubbling carbon dioxide or adding tricaine methanesulfonate (MS-222) into oxygenated water, and the effect was concentration dependent. The longest survival time of tilapia was 548 min in carbon dioxide solution (9 mg/L, pH 6.2) and 710 min in MS-222 solution (20 mg/L), respectively. The survival rate of both groups was 100% in oxygenated water after 4 hours of simulated transportation. In contrast, the survival time of the control group, in which fish were transported with oxygenated water without additive, was 362 min, and the survival rate was only 33%. Therefore, carbon dioxide or MS-222 is an effective sedative for live tilapia transportation.

Keywords: tilapia; carbon dioxide; transportation with water; survival rate

DOI:10.7506/rlyj1001-8123-201802009

中图分类号: TS254.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-8123 (2018) 02-0052-05

引文格式:

管维良, 陈德慰. 二氧化碳麻醉对罗非鱼有水运输的影响[J]. 肉类研究, 2018, 32(2): 52-56. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-201802009. <http://www.rlyj.pub>

GUAN Weiliang, CHEN Dewei. Effect of carbon dioxide anesthesia in live tilapia transportation with water[J]. Meat Research, 2018, 32(2): 52-56. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-201802009. <http://www.rlyj.pub>

罗非鱼受到消费者的喜爱, 且在我国南方大范围养殖^[1]。鱼类在有水运输过程中由于受到拥挤和机械振动的影响会产生一系列应激反应, 导致其代谢速率加快, 增大氧气的消耗量及氨氮类物质的排放量, 导致运输过程中的存活率下降。

麻醉剂经常被用来减轻运输过程中鱼类的应激反应。早在1984年, Ferreira等^[2]就对使用苯唑卡因处理罗非鱼进行研究, 结果表明, 处理后的罗非鱼在运输过程中不仅减少了1/3的氧气消耗量, 而且也降低了二氧化碳

和氨氮的排放量。王利娟等^[3]发现在运输过程中添加间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐 (MS-222) 能够显著提高大嘴黑鲈鱼24 h模拟运输后的复苏率。此外, 丁香油也常作为鱼类运输过程中的麻醉剂, 用以提高运输后的存活率^[4]。但是, 仅MS-222为美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准使用的食用鱼麻醉剂, 且经MS-222处理的鱼类需暂养21 d才可食用^[5]。

目前一些常见气体在水产行业已经有较为广泛的应用。宰前使用一氧化氮处理罗非鱼不仅可以对鱼类进行

收稿日期: 2017-10-31

基金项目: 2012年度国家星火计划项目 (2012GA790003); 南宁市科技攻关项目 (20141429)

第一作者简介: 管维良 (1990—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产品加工。E-mail: 1215160203@qq.com

*通信作者简介: 陈德慰 (1975—), 男, 教授, 博士, 研究方向为水产食品。E-mail: chendw@gxu.edu.cn



麻醉,减轻动物在宰杀过程中的痛苦,提高动物福利,同时可以进行活体发色,且发色自然、颜色保持稳定,不易褪色^[6-7]。二氧化碳水溶液对于鱼类是一种较为理想的麻醉剂已经得到证实,其优点在于没有任何药物残留,不会污染环境,且价格低廉^[8-9]。陈名帅等^[10]发现使用二氧化碳将鱼麻醉后进行宰杀可以减轻其应激反应,提高鱼片的品质;Guan Weiliang等^[11]发现高氧浓度的二氧化碳水溶液能够麻醉罗非鱼,并且显著延长其在无水条件下的存活时间。但是目前使用二氧化碳水溶液作为鱼类有水运输过程中的麻醉剂的研究较少。Takeda等^[12]通过控制水中二氧化碳和氧气的浓度达到了在运输过程中使鱼类镇定的效果。本研究以罗非鱼作为研究对象,通过控制水中二氧化碳和氧气的浓度以达到将鱼轻微麻醉的效果,抑制其代谢速率,延缓水质恶化,从而达到延长保活运输时间的目的。同时,以化学麻醉剂MS-222对罗非鱼进行麻醉作为阳性对照,并对2种麻醉方式的优劣进行比较。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验用罗非鱼(63条)购于南宁市五里亭市场,单条质量(500±50)g,确保鱼的活力充沛,体质良好,在(30±2)℃流动清水中暂养2d。

MS-222、磷酸、硫酸、盐酸、4-氨基苯磺酰胺、N-(1-萘基)-乙二胺二盐酸盐、亚硝酸钠、氯仿、高锰酸钾、草酸钠、酚酞指示剂、盐酸、二氯化汞、碘化钾、氢氧化钾、酒石酸钾钠、硫代硫酸钠、硫酸锌、氢氧化钠及氯化铵(均为分析纯) 上海麦克林生化科技有限公司。

1.2 仪器与设备

TLE204E型分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;PHSJ-4F型pH计 上海雷磁仪器厂;氧气钢瓶、二氧化碳钢瓶、减压阀 广西国信气体研究有限公司;VIS-722型分光光度计 上海佑科仪器仪表有限公司。

1.3 方法

1.3.1 模拟运输

分别使用二氧化碳和MS-222作为麻醉剂对罗非鱼进行有水保活实验。实验在运输水箱中进行,于室温(23±2)℃条件下将水箱装入6L清水,以1L/min的流速向水中通入氧气,当氧气浓度达到饱和后停止通气。

使用二氧化碳作为麻醉剂时的操作方法如下:继续将二氧化碳以0.5L/min的流速通入运输水箱中,使二氧化碳水溶液的pH值分别达5.9、6.2、6.5和6.8,当pH值达

到设定值时停止通气,分别取水样检测其二氧化碳质量浓度。游离二氧化碳质量浓度参照DZ/T 0064.47—1993《地下水水质检验方法 滴定法测定游离二氧化碳》^[13]中的直接滴定法测定,测得pH值为5.9、6.2、6.5和6.8的二氧化碳麻醉液的游离二氧化碳质量浓度分别为60、37、18、10mg/L。

使用MS-222作为麻醉剂时的操作方法如下:分别向不同的运输水箱中加入MS-222,使其质量浓度分别为20、25、30mg/L,并不断搅拌,使MS-222充分溶解。

将罗非鱼从暂养水箱中取出,分别放入装有不同质量浓度二氧化碳麻醉液、MS-222麻醉液及清水的运输水箱,依次记为实验组、阳性对照组及空白对照组。有水保活过程中每隔一段时间向水中通入氧气,保持氧气充足。每个运输水箱放置3条罗非鱼。

1.3.2 麻醉对水质的影响

从模拟运输0h开始,每隔2h分别取水样对其氨氮浓度和亚硝酸盐浓度进行检测,直到有鱼死亡为止。氨氮浓度测定:参照HJ 535—2009《水质 氨氮的测定 纳氏试剂分光光度法》^[14];亚硝酸盐氮浓度测定:参照GB/T 7493—1987《水质 亚硝酸盐氮的测定 分光光度法》^[15]。

1.3.3 麻醉对罗非鱼存活时间的影响

观察罗非鱼在有水保活过程中的行为表现,鱼鳃连续30s内没有活动则认为该鱼死亡,直到所有鱼全部死亡。分别记录各组罗非鱼的存活时间。

1.3.4 麻醉对罗非鱼复苏率的影响

有水保活4h后,将鱼从运输水箱中取出,放入装有充氧清水的水箱,观察鱼的行为表现,以能够恢复直立游动能力为复苏标准,记录各组罗非鱼的复苏率。

1.4 数据处理

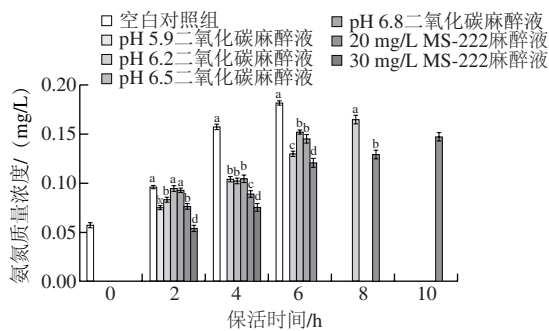
实验均平行测定3次,结果用平均值±标准差表示。使用SPSS 19.0软件对数据进行处理,用Post Hoc Tukey's test对各组数据间的差异显著性进行分析(P=0.05);使用Origin 9.1软件作图。

2 结果与分析

2.1 二氧化碳麻醉对运输水质的影响

2.1.1 二氧化碳麻醉对水样氨氮浓度的影响

水中的氨氮主要来源于鱼类排泄出的蛋白质代谢产物,非离子态的氨分子可以直接透过生物膜进入鱼类体内,因此相对于铵离子,非离子氨对鱼的毒性更大,长时间暴露在含氨的水中会导致鱼类死亡。Benli等^[16]研究发现,当水中氨氮的质量浓度达0.25mg/L时,罗非鱼开始死亡;当氨氮的质量浓度增至0.60mg/L时,罗非鱼在48h内全部死亡。对于成鱼来说,氨氮的半致死质量浓度约为0.42mg/L^[17]。



小写字母不同,表示保活时间相同时各组水样差异显著($P<0.05$)。下同。

图1 罗非鱼有水保活过程中水样的氨氮质量浓度变化

Fig. 1 Variation in ammonia concentration of water during fish survival

由图1可知,空白对照组罗非鱼出现死亡时,水中的氨氮质量浓度为0.18 mg/L。有水保活过程中较大的运输密度会造成鱼的应激反应,使其体内的皮质醇含量升高^[18],而皮质醇会导致氨氮对鱼的毒性增强,从而降低鱼对氨氮的耐受程度^[19]。因此在本研究中,水样中的氨氮质量浓度接近0.2 mg/L时,罗非鱼即开始出现死亡。二氧化碳和MS-222均可以起到麻醉作用,降低鱼在有水保活过程中的氨氮排泄量。有水保活8 h后, pH 6.2的二氧化碳麻醉液中氨氮的质量浓度显著高于MS-222质量浓度为20 mg/L的麻醉液,说明MS-222对延长罗非鱼出现死亡的时间及抑制氨氮排放的效果更好。

由于大多数鱼类对水中二氧化碳的浓度较为敏感,且水中二氧化碳的浓度较难控制,因此使用二氧化碳水溶液作为活鱼运输麻醉剂的报道较少。郭丰红^[20]使用高氧浓度的二氧化碳麻醉液将鳊鱼麻醉后放入低温充氧清水中进行模拟运输实验,结果表明,经麻醉后鳊鱼的存活时间显著大于未经麻醉的鳊鱼。本研究中,麻醉剂浓度越高,其抑制罗非鱼氨氮排泄的效果越明显,这与Park等^[5]的研究结果相似,他们将美洲拟鲈置于不同浓度的麻醉液中进行模拟运输实验,结果表明,美洲拟鲈在高浓度麻醉液中的排氨量明显小于在低浓度麻醉液中的排氨量。

2.1.2 二氧化碳麻醉对水样亚硝酸盐浓度的影响

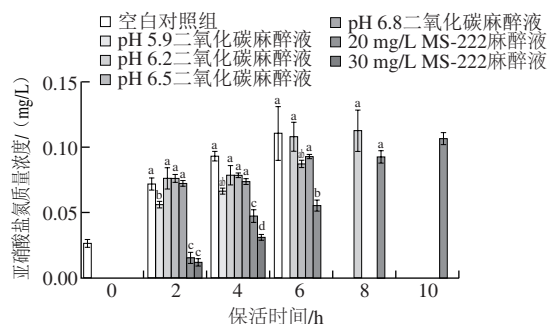


图2 罗非鱼有水保活过程中水样的亚硝酸盐氮质量浓度变化

Fig. 2 Variation in nitrite concentration of water during fish survival

鱼类运输过程中水中亚硝酸盐的主要来源是硝化细菌在无氧条件下将氨转化为亚硝酸盐,亚硝酸盐的主要危害是将鱼体内的血红蛋白转化为高铁血红蛋白,使其失去携氧能力,严重时能够导致鱼类窒息死亡^[21]。赵元凤等^[22]研究发现,对于罗非鱼来说,水中亚硝酸盐氮质量浓度的安全范围为0.0~2.8 mg/L。由图2可知,本研究中各组水样的亚硝酸盐氮质量浓度均未超过此范围,说明水中的亚硝酸盐不是导致罗非鱼死亡的因素。在有水保活实验中,各组运输用水中的溶解氧均达到了过饱和的浓度,因此只有极少数氨分子被硝化细菌转化为亚硝酸盐,各组水样的亚硝酸盐氮质量浓度差异主要是由氨氮浓度的差异造成的。对于空白对照组水样,由于其本身氨氮含量较高,因此亚硝酸盐氮质量浓度也处于相对较高的水平;采用较高质量浓度二氧化碳麻醉液(pH 5.9)和MS-222麻醉液(30 mg/L)处理的罗非鱼由于较强的麻醉效果抑制了其氨氮的排放,因此这2组水样的亚硝酸盐氮质量浓度处于相对较低的水平;经中、低质量浓度二氧化碳麻醉液处理的罗非鱼,其运输水中亚硝酸盐氮的质量浓度与空白对照组均无显著差异($P>0.05$),这与Zhao Jianhua等^[23]的研究结果类似,他们发现圆口铜鱼在30 mg/L的MS-222麻醉液中经过14 h的有水模拟运输后,水中亚硝酸盐氮的质量浓度与模拟运输前以及空白对照组均无显著差异。

2.2 麻醉对模拟运输过程中罗非鱼行为的影响

当罗非鱼从暂养水箱转入有水保活水箱后,在pH值为5.9和6.2的二氧化碳麻醉液中存在逃逸、挣扎行为,逃逸现象在2组麻醉液中分别仅持续4 min和7 min,但在其他几组麻醉液中均未发现明显的挣扎现象。当逃逸现象消失后,罗非鱼在各组麻醉液中均处于静止状态,呼吸均匀;空白对照组罗非鱼偶有游动。有水保活90 min后, pH 5.9的二氧化碳麻醉液中的罗非鱼开始浮出水面呼吸,之后30~40 min出现鱼体侧翻、鳃动幅度变大,最终死亡;空白对照组, pH 6.2、6.5、6.8二氧化碳溶液, MS-222质量浓度20、30 mg/L麻醉液中的罗非鱼在有水保活分别进行到240、480、280、270、600、200 min后出现挣扎、跳跃的现象,但无明显的浮头现象发生,各组罗非鱼在出现挣扎、跳跃等不规则现象后均在1 h内失去平衡,2 h内死亡。

各组罗非鱼的行为特点不同,相同行为出现的时间也不同。罗非鱼在较高浓度二氧化碳麻醉液中麻醉初期存在逃逸行为,此结果与Guan Weiliang等^[11]的研究结果相符,二氧化碳麻醉会对鱼类造成应激反应,但反应不会长时间持续。逃逸行为消失后,鱼类进入轻微的麻醉状态,停止游动,代谢变慢。罗非鱼在MS-222麻醉液中无明显的逃逸行为,此结果与范兴^[24]的研究结果类似,他们发现罗非鱼在质量浓度为60、100 mg/L的MS-222麻醉液中均无挣扎现象,而本研究中MS-222的质量浓度仅



为20、30 mg/L。何大仁等^[25]指出,在水中溶解氧含量充足的条件下,当水中的二氧化碳含量超过鱼类的耐受范围时,鱼类会感到不适并出现浮头;水中的二氧化碳含量继续升高时,鱼类将失去平衡,不久就会死亡。在本研究中,对于pH 5.9的二氧化碳麻醉液中的罗非鱼,由于其所处环境中的二氧化碳浓度过高,因此仅90 min就出现浮头等现象。曲克明等^[26]指出,鱼类氨氮中毒时会表现出较为狂躁的逃逸、挣扎行为,并且几分钟后便会死亡。在本研究中,经过一段时间的有水保活后,各组运输水中的氨氮浓度均有所升高,当其浓度达到罗非鱼的耐受值时,罗非鱼即表现出氨氮中毒所造成的行为。甘静雯等^[27]指出,高剂量的MS-222能够在短时间将斑马鱼深度麻醉,但是药物会聚集于内脏中,造成鱼类产生怪异的游动行为并且最终死亡。在本研究中,罗非鱼处于30 mg/L的MS-222麻醉液中时,仅有水保活200 min后便出现失去平衡的现象。

2.3 麻醉对罗非鱼有水保活时间及复苏率的影响

2.3.1 二氧化碳麻醉对罗非鱼有水保活时间及复苏率的影响

Takeda等^[12]研究发现,使用充氧的二氧化碳水溶液(115 mmHg二氧化碳和400 mmHg氧气)能够使鲤鱼在运输过程中达到镇定效果,但是当运输时间过长时,鱼类呼吸排出的二氧化碳使运输用水中的二氧化碳浓度超过鱼类的承受范围,鱼类开始大量死亡。鱼类对水中的二氧化碳浓度较为敏感,水中二氧化碳浓度的升高会对鱼类造成初级应激反应,表现为呼吸频率和幅度的增大以及血液pH值的降低^[28]。在氧气充足的条件下,水中一定浓度的二氧化碳会抑制鱼类体内二氧化碳的排出,当二氧化碳在鱼体内累计到一定程度时,鱼类会产生镇定甚至完全麻醉的效果^[29],减轻其在运输过程中的代谢速率和应激反应。

鱼在封闭运输系统(无循环水)中的存活时间受较多因素的影响,本研究是在氧气过饱和的条件下进行,鱼不会因缺氧而死亡,因此水中二氧化碳和氨氮的质量浓度差异是造成各组罗非鱼存活时间差异的主要原因。何琳等^[30]指出,当水中游离二氧化碳的质量浓度大于80 mg/L时,罗非鱼会出现呼吸困难现象。尽管在本研究中pH 5.9的二氧化碳麻醉液(质量浓度60 mg/L)对罗非鱼氨氮排放的抑制效果最好(图1),但当长时间处于较高质量浓度的二氧化碳水溶液中,罗非鱼体内的二氧化碳排放被过度抑制,导致其产生高碳酸血症、血液pH值降低,从而使鱼过早死亡^[28]。此外,冉春丽^[31]指出,淡水鱼生长的最适pH值为6.5~8.5,因此当罗非鱼处于pH 5.9的二氧化碳水溶液中时,过低的pH值也减少了其保活时间。有水保活6 h后,pH 6.2的二氧化碳麻醉液中的氨氮浓度显著低于空白对照组和阳性对照组(图1),且在此之后2个对照组均有鱼开始死亡。

表1 罗非鱼在不同质量浓度二氧化碳和MS-222麻醉液中的存活时间及复苏率

Table 1 Survival time and revival rate of tilapia at different concentrations of carbon dioxide and MS-222 anesthetics

组别	存活时间/min	复苏率/%
空白对照组	362±99 ^c	33
二氧化碳麻醉液(pH 5.9)	167±34 ^e	0
二氧化碳麻醉液(pH 6.2)	548±65 ^b	100
二氧化碳麻醉液(pH 6.5)	354±36 ^{cd}	50
二氧化碳麻醉液(pH 6.8)	330±28 ^{cd}	17
MS-222麻醉液(20 mg/L)	710±53 ^a	100
MS-222麻醉液(30 mg/L)	261±26 ^{de}	33

注:同列小写字母不同,表示差异显著($P<0.05$)。

由表1可知,在二氧化碳麻醉组中,罗非鱼在pH 6.2的二氧化碳麻醉液中存活时间最久,且复苏率为100%。郭丰红^[20]以高氧浓度的二氧化碳水溶液麻醉后的鳊鱼为研究对象,在4℃条件下进行有水模拟运输实验,实验过程中每天换水1次,经过128 h的有水模拟运输后麻醉组鳊鱼的死亡率为0,对照组鳊鱼在92 h后全部死亡。在本研究中,麻醉液种类与罗非鱼的保活时间有明显相关性,空白对照组与pH 6.5和pH 6.8二氧化碳麻醉液中的罗非鱼的保活时间均无显著差异($P>0.05$),但复苏率却明显不同。Rapp等^[32]指出,鱼类在遭受较强烈应激因子刺激后体内的生化和生理环境发生变化,在环境应激因子消失后一段时间内仍有较高的死亡率。有水保活4 h后,各组罗非鱼所处的环境中二氧化碳和氨的质量浓度均不相同,因此各组鱼的应激反应程度也不相同,进而导致其在充氧清水中的复苏率不同。

2.3.2 MS-222麻醉对罗非鱼有水保活时间及复苏率的影响

适当浓度的MS-222可以降低鱼的代谢速率,减轻其应激反应,但是当MS-222浓度过高时会对鱼的神经系统造成损伤,使其存活率降低^[33]。在本研究中,质量浓度为20 mg/L的MS-222麻醉液能够通过抑制罗非鱼的代谢降低其排氨量,从而延缓水质恶化,最终延长罗非鱼在非流动水条件下的存活时间。目前,已有较多使用MS-222作为麻醉剂延长活鱼运输时间的案例:王利娟^[34]使用质量浓度为30 mg/L的MS-222麻醉液在20℃条件下对大口黑鲈鱼进行有水模拟运输实验,结果表明,模拟运输10 h后鱼的复苏率仍为100%;张丽^[35]使用质量浓度为45 mg/L的MS-222麻醉液在11℃条件下对大黄鱼进行有水模拟运输实验,结果表明,大黄鱼的保活时间达297 min。虽然使用MS-222麻醉后的鱼类能够在长时间模拟运输后达到较高的复苏率,但经过MS-222处理后的鱼需要暂养21 d后才可食用。由表1可知,在本研究中,使用二氧化碳麻醉液处理的罗非鱼在复苏率为100%的前提下也可以保活548 min,而且与MS-222麻醉相比,二氧化碳麻醉液处理无任何药物残留,经处理的鱼可以直接食用。

3 结论

使用高氧浓度的二氧化碳水溶液作为有水运输的麻醉液能够有效抑制鱼类在运输过程中的氨氮排放量,并且水中的亚硝酸盐氮浓度也得到有效控制。但是较高浓度的二氧化碳麻醉液(pH 5.9)会对鱼类造成较强烈的应激反应,并最终造成其保活时间较短。适宜浓度的二氧化碳麻醉液(pH 6.2)能够有效延长罗非鱼的有水保活时间,且与化学麻醉剂(MS-222)相比无任何有害物质残留,可以应用于罗非鱼的有水运输。

参考文献:

- [1] 刘雪兵, 张璐, 米海峰, 等. 广西罗非鱼养殖模式概述[J]. 海洋与渔业(水产前沿), 2013(12): 109-111. DOI:10.3969/j.issn.1672-4046.2013.12.033.
- [2] FERREIRA J T, SCHOONBEE H J, SMIT G L. The use of benzocaine-hydrochloride as an aid in the transport of fish[J]. Aquaculture, 1984, 42(2): 169-174. DOI:10.1016/0044-8486(84)90364-8.
- [3] 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.
- [4] BALAMURUGAN J, AJITH KUMAR T T, PRAKASH S, et al. Clove extract: a potential source for stress free transport of fish[J]. Aquaculture, 2016, 454: 171-175. DOI:10.1016/j.aquaculture.2015.12.020.
- [5] PARK I S, PARK M O, HUR J W, et al. Anesthetic effects of lidocaine-hydrochloride on water parameters in simulated transport experiment of juvenile winter flounder, *Pleuronectes americanus*[J]. Aquaculture, 2009, 294(1/2): 76-79. DOI:10.1016/j.aquaculture.2009.05.011.
- [6] WANG Z C, YAN Y Z, NISAR T, et al. Influence of postmortem treatment with nitric oxide on the muscle color and color stability of tilapia (*Oreochromis niloticus*) filets[J]. Nitric Oxide, 2017, 9: 1-7. DOI:10.1016/j.niox.2017.09.009.
- [7] WANG Zichao, ZHAO Mouming, FANG Zhongxiang, et al. Nitric oxide euthanasia: a potential procedure for improving animal welfare and fillet color of tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Aquaculture International, 2017, 25(5): 1845-1856. DOI:10.1007/s10499-017-0162-x.
- [8] 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. DOI:10.16498/j.cnki.hnnykx.2009.12.034.
- [9] OBERG E W, PEREZ K O, FUIMAN L A. Carbon dioxide is an effective anesthetic for multiple marine fish species[J]. Fisheries Research, 2015, 165: 22-27. DOI:10.1016/j.fishres.2014.12.019.
- [10] 陈名帅, 范兴, 陆玉芹, 等. 宰前二氧化碳麻醉对罗非鱼肉品质影响的研究[J]. 现代食品科技, 2014(4): 226-232. DOI:10.1016/j.fishres.2014.12.019.
- [11] GUAN Weiliang, ZHAO Mouming, LIU Tiantian, et al. Cooling combined with hyperoxic CO₂ anesthesia is effective in improving the air exposure duration of tilapia[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 14016. DOI:10.1038/s41598-017-14212-3.
- [12] TAKEDA T, ITAZAWA Y. Possibility of applying anesthesia by carbon dioxide in the transportation of live fish[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1983, 49: 725-731. DOI:10.2331/suisan.49.725.
- [13] 中华人民共和国地质矿产部天津市中心实验室. 地下水水质检验方法 滴定法测定游离二氧化碳: DZ/T 0064.47—1993[S]. 北京: 中国标准出版社, 1993.
- [14] 沈阳市环境监测中心站. 水质 氨氮的测定 纳氏试剂分光光度法: HJ 535—2009[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- [15] 湖北省环境监测中心站. 水质 亚硝酸盐氮的测定 分光光度法: GB/T 7493—1987[S]. 北京: 中国标准出版社, 1987.
- [16] BENLİ A Ç K, KÖKSAL G. The acute toxicity of ammonia on tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae and fingerlings[J]. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 2005, 29(2): 339-344.
- [17] BENLİ A Ç K, KÖKSAL G, ÖZKUL A. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): effects on gill, liver and kidney histology[J]. Chemosphere, 2008, 72(9): 1355-1358. DOI:10.1016/j.chemosphere.2008.04.037.
- [18] PAVLIDIS M, ANGELLOTTI L, PAPANDROULAKIS N, et al. Evaluation of transportation procedures on water quality and fry performance in red porgy (*Pagrus pagrus*) fry[J]. Aquaculture, 2003, 218(1/4): 187-202. DOI:10.1016/S0044-8486(02)00314-9.
- [19] RANDALL D J, TSUI T K N. Ammonia toxicity in fish[J]. Marine Pollution Bulletin, 2002, 45(1/12): 17-23. DOI:10.1016/S0025-326X(02)00227-8.
- [20] 郭丰红. 鳊鱼保活运输的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2010: 28-29.
- [21] LEWIS W M, MORRIS D P. Toxicity of nitrite to fish: a review[J]. Transactions of the American Fisheries Society, 1986, 115(2): 183-195. DOI:10.1577/1548-8659(1986)115<183:TONTF>2.0.CO;2.
- [22] 赵元凤, 祝国芹, 吕景才. 亚硝酸盐对尼罗罗非鱼的毒性及其机理的研究[J]. 大连水产学院学报, 1991(1): 62-65. DOI:10.16535/j.cnki.dlhyxb.1991.01.010.
- [23] ZHAO Jianhua, ZHU Yongjiu, HE Yongfeng, et al. Effects of temperature reduction and MS-222 on water quality and blood biochemistry in simulated transport experiment of largemouth bronze gudgeon, *Coreius guichenoti*[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2014, 45(5): 493-507. DOI:10.1111/jwas.12147.
- [24] 范兴. 麻醉对罗非鱼和金鲈鱼离水保活的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2014: 22-23.
- [25] 何大仁, 徐厚才. 鱼类行为学[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 1998.
- [26] 曲克明, 徐勇, 马绍赛, 等. 不同溶解氧条件下亚硝酸盐和非离子氨对大菱鲆的急性毒性效应[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(4): 83-88. DOI:10.3969/j.issn.1000-7075.2007.04.014.
- [27] 甘静雯, 邱绍扬, 许忠能, 等. 麻醉剂MS-222对斑马鱼行为的影响[J]. 生态科学, 2006(3): 236-239. DOI:10.3969/j.issn.1008-8873.2006.03.011.
- [28] TANG S, THORARENSEN H, BRAUNER C J, et al. Modeling the accumulation of CO₂ during high density, re-circulating transport of adult Atlantic salmon, *Salmo salar*, from observations aboard a sea-going commercial live-haul vessel[J]. Aquaculture, 2009, 296(1/2): 102-109. DOI:10.1016/j.aquaculture.2009.07.020.
- [29] ERIKSON U. Assessment of different stunning methods and recovery of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*): isoeugenol, nitrogen and three levels of carbon dioxide[J]. Animal Welfare, 2011, 20(3): 365-375.
- [30] 何琳, 江敏, 马允, 等. 罗非鱼在保活运输中关键因子调控技术研究[J]. 湖南农业科学, 2011(13): 151-154. DOI:10.3969/j.issn.1006-060X.2011.13.045.
- [31] 冉春丽. 罗非鱼养殖池塘水质调控技术[J]. 中国水产, 2013(11): 48-50. DOI:10.3969/j.issn.1002-6681.2013.11.021.
- [32] RAPP T, HALLERMANN J, COOKE S J, et al. Consequences of air exposure on the physiology and behavior of caught-and-released common carp in the laboratory and under natural conditions[J]. North American Journal of Fisheries Management, 2014, 34(2): 232-246. DOI:10.1080/02755947.2013.855279.
- [33] 柳旭东, 王际英, 张利民, 等. 麻醉剂MS-222及其麻醉效果的影响因素[J]. 水产科技情报, 2009(2): 56-59. DOI:10.3969/j.issn.1001-1994.2009.02.001.
- [34] 王利娟. 大口黑鲈保活运输的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015: 32-33.
- [35] 张丽. 大黄鱼保活运输及冰温保鲜的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2010: 40-41.