

不同麻醉剂量灌喂对南方鲇幼鱼代谢的影响*

刘云,曹振东,付世建

(重庆师范大学进化生理与行为学实验室,重庆市动物生物学重点实验室,重庆400047)

摘要 绝大多数的鱼类餐后代谢即特殊动力作用(SDA)研究都是以实验条件下能够主动摄食的鱼类为对象,近年来麻醉灌喂方法越来越多地用于不主动摄食鱼类的相关研究,而目前专门评价麻醉灌喂方法的文献资料却不多见。本研究为了考察麻醉灌喂对南方鲇(*Silurus meridionalis* Chen)幼鱼SDA的影响,采用4、7、10 g/L的不同剂量麻醉剂间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐(MS-222)处理,以主动摄食组为对照,均灌喂10%南方鲇幼鱼体重的泥鳅(*Misgurnus anguillicandatus*)连续48 h(1次/2 h)测定各组实验鱼的耗氧率。结果显示,各实验组的SDA参数之间,除10 g/L麻醉灌喂组的摄食代谢峰值比率与对照组存在显著差异外($p < 0.05$),其它参数如静止代谢率、SDA时间、峰值达到时间、摄食代谢峰值、SDA总能量和SDA系数各实验组之间均无显著差异($p > 0.05$)。上述结果表明,麻醉和灌喂操作对南方鲇幼鱼的SDA过程无明显影响,该方法不仅适用于南方鲇摄食代谢的研究,还将有助于获取不主动摄食鱼类的相关资料。

关键词 麻醉;灌喂;南方鲇;特殊动力作用

中图分类号:Q591.4

文献标识码:A

文章编号:1672-6693(2009)01-0017-05

“特殊动力作用”(Specific Dynamic Action, SDA)是指动物餐后耗氧率上升即身体耗能增加的现象,它包括食物的摄入、消化、吸收和同化以及蛋白质的合成和转换过程消耗的总能量^[1-3]。鱼类的生活习性和生理适应是在异质生活环境下长期自然选择的结果,不同鱼类的SDA特征因生活史对策不同而存在显著差异,通过积累不同鱼类的相关资料揭示这种差异将有利于阐明鱼类SDA的进化机制。自20世纪80年代开展鱼类SDA研究以来,绝大多数的研究都是以实验条件下能够主动摄食的鱼类为对象,而自然界的多数鱼类在实验条件下难以满足研究需要。近年来麻醉灌喂方法越来越多地用于不主动摄食鱼类的相关研究^[4-8],而该实验方法对鱼类SDA过程是否会产生影响,影响程度如何等问题急需解决,目前专门评价麻醉灌喂方法的研究资料尚不多见。

南方鲇属于伏击取食鱼类,饱食后处于静息消化状态,在耗氧率测定过程中其运动对餐后代谢造

成的干扰较小,该鱼不但能够主动摄食,而且摄食量较大,平均饱食水平能够达到13.85%体重,个别鱼甚至达到24.22%^[9];因此南方鲇不仅是研究鱼类SDA的良好材料,也是评价鱼类麻醉灌喂方法的理想对象。本研究工作已经从摄食水平^[9]、摄食频率^[10]、食物组成^[11-12]、营养状况^[13-14]等方面对南方鲇SDA的影响进行了较为系统的研究,本文通过连续测定该鱼幼鱼麻醉灌喂或主动摄食后的耗氧率,考察不同麻醉剂量灌喂对其SDA参数的影响,为评价麻醉灌喂方法在鱼类摄食代谢研究中的运用提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验鱼及其驯化

南方鲇鱼为购自重庆市合川水产学校的仔鱼在实验室养殖。于自制水容量250 L自净化循环控温水槽中(专利申请号:200520010485.9)以去头、尾、内脏和鳍的泥鳅作为饵料驯化2周,选取40尾身体

* 收稿日期:2008-10-23

资助项目:国家自然科学基金(No.30700087)

作者简介:刘云,女,硕士研究生,研究方向为鱼类生理生态;通讯作者:曹振东,E-mail:z. d. cao@hotmail.com.

健康大小接近体重(15.29 ± 0.33)g, 称重后转移到体积为 100 mL 的自制流水式呼吸仪(专利申请号: 200520010482.5)的呼吸室中单独驯化喂养, 前 1 周以 2% 体重的投喂水平每天投喂 1 次, 之后投喂水平每天递增 2% 直至达到 10%, 实验鱼摄食 1 h 后收集残饵。驯化期间溶氧量即单位体积水中溶解氧的质量大于 7 mg/L, 全光照, 水温控制在(25.0 ± 1.0)℃。

1.2 实验设计及操作

实验分成 4 组, 3 个麻醉灌喂处理组的麻醉剂浓度分别为 4、7、10 g/L, 1 组为主动摄食对照组。麻醉灌喂使用间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐(MS-222, $C_{10}H_{15}NO_5S$, Tricaine Methanesulphonate) 作为麻醉剂。除主动摄食组有 1 尾鱼在驯化期因呼吸室的进水管阻塞缺氧致死, 样本量减为 9 尾外, 其余各组的样本量均为 10 尾。

将驯化完成后的实验鱼禁食 2 d 并称重后, 分别在 9:00、15:00、19:00 和 21:00 时间点测定每尾鱼的耗氧率, 以平均值作为其静止代谢率。随后从呼吸室中取出实验鱼, 根据不同的组别放入相应浓度的麻醉剂中, 参照文献资料[4-8], 本研究麻醉时间确定为 5 min, 麻醉结束后立刻以切成 2% 体重的泥鳅为饵料进行 10% 体重进食水平的灌喂, 再将其放回呼吸室内, 整个灌喂过程在 2 min 内完成; 同时对主动摄食组进行相同进食水平的投喂, 该组实验鱼均完成预定水平的摄食。进食后连续 48 h 测定实验鱼的耗氧率, 每 2 h 测 1 次, 溶氧值用溶氧仪(HQ10, Hach company, Colorado, USA)测定, 水流速度由出水口在 1 min 中内流出的水量经计算得到。

1.3 参数计算

主要 SDA 参数计算方法如下: 1) SDA 时间(h), 从摄食开始到代谢率回落至静止代谢率的两倍标准差范围内的首个数据所对应的时间长度为 SDA 时间; 2) SDA 总能量($\text{kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$), 用 SDA 时间内各段摄食代谢率和静止代谢率之差在时间上的积分求得每尾鱼单位体重的耗氧量, 该耗氧量与氧热当量系数(该系数为每 mg 氧 13.84 J)相乘得到 SDA 总能量^[16]; 3) SDA 系数(%), SDA 总耗能量占摄入能量的比例。

参照相关文献^[17], 单尾鱼的代谢率(Metabolic Rate)即耗氧率(Oxygen Consumption Rate, V_{O_2})根据

如下公式计算

$$V_{O_2} = \Delta o_2 \times v \quad (1)$$

其中 Δo_2 为呼吸室出水口溶氧值与空白溶氧值之差(mg/L), v 为相应呼吸室出水口的水流速度(L/h)。

为排除体重的干扰, 将单尾鱼的耗氧率(V_{O_2})校正为单位体重的耗氧率(V_{O_2}')

$$V_{O_2}' = V_{O_2} \cdot (1000/W)^b \quad (2)$$

其中 W 为实验鱼的体重(g), b 为体重校正系数, 根据相关文献 b 值取值为 0.75^[15]。

1.4 数据分析

实验数据以 EXCEL 进行常规计算, 采用 SPSS 13.0 进行多重比较(LSD 法)。统计值均以平均值 \pm 标准误(Mean \pm SE)表示, 显著性水平规定为 $p < 0.05$ 。

2 结果

2.1 南方鲇幼鱼在不同浓度 MS-222 麻醉下的行为特征

南方鲇幼鱼经过 5 min 不同浓度的 MS-222 麻醉后分别呈现 3 种不同的行为特征: 4 g/L 剂量组对外界刺激反应明显, 鳃盖张合频率及肌肉收缩正常; 7 g/L 剂量组对外界刺激反应能力降低, 鳃盖张合频率降低, 身体平衡性较好; 10 g/L 剂量组除强刺激外对外界反应能力弱, 鳃盖有规律地缓慢张合, 鱼体失去平衡。根据相关文献[18]作者判断以上麻醉效果依次为: 无明显麻醉效果, 达到轻度麻醉, 达到深度麻醉。

2.2 不同麻醉剂量灌喂对 SDA 参数的影响

各实验组摄食后代代谢率均迅速上升, 在摄食后 17 h 左右到达峰值, 随后逐渐下降到摄食前代谢水平(图 1), 图中 0 h 表示完成主动摄食或麻醉灌喂的时间。各实验组 SDA 参数见表 1, 其中静止代谢率为(37.50 ± 1.18)~(41.01 ± 1.51) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, SDA 时间为(42.80 ± 1.04)~(46.00 ± 0.84) h, 峰值达到时间为(15.20 ± 1.82)~(18.00 ± 1.37) h, 摄食代谢峰值为(119.36 ± 3.74)~(126.34 ± 3.00) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, SDA 总能量为(73.05 ± 3.50)~(83.84 ± 2.07) $\text{kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$, SDA 系数为(14.88 ± 0.72)%~(16.95 ± 0.44)%。比较以上各组 SDA 参数, 均无显著差异($p > 0.05$); 仅 10 g/L 麻醉组的摄食代谢峰值比率(2.94 ± 0.12)与对照组(3.40 ± 0.14)存在显著差异($p < 0.05$)。

表 1 不同剂量麻醉灌喂对南方鲇幼鱼 SDA 参数的影响[#]

Tab. 1 Effect of force-feeding on several variables of SDA in anaesthetized juvenile southern catfish with different doses #

参数	麻醉剂浓度/(g · L ⁻¹)			
	0 *	4	7	10
样本数/个	9	10	10	10
体重/g	15.85 ± 0.93	14.25 ± 0.51	15.08 ± 0.54	15.55 ± 0.45
静止代谢率/(mg · kg ⁻¹ · h ⁻¹)	37.50 ± 1.18	38.17 ± 1.74	37.94 ± 1.51	41.01 ± 1.51
SDA 时间/h	45.11 ± 0.82	43.40 ± 1.16	46.00 ± 0.84	42.80 ± 1.04
峰值达到时间/h	16.22 ± 0.91	18.00 ± 1.37	15.20 ± 1.82	17.8 ± 1.80
摄食代谢峰值 $V_{O_2\ peak}$ /(mg · kg ⁻¹ · h ⁻¹)	126.34 ± 3.00	120.85 ± 5.76	121.68 ± 5.80	119.36 ± 3.74
摄食代谢峰值比率	3.40 ± 0.14 ^a	3.18 ± 0.13 ^{ab}	3.21 ± 0.15 ^{ab}	2.94 ± 0.12 ^b
SDA 总能量/(kJ · kg ⁻¹)	82.69 ± 2.69	77.71 ± 3.18	83.84 ± 2.07	73.05 ± 3.50
SDA 系数 SDA/%	16.66 ± 0.56	15.79 ± 0.63	16.95 ± 0.44	14.88 ± 0.72

实验鱼的进食水平为 10% 体重 a, b: 上标字母不同的同一行数差异显著 (p < 0.05); * : 为主动摄食组。

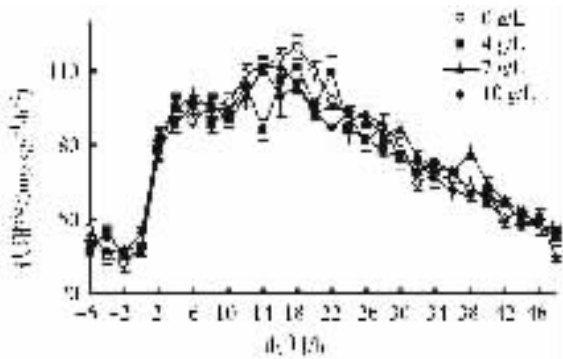


图 1 不同剂量麻醉灌喂后南方鲇幼鱼摄食后代谢率的变化

Fig. 1 Effect of force-feeding on profile of postprandial metabolic rate in anaesthetized juvenile southern catfish with different doses

3 讨论

以南方鲇为实验对象的摄食代谢相关研究资料较为丰富,其中付世建等^[9]测定了南方鲇幼鱼在不同摄食水平下的耗氧率,经过 SDA 相关参数计算后,拟合得到该鱼的摄食水平与 SDA 时间、摄食水平与摄食代谢峰值、SDA 总能量与能量摄食率之间的方程式,分别为 $Duration = 48.0 / (1 + e^{1.54 - 0.281M})$, $V_{O_2\ peak} = 129.6 + 334.0 \cdot (1 - e^{-0.0979M})$, $Y = -3.35 + 0.118X$, 其中 Duration 表示 SDA 时间(h), $V_{O_2\ peak}$ 表示摄食代谢峰值($mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$), M 表示摄食水平(% 体重), Y 表示 SDA 总能量($kJ \cdot kg^{-1}$), X 表示能量摄食率($kJ \cdot kg^{-1}$)。根据以上公式,通过计算并经过体重校正后得到南方鲇幼鱼在 10% 体重摄食水平下的理论 SDA 时间、摄食代谢峰值、SDA 总能量分别为 37.5 h、158.5 $mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ 、55.3 $kJ \cdot kg^{-1}$ 。

尽管本研究结果与文献理论推导值不完全一致,但是差异不大。

采用灌喂方法研究鱼类摄食代谢的文献资料^[4-8]显示,为了降低灌喂操作对鱼体造成的胁迫,研究者通常使用较低浓度的麻醉剂(MS-222, < 100 mg/L)在较短时间(3 ~ 5 min)^[4-5]使鱼体达到轻度麻醉,即麻醉后鱼体丧失正常反应能力,而灌喂完成后又能立即恢复。但是本研究发现南方鲇幼鱼对 MS-222 不太敏感,在 7 g/L(多数鱼类麻醉剂浓度的 70 倍)的浓度下持续 5 min 才能达到轻度麻醉,本实验室相关研究资料表明南方鲇的近缘种——鲇鱼对 MS-222 的敏感程度也明显低于其它鱼类^[19]。作者认为麻醉剂量的选择应该以鱼体麻醉后的行为特征为标准,在 SDA 研究中对于不同鱼类需要使用不同的麻醉剂量,且这个剂量差别可能很大。

关于麻醉灌喂操作对鱼类耗氧率影响的文献报道较少。在大鳞大马哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)的相关研究中,将空白组与麻醉假灌喂组的静止耗氧率、最大耗氧率和临界游泳速度进行比较,发现两个组别的各项指标均无显著差异,因此作者认为麻醉灌喂操作对该鱼的摄食代谢和运动能力影响不明显^[6]。大西洋大比目鱼(*H. hippoglossus*)的相关文献显示空白组、麻醉组和麻醉假灌喂组之间的耗氧率无显著差异,故作者得到麻醉和灌喂操作对该鱼摄食代谢影响较小的结论^[4]。但是以上研究均以不主动摄食鱼类为实验对象,缺少主动摄食对照组,因此研究者无法真实观测到麻醉灌喂对鱼类摄食代谢造成的影响。本研究中以实验条件下能主动摄食的鱼类为实验对象,用主动摄食组作为对照与各麻醉

灌喂组进行比较,发现麻醉灌喂后南方鲇的 SDA 参数除摄食代谢峰值比率外均没有发生明显变化,表明麻醉剂不会显著干扰南方鲇的摄食代谢反应,灌喂操作对南方鲇的 SDA 过程也无明显影响,麻醉灌喂方法对该鱼摄食代谢相关研究较为适用。在其它鱼类摄食代谢相关研究中,麻醉灌喂既可以解决实验鱼不主动摄食问题,也可以解决鱼体摄食量较小或者摄食量不均匀等问题。相信该方法的广泛运用能够为相关研究提供更丰富的基础资料。

参考文献:

- [1] Jobling M. The influences of feeding on the metabolic rate of fishes, a short review [J]. *Fish Biol*, 1981, 18 :385-400.
- [2] Brown J R, Cameron J N. The relation between specific dynamic action in and protein synthesis rates in channel catfish [J]. *Physiol Zool*, 1991, 64 :298-309.
- [3] Lyndon A R, Houlihan D F, Hall S J. The effect of short-term fasting and a single meal on protein synthesis and oxygen consumption in cod *Gadus morhua* [J]. *J Comp Physiol*, 1992, 71 :862-868.
- [4] Ronnestad I, Rojas-Garcia C R, Tonheim S K, et al. In vivo studies of digestion and nutrient assimilation in marine fish larvae [J]. *Aquaculture*, 2001, 201 :161-175.
- [5] Altimiras J, Claireaux G, Sandblom E, et al. Gastrointestinal blood flow and postprandial metabolism in swimming sea bass *Dicentrarchus labrax* [J]. *Physiol and Biochem zoology*, 2008, 81(5):663-672.
- [6] Thorarensen H, Farrell A P. Postprandial intestinal blood flow, metabolic rates, and exercise in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. *Physiol and Biochem zoology*, 2006, 79(4):688-694.
- [7] Axelsson M, Altimiras J, Claireaux G. Post-prandial blood flow to the gastrointestinal tract is not compromised during hypoxia in the sea bass *Dicentrarchus labrax* [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2002(205):2891-2896.
- [8] Lyndon A R, Houlihan D F, Hall S J. The effect of short-term fasting and a single meal on protein synthesis and oxygen consumption in cod, *Gadus morhua* [J]. *J Comp Physiol*, 1992, 162B :209-215.
- [9] Fu S J, Xie X J, Cao Z D. Effect of meal size on postprandial metabolic response in southern catfish (*Silurus meridionalis*) [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2005, 104 A :445-451.
- [10] Fu S J, Xie X J, Cao Z D. Effect of feeding level and feeding frequency on specific dynamic action in southern catfish *Silurus meridionalis* Chen [J]. *J Fish Biol*, 2005, 37 :171-181.
- [11] Fu S J, Xie X J, Cao Z D. Effect of dietary composition on specific dynamic action in southern catfish *Silurus meridionalis* Chen [J]. *Aqua Res*, 2005, 37 :107-110.
- [12] Fu S J, Cao Z D, Peng J L. Effect of purified macronutrients on specific dynamic action in carnivorous southern catfish [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2007, 13 :216-221.
- [13] Fu S J, Xie X J, Cao Z D. Effect of fasting and repeat feeding on metabolic rate in southern catfish, *Silurus meridionalis* Chen [J]. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 2005, 38(3):191-198.
- [14] Fu S J, Xie X J, Cao Z D. Effect of fasting on testing metabolic rate and postprandial metabolic response in southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen) [J]. *J Fish Biol*, 2005, 67 :279-285.
- [15] Fu S J, Cao Z D, Peng J L. Effect of meal size on postprandial metabolic response in Chinese catfish (*Silurus asotus* Linnaeus) [J]. *J Comp Physiol*, 2006B.
- [16] Guinea J, Feernandez F. Effect of feeding frequency, relative meal size and temperature on energy metabolism in *Sparus aurata* [J]. *Aquaculture*, 1997, 148 :125-142.
- [17] 汤洪芬,曹振东,付世建. 饥饿对鲇鱼幼鱼静止代谢率的影响 [J]. *重庆师范大学学报(自然科学版)*, 2007, 24(1):72-75.
- [18] 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.
- [19] 李黎,曹振东,付世建. 力竭性运动后鲇鱼幼鱼乳酸、糖原和葡萄糖水平的变动 [J]. *水生生物学报*, 2007, 31(6):127-132.

Effect of Force-feeding on Postprandial Metabolism in Anaesthetized Juvenile Southern Catfish with Different Doses

LIU Yun , CAO Zhen-dong , FU Shi-jian

(Laboratory of Evolutionary Physiology and Behaviour , Chongqing Key Laboratory of Animal Biology ,
Chongqing Normal University , Chongqing 400047 , China)

Abstract : Those fishes which can take food initiatively in experiment have been studied in many fish researches of postprandial metabolism , namely specific dynamic action (SDA). Recently the method of force-feeding following anaesthesia has been used in more and more relative researches into those fishes which can 't take food initiatively. However , little literature specially has valued this method at present. To investigate the effect of force-feeding on SDA in anaesthetized juvenile southern catfish , anaesthetized with different doses (4 , 7 , 10 g/L) and subsequently force-fed by a same level (10 % body mass) forage (loach , *Misgurnus anguillicanddotus*) in the present experiment. Meanwhile , initiative-feeding group is compared. Then the rates of oxygen consumption in each group are measured for 48 h (once per two hours). The results reveal that there are no significant differences among each group in almost every SDA variables (resting metabolic rate, SDA duration, time to peak, peak V_{O_2} , energy expended on SDA and SDA coefficient included) ($p > 0.05$) , except that there is significantly different between 10 g/L anaesthetized force-feeding group and initiative-feeding group in factorial metabolic scope ($p < 0.05$). The above results suggest that anaesthesia and force-feeding have no significant effect on SDA procedure in southern catfish. This method is not only fit to developing feeding metabolism research in southern catfish , but also helpful to gain relative data in those fish which can 't take food initiatively.

Key words : anaesthesia ; force-feeding ; southern catfish ; specific dynamic action

(责任编辑 游中胜)