

DOI: 10.12264/JFSC2024-0396

花刺参幼参安全运输用麻醉剂优选及麻醉效果评估

冯浩然^{1,2}, 黄亮华^{1,2,3}, 郑博骏^{1,2}, 黄毛宁^{1,2}, 吴俊濠^{1,2}, 许强^{1,2*}

1. 海南大学海洋生物与水学院, 海南 海口 570228;
2. 海南省热带水生生物技术重点实验室, 海南 海口 570228;
3. 广西中医药大学海洋药物研究院, 广西 南宁 530200

摘要: 花刺参(*Stichopus monotuberculatus*)因其对环境变化及人为刺激极为敏感, 人工繁育的苗种在运输过程中有应激性强、死亡率高的问题。本研究旨在开发一种适宜的麻醉方法以减轻幼参在运输过程中的应激反应和死亡率。比较了5种常见的渔用麻醉剂——丁香油、2-苯氧乙醇、硫酸镁、MS-222和氯化镁对花刺参幼参的麻醉效果; 通过建立基于行为学指标的麻醉及恢复阶段评价方法, 将整个麻醉过程分为轻度麻醉、中度麻醉、深度麻醉、轻度苏醒、中度苏醒和完全苏醒6个阶段。研究表明, 丁香油、硫酸镁和氯化镁均能将花刺参幼参麻醉。其中, 浓度0.2 mL/L的丁香油对花刺参幼参的麻醉效果最好, 0.02 mL/L和0.04 mL/L的浓度可提升花刺参幼参长时间运输的存活率。浓度0.5 mL/L的丁香油处理组幼参进入深度麻醉的时间最短, 为(6.04±1.24) min。应用浓度0.05 mol/L的硫酸镁麻醉剂, 幼参进入深度麻醉时间最长, 为(34.13±3.77) min。应用0.05 mol/L氯化镁幼参完全苏醒时间最短, 为(10.01±1.36) min; 而应用浓度0.25 mol/L硫酸镁麻醉剂, 幼参麻醉后达到完全苏醒时间最长, 为(60.39±5.28) min。高浓度的氯化镁和硫酸镁麻醉前后花刺参幼参体长无明显变化。MS-222和2-苯氧乙醇对花刺参幼参不具有麻醉作用。本研究筛选出适宜花刺参幼参的麻醉剂为丁香油, 最佳浓度为0.02 mL/L, 可保证幼参60 h长途运输后的有效恢复和高存活率。

关键词: 花刺参; 苗种运输; 麻醉; 安全浓度; 存活率

中图分类号: S981

文献标志码: A

文章编号: 1005–8737–(2025)06–0876–13

花刺参(*Stichopus monotuberculatus*)又名“黄肉参”, 属于棘皮动物门, 海参纲, 楯手目, 刺参科, 其分布范围是红海和马达加斯加到复活节岛以及从日本到澳大利亚的印度洋至太平洋珊瑚礁海域^[1]。在我国主要分布于海南岛近岸以及三沙珊瑚礁海域, 常栖息在活珊瑚礁中和有沙质沉积物的海草床中^[2]。花刺参是我国南方热带海域重要的经济海参种类, 也是修复珊瑚礁生态系统的重要工具物种^[3]。然而由于过度捕捞, 该海参资源已严重衰退, 急需开展人工繁育和底播增殖。花刺参在南海底播增殖空间广阔, 海南岛近岸及广

阔的三沙岛礁海域都是其适养区域。目前国内已突破花刺参的苗种规模化繁育技术, 但由于花刺参苗种的生存环境敏感性高, 使其在长途运输过程中死亡率较高^[4], 严重制约了其底播增殖范围的拓展。为进一步拓展花刺参底播增殖区域, 突破长距离安全运输关键技术是关键, 除优化和准确控制运输条件外, 选择合适的麻醉剂降低花刺参应激反应程度以及机体代谢速率是重要的措施之一。

目前水产生物常用的麻醉剂主要包括: MS-222、丁香油、2-苯氧乙醇、氯化镁和硫酸镁, 主要应用在鱼类、虾类和贝类等种类上。MS-222

收稿日期: 2025-01-10; 修订日期: 2025-02-27.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFD2401305); 国家自然科学基金项目(42076097); 海南省重点研发计划项目(ZDYF2021XDNY130).

作者简介: 冯浩然(2000–), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物学. E-mail: Fenghaoran1@163.com

通信作者: 许强, 教授, 研究方向为热带生物资源养护与海洋牧场. E-mail: xuqianghnu@hainanu.edu.cn

又称“三卡因”, 是国内外最常用的水产麻醉剂, 章霞等^[5]在评估麻醉剂对大黄鱼(*Larimichthys crocea*)幼鱼机体的影响时发现, 40 mg/L 质量浓度的 MS-222 最适宜用于大黄鱼幼鱼长时间运输。丁香油是天然植物提取物, 呈淡黄色微稠液体, 不溶于水, 其主要成分丁香酚主要调节蝇蕈醇与 γ -氨基丁酸 A 型受体的结合, 该受体在介导大脑抑制性神经传递方面起着关键作用^[6]。姜京京等^[7]研究了丁香油不同用药方式对克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)的麻醉效果, 结果表明体表喷洒麻醉比浸浴麻醉对克氏原螯虾组织应激损伤少, 麻醉效果好。2-苯氧乙醇有抗菌防腐功能, 毒性低, 价格低廉, 原料易获取。杨贵强等^[8]比较了 2-苯氧乙醇、三氯叔丁醇和丁香油三种麻醉剂对罗哲鱼(*Hucho taimen*)的影响, 研究发现质量分数为 0.3% 的 2-苯氧乙醇能够将人为催产排精操作对罗哲鱼造成的伤害降到最低。氯化镁是一类安全的麻醉剂, 并且不会对海洋环境造成污染^[9]。Heasman 等^[10]通过实验得出等渗氯化镁对牡蛎(*Pecten fumatus*)肌肉有松弛效果, 有降低牡蛎意外排卵的作用。

适用于棘皮动物海参类的麻醉剂及相关研究相对较少, 主要的研究对象是仿刺参(*Apostichopus japonicus*), 且麻醉研究大部分应用在仿刺参体长的测量^[11]以及解剖^[12]过程当中。硫酸镁麻醉剂已经应用到了刺参的体壁缝合的实验当中^[13]。何舟等^[14]比较了硫酸镁、丁香酚和 2-苯氧乙醇对仿刺参幼参的麻醉效果, 研究得出硫酸镁是仿刺参幼参最佳麻醉剂, 并指明最适浓度是 0.3~0.4 mol/L, 最适麻醉时间为 1 h。韩莎等^[15]进一步研究了水温以及规格对硫酸镁麻醉仿刺参效果的影响, 发现规格越大和温度越低都会使硫酸镁对仿刺参的适宜麻醉浓度升高, 但硫酸镁麻醉浓度应控制在 0.35 mol/L 以内且麻醉时间不宜超过 0.5 h, 这与先前何舟等^[14]的实验结论相差较大。韩莎等^[16]选用薄荷醇对仿刺参幼参进行麻醉实验, 研究得出浓度在 4% 以内的薄荷醇对不同规格的仿刺参都有较好的麻醉作用。上述研究表明, 适用于同一种生物的有效麻醉剂不止一种, 同种麻醉剂在不同的环境以及使用方法下也会有不同的效果。因此筛选一种海参运输的麻醉剂, 使其在有效缓解海参应激反

应的同时, 满足海参运输过程中的安全性要求, 这需要针对运输用麻醉剂的筛选、安全用药浓度以及适宜麻醉程度进行细致研究。

本研究筛选测试丁香油、2-苯氧乙醇、硫酸镁、MS-222 以及氯化镁五种麻醉剂对花刺参幼参的麻醉效果, 以期查明用药浓度、麻醉与苏醒时间、麻醉后幼参体长恢复程度、幼参应激反应行为以及长时间麻醉存活率, 筛选出适用于花刺参安全运输的麻醉剂, 以期在花刺参长距离运输中的麻醉剂的选用及施用方法提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用花刺参取自本团队自行繁育的幼参。将 1000 头花刺参幼参放入水泥池(8 m×2 m×0.8 m)中, 实验海水是经过砂滤后的自然海水, 水温(29±2) °C, 盐度 30±1, 暂养过程中连续充气, 每天换水 10 h, 饲料由青岛海芙特生态科技有限公司生产的鼠尾藻粉、马尾藻粉、稚参料、硅藻泥混合而成, 配合 EM 菌、酿酒酵母 I 型、海洋红酵母等(表 1), 发酵 10 h 后每天 18:00 投喂 1 次, 投喂量为海参体重的 2%。实验前 1 天停止投喂。每 7 天冲洗池底以清理海参粪便。

丁香油、2-苯氧乙醇、硫酸镁、MS-222 和氯化镁等麻醉试剂均购买自上海麦克林生化科技股份有限公司。

表 1 花刺参幼参饲料配比
Tab. 1 Feed composition of juvenile *Stichopus monotuberculatus*

饲料组成 feed composition	比例/% proportion
鼠尾藻粉 <i>Sargassum powder</i>	22.4
马尾藻粉 <i>Hizikia fusiformis powder</i>	22.4
稚参料 juvenile sea cucumber feed	22.4
硅藻泥 diatomite	22.4
EM 菌液 effective microorganisms solution	6.4
酿酒酵母 I 型 <i>Saccharomyces cerevisiae type I</i>	2
海洋红酵母 <i>Rhodotorula benthica</i>	2

1.2 实验方法

1.2.1 麻醉剂浓度设置及麻醉剂对花刺参行为的影响 MS-222 和 2-苯氧乙醇直接溶解到砂滤海

水中稀释至实验所需浓度。氯化镁和硫酸镁溶于海水中会放出大量的热量,实验配制这两种试剂后要冷却至与海水温度相同后方可使用。丁香油不易溶于水,实验采用王晓龙等^[17]的实验方法先以 1:9 的比例溶解于无水乙醇后再溶于海水。通过预实验,将 5 种麻醉剂的最低浓度设置在 40 min 内花刺参能够进入深度麻醉阶段,20 min 内花刺参进入完全苏醒阶段;最高浓度设置在 20 min 内花刺参进入深度麻醉阶段,60 min 内花刺参进入完全苏醒阶段。5 种麻醉剂设置浓度如表 2。

表 2 5 种麻醉剂浓度设置
Tab. 2 Concentration settings of five anesthetics

麻醉剂 anesthetics	组 1 group 1	组 2 group 2	组 3 group 3	组 4 group 4	组 5 group 5
MS-222/(mg/L) tricaine	100	150	200	250	300
氯化镁/(mol/L) magnesium chloride	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25
硫酸镁/(mol/L) magnesium sulfate	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25
2-苯氧乙醇/(mL/L) 2-phenoxyethanol	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
丁香油/(mL/L) clove oil	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5

应用 5 种备选麻醉剂对花刺参幼参进行麻醉与苏醒的行为观察,规格为(1.66±0.22) g。用相机拍摄花刺参幼参进入麻醉与苏醒的形态与行为特征,记录花刺参的触手伸缩情况、管足吸附力强弱和摆动快慢以及人为刺激后身体扭曲程度。

1.2.2 备选安全麻醉剂的筛选 本实验设置 3 个平行组,每组 5 头花刺参,规格为(1.60±0.21) g。在 3 个塑料盒(1.5 L)中分别加入 1.2 L 按照预设浓度(表 2)配制的含 5 种备选麻醉剂的过滤海水。每组随机选取健康活力强的花刺参幼参 5 头,在麻醉之前重复测量 3 次正常状态下的体长作为初始值,然后放入海水中进行麻醉。当花刺参幼参进入深度麻醉状态时,对其麻醉后的体长重复测量 3 次并记录麻醉时间。再将花刺参幼参放到正常海水中进行苏醒,当花刺参幼参进入完全苏醒状态时,重复测量 3 次苏醒后的体长并记录苏醒时间。

1.2.3 安全麻醉剂不同施用浓度对幼参麻醉与苏醒时间的影响 本实验设置 3 个平行组,每组 5 头花刺参,规格为(1.55±0.27) g。基于已筛选出的安全麻醉剂种类,参照 1.2.2 配制 3 种含预设浓度麻醉剂的过滤海水。随机选取健康活力强的花刺参幼参,每次实验依次只放一头花刺参幼参进行麻醉。通过麻醉剂对花刺参麻醉后行为特征判断,记录花刺参进入轻度麻醉阶段、中度麻醉阶段和深度麻醉阶段的时间。再将该花刺参幼参放到正常海水中苏醒,记录花刺参进入轻度苏醒阶段、中度苏醒阶段和完全苏醒阶段的时间。

1.2.4 优选长效安全麻醉剂对不同规格幼参的麻醉效果 参考 Marking 等^[18]水产生物对理想麻醉剂的要求,优选花刺参安全麻醉剂。其实验浓度设置为:以优选安全麻醉剂对花刺参幼参最适宜的浓度为上限浓度,将最适宜的浓度缩小 10 倍为下限浓度,中间设置 6 个浓度梯度。每组浓度设置 3 个平行。

在体积 3 L 左右的水产苗种运输专用苗袋中加入 1 L 含不同浓度梯度优选安全麻醉剂的过滤海水,对照组加入 1 L 正常海水,模拟苗种运输条件。本实验设置 3 个平行组,选取小规格(1.34±0.68) g、中规格(3.48±1.13) g 和大规格(5.62±1.77) g 的花刺参,每个浓度梯度的苗袋中分别放入 3 种规格的海参 10 头,不加氧打包后放入加满海水的水泥池(8 m×2 m×0.8 m)中使其漂浮在水面,以确保实验过程中的稳定水温(30±1) °C。每个规格组分别在 6 h、12 h、24 h、36 h、48 h、60 h、72 h、84 h、96 h 时间点打开苗袋($n=3$),取出幼参放入自然海水中苏醒,以 12 h 以内完全苏醒为标准判定其存活,以幼参体表分泌大量黏液或者发生自溶判定其死亡,最终计算各组花刺参幼参的存活率。

1.3 数据分析与统计

实验数据采用 SPSS 25 软件进行统计分析,统计值均用平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示,组间差异比较采用 ANOVA 单因素方差分析,两两比较时方差齐则采用 LSD 检验法,如果方差不齐则采用 Tamhane's T2 进行比较,以 $P < 0.05$ 表示差异显著。采用 GraphPad Prism 8 进行作图。

2 结果与分析

2.1 5 种备选麻醉剂对花刺参行为状态的影响

使用 5 种麻醉剂处理花刺参幼参后, 其麻醉效果有所不同, 麻醉剂种类的选择会直接影响到海参麻醉与苏醒的行为状态(图 1)。根据花刺参幼参进行麻醉与苏醒的形态特征, 同时参考仿刺参麻醉和复苏的 3 个阶段划分^[14], 将花刺参麻醉阶段划分为: 轻度麻醉阶段、中度麻醉阶段和深度麻醉阶段, 将花刺参麻醉后苏醒阶段划分为: 轻度苏醒阶段、中度苏醒阶段和完全苏醒阶段。加入丁香油、硫酸镁或氯化镁的幼参表现出相似的行为状态; 同样, 加入 MS-222 或 2-苯氧乙醇的幼参, 表现出相似行为状态。

通过观察得到了 5 种麻醉剂对花刺参麻醉与苏醒阶段的行为特征描述。其中, 在麻醉阶段, 加入丁香油、氯化镁和硫酸镁的幼参, 随着麻醉的进行幼参触手伸缩变慢直至完全伸展, 幼参身体均伸长。而加入 MS-222 和 2-苯氧乙醇的幼参, 触手不伸缩, 身体呈蜷缩状态。在轻度苏醒

阶段时, 丁香油、氯化镁和硫酸镁组的幼参, 管足开始摆动; 而 MS-222 和 2-苯氧乙醇组的幼参, 管足并未摆动。随着进入中度苏醒阶段和完全苏醒阶段, 5 种麻醉组的幼参均表现出相同的行为特征(表 3)。

2.2 5 种备选麻醉剂对花刺参麻醉效果的比较

2.2.1 麻醉剂对幼参体长的影响

实验发现, 从表 4 中可以得出, 在麻醉阶段, 使用不同浓度的丁香油麻醉后花刺参幼参的体长均增长($P < 0.05$); 低浓度的氯化镁(0.05 mol/L)和 0.1 mol/L 硫酸镁组的幼参麻醉后体长均增长($P < 0.05$), 而在中高浓度 0.15 mol/L、0.2 mol/L 和 0.25 mol/L 幼参麻醉后体长变化不明显($P > 0.05$); MS-222 与 2-苯氧乙醇所有浓度处理组的幼参体长均缩短($P < 0.05$)。

在苏醒阶段, 最高浓度丁香油组(0.5 mL/L)的幼参苏醒后体长未恢复($P > 0.05$); 低浓度的氯化镁(0.05 mol/L)和 0.1 mol/L 硫酸镁组的幼参苏醒后体长均恢复($P < 0.05$); MS-222 的 150 mg/L 和 2-苯氧乙醇的 0.5 mL/L 与 1 mL/L 的幼参苏醒后体

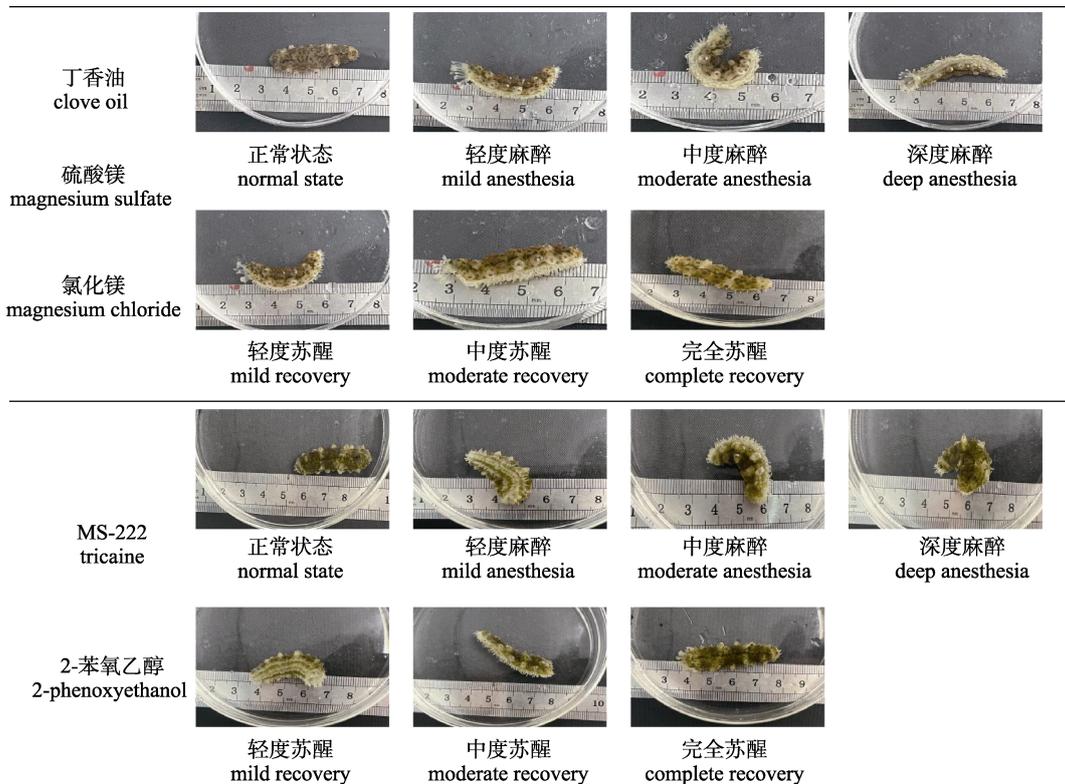


图 1 5 种麻醉剂作用下花刺参幼参麻醉和苏醒的形态特征
 Fig. 1 Morphological characteristics of anesthesia and recovery of juvenile *Stichopus monotuberculatus* under five anesthetics treatment

表 3 施用 5 种麻醉剂后花刺参麻醉及苏醒阶段的行为特征
 Tab. 3 The behavioral characteristics of *Stichopus monotuberculatus* at anesthesia and recovery stages after application of five anesthetics

阶段 stage	程度 degree	麻醉剂种类 types of anesthetics	行为特征 behavior characteristics
麻醉阶段 anesthesia stage	A0 正常状态 A0 normal state		触手伸缩快. 管足吸附力强. 人为刺激后身体反应快速且有规律的扭曲.
	A1 轻度麻醉 A1 mild anesthesia	丁香油 clove oil 硫酸镁 magnesium sulfate 氯化镁 magnesium chloride MS-222 tricaine 2-苯氧乙醇 2-phenoxyethanol	触手伸缩变慢. 外侧管足无吸附力, 摆动速度快; 中间管足吸附力强. 人为刺激后身体反应快速且有规律的扭曲. 触手回缩. 管足吸附力强. 人为刺激身体后快速无规律的扭曲.
	A2 中度麻醉 A2 moderate anesthesia	丁香油 clove oil 硫酸镁 magnesium sulfate 氯化镁 magnesium chloride MS-222 tricaine 2-苯氧乙醇 2-phenoxyethanol	触手无伸缩, 开始伸展. 管足全部无吸附力, 摆动速度变慢. 人为刺激后身体反应慢, 有规律的缓慢扭曲, 身体向背部弯曲并开始伸长. 触手无伸缩, 呈收缩状态. 管足吸附力弱. 人为刺激后身体向背部弯曲并开始收缩, 不扭曲.
	A3 深度麻醉 A3 deep anesthesia	丁香油 clove oil 硫酸镁 magnesium sulfate 氯化镁 magnesium chloride MS-222 tricaine 2-苯氧乙醇 2-phenoxyethanol	触手无伸缩, 完全伸展. 管足全部无吸附力, 不摆动. 人为刺激后身体无反应不扭曲, 身体伸直、伸长. 触手无伸缩, 呈收缩状态. 部分个体管足吸附力弱, 部分个体管足无吸附力. 人为刺激后身体收缩呈球状.
苏醒阶段 recover stage	T1 轻度苏醒 T1 mild recovery	丁香油 clove oil 硫酸镁 magnesium sulfate 氯化镁 magnesium chloride MS-222 tricaine 2-苯氧乙醇 2-phenoxyethanol	触手缓慢伸缩. 管足无吸附力, 开始缓慢摆动. 人为刺激后身体缓慢扭曲, 身体收缩. 触手无伸缩, 呈收缩状态. 管足全部无吸附力, 不摆动. 人为刺激后身体缓慢扭曲, 身体伸长.
	T2 中度苏醒 T2 moderate recovery	丁香油 clove oil 硫酸镁 magnesium sulfate 氯化镁 magnesium chloride MS-222 tricaine 2-苯氧乙醇 2-phenoxyethanol	触手伸缩变快. 管足吸附力弱, 摆动速度快. 人为刺激后身体反应变快且有规律的扭曲.
	T3 完全苏醒 T3 complete recovery	丁香油 clove oil 硫酸镁 magnesium sulfate 氯化镁 magnesium chloride MS-222 tricaine 2-苯氧乙醇 2-phenoxyethanol	触手伸缩快. 管足吸附力强, 开始爬壁. 人为刺激后身体反应迅速且有规律的扭曲.

表 4 5 种麻醉剂对花刺参体长的影响
 Tab. 4 Effects of five anesthetics on body length of *Stichopus monotuberculatus*

$n=15; \bar{x} \pm SD$

麻醉剂 anesthetics	浓度组别 concentration group	正常体长/cm normal body length	麻醉后体长/cm body length after anesthesia	苏醒后体长/cm body length after recovery	麻醉后体长变化百分比/% percentage change in body length after anesthesia	苏醒后体长变化百分比/% percentage change in body length after recovery
MS-222 tricaine	1	3.51±0.48 ^c	2.43±0.30 ^a	3.21±0.44 ^b	69.23±0.63	91.45±0.92
	2	3.21±0.60 ^c	2.30±0.40 ^a	2.95±0.52 ^b	71.65±0.67	91.90±0.87
	3	3.62±0.45 ^c	2.39±0.36 ^a	3.09±0.43 ^b	66.02±0.80	85.36±0.96
	4	3.20±0.49 ^c	2.09±0.42 ^a	2.54±0.39 ^b	65.31±0.86	79.38±0.80
	5	3.08±0.47 ^c	1.78±0.45 ^a	2.48±0.39 ^b	57.79±0.96	80.52±0.83

(待续 to be continued)

(续表 4 Tab. 4 continued)

麻醉剂 anesthetics	浓度组别 concentration group	正常体长/cm normal body length	麻醉后体长/cm body length after anesthesia	苏醒后体长/cm body length after recovery	麻醉后体长变化百分比/% percentage change in body length after anesthesia	苏醒后体长变化百分比/% percentage change in body length after recovery
2-苯氧乙醇 2-phenoxyethanol	1	3.13±0.50 ^b	2.70±0.62 ^a	3.28±0.52 ^b	86.26±1.24	104.79±1.04
	2	2.94±0.55 ^b	1.94±0.29 ^a	2.70±0.54 ^b	65.99±0.53	91.83±0.98
	3	3.36±0.48 ^c	2.53±0.31 ^a	3.08±0.45 ^b	75.30±0.65	91.66±0.94
	4	3.16±0.33 ^b	2.56±0.41 ^a	2.81±0.69 ^a	81.01±1.24	88.92±2.09
	5	3.60±0.38 ^b	3.02±0.57 ^a	3.25±0.49 ^a	83.89±1.50	90.27±1.29
丁香油 clove oil	1	2.98±0.52 ^a	4.68±0.69 ^c	3.70±0.75 ^b	157.05±1.33	124.16±1.44
	2	2.93±0.53 ^a	4.05±0.57 ^c	3.47±0.58 ^b	138.23±1.08	118.43±1.09
	3	3.10±0.24 ^a	3.94±0.41 ^c	3.35±0.40 ^b	127.10±1.71	108.06±1.67
	4	2.99±0.46 ^a	4.14±0.51 ^c	3.46±0.52 ^b	138.46±1.11	115.72±1.13
	5	3.25±0.36 ^a	4.48±0.63 ^b	3.93±0.47 ^b	137.85±1.75	120.92±1.31
硫酸镁 magnesium sulfate	1	2.68±0.64 ^a	3.32±0.64 ^b	2.90±0.55 ^a	123.88±1.00	108.20±0.86
	2	2.71±0.64 ^a	3.36±0.50 ^b	2.88±0.38 ^a	123.99±0.78	106.27±0.59
	3	2.99±0.38 ^a	3.09±0.36 ^a	3.21±0.57 ^a	103.34±0.95	107.36±1.50
	4	3.10±0.56 ^a	3.06±0.39 ^a	3.05±0.43 ^a	98.71±0.67	98.39±0.77
	5	2.54±0.53 ^a	3.07±0.66 ^b	2.79±0.56 ^{ab}	120.87±1.25	109.84±1.06
氯化镁 magnesium chloride	1	2.84±0.43 ^a	3.38±0.53 ^b	2.93±0.44 ^a	119.01±1.23	103.17±1.02
	2	3.19±0.51 ^a	3.88±0.63 ^b	3.49±0.53 ^a	121.63±1.24	109.40±1.04
	3	2.92±0.49 ^a	3.62±0.55 ^c	3.25±0.49 ^b	123.97±1.12	111.30±1.00
	4	3.02±0.42 ^a	3.56±0.49 ^b	3.32±0.46 ^b	117.88±1.17	109.93±1.10
	5	2.36±0.40 ^a	2.62±0.65 ^a	2.42±0.54 ^a	111.02±1.63	102.54±1.35

注: 同行不同字母表示差异显著($P<0.05$).

Note: Different letters in the same row indicate significant difference ($P<0.05$).

长恢复到正常状态($P<0.05$), 而 2-苯氧乙醇的 2 mL/L 和 2.5 mL/L 的幼参苏醒后体长未恢复($P>0.05$).

2.2.2 麻醉剂对幼参麻醉及苏醒时间的影响 实验结果表明, 除氯化镁外, 其余麻醉剂最低浓度处理组幼参进入深度麻醉的时间在不同浓度组间最长, 而次低浓度(0.1 mol/L)氯化镁组的幼参进入深度麻醉的时间在不同浓度组间最长。0.05 mol/L 的硫酸镁使幼参进入深度麻醉的时间最长, 为(34.13±3.77) min (图 2d, $P<0.05$)。幼参进入深度麻醉的最短时间均出现在 5 种麻醉剂的最高浓度, 其中 0.5 mL/L 丁香油的深度麻醉时间最短, 为(6.04±1.24) min (图 2c, $P<0.05$)。

图 3 显示施用 5 种麻醉剂幼参达到完全苏醒的时间情况。在 5 种麻醉剂中, 0.05 mol/L 的氯化镁组幼参完全苏醒时间最短, 为(10.01±1.36) min (图 3e, $P<0.05$); 0.25 mol/L 的硫酸镁组幼参完全

苏醒时间最长, 为(60.39±5.28) min (图 3d, $P<0.05$)。150 mg/L MS-222 组中幼参完全苏醒时间最长, 为(18.80±5.35) min (图 3a, $P<0.05$)。丁香油组中 0.2 mL/L、0.3 mL/L 和 0.4 mL/L 的幼参完全苏醒时间相差不明显(图 3c, $P>0.05$)。

2.3 安全麻醉剂浓度对幼参到达不同麻醉与苏醒阶段时间的影响

丁香油浓度对幼参从正常状态到达轻度麻醉 A1 阶段经历的时间无显著影响(图 4a1, $P>0.05$); 高浓度的丁香油处理下幼参从中度麻醉 A2 阶段到达深度麻醉 A3 阶段所耗费的时间明显缩短(图 4A1, $P<0.05$)。浓度 0.2 mL/L 和 0.3 mL/L 丁香油处理下幼参从中度苏醒 T2 阶段到完全苏醒 T3 状态所经历的时间与 0.4 mL/L 浓度处理组无显著性差异(图 4a2, $P>0.05$)。

浓度 0.15 mol/L 的硫酸镁处理组幼参从中度麻醉 A2 阶段进入深度麻醉 A3 阶段经历的时间比

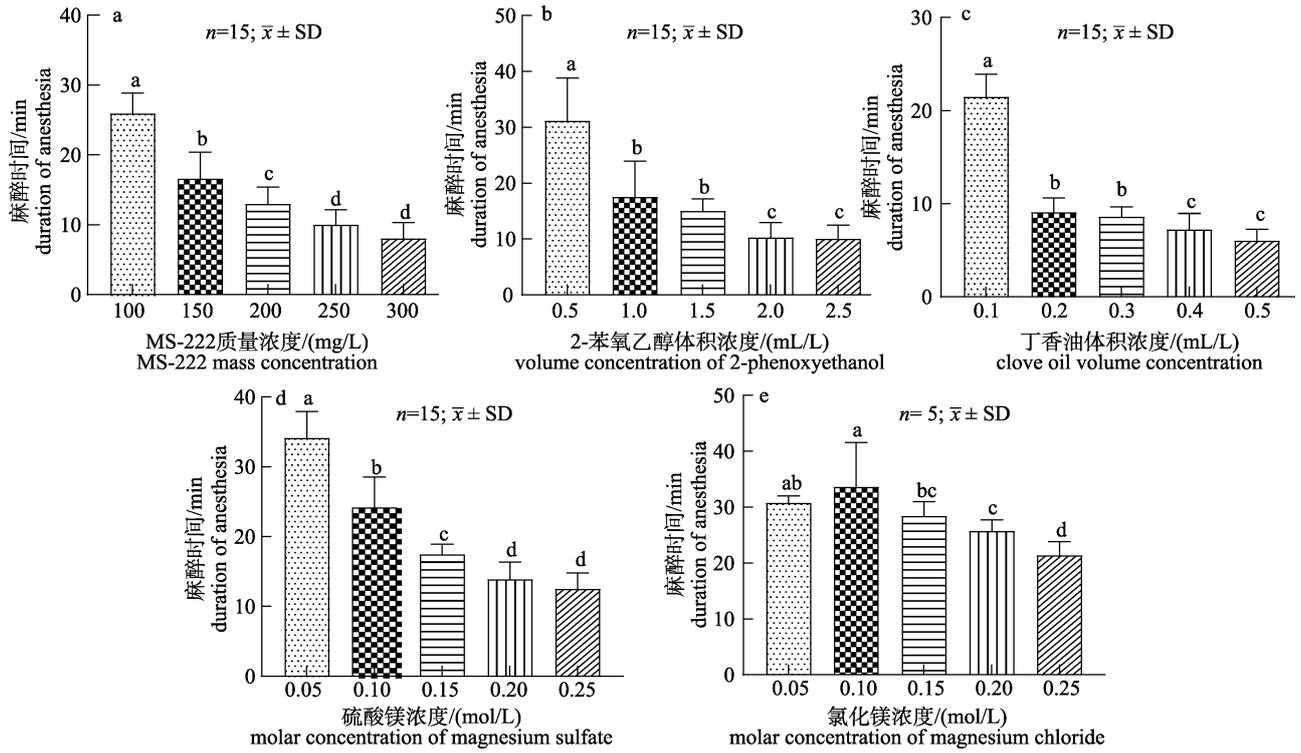


图 2 花刺参幼参施用 5 种麻醉剂进入深度麻醉的时间
不同字母表示组间显著性差异(P<0.05).

Fig. 2 The time of deep anesthesia for juvenile *Stichopus monotuberculatus* after 5 kinds of anesthetic application
Different letters indicate significant difference between groups (P<0.05).

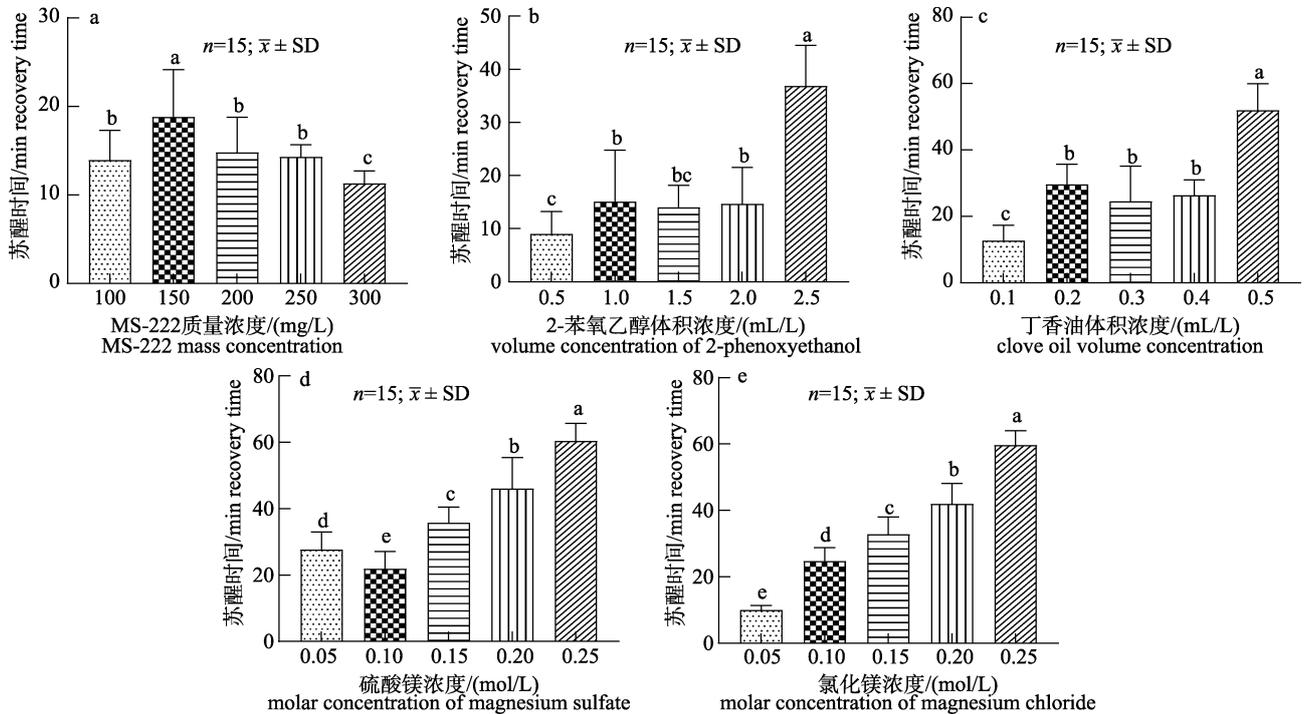


图 3 花刺参幼参施用 5 种麻醉剂达到完全苏醒的时间
不同字母表示组间显著性差异(P<0.05).

Fig. 3 The time of full awakening for juvenile *Stichopus monotuberculatus* after 5 kinds of anesthetic application
Different letters indicated significant difference between groups (P<0.05).

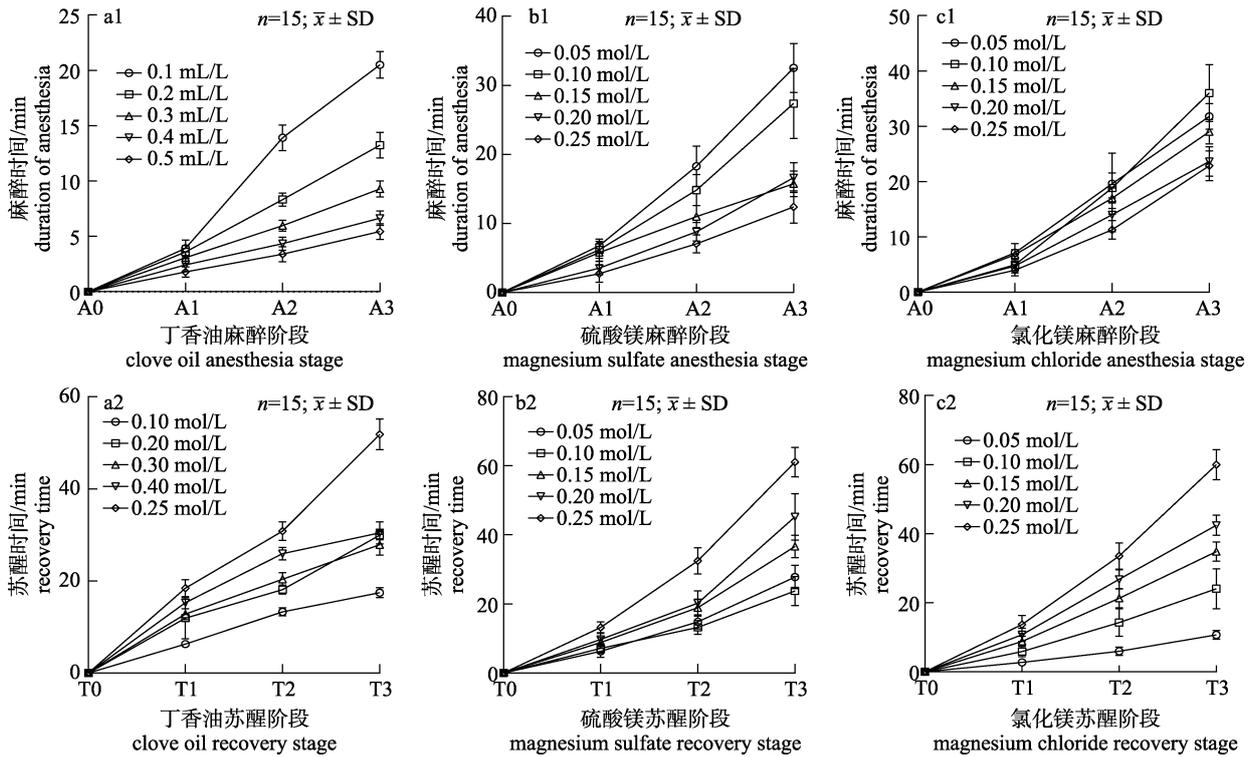


图 4 安全麻醉剂浓度对幼参到达不同麻醉与苏醒阶段时间的影响

Fig. 4 The effect of safety anesthetics on time of anesthesia and recovery of juvenile *Stichopus monotuberculatus*

0.2 mol/L 浓度组长 (图 4b1)。0.05 mol/L 和 0.1 mol/L 浓度处理组幼参从轻度苏醒 T1 阶段进入中度苏醒 T2 阶段经历的时间相近 (图 4b2, $P>0.05$)。

氯化镁浓度对幼参从正常状态到达轻度麻醉 A1 阶段经历的时间无显著影响 (图 4c1, $P>0.05$); 所有浓度的氯化镁处理下幼参从中度麻醉 A2 阶段到达深度麻醉 A3 阶段所耗费的时间显著 (图 4c1, $P<0.05$)。所有浓度的氯化镁对幼参苏醒各阶段所消耗的时间具有显著性, 幼参苏醒各阶段消耗的时间都随着氯化镁浓度增加而增长 (图 4c2, $P<0.05$)。

2.4 丁香油麻醉剂浓度对幼参长时间麻醉后存活率的影响

如图 5a, 小规格幼参的长时间麻醉存活率随麻醉剂浓度的降低而增加, 浓度 0.2 mL/L 和 0.16 mL/L 丁香油麻醉后 6 h 时幼参开始死亡, 12 h 内 0.2 mL/L 浓度的幼参全部死亡, 36 h 时 0.16 mL/L 浓度幼参全部死亡, 最低浓度 0.02 mL/L 的幼参也在 72 h 时全部死亡。而对照

组的幼参在 48 h 时开始死亡, 到 72 h 后趋于稳定不再出现死亡, 最终存活率为 56.67%。结果表明, 小规格幼参无法耐受实验浓度范围内的长时间麻醉。

中规格 (图 5b) 的幼参对丁香油麻醉剂的适应性相较于小规格的耐受性明显增强, 总体也呈现浓度越高存活率降低越快的趋势。最低浓度 0.02 mL/L 组幼参 36 h 时存活率保持在 100%, 优于对照组, 在 48 h 时开始出现死亡, 72 h 后趋于稳定, 4 d 的最终存活率为 81.48%, 而对照组幼参在 84 h 时全部死亡, 其余各浓度组在 84 h 内全部死亡。与对照组相比, 0.04 mL/L 浓度组的幼参 60 h 时的存活率为 63.33%, 高于对照组的 43.33%, 这表明丁香油对保证幼参的存活有一定效果。

大规格 (图 5c) 的幼参对丁香油麻醉剂的适应性相较于小规格和中规格的耐受性明显增强, 总体同样呈现浓度越高存活率降低越快的趋势。最低浓度 0.02 mL/L 组幼参 60 h 时存活率保持在 100%, 优于对照组。0.02 mL/L 和 0.04 mL/L 组的幼参在 84 h 趋于稳定, 96 h 存活率分别为 80% 和 46.15%, 而对照组与其余各浓度组幼参在 84 h 内全部死亡。

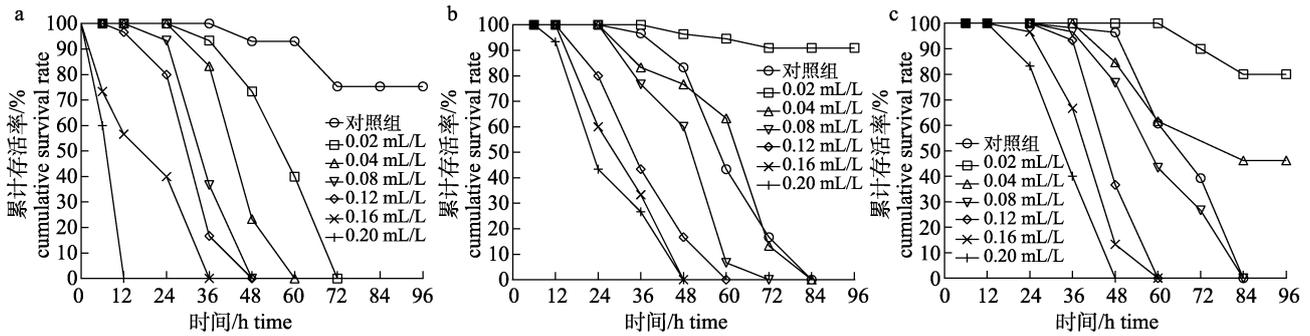


图 5 丁香油对不同规格花刺参幼参长时间麻醉的累计存活率

a. 小规格; b. 中规格; c. 大规格。

Fig. 5 Accumulated survival rate of juvenile *Stichopus monotuberculatus* of different sizes anesthetized by eugenol over long time
a. Small size; b. Medium size; c. Large size.

苏醒过程中, 3 种规格的对照组均有部分幼参出现吐脏现象, 吐脏的花刺参 3 h 内均死亡, 表现为自溶。而所有丁香油处理组的幼参均未出现吐脏现象。

3 讨论

3.1 五种麻醉剂对花刺参体态及行为的影响

麻醉处理后的花刺参幼参行为状态是评估麻醉剂对花刺参幼参影响的重要手段之一, 同时也是最直观判断麻醉剂对花刺参是否有效的方法。针对仿刺参的研究表明, 在麻醉剂处理后, 刺参的体态和行为均会受到一定程度的影响, 出现运动减缓、身体姿态异常或爬行轨迹紊乱等情况^[19]。本研究在已有研究的基础上, 增加了花刺参触手伸缩速度以及管足吸附力作为判断花刺参麻醉与苏醒阶段的标准, 丰富了描述海参在麻醉或苏醒过程中的指标体系。同时研究发现, 麻醉处理后花刺参也出现了与仿刺参类似的行为反应, 如身体不规则扭动、管足完全伸展和触手逐渐展开等。

Carter 等^[20]的研究表明, 麻醉剂不仅应该让海参失去运动能力, 还应该让海参失去感觉, 限制海参受刺激时的压力。判断一种麻醉剂是否对海参有效的标准是: 海参受到人为刺激时会从反应迅速到反应缓慢再到无反应。而加入对海参无效的麻醉剂, 受到人为刺激后, 海参始终表现出无规则扭动或者身体伸缩呈球状等应激类反应。

3.2 花刺参幼参安全麻醉剂的筛选

通过比较 5 种麻醉剂应用情况下花刺参麻醉

与苏醒的时长和体长变化范围, 结合幼参各项行为特征指标, 筛选出适用于花刺参的安全麻醉剂为: 丁香油、氯化镁和硫酸镁。

MS-222 虽然对鱼类有显著的麻醉效果^[21], 但是对于麻醉花刺参并不理想。幼参在放入 MS-222 与 2-苯氧乙醇后所表现的行为特征完全一致, 根据行为特征以及体长变化判断, 幼参所呈现的行为是麻醉应激反应, 所以这两种麻醉剂对花刺参不具备麻醉效果。本研究中 2-苯氧乙醇对花刺参的麻醉效果与何舟等^[14]对仿刺参的研究相同, 使用该麻醉剂后花刺参和仿刺参身体均呈现扭动和蜷缩成球状的应激反应。MS-222 与 2-苯氧乙醇麻醉作用于脊椎动物中的中枢神经, 麻醉效果取决于脊椎动物对麻醉剂的耐受性强弱^[22]。花刺参作为对环境十分敏感的无脊椎动物, 其神经系统可能对 MS-222 与 2-苯氧乙醇麻醉耐受性很差, 因此主要表现为应激反应。朱之发等^[23]分析了 12 种麻醉剂对长蛸(*Octopus minor*)的麻醉效果, 结果显示包括 MS-222 与 2-苯氧乙醇在内的 10 种麻醉剂对长蛸均无麻醉效果。与之相类似, Hajek 等^[24]在研究麻醉剂对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)的麻醉效果时, 使用浓度为 1000 mg/L 的 MS-222, 也并未实现对中华绒螯蟹的有效麻醉。

海参身体柔软, 具有很强的伸缩性, 因此准确测量海参的体长是众多研究者研究海参麻醉剂的目的之一。韩莎采用了体长变异系数来反映麻醉剂对仿刺参体长的变化, 结果表明, 硫酸镁^[15]和薄荷醇^[16]均可以减少仿刺参体长测量的误差。

但对于实现海参长距离安全运输的目的而言, 苏醒后的体长也是判断麻醉剂安全性及适用性的重要指标。本研究通过研究麻醉和苏醒过程中花刺参体长与正常体长的比值, 直观反映麻醉剂对其麻醉程度与之后的苏醒程度。不安全的麻醉剂施用后花刺参体长缩短, 其原因可能是受麻醉应激反应的影响。采用安全麻醉剂, 花刺参苏醒后的体长无法在短时间内恢复到正常状态, 其原因可能是由于被麻醉的花刺参生理状态受到了较大影响, 即使长时间的苏醒过程也不能恢复正常。韩莎等^[25]在研究麻醉剂对仿刺参免疫酶活性的影响时发现, 0.5 mol/L 的硫酸镁麻醉仿刺参后, 其特定生长率(SGR)显著降低, 生理和生长状态受影响较大。

麻醉时间和麻醉浓度可以直接影响生物的生理反应^[26]。本研究发现, 用浓度为 0.2 mL/L 丁香油麻醉幼参, 其进入深度麻醉时间最快。而硫酸镁浓度对花刺参幼参的恢复时间不是正相关, 而是随浓度增加先减少后增加, 其原因是生物个体对麻醉剂有不同程度的抵抗力^[27]。由此可见, 对于不同种类的海参而言, 其适合的麻醉剂也不尽相同, 应充分考虑本物种所在的生态环境影响, 如温度、盐度、pH、溶氧等, 还应将物种个体的规格考虑在内, 这一点在鱼类^[28]虾类^[29]的研究得到了充分验证。而那些不适应本物种的麻醉剂可能会造成物种个体的器官损伤, 进而造成死亡^[29]。

3.3 花刺参幼参安全麻醉剂的适宜应用浓度

Marking 等^[30]研究认为理想的麻醉剂应能在 3 min 内对水产生物产生麻醉效果, 5 min 内生物能够恢复。通过花刺参麻醉与苏醒各阶段的时间结果显示, 在丁香油、氯化镁和硫酸镁 3 种安全麻醉剂中, 最接近上述标准的理想的麻醉剂为丁香油, 最适浓度为 0.2 mL/L。

硫酸镁与氯化镁的麻醉机理主要是镁离子对生物神经肌肉连接处突触递质释放的抑制作用^[31]。然而较高浓度的氯化镁与硫酸镁会导致海水的盐度升高, 花刺参无法有效适应盐度突变环境, 容易造成死亡^[32]。因此笔者筛选出低浓度的硫酸镁和氯化镁作为花刺参安全麻醉剂, 浓度应控制在 0.15 mol/L 以内。

Carter 等^[19]的研究结果表明, 施用乙醇后的北极参(*Cucumaria frondosa*)表现出比正常状态下更高的呼吸速率, 这表明乙醇对北极参不具有麻醉效果。因此推断本研究中的丁香油乙醇混合液对花刺参起麻醉成分的主要效果是丁香油。本研究发现, 丁香油浓度越高, 花刺参幼参进入深度麻醉状态越快, 而苏醒时间也越长。Aydin 等^[33]指出随着丁香油浓度升高, 其对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)的苏醒时间是其麻醉时间的 4 倍以上。相较于硫酸镁和氯化镁, 丁香油的麻醉效果最好, 与仿刺参最佳麻醉剂是硫酸镁^[15]这个研究结果不同。通过麻醉各阶段时间的对比结果得出, 使用 0.2 mL/L 浓度的丁香油, 对花刺参幼参麻醉效果最好, 同时恢复时间较快。与硫酸镁和氯化镁相比, 麻醉花刺参的丁香油用量少, 配制施用简单, 是优先推荐的花刺参幼参麻醉剂种类。

3.4 丁香油对不同规格花刺参幼参长时间麻醉的效果

实验表明中规格和大规格的幼参在低浓度(0.02 mL/L 和 0.04 mL/L)施用丁香油时可延长其长时间运输的存活概率, 而在其他浓度时不具有该效应。小规格的幼参即使施用最低浓度 0.02 mL/L 的丁香油时也无法延长其长时间运输的存活概率。

丁香油具有降低水生生物的呼吸速率, 减少呼吸代谢的作用, 例如在黄斑蓝子鱼(*Siganus oramin*)幼鱼中丁香油浓度越高, 呼吸频率越低^[34]。小规格的幼参具有对环境的高敏感性, 本实验发现即使是低浓度的丁香油都可将其呼吸代谢降低到无法维持基本生理需求的程度, 从而导致死亡。因此, 小规格的幼参不推荐麻醉, 以常规运输为佳; 中规格和大规格的花刺参幼参在常规运输的基础上, 加入 0.02 mL/L 的丁香油可在 36 h 后增加运输的存活率, 从而延长运输时间。

4 总结

本研究评估了 5 种备选麻醉剂对花刺参幼参的麻醉效果。研究结果显示, 丁香油、氯化镁和硫酸镁具有对花刺参幼参的麻醉作用, MS-222 和

2-苯氧乙醇不具备对花刺参的麻醉作用。在安全麻醉剂中丁香油 0.2 mL/L 浓度麻醉效果最理想, 0.02 mL/L 和 0.04 mL/L 浓度能有效延长花刺参幼参长时间的存活率。本实验首次系统地探究了不同麻醉剂对花刺参幼参的影响, 为花刺参提供了关于麻醉剂选择和使用的参考依据, 为扩大花刺参苗种运输和底播增殖范围提供技术支持。

参考文献:

- [1] Mercier A, Battaglene S C, Hamel J F. Daily burrowing cycle and feeding activity of juvenile sea cucumbers *Holothuria scabra* in response to environmental factors[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1999, 239(1): 125-156.
- [2] Liao Y L, Xiao N. Species composition and faunal characteristics of echinoderms in China Seas[J]. *Biodiversity Science*, 2011, 19(6): 729-736. [廖玉麟, 肖宁. 中国海棘皮动物的种类组成及区系特点[J]. *生物多样性*, 2011, 19(6): 729-736.]
- [3] Gao F, Xu Q, Li X B, et al. Habitat preference and ecological function of sea cucumber in the tropical coral reef ecosystem[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(11): 4301-4312. [高菲, 许强, 李秀保, 等. 热带珊瑚礁区海参的生境选择与生态作用[J]. *生态学报*, 2022, 42(11): 4301-4312.]
- [4] Xu Q, Wu P L, Huang D J, et al. Sea ranching feasibility of the hatchery-reared tropical sea cucumber *Stichopus monotuberculatus* in an inshore coral reef island area in South China Sea (Sanya, China)[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9: 918158.
- [5] Zhang X, Xu Z J, Li W Y, et al. Effects of MS-222 on anaesthesia, tissue structure and antioxidant enzyme activity of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2023, 38(2): 267-274. [章霞, 徐志进, 李伟业, 等. MS-222 对大黄鱼幼鱼麻醉效果、组织结构及抗氧化酶活性的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2023, 38(2): 267-274.]
- [6] Kheawfu K, Pikulkaew S, Wellendorph P, et al. Elucidating pathway and anesthetic mechanism of action of clove oil nanoformulations in fish[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(5): 919.
- [7] Jiang J J, Zhang C F, Han C A, et al. Effects of different application methods of clove oil on anesthetic effect of red swamp crayfish *Procambarus clarkii*[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2022, 37(5): 817-822. [姜京京, 张成锋, 韩财安, 等. 丁香油不同使用方式对克氏原螯虾麻醉效果的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2022, 37(5): 817-822.]
- [8] Yang G Q, Wang Z Q, Yuan D, et al. A comparative study of the anesthetic effects of three anesthetics on Taimen (*Hucho taimen*, Pallas)[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2015, 37(5): 898-902. [杨贵强, 王占全, 袁丁, 等. 3 种麻醉剂对哲罗亲鱼麻醉效果的比较[J]. *江西农业大学学报*, 2015, 37(5): 898-902.]
- [9] Wang Q, Jia Q Z, Yan L H, et al. Quantitative structure-toxicity relationship of the aquatic toxicity for various narcotic pollutants using the norm indexes[J]. *Chemosphere*, 2014, 108: 383-387.
- [10] Heasman M P, O'Connor W A, Frazer A W J. Induction of anaesthesia in the commercial scallop, *Pecten fumatus* Reeve[J]. *Aquaculture*, 1995, 131(3-4): 231-238.
- [11] Wei J, Chang Y Q, Nie Z L, et al. Method for accurate measurement body length of living *stichopus japonicus*: CN101006922A[P]. 2007-08-01. [魏杰, 常亚青, 聂竹兰, 等. 准确测量活体刺参体长的方法: CN101006922A[P]. 2007-08-01.]
- [12] Nie Z L, Li X. The regeneration when sea cucumber *Apostichopus japonicus* was transversally cut into pieces [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2008, 23(1): 77-80. [聂竹兰, 李霞. 仿刺参横切再生的研究[J]. *大连水产学院学报*, 2008, 23(1): 77-80.]
- [13] Zhao L N, Li X, Li Y J, et al. The method of surgical suture on body walls of sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2013, 28(3): 277-280. [赵丽娜, 李霞, 李雅娟, 等. 仿刺参体壁手术缝合方法的研究[J]. *大连海洋大学学报*, 2013, 28(3): 277-280.]
- [14] He Z, Song J, Chang Y Q, et al. A comparative study of the anesthetic effect of different anesthetic on juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus*)[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30(2): 95-99. [何舟, 宋坚, 常亚青, 等. 不同麻醉剂对刺参幼参麻醉效果的比较研究[J]. *中国农学通报*, 2014, 30(2): 95-99.]
- [15] Han S, Hu W, Li C L, et al. Study on anesthetic effect of magnesium on juvenile sea cucumber, *Apostichopus japonicus*[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2016(4): 105-110. [韩莎, 胡炜, 李成林, 等. 硫酸镁对仿刺参幼参麻醉效果的研究[J]. *海洋湖沼通报*, 2016(4): 105-110.]
- [16] Han S, Hu W, Li C L, et al. Anesthetic effect of menthol on juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Marine Sciences*, 2016, 40(3): 10-16. [韩莎, 胡炜, 李成林, 等. 薄荷醇对仿刺参幼参的麻醉效果[J]. *海洋科学*,

- 2016, 40(3): 10-16.]
- [17] Wang X L, Li L, Jian Y X, et al. Anesthesia effect of clove oil on juvenile *Nibeal albiflora*[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2023, 45(3): 31-37. [王晓龙, 李莉, 菅玉霞, 等. 丁香油对黄姑鱼幼鱼麻醉效果的研究[J]. 海洋湖沼通报, 2023, 45(3): 31-37.]
- [18] Marking L L, Meyer F P. Are better anesthetics needed in fisheries?[J]. Fisheries, 1985, 10(6): 2-5.
- [19] Watanabe S, Zarate J M, Sumbing J G, et al. Size measurement and nutritional condition evaluation methods in sandfish (*Holothuria scabra* Jaeger)[J]. Aquaculture Research, 2012, 43(6): 940-948.
- [20] Carter J, Jobson S, Hamel J F, et al. Efficacy of anesthetics in an echinoderm based on multifaceted stress biomarkers[J]. Scientific Reports, 2024, 14: 26619.
- [21] He X Y, Yuan X C, Pan Z, et al. The anaesthesia effects of MS-222 on juvenile *Tilapia buttikoferi*[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2013, 32(5): 729-733. [何小燕, 袁显春, 潘志, 等. MS-222 对布氏鲷幼鱼的麻醉效果研究[J]. 四川动物, 2013, 32(5): 729-733.]
- [22] Liu C L, Chen S Q, He L, et al. Effects of MS-222 as an anaesthetic on adult *Cynoglossus semilaevis* Günther[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(1): 92-99. [刘长琳, 陈四清, 何力, 等. MS-222 对半滑舌鳎成鱼的麻醉效果研究[J]. 中国水产科学, 2008, 15(1): 92-99.]
- [23] Zhu Z F, Bian L, Liu X T, et al. Anesthetic effects of several anesthetics on *Octopus minor*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(2): 195-203. [朱之发, 边力, 刘心田, 等. 12 种麻醉剂对长蛸的麻醉效果[J]. 中国水产科学, 2020, 27(2): 195-203.]
- [24] Hajek G J, Choczewski M, Dziaman R. Evaluation of immobilizing methods for the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (Milne-Edwards)[J]. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, 2009, 12(2): Article No.18.
- [25] Han S, Hu W, Li C L, et al. Effects of menthol and magnesium on growth and immune indices of sea cucumber, *Apostichopus japonicus* selenka[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2019(3): 167-173. [韩莎, 胡炜, 李成林, 等. 两种麻醉剂对刺参生长及免疫酶活性影响的研究[J]. 海洋湖沼通报, 2019(3): 167-173.]
- [26] Gonçalves A T, Llanos-Rivera A, Ruano M, et al. Physiological response of Atlantic salmon (*Salmo salar*) to long-term exposure to an anesthetic obtained from *Heterosigma akashiwo*[J]. Toxins, 2022, 14(8): 575.
- [27] Liu Y C, Liu H P, Liu S Y, et al. Anesthetic effects of MS-222 on *Schizothorax o'connori* lford in two size ranges[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2018, 42(6): 1214-1223.
- [28] Han J J, Hu J W, Shi C M, et al. Effects of 2-phenoxyethanol as anaesthetics on juvenile *Aspiorhynchus laticeps* under different conditions[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2019, 28(2): 211-218. [韩军军, 胡江伟, 时春明, 等. 不同条件下 2-苯氧乙醇对扁吻鱼幼鱼的麻醉效果[J]. 上海海洋大学学报, 2019, 28(2): 211-218.]
- [29] Xu D F, Wu J X, Sun L J, et al. Comparison on anesthetic efficacy of eugenol and MS-222 on shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2021, 41(5): 44-52. [徐德峰, 吴嘉鑫, 孙力军, 等. 丁香酚和 MS-222 对凡纳滨对虾麻醉效果比较[J]. 广东海洋大学学报, 2021, 41(5): 44-52.]
- [30] Wang W H. Study on the anaesthetic effect, injury mechanism and injury protection of two anesthetics on *Lateolabrax maculatus*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020. [王文豪. 2 种麻醉剂对中国花鲈麻醉效应、损伤机理及其防护研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.]
- [31] Arafa S, Sadok S, El Abed A. Assessment of magnesium chloride as an anaesthetic for adult sea urchins (*Paracentrotus lividus*): Incidence on mortality and spawning[J]. Aquaculture Research, 2007, 38(15): 1673-1678.
- [32] Huang L H, Zhong S P, Pan C Y, et al. Effects of acute salinity stress on physiology and immunoenzymatic activity in juvenile sea cucumber, *Stichopus monotuberculatus*[J]. Aquaculture, 2024, 578: 740094.
- [33] Aydin İ, Akbulut B, Küçük E, et al. Effects of temperature, fish size and dosage of clove oil on anaesthesia in turbot (*Psetta maxima* Linnaeus, 1758)[J]. Turkish Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 2015, 15(4): 899-904.
- [34] Cao X C, Huang X L, Sun X Y, et al. Anaesthesia effects of eugenol on juvenile *Siganus oramin*[J]. South China 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[J]. 南方水产科学, 2019, 15(3): 50-56.]

Selection of an optimal anesthetic for safe transportation of juvenile *Stichopus monotuberculatus* and evaluation of anesthetic effects

FENG Haoran^{1,2}, HUANG Lianghua^{1,2,3}, ZHENG Bojun^{1,2}, HUANG Maoning^{1,2}, WU Junhao^{1,2}, XU Qiang^{1,2*}

1. School of Marine Biology and Fisheries, Hainan University, Haikou 570228, China;

2. Hainan Key Laboratory of Tropical Aquatic Biotechnology, Haikou 570228, China;

3. Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

Abstract: Juvenile flower ginseng *Stichopus monotuberculatus* are highly sensitive to environmental changes and anthropogenic stimuli, resulting in significant stress and high mortality during transportation of hatchery-reared juveniles. Developing an effective anesthetic method can alleviate stress responses and reduce mortality during transport. This study compared the anesthetic effects of five commonly used aquatic anesthetics, i.e., clove oil, 2-phenoxyethanol, magnesium sulfate, MS-222, and magnesium chloride, on juvenile *Stichopus monotuberculatus*. A behavior-based evaluation method for anesthetic and recovery stages was established, dividing the entire process into six phases: light anesthesia, moderate anesthesia, deep anesthesia, light recovery, moderate recovery, and full recovery. The results showed that clove oil, magnesium sulfate, and magnesium chloride effectively anesthetized juvenile *Stichopus monotuberculatus*. Clove oil at a concentration of 0.2 mL/L exhibited the best anesthetic effect, whereas concentrations of 0.02 mL/L and 0.04 mL/L significantly improved survival rates during prolonged transportation. Clove oil at 0.5 mL/L induced the shortest anesthesia duration of (6.04±1.24 min). Using magnesium sulfate at 0.05 mol/L resulted in the slowest time to achieve deep anesthesia [(34.13±3.77) min], while magnesium chloride at 0.05 mol/L produced the fastest full recovery of (10.01±1.36) min and magnesium sulfate at 0.25 mol/L produced the slowest time to full recovery [(60.39±5.28) min]. High concentrations of magnesium chloride and magnesium sulfate caused no significant changes in the body length of juvenile *Stichopus monotuberculatus* before and after anesthesia, whereas MS-222 and 2-phenoxyethanol were ineffective as anesthetics. This study identified clove oil at a concentration of 0.02 mL/L as the most suitable anesthetic for juvenile *Stichopus monotuberculatus*, ensuring effective recovery and high survival rates after 60 hours of long-distance transport. These findings provide critical technical support for the safe transportation of juvenile *Stichopus monotuberculatus* over long distances.

Key words: *Stichopus monotuberculatus*; seedling transportation; anesthesia; safe concentration; survival rate

Corresponding author: XU Qiang. E-mail: xuqianghnu@hainanu.edu.cn