

کنترل روند برگشت از بیهوشی با گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در قزل آلالی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

ابوالحسن راستیان نسب^{(۱)*}، سید عبدالحمید حسینی^(۱)، مصطفی شریف روحانی^(۲)، حبیب اله گندم کار^(۱)،
علی نکویی فرد^(۳)، عین الله گرجی پور^(۱)

*rastian1921@yahoo.com

۱- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری، یاسوج صندوق پستی ۷۵۹۱۴-۳۵۸

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران صندوق پستی ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

۳- مرکز تحقیقات آرتمیا، ارومیه

لغات کلیدی: قزل آلالی رنگین کمان، گل میخک، برگشت از بیهوشی، درجه حرارت

عدد ماهی قزل آلالی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی (\pm انحراف معیار) $0.2 \pm 3/2$ گرم انتخاب شدند. بیهوشی با استفاده از محلول پودر گل میخک با غلظت ۱۷۰ ppm انجام شد. در هنگام آزمایش، محلولهای بیهوشی در ظروف ۳ لیتری آماده می شدند و از روش غوطه وری برای بیهوشی ماهیها استفاده می گردید. همچنین از تانکهای ۱۸۰ لیتری برای آماده نمودن آب با دماهای مختلف جهت برگشت ماهیان به شرایط عادی استفاده می شد. پس از آزمایش تلفاتی در ماهیان مشاهده نگردید. در مجموع ۹ تیمار با دمای ۱۱،۵ و ۱۷ درجه سانتیگراد برای محلول بیهوشی و یا آب معمولی برای برگشت به حالت طبیعی، با همدیگر مقایسه شدند (جدول ۱). هر تیمار با ۳ تکرار و در هر تکرار ۲۰ قطعه بچه ماهی بطور تصادفی از ذخیره ماهیان صید و به محلول بیهوشی منتقل می شدند. درجه حرارت محلولها با استفاده از بخاری اتوماتیک و دماسنج دیجیتال تثبیت و از آب سرد شده نسبت به تنظیم دمای محلولهای ۵ درجه اقدام می شد. به منظور کاهش نوسانات حرارتی، حجم بالایی از آب تانکها منظور گردید. محلولها، هوادهی و پارامترهای pH و هدایت الکتریکی با دستگاههای پرتابل کنترل می گردید. به محض ورود ماهیان به محلولهای بیهوشی، زمان القاء بیهوشی کامل هر

میخک به عنوان یک داروی آرام کننده و بیهوشی در ماهیان در سطح گسترده استفاده می گردد (مهرابی، ۱۳۷۸). منطقه اصلی ورود و خروج مواد بیهوش کننده در ماهیها آبششها هستند. (Hikasa et al., 1986; Keene et al., 1998). بر اساس مطالعات محمدی آرانی (۱۳۸۵) بر بیهوشی بچه تلس ملهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با اسانس میخک، هرچه غلظت و مدت قرارگیری ماهی در آب حاوی ماده بیهوش کننده بیشتر باشد مراحل بیهوشی سریعتر و مراحل بازگشت آهسته تر اتفاق می افتد. نتایج مطالعات میراب بروجردی (۱۳۸۰) نشان داد که با افزایش وزن ماهی قزل آلا، نیاز به مقدار پودر گل میخک جهت ایجاد بیهوشی افزایش می یابد. تحقیقات انجام شده در خصوص انواع مواد بیهوش کننده و تاثیر فاکتورهایی نظیر دما بر روند بیهوشی و بازگشت تاکنون در شرایط همدمایی محلولها انجام گردیده است. در این بررسی، تاثیر اختلاف دمای محلولهای بیهوشی و برگشت، بر روند برگشت تاکید شده تا امکان استفاده از این تکنیک در مدیریت زمان برگشت ماهیان بیهوش شده به حالت طبیعی فراهم شود. آزمایش در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی یاسوج انجام شد. در شرایط معمولی، مشخصات ویژگیهای فیزیوشیمیایی آب ثابت و دارای دمای ۱۱ درجه سانتیگراد می باشد. تعداد ۵۴۰

معنی داری ($p < 0.05$) بودند و بیشترین تفاوت‌ها در نتیجه دو تیمار آزمایشی مشاهده شد که تفاوت قابل ملاحظه بین دمای محلول بیهوشی (۵ درجه) و آب تانک ریکاوری (۱۷ درجه) و برعکس وجود داشت (جدول ۱).

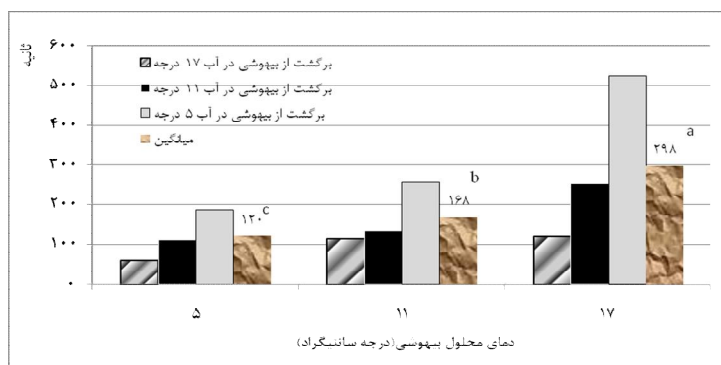
ماهی بطور جداگانه با کرنومتر ثبت و میانگین هر تکرار محاسبه می‌گردید. متعاقباً زمان برگشت ماهیان به حالت طبیعی ثبت گردید. بر اساس نتایج، زمانهای بازگشت از بیهوشی در دماهای مورد آزمایش، بسته به دمای محلول بیهوشی دارای اختلاف

جدول ۱: مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) مدت زمان لازم برای برگشت از بیهوشی بچه ماهیان قزل‌الا در تیمارهای دمایی مختلف (برحسب ثانیه)

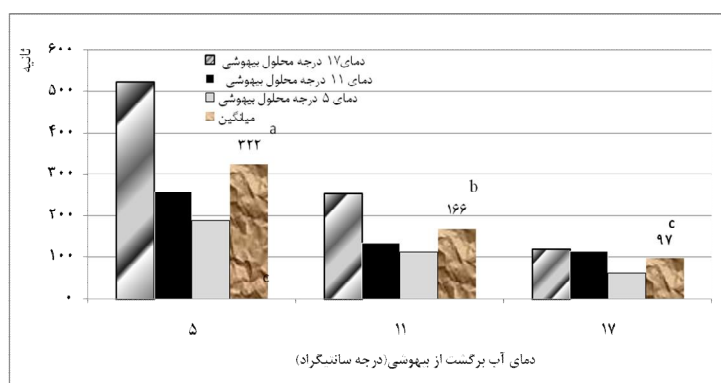
دمای محلول گل میخک برای بیهوشی بچه ماهیان ($^{\circ}\text{C}$)	دمای آب تانک ریکاوری بچه ماهیان ($^{\circ}\text{C}$)		
	۵	۱۱	۱۷
۵	188 ± 31^d	111 ± 12^c	61 ± 11^c
۱۱	256 ± 33^b	134 ± 25^c	114 ± 14^c
۱۷	523 ± 154^a	253 ± 31^b	118 ± 28^c

میانگین‌های باحروف لاتین غیر مشابه در جدول نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشند ($p < 0.05$).

(۱)



(۲)



نمودار ۱ و ۲: مقایسه میانگین مدت زمان برگشت از بیهوشی در رابطه با درجه حرارت محلول بیهوشی

(Gingerich, 1999) این فعل و افعالات در مدت زمان کوتاهی باعث افزایش مقدار و تاثیر ماده موثره بیهوشی در بدن و سیستم عصبی مرکزی ماهی شده، در نتیجه زمان القاء بیهوشی در آب گرمتر را تسریع ساخته و مطابق با آن، با انتقال ماهیان به آبهای گرمتر برای برگشت، روند انتقال و دفع ماده بیهوشی از بدن با سرعت بیشتری انجام می شود. عکس قضیه، کاهش متابولیسم ماهی در آب سرد، روند جذب ماده بیهوشی و همچنین دفع آن از بدن را کند نموده و زمان القاء بیهوشی و بازگشت به حالت طبیعی در آب با دمای کمتر، افزایش می یابد. تاثیر متابولیسم به حدی بوده که تن ماهیان با قابلیت حفظ گرمای متابولیکی درونی (Endothermy)، واجد دمای بالاتر در بافتها در مقایسه با دمای آب محیط بوده و نسبت به آزادماهیان و کپورماهیان در محیط یکسان از نظر دمایی، میزان بیشتری از مواد بیهوش کننده را در مدت زمان کمتری جذب و زمان القاء بیهوشی در آنها کوتاهتر است (Blank et al., 2001; & Bushnell & Jones, 1994). Brill, 2004. با مقایسه ترکیبهای آزمایشی، تاثیر تفاوت دمای محلول بیهوشی و آب برگشت به وضعیت اولیه، در مدت زمان برگشت از بیهوشی ماهیان کاملا آشکار می باشد. کمترین مدت زمان بازگشت از بیهوشی (۶۱ ثانیه) نتیجه دفع سریع مواد بیهوشی در دمای بالا (۱۷ درجه) از بچه ماهیانی بوده که مقدار کمی از مواد بیهوش کننده را در دمای پایین (۵ درجه) جذب کرده اند (اختلاف دمایی گرم). همچنین بیشترین مدت زمان بازگشت (۵۲۳ ثانیه) در ماهیانی بوده که مقدار بالایی از مواد بیهوشی را در دمای بالا (۱۷ درجه) جذب نموده و روند دفع مواد مذکور در دمای ۵ درجه (اختلاف دمایی سرد) به کندی صورت گرفته است (جدول ۱).

بطور کلی یک ماده بیهوش کننده مطلوب، در زمان کوتاهی موثر واقع شده و بازگشت از بیهوشی به سهولت و سریع ممکن می شود (Needham, 1998; Summerfelt & Smith, 1985; Marking & Mayer, 1985; Gilderhus, 1987). تاثیر نکرزی بر آبششها بوسیله برخی مواد از جمله مواد موثره میخک (اوژنول) اثبات شده و علاوه بر تغییرات فیزیولوژیکی مواد بیهوش کننده که منجر به القاء بیهوشی در آبزیان شده، بر میزان مورد استفاده از این مواد جهت جلوگیری از تاثیر منفی بر بافتها و اثرات ناشی از تاخیر در بازگشت تاکید می گردد (Affifi, 2001). هدف از این بررسی، بهبود وضعیت بیهوش کنندگی پودر گل میخک با غلظت ثابت با تغییر دمای آب در راستای کنترل روند بیهوشی، بویژه تغییر در زمان بازگشت از بیهوشی با استفاده از تیمارهای مختلف دمایی بود. نتایج حاصل از این بررسی در شرایط هم دمایی محلولها نشان داد که با افزایش دما، زمان القاء بیهوشی و زمان بازگشت از بیهوشی کاهش می یابد و منطبق با نتایج مطالعات شریف پور و همکاران (۱۳۸۱) بوده که اعلان داشتند دمای بالاتر اثرات بیهوش کنندگی میخک را بیشتر کرده و بازگشت از بیهوشی را تسهیل می نماید نخستین مکتبسم رفتاری اثر دما بر روند تاثیر مواد بیهوش کننده، تغییر میزان تنفس می باشد (Detar & Mattingly, 2004; Gelwicks & Zafft, 2001; Gomes et al. & Peters et al., 1998). افزایش دمای آب در مجاورت ماهی باعث افزایش میزان متابولیسم می شود (Hikasa et al., 1986). افزایش سوخت و ساز منجر به تجمع دی اکسید کربن و ایجاد شرایط اسیدی در خون می گردد. واکنش فیزیولوژیکی ماهی نسبت به تغییرات بوجود آمده، افزایش فعالیت تنفسی، بالا رفتن ضربان قلب و افزایش گردش خون می باشد. افزایش گردش خون در آبششها، سرعت تنفس و تهویه آبششی، روند جذب ماده بیهوش کننده از طریق سیستم آبششی و انتقال آن به سیستم عصبی مرکزی ماهی (CNS) را تسریع می سازد (Aguier et al., 2002; Stehly and

منابع

سلطانی، م.؛ غفاری، م.؛ خضرائی نیا، پ. و بکایی، س.، ۱۳۸۳. مطالعه اثرات بیهوشی اسانس گل میخک هندی بر پارامترهای هماتولوژیک، برخی آنزیمهای خون و آسیب شناسی بافتهای مختلف ماهی کپور معمولی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، سال ۵۹، شماره ۳، صفحات ۲۹۵-۲۹۹.

شریف پور، ع.؛ سلطانی، م.؛ عبدالحی، ح. و قیومی، ر.، ۱۳۸۱. اثر بیهوش کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، شماره ۴، صفحات ۵۹-۷۴.

محمدی آرانی، م.، ۱۳۸۵. بررسی اثر اسانس میخک بر بیهوشی بچه تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). فصلنامه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، شماره ۳، صفحات ۱۸۸-۱۹۲.

مهرابی، ی.، ۱۳۷۸. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی پودر گل درخت میخک (*Syzygium aromaticum*) بر روی ماهی قزل آلی رنگین کمان. مجله پژوهش و سازندگی، ۴۲: ۱۶۰-۱۶۲.

میراب بروجرودی، م.؛ اخلاقی، م.، ۱۳۸۰. تاثیر بیهوش کنندگی و تعیین LC50 گل گیاه میخک بر روی ماهی قزل آلی رنگین کمان دوره ۵۴، شماره ۲، صفحات ۱۸۰-۱۸۷.

Afifi, S.H., Al-Thobaiti, S. and Rasem, B.M. 2001. Multiple exposure of Asian sea bass (*Lates calcarifer*, Centropomidae) to clove oil: A histological study. J Aqua Trop 16, 131-138.

بر اساس نتایج، میانگین زمان بازگشت از بیهوشی کلیه تیمارهای که ماهیان در دمای بالا (۱۷ درجه) بیهوش شدند، بالا بود (۲۹۸ ثانیه). برعکس، با بیهوشی در دمای پایین، همواره میزان کمتری از مواد در مدت زمان طولانی تر جذب بدن شده و میانگین زمان بازگشت در تمام تیمارهایی که در ۵ درجه بیهوش شدند ۱۲۰ ثانیه بوده است (نمودار ۱). همچنین بر اساس یافته ها، با بیهوشی ماهی در دماهای پایین تر (۵ و ۱۱ درجه)، جذب مواد بیهوشی کمتر بوده و مطابق انتظار، کمترین میانگین مدت زمان بازگشت از بیهوشی (۹۷ ثانیه) در دمای آب ۱۷ درجه مشاهده گردید (نمودار ۲). با این وجود در غلظت یکسان از مواد بیهوشی، تاثیر متقابل دمای محلول ها بر روند بیهوشی و برگشت، بدلیل تاثیر دما بر سرعت و میزان جذب ماده بیهوشی و نیز سرعت دفع آن بوده و زمان بازگشت بطور قابل توجهی به میزان ماده بیهوشی جذب شده تحت شرایط دمای محلول بیهوشی بستگی دارد. در این میان، تاثیر شوک های دمایی گرم و سرد می تواند دامنه زمانی بازگشت را بطور قابل ملاحظه تغییر دهد. بطوریکه در این بررسی، بدون افزایش غلظت مواد بیهوش کننده در یک دامنه دمایی، زمان بازگشت از بیهوشی از ۱ تا بیش از ۸ دقیقه قابل کنترل و مدیریت بود. لذا با انتخاب ترکیب دمایی محلولها و شوکهای حرارتی، می توان روند ورود و خروج مواد بیهوشی از بافت های ماهی را تسریع نمود و بسته به هدف و زمان مورد نیاز در فعالیت های آزمایشگاهی یا آبی پروری، روند بیهوشی و بازگشت از آن را بدون استفاده از دوزهای اضافی مواد بیهوش کننده مدیریت کرده و تلفات ماهیان بوسیله میزان اضافی از مواد بیهوشی را کاهش داد.

تشکر و قدردانی

مراتب سپاسگزاری خود را از همکاران ارجمند مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج ابراز می داریم.

- Aguiar, L.H., Kalinin, A.L. and Rantin, F.T. 2002.** The effects of temperature on the cardio-respiratory function of the neotropical fish *Piaractus mesopotamicus*. *J Therm Biol.* 27, 299-308.
- Blank, J.M., Morrisette, J.M., Landeira-Fernandez, A.M., Blackwell, S.B, Williams, T.D. and Block, B.A. 2004.** In situ cardiac performance of Pacific bluefin tuna hearts in response to acute temperature change. *J Exp Biol.* 207, 881-890.
- Brill, R.W. and Bushnell, P.G. 2001.** The cardiovascular system of tunas. In: Block BA, Stevens ED, eds. *Tuna: Physiology, Ecology, and Evolution*. New York: Academic Press. pp. 79-119.
- Bushnell, P.G. and Jones, D.R. 1994.** Cardiovascular and respiratory physiology of tuna: Adaptations for support of exceptionally high metabolic rates. *Environ Biol Fishes* 40:303-318.
- Detar JE. and Mattingly HT. 2004.** Response of southern redbelly dace to clove oil and MS-222: Effects of anesthetic concentration and water temperature. *Proc Ann Con Southeastern Assoc Fish Wild Agen.* 58, 219-227.
- Gelwicks, K.R. and Zafft, D.J. 1998.** Efficacy of carbonic acid as an anesthetic for rainbow trout. *N Am J Fish Mgmt.* 18, 432-438.
- Gilderhus, P. A. and L. L. Marking, 1987.** Comparative efficacy of 16 anesthetic chemicals on rainbow trout. *N. Am. J. Fish. Manage.* 7, 288-292.
- Gomes, L.C., Chippari-Gomes, A.R. and Lopes NP, Roubach R, Araujo-Lima CARM. 2001.** Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *J World Aquacult Soc.* 32, 426-431.
- Harms, C.A. 2003.** Fish. In: Fowler ME, Miller RE, eds. *Zoo and Wild Animal Medicine*, 5th ed. St. Louis: Saunders. pp. 2-20.
- Hikasa, Y., Takase, K., Ogasawara, T. and Ogasawara, S., 1986.** Anesthesia and recovery with tricaine methan sulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp. *Cyprinus carpio*. *Japanese Journal of Veterinary Science.* 48(2): 341-351.
- Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D. and Soto, C.G., 1998.** The efficiency of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquatic Research*, 29, 89-101.
- Munday, P.L. and Wilson, S.K., 1997.** Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in nesthetization of *pomacentrus amboinensis*, coral reefs fish. *Journal of Fish Biology.* 51, 931-938.

- Marking, L.L. and Meyer, F.P., 1985.** Are better fish anaesthetics needed in fisheries? *Fisheries*. 10, 2-5.
- Needham, D.G., 1998.** Anesthesia and surgery. Timber press, USA, 586P.
- Peters, R.C., Van Den Hoek, B., Bretschneider, F. and Struik, M.L. 2001.** Saffan®: A review and some examples of its use in fishes (Pisces: Teleostei). *Nether J Zool*. 51, 421-437.
- Stehly, G.R. and Gingerich, W.H. 1999.** Evaluation of AQUI-S™ (efficiency and minimum toxic concentration) as a fish anaesthetic/sedative for public aquaculture in the United States. *Aquacult Res*. 30, 365-372.
- Summerfelt, R. C. and L. S. Smith, 1990.** Anesthesia, surgery, and related techniques. In *Methods for fish biology*. R. C. Schreck and P. B. Moyle, eds. Am. Fish. Soc., Bethesda, MD, U.S.A., pp. 213-272.

The control of recovery process with clove tree (*Eugenia caryophyllata*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Rastiannasab A. ^{1*}; Hosseini S.A. ¹; Sharif Rohani M. ²; Gandomkar H. ¹;
Nekoyiefard A. ³; Gorjipour E. ¹

*rastian1921@yahoo.com

1- Cold Water Fishes Genetic Research Center, P.O.Box: 75914-385 Yasouj, Iran

2-Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

3-Artemia Research Center, Urumeia, iran

Key words: Rainbow trout, Clove tree, Recovery, Temperature

Abstract

In order to investigate the effect of different temperature of anesthetic (clove tree) and recover (anesthetic-free water) solutions on recovery process, The anesthetic induction times and recovery times of 540 fingerlings of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) weighing 3.2 ± 0.2 g in anesthesia, recovery solutions with cross-combined of temperature of 5, 11 and 17 °C as experimental treatments (9 treatments) were compared. The anesthesia was induced by 170 ppm of aqueous clove (*Eugenia caryophyllata*) solution. Results showed that both induction and recovery times were adversely temperature-dependent. Recovery times of treatments, related to temperature of anesthetic solutions and their temperature, were significantly different ($P < 0.05$). Our results indicated that mean recovery time (three temperature treatments) of the fish exposed to the lower temperature anesthetic solutions generally decreased opposing with higher anesthetic solutions. The lowest recovery time (61 ± 11.1 seconds) in 17°C anesthetic-free water occurred in fishes induced to 5°C anesthetic solution. In contrast, the highest recovery time (523 ± 154 seconds) in 5°C water happened in fishes induced to 17°C anesthetic solution. Warm and cold thermal difference in anesthetic and recover solutions could extend recovery time 1 up to 8 minutes. Regarding to aim and demanded time, by selected favorite temperatures can control anesthesia/or recovery time in order to prevent the use of drug over-dosing.

* Corresponding author