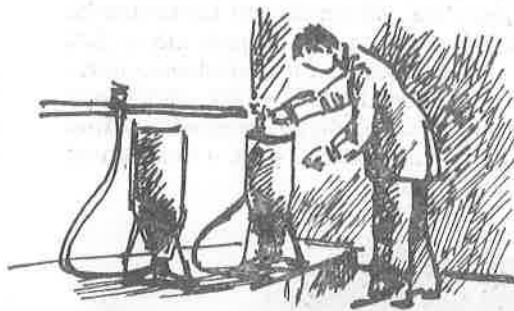


Naučni i stručni radovi



B. Ržaničanin, I. Balzer
Poljoprivredni fakultet, Zagreb

Istraživanja o mogućnosti transporta šarana uz dodatak trankilajzera MS - 222

UVOD

U istraživanjima koja su bila provedena u toku 1972. godine pokazalo se da bi MS — 222 mogao korisno poslužiti kao trankilajzer u transportu šarana. U tim tada provedenim pokusima upotrebljena koncentracija MS 222 u vodi iznosila je 25, odnosno 40 ppm. Pokus je pokazao da je metabolizam riba bio uz te koncentracije MS — 222 znatno umanjen. Temperatura vode u toku pokusa bila je relativno niska, iznosila je 11,5° C, pa se moglo, sa mnogo opravdanja, pretpostaviti, da je, osim MS — 222, i to bio jedan od razloga za vrlo smanjen metabolizam riba u provedenim pokusima.

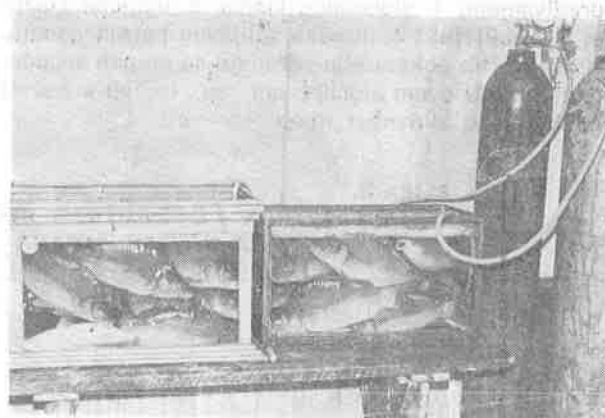
Osnovni zadatak rada, koji je trebao biti proveden u 1973. godini, bio je: 1. da se odredi koncentracija rezidua MS — 222 u mesu šarana nakon provedenog pokusa, i 2. da se istraži utjecaj povišenih temperatura na djelovanje MS — 222.

METODIKA I MATERIJAL

Provedena istraživanja izvršena su na ribogojilištu Lipovljani, te u laboratorijima Zavoda za zoologiju Poljoprivrednog fakulteta u Zagrebu.

U staklene bazene, volumena cca 60 litara sl. 1, stavljeno je po 20 kg šarana iste težine (25 komada) i ista količina vode, tako da je odnos težina ribe : težina vode iznosio 1:1.

Specifična koncentracija MS — 222 prema vodi, a i prema ribi, bila je 50 ppm, no obzirom na sveukupnu masu (voda + riba) 25 ppm. Aeracija vode provedena je električnim dozatorom. Temperatura vode iznosila je 12,5°C. Šarani su držani u otopini MS — 222 (50



Sl. 1. Šarani u pokusu. Odnos voda : riba = 1:1

ppm) kroz 6 sati, a zatim su prebačeni u bazen, od cca 250 litara sa protočnom dobro aeriranom vodom.

Odmah po završetku tretiranja sa MS — 222, te u određenim vremenskim intervalima sakrificirano je po nekoliko šarana da bi se mogla odrediti desorpcija, pročišćavanje, šarana od akumuliranog MS — 222.

MS — 222 određivan je u lednoj muskulaturi, koja je izvađena iz srednjeg presjeka (slika 2), te u jetrima.

Određivanje MS — 222 provedeno je modificiranom metodom Brattona — Marshalla (1939.) po C. Walckeru i R. Schoettgeru (1966.).

Plinsko — kromatografske metode (GLC metode) nisu dale adekvatne rezultate. Pokušano je sa sililiranjem, acetiliranjem, trifluoracetiliranjem ekstrahiranog MS — 222 iz alkalne otopine.

Istraživanja djelovanja MS — 222 kao trankilajzera kod relativno visokih temperatura (24°C), kakve bi se

eventualno mogle pojaviti u transportu šarana u toplim ljetnim mjesecima, vršena su kod koncentracija od 20 i 50 ppm. U pokusu sa 20 i 50 ppm MS — 222 uzeta su po 24 komada šarana, a u kontrolnom, netretiranom pokusu, bez dodatka MS — 222, 26 komada šarana. To su bili dvogodišnji šarani, prosječne težine u prvom i drugom pokusu od 833 g., a u kontrolnom 769 g, sveukupnih težina 20 kg.



Sl. 2. Presjek šarana iz kojeg je uzet uzorak za analizu

Promjena kvalitete vode u toku pokusa praćena je određivanjem: 1. slobodnog kisika, 2. ugljične kiseline, 3. alkaliteta, i 4. utroška kalijevog permanganata. Na osnovu tih pokazatelja određuje se stepen zagađenosti vode. U ovom slučaju, oni su trebali pokazati metaboličku aktivnost riba.

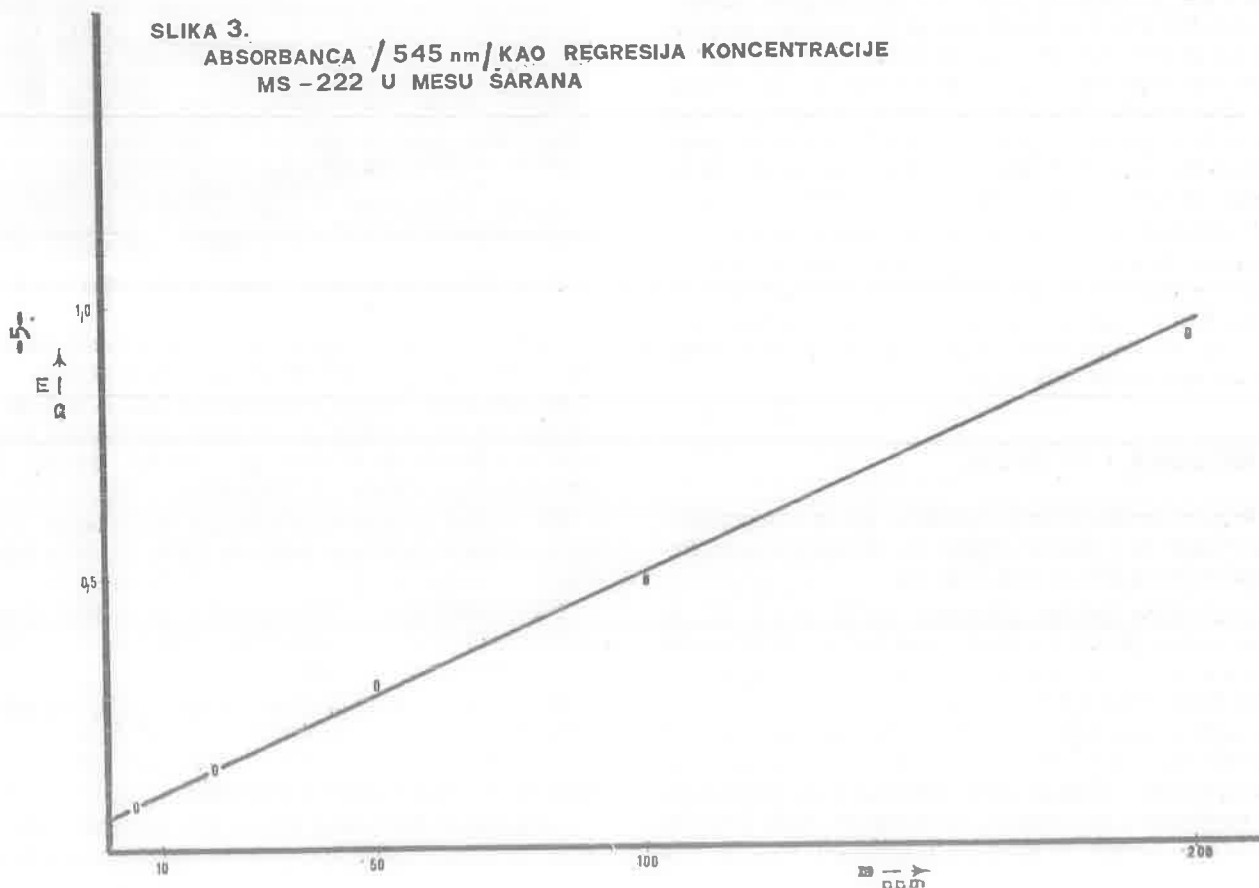
Od interesa je bilo, nadalje, odrediti djelovanje MS — 222 na elektroencefalogram šarana. Za ta su istraživanja uzeta 2 šarana, težine po 1,9 kg. Prvi je bio držan u koncentraciji od 50 ppm — 222 kroz 6 sati i neposredno nakon toga uzet mu je elektroencefalogram. Drugi je šaran bio netretiran, kontrolni. Elektroencefalogrami provedeni su na elektroencefalografu »Elektroprivreda — Zagreb«, koji se koristi u bolnici »Dr Mladen Stojanović«, u odjelu za neuropsihijatriju.

Riba, koja je bila korištena u pokusu, *Cyprinus carpio*, dobivena je iz dvogodišnjeg uzgoja ribnjačarstva Lipovljani. Riba je bila vrlo dobrog zdravstvenog stanja i kondicije, a izlovljena je neposredno prije njihovog stavljanja u pokus. Riba je bila prehranjivana u ribnjaku smjesom pšenice, kukuruza i ječma (15g/dan). U sakrificiranim životinjama nađena je u probavnom traktu manja količina dodatne i prirodne hrane.

REZULTATI I DISKUSIJA

Baždarna, kolorimetrijska, krivulja za MS — 222, dobivena metodom Walkera i Schoetgera (1. c.), prikazana je na sl. 3. Dobivena baždarna krivulja odgovara Beerovom zakonu. Budući da je ta koloristička reakcija specifična za sve aromatske amine, kao na pr. za p-aminobenzojevu kiselinu, koja se nalazi u životinjskom organizmu (Hawk i dr. 1954.), to će i netretirano šaransko meso davati odgovarajuću osnovnu boju, »background«.

SLIKA 3.
ABSORBANCA / 545 nm / KAO REGRESIJA KONCENTRACIJE
MS - 222 U MESU ŠARANA



Vrlo nepouzdanost vrijednosti dobivene su kod određivanja rezidua MS — 222 u jetri šarana. U najvećem broju slučajeva, iako ne kod svih uzoraka, centrifugirani homogemizat pokazivao je slabu, često jaku opalescenciju, tako da su fotometričke vrijednosti »absorbanca« jako varirale, pa je pouzdanost dobivenih vrijednosti bila malena. Analitička metoda, koja je bila upotrebljena za određivanje rezidua MS — 222 u muskulaturi šarana, ne može se koristiti za određivanje rezidua MS — 222 u jetri šarana. S obzirom na okolnost da se jetra šarana, koja su isprepletena sa probavnim traktom, bacaju, to ovo određivanje nema neke veće praktične vrijednosti.

Od najvećeg praktičnog značenja za primjenu MS — 222 u transportu riba bilo je odrediti potrebno vrijeme da se pročisti, desorbira, tkivo šarana od rezidua MS — 222 nakon njegovog tretiranja. Tretiranje šarana sa MS — 222, držanje u toj otopini, trajat će praktički isto toliko vremena koliko i transport šarana. Nakon završenog transporta riba se prebacuje u bazene sa protočnom vodom radi pročišćavanja, desorpcije, i morat će biti držana tamo tako dugo, dok reakcija na MS — 222 ne bude više negativna. Da bi se to istražilo šarani su držani kroz 6 sati u vodenoj otopini MS — 222 koncentracije 50 ppm kroz 6 sati, a zatim prebačeni u bazen sa dobro aeriranom protočnom vodom. Određivanje rezidua MS — 222 vršeno je neposredno nakon prebacivanja šarana u bazen, a zatim nakon 6, 15, 39 i 63 sata. Zadatak toga istraživanja blo je, da se odredi minimalno potrebno vrijeme držanja šarana u protočnoj vodi nakon njegovog tretiranja (transporta), a to će biti ono vrijeme, nakon kojega se MS — 222 neće moći više detektirati u mesu šarana.

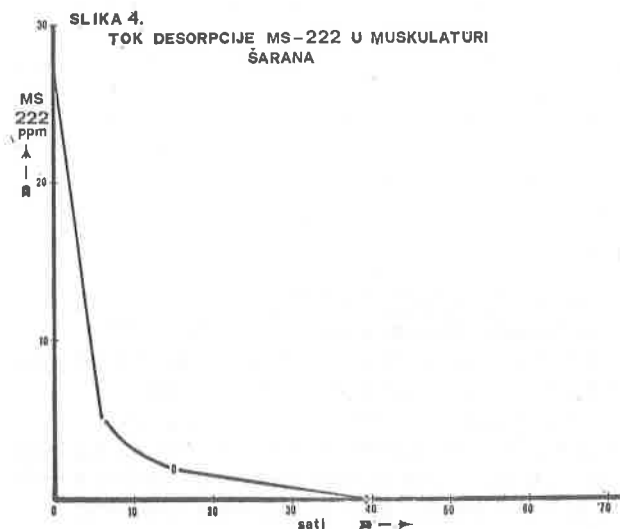
Rezultati tih istraživanja prikazani su u tabeli 1.

Vrijeme »desorpcije« u satima	Broj riba	MS — 222 u ppm	
		Srednja vrijednost	Granične vrijednosti
0	4	27,5	22—34
6	5	5	3,07—6,53
15	5	2	1,24—3,03
39	4	0	0
63	4	0	0

Tabela 1. MS — 222 u ppm u muskulaturi šarana u toku desorpcije u protočnoj vodi.

Regresiona krivulja desorpcije MS — 222 iz muskulature šarana prikazana je na sl. 4.

Kako se iz dobivenih rezultata vidi, koncentracija MS — 222 određena u mesu šarana odmah nakon prestanka njegovog djelovanja iznosila je 23 ppm, nakon 15 sati 2 ppm, a nakon 39 sati MS — 222 nije mogao više biti određen. To su neobično važni podaci za praksu, koji ukazuju na relativno brzu desorpciju, pročišćavanje, muskulature šarana od dodatnog trunkilazera.



Brzina desorpcije mogla bi se prikazati matematičkom relacijom, diferencijalnom jednačbom prvog stepena

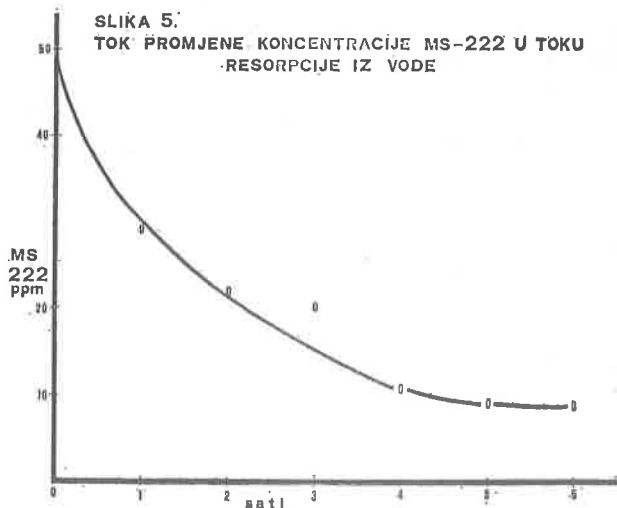
$$\frac{dc}{dt} = k \cdot c$$

c = koncentracija u ppm

t = vrijeme u satima

k = konstanta proporcionaliteta

Dok se je riba nalazila u bazenu, određivana je i koncentracija MS — 222 u vodi. Dobiveni rezultati prikazani su na slici 5, a prikazuju brzinu resorpcije MS — 222 iz vode. Koncentracija MS — 222, koja u 0-tom satu iznosi 49 ppm, nakon 6 sati, po završetku pokusa, iznosi samo 8,5 ppm. Prema toku krivulje mogli bi zaključiti, da je iza 6 sati došlo do ravnotežne koncentracije MS — 222 u tijelu šarana i vodi. Sveukupno određena koncentracija MS — 222 iznosi 31,5 ppm. Razliku do 50 ppm, koliko je bilo dodano na početku pokusa, tj. 18,5 ppm, nismo mogli odrediti, pa zaključujemo da je došlo do njegove razgradnje ili takove deaktivacije, koja se nije mogla detektirati kolorimetrijskom reakcijom.



Ribe, sakrificirane nakon 15,39 i 63 sata držanja u protočnoj vodi, bile su konzumirane od suradnika, koji su radili na tom pokusu. Kvalitet njihovog mesa bio je potpuno nepromijenjen, bez ikakvog okusa, mirisa ili bilo čega, što bi mogli ukazati na prisustvo MS — 222. To je i jedan od dokaza za moguću i neškodljivu primjenu MS — 222 kod riba.

Istraživanje djelovanja MS — 222 provedeno je i kod relativno vrlo visokih temperatura (24°C), koje nisu isključene, ali ne tako česte, kod transporta šarana u Jugoslaviji. Za taj su pokus uzeta po 24 (26) komada šarana, sveukupne težine 20 kg. Koncentracija MS — 222 u vodi iznosila je 20 i 50 ppm. U kontrolnu grupu nije dodan MS — 222.

Akvariji su bili napunjeni vodom iz dovodnog kanala ribnjaka Lipovljani, koja se inače koristi za punjenje bazena u transportu šarana. Ispitivanje kvaliteta vode na početku pokusa dalo je slijedeće rezultate:

Slobodni kisik	7,68 mg/1
Alkalitet	4,70 ml 0,1 n HCL/1
Ugljična kiselina	8,58 mg/1
Utrošak permanganata	32,84 mg/1
Temperatura vode	24°C

Aeracija vode vršena je zrakom. Iz svakog od triju bazena povremeno je uzimana voda na analizu, radi određivanja stepena zagađenosti. Rezultati tih analiza dani su na tabeli 2.

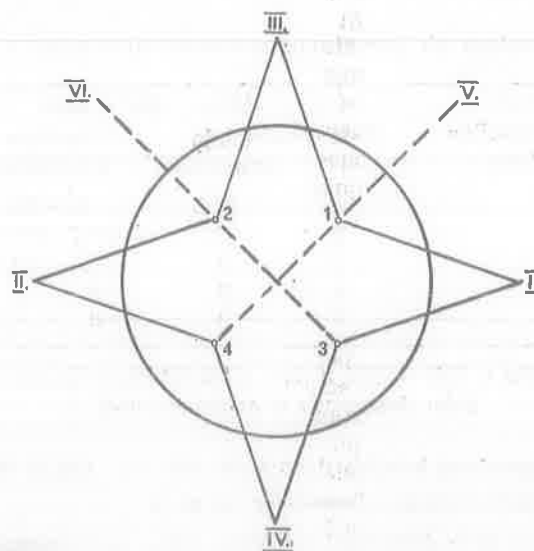
Trajanje pokusa, sati	O ₂ mg/1	Alkalitet	CO ₂ mg/1	KMnO ₄ mg/1	Broj uginule ribe	Broj uginule ribe u %
Grupa I kontrolna						
0	7,68	4,70	8,58	32,84		
0,50	2,08	4,70				
6	2,08	5,21				
12	1,92	4,70	12,31	416,0	11	42,3
18	1,60	4,46	5,8	480,0	13	50
Grupa II MS — 222 — 20 ppm						
0	7,68	4,70	8,58	32,84		
0,50	2,24	4,70				
6	1,60	5,21				
12	2,08	4,56	12,66	410,0	5	20,8
18	1,60	4,46	4,17	452,0	9	37,5
Grupa III MS — 222 — 50 ppm						
0	7,68	4,70	8,58	32,84		
0,50	2,40	4,70				
6	2,22	4,95				
12	2,40	3,91	13,52	404,0	1	4,2
18	1,92	4,83	5,08	408,0	3	12,5
24	1,44	7,04	8,03	780,0		
26	0,40	6,19	7,80	803,0	5	

Tabela 2. Analitički podaci o stepenu zagađenja vode i o broju uginule ribe u toku pokusa

I rezultati tog pokusa ukazuju na mogućnost primjene MS — 222 u transportu riba. Kod kontrolne grupe, nakon 12 sati uginulo je 11 riba ili 42,3%, a kod grupe sa 50 ppm MS — 222, jedna riba ili 4,2%. Pokus je kod kontrolne grupe i grupe sa 20 ppm MS — 222 bio nakon 18 sati, radi velikog gubitka na ribama obustavljen, a kod grupe sa 50 ppm MS — 222 nastavljen do 26 sati. Rezultati pokazuju utjecaj MS — 222 na aktivnosti riba. To se očituje prvenstveno u koncentraciji kisika. Ona je veća kod grupa sa MS — 222, a posebno kod grupe sa 50 ppm. MS — 222 utjecao je, također, i na smanjenje permanganatnog testa. Po završetku pokusa nakon 2—6 sati kod grupe sa 50 ppm MS — 222 koncentracija kisika u vodi iznosila je samo 0,40 mg/1, a utrošak permanganata podigao se čak na 803 mg/1. Život riba u vodi i pod tim, ekstremno nepovoljnim uslovima, rezultat je djelovanja MS — 222.

Od interesa je bilo istražiti kakav će utjecaj proizvesti MS — 222 na elektroencefalogram šarana. Za taj pokus uzeta su dva šarana težine po 1,9 stari 16 mjeseci. Jedan šaran bio je stavljen u vodenu otopinu MS — 222, koncentracije 50 ppm kroz 6 sati, a drugi je bio netretiran, kontrolni. Elektroencefalogram bio je određen na šaranu koji je neposredno prije mjerenja izvađen iz otopine MS — 222. Šema vezivanja elektroda prikazana je na slici 8. Priključak elektroda na glavu šarana prikazan je na slici 9. Kod kontrolnog, netretiranog šarana javlja se na svim odvodima I, II, III i IV cerebralna aktivnost alfa i theta frekvencije 8—10 c/sec, kod srednjeg napona. Asi-

S LI KA Š A R A N A — E E G S A M S 2 2 2 p p m



Legenda:

- I 1-3 DESNO FRONTO TEMP.-PARIETO-OCCIPIT.
- II 2-4 LIJEVO
- III 1-2 FRONTALNO
- IV 3-4 PARIETO-OCCIPITALNO
- V 1-4. DESNO FRONT.-LIJEVO OCCIP
- VI 2-3 LIJEVO FRONT.-DESNO OCCIP

Sl. 6 Šema vezivanja elektroda radi uzimanja elektroencefalograma

metrije nema. Takva aktivnost slična je aktivnosti djeteta starog cca 5 godina. Kod tretiranog šarana javlja se kod sva četiri odvoda osnovna cerebralna aktivnost alfa i theta frekvencije 8—10 c/sec i 5—6 c/sec kod srednjeg napona, sa superponiranjem i interferiranjem srednje brzih aktivnosti frekvencije 15—17 c/sec kod nižeg napona, što govori za medicaciju. Asimetrije i paroksizma nema. Taj elektroencefalogram vrlo je sličan elektroencefalogramu čovjeka koji se nalazi pod utjecajem droga.



Sl. 7 Priključak elektroda na glavu šarana

Dobiveni elektroencefalogram, ponašanje ribe za vrijeme djelovanja trankilajzera, ukazuju da bi se MS — 222, s kojim se rukuje vrlo jednostavno mogao uspješno koristiti i kod umjetnog mrijesta riba. Čini se, da bi se bez većih poteškoća a pod utjecajem trankilajzera moglo uspješno provesti uzimanje ikre i mliječa, te njihova umjetna oplodnja. Umjetnim mrijestom dobivamo maksimalnu oplodnost ikre (95—100%), sigurnu kontrolu selekcioniranja, kao i mogućnost pouzdanog ocjenjivanja kvalitete pojedinih matica. Time se eliminira vjerojatnost parazitarnih i sličnih oboljenja, i prenosa bolesti sa matica na potomstvo.

Upotreba MS — 222 u te svrhe mogla bi biti od najvećeg značenja u ribarskoj praksi, pa bi bilo vrlo instruktivno provesti ta istraživanja.

ZAKLJUČAK

Izvršena su istraživanja sa koncentracijama od 50 ppm MS — 222 pokazala, da se desorpcija trankilajzera iz tijela šarana, držanog u protočnoj dobro aeriranoj vodi, provodi relativno vrlo brzo. Nakon 15 sati koncentracija MS — 222 u muskulaturi šarana iznosila je samo 2 ppm, a nakon 39 sati MS — 222 nije se mogao više dokazati. Rezultati su nadalje pokazali da u tijelu šarana dolazi do djelomične razgradnje, dezaktivacije, MS — 222. Šarani su nakon desorpcije MS — 222 nakon 15 sati bili konzumirani i nisu se u ničemu razlikovali od šarana u kontrolnoj grupi.

Provedeno istraživanje djelovanja MS — 222 i kod relativno visokih temperatura (24°C), kakve bi se eventualno mogle pojaviti u transportu šarana. Kod kontrolne grupe, bez upotrebe trankilajzera, nakon 12 sati pokusa (pokus je vođen pod vrlo nepovoljnim uslovima aeracije i odnosa riba : voda 1:1) uginulo je 42,3% riba, a kod grupe sa 50 ppm MS — 222 4,2%. Metabolizam riba uslijed djelovanja MS — 222 znatno je smanjen, pa i to ukazuje na mogućnost njegove primjene u transportu riba. Iz dobivenog elektroencefalograma, znatno smanjene aktivnosti riba pod utjecajem MS — 222 zaključujemo, da će MS — 222 vrlo vjerojatno naći primjenu i kod umjetne oplodnje riba. Dobivanje ikre i sperme uz primjenu MS — 222 omogućiti će maksimalnu oplodnost ikre, pouzdano ocjenjivanje kvalitete pojedinih matica i eliminiranje parazitarnih i sličnih oboljenja.

LITERATURA

1. Braton A. C., Marshall E. K. (1939): J. Biol Chem., 128 537—550.
2. Walker C. R., Schoettger R. A. (1966): U. S. bureau of sport fisheries and wildlife. Res. Publ. 19.
3. Hawk P. B., Oser B. L., Summerson W. H. (1954): Practical physiol. chemistry Mc. Graw-Hill Book Co. N. Y. 1939.

