کنترل روند برگشت ازبیهوشی با گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

ابوالحسن راستیان‌نسب[1]*، سیدعبدالحمید حسینی[1]، مصطفی شریف روحانی[2]، حبیب اله گندم‌کار[1]، علی نکویی‌فرد[3]، عین الله گرجی‌پور[1]

*rastian1921@yahoo.com

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

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

۳-مرکز تحقیقات آرتمیا، ارومیه

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

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 تاس ماهی 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 محلول-ها 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 فیزیکوشیمیایی آب ثابت و دارای دمای ۱۱ درجه سانتیگراد می باشد. تعداد ۵۴۰ عدد ماهی قزل الای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی (± انحراف معیار) ۰/۲ ± ۳/۲ گرم انتخاب شدند. بیهوشی با استفاده از محلول پودرگل میخک با غلظت ۱۷۰ppm 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 و۱۷درجه سانتیگراد برای محلول بیهوشی و یا آب معمولی برای برگشت به حالت طبیعی، ، با همدیگر مقایسه شدند (جدول۱). 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 می‌گردید. به محض ورود ماهیان به محلولهای بیهوشی ، زمان القاء بیهوشی کامل هر

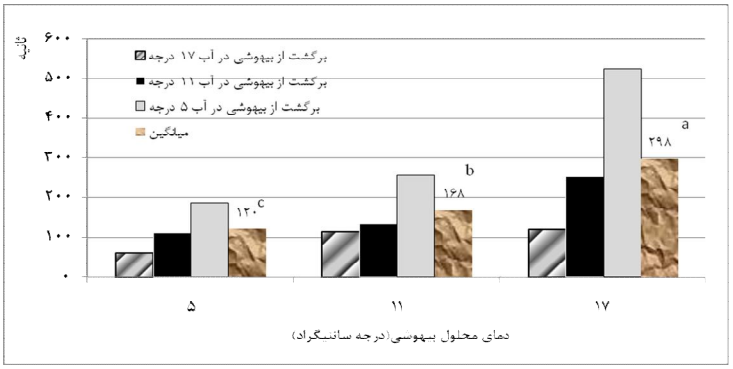
ماهی بطور جداگانه با کرنومتر ثبت و میانگین هر تکرار محاسبه می گردید. متعاقبا زمان برگشت ماهیان به حالت طبیعی ثبت گردید. بر اساس نتایج، زمانهای بازگشت از بیهوشی در دماهای مورد آزمایش، بسته به دمای محلول بیهوشی دارای اختلاف معنی داری ($p<0.05$) بودند و بیشترین تفاوت‌ها در نتیجه دو تیمار آزمایشی مشاهده شدکه تفاوت قابل ملاحظه بین دمای محلول بیهوشی (۵ درجه) و آب تانک ریکاوری(۱۷درجه) و برعکس وجود داشت (جدول۱).

جدول ۱ : مقایسه میانگین(± انحراف معیار) مدت زمان لازم برای برگشت از بیهوشی بچه ماهیان قزل الا درتیمارهای دمایی مختلف(برحسب ثانیه)

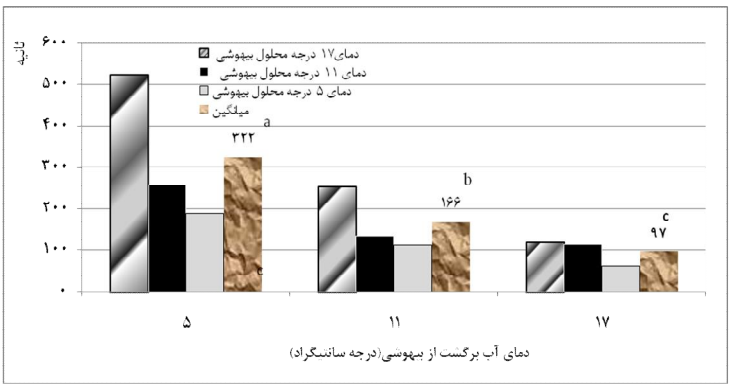
دمای محلول گل میخک برای بیهوشی بچه ماهیان(°C)	دمای آب تانک ریکاوری بچه ماهیان (°C)		
	۵	۱۱	۱۷
۵	۱۸۸±۳۱^{d}	۱۱۱±۱۲^{c}	۶۱±۱۱^{e}
۱۱	۲۵۶±۳۳^{b}	۱۳۴±۲۵^{c}	۱۱۴±۱۴ ^{c}
۱۷	۵۲۳±۱۵۴^{a}	۲۵۳±۳۱^{b}	۱۱۸±۲۸^{c}

میانگین های باحروف لاتین غیر مشابه در جدول نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشند($p<0.05$).

(۱)



(۲)



نمودار۱ و ۲: مقایسه میانگین مدت زمان برگشت از بیهوشی در رابطه با درجه حرارت محلول بیهوشی

بطـور کلـی یـک مـاده بیهـوش کننـده مطلـوب، در زمـان کوتـاهی مـوثر واقـع شـده و بازگشـت از بیهوشـی بـه سـهولت و سـریع ممکـن مـی شـود (Needham, 1998; Summerfelt & Smith, 1990 ;Gilderhus, 1987; ;Marking & Mayer,1985). تـاثیر نکـروزی بـر آبشـش‌ها بوسـیله برخـی مـواد از جملـه مـواد مـوثره میخـک(اوژنـول) اثبـات شـده و عـلاوه بـر تغییـرات فیزیولوژیـک مـواد بیهـوش کننـده کـه منجـر بـه القـاء بیهوشـی در آبزیـان شـده، بـر میـزان مـورد اسـتفاده از ایـن مـواد جهـت جلـوگیری از تـاثیر منفـی بـر بافـت‌هـا و اثـرات ناشـی از تـاخیر در بازگشـت تاکیـد مـی گـردد (Afifi, 2001). هـدف از ایـن بررسـی، بهبـود وضـعیت بیهـوش کننـدگی پـودر گـل میخـک بـا غلظـت ثابـت بـا تغییـر دمـای آب در راسـتای کنتـرل رونـد بیهوشـی، بـویژه تغییـر در زمـان بازگشـت از بیهوشـی بـا اسـتفاده از تیمارهـای مختلـف دمـایی بـود. نتـایج حاصـل از ایـن بررسـی در شـرایط هـم‌دمـایی محلـول‌هـا نشـان داد کـه بـا افـزایش دمـا، زمـان القـاء بیهوشـی و زمـان بازگشـت از بیهوشـی کـاهش مـی یابـد و منطبـق بـا نتـایج مطالعـات شـریف پـور و همکـاران(۱۳۸۱) بـوده کـه اذعـان داشـتند دمـای بـالاتر اثـرات بیهـوش کننـدگی میخـک را بیشـتر کـرده و بازگشـت از بیهوشـی را تسـهیل مـی نمایـد نخسـتین مکانیسـم رفتـاری اثردمـا بـر تغییـر رونـد تـاثیرمواد بیهـوش کننـده، تغییـر میـزان تـنفس مـی باشـد (Detar & Mattingly, 2004; Gelwicks & Zafft, 1998; Gomes *et al.*& Peters *et al.*, 2001)افـزایش دمـای آب در مجـاورت مـاهی باعـث افـزایش میـزان متابولیسـم مـی شـود (Hikasa *et al.*, 1986).افـزایش سـوخت و سـاز منجـر بـه تجمـع دی اکسـید کـربن و ایجـاد شـرایط اسـیدی در خـون مـی گـردد. واکـنش فیزیولوژیـک مـاهی نسـبت بـه تغییـرات بوجـود آمـده، افـزایش فعالیـت تنفسـی، بـالارفتن ضـربان قلـب و افـزایش گـردش خـون مـی باشـد. افـزایش گـردش خـون در آبشـش‌ها، سـرعت تـنفس و تهویـه آبششـی، رونـد جـذب مـاده بیهـوش کننـده از طریـق سیسـتم آبششـی و انتقـال آن بـه سیسـتم عصـبی مرکـزی مـاهی (CNS) را تسـریع مـی سـازد (Aguier *et al.*, 2002; Stehly and Gingerich, 1999).ایـن فعـل و انفعـالات در مـدت زمـان کوتـاهتری باعـث افـزایش مقـدار و تـاثیر مـاده مـوثره بیهوشـی در بـدن و سیسـتم عصـبی مرکـزی مـاهی شـده، در نتیجـه زمـان القـاء بیهوشـی در آب گرمتـر را تسـریع سـاخته و مطـابق بـا آن، بـا انتقـال ماهیـان بـه آب‌هـای گرمتـر بـرای برگشـت، رونـد انتقـال و دفـع مـاده بیهوشـی از بـدن بـا سـرعت بیشـتری انجـام مـی شـود. عکـس قضـیه، کـاهش متابولیسـم مـاهی در آب سـرد، رونـد جـذب مـاده بیهوشـی و همچنـین دفـع آن از بـدن را کنـد نمـوده و زمـان القـاء بیهوشـی و بازگشـت بـه حالـت طبیعـی در آب بـا دمـای کمتـر، افـزایش مـی یابـد. تـاثیر متابولیسـم بـه حـدی بـوده کـه تـن ماهیـان بـا قابلیـت حفـظ گرمـای متـابولیکی درونـی(Endothermy)، واجـد دمـای بـالاتر در بافتهـا در مقایسـه بـادمـای آب محـیط بـوده و نسـبت بـه آزادماهیـان و کپورماهیـان در محـیط یکسـان از نظـر دمـایی ،میـزان بیشـتری از مـواد بیهـوش کننـده را در مـدت زمـان کمتـری جـذب و زمـان القـاء بیهوشـی در آنهـا کوتـاهتر اسـت(Blank *et al.*, 2001; & Bushnell& Jones, 1994) 2004; Brill. بـا مقایسـه ترکیبهـای آزمایشـی، تـاثیر تفـاوت دمـای محلـول بیهوشـی و آب برگشـت بـه وضـعیت اولیـه، در مـدت زمـان برگشـت از بیهوشـی ماهیـان کـاملا آشـکار مـی باشـد. کمتـرین مـدت زمـان بازگشـت از بیهوشـی(۶۱ ثانیـه) نتیجـه دفـع سـریع مـواد بیهوشـی در دمـای بـالا (۱۷ درجـه) از بچـه ماهیـانی بـوده کـه مقـدار کمـی از مـواد بیهـوش کننـده را در دمـای پـایین (۵ درجـه) جـذب کـرده انـد(اخـتلاف دمـایی گـرم). همچنـین بیشـترین مـدت زمـان بازگشـت (۵۲۳ ثانیـه) در ماهیـانی بـوده کـه مقـدار بـالایی از مـواد بیهوشـی را در دمـای بـالا (۱۷ درجـه) جـذب نمـوده و رونـد دفـع مـواد مـذکور در دمـای ۵ درجـه (اخـتلاف دمـایی سـرد) بـه کنـدی صورت گرفته است (جدول۱).

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 طولانی‌تر جذب بدن شده و میانگین زمان بازگشت در تمام تیمارهایی که در ۵ درجه بیهوش شدند ۱۲۰ ثانیه بوده است (نمودار۱). همچنین بر اساس یافته ها، با بیهوشی ماهی در دماهای پایین تر(۵ و۱۱ درجه) ، جذب مواد بیهوشی کمتر بوده ومطابق انتظار، کمترین میانگین مدت زمان بازگشت از بیهوشی (۹۷ ثانیه) در دمای آب ۱۷ درجه مشاهده گردید (نمودار۲). با این وجود در غلظت یکسان از مواد بیهوشی، تاثیر متقابل دمای محلول‌ها بر روند بیهوشی و برگشت، بدلیل تاثیر دما بر سرعت و میزان جذب ماده بیهوشی و نیز سرعت دفع آن بوده وزمان بازگشت بطور قابل توجهی به میزان ماده بیهوشی جذب شده تحت شرایط دمای محلول بیهوشی بستگی دارد. در این میان، تاثیر شوک‌های دمایی گرم و سرد می تواند دامنه زمانی بازگشت رابطور 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، می‌توان روند ورود و خروج مواد بیهوشی از بافت‌های ماهی را تسریع نمود و بسته به هدف و زمان مورد نیاز در فعالیت¬های آزمایشگاهی یا آبزی پروری، روند بیهوشی و بازگشت ازآن 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.

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، شماره۳، صفحات ۲۹۵ -۲۹۹.

شریف پور، ع.؛ سلطانی ، م.؛ عبدالحی، ح. و قیومی، ر.، ۱۳۸۱. اثر بیهوش کنندگی اسانس گل میخک *(Eugenia caryophillata)* در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهیان کپور معمولی *(Cyprinus carpio)*. مجله علمی شیلات ایران، شماره۴، 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، شماره۳، صفحات ۱۸۸-۱۹۲.

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

میراب بروجردی، م.؛ اخلاقی، م.، ۱۳۸۰. تاثیر بیهوش کنندگی و تعیین LC50 گل گیاه میخک بر روی ماهی قزل آلای 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.

Aguiar, L.H., Kalinin, A.L. and Rantin, F.T. 2002. The effects of temperature on the cardio-respiratory function of the neotropical fi sh *Piaractus mesopotamicus*. J Therm Biol. 27, 299-308.

Blank, J.M., Morrissette, 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 efficieny of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhyncus 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 ***p**omacentrus 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 by170 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) in17°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