

# بررسی اثرات بیهوشی کننده های ACA (استن، کلروفرم، الکل) و AES (الکل، اتر، نمک) بر روی مولدین و بچه ماهیان کپور معمولی و کپور چینی

● مهدی یوسفیان، عضو هیات علمی جهادسازندگی، مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران  
● شهریانو عربیان، عضو هیات علمی دانشکده تربیت معلم و دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی  
● آریتا نوحی، دانش‌آموخته رشته بیولوژیکی ماهیان دریا از دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

تاریخ دریافت: اردیبهشت ماه ۱۳۷۷ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۷۹

## ✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 51 PP:44-47

The study of the effects of ACA (Acetone, Chloroform, Alcohol) and AES (Alcohol, Ether, Salt) on broodstocks and fingerlings of common carp and chinese carp.

By: M. Yousefian, Member of Scientific Board of Fisheries Research Center of Mazandaran Province; Oryan Sh., Member of Scientific Board Islamic Azad Univ.; Nouhi A., Graduate Student of Fish Biology, Islamic Azad Univ.

The effects of different concentrations of ACA (in ratios of 1:1:8 and 1:1:4) and AES (in ratio of 4:6:1) were studied in common carp, grass carp and silver carp. LC sub (5) (minimum lethal concentration) value of AES in time period of 10 min and water temperature of 22°C, for common carp, grass carp and silver carp fry in average weight of 4 g were 10 ml/l. The dosage of LC sub (5) value of ACA (1:1:4 and 1:1:8) was evaluated and the results showed lesser doses of this anesthetic. Also it was known that ACA is caused high haemorrhag and convulsion comparing with AES. The t sub (5) value (the time in the course of which 5% die using the recommended dose of 1 ml/l ACA and water temperature of 22°C), for common carp was 75 min. It was determined also for the two chinese carp. t sub (5) with AES for every species was evaluated too. For broodstocks the times of induction and recovery with ACA and AES were measured and the results showed that AES is a better anesthetic. Primary and secondary stress effects of these two anesthetic also were characterized by measuring the levels of cortisol and glucose. The experiments showed the increase of these two factors significantly after treatment. There was no difference between ACA and AES in this respect.

Key words: AES, ACA, Common carp, Chinese carp

## چکیده

با توجه به اهمیت کاربرد بیوشیمی در امر تکثیر و پرورش کپور ماهیان، در این بررسی اثرات دو ماده بیهوش کننده به نامهای ACA و AES بر روی سه گونه از کپور ماهیان شامل کپور معمولی، کپور علفخوار (آمور) و کپور نقره‌ای (فیتوفاگ) مورد مطالعه قرار گرفت. در بچه ماهیان مقادیر LC5 و t5 و در ماهیان مولد و پیش مولد، زمانهای بیهوشی و مقادیر مناسب دارو تعیین گردید. همچنین میزان استرس وارده و در نتیجه بیهوشی با اندازه گیری مقادیر گلوکز و کورتیزول سرم مورد مطالعه قرار گرفت. مقدار LC5 در آزمایشات مربوط به ماده AES با نسبت ۱:۶:۴ در کپور معمولی، کپور علفخوار و کپور نقره‌ای با وزن متوسط ۴ گرم برابر با ۱۰ میلی‌متر بر لیتر بوده است. نتایج نشان داد که LC5 در ماده ACA در دوز محلول کمتر از ماده AES می‌باشد. همچنین فاصله بین مقادیر کاربردی و کشنده در ماده بیهوش کننده AES بیشتر از ACA بوده و میزان تشنج ایجاد شده توسط آن در بچه ماهیان کمتر است. t5 در ماده ACA با نسبت ۱:۱:۴ به ترتیب در ماهی کپور معمولی، کپور علفخوار و کپور نقره‌ای برابر با ۲۷، ۳۳، ۷۵ دقیقه و این مقادیر در ماده AES برابر با ۸۲، ۴۱، ۳۴ دقیقه به دست آمد. بررسی نتایج حاصل از زمانهای بیهوشی در ماهیان مولد گویای این مطلب است که ماده AES جهت استفاده در این ماهیان برتری دارد. مقایسه تغییرات مقادیر گلوکز و کورتیزول خون ماهیان در دو حالت قبل و زمان بیهوشی نشان می‌دهد که ACA، AES از نظر تولید استرس تفاوت محسوسی با یکدیگر ندارند و هر دو باعث افزایش در مقادیر فاکتورهای مورد نظر می‌گردند.

کلمات کلیدی: AES، ACA، کپور معمولی، کپور چینی

بی‌هوشی، حفظ و نگهداری موجود زنده در این حالت به مدتی که اجازه دستکاری مورد نظر را بدهد، همراه با زمانهای کوتاه برای بی‌هوش آمدن و عدم ایجاد هر گونه اثرات جانبی زیان‌آور (۶).

با توجه به موارد ذکر شده هدف از این تحقیق، معرفی کاربرد و بررسی اثرات دو ماده بی‌هوش‌کننده ACA و AES در امر پرورش و تکثیر کپور ماهیان که بخش عمده‌ای از آبزیان پرورشی را تشکیل می‌دهند می‌باشد.

### مواد و روشها

در این تحقیق از دو ماده بی‌هوش‌کننده ACA (استن، کلروفرم، الکل) با نسبتهای ۱:۱:۸ و ۱:۱:۴ و AES (الکل، اتر، نمک) با نسبت ۴:۶:۱ استفاده گردید و اثرات آنها بر سه گونه از ماهیان پرورشی شامل کپور معمولی<sup>۱</sup>.

کپور علفخوار یا آمور<sup>۲</sup> و کپور نقره‌ای یا فیتوفاک<sup>۳</sup> بررسی گردید.

آزمایشات در کارگاه شهید رجایی، مزرعه آبی رشد ساری و مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران به انجام رسید. در این تحقیق آزمایشات مشتمل بر مطالعات بر روی بچه ماهیان و ماهیان مولد و پیش مولد بوده است.

### تعیین LC<sub>5</sub> در بچه ماهیان

منظور از LC<sub>5</sub> تعیین دوزی از ماده بی‌هوشی است که حداقل تلفات را که منظور ۵ درصد می‌باشد، ایجاد کند (lethal concentration). جهت تعیین دوز مربوطه، مدت زمان نگهداری ماهی در ماده بی‌هوش‌کننده و در هوای آزاد ثابت در نظر گرفته شد. این زمانها به ترتیب ۱۰ و ۳ دقیقه بود. تعداد ماهی مورد آزمایش در هر بار ۲۰ عدد و هر آزمایش سه بار تکرار شد. برای هر یک از مواد بی‌هوشی و هر کدام از سه نوع جداگانه تعیین گردید.

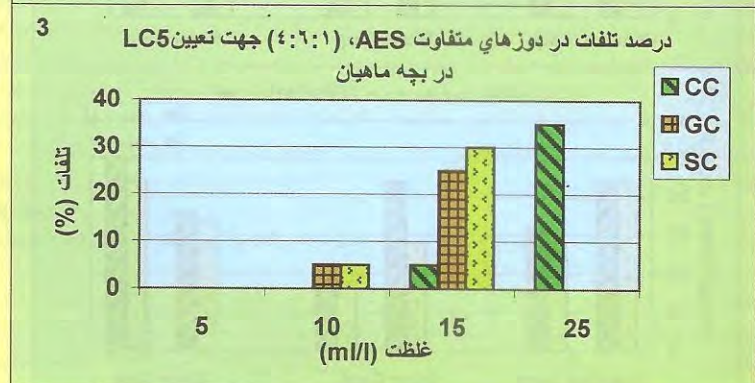
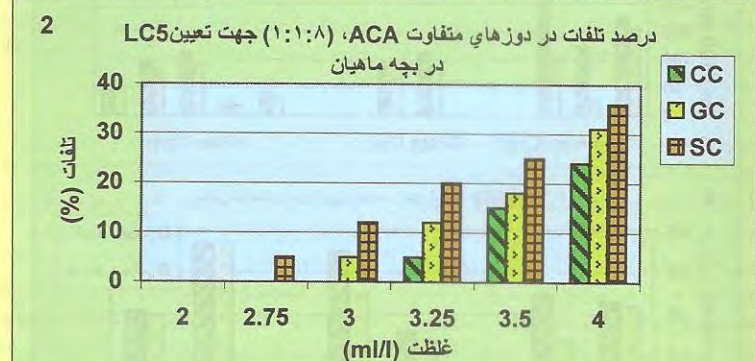
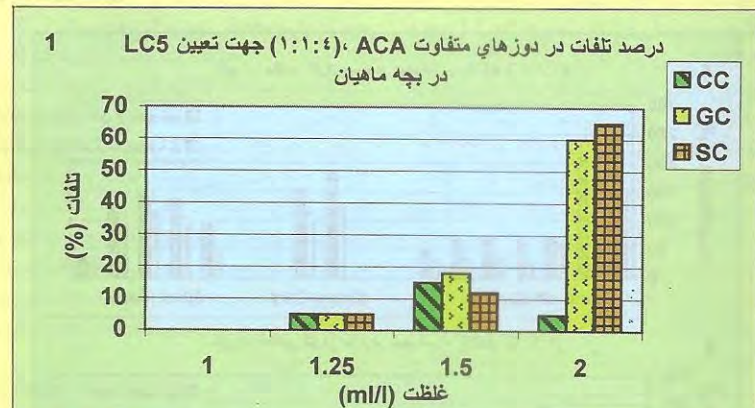
### تعیین t<sub>5</sub> در بچه ماهیان

جهت افزایش تراکم و کاهش تلفات در هنگام جابجایی بچه ماهیان می‌توان از مواد بی‌هوش‌کننده استفاده کرد در این راستا فاکتوری به عنوان t<sub>5</sub> تعیین گردید.

t<sub>5</sub> مدت زمانی است که بچه ماهیان در مقدار ثابتی از ماده بی‌هوش‌کننده قادرند باقی بمانند و تنها ۵ درصد تلفات داشته باشند. میزان داروی بی‌هوشی با توجه به اطلاعات و آزمایشات مقدماتی تعیین گردیده و در هر گونه از بچه ماهیان و هر کدام از مواد بی‌هوش‌کننده متفاوت بود. در این آزمایش نیز در هر بار ۲۰ عدد بچه ماهی ۴ گرمی استفاده شد.

### بررسی زمانهای بی‌هوشی با استفاده از میزان مناسب داروی بی‌هوشی

در این بخش از آزمایشات، ماهیان مولد و پیش مولد با مقدار مناسبی از مواد مورد نظر محلول در ۲۰ لیتر آب بی‌هوش شده و زمانهای لازم برای القاء بی‌هوشی<sup>۴</sup> و زمان بهبودی<sup>۵</sup> اندازه‌گیری گردید. حالت



نمودارهای ۱-۳- میزان LC<sub>5</sub> در بچه ماهیان چهار گرمی کپور معمولی (CC) کپور علفخوار (GC) و کپور نقره‌ای (SC) در محلول‌های بی‌هوشی ACA و AES

### مقدمه

در تکثیر و پرورش آبزیان همواره مسئله انتقال و جابجایی مناسب بچه ماهیان، ماهیان پیش مولد و مولد بسیار حایز اهمیت است. امروز جهت کاهش استرس و کاهش مرگ و میر ناشی از دستکاری شدن و نقل و انتقال ماهیان، مواد بی‌هوش‌کننده به طور گسترده‌ای در کارگاههای تکثیر و پرورش ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶).

داروی MS222 تنها ماده بی‌هوشی‌کننده‌ای است که جهت استفاده در شیلات ثبت گردیده است (۷). با این

حال مشخص شده است که این ماده به جز بی‌هوشی غالباً برخی اثرات جانبی طولانی مدت را ایجاد می‌کند (۸، ۹). مثلاً بر طبق نظر Quinn و همکارانش (۴) سبب صدمه دیدن اپیتلیوم بویایی گربه ماهی و یا ایجاد تاکی کاردی و کاهش تهویه می‌گردد و یا اسیدوز متابولیکی و تنفسی تولید می‌کند (۲). از طرف دیگر بی‌هوش‌کننده‌هایی نظیر MS222 و کنالدین که به طور گسترده‌ای در ماهیها مورد استفاده قرار گرفته‌اند در برخی از کشورها همیشه در دسترس نمی‌باشند (۵).

به هر حال بی‌هوش‌کننده‌ای مطلوب است که دارای خصوصیات زیر باشد. توانایی رساندن به سطح عمیق

بیهوشی به شکل عدم رفلکس با لمس و بلند کردن ماهی از ظرف محلول در نظر گرفته شده است. پس از بیهوشی، ماهی از محلول خارج شده و به مدت ۳ دقیقه در هوای آزاد نگهداری گردیده است. در زمان مذکور اقدام به توزین و یا خون‌گیری از ماهی شده و پس از آن ماهی به آب تازه وارد گشته و زمان لازم جهت بیهوش آمدن که برابر با آغاز شنا بود تعیین شده است.

### اندازه‌گیری مقادیر گلوکز و کورتیزول سرم قبل از بیهوشی و در زمان بیهوشی جهت نشان دادن میزان استرس وارده به ماهیان در اثر بیهوشی

جهت تعیین اثرات دو ماده ACA (۱:۱:۴) و AES (۱:۶:۱) بر میزان گلوکز و هورمون کورتیزول سرم اقدام به تعیین این عوامل در خون گردید. بدین منظور در دو مرحله قبل از بیهوشی و در زمان بیهوشی و با استفاده از سرنگهای یکبار مصرف ۵ میلی‌متر از ساقه دم ماهیان عمل خون‌گیری انجام پذیرفت. اندازه‌گیری کورتیزول با استفاده از روش رفرانس این مورد توسط نویسنده مشخص شد و اندازه‌گیری گلوکز با روش آنزیماتیک انجام گرفته است.

### روشهای آماری بکار رفته

جهت بررسی تفاوت بین تیمارهای مختلف، از آزمون دانکن و آزمون تی، جهت مقایسه برای میانگین‌ها در برنامه کامپیوتری SPSS برای Window استفاده گردید.

### نتایج

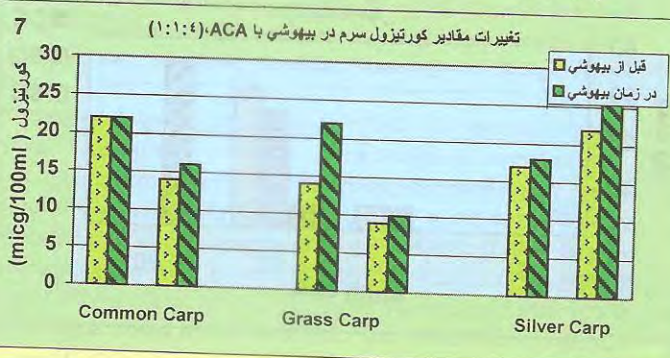
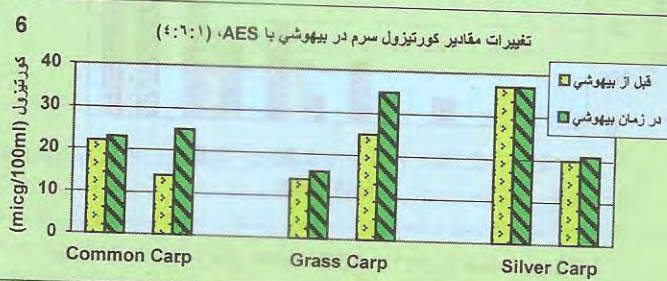
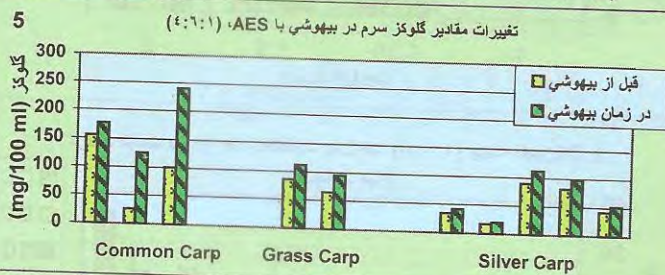
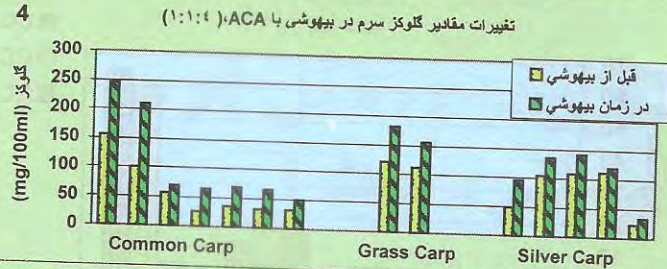
پس از انجام آزمایشات و تکرارهای لازم و مطالعه جنبه‌های گوناگون بیهوشی با مواد ACA، AES، نتایج زیر حاصل شد.

در بررسی با  $LC_5$ ، بعد از میانگین‌گیری بین تکرارها، نتایج بدست آمده برای ماده ACA با نسبت ۱:۱:۴ و با نسبت ۱:۱:۸ و ماده AES در نمودارها به ترتیب در نمودارهای ۱ تا ۳ نشان داده شده است. آزمایشات مربوط به  $t_5$  نیز در هر سه گونه مذکور انجام گرفت که نتایج به دست آمده در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

زمانهای بیهوش شدن و بیهوش آمدن با استفاده از مقدار مناسب دو داروی ACA و AES در ماهیان مولد و پیش مولد بررسی گردید. جداول شماره ۲ و ۳ نتایج به دست آمده مربوط به ماهیان مولد و ماهیان پیش مولد را نشان می‌دهند.

نتایج آزمایش از لحاظ آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و هم در مورد ماهیان مولد و هم پیش مولد در بین سه نوع ماهی زمان بیهوش شدن اختلاف معنی‌داری را بین ماهی کیپور معمولی و دو ماهی دیگر نشان داده است ( $p < 0/05$ ) ولی بین دو ماهی کیپور چینی اختلاف معنی‌دار نبود.

مقایسه زمان بیهوشی ماهی و بیهوش آمدن ماهی در سه نوع محلول نیز مورد آزمون قرار گرفته و اختلاف شدید معنی‌داری بین محلول ACA (۱:۱:۴) با دو محلول دیگر وجود داشت ( $p < 0/01$ ) ولی در مورد تفاوت بین ACA (۱:۱:۸) و AES (۴:۶:۱) ضمن وجود اختلاف زیاد این اختلاف معنی‌دار نبوده است.



نمودارهای ۴-۷- تغییر مقادیر گلوکز و کورتیزول در قبل از بیهوشی و پس از بیهوشی با ACA و AES

بیهوشی در هنگام استفاده از هر دو ماده ACA و AES اختلاف نشان داده است.

### بحث

دو شاخص  $LC_5$  و  $t_5$  از فاکتورهای مهم در تعیین مقاومت ماهی نسبت به داروهای بیهوشی محسوب می‌شوند که در این تحقیق برای تعیین حداقل تلفات و یا بیشترین سطح مصرف دارو مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

تغییرات مقادیر گلوکز و کورتیزول سرم در دو حالت قبل از بیهوشی و زمان بیهوشی و اثر دو ماده ACA، AES در تولیدات استرس مشخص شده‌اند. نمودارهای ۴ تا ۷ تغییرات گلوکز و کورتیزول را نشان می‌دهند. پس از انجام تستهای آماری مشخص گردید که اختلاف بین مقادیر گلوکز در دو حالت قبل از بیهوشی و در زمان بیهوشی، در هنگام استفاده از ماده ACA بیش از ۹۹ درصد و در هنگام استفاده از ماده AES تا ۹۵ درصد معنی‌دار است. همچنین بین مقادیر کورتیزول در دو حالت قبل از بیهوشی و در زمان

## LC5

مقدار LC5 در داروهای بیهوش کننده مونتان و بچه ماهیان کپور، در زمان ۱۰ دقیقه و دمای ۲۲ درجه سانتی گراد ۰/۴۹ گرم بر لیتر تعیین گردید (۱۰). در پژوهش حاضر مقدار LC5 در سه گونه مورد نظر از کپور ماهیان و در تعیین گردید. آزمایشات جهت تعیین LC5 ماده ACA با نسبت ۱:۱:۴ نشان داد که LC5 در کپور ماهیان با میانگین وزنی ۴ گرم و ۱/۲۵ میلی لیتر بر لیتر می‌باشد و با نسبت ۱:۱:۸ مقدار دوز بیشتر شده و ۲/۷۵ - ۲/۲۵ میلی لیتر بوده است. مشاهده روند درصد تلفات در غلظت‌های متفاوت ماده ACA با نسبت ۱:۱:۴ نشان می‌دهد که تغییر اندکی در غلظت باعث ایجاد تغییرات فاحش در میزان درصد تلفات می‌گردد. بنابراین در هنگام کار با ماده ACA با نسبت ۱:۱:۴ باید دقت بیشتری مبذول داشت زیرا کمترین خطا باعث افزایش سریع تلفات می‌گردد. در آزمایشاتی که با ماده AES انجام پذیرفت مشخص گردید که LC5 در ماهی کپور، امور، فیتوفاک با میانگین وزنی ۴ گرم برابر ۱۰ میلی لیتر بر لیتر بوده است.

همانطور که مشخص است در AES مقدار دوز محلول جهت LC5 همواره بیشتر از ACA می‌باشد و این به دلیل قوی‌تر بودن ACA نسبت به AES است. ماده ACA قبل از بیهوشی حرکات تشنجی تولید می‌کند و در برخی موارد (مثلاً فیتوفاک) منجر به ایجاد همورازی می‌گردد. هر دو نوع محلول سبب تیره‌تر شدن بدن بچه ماهیان می‌شوند. مدت زمان بیهوش آمدن بچه ماهیان هنگام مصرف ماده AES بیشتر از ACA است همچنین فاصله بین مقادیر کاربردی و سمی در ماده AES بیشتر از ACA است که خصوصاً در ماهی کپور کاملاً مشهود می‌باشد به عبارت دیگر ماده AES نسبت به ACA بی‌خطرتر است. با توجه به نکات ذکر شده می‌توان به این نتیجه رسید که ماده ACA جهت استفاده در بیهوشی بچه ماهیان بهتر از ACA می‌باشد.

## t5

در بررسی ماده بیهوش کننده مونتان در کپور معمولی مقدار t5 در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد تعیین گردید که برابر با ۸۳ دقیقه بود. در تحقیق اخیر مقدار برابری ACA با نسبت (۱:۱:۴) و AES با نسبت (۴:۶:۱) در سه گونه مورد نظر تعیین گردید. از مقایسه آزمایشات می‌توان دریافت که دوزها یا غلظت‌های بکار رفته جهت بیهوشی ماهیان در اکثر موارد یکسان نمی‌باشد. دلیل این امر تفاوت مقاومت ماهیهای مورد نظر است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که ماهی کپور با توجه به دوز مصرفی نسبت به دو گونه دیگر مقاوم‌تر می‌باشد و قادر به تحمل محلول بیهوش کننده به مدت بیشتری است. این نتایج خصوصاً در ماده ACA مشهود می‌باشد.

### بررسی زمانهای بیهوشی با استفاده از دوزهای مناسب در ماهیان مولد و پیش مولد

پژوهشی که در ماهیان خواباری و با استفاده از ماده ACA (۱:۱:۸) صورت پذیرفت نشان داد که غلظت ۱ میلی لیتر از این ماده در هر لیتر آب سبب بیهوش شدن

ماهی در مدت ۲۸ دقیقه می‌گردد (۱). در پژوهش اخیر زمانهای بیهوشی با ACA و AES در مولدین و پیش مولدین کپور ماهیان تعیین گردیده است. در این آزمایشات مشخص گردید که در هنگام استفاده از ماده AES زمانهای بیهوش شدن دامنه کوتاهتری پیدا کرده‌اند و همچنین حداکثر زمانیکه برای بیهوش شدن ماهی لازم بوده کاهش یافته است (p=۰/۰۵). زمانهای بیهوش آمدن نیز در ماده AES نسبت به ماده ACA کوتاهتر شده است. ضمناً دامنه زمانی بیهوش آمدن نیز کوتاه شده است. به عبارتی می‌توان گفت که با استفاده از ماده AES ماهیها زودتر بهوش می‌آیند. همچنین در بین سه نوع ماهی مشاهده گردید که ماهی فیتوفاک نسبت به دو ماهی دیگر سریعتر بهوش می‌شود.

با توجه به این موضوع که یک ماده بیهوش کننده مناسب باید سبب بیهوشی سریع و نیز بهوش آمدن سریع و آسان شود، از بررسی زمانهای بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که AES نسبت به ACA برتری دارد.

### اندازه‌گیری مقادیر گلوکز و کورتیزول سرم

در یک پژوهش جهت بررسی اثرات MS222 و ۲-فنوکسی اتانل بر روی ماهی سیم سر تلاقی تغییرات کورتیزول و گلوکز و چندین فاکتور دیگر مورد بررسی قرار گرفت (۴).

در تحقیق حاضر جهت بررسی اثرات ACA (۱:۱:۴) و AES (۱:۶:۴) بر فاکتورهای مذکور و تعیین میزان استرس وارده به ماهی در اثر بیهوشی، گلوکز و کورتیزول سرم در دو زمان قبل از بیهوشی و در زمان بیهوشی اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان می‌دهد که مقادیر گلوکز در تمام موارد افزایش یافته است و این اختلاف معنی دار است. مقادیر کورتیزول نیز در هر سه گونه تقریباً در تمام موارد در زمان بیهوشی نسبت به قبل از آن افزایش نشان می‌دهد.

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان چنین اظهار کرد که این داروها در زمان بیهوشی، در ماهیها ایجاد استرس می‌کند و از این نظر تفاوت محسوسی با یکدیگر ندارند.

در این پژوهش به طوری که ملاحظه گردید مقادیر LC5 و t5 برای بچه ماهیان در هنگام استفاده از دو داروی ACA و AES تعیین گردید. هدف از تعیین این مقادیر ارایه حدود مقدار داروی قابل مصرف جهت استفاده در این ماهیان می‌باشد به طوری که با آزمایشات مکرر انجام گرفته ملاحظه گردید که مقدار داروی کمتر از مقادیر بدست آمده هیچ گونه اثرات سویی در ماهی ندارد. همچنین با توجه به زمانهای بیهوشی در ماهیان مولد می‌تواند به استفاده از این مواد جنبه کاربردی داد و در ضمن از تلفات ماهیها جلوگیری کرد.

در پایان جهت جلوگیری از تلفات ناشی از حمل و نقل ماهیان و کاهش ضربات در دوران تکثیر پیشنهاد می‌گردد که اولاً در نقل و انتقال ماهیان از داروی بیهوشی استفاده گردد. ضمناً در استفاده از داروهای بیهوش کننده AES و ACA همواره غلظت‌های کمتر از مقادیر بدست آمده در این تحقیق در آزمایشات LC5 و t5 مورد استفاده قرار گیرد.

### باورقی‌ها

- 1- *Cyprinus carpio*
- 2- *Ctenopharyngodon idella*
- 3- *Hypophthalmichthys molitrix*
- 4- Induction time
- 5- Recovery time

### منابع مورد استفاده

- ۱- مخیر، ب.، ۱۳۷۲. بیهوشی و جراحی در تاس ماهیان ایران. بولتن علمی شیلات ایرانی. شماره ۲.
- 2- Bursleson M. and Smatresk N., 1989. The effect of decerebration and anesthesia on the reflex response to hypoxia catfish. Can. J. Zool. 67:630-635.
- 3- Molinero A. and Gonzalez J., 1995. Comparative affects of MS222 and 2-Phenoxy ethanol on gilthead sea bream (during confinement comp. Biochem. Physiol., VOL. IIIa, 3:405-414.
- 4- Quinn AT., Olson A. and Konecki J., 1988. Effects of anesthesia on the chemosensory behaviour of Pacific salmon. J. Fish. Biol., J. Fish. Biol., 33:637-641.
- 5- Rodriguez-Gutierrez, M. and Esquivel-Herrera, A., 1995. Evaluation of the repeated use of xylocaine as anesthetic for the handling of breeding carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 129:431-436.
- 6- Schnick R.A. and Meyer F.P., 1978. Registration of thirtythree fishery chemicals : status of research and estimated costs of required contract, Invest fish control, 86:1-19.
- 7- Schoettger R.A., Walker. C.R., Marking LL. and Julin A.M., 1967. MS222 as an anesthetic for channel cat fish :Its toxicity, efficacy and muscle residues. Invest. fish control, 17:1499.
- 8- Spat M. and Schweickert W., 1977. The effects of metacaine (MS222) on the activity of the efferent and afferent nerves in the teleost lateral-line system. Arch pharmacol., 297:9-16.
- 9- Soive A., Nyholm K. and Huhti M., 1977. Effects of anaesthesia with MS222, neutralized MS222 and benzocaine on blood constituents of rainbow trout (*Salmo gaidneri*). J.Fish Biol., 10:91-101.
- 10-Svobodova Z., Valentova V., Vykusova B. and Pecena M., 1986. Ichthyotoxi colgical evaluation of the new Czechoslovak anesthetic for fish. Bull. Vyzk. Ustav. Ryb. Hydrobiol. Vodnany.23:3-7.