

**بررسی تأثیر عصاره آبی، متانولی، اتانولی و اسانس گیاه لرگ
(*Pterocarya fraxinifolia*) به عنوان یک ماده بیهوش‌کننده بر روی ماهی کپور
معمولی (*Cyprinus carpio*)**

سید حمیدرضا کیهانی^{۱*}، سید مهدی حسینی فرد^۲، حسن قاسم‌نژاد بصرا^۳

چکیده:

امروزه استفاده از مواد بیهوشی در آبی‌پروری امری بدیهی می‌نماید. در این راستا اثرات بیهوش‌کنندگی عصاره آبی، اتانولی، متانولی و اسانس گیاه لرگ در بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به وزن 90 ± 10 گرم برای اولین بار بررسی گردید. کل زمان تأثیر محاسبه‌شده ۶۰۰ ثانیه و تعداد ماهی در هر آزمایش ۵ قطعه بود. نتایج نشان داد عصاره متانولی گیاه لرگ در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm به صورت قابل توجه و متفاوتی در بیهوشی ماهی تأثیر داشت، در صورتی‌که ماهی‌ها تحت تأثیر عصاره آبی حتی در غلظت ۵۰۰ ppm هیچگونه علائمی از مراحل مختلف بیهوشی را نشان نداد و تحت تأثیر غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm عصاره اتانولی فقط سطح (۱) و (۲) از مراحل بیهوشی را نشان داد و در غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm برای اسانس در ماهیان تأثیر داشت. در این تحقیق عصاره متانولی گیاه لرگ به عنوان یک بیهوش‌کننده مناسب برای نمونه-برداری خارجی و بافت‌برداری از باله‌ها و آبشش ماهی کپور معمولی معرفی می‌شود.

کلید واژه: بیهوشی، کپور معمولی، عصاره متانولی، اسانس، گیاه لرگ (*Pterocarya fraxinifolia*).

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی بابل، بابل، ایران shk1328@yahoo.com

۲- گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی بابل، بابل، ایران

۳- گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی بابل، بابل، ایران

۱- مقدمه

امروزه آبزیان، بخصوص ماهیان خوراکی و پرورشی بواسطه جایگاه ویژه‌ای که در بین سبد غذایی خانوار به خود اختصاص داده‌اند از اهمیت بسیار بالایی برخوردارند. با گذشت زمان و پیشرفت علم و فنون تکثیر ماهیان روشهای مختلفی در این زمینه ارائه شد (اخلاقی و بروجردی، ۱۳۷۸). در اکثر روشهای تکثیر القاء مولدین برای امر تکثیر یا آماده‌سازی آنها امری اجتناب‌ناپذیر می‌نمود که این کار با تزریقات هورمونی میسر بود و به علت حساس بودن مولدین و وارد شدن استرس به آنها متخصصین به فکر بیهوش کردن ماهی جهت کاهش استرس وارده بواسطه هورمون‌های تزریقی افتادند، که در این زمینه پیشرفت‌های چشمگیری صورت پذیرفته است (Farahi et al., 2011).

بیهوش کردن ماهیان با استفاده از مواد مختلفی صورت می‌گیرد که در دنیا بنا به در دسترس بودن و اقتصادی‌تر بودن در هر مکان متفاوت می‌باشد (Abdolazizi et al., 2011). امروزه در ایران و دیگر نقاط جهان از دو ماده‌ای که بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد تریکائین متان سولفونیت (Ms222) و اسانس گل میخک می‌باشد (مخیر، ۱۳۷۲؛ Soto & Burhanuddin, 1994)، ماده اول به دلیل اینکه جزو مواد اولیه یک نوع ماده مخدر می‌باشد کمتر در دسترس تکثیرکنندگان قرار می‌گیرد ولی پودر گل میخک در بازار یافت می‌شود و در حال حاضر منابع خوبی دارد که اگر کاشت آن رو به افزایش نگذارد منابع آن کاهش پیدا خواهد کرد. هر دو ماده قیمت بالایی در ایران دارند که نشان‌دهنده ارزش اقتصادی آنان می‌باشد (احمدی، ۱۳۸۵). همانطور که در بالا ذکر گردید در تمام نقاط دنیا استفاده از مواد بیهوش کننده برای آبزیان بسته به نوع منطقه متفاوت می‌باشد، در ایران و در مازندران مردم بومی از سال‌ها قبل به جهت صید ماهیان رودخانه‌ای و آبیگرهای کوچک از گیاهی به نام لرگ استفاده می‌نمودند (کامل، ۱۳۸۱). منابع فراوان، قابل دسترس و خاصیت گیاه لرگ، استفاده از آن را به عنوان یک ماده بیهوش کننده امری بدیهی می‌نماید (شیخ‌الاسلامی و احمدی، ۱۳۸۶) که در این راستا استفاده از آن و تعیین بهترین دوز درمانی و سطح بیهوشی در این تحقیق مد نظر قرار گرفته است.

۲- مواد و روش‌ها

برگ و ساقه گیاه لرگ پس از جمع‌آوری و خشک کردن برای سهولت در امر اسانس و عصاره‌گیری خرد شده و بعد مورد استفاده قرار گرفت. عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون یا بوسیله تقطیر ساده انجام می‌شود. برای گرفتن اسانس، گیاهان آماده شده و خرد شده را در یک بالن ریخته و تا دو قسمت از سه قسمت با آب مقطر پر می‌کنیم و در دستگاه تقطیر جز به جز قرار داده و مراحل اسانس‌گیری را انجام می‌دهیم (صمصام شریعت، ۱۳۸۶). بچه ماهیان کپور با متوسط وزن 90 ± 10 گرم از استخر پرورشی صید شده و به مخازن پلی اتیلن داخل کارگاه منتقل شدند. این مخازن قبلاً کاملاً

تمیز شده و پس از ضد عفونی با محلول نمک و آبکشی، آبگیری شده و تحت هوادهی مناسب قرار گرفتند. این ماهیان به منظور آدآپتاسیون یک هفته قبل از انجام آزمایش به مخازن منتقل شدند در طی این مدت از هوادهی مناسب و تعویض یک سوم آب روزانه برخوردار بودند و روزانه با غذای تجاری تغذیه می شدند. لازم به ذکر است تغذیه ماهی‌ها ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایشها و در مدت تحت نظر قرار گرفتن آنها پس از آزمایشها، برای مشخص شدن بهتر اثرات ماده بیهوشی و شرایط کیفی آب بر روند بیهوشی و بازگشت از آن، متوقف می شد. در کلیه آزمایشها از روش غوطه- ورسازی ماهی در محلول بیهوشی استفاده شد. قبل از انجام هر یک از آزمایشها، ماهی‌ها به تعداد مورد نیاز از استخرها منتقل و با تراکمی مناسب در ظرف‌های حاوی ۱۰ لیتر آب با هوادهی خوب، داخل آزمایشگاه قرار داده می شدند. در هر یک از آزمایشها زمان از دست دادن تعادل ماهی‌ها، زمان ایجاد بیهوشی پس از انتقال ماهی از محل نگهداری به ظرف حاوی محلول بیهوشی، زمان بازگشت تعادل، پس از انتقال ماهی از ظرف حاوی محلول بیهوشی به آکواریوم و زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی با یک یک کورنومتر و در حد ثانیه اندازه‌گیری شد. کل زمان تأثیر محاسبه شده ۶۰۰ ثانیه و تعداد ماهی در هر آزمایش ۵ قطعه بوده است.

۳- نتایج

در این تحقیق برای هر ترکیب اولین و دومین دزی که ماهی نسبت به آن واکنش مناسب نشان داد به عنوان بهترین دز در نظر گرفته شد و نتایج بر اساس جداول ۱ و ۲ تعریف گردیدند.

جدول ۱- مراحل بیهوشی در ماهیان (Brown, 1992)

مرحله	سطح	تقسیم بندی	واکنش رفتاری ماهی
۰	-	طبیعی	شنای فعال، واکنش به محرک خارجی، تعادل طبیعی، انقباض ماهیچه‌ای طبیعی
۱	۱	آرامش سبک	شنا به صورت ارادی، فقدان جزئی واکنش به محرک بینایی و لمسی، میزان تنفس طبیعی، تعادل طبیعی، انقباض ماهیچه‌ای طبیعی
۱	۲	آرامش عمیق	توقف شنای ارادی، فقدان کامل واکنش به محرک بینایی و لمسی، اندکی کاهش در میزان تنفس، تعادل طبیعی، انقباض ماهیچه‌ای قدری کاهش یافته
۲	۱	خواب سبک	ممکن است همراه با هیجان باشد، افزایش میزان تنفس، عدم تعادل، کوشش برای مستقیم نگاه داشتن خود، کاهش انقباض ماهیچه‌ای
۲	۲	خواب عمیق	کاهش میزان تنفس تا حد طبیعی، فقدان کامل تعادل، کوشش برای راست نگاه داشتن خود نمی‌کند، کاهش انقباض ماهیچه‌ای، واکنش نسبت به لمس زیاد، مناسب برای نمونه برداری خارجی و بافت برداری از باله‌ها و آبشش
۳	۱	بیهوشی سبک	فقدان کامل انقباض ماهیچه‌ای، واکنش به فشار زیاد، کاهش تعداد تنفس، مناسب

برای اعمال جراحی جزئی			
فقدان کامل واکنش، میزان تنفس خیلی کم، ضربان قلب کند	بی‌هوشی	۲	۳
	عمیق (جراحی)		
فقدان کامل حرکت آبشش‌ها و چند دقیقه پس از آن ایست قلبی	توقف فعالیت	-	۴
	بصل‌النخاع		

جدول ۲- : مراحل بازگشت از بی‌هوشی در ماهیان (keene et al., 1998)

واکنش ماهی	مرحله
بازگشت حرکت سرپوش آبششی	۱
بازگشت مختصر تعادل و حرکات شنایی	۲
بازگشت کامل تعادل	۳
بازگشت واکنش فرار از محرک‌های خارجی (ولی هنوز پاسخ‌های رفتاری غیر حساس اند)	۴

بالاترین زمان تأثیر در سطح یک از مراحل بی‌هوشی مربوط به اسانس از گیاه لرگ در دز ۱۰۰۰ ppm و کمترین زمان آن مربوط به عصاره متانولی گیاه لرگ در دز ۲۰۰ ppm می‌باشد. بالاترین زمان تأثیر در سطح دو از مراحل بی‌هوشی مربوط به عصاره اتانولی از گیاه لرگ در دز ۱۰۰ ppm و کمترین زمان آن مربوط به عصاره متانولی گیاه لرگ در دز ۲۰۰ ppm می‌باشد. بالاترین زمان تأثیر در سطح سه از مراحل بی‌هوشی مربوط به عصاره متانولی از گیاه لرگ در دز ۱۰۰ ppm و کمترین زمان آن مربوط به عصاره متانولی گیاه لرگ در دز ۲۰۰ ppm می‌باشد. بالاترین زمان تأثیر در سطح چهار از مراحل بی‌هوشی مربوط به عصاره متانولی از گیاه لرگ در دز ۱۰۰ ppm و کمترین زمان آن مربوط به عصاره متانولی گیاه لرگ در دز ۲۰۰ ppm می‌باشد.

کمترین زمان واکنش به محرک خارجی در مراحل بازگشت از بی‌هوشی مربوط به عصاره اتانولی در دز ۱۰۰ ppm و بیشترین زمان آن مربوط به عصاره متانولی در دز ۲۰۰ ppm می‌باشد. کمترین زمان بازگشت تعادل در مراحل بازگشت از بی‌هوشی مربوط به عصاره متانولی در دز ۱۰۰ ppm و بیشترین زمان آن مربوط به عصاره متانولی در دز ۲۰۰ ppm می‌باشد. کمترین زمان از دست دادن تعادل در مراحل بازگشت از بی‌هوشی مربوط به عصاره متانولی در دز ۲۰۰ ppm و بیشترین زمان آن مربوط به عصاره متانولی در دز ۱۰۰ ppm می‌باشد. بیشترین زمان ایجاد بی‌هوشی در مراحل بازگشت از بی‌هوشی مربوط به عصاره اتانولی در دز ۱۰۰ ppm و کمترین زمان آن مربوط به عصاره متانولی در دز ۲۰۰ ppm می‌باشد. طی مجموع آزمایش‌های انجام شده مشخص شد که بالاترین سطح بی‌هوشی متعلق به عصاره متانولی می‌باشد و هرچه زمان بی‌هوشی افزایش یابد سرعت بازگشت از بی‌هوشی کاهش پیدا

می‌کند.

۴- بحث و نتیجه‌گیری

مواد شیمیایی بیهوش‌کننده در صنعت پرورش ماهی دارای کاربردهای فراوانی است از جمله می‌توان به گرفتن، معاینه، حمل و نقل، تکثیر مصنوعی (تخم‌کشی و اسپرم‌کشی)، خون‌گیری، درمان موضعی و تزریقی، کاشت و تزریق هورمون‌ها، واکسیناسیون، جراحی و بیویسی از پوست، باله‌ها و آبشش‌ها اشاره نمود (Brown, 1992; Munday & Wilson, 1997). بدین طریق که عامل بیهوش-کننده منجر به کاهش فعالیت‌های فیزیولوژیکی و نهایتاً کاهش استرس وارده و جلوگیری از بروز بیماریها و تلفات بعدی به ویژه در اثر عوامل ثانویه می‌شود (Keene et al., 1998).

گیاه لرگ در شمال ایران منابع فراوان و قابل دسترسی دارد و از سال‌ها قبل مردم بومی شمال ایران مخصوصاً مازندران به جهت صید ماهیان رودخانه‌ای و آبگیرهای کوچک از گیاهی به نام لرگ استفاده می‌نمودند (شیخ‌الاسلامی و احمدی، ۱۳۸۶؛ کامل، ۱۳۸۱).

در راستای بهره‌برداری از این گیاه، عصاره‌های مختلف و اسانس گیاه لرگ تهیه و در ماهیان کپور معمولی ۸۰-۱۰۰ گرمی مورد آزمایش قرار گرفت که نتایج قابل توجهی بدست آمد.

بعد از انجام آزمایش‌های مقدماتی مشخص شد که عصاره آبی گیاه لرگ هیچ گونه تأثیری بر روی بیهوشی و یا بی‌حسی ماهی ندارد همچنان که قیومی هم در سال ۱۳۷۹ به نتایج مشابهی برای تأثیر عصاره آبی میخک در بچه ماهیان کپور معمولی بدست آورد که حتی در دز ۲۰۰۰ ppm هم نتیجه‌ای در بر نداشت که احتمال می‌رود در این عصاره‌ها بی‌تأثیر بودن به علت از دست دادن ترکیبات فنلی و یا ماده مؤثره گیاه طی مراحل عصاره‌گیری باشد.

در دز ۱۰۰ ppm عصاره‌های اتانولی ماهیان وارد مرحله توقف شنای ارادی، فقدان کامل واکنش به محرک بینایی و لمسی، اندکی کاهش در میزان تنفس، تعادل طبیعی و کاهش انقباض ماهیچه‌ای شدند و در همین سطح باقی ماندند و در این سطح بیهوشی با افزایش غلظت داروی بیهوشی تغییری در سطح بیهوشی مشاهده نشد در صورتی که کاهش زمان رسیدن به این سطح بیهوشی تا دز ۲۰۰ ppm مشاهده شد و بعد از آن با افزایش غلظت ماده بیهوشی کاهش در زمان رسیدن مرحله توقف شنای ارادی، فقدان کامل واکنش به محرک بینایی و لمسی، اندکی کاهش در میزان تنفس، تعادل طبیعی و کاهش انقباض ماهیچه‌ای بیهوشی مشاهده نشد لذا بهترین دزها ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm تعیین گردید.

عصاره متانولی در مقایسه با عصاره‌های اتانولی گیاه لرگ سطوح بیهوشی بالاتری را ایجاد کرد بدین معنی که کاهش میزان تنفس تا حد طبیعی، فقدان کامل تعادل، عدم کوشش برای راست نگه-داشتن خود، کاهش انقباض ماهیچه‌ای، واکنش نسبت به لمس زیاد را از خود نشان دادند که مناسب

برای نمونه برداری خارجی و بافت برداری از باله‌ها و آبشش می‌باشد که در همین سطح باقی ماندند و در این سطح با افزایش غلظت داروی بیهوشی تغییری در سطح بیهوشی مشاهده نشد. اسانس گیاه لرگ در مقایسه با عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاه لرگ سطح خیلی پایین‌تری از بیهوشی را از خود نشان داد. این در حالی بود که در آزمایشات (قیومی، ۱۳۷۹) بالاترین سطح بیهوشی مربوط به اسانس گل میخک بود که به عنوان بهترین ترکیب معرفی گردید.

زمان بازگشت از تأثیر عامل بیهوشی و واکنش به محرک خارجی در اسانس گیاه لرگ بسیار پایین‌تر از اسانس میخک مشاهده شد که عامل بسیار مهمی در تعیین یک داروی بیهوشی مناسب می‌باشد (احمدی، ۱۳۸۵) نتایج مشابهی با (قیومی، ۱۳۸۵) در استفاده از اسانس گل میخک بدست آورد ولی در خصوص گیاه لرگ این امر صادق نبود.

به طوری کلی می‌توان این گونه بیان داشت که طی آزمایشات انجام شده در این تحقیق در اسانس گیاه لرگ ماهیان شنا به صورت ارادی، فقدان جزئی واکنش به محرک بینایی و لمسی، میزان تنفس طبیعی، تعادل طبیعی، انقباض ماهیچه‌ای طبیعی را از خود نشان دادند که بهترین دز همان ۲۰۰۰ ppm می‌باشد.

در نتایج مشاهده شد عصاره آبی در دزهای مختلف هیچ تأثیری بر روی ماهی نداشت. بهترین اثر عصاره اتانولی در ماهی توقف شنای ارادی، فقدان کامل واکنش به محرک بینایی و لمسی، اندکی کاهش در میزان تنفس، تعادل طبیعی، کاهش انقباض ماهیچه‌ای در دز ۲۰۰ ppm ایجاد می‌کند. عصاره‌ای که بهترین نتایج را داد عصاره متانولی بود که حالت کاهش میزان تنفس تا حد طبیعی، فقدان کامل تعادل، عدم کوشش برای راست نگه داشتن خود، کاهش انقباض ماهیچه‌ای، واکنش نسبت به لمس زیاد ایجاد می‌کرد که مناسب برای نمونه برداری خارجی و بافت برداری از باله‌ها و آبشش می‌باشد.

منابع

۱. احمدی، م. ۱۳۸۵. استفاده از اسانس گل میخک به عنوان یک ماده بیهوشی در ماهی کپور معمولی. پایان نامه فوق لیسانس. دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهر کرد.
۲. اخلاقی، م. بروجردی، ه. ۱۳۷۸. بررسی اثر بیهوش کنندگی گل میخک در ماهی و تعیین LC_{50} آن. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۴. شماره ۲
۳. سهرابی، ر. ثاقب طالبی، خ. و ک. خادمی. ۱۳۸۷. بررسی ویژگی‌های رویشگاهی و جنگل

- شناسی یک توده استثنایی لرگ در استان لرستان. فصلنامه علمی - پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران. ج ۱۶ اش ۳.
۴. **شیخ‌الاسلامی، ع. احمدی، ت.** ۱۳۸۶. مطالعه رویشگاه گونه لرگ (*Petrocarya fraxinifolia*) در جنگل ماشلک نوشهر. پژوهش و سازندگی.
۵. **صمصام شریعت، ه.** ۱۳۸۶. عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی روش‌های شناسایی و ارزیابی آنها، انتشارات مانی اصفهان.
۶. **قیومی، ر.** ۱۳۷۹. مطالعات اثرات بیهوشی گل میخک (عصاره و اسانس) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پایان‌نامه فوق لیسانس. دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس نور.
۷. **کامل، ک.** ۱۳۸۱. اندازه‌گیری ۵- هیدروکسی ۴ و ۱ نفتوکینون (ژوگلون) در برگ و ساقه درخت لرگ به روش RP-HPLC. پایان‌نامه فوق لیسانس. دانشکده شیمی دانشگاه مازندران.
۸. **مخیر، ب.** ۱۳۷۲. بیهوشی و جراحی در تاسماهیان. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۱۴.
9. **Abdolazizi, Sh., Ghaderi, E., Naghdi, N., Bahrami Kamangar.** 2011. B. Effects of Clove Oil as An Anesthetic on Some Hematological Parameters of carassius. Acuaculture.
10. **Brown, L.A.** 1992. Anesthesia and restraint in: Fish Medicine (ed. by M.L. Stoskopf), W.B. Saunders company. USA, pp: 79-83, 818.
11. **Farahi, a.m., Kasiri, m., Sodagar, m., Soleimani Iraei.** 2011. Size-Relative Effectiveness of Clove Essence as an Anesthetic for Kutum (*Rutilus frisii kutum*). Global (Veterinaria) 2.6.
12. **Keen, J.K.; Noakes, D.L.G.; Moccia, R.D. and Soto, C.G.,** 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, Vol. 29, pp. 89-101.
13. **Munday PL & Wilson SK.** 1997. Comparative efficacy of clove oil and other

chemicals. in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis* , a coral reef fish. *Journal of Fish Biology*. 51(5):931-938.

14. **Soto,C.G. and Burhanuddin,1994.** Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbit fish (*Siganus Linaeatu*). *Aquaculture*.Vol.135,pp.149-152.

Archive of SID