

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta Rybářství a Ochrany vod

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vliv anestetik na ryby – přehledová studie

Autor: Jan Malý

Vedoucí bakalářské práce: dr hab. Josef Velíšek, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: Ing. Josef Příborský

Studijní program a obor: N4103 Zootechnika, Rybářství

Forma studia: Kombinovaná

Ročník: 3.

České Budějovice, 2016

Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma “Vliv anestetik na ryby – přehledová studie“ jsem vypracoval samostatně, pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Dále prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, případně úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby touto cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledcích obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Ve Chvalči, dne 9.5. 2016

podpis

Poděkování

Za odbornou pomoc při zpracování předkládané práce chci na tomto místě poděkovat vedoucímu bakalářské práce dr. hab. Ing. Josefu Velíškovi, Ph.D. a konzultantu bakalářské práce Ing. Josefu Příborskému.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta rybnářství a ochrany vod
Akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jan MALÝ**
Osobní číslo: **V12B046P**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Rybnářství**
Název tématu: **Vliv anestetik na ryby - přehledová studie**
Zadávací katedra: **Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Jedním z významných požadavků ochrany zdraví ryb z hlediska zdravotního stavu i podle požadavků Zákona na ochranu zvířat proti týrání č. 359/2012 Sb., kterým se mění zákon č. 246/1992 Sb., ve znění pozdějších předpisů, je zabránit nešetrné manipulaci a následnému mechanickému poškození ryb. Používání anestetik se stává běžnou součástí chovatelské praxe v akvakultuře. Anestetika se používají pro snížení manipulačního stresu při manipulaci a zákrocích na rybách při šlechtitelské práci, umělé reprodukci, odběrech krve, veterinárních zákrocích apod.

Cílem bakalářské práce je vypracovat přehledovou studii shrnující nejnovější poznatky o vlivu anestetik na ryby. Práce bude hlavně zaměřena na čtyři nejpoužívanější anestetika v evropské akvakultuře, a to hřebíčkový olej, MS 222, 2-phenoxyethanol a Propiscin.

K vypracování práce budou použity informace z dostupné literatury.

Rozsah grafických prací: 2 grafy, 1 tabulka

Rozsah pracovní zprávy: 30-35 stran

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

- Coyle S.D., Durborow R.M., Tidwell H.J., 2004. Anaesthetics in aquaculture. SRAC Publication No. 3900.
- Gomulka P., Wlasow T., Velíšek J., Svobodová Z., Chmielinska E., 2008. Effects of Eugenol and MS-222 Anaesthesia on Siberian Sturgeon *Acipenser baeri* Brandt. *Acta Veterinaria Brno* 77, 447-453.
- Kazun K., Siwicki A.K., 2001. Propiscin - a safe new anaesthetic for fish. *Archives of Polish Fisheries* 9, 183-190.
- Kolářová J., Velíšek J., Nepejchalová L., a kol., 2012. Anestetika pro ryby (aktualizované vydání z roku 2007). Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 77, 25 s.
- Kříšťan J., Stará A., Turek J., Policar T., Velíšek J., 2012. Comparison of the effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Neuroendocrinology Letter* 33(Supp.3), 66-71.
- Ross L.G., Ross B., 2008. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Oxford, Blackwell Science Ltd. 228 p.
- Velíšek J., Wlasow T., Gomulko P., Svobodová Z., Novotný L., 2007. Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis* L.). *Veterinární Medicína* 52, 103-110.
- Velíšek J., Stejskal V., Kouřil J., Svobodová Z., 2009. Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch. *Aquaculture Research* 40, 354-361.
- Velíšek J., Stará A., Li Z.H., Silovská S., Turek J., 2011. Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profile and oxidative stress biomarkers of rainbow trout. *Aquaculture* 310, 369-375.

Vedoucí bakalářské práce: dr hab. Josef Velíšek, Ph.D.

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Konzultant bakalářské práce: Ing. Josef PŘÍBORSKÝ

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání bakalářské práce: 14. února 2014

Termín odevzdání bakalářské práce: 30. dubna 2015

prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
Zátiší 726/II
389 25 Vodňany (2)

doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 14. února 2014

OBSAH

| | |
|---|----|
| 1. ÚVOD | 7 |
| 2. ANESTEZIE | 9 |
| 2.1 Fáze anestezie | 10 |
| 2.2 Vstup a vylučování anestetik | 13 |
| 2.3 Požadavky na moderní anestetikum | 14 |
| 2.4 Zásady při provádění anestezie | 15 |
| 3. ANESTETIKA POUŽÍVANÁ V AKVAKULTUŘE | 17 |
| 3.1 AQUI-S | 18 |
| 3.2 Benzokain | 22 |
| 3.3 Etomidat | 22 |
| 3.4 Hřebíčkový olej | 24 |
| 3.5 Metomidat | 29 |
| 3.6 MS-222 | 31 |
| 3.7 Oxid uhličitý | 36 |
| 3.8 2-phenoxyethanol | 38 |
| 3.9 Propanidid POLFA | 42 |
| 3.10 Propiscin | 43 |
| 3.11 Propoxat | 46 |
| 3.12 Quinaldin | 49 |
| 3.13 Nechemické metody | 51 |
| 3.13.1 Elektronarkóza | 51 |
| 3.13.2 Hypothermie | 51 |
| 4. ZÁVĚR | 53 |
| 5. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY | 54 |
| 6. ABSTRAKT | 69 |
| 7. ABSTRACT | 70 |

1. ÚVOD

Ryby představují největší a také nejvýznamnější skupinu obratlovců žijících ve vodním prostředí. Jsou zde konečným článkem potravního řetězce a současně hospodářsky významnými vodními organismy. Snad právě proto je prvořadá pozornost vodní toxikologie věnována rybám (Svobodová a kol., 1987).

Rybářství je významnou součástí akvakultury, tj. cílevědomé produkce rostlinných a živočišných organismů ve vodním prostředí. Česká republika patří mezi významné producenty sladkovodních ryb v Evropském regionu, a proto i zde dochází k převratným technologickým změnám, jako je umělý výtěr, genetický výzkum a zavedení používání nových anestetik do akvakultury (Kolářová a kol., 2012; Zahl a kol., 2012).

Rybářství je jednou ze specializovaných složek živočišné výroby zemědělství, zaměřené na různě intenzivní využívání přirozených nebo hospodářským úsilím vytvořených zásob ryb a ostatních vodních organismů k přímé nebo nepřímé spotřebě člověkem. Sladkovodní rybářství je ve světě důležitou součástí produkce živočišných bílkovin pro výživu lidstva. Přestože v našem státě nedosahuje spotřeba rybiho masa takové výše jako v jiných zemích, je nutno jej považovat za významné, a to z důvodů dietetických a obzvláště z tradice v české kuchyni. Proto došlo v posledních desetiletích k převratným technologickým změnám a vývoji. Vyvinulo se ve vysoce organizovanou činnost. V neustále se zvyšující produkci rybiho masa se uplatňují různá intenzifikační opatření, kam patří např. chov ryb na oteplených odpadních vodách energetického průmyslu nebo neustále se rozvíjející šlechtění v oblasti produkce výkonnějších linií z hlediska rychlejšího růstu a lepší konverze potravy a především uplatnění nových vědeckých poznatků v oblasti využití a stravitelnosti krmiv. Intenzifikace výroby s sebou téměř vždy přináší řadu problémů (Hartman a kol., 2015).

Z výše uvedených důvodů vyplívají významné požadavky na ochranu zdraví ryb z hlediska jejich zdravotního stavu. Je nutné zabránit nešetrné manipulaci s rybou, a tím možnému následnému mechanickému poškození. Manipulace nejčastěji souvisí s rozšiřováním metod umělé reprodukce, selekce ryb na základě různých šlechtitelských postupů a metod, kontrolování zdravotního stavu a dalších manipulací. Intenzita mechanického poškození může být různá, od poranění slizové vrstvy až po hluboké rány ve svalovině, na ploutvích, případně může dojít až k poškození žaber. Přestože u ryb existuje velká schopnost regenerace žaber, ploutví, ale i ostatních tkání, nelze působení mechanických vlivů úplně podceňovat. Do jisté míry lze těmto problémům předcházet, ale

nelze toto nebezpečí stoprocentně vyloučit. V takovém případě nabývá na důležitosti použití anestetik u ryb při různých manipulacích, aby se zabránilo riziku poškození nebo alespoň bylo toto riziko minimalizováno. Za těchto okolností se pro naše rybářství stává zásadní nutností najít vhodná anestetika a stanovit jejich efektivní a bezpečné koncentrace pro různé druhy ryb (Kolářová a kol., 2012; Zahl a kol., 2012).

Cílem bakalářské práce bylo vypracovat přehledovou studii shrnující poznatky o vlivu anestetik na ryby. Tato práce má přinést ucelený přehled vlivu anestetik na ryby a přispět k rozšíření podkladů o používání anestetik v evropské a světové akvakultuře a ochraně zdraví ryb, tak jak požaduje Zákon na ochranu zvířat proti týrání č. 359/2012 Sb., kterým se mění zákon č. 246/1992 Sb., ve znění pozdějších předpisů.

2. ANESTEZIE

Pojem anestezie ryb je ve veterinární medicíně považován jako komplexní znecitlivění ryb, jejímž účelem je další manipulace s nimi nebo uskutečňování různých chovatelských či veterinárních zásahů. V případě použití anestezie u ryb se jedná o preventivní opatření proti mechanickému poškození a manipulačnímu stresu. Dle zákona na ochranu zvířat proti týrání (č. 246/1992 Sb., ve znění pozdějších předpisů) je nezbytné konat tak, aby nedocházelo k nešetrné manipulaci, která může následně vést k poškození ryb. Použití anestézie je doporučováno při injekční aplikaci léčiv, hormonálních přípravků, při umělém výtěru ryb, při mechanickém odstraňování parazitů, při odebírání krve, při pořizování fotografických snímků, vážení, měření ryb apod. Anestetika bývají také využívána v dávkách pro imobilizaci (znehynění) a sedaci (uklidnění) z důvodu dlouhodobé přepravy především akvarijských rybiček (Kolářová a kol., 2012; Zahl a kol., 2012; Gressler a kol., 2015). Ryby jsou snadno namáhány díky manipulaci vlivem přepravy a stresu, což může mít za následek snížení imunity, fyzického zranění nebo dokonce smrt (Shawn a kol., 2004). Díky podání anestetika dojde ke snížení reakce ryb na vnější podněty a jsou omezeny i metabolické procesy. Následkem je nižší spotřeba kyslíku a dochází k menšímu hromadění konečných produktů metabolismu. Anestetika jsou aplikována při přepravě akvarijských ryb také kvůli snížení jejich agresivity, která by mohla opět způsobit jejich poškození (Kolářová a kol., 2012; Gomuška a kol., 2015a; Gressler a kol., 2015). Faktory ovlivňující účinnost anestetik u ryb, jsou uvedeny v Tabulce č. 1.

V současnosti dochází k rychlému světovému nárůstu i technologickému pokroku v rámci akvakultury. Uvedený trend si žádá velkou preciznost při používání chemikálií a přípravků. Jednotlivé látky využívané v akvakultuře jsou striktně kontrolovány s cílem odhalit chyby a zajistit co nejlepší účinnost a použití (Taylor a Roberts, 1999; Silva a kol., 2015).

Tabulka č. 1. Faktory ovlivňující účinnost anestetika u ryb (Ross a Ross, 2008).

| Faktor | | Pravděpodobné mechanismy |
|------------|------------------------------|--|
| Biologický | Druh | • Rozdíly ve tvaru těla |
| | Kmen nebo genetická varianta | • Plocha žáber a její poměr k tělesné hmotnosti |
| | Velikost, váha | • Fyziologická variabilita |
| | Pohlaví a pohlavní zralost | • Rozdíly v enzýmech |
| | Obsah lipidů | • Změna v metabolismu |
| | Tělesná kondice | • Obsah lipidů v těle, zejména gonády |
| | Onemocnění | • Použití lipofilních léčiv |
| | Stres | • Starší a tučné ryby • Oslabená nebo vyčerpaná zvířata |
| Ekologický | Teplota | • Q_{10} |
| | pH | • pKa - účinky a ionizace molekul |
| | Salinita | • Tlumí účinky |
| | Obsah minerálních látek | • Antagonismus vápníku |

2.1. Fáze anestezie

V podmínkách České republiky je anestezie realizována zejména formou anestetické koupele. Je možné ji provést také nasprejováním žáber, v tomto případě je použit neředěný roztok anestetika. Tato metoda je užívána hlavně v zahraničí u větších ryb (Kolářová a kol., 2012).

Průběh nástupu anestezie lze rozdělit do čtyř fází (Theinpoint a Niemegeers, 1965):

- I. 1. fáze – klidové, kdy se ryba nalézá ve fyziologické poloze, její dýchací pohyby jsou pravidelné, pohybová aktivita je v normálu a při plavání nevykazuje problém s vyhnutím se překážce (obr. č. 1).



Obr. č. 1. První fáze anestezie (Foto: J. Příborský).

- II. 2. fáze – excitace, ryba se stále nachází ve fyziologické poloze, objevuje se ale u ní zvýšená aktivita, neklidné chování, rychlé plavání. Při samotném plavání se

nedokáže vyhnout překážkám, vyskytují se u ní velmi silné obranné reflexy a nepravidelné dýchací pohyby. Některé druhy ryb mají roztažená skřelová víčka a u jiných se nepravidelné dýchací pohyby projevují mělkým dýcháním (obr. č. 2).



Obr. č. 2. Druhá fáze anestezie (Foto: J. Příborský).

- III. 3a. fáze – komplexní povrchní znecitlivění, aktivita ryby se postupně snižuje, pomalu se začíná naklánět na bok, začínají mizet její obranné reflexy, kromě akustického. V případě dýchacích pohybů dochází opět k jejich zpravidlnění, jsou hluboké, klidné a zpomalují se.
- IV. 3b. fáze – celkové znecitlivění, tato fáze odpovídá narkóze, která se u savců projevuje bezvědomím, kdy jsou utlumeny vyšší mozkové funkce, a bolest není vnímána. U ryb je toto stádium označováno jako anestezie. Ryba zaujímá boční polohu, dochází ke ztrátě pohyblivosti, nemá žádné obranné reflexy, kromě akustického, dýchací pohyby jsou zpomalené, klidné, pravidelné a hluboké (obr. č. 3).



Obr. č. 3. Třetí fáze anestezie (Foto: J. Příborský).

- V. 4. fáze – se rovná zástavě dýchání, ryba leží na boku, dýchací pohyby jsou buď celkově zastaveny či pouze povrchní, až zanikající. Co se týče obranných reflexů, ty včetně akustického zcela vymizely (obr. č. 4).



Obr. č. 4. Čtvrtá fáze anestezie (Foto: J. Příborský).

Veškeré výše zmíněné fáze na sebe navazují. Při zotavování, které probíhá v opačném pořadí, nejsou přechody mezi stádii tak výrazné a stádia se navzájem prolínají. Jedná se o tyto fáze (Theinpoint a Niemegeers, 1965; Kouřil a kol., 2001):

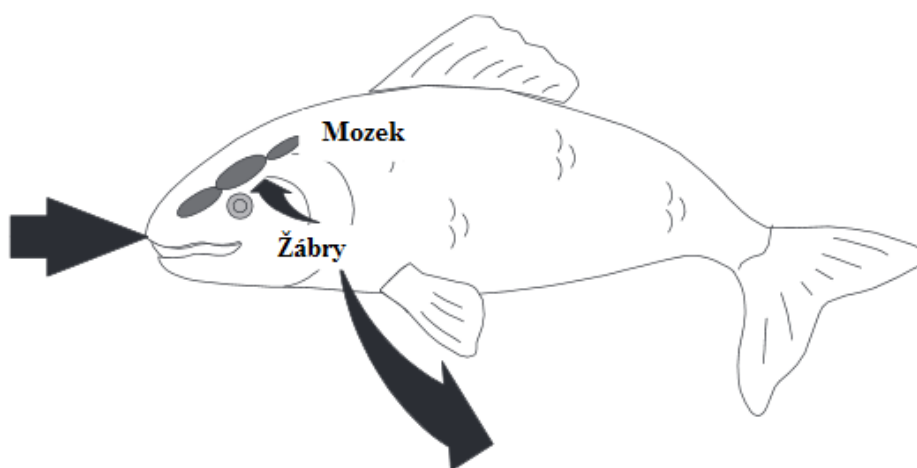
- I. 3b. fáze – ryba se nachází v boční poloze a projevuje se pravidelným dýcháním. Vykazuje ztrátu pohyblivosti a neprojevuje obranné reflexy, pouze reflex akustický.
- II. 3a. fáze – ryba mění polohu, a to z boční polohy do fyziologické polohy. Ryby nejsou schopny koordinovat vlastní pohyby. Dýchání je pravidelné.
- III. 2. fáze – ryba se nachází ve fyziologické poloze. Začíná pomalu plavat, podobně jako v předešlé fázi nedokáže kontrolovat pohyby. Není schopna se vyhýbat překážkám a při plavání do nich vráží.
- IV. 1. fáze – ryba se nachází ve fyziologické poloze. Dochází k normální pohybové aktivitě, normálnímu plavání a také k vyhýbání se překážkám při plavání.

Anestezie ryb je řízena koncentrací anestetika a také délkou anestetické koupele, a to dle požadavku, v jakém stádiu anestezie je nutné pro konkrétní manipulaci rybu mít. Při podávání anestezie je nezbytné brát v potaz věk a druh ryby, její citlivost na zvolené anestetikum a teplotu vody (Zahl a kol., 2012).

Teplotu anestetické koupele je nezbytné sledovat kvůli účinku anestetika, který většinou stoupá společně se zvyšující se teplotou vody. Příkladem je 2-phenoxyethanol a hřebíčkový olej. Při provádění anestezie se nesmí opomenout připravit nádrže, v nichž bude čistá, dobře okysličená voda, která bude mít stejnou teplotu jako koupel anestetická. Jakmile je úkon nebo manipulace na anestetizované rybě proveden, je dobré uskutečnit krátkodobou či ponořovací koupel mající desinfekční efekt, například koupel v hypermanganu (Kolářová a kol., 2012; Mitjana a kol., 2014).

2.2. Vstup a vylučování anestetik

Do těla ryb anestetika vstupují a následně jsou vylučovány především pomocí žáber (obr. č. 5) (Hunn a Allen, 1974; Houston a Woods, 1976). Daný proces je řízen prostřednictvím faktorů, které zahrnují žaberní dýchání a účinnou výměnu vzduchu (Houston a Woods, 1976). Rovněž další autoři, mezi něž patří například Locke (1969) a Ferreira a kol. (1984), popisují, že hlavní oblastí kudy vstupují a odkud se vylučují anestetika, jsou žábry ryb. Stupeň ionizace a rozpustnosti do značné míry ovlivňuje fakt, jakou rychlostí anestetika žábry projdou (Ferreira a kol., 1984).



Obr. č. 5. Cesta vstupu a vylučování anestetik u ryb (upraveno z Ross a Ross, 2008).

Jak již bylo zmíněno výše, žábry jsou sice pokládány za hlavní místo, kudy se xenobiotika dostávají do rybiho organismu, ale mohou existovat i další způsoby. Na rybách byly prováděny pokusy, které se zaměřily na stanovení absorpce anestetik, a ukázaly, že k jejich vstupu dochází nejen skrze žábry, ale také kůží. Brown a kol. (1972) objevili skutečnost, že se anestetikum quinaldin dostává do těla paúhoře elektrického (*Electrophorus electricus*) prostřednictvím žáber velice rychle, oproti tomu vstřebání kůží bylo ještě daleko rychlejší. Stejného názoru jsou také Hunn a Allen (1974), kteří taktéž potvrdili průchod anestetik kromě žaber také prostřednictvím kůže.

Podle Rosse a Rosse (1999) patří k nejpoužívanějším technikám anestezie ryb krátkodobá expozice ve vodném roztoku anestetika. Anestetikum se tak velice rychle dostává skrze žábry do okysličené krve. Odtud již vede velmi krátká cesta směřující do

CNS (centrální nervové soustavy). Jedná se o téměř obdobný mechanismus působení jako u plynných anestetik, která se aplikují suchozemským obratlovcům. Jakmile je ryba vrácena zpět do čisté vody, anestetika či jejich metabolity se poté vyměšují přes žábry a pouze v malém rozsahu je tento proces realizován prostřednictvím kůže.

Mezi hlavní činitele, jež mohou na vstup a vyloučení anestetik u ryb mít určitý vliv, patří koncentrace rozpuštěného kyslíku, teplota vody, množství nahromaděných výkalů, hladina amoniaku a ostatních látek, které se v nádrži, v níž je anestézie realizována, vyskytují (Ross a Ross, 1999).

Anestetika mohou být aplikována také prostřednictvím rozprašovače či spreje, kdy je anestetikum nastříkáno přímo na žábry velkých ryb. Tento postup je praktikován zejména kvůli faktu, že ponoření velkých ryb pod hladinu roztoku anestetika je značně nepraktické i neekonomické. Poprvé o daném postupu informovali Gilbert a Wood (1957), kteří tuto metodu použili při anestezii velkých žraloků.

Dle Rosse a Rosse (1999) existují ryby, které mohou dýchat vzdušný kyslík. Žábry těchto ryb jsou tak redukovány a využívají je jen k osmoregulačním účelům a k vyměšování. Z toho lze odvodit, že ryba na inhalaci anestetika reaguje, ale samotná absorpce je zpravidla nejistá a dlouhá. Tyto problémy se vyskytují například u úhoře říčního (*Anguilla anguilla*) nebo u keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*). Výše jmenované druhy ryb dokážou nezávazně dýchat vzduch, a jakmile jsou do roztoku anestetika vloženy, projevuje se u nich způsobilost a tendence tímto způsobem dýchat.

2.3. Požadavky na moderní anestetikum

Chemické látky a přípravky, které jsou v rybářství a akvakultuře nově uváděny, jsou podrobovány striktní kontrole, zejména vzhledem k jejich účinnosti a bezpečnosti užití, a proto jsou na ně kladeny přísné nároky (Kolářová a kol., 2012).

Marking a Meyer (1985) vytvořili seznam klíčových požadovaných vlastností, které by anestetikum, jež by bylo možné pokládat za ideální, mělo mít. Jedná se o tyto vlastnosti:

- Čas nástupu anestézie by neměl být delší než patnáct minut, nejideálnější doba je kolem tří minut.
- Rekonvalescence netrvá déle než pět minut.
- Anestetikum by v žádném případě nemělo být pro ryby toxické a mělo by mít vysoký faktor bezpečnosti.

- Lze jej lehce použít a pro člověka, nepředstavuje v průběhu používání žádné zdravotní riziko.
- Nezanechává na chování a fyziologickém stavu ryb trvalé účinky.
- Dochází k jeho rychlému vylučování nebo metabolizování, netvoří rezidua v těle a není u něj vyžadována ochranná lhůta.
- Při jeho používání nedochází k vytváření kumulativních efektů, a také při opakovaných expozicích nevznikají problémy.
- Přijatelná cena.

Marking i Meyer (1985) však připouštějí, že v současné době na trhu nejspíše neexistuje žádná látka, jež by splňovala veškeré výše uvedené parametry. Požadavky na vlastnosti anestetik se díky novým výzkumným výsledkům neustále mění. Mezi žádoucí požadavky patří zejména rychlé uvedení do narkózy, které by mělo proběhnout během tří až patnácti minut. V případě zotavování z anestézie jsou kritéria variabilnější. Například při výlovu ryb z jejich běžného prostředí, či při pokusech, u kterých je předpokládána dlouhá doba manipulace s nimi, je více žádané, aby byla doba regenerace delší. Jindy se zase očekává, že dojde k rychlému a kompletnímu zotavení. Významným aspektem je rovněž behaviorální odezva ryb na provedenou anestezii. V daném případě je obvykle požadováno klidné a rychlé navození anestézie a také zotavení z anestézie. Narkotické látky, by vedle vytvoření předpokládaných behaviorálních a fyziologických reakcí, měly být bezpečné i pro savce. Dále by měly být lehce použitelné a nemělo by díky nim docházet k mortalitě zvířete (Munday a Wilson, 1997).

2.4. Zásady při provádění anestezie

Při provádění anestezie existují obecné zásady, podle kterých je potřebné se řídit. Jedná se o tyto zásady (Brown, 1988):

- Před započítím anestezie je nezbytné provést kontrolu parametrů vody.
- Je potřebné neustále zaznamenávat jakékoliv změny kvality vody.
- Jestliže to situace dovolí, je vhodné při anestezii použít stejnou vodu, ve které byly ryby odchovány.
- Dále je důležité, aby byla pro ryby vždy připravena nádrž obsahující čistou vodu.
- Pokud to okolnosti umožňují, je žádoucí 24 hodin před anestézií vynechat krmení.

- Nejprve anestezii provést jen u několika ryb z dané skupiny, poté 12 až 24 hodin počkat, zda se nevyskytne opožděný úhyn.
- Podstatnou zásadou je neopomenutí dostatečného vzduchování.

3. ANESTETIKA POUŽÍVANÁ V AKVAKULTUŘE

Látky, jež jsou používány u ryb pro navození anestezie, jsou označovány jako anestetika. Existuje několik typů anestetik, které jsou pro aplikaci u ryb ověřeny. V případě využití anestetik u potravinových ryb je problémem hlavně jejich registrace. Hlavní smysl registrace léčiv spočívá ve zhodnocení jejich účinnosti, kvality a nezávadnosti. Při používání registrovaného léčivého přípravku je nezbytné, aby se postupovalo přesně dle přiloženého návodu, kde je jeho použití popsáno a výrobce jej garantuje (Kolářová a kol., 2012).

Registrovaný léčivý přípravek, který je pro potravinová zvířata vymezen, musí projít testy, v nichž bylo akreditovaně určeno (Kolářová a kol., 2012):

- Chemické složení léčiva a jeho stabilita.
- Vliv léčiva na cílový organismus.
- Vliv léčiva na životní prostředí.
- Přetrvávání reziduí léčiva v cílovém organismu.

Na základě přetrvávání reziduí je pro léčivo určena ochranná lhůta. Ta je odvozována od maximálního reziduálního limitu (MRL). Po dobu ochranné lhůty nelze potravinová zvířata (tedy i ryby) uvádět na trh za účelem konzumu. Zákon č. 116/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů v ustanovení §19 uvádí, že pokud se jedná o neregistrované léčivé přípravky, u nichž ochranná lhůta není specifikována, je ochranná lhůta u ryb stanovena až na 500 stupňodnů (Kolářová a kol., 2012).

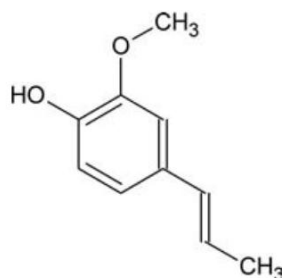
Anestetika v rybářství jsou využívána především při umělém výtěru, veterinárních zákrocích, přepravě, značkování ryb apod. Mezi anestetika, která jsou v dané oblasti využívána, patří: AQUI-S, benzokain, etomidat, hřebíčkový olej, metomidat, MS-222, oxid uhličitý, 2-phenoxyethanol, propanidid POLFA, propiscin, propoxat a quinaldin (Tabulka č. 2). V níže uvedených částech práce budou na základě dostupných vědeckých zdrojů tyto přípravky blíže popsány a budou u nich uvedeny optimální koncentrace pro anestézii a jejich vliv na jednotlivé druhy ryb.

Tabulka č. 2. Anestetika schválená pro použití v akvakultuře (Ross a Ross, 2008).

| Země | Anestetikum | Ochranná lhůta |
|----------------|-------------------------|-----------------|
| Velká Británie | MS-222 | 10 dnů |
| | Oxid uhličitý | nespecifikováno |
| USA | MS-222 | 21 dnů |
| | Oxid uhličitý | nespecifikováno |
| | Hydrogenuhličitan sodný | nespecifikováno |
| | AQUI-S | 0 dnů |
| | Led | nespecifikováno |
| | Benzokain | 21 dnů |
| Norsko | MS-222 | nespecifikováno |
| | Quinaldin sulfát | nespecifikováno |
| Nový Zéland | MS-222 | 10 dnů |
| | Benzokain | nespecifikováno |
| | AQUI-S | 0 dnů |

3.1. AQUI-S

AQUI-S ($C_{10}H_{12}O_2$) (obr. č. 6), je relativně nové anestetikum, které bylo vyvinuto v Seafood Research Laboratory na Novém Zélandu. Účinnou složkou přípravku je isoeugenol (12-methoxy-4-propenylphenol), který je velmi podobný eugenolu. Ten je obsažen v hřebíčkovém oleji. Kromě isoeugenolu obsahuje anestetikum i polysorbát 80 (polyoxyethylen sorbitan monooleát), který působí jako emulgátor. Obě tyto látky jsou používány v humánních léčivech a kosmetických přípravcích a nevyžadují ochrannou lhůtu (Shawn a kol., 2004).



Obr. č. 6. Chemická struktura AQUI-S (upraveno z Ross a Ross, 2008).

AQUI-S v dávce 20 mg.l⁻¹ je účinný pro většinu druhů ryb a indukce je popisována jako "nestresová", protože látka potlačuje zvýšení kortizolu. Anestézie AQUI-S využívána k značení a pro běžnou manipulaci nemá vliv na chování lososa čavyča (*Oncorhynchus tshawytscha*) (Caudill a kol., 2014). AQUI-S je účinným anestetikem pro sladkovodní krevety, avšak pouze při vyšších koncentracích od 100 do 200 mg.l⁻¹ (Shawn a kol., 2004). V tabulce č. 3 jsou uvedeny účinné koncentrace AQUI-S pro anestézii vybraných druhů ryb.

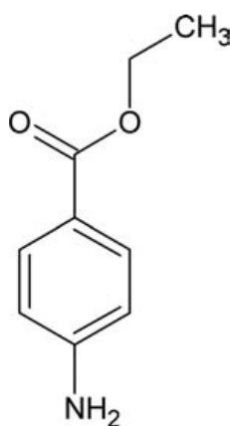
Tabulka č. 3. Doporučené dávky přípravku AQUI-S pro anestézii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (mg.l ⁻¹) | Literatura |
|---|-----------------------------------|---------------------------|
| Úhoř australský (<i>Anguilla australis</i>) | 17 - 35 | Shawn a kol. (2004) |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | 10 | Raidal a kol. (2006) |
| Sumeček tečkovaný (<i>Ictalurus punctatus</i>) | 20 - 60 | Small a Chatakondi (2005) |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 40 | Wagner a kol. (2002) |
| Losos čavyča (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>) | 60 | Hill a Forster (2004) |
| | 120 | Rothwell a kol. (2005) |
| Mořan zlatý (<i>Sparus aurata</i>) | 120 | Rothwell a kol. (2005) |
| Candát severoamerický (<i>Sander vitreus</i>) | 20 | Stehly a Gingerich (1998) |
| Okoun žlutý (<i>Perca flavescens</i>) | 20 - 35 | |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 25 | |
| Sumeček tečkovaný (<i>Ictalurus punctatus</i>) | | |
| Siven obrovský (<i>Salvelinus namaycush</i>) | | |
| Slunečnice velkoploutvá (<i>Lepomis macrochirus</i>) | | |

V současné době je přípravek AQUI-S schválen pro použití v rybím průmyslu v Austrálii a na Novém Zélandu, a to bez ochranné lhůty (Ross a Ross, 2008).

3.2. Benzokain

Benzokain, nebo také ethyl-aminobenzoáte (obr. č. 7), jehož molekulární vzorec je $C_9H_{11}NO_2$, je bílá krystalická látka, jež je svým složením podobná MS-222 (Ross a Ross, 2008). Nutno zdůraznit, že benzokain je téměř zcela nerozpustný ve vodě, a proto se musí nejprve rozpustit v etanolu či acetonu. Standardním postupem je připravit si zásobní roztok etanolu či acetonu (zpravidla 100 g.l^{-1}). Takový roztok vydrží déle než jeden rok, pokud je uzavřen v tmavé láhvi na tmavém místě. Benzokain je neutrální (pH 7), což je jeho velkou výhodou. Způsobuje totiž mnohem menší hyperaktivitu a počáteční stresovou zátěž, než například MS-222 (Ross a Ross, 2008).



Obr. č. 7. Chemická struktura benzokainu (upraveno z Ross a Ross, 2008).

Benzokain je účinný v dávkách $25 - 200 \text{ mg.l}^{-1}$ (tab. č. 4). Umístění ryb v nádrži s tímto roztokem není bezpečné v délce překračující 15 minut. Jeho účinnost není ovlivněna tvrdostí vody či jejím pH. Podobně jako u MS-222, je tato látka rozpustná v tucích a jeho expozice může působit déle u starších ryb či ryb s větším obsahem tuku (Shawn a kol., 2004; Santos a kol., 2015). Uvedená látka se nesmí v USA používat u ryb, které jsou určeny ke konzumaci (Shawn a kol., 2004).

Studie Readman a kol. (2013) uvádí, že anestézie benzokainu v dávce 50 mg.l^{-1} způsobuje změny chování dávná pruhovaného (*Danio rerio*), a doporučují benzokain nepoužívat pro anestézii ryb.

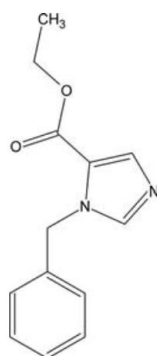
Tabulka č. 4. Doporučené dávky přípravku benzokain pro anestezii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (mg.l ⁻¹) | Literatura |
|---|-----------------------------------|-------------------------|
| Brykon hlavatý (<i>Brycon cephalus</i>) | 60 | Inoue a kol. (2002) |
| Keříčkovec žabí (<i>Clarias batrachus</i>) | 100 (+) | Ross a Geddes (1979) |
| Piraňa rostlinožravá (<i>Colossoma macropomum</i>) | 100 - 150 | Gomes a kol. (2001) |
| Štika obecná (<i>Esox lucius</i>) | 100 - 200 | Webster (1983) |
| Treska obecná (<i>Gadus morhua</i>) | 40 | Ross a Ross (1984) |
| | 40 | Mattson a Riple (1989) |
| Mořčák pruhovaný (<i>Morone saxatilis</i>) | 55 - 80 | Gilderhus a kol. (1991) |
| | 55 - 100 | Lemm (1993) |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 30 - 50 | Oswald (1978) |
| Losos čavyča (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>) | 25 - 30 | Gilderhus (1990) |
| Treska tmavá (<i>Pollachius virens</i>) | 40 | Ross a Ross (1984) |
| Prochilodus čárkovaný (<i>Prochilodus lineatus</i>) | 100 - 200 | Parma-de-Croux (1990) |
| Pstruh obecný (<i>Salmo trutta</i>) | 40 | Oswald (1978) |
| Mořan zlatý (<i>Sparus auratus</i>) | 37 | Bressler a Ron (2004) |
| Mořan žlutoploutvý (<i>Sparus sarba</i>) | 50 | Hseu a kol. (1998) |
| Tilápie sp. | 100 | Ross a Geddes (1979) |
| Králíčkovec rudomořský (<i>Siganus rivulatus</i>) | 65 | Santos a kol. (2015) |

Benzokain není toxický pro člověka v koncentracích používaných pro anestezii ryb. Tento přípravek je široce využíván v humánní medicíně (Ross a Ross, 2008).

3.3. Etomidat

Etomidat ($C_{14}H_{16}N_2O_2$) (obr. č. 8) je další anestetikum, které lze využít u ryb. Je obdobou propoxatu, jenž je blíže specifikován v níže uvedené kapitole č. 3.11. Jedná se o efektivní nebarbiturátové hypnotikum mající krátký čas působení. Daný přípravek je lehce rozpustný, žádným způsobem neovlivňuje pH vody a je zcela bez zápachu (Svoboda a Kolářová, 1999; Ross a Ross, 2008).



Obr. č. 8. Chemická struktura etomidatu (upraveno z Ross a Ross, 2008).

Etomidat je dle Plumba a kol. (1983) bezpečným a účinným anestetikem pro různorodé rybí druhy. Co se týče znehybnění, je podle Donalda a kol. (1982) daleko efektivnější než quinaldin, propoxat a MS-222. Jak uvádí Limsuwan a kol. (1983), anestetické fáze jsou srovnatelné s MS-222, kdy dochází k rychlému nástupu anestezie a ta přetrvává delší časový interval.

Účinné koncentrace etomidatu byly u čtyř odlišných druhů akvariálních ryb a to platy skvrnité (*Xiphophorus maculatus*), tetry černé (*Gymnocorymbus ternetzi*), skaláry amazonské (*Pterophyllum scalare*) a dánia pruhovaného stanoveny Donaldem a kol. (1982). Účinné minimální koncentrace pro tyto druhy se pohybují v rozsahu od 2 mg.l⁻¹ do 4 mg.l⁻¹ etomidatu. Maximální bezpečné koncentrace pro tyto druhy byly stanoveny v rozmezí od 7 mg.l⁻¹ do 20 mg.l⁻¹ etomidatu. Jestliže byla aplikována koncentrace 4 mg.l⁻¹, pak anestezie nastala v průměru za 1,5 minuty a během 40 minut odezněla. Je však potřebné si uvědomit, že mezi odlišnými rybími druhy existuje určitá variabilita, což znamená, že pro každý druh ryby je nezbytné hledat tu nejvhodnější koncentraci. V tabulce č. 5, jsou shrnuty optimální doporučené dávky etomidátu pro anestézii vybraných druhů ryb.

Tabulka č. 5. Doporučené dávky přípravku etomidát pro anestezii vybraných druhů ryb.

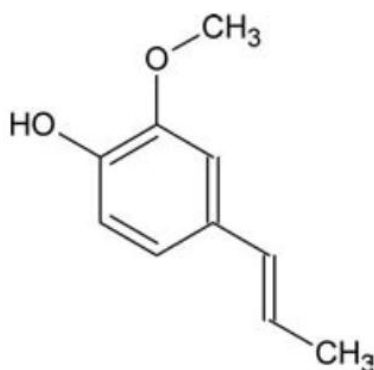
| Druh ryby | Koncentrace | | Literatura |
|---|-----------------------|-----------------------|--------------------------|
| | (mg.l ⁻¹) | (ml.l ⁻¹) | |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | - | 1 - 2 | Hajek a Klyszejko (2004) |
| Dánio pruhované (<i>Danio rerio</i>) | 2 - 20 | - | Amend a kol. (1982) |
| Tetra černá (<i>Gymnocorymbus ternetzi</i>) | | | |
| Skalára amazonská (<i>Pterophyllum scalare</i>) | | | |
| Plata skvrnitá (<i>Xiphophorus maculatus</i>) | | | |
| Sumeček tečkovaný (<i>Ictalurus punctatus</i>) | 3 | - | Limuswan a kol. (1983) |
| | 0,8 - 1,2 | - | Plumb a kol. (1983) |
| Morčák pruhovaný (<i>Morone saxatilis</i>) | 0,8 - 1,2 | - | |
| Jeleček zlatý (<i>Notemigonus crysoleucas</i>) | 0,8 - 1,2 | - | |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | - | 2 | Kazun a Siwicki (2001) |
| Bubeník americký (<i>Sciaenops ocellatus</i>) | 0,4 - 1,8 | | Falls a kol. (1988) |

Anestezie etomidátem může u některých druhů ryb vyvolávat změny v hematologickém profilu. Etomidát v koncentraci 0,3 a 0,6 ml.l⁻¹ způsobil zvýšení koncentrace hemoglobin erytrocytu u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) jednu hodinu po anestézii a jeden týden po anestézii bylo u kaprů zjištěno zvýšení počtu červených krvinek, monocytů a lyfocytů (Witeska a kol., 2015). Anestezie etomidátem v dávce 1 mg.l⁻¹ nezpůsobuje změny chování dánia pruhovaného (Readman a kol., 2013).

V současné době toto anestetikum není v akvakultuře často používáno, ale je velice hojně využíváno v humánní medicíně, kde se používá jako nitrožilní celkové anestetikum s velmi krátkou dobou účinku pro krátké výkony nebo jako úvod do anestezie. Toto anestetikum se nesmí používat u lidí, kteří jsou přecitlivělí na jakoukoliv jeho složku (Ross and Ross, 2008).

3.4. Hřebíčkový olej

První zmínku o hřebíčkovém oleji lze nalézt již ve starověku, kde byl využíván jako slabé anestetikum. Účinnost daného anestetika je velmi dobře známá i v zubním lékařství (Ross a Ross, 1999; Taylor a Roberts, 1999). Autoři Nagababu a Lakshmaiah (1992) také hovoří o jeho možném využití v humánní medicíně. Hřebíčkový olej používají, jako místní anestetikum proti bolestem kloubů, zubů a hlavy lidé v Indonézii již několik století. Jedná se o tmavě hnědou kapalinu, která je získávána díky destilaci listů, květů a stonků hřebíčkovce kořeného (*Syzygium aromaticum*) (Sota a Burhanuddina (1995). Další autoři, mezi něž patří například Isaacs (1983), Keene a kol. (1998) a Briozzo a kol. (1989) popisují, že původ hřebíčkového oleje je z pupkat a listů stromu, který se nazývá *Eugenia caryophyllata*. Aktivní složkou tohoto stromu je eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$, obr. č. 9), jenž představuje celkem 70 až 90 % hmotnosti hřebíčkového oleje.



Obr. č. 9. Chemická struktura hřebíčkového oleje (upraveno z Ross a Ross, 2008).

V případě eugenolu jde o nemutagenní a nekarcinogenní látku (Nagababu a Lakshmaiah, 1992). Hlavní předností daného anestetika je jeho přírodní původ, avšak tato přednost je zároveň i jeho nevýhodou, neboť u jednotlivých šarží se liší jeho složení. Z eugenolu lze syntetizovat isoeugenol, který je také využíván jako anestetikum pro ryby (Simitzis a kol., 2014). V současnosti lze dané anestetikum získat jen na předpis, který vydá veterinární lékař. Ten však na sebe bere veškerou zodpovědnost a je nezbytné, aby byla dodržena maximální ochranná lhůta, tedy 500 stupňodnů. Veterinář a chovatel jsou odpovědní za to, aby byla ochranná lhůta dodržena (Kolářová a kol., 2012).

Dávkování hřebíčkového oleje

Existuje velké množství příkladů, kdy se dá hřebíčkový olej použít jako anestetikum pro ryby a teplokrevná zvířata (Endo a kol., 1972). Hřebíčkový olej je totiž poměrně levné, lehce dostupné a co se týče škodlivého vlivu nejen na rybu, ale také na okolní prostředí, poměrně bezpečné anestetikum. Jeho nevýhodou je však citlivost na světlo, což může činit v některých případech problémy (Pirhonen a Schreck, 2003).

Soto a Burhanuddin (1995) popsali možnost použití hřebíčkového oleje jako anestetika při převozu králíčkovce pruhovaného (*Siganus lineatus*). U ryb byla při koncentraci 10 mg.l⁻¹ zaznamenána zejména ztráta rovnováhy, která přetrvávala 12 hodin. Při zvýšené koncentraci 15 mg.l⁻¹ se objevila úplná ztráta vědomí, jež trvala dále než 20 hodin.

Tamaru a kol. (1996) se zmiňují o tom, že indonéský hřebíčkový olej lze použít jako anestetikum v případě králíčkovce stříbřitého (*Siganus argenteus*). S rybami, u nichž byla použita koncentrace 25 mg.l⁻¹, se dalo bez větších problémů při vážení a měření délky manipulovat. Při dané koncentraci bylo u ryb možné realizovat také biopsii gonád. Ke ztrátě rovnováhy došlo v nejnižších testovaných koncentracích do tří minut. Rovněž zotavení bylo velmi rychlé, proběhlo za méně než pět minut a to ve všech testovaných koncentracích. V průběhu výzkumu, který probíhal dva měsíce, se neobjevily žádné účinky, jež by negativně působily na ryby a nebyl pozorován ani úhyn ryb.

Další srovnání bylo realizováno Mundayem a Wilsonem (1997), kteří porovnávali účinnost hřebíčkového oleje při anestezii s MS-222, benzokainem, 2-phenoxyethanolem a quinaldinem. Zkoumaným objektem se stal sapín tečkovaný (*Pomacentrus amboinensis*). Ukázalo se, že na rozdíl od quinaldinu, je uvedení do anestezie s využitím hřebíčkového oleje daleko klidnější. Při aplikaci hřebíčkového oleje ryby potřebovaly pro zotavení dvakrát až třikrát delší čas, než u quinaldinu.

Všeobecně doporučovaná dávka hřebíčkového oleje pro anestezii představuje 30-40 mg.l⁻¹. Nástup anestezie se dostaví během 5 až 10 minut, pro zotavení ryby je potřebný delší čas, než je tomu v případě jiných anestetik (Kolářová a kol., 2012). V tabulce č. 6 jsou shrnuty optimální doporučené dávky hřebíčkového oleje pro anestezii vybraných druhů ryb. Pokud se hřebíčkový olej srovná s 2-phenoxyethanolem, pak lze konstatovat, že hřebíčkový olej je za shodných podmínek a v totožné koncentraci efektivnější, než je tomu u druhého jmenovaného přípravku.

Tabulka č. 6a. Doporučené dávky přípravku hřebíčkového oleje pro anestezii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (mg.l ⁻¹) | Literatura |
|--|-----------------------------------|----------------------------|
| Úhoř Reinhardtův (<i>Anguilla reinhardtii</i>) | 2 - 120 | Walsh a Pease (2002) |
| Karas zlatý (<i>Carassius carassius</i>) | 15,5 - 100 | Endo a kol. (1972) |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | | |
| Medaka japonská (<i>Oryzias latipes</i>) | | |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | | |
| Kanic proužkovaný (<i>Centropristis striata</i>) | 15 - 40 | King a kol. (2005) |
| Piraňa rostlinožravá (<i>Colossoma macropomum</i>) | 65 - 100 | Roubach a kol. (2005) |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | 25 - 100 | Hisake a kol. (1986) |
| Mořčák evropský (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | 40 | Mylonas a kol. (2005) |
| Mořan zlatý (<i>Sparus aurata</i>) | | |
| Sumeček tečkovaný (<i>Ictalurus punctatus</i>) | 100 | Waterstrat (1999) |
| | 100 | Small (2003) |
| Cípal zlatoskvřinný (<i>Liza parsia</i>) | 80 | Sonawane a Kulkarni (2001) |
| Losos čavyča (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>) | 20 | Cho a Heath (2000) |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 40 - 60 | Keene a kol. (1998) |
| | 30 | Prince a Powel (2000) |
| | 25 - 100 | Woolsey a kol. (2004) |
| Střevle červenobřichá (<i>Phoxinus erythrogaster</i>) | 40 - 60 | Detar a Matingly (2004) |
| Pstruh duhový (<i>Salmo gairdneri</i>) | 30 | Prince a Powel (2000) |
| Metynis vysokoploutvý (<i>Metynnis schreitmulleri</i>) | 80 | Vartak a kol. (2002) |
| Mečovka zelená (<i>Xiphophorus helleri</i>) | | |
| Čichavec perleťový (<i>Trichogaster leeri</i>) | | |
| Okounek černý (<i>Micropterus dolomieu</i>) | 60 | Peake (1998) |
| Jeseter jezerní (<i>Acipenser fulvescens</i>) | | |
| Štika obecná (<i>Esox lucius</i>) | | |
| Candát severoamerický (<i>Stizostedion vitreus</i>) | | |

Tabulka č. 2b. Doporučené dávky přípravku hřebíčkového oleje pro anestezii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (mg.l ⁻¹) | Literatura |
|---|-----------------------------------|----------------------------|
| Kranas Dumerilův (<i>Seriola dumerili</i>) | 40 | Garcia-Gomez a kol. (2002) |
| Mořčák evropský (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | | |
| Mořan zlatý (<i>Sparus aurata</i>) | | |
| Zubatec obecný (<i>Dentex dentex</i>) | | |
| Králíčkovec stříbřitý (<i>Siganus argenteus</i>) | 25 | Tamaru a kol. (1996) |
| Cípal hlavatý (<i>Mugil cephalus</i>) | | |
| Chanos stříbřitý (<i>Chanos chanos</i>) | | |
| Králíčkovec pruhovaný (<i>Siganus lineatus</i>) | 100 | Soto (1995) |
| Králíčkovec rudomořský (<i>Siganus rivulatus</i>) | 70 | Santos a kol. (2015) |
| Pangas spodnooký (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>) | 170 | Hoseini a kol. (2015) |
| Tlamoun nilský (<i>Oreochromis niloticus</i>) | 150 - 175 | Ribeiro a kol. (2015) |

Vliv hřebíčkového oleje na fyziologii ryb

Mnohé studie potvrdily, že anestezie hřebíčkovým olejem může u některých druhů ryb vyvolávat změny v hematologických a biochemických ukazatelích (Tabulka č. 7). Kolářová a kol. (2012) uvádí, že změny, jež byly u biochemických parametrů krve zaznamenány, jsou důkazem stresového a hepatotoxického účinku uskutečněné anestetické koupele a jsou převážně reverzibilní povahy.

Hřebíčkový olej také způsobuje histopatologické změny v tkáních ryb. Anestéziie hřebíčkovým olejem (40 mg.l⁻¹) způsobila ektázie na žaberních lístcích sumce velkého (*Silurus glanis*), tyto změny už nebyly prokázány 24 hodin po anestézii (Velíšek a kol., 2006), a kapra obecného (Velíšek a kol., 2005b). Stejně poškození žaberních lístků jako u sumce bylo prokázáno i u pstruha duhového 24 hodin po anestézii pomocí hřebíčkového oleje (Velíšek a kol., 2005a).

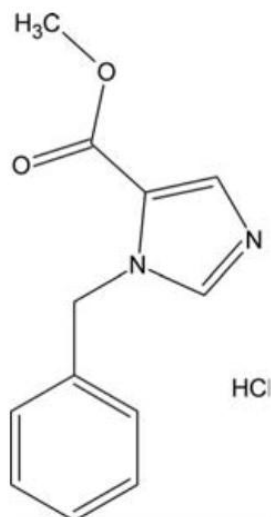
Tabulka č. 7. Vliv hřebíčkového oleje na fyziologii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (mg.l ⁻¹) | Pozorované změny | Literatura |
|---|-----------------------------------|--|------------------------------------|
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 30 | ↓ AST ↑GLU, NH ₃ (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2005a) |
| | | ↓ AST (24 hod. po anestézii) | |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | 30 | ↑GLU, PHOS (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2005b) |
| Candát obecný (<i>Sander lucioperca</i>) | 33 | ↑GLU (ihned po anestezii) | Kříšťan a kol. (2012) |
| | | ↓ TRIG, NH ₃ (24 hod. po anestézii) | |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 30 | ↓ AST, NH ₃ , LACT ↑GLU, (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2011) |
| | | ↓ LACT (24 hod. po anestézii) | |
| Sumec velký (<i>Silurus glanis</i>) | 30 | ↓ MCHC ↑TRIG, ALT (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2006) |
| | | ↓ Leuko (24 hod. po anestézii) | |
| Jeseter sibiřský (<i>Acipenser baerii</i>) | 75 | ↓ RBC, Ca, NH ₃ , ALP ↑ MCV, MCH, TP, GLOB, TRIG (ihned po anestezii) | Gomulka a kol. (2008) |
| | | ↓ Leuko, Ca, NH ₃ , ALP ↑ TP, GLOB, TRIG, ALT (24 hod. po anestézii) | |
| Podoustev říční (<i>Vimba vimba</i>) | 33 | Žádné změny v hematologickém a biochemickém profilu | Lepič a kol. (2014) |
| Parma obecná (<i>Barbus barbus</i>) | 33 | Žádné změny v hematologickém a biochemickém profilu | Příborský a kol. (2015) |
| Okoun říční (<i>Perca fluviatilis</i>) | 33 | ↑ GLU (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2009) |
| | | ↓ LDH ↑ GLU (24 hod. po anestézii) | |
| Anténovec pruhovaný (<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>) | 100 | ↓ MCV (24 hod. po anestézii) | Sanchez a kol. (2014) |
| Vyza velká (<i>Huso huso</i>) | 30 a 70 | ↑ RBC, Hb, PCV (ihned po anestezii) | Hoseini a Ghelichpour (2012) |

Poznámka: ALP - alkalická fosfatáza, AST - aspartát aminotransferáza; ALT - alanin aminotransferáza; Ca - vápník; GLOB - globuliny; GLU - glukóza, Hb – hemoglobin; LACT - laktát; Leuko - počet bílých krvinek; LDH - laktát dehydrogenáza; MCHC - střední barevná koncentrace; MCV - střední objem erytrocytu; MCH - hemoglobin erytrocytu; NH₃ - amoniak, TP - celkové bílkoviny; TRIG - triglyceridy; PCV – hematokrit; PHOS - anorganický fosfor; RBC - počet červených krvinek.

3.5. Metomidat

Metomidat [1-(1-phenylethyl)-1H-imidazole-5-carboxylic acid methyl ester] (obr. č. 10) se řadí k dalším druhům anestetik používaných u ryb. Jedná se o nebarbiturátové hypnotikum rozpustné ve vodě, které je zaregistrováno jako anestetikum pro prasata v Norsku (Ross a Ross, 2008).



Obr. č. 10. Chemická struktura metomidatu (upraveno z Ross a Ross, 2008).

Mattson a Ripple (1989) hovoří o metomidatu v případě tresky obecné (*Gadus morhua*) jako o vhodnějším anestetiku, je vhodnější než MS-222, 2-phenoxyethanol, chlorbutanol a benzokain. Optimální dávka metomidátu pro anestézii ryb se pohybuje v rozmezí od 0,5 do 60 mg.l⁻¹ (tab. č. 8).

Jako anestetikum pro pstruha duhového byl daný přípravek testován Gilderhusem a Markingem (1987) a Olsenem a kol. (1995) jej testovali pro lososa obecného (*Salmo salar*) a Malmstrom a kol. (1993) pro platýse obecného (*Hippoglossus hippoglossus*). Pro posledně jmenovaný druh ryby je 10 mg.l⁻¹ nejnižší zaznamenanou účinnou koncentrací metomidatu. Dále bylo zjištěno, že koncentrace by neměly být větší než 60 mg.l⁻¹.

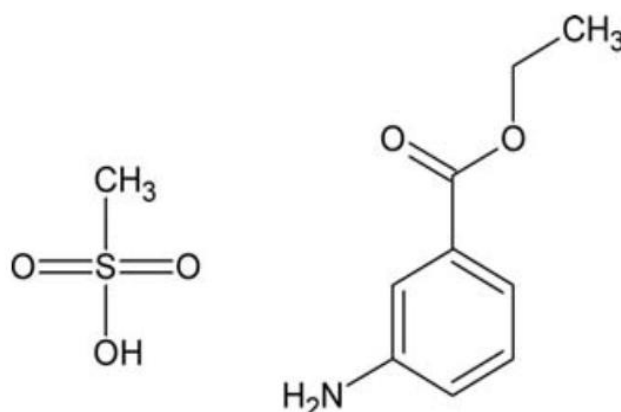
Tabulka č. 8. Doporučené dávky přípravku metomidatu pro anestezii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (mg.l⁻¹) | Literatura |
|--|--|---------------------------|
| Placka chutná (<i>Alosa sapidissima</i>) | 0,5 - 1 | Ross a kol. (1993) |
| Kanic proužkovaný (<i>Centropristis striata</i>) | 2 | King a kol. (2005) |
| Treska obecná (<i>Gadus morhua</i>) | 5 | Mattson a Ripple (1989) |
| Platýs obecný (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>) | 10 - 60 | Malmstrom a kol. (1993) |
| Sumeček tečkovaný (<i>Ictalurus punctatus</i>) | 2 - 8 | Small (2003) |
| Morčák pruhovaný (<i>Morone saxatilis</i>) | 7,5 - 10 | Lemm (1993) |
| Losos čavyča (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>) | 6 - 10 | Hill a Forster (2004) |
| | 1 - 10 | Olsen a kol. (1995) |
| | 1 - 5 | Sandodden a kol. (2001) |
| Bubeník americký (<i>Sciaenops ocellatus</i>) | 7 | Thomas a Robertson (1991) |
| Plata skvrnitá (<i>Xiphophorus maculatus</i>) | 1 | Guo a kol. (1995) |

Anestetikum metomidat způsobuje drastické snížení aortálního krevního tlaku pstruha duhového (Fredricks a kol., 1993). Metomidát potlačuje syntézu kortizolu během anestézie a zvyšuje hladinu laktátu a hematokritu u lososa obecného (Olsen a kol., 1995).

3.6. MS-222

MS-222 (Tricain metan sulfonat) (obr. č. 11) je registrované anestetikum pro ryby v Evropské unii. Státní veterinární správa České republiky musí v případě jeho dovozu vydat souhlas. Žádost o dovoz léčivého přípravku musí být podána veterinárním lékařem (Kolářová a kol., 2012). Molekulární vzorec MS-222 je $C_9H_{11}NO_2 + C_{10}H_{15}NO_5S$ (Ross a Ross, 2008).



Obr. č. 11. Chemická struktura MS-222 (upraveno z Ross a Ross, 2008).

Přípravek MS-222 je doporučován pro anestézii ryb, včetně ornamentálních, a pro jejich vývojová stádia. Nezbytnou součástí anestetické koupele je, před její aplikací, provedení zkoušky účinnosti a snášenlivosti. Výrobce jsou výslovně určeny některé tropické ryby, u nichž užití MS-222 není doporučováno. Jedná se o tyto ryby: afrotetra konžská (*Phenacogrammus interruptus*), okatec stříbřitý (*Monodactylus argenteus*), duhovka australská (*Melanotaenia macculochi*), skvrnivec proužkovaný (*Etroplus suratensis*), parmička žraločí (*Balantiocheilos melanopterus*), cichlidka Ramirezova (*Apistogramma ramirezi*) (Kolářová a kol., 2012). Kromě toho je účinnost užití MS-222 ovlivněna schématem krmení (Vera a kol., 2013).

Výrobce před samotnou aplikací anestetické koupele doporučuje, aby nebylo rybám v časovém období 12 až 24 hodin podáváno žádné krmení. Ke vstřebání roztoku MS-222 dochází prostřednictvím žaberního epitelu a následně se účinná látka šíří do celého těla ryby. Nastává zpomalení krevního oběhu a snižuje se spotřeba kyslíku. Základní reflexy ryby mizí mezi 1. až 15. minutou. Po přesunutí ryb do čisté vody trvá návrat k normálnímu stavu od 1 do 15 minut. K vyloučení účinné látky ven z těla dochází z velké části žaberním

epitelem a rovněž ledvinami. V případě MS-222 je ochranná lhůta stanovena na 70 stupňodnů (Kolářová a kol., 2012).

Podmínky pro skladování MS-222 jsou jasně stanoveny takto:

Přípravek nesmí být vystavován přímému slunci, dále je nezbytné jej uchovávat v suchu a teplotě nižší než 25 °C. Pokud jsou dané podmínky splněny, pak je jeho skladovatelnost stanovena na 5 let. Anestetická koupel nesmí být již použita další den po její přípravě (Kolářová a kol., 2012).

Dávkování MS-222

Optimální dávka MS-222 pro anestézii je závislá na druhu ryby, věkové kategorii, teplotě vody a stupni anaestézie. Při použití daného přípravku ve vysokých dávkách pro sedaci je možné docílit uklidnění na dobu 1-30 minut (Kolářová a kol., 2012). V tabulce č. 9 jsou uvedeny dávky MS-222 pro anestézii vybraných druhů ryb při teplotě vody 7 - 17 °C. Všeobecně optimální koncentrace je dle výše uvedených podmínek v rozmezí 20 - 250 mg.l⁻¹ (tabulka č. 10). Při použití optimální dávky MS-222 nastává rekonvalescence do 25 minut (Kolářová a kol., 2012).

Tabulka č. 9. Optimální dávky MS-222 při teplotě vody 7 - 17 °C (Kolářová a kol., 2012).

| Druh ryby | Účinek | Koncentrace (mg.l⁻¹) | Délka účinku (min.) |
|---|-------------------|--|--------------------------------|
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | Sedace | 10 - 30 | do 480 |
| | Lehká anestezie | 30 - 80 | do 30 |
| | Hluboká anestezie | 80 - 180 | do 10 |
| Losos (<i>Salmon sp.</i>) | Sedace | 7 - 30 | do 240 |
| | Lehká anestezie | 30 - 80 | do 10 |
| | Hluboká anestezie | 80 - 100 | do 5 |
| Okounovité ryby (obecně) | Sedace | 8 - 30 | do 480 |
| | Lehká anestezie | 30 - 70 | do 20 |
| | Hluboká anestezie | 70 - 100 | do 4 |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | Sedace | 20 - 30 | do 1440 |
| | Lehká anestezie | 30 - 200 | do 8 |
| Tropické ryby | Sedace | 30 - 50 | do 1440 |

Tabulka č. 10. Doporučené dávky přípravku MS-222 pro anestezii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (mg.l ⁻¹) | Literatura |
|--|-----------------------------------|----------------------------------|
| Úhoř americký (<i>Anguilla rostrata</i>) | 100 - 230 | Prieto a kol. (1976) |
| Brykon hlavatý (<i>Brycon cephalus</i>) | 150 | Roubach a kol. (2001) |
| Kanic proužkovaný (<i>Centropristis striata</i>) | 70 | King a kol. (2005) |
| Amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i>) | 75 | Schramm a Black (1984) |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | 20 - 85 | Takeda a kol. (1987) |
| | 100 | Houston a kol. (1973) |
| | 200 | Hikasa a kol. (1986) |
| Treska obecná (<i>Gadus morhua</i>) | 60 | Zahl a kol. (2009) |
| | 75 | Mattson a Riple (1989) |
| Platýs obecný (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>) | 250 | Malmstrom a kol. (1993) |
| Mořčák pruhovaný (<i>Morone saxatilis</i>) | 110 - 123 | Henderson-Arzapalo a kol. (1992) |
| | 150 | Lemm (1993) |
| Cípal hlavatý (<i>Mugil cephalus</i>) | 20 - 120 | Sylvester (1975) |
| | 75 - 100 | Dick (1975) |
| Pstruh duhový (<i>Onchorhynchus mykiss</i>) | 100 | Soivio a kol. (1977) |
| | 80 | Wedemeyer (1969) |
| Pagrus auratus (<i>Pagrus auratus</i>) | 60 - 100 | Ryan (1992) |
| Pagrus major (<i>Pagrus major</i>) | 50 - 100 | Ishioka (1984) |
| Okoun říční (<i>Perca fluviatilis</i>) | 50 - 70 | Jacquemond (2004) |
| Veslonos americký (<i>Polyodon spathula</i>) | 66 | Ottinger a kol. (1992) |
| Losos obecný (<i>Salmo salar</i>) | 100 | Soivio a kol. (1974) |
| Siven severní (<i>Salvelinus alpinus</i>) | 100 | Bystriansky a kol. (2006) |
| Plata skvrnitá (<i>Xiphophorus maculatus</i>) | 30 | Guo a kol. (1995) |
| Králíčekovec rudomořský (<i>Siganus rivulatus</i>) | 112,5 | Santos a kol. (2015) |
| Dánio pruhované (<i>Danio rerio</i>) | 75 | Chambel a kol. (2015) |
| Terčovec červený (<i>Symphysodon discus</i>) | | |
| Živorodka duhová (<i>Poecilia reticulata</i>) | | |
| Mečovka zelená (<i>Xiphophorus hellerii</i>) | | |
| Mořčák evropský (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | 70 | Cahtain a Corraoa (1992) |

Vliv MS-222 na fyziologii ryb

Změny fyziologického profilu ryb při použití MS-222 jsou poměrně dobře zdokumentovány (tabulka č. 11). Několik autorů poukázalo na to, že přípravek MS-222 by mohl významně změnit biochemické pochody v krevní plazmě ryb (Harrington a kol., 1991, Holloway a kol., 2004). Anestezie s použitím přípravku MS-222 způsobuje hypoxemii, hyperkapnii, respirační acidózu a hyperglykémii u piraně rostlinožravé (*Piaractus brachypomus*) (Sladký a kol., 2001). Po anestézii bylo u ryb zaznamenáno zvýšení glukózy v krvi, laktátu, draslíku, sodíku, hořčíku, hemoglobinu a hematokritu (Hattingh, 1977; Soivio a kol., 1977; Brown, 1993; Cho a kol., 2000; Sladký a kol., 2001). Po anestézii MS-222 také může dojít k zvýšenému vyměšování moči (Brown, 1993). Zvýšené hodnoty bílkovin v plazmě jsou popsány po použití tohoto přípravku u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) (Laidley a kol., 1988).

Anestezie MS-222 v koncentraci 150 a 300 mg.l⁻¹ způsobuje u anténovky nejpodivnější (*Rhamdia quelen*) zvýšení aktivity katalázy a glutathion S-transferázy v játech a hematokritu ihned po anestézii (Gressler a kol., 2014).

U mořana zlatého (*Sparus aurata*) byly také zaznamenány výrazně vyšší hladiny glukózy v krvi (Ortuno a kol., 2002). Použití MS-222 prokázalo inhibiční účinek na uvolňování glukózy u izolovaných hepatocytů pstruha duhového, a to zřejmě v důsledku inhibice glykogenolýzy vyvolané stresem (Puceat a kol., 1989). Macavoy a kol. (1997) popsal zvýšení hematokritu během anestézie MS-222 v dávce 300 a 500 mg.l⁻¹ u *Rhinichthys atratulus*. Anestetikum MS-222 nemá vliv na aktivitu CYP1A mRNA, a to v jakémkoliv z analyzovaných orgánů (gonopodium, hřbetní ploutev, ocasní ploutev, žábra a játra) (Pinto a kol., 2015).

Další studie byly zaměřené na zlaté rybky, které byly opakovaně vystaveny vlivu MS-222 v koncentraci 160 a 260 mg.l⁻¹. Histologické vyšetření žáber neprokázalo patologické změny po aplikaci MS-222 (Posner a kol., 2013).

Tabulka č. 11. Vliv MS-222 na fyziologii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (mg.l ⁻¹) | Pozorované změny | Literatura |
|---|-----------------------------------|--|-------------------------|
| Candát obecný (<i>Sander lucioperca</i>) | 150 | ↑GLU (ihned po anestezii) | Křišťan a kol. (2012) |
| | | ↓ TRIG, NH ₃ , PHOS (24 hod. po anestézii) | |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 100 | ↑ GLU, LACT (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2011) |
| | | ↑ ALP, LACT (24 hod. po anestézii) | |
| Jeseter sibiřský (<i>Acipenser baerii</i>) | 125 | ↓ RBC, Ca, NH ₃ , ALP ↑ MCV, MCH, TP, GLOB, TRIG, ALP (ihned po anestezii) | Gomulka a kol. (2008) |
| | | ↓ Ca, NH ₃ , ALP ↑ TP, GLOB, TRIG, ALT (24 hod. po anestézii) | |
| Podoustev říční (<i>Vimba vimba</i>) | 100 | ↓ LDH (ihned po anestezii) | Lepič a kol. (2014) |
| | | ↑ TRIG (24 hod. po anestézii) | |
| Parma obecná (<i>Barbus barbus</i>) | 100 | Žádné změny v hematologickém a biochemickém profilu | Příborský a kol. (2015) |
| Okoun říční (<i>Perca fluviatilis</i>) | 100 | ↑ GLU, NH ₃ (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2009) |
| | | ↓ LDH ↑ ALP (24 hod. po anestézii) | |

Poznámka: ALP - alkalická fosfatáza, ALT - alanin aminotransferáza; Ca - vápník; GLOB - globuliny; GLU - glukóza, LACT - laktát; LDH - laktát dehydrogenáza; MCV - střední objem erytrocytu; MCH - hemoglobin erytrocytu; NH₃ - amoniak, TP - celkové bílkoviny; TRIG - triglyceridy; PHOS - anorganický fosfor; RBC - počet červených krvinek.

Vliv MS-222 na člověka

U pracovníků, kteří při anestezii ryb dlouhodobě používali MS-222, může tento přípravek vyvolat retinopatii (patologické změny sítnice). Jeden pracovník, který byl dlouhodobě vystaven kožnímu kontaktu s MS-222, byl vyšetřován kvůli zhoršení zraku, fotopsii a fotofobii. Abnormality, jež se v jeho elektroretinogramu vyskytovaly, byly obdobné těm, které bývají popisovány u zvířat vystavených akutním dávkám MS-222. Pracovníkovi se po sedmi měsících, během nichž nepřišel s MS-222 do styku, zrak navrátil zpět do normálu a také u jeho elektroretinogramu nastalo zlepšení (Bernstein a kol., 1997).

3.7. Oxid uhličitý

Molekulární vzorec oxidu uhličitého je CO_2 (Ross a Ross, 2008). Oxid uhličitý (obr. č. 12) se aplikuje do vody přes kamínek o koncentraci $200\text{--}400 \text{ mg.l}^{-1}$. Je možné také použít uvolňování CO_2 z hydrogenuhličitanu sodného. Zde je však účinnost pomalejší, koncentrace NaHCO_3 $142\text{--}642 \text{ mg.l}^{-1}$ při pH 6,5-7,5 anestézie poté přichází do 5 minut. Rekonvalescence nastane za 10 min. v čisté vodě, kdy je však důležité udržovat dostatek kyslíku. Opakovaná aplikace bývá letální (Svoboda a Kolářová, 1999).



Obr. č. 12. Chemická struktura CO_2 (upraveno z Ross a Ross, 2008).

Book a kol. (1978) testovali na kapru obecném, pstruhu duhovém a pstruhu obecném anestetický efekt NaHCO_3 (hydrogenuhličitan sodný). Byla použita koncentrace od 142 mg.l^{-1} do 642 mg.l^{-1} při pH vody 6,5 až 7,5. Nakonec se jako optimální ukázala koncentrace NaHCO_3 642 mg.l^{-1} při pH 6,5. Anestezie u ryb začala působit v průběhu 5 minut a po přesunutí do nádrže s čerstvou vodou proběhla rekonvalescence do 10 minut. Hydrogenuhličitan sodný je možné využít jako účinné anestetikum ve vodě mající pH 6,5 až 7. Není ale doporučováno, protože se musí upravovat pH vody pomocí zásad či kyselin.

Aplikování stlačeného CO_2 se jeví jako daleko vhodnější metoda, než uvolňování CO_2 z NaHCO_3 . Tato metoda byla v minulosti používána k usmrcení ryb po testech toxicity (Svoboda a Kolářová, 1999). Oberg a kol. (2015) doporučují využití stlačeného oxidu uhličitého pro anestézii čtyř mořských druhů ryb a to bubeníka amerického (*Sciaenops ocellatus*), robala jednoruhého (*Centropomus undecimalis*), vidlatky karolínské (*Trachinotus carolinus*) a *Paralichthys lethostigma*. Účinnost oxidu uhličitého je ve srovnání s MS-222 pomalejší.

Gomuška a kol., (2015b) popisuje, že anestézie oxidem uhličitým způsobuje silnou respirační acidózu a čtyřnásobně zvyšuje hladinu amoniaku a glukózy v krvi jesetera sibiřského (*Acipenser baerii*).

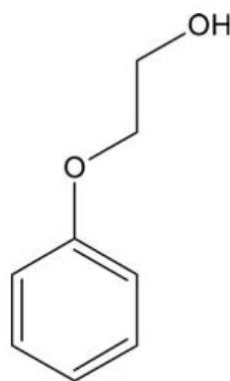
Kombinace kyseliny s NaHCO_3

Pro použití anestezie u ryb se také testovala kyselina uhličitá a to prostřednictvím reakce hydrogenuhličitanu sodného se silnou kyselinou (H_2SO_4). Kyselina uhličitá dle Wohlgemutha (1984) vyvolá nejdříve u ryb prudké pohyby, které přetrvávají 1 až 2 sekundy. Následně ryby plavou neklidně, projevují se u nich zrychlené dýchací pohyby, jež se najednou zpomalí a dochází ke snížení rychlosti reakcí na předcházející podráždění. Poté ryby ztrácejí rovnováhu, přetáčí se na bok a dýchací pohyby se neustále zpomalují. Všechny reflexy postupně mizí a v konečné fázi ustávají zcela i dýchací pohyby a ryby se nalézají v totální narkóze. Během zotavování je postup výše popsáných jevů opačný. Rybám se začíná zrychlovat dýchání, vrací se zpět do fyziologické polohy a nakonec vzniká běžná odezva na podráždění. Pokud jsou ryby vystaveny dvouhodinové expozici, pak u kyseliny uhličitě nastává samovolný rozklad a dochází k uvolňování oxidu uhličitého z vody. Pro kapra a další kaprovité ryby je koncentrace pohybující se v rozmezí 150 až 600 mg CO_2 na litr vody naprosto bezpečná. Ryby zvládnou také krátký pobyt ve vyšších koncentracích, které mohou dosahovat až 1200 mg.l^{-1} . Takto vysoké koncentrace je však vhodné využít pouze v případech, kdy se bude jednat jen o krátký zákrok, u něhož je vyžadována jejich co nejmenší pohyblivost.

Mishra a kol. (1983) se zmiňují o využití kyseliny uhličitě při převozu plůdku labea avanského (*Labeo rohita*). Plůdek vážící 0,8 gramů lze s 95 % přežitím transportovat při koncentraci 500 mg.l^{-1} kyseliny uhličitě až 215 hodin.

3.8. 2-phenoxyethanol

První zmínka o použití 2-phenoxyethanolu (ethylen glycol monophenyl ether, $C_8H_{10}O_2$, obr. č. 13) pochází z Kanady, kde byl používán k anestézii lososů (Sehdev a kol., 1963; Bell, 1964). Nízká cena 2-phenoxyethanolu je pokládána za výhodu tohoto anestetika, ale trvalo velice dlouhý čas, než byl uveden do praxe. A to protože 2-phenoxyethanol má značně rozsáhlé rozpětí hodnot LC_{50} , které jsou hlavně ovlivněny druhem, pohlavím, věkem, váhou a fyziologickým stavem ryby a v neposlední řadě rovněž teplotou vody (Barton a Helfrich, 1981).



Obr. č. 13. Chemická struktura 2-phenoxyethanolu (upraveno z Ross a Ross, 2008).

Dávkování 2-phenoxyethanolu

Anestetikum 2-phenoxyethanol se používá nejen pro krátkodobé znehybnění ryb před umělým rozmnožováním, ale také během veterinárních zásahů. Obecně doporučená koncentrace je $0,20 \text{ ml.l}^{-1}$. Pro velké ryby se užívá vyšší koncentrace, a to $0,30 \text{ ml.l}^{-1}$, při doporučené délce anestézie 5 - 10 minut. Po návratu ryb zpět do čisté vody jsou jejich fyziologické reflexy obnoveny do 10 min (Velíšek a kol., 2004a,b). Optimální dávka 2-phenoxyethanolu pro různé druhy ryb se pohybuje od $0,1$ do $1,2 \text{ ml.l}^{-1}$ (tabulka č. 12).

Při podání dávky $0,4 \text{ ml.l}^{-1}$ byla pozorována efektivita daného přípravku u hrouzka obecného (*Gobio gobio*), candáta obecného, sivena amerického, jelce proudníka (*Leuciscus leuciscus*) a štiky obecné. Pro jelce jesena (*Leuciscus idus*) je účinná dávka $0,35 \text{ ml.l}^{-1}$ (Kolářová a kol., 2012).

Tabulka č. 12. Doporučené dávky přípravku 2- phenoxyethanolu pro anestezii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (ml.l⁻¹) | Literatura |
|--|--|-------------------------------|
| Karas zlatý (<i>Carassius auratus</i>) | 0,3 - 0,5 | Weyl a kol. (1996) |
| Kanic proužkovaný (<i>Centropristis striata</i>) | 0,2 - 0,3 | King a kol. (2005) |
| Amur bílý (<i>Ctenpharyngodon idella</i>) | 0,2 | McCarter (1992) |
| Kaprovití (<i>Cyprinides</i>) | 0,1 - 0,5 | Osanz-Castan a kol. (1993) |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | 0,4 - 0,6 | Yamamitsu a Itazawa (1988) |
| | 0,8 - 1,2 | Altun a Danabas (2006) |
| Mořan příčnopruhý (<i>Diplodus sargus</i>) | 0,17 - 0,2 | Tsantilas a kol. (2006) |
| Mořan ostrotlamý (<i>Diplodus puntazzo</i>) | 0,2 | McCarter (1992) |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 0,2 | Takashima a kol. (1983) |
| | 0,5 | Hilton a Dixon (1982) |
| Losos nerka (<i>Oncorhynchus nerka</i>) | 0,1 - 0,5 | Klontz a Smith (1969) |
| Tlamoun nilský (<i>Oreochromis niloticus</i>) | 0,5 - 1,2 | Auperin a kol. (1997) |
| Chrochtal (<i>Pomadasys commersonii</i>) | 0,2 - 0,4 | Radull a kol. (2001) |
| Lososovití (<i>Salmonides</i>) | 0,25 | Barton a Helfrich (1981) |
| Lín obecný (<i>Tinca tinca</i>) | 0,1 - 0,5 | Osanz-Castan a kol. (1993) |
| Thunus orientalis (<i>Thunnus orientalis</i>) | 0,2 | Takii a kol. (2005) |
| Podoustev říční (<i>Vimba vimba</i>) | 0,3 - 0,48 | Kaminski a kol. (2001) |
| Králíčekovec rudomořský (<i>Siganus rivulatus</i>) | 0,4 | Santos a kol. (2015) |

Vliv 2-phenoxyethanolu na fyziologii ryb

Změny fyziologického profilu ryb při použití 2-phenoxyethanolu jsou poměrně dobře zdokumentovány (tabulka č. 13).

Tabulka č. 13. Vliv 2-phenoxyethanolu na fyziologii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (ml.l ⁻¹) | Pozorované změny | Literatura |
|---|-----------------------------------|--|------------------------|
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 0,30 | ↓ AST ↑ GLU (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2004a) |
| | | ↑ TP, ALB, GLOB (24 hod. po anestézii) | |
| | 0,30 | ↓ LACT ↑ GLU, AST, ALP (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2011) |
| | | ↓ LACT, ↑ GLU (24 hod. po anestézii) | |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | 0,30 | ↑ ALT (24 hod. po anestézii) | Velíšek a kol. (2004b) |
| | 0,15 a 0,30 | ↑ Hb, PCV (1 hod. po anestézii) | Witeska a kol., (2015) |
| ↑ RBC, Leuko, monocytů (1 týden po anestézii) | | | |
| Candát obecný (<i>Sander lucioperca</i>) | 0,33 | ↓ MCHC, ↑ GLU (ihned po anestezii) | Křišťan a kol. (2012) |
| | | ↓ RBC, PVC, TRIG, NH ₃ (24 hod. po anestézii) | |
| Sumeč velký (<i>Silurus glanis</i>) | 0,30 | ↑ MCV, PCV, GLU, ALB (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2007) |
| | | ↓ MCHC, ALT (24 hod. po anestézii) | |
| Podoustev říční (<i>Vimba vimba</i>) | 0,40 | ↑ GLU, AST, NH ₃ (ihned po anestezii) | Lepič a kol. (2014) |
| | | ↑ GLU, AST, NH ₃ (24 hod. po anestézii) | |
| Okoun říční (<i>Perca fluviatilis</i>) | 0,40 | ↑ GLU, PHOS, ALP (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2009) |
| | | ↑ GLU, CK, ALP (24 hod. po anestézii) | |

Poznámka: ALP - alkalická fosfatáza; AST - aspartát aminotransferáza; ALT - alanin aminotransferáza; Ca - vápník; GLOB - globuliny; GLU - glukoza, Hb - hemoglobin, LACT - laktát; Leuko - počet bílých krvinek; LDH - laktát dehydrogenáza; MCHC - střední barevná koncentrace; MCV - střední objem erytrocytu; MCH - hemoglobin erytrocytu; NH₃ - amoniak, TP - celkové bílkoviny; TRIG - triglyceridy; PHOS - anorganický fosfor; PCV - hematokrit; RBC - počet červených krvinek.

Změny, jež byly u biochemických a hematologických parametrů zaznamenány, jsou důkazem stresového a hepatotoxického účinku uskutečněné anestetické koupele, převážně reverzibilní povahy. Změny, jež byly zjištěny, nebyly shledány natolik závažnými, aby se nedal tento přípravek, používaný k anestezii ryb, pokládat za nebezpečný (Kolářová a kol., 2012).

Vliv 2-phenoxyethanolu na člověka

2-phenoxyethanol není nebezpečný pro životní prostředí. Jedná se o toxický přípravek, který ohrožuje zdraví člověka. Během manipulace s daným anestetikem je nezbytné dbát na bezpečnost práce, jelikož působí dráždivě na lidskou kůži a oči (Svoboda a Kolářová, 1999).

Působení 2-phenoxyethanolu na člověka zaznamenal Morton (1990), který uvádí případ tří žen, jež s ním pracovaly na líhni lososovitých ryb. Stěžovaly si na bolesti hlavy a dále se u nich v průběhu používání projevila intoxikace. Pozorována byla také snížená síla a citlivost rukou i prstů. Horší příznaky se objevovaly na více namáhaných rukou. U žádné z těchto tří žen se nevyskytovala perzistentní neuropatie. Během 1 - 2 let, kdy pracovaly s daným přípravkem, se u nich začaly vyskytovat příznaky sníženého vnímání a ony pak nebyly způsobilé další práce. Ženy byly podrobeny neuropsychologickému vyšetření, které odhalilo, že všechny tři bez výjimky trpí sníženým vnímáním (částečným), jež dále přetrvávalo. U jedné z těchto žen byla dále zjištěna ještě hypofunkce sluchového labyrintu.

3.9. Propanidid POLFA

Propanidid POLFA je polským preparátem, který je používán při anestezii homoiotermních obratlovců. Tento přípravek dovoluje uskutečnit u ryb anestezii, jež bude trvat po delší dobu. Aplikace se provádí buď injekční formou či prostřednictvím koupele (Svoboda a Kolářová, 1999).

Pro kapra a pstruha duhového je podle Siwického (1984) doporučena koncentrace 1,5 - 3 ml.l⁻¹, dle hmotnosti ryby. V případě injekční aplikace 5 % roztoku je doporučeno u pstruha duhového vstříknout do dutiny tělní 2 ml na 1 kg hmotnosti ryby. U sumce či kapra je to 2,5 ml na kg hmotnosti ryby. V průběhu 2 až 4 minut se dostaví anestezie. Ryby mohou být v roztoku propanididu přechovávány, aniž by jim hrozilo nebezpečí, po dobu 50 minut. Jakmile jsou přemístěny do čerstvé vody, tak se během 4 až 8 minut vracejí zpět do fyziologické polohy.

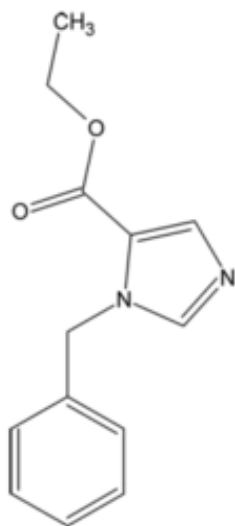
Vedlejší účinky jsou díky jeho nízké toxicitě zanedbatelné. Clauberg (1965) a Clarke a kol. (1965) uvádějí, že propanidid POLFA nezpůsobuje v biochemických a hematologických ukazatelích žádné změny. Statisticky významný rozdíl byl zaznamenán jen v acidobazické rovnováze. Metabolická acidóza se může objevit při celkové anestézii, avšak hodnoty se velmi rychle navracejí zpět do normálu. Propanidid je považován za bezpečný preparát, u něhož se nevyskytují ani karcinogenní, ani teratogenní účinky (Siwicki, 1984).

Při umělé reprodukci kapra obecného, Jeney a kol. (1986), porovnávali účinky přípravků MS-222 a propanididu POLFA. Primární a sekundární stres, který se během zákroku objevoval, vyhodnocovali na základě biochemických krevních ukazatelů. Nejen hodnoty stresové zátěže, ale také samotné výsledky umělé reprodukce, byly v případě těchto anestetik naprosto srovnatelné.

Jelikož lze toto anestetikum používat u homoiotermních obratlovců, z pohledu bezpečnosti pro pracovníky se jeví, v porovnání s anestetiky se speciálním efektem pro poikilotermní obratlovce, jako méně vhodný (Svoboda a Kolářová, 1999).

3.10. Propiscin

Propiscin (obr. č. 14) je novým lékem, který byl vyvinut v Rybářském ústavu Zabienieci v Polsku. Účinná složka tohoto anestetika je etomidat, jenž je běžně používán k anestezii ryb (Amend a kol., 1982; Plumb a kol., 1983, Siwicki, 1984).



Obr. č. 14. Chemická struktura propiscinu (upraveno z Ross a Ross, 2008).

Propiscin se ukázal jako velmi vhodný pro anestezii ryb, kde může vyvolat krátkodobou celkovou anestezii, jež trvá přibližně 30 minut (Zakes a Demska-Zakes, 2005). Propiscin má všechny výhody pro navození celkové anestezie (Kazuń a Siwicki, 2012), způsobuje mírný pokles krevního tlaku, je bezpečný a nebylo zjištěno, že by měl teratogenní nebo karcinogenní účinky.

Dávkování Propiscinu

Anestetikum propiscin se používá nejen pro krátkodobé znehybnění ryb před umělým rozmnožováním, ale také během veterinárních zásahů. Obecně doporučená koncentrace je 1,0 - 3,0 ml.l⁻¹ (tabulka č. 14).

Tabulka č. 14. Průběh celkové anestézie navozené v doporučených dávkách přípravku propiscin u specifických druhů ryb (Kazuń a Siwicki., 2012).

| Druhy ryb | Stádium | Teplota vody (°C) | Koncentrace (ml.l ⁻¹) | Čas navození anestézie (min.) | Čas anestézie (min.) | Maximální čas působení (min.) |
|---|------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------|-------------------------------|
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | Jikry | 7,0 | 0,5 | 2,5 - 3,0 | 15 | 60 |
| | Jikry | 7 | 1,0 | 1,0 | 15 | 90 |
| | Tržní ryba | 4,5 | 1,0 | 0,5 - 1,0 | 10 | 30 |
| | Tržní ryba | 4,5 | 0,5 | 0,75 - 1,5 | 10 | 30 |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | Násada | 17,0 | 1,0 | 3,0 | 15 | 30 |
| | Plůdek | 17,0 | 1,0 | 3,0 | 15 | 20 - 30 |
| | Plůdek | 19,0 | 1,0 | 1,0 - 1,5 | 15 | 20 - 25 |
| Amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i>) | Jikry | 23,0 | 1,0 | 5,0 | 30 | 20 |
| | Jikry | 23,0 | 3,0 | 2,0 | 10 | 30 |
| Pstruh obecný (<i>Salmo trutta</i>) | Tržní ryba | 7,0 | 0,5 | 2,5 | 15 | 60 |
| | Tržní ryba | 7,0 | 1,0 | 1,0 | 15 | 90 |
| Lipan podhorní (<i>Thymallus thymallus</i>) | Jikry | 7,0 | 0,5 | 2,5 - 3,0 | 15 | 60 |
| | Jikry | 7,0 | 1,0 | 1,0 | 15 | 90 |
| Hlavatka obecná (<i>Hucho hucho</i>) | Jikry | 5,0 | 1,0 | 2,5 - 3,5 | 5 | 40 |
| | Jikry | 5,0 | 1,5 | 2,0 - 3,5 | 5 | 40 |
| | Jikry | 4,5 | 1,0 | 2,0 - 2,5 | 30 | 80 |
| Mník jednovousý (<i>Lota lota</i>) | Jikry | 5,0 | 0,5 | 2,5 | 15 | 120 |

Vliv propiscinu na fyziologii ryb

Vlivem použití přípravku propiscin na fyziologii ryb se zabývá řada studií (tabulka č. 15). Propiscin po anestezii, a po dobu následujících 24 hodin, neměl vliv na hematologické parametry (RBC, PCV, Hb) pstruha duhového. V krvi se také nevyskytly žádné změny, jako například změny pH, pO₂, pCO₂, pHCO₃⁻, celkového oxidu uhličitého (CO₂) a volných ionů (H⁺, K⁺, Na⁺). Během celkové anestézie došlo k plynné a metabolické acidóze, avšak návrat k normálu byl rychlý a ryby se již za 1 hodinu poté vrátili zpět do fyziologického stavu (Kazuń a Siwicki., 2012).

Výše uvedené výsledky dokazují, že Propiscin má jen malý vliv na základní fyziologické procesy ryb a může tak být považován za bezpečné anestetikum s nízkou toxicitou a zanedbatelnými vedlejšími účinky. Vzhledem k tomu, že je tento přípravek

dobře tolerován mnoha druhy ryb, může být použit ve vodní lázni pro anestezii řady ryb (Kazuń a Siwicki, 2012).

Tabulka č. 15. Vliv propiscinu na fyziologii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (ml.l ⁻¹) | Pozorované změny | Literatura |
|---|-----------------------------------|--|--------------------------|
| Candát obecný (<i>Sander lucioperca</i>) | 1,5 | ↓ TRIG, ↑ MCHC (ihned po anestezii) | Křišťan a kol. (2012) |
| | | ↓ TRIG, NH ₃ , PHOS, ↑ MCHC (24 hod. po anestézii) | |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 1,0 | ↓ LACT (ihned po anestezii) | Velíšek a kol. (2011) |
| Podoustev říční (<i>Vimba vimba</i>) | 1,0 | ↓ AST, ↑ GLU (ihned po anestezii) | Lepič a kol. (2014) |
| | | ↓ AST, ↑ GLU, NH ₃ (24 hod. po anestézii) | |
| Parma obecná (<i>Barbus barbus</i>) | 1,0 | Žádné změny v hematologickém profilu | Příborský a kol. (2015) |
| Okoun říční (<i>Perca fluviatilis</i>) | 1,0 | Žádné změny v biochemickém profilu | Velíšek a kol. (2009) |

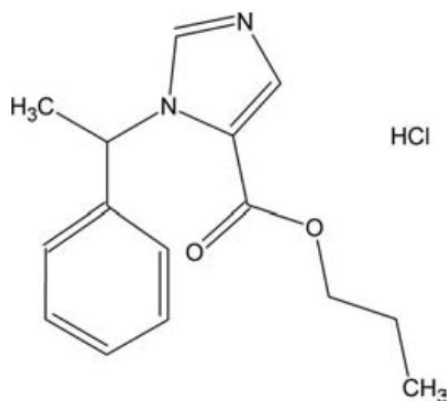
Poznámka: AST - aspartát aminotransferáza; GLU - glukóza, LACT - laktát; MCHC- střední barevná koncentrace; NH₃ - amoniak, TRIG - triglyceridy; PHOS - anorganický fosfor.

Vliv Propiscinu na člověka

Propiscin je škodlivý pro člověka při požití nebo vdechnutí. Je nutné použití rukavic při manipulaci s tímto přípravkem. Nebyly zaznamenány žádné alergické reakce na propiscin ani podráždění tkáně (Amend a kol., 1982).

3.11. Propoxat

Propoxat (R 7464) (obr. č. 15) je bílý amorfnní prášek, zcela bez zápachu. Propoxat má kyselý a zároveň velmi silný anestetický účinek na ryby. K účinným látkám se řadí 1-(1-phenyl-ethyl)-5-(propoxy-carbonyl)-imidazol hydrochlorid (Theinpoint a Niemegeers, 1965). Molekulární vzorec propoxatu je $C_{15}H_{19}ClN_2O_2$ (Ross a Ross, 2008).



Obr. č. 15. Chemická struktura propoxatu (upraveno z Ross a Ross, 2008).

Král (1976) uvádí, že propoxat je vhodné aplikovat před biometrickým měřením či umělým výtěrem, kdy je potřeba vyvolat krátkodobou, ale hlubokou anestezii. Autoři Marking a Meyer (1985) a Příhoda (1979) jsou zase toho názoru, že propoxat je dobré používat u zákroků vyžadujících delší dobu imobilizace. Důvodem je delší doba probuzení se z anestezie. Pokud se jedná o krátkodobou anestezii, poté je dle jejich mínění, lepší variantou než MS-222.

Theinpoint a Niemegeers (1965) uskutečnili základní určení souvislosti hloubky anestezie na délce expozice a koncentraci propoxatu. Pro testování byl vybrán karas zlatý (*Carassius auratus*). Při použité koncentraci 4 mg.l^{-1} došlo k imobilizaci této ryby během 3 minut. Při koncentraci 64 mg.l^{-1} , kdy byl karas vystaven vlivu propoxatu 60 minut, došlo k jeho úhynu. U plůdku kapra obecného (*Cyprinus carpio*) vážícího 1,2 až 2,2 gramy při době působení 1,5 hodiny, v použité koncentraci 16 mg.l^{-1} a teplotě vody 20°C došlo k úhynu ryb (Chiba a Kimura, 1975). K úhynu pstruhů duhových (*Oncorhynchus mykiss*) docházelo i při použití koncentrace 16 mg.l^{-1} a 5ti minutové expozici a v koncentraci 4 mg.l^{-1} a 10 minutové expozici, kdy vodní lázeň měla 16°C (Chiba a Kimura, 1975).

Například, pokud je hmotnost vyšší než 100 gramů, v případě sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*) a pstruha duhového, vydrží dle Krále (1976) bez jakéhokoliv nebezpečí 15 minutovou expozici v koncentraci 1 mg.l⁻¹, respektive při koncentraci 4 mg.l⁻¹ a 5 minutové expozici. V případě pstruhů se nepodařilo dosáhnout celkového zastavení dýchacích pohybů. U sivena bylo nezbytné, k dosažení stejného efektu, expoziční dobu prodloužit přibližně o 30 %. U kapra, který vykazuje při použití propoxatu větší odolnost, bylo potřebné pro dosažení 3. fáze anestezie, na rozdíl od pstruha, jemuž postačí 35 až 40 sekund, prodloužit expozici při koncentraci 4 mg.l⁻¹ na 4 minuty. Pokud však u něj byla použita pouze koncentrace 1 mg.l⁻¹, nepodařilo se požadované 3. fáze anestezie dosáhnout ani po 15 minutách.

Král (1976) uvádí nejvhodnější expoziční časy a koncentrace u krátkodobé anestezie vybraných druhů ryb (tabulka č. 16). Dále uvádí, že u těchto druhů ryb, pokud jsou u nich dodrženy zmíněné podmínky, trvá zotavovací fáze, kdy je ryba opět způsobilá plavat, 15 až 30 minut.

Tabulka č. 16. Nejvhodnější expoziční časy a koncentrace propoxatu pro krátkodobou anestezii vybraných druhů ryb (Král, 1976).

| Druh ryby | Koncentrace (mg.l⁻¹) | Doba expozice (min.) |
|--|--|-----------------------------|
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | 4 | 2 - 3 |
| Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) | 3 | 1,5 - 2,5 |
| Siven americký (<i>Salvelinus fontinalis</i>) | 3 | 1,5 - 2,5 |
| Štika obecná (<i>Esox lucius</i>) | 3 | 1,5 - 2,5 |
| Amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i>) | 2 | 2 |
| Hlavatka podunajská (<i>Hucho hucho</i>) | 3 | 1,5 - 2,5 |

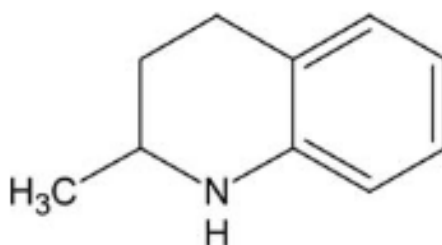
Kouřil a kol. (1981) doporučuje propoxat u sumce velkého (*Silurus glanis*) při umělém výtěru v koncentraci 2 až 3 mg.l⁻¹ a 2 až 4 minutové expozici. Jirásek a kol. (1978) uvádí, že při použití koncentrace 0,25 až 0,50 mg.l⁻¹ propoxatu, byl u línů obecných (*Tinca tinca*) pozorován narkotizační efekt, jenž do značné míry působil na intenzitu látkového metabolismu tak, že se u nich objevila snížená exkrece a došlo ke zpomalení dýchání. Tato skutečnost dovoluje například navýšit kapacitu přepravovaných ryb.

Příhoda (1979) doporučuje při převozu lososovitých ryb použití koncentraci 0,125 mg.l⁻¹ propoxatu. V průběhu 120 minutové přepravy, 16 kg ryb, které se nacházely ve 20 l použitého roztoku propoxatu a 20 l kyslíku v uzavřených polyetylenových pytlích, nevykazovaly žádné nepříznivé změny. Jirásek a kol. (1978) při transportu kapřího plůdku vážícího 1,2 až 2,2 gramy, navrhuje použití koncentrace 0,25 až 0,50 mg.l⁻¹ propoxatu. Chiba a Kimura (1975) uvádí, že v případě převozu ryb, který trvá méně než 24 hodin, je nejvhodnější použít koncentraci do 1 mg.l⁻¹.

Propoxat byl hojně využíván v minulosti. V současnosti je používán pouze výjimečně a to hlavně v Polsku, v ostatních státech je již nahrazen novějšími a kvalitnějšími přípravky.

3.12. Quinaldin

Quinaldin (2-Metylquinoline, obr. č. 16) patří mezi další přípravky, jež lze při anestezii ryb využívat. Jedná se o toxickou tekutinu, kterou lze aplikovat u teplomilných ryb. Pro studenomilné ryby je tento přípravek nevhodný (Ross a Ross, 2008). Podle Woynaroviche a Horvátha (1980) je nejefektivnější koncentrace 25 ml.l⁻¹, přičemž pokládají quinaldin za nejlepší anestetikum pro teplomilné ryby, v žádném případě však pro lososovité druhy a ostatní studenomilné ryby. Obecně se pro ryby doporučuje dávka 2,5 až 100 mg.l⁻¹ (tabulka č. 17). Vzhledem k jeho toxicitě je při manipulaci nezbytná maximální opatrnost.



Obr. č. 16. Chemická struktura quinaldinu (upraveno z Ross a Ross, 2008).

Quinaldin je efektivní při velmi nízkých koncentracích a ryby ke svému zotavení potřebují velmi krátký čas. Na druhou stranu hlavní nevýhody tohoto anestetika představuje špatná rozpustnost ve vodě s dlouhým časem nástupu anestézie a silným zápachem. Quinaldin sulfát eliminuje rozpustnost ve vodě a problémy se zápachem a snižuje dobu nástupu anestézie. V současné době je právě quinaldin sulfát používán k anestezii ryb v akvakultuře. Quinaldin sulfát představuje rychlejší nástup anestezie a zároveň i zotavení je podstatně rychlejší, než anestetikum pouze s látkou quinaldinu. Ukázalo se, že je výborným anestetikem, jelikož se rychle absorbuje a jeho vylučování se zdá být nezměněno (Yildirim a kol., 2001).

Přestože Quinaldin sulfát vytváří úplnou ztrátu rovnováhy ve fázi hluboké anestézie, ryby se zcela nezbavují svých reflexů. Tato skutečnost není žádoucí zejména při manipulaci, a to hlavně v případě chirurgických zákroků ryb. Obecně je navrhováno, že použití quinaldinu sulfát společně s triacinem nebo diazepamem překonává problém s reflexními záškuby. Anestezie s diazepamem se snadno aplikuje, je efektivní, rychlá a je také pohodlná a bezpečná pro člověka. Často se také používá ke snížení svalové ztuhlosti

při probouzení v kombinaci s vhodnými anestetiky u člověka. Použití quinaldinu sulfátu, diazepamu a jejich kombinace byly rozsáhle studovány u některých kostnatých druhů ryb, jako jsou pražmy (*Sparus aurata*), evropského mořského okouna (*Dicentrarchus labrax*), tlamouna nilského (*Oreochromis niloticus*). Kombinace quinaldinu sulfátu s diazepamem výrazně snížila nervozitu a hyperaktivitu těchto ryb v uzavřeném prostoru, aniž by došlo k jejich úhynu (Yildirim a kol., 2001). Studie Readman a kol. (2013) uvádí, že anestézie quinaldinem sulfátem v dávce 10 mg.l⁻¹ způsobuje výrazné změny chování dánía pruhovaného a doporučují tuto látku nepoužívat pro anestézii ryb.

Tabulka č. 17. Doporučené dávky přípravku qualdinu pro anestezii vybraných druhů ryb.

| Druh ryby | Koncentrace (mg.l ⁻¹) | Literatura |
|---|-----------------------------------|--------------------------------|
| Úhoř americký (<i>Anguilla rostrata</i>) | 8 - 25 | Hinton a Loyacano (1978) |
| Slizoun skvrnitý (<i>Blennius pholis</i>) | 2,5 - 20 | Dixon a Milton (1978) |
| Mořan modroskvrnný (<i>Chrysophrys major</i>) | 20 | Furuichi a Yone (1972) |
| Keříčkovec červenolemý (<i>Clarius gariepinus</i>) | 6 | Hocutt (1989) |
| Piraňa rostlinožravá (<i>Colossoma macropomum</i>) | 100 - 50 | Chellappa a kol. (1996) |
| Amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i>) | 10 - 50 | Schramm a Black (1984) |
| Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>) | 12,5 - 50 | Osanz-Castan a kol. (1993) |
| Lín obecný (<i>Tinca tinca</i>) | | |
| Parmička červenoocasá (<i>Epalzeorhynchus bicolor</i>) | 2 - 4 | Meenakarn a Laohavisuti (1993) |
| Sumeček tečkovaný (<i>Ictalurus punctatus</i>) | 30 | Small (2003) |
| <i>Lya dussumeri</i> | 100 | Sylvester (1975) |
| Mořčák pruhovaný (<i>Morone saxatilis</i>) | 25 - 40 | Lemm (1993) |
| <i>Pomoxis nigromacyulatus</i> (<i>Pomoxis nigromacyulatus</i>) | 22 | Smeltzer a Flickinger (1991) |
| Mořan žlutoploutvý (<i>Sparus sarba</i>) | 9 | Hseu a kol. (1998) |
| Čichavec šedý (<i>Trichogaster trichopterus</i>) | 5 | Crosby a kol. (2006) |

3.13. Nechemické metody

Ryby je možné imobilizovat rovněž bez použití chemických látek. V současné době jsou tyto nechemické metody uskutečňovány prostřednictvím hypotermie a elektronarkózy. V níže uvedených kapitolách budou krátce přiblíženy.

3.13.1. Elektronarkóza

Už v roce 153, římský lékař Scribonius Largus zjistil, že elektrický proud má analgetické vlastnosti (Francis a Dingley, 2015). Elektronarkóza se řadí k dalším anestetickým možnostem, které lze u ryb praktikovat. Walker a kol. (1994) jsou toho názoru, že uvedená metoda prezentuje jistou variantu chemickým anestetik. Je možné ji používat pro znehybnění generačních štik, bez očividného efektu na schopnost přežítí jiker. Juvenilní štiku, měřící 13 až 19 cm, lze narkotizovat v laboratorních podmínkách při použití střídavého proudu. Napětí střídavého proudu, jež dokáže vyvolat narkózu či zapříčinit újmu fyzickou, je dosti variabilní a velice těžko předvídatelné. Oproti střídavému proudu, použitím 60 až 90 voltů stejnosměrného proudu, který na rybu působí 10 až 60 sekund, se daří bez jakéhokoliv fyzického poškození narkotizovat právě juvenilní štiku. Délka narkózy u dané ryby je nepřímo úměrná velikosti ryby a přímo úměrná aplikovanému napětí. Štíky, jež jsou již pohlavně vyzrálé, je možné s úspěchem narkotizovat po dobu 10 sekund při 60 voltech stejnosměrného proudu. Samotná narkóza poté trvá 58 ± 7 sekund a není závislá na pohlaví či velikosti ryby. Do tří minut po provedeném ošetření se ryby nacházejí ve vzpřímené poloze.

Barham a kol. (1989) se zabývali účinky stejnosměrného a střídavého proudu u kapra obecného. Jak u střídavého, tak u stejnosměrného proudu byly pozorovány křeče, které doprovázely zotavovací fázi. Objevuje se i krvácení ze žáber. Dle jejich mínění není vhodné, v případě kaprů, danou metodu používat.

3.13.2. Hypothermie

Snížením teploty vody se mohou ryby uklidnit nebo znehybnit. Nižší teplota navíc zvyšuje kapacitu přenosu kyslíku z vody, čímž se sníží aktivita a spotřeba kyslíku ryb. Voda může být ochlazována pomocí chladicího systému nebo přidáním ledu. Při této metodě může rychlé ochlazení způsobit rybám teplotní šok. Tato technika byla použita především za účelem přepravy. Například dospělého lososa obecného je možné přepravovat na velké vzdálenosti, pokud se ochladí na 0 °C. Kapr, který byl dříve

aklimatizovaný na 23 °C, se může udržovat ve stavu tzv. zjevné anestezie, a to až po dobu 5 hodin při teplotě 4 °C, přestože nižší teplota znamená riziko úmrtí. Hypotermie se běžně používá také během přepravy u korýšů. Po znehybnění ryb pomocí snížení teploty vody však mohou nastat určité problémy. K úmrtím dochází tehdy, když se teplota vody sníží příliš hodně nebo příliš rychle. Z výše uvedeného plyne, že by měla být rychlost chlazení vody pečlivě kontrolována a následně by měla být udržována požadovaná teplota. V rámci hypotermie platí základní pravidlo, a sice že by teplota vody neměla být snižována o více než 1 °C každých 15 minut. Podchlazení je často používáno v kombinaci s chemickou anestezí za účelem snížení množství anestetik, snížení spotřeby kyslíku a zvýšení délky doby nutné pro anestezii (Shawn a kol., 2004).

4. ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo vypracovat přehledovou studii shrnující nejnovější poznatky o vlivu anestetik na ryby. Na základě zjištěných informací je možno říci, že všechna anestetika, používaná v rybářství, mají svá pozitiva a negativa. Hlavním předností použití anestetik v rybářství je snazší manipulace s rybou, s minimálním rizikem stresu či vzniku mechanického poškození. Anestetika jsou dále používána pro usnadnění přepravy ryb na delší vzdálenosti.

Při volbě vhodného anestetika je nutné mít na paměti celou řadu faktorů. Jsou jimi například druh ryby, věk, hmotnost, zdravotní stav nebo jiné okolnosti, jako např. fyzikálně chemické parametry vody. Ne každá ryba reaguje na dané anestetikum stejně a zkušená osoba, která s rybou manipuluje, by to měla vědět. Mezi hlavní výhody různých anestetik může například patřit přírodní původ anestetika, jako je tomu v případě hřebíčkového oleje, dále například nízká pořizovací cena, rychlé vyloučení z organismu - nevznikají rezidua, nízká toxicita a bezpečnost anestetika pro ryby.

Z výše uvedených informací vyplývá, že anestetika běžně používaná v české akvakultuře, jako jsou hřebíčkový olej, MS 222, 2-phenoxyethanol a propiscin, jsou bezpečná při dodržení správné koncentrace a času anestézie pro určitý druh ryby. Velká většina fyziologických změn, které byly pozorovány po expozici anestetika, se nejpozději do 24 hodin vrátila zpět do fyziologických hodnot (normálu).

5. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

- Altun, T., Danabas, D., 2006. Effects of short and long exposure to the anesthetic 2-phenoxyethanol mixed with ethyl alcohol on common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) fingerlings. *Israeli J. Aquac.* 58: 178-182.
- Amend, D.F., Goven, B.A., Elliot, D.G., 1982. Etomidate: effective dosages for a new fish anesthetic. *Trans. Am. Fish. Soc.* 111: 337-341.
- Auperin, B., Baroiller, J.F., Ricordel, M.J., Fostier, A., Prunet, P., 1997. Effect of confinement stress on circulating levels of growth hormone and two prolactins in freshwater-adapted tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 108: 35-44.
- Barham, W.T., Schoonbee, H.J., Visser, J.G., 1989. Some observations on the narcotizing ability of electric currents on the common carp *Cyprinus carpio*. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 56: 215-218.
- Barton, B.A., Helfrich, H., 1981. Time dose responses of juvenile rainbow trout to 2-phenoxyethanol. *Progres. Fish. Cult.* 32: 223-231.
- Bell, G.R., 1964. A guide to properties, characteristics, and uses of some general anaesthetics for fish. *Bull. Fish. Res. Bd. Can.* 148: 1-4.
- Berstein, P.S., Digre, K.B., Creel, D.J., 1997. Retinal toxicity associated occupational exposure to the fish anesthetic MS-222. *Am. J. Ophthalmol.* 124: 843-844.
- Book, H.E., Hollender, B., Lutiterbil, G., 1978. Sodium bicarbonate, an inexpensive fish anesthetic for field use. *Progres. Fish. Cult.* 49: 11-13.
- Bressler, K., Ron, B., 2004. The effect of anesthetics on stress and the innate immune system of gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Israeli J. Aquac./Bamidgeh.* 56: 5-13.
- Briozzo, J.L., Chirife, J., Herzage, L., D'Aquino, M., 1989. Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution. *J. Appl. Bacteriol.* 66: 69-75.
- Brown, E.A.B., Franklin, J.E., Pratt, E., Trams, E.G., 1972. Contributions to the pharmacology of guinaldine uptake and distribution in the shark and comparative studies. *Comp. Biochem. Physiol.* 42: 223-231.
- Brown, L.A., 1988. Tropical fish medicine. Anesthesia in fish. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 18: 317-330.
- Brown, L.A., 1993. Anaesthesia and restraint. In: *Fish medicine*, M.K. Stoskopf (Ed.), W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, USA. pp. 79-90.

- Bystriansky, J.S., LeBlanc, P.J., Ballantyne, J.S., 2006. Anaesthetisation of Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L) with tricaine methanesulphonate or 2-phenoxyethanol for immediate blood sampling. *J. Fish Biol.* 69: 613-621.
- Clarke, R.S.J., Kirwan, M.J., Dundes, J.W., Neill, D.W., Mitschel, E.S., 1965. Clinical studies of induction agents. 13. Liver function after propanidid and thiopentone anaesthesia. *Brit. J. Anaesth.* 37: 415-421.
- Clauberg, G., 1965. Tierexperimentale Untersuchungen über wiederholter Anwendung des Kurz narkotikums Propanidid. *Anaesthetist*, 14: 175-176.
- Caudill, C.C., Jepson, M.A., Lee, S.R., Dick, T.L., Naughton, G.P., Keefer, M.L., 2014. A field test of eugenol-based anesthesia versus fish restraint in migrating adult Chinook salmon and Steelhead. *Trans. Am. Fish. Soc.* 143: 856-863.
- Crosby, T.C., Hill, J.E., Watson, C.A., Yanong, R.P.E., Strange, R., 2006. Effects of tricaine methanesulfonate, hypno, metomidate, quinaldine, and salt on plasma cortisol levels following acute stress in Threespot Gourami *Trichogaster trichopterus*. *J. Aquatic Anim. Health* 18: 58-63.
- Detar, J.E., Mattingly, H.T., 2005. Response of the Southern Redbelly dace to clove oil and MS-222: effects of anaesthetic concentration and water temperature. *Proc. Ann. Con. South-eastern Assoc. Fish Wildl. Agen.* 58: 219-227.
- Dick, G.L., 1975. Some observations on the use of MS222 Sandoz with grey mullet (*Mugil chelocuvier*). *J. Fish Biol.* 7: 263-268.
- Dixon, R.N., Milton, P., 1978. Effects of the anaesthetic quinaldine on oxygen consumption in the intertidal teleost *Blennius pholis* (L). *J. Fish Biol.* 12: 359-369.
- Donald, F.A., Goven, B.A., Elliot, D.G., 1982. Etomidate: effective dosage of a new fish anesthetic. *Trans. Am. Fish. Soc.* 111: 337-341.
- Endo, T., Ogiyama, K., Tanaka, H., Oshima, S., 1972. Studies on the anaesthetic effect of eugenol in some fresh water fishes. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish* 38: 761-767.
- Falls, W.W., Vermeer, G.K., Dennis, C.W., 1988. Evaluation of etomidate as an anesthetic for red drum, *Sciaenops ocellatus*, Red Drum Aquaculture, in: Proceedings of a Symposium on the Culture of Red Drum and Other Warm Water Fishes. *Mar. Sci.* 30: 37-42.
- Ferreira, J.T., Schoonbee, H.J., Smith, G.L., 1984. The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and the skin of three freshwater fish species. *J. Fish Biol.* 25: 35-41.

- Fredricks, K.T., Gingerich, W.H., Fater, D.C., 1993. Comparative cardiovascular effects of four fishery anesthetics in spinally transected rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comp. Biochem. Physiol. C* 104: 477-483.
- Francis, J., Dingley, J., 2015. Electroanaesthesia – from torpedo fish to TENS. *Anaesthesia* 70: 93-103.
- Furuichi, M., Yone, Y., 1972. The influence of repeated bleeding and anesthetization on change of blood sugar of fish. *Sci. Bull. Faculty Agric., Kyushu Univ.* 26: 577-581.
- Garcia-Gomez, A., Gandara, F., Raja, T., 2002. Use of clove, *Syzygium aromaticum* L. (Merr. & Perry), oil as a cost-effective anaesthetic for routine tasks in handling cultured marine fish. *Bol. Inst. Esp. Oceanograf.* 18: 21-23.
- Gilbert, P.W., Wood, F.G., 1957. Method of anaesthetizing sharks and rays safely and rapidly. *Science* 126: 212.
- Gilderhus, P.A., Marking, L.L., 1987. Comparative efficacy of 16 anesthetic chemicals on rainbow trout. *Nort. Am. J. Fish. Managem.* 7: 288-292.
- Gilderhus, P.A., 1990. Benzocaine as a fish anesthetic: Efficacy and safety for spawning-phase salmon. *Prog. Fish Culturist.* 52: 189-191.
- Gilderhus, P.A., Lemm, C.A., Woods, L.C., 1991. Benzocaine as an anesthetic for striped bass, *Prog. Fish Culturist.* 53: 105-107.
- Gomes, L.C., Chippari-Gomes, A.R., Lopes, N.P., Roubach, R., Araujo-Lima, C.A.R.M., 2001. Efficacy of Benzocaine as an Anesthetic in Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. *J. World Aquac. Soc.* 32: 426-431.
- Gomulka, P., Wlasow, T., Velišek, J., Svobodová, Z., Chmielinska, E., 2008. Effects of Eugenol and MS-222 Anaesthesia on Siberian Sturgeon *Acipenser baeri* Brandt. *Acta Vet. Brno* 77: 447-453.
- Gomułka, P., Fornal, E., Berecka, B., Szmagara, A., Ziomek, E., 2015a. Pharmacokinetics of propofol in rainbow trout following bath exposure. *Pol. J. Vet. Sci.* 18: 147-152.
- Gomułka, P., Czerniak E., Dągowski, J., Łuczyński, M., Szczerbowski, A., Szkudlarek, M., 2015b. Effects of propofol and carbon dioxide on acid-base balance in Siberian sturgeon. *Pol. J. Vet. Sci.* 18: 267-272.
- Gressler, L.T., Riffel, A.P.K., Parodi, T.V., Saccol, E.M.H., Koakoski, G., da Costa, S.T., Pavanato, M.A., Heinzmann, B.M., Caron, B., Schmidt, D., Baldisserotto, B., 2014. Silver catfish, *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia*

- triphylla* (L'Heerit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. *Aquacul Res.* 45: 1061-1072.
- Gressler, L.T., Sutili, F.J., Teixeira da Costa, S., Parodi, T.,V., da Silva Pes, T., Koakoski, G., Barcellos, L.J.G., Baldisserotto, B., 2015. Hematological, morphological, biochemical and hydromineral responses in *Rhamdia quelen* sedated with propofol. *Fish Physiol. Biochem.* 41: 463-472.
- Guo, F.C., Teo, L.H., Chen, T.W., 1995. Effects of anaesthetics on the oxygen consumption of platyfish *Xiphophorus maculatus* (Gunther). *Aquac. Res.* 26: 887-894.
- Hajek, G.J., Kłyszczko, B., 2004. The effects of Propiscin (etomidate) on the behaviour, heart rate, and ventilation of common carp, *Cyprinus carpio* L.. *Acta Ichthyol. Piscat.* 34: 129-143.
- Harrington, A.J., Russell, K.A., Singer, T.D., Ballantyne, J.S., 1991. The effects of tricaine methanesulphonate (MS-222) on plasma nonesterified fatty acids in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Lipids* 26: 774-775.
- Hartman, P., Schmidt, G., Pietsch, C., 2015. Carp Aquaculture in Europe and Asia. In: Pietsch, C., Hirsch, P., (Eds), *Biology and Ecology of Carp*. CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 57-89.
- Hattingh, J., 1977. The effect of tricaine methanesulphonate (MS-222) on the microhaematocrit of fish blood. *J. Fish Biol.* 10: 453-455.
- Henderson-Arzapalo, A., Lemm, C., Hawkinson, J., Keyes, P., 1992. Tricaine used to separate phase 1 striped bass with uninflated swimbladders from normal fish. *Prog. Fish Culturist.* 54: 133-135.
- Hill, J.V., Forster, M.E., 2004. Cardiovascular responses of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) during rapid anaesthetic induction and recovery. *Comp. Biochem. Physiol.* 137: 167-177.
- Hilton, J.W., Dixon, D.G., 1982. Effect of increased liver glycogen and liverweight on liver function in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson: recovery from anaesthesia and plasma 35 S-sulphobromophthalein clearance. *J. Fish Dis.* 5: 185-195.
- Hinton, M.J., Loyacano, H.A., 1978. Efficacy of quinaldine and MS-222 on American eel. In: *Proceedings of the ninth annual meeting, World Mariculture Society, Atlanta, Georgia, January 3-6*, pp. 647-652.

- Hisake, Y., Takase, K., Ogasawara, T., Ogasawara, S., 1986. Anaesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thipopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. Jpn. J. Vet. Sci. 48: 341-351.
- Hocutt, C.H., 1989. Seasonal and diel behaviour of radio-tagged *Clarias gariepinus* in Lake Ngezi, Zimbabwe (Pisces: Clariidae). J. Zool. 219: 181-199.
- Holloway, A.C., Keene, J.L., Noakes, D.G., Moccia, R.D., 2004. Effects of clove oil and MS-222 on blood hormone profiles in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum. Aquacult. Res. 35: 1025-1030.
- Hoseini, S.M., Ghelichpour, M., 2012. Efficacy of clove solution on blood sampling and hematological study in Beluga, *Huso huso* (L.). Fish Physiol. Biochem. 38: 493-498.
- Hoseini, S.M., Rajabiesterabadi, H., Tarkhani, R., 2015. Anaesthetic efficacy of eugenol on iridescent shark, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) in different size classes. Aquacul. Res. 46: 405-412.
- Houston, A.H., Czerwinski, C.L. and Woods, R.J., 1973. Cardiovascular and respiratory activity during recovery from anaesthesia and surgery in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and carp (*Cyprinus carpio*). J. Fish. Res. Board Can. 30: 1705-1712.
- Houston, A.H., Woods, J.R., 1976. Influence of temperature upon tricaine methane sulphonate uptake and induction of anaesthesia in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol. 54: 1-6.
- Hunn, J.B., Allen, J., 1974. Movement of drugs across the gills of fishes. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 14: 47-55.
- Hseu, J.R., Yeh, S.L., Chu, Y.T., Ting, Y.Y., 1998. Comparison of efficacy of five anesthetics in goldlined sea bream, *Sparus sarba*. Acta Zoolog. Taiwan. 9: 11-18.
- Chambel, J., Pinho, R., Sousa, R., Ferreira, T., Baptista, T., Severiano, V., Mendes, S., Pedrosa R., 2015. The efficacy of MS-222 as anaesthetic agent in four freshwater aquarium fish species. Aquacul. Res. 46: 1582-1589.
- Chatain, B., Corraoa, D., 1992. A sorting method for eliminating larvae without swimbladders. Aquaculture 107: 81-88.
- Chellappa, S., Cacho, M., Huntingford, F., Beveridge, M., 1996. Observations on induced breeding of the Amazonian fish tambaqui, *Colossoma macropomum* using CPE and HCG treatments. Aquac. Res. 27: 91-94.
- Chiba, K., Kimura, S., 1975. Study in the efficacy of narcotic Propoxate for transportation of live fishes. Freshwater Fish. Res. Lab., Tokio, 10 pp.

- Cho, G.K., Heath, D.D., 2000. Comparison of tricaine methanesulphonate (MS222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquacult. Res.* 31: 537-546.
- Inoue, L., Santos Neto, C., Moraes, G., 2002. Benzocaine as anesthetic for juvenile matrinxa (*Brycon cephalus*). *Bol. Tec. CEPTA.* 15: 23-30.
- Isaacs, G., 1983: Permanent local anaesthesia and anhydrosis after clove oil spillage. *Lancet* 1: 882-883.
- Ishioka, H., 1984. Physiological and biochemical studies on the stress responses of the red sea bream, *Pagrus major* (Temminck et Schlegel). *Bull. Nansei Reg. Res. Lab.* 17: 1-133.
- Jacquemond, F., 2004. Sorting Eurasian perch fingerlings (*Perca fluviatilis* L.) with and without functional swim bladder using tricaine methane sulfonate. *Aquaculture* 231: 249-262.
- Jeney, Z., Jeney, G., Olah, J., Siwicki, A., Danko, I., 1986. Propanidid, a new anaesthetic for use in fish propagation. *Aquaculture* 54: 149-156.
- Jirásek, J., Adámek, Z., Giang, P.M., 1978. Ovlivnění spotřeby kyslíku u lína (*Tinca tinca* L.) anestetiky MS-222 a R 7484 (Propoxat). *Živ. Vyr.* 23: 835-840.
- Kaminski, R., Myszkowski, L., Wolnicki, J., 2001. Response to 2-phenoxyethanol in juvenile *Vimba vimba* (L.). *Arch. Pol. Fish.* 9: 71-78.
- Kazuń, K., Siwicki, A.K., 2001. Propiscin – a safe new anaesthetic for fish. *Arch. Pol. Fish.* 9: 183-190.
- Kazuń, K., Siwicki, A.K., 2012. Propiscin – a safe new anaesthetic for fish. *Arch. Pol. Fish.* 20: 173-177.
- Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D., Soto, C.G., 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquacul. Res.* 29: 89-101.
- King, W., Hooper, B., Hillsgrove, S., Benton, C., Berlinsky, D.L., 2005. The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.), *Aquac. Res.* 36: 1442-1449.
- Klontz, G.W., Smith, L.S., 1969. Methods of using fish as biological research subjects. In: Gay, W.I. (Ed.), *Methods of Animal Experimentation*, Academic Press, New York, 20-31 pp.

- Kolářová, J., Velíšek, J., Nepejchalová, L., Svobodová, Z., Kouřil, J., Hamáčková, J., Máchová, J., Piačková, V., Hajšlová, J., Holadová, K., Kocourek, V., Klimánková, E., Modrá, H., Dobšíková, R., Groch, L., Novotný, L., 2012. Anestetika pro ryby (aktualizované vydání z roku 2007). Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 77, 25 s.
- Kouřil, J., Stupka, Z., Hamáčková, J., Lepičová, A., 2001. Předběžné výsledky účinku třech anestetik u různých druhů ryb. In: Kolářová, J., (Ed.), Ochrana zdraví ryb. VÚRH JU Vodňany, s. 131-136.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Kepr, T., 1981. Umělý výtěr sumce: Reprodukce, genetika a hybridizace ryb. Slov. Zool. Spol. Ichtyol. 128-134.
- Král, J., 1976. Využití anestetika Propoxat ke znehybnění ryb před umělým výtěrem. VÚ pro biofaktory a veterinární léčiva, závěrečná zpráva, č. 39.
- Křistan, J., Stará, A., Turek, J., Policar, T., Velíšek, J., 2012. Comparison of the effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). Neuroendocrinol. Lett. 33(Supp.3): 66-71.
- Laidley, C.W.; Leatherland, J.F., 1988. Cohort sampling, anaesthesia and stocking-density effects on plasma cortisol, thyroid hormone, metabolite and ion levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Biol. 33: 73-88.
- Lemm, C.A., 1993. Evaluation of five anesthetics on striped bass, National Fisheries Center Report, No. 193, Kearneysville, WV.
- Lepič, P., Stará, A., Turek, J., Kozák, P., Velíšek, J., 2014. The effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in vimba bream, *Vimba vimba*. Vet. Med. 59: 81-87.
- Limsuwan, C., Grizzle, J.M., Plumb, J.A., 1983. Etomidate as an anesthetic for fish : Its toxicity and efficacy. Trans. Am. Fish. Soc., 112: 544-550.
- Locke, O., 1969. Quinaldine as an anesthetic for brook trout, lake trout, and atlantic salmon. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, Resource Publication 24: 5 pp.
- Macavoy, S.E., Zaepfel, R.C., 1997. Effects of tricaine methanesulfonate (MS-222) on hematocrit: first field measurements on blacknose dace. Trans. Am. Fish. Soc. 126: 500-503.
- Malmstrom, T., Salte, R., Gjoen, H.M., Linseth, A., 1993. A practical evaluation of metomidate and MS-222 as anaesthetics for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture 113: 331-338.

- Marking, L.L., Meyer, F.P., 1985. Are better anesthetics needed in fisheries. *Fisheries* 10: 2-5.
- Mattson, N.S., Rippe, T.H., 1989. Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gadus morhua*) in comparison with Benzocaine, MS-222, Chlorbutanol, and Phenoxyethanol. *Aquaculture* 83: 89-94.
- McCarter, N., 1992. Sedation of grass carp and silver carp with 2-phenoxyethanol during spawning. *Prog. Fish Culturist.* 54: 263-265.
- Meenakarn,W., Laohavisuti, N., 1993. Some anaesthetics used in the transport of *Epalzeorhynchus bicolor* (Smith), Proceedings of the Department of Fisheries, Thailand, 25 pp.
- Mishra, B.K., Kumar, D., Mishra, R., 1983. Observations on the use of carbonic acid anesthesia in fish fry transport. *Aquaculture* 32: 1405-408.
- Mitjana, O., Bonastre, C., Insua, D., Falceto, M.V., Esteban, J., Josa, A., Espinosa, E., 2014. The efficacy and effect of repeated exposure to 2 - phenoxyethanol, clove oil and tricaine methanesulphonate as anesthetic agents on juvenile, Angelfish (*Pterophyllum scalare*). *Aquaculture* 433: 491-495.
- Morton, W.E., 1990. Occupational phenoxyethanol neurotoxicity: a report of three cases. *J. Occup. Med.* 32: 42-45.
- Munday, P.L., Wilson, S.K., 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anesthetization of *Pomacentrus ambonensis*, a coral reef fish. *J. Fish Biol.* 51: 931-938.
- Mylonas, C.C., Cardinaletti, G., Sigelaki, I., Polzonetti-Magni, A., 2005. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures, *Aquaculture* 246: 467-481.
- Nagababu, E, Lakshmaiah, N., 1992. Inhibitory effect of eugenol on no enzymatic lipid peroxidation in rat liver mitochondria. *J. Biochem. Pharmacol.* 43:2393-2400.
- Oberg, E.W., Perez, K.O., Fuiman, L.A., 2015. Carbon dioxide is an effective anesthetic for multiple marine fish species. *Fish. Res.* 165: 22-27.
- Olsen, Y.A., Einarsdottir, I.E., Nilssen, K.J., 1995. Metomidate anaesthesia in Atlantic salmon, *Salmo salar*, prevent plasma cortisol increase during stress. *Aquaculture* 134: 155-168.

- Ortuno, J., Esteban, M.A., Meseguer, J., 2002. Effects of four anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol.* 12: 49-59.
- Osanz-Castan, E., Esteban-Alonso, J., del Nino Jesus, A., Josa Serrano, A., Espinoza Velasquez, E., 1993. Proceedings of 4th national Congress in Aquaculture, Centre for Marine Research, Spain, pp. 737-742.
- Oswald, R.L., 1978. Injection anaesthesia for experimental studies in fish. *Comp. Biochem. Physiol. C* 60: 19-26.
- Ottinger, C.A., Holloway, H.L., Derrig, T.M., 1992. Maintenance of juvenile paddlefish as experimental animals. *Prog. Fish Culturist.* 54: 121-124.
- Parma-de-Croux, M.J., 1990. Benzocaine (ethyl-*p*-aminobenzoate) as an anaesthetic for *Prochilodus lineatus* Valenciennes (Pisces, Curimatidae). *J. Appl. Ichthyology.* 6: 189-192.
- Peake, S., 1998. Sodium bicarbonate and clove oil as potential anesthetics for nonsalmonid fishes. *Nort. Am. J. Fish. Manage.* 18: 919-924.
- Pinto, D.P., Chivitzz, C.C., Ferreira, S.S., Sopeski, S.Z., Zanette, J., 2015. Betanaphthoflavone-induced CYP1A expression in the guppy *Jenynsia multidentata*: Time-dependent response, anesthetic MS-222 effect and fin analysis. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 113: 38-44.
- Pirhonen, J., Schreck, C.B., 2003. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 220: 507-514.
- Plumb, J.A., Schwedler, T.E., Limsuwan, C., 1983. Experimental anesthesia of three species of freshwater fish with etomidate. *Progres. Fish. Cult.* 45: 30-33.
- Posner, L.P., Scott, G.N., Law, J.M., 2013. Repeated exposure of goldfish (*Carassius auratus*) to tricaine methanesulfonate (MS-222). *J. Zoo. Wildl. Med.* 44: 340-347.
- Prieto, A., Fajer, E., Barrera, M., 1976. Utilizacion del MS222 en la anguilla americana (*Anguilla rostrata*, Le Suer). *Contrib. Direc. Acuicult. La Habana, Cuba*, 25-31 pp.
- Prince, A., Powell, C., 2000. Clove oil as an anaesthetic for invasive field procedures on adult Rainbow trout. *Nort. Am. J. Fish. Manage.* 20: 1029-1032.
- Příborský, J., Stará, A., Řežábek, J., Zusková, E., Lepič, P., Velíšek, J., 2015. Comparison of the effect of four anaesthetics on haematological profile, oxidative stress

- and antioxidant enzymes in barbel (*Barbus barbus*). *Neuroendocrinol. Lett.* 36 (Suppl. 1): 141-146.
- Příhoda, J., 1979. Propoxat při anestézii a transportě lososovitých ryb na střediskách SRZ. *Biol. Chem.Vet.* 15: 283-288.
- Puceat, M., Garin, D., Freminet, A., 1989. Inhibitory effect of anaesthesia with 2 - phenoxyetanol as compared to MS222 on glucose release in isolated hepatocytes from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.* 94: 221-224.
- Radull, J., Kaiser, H., Hecht, T., 2001. Effects of 2-phenoxyethanol on stressorinduced changes in metabolic rates of juvenile spotted grunter, *Pomadasys commersonnii*. 2nd Western Indian Ocean Science Association (WIOMSA) Scientific Symposium, Book of Abstracts, pp. 45-46.
- Raidal, S.R., Shearer, P.L., Stephens, F., Richardson, J., 2006. Surgical removal of an ovarian tumour in a koi carp (*Cyprinus carpio*). *Aust. Vet.J.* 84: 178-181.
- Readman, G.D., Owen, S.F., Murrell, J.C., Knowles, T.G., 2013. Do Fish Perceive Anaesthetics as Aversive? *PLoS ONE* 8: e73773.
- Ribeiro, P.A.P., Miranda-Filho, K.C., de Melo, D.C., Luz, R.K. 2015. Efficiency of eugenol as anesthetic for the early life stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *An. Acad. Bras. Ciên.* 87: 529-535.
- Ross, L.G., Geddes, J.A., 1979. Sedation of warm-water fish species in Aquaculture research. *Aquaculture* 16: 183-186.
- Ross, L.G. and Ross, B., 1984. Anaesthetic and sedative techniques for fish, Institute of Aquaculture, Stirling University, Stirling, 42 p.
- Ross, R.M., Backman, T.W.H., Bennett, R.M., 1993. Evaluation of the anesthetic metomidate for the handling and transport of juvenile *American shad*. *Prog. Fish Culturist.* 55: 236-243.
- Ross, L.G., Ross, B., 1999. Anaesthetic and Sedative techniques for aquatic animals. Institute of aquaculture University of Stirling, 58-155 pp.
- Ross, L.G., Ross, B., 2008. Anaesthetic & Sedative techniques for aquatic animals. Wiley-Blackwell, 240 pp.
- Rothwell, S.E., Black, S.E., Jerrett, A.R. and Forster, M.E., 2005. Cardiovascular changes and catecholamine release following anaesthesia in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and snapper (*Pagrus auratus*). *Comp. Biochem. Physiol. A.* 140: 289-298.

- Roubach, R., De Carvalho Gomes, L., Val, A.L., 2001. Safest level of tricaine methanesulphonate (MS-222) to induce anesthesia in juveniles of matrinxã, *Brycon cephalus*. *Acta Amazonica* 31: 159-163.
- Roubach, R., Carvalho Gomes, L., Leão Fonseca, F.A., Luiz Val, A., 2005. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquac. Res.* 36: 1056-1061.
- Ryan, S., 1992. The dynamics of MS222 anaesthesia in a marine teleost. *Comp. Biochem. Physiol. C* 101: 593-600.
- Sandodden, R., Finstad, B., Iversen, M., 2001. Transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): anaesthesia and recovery. *Aquac. Res.* 32: 87-90.
- Sanchez, M.S.S., Rodrigues, R.A., Nunes, A.L., Oliveira, A.M.S., Fantini, L.E., Campos, C.M., 2014. Physiological responses of cacharas *Pseudoplatystoma reticulatum* submitted to natural anesthetics. *Semina: Ciên. Agr. Lond.* 35: 1061-1070.
- Santos, S., Ghanawi, J., Saoud, P., 2015. Effects of water temperature and body weight on anaesthetic efficiency in marbled rabbitfish (*Siganus rivulatus*). *Aquacul. Res.* 46: 928-936.
- Sehdev, H.S., McBride, J.R., Fagerlund, U.H.M., 1963. 2- Phenoxyethanol as a general anaesthetic for sockeye salmon. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 20: 1435-1440.
- Shawn, D., Durborow, M.N., Tidwell, J.H., 2004. *Anesthetics in Aquaculture*, SRAC Publication No. 3900.
- Schramm, H.L., Black, D.J., 1984. Anaesthesia and surgical procedures for implanting radio transmitters into grass carp. *Prog. Fish Culturist.* 46: 185-190.
- Silva, L.L., Garlet, Q., Koakoski, G., Oliveira, T., Barcellos, L.J.G., Baldisserotto, B., Pereira, A.M.S., Heinzmann, B.M., 2015. Effects of anesthesia with the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. in parameters of fish stress. *Rev. Bras. Pl. Med.* 17: 215-223.
- Simitzis, P.E., Tsopelakos, A., Charismiadou, M.A., Batzina, A., Deligeorgis, S.G., Miliou, H., 2014. Comparison of the effects of six stunning/killing procedures on flesh quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus 1758) and evaluation of clove oil anaesthesia followed by chilling on ice/water slurry for potential implementation in Aquaculture. *Aquacul. Res.* 45: 1759-1770.
- Siwicki, A., 1984. New anaesthetic for fish. *Aquaculture* 38: 171-176.

- Sladky, K.K., Swanson, C.R., Stoskopf, M.K., Loomis, M.R., Lewbart, G.A., 2001. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). *Am. J. Vet. Res.* 62: 337-342.
- Small, B.C., 2003. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 218: 177-185.
- Small, B.C.; Chatakondi, N., 2005. Routine measures of stress are reduced in mature channel catfish during and after AQUIS anesthesia and recovery. *Nort. Am. J. Aquacult.* 67: 72-78.
- Smeltzer, J.F., Flickinger, S.A., 1991. Culture, handling, and feeding techniques for black crappie fingerlings. *Nort. Am. J. Fish. Manage.* 11: 485-491.
- Soivio, A., Malkonen, M., Tuurala, O., 1974. Effects of asphyxia and MS222 anaesthesia on the circulation of the kidney in *S. gairdneri*, Richardson. *Finn. Ann. Zool.* 11: 271-275.
- Soivio, A., Nyholm, K., Huhti, M., 1977. Effects of anaesthesia with MS222, neutralized MS222, and benzocaine on the blood constituents of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Fish Biol.* 10: 91-101.
- Sonawane, U.D., Kulkarni, G.N., 2001. Anaesthetic effects of clove oil and sodium bicarbonate on the fry of *Liza parsia*. *Iranian J. Fish. Sci.* 3: 49-62.
- Soto, C.G., Burhanuddin, S., 1995. Clove oil a fish anesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture* 136: 149-152.
- Soto, C., 1995. Clove oil: a fish anaesthetic. *West. Ind. Ocean Wat.* 6: 2-3.
- Stehly, G.R., Gingerich, W.H., 1998. Efficacy and toxicity of AQUIS as a fish anaesthetic, World Aquaculture Society abstracts, Aquaculture'98, Las Vegas, USA, 22-23 pp.
- Svoboda, M., Kolářová, J., 1999. Přehled anestetik používaných v chovech ryb. *VÚRH JU Vodňany*, 49-72 pp.
- Svobodová, Z., Gelnarová, J., Justýn, J., Krupauer, V., Máchová, J., Simanov, L., Valentová, V., Vykusová, B., Wohlgemuth, E., 1987. *Toxikologie vodních živočichů*. SZN, Praha, 231 s.
- Sylvester, J.R., 1975. Factors influencing the efficacy of MS222 to striped mullet (*Mugil cephalus*). *Aquaculture* 6: 163-169.
- Takashima, Y., Wan, Z., Kasai, H., Asakawa, O., 1983. Sustained anesthesia with 2-phenoxyethanol in yearling rainbow trout. *J. Tokyo Univ. Fish.* 69: 93-96.

- Takeda, T., Yamasaki, K., Itazawa, Y., 1987. Effect of MS 222 on respiration and efficacy of forced branchial irrigation with the anesthetic solution in carp. *Bull. Jpn. J. Sci. Fish.* 53: 1701-1709.
- Takii, K., Hosokawa, H., Shimeno, S., Ukawa, M., Kotani, A., Yamada, Y., 2005. Anesthesia, fasting tolerance, and nutrient requirement of juvenile northern bluefin tuna. *Fish. Sci.* 71: 499-503.
- Tamaru, C.S., Carlstrom-Trick, C., Fitzgerald, W.J., 1996. Clove oil, minyak cengkeh, a natural fish anesthetic. *Proc. Pacon. Conferen. Sustainab. Aquacul.* 95: 365-371
- Taylor, P.W., Roberts, S.D., 1999. Clove oil: An alternative anesthetic for aquaculture. *Nort. Am. J. Aquacul.* 61: 150-155.
- Theinpoint, D., Niemegeers, C.J.E., 1965. R 7464 - a new potent anaesthetic in fish. *Int. Zoo Zearbook* 5: 202-205.
- Thomas, P., Robertson, L., 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anaesthesia with MS-222, quinaldine and metomidate. *Aquaculture*, 96: 69-86.
- Tsantilas, H., Galatos, A.D., Athanassopoulou, F., Prassinis, N.N., Kousoulaki, K., 2006. Efficacy of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for two size classes of white sea bream, *Diplodus sargus* L., and sharp snout sea bream, *Diplodus puntazzo* C. *Aquaculture* 253: 64-70.
- Vartak, V.R., Ghughuskar, M.M., Singh, R.K., 2002. Effect of clove oil as an anaesthetic on the fry of fishes, Silver dollar (*Metynnis schreitmulleri* Ahl), Sword tail (*Xiphophorus helleri* Heckel) and Pearl gourami (*Trichogaster leeri* Bleeker). *Appl. Fisheries Aquac.* 2: 7-9.
- Velíšek, J., Svobodová, Z., 2004a. Anaesthesia of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with 2 - phenoxyethanol: acute toxicity and biochemical blood profile. *Acta Vet. Brno* 73: 379-384.
- Velíšek, J., Svobodová, Z., 2004b. Anaesthesia of common carp (*Cyprinus carpio*) with 2-phenoxyethanol: acute toxicity and effects on biochemical blood profile. *Acta Vet. Brno* 73: 247-252.
- Velíšek, J., Svobodová, Z., Piačková, V., 2005a. Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Vet. Brno* 74: 139-146.
- Velíšek, J., Svobodová, Z., Piačková, V., Groch, L., Nepejchalová, L., 2005b. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Vet. Med.* 50: 269-275.

- Velíšek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodová, Z., Novotný, L., Zíonek, E., 2006. Effects of clove oil anaesthesia on European catfish (*Silurus glanis* L.). *Acta Vet. Brno* 75: 99-106.
- Velíšek, J., Wlasow, T., Gomulko, P., Svobodová, Z., Novotný, L., 2007. Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis* L.). *Vet Med* 52: 103-110.
- Velíšek, J., Stejskal, V., Kouřil, J., Svobodová, Z., 2009. Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch. *Aquacult. Res.* 40: 354-361.
- Velíšek, J., Stará, A., Li, Z.H., Silovská, S., Turek, J., 2011. Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profile and oxidative stress biomarkers of rainbow trout. *Aquaculture* 310: 369-375.
- Vera, L.M., Montoya, A., Sánchez-Vázquez, F.J., 2013. Effectiveness of the anaesthetic MS-222 in gilthead seabream, *Sparus aurata*: effect of feeding time and day-night variations in plasma MS-222 concentration and GST activity. *Physiol. Behav.* 110/111:51-7.
- Wagner, E., Arndt, R., Hilton, B., 2002. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. *Aquaculture* 211: 353-366.
- Walker, M.K., Yanke, E.A., Gingerich, W.H., 1994. Use of electronarcosis to immobilize juvenile and adult northern pike. *Progres. Fish. Cult.* 56: 237-243.
- Walsh, C.T., Pease, B.C., 2002. The use of clove oil as an anaesthetic for the longfinned eel *Anguilla reinhardii* (Steindachner). *Aquac. Res.* 33: 627-635.
- Waterstrat, P.R., 1999. Induction and recovery from anaesthesia in Channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. *J. World Aquac. Soc.* 30: 250-255.
- Webster, J., 1983. The swimbladder as a hydrostatic organ in the Northern Pike. *Esox luscius* (L). PhD thesis, University of Stirling, 62 pp.
- Wedemeyer, G., 1969. Stress-induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonid fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* 29: 1247-1251.
- Weyl, O., Kaiser, H., Hecht, T., 1996. On the efficacy and mode of action of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for goldfish, *Carassius auratus* (L.), at different temperatures and concentrations. *Aquac. Res.* 27: 757-764.
- Witeska, M., Dudyk, J., Jarkiewicz, N., 2015. Haematological effects of 2-phenoxyethanol and etomidate in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Vet. Anaesth. Analg.* 42: 537-546.

- Wohlgemuth, E., 1984. Možnosti využití kyseliny uhličitě jako anestetika pro ryby. Vet. 34: 79-80.
- Woolsey, J., Holcomb, M., Ingermann, R.L., 2004. Effect of temperature on clove oil anesthesia in steelhead fry. Nort. Am. J. Aquac. 66: 35-41.
- Woynarovich, E., Horvath, L., 1980. The artificial propagation of warmwater fishes. A manual for extension, FAO Fisheries Technical Paper, 201: 138-147.
- Yamamitsu, S., Itazawa, Y., 1988. Effects of an anesthetic 2-phenoxyethanol on the heart rate, ECG and respiration in carp. Bull. Jpn. J. Sci. Fisher. 54: 1737-1746.
- Yildirim, Y., Kumlu, M., 2001. The Anaesthetic effects of Quinaldine sulphate, muscle relaxant diazepam and their combination on convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum* (Günther, 1867) juveniles. J. Anim. Vet. Adv. 9: 547-550.
- Zahl, I.H., Kiessling, A., Samuelsen, O.B., Hansen, M.K., 2009. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) - Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. Aquaculture 295: 52-59.
- Zahl, I.H., Samuelsen, O., Kiessling, A., 2012. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. Fish Physiol. Biochem. 38: 201-218.
- Zakes, Z., Demska-Zakes, K., 2005. Artificial spawning of pikeperch (*Sander lucioperca* L.) stimulated with human chorionic gonadotropin (hCG) and GnRH analogue with a dopamine inhibitor. Arch. Pol. Fish. 13: 63-75.
- Zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání.
- Zákon č. 359/2012 Sb., kterým se mění zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů.

6. ABSTRAKT

Vliv anestetik na ryby – přehledová studie

Předkládaná bakalářská práce s názvem “Vliv anestetik na ryby – přehledová studie“ je sepsána formou přehledové studie. Cílem bakalářské práce bylo vypracovat přehledovou studii shrnující nejnovější poznatky o vlivu anestetik na ryby. V práci je popsán vliv dvanácti nejvíce používaných anestetik v evropské a světové akvakultuře na ryby. S hlavním zaměřením na čtyři nejpoužívanější anestetika v české akvakultuře, a to hřebíčkový olej, MS-222, 2-phenoxyethanol a propiscin. K vypracování práce byly použity domácí i zahraniční vědecké studie vyhledané v databázích odborných textů. Tato práce přináší ucelený přehled vlivu anestetik na ryby, a může se stát hodnotným podkladem pro další studie v oblasti anestézie ryb, dalšího využití anestetik v akvakultuře a ochrany zdraví ryb, tak jak požaduje Zákon na ochranu zvířat proti týrání č. 359/2012 Sb., kterým se mění zákon č. 246/1992 Sb., ve znění pozdějších předpisů.

Klíčová slova: Anestetika, 2-phenoxyethanol, hřebíčkový olej, MS 222, propiscin, ryby

7. ABSTRACT

Effect of anaesthetics on fish - review

Bachelor thesis „Effect of anaesthetics on fish“ has been written as a review. The aim was to elaborate and create the review about the effect of anaesthetics on fish. There can be found effects of 12 widely used anaesthetics in the European and world aquacultural regions. I have focused mainly on the four mostly used anaesthetics in the Czech aquaculture, especially on the clove oil, MS-222, 2-phenoxyethanol and propiscin. To work properly out this bachelor thesis, I have used home and foreign sources found in the scientis database. My bachelor´s thesis is bringing a complete summary concerning the effect of anaesthetics on fish and that is why it can be used for similar surveys (purpose) in the field of fish anaesthesia, other use of anaestecics in aquaculture and fish health protection – in accordance with the Animal protection law Nr. 359/2012, which has replaced the former law Nr. 246/1992.

Key words: Anaesthetics, 2-phenoxyethanol, clove oil, MS 222, propiscin, fish