مقایسه اثرات بی‌هوش‌کننده اسانس گل میخک در ماهیان آنجل (*Pterophyllum scalare*)، گوپی (*Poecilia reticulate*) و طلایی (*Carassius auratus*)

• **علی خسروانی‌زاده***: گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون دانشگاه زابل، زابل، صندوق‌پستی: ۵۳۸- ۹۸۶۱۵

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۶

چکیده

اسانس گل میخک ازجمله بهترین داروهای بیهوشی است که به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد اخیراً در علوم شیلاتی به‌شدت مورد توجه قرار گرفته است. پژوهش حاضر با هدف تعیین حداقل غلظت بی‌هوش‌کننده این دارو در ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*)، ماهی گوپی (*Poecilia reticulate*) و ماهی طلایی (*Carassius auratus*) به‌عنوان گونه‌هایی با ارزش در صنعت ماهیان زینتی انجام گرفته است. تعداد ۱۲۰ نمونه از هر گونه به چهار گروه ۳۰ قطعه‌ای (هر گروه دارای ۳ تکرار) تقسیم و در دمای ۲±۲۵ و ۱±pH- با غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون اسانس گل میخک بی‌هوش شدند. ماهیان برای بازگشت از بی‌هوشی به آکواریوم‌های فاقد ماده بی‌هوشی منتقل شدند. زمان‌های از دست رفتن تعادل، بی‌هوشی، بازگشت تعادل و احیا کامل ماهیان بی‌هوش شده در هر گروه با دقت صدم ثانیه ثبت و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج نشان داد کم‌ترین غلظت مورد نیاز اسانس گل میخک جهت ایجاد بی‌هوشی در دو گونه آنجل و گوپی در مدت زمان کم‌تر از ۳ دقیقه، غلظت ۵۰ قسمت در میلیون بود که به‌ترتیب در زمان‌های ۱۸/۵±۱٤٦/٤و ۷/٤±۱۷۸/۸ ماهیان را بی‌هوش کرد. در ماهی طلایی حداقل غلظت بی‌هوش کننده ۷۵ قسمت در میلیون تعیین شد که در زمان ٤/۵±۱۵۵/۲ ثانیه ماهیان را بی‌هوش کرد. زمان بازگشت از بی‌هوشی در ماهیان آنجل، گوپی و طلایی کم‌تر از ۵ دقیقه و به‌ترتیب ۱۸/۸±۲۱۱/۸، ۷/٤±۲۰۸/۷ و ٤/٦±۱۹۱/۲ بود. در فرآیند بازگشت از بی‌هوشی هیچ یک از گونه‌ها اختلالی مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: بی‌هوشی، اسانس گل میخک، ماهی آنجل، ماهی گوپی، ماهی طلایی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: akhosravanizadeh@gmail.com

مقدمه

بی‌هوشی ماهیان به‌منظور آرام بخشی و کاهش استرس در هنگام حمل و نقل، عملیات تشخیصی، تکثیر مصنوعی، معاینات بهداشتی و هر عملیاتی که توام با استرس و ایجاد درد باشد، صورت می‌گیرد (پاپهن و همکاران، ۱۳۸۴). بی‌هوشی به معنی از دست دادن احساس یا ایجاد بی‌حسی می‌باشد و می‌تواند در برگیرنده حالات مختلفی مانند تسکین، بی‌هوشی عمومی و تخدیر باشد (Ross و Ross، ۲۰۰۸). بی‌هوشی عمومی موجب بروز اختلال عمومی در سیستم اعصاب مرکزی می‌گردد که موجب پیدایش آثاری مانند خواب‌آلودگی، بی‌حسی، سرکوب فعالیت‌های رفلکسی و آرامش عضله می‌شود (Green، ۱۹۷۹). مکانیسم دقیق عمل داروهای بی‌هوشی در تضعیف قابل بازگشت سیستم اعصاب مرکزی هنوز شناخته نشده است. داروهای بی‌هوش‌کننده عمومی می‌توانند بر روی قسمت‌های مختلف سلول‌های عصبی ازجمله غشا سلولی، انتقال دهنده‌های عصبی، گیرنده‌ها و کانال‌های یونی مختلف اثر بگذارند (Stoelting و Miller، ۱۹۹۴). تاکنون از داروهای گوناگونی به‌عنوان بی‌هوش‌کننده ماهیان در صنعت آبزی‌پروری استفاده شده که از آن جمله می‌توان به تری‌کائین‌متان‌سولفونات یا MS۲۲۲ (Cammano-Tubio و همکاران، ۲۰۱۰)، بنزوکائین (Cotter و Rodnick، ۲۰۰۶)، ایزوبوگنول یا AQUI-S (Meinertz و همکاران، ۲۰۰۶)، ۲- فنوکسی اتانول (Velisek و Svobodova، ۲۰۰۴)، اتومیدات (Kazun و Siwicki، ۲۰۰۱)، پیسکائین (Kikuchi و همکاران، ۱۹۷۴)، پروپاندید (Siwicki، ۱۹۸۴)، ترتیاری آمیل الکل (Hilton و Dixon، ۱۹۸۲) و اسانس آویشن شیرازی (شریف‌روحانی و همکاران، ۱۳۸۶) اشاره کرد. از اسانس گل میخک در صنعت عطرسازی، صابون‌سازی، تهیه خمیر دندان و محلول‌های دهان‌شویه، طب سنتی (زرگری، ۱۳۷۶؛ میرحیدری، ۱۳۷۲) و به‌عنوان مسکن در دندانپزشکی استفاده می‌گردد (Wicker، ۱۹۹۳)؛ هم‌چنین می‌توان آن را به‌عنوان آنتی‌اکسیدان (Rajakumar و Rao، ۱۹۹۳)، داروی ضدقارچ (Karapmar، ۱۹۹۰)، داروی ضدویروس (Siddiqui، ۱۹۹۶) و داروی ضد باکتری (Moleyar و Narasimham، ۱۹۹۲) به‌کار برد. در سال‌های اخیر اسانس گل میخک (Clove oil) به‌دلیل ایجاد بی‌هوشی در غلظت‌های پایین، بازگشت از بی‌هوشی آرام و بدون هیجان، عدم تلفات و رفتارهای غیرطبیعی پس از بازگشت از بی‌هوشی، قیمت ارزان نسبت به بی‌هوش‌کننده‌هایی نظیر MS۲۲۲، دسترسی آسان، دفع سریع از بدن، عدم سمیت مقادیر مصرفی، سازگاری با محیط زیست، عدم تحرک و شلی عضلات و عدم سمیت برای مصرف‌کننده انسانی به‌عنوان یک ماده بی‌هوش‌کننده در ماهیان مورد توجه قرار گرفته است (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۸۱؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۳). در ایران از اسانس گل میخک به‌منظور بی‌هوشی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) (ابطحی و همکاران، ۱۳۸۱؛ شریف‌پور و همکاران، ۱۳۸۱؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۳)، تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (ابطحی و همکاران، ۱۳۸۱؛ محمدی‌ارانی، ۱۳۸۵) و ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۰؛ ابطحی و همکاران، ۱۳۸۱) استفاده شده است. با توجه به اهمیت ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*)، گوپی (*Poecilia reticulate*) و طلایی (*Carassius auratus*) در صنعت ماهیان زینتی، تحقیق حاضر با هدف تعیین اثرات بی‌هوش‌کننده اسانس گل میخک در این سه گونه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی آنجل *Pterophyllum scalare*، ۱۲۰ قطعه ماهی گوپی *Poecilia reticulate* و ۱۲۰ قطعه ماهی طلایی *Carassius auratus* به‌ترتیب با میانگین‌های طولی ۰/۸±۵/۲۲، ۸/۲±۱/۰، ۳±۳/۱ سانتی‌متر به‌صورت تصادفی از سالن تکثیر و پرورش ماهیان زینتی اداره کل شیلات سیستان واقع در شهرستان زهک صید و در ۴ گروه مختلف جایابی شدند. ماهیان به‌منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید به‌مدت یک هفته در تانک‌های ۳۰۰ لیتری حاوی ۲۵۰ لیتر آب نگه‌داری شدند. در طول مدت سازگاری و انجام آزمایش فاکتورهای فیزیکو شمیایی آب شامل درجه حرارت، pH، نیتریت، آمونیاک و دی اکسیدکربن اندازه‌گیری و ثبت گردید. اسانس گل میخک با استفاده از تقطیر در دستگاه کلونجر و به‌روش فارماکوپه مجارستان (Hungarian Pharmacopoeia Gnotot Planta Medicina Budapest) از غنچه‌های خشک شده درخت میخک (*Eugenia cairyophillata*) تهیه شده بود و حاوی ۸۵ درصد یوگنول بود. برای هر گونه چهار تیمار با غلظت‌های مختلف ماده بی‌هوشی ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون در نظر گرفته شد و هر تیمار دارای ۳ تکرار (در هر تکرار ۱۰ ماهی) بود. ماهیان هر گونه با غلظت‌های مختلف اسانس گل میخک بی‌هوش شدند. برای این منظور غلظت‌های مذکور در آکواریومی با آب تمیز ایجاد شدند، دمای آب آکواریوم بی‌هوشی ۲±۲۵ و اسیدیته آن ۱±۷ بود، هم‌چنین در طول انجام آزمایش هوادهی انجام می‌شد. بعد از در معرض قرار دادن هر یک از ماهیان با ماده بی‌هوشی زمان‌های رسیدن به مراحل از دست دادن تعادل و بی‌هوشی سبک (جدول ۱) با دقت صدم ثانیه توسط کرنومتر ثبت شد.

جدول ۱: خلاصه طبقه‌بندی مراحل مختلف بی‌هوشی در ماهیان (Keene و همکاران، ۱۹۹۸)

مرحله	رفتار ماهی
از دست رفتن تعادل	فقدان کامل تعادل، افزایش موقتی تعداد تنفس، واکنش‌پذیر نسبت به محرک‌های لمسی قوی
بی‌هوشی سبک	از دست رفتن کامل تونیسیته عضلات، عدم پاسخ‌گویی به محرک‌های خارجی، ضربان قلب آهسته
بازگشت تعادل	بازگشت کامل تعادل، افزایش تعداد تنفس
احیا کامل	شنا عادی، واکنش‌پذیر نسبت به انواع محرک‌های خارجی

با رسیدن ماهیان به مرحله بی‌هوشی سبک، ماهیان بی‌هوش‌شده برای بازگشت از بی‌هوشی به آکواریوم احیا حاوی ۵۰ لیتر آب فاقد ماده بی‌هوشی که به‌خوبی هوادهی می‌شد منتقل شدند و زمان‌های مربوط به مراحل مختلف بازگشت از بی‌هوشی شامل مراحل بازگشت تعادل و بازگشت واکنش‌پذیری نسبت به محرک‌های خارجی (احیا کامل) به‌دقت ثبت گردید (جدول ۱). داده‌های به‌دست آمده به‌کمک نرم‌افزار SPSS ۲۲ با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way-ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت و برای مقایسه میانگین بین تیمارها، از آزمون چند دامنه دانکن (Duncan) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکوشمیایی آب در طول مدت سازگاری و انجام آزمایش تغییرات بسیار ناچیزی را نشان داد و فاکتورهای مذکور در حد توصیه شده بودند. نتایج به‌دست آمده از بی‌هوشی ماهیان آنجل، گوپی و طلایی در غلظت‌های مختلف اسانس گل میخک و پارامترهای زمانی مختلف شامل مدت زمان از دست رفتن تعادل ماهیان، مدت زمان ایجاد بی‌هوشی سبک، مدت زمان بازگشت تعادل و مدت زمان بازگشت واکنش‌پذیری نسبت به محرک‌های خارجی مانند ضربه زدن به شیشه آکواریوم به‌ترتیب در جداول ۲، ۳ و ۴ آمده است.

جدول ۲: میانگین زمان‌های رسیدن به مراحل مختلف بی‌هوشی و بازگشت از آن در ماهی آنجل تحت تاثیر اسانس گل میخک

گروه‌ها	غلظت ماده بی‌هوش‌کننده			
مراحل	۱۵۰ppm	۱۰۰ppm	۷۵ppm	۵۰ppm
از دست رفتن تعادل (ثانیه)	۴۱/۲ ± ۷/۲^{d*}	۵۳/۷ ± ۱۲/۲^{c}	۷۰/۹ ± ۱۳/۳^{b}	۱۰۹/۵ ± ۱۴/۷^{a}
القا بی‌هوشی (ثانیه)	۵۸/۷ ± ۱۲/۲^{d}	۶۸/۱ ± ۱۵/۷^{c}	۱۰۲/۵ ± ۱۲/۱^{b}	۱۴۶/۴ ± ۱۸/۵^{a}
بازگشت تعادل (ثانیه)	۱۷۶/۹ ± ۲۵/۵^{a}	۱۴۳/۹ ± ۲۳/۹^{b}	۱۳۷/۹ ± ۱۷/۱^{c}	۱۳۲/۱ ± ۱۴/۹^{d}
احیا کامل (ثانیه)	۳۰۰/۹ ± ۲۱/۳^{b}	۳۳۸/۶ ± ۲۷/۷^{a}	۲۲۵/۴ ± ۱۶/۸^{c}	۲۱۱/۸ ± ۱۸/۸^{d}

* حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) بین گروه‌هاست.

جدول ۳: میانگین زمان‌های رسیدن به مراحل مختلف بی‌هوشی و بازگشت از آن در ماهی گوپی تحت تاثیر اسانس گل میخک

گروه‌ها	غلظت ماده بی‌هوش‌کننده			
مراحل	۱۵۰ppm	۱۰۰ppm	۷۵ppm	۵۰ppm
از دست رفتن تعادل (ثانیه)	۷۰/۷ ± ۰/۷^{d*}	۷۹/۱ ± ۴/۷^{c}	۱۰۱/۵ ± ۲/۱^{b}	۱۲۳/۴ ± ۳/۴^{a}
القا بی‌هوشی (ثانیه)	۱۰۹/۸ ± ۵/۱^{d}	۱۲۹/۶ ± ۴/۶^{c}	۱۴۳/۰ ± ۱۴/۴^{b}	۱۷۸/۸ ± ۷/۴^{a}
بازگشت تعادل (ثانیه)	۱۶۰/۶ ± ۲/۶^{a}	۱۶۵/۵ ± ۵/۹^{a}	۱۴۲/۰ ± ۸/۵^{b}	۱۳۱/۱ ± ۳/۷^{c}
احیا کامل (ثانیه)	۲۳۹/۴ ± ۲۶/۵^{a}	۲۳۴/۵ ± ۹/۷^{a}	۲۱۹/۴ ± ۱۳/۸^{b}	۲۰۸/۷ ± ۷/۴^{b}

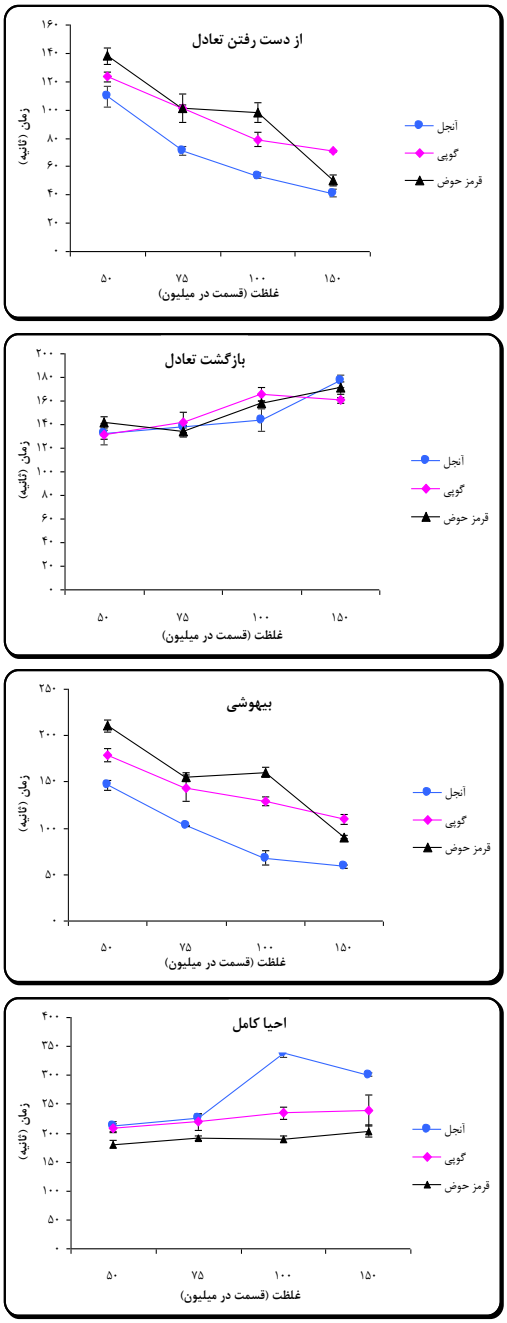
* حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) بین گروه‌هاست.

جدول ۴: میانگین زمان‌های رسیدن به مراحل مختلف بی‌هوشی و بازگشت از آن در ماهی طلایی تحت تاثیر اسانس گل میخک

گروه‌ها	غلظت ماده بی‌هوش‌کننده			
مراحل	۱۵۰ppm	۱۰۰ppm	۷۵ppm	۵۰ppm
از دست رفتن تعادل (ثانیه)	۵۰/۱۴ ± ۳/۶^{c*}	۹۸/۲۱ ± ۶/۶^{b}	۱۰۱/۱۸ ± ۱۰/۱^{b}	۱۳۸/۱۱ ± ۵/۵^{a}
القا بی‌هوشی (ثانیه)	۹۰/۰۸ ± ۱/۷^{c}	۱۶۰/۱۶ ± ۵/۳^{b}	۱۵۵/۲۳ ± ۴/۵^{b}	۲۱۰/۴۱ ± ۶/۵^{a}
بازگشت تعادل (ثانیه)	۱۷۱/۱۳ ± ۵/۳^{a}	۱۵۸/۱۰ ± ۱/۹^{b}	۱۳۴/۲۶ ± ۴/۶^{d}	۱۴۲/۱۷ ± ۴/۶^{c}
احیا کامل (ثانیه)	۲۰۳/۴۸ ± ۱۰/۲^{a}	۱۸۹/۳۱ ± ۶/۲^{b}	۱۹۱/۲۴ ± ۴/۶^{b}	۱۸۰/۶۲ ± ۶/۱^{c}

* حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) بین گروه‌هاست.

با توجه به نتایج به‌دست آمده (جدول ۲) کم‌ترین غلظت اسانس گل میخک برای ایجاد بی‌هوشی در ماهی آنجل ۵۰ قسمت در میلیون تعیین شد که به‌طور میانگین طی مدت زمان ۱۰۹/۵±۱۴/۷ ثانیه باعث از دست رفتن تعادل ماهیان شد و به‌طور متوسط در مدت زمان ۱۴۶/۱۸±۴/۵ثانیه موجبات بی‌هوشی ماهیان را فراهم کرد، متوسط زمان‌های لازم برای بازگشت تعادل و بازگشت واکنش‌پذیری ماهی نسبت به محرک‌های خارجی در این گونه و این دوز به‌ترتیب ۱۳۲/۱۴±۱/۹ و ۲۱۱/۸±۱۸/۸ ثانیه بود. کم‌ترین غلظت اسانس گل میخک برای القا بی‌هوشی در ماهی گوپی ۵۰ قسمت در میلیون تعیین شد. متوسط زمان‌های لازم برای از دست رفتن تعادل و القا بی‌هوشی در این غلظت به‌ترتیب ۱۲۳/۴±۳/۴ و ۱۷۸/۸±۷/۴ بود، هم‌چنین زمان‌های لازم برای بازگشت تعادل و بازگشت واکنش‌پذیری ماهیان این گونه نسبت به محرک‌های خارجی در دوز ۵۰ قسمت در میلیون به‌ترتیب ۱۳۱/۱±۳/۷ و ۲۰۸/۷±۷/۴ ثانیه بودند (جدول ۳). براساس نتایج به‌دست آمده، کم‌ترین غلظت لازم جهت القا بی‌هوشی در ماهی طلایی ۷۵ قسمت در میلیون تعیین شد، که به‌طور میانگین در مدت ۱۰۱/۱۰±۱۸/۱ ثانیه سبب از دست رفتن تعادل ماهیان شد و در مدت زمان ۱۵۵/۲۳±۴/۵ ثانیه بی‌هوشی را در این گونه القا کرد. متوسط زمان‌های لازم برای بازگشت تعادل و بازگشت از بی‌هوشی در غلظت ۷۵ قسمت در میلیون برای ماهی طلایی به‌ترتیب ۱۳۴/۲۶±۴/۶ و ۱۹۱/۴±۲۴/۶ بودند (جدول ۴). مشاهده رفتار ماهیان بی‌هوش‌شده در مدت ۹۶ساعت پس از بی‌هوشی بیانگر بی‌خطر بودن اسانس گل میخک در غلظت‌های به‌کار گرفته شده در این پژوهش برای ماهی آنجل، گوپی و طلایی می‌باشد، زیرا هیچ‌گونه اثر جانبی شامل تغییرات ظاهری مانند تغییر رنگ، تغییرات رفتاری مانند مشکل در شنا و مشکلات تنفسی درماهیان قرارگرفته درمعرض داروی بی‌هوشی مشاهده نشد. هم‌چنین در طول مدت مذکور هیچ‌گونه تلفاتی در ماهیان رخ نداد. در شکل ۱ زمان القا مراحل مختلف بی‌هوشی و بازگشت از آن‌ها در سه گونه آنجل، گوپی و طلایی به‌صورت جداگانه و مرحله به مرحله با هم مقایسه شده است. از این مقایسه می‌توان دریافت که در تمام غلظت‌های به‌کار گرفته شده القا مراحل مختلف بی‌هوشی با اسانس گل میخک در ماهی آنجل نسبت به دو گونه گوپی و طلایی سریع‌تر اتفاق می‌افتد، هم‌چنین القا مراحل مختلف بی‌هوشی با اسانس گل میخک در ماهی گوپی در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون نسبت به ماهی طلایی سریع‌تر است. در مورد مراحل بازگشت از بی‌هوشی روند مشخصی دیده نمی‌شود، به طوری‌که بین غلظت‌های توصیه شده (۵۰ و ۷۵ قسمت در میلیون) و حتی غلظت بالاتر از آن‌ها تفاوت محسوسی در مدت زمان لازم جهت بازگشت تعادل مشاهده‌نشد. در مورد مرحله بازگشت کامل از بی‌هوشی (احیا کامل) سریع‌ترین بازگشت در ماهی طلایی دیده می‌شود و در مورد ماهیان آنجل و گوپی در غلظت‌های پایین (۵۰ و ۷۵ قسمت در میلیون) تفاوت کمی مشاهده می‌شود.



شکل ۱: مقایسه مراحل مختلف بی‌هوشی و بازگشت از آن در ماهی آنجل، گوپی و طلایی تحت تاثیر اسانس گل میخک

بحث

درخصوص مکانیزم اثر بی‌هوشی اسانس گل میخک اطلاعات دقیقی در دست نمی‌باشد. اما احتمال داده می‌شود که این ماده دارای اثراتی مشابه استامینوفن بر سیستم اعصاب مرکزی بوده و بدون مهار کردن محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- بافت بینابینی کلیه موجب ایجاد بی‌هوشی در ماهی می‌شود (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۳؛ Feng و همکاران، ۱۹۸۷). هم‌چنین از آن‌جاکه منطقه اصلی ورود و خروج مواد بی‌هوش‌کننده در ماهی آبشش‌ها هستند و میزان عبور این مواد از آبشش‌ها و جذب آن‌ها در مغز بستگی زیادی به درجه یونیزاسیون و قابلیت انحلال آن‌ها در چربی دارد (Hikasa و همکاران، ۱۹۸۶؛ Keene و همکاران، ۱۹۹۸)، می‌توان القا سریع و احیا طولانی مدت از بی‌هوشی ایجاد شده توسط اسانس گل میخک را به قابلیت انحلال بالای آن در چربی و از سوی دیگر به تاثیری که اسانس گل میخک و ماده موثر آن یعنی اوژنول بر سیستم عصبی ماهی می‌گذارد و موجب می‌شود که ماهی فعالیت تنفسی خود را به کندی انجام‌دهد و درنتیجه ترکیب‌های اسانس دیرتر از بدن ماهی خارج شود (محمدی‌ارانی، ۱۳۸۵؛ Hikasa و همکاران، ۱۹۸۶؛ Munday و همکاران، ۱۹۹۷؛ Keene و همکاران، ۱۹۹۸) نسبت داد.

در مطالعه حاضر حداقل دوز بی‌هوش‌کننده اسانس گل میخک برای ماهی آنجل ۵۰ قسمت در میلیون تعیین شد، هم‌چنین استفاده از اسانس گل میخک در غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون اثر جانبی و تلفاتی در ماهی آنجل نداشت. Fujimoto و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند غلظت ۹۰ میکرولیتر در لیتر اسانس گل میخک در ۱۷۵ ثانیه بی‌هوشی را در ماهی آنجل القا کرد، هم‌چنین زمان بازگشت از بی‌هوشی برای این غلظت ۱۴۸ ثانیه بود. در سایر غلظت‌های به‌کار گرفته شده (۶۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰ و ۲۱۰ میکرولیتر در لیتر) نیز زمان بازگشت ماهی از بی‌هوشی زیر ۵ دقیقه گزارش شد. هم‌چنین این محققان نشان دادند اسانس میخک به‌خوبی موجب کاهش قدرت انقباض عضلانی در ماهیان آنجل بی‌هوش‌شده گردید. Tarkhani و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند، ۴۹ تا ۱۲۸ ثانیه بعد از مواجهه ماهیان آنجل (سایزهای مختلف) با ۱/۲۵ تا ۷ میلی‌گرم در لیتر یوگنول، ماهیان به مرحله از دست دادن تعادل رسیدند و بعد از ۵۵ تا ۱۳۵ ثانیه بی‌هوشی عمیق در آن‌ها القا شد. بازگشت از بی‌هوشی نیز ۳۹۳ تا ۵۹۷ ثانیه به‌طول انجامید. آن‌ها نشان دادند با افزایش غلظت یوگنول زمان القا بی‌هوشی کاهش و زمان بازگشت از بی‌هوشی افزایش می‌یابد. آن‌ها کم‌ترین غلظت یوگنول برای القا بی‌هوشی در کم‌تر از ۳ دقیقه برای ماهی آنجل (سایزهای مختلف) را غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر تعیین کردند. این محققین یوگنول را بی‌هوش‌کننده‌ای موثر و ایمن برای ماهی آنجل توصیف کردند. Mitjana و همکاران (۲۰۱۴) کم‌ترین غلظت بی‌هوش‌کننده اسانس گل میخک برای ماهی آنجل را ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تعیین کردند. Chellapan و همکاران (۲۰۱۳) پایین‌ترین میزان پارامترهای متابولیسم تنفسی در ماهیان آنجل بی‌هوش‌شده با اسانس گل میخک را در غلظت ۴۵ قسمت در میلیون گزارش کردند. Millán-Ocampo و همکاران (۲۰۱۲) موثرترین غلظت بی‌هوش‌کننده یوگنول برای ماهی آنجل را ۴۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش کردند. از جمله دلایل تفاوت در غلظت‌های توصیه شده توسط محققین مختلف می‌توان به تفاوت در میزان ترکیبات اسانس‌های مورد استفاده، دمای آب آکواریوم بی‌هوشی، خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب آکواریوم بی‌هوشی مانند pH و سختی و خطا محقق در تشخیص درست مراحل بی‌هوشی و غیره اشاره کرد.

در مطالعه حاضر حداقل دوز بی‌هوش‌کننده اسانس گل میخک برای ماهی گوپی ۵۰ قسمت در میلیون تعیین شد، هم‌چنین استفاده از اسانس گل میخک در غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون اثر جانبی و تلفاتی در ماهی گوپی نداشت. Cunha و همکاران (۲۰۱۵) غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر اسانس گل میخک را برای القا بی‌هوشی در ماهیان بالغ نر گوپی، و غلظت‌های ۷۵ تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر را برای بی‌هوشی ماهیان بالغ ماده و ماهیان جوان گوپی پیشنهاد کردند. Kroon (۲۰۱۵) غلظت مناسب برای بی‌هوشی ماهی گوپی را بین ۴۰ تا ۸۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش کرد، که نتایج مطاله حاضر را تایید می‌کند. Doleželová و همکاران (۲۰۱۱) LC۵۰ ۹۶ ساعت اسانس گل میخک برای ماهی گوپی را حدوداً ۱۸ میلی‌گرم در لیتر گزارش کردند. Jayathilake و همکاران (۲۰۰۳) غلظت ۲۰ میکرولیتر در لیتر را برای تسکین ماهیان گوپی ماده وحشی توصیه کردند. در مطالعه تجری و همکاران (۱۳۹۱) غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس گل میخک در ۱۱۰ ثانیه بی‌هوشی را در ماهی گوپی ماده القا کرد، زمان بازگشت از بی‌هوشی در این غلظت ۸۳ ثانیه گزارش شد. هم‌چنین آن‌ها گزارش دادند در غلظت‌های بالاتر اسانس گل میخک زمان القا بی‌هوشی کاهش و زمان بازگشت از بی‌هوشی افزایش می‌یابد به‌طوری‌که در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر زمان القا بی‌هوشی ۴۴ ثانیه و زمان بازگشت از بی‌هوشی ۱۵۵ ثانیه گزارش شد. نتایج مطالعه اخیر موید نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر می‌باشد.

در مطالعه حاضر حداقل دوز بی‌هوش‌کننده اسانس گل میخک برای ماهی طلایی ۷۵ قسمت در میلیون تعیین شد، هم‌چنین استفاده

از اسانس گل میخک در غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون اثر جانبی و تلفاتی در ماهی طلایی نداشت. Gholipourkanani و همکاران (۲۰۱۵) زمان القا بی‌هوشی سبک در ماهی طلایی با غلظت ۵۰ قسمت در میلیون اسانس گل میخک را بیش از ۶ دقیقه گزارش کردند، زمان بازگشت از بی‌هوشی در این ماهیان نیز بیش از ۱۲ دقیقه گزارش شد. Abdolazizi و همکاران (۲۰۱۱) زمان لازم برای القا بی‌هوشی در ماهی طلایی با غلظت ۷۵ قسمت در میلیون اسانس گل میخک را ۱۸۰ ثانیه گزارش کردند. Perdikaris و همکاران (۲۰۱۰) زمان لازم برای القای بی‌هوشی در ماهیان طلایی کوچک (۱/۵ تا ۷ سانتی‌متر) با غلظت ۷۵ قسمت در میلیون را ۸۴ ثانیه گزارش کردند. نتایج این پژوهش‌ها نتایج به‌دست آمده در این مطالعه را تایید می‌کند.

برای تعیین بی‌خطر بودن مصرف اوژنول برای انسان، آزمایش‌های گسترده‌ای صورت گرفته است. سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا (USAFDA) میخک، اسانس میخک و اوژنول را وقتی در سطوح کم‌تر از ۱۵۰۰ppm مصرف شوند، به‌عنوان مواد بی‌خطر برای انسان معرفی کرده است. علاوه بر این مشخص شده است که اوژنول و مشتقات آن به‌سرعت از خون و بافت‌های انسان خارج می‌گردند و موجب ایجاد سرطان نمی‌شود (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۸۱).

در مقایسه و تعیین ارجحیت داروها لازم است کیفیت اثر، اثرات سمی و جانبی، پایداری دارو در شرایط محیط نگه‌داری، سهولت تهیه و کاربرد و خصوصاً در مصارف دام و آبزیان قیمت آن‌ها را مورد توجه قرار داد (ابطحی و همکاران، ۱۳۸۱). در مقایسه بین اسانس گل میخک و سایر داروهای بی‌هوشی متداول در خصوص آبزیان اسانس گل میخک هم به‌لحاظ کیفیت اثر بی‌هوش‌کننده و هم به‌لحاظ اثرات جانبی و سمی و هم‌چنین سهولت تهیه، نگه‌داری، کاربرد و قیمت تمام شده نسبت به بی‌هوش‌کننده‌هایی نظیر MS۲۲۲ دارای ارجحیت می‌باشد. در مطالعه حاضر استفاده از اسانس گل میخک در سه گونه از ماهیان زینتی تلفات و اثرات جانبی ملموسی به‌همراه نداشت، در مقایسه فرآیند بازگشت از بی‌هوشی سه گونه تفاوت زیادی بین گونه‌ها در غلظت‌های مختلف دیده نشد و عمدتاً ماهیان در کم‌تر از ۵ دقیقه احیا شدند، این مسئله به نوعی بیانگر ایمن بودن اسانس گل میخک به عنوان یک داروی بی‌هوشی در گونه‌های مختلف ماهیان زینتی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از اداره کل شیلات سیستان به‌دلیل در اختیار قرار دادن ماهی و امکانات سالن تکثیر و پرورش ماهیان زینتی تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید. هم‌چنین از آقایان دکتر مصطفی غفاری و عبدالعلی راهداری به‌خاطر کمک‌هایشان تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید. دوره پرورش، سن ماهیان نیز بر شدت بروز تغییرات بافتی مؤثر می‌باشد.

منابع

۱. **ابطحی، ب.؛ شریف‌پور، ع.؛ آقاجانپور، م.؛ رسولی، ع.؛ فقیه زاده، س.؛ امیدبیگی، ر. و نظری، ر.م.، ۱۳۸۱.** مقایسه LC_{50} اسانس گل میخک و MS_{222} در بچه‌ماهیان تاس‌ماهی ایرانی، قزل آلای رنگین‌کمان و کپور معمولی. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۱۱، صفحات ۱ تا ۱۲.

۲. **پاپهن، ا.؛ پیغان، ر. و مدرسی، ش.، ۱۳۸۴.** بررسی تغییرات الکتروکاردیوگرافیک بی‌هوشی با کتامین در ماهی کپور علف‌خوار. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۶۰، شماره ۱، صفحات ۵۹ تا ۶۴.

۳. **تجری، م.؛ عظیمی، ع.؛ کلنگی‌میاندره، ح.؛ ایزی، ر. و شریف زاده، ع. ۱۳۹۱.** اثر اسانس گل میخک بر بی‌هوشی ماهی گوپی ماده (*Poecilia reticulata*). فصلنامه زیست‌شناسی جانوری. سال ۴، شماره ۴، صفحات ۲۱ تا ۲۶.

۴. **زرگری، ع.، ۱۳۷۶.** گیاهان دارویی. چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران. ۴۱۳ صفحه.

۵. **سلطانی، م.؛ امیدبیگی، ر.؛ رضوانی، س.؛ مهرابی، م.ر. و چیت ساز، ح.، ۱۳۸۰.** مطالعه اثرات هوشبری اسانس و عصاره گل میخک در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان تحت برخی شرایط کیفی آب. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۶، شماره ۴، صفحات ۸۹ تا ۸۵.

۶. **سلطانی، م.؛ غفاری، م.؛ خضرائی‌نیا، پ. و بکایی، س.، ۱۳۸۳.** مطالعه اثرات بی‌هوشی اسانس گل میخک هندی بر پارامترهای هماتولوژیک، برخی آنزیم‌های خون و آسیب‌شناسی بافت‌های مختلف ماهی کپورمعمولی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۹، شماره ۳، صفحات ۲۹۵ تا ۲۹۹.

۷. **شریف‌پور، ع.؛ سلطانی، م.؛ عبدالحی، ح. و قیومی، ر.، ۱۳۸۱.** اثر بی‌هوش‌کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه‌ماهیان کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران. شماره ۴، صفحات ۷۴ تا ۵۹.

۸. **شریف‌روحانی، م.؛ حقیقی، م.؛ عصائیان، ح. و لشتوآقایی، غ.ر.، ۱۳۸۶.** بررسی اثر بی‌هوشی اسانس آویشن شیرازی *Zataria multiflora* Boiss. (Labiatae) بر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo*

trutta caspius) و ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. شماره ۴، صفحات ۱۰۶ تا ۹۹.

۹. **محمدی‌ارانی، م.، ۱۳۸۵.** بررسی اثر اسانس میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر بی‌هوشی بچه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۲، شماره ۳، صفحات ۱۶۲ تا ۱۸۸.

۱۰. **میرحیدری، ح.، ۱۳۷۲.** معارف گیاهی. جلد دوم، چاپ اول، تهران، دفتر نشر فرهنگ اسلامی. ۵۱۰ صفحه.

۱۱. **Abdolazizi, S.; Ghaderi, E.; Naghdi, N. and Bahrami Kamangar, B., 2011.** Effects of Clove Oil as an Anesthetic on Some Hematological Parameters of *carassius auratus*. J Aquac Res Development. Vol. 2, No. 1, pp: 1-3.

۱۲. **Caamano Tubio, R.I.; Weber, R.A. and Aldegunde, M., 2010.** Home tank anesthesia: a very efficient method of attenuating handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). J. Appl. Ichthyol. Vol. 26, pp: 116-117.

۱۳. **Chellapan, A.; Rajagopalsamy, C.B.T. and Jasmine, G.I., 2013.** Effect of clove oil and benzocaine on the respiratory metabolism of angel fish *Pterophyllum scalare.* Indian Journal of Science and Technology. Vol. 6, No. 7, pp: 4853-4861.

۱۴. **Cotter, P.A. and Rodnick, K.J., 2006.** Differential effects of anesthetics on electrical properties of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) heart. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 145, pp: 158-165.

۱۵. **Cunha, L.; Geraldo, A.M.R.; Silva, V.C.; Cardoso, M.S.; Tamajusuku A.S.K. and Hoshiba, M.A., 2015.** Clove oil as anesthetic for guppy**.** Bol. Inst. Pesca, São Paulo. Vol. 41, pp: 729-735.

۱۶. **Doleželová, P.; Mácová, S.; Plhalová, L.; Pištěková, V. and Svobodová Z., 2011.** The acute toxicity of clove oil to fish *Danio rerio* and *Poecilia reticulate.* ACTA VET. BRNO. Vol. 80, pp: 305-308.

۱۷. **Feng, J. and Lipton, J.M., 1987.** Eugenol: Antipyretic activity in Rabbits. Neuropharmacology. Vol. 26, No. 12, pp: 1775-1778.

۱۸. **Fujimoto, R.Y.; Pereira, D.M.; Silva, J.C.S.; de Oliveira, L.C.A.; Inoue, L.A.K.A.; Hamoy, M.; de Mello, V.J.; Torres, M.F. and Barbas L.A.L., 2017.** Clove oil induces anaesthesia and blunts muscle contraction power in three Amazon fish species. Fish Physiol. Biochem. pp: 1-12.

۱۹. **Gholipourkanani, H.; Gholinasab-Omran, I.; Ebrahimi, P. and Jafaryan, H., 2015.** Anesthetic Effect of clove oil loaded on lecithin based nano emulsions in gold fish, *Carassius auratus.* Journal of Fisheries and Aquatic Science. Vol. 10, No. 6, pp: 553-561.

۲۰. **Green, C.J., 1979.** Animal Anaesthesia, Laboratory Animal Handbooks, No. 8, Laboratory Animals Ltd., London. 300 p.

۲۱. **Hikasa, Y.; Takase, K.; Ogasawara, T. and Ogasawara, S., 1986.** Anaesthesia and recovery with tricane methanesul phonate, eugenol and thiopental sodium in the carp (*Cyprinus carpio*). Japanese Journal of Veterinary Science. Vol. 48, pp: 341-351.

۲۲. **Hilton, J.W. and 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*-sulphobromopthalein clearance. J. Fish Dis. Vol. 5, No. 3, pp: 185-195.

۲۳. **Jayathilake, P.S.; De Silva, D.D.N. and Edirisinghe, U., 2003.** Use of clove oil in sedating female wild guppy (*Poecilia reticulata*) for an extended period of time. Proceedings of the Peradeniya University Research Sessions. Vol. 8, pp: 194-207.

۲۴. **Karapmar, M., 1990.** Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of Aspergillus parasiticus. International Journal of Food Microbiology. Vol. 10, pp: 193-200.

۲۵. **Kazun, K. and Siwicki, A.K., 2001.** Propiscin a safe new anaesthetic for fish. Arch. Pol. Fish. Vol. 9, pp: 183-190.

۲۶. **Keene, J.L.; Noakes, D.L.G.; Moccia, R.D. and Soto, C.G., 1998.** The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhyncus mykiss* (Walbaum). Aquac. Res. Vol. 29, pp: 89-101.

۲۷. **Kikuchi, T.; Sekizawa, Y. and Ikeda, Y., 1974.** Behavioural analyses of the central nervous system depressant activity of 2-amino-4-phenythiazole upon fishes. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. Vol. 40, No. 4, pp: 325-337.

۲۸. **Kroon, F.J., 2015.** The efficacy of clove oil for anaesthesia of eight species of Australian tropical freshwater teleosts. Limnology and Oceanography: Methods. Vol. 13, pp: 463-475.

۲۹. **Meinertz, J.R.; Greseth, S.L.; Schreier, T.M.; Bernardy, J.A. and Gingerich, W.H., 2006.** Isoeugenol concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin-on fillet tissue after exposure to AQUI-S ™ at different temperatures, durations, and concentrations. Aquaculture. Vol. 254, pp: 347-354.

۳۰. **Millán-Ocampo, L.; Torres-Cortés, A.; Marín-Méndez, G.A.; Ramírez-Duart, W.; Vásquez-Piñeros, M.A. and Rondón-Barragán, I.S., 2012.** Anesthetic concentration of eugenol in angelfish (*Pterophyllum scalare*). Rev Inv Vet Perú. Vol. 23, No. 2, pp: 171-181.

۳۱. **Mitjana, O.; Bonastre, C.; Insua, D.; Falceto, M.V.; Esteban, J.; Josa, A. and 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. Vol. 433, pp: 491-495.

۳۲. **Moleyar, V. and Narasimham P., 1992.** Antibacterial activity of essential oil components. International Journal of Food Microbiology. Vol. 16, pp: 337-342.

۳۳. **Munday, P.L. and Wilson, S.K., 1997.** Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *pomacentrus amboinesnsis*, a coral reef fish. Journal of Fish Biology. Vol. 51, pp: 931-938.

۳۴. **Perdikaris, C.; Nathanailides, C.; Gouva, E.; Gabriel, U.U.; Bitchava, K.; Athanasopoulou, F.; Paschou, A. and Paschos, I., 2010.** Size-relative Effectiveness of Clove Oil as an Anaesthetic for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) and Goldfish (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758). ACTA VET. BRNO. Vol. 79, pp: 481-490.

۳۵. **Rajakumar, D.V. and Rao, M.N.A., 1993.** Dehydrozingerone and isoeugenol as inhibitors of lipid peroxidation and as free radical scavengers. Biochemical Pharmacology. Vol. 46, pp: 2067-2072.

۳۶. **Ross, L.G. and Ross, B., 2008.** Anaesthesia and Sedation of Aquatic Animals. Third Edition. Wiley-Blackwell. 340 p.

۳۷. **Siddiqui, Y.M., 1996.** Effect of essential oils on the enveloped viruses: antiviral activity of oregano and clove oils on herpes simplex virus type I and Newcastle disease virus. Med. Sci. Res. Vol. 24, pp: 185-186.

۳۸. **Siwicki, A., 1984.** New anaesthetic for fish. Aquaculture. Vol. 38, pp: 171-176.

۳۹. **Stoelting, R.K. and Miller, R.D., 1994.** Basics of anaesthesia, 3rd edition, Churchill livingstone. pp: 67-72.

۴۰. **Tarkhani, R.; Imani, A.; Jamali, H. and Ghafari Farsani, H., 2017.** Anaesthetic efficacy of eugenol on various size classes of angelfish (*Pterophyllum scalare* Schultze, 1823). Aquaculture Research. Vol. 48, No. 10, pp: 1-8.

۴۱. **Velisek, J. and Svobodova, Z., 2004.** Anaesthesia of Rainbow Trout *(Oncorhynchus mykiss)* with 2-phenoxyethanol: Acute Toxicity and Biochemical Blood Profile**.** ACTA VET. BRNO. Vol. 73, pp: 379-384.

۴۲. **Wicker, P., 1993.** Local anaesthesia in the operating theatre. Nurs-times. Vol. 90, pp: 34-35.