اثر بیهوش کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

عیسی شریف پور[۱] ؛ مهدی سلطانی[۲] ؛ حسین عبدالحی[۳]؛ راضیه قیومی[۴]

issasharifpour@yahoo.com

۱ و ۳ ـ شرکت سهامی شیلات ایران، تهران خیابان فاطمی غربی، پلاک ۲۵۰

۲ ـ دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، صندوق پستی: ۶۴۵۳-۱۴۱۵۵

۴ ـ اداره حفاظت محیط زیست، گلپایگان

تاریخ دریافت : آبان ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش : دی ۱۳۸۱

چکیده

اثرات بیهوش‌کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با میانگین وزنی ۱۲/۹۱ گرم و انحراف معیار ۲/۲۹ بررسی و برای تعیین تأثیر برخی عوامل کیفی آب شامل درجه حرارت و pH در قدرت ایجاد بیهوشی و بازگشت از آن، از غلظتهای مختلف اسانس استفاده گردید. در کلیه آزمایشها چهار متغیر شامل : زمان از دست دادن تعادل، زمان ایجاد بیهوشی، زمان ایجاد بازگشت تعادل و زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی اندازه‌گیری و ثبت شد. نتایج نشان داد که اسانس میخک در تمامی آزمایشها، بیهوشی مورد نظر را در زمانی کمتراز سه دقیقه ایجاد می‌کند، ولی زمانهای بازگشت تعادل و بازگشت واکنش به محرک خارجی در بیشتر موارد طولانی‌تر از پنج دقیقه بود. بهترین عملکرد اسانس گل میخک در غلظت ۱۰۰ppm و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و pH‌های ۷ و ۸ و نیز دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و pH ۹ آب مشاهده گردید. در این تحقیق اسانس گل میخک به عنوان یک بیهوش کننده مناسب برای بچه ماهی کپور معمولی مورد تائید قرارگرفت و در هیچ مرحله‌ای تلفات مشاهده نشد.

لغات کلیدی: کپور معمولی، بیهوشی، اسانس گل میخک

مقدمه

استفاده از مواد بیهوش کننده برای ماهیها کاربردهای بسیاری دارد. در مراکز تکثیر و پرورش ماهی برای کاهش استرس و آرام‌سازی ماهیان مولد طی اجرای عملیات تکثیر مصنوعی، جراحی و حمل و نقل ماهیان از منطقه‌ای به منطقه دیگر و نیز برای اهداف تحقیقاتی، استفاده از موادی که بتوانند ماهیان را آرام نموده تا چنین فعالیتهایی با حداقل ضایعات همراه باشد، ضروری است.

ملاکهایی برای ارزیابی یک ماده بیهوشی مطلوب در آبزی پروری و تحقیقات مربوطه توسط Summerfelt & Smith, 1990 ; Stoskopf, 1993 ; Keene *et al.*, 1998 و Needham, 1990 بیان شده است که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد.

در برابر درد بی‌حسی ایجاد کند، عدم تحرک و شلی عضلات را به خوبی فراهم کند، زمان ایجاد بیهوشی کمتراز ۱۵ دقیقه و ترجیحاً کمتر از ۳ دقیقه باشد، زمان بازگشت از بیهوشی کوتاه و حدود ۵ دقیقه یا کمتر و بدون هر نوع مشکلی باشد، مقادیر مصرفی برای ماهی سمی نباشد، حاشیه ایمنی آن وسیع باشد، به آسانی در دسترس باشد، برای انسان زیانی نداشته باشد، اثرات مداوم و پایدار در رفتار و فیزیولوژی ماهی باقی نگذارد، به سرعت دفع یا متابولیزه شود و در بافتها باقی نماند و نیازی به دوره دفع دارو نباشد، در اثر تکرار مصرف مشکلی پیش نیاید، ترجیحاً در حلالهای آبی قابل حل باشد، بسرعت در محیط به مواد بی‌خطر تجزیه شود و طول عمر آن زیاد نبوده و ارزان باشد.

تاکنون تحقیقاتی در مورد استفاده از اسانس گل میخک برای بیهوشی برخی گونه‌های ماهیان پرورشی و وحشی بعمل آمده است که از آن جمله می‌توان به قزل‌آلای رنگین کمان (Anderson *et al.*, 1997 ; Keen *et al.*, 1998 و چیت‌ساز، ۱۳۷۹)، گونه‌هایی از صافی ماهیان (*Siganus argestus* و *Siganus lineatus*) (Soto & Burhanuddin, 1995) Tamaru, *et al.*,) 1996) ؛ نوعی ماهی تپه‌های مرجانی (*Pomacentrus amboinensis*) (Wilson & Munday, 1997) ; (Erdmann, 1999) ؛ باس دهان کوچک (*Micropterus dolomieu*) (Peake, 1998) ؛

اردک ماهی (*Esox Lucius*) (Peake, 1998) ؛ ماهی خاویاری دریاچه‌ای (*Acipenser fulvescens*) (Peake,1998)؛ تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser percicus*) (محمدی‌ارانی، ۱۳۷۹)؛ ماهی Walleyes (*Stizostedion vitreum*) (Peake, 1998)و گربه ماهی روگاهی (*Icthalurus punctatus*) (Waterstart, 1999) اشاره نمود.

این تحقیقات نشان می‌دهد که اسانس میخک اثرات بیهوش‌کنندگی مطلوبی در بیشتر ماهیان آزمایش شده دارد. همچنین مهرابی در سال ۱۳۷۶ از پودر گل میخک برای بیهوشی قزل‌آلای رنگین کمان استفاده کرد و توصیه نمود که می‌توان از پودر گل میخک به جای داروهای شیمیائی رایج استفاده کرد. چیت ساز در سال ۱۳۷۹ و محمدی ارانی در سال ۱۳۷۹ علاوه براسانس، از عصاره گل میخک برای بیهوشی ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان و بچه تاسماهی ایرانی استفاده کرده و نشان دادند که عصاره‌های آبی و آبی-الکلی گل میخک قادر به ایجاد بیهوشی در این ماهیان نیستند.

از نظر ترکیب شیمیایی، اسانس میخک دارای اوژنول[1] (۷۰ تا ۹۰ درصد)، استات اوژنول (کمتر از ۱۷ درصد)، کاریوفیلین (۱۲ درصد) و مواد دیگر می‌باشد. ارزش تجارتی اسانس بستگی به درصد اوژنول آن به فرمول $C_{10}\ H_{12}\ O_2$ دارد (کلوس و همکاران، ۱۹۷۳ ؛ Soto & Keene *et al.*, 1998 ; Burhanuddin, 1995).

با توجه به وارداتی بودن داروهای شیمیایی نظیر MS222 برای بیهوشی ماهیان و گران قیمت بودن آنها، این مطالعه به منظور بررسی اثرات بیهوش‌کنندگی اسانس گل میخک با نام علمی *Syzygium aromaticum* مترادف *Eugenia caryophyllata* در ماهی کپور معمولی و همچنین تأثیر برخی فاکتورهای کیفی آب شامل در جه حرارت و pH در قدرت ایجاد بیهوشی و بازگشت از آن انجام گردیده است.

---

1 - Eugenol

مواد و روشها

برای تهیه اسانس میخک از غنچه خشک شده درخت میخک استفاده گردید. اسانس از فرآیند تقطیر توسط دستگاه کلونجر به روش فارماکوپه مجارستان (Hungarian Pharmacopoeia Gnotot Planta Medicina Budapest) و عصاره به روش خیساندن تهیه گردید. برای محدود کردن اثرات نور و دما، ماده مذکور در ظروف شیشه‌ای سربسته و داخل یخچال نگهداری می‌شد. تعداد ۳۲۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۱۲/۹۱ گرم و انحراف معیار ۲/۲۹ که همگی حاصل از تکثیر ماهی سال ۱۳۷۹ در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان شهید رجایی ساری بودند، مورد استفاده قرار گرفت. بچه ماهیان مورد آزمایش، بمدت ۲ هفته قبل از انجام آزمایشات به منظور آداپتاسیون در محل جدید نگهداری شدند. لازم به ذکر است که ۲۴ ساعت پیش از انجام آزمایشها و نیز در مدت انجام آزمایشها برای مشخص شدن بهتر اثرات ماده بیهوشی و شرایط کیفی آب بر روند بیهوشی و بازگشت از آن، ماهیها تغذیه نمی شدند. برای نگهداری ماهیها قبل و بعد از انجام آزمایشهای بیهوشی، تعداد ۵ حوضچه از جنس فایبرگلاس به ابعاد ۶۰×۱۷۰×۱۹۰ سانتیمتر استفاده شدند که هر کدام محتوی حدود ۱۳۰۰ لیتر آب با هوادهی خوب بودند.

در کلیه آزمایشها از روش غوطه‌ورسازی ماهی در محلول بیهوشی استفاده شد. محلول بیهوشی در ظرفی محتوی سه لیتر آب با هوادهی خوب و برای هر حالت به صورت جدید تهیه می‌گردید. قبل از انجام هر یک از ترکیبهای آزمایشی، ماهیها به تعداد مورد نیاز از حوضچه‌های فایبرگلاس به داخل آزمایشگاه منتقل و با تراکمی مناسب در ظرفهایی محتوی ۱۰ لیتر آب با هوادهی بوسیله سنگ هوا، قرار داده می‌شدند. هر ماهی بطور تصادفی و بوسیله تور دستی کوچکی گرفته شده و به ظرف بیهوشی منتقل و قبل از انتقال، برای مشاهده دقیق اثرات ماده بیهوشی بر ماهی، هوادهی به ظرف بیهوشی قطع می‌شد. پس از بیهوشی، ماهی توزین شده و سپس به آکواریوم بازگشت، با ابعاد ۳۶×۳۶×۳۶ سانتیمتر، محتوی ۲۵ لیتر آب و هوادهی با استفاده

از سنگ هوا، منتقل می‌گردید. دما، pH و سختی آب در محلهای نگهداری ماهیها بطور مداوم اندازه‌گیری می‌شد. میزان سختی آب در همه آزمایشها ثابت و حدود ppm ۳۲۰ تعیین گردید. تغییرات دما بتدریج (برای سازگاری ماهیها) و با استفاده از آب گرم یا سرد و تغییرات pH با استفاده از اسید کلریدریک و هیدرکسید سدیم یک مولار صورت می‌گرفت. پس از اتمام هر یک از ترکیبهای آزمایشی، ماهیهااز آکواریوم بازگشت، به حوضچه‌هامنتقل شده و به مدت یک هفته برای مشاهده تلفات احتمالی تحت نظر قرار می‌گرفتند.

در هریک از ترکیبهای آزمایشی چهار متغیر زمان از دست دادن تعادل[۱] (T.L.E)، زمان ایجاد بیهوشی[۲] (T.I.A) (پس ازانتقال ماهی از محل نگهداری به ظرف حاوی محلول بیهوشی)، زمان بازگشت تعادل[۳] (T.E.R) و زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی[۴] (T.R.R) (پس از انتقال ماهی از ظرف حاوی محلول بیهوشی به آکواریوم بازگشت)، با یک کورنومتر اندازه‌گیری شد. در این تحقیق، سطح (۲) از مرحله II بیهوشی برای زمان از دست دادن تعادل در نظر گرفته شد که در این سطح، ماهی کوششی برای مستقیم نگهداشتن خود نمی‌کند. سطح (۱) از مرحله III بیهوشی برای زمان ایجاد بیهوشی در نظر گرفته شد که در این سطح، ماهی کاملاً بی‌حرکت است و به فشاری که بر ساقه دمی‌اش با انگشت وارد می‌شود واکنشی نشان نداده ولی به فشار زیادی که با وسیله‌ای نوک تیز وارد می‌شود واکنش نشان می‌دهد (موبر و همکاران، ۱۹۹۴). مرحله (۳) بازگشت برای زمان بازگشت تعادل در نظر گرفته شد که ماهی کاملاً تعادلش را حفظ می‌کند و مرحله (۴) بازگشت برای زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی در نظر گرفته شد که در این مرحله ماهی به محرک خارجی از جمله ضربه‌زدن به شیشه آکواریوم

1- Time of Losing the Equilibrium

2- Time of Induce Anaesthesia

3-Time of Equilibrium Recovering

4- Time of Response Recovery

پاسخ می‌دهد (Keene *et al.*, 1998).

برای بررسی چگونگی اثرات غلظت ماده بیهوشی ، دما و pH آب بر قدرت ایجاد بیهوشی و بازگشت از آن، طرح آماری بصورت طرح آزمایشهای عاملی با پنج تکرار و آزمون تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گردید که سطح آزمون نیز a = ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. با توجه به نتایج آزمایشهای مقدماتی، منابع موجود و میانگین‌های دما و pH در مراکز تکثیر و پرورش شیلات در استانهای شاخص طی دوره تکثیر و پرورش، برای هر عامل چهار سطح شامل: غلظتهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ppm، دماهای ۱۷، ۲۱، ۲۵ و ۳۰درجه سانتیگراد و پی‌اچ‌های ۶، ۷، ۸ و ۹ در نظر گرفته شد.

در این آزمایش عاملی، ۶۴ ترکیب آزمایشی موجود بود که از ۱ تا ۶۴ شماره‌گذاری و هر یک از ترکیبها بطور تصادفی انتخاب و آزمایش‌های مربوط به آن (۵ تکرار) انجام گردید (جدول ۱). در بررسی چگونگی اثرات عوامل بر قدرت ایجاد بیهوشی و بازگشت از آن، اثرات اصلی، متقابل دو به دو و مجموع عوامل در نظر گرفته شد. اثرات اصلی مربوط به تأثیر هر یک از عوامل بر چهار متغیر زمانی می‌باشد. اثرات متقابل دو به دو مربوط به تأثیر دو به دوی عوامل بر هر چهار متغیر زمانی می‌باشد. در این اثرات، اثرات متقابل غلظت و دما، غلظت و pH و دما و pH در نظر گرفته شده است. همچنین اثرات مجموع، مربوط به تأثیر هر سه عامل بر چهار متغیر زمانی می‌باشد.

برای تعیین بهترین ترکیب یا ترکیبهای آزمایشی برای هر چهار متغیر زمانی (با توجه به میانگینهای محاسبه شده در جدول ۱)، دسته‌های همگنی که ترکیبهای آن دارای کمترین میانگین بودند، انتخاب گردید (جدول ۲). ترکیبهای دسته‌های همگن با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشته و با استناد به دامنه‌ای که با استفاده از آزمون چند دامنه به روش LSD برای هر متغیر در محاسباتی که با تقسیم کردن داده‌هابه چهار دسته ۱۶تایی (با ثابت گرفتن pH) مشخص گردید، انتخاب شدند.

جدول ۱: میانگین‌های چهار متغیر زمان از دست دادن تعادل، زمان ایجاد بیهوشی، زمان بازگشت تعادل و زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی بچه ماهی کپور معمولی تحت تأثیر اسانس میخک در دماها و pHهای مختلف آب

شماره ترکیب آزمایشی	غلظت اسانس (ppm)	دمای آب (درجه سانتیگراد)	pH آب	تعداد ماهی	زمان از دست‌دادن تعادل (ثانیه)		زمان ایجاد بیهوشی (ثانیه)		زمان بازگشت تعادل (ثانیه)		زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی (ثانیه)	
					میانگین	انحراف معیار (S.D)	میانگین	انحراف معیار (S.D)	میانگین	انحراف معیار (S.D)	میانگین	انحراف معیار (S.D)
۱	۵۰	۱۷	۶	۵	۸۲/۲	۱۵/۷۲۲۶	۱۷۲/۲	۴۸/۹۱۵۲	۱۵۱/۶	۱۵/۸۳۶۷	۲۸۹/۶	۴۰/۶۷۳۱
۲	۵۰	۱۷	۷	۵	۵۱/۴	۱۲/۷۵۹۳	۸۰/۲	۲۴/۹۲۳۹	۱۹۷/۲	۱۷/۷۵۳۹	۴۰۵/۶	۱۳۰/۹۸۴۰
۳	۵۰	۱۷	۸	۵	۶۷/۲	۱۹/۱۷۵۵	۹۶/۸	۳۴/۸۷۴۱	۱۶۹	۳۲/۱۰۹۲	۲۵۶/۶	۹۷/۸۷۳۹
۴	۵۰	۱۷	۹	۵	۵۷/۸	۴/۲۳۸۵	۱۰۲/۸	۳۸/۸۱۶۲	۱۳۷	۲۷/۰۰۵۳	۲۶۹/۶	۸۶۴۰/۷۷
۵	۵۰	۲۱	۶	۵	۵۷/۲	۷/۴۶۳۲	۱۲۵/۲	۲۹/۸۹۴۸	۲۱۶/۸	۳۳/۱۱۶۵	۳۸۴/۶	۴۹/۹۷۸۰
۶	۵۰	۲۱	۷	۵	۱۰۲/۲	۲۴/۴۱۷۲	۲۰۳/۲	۳۴/۱۷۱۶	۱۲۱/۴	۳۰/۰۱۳۳	۴۳۲/۴	۹۳/۸۲۰۶
۷	۵۰	۲۱	۸	۵	۷۶/۲	۳/۸۳۴۱	۲۳۲/۴	۵۳/۶۰۳۲	۲۵۳/۴	۷۰/۳۹۰۳	۴۸۲/۶	۵۷/۲۰۴۰
۸	۵۰	۲۱	۹	۵	۷۱/۸	۱۵/۹۷۵۰	۱۲۱/۸	۳۳/۳۹۴۶	۲۴۵/۸	۶۵/۹۴۴۷	۳۸۱/۲	۶۳/۷۵۸۹
۹	۵۰	۲۵	۶	۵	۴۲/۸	۵/۸۰۵۲	۶۶	۱۲/۰۲۰۸	۱۶۴/۶	۱۱/۱۰۴۱	۲۷۳/۶	۳۲/۴۳۹۲
۱۰	۵۰	۲۵	۷	۵	۶۵/۴	۸/۵۰۲۹	۱۴۲/۲	۴۳/۴۷۶۴	۷۶/۶	۲۶/۵۴۸۱	۱۵۴/۶	۱۹/۶۷۹۹
۱۱	۵۰	۲۵	۸	۵	۶۲	۱۷/۶۷۷۷	۱۳۷/۶	۵۳/۲۲۸۸	۱۲۰/۸	۳۰/۶۳۸۲	۲۲۹/۴	۵۰/۲۸۷۲
۱۲	۵۰	۲۵	۹	۵	۶۹/۲	۷/۸۸۶۷	۱۶۰/۴	۶۰/۸۸۳۵	۱۷۲/۴	۴۸/۵۲۶۳	۲۳۸/۶	۷۸/۵۵۷۶
۱۳	۵۰	۳۰	۶	۵	۱۰۳/۴	۴/۰۳۷۳	۱۵۵/۶	۲۰/۴۰۳۴	۱۷۳/۲	۲۶/۶۹۶۴	۲۳۲/۴	۲۶/۳۶۸۵
۱۴	۵۰	۳۰	۷	۵	۹۷/۴	۱۱/۷۳۸۸	۱۴۵/۸	۲۰/۱۴۲۰	۱۴۵/۲	۱۸/۹۳۹۴	۲۴۴	۲۴/۱۳۵۰
۱۵	۵۰	۳۰	۸	۵	۷۱/۲	۱۲/۳۳۶۹	۸۳/۶	۱۰/۶۹۱۱	۱۶۵	۱۷/۸۳۲۶	۲۳۸/۴	۱۷/۷۸۴۸
۱۶	۵۰	۳۰	۹	۵	۵۶	۹/۹۲۴۷	۷۳/۲	۹/۰۳۸۸	۹۹/۴	۲۰/۲۶۸۲	۱۷۰/۶	۳۳/۹۱۶۱
۱۷	۱۰۰	۱۷	۶	۵	۶۲/۸	۷/۲۹۳۸	۸۲/۸	۱۱/۱۶۶۹	۲۴۴/۴	۳۸/۵۸۵۰	۴۱۰/۸	۱۲۱/۴۷
۱۸	۱۰۰	۱۷	۷	۵	۳۵/۲	۳/۵۶۳۷	۴۴/۲	۳/۷۶۸۳	۳۵۸	۴۹/۸۸۴۹	۴۶۵/۶	۹۰/۵۷۴۸
۱۹	۱۰۰	۱۷	۸	۵	۳۷/۴	۳/۶۴۶۹	۴۵/۲	۷/۲۹۳۸	۱۶۶/۶	۲۷/۱۱۶۴	۳۱۸/۴	۶۲/۸۶۷۳
۲۰	۱۰۰	۱۷	۹	۵	۴۷/۲	۱۳/۸۰۹۴	۵۲/۶	۱۴/۰۶۴۱	۲۲۲/۲	۹۸/۲۱۷۶	۳۱۵/۲	۱۱۵/۷۵۰۶
۲۱	۱۰۰	۲۱	۶	۵	۴۹/۸	۳/۸۹۸۷	۷۳/۸	۱۱/۳۰۰۴	۳۳۹/۸	۱۳۷/۶۴۵۲	۴۶۱/۸	۹۶/۰۶۳۵
۲۲	۱۰۰	۲۱	۷	۵	۴۹/۴	۴/۲۱۹۰	۱۰۱/۴	۳۶/۴۴۵۹	۲۸۸/۸	۱۷/۳۶۹۵	۴۵۱	۸۷/۷۲۶۸
۲۳	۱۰۰	۲۱	۸	۵	۴۲/۶	۸/۶۴۸۷	۶۹/۸	۱۴/۴۶۳۷	۲۸۳/۲	۴۴/۱۱۰۱	۵۰۳/۴	۵۴/۰۲۵۹
۲۴	۱۰۰	۲۱	۹	۵	۳۹	۴/۷۴۳۴	۵۴/۴	۳/۰۴۹۶	۳۴۵/۴	۱۳/۲۹۶۶	۴۸۰/۲	۵۱/۳۸۲۹
۲۵	۱۰۰	۲۵	۶	۵	۳۱/۴	۳/۴۳۵۱	۴۴/۶	۸/۷۹۲۰	۲۳۸/۸	۴۳/۰۳۱۴	۳۴۹/۴	۷۳/۶۱۵۹
۲۶	۱۰۰	۲۵	۷	۵	۳۳/۶	۶/۸۰۴۴	۴۳/۸	۱۱/۲۳۳۹	۱۳۳/۴	۱۵/۹۶۲۵	۱۷۹	۲۱/۸۹۷۵
۲۷	۱۰۰	۲۵	۸	۵	۲۸/۴	۴/۸۲۷۰	۴۰/۴	۱۰/۲۳۷۲	۱۳۱/۸	۱۵/۱۰۶۳	۱۹۱	۱۱/۵۷۵۸
۲۸	۱۰۰	۲۵	۹	۵	۳۷	۳/۵۳۵۵	۵۴/۸	۵/۴۰۳۷	۱۹۳	۳۳/۲۸۶۶	۲۹۵/۲	۶۸/۲۴۰۰
۲۹	۱۰۰	۳۰	۶	۵	۴۲/۲	۲/۵۸۸۴	۶۸/۶	۸/۳۵۴۶	۲۰۷/۸	۱۷/۶۹۷۵	۳۵۳/۲	۲۳/۱۵۶۰
۳۰	۱۰۰	۳۰	۷	۵	۴۳/۸	۹/۷۳۱۴	۶۳/۸	۶/۶۴۸۳	۲۲۶/۶	۲۵/۴۹۱۲	۳۴۶	۴۳/۶۵۲۰
۳۱	۱۰۰	۳۰	۸	۵	۴۰/۲	۶/۵۷۲۷	۵۴/۲	۱۲/۳۹۷۶	۱۷۵/۲	۱۵/۸۹۶۵	۲۶۹/۶	۲۵/۸۵۱۵
۳۲	۱۰۰	۳۰	۹	۵	۳۵/۴	۶/۰۶۶۳	۵۰	۹/۲۱۹۵	۱۲۲	۹/۱۶۵۲	۱۹۸	۳۳/۵۴۸۵

ادامه جدول ۱:

شماره ترکیب آزمایشی	غلظت اساس (ppm)	دمای آب (درجه سانتیگراد)	pH آب	تعداد ماهی	زمان از دست‌دادن تعادل (ثانیه)		زمان ایجاد بیهوشی (ثانیه)		زمان بازگشت تعادل (ثانیه)		زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی (ثانیه)	
					میانگین	انحراف معیار (S.D)	میانگین	انحراف معیار (S.D)	میانگین	انحراف معیار (S.D)	میانگین	انحراف معیار (S.D)
۳۳	۱۵۰	۱۷	۶	۵	۵۴/۸	۱۳/۹۸۹۳	۷۴/۴	۱۳/۲۷۷۸	۲۶۴/۴	۷۴/۶۳۷۸	۵۱۳/۴	۱۵۶/۲۳۱۱
۳۴	۱۵۰	۱۷	۷	۵	۳۲/۶	۷/۱۹۷۲	۴۱/۴	۸/۵۳۲۳	۴۶۸/۴	۱۲۳/۱۱۳۰	۶۰۰/۴	۱۱۹/۵۹۶۴
۳۵	۱۵۰	۱۷	۸	۵	۲۹	۸/۳۰۶۶	۳۷/۶	۱۱/۸۴۴۸	۳۶۴/۲	۶۰/۹۲۷۸	۵۲۹/۸	۱۰۵/۶۳۴۷
۳۶	۱۵۰	۱۷	۹	۵	۳۶/۴	۱۶/۷۱۲۳	۴۸/۸	۱۸/۲۶۷۵	۲۴۴	۶۷/۱۶۴۰	۳۸۷/۲	۵۸/۱۷۸۳
۳۷	۱۵۰	۲۱	۶	۵	۳۲/۲	۹/۳۱۱۳	۴۷	۱۲/۷۶۷۱	۲۸۹/۲	۳۱/۹۲۴۹	۵۰۱/۴	۱۱۷/۷۱۷۰
۳۸	۱۵۰	۲۱	۷	۵	۴۵/۴	۲/۰۷۳۶	۵۷/۴	۵/۸۱۳۸	۳۴۱/۴	۳۳/۰۸۷۸	۵۲۸/۴	۴۸/۷۰۶۳
۳۹	۱۵۰	۲۱	۸	۵	۳۶/۲	۵/۷۶۱۹	۴۹/۸	۸/۸۴۳۱	۳۱۷/۶	۵۵/۴۸۲۴	۴۵۸/۸	۳۹/۶۵۷۳
۴۰	۱۵۰	۲۱	۹	۵	۲۷	۲/۵۴۹۵	۳۷/۴	۹/۹۹۰۰	۳۴۴/۶	۲۰/۴۰۳۴	۴۸۸/۶	۲۲/۲۳۲۹
۴۱	۱۵۰	۲۵	۶	۵	۳۶/۶	۹/۵۲۸۹	۴۶/۶	۱۰/۸۹۹۵	۲۱۱/۴	۳۶/۶۵۷۹	۳۴۲/۸	۳۷/۳۵۷۱
۴۲	۱۵۰	۲۵	۷	۵	۳۳/۶	۲/۸۸۱۰	۴۴	۴/۴۱۵۹	۱۵۴/۶	۳۶/۱۹۱۲	۲۳۱/۴	۱۹/۵۳۹۷
۴۳	۱۵۰	۲۵	۸	۵	۲۸/۲	۴/۸۱۶۶	۳۵/۲	۴/۷۶۴۵	۱۶۰/۲	۳۳/۵۳۹۱	۲۲۵	۴۱/۰۳۶۶
۴۴	۱۵۰	۲۵	۹	۵	۳۹/۸	۸/۹۵۵۹	۵۱	۸/۱۲۴۰	۲۷۴/۲	۸۸/۹۴۴۹	۳۶۱/۶	۹۷/۲۶۱۵
۴۵	۱۵۰	۳۰	۶	۵	۳۴/۸	۵/۶۳۰۳	۴۵/۸	۴/۶۵۸۳	۲۱۸/۴	۲۹/۶۳۶۱	۳۳۱/۸	۱۳/۷۰۰۴
۴۶	۱۵۰	۳۰	۷	۵	۳۶	۲/۹۱۵۵	۴۵/۸	۵/۳۵۷۲	۲۳۵/۴	۲۲/۰۶۳۵	۳۲۴/۸	۱۶/۶۶۴۳
۴۷	۱۵۰	۳۰	۸	۵	۳۰/۲	۳/۷۰۱۴	۳۹	۶/۰۴۱۵	۱۸۸/۶	۲۴/۱۲۰۵	۲۹۱/۲	۳۸/۵۵۷۷
۴۸	۱۵۰	۳۰	۹	۵	۲۹/۲	۳/۴۹۲۸	۳۸/۸	۶/۹۰۶۵	۱۴۰/۲	۲۱/۷۳۰۲	۲۶۳/۴	۴۶/۴۶۸۳
۴۹	۲۰۰	۱۷	۶	۵	۳۴/۲	۴/۴۳۸۵	۴۶/۶	۵/۷۷۰۶	۲۸۹	۱۶/۳۵۵۴	۴۴۹/۴	۹۵/۱۸۵۶
۵۰	۲۰۰	۱۷	۷	۵	۳۲/۲	۴/۳۲۴۳	۴۱/۲	۶/۷۲۳۱	۳۷۰/۸	۲۳/۷۸۴۴	۵۹۲	۹۰/۹۶۴۳
۵۱	۲۰۰	۱۷	۸	۵	۳۰/۶	۳/۴۳۵۱	۴۱	۷/۱۰۶۳	۳۳۸/۶	۲۶/۹۹۶۳	۵۳۸/۴	۱۴/۴۴۹۹
۵۲	۲۰۰	۱۷	۹	۵	۴۸/۲	۶/۴۱۸۷	۶۱/۸	۱۱/۸۴۰۶	۳۷۸/۲	۱۶۹/۴۲۶۱	۵۶۸/۶	۲۰۱/۷۴۸۱
۵۳	۲۰۰	۲۱	۶	۵	۳۹/۸	۱۳/۴۷۹۶	۴۸/۲	۹/۸۶۴۱	۵۴۸/۶	۷۷/۲۳۵۴	۷۵۹/۲	۱۲۴/۳۷۳۲
۵۴	۲۰۰	۲۱	۷	۵	۳۴/۶	۷/۳۳۴۸	۴۱/۴	۸/۳۵۴۶	۳۹۲/۲	۶۵/۵۸۴۳	۴۹۲/۶	۹۱/۴۰۱۹
۵۵	۲۰۰	۲۱	۸	۵	۳۴	۵/۰۹۹۰	۴۰/۴	۶/۵۴۲۲	۳۱۳/۶	۳۳/۶۴۲۲	۴۷۶/۲	۲۵/۲۳۲۹
۵۶	۲۰۰	۲۱	۹	۵	۳۵/۸	۳/۱۱۴۵	۴۲/۸	۵/۰۶۹۵	۳۳۶	۲۱/۴۸۲۶	۴۴۴/۸	۳۴/۸۸۱۲
۵۷	۲۰۰	۲۵	۶	۵	۳۱/۸	۴/۹۶۹۹	۵۱/۴	۶/۲۶۹۰	۳۸۶/۸	۱۱۵/۱۱۱۷	۵۲۸	۱۲۸/۸۷۲۰
۵۸	۲۰۰	۲۵	۷	۵	۳۷/۲	۵/۸۰۵۲	۴۷/۴	۷/۳۰۰۷	۳۰۵/۸	۱۰۸/۰۴۷۲	۳۹۷/۲	۱۱۴/۲۷۰۳
۵۹	۲۰۰	۲۵	۸	۵	۲۴/۸	۶/۵۳۴۵	۳۱/۴	۷/۹۵۶۱	۲۴۴/۴	۵۲/۸۹۹۰	۲۹۶/۲	۴۶/۶۹۸۰
۶۰	۲۰۰	۲۵	۹	۵	۳۲/۴	۷/۱۶۲۴	۳۸	۷/۰۷۱۱	۲۳۵	۳۸/۹۴۴۴	۳۳۷/۸	۶۰/۶۷۲۹
۶۱	۲۰۰	۳۰	۶	۵	۳۶/۶	۱/۶۷۳۳	۴۷/۲	۴/۱۴۷۳	۲۶۸	۱۸/۳۱۶۷	۳۹۵/۶	۲۹/۹۳۸۳
۶۲	۲۰۰	۳۰	۷	۵	۳۶/۶	۲/۳۰۲۲	۴۵/۴	۱/۸۱۶۶	۳۷۶	۴۸/۷۹۵۵	۴۳۰/۶	۷۰/۱۵۲۰
۶۳	۲۰۰	۳۰	۸	۵	۲۷/۶	۲/۲۰۸۳	۳۴/۴	۳/۳۶۱۵	۲۶۸	۷۵/۲۰۹۷	۳۶۴	۶۴/۱۷۹۴
۶۴	۲۰۰	۳۰	۹	۵	۲۹/۴	۲/۰۷۳۶	۳۶	۴/۱۸۳۳	۱۹۰	۹/۳۵۴۱	۲۸۰/۸	۱۵/۸۳۳۵
کـــل				۳۲۰	۴۵/۱۰۳۱	۱۹/۸۰۲۶	۶۹/۹۷۱۹	۴۷/۳۶۵۱	۲۴۶/۰۰۶۳	۱۰۶/۶۶۷۶	۳۷۵/۴۶۸۸	۱۴۱/۷۸۲۱

جدول ۲: دسته‌های همگن شامل ترکیبهای آزمایشی با کمترین میانگین برای چهار متغیر زمان از دست دادن تعادل، زمان بازگشت تعادل و زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی

دسته‌های همگن	شماره ترکیب آزمایشی														
برای زمان از دست دادن	۱۸	۲۵	۲۶	۲۷	۲۸	۳۲	۳۴	۳۵	۳۷	۳۹	۴۰	۴۱	۴۲	۴۳	۴۵	۴۶
تعادل	۴۷	۴۸	۴۹	۵۰	۵۱	۵۴	۵۵	۵۶	۵۷	۵۹	۶۰	۶۱	۶۲	۶۳	۶۴	
برای زمان ایجاد بیهوشی	۱۸	۱۹	۲۰	۲۴	۲۵	۲۶	۲۷	۳۱	۳۲	۳۴	۳۵	۳۶	۳۷	۳۹	۴۰	۴۱
	۴۲	۴۳	۴۴	۴۵	۴۶	۴۷	۴۸	۴۹	۵۰	۵۱	۵۳	۵۴	۵۵	۵۶	۵۷	۵۸
	۵۹	۶۰	۶۱	۶۲	۶۳	۶۴										
برای زمان بازگشت تعادل	۶	۱۰	۱۱	۲۶	۲۷	۳۲										
برای زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۵	۱۶	۲۶	۲۷	۳۲	۴۲	۴۳					

نتایج

میانگینهای چهار متغیر زمان از دست دادن تعادل، زمان ایجاد بیهوشی، زمان بازگشت تعادل و زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی بچه ماهیان کپور معمولی، تحت تأثیر اسانس میخک و در ۶۴ ترکیب آزمایشی، در جدول ۱ نشان داده شده است. همچنین نتایج تجزیه واریانس طرح آزمایشهای عاملی مربوط به اثرات اصلی، متقابل دو به دو و مجموع عوامل غلظت اسانس، دما و pH آب بر چهار متغیر زمانی در جدول ۳ آمده است. با توجه به سطوح معنی‌دار بدست آمده در این جدول، اثر کلیه عوامل اصلی بر چهار متغیر زمانی تائید می‌شود.

با توجه به سطوح معنی‌دار بدست آمده در جدول ۳، اثر متقابل دو به دو کلیه عوامل برهر چهار متغیر زمانی به جز اثر متقابل و pH برزمان بازگشت واکنش به محرک خارجی، تائید می‌شود.

با توجه به سطوح معنی‌دار بدست آمده در جدول ۳، اثر متقابل مجموع عوامل بر هر چهار متغیر زمانی نیز تأئید می‌شود.

از اشتراک‌گیری دسته‌های همگن برای چهار متغیر زمانی، ترکیب‌های آزمایشی شماره ۲۶ (۱۰۰ppm = غلظت، ۲۵ درجه سانتیگراد = دما و pH = ۷) و شماره ۲۷ (۱۰۰ppm = غلظت، ۲۵ درجه سانتیگراد = دما و pH = ۸) و شماره ۳۲(۱۰۰ ppm = غلظت، ۳۰ درجه سانتیگراد = دما و pH = ۹) به عنوان بهترین ترکیبهای آزمایشی انتخاب شدند (جدول ۳). این ترکیبها، گروههای مشترک بین دسته‌های دارای کمترین میانگینهابرای چهار متغیر زمانی، می‌باشند.

جدول ۳ : تجزیه واریانس طرح آزمایشهای عاملی مربوط به اثرات اصلی، متقابل دو به دو و مجموع عوامل غلظت اسانس، دما و pH آب بر ۴ متغییر زمانی شامل: زمان از دست دادن تعادل، زمان ایجاد بیهوشی، زمان بازگشت تعادل و زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی در ماهی کپور معمولی (a= ۰/۰۵)

اثرات	سطح معنی دار			
	زمان از دست دادن تعادل	زمان ایجاد بیهوشی	زمان بازگشت تعادل	زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی
اثرات اصلی				
غلظت	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
دما	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
pH	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
اثرات متقابل دو به دو				
غلظت و دما	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
غلظت و pH	۰/۰۰۲	۰/۰۱۳	۰/۰۰۰	۰/۰۶۵
دما و pH	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
اثرات متقابل مجموع				
غلظت و دما و pH	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰

بحث

با در نظر گرفتن اهداف هر تحقیق، ملاکهای مورد نیاز برای ارزیابی یک ماده بیهوشی برای ماهیها مختلف خواهند بود. با توجه به اینکه هدف از این تحقیق بررسی اثرات بیهوشی اسانس میخک در ماهی کپور معمولی و نیز تأثیر شرایط کیفی آب بر قدرت ایجاد بیهوشی و بازگشت از آن بوده، ایجاد بیهوشی و بازگشتی سریع مورد نظر بوده است، ضمن اینکه ملاکهای مورد استفاده برای ارزیابی یک ماده بیهوشی مناسب نیز در نظر گرفته شد. با توجه به جدول ۱ مشخص می‌گردد اسانس میخک قادر است در تمامی غلظتها، دماها و pHهای آب که در این تحقیق مورد آزمایش قرارگرفته‌اند، بیهوشی مورد نظر را بخوبی دیگر بیهوش‌کننده‌های معمول و در زمانی مناسب (کمتر از ۳ دقیقه) ایجاد کند. زمان بازگشت تعادل خصوصاً در غلظتهای ۱۵۰ و ۲۰۰ppm و زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی خصوصاً در غلظتهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ppm بیش از زمان مناسب برای بازگشت کامل از بیهوشی (کمتر از ۵ دقیقه) می‌باشد. غلظت اسانس و شرایط کیفی آب شامل دما و pH، بر روند بیهوشی و بازگشت ازآن به صورت اصلی و همچنین متقابل تاثیر می گذارند . بعبارت دیگر تغییرات فاکتورهای مذکور باعث تغییر در زمانهای ایجاد بیهوشی و بازگشت از آن می‌گردد. به همین منظور توصیه می‌شود، در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان گرم آبی و یا هر جای دیگری که ضرورت ایجاب می‌نماید که ماهیان کپور معمولی را بیهوش‌کنند، برای نتیجه‌گیری بهتر، از مؤثرترین غلظتها و مناسبترین شرایط کیفی آب که در این تحقیق بدست آمده است، استفاده شود (ترکیبهای آزمایشی شماره ۲۶، ۲۷ و ۳۲ در جدول ۱). در صورتیکه امکانات و یا شرایط برای تنظیم pH و دما در مراکز تکثیر و پرورش مناسب نمی‌باشد، می‌توان با توجه به دما و pH آب و مراجعه به میانگینهای چهار متغیر زمانی برای دماو pH مورد نظر، غلظت مناسبتر را مشخص و از آن استفاده نمود.

در این تحقیق، بهترین ترکیبهای آزمایشی در دماهای ۲۵ و ۳۰ درجه سانتیگراد بدست آمده‌اند که مشخص می‌کند دمای بالاتر آب اثرات بیهوش‌کنندگی اسانس میخک را بیشتر کرده و بازگشت از بیهوشی را نیز تسهیل می‌نماید. با توجه به اینکه دمای بالاتر آب باعث افزایش تهویه آبششی و میزان فعالیت قلب و همچنین افزایش میزان متابولیسم می‌گردد (Hikasa *et al.*,

1986)، نتیجه فوق‌الذکر منطقی بنظر می‌رسد.

نظر به اینکه منطقه اصلی ورود و خروج مواد بیهوش‌کننده در ماهیها، 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 *et al.*, 1986 ; Keene *et al.*, 1998)، شروع نسبتاً سریع مراحل II و III بیهوشی حاصل از اسانس میخک ممکن است بدلیل قابلیت انحلال زیاد آن در چربی باشد.

برای تعیین بی‌خطر بودن مصرف اوژنول برای انسان، آزمایشهای گسترده‌ای صورت گرفته است. سازمان امور غذا و داروی ایالات متحده آمریکا (USFDA) میخک، اسانس و اوژنول را وقتی در سطوح کمتر از ppm ۱۵۰۰ مصرف شوند، به عنوان مواد بی‌خطر برای انسان معرفی کرده است. علاوه بر این مشخص شده است که اوژنول و مشتقات آن بسرعت از خون و بافتهای انسان خارج می‌گردند و در انسان و حیواناتی مانند موشهای صحرایی، موشهای خانگی و هامستر چینی سمیت یا سرطان ایجاد نمی‌کند (Hikasa *et al.*, 1986 ; Keene *et al.*, 1998). بنابراین سطوح مصرفی اسانس میخک برای بیهوشی ماهی کپور معمولی ممکن است اثرات منفی بسیار ناچیزی روی ماهی داشته باشد و بدنبال مصرف جنین ماهیهائی، ممکن است اثرات بسیار کمی روی انسان بگذارد و یا اصلاً اثری نداشته باشد. همچنین بدلیل اینکه اسانس میخک به عنوان یک ماده بی‌خطر شناخته شده است، ممکن است ماهیانی که تحت تأثیر آن قرار گیرند نیاز به گذراندن دوره‌ای برای دفع دارو نداشته باشند. این در حالی است که ماهیانی که تحت تأثیر (MS222) قرار می‌گیرند، باید به مدت ۲۱ روز به منظور دفع دارو نگهداری و بعد آزاد شده یا مورد مصرف قرارگیرند. (Anderson *et al.*, 1997 ; Keene *et al.*, 1998 ; Stoskopf, 1993).

نتایج این تحقیق همچنین نشان می‌دهد که زمانهای بازگشت تعادل و بازگشت واکنش به محرک خارجی، خصوصاً در غلظتهای ۱۵۰ و ppm ۲۰۰ طولانی‌تر از زمان توصیه شده برای بازگشت از بیهوشی (کمتر از ۵ دقیقه) می‌باشند. این مسئله ممکن است به علت تأثیر بازدارندگی اسانس میخک بر سیستم تنفسی ماهی باشد. در واقع اسانس میخک مانند بیشتر بیهوش کننده‌های دیگر (بجز MS222) میزان تنفس را کاهش داده و بدنبال آن توانایی دفع ماده بیهوشی از سیستم آبششی ماهی کاهش می‌یابد (Hikasa *et al.*, 1986 ; Keene *et al.*, 1998). این مطلب

با در نظر گرفتن اینکه هیچ تلفاتی در ماهیهاپس از بازگشت از بیهوشی مشاهده نگردید، برعملکرد مؤثر و مطلوب اسانس میخک به عنوان یک ماده بیهوشی که تأثیر کشندگی کمی دارد را تأئید کند ولی ممکن است مشکلاتی را برای تحقیقات یا اموری که عامل زمان در آنها نقش مهمی دارد، ایجاد کند.

با توجه به اینکه پس از انجام آزمایشها تلفات یا رفتارهای غیرطبیعی در ماهیها طی یک هفته تحت نظر گرفتن آنها مشاهده نگردید، به نظر می‌رسد که اسانس میخک اثرات منفی دائمی یا مخفی بر فیزیولوژی یا رفتار ماهی ندارد و آنجائیکه یک ترکیب گیاهی است انتظار می‌رود که به آسانی در محیط تجزیه شود و اثرات سوءزیست محیطی نیز نداشته باشد. با وجود اینکه شرایط آزمایشی، غلظتها و ماهیهای مورد استفاده در تحقیقات دیگر محققین با یکدیگر و با این تحقیق متفاوت بوده است ولی تمام آزمایشهای انجام شده قبلی و نیز تحقیق حاضر به نکات مشترکی در مورد استفاده از اسانس میخک به عنوان ماده بیهوشی دست یافته‌اند که در زیر به آنها اشاره می‌گردد:

۱- اسانس میخک حتی در غلظتهای پایین نیز ایجاد بیهوشی می نماید.

۲- روند ایجاد بیهوشی توسط اسانس میخک و بازگشت از آن به صورت آرام و بدون هیجان صورت می‌گیرد.

۳- زمان بازگشت از بیهوشی با اسانس میخک نسبتاً طولانی است.

۴- پس از بازگشت از بیهوشی ، تلفات و یا رفتارهای غیرطبیعی در ماهیها مشاهده نمی‌شود.

۵- اسانس میخک از دیگر مواد بیهوش کننده مخصوصاً MS222،ارزانتر می باشد.

با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت که اسانس میخک حداقل ۱۰ مورد از ملاکهای ارزیابی یک ماده بیهوشی مناسب در آبزی‌پروری را دارا می‌باشد از جمله :

- زمان ایجاد بیهوشی کمتر از ۳ دقیقه
- زمان بازگشت از بیهوشی در غلظتهای پیشنهاد شده کمتراز ۵دقیقه و بدون مشکل
- بی‌حسی در برابر درد
- عدم تحرک و شلی عضلات

- نداشتن اثرات مداوم بررفتار و فیزیولوژی ماهی
- عدم سمیت مقادیر مصرفی برای ماهی
- دفع سریع از بدن
- تجزیه به مواد بی خطر در محیط
- در دسترس بودن
- ارزان بودن

بنابراین پیشنهاد می‌شود در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی از اسانس گل میخک به عنوان یک بیهوش‌کننده مناسب و ارزان برای ماهی کپور معمولی استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از همکاری بیدریغ و صمیمانه جناب آقای دکتر رضا امید بیگی به لحاظ تهیه و در اختیار قراردادن اسانس گل میخک تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند. همچنین از معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران و مسئولین و کارکنان مراکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجائی ساری، شهید انصاری رشت، شهید باهنر کلاردشت، مرکز آموزش عالی شیلاتی میرزاکوچک خان رشت، گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و گروه بیولوژی ماهیان دریا دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس به دلیل همکاریهای صمیمانه آنها تشکر و قدردانی می‌شود. از جناب آقای مهندس عبادزاده که در تجزیه و تحلیل آماری نهایت همکاری را داشته‌اند و خانم فاطمه قریشی و سرکار خانم میترا پطراتچی نیز بدلیل تایپ این مقاله تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

چیت‌ساز، ح. ، ۱۳۷۹. مطالعه اثرات بیهوشی گل میخک (عصاره و اسانس) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، ۷۴ صفحه.

کلوس، ا. ؛ تایلر، و. و برادی، ل. ، ۱۹۷۳. مفردات پزشکی جدید (فارماکوگنوزی). ترجمه آئینه‌چی، ی. ۱۳۵۸ چاپ اول. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۲۵۲ تا ۲۵۸ و ۲۸۹ تا ۲۹۲.

محمدی ارانی، م. ، ۱۳۷۹. مطالعه اثرات بیهوشی گل میخک (عصاره و اسانس) در ماهی قره‌برون. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس. ۸۲ صفحه.

موبر، و. ؛ هابل، ج. ؛ اسکاردا، ر. و بدنارسکی، ر. ، ۱۹۹۴. بیهوشی دامپزشکی. ترجمه رضایی، ع. و حاجی‌زاده، ا. ، ۱۳۷۷. چاپ اول. تهران، انتشارات نوربخش، صفحات : ۲۱۵ تا ۲۱۶.

مهرابی، ی. ، ۱۳۷۶. مطالعه اثر بیهوشی پودر گل میخک بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. مجله آبزی‌پروری، معاونت تکثیر و پرورش شیلات ایران، سال ششم، شماره ۲۱، صفحات: ۳۶ تا ۳۹.

Anderson, W.G. ; Mckinley, R.S. and Colvecchia, M. , 1997. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. N. American Journal Fishery Management, Vol. 17, No. 2, pp.301-307.

Erdmann, M.V. , 1999. Clove oil: an, eco-friendly, alternative to cyanide use in the live reef fish industry. University of California, Berkeley and Indonesian Istitute of Sciences.

Hikasa, Y. ; Takase, K. ; Ogasawara, T. and Ogasawara, S. , 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methansulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. Japanese Journal of Veterinary Science, Vol.48 , pp.341-351.

Keene, J.K. ; Noakes, D.L.G. ; Moccia, R.D. and Soto, C.G. , 1998. The efficancy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, Vol. 29, pp.89-101.

Munday, P.L. and Wilson, S.K. , 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish.

Journal of Fish Biology, Vol. 51, pp.931-938.

Needham, D.J. , 1990. Anaesthesia and Surgery, *In*: Fish Diseases (ed. I. Bryden). University of Sydney, pp.513-547.

Peake, S. , 1998. Sodium bicarbonate and clove oil as potential anaesthetics for nonsalmonid fishes. North American Journal of Fish Management, Vol. 18, pp.919-924.

Soto, C.G. and Burhanuddin, 1995. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*), Aquaculture. Vol. 136, pp.149-152.

Stoskopf, M. , 1993. Anaesthesia. *In*: Aquaculture for Veterinarians; Fish Husbandry and Medicine (ed. L. Brown), Pergamon press, USA. pp.161-167.

Summerfelt, R.G. and Smith, L.S. , 1990. Anaesthesia, surgery and related techniques. *In*: methods for fish biology (ed. C.B. Schreck & P.B. Moyle), American Fisheries Society, Bethesda, MD. pp.213-272.

Tamaru, C.S. ; Carlstrom-Trick, C. and Fitzgerald, W.J. Jr. , 1996. Clove oil, minyak cengkeh, a natural fish anaesthetic. proceedings of the Pacon Conference on Sustainable Aquaculture - 95, pp.265-371.

Waterstrat, P.R. , 1999. Induction and recovery from anaesthesia in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fingerlings exposed to clove oil. Journal of the World Aquaculture Society, Vol. 30, pp.250-255.