

بررسی اثر اسانس میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر بیهوشی بچه تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

مجتبی محمدی ارانی^۱

۱- کارشناس ارشد و عضو گروه شیلات مجتمع آموزش جهاد کشاورزی اصفهان، e-mail: Moham1354@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق، اثر غلظت و مدت زمان استفاده از اسانس میخک (*Eugenia caryophyllata*) به روش غوطه وری بر مراحل بیهوشی و بازگشت بچه ماهی خاویاری ایران (تاس ماهی ایرانی یا قره برون، *Acipenser persicus*) در مرکز شهید رجایی ساری در استان مازندران بررسی گردید. بچه ماهی‌ها در اندازه انگشت قد، در سه گروه وزنی ۴/۲۵ گرم (۹ تا ۱۱ سانتیمتر)، ۳/۳۳ گرم (۷ تا ۹ سانتیمتر) و ۱/۸۹ گرم (۵ تا ۷ سانتیمتر) بودند که با غلظت‌های ۲۵ تا ۱۲۰ ppm اسانس میخک در شرایط معمول آب کارگاه شامل $\text{pH} = 8.31$ و دمای ۲۲ درجه سانتیگراد، مورد بیهوشی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که هر چه غلظت و مدت قرارگیری ماهی در آب حاوی ماده بیهوش کننده بیشتر باشد مراحل بیهوشی سریعتر و مراحل بازگشت آهسته تر اتفاق می افتد ($\alpha < 0.05$). بهترین غلظت اسانس میخک برای بیهوشی و بازگشت تاس ماهی ایرانی انگشت قد در این آزمایشها ۷۵ ppm تعیین گردید. بر مبنای یافته‌های این تحقیق اسانس میخک در غلظت‌های ۵۰ ppm تا ۱۲۰ ppm برای بیهوشی تاس ماهی انگشت قد ایرانی مناسب به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: اسانس میخک، تاس ماهی ایرانی، *Acipenser persicus*، بیهوشی.

مقدمه

از محققان این ماده را همسنگ MS۲۲۲ که کاربرد وسیع برای بیهوشی ماهی دارد قرار داده و حتی برتری اسانس میخک را بر MS۲۲۲ متذکر شده‌اند. Soto و Burhanuddin (۱۹۹۵) اسانس گل میخک را با غلظت ۳۳/۳ میلی گرم بر لیتر برای اندازه گیری طول و وزن *Siganus lineatus* مناسب دانسته اند. Tamaru و همکاران (۱۹۹۵) نیز از غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر آن برای بیهوشی *Siganus argenteus* استفاده کردند. Anderson و همکاران (۱۹۹۷) این ماده را برای بیهوشی قزل آلائی رنگین کمان بکار بردند. ایشان غلظت ۱۰۰ تا ۱۲۰ میلی گرم بر لیتر این ماده را برای ایجاد بیهوشی سنگین و غلظت ۲۰ تا ۴۰ میلی گرم بر لیتر را برای بیهوشی سبک در قزل آلائی جوان و بالغ توصیه کردند. Wilson و Munday (۱۹۹۷) تاثیر اسانس میخک را بر

در مراکز تکثیر و پرورش ماهی برای بیهوشی ماهی‌ها در عملیات تکثیر، علامتگذاری، رقم بندی، حمل و نقل و ... از مواد بیهوش کننده گوناگون مانند MS ۲۲۲، بنزوکائین، ۲- فنوکسی اتانل، کینالدین، گاز دی اکسیدکربن و داروهای متنوع دیگر استفاده می‌گردد (Stoskopf, 1993). اخیراً میخک که دارای اثرات آرام کنندگی، تسکین درد و برطرف کننده بعضی امراض در انسان است، برای بیهوشی و آرام کردن انواع ماهیان در کشورهایی مانند اندونزی (Soto & Burhanuddin, 1995)، استرالیا (Anderson et al., 1997) و آمریکا (Keene et al., 1998) استفاده می‌شود. مطالعه اثرات این ماده نشان داده که اسانس میخک بیشتر معیارها و خواص یک بیهوش کننده خوب را داراست، به نحوی که بعضی

قرار داده شدند. برای تهیه محلول بیهوشی ابتدا ۶ لیتر آب درون ظرف پلاستیکی به حجم ۱۰ لیتر ریخته شد. بعد میزان مورد نیاز از اسانس میخک با پیپت مدرج به حجم کلی ۱ cc و با دقت ۰/۱ cc برداشت و به ظرف آب اضافه شد (از آنجا که دما بالاتر از $15^{\circ}C$ بود نیازی به حل کردن اسانس در اتانل نبود). سپس محلول کاملاً به همزده و همگن شد. تغذیه بچه ماهیان از ۲۴ ساعت قبل متوقف گردید و پس از بازگشت تا ۴۸ ساعت نیز رفتار آن‌ها مورد مشاهده قرار گرفت تا امکان ایجاد اثرات جانبی در آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد. غلظت‌های مورد آزمایش عبارت از ۲۵، ۳۷/۵، ۵۰، ۷۵، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ ppm بودند. غلظت‌ها طوری انتخاب گردید که نتایج بررسی قابل مقایسه با آزمایش‌های سایر محققان باشد. هر آزمایش بر روی ۸ قطعه بچه ماهی از هر گروه وزنی برای هر کدام از غلظت‌های فوق الذکر و با سه تکرار انجام گردید. کنترل مراحل بیهوشی و بازگشت بر اساس تعریف Keene و همکاران (1998) انجام گرفت. به این صورت که پس از ورود هر دسته ماهی به محلول حاوی ماده بیهوشی، زمان آرامش، سکون و بیهوشی ماهی‌ها (که به ترتیب معادل مراحل ۱، ۲ و ۴ بیهوشی هستند) درج‌داولی که به همین منظور تهیه شده بود ثبت گردید. برای ثبت زمان بازگشت ماهی‌ها ۴ ظرف در نظر گرفته شد. هنگامی که ماهی‌ها بیهوش شدند در فواصل زمانی متناوب شامل بلافاصله پس از بیهوشی، پس از ۳۰ ثانیه، پس از ۱ دقیقه و پس از ۳ دقیقه هر بار ۲ قطعه ماهی برداشت گردید و به ترتیب در ۴ ظرف آماده که حاوی آب فاقد دارو بود قرار داده شد و مراحل بازگشت ماهی‌ها در ۴ مرحله شامل حرکت جزئی، حرکت بیشتر، بازگشت جزئی و بازگشت کامل (که به ترتیب معادل مراحل ۱، ۲، ۳ و ۵ بازگشت هستند) درج‌داول مربوطه ثبت گردید. در تمام مراحل آزمایش‌ها، ویژگی‌های کیفی آب کارگاه از جمله درجه حرارت، pH، نیتريت، آمونیاک، درجه سختی و اکسیژن محلول تعیین و در جدولی ثبت

بیهوشی *Pomacentrus amboinensis* با سایر بیهوش کننده‌ها مقایسه و مشاهده کردند که این ماده زمان بازگشت ماهی را ۲ تا ۳ برابر طولانی تر از سایر داروها می‌کند. Keene و همکاران (۱۹۹۸) تاثیر اسانس این ماده را بر بیهوشی قزل آلا بررسی و غلظت ۴۰ تا ۶۰ ppm را برای ایجاد بیهوشی سریع و بازگشت کوتاه مدت تعیین کردند. در بین تاس ماهیان نیز غلظت ۶۰ ppm اسانس میخک برای بیهوشی تاس ماهی دریاچه ای پیشنهاد شده است (Peake, 1998).

در این راستا تحقیقاتی نیز در ایران صورت گرفته است. مهرابی در سال ۱۳۷۷ با موفقیت از پودر میخک برای بیهوشی قزل آلاي رنگین کمان در زمان تکثیر استفاده نموده، غلظت‌های ۱۵۰ تا ۲۰۰ ppm را برای این امر مناسب دانسته است. در زمینه بیهوشی ماهیان خاویاری نیز مطالعاتی انجام شده است که به طور مثال می‌توان به تحقیق مخیر (۱۳۷۲) اشاره کرد. بر مبنای این تحقیق غلظت ۷۰ ppm از MS۲۲۲ برای بیهوشی ماهیان خاویاری مناسب است. هدف از این تحقیق ارزیابی اثر بیهوش کنندگی اسانس میخک بر روی بچه ماهی خاویاری ایران در شرایط معمول آب کارگاه بوده است.

مواد و روشها

آزمایش در مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی واقع در روستای سمسکنده در ۱۲ کیلومتری شمال شهرستان ساری انجام و مشخصات کیفی آب کارگاه به طور روزانه تعیین گردید. اسانس میخک مورد استفاده در دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران توسط فرآیند تقطیر با دستگاه کلونجر به روش فارماکوپه مجارستان (Hungarian pharmacopoeia Gnotot planta Medicina Budapest) تهیه گردید. بچه ماهی‌ها نیز از حوضچه‌های جمع آوری برای رهاسازی برداشت و در سه گروه وزنی ۴/۲۵ گرم (۹ تا ۱۱ سانتیمتر)، ۳/۳۳ گرم (۷ تا ۹ سانتیمتر) و ۱/۸۹ گرم (۵ تا ۷ سانتیمتر)

جدول ۳- زمانهای بازگشت از بیپوشی (ثانیه) در بچه تاس ماهی ایرانی (در سه تکرار) با استفاده از اسانس میخک ($\text{pH} = 8.31$) و دمای 22°C ، نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شده است.

غلظت اسانس (PPM)	میانگین زمان بازگشت از بیپوشی (ثانیه) در گروههای وزنی ماهی		
	۱/۹ گرم	۳/۳۳ گرم	۴/۲۵ گرم
۱۰۰	$773/3 \pm 102/4$	$444/3 \pm 100/4$	$247 \pm 82/8$
۵۰	527 ± 104	$425/3 \pm 64$	$349/3 \pm 29/1$
۳۷/۵	336 ± 8	404 ± 8	405 ± 40

بحث

نتایج آزمایشهای بیپوشی تاس ماهی ایرانی انگشت قد (قره برون) با اسانس میخک، با نتایج حاصل از آزمایشهای سایر محققان مانند Soto و Burhanuddin (۱۹۹۵)، Munday و Wilson (۱۹۹۷)، کین و همکاران (۱۹۹۸) و مهرابی (۱۳۷۷) که در مورد قزل آلائی رنگین کمان مطالعه کرده اند و همچنین پیک (۱۹۹۸) که در مورد تاس ماهی دریاچه ای انجام شده است از نظر غلظت های مؤثر و دامنه زمانی بیپوشی و بازگشت و عدم ایجاد عارضه یا مرگ و میر نزدیکی و مشابهت داشته است. Keene و همکاران (۱۹۹۸) غلظت ۴۰ تا ۶۰ ppm اوژنول را برای بیپوشی قزل آلائی جوان پیشنهاد کردند. بر مبنای مشاهدات Lawrence و همکاران (۱۹۹۵) مبنی بر این که اوژنول ۰.۷۵٪ اسانس میخک را تشکیل می دهد در این بررسی نیز، غلظت ۷۵ ppm مورد استفاده قرار گرفت. مخیر در سال ۱۳۷۲ از ۲۲۲ MS با غلظت ۷۰ که نزدیک به غلظت داروی پیشنهادی این تحقیق است، برای بیپوشی ماهی خاویاری استفاده نمود.

در تحقیق حاضر اسانس میخک تا ۴۸ ساعت پس از بیپوشی ماهی ها باعث مرگ و میر و تلفات در آنها نگردید و از آنجا که یک داروی گیاهی و طبی می باشد اثر جانبی مانند تغییر رنگ، عدم تغذیه، مشکل در شنا و حرکت و یا هر گونه تغییر ظاهری یا رفتاری دیگر (Needham, 1998) بر ماهیان نداشت. اسانس میخک

گردید. برای تجزیه و تحلیل داده ها نیز از روش تحلیل واریانس طرح کاملاً تصادفی با توزیع f در نرم افزار S-plus استفاده و مقادیر $\alpha < 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

نتایج

خصوصیات کیفی آب کارگاه در مدت اجرای آزمایشها دارای نوسانی بسیار جزئی بود که از این لحاظ خللی در انجام آزمایشها وارد نمی کرد (جدول ۱). همچنین زمانهای بیپوشی در $\text{pH} = 8.31$ و دمای ۲۲ درجه سانتیگراد برای غلظت های مورد استفاده از اسانس میخک در گروههای وزنی مختلف به شرح جدول ۲ بدست آمد زمانهای بازگشت از بیپوشی نیز به شرح جدول ۳ می باشد.

جدول ۱- مشخصات کیفی آب کارگاه در مدت اجرای آزمایشها

ردیف	عامل کیفی	مقدار	محدوده مناسب
۱	درجه حرارت	$21 - 23^\circ \text{C} \pm 1^\circ \text{C}$	$15 - 25^\circ \text{C}$
۲	pH	$7.85 - 8.31 \pm 0.01$	6/5 - ۸
۳	نیتريت	* ۰	0-0.1 PPM
۴	آمونیاک	* ۰	0-0.02 PPM
۵	سختی کل	$273 - 307 \pm 17 \text{ mg/L}$	10 - 400 mg/L
۶	اکسیژن	$7/3 - 7/6 \pm 0.01 \text{ mg/L}$	5 - 10 mg/L

*کمتر از حساسیت کیت

جدول ۲- زمانهای بیپوشی (ثانیه) در بچه تاس ماهی ایرانی (در سه تکرار) با استفاده از اسانس میخک ($\text{pH} = 8.31$) و دمای 22°C ، نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شده است.

غلظت اسانس (PPM)	میانگین زمان ایجاد بیپوشی (ثانیه) در گروههای وزنی ماهی		
	۱/۹ گرم	۳/۳۳ گرم	۴/۲۵ گرم
۱۲۰	$39 \pm 4/6$	$63 \pm 11/5$	$69 \pm 14/7$
۱۰۰	$74/5 \pm 5/6$	$47/6 \pm 9/2$	$101/3 \pm 14/7$
۸۰	83 ± 3	80 ± 2	108 ± 0
۷۵	$86/3 \pm 4/7$	$86/6 \pm 12/2$	$115/6 \pm 6$
۵۰	$184/6 \pm 3$	$126/3 \pm 4/5$	$133/3 \pm 6/8$
۳۷/۵	$258/3 \pm 64$	$200/3 \pm 10/6$	$175/3 \pm 14/7$
۲۵	$526/6 \pm 17/9$	$504 \pm 21/6$	$313/6 \pm 54/5$

منابع مورد استفاده

- زرگری، ع.، ۱۳۶۷. گیاهان دارویی. جلد ۲. انتشارات دانشگاه تهران، ۳۸۵ صفحه.
- مخیر، ب.، ۱۳۷۲. بیهوشی و جراحی در تاس ماهیان ایران. بولتن علمی شیلات ایران، ۲: ۳-۱۰.
- مهرابی، ی.، ۱۳۷۸. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی پودر گل درخت میخک (*Syzygium aromaticum*) بر روی ماهی قزل آلی رنگین کمان. مجله پژوهش و سازندگی، ۴۲: ۱۶۰-۱۶۲.
- Anderson, W.G., Mckinley, R.S. and Colavecchia, M., 1997. The use of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *North Journal of Fisheries Management*, 17: 301-307.
- Hikasa, y., Takase, K., Ogasawara, T. and Ogasawara, S., 1985. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp. *Cyprinus carpio*. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 48(2): 341-351.
- Keene, J.L., Noakes, O.L.G., Moccia, R.D. and Soto, C.G., 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29: 89-101.
- Lawrence, B.M., 1995. Progress in essential oils. RJ Reynolds Tobacco companies. *Perfumer and Flavorist*, 20: 95-103.
- Munday, P.L. and Wilson, S.K., 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anesthetization of *pomacentrus amboinensis*, coral reefs fish. *Journal of Fish Biology*, 51: 931-938.
- Needham, D.G., 1998. Anesthesia and surgery. Timber press, USA, 586 p.
- Peake, S., 1998. Sodium bicarbonate and clove oil as potential anesthetics for non-salmonids fishes. *North American Journal of Fisheries Management*, 18: 919-924.
- Soto, C.G. and Burhanuddin, C., 1995. Clove oil as a fish anesthetic for measuring length and weight of rabbit fish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture*, 136: 149-152.
- Stoskopf, M.K., 1993. Fish medicine. Chapter 6: Anesthesia and restraint. Academic press, USA, 430 p.
- Tamaru, C.S., Trick, C.C. and FitzGerald, W.J., 1995. Clove oil, minyak cengkeh, a natural fish anesthetic. *Sustainable Aquaculture, Honolulu, Hawaii*, 1: 1-7.

زمان بازگشت ماهیان را از بیهوشی طولانی کرد که این امر به علت تأثیری است که اسانس میخک و ماده مؤثر آن یعنی اوژنول بر سیستم عصبی ماهی می‌گذارد و موجب می‌شود که ماهی فعالیت تنفسی خود را به کندی انجام دهد و در نتیجه ترکیبهای اسانس دیرتر از بدن ماهی خارج می‌گردد (Munday & Wilson, 1997; Keene et al., 1998; Hikasa et al., 1985). زمان بازگشت در آزمایشهای Munday و Wilson (۱۹۹۷) خیلی طولانی تر از تحقیق حاضر بود (بین ۱۰ تا ۱۲۰ دقیقه) که این تفاوت می‌تواند به خاطر نوع و اندازه ماهی، ترکیبهای اسانس و خصوصیات فیزیکی شیمیایی آب مورد استفاده باشد. به منظور کاهش استرس و کاهش نیاز اکسیژنی ماهی‌ها در حین عملیات بیهوشی از تغذیه ماهیان ممانعت شد. دمای آب نیز در هنگام آزمایشهای بیش از ۱۵ درجه سانتیگراد (متوسط ۲۲ درجه سانتیگراد) ثابت نگه داشته شد زیرا در دمای پایین تر از ۱۵ درجه به علت حلالیت کم اسانس میخک لازم است آن را به نسبت یک به ده با اتانل یا استن مخلوط کرده و سپس به آب افزود (Keene et al., 1998). با توجه به وارداتی و گرانبه بودن داروهای بیهوش کننده ماهی از جمله MS۲۲۲ و نتایج مثبت بیهوش کنندگی اسانس میخک، لازم است که تأثیر آن بر سایر آبزیان پرورشی در شرایط اقلیمی مختلف و نیز امکان تکثیر میخک و استحصال اسانس آن در ایران مورد بررسی قرار گرفته و در صورت مثبت بودن نتایج، این ماده جایگزین MS ۲۲۲ گردد تا بدین وسیله گامی در جهت کاهش وابستگی دارویی به خارج برداشته شود.

Study on Anesthetization of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) Fingerlings using Clove (*Eugenia caryophyllata*) Oil

M. Mohammadi Arani¹

1- Isfahan Training Center of Jihad-e-Keshavarzi, e-mail: Moham1354@yahoo.com

Abstract

In this research the effect of different concentrations and exposure time of clove oil (*Eugenia caryophyllata*) on anesthesia and recovery stages of fingerlings of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) in three groups of 4.25 g (9-11 cm), 3.33 g (7-9 cm) and 1.89 g (5-7 cm) was investigated at Shahid Rajaei center in Sari in Mazandaran Province by immersion method. The pH and temperature of water were 8.31 and 22°C, respectively. Different concentrations of clove oil (25-120 ppm) showed significant effect according to data of this research (mean range of anesthesia and recovery stages were 39-527 and 247-773 seconds, respectively). Based on the results, when the concentration and exposure time enhanced, the anesthesia stages happened rapidly, while recovery stages take place more slowly ($\alpha < 0.05$). The 75 ppm of clove oil was determined as the best concentration for anesthesia and recovery. This study shows the high potential of clove oil for fish anesthesia, and the clove oil different concentrations (50-120 ppm) seems to be suitable for anesthetization of Persian sturgeon fingerlings.

Key words: Clove oil, Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, anesthesia.