دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی"
دوره سوم، شماره چهارم، زمستان ۹۴
http://jair.gonbad.ac.ir

اثرات بیهوش کنندگی اسانس میخک در تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus* Borodin, 1897: یافته‌های بالینی و بافت‌شناسی

سارا والی[۱]، محمد مازندرانی*[۲]، محمد سوداگر[۳]، محمدرضا ایمانپور[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، [۲]استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، [۳]دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، [۴]استاد گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۴/۶/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۳۰

چکیده

در بررسی حاضر اثرات اسانس میخک به‌عنوان یک بیهوش کننده در تاس‌ماهی ایرانی جوان مورد مطالعه قرار گرفت. در این راستا ۱۵۰ قطعه تاس‌ماهی جوان در ۱۵ تانک تقسیم گردیدند. به‌منظور انجام آزمایش ۳ گروه تیمار، یک گروه کنترل منفی و یک گروه کنترل مثبت و هر گروه با ۳ تکرار در نظر گرفته شد. ماهیان گروه تیمار با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک به‌عنوان ماده بیهوشی مورد مواجهه قرار داده شدند. بر اساس نتایج این بررسی اختلاف معنی‌داری در مراحل مختلف بیهوشی در غلظت‌های مورد مطالعه مشاهده نگردید و در عین حال تمامی غلظت‌های مورد استفاده زمان القای بیهوشی و ریکاوری کمتر از ۳ دقیقه داشتند. بر اساس نتایج بافت‌شناسی این بررسی هیچ عارضه بافتی در کلیه، کبد و آبشش ماهیان مورد بیهوشی در غلظت‌های مختلف مشاهده نگردید. در مواجهه طولانی مدت (۲۰ دقیقه) با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک ادم و جدا شدگی اپیتلیوم لاملاهای ثانویه ثبت گردید. اما در بافت‌های کلیه و کبد هیچ عارضه‌ای مشاهده نگردید. بر اساس نتایج این بررسی غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک برای بیهوشی تاس‌ماهی ایرانی جوان پیشنهاد می‌شود و در عین حال افزایش این غلظت تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نیز در این ماهی قابل قبول بوده و فاقد عوارض بافتی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: *A. persicus*، **اسانس میخک، بیهوشی، هیستوپاتولوژی**

*نویسنده مسئول: mazandarani57@gmail.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

مقدمه

در آبزی‌پروری استفاده از مواد بیهوش‌کننده در بسیاری موارد کاربردی و حتی اجتناب‌ناپذیر است. این مواد در مراحل تکثیر مصنوعی، حمل و نقل ماهیان، امور تحقیقاتی و گاهی نمونه‌برداری و جراحی‌ها به منظور کاهش استرس و کاهش اثرات عوامل آسیب‌رسان فرصت طلب کاربرد دارد (Summerfelt and Smith, 1990). تاکنون تأثیرات بیهوش‌کنندگی تعداد زیادی از مواد شیمیایی در ماهیان به اثبات رسیده است. در این راستا گاهی روش‌های فیزیکی از جمله کاهش درجه حرارت و بیهوشی الکتریکی نیز در ماهیان به‌کار گرفته می‌شود (Hoseini and JafarNodeh, 2013; Hoseini *et al.*, 2011; Velisek *et al.*, 2009; Tort *et al.*, 2002) که چندان معمول نیستند و احتمال آسیب به ماهی نیز در آنها محتمل است. در بسیاری موارد استفاده از مواد شیمیایی دارای عوارض جانبی در ماهی و یا مصرف‌کنندگان آن می‌باشد. به‌عنوان مثال تری‌کائین متان سولفونات از گسترده‌ترین داروهای بیهوش‌کننده در آبزیان است اما با توجه ترکیب شیمیایی آن، علاوه بر اثرات جانبی متعددی برای ماهیان، در بافت‌ها باقی مانده و چون به سرعت تجزیه نمی‌شود موجب آلودگی محیط زیست می‌شود. همچنین اخیرا بر سرطان‌زا بودن آن در انسان نیز تأکید می‌شود. به همین دلیل طی سال‌های اخیر استفاده از داروهای بیهوشی گیاهی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. یکی از این داروهای گیاهی در صنعت آبزی‌پروری پودر و اسانس گیاه میخک است که به دلیل طبیعی بودن و عدم عوارض جانبی می‌توان در ماهیانی که مورد مصرف انسانی دارند نیز استفاده نمود. به دلیل اثرگذاری سریع، ارزان بودن و در دسترس بودن این ماده، در بسیاری از موارد به‌عنوان یک ماده بیهوش‌کننده مناسب در بسیاری از ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. در ایران نیز این ماده به‌عنوان رایج‌ترین ماده بیهوش‌کننده به‌خصوص در ماهیان تجاری مورد مطالعه قرار گرفته است که می‌توان به مطالعه آن به‌عنوان بیهوش کننده در کپور معمولی (Sharifpour *et al.*, 2002؛ Soltani *et al.*, 2004)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Rastiannasab *et al.*, 2013; Soltani *et al.*, 2001)، ماهیان خاویاری (Mohammadi Arani, 2006; Abtahi *et al.*, 2002;) و ماهی آنجل (Ghafari *et al.*, 2013) اشاره نمود.

اگر چه اولین هدف از به‌کارگیری این مواد دست یافتن به بهترین خاصیت بیهوش‌کنندگی است اما همواره عوارض جانبی این داروها نیز مد نظر قرار می‌گیرد. لذا مطالعه روی ترکیبات مختلف به منظور دستیابی به بهترین خاصیت بیهوشی با کمترین عوارض جانبی در ماهی و مصرف‌کنندگان و نیز صرفه اقتصادی آن همواره مورد مطالعه و بررسی بوده است. تاس‌ماهی ایرانی از جمله با ارزش‌ترین ماهیان تجاری دنیا محسوب می‌شود که به دلیل سایز بزرگ و ارزش بالای اقتصادی آنها در بسیاری از موارد، به‌کارگیری عوامل بیهوش‌کننده درآنها اجتناب ناپذیر است. در حال حاضر پودر و اسانس گل میخک به‌عنوان رایج‌ترین ماده بیهوشی ماهیان در کشور است، اما مطالعات اندکی در رابطه با بهترین دوز مورد

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

استفاده و عوارض جانبی آن در این ماهیان با ارزش صورت گرفته است که عمدتاً در ماهیان انگشت قد تاس‌ماهی بوده است (Abtahi *et al.*, 2002; Mohammadi Arani, 2006). این در حالی است که سن ماهیان نیز بر حساسیت آنها نسبت به عوامل بیهوش کننده و عوارض آن تأثیرگذار است. لذا در این بررسی تأثیرات بالینی اسانس میخک و عوارض بافت‌شناسی احتمالی آن در تاس‌ماهیان ایرانی جوان مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و آداپتاسیون: به منظور انجام این بررسی تعداد۱۵۰ قطعه تاس‌ماهی ایرانی پرورشی به وزن (۲/۱۷± ۷۶/۵۵ گرم) از مرکز تکثیر و پرورش شهید مرجانی تهیه شده و در ۳ ونیرو با ابعاد ۲×۲ (متر) و ارتفاع آب‌گیری ۴۰ سانتی‌متر تقسیم شدند. ماهیان به‌مدت ۴ هفته جهت آداپتاسیون در ونیرو پرورش داده شدند و در طی این دوره به میزان ۳ درصد وزن بدن با غذای تجاری بیومار به‌صورت روزانه غذادهی شدند. هوادهی به‌صورت شبانه‌روزی بوده و دمای آب در طی دوره نگهداری ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. در طی دوره ۷۰ درصد آب هر ونیرو به‌صورت روزانه با آب کلرزدایی شده تعویض گردید.

آماده‌سازی و تعیین غلظت ماده بیهوش‌کننده: در این مطالعه اسانس میخک با ماده مؤثره ۹۹ درصد از شرکت سیگما (Sigam Co. USA) تهیه گردید. به دلیل ماهیت روغنی این ترکیب پیش از استفاده به نسبت ۱ به ۴ در اتانول حل شده تا به راحتی در آب حل شود (Hoseini and Jafar Nodeh, 2013) و پس از محاسبه دقیق برای هر تیمار به آب اضافه شد.

طرح و تیماربندی آزمایش: به‌منظور بررسی وضعیت بیهوش‌کنندگی سه گروه تیمار برای اسانس گل میخک، یک گروه کنترل منفی شاهد و یک گروه کنترل مثبت شاهد در نظر گرفته شد. در این راستا ماهیان در ۱۵ ونیرو با حجم آب ۲۵۰ لیتر تقسیم شدند (۱۰ ماهی در هر ونیرو) و به منظور سازگاری با شرایط جدید به مدت ۲ هفته مورد پرورش قرار گرفتند. سپس ماهیان گروه تیمار به‌ترتیب با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ (ppm) مواجهه داده شدند و مراحل بیهوشی و ریکاوری آنها بر اساس جداول پیشنهادی (Cho and Heath, 2000) مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آزمایش ماده بیهوش‌کننده، ماده بیهوشی در تشت‌های حاوی ۱۰ لیتر آب دقیقاً محاسبه و آماده‌سازی شد. سپس ماهیان هر تیمار به‌صورت جداگانه به‌منظور ثبت مراحل مختلف بیهوشی در این تشت‌ها قرار داده شده و مورد بررسی قرار گرفت. سپس به‌منظور بررسی وضعیت ریکاوری، پس از تأیید مرحله ۵ بیهوشی ماهیان به یک ونیرو جداگانه حاوی ۲۵۰ لیتر آب منتقل شدند و مراحل مختلف و واکنش‌های رفتاری آنها ثبت گردید. ماهیان گروه کنترل مثبت به‌منظور بررسی اثر اتانول اضافه شده به‌عنوان حلال با غلظت ۶۰۰

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

قسمت در میلیون به‌مدت ۲۰ دقیقه مورد مواجهه قرار گرفتند. هیچ مواجههای در ماهیان گروه کنترل منفی صورت نگرفت.

نمونه‌برداری از بافت: بررسی آسیب‌شناسی بافتی احتمالی با استفاده از نمونه‌های تهیه شده از بافت‌های کلیه، کبد و آبشش ماهیان گروه تیمار و شاهد انجام شد. در این راستا نمونه‌های آبشش از دومین کمان آبششی، نمونه‌های کلیه از دو سوم انتهایی کلیه و همه نمونه‌های کبدی از لوب راست بافت کبد تهیه شد. علاوه بر این به منظور بررسی اثرات مواجهه با غلظت بالا در زمان مواجهه طولانی‌تر، ۵ عدد از نمونه‌ها در غلظت (ppm)۱۵۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه در معرض اسانس بیهوشی میخک قرار گرفتند و پس از بیهوشی نمونه‌های کلیه، کبد و آبشش این ماهیان نیز به‌منظور بررسی اثرات مواجهه طولانی مدت اسانس میخک مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شده و پس از ۱۲ ساعت دوباره فرمالین نمونه‌ها تعویض شده و به آزمایشگاه ارسال گردید. در آزمایشگاه آماده‌سازی بافت‌های نمونه‌برداری شده با کمک دستگاه پروسسور بافتی (Shandon Duplex Processor ساخت کشور انگلستان) انجام گرفت. نمونه‌ها پس از آبگیری در الکل اتانول پارافینه شده و مقاطع ۵ میکرونی از بافت‌ها تهیه گردید. پس از چسباندن مقاطع بر روی لام به روش استاندارد و معمول هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری ۱۰۰۰× بر اساس کلیدهای شناسایی آسیب‌های بافتی مورد مطالعه قرار گرفتند (Roberts, 2012).

خصوصیات فیزیکو شیمیایی آب مورد استفاده: در طی دوره آزمایش دمای آب ۲±۱۸ درجه سانتی گراد، pH = ۷/۴-۸، سختی آب ۲۸۶ میلی‌گرم در لیتر، قلیائیت ۲۶۱ میلی‌گرم بر لیتر $CaCO_3$، شوری آب حدود ۰/۵ گرم درلیتر، نیترات و نیتریت کمتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر محاسبه و ثبت شد.

آنالیز آماری: نتایج حاصل از آزمایش در نرم‌افزار Excel دسته بندی شده و نتایج به صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان گردید. جهت مقایسه میانگین‌ها از نرم افزار SPSS-18 با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و تست دانکن در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ استفاده گردید.

نتایج

علایم رفتارشناسی: علایم رفتاری در ماهیان مواجهه شده با غلظت‌های مختلف بیهوشی اسانس میخک نسبتاً شبیه به هم و یکسان بود. در چند ثانیه اول معرفی ماهیان به محلول بیهوش‌کننده، افزایش ضربان سرپوش آبششی قابل مشاهده بود. سپس ماهیان شروع به شنای سریع‌تر و بی‌هدف نمودند و در نهایت کمی آرام شدند و به مرحله اول بیهوشی وارد گردیدند. ماهیان در کف ظرف حاوی ماده بیهوشی آرام و بی‌حرکت شده و ضربات آبششی روند کاهشی به خود گرفت. ماهیان پس از مدتی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

تعادل خود را از دست داده و ضربات آبشش نامنظم کم کم به‌صورت منظم و بسیار آرام قابل مشاهده گردیده و ماهیان به‌طور کامل بیهوش شدند. در بررسی مراحل مختلف بازگشت از بیهوشی، در ابتدا افزایش ضربات سرپوش آبششی ماهیان مشاهده گردید. سپس ماهیان کم کم تعادل خود را بدست آورده و در جای خود در بستر تانک بی‌حرکت می‌ماندند و پس از آن با بازگشت کامل هوشیاری شروع به شنا می‌نمودند. در این ماهیان به‌دلیل عادت بسترنشینی معمولاً شنای نامتعادل مرحله ۴ بیهوشی به‌خوبی قابل مشاهده نبود. در حقیقت ماهیان ترجیح می‌دادند تا زمان بازگشت کامل هوشیاری در جای خود بی‌حرکت بمانند و تنها در صورت تحریک در مرحله ۴ ریکاوری شروع به شنای نامتعادل می‌نمودند. در بررسی نگهداری طولانی ماهیان در غلظت‌های بیهوش‌کننده میخک، روند کاهش ضربات آبششی ادامه یافت به گونه‌ای که بعد از ۱۰ دقیقه مواجهه، تعداد ضربات آبششی به ۳ تا ۵ بار در دقیقه رسید و این روند تا پایان ۲۰ دقیقه مواجهه ادامه یافت. در عین حال روند بازگشت از بیهوشی این ماهیان نیز بسیار طولانی بود و حدود ۱۰±۲/۱ دقیقه به طول می‌انجامید.

نتایج حاصل از مراحل مختلف بیهوشی و ریکاوری غلظت‌های مختلف میخک در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. براساس بررسی‌های آماری ماهیان بیهوش شده با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم درلیتر اسانس میخک نسبت به ماهیان مواجهه شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک زودتر به مرحله ۴ بیهوشی رسیدند ($p<۰/۰۵$). اما در دیگر مراحل بیهوشی به‌خصوص مرحله بیهوشی کامل (مرحله۵) هیچگونه اختلاف معنی‌داری برای غلظت‌های مختلف اسانس میخک در این بررسی ثبت نگردید ($p >۰/۰۵$) (جدول۱ و شکل۱). در عین حال در مراحل مختلف بازگشت از بیهوشی برای غلظت‌های مختلف اسانس میخک به‌عنوان بیهوش‌کننده نیز هیچ اختلاف آماری مشاهده نگردید ($p >۰/۰۵$) (جدول۲ و شکل۲).

جدول ۱: مدت زمان مراحل مختلف بیهوشی (ثانیه)در تاس‌ماهی ایرانی‌جوان *A. persicus* با استفاده از اسانس میخک (میانگین و انحراف استاندارد) (تعداد نمونه برای هر غلظت= ۳۰ نمونه)

مراحل بیهوشی	غلظت اسانس میخک (ppm)		
	۵۰	۱۰۰	۱۵۰
مرحله ۱	۲۱/۱۱±۱۰/۸۳^{a}	۱۷/۵±۷^{a}	۸±۴/۸۳^{a}
مرحله ۲	۳۸/۱۱±۱۸/۱^{a}	۳۲/۱۴±۸/۹۲^{a}	۱۶/۷±۱۱/۱۰^{a}
مرحله ۳	۵۳/۲۲±۲۰/۵۵^{a}	۴۲±۱۱/۱۵^{a}	۲۶/۵±۱۸/۸۶^{a}
مرحله ۴	۶۱/۹±۲۷/۳۵^{a}	۵۶/۷۶±۱۷/۸۲^{ab}	۲۳/۸۸±۱۲/۴۴^{b}
مرحله ۵	۹۲/۷۷±۳۰/۵۲^{a}	۷۷/۱۴±۳۷/۸۶^{a}	۵۳/۳۳±۲۸/۱۷^{a}

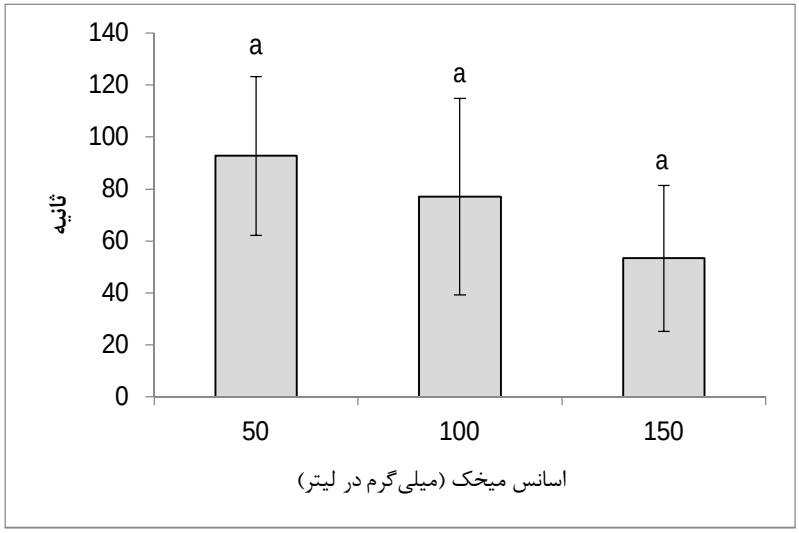
*: حروف غیر مشابه در ردیف‌های افقی به معنی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

جدول ۲: مدت زمان مراحل مختلف بازگشت از بیهوشی (ریکاوری) در تاسماهی ایرانی جوان *A. persicus* با استفاده از اسانس میخک (میانگین و انحراف استاندارد) (تعداد نمونه برای هر غلظت= ۳۰ نمونه)

زمان مراحل ریکاوری	غلظت اسانس میخک (ppm)		
(ثانیه)	۵۰	۱۰۰	۱۵۰
مرحله ۱	۲۳/۴۶±۱۸/۴۱[a]	۲۵/۴۵±۱۴/۹۰[a]	۶۵/۵۵±۷۴/۳۴[a]
مرحله ۲	۵۷/۶۹±۳۰/۸۶[a]	۴۸/۱۸±۲۱/۹۴[a]	۱۰۱/۲۵±۹۵/۱۲[a]
مرحله ۳	۸۶/۵۳±۴۳/۸۴[a]	۷۷/۲۷±۲۸/۲۲[a]	۱۲۲/۴۴±۹۸/۱۰[a]
مرحله ۴	۱۱۱/۱۵±۵۳[a]	۱۱۱/۳۶±۶۱/۰۳[a]	۶۲/۶۶±۱۰۲/۹۶[a]
مرحله ۵	۱۳۷/۶۹±۶۴/۳۱[a]	۱۴۳/۶۳±۸۳/۴۵[a]	۱۸۶/۸۷±۱۱۲/۸۸[a]

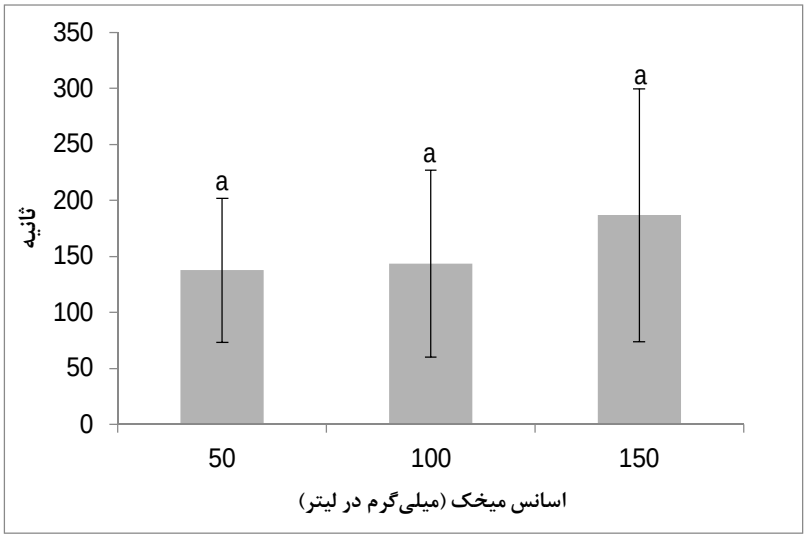
*: در ردیف‌های افقی حروف غیر مشابه به معنی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۱: نتایج حاصل از مقایسه میانگین زمان‌های بیهوشی (ثانیه) با غلظت‌های مختلف اسانس میخک در تاس‌ماهی ایرانی جوان *A. persicus* (تعداد نمونه برای هر غلظت = ۳۰ نمونه)

حروف غیر مشابه در ردیف‌های افقی به معنی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

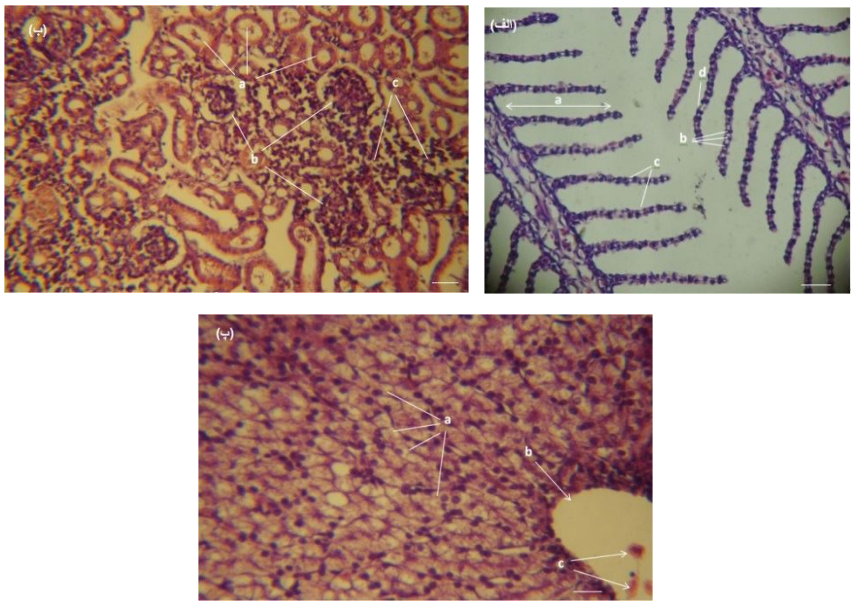


شکل ۲: نتایج حاصل از مقایسه میانگین زمان‌های بازگشت از بیهوشی(ثانیه)با غلظت‌های مختلف اسانس-میخک در تاس‌ماهی‌ایرانی جوان *A. persicus* (تعداد نمونه برای هر غلظت = ۳۰ نمونه)

حروف غیر مشابه در ردیف‌های افقی به معنی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

یافته‌های بافت‌شناسی: براساس نتایج بافت شناسی حاصل از بررسی حاضر آبشش، کلیه و کبد ماهیانی که در معرض محلول بیهوش‌کننده اسانس میخک با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند در مقایسه با تیمار شاهد هیچگونه عوارضی نداشته است (شکل ۳). در ماهیانی که در معرض ۲۰ دقیقه مواجهه با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک قرار گرفتند ادم و جداشدگی بافت اپیتلیوم لاملاهای ثانویه ثبت گردید. اما هیچ عاضه دیگری در بافت‌های کلیه و کبد این ماهیان مشاهده نشد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]



شکل ۳: مقاطع بافتی تاس‌ماهیان جوان *A. persicus* مواجهه شده با میخک ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بلافاصله پس از بیهوشی. شکل (الف) – بافت آبشش، لاملای ثانویه: a، سلول‌های ستونی یا پیلار : b، اپیتلیوم غشاء پایه لاملای ثانویه: C، هسته اپیتلیوم غشاء پایه: d شکل (ب)- بافت کلیه، توبول‌های کلیوی: a، گلومرول کلیوی: b، بافت بینابینی کلیه (اینترستیشیال): c شکل (پ)- بافت کبد، هپاتوسیت‌های کبدی: a، سیاهرگ مرکزی باب: b، گلبول‌های قرمز خون: c

بحث و نتیجه‌گیری

شیوه‌های آبزی‌پروری مدرن اغلب ماهی را در معرض انواع عوامل استرس‌زا قرار می‌دهند (Akar, 2011) و این استرس می‌تواند منجر به کاهش قدرت سیستم ایمنی، افزایش حساسیت به بیماری، کاهش کیفیت تخم و اسپرماتوکریت و کاهش رشد گردد (Lwama *et al*., 1997; Wagner *et al*., 2002). بنابراین در بسیاری موارد در آبزی‌پروری استفاده از بیهوش‌کننده‌ها ضروری و بسیار مفید است (Rotllant *et al*, 2007; Skjervoldt *et al*., 2001). اگر چه بیهوشی می‌تواند روشی ارزشمند در کاهش استرس ماهیان در طول پروسه‌های دستکاری باشد، اما خود ماده بیهوش‌کننده نیز می‌تواند عوارض جانبی ناخواسته فراوانی داشته باشد و بنابراین باید با احتیاط مورد استفاده قرار گیرد (Zahl *et al*., 2012). لذا همواره انتخاب بهترین غلظت مؤثر بیهوش‌کننده با کمترین عوارض جانبی پیشنهاد شده است.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

در رابطه با بیهوش‌کنندگی میخک در ماهیان مختلف بررسی‌های متعددی صورت گرفته است. هرچند در تمام این بررسی‌ها عصاره و اسانس گل میخک به‌عنوان یک داروی بیهوش‌کننده مناسب و قابل قبول معرفی شده است اما نتایج حاصل از اثرگذاری این ماده در ماهیان مختلف متفاوت گزارش شده است. در این راستا برای بیهوش‌کنندگی اسانس میخک در تاس‌ماهی ایرانی نیز برخی تحقیقات صورت گرفته است که عمدتاً روی ماهیان انگشت متمرکز شده است. در این رابطه می‌توان به بررسی محمدی آرانی (Mohammadi Arani, 2006) اشاره نمود که اثر بیهوش کنندگی اسانس میخک در غلظت‌های ۲۵ تا ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر را در بچه ماهیان انگشت‌قد تاس‌ماهی ایرانی در سه گروه وزنی بین ۱/۹۸ تا ۴/۲۵ گرمی مورد بررسی قرار داد. در بررسی مذکور زمان بیهوشی و ریکاوری در گروه‌های مختلف وزنی، متفاوت ثبت گردید اما بهترین غلظت مورد استفاده پیشنهاد نگردید. درعین حال مدت زمان القاء و بازگشت از بیهوشی در بچه‌ماهیان انگشت‌قد تاس‌ماهی ایرانی برای غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر در بررسی مذکور نسبت به تاس‌ماهیان ایرانی جوان در تحقیق حاضر بالاتر ثبت گردید. این تفاوت ممکن است به دلیل تفاوت در سایز ماهی، میزان ماده مؤثره اسانس میخک و یا تفاوت در شرایط فیزیکوشیمیایی آزمایش‌ها باشد. اطلاعات کمی در رابطه با بیهوش‌کنندگی این ماده در تاس‌ماهیان جوان و بالغ وجود دارد. در بررسی حاضر اختلاف معنی‌داری بین زمان‌های بیهوشی و بازگشت از بیهوشی برای غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک در تاس‌ماهیان ایرانی جوان مشاهده نشد. این نتایج با نتایج ماهیان انگشت‌قد تاس‌ماهی ایرانی و سایر ماهیان متفاوت است. به‌عنوان مثال در بررسی محمدی آرانی (Mohammadi Arani, 2006) با افزایش غلظت اسانس میخک زمان القاء بیهوشی کاهش یافته و زمان بازگشت از بیهوشی افزایش یافته است. این موضوع در مطالعه‌ای که توسط سلطانی و همکاران (Soltani *et al*., 2007) در ماهیان گونه‌های کپور معمولی و تاس‌ماهی ایرانی انجام شد نیز گزارش گردید که در آن با افزایش مقدار اسانس گل میخک مدت زمان رسیدن به بیهوشی کامل کاهش یافت. در بررسی متعدد در سایر ماهیان نیز با افزایش غلظت اسانس میخک، زمان بیهوشی روند کاهشی و زمان بازگشت از بیهوشی روند افزایشی داشته است (Keen *et al*., 1998; Stehly and Gingerich, 1999; Cho and Heath, 2000)، که این امر به علت تأثیری است که اسانس میخک و ماده موثره آن یعنی اوژنول در سیستم عصبی ماهی می‌گذارد و موجب می‌شود که ماهی فعالیت خود را به کندی انجام دهد و در نتیجه ترکیب‌های اسانس دیرتر از بدن ماهی خارج می‌گردد (Munday and Wilson, 1997; Hikasa *et al*., 1986).

در بررسی حاضر، کاهش ظاهری زمان بیهوشی با افزایش غلظت ماده بیهوشی مشاهده شد اما در بررسی‌های آماری این اختلاف معنی‌دار نبود. این امر احتمالا به دلیل انحراف استاندارد بالای نتایج بوده است. ابطحی و همکاران (Abtahi *et al*., 2002) غلظت میانه کشنده (LC_{50}) اسانس میخک برای بچه

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

تاس‌ماهیان ایرانی انگشت‌قد طی ۲ ساعت مواجهه را ۲۹۷ میلی‌گرم در لیتر و برای قزل‌آلای رنگین کمان ۱۹۹ میلی‌گرم در لیتر ثبت نمودند. البته بسته به گونه ماهی و مدت زمان مواجهه این مقادیر متفاوت خواهد بود. مثلاً در یک بررسی میزان غلظت مناسب اسانس میخک برای بیهوشی قزل‌آلای رنگین کمان ۶۰–۴۰ میلی‌گرم درلیتر عنوان گردیده و میزان LC_{50} برای ۹۶ ساعت مواجهه ۹ میلی‌گرم درلیتر محاسبه گردید (Keen *et al*., 1998). در بررسی حاضر تاس‌ماهیان جوان قادر به تحمل غلظت‌های ۵۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر برای مدت ۲۰ دقیقه بودند که در بررسی‌های بافت‌شناسی مواجهه طولانی مدت اسانس میخک باعث ادم شدید و جداشدگی اپیتلیوم غشاء پایه در لاملا های ثانویه آبشش گردید اما هیچ تلفاتی در این دوره ثبت نگردید. در عین حال در این ماهیان هیچگونه عارضه‌ای در بافت‌های کلیه و کبد ثبت نگردید. به نظر می‌رسد احتمالاً یکی دلایل اصلی مرگ در مواجهه با غلظت‌های بالاتر و و طولانی مدت، آسیب به لاملاهای ثانویه و در نتیجه هیپوکسی باشد اما برای اثبات این ادعا به بررسی‌های بیشتری نیاز است. اطلاعات در رابطه با عوارض اسانس میخک روی فیزیولوژی ماهیان هنوز بسیار محدود بوده و در مواردی با افزایش غلظت عوارض نامطلوبی نیز در ماهیانی که با این ماده بیهوش شدند گزارش شده است (Anderson *et al*., 1997).

در بسیاری از موارد برای تسهیل و استفاده از داروها و مواد روغنی از جمله اسانس‌ها از الکل اتیلیک به‌عنوان حلال استفاده می‌شود که عملاً در غلظت‌های معمول استفاده شده هیچگونه عارضه‌ای برای آن گزارش نشده است. در بررسی حاضر نیز غلظت ۰/۶ سی‌سی الکل اتیلیک در یک لیتر آب، هیچ تأثیری بر بیهوشی ماهی نداشته و در عین حال در بررسی های بافت‌شناسی هیچ عارضه‌ای در کبد، کلیه و آبشش این گروه از ماهیان مشاهده نگردید.

به‌طورکلی پیشنهاد شده است که یک ماده بیهوش کننده مطلوب برای ماهیان بایستی به‌ترتیب زمان‌های القا بیهوشی و احیای کامل پس از بیهوشی ۳ و ۵ دقیقه را داشته باشد (Khosravani Zadeh *et al*., 2011) که غلظت‌های به‌کارگرفته شده در این مطالعه همگی معیارهای لازم برای یک بیهوش‌کننده مناسب را به نمایش گذاشتند.

در مطالعه حاضر در بررسی‌های بافت‌شناسی برای غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس روغنی میخک به‌عنوان یک داروی بیهوش کننده در طی یک دوره بیهوشی کامل و سپس ریکاوری، هیچ نوع اثرات آسیب‌شناسی در بافت‌های کلیه، کبد و آبشش تاس‌ماهیان جوان باعث نگردید. به عبارت دیگر بر اساس نتایج این بررسی استفاده از غلظت ۵۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک به‌عنوان بیهوش کننده عارضه آسیبی به بافت‌های کلیه، کبد و آبشش تاس‌ماهیان جوان وارد نمی‌سازند و می‌تواند در این ماهیان مورد استفاده قرار گیرد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

در نهایت با توجه به نتایج حاضر غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک ۹۹ درصد (به همراه اتانول به‌عنوان حلال) به‌عنوان غلظت مؤثر و مطلوب بیهوشی برای تاس‌ماهیان ایرانی جوان پیشنهاد می‌گردد اما چنانچه این غلظت تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نیز افزایش یابد عوارض چندانی به همراه نخواهد داشت.

منابع

Abtahi B., Sharifpour A., Aqajanpour M., Rasouli, A., Faghirzadeh S., Omidbeigy R., Nazari R.M. 2002. Comparing the clove essence LC_{50} in Rainbow Trout and Common Carp. Iranian Scientific Fisheries Journal, 11: 1-12. (In Persian)

Akar A.M.A. 2011. Effects of clove oil on the responses of blue Tilapia (*Oreochromis aureus*) by transportation stress. Journal of the World Aquaculture Society, 6(1): 77-86.

Anderson W.G., Mckinley R.S., Colavecchia M. 1997. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and is effects on swimming performance. North American Journal of Fisheries Management, 17: 301-307.

Cho G.K., Heath D.D. 2000. Comparison of tricaine methane-sulfonate (MS222) and clove oil anaesthesiaeffects on the physiology of juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. Aquaculture Research, 31: 537-546.

Ghafari M., Khosravani Zadeh A., Gharayi A., Salehi H., Abtahi B, Rahdari A. 2013. Anesthetic effects of clove oil essence loaded on the iron nanoparaticles in Angel fish (*Pterophyllum scalare*). Iranian Veterinary Journal, 9(3): 81-89. (In Persian)

Hikasa Y., Takase K., Ogasawara T., Ogasawara S. 1986. Anesthesia and recovery with tricainemethansulfonate, eugenol and thiopental sodium in the Carp, *Cyprinus carpio*. Japanese Journal of Veterinary Science, 48(2): 341-351.

Hoseini S.M., Hosseini S.A., Jafar Nodeh A. 2011. Serum biochemical characteristics of Beluga, *Huso huso*, in response to blood sampling after clove powder solution exposure. Fish Physiology and Biochemistry, 37: 567-572.

Hoseini S.M., Jafar Nodeh A. 2013. Changes in blood biochemistry of Common Carp (*Cyprinus carpio*), following exposure to different concentrations of Clove solution. Comparative Clinical Pathology, 22: 9-13.

Keen J.K., Noakes D.L.G., Moccia R.D., Soto C.G. 1998. The efficiency of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 29: 89-101.

Khosravani Zadeh A., Ghaffari M., Khajeh M., Abtahi B., Salehi H., Zaki Pour Rahimabady A., Ahmdi Pour Nezam Abadi Kh. 2011. Using of Clove extract (*Eugenia caryophyllata*) loaded with iron nanoparticles to induce anesthesia in

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 4: 43-52. (In Persian).

Lwama G.K., Pichering A.D., Sumpter J.P., Schreck C.B. 1997. Fish stress and health in aquaculture. Cambridge University Press, UK, 278 P.

Mohammadi Arani M. 2006. Study on Anesthetization of Persian sturgeon (*Acipense persicus*) fingerling using Clove (*Engenia caryophyllata*) oil. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant, 22(3): 188-192. (In Persian).

Munday P.L., Wilson S.K. 1997. Comparative efficacy of Clove oil and other chemicals, in anaesthetization of *Ponacentrus amboinensis*, a coral reef fish. Journal of Fish Biology, 51: 931-935.

Rastiannasab A, Hosseini S.A. Sharif rouhani M. Gandomkar H.A., Nekouifard A., Georgipour A. 2013. The control of recovery process with Clove tree (*Eugenia caryophyllata*) in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 23 (1): 117-123. (In Persian)

Roberts R.J. 2012. Fish Pathology, 4th Edition. Wiley-Blackwell, 590 P.

Rotllant J., Balm P.H.M., Prez Sanchez J., Bonga S.E.W., Tort L. 2007. Pituitary and internal function in gilthead Sea bream (*Sparus aurata*) after handling and confinement stress. General and Comparative Endocrinology, 121: 333-342.

Sharifpour A. Soltani M., Abdulhay H., Ghayoumi R. 2002. The anesthetic effect of the Clove essence (*Eugenia caryophyllata*) in different pH and temperature conditions on Common carp baby fish (*Cyprinus carpio*). Scientific Journal of Fisheries, 11 (4): 60-74. (In Persian).

Skjervoldt P.O., Fjaera S.O., Ostby P.B., Einen O. 2001. Live chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 192: 265-280.

Soltani M. 2007. Examining the anesthetic effects of the Clove extract and essence in some farmed aquatic species. Research Report, Iranian Fisheries Research Institute, the Institute of the Caspian Sea Ecology, 36 P.

Soltani M., Ghaffari M., Khazraeinia P., Bokaei S. 2004. Effects of Clove oil (*Eugina cayophyllata*) anaesthesia on haematological parameters, certain serum enzymes and some tissues in common carp (*Cyprinuscarpio*). Journal of Veterinary Research, 59(3): 295- 299. (In Persian).

Soltani M., Omidbeigi R., Rezvani S., Mehrabi M.R., Chitsaz H. 2001. Study of anesthetic effects induced by Cove flower (*Eugina caryophyllata*) on Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under various water quality conditions. Journal of Veterinary Research, 56(4): 85-89. (In Persian).

Stehly G.R., Gingerich W.H. 1999. Evaluation of Aqui-Sk (efficacy and minimum toxic concentration) as ananaesthetic sedative for public aquaculture in the United States. Aquaculture Researches, 30: 365-372.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

Summerfelt R.C., Smith L.S. 1990. Anesthesia, surgery, and related techniques. In: Schreck CB, Moyle PB (Eds.). Methods for Fish Biology. American Fisheries Society, Bethesda, MD, pp. 213-272.

Tort L., Puigcever M., Crespo S., Padros F. 2002. Cortisol and hematological response in Sea bream and trout subjected to the anesthetics clove oil and 2-phenoxyethanol. Aquaculture Research, 33: 907-910.

Velisek J., Stejskal V., Kouril J., Svobodova Z. 2009. Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of Perch. Aquaculture Research, 40: 354-361.

Wagner E., Arndta R., Hilton B. 2002. Physiological stress responses, egg survival and sperm mortality for Rainbow trout brood stock anesthetized with Clove oil, tricaine methane-sulfonate or carbon dioxde. Aquaculture, 211: 353-366.

Zahl I.H., Samuelson O., Kiessling A. 2012. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. Fish Physiology and Biochemistry, 38: 201-218.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]