



اثر اسانس گل میخک بر بیهوشی ماهی گویی ماده (*Poecilia reticulata*)

محسن تجری^{۱*}، عظیم عظیمی^۲، حامد کلنگی میاندره^۲، رضا ایزی^۱ و عزت اله شریف راده^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرگز، گروه شیلات، بندرگز، ایران

۲- دانشگاه گلستان، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گروه شیلات، گرگان، ایران

مسئول مکاتبات: mohsen_t56@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق، اثر غلظت و مدت زمان بیهوشی و بازگشت از بیهوشی اسانس گل میخک با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر روی ماهی گویی ماده بررسی شد. تعداد ۵ قطعه ماهی گویی با وزن زیر یک گرم برای هر غلظت در نظر گرفته شد. پس از آماده سازی غلظت های اسانس آویشن شیرازی در ظرف، ماهیان به صورت انفرادی به ظرف حاوی محلول بیهوشی منتقل و زمان از دست دادن تعادل و زمان ایجاد بیهوشی ثبت شد. سپس ماهیان از ظرف حاوی محلول بیهوشی به ظرف حاوی آب تمیز منتقل و زمان بازگشت تعادل و زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی توسط زمان سنج اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت ماده بیهوش کننده، مراحل بیهوشی سریعتر و مراحل بازگشت از بیهوشی کندتر اتفاق می افتد بطوری که در غلظت های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس گل میخک، ماهیان گویی در مدت کمتر از یک دقیقه بیهوش شدند و مرحله بازگشت از بیهوشی آنها در آب تمیز نسبت به غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر آهسته تر رخ داد. کلمات کلیدی: بیهوشی، اسانس گل میخک، ماهی گویی.

مقدمه

ویژگی هایی مانند ایجاد بیهوشی سریع، سهولت و سرعت در بازگشت از بیهوشی، سرعت دفع آنها از بافت ها، عدم خاصیت مسمومیت زایی در غلظت های درمانی و ارزان (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۰) بوده برای کاهش استرس و فعالیت های فیزیولوژیکی در آبزیان استفاده می گردد. گل میخک دارای خاصیت آرام کنندگی و تسکین درد است که برای بیهوشی و آرام کردن انواع ماهیان در کشورهایی مانند اندونزی (Soto and Burhanuddin, 1995)، استرالیا (Anderson et al., 1997) و آمریکا (Keene et al., 1998) استفاده می شود. مطالعات زیادی در رابطه با غلظت و مدت زمان بیهوشی و بازگشت از بیهوشی اسانس گل میخک، در انواع ماهیان انجام شده است که می توان به مطالعات روی گونه صافی ماهی *Siganus argenteus* (Soto and Burhanuddin, 1995)، *Siganus lineatus* (Tamaru et al., 1995) و *Pomacentrus amboinensis* (Munday and Wilson, 1997)، قزل آلی رنگین کمان (سلطانی و

ماهی گویی (*Poecilia reticulata*) از خانواده پوسیلیده (کپوردندان داران) و زنده زا می باشد (Sandford, 1998) و به عنوان یکی از محبوب ترین ماهیان در بین ماهیان زینتی در سطح جهان بوده که گونه-ای گرمسیری است و در دمای بین ۲۴-۳۰ درجه سانتی گراد (Liley and Seghers, 1975) در میان تخته سنگ ها و گیاهان آبی زندگی می کند. حداکثر طول آنها ۵ الی ۶ سانتی متر و تقریباً تمامی رنگ های موجود در رنگین کمان را می توان در این ماهیان مشاهده کرد به همین خاطر یکی از فراگیرترین و زیباترین ماهیان آکواریومی بوده که بطور گسترده تکثیر و پرورش می یابد. دستکاری، حمل و نقل، تکثیر مصنوعی، خونگیری، درمان موضعی و یا تزریقی، واکسیناسیون و بیوپسی از پوست، باله ها و آبشش ها ماهیان موجب افزایش فعالیت های فیزیولوژیکی و استرس شده که زمینه را برای بروز بیماری ها و تلفات بعدی ماهیان ایجاد می کند. لذا از مواد بیهوش کننده ای که تا حد امکان فاقد عوارض جانبی باشند و دارای



در این مطالعه، همانند مطالعه شریف پور و همکاران (۱۳۸۱) از مرحله ۲ بیهوشی برای زمان از دست دادن تعادل در نظر گرفته شد که در این مرحله ماهی کوششی برای مستقیم نگهداشتن خود نمی‌کند. از مرحله ۳ بیهوشی برای زمان ایجاد بیهوشی در نظر گرفته شد که در این سطح ماهی کاملاً بی حرکت است و به فشاری که بر ساقه دمیش با انگشت وارد می‌شود واکنشی نشان نداده ولی به فشار زیادی که با وسیله ای نوک تیز وارد می‌شود واکنش نشان می‌دهد (مویر 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 ضربه زدن به ظرف پاسخ می‌دهد (keene et al., 1998).

جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (15) استفاده شد. پس از تایید توزیع نرمال داده‌ها با آزمون Shapiro-wilk، از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و از مقایسه میانگین توکی جهت مقایسه بین تیمارهای مختلف (غلظت‌های مختلف اسانس گل میخک) با سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از زمان از دست دادن تعادل، زمان ایجاد بیهوشی یا عدم واکنش به محرک خارجی، زمان بازگشت تعادل و زمان بازگشت یا واکنش به محرک خارجی ماهی گویی ماده در غلظت‌های مختلف اسانس گل میخک در جدول ۱ و ۲ مشخص شده است. بررسی نتایج حاصل از زمان بیهوش شدن و بازگشت از بیهوشی ماهی گویی، تفاوت معنی داری بین غلظت‌های مختلف نشان داد ($P < 0/05$).

بررسی میانگین زمان از دست دادن تعادل ماهی در محلول بیهوشی با غلظت‌های مختلف نشان داد که در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر (تیمار A) اسانس گل میخک، زمان بیشتری لازم است تا ماهی تعادلش را از

همکاران، ۱۳۸۰؛ ابطی و همکاران، ۱۳۸۱؛ Anderson (et al., 1997; Keene et al., 1998)، کپور معمولی (شریف پور و همکاران، ۱۳۸۱؛ ابطی و همکاران، ۱۳۸۱؛ Velisek et al., 2005; Hajek et al., 2006)، تاس ماهی دریاچه‌ای *A. fluvescens* (Peake, 1998) اشاره کرد. اما مطالعه ای در جهت تعیین غلظت و مدت اثر بیهوشی و بازگشت از بیهوشی اسانس گل میخک روی ماهی گویی صورت نگرفت لذا در این تحقیق، اثر غلظت و مدت زمان بیهوشی و بازگشت از بیهوشی اسانس گل میخک روی ماهی گویی ماده مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

اسانس گل میخک بکار رفته در این مطالعه با استفاده از فرآیند تقطیر بوسیله دستگاه کلونجر مطابق با روش فارماکوپه مجارستان تهیه گردید (محمدی ارانی، ۱۳۸۵). تعداد ۲۰ قطعه ماهی گویی ماده زیر یک گرم با میانگین وزنی $0/64 \pm 0/22$ گرم و میانگین طولی $3/62 \pm 0/24$ سانتی متر انتخاب و به مدت یک هفته در نیرو با ظرفیت تقریبی ۱۰۰ لیتر جهت آدپتاسیون نگهداری شدند. در طول مدت نگهداری و انجام آزمایش فاکتورهای مهم فیزیکی شیمیایی آب شامل درجه حرارت، pH و سختی آب ثبت شد. ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش غذا دهی به ماهیان متوقف شد. برای آزمایش، غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس گل میخک انتخاب و برای هر غلظت تعداد ۵ قطعه ماهی گویی ماده در نظر گرفته شد. پس از تهیه غلظت مناسب اسانس گل میخک در هر ظرف، ماهی به صورت انفرادی از محل نگهداری به ظرف حاوی محلول بیهوشی انتقال داده شد. زمان از دست دادن تعادل (T.L.E) و زمان ایجاد بیهوشی (T.I.A) ثبت و سپس ماهی از ظرف حاوی محلول بیهوشی به ظرف حاوی آب تمیز منتقل و زمان بازگشت تعادل (T.E.R) و زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی (T.R.R) توسط زمان سنج (کرونومتر) اندازه‌گیری شد (شریف پور و همکاران، ۱۳۸۱).

تبادل ماهی گوپی در تیمارهای مختلف، تفاوت معنی داری نشان داد ($P < 0/05$). ماهیانی که با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر (تیمار A) بیهوش شدند سریعتر از دیگر غلظت یا تیمارها تبادل خود را بدست آوردند (زمان بازگشت تبادل تیمار A، کمتر از یک دقیقه). ماهیانی که با غلظت بالاتر اسانس گل میخک بیهوش شدند در هنگام قرار گرفتن در آب تمیز، زمان بیشتری طول کشید تا تبادل خود را بدست آورند (جدول ۲).

ماهیان همچنان در آب تمیز باقی ماندند تا کاملاً تبادل خود را بدست آورده و به محرک های خارجی واکنش دهند این زمان نیز ثبت شد. ماهیانی که با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس گل میخک بیهوش شدند، نسبت به دیگر غلظت‌ها، زمان بیشتری طول کشید تا به محرک‌های خارجی واکنش دهند. اما در این مرحله بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی داری مشاهده نشد. ($P > 0/05$).

زمان بازگشت از بیهوشی از محاسبه مجموع زمان بازگشت تبادل و زمان بازگشت و واکنش به محرک خارجی بدست آمد که نتایج حاصل از آن بین تیمارها، اختلاف معنی داری نشان داد ($P < 0/05$). ماهیان گوپی که با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر اسانس بیهوش شدند در هنگام قرار گیری در آب تمیز در زمان کوتاه تری شرایط بازگشت از بیهوشی را طی کردند و با افزایش غلظت اسانس، نیاز به زمان بیشتری بود تا ماهیان به شرایط تحرک قابل قبول (واکنش به محرک خارجی) برسند.

دست بدهد و با افزایش غلظت اسانس تا ۲۰۰ میلی گرم در لیتر این زمان کاهش یافت و ماهی سریعتر تعادلش را از دست داد و اختلاف معنی داری بین غلظت های مختلف مشاهده شد ($P < 0/05$)؛ جدول ۱).

بیشترین و کمترین میانگین زمان ایجاد بیهوشی یا عدم واکنش به محرک خارجی ماهی به ترتیب در محلول با غلظت ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس مشاهده شد که میزان آن به ترتیب $60/4 \pm 9/07$ و $20/4 \pm 2/7$ ثانیه بود. این نتیجه نشان داد که پس از زمان از دست دادن تعادل حدود ۶۰ ثانیه بعد ماهی گوپی ماده در محلول با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر، بیهوش شده و به محرک‌های خارجی عکس العمل نشان نداد و در محلول با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر این زمان حدود ۲۰ ثانیه طول کشید. بررسی نتایج میانگین زمان ایجاد بیهوشی یا عدم واکنش به محرک خارجی ماهی در محلول با غلظت های مختلف اختلاف معنی داری نشان داد ($P < 0/05$)؛ جدول ۱). زمان کامل ایجاد بیهوشی از محاسبه، مجموع زمان از دست دادن تعادل و زمان ایجاد بیهوشی یا عدم واکنش به محرک خارجی بدست آمد. نتایج زمان کامل بیهوشی ماهی گوپی، اختلاف معنی داری بین غلظت ها نشان داد ($P < 0/05$). ماهیان در محلول بیهوشی با غلظت ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس گل میخک، در کمتر از یک دقیقه بیهوش شدند. پس از بیهوشی کامل ماهی، ماهی در آب تمیز قرار گرفت و هنگامی که ماهی تعادل خود را بدست آورد زمان ثبت شد. بررسی میانگین زمان بازگشت



جدول ۱ زمان بیهوشی ماهی گوپی ماده در غلظت های مختلف اسانس گل میخک

تیمارها (غلظت گل میخک)	زمان از دست دادن تبادل (ثانیه)	زمان ایجاد بیهوشی یا عدم واکنش به محرک خارجی ماهی (ثانیه)	زمان کامل ایجاد بیهوشی (ثانیه)
A (۵۰ میلی گرم در لیتر)	۴۹±۹/۱۷ ^a	۶۰/۴±۹/۰۷ ^a	۱۰۹/۴±۱۵/۷۱ ^a
B (۱۰۰ میلی گرم در لیتر)	۳۷/۶±۲/۷ ^{ab}	۳۴/۴±۸/۳ ^b	۷۲±۱۰/۴۹ ^b
C (۱۵۰ میلی گرم در لیتر)	۲۶/۸±۵/۷۶ ^{bc}	۲۷/۶±۷/۰۲ ^{bc}	۵۴/۴±۲/۱۹ ^{bc}
D (۲۰۰ میلی گرم در لیتر)	۲۳/۴±۶/۹۱ ^c	۲۰/۴±۲/۷ ^c	۴۳/۸±۸/۰۷ ^c

جدول ۲ زمان بازگشت از بیهوشی ماهی گوپی ماده در غلظت های مختلف اسانس گل میخک

تیمارها (غلظت گل میخک)	زمان بازگشت تعادل (ثانیه)	زمان بازگشت و واکنش به محرک خارجی (ثانیه)	زمان کل بازگشت از بیهوشی (ثانیه)
A (۵۰ میلی گرم در لیتر)	۴۳±۱۱/۳۵ ^c	۴۰±۶/۲۵ ^a	۸۳±۱۲/۱۲ ^c
B (۱۰۰ میلی گرم در لیتر)	۶۸±۱۳/۸۹ ^{bc}	۴۴±۶ ^a	۱۲۰±۱۹/۴۷ ^{bc}
C (۱۵۰ میلی گرم در لیتر)	۸۱±۶/۵۵ ^{ab}	۴۹/۳۳±۷/۵ ^a	۱۳۰/۳۳±۱۲/۵ ^{ab}
D (۲۰۰ میلی گرم در لیتر)	۱۰۰/۳۳±۱۳/۴۲ ^a	۵۴/۶۶±۷/۷۷ ^a	۱۵۵±۸/۵۴ ^a

بحث

غلظت اسانس گل میخک، ماهیان در زمان کوتاه تری بیهوشی شده و جهت بازگشت از بیهوشی در آنها، نیاز به زمان بیشتری بود.

نظر به اینکه منطقه اصلی ورود و خروج مواد بیهوش کننده در ماهیان، آبشش ها هستند و میزان عبور این مواد از آبشش ها و جذب آنها در مغز بستگی زیادی به درجه یونیزاسیون و قابلیت انحلال آنها در چربی دارد (Keene et al., 1998)، شروع نسبتاً سریع مراحل ۲ و ۳ بیهوشی حاصل از اسانس میخک ممکن است به دلیل قابلیت انحلال زیاد آن

در چربی باشد (شریف پور و همکاران، ۱۳۸۱).

زمان بازگشت تعادل و بازگشت واکنش به محرک خارجی طولانی ممکن است بعلت تاثیر بازدارندگی اسانس گل میخک بر سیستم تنفسی ماهی باشد. در واقع اسانس گل میخک مانند بیشتر بیهوش کننده های دیگر (بجز MS222) میزان تنفس را کاهش داده و بدنبال آن

اسانس گل میخک دارای ملاک های مناسبی به عنوان یک ماده بیهوشی مناسب در آبرزی پروری می باشد که شامل ایجاد زمان بیهوشی در کمتر از ۳ دقیقه، زمان بازگشت از بیهوشی کمتر از ۵ دقیقه و بدون مشکل، بی حسی در برابر درد، عدم تحرک و شلی عضلات، نداشتن اثرات مداوم بر رفتار و فیزیولوژی، عدم سمیت مقادیر مصرفی برای ماهی، دفع سریع از بدن، تجزیه به مواد بی خطر در محیط، در دسترس بودن و ارزان بودن می باشد (شریف پور و همکاران، ۱۳۸۱).

در این تحقیق، مشخص شد که در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر اسانس گل میخک، ماهی گوپی در کمتر از دو دقیقه بیهوش و در کمتر از ۹۰ ثانیه بازگشت از بیهوشی داشت. با افزایش غلظت اسانس تا ۲۰۰ میلی گرم در لیتر، زمان بیهوشی به کمتر از یک دقیقه و بازگشت از بیهوشی در کمتر از ۳ دقیقه اتفاق افتاد. نتایج بازگو کننده آنست که با افزایش



با توجه به ارزان بودن قیمت گل میخک، سهولت در تهیه اسانس و عدم ایجاد مشکلات زیست محیطی و بویژه اثرات سریع ایجاد و بازگشت از بیهوشی می‌توان از آن برای بیهوشی ماهی گوپی ماده استفاده گردد.

منابع

- ۱- ابطحی، ب.، شریف پور، ع.، آقاجانپور، م.، رسولی، ع.، فقیه زاده، س.، امیدبیگی، ر. و نظری، ر. م. ۱۳۸۱. مقایسه LC50 اسانس گل میخک و MS222 در بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی، قزل آلائی رنگین کمان و کپور معمولی. مجله علمی شیلات ایران، ۱۱ (۳): ۱-۱۲.
- ۲- سلطانی، م.، امیدبیگی، ر.، رضوانی، س.، مهرابی، م. ر. و چیت ساز، ح. ۱۳۸۰. مطالعه اثرات هوشبری اسانس و عصاره گل میخک در ماهی قزل آلائی رنگین کمان تحت برخی شرایط کیفی آب. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۶ (۴): ۸۵-۸۹.
- ۳- شریف پور، ع.، سلطانی، م.، عبدالحی، ح. و قیومی، ر. ۱۳۸۱. اثر بیهوش کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). ۱۱ (۴): ۷۴-۵۹.
- ۴- محمدی ارانی، م. ۱۳۸۵. بررسی اثر اسانس میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر بیهوشی بچه تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۲ (۳): ۱۹۲-۱۸۸.
- ۵- مویر، و.، هابل، ج.، اسکاردا، ر. و بدنارسکی، ر. ۱۹۹۴. بیهوشی دامپزشکی. ترجمه رضایی، ع. و حاجی زاده، ا. ۱۳۷۷. انتشارات نوربخش، تهران. ۲۱۶-۲۱۵.
- 6- 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.
- 7- Keene, J.L., Noakes, O.L.G., Moccia, R.D. and Soto, C.G. 1998. The efficacy of

توانایی دفع ماده بیهوشی از سیستم آبششی ماهی کاهش می یابد (Keene et al., 1998).

سلطانی و همکاران (۱۳۸۰) نشان دادند که استفاده از غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس گل میخک به ترتیب پس از ۲۱۰-۱۶۶ ثانیه و ۹۹-۷۶ ثانیه موجب بیهوشی کامل ماهی قزل آلائی رنگین کمان در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد و PH برابر ۷ گردید. زمان‌های بازگشت از بیهوشی برای غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس گل میخک نیز به ترتیب ۲۱۶-۱۸۴ ثانیه و ۱۰۸-۸۳ ثانیه برآورد گردید. آندرسون و همکاران (۱۹۹۷) در مطالعه خود به ترتیب غلظت‌های ۱۰۰-۱۲۰ و ۴۰-۲۰ میلی گرم در لیتر اسانس گل میخک را برای ایجاد بیهوشی کامل و بیهوشی سبک در قزل آلائی رنگین کمان پیشنهاد کردند [۶].

شریف پور و همکاران (۱۳۸۱) روی ماهی کپور معمولی با بررسی غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس گل میخک نشان دادند که در تمام غلظت‌ها، بیهوشی مورد نظر در زمان کمتر از ۳ دقیقه ایجاد شد ولی زمان‌های بازگشت تعادل و بازگشت واکنش به محرک خارجی در بیشتر موارد طولانی‌تر از ۵ دقیقه بود که دلیل آن را تاثیر بازدارندگی اسانس گل میخک بر سیستم تنفسی ماهی و کاهش میزان تنفس و به تبع آن کاهش توانایی دفع ماده بیهوشی از سیستم آبششی ماهی مربوط دانست [۳]. با توجه به اینکه مواد بیهوش کننده مناسب باید در کمتر از ۳ دقیقه ماهیان را بیهوش کند و در کمتر از ۵ دقیقه در آب تمیز باید در آنها بازگشت از بیهوشی اتفاق بیافتد، نمیتوان دقیقاً مشخص کرد که کدام غلظت اسانس گل میخک در این آزمایش برای بیهوشی ماهی گوپی ماده مناسبتر است. ولی با توجه به اینکه غلظت مناسب ماده بیهوش کننده باید دارای نسبت بیهوشی به بازگشت بیهوشی ۱ به ۱.۵ باشند (۳ به ۵ دقیقه) به نظر می‌رسد غلظت‌های زیر ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، غلظت مناسبی برای بیهوشی ماهیان گوپی ماده در این آزمایش باشد.



length and weight of rabbit fish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture*, 136: 149-152.

9- 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.

clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29: 89-101.

8- Sandford, Gina. (1998): *The Aquarium fish Keeping*. 288 p.

Soto, C.G. and Burhanuddin, C. 1995. Clove oil as a fish anesthetic for measuring