

مقایسه دوز مناسب سه ماده بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک و PI222 در ماهی کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)

سمیه تجار*^۱، مژگان خدادادی^۲ و مهران جواهری^۳

۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات خوزستان
۲ و ۳- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز

تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۱۹

چکیده

در این مطالعه به تعیین و مقایسه دوز مناسب برای سه ماده بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک و PI222 در ماهی کپورنقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) ترکیب مناسب تعیین گردید. این ترکیب ماهی را در کمتر از ۳ دقیقه بیهوش نموده و در کمتر از ۵ دقیقه بازگشت از بیهوشی صورت می گیرد. در کل ۱۲۰ قطعه ماهی، مورد بررسی قرار گرفت. برای هر ماده بیهوشی ۴ دوز مختلف و برای هر دوز ۱۰ قطعه ماهی بررسی شد. برای ۲- فنوکسی اتانول، دوزهای ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰ و ۴۰۰ قسمت در میلیون و برای عصاره گل میخک و PI222 دوزهای ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ قسمت در میلیون بررسی شد. بهترین دوز برای ۲- فنوکسی اتانول ۳۰۰ و برای عصاره گل میخک و PI222 نیز دوز ۵۰ قسمت در میلیون تعیین شد. در مقایسه، عصاره گل میخک و PI222 به دلیل بی خطر بودن و ارزان تر بودن برای ماهی و کاربرد نسبت به ۲- فنوکسی اتانول دارای برتری می باشند. این مزایا در PI222 به دلیل ارزان تر بودن بیشتر قابل توجه می باشد. همچنین آنالیز واریانس نشان داد که مدت زمان القاء بیهوشی در این سه ماده با افزایش دوز ماده بیهوشی ارتباط معنی داری داشت ($P < 0/05$) و با افزایش دوز، این مدت زمان کاهش یافت. مدت زمان بازگشت از بیهوشی معنی دار نبود ($P < 0/05$) و بصورت مستقل از دوز عمل نمود.

واژگان کلیدی

بیهوشی، *Hypophthalmichthys molitrix*، ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک، PI222.

مقدمه

خانواده کپورماهیان بزرگترین خانواده ماهیان استخوانی و یکی از مهم ترین خانواده‌های ماهیان آب شیرین هستند و تقریباً در همه حوضه‌های آبی ایران یافت می‌شوند (کیوانی، ۱۳۸۷). در ایران پرورش کپورماهیان یکی از فعالیت‌های با سابقه و از زیربخش‌های مهم شیلات محسوب می‌شود. کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) یکی از با ارزش ترین ماهیان پرورشی این خانواده می‌باشد که پرورش آن کاملاً اقتصادی و مقرون به صرفه می‌باشد (وئوقی و مستجیر، ۱۳۸۵). از ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در صنعت آبی پروری مواد بیهوش کننده هستند که کاربردهای متنوعی دارد. به طور کلی در تکثیر و پرورش آبزیان، بخصوص ماهیان پرورشی در عملیات تشخیص و معاینات بهداشتی، تکثیر مصنوعی، کاهش استرس در زمان حمل و نقل، نمونه برداری از ماهیان جهت تحقیقات، واکسیناسیون به روش تزریق، جراحی و هر عملیاتی که همراه با درد باشد جهت آرام کردن یا بیهوشی استفاده از داروهای بیهوشی کننده، اجتناب ناپذیر است (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۰).

از جمله مواد بیهوشی مورد استفاده برای آبزیان، تریکائین متان سولفات (MS222)، بنزوکائین، کینالدین، ۲- فنوکسی اتانول، متومیدات، اتومیدات و گل میخک را می‌توان نام برد. مواد بیهوشی مناسب در آبی پروری باید ویژگی‌های متعددی را دارا باشند که می‌توان به ایجاد سریع بیهوشی، بازگشت از بیهوشی سریع، در دسترس و ارزان بودن، بی خطر بودن برای ماهی، کاربر و محیط زیست اشاره کرد (مهرابی، ۱۳۷۶). تحقیقاتی نیز در باره این مواد صورت گرفته است از جمله بیهوشی با عصاره گل میخک در *Rock bream (Oplegnathus fasciatus)* که با افزایش دوز ماده بیهوشی ماهی سریعتر بیهوش شد و بازگشت از بیهوشی دیرتر رخ می‌دهد (Park et al., 2009). اثرات بیهوشی با عصاره گل میخک بر ترکیب خونی ماهی طلایی (*Crassius auratus*) که نشان داد بیهوشی تا غلظت ۷۵ ppm اثرات غیر قابل برگشت و عوارضی برای ماهی طلایی ندارد (Abdolazizi et al., 2011) مقایسه تاثیر بیهوشی با دی اکسید کربن، عصاره گل میخک و کشتار خارج از آب برگشت ماهی کپور معمولی، نشان داد ماهی بیهوش شده و کشته شده با عصاره گل میخک کیفیت گوشت به مراتب بالاتری نسبت به سایر تیمارها دارد (رحمانی فرح و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین دوز مناسب ۲- فنوکسی اتانول، در ماهی شانک خط طلایی (*Sparus sarba*) ۴۰۰ ppm (Hseu et al., 1998) و در باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) ۳۵۰ ppm و در شانک سر طلایی (*Sparus aurata*) ۳۰۰ ppm تعیین شد و غلظت ۴۰ ppm نیز برای عصاره گل میخک در باس اروپایی و شانک سرطلایی ذکر شد (Mylonas et al., 2005).

عصاره گل میخک به عنوان یک ماده بی خطر شناخته شده عمومی توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) معرفی شده است. دو- فنوکسی اتانول نیز یک مایع معطر روغنی بی رنگ با بو و طعم سوختگی است و قابلیت انحلال آن در آب در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد ۲۷ گرم برلیتر است و اغلب به عنوان یک بیهوش کننده موضعی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Merck and Company, 1989). PI222 یک ماده بیهوش کننده جدید و کاملاً طبیعی است که توسط شرکت پارس ایمن دارو تولید گردیده است با نام تجاری پی - آی - ۲۲۲ (به لحاظ تولید در شرکت پارس - ایمن - دارو) که یک ترکیب صد در صد گیاهی است. بوی نافذ و طعمی تند مزه و ادویه ای دارد. رنگ آن قهوه ای روشن بوده و به سهولت در آب حل می‌شود. این ترکیب فاقد هر گونه سمیت و عوارض جانبی است. پی - آی - ۲۲۲ فاقد دوره پرهیز مصرف است و به هیچ وجه سبب آلودگی محیط زیست نمی‌شود. مهمترین مواد تشکیل دهنده پی - آی - ۲۲۲ را کارواکرول، تیمول، اوژنول، اوژنیل استات، کاربوفیلین، هومولن، اکسید کاربوفیلین تشکیل می‌دهند (Parimendaru, 2007).

مواد بیهوش کننده مورد بررسی در این مطالعه با توجه به در دسترس بودن و رایج بودن در کشور و همچنین ارزان و بی خطر بودن برای ماهی، کاربر و محیط زیست انتخاب شدند. PI222 نیز به عنوان یک ماده جدید که دارای این ویژگی‌هاست جهت تعیین دوز مناسب، بررسی شد. با در نظر گرفتن اهداف هر تحقیق، ملاکهای مورد نیاز برای ارزیابی

یک ماده بیهوشی برای ماهی‌ها مختلف خواهد بود. با توجه به اینکه کپورنقره ای بسیار حساس بوده و در هنگام استفاده از مواد بیهوش کننده مختلف، واکنش‌های زیادی از جمله بیرون پریدن از ظرف حاوی ماده بیهوشی و همچنین تلفات نشان داده است، و از آنجائی که هدف از بیهوشی القای سریع، با حداقل استرس است (باورصاد الله داد، ۱۳۸۶) لذا این مطالعه با هدف تعیین ماده ای مناسب با دوز مشخص برای کپور نقره ای، هم از نظر بی خطر بودن برای ماهی و کاربر و محیط زیست و هم از حیث در دسترس بودن در کشور و ارزان بودن آن به اجرا در آمد علاوه بر اینکه بیهوشی و بازگشتی سریع را ایجاد کند.

مواد و روش‌ها

این بررسی در خرداد و تیرماه ۱۳۹۰ در مرکز تکثیر و پرورش آبزیان شوش واقع در ۹ کیلومتری جاده شوش - دزفول انجام شد. ۱۲۰ قطعه ماهی کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) نر و ماده با میانگین وزنی $39/51 \pm 20/66$ گرم و میانگین طول کل $26/79 \pm 1/62$ سانتی متر و میانگین طول استاندارد $22/85 \pm 1/31$ سانتی متر که از لحاظ ظاهری سالم بودند انتخاب گردید و به استخر سیمانی غنی از فیتوپلانکتون (جهت تغذیه ماهی در مدت سازگاری) در محیط باز با ابعاد 4×3 متر انتقال داده شد و به مدت دو هفته جهت سازگاری نگهداری گردید (Abdolazizi et al., 2011). فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب روزانه در زمان نگهداری ماهی‌ها و اجرای آزمایش اندازه گیری گردید و میانگین آنها ثبت شد. به این ترتیب که میانگین دمای آب $23 \pm 2/25$ درجه سانتی گراد و میزان اکسیژن آب $1/37 \pm 11$ میلی گرم بر لیتر و pH آب برابر با ۷ ثبت گردید. شرایط سلامت ماهی از نظر ظاهری و شنای نرمال مورد بررسی قرار گرفت تا ماهی در شرایط استاندارد از نظر عدم وجود استرس‌های محیطی و عدم تغییر در عوامل فیزیکی شیمیایی آب نگهداری شود.

پس از سازگاری، ماهی‌ها در ۳ گروه ۴۰ تایی، برای مواد بیهوشی مورد بررسی شامل ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک و PI222 تقسیم شدند و به حوضچه‌های داخل سالن با ابعاد $1 \times 1/5 \times 1$ متر انتقال و به مدت ۲۴ ساعت در این حوضچه‌ها نگهداری شدند. در این مدت تغذیه ماهی‌ها به منظور کاهش استرس و کاهش نیاز اکسیژنی در حین عملیات بیهوشی، قطع گردید (Sattari et al., 2009). هوادهی دائمی نیز برقرار بود. در باره مراحل ایجاد و بازگشت از بیهوشی، نظرهای متفاوتی ذکر شده است که گاهی مختصرتر و گاهی با جزئیات بیشتر است. در این تحقیق از مرحله بندی بیهوشی طبق نظر Schoettger و Julin (1967) به شرح زیر استفاده شده است (شکل ۱):

۱- از دست دادن جزئی واکنش به لمس خارجی (بیهوشی خفیف).

۲- از دست دادن جزئی تعادل، عدم واکنش به تحریک خارجی (بیهوشی عمیق).

۳ الف - از دست دادن کامل تعادل. ماهی معمولاً واژگون می‌شود اما توانایی شنا را حفظ می‌کند.

۳ ب - از دست دادن کامل تعادل. توانایی شنا متوقف می‌شود، اما با فشار ساقه دمی واکنش می‌دهد.

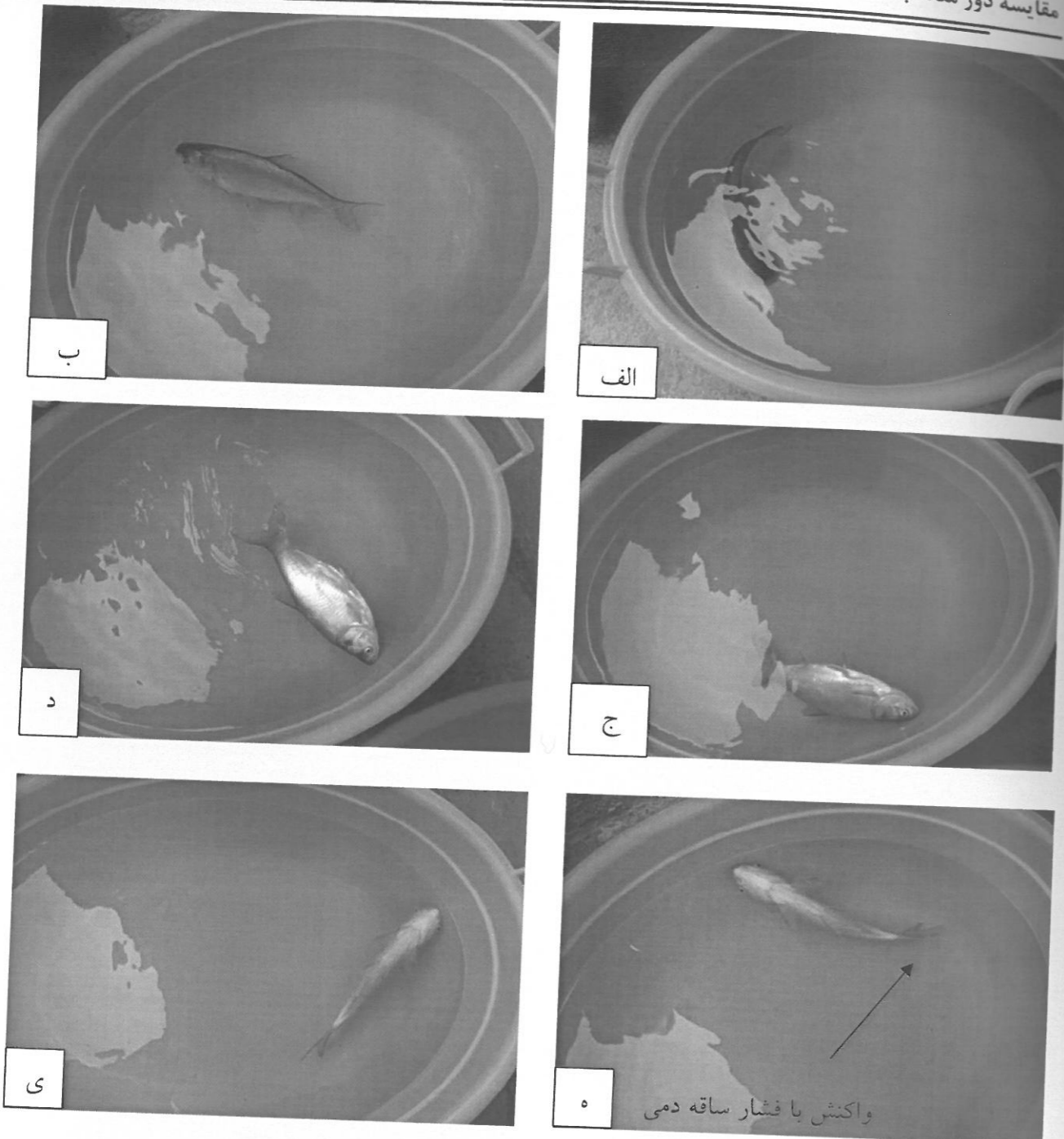
۴- بیهوشی: از دست دادن فعالیت واکنشی، عدم واکنش به لمس خارجی.

۵- کلاپس مغزی - نخاعی (مرگ): توقف کامل حرکات تنفسی.

بیهوشی و بازگشت از آن به روش غوطه وری (شریف پور و همکاران، ۱۳۸۱) صورت گرفت و زمان القاء بیهوشی از لحظه ورود ماهی به محلول بیهوشی تا زمان رسیدن به مرحله ۴ بیهوشی یعنی از دست دادن کامل فعالیت بجز حرکت اپرکلوم و عدم واکنش به تحریک خارجی (بیهوشی کامل)، طبق نظر Schoettger و Julin (1967)، با استفاده از کرنومتر ثبت گردید. در هنگام بیهوشی و بازگشت از بیهوشی نیز هوادهی از طریق سنگ هوا در ظروف پلاستیکی به طور منظم

برقرار بود. بعد از ایجاد بیهوشی کامل، ماهی از ظرف حاوی ماده بیهوشی خارج و بیومتری آن شامل طول کل و طول استاندارد (سانتی متر) و همچنین وزن کل (گرم) ظرف مدت کمتر از ۶۰ ثانیه سنجیده و سریعاً به مخزن ریکاوری حاوی آب تمیز اکسیژن دار انتقال داده شد. برای ثبت زمان ریکاوری نیز پاسخ به تحریکات خارجی و شنای فعالانه و نرمال مورد نظر قرار گرفت (Stoskopf, 1993). هر یک از مواد بیهوشی در ۴ دوز مختلف آزمایش گردید و در هر دوز ۱۰ قطعه ماهی از نظر مدت زمان القاء بیهوشی و بازگشت از آن مورد بررسی قرار گرفت. تعیین محدوده دوزها هر ماده بستگی به درجه تاثیر آن ماده دارد که در مواد مختلف، این محدوده متفاوت است. عصاره گل میخک با مقادیر ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ به نوبت در ظروف پلاستیکی تا حجم ۲۵ لیتر تهیه گردید (Abdolazizi et al., 2011). عصاره خالص گل میخک از محصولات شرکت گیاهان دارویی زردبند (تهران - ایران) تهیه شد. قبل از افزودن عصاره گل میخک به آب به علت انحلال پذیری اندک، لازم است تا آن را به نسبت ۱:۱۰ با اتانول یا استن مخلوط کرده و بعد به آب افزود (Keene et al., 1998). سپس ماده بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول نیز در ۴ دوز مختلف با مقادیر ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰ و ۴۰۰ به نوبت تهیه شد (Mattson & Ripple, 1989) و ماهی‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند. ۲- فنوکسی اتانول نیز از محصولات شرکت مرک آلمان تهیه گردید. ماده بیهوشی دیگر با نام تجاری PI222 به عنوان یک ماده جدید در بیهوشی آبزیان از شرکت گیاهان دارویی پارس ایمن دارو (تهران - ایران) تهیه گردید و در ۴ دوز مختلف با مقادیر ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ تهیه شد و همانند مواد بیهوشی دیگر مورد آزمایش قرار گرفت و زمان‌های القاء بیهوشی و بازگشت از آن در دوزهای مختلف برای این ماده نیز ثبت گردید. به علت جدید بودن این ماده بیهوشی، برای تعیین محدوده دوزهای مورد آزمایش، با تکیه به روش آزمون و خطا این محدوده در نظر گرفته شد که با موفقیت همراه بود و دوز مناسب در همین محدوده قرار داشت.

دوز مناسب با توجه به نظر Hseu و همکاران (1998) بر حسب کمترین مقدار دوز مورد آزمایش در هر ماده بیهوشی که قادر باشد بیهوشی را در کمتر از ۳ دقیقه القاء کند و بازگشت از بیهوشی نیز در کمتر از ۵ دقیقه صورت گیرد شناسایی و تعیین گردید. به منظور بررسی اختلاف معنی داری از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه با استفاده از نرم افزار SPSS 16 با سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. جهت رسم نمودار نیز نرم افزار Excell 2003 مورد استفاده قرار گرفت.



شکل ۱- مراحل القاء بیهوشی در ماهی کپور نقره ای

الف) بلافاصله بعد از ورود به محلول بیهوشی (در حال شنا فعال). ب) مرحله ۱ بیهوشی (بیهوشی خفیف، شنای آرام و عدم واکنش به لمس خارجی). ج) مرحله ۲ بیهوشی (بیهوشی عمیق، ازدست دادن جزئی تعادل. ماهی متناوباً به پهلو افتاده و دوباره به حالت قبل برمی گردد). د) مرحله ۳ (الف) بیهوشی (از دست دادن کامل تعادل. ماهی واژگون می شود اما توانایی شنا را حفظ می کند). ه) مرحله ۴ بیهوشی (توانایی شنا و حرکت باله‌ها متوقف می شود، بجز باله دم). ی) مرحله ۵ بیهوشی (توقف حرکات کلیه باله‌ها و فقط ادامه حرکت اپرکلوم).

نتایج

انواع مواد بیهوش کننده، در غلظت‌های مورد آزمایش موجب القاء بیهوشی در ماهی‌های مورد بررسی گردیدند و هیچ گونه تلفاتی نیز مشاهده نشد. با توجه به جدول (۱)، دوز مناسب هر یک از مواد بیهوشی طبق نظر Hseu و همکاران (۱۹۹۸) به این ترتیب تعیین گردید که: ماهی را در کمتر از ۳ دقیقه بیهوش و در کمتر از ۵ دقیقه بازگشت از بیهوشی را ایجاد کند به همراه ایجاد یک بیهوشی آرام و بازگشت در زمان مناسب و همچنین کمترین میزان مصرف دارو. در نتیجه دوز مناسب برای ۲- فنوکسی اتانول ۳۰۰ قسمت در میلیون و برای PI222 غلظت ۵۰ و عصاره گل میخک نیز ۵۰ قسمت در میلیون تشخیص داده شد.

جدول ۱- مدت زمان القاء بیهوشی و بازگشت از بیهوشی (دقیقه) ماهی کپورنقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) در دوزهای مختلف ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک و PI222. (تذکر: حروف الفبای متفاوت نشانه اختلاف معنی داری می‌باشد)

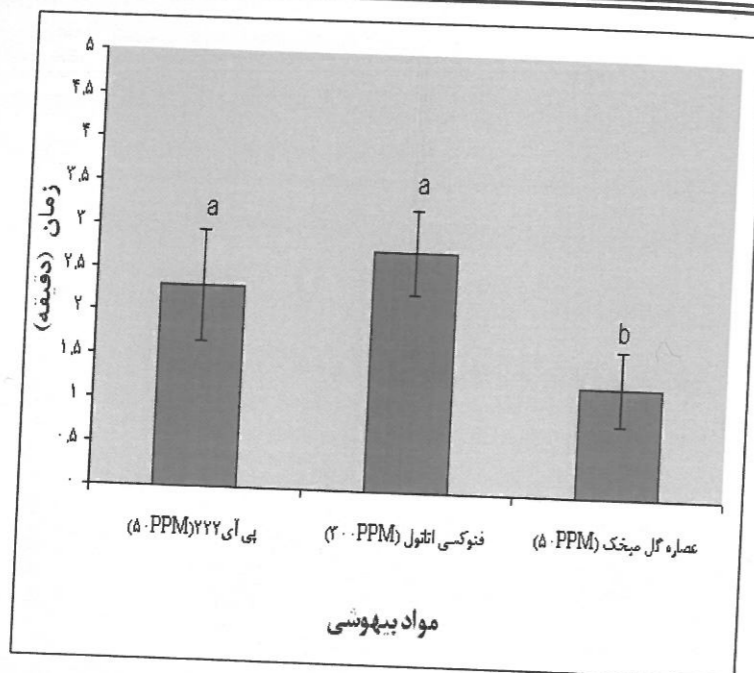
مواد بیهوشی	دوز (قسمت در میلیون)	میانگین مدت زمان القاء بیهوشی (دقیقه)	میانگین مدت زمان ریکاوری (دقیقه)
۲- فنوکسی اتانول	۲۵۰	۵/۴۵ ± ۰/۴۲ ^b	۱/۶۹ ± ۰/۴۱ ^a
	۳۰۰*	۲/۷۴ ± ۰/۴۹ ^a	۱/۴۶ ± ۰/۳۲ ^a
	۳۵۰	۲/۴۹ ± ۰/۳۸ ^a	۱/۶۱ ± ۰/۳۷ ^a
	۴۰۰	۱/۴۲ ± ۰/۲۲ ^b	۱/۵۴ ± ۰/۴۱ ^a
PI222	۲۵	۱۸/۲۹ ± ۱/۱۷ ^b	۵/۸ ± ۰/۸۲ ^a
	۵۰*	۲/۳۰ ± ۰/۶۴ ^a	۴/۰۶ ± ۰/۷۳ ^a
	۷۵	۱/۹ ± ۰/۷۸ ^a	۴/۶۹ ± ۱/۲۵ ^a
	۱۰۰	۰/۹۷ ± ۰/۲۱ ^a	۴/۵ ± ۱/۴۸ ^a
عصاره گل میخک	۲۵	۱۴ ± ۳/۶۷ ^b	۵/۸۵ ± ۱/۳۶ ^a
	۵۰*	۱/۲۵ ± ۰/۴۲ ^a	۳/۱۶ ± ۰/۷۴ ^a
	۷۵	۰/۳۸ ± ۰/۰۶ ^a	۳/۵۶ ± ۰/۴۴ ^a
	۱۰۰	۰/۵۳ ± ۰/۱۸ ^a	۶/۰۹ ± ۲/۸۵ ^a

توضیح: علامت (*) نشان‌دهنده دوز مناسب است.

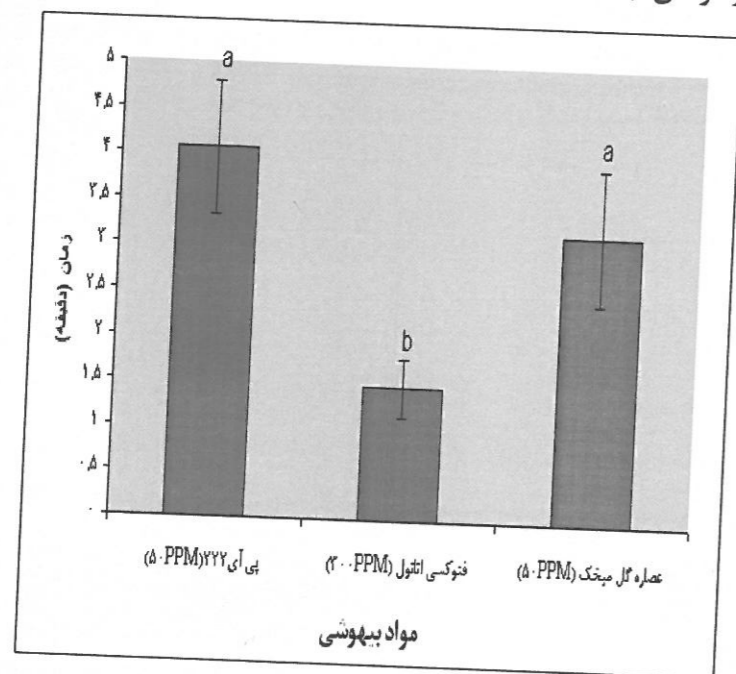
همچنین با توجه به زمان‌های بدست آمده در جدول (۱)، در مقایسه دوزهای مناسب هر یک از مواد فوق با هم، این نتیجه حاصل می‌شود که عصاره گل میخک نسبت به دو ماده دیگر، کمترین زمان القاء بیهوشی را دارد و در واقع سریع تر از ۲- فنوکسی اتانول و PI222 باعث القاء بیهوشی در ماهی می‌شود. بیشترین زمان القاء بیهوشی نیز با توجه به دوز مناسب، مربوط به ۲- فنوکسی اتانول است که این نتایج در شکل (۱) قابل مشاهده می‌باشد.

همچنین طبق جدول (۱)، ۲- فنوکسی اتانول نسبت به سایر مواد، کوتاه‌ترین زمان بازگشت از بیهوشی را دارا می‌باشد (زمان بازگشت از بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول در تمامی دوزها کمتر از ۲ دقیقه است) و PI222 بیشترین مدت زمان بازگشت از بیهوشی را دارد که در شکل (۲) نشان داده شده است.

از طرفی، به لحاظ مقادیر دوزهای مصرفی، ۲- فنوکسی اتانول دارای بیشترین میزان مصرف (۲۵۰ تا ۴۰۰ قسمت در میلیون) نسبت به دو ماده دیگر می‌باشد.



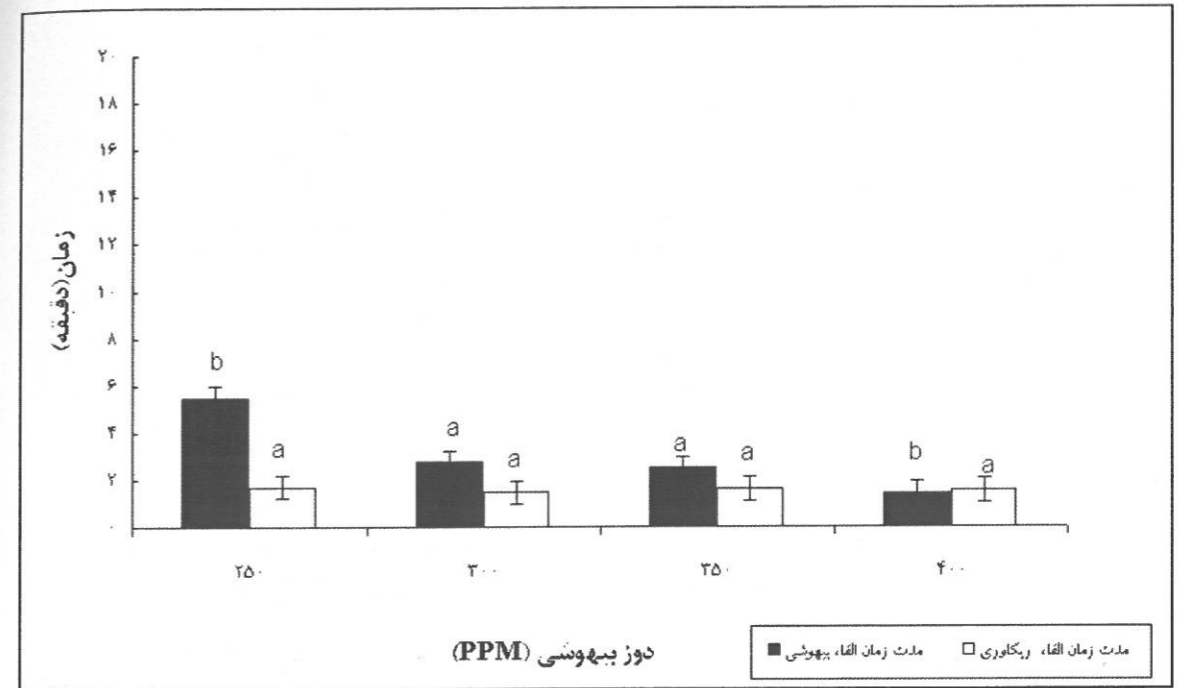
شکل ۱- مقایسه مدت زمان القاء بیهوشی در PI222، ۲- فنوکسی عصاره گل میخک بر حسب دوز مناسب در ماهی کپورنقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) (آنتنک‌ها نشان‌دهنده ی انحراف معیار هستند).



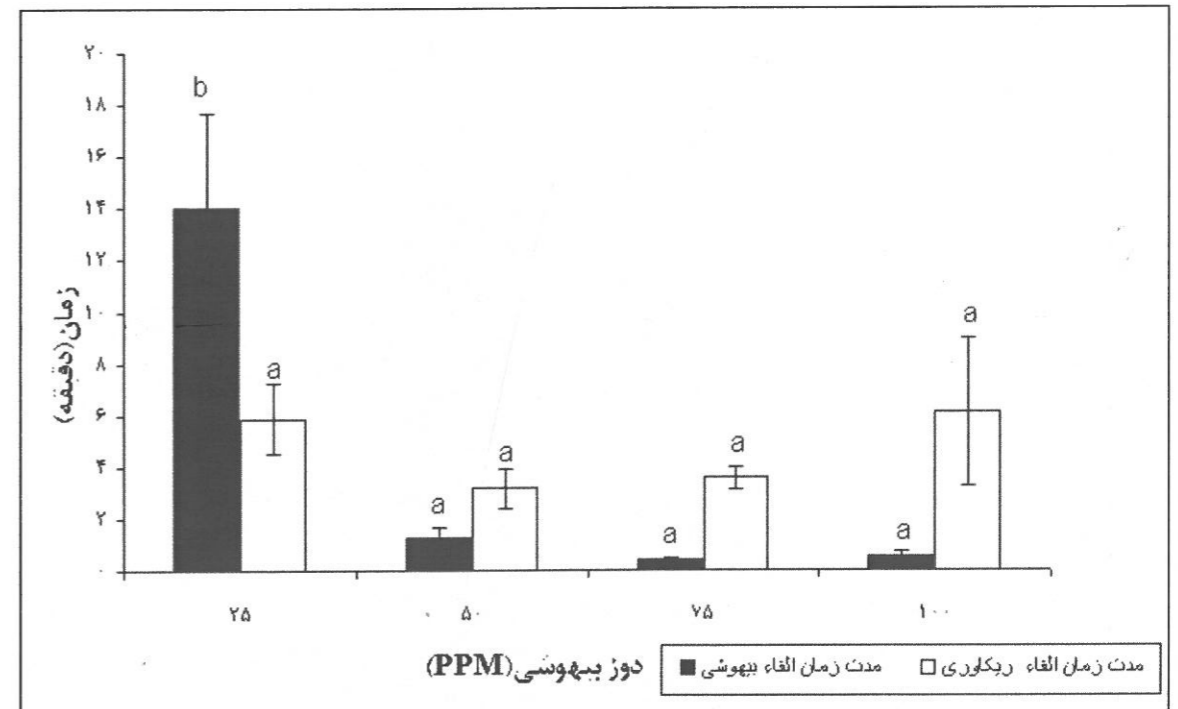
شکل ۲- مقایسه مدت زمان ریکاوری در PI222، ۲- فنوکسی اتانول و عصاره گل میخک بر حسب دوز مناسب در ماهی کپورنقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) (آنتنک‌ها نشان‌دهنده ی انحراف معیار هستند).

بر اساس شکل‌های (۳ تا ۵) در هر سه ماده بیهوشی مورد بررسی، زمان القاء بیهوشی با افزایش دوز ماده بیهوشی کاهش می‌یابد و در واقع بیهوشی، سریع تر رخ می‌دهد. همچنین آنالیز واریانس داده‌ها بیانگر این است که در هر یک از مواد بیهوشی، متوسط زمان القاء بیهوشی در دوزهای مختلف اختلاف معنی داری با هم دارند ($P < 0.05$).

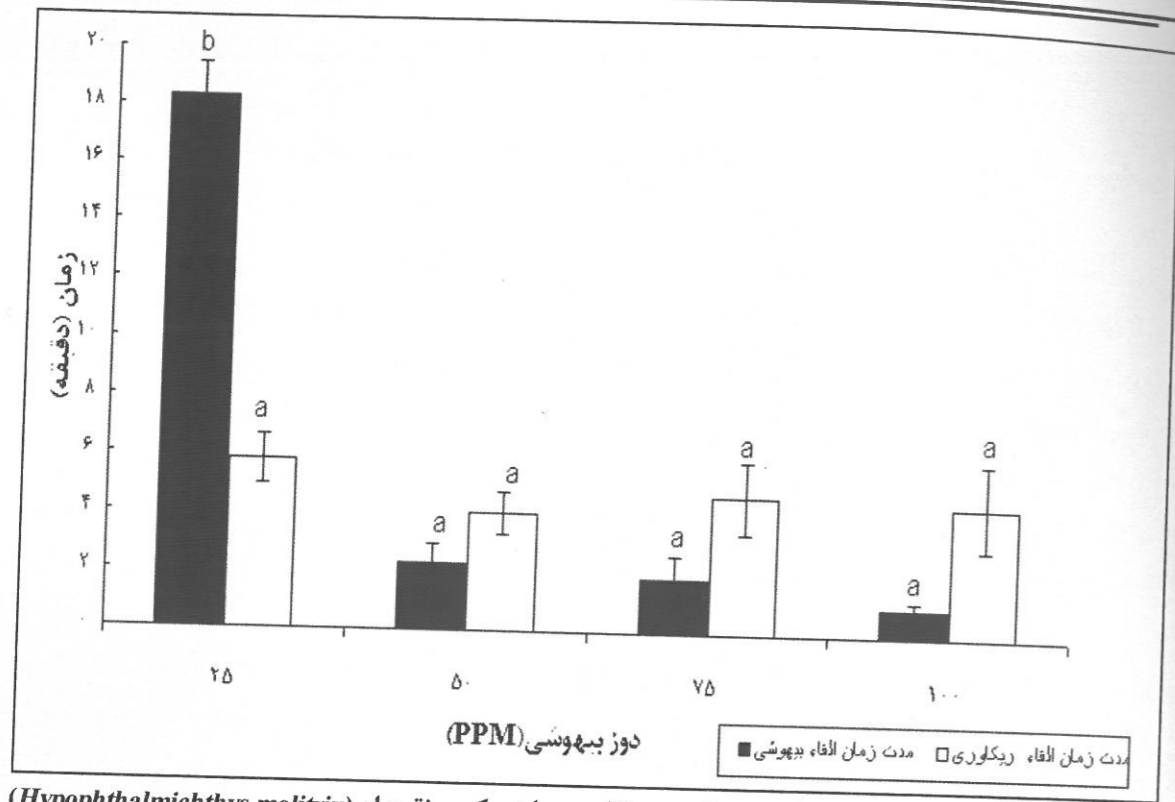
همچنین به نظر می‌رسد که بازگشت از بیهوشی مستقل از دوز عمل می‌کند که این روند در تمامی مواد بیهوشی بکار گرفته شده قابل مشاهده می‌باشد. مقادیر بازگشت از بیهوشی نیز اختلاف معنی داری با هم ندارند ($P < 0.05$)



شکل ۳- بررسی تغییرات مدت زمان بیهوشی و ریکاوری ماهی کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) بر حسب تغییر دوز ماده بیهوشی در ۲- فنوکسی اتانول.



شکل ۴- بررسی تغییرات مدت زمان بیهوشی و ریکاوری ماهی کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) بر حسب تغییر دوز ماده بیهوشی در عصاره گل میخک.



شکل ۵- بررسی تغییرات مدت زمان بیهوشی و ریکاوری ماهی کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) بر حسب تغییر دوز ماده بیهوشی در PI222.

بحث و نتیجه گیری

تمام مواد بیهوش کننده در این بررسی، در تمامی غلظت‌های مورد آزمایش موجب بیهوشی در ماهیان گردید و هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد. با توجه به نتایج (جدول ۱) دوز مناسب برای ۲- فنوکسی اتانول ۳۰۰ ppm بدست آمد. همچنین دوز مناسب برای PI222، غلظت ۵۰ ppm و برای عصاره گل میخک نیز ۵۰ ppm تشخیص داده شد. تعیین این دوزها به لحاظ اینکه بیهوشی آرام و القاء و بازگشت را در زمان مناسب ایجاد کند و طبق نظر Hseu و همکاران (1998) ماهی را در کمتر از ۳ دقیقه بیهوش کند و در کمتر از ۵ دقیقه بازگشت از بیهوشی صورت گیرد و همچنین با در نظر گرفتن کمترین میزان مصرف دارو صورت گرفت.

مشابه این بررسی توسط Hseu و همکاران (1998) برای تعیین دوز مناسب در پنج ماده بیهوشی MS222، ۲- فنوکسی اتانول، کینالدین، کوینات و بنزوکائین در ماهی شانک خط طلایی (*Sparus sarba*) انجام گرفت که دوز مناسب هر یک به ترتیب ۲۰، ۵۰، ۴۰۰، ۹۰ و ۱۰۰ تعیین شد.

نتایج بررسی‌های متعدد، دوز مناسب برای عصاره گل میخک را در محدوده ۲۵ ppm تا ۱۰۰ ذکر کرده اند. از جمله غلظت ۱۰۰ ppm در گربه ماهی کانالی توسط Small (2003)، غلظت ۴۰ ppm در ماهی بنی توسط Mousavi و همکاران (2011) و غلظت ۴۰ ppm در باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) و شانک سرطلایی (*Sparus aurata*) توسط Mylonas و همکاران (2005) و در قزل آلائی رنگین کمان غلظت ۳۰ ppm توسط Velisek و همکاران (2011)، تعیین شد.

برای ۲- فنوکسی اتانول نیز محدوده ۲۰۰ تا ۶۰۰ را برای گونه‌های مختلف ماهیان ذکر کرده اند. از جمله دوز ۳۵۰ ppm برای باس اروپایی و دوز ۳۰۰ ppm برای شانک سرطلایی توسط Mylonas و همکاران (2005) ذکر شد.

Velisek و همکاران (2011) نیز دوز 400 ppm را برای قزل آلائی رنگین کمان بیان کردند که تعیین این محدوده‌ها با بررسی‌های انجام شده، هم خوانی دارد.

در تحقیق حاضر، در تمامی مواد بیهوشی بکار گرفته شده، زمان القاء بیهوشی با افزایش دوز ماده بیهوشی کاهش می‌یابد و در واقع بیهوشی، سریعتر رخ می‌دهد (جدول ۱).

در مطالعاتی که توسط لرکی در سال (۱۳۸۶) توسط داروی بیهوشی پروپوفول بر روی ماهی کپور علفخوار صورت گرفت مدت زمان رسیدن به بیهوشی کامل با افزایش دوز ماده بیهوشی کاهش یافت. همچنین در مطالعه ای که توسط سلطانی در سال (۱۳۸۶) بر روی گونه‌های کپور معمولی و تاس ماهی ایرانی در بیهوشی با گل میخک صورت گرفت مشاهده شد که با افزایش دوز مدت زمان رسیدن به بیهوشی کامل کاهش یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

نظر به اینکه منطقه اصلی ورود و خروج مواد بیهوش کننده در ماهی‌ها آبشش‌ها هستند و میزان این مواد از آبشش‌ها و جذب آنها در مغز بستگی زیادی به درجه یونیزاسیون و قابلیت انحلال آنها در چربی دارد شروع سریع مراحل بیهوشی در عصاره گل میخک و سپس PI222 ممکن است به دلیل قابلیت انحلال زیاد آن در چربی باشد. طبق نظر Hikasa و همکاران (1985)، Keene و همکاران (1998)، Wilson و Munday (1997)، عصاره گل میخک زمان بازگشت ماهی از بیهوشی را طولانی می‌کند که در بررسی حاضر نیز این امر مشاهده گردید. در واقع این امر به علت تأثیری است که عصاره 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 عصاره دیرتر از بدن ماهی خارج می‌گردد (Keene et al., 1998). این مطلب با در نظر گرفتن اینکه هیچ تلفاتی در ماهی‌ها پس از بازگشت از بیهوشی مشاهده نگردید، بر عملکرد موثر و مطلوب عصاره گل میخک به عنوان یک ماده بیهوشی مناسب اشاره دارد.

از طرفی، بازگشت از بیهوشی در تمامی مواد مورد آزمایش در این بررسی، مستقل از دوز عمل می‌کند و به دوز وابسته نیست (جدول ۱) که این امر با نتایج حاصل از بررسی Hseu و همکاران (1998) بر روی ماهی شانک خط طلایی بر اثر بیهوشی با پنج ماده بیهوشی MS222، ۲- فنوکسی اتانول، بنزوکائین، کینالدین و کوینات هم خوانی دارد.

از نظر میزان مصرف دارو، ۲- فنوکسی اتانول به دوز بیهوشی بالایی در ماهیان نیاز دارد و محدوده مؤثر این ماده در بیشتر ماهی‌ها حدود 200 ppm تا 600 ppm می‌باشد. در بررسی حاضر نیز ۲- فنوکسی اتانول بیشترین میزان مصرف دارو (250 ppm تا 400 ppm) را به خود اختصاص داده است. Hseu و همکاران (1998) در بررسی خود در ماهی شانک خط طلایی بوسیله بیهوشی با ۲- فنوکسی اتانول به این موضوع اشاره کرده و دوز مناسب برای این ماهی را 400 ppm اعلام کرده اند. با توجه به نکات ذکر شده، ۲- فنوکسی اتانول در مقایسه با سایر مواد بیهوشی شیمیایی رایج (به عنوان مثال MS222) با وجود میزان مصرف بالاتر دارو، از نظر قیمت و میزان دسترسی گزینه مناسب تری است.

PI222 و عصاره گل میخک با توجه به عواملی مثل ارزان بودن و بی خطر بودن برای ماهی و کاربر و عدم اثرات منفی فیزیولوژی بر ماهی و همچنین نداشتن عوارض زیست محیطی (Merck and Company, 1989) نسبت به ۲- فنوکسی اتانول دارای برتری می‌باشند. با توجه به اینکه ۲- فنوکسی اتانول طبق گزارش Morton (1990) در استفاده‌های مکرر باعث بعضی اختلالات عصبی - فیزیولوژیک در کاربر می‌شود. در صورتی که PI222 و عصاره گل میخک هر دو برای کاربر و ماهی فاقد اثرات سوء می‌باشند و حتی در مصارف انسانی به عنوان ادویه نیز مصرف می‌شوند لذا بی خطر می‌باشند.

همچنین این دو ماده می‌توانند در مطالعات میدانی کاربردی تر باشند زیرا دارای دوره منع مصرف نمی‌باشند. که این مزایا در PI222 بخصوص از حیث ارزان تر بودن بیشتر قابل توجه می‌باشد.

با توجه به نتایج ذکر شده، گل میخک و یا PI222، به عنوان جایگزینی موثر و قابل قبول برای سایر بیهوش کننده‌ها

تقدیر و تشکر

از مسئولین محترم مرکز تکثیر و پرورش آبزیان شوش که صمیمانه شرایط و امکانات انجام این بررسی را مهیا کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- باورصاد الله داد، م. ۱۳۸۶. بررسی اثرات استرس ناشی از دستکاری، تراکم ماهی و مواد بی هوشی و برخی شاخص‌های هورمونی و بیوشیمیایی و خونی در فیل ماهی جوان پرورشی (*Huso huso*). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات خوزستان.
- رحمانی فرح، ک. مولودی، ز. معینی، س. شعبانپور، ب. شعبانی، ع. و ایمانپور، م. ۱۳۸۹. مقایسه تأثیر بیهوشی با CO2، عصاره گل میخک و کشتار خارج از آب بر گوشت ماهی کپور معمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۵: (۴).
- سلطانی، م. امید بیگی، ر. رضوانی، س. مهربابی، م. و چیت ساز، ح. ۱۳۸۰. مطالعه اثرات هوشبری اسانس و عصاره گل میخک در قزل آلائی رنگین کمان را تحت برخی شرایط کیفی آب. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۶: (۴): ۸۵-۸۹.
- سلطانی، م. ۱۳۸۶. بررسی اثرات بیهوشی عصاره و اسانس گل میخک بر برخی از گونه‌های آبزیان پرورشی، موسسه تحقیقات شیلات ایران، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر.
- شریف پور، ع. سلطانی، م. عبدالحی، ح. و قیومی، ر. ۱۳۸۱. اثر بیهوش کنندگی اسانس گل میخک در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهی کپور معمولی. مجله علمی شیلات ایران، ۴: ۵۹-۷۵.
- کیوانی، ی. ۱۳۸۷. خلاصه رده‌بندی فیلوژنتیکی ماهی‌ها. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ایران.
- لرکی، س. ۱۳۸۶. بررسی تأثیر بیهوشی با پروپوفول بر برخی از فاکتورهای خون و بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپور علفخوار. پایان نامه دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه شهیدچمران اهواز. ایران.
- مهربابی، ی. ۱۳۷۶. مطالعه اثر بیهوشی پودر گل میخک بر روی ماهی قزل آلائی رنگین کمان. آبی پرور، ۲۱: ۴۹-۴۶.
- وثوقی، غ. و مستجیر، ب. ۱۳۸۵. ماهیان آب شیرین، انتشارات دانشگاه تهران. ایران.
- Abdolazizi, S., Ghaderi, E., Naghdi, N. & Bahrami Kamang, B. 2011. Effects of clove oil as an anesthetic on some hematological parameters of *Carassius auratus* Aquaculture Research & Development, 2:1.
- Hikasa, Y., Katsuki, T., Takasa, O. & Shigeo, O. 1985. Anesthesia and recovery with tricaine methane sulfonate, eugenol and thiopental sodium in carp *Cyprinus carpio*. Jpn. J. Vet. Sci., 48(2): 341-351.
- Hseu, J. R., Yeh, S.L., Chu, Y.T. & Ting, Y.Y. 1998. Comparison of efficacy of five anesthetics in Gold line Sea Bream (*Sparus sarba*). Acta Zoologica Taiwanica, 9(1):35-41.
- Keene, J. L., Noakes, O.L.G., Moccia, R.D. & Soto, G. C. 1998. The efficacy of clove oil as an anesthetic for rain bow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture, Rese. Arch., 29: 89-101.
- Mattson, N.S. & Riple, T.H. 1989 Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gadus Morhua*) in comparison with benzocaine, MS-222, chlorobutanol, and phenoxyethanol. Aquaculture, 83(1-2):89-94.
- Mousavi, S. M., Majdi Nasab, E., Yavari, V., Rajabzadeh Ghatrami, E. & Razi Jalali, M. 2011. Effects of two anaesthetic regimes, MS-222 and eugenol, on plasma biochemical profile in *Barbus sharpeyi*. Comp. Clin. Pathol. DOI 10.1007/s005 80-011-1189-4.
- Munday, P.L. & 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.
- Merck and Company. 1989. The Merck Index. 11 th ed. Rahway, New Jersey, USA.

- Morton, W.E. 1990 Occupational phenoxyethanol neurotoxicity: a report of three cases. *J. Occup. Med.*, 32:42-45.
- Mylonas, C. C., Cardinaletti, G., Sigelakia, I. & Polzonetti-Magni, A. 2005. Comparative efficacy of clove oil and 2- phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. *Aquaculture*, 246: 467-481.
- Pars Imen Darou. 2007. Herbal medicine development group. Available in :<http://www.parsimen.ir/index>.
- Park, M. O., Im, S. Y., Seol, D. W. & Park, I. S. 2009. Efficacy and physiological responses of Rock bream, (*Oplegnathus fasciatus*) to anesthetization with clove oil. *Aquaculture*, 287: 427-43.
- Sattari, A., Mirzargar, S. S., Abrishamifar, A., Lourakzadegan, R., Bahonar, A., Mousavi, H. E. & Niasari, A. 2009. Comparison of electroanesthesia with chemical anesthesia (MS222 and clove oil) in Rain bow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using plasma cortisol and glucose responses as physiological stress indicators. *Asian Journal of Animal and Velerinary Advances*, 4(6):306-313.
- Schoettgar, R. A. & Julin, A. M. 1967. Efficacy of MS-222 as an anesthetic on four salmonids. *Fish Control*, 13:1-15.
- Stoskopf, M. 1993. Textbook of fish medicine. W. B. Saunders Company, UK.
- Small, B.C. 2003. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine mrthanesulfonate, quinaldin and clove oil anesthetized channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 218:177-185.
- Velisek, J., Stara, A., Li, Z.H., Silovska, S. & Turek, J. 2011. Comparison of the effects of four anaesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in Rainbow trout. *Aquaculture*, 310 :369-375.