

ДОСЛІДЖЕННЯ АНЕСТЕЗУЮЧОГО ВПЛИВУ ПРЕПАРАТУ ГВОЗДИЧНА ОЛІЯ НА КЛАРІЄВОГО СОМА (*CLARIAS GARIEPINUS*)

Коваленко Б.Ю. – аспірант,

Коваленко В.О. – кандидат сільськогосподарських наук,

Кононенко Р.В. – кандидат ветеринарних наук,

Шевченко П.Г. – кандидат біологічних наук,

Макаренко А.А. – доктор філософії,

Національний університет біоресурсів та природокористування України

kovalenko@it.nubip.edu.ua

Використання анестезії в рибному господарстві відоме з середини ХХ століття. Розробка різних методик введення в анестезію риби проводилась для запобігання травмування як працівника так і самої риби. Під час маніпуляцій з рибою в неї діє група стрес-факторів, який часто називають загальним словом «хендлінг». Аналіз літератури показав, що в світі широко використовують анестезуючі препарати, як синтетичного (хінальдін, новокаїн, фенозепам) так і природного походження (гвоздична олія). Серед способів введення в анестезію виділяють два способи: ін'єкції та додавання препарату у воду. Широкого поширення, в останні роки, набула гвоздична олія (діюча речовина евгенол), що не має побічної дії на рибу та не токсична для людини. Її знеболююча дія відома в медицині, а також використовується в кулінарії та косметології. В результаті експерименту було перевірено анестезуючу дію гвоздичної олії на кларієвого сома. Перевірку здійснювали на базі навчально-науково виробничої лабораторії рибництва кафедри аквакультури Національного університету біоресурсів і природокористування України. Приготування емульсії здійснювали «холодним» спосіб, адже він найпростіший в виробничих умовах. Концентрація гвоздичної олії була від коливалася в залежності від групи 0,1–1 мл. Температура води коливалась в межах 24–30 °С. В експерименті використовувалась риба масою 60–70 г та 400–1800 г. Виводили з анестезії в чистій, насиченій киснем воді. В результаті експерименту було встановлено, що гвоздична олія має виражений вплив кларієвого сома. Концентрації 0,1 та 0,2 мл не викликали анестезії у сома, а починаючи з 0,3 мл мали виражену анестезуючу дію. Час входу та виходу з анестезії залежав від концентрації гвоздичної олії у воді. Як показали експерименти, важливе значення мали і температура води, чим вища температура тим швидше риба входить в стан анестезії, але за таких умов і виходить швидше. Встановлено залежність маси до часу який потрібен, щоб риба ввійшла в стан анестезії. Чим більша маса риби тим довше вхід в стан анестезії, а вихід коротший.

Ключові слова: «хендлінг», аквакультура, анестезія, риба, температура.

Постановка проблеми. Анестезія – це стан організму, що викликаний за допомогою седативних речовин для зменшення чи втрати чутливості нервової системи.

На рибах, дію анестезії почали вивчати на початку ХХ ст. Застосовували її в лабораторних умовах, для вивчення фізіологічних особливостей риб, особливостей роботи нервової системи, а також для маніпуляцій з піддослідними об'єктами. І лише в 50-х та 60-х роках ХХ ст. використання анестезії почалось і в світовій аквакультурі [21; 24].

Використання анестезії в аквакультурі направлено в першу чергу на забезпечення безпеки працівника під час роботи з сильною та активною рибою [1] так і для запобігання травмування цінного біологічного матеріалу, що в свою чергу запобігає розвитку стресових реакцій у риби, що часто викликаються під час маніпуляцій з нею (бонітування, біопсія, відбір ікри, перевезення та різноманітні хірургічні втручання). Такі маніпуляції називають «handling», а стрес викликаний ними «handlingstress» [8; 11; 16].

При підвищенні стресу в організмі риби проходять біохімічні (зміна рівня кортизолу, адреналіну та глюкози в крові) та фізіологічні зміни (прискорення дихання, швидкі та різкі рухи, збільшення виділення слизу) [2]. Це негативно впливає на організм риби.

Метою даної роботи є визначити оптимальні концентрації анестетику «гвоздичної олії» для маніпуляцій з рибою в процесі бонітування.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Викликати стан анестезії у риб можна декількома способами, що поділяються на стандартні – викликаються за допомогою хімічних речовин, так і не стандартних – за допомогою холодового шоку, електричного струму різної потужності, та різних газів, наприклад CO₂ [3; 6; 9; 15; 19; 23]. Іноді ці методи комбінують. Нестандартні способи введення в анестезію не практичні для рибоводних господарств, трудомісткі, та не завжди безпечні (електрошок), тому може використовуватись лише за певних умов.

Другий спосіб введення риб в анестезію – за допомогою хімічних речовин (анестетиків) різного походження, як штучного (хінальдин, фенозепам, MS-222, пропісцин) [4; 10; 14] так і природного (гвоздична олія) [13].

В роботі з рибою виділяють два способи доставки анестезуючих речовин до організму:

– ін'єкції. Найчастіше використовують для місцевого знеболення у великих особин риб, в тому числі і осетрових (кетамін, новокаїн) [12].

– додавання у воду, в якій утримують рибу. Найбільш зручний та безпечний для працівника спосіб. Використовують хінальдин, феназепам, гвоздичну олію [5; 20; 4].

Речовини, що розглядаються на роль анестетиків, повинні відповідати вимогам [10] до них: викликати анестезію за короткий час, з посту-

повим виходом із цього стану; швидко виводиться з організму; бути не шкідливим для організму людей та риби; мати широкий діапазон між нетоксичними та токсичними дозами; бути ефективним за низьких концентрацій; бути простим у використанні і легкодоступним для споживачів.

Як показує практика, універсальних методів анестезії, як і хімічних препаратів-анестетиків, немає. Всі вони мають недоліки, наприклад, не всі препарати повністю усувають виділення гормону стресу – кортизолу, але все одно вони зменшують швидкість з якою він виділяється [8].

При порушенні технології можлива загибель риби через надмірний седативний ефект у вигляді зупинки дихання. Крім того, ряд препаратів-анестетиків дають шкідливі побічні ефекти, дефіцитні, занадто дорогі або відносяться до наркотичних речовин.

У зв'язку з цим, триває пошук недорогих анестетиків без шкідливої побічної дії, особливо при роботі з плідниками, адже в роботі використовується цінний і дорогий племінний матеріал.

Гвоздична ефірна олія – це ефірна олія природного походження, яку добувають бутонів гвоздичного дерева. Гвоздична олія містить у своєму складі понад вісімдесят компонентів, але її анестезуючі властивості визначаються, в основному, наявністю еугенолу [5; 18].

Її знеболюючу, антисептичну та заспокійливу дію використовують у медицині (в стоматології) [7], косметології [17], харчових технологіях [22], тому для людини не являється токсичною і швидко виводиться з організму. Перевагами цього препарату є легка доступність, низька вартість, безпека для риби і людини, відсутність більшості побічних ефектів, властивих синтетичним препаратам, наркотичної дії і екологічність (відсутність негативного впливу на навколишнє середовище).

Матеріали і методика досліджень. Дослідження з ефективності використання гвоздичної олії проводили на базі навчально-науково виробничої лабораторії рибництва кафедри аквакультури Національного університету біоресурсів і природокористування України (смт. Немішаєве, Бордянський р-н, Київська обл.).

Для анестезії використовувалась природна речовина «гвоздична олія».

У процесі експериментів йшов пошук оптимальних концентрацій гвоздичної олії для швидкого входження кларієвого сома (*Clarias gariepinus*) в стан анестезії за різних концентрацій.

Гвоздичну олію купували в аптеках. На початковому етапі використовували дві різні торгові марки препарату, але одна торгова марка не показала ніякої дії. Тому використовували гвоздичну олію ТМ «Ароматика».

Готували емульсію, використовуючи технічну воду з резервуарів, де знаходилась риба. Спосіб для приготування емульсії був обраний

«холодний», не дивлячись на існування ще двох способів «гарячого» та «спиртового розчину» [5; 25]. «Холодний» спосіб має перевагу в тому, що приготувати таку емульсію найпростіше.

Для приготування емульсії використовували інсулінові шприци об'ємом 1 мл та додавали у воду. Об'єм води становив 10 л. Температура води була різною і коливалась від 24 до 30°C. Підвищували та підтримували на одному рівні, температуру, за допомогою акваріумних нагрівачів.

Концентрації гвоздичної олії використовувались наступні: 0,1–0,5 мл та 1 мл.

Перемішували воду з препаратом за допомогою руки чи кухонного міксера.

Матеріалом для дослідження обрали малька масою 60–70 г та дорослих особин 400–1800 г. В кожній групі було по 20 екз.

Результат фіксувався засікаючи час. Критерієм для фіксації були наступні пункти:

– I Фаза. Початок входу в анестезію. Уповільнення рухів плавниками та тілом.

– II Фаза. Повний вхід в анестезію. Припинення рухів тілом та плавниками, але недопущення припинення рухів зябровими кришками. Тіло риби перевертається черевом вверх.

– II аФаза. Початок входу в анестезію. З'являються повільні рухи тілом та плавниками. Тіло ще знаходиться в перевернутому стані.

– I бФаза. Повний вихід з анестезії. Риба сама перевертається в нормальне положення та відновлює активні рухи.

Слід зазначити, що всю рибу після введення в анестезію, зважували та вимірювали, а потім виводили з стану анестезії. Час вимірювання в середньому становить 30 с.

Виводили з анестезії в чистій, насиченій киснем воді, щоб прискорити вихід з анестезії.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати спостереження за рибою, яку вводили в стан анестезії з використанням гвоздичної олії, за різної температури, різної маси та різної концентрації гвоздичної олії у водній емульсії, наведено в таблиці 1.

За результатами дослідів видно, що інтенсивність впливу гвоздичної олії на кларієвого сома залежить від концентрації, температури та маси риби.

Концентрація. За концентрації препарату 0,1 мл не спостерігалось навіть I фази анестезії, не кажучи вже про повну анестезію. За концентрації 0,2 мл спостерігалось лише початок входу в анестезію, але інші фази не спостерігались. Починаючи з концентрації 0,3 мл спостерігались всі стадії анестезії. В процесі збільшення концентрацій гвоздичної олії за однієї тем-

Таблиця 1. Середній час входу та виходу кларієвого сома з анестезії за різних концентрацій гвоздичної олії

№ групи	Маса риби, г	Температура води °С	Доза анестетика, мл	Фаза I	Фаза II	Фаза II а	Фаза II б
1	60–70	24	0,1	–	–	–	–
2		24	0,2	8 хв 30 с	–	–	–
3		24	0,3	4 хв	6 хв	1 хв 30 с	2 хв 30 с
4		24	0,4	3 хв 50 с	5 хв 40 с	2 хв 40 с	3 хв 50 с
5		24	0,5	2 хв 50 с	4 хв 45 с	3 хв 15 с	4 хв 10 с
6		24	0,8	2хв 10 с	4 хв 20 с	3 хв 05 с	3 хв 55 с
7		24	1	1 хв 35 с	2 хв 30 с	4 хв 10 с	6 хв
8		28	1	1 хв 15 с	2 хв 10 с	3 хв 30 с	4 хв 50 с
9		30	0,5	1 хв 55 с	3 хв 40 с	1 хв 25 с	2 хв 55 с
10	400–1800	24	1	2 хв 05 с	4 хв 10 с	3 хв 10 с	4 хв 45 с
11		26	1	2 хв 10 с	3 хв 15 с	3 хв 10 с	5 хв 25 с
12		28	1	2 хв	3 хв 10 с	2 хв 20 с	3 хв 55 с

ператури спостерігалось зменшення часу входу в стан анестезії, а вихід, навпаки, подовжувався.

Температура. За однакової концентрації препарату у воді, але зміни температури в сторону збільшення, зменшують час входу і зменшують час виходу зі стану анестезії. Результати можна спостерігати якщо порівняти групи № 7, 8 та 10, 11, 12. Пояснити це можна тим що при збільшенні температури прискорюється обмін речовин, а це як сприяє поширенню по організму анестетика так і його швидке виведення при потраплянні риби в чисту, добре насичену киснем воду. На практиці це дає можливість зменшити концентрацію гвоздичної олії при підвищенні температури. Даний висновок можна зробити порівнюючи дані групи № 5 та 9.

Маса риби. Настання стадії анестезії також залежить від маси риби та її віку. Порівнюючи групи № 7 з масою 60–70 г та 10 з масою в 400–1800 г, можна констатувати, що при однаковій температурі та концентрації препарату, риба повільніше входить в стан анестезії і швидше виходить. Пояснити це можна більшою масою та кращим розвитком нервової системи на яку безпосередньо діє гвоздична олія.

Висновки та пропозиції. Враховуючи наведені вище результати можна зробити наступні висновки, щодо впливу гвоздичної олії на кларієвого сома:

Анестезуюча дія препарату збільшується зі збільшенням концентрації у воді гвоздичної олії.

Час входу та виходу з стану анестезії зменшується зі збільшенням температури. Це дає змогу зменшити концентрацію в порівнянні з нижчими температурами.

Важливим фактором для підбору концентрації гвоздичної олії є вік та маса риби. Потрібно мати на увазі, що риба старших вікових груп можуть входити довше в анестезію, ніж мальок, навіть при однаковій температурі та концентрації препарату.

Виводити рибу з анестезії потрібно в чистій, добре насиченій киснем воді.

RESEARCH ANESTHETIC INFLUENCE PREPARATION «CLOVE OIL» ON AFRICAN SHARPTOOTH CATFISH (*CLARIAS GARIEPINUS*)

Kovalenko B. Yu. – Ph.D student,

Kovalenko V.O. – Candidate of Agricultural Sciences,

Kononenko R.V. – Candidate of Veterinary Sciences,

Shevchenko P.G. – Candidate of Biology Sciences,

Makarenko A.A. – Ph.D,

National University of Life and Environmental Science of Ukraine

kovalenko@it.nubip.edu.ua

The usage of anesthesia in fisheries is popular for many years. The development of different methods of anesthesia for fish was carried out to prevent injury to both the employee and the fish itself. When manipulation with fish is done, it has a group of stressors, often called the general word "handling". An analysis of the literature shows that anesthetics are widely used in the world, both synthetic (quinaldin, novocaine, fenzepam) and natural origin (clove oil). Among the methods of induction of anesthesia, there are two ways: injection and addition of the drug to water. In recent years, clove oil (active substance eugenol) become widespread, which has no side effects on fish and is not toxic to humans. Its analgesic effect is known in medicine and is also used in cooking and cosmetology. As a result of the experiment, the anesthetic effect of clove oil on clary catfish was tested. The inspection was carried out on the basis of the training and research and production laboratory of fish farming of the Department of Aquaculture of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Preparation of the emulsion was carried out in a "cold" way because it is the easiest in production conditions. The concentration of clove oil ranged from 0.1 to 1 ml. The water temperature ranged from 24 to 30 °C. Fish weighing 60–70 g and 400–1800 g were used in the investigation. They were removed from anesthesia in clean, oxygen-saturated water. As a result of the experiment, it was found that clove oil has a pronounced effect on clary catfish. Concentrations of 0.1 and 0.2 ml did not cause anesthesia in catfish, and starting with 0.3 ml had a pronounced anesthetic effect. The time of entry and exit of anesthesia depended on the concentration of clove oil in water. Experiments have shown that the temperature of the water was also important. The highest temperature was the faster the fish enters the state of anesthesia, but under such conditions, it comes out faster from this state. The dependence on the weight on the time required for the fish to enter the state of anesthesia was established. The greater the weight of the fish, the longer time is needed for the entry into anesthesia, and the shorter time of exit from this condition.

Keywords: handling stress, aquaculture, anesthesia, fish, temperature.

ЛІТЕРАТУРА

1. Войналович О.В., Марчишина Є.І. Охорона праці у рибному господарстві. Київ, 2016. 630 с.
2. Гриб Й.В. Деякі аспекти взаємозв'язку стресових чинників та адаптації гідробіонтів у порушених водних екосистемах. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біологія*, 2011. № 2(47). С. 15–22.
3. Жуйков, А.Ю. Способ анестезии рыб. *Рыбное хозяйство*. 1989. № 5. С. 57.
4. Зиньковский О.Г., Потрохов А.С., Евтушенко Н.Ю. Применение антистрессовых и обездвиживающих веществ в промышленном рыбководстве и при экспериментальной работе с рыбами. Киев, 2000. 72 с.
5. Микодина Е.В., Седова М.А., Пьянова С.В., Коуржил Я., Гамачкова Й. Руководство по применению анестетика «гвоздичное масло» в аквакультуре. Москва, 2011. 58 с.
6. Корнієнко В.О., Оліфіренко В.В., Козичар М.В. Спосіб анестезії африканського сома. *Водні біоресурси та аквакультура*. 2020. № 1. С. 61–72.
7. Трезубов В.Н., Щербаков А.С., Мишнев Л.М., Фадеев Р.А. Ортопедическая стоматология. Прикладное материаловедение. Санкт-Петербург, 1999. С. 115–122.
8. Солдатов А.А. Функциональные эффекты применения анестезирующих препаратов на костистых рыбах (обзор). *Биология внутренних вод*. 2021. № 1. С. 67–77.
9. Barham W.T., Schoonbee H.J. A comparison of the effects of alternating current electronarcosis, rectified current electronarcosis and chemical anaesthesia on the blood physiology of the freshwater bream *Oreochromis mossambicus* (Peters). I. The effect on blood pH, pO₂, pCO₂, glucose, lactate, LDH and HBDH. *Comp. Biochem. Physiol.* 1990. № 2. 333 p.
10. Brown, L.A. Anesthesia in Fish. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 1988. № 18(2), 317–330.
11. Brydges, N.M., Boulcott, P., Ellis, T., & Braithwaite, V.A. Quantifying stress responses induced by different handling methods in three species of fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 2009. № 116(2–4), pp. 295–301.
12. Chebanov, M.S., Galich, E.V. Sturgeon hatchery manual. Ankara, FAO. 2011, 303 p.
13. Silva, D.R., Arvigo, A.L., Giaquinto, P.C., Delicio, H.C., Barcellos, L.J.G., Barreto, R.E. Effects of clove oil on behavioral reactivity and motivation in Nile tilapia. *Aquaculture*, 2021. T. 532, P. 736045.
14. Ganjoor, M., Salahi-ardekani, M., Nazari, S., Mahdavi, J., Kazemi, E., Mohammadpour, M. The Effectiveness of Ketamine as an Anesthetic for

- Fish (Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*). *Oceanography & Fisheries Open Access Journal*, 2021. № 13(1), pp. 10–16.
15. Gunstrom, G.K., Bethers, M. Electrical anesthesia for handling large salmonids. *The Progressive Fish-Culturist*, 1985. № 47(1), pp. 67–69.
 16. Hamackova, J., Kouril, J., Kozak, P., Stupka, Z. Clove oil as an anaesthetic for different freshwater fish species. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 2006. № 12(2), pp. 185–194.
 17. Huang X.-w., Feng Y.-c., Huang Y., Li H.-l. Chemical composition, antioxidant and the possible use as skin-care ingredient of clove oil (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry) and citronella oil (*Cymbopogon goeringii*) from China. *J. Essent. Oil Res.*, 2013. № 4, pp. 315–323.
 18. Keene, Noakes, Moccia, & Soto. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 1998. № 29(2), pp. 89–101.
 19. Marx H., Brunner B., Weinzierl W. et al. Comparative investigations on different methods for stunning fish with special regard to meat quality parameters. *Ins. Inter. Du Froid*. 1996. 199 p.
 20. Muench, B. Quinaldine, a New Anesthetic for Fish. *The Progressive Fish-Culturist*, 1958 № 20(1). pp. 42–44.
 21. Никоноров С.И. Перспективы применения нейротропных веществ в рыбоводстве. *Рыбное хозяйство*. 1984. №. 4. С. 72–73.
 22. Sanuja, S., Agalya, A., & Umopathy, M.J. Studies on magnesium oxide reinforced chitosan bionanocomposite incorporated with clove oil for active food packaging application. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 2014. № 63(14), pp. 733–740.
 23. Yokoyama Y., Azuma Y., Sakaguchi M., et al. ³¹P NMR study of bioenergetic changes in carp muscle with cold CO₂ anesthesia and non-destructive evaluation of freshness. *Fish. Sci.*, 1996 № 2. 267 p.
 24. Zahl, I.H., Samuelsen, O., Kiessling, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. *Fish physiology and biochemistry*, 2012 № 38(1). pp. 201–218.
 25. Öğretmen, F., & Gökçek, K. Comparative efficacy of three anesthetic agents on juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2013. № 13(1).

REFERENCES

1. Voinalovych O.V., Marchyshyna Ye.I. (2016). *Okhorona pratsi u rybnomu hospodarstvi*. [Labor protection in fisheries]. Kyiv. [in Ukrainian].
2. Hryb, Y.V. (2011). *Deiaki aspekty vzaïmozv'язku stresovykh chynnykiv ta adaptatsii hidrobiontiv u porushenykh vodnykh ekosystemakh* [Some aspects of the relationship between stressors and adaptation of aquatic

- organisms in disturbed aquatic ecosystems]. *Naukovi zapysky Ternopilskoho natsionalnoho pedahohichnoho universytetu im. Volodymyra Hnatiuka. Ser. Biologhiia*, no. 2 (47), 15–22. [in Ukrainian].
3. Zhuykov. A.Yu. (1989). *Sposob anestezii ryb* [Method of anesthesia of fish]. *Rybnoye khozyaystvono*, 5, 57. [in Russian].
 4. Zinkovskiy O.G., Potrokhov A.S., Evtushenko N.Yu. (2000). *Primeneniye antistressovykh i obezdvizhivayushchikh veshchestv v promyshlennom rybovodstve i pri eksperimentalnoy rabote s rybami* [The use of anti-stress and immobilizing substances in industrial fish farming and in experimental work with fish]. Kyiv. [in Russian].
 5. Mikodina E.V., Sedova M.A., Pianova S.V., Kourzhil Ya., Gamachkova Y. (2011). *Rukovodstvo po primeneniyu anestetika "gvozdichnoye maslo" v akvakulture* [Guide to the use of anesthetic "clove oil" in aquaculture]. Moscow. [in Russian].
 6. Korniienko, V.O., Olifirenko, V.V., Kozychar, M.V. (2020). *Sposib anestezii afrykanskocho soma* [Method of anesthesia of African catfish]. *Vodni bioresursy ta akvakultura*, no. 1, 61–72. [in Ukrainian]
 7. Trezubov, V.N., Shcherbakov. A.S., Mishnev, L.M., Fadeyev, R.A. (1999). *Ortopedicheskaya stomatologiya. Prikladnoye materialovedeniye* [Orthopedic dentistry. Applied materials science]. Saint-Petersburg. 115–122. [in Russian].
 8. Soldatov A.A. (2021). *Funktsionalnyye efekty primeniya anesteziruyushchikh preparatov na kostistykh rybakh (obzor)* [Functional effects of the using of anesthetic drugs on the bony fish (review)]. *Biologiya vnutrennikh vod*, no. 1, 67–77. [in Russian].
 9. Barham W.T., Schoonbee H.J. (1990). A comparison of the effects of alternating current electronarcosis, rectified current electronarcosis and chemical anaesthesia on the blood physiology of the freshwater bream *Oreochromis mossambicus* (Peters). I. The effect on blood pH, pO₂, pCO₂, glucose, lactate, LDH and HBDH. *Comp. Biochem. Physiol*, no. 2.
 10. Brown, L.A. (1988). Anesthesia in Fish. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, no. 18(2), 317–330.
 11. Brydges, N.M., Boulcott, P., Ellis, T., & Braithwaite, V.A. (2009). Quantifying stress responses induced by different handling methods in three species of fish. *Applied Animal Behaviour Science*, no. 116(2-4), 295–301.
 12. Chebanov, M.S.; Galich, E.V. (2011). *Sturgeon hatchery manual*. Ankara, FAO.
 13. Silva, D.R., Arvigo, A.L., Giaquinto, P.C., Delicio, H.C., Barcellos, L.J.G., Barreto, R.E. (2021). Effects of clove oil on behavioral reactivity and motivation in Nile tilapia. *Aquaculture*, no. 532, 736045.
 14. Ganjoor, M., Salahi-ardekani, M., Nazari, S., Mahdavi, J., Kazemi, E., Mohammadpour, M. (2021). The Effectiveness of Ketamine as an Anesthetic

- for Fish (Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*). *Oceanography & Fisheries Open Access Journal*, no. 13(1), 10–16.
15. Gunstrom, G.K., Bethers, M. (1985). Electrical anesthesia for handling large salmonids. *The Progressive Fish-Culturist*, no. 47(1), 67–69.
 16. Hamackova, J., Kouril, J., Kozak, P., Stupka, Z. (2006). Clove oil as an anaesthetic for different freshwater fish species. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, no. 12(2), 185–194.
 17. Huang X.-w., Feng Y.-c., Huang Y., Li H.-l. (2013). Chemical composition, antioxidant and the possible use as skin-care ingredient of clove oil (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry) and citronella oil (*Cymbopogon goeringii*) from China. *J. Essent. Oil Res.*, no. 4, 315–323.
 18. Keene, Noakes, Moccia, & Soto. (1998). The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, no. 29(2), 89–101.
 19. Marx H., Brunner B., Weinzierl W. et al. (1996). Comparative investigations on different methods for stunning fish with special regard to meat quality parameters. *Ins. Inter. Du Froid*.
 20. Muench, B. (1958). Quinaldine, a New Anesthetic for Fish. *The Progressive Fish-Culturist*, no. 20(1), 42–44.
 21. Nikonorov S.I. (1984). *Perspektivy primeneniya neyrotropnykh veshchestv v rybovodstve* [Prospects for the use of neurotropic substances in fish farming]. *Rybnoye khozyaystvo*, no 4, 72–73. [in Russian].
 22. Sanuja, S., Agalya, A., & Umapathy, M. J. (2014). Studies on magnesium oxide reinforced chitosan bionanocomposite incorporated with clove oil for active food packaging application. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, no. 63(14), 733–740.
 23. Yokoyama Y., Azuma Y., Sakaguchi M., et al. (1996). ³¹P NMR study of bioenergetic changes in carp muscle with cold CO₂ anesthesia and non-destructive evaluation of freshness. *Fish. Sci*, no. 2.
 24. Zahl, I.H., Samuelsen, O., Kiessling, A. (2012). Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. *Fish physiology and biochemistry*, no. 38(1), 201–218.
 25. Öğretmen, F., & Gökçek, K. (2013). Comparative efficacy of three anesthetic agents on juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, no. 13(1).