

2-苯氧乙醇和丁香酚对许氏平鲷 幼鱼麻醉效果的实验研究

关 健¹ 官曙光¹ 郑永允¹ 慕 伟² 刘洪军^{1*}

(¹山东省海水养殖研究所, 青岛 266002)

(²烟台百佳水产有限公司, 265715)

摘 要 研究了 2-苯氧乙醇、丁香酚麻醉两个规格许氏平鲷幼鱼的效果。幼鱼呼吸频率随麻醉剂浓度的上升而显著下降($P < 0.001$), 在高浓度液(2-苯氧乙醇: 500、600、800 $\mu\text{l/L}$; 丁香酚: 60、80 $\mu\text{l/L}$)中可在短时间内降低为 0(休克), 在中浓度液(2-苯氧乙醇: 400 $\mu\text{l/L}$; 丁香酚: 30、40 $\mu\text{l/L}$)中存在不同程度下降, 而低浓度液(2-苯氧乙醇: 200、300 $\mu\text{l/L}$; 丁香酚: 10、20 $\mu\text{l/L}$)对呼吸频率总体影响较小。同等浓度麻醉剂对小规格幼鱼呼吸频率的影响($P < 0.01$)高于大规格幼鱼。2-苯氧乙醇中大规格幼鱼的入麻、休克和复苏时间均长于小规格幼鱼($P < 0.05$)。大规格幼鱼对麻醉剂的耐受能力强于小规格幼鱼; 复苏能力方面, 丁香酚麻醉的大规格幼鱼复苏迟于小规格幼鱼, 但 2-苯氧乙醇麻醉的大、小规格幼鱼复苏时间无差异。综合考虑入麻、休克、复苏时间和死亡率, 认为使用 2-苯氧乙醇、丁香酚麻醉许氏平鲷幼鱼的理想浓度分别为 300、20 $\mu\text{l/L}$ 。

关键词 许氏平鲷 2-苯氧乙醇 丁香酚 麻醉 呼吸频率

中图分类号 S965.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2010)06-0022-07

Effects of 2-phenoxyethanol and clove oil as anaesthetics on juvenile *Sebastes schlegeli*

GUAN Jian¹ GUAN Shu-guang¹ ZHENG Yong-yun¹
MU Wei² LIU Hong-jun^{1*}

(¹Mariculture Institute of Shandong Province, Qingdao 266002)

(²Yantai Baijia Fishery Corporation Limited, 265715)

ABSTRACT Schlegel's rockfish *Sebastes schlegeli*, distributed in the western North Pacific, is an important offshore cage-culture fish species in the Yellow Sea and Bo-hai Sea of China. Schlegel's rockfish juvenile, 55.2mm (short juvenile, SJ) and 99.0mm (long juvenile, LJ) in total length (TL), were exposed to seawater containing different concentrations of 2-phenoxyethanol (200~800mg/L) or clove oil (10~80 mg/L). The anaesthetic effects of 2-phenoxyethanol and clove oil were studied. Generally, the respiratory rate of SJ (22.8/10s) was

海洋公益性行业科研专项经费项目(No. 200805069)和山东省良种工程“优质抗病速生鱼类良种选育”项目共同资助

* 通讯作者。E-mail: hongjunl@126.com, Tel: (0532)82655167

收稿日期: 2009-12-01; 接受日期: 2010-01-25

作者简介: 关 健(1982-), 男, 博士研究生, 研究实习员, 主要从事海水经济鱼类繁育及育种研究。E-mail: guanjian35@gmail.com, Tel:

higher than that of LJ (19.7/10s). The respiratory rate decreased significantly ($P < 0.001$) as the anaesthetic concentration increased. It dropped to zero in a short time (shock stage) at high concentrations (2-phenoxyethanol: 500, 600, 800 $\mu\text{l/L}$; clove oil: 60, 80 $\mu\text{l/L}$), while decreased to different levels at medium concentrations (2-phenoxyethanol: 400 $\mu\text{l/L}$; clove oil: 30, 40 $\mu\text{l/L}$), and it was mildly affected at low concentrations (2-phenoxyethanol: 200, 300 $\mu\text{l/L}$; clove oil: 10, 20 $\mu\text{l/L}$). The anaesthetic time, shock time and recovery time of LJ were longer than SJ in 2-phenoxyethanol. The anti-anaesthetic ability of LJ was greater than SJ. In recovery period, the LJ recovered later than SJ in seawater with clove oil, but there was no similar phenomenon observed in 2-phenoxyethanol. In terms of anaesthetic time, shock time, recovery time and mortality, the optimum concentration of 2-phenoxyethanol and clove oil was 300 $\mu\text{l/L}$ and 20 $\mu\text{l/L}$ respectively.

KEY WORDS *Sebastes schlegeli* 2-Phenoxyethanol Clover oil Anaesthetics

鱼类麻醉剂主要应用于运输、分选及免疫注射等需要使鱼在较长时间保持静止的操作中,可大大降低对鱼体的胁迫压力。目前除使用低温、电击等物理方法外,主要通过 2-苯氧乙醇(2-Phenoxyethanol)、丁香酚、MS-222、苜咪甲酯、苯唑卡因、尿烷、三氯乙醛等化学麻醉剂对鱼进行麻醉(Paige *et al.* 2005)。其中 2-苯氧乙醇和丁香酚应用较广泛,2-苯氧乙醇除麻醉外还广泛应用于消毒和防腐;丁香酚被 FDA 认定为对人体安全,作为临时镇痛剂广泛用于牙科手术中。目前已报道有使用 2-苯氧乙醇麻醉鲑鱼 *Lophius piscatorius* (Barton *et al.* 1981)、大鳞大马哈鱼 *Oncorhynchus tshawytscha* (Bell *et al.* 1984)、鳕鱼 *Gadus morhua* (Mattson *et al.* 1989)、塞内加尔鲷 *Solea senegalensis* (Weber *et al.* 2009);使用丁香酚麻醉塞内加尔鲷(Weber *et al.* 2009)、虹鳟 *Oncorhynchus mykiss* (Anderson *et al.* 1997; Keene *et al.* 1998)、河鲀 *Siganus lineatus* (Soto *et al.* 1995)、黄尾雀鲷 *Pomacentrus amboinensis* (Munday *et al.* 1997)、大鳞大马哈鱼(AQUI-S New Zealand Ltd. 2004)、大西洋鲑 *Salmo salar* (Iversen 2003)、美洲鲈 *Alosa sapidissima* (杜浩等 2007)、黄蜡鲂 *Trachinotus blochii* (张朝晖等 2003)等。

许氏平鲈 *Sebastes schlegeli* 俗称黑鲷、黑头,是分布于北太平洋西部的近海喜礁石性底层鱼类,在我国以黄、渤海海域为多,个体较大、肉质细、口感佳、生长较快,是北方近海主要网箱养殖鱼种之一。为了在测量、免疫注射、个体标记等操作中减轻许氏平鲈的应激和损伤,提高成活率,需预先对许氏平鲈进行麻醉,目前仅周竹君等(1999)报道了 MS-222 麻醉许氏平鲈成鱼,尚未见到幼鱼麻醉的报道。本文对 2-苯氧乙醇和丁香酚对许氏平鲈的麻醉效果进行研究,以期对苗种生产、运输、试验等操作提供有益的技术资料。

1 材料和方法

1.1 试验条件

试验在山东省龙口市黄山馆镇烟台百佳水产有限公司进行,试验用水为砂滤过的自然海水,水温 22~23 $^{\circ}\text{C}$,盐度 29~30, pH 8.0~8.2, DO>6 mg/L。使用 20L 塑料整理箱作为麻醉容器,海水体积 10 L,微充气。

1.2 试验用鱼

试验用鱼为 2009 年 6 月人工繁育的许氏平鲈苗种,选用两个规格组:全长 55.2 \pm 6 mm(平均总重 3.17 g,以下简称 A 组)和全长 99.0 \pm 7 mm(平均总重 14.9 g,以下简称 B 组),试验前停食 1 d。

1.3 麻醉剂

2-苯氧乙醇(德国 BASF 化学公司)和丁香酚(上海飞祥化工厂)从试剂公司购得。2-苯氧乙醇直接稀释使

用;丁香酚按照丁香酚:无水乙醇=1:10比例配制丁香酚母液使用。使用时按试验设计浓度将2-苯氧乙醇和丁香酚母液稀释于清洁海水中,反复搅拌3 min以上使麻醉剂充分溶解、混匀。

1.4 麻醉剂对呼吸频率影响的测定

呼吸频率使用单位时间内鳃盖的张合次数认定,本试验使用“次/10s”表示。将幼鱼移入盛有10 L清洁海水的塑料整理箱中,稳定10 min后计数个体的呼吸频率作为初始值(预试验结果表明幼鱼移入新容器5 min左右,其活动和呼吸即恢复正常),然后将试验鱼移入麻醉水体中,在预定观察时间测定呼吸频率。试验设6个浓度(表1)和1个对照,观察时间分别为1、2、4、8、12、16 min。各浓度设3个平行,每个平行3尾试验鱼,3位观察者对3尾试验鱼进行一对一的跟踪观察测定,即在不同观察时间同时测定3尾试验鱼的呼吸频率。计算3个平行共9个个体数据的平均值,作为幼鱼在该麻醉时间下的呼吸频率。

1.5 麻醉、休克与复苏时间的测定

设置6个浓度梯度(表1),各梯度设置3个平行,各平行收容试验鱼8尾,微充气;观察各浓度中试验鱼的行为表现,试验鱼达休克后即转入海水中复苏,记录半数(4尾)达到Ⅳ期麻醉、休克状态所需时间;休克后将试验鱼移入一般海水中,记录复苏时间和麻醉存活率。参考刘长琳等(2007)划分麻醉、复苏的时期(表2、表3)。

表1 试验中两种麻醉剂浓度梯度

Table 1 Experimental concentrations of two anaesthetics

麻醉药物 Anaesthetic	浓度 Anaesthetic concentration ($\mu\text{l/L}$)							
2-苯氧乙醇 2-Phenoxyethanol	0	200	300	400	500	600	800	
丁香酚 Clove oil	0	10	20	30	40	60	80	

表2 许氏平鲈幼鱼麻醉程度分期及鱼类行为表现

Table 2 Anaesthetic stages and characteristic behavior of juvenile *S. schlegeli*

麻醉程度分期 Anaesthetic stage	麻醉鱼的行为特征 Characteristic behavior
正常状态 Normal condition	呼吸频率正常,能迅速调整保持身体平衡 Normal swimming and breath, normal general movement and adjust body balance quickly
I 轻度镇静期 Mild sedation	触觉灵敏度下降,仍然可以迅速调整保持身体平衡,呼吸略加快 The tactile sensitivity decreases, can keep body balance soon as usual, breathes faster appreciably
II 深度镇静期 Deep sedation	丧失触觉,挣扎后可勉强保持身体平衡,个别个体出现无意识游动,呼吸更加快 Sensitivity lost, rolling from side to side, some fish swimming unconsciously, breathes more quickly
III 轻度麻醉期 Mild anaesthesia	将鱼体侧放时,鱼挣扎但无法恢复身体平衡状态 Fish cannot recover to balance after being put to one side
IV 麻醉期 Anaesthesia	肌肉张力丧失,将鱼体侧放时鱼体不挣扎,呼吸频率降低但有规律性 Muscle tension lost, not struggle after being put to one side, low breathes but rhythmically
V 深度麻醉期 Deep anaesthesia	鱼体侧卧静止,呼吸断断续续 Movement stop, breathes arrhythmically
VI 延髓麻醉期 Shock stage	呼吸停止,进入休克状态,不迅速移入清水复苏则将发生死亡 Breathes stop, fall into shock, would die without being put into fresh seawater

表 3 许氏平鲈幼鱼复苏过程及鱼类行为表现

Table 3 Recovery stages and characteristic behavior of juvenile *S. schlegeli*

复苏分期 Recovery stage	麻醉鱼行为特征 Characteristic behavior
I	鱼体侧卧静止, 开始出现少量不规则的呼吸 Lie by one side, breath arrhythmically and with low rate
II	将鱼体侧放时, 挣扎但无法恢复身体平衡, 呼吸频率上升 Fish cannot recover to balance after being put to one side
III	挣扎后可勉强保持身体平衡, 呼吸接近正常 Rolling from side to side, breathes close to normal condition
IV	受外力侧倒后可以迅速调整身体保持平衡, 呼吸频率完全恢复正常 Fish can recover to balance quickly after being put to one side, breathes as usual

1.6 数据统计及分析

结果表示为平均值±标准差(mean±std);不同幼鱼规格、不同麻醉剂浓度之间呼吸频率的差异,以及幼鱼的入麻、休克和复苏时间使用 SPSS 9.0 软件进行数据统计,利用 ANOVA 进行差异分析,若 $P < 0.05$ 则认为是差异显著, $P < 0.01$ 则认为是差异极显著。使用 Origin 7.5 软件制图。

2 结果

2.1 不同浓度 2-苯氧乙醇、丁香酚对许氏平鲈幼鱼呼吸频率的影响

不同浓度的 2-苯氧乙醇和丁香酚对 A、B 组的试验鱼呼吸频率的影响分别见图 1、图 2。正常状态下, A 组试验鱼平均呼吸频率(22.8 次/10s)略高于 B 组(19.7 次/10s)。

2-苯氧乙醇:试验鱼呼吸频率随着浓度的上升而下降显著($P < 0.001$),试验鱼在高浓度(500~800 $\mu\text{l/L}$)中呼吸可在 2 min 内降低为 0,进入休克;在中浓度(300~400 $\mu\text{l/L}$)中呼吸频率不同程度下降,低浓度(200~300 $\mu\text{l/L}$)对呼吸频率总体影响较低。同等浓度 2-苯氧乙醇对 A 组呼吸频率的影响较 B 组幼鱼显著($P < 0.01$),如 400 $\mu\text{l/L}$ 导致 A 组试验鱼休克,但仅使 B 组试验鱼的呼吸频率降至正常值的 1/2 左右。

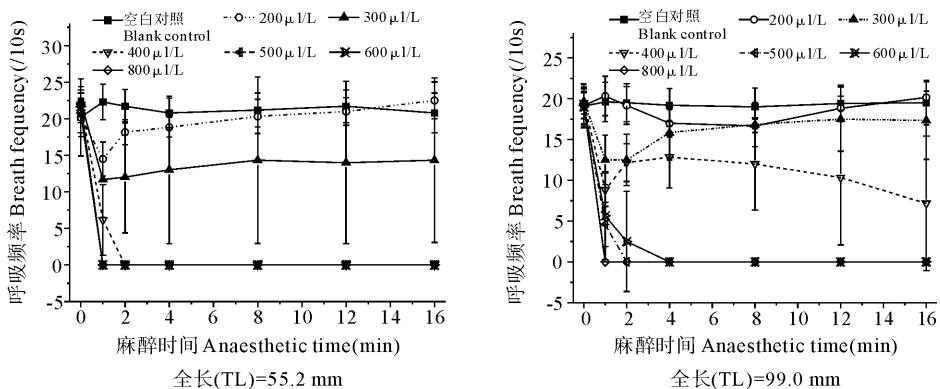


图 1 不同浓度 2-苯氧乙醇对全长 55.2 mm、99.0 mm 许氏平鲈幼鱼呼吸频率的影响

Fig. 1 Respiratory frequencies of juvenile *S. schlegeli* (TL=55.2 mm, 99.0 mm) in different 2-phenoxyethanol concentrations

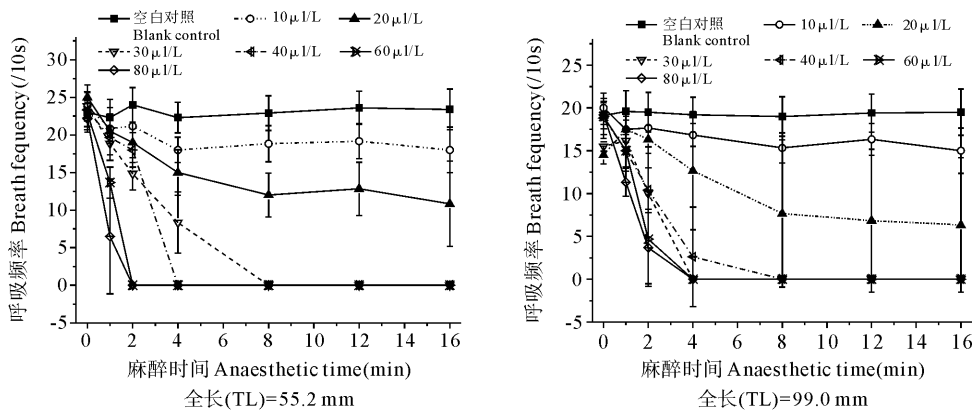


图 2 不同浓度丁香酚对全长 55.2 mm、99.0 mm 许氏平鲈幼鱼呼吸频率的影响

Fig. 2 Respiratory frequencies of juvenile *S. schlegeli* (TL=55.2mm,99.0mm) in different clove oil concentrations

丁香酚:在丁香酚浸浴液中试验鱼呼吸频率的变化情况类似于 2-苯氧乙醇,低浓度仅使试验鱼呼吸频率逐渐降低(6~17 次/10s),而浓度 $\geq 30 \mu\text{l/L}$ 都会导致试验鱼发生休克,浓度越高则达到休克状态用时越少($P < 0.001$),如浓度达 $60 \mu\text{l/L}$ 以上时可使试验鱼在 4 min 内休克。相同浓度丁香酚对 A 组的呼吸频率较 B 组影响更显著($P < 0.01$),也更快进入休克,如浓度达 $80 \mu\text{l/L}$ 时,可使 A 组试验鱼在 1 min 内休克,而使 B 组休克却需要 2 min。

2.2 麻醉、休克与复苏时间的测定结果

试验所设置的两种麻醉剂在所有浓度梯度条件下均可使两个规格的许氏平鲈幼鱼达到 VI 期麻醉。相同浓度的 2-苯氧乙醇中,大规格试验鱼的入麻、休克、复苏时间均长于小规格试验鱼($P < 0.05$)。相同浓度丁香酚中,两个规格试验鱼入麻时间相近,但小规格试验鱼的休克时间随浓度升高而缩短的趋势明显,大规格试验鱼则不明显;小规格试验鱼比大规格试验鱼复苏时间长。

许氏平鲈 A、B 组试验鱼在不同浓度 2-苯氧乙醇、丁香酚中入麻、休克、苏醒时间分别见图 3、图 4。在本试验设置的浓度范围内,麻醉剂浓度越高,入麻时间越短,达到休克的用时也越短;而复苏时间的变化规律却并不一致:2-苯氧乙醇中苏醒时间总体上随着浓度的上升而延长;苏醒时间与丁香酚浓度相关性不明显,即随着丁香酚浓度的上升,试验鱼苏醒时间的变化不明显。

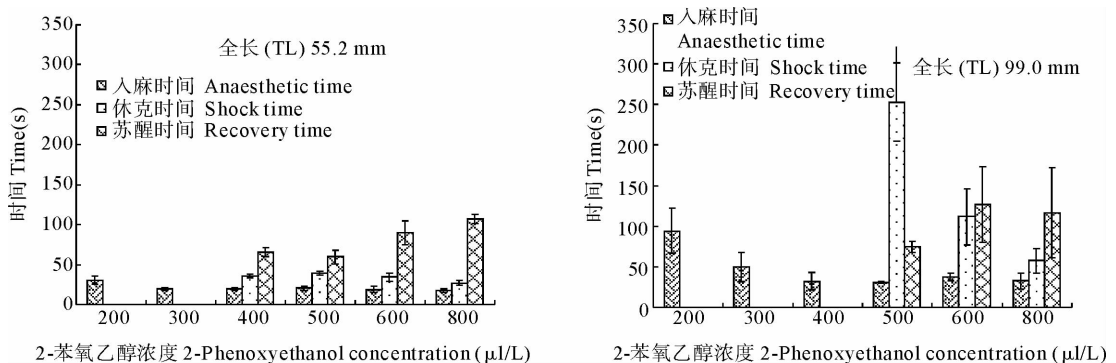


图 3 全长 55.2 mm、99.0 mm 许氏平鲈在不同浓度 2-苯氧乙醇液中的入麻、休克、苏醒时间

Fig. 3 Anaesthetic time, shock time, and recovery time for juvenile *S. schlegeli* in different 2-phenoxyethanol concentrations (TL=55.2 mm, 99.0 mm)

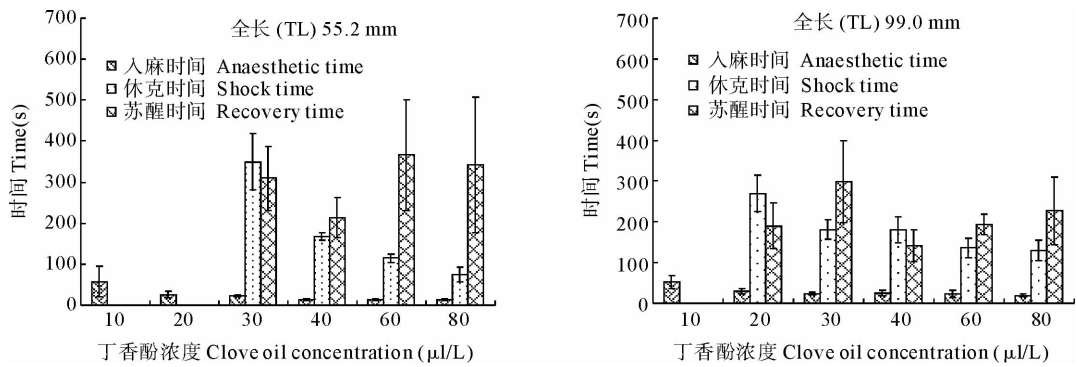


图4 全长 55.2 mm、99.0 mm 许氏平鲈在不同浓度丁香酚液中的入麻、休克、苏醒时间

Fig. 4 Anaesthetic time, shock time, and recovery time for juvenile *S. schlegeli* in different clove oil concentrations (TL=55.2 mm, 99.0 mm)

3 讨论

3.1 麻醉剂对许氏平鲈呼吸频率的影响

多数报道显示鱼体呼吸频率在整个麻醉期间都是下降的,如丁香酚麻醉黄腊鲈(张朝晖等 2003)、美洲鲈(杜浩等 2007)等,认为导致呼吸频率下降的原因是鱼被麻醉后体内代谢减缓,需氧量降低,鳃腔的水交换量下降所致。本研究观察到许氏平鲈幼鱼呼吸频率随着麻醉剂浓度的上升而显著下降,同上述观点一致。在低浓度(A组 200 µl/L、B组 300 µl/L)2-苯氧乙醇中浸浴,幼鱼呼吸频率在最初 1 min 内迅速下降,随后缓慢恢复至正常,但此现象在丁香酚麻醉中却不明显。此差异的出现可能与麻醉剂的特性有关,也可能由试验设计的麻醉剂浓度差异造成,即丁香酚浓度梯度间隔过大,所设置的浓度都不能使幼鱼呼吸频率先下降、后恢复。

呼吸频率是反映麻醉深度的重要指标,呼吸频率越低则麻醉程度越深。试验中发现即使在同等浓度麻醉液中,相同规格许氏平鲈幼鱼个体间呼吸频率差异仍然相当大,尤其是在中等浓度液(2-苯氧乙醇:A组 300 µl/L、B组 400 µl/L;丁香酚:A、B组 20 µl/L)中,随着浸浴时间的延长,呼吸频率的个体差异越来越大。此现象表明,许氏平鲈幼鱼对麻醉剂的耐受能力存在较明显的个体差异;而其在不同浓度麻醉液中的入麻、休克和恢复时间上的显著个体间差异也证实了上述观点。

3.2 2-苯氧乙醇、丁香酚对许氏平鲈幼鱼的麻醉效果

麻醉剂对鱼的麻醉效果与鱼体重有一定的关系,一般鱼的体重越大,所需的麻醉剂浓度越高(刘长琳等 2007)。本试验也发现了类似现象:2-苯氧乙醇中大规格幼鱼的入麻、休克和复苏时间均高于小规格幼鱼;丁香酚中两个规格幼鱼入麻时间相近,但小规格幼鱼的休克时间随浓度升高而缩短的趋势明显,大规格幼鱼则不明显;小规格幼鱼比大规格幼鱼复苏时间要长。大规格幼鱼对麻醉剂的耐受能力总体上强于小规格幼鱼。2-苯氧乙醇中大规格幼鱼复苏比小规格幼鱼缓慢,但在丁香酚中却相反,可能是麻醉剂性质和作用效果的差异所致。

已报道的研究中,麻醉剂浓度与入麻时间的关系有两种情况:(1)随着麻醉剂浓度的上升,鱼类入麻时间逐渐缩短,如虹鳟(Keene *et al.* 1998)、鲤鱼(Hoskonen *et al.* 2004)、大马哈鱼(Woody *et al.* 2004)、大西洋鲑(Hoskonen *et al.* 2004)等;(2)用较高浓度麻醉剂时,随着浓度的上升入麻时间变化不大,如虹鳟(Hoskonen *et al.* 2004)、大西洋鲑(Hoskonen *et al.* 2004)。本实验中观察到的情况同(2)一致,在麻醉剂达到一定浓度后,其浓度增加对许氏平鲈幼鱼入麻时间的影响不显著($P>0.05$)。浓度似乎存在一个阈值(2-苯氧乙醇:A组 300 µl/L、B组 400 µl/L;丁香酚:A组、B组 20 µl/L),在达到并超过此阈值后,入麻时间与浓度不存在明显的对应关系,幼鱼入麻时间不随麻醉剂浓度的上升而缩短。

3.3 理想麻醉剂浓度的确定

一般认为,理想的鱼类麻醉剂浓度可在3 min之内麻醉动物,在5 min内苏醒,且麻醉死亡率为0 (Marking *et al.* 1985)。本研究发现,浓度为200 $\mu\text{l/L}$ 以上的2-苯氧乙醇、10 $\mu\text{l/L}$ 以上的丁香酚都可以使许氏平鲈幼鱼在100 s内麻醉,综合考虑复苏时间和死亡率,认为使用2-苯氧乙醇、丁香酚麻醉许氏平鲈幼鱼的理想浓度为300、20 $\mu\text{l/L}$ 。使用此浓度浸浴幼鱼,可在40~80 s内使鱼麻醉、5 min内复苏,且死亡率为0。

致谢:本研究得到了烟台百佳水产有限公司的大力支持和该公司员工陈志信、曲效志、付建革、盛明瑞等同事的全力帮助,山东科技职业学院李翠红、王娟娟、窦明磊、郝海等同学积极参与实验,给予很大的帮助,在此一并表示感谢。

参 考 文 献

- 刘长琳,李继强,陈四清,何力,庄志猛,张岩,秦显明. 2007. 丁香酚麻醉半滑舌鲷成鱼的试验研究. 海洋水产研究, 28(3): 50~56
- 刘长琳,何力,陈四清,李学文,邹健,李迪,齐国山. 2007. 鱼类麻醉研究综述. 渔业现代化, 34(5): 21~25
- 关健,柳学周,马学坤,孙中之,马牲. 2006. 半滑舌鲷幼鱼耗氧率和窒息点的研究. 海洋水产研究, 27(2): 80~86
- 杜浩,危起伟,杨德国,刘鉴毅,甘芳,陈细华,沈丽. 2007. MS-222、丁香油、苯唑卡因对养殖美洲鲈幼鱼的麻醉效果. 大连水产学院学报, 22(1): 20~26
- 张朝晖,丛娇日,王波,洪旭光, Kjell and Midling. 2003. 麻醉剂丁香酚对黄腊鲈耗氧的影响. 海洋科学, 27(6): 11~14
- 周竹君,宋志修,周振红. 1999. 应用MS-222运输海水鱼初探. 水利渔业, 19(4): 52~53
- Ackerman, P. A., Morgan, J. D., and Iwama, G. K. 2005. Anesthetics. http://www.ccac.ca/en/CCAC_Programs
- Anderson, W. G., McKinley, R. S., and Colavecchia, M. 1997. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. North American Journal of Fisheries Management, 17(2): 301~307
- AQUI-S New Zealand Ltd. 2004. Electronic document, <http://www.aqui-s.com>
- Barton, B. A., and Helfrich, H. 1981. Time-dose responses of juvenile rainbow trout to 2-phenoxyethanol. Progressive Fish-Culturist, 43(4): 223~231
- Bell, G., and Blackburn, J. 1984. Anesthetizing chinook smolts. In: Salmonid Enhancement Program-Preliminary Notes on New Information in Salmonid Hatchery Propagation. (eds. D. F. Alderice, F. E. A. Wood & D. W. Narver). Canadian Data Report of Fisheries and Aquatic Sciences. No. 496
- Hoskonen, P., and Pirhonen, J. 2004. Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes. Fish. Biol. 64: 1 136~1 142
- Iversen, M., Finstad, B., and McKinley, R. S. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, AQUI-S(TM) and Benzoak (R) as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. Aquaculture, 22(1): 549~566
- Keene, J. L., Noakes, D. 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(2): 89~101
- Mattson, N. S., and Ripley, T. H. 1989. Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gadus morhua*) in comparison with benzocaine, MS-222, chlorobutanol, and hexoxyethanol. Aquaculture, 83(1-2): 89~94
- Munday, P. L., and Wilson, S. K. 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. J. Fish Biol. 51(5): 931~938
- Soto, C. G., and Burhanuddin, C. G. 1995. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). Aquaculture, 136(1-2): 149~152
- Weber, R. A., Peleteiro, J. B., and García Martín, L. O. 2009. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). Aquaculture, 288: 147~150
- Woody, C. A., Nelson, J., and Ramstad, K. 2002. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon; field trials. Fish. Biol. 60: 340~347