بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد هفتم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۷
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2019.14336.1416

بررسی اثرات بیهوش‌کنندگی بیکربنات سدیم، ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک و عصاره آویشن بر شاخص‌های خون‌شناسی و میزان هورمون کورتیزول در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

معصومه بحرکاظمی*
استادیار گروه شیلات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۰

چکیده

به‌منظور معرفی بیهوش‌کننده‌ای با کمترین میزان استرس‌زایی در ماهی کپور معمولی، اثرات بیهوش‌کنندگی دو ترکیب شیمیایی بیکربنات سدیم و ۲- فنوکسی اتانول و دو ترکیب طبیعی عصاره گل میخک و عصاره آویشن بر تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و مقدار هموگلوبین، هماتوکریت و هورمون کورتیزول خون مورد آزمایش قرار گرفت. در این خصوص شاخص‌های خون‌شناسی در ماهیان بیهوش شده با ۳۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آویشن، ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بیکربنات سدیم و ۰/۳ میلی‌لیتر در لیتر ۲- فنوکسی اتانول و یک گروه شاهد بدون ماده بیهوشی در دو زمان ۱۰ دقیقه و ۲٤ ساعت پس از بیهوشی بررسی گردید. نتایج به‌دست آمده کاهش در تعداد گلبول قرمز و گلبول سفید و مقدار هموگلوبین و هورمون کورتیزول و افزایش در مقدار هماتوکریت در تیمارهای آویشن و عصاره میخک در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی را نشان داد. همچنین افزایش معنی‌دار در تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید و مقدار هماتوکریت و هورمون کورتیزول خون در تیمار ۱۰ دقیقه و ۲٤ ساعت پس از بیهوشی با بیکربنات سدیم نسبت به شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). اما مقدار هموگلوبین خون در تیمار ۲٤ ساعت پس از بیهوشی با بیکربنات سدیم، عصاره گل میخک، عصاره آویشن و ۲- فنوکسی اتانول کاهش معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۵$). در مورد تیمار ۲- فنوکسی اتانول اگرچه تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و مقدار هماتوکریت در ۱۰ دقیقه افزایش یافت اما در زمان ۲٤ ساعت روند کاهشی مشاهده شد و تفاوت با گروه شاهد معنی‌دار نبود. بنابر این کمترین میزان استرس‌زایی مربوط به عصاره آویشن و عصاره گل میخک بود و در تیمار ۲- فنوکسی اتانول نیز اثرات منفی غیر قابل بازگشت مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: بیهوش‌کننده، کپور معمولی، استرس‌زایی، کورتیزول، شاخص خون‌شناسی

*مسئول مکاتبه: bahr.kazemi@gmail.com

مقدمه

در آبزی پروری مواردی مثل زیست‌سنجی، تعیین جنسیت، تزریق و گرفتن مایعات بدن و در بعضی موارد تخم‌کشی و انواع خاصی از نشانه‌گذاری‌ها نیازمند استفاده از مواد بیهوشی برای آرام بخشی است. در مواردی مثل جراحی و پژوهش‌های فیزیولوژیکی طولانی مدت و همچنین جابجایی‌های با فواصل طولانی استفاده از بیهوشی کامل موردنیاز خواهد بود. اما بر اساس تحقیقات، استفاده از مواد بیهوشی خود می‌تواند عوارضی را برای ماهی به‌همراه داشته باشد که ممکن است برای پرورش‌دهنده و اهداف پرورشی مطلوب نباشد. بنابر این مطالعاتی در مورد استرس زایی ناشی از مواد بیهوشی در ماهیان در اسارت و در حالت جابجایی صورت گرفته و اثرات قلبی تنفسی، فشار خون آئورت پشتی، پاسخ هورمون کورتیزول و برخی آنزیم‌های خونی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند که مؤید استرس‌زایی این مواد است. (روس و روس، ۲۰۰۸).

بی‌حس کننده‌هایی که به‌طور معمول در آبزی پروری استفاده می‌شوند شامل بنزوکائین، ام اس ۲۲۲، کوئینالدین، ۲- فنوکسی اتانول و عصاره گل میخک می‌باشند (لپیک و همکاران، ۲۰۱٤). عمدتا استفاده از این بیهوش کننده‌ها به‌منظور تعیین غلظت مناسب و بررسی اثرات استرس‌زایی آن‌ها انجام شده است. به‌عنوان مثال غلظت بهینه عصاره گل میخک با توجه به شاخص‌های خونی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) ۳۰ میلی‌گرم در لیتر (ولیسک و همکاران، ۲۰۰۵)، قره‌برون (*Asipenser persicus*) ٤۰ میلی‌گرم در لیتر (ایمانپور و همکاران، ۲۰۱۰) و در ماهی حوض (*Carassius gibelio*) ۵۰ میلی‌گرم در لیتر (ایمانپور و فرهی، ۲۰۱۱) گزارش شده است. غلظت بهینه ۲- فنوکسی اتانول در ماهی کپور معمولی ۰/۳ میلی‌لیتر در لیتر (ولیسک و سوبودوا، ۲۰۰٤) گزارش شده است. آلتون و همکاران (۲۰۰۹) در استفاده از بیکربنات سدیم غلظت ۳۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر را به‌عنوان غلظت بهینه در کپور معمولی گزارش کردند. در این مطالعات نتیجه گیری بر اساس سنجش شاخص‌های سلولی خون مانند تعداد گلبول‌های خون و یا شاخص‌های بیوشیمیایی- آنزیمی خون مانند میزان گلوکز و آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز و همین‌طور هورمون کورتیزول صورت گرفته است.

ماهی کپور معمولی یکی از ماهیان تجاری مهم خانواده کپورماهیان محسوب می‌شود (وثوقی و مستجیر، ۲۰۰۲). به‌دلیل حجم بالای تولید این ماهی در داخل کشور و همچنین گستردگی کاربرد بیهوشی به‌ویژه در زمان تکثیر این ماهی، نیاز به داروهای بیهوشی مناسب، قابل دسترس و ارزان احساس می‌شود. با توجه به غنای اکولوژی گیاهی کشور ایران و سابقه استفاده از گیاهان بومی، در این تحقیق اثرات بیهوش کنندگی دو ترکیب سنتتیک بیکربنات سدیم و ۲- فنوکسی اتانول، و دو ترکیب طبیعی عصاره گل میخک و عصاره آویشن و تأثیر آن بر برخی فاکتورهای خونی و هورمون کورتیزول در ماهی کپور معمولی به‌منظور انتخاب بهترین ماده بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش بیهوشی ماهی با استفاده از عصاره گل میخک، عصاره آویشن، ۲- فنوکسی اتانول و بیکربنات سدیم در اسفند ماه سال ۱۳۹٤ در مرکز مطالعات و تحقیقات جهاد دانشگاهی واقع در شهر ساری انجام شد. تعداد ۳۰ عدد ماهی کپور معمولی با وزن ۲٤±۲۷۰ گرم از یکی از مزارع پرورش ماهیان گرمابی واقع در جویبار تهیه و به محل انجام آزمایش منتقل شدند. پس از سازگاری اولیه با شرایط کارگاه، ماهیان به‌طور کاملا تصادفی در پنج مخزن ۱٦۰ لیتری

تقسیم شدند. تمامی شرایط فیزیکوشیمیایی آب مخازن (از جمله دما، میزان اکسیژن، pH و...) در طول دوره آزمایش کنترل و در سطح بهینه نگهداری شد. جدول ۱ نشان‌دهنده شرایط فیزیکوشیمیایی آب مخازن در طول دوره تحقیق می‌باشد.

جدول ۱- شرایط فیزیکوشیمیایی آب مخازن در طول زمان بیهوشی در کپور معمولی

شاخص	میزان
دمای آب (درجه سانتی‌گراد)	۲٤±۱
اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	۷/۵±۰/۵
سختی آب (میلی‌گرم در لیتر)	٤۰۰
pH	۷/٤±۰/۲

برای تهیه محلول بیهوشی ابتدا میزان ماده بیهوش کننده مطابق جدول ۲ به ظرف حاوی آب اضافه شد، سپس محلول ساخته شده کاملا به هم زده و همگن شد (لازم به ذکر است که غلظت انتخاب شده از هر بیهوش کننده بر اساس گزارشات سایر محققین در ارتباط با دوز بهینه آن‌ها در سایر گونه‌های گرم آبی بوده است. در واقع به‌عنوان کار تکمیلی در ادامه تحقیقات آلتون و همکاران (۲۰۰۹)، ایمانپور و همکاران (۲۰۱۰)، ولیسک و سوبودوا (۲۰۰٤) و جهت مقایسه اثرات مواد بیهوش کننده فوق بوده است). عصاره گل میخک و عصاره آویشن از شرکت گیاه اسانس، ۲- فنوکسی اتانول از شرکت آدونیس دارو و بیکربنات سدیم از شرکت صنایع شیمیایی کاوه سودا تهیه شد. برای انجام آزمایشات بیهوشی، تغذیه ماهیان ۲٤ ساعت قبل از شروع آزمایش متوقف شد. پس از بیهوشی نیز تا مدت ۲٤ ساعت ماهی‌ها مورد مشاهده قرار گرفتند تا اطمینان حاصل شود که در طی این مدت اثرات جانبی عامل بیهوش کننده اتفاق نمی‌افتد (استوسکف، ۱۹۹۳). پس از تهیه محلول‌های بیهوشی با غلظت موردنظر (جدول ۲)، از گروه‌های آزمایشی ٦ قطعه ماهی برداشته و در آب حاوی ماده بیهوشی قرار گرفت و در همین هنگام زمان ورود ماهی‌ها به محلول بیهوشی ثبت گردید. ماهی‌ها به شیوه حمام در آکواریوم‌های کوچک بیهوش گردیدند و پس از بیهوشی کامل به مخازن بزرگ‌تر جهت به هوش آمدن، منتقل گردیدند (محمدی آرانی، ۲۰۰٦).

جدول ۲- میزان دوز مصرفی مواد بیهوشی (ولیسک و همکاران، ۲۰۰۷؛ ایمانپور و همکاران، ۲۰۱۰)

مواد بیهوش‌کننده	دوز پیشنهادی (میلی‌گرم در لیتر)	زمان بیهوشی (دقیقه)	زمان بازگشت (دقیقه)
آویشن	۱۰۰	۱۵	۱۰
گل میخک	۳۰	۳	۵
۲- فنوکسی اتانول	۰/۳	۱۰	۱۰
بیکربنات سدیم	۳۰	۳۰	۱۰

خون‌گیری از قسمت ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های پلاستیکی ۲ میلی‌متری و سوزن شماره ۲۱ و در دو مرحله (۱۰ دقیقه پس از به هوش آمدن ماهی‌ها و ۲٤ ساعت پس از به هوش آمدن ماهی‌ها بر اساس روش ولیسک و همکاران، ۲۰۱۱ انجام شد. از هر تیمار سه نمونه خون به‌عنوان سه تکرار گرفته

شد. بخشی از خون برای سنجش هورمون کورتیزول به لوله‌های معمولی (غیر هپارینه) و بخشی دیگر از خون جهت شمارش سلول‌های خونی به لوله‌های هپارینه منتقل شد. از نمونه شاهد نیز که هیچ بیهوش کننده‌ایی را دریافت نکرده بودند خون‌گیری به عمل آمد (ولیسک و همکاران، ۲۰۱۱).

شمارش گلبول قرمز و گلبول سفید با استفاده از روش هماتوسیتومتر نئوبار به‌صورت دستی (هوستون و کرای، ۱۹۹۰)، میزان هماتوکریت خون با استفاده از روش میکروهماتوکریت (رهولکا، ۲۰۰۰)، هموگلوبین خون با استفاده از کیت و دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵٤۰ نانومتر (بلکسهال و دیسلی، ۱۹۷۳) و هورمون کورتیزول با روش Luminescence توسط دستگاه خودکار Siemens Advia centaur C.P مورد سنجش قرار گرفت (رهولکا، ۲۰۰۰).

طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق، طرح کاملا تصادفی بود. در غالب این طرح ٤ ماده بیهوش کننده و یک گروه شاهد به‌عنوان تیمارهای آزمایشی و هر یک در ۳ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داه‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. تفاوت میانگین داده‌ها از طریق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام گرفت. همچنین جهت مقایسه اعداد مربوط به زمان خون‌گیری ۱۰ دقیقه و ۲٤ ساعت پس از بیهوشی از آزمون t جفتی استفاده شد.

نتایج

بر اساس نتایج، تعداد گلبول‌های قرمز در نمونه‌های مربوط به ۱۰ دقیقه بعد از بیهوشی با عصاره آویشن و عصاره گل میخک نسبت به نمونه شاهد که تحت تأثیر هیچ تیماری از مواد بیهوشی قرار نگرفته بود، کاهش معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). اما در بیهوشی با ۲- فنوکسی اتانول وبیکربنات سدیم افزایش معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). در نمونه‌های مربوط به ۲٤ ساعت پس از بیهوشی، تنها در مورد بیهوشی با بیکربنات سدیم افزایش معنی‌دار در تعداد گلبول قرمز نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد و در نمونه‌های بیهوش شده با ۲- فنوکسی اتانول، گل میخک و آویشن کاهش معنی‌دار دیده شد. در مقایسه بین مقادیر گلبول قرمز در دو زمان خون گیری تنها در تیمارهای ۲- فنوکسی اتانول و گل میخک کاهش معنی‌دار در مقادیر مربوط به ۲٤ ساعت پس از بیهوشی نسبت به ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی مشاهده شد (P<۰/۰۵) (جدول ۳).

تعداد گلبول‌های سفید در نمونه‌های مربوط به ۱۰ دقیقه بعد از بیهوشی با عصاره آویشن و عصاره گل میخک نسبت به نمونه شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت ولی در بیهوشی با ۲- فنوکسی اتانول و بیکربنات سدیم افزایش معنی‌داری دیده شد. در نمونه‌های مربوط به ۲٤ ساعت پس از بیهوشی با عصاره آویشن، عصاره گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد دیده نشد (P>۰/۰۵)، اما مقادیر مربوط به تیمار بیکربنات سدیم افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد. همچنین در تیمار گل میخک و آویشن تفاوت معنی‌داری در مقادیر مربوط به ۲٤ ساعت پس از بیهوشی نسبت به ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی، مشاهده نشد (جدول ۳).

در این تحقیق میزان هموگلوبین موجود در خون ماهیان در گروه شاهد ۰/٤۸±۱٤/٦٤ گرم در دسی لیتر بود. کاهش میزان این شاخص در نمونه‌های مربوط به ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی با عصاره آویشن، ۲- فنوکسی اتانول و بیکربنات سدیم معنی‌دار بود، اما میزان آن در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی با عصاره گل میخک تفاوت معنی‌دار نداشت. در نمونه‌های مربوط به ۲٤ ساعت پس از بیهوشی، در هر چهار تیمار کاهش معنی‌دار در مقدار هموگلوبین نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. در مقایسه بین مقادیر هموگلوبین در دو زمان خون‌گیری نیز تنها در تیمار عصاره

آویشن، تفاوت معنی‌دار در مقادیر مربوط به ۲٤ ساعت پس از بیهوشی نسبت به مقادیر مربوط به ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی مشاهده نشد. (جدول ۳).

در مورد میزان هماتوکریت، در نمونه‌های مربوط به ۱۰ دقیقه بعد از بیهوشی با عصاره آویشن، ۲- فنوکسی اتانول و بیکربنات سدیم نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار دیده شد. در مقادیر مربوط به ۲٤ ساعت پس از بیهوشی، میزان هماتوکریت در تیمارهای بیهوش شده با عصاره آویشن، ۲- فنوکسی اتانول و بیکربنات سدیم نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۵$). اگرچه میزان این شاخص در نمونه‌های مربوط به ۲٤ ساعت پس از بیهوشی با گل میخک معنی‌دار نبود. در مقایسه بین مقادیر شاخص هماتوکریت در دو زمان خون‌گیری، در تیمار با سدیم بیکربنات افزایش معنی‌دار در مقادیر مربوط به ۲٤ ساعت نسبت به ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی و در تیمار گل میخک کاهش معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۳).

در این تحقیق میزان هورمون کورتیزول در سرم خون ماهیان در گروه شاهد ٦۷۹/۰۰±۳/٦۰ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. میزان آن در تیمار مربوط به ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی با بیکربنات سدیم تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشت، ولی در نمونه‌های مربوط به ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی با آویشن، گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول، میزان این هورمون نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد. در نمونه‌های مربوط به ۲٤ ساعت پس از بیهوشی تنها در مورد گل میخک تفاوت معنی‌داری در مقدار این هورمون نسبت به نمونه شاهد مشاهده نشد. در نمونه‌های بیهوش شده با ۲- فنوکسی اتانول و آویشن، مقدار هورمون کورتیزول کاهش یافت و تنها در تیمار بیهوش شده با سدیم بیکربنات پس از ۲٤ ساعت افزایش معنی‌داری در میزان هورمون کورتیزول نسبت به گروه شاهد دیده شد. در مقایسه بین مقادیر هورمون کورتیزول در دو زمان خون‌گیری در تیمارهای با سدیم بیکربنات و عصاره گل میخک افزایش معنی‌دار در مقادیر هورمون کورتیزول در تیمار ۲٤ ساعت پس از بیهوشی نسبت به ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳- شاخص‌های خونی و هورمون کورتیزول در ماهیان کپور معمولی تحت بیهوشی با ٤ ماده بیهوشی

تیمار	گلبول قرمز (تعداد در میلی‌متر مکعب)	گلبول سفید (تعداد در میلی‌متر مکعب)	هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	هماتوکریت (درصد)	هورمون کورتیزول (نانوگرم در میلی‌لیتر)
شاهد	۱٥٤۳۳۳۳±۳۲۱٤٥/٥۰^{d}	۱٥۷۱٦/۷±۱۰٤/۰۸^{ab}	۱٤/٦٤±۰/٤۸^{d}	۳۰/۰۰±۲/۰۰^{ab}	٦۷۹/۰۰±۳/٦۰^{d}
آویشن ۱۰	۱۲٥۰۰۰۰±۳۰۰۰۰^{b}	۱٥٦٥۰/۰±۷۳٦/٥٤^{ab}	۱۲/٦۰±۱/۱۸^{c}	۳۸/۳۳±۱/۱٥^{c}	٦۷٥/۰۰±۳/۰۰^{bcd}
آویشن ۲٤	۱۲٥۰۰۰۰±۱۰۰۰۰^{B}	۱٥۲۳۳/۳±۲٥۱/٦٦^{AB}	۱۲/٤۷±۰/٦٦^{C}	۳۸/۰۰±۲/۰۰^{C}	٦۷٦/۰۰±۱/۰۰^{CD}
گل میخک ۱۰	۱٤۳٦٦٦۷±۳۲۱٤٥/٥۰^{c}	۱٤٥۸۳/۳±۲۷٥/۳۸^{a}	۱٥/۲۷±۰/٤۲^{d}	۳۲/۳۳±۱/٥۳^{b}	٦٦٥/۰۰±۲/۰۰^{a}
گل میخک ۲٤	۱۱٦۰۳۳۳±۳٥٥۰۱/۱۷^{*A}	۱٤۷۱۰/۰±۱۱٥/۳۲^{AB}	۸/۳۷±۰/٤۳^{*A}	۲۸/۰۰±۰/۰۰^{*A}	٦۷۸/۰۰±۲/۰۰^{*CD}
۲- فنوکسی اتانول ۱۰	۱٦۹۰۰۰۰±۳٦۰٥٥/٥۱^{e}	۱۷۷٤۰/۰±٥٦۱/۰۷^{c}	۱۲/۹۲±۰/٤٤^{c}	٤۰/٦۷±۱/٥۳^{c}	٦۷۱/۳۳±۱/٥۳^{b}
۲- فنوکسی اتانول ۲٤	۱۲۱۳۳۳۳±۷٦۳۷٦/۲٦^{*AB}	۱٥۸٥۰/۰±۱۳۲/۲۹^{*B}	۱۰/۸٥±۰/۳۲^{*B}	۳۸/٦۷±٤/۰٤^{C}	٦۷٤/۰۰±۱/۰۰^{BC}
بیکربنات سدیم ۱۰	۱۸۰۳۳۳۳±٥۰۳۳۲/۲۳^{f}	۲۷۱۸۳/۳±۱٤۰۷/٤۲^{e}	۱۰/٤٤±۰/۲٦^{f}	٤۱/۰۰±۱/۰۰^{c}	٦۷۷/۰۰±۳/۰۰^{cd}
بیکربنات سدیم ۲٤	۱۸۱٦٦٦۷±۳۰٥٥۰/٥۰^{F}	۲۰۸۳۳/۳±۷٦۳/۷٦^{*D}	۱۲/۰۹±۰/۳۱^{*C}	٤٥/۰۰±۰/۰۰^{*D}	٦۸۳/٦۷±۱/٥۳^{*E}

*اعدادی که با حروف یکسان در هر ستون نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ($P>۰/۰۵$).

*در اعدای که با * مشخص شده‌اند، تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($P<۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تعداد گلبول قرمز در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی با ۲- فنوکسی اتانول و سدیم بیکربنات، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری پیدا کرد. این افزایش در ۲٤ ساعت پس از بیهوشی با سدیم بیکربنات نیز باقی ماند و نشان داد که تغییرات در تعداد گلبول قرمز در این تیمار بازگشت ناپذیر می‌باشد. این در حالی است که تعداد گلبول قرمز در خون ماهیان تیمار شده با ۲- فنوکسی اتانول در ۲٤ ساعت پس از بیهوشی کاهش نشان داد که می‌توان این طور نتیجه گرفت که ماهی در حال برگشت به حالت پایدار خود بوده و در بلندمدت می‌تواند اثرات مخرب این ماده را کاهش دهد. ودمیر و همکاران (۱۹۹۰) بیان نمود که افزایش تعداد گلبول قرمز نشان دهنده افزایش میزان استرس در ماهیان است. موردی که در این تحقیق در تیمار عصاره آویشن و گل میخک دیده نشد. ولیسک و همکاران (۲۰۰۷) بر روی ماهی اسبله (*Silvurus glanis*) نشان دادند که در خون‌گیری ۱۰ دقیقه و ۲٤ ساعت پس از بیهوشی با ۲- فنوکسی اتانول، تغییرات تعداد گلبول قرمز دارای تفاوت معنی‌داری نمی‌باشد. در مطالعه سوداگر و همکاران (۲۰۰۹) بر روی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) و نیز مطالعه فرهی و همکاران (۲۰۱۱) بر روی مولدین نر ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) نیز نتایج مشابهی به‌دست آمد، که بر خلاف نتایج حاصل از این پژوهش می‌باشد.

چن (۲۰۱۲) بیان کرد که افزایش تعداد گلبول‌های سفید پس از بیهوشی احتمالا نشان‌دهنده تغییرات در محیط آبی یا ورود عوامل بیماری زا می‌باشد و ایجاد استرس در ماهیان با افزایش تعداد گلبول سفید همراه است. بر اساس نتایج این تحقیق در دو تیمار ۲- فنوکسی اتانول و بیکربنات سدیم نسبت به گروه شاهد، تعداد گلبول سفید افزایش یافت، اما ۲٤ ساعت پس از بیهوشی تعداد آن در ۲- فنوکسی اتانول رو به کاهش گذاشت. ولیسک و همکاران (۲۰۰۷)، در بیهوشی گربه ماهی با عصاره گل میخک نشان دادند که در ۱۰ دقیقه و ۲٤ ساعت پس از بیهوشی در تعداد گلبول سفید تفاوت معنی‌داری دیده نشد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. مطالعه ایمان‌پور و فرهی (۲۰۱۱) بر روی مولدین نر ماهی سفید تفاوت معنی‌داری را در تعداد گلبول سفید ماهیان بیهوش شده با عصاره گل میخک نشان نداد. همچنین مطالعه فرهی و همکاران (۲۰۱۱)، بر روی مولدین نر ماهی حوض نقره‌ای (*Carassius gibelio*) تغییرات معنی‌داری را در تعداد گلبول سفید نشان نداد که با نتایج حاصل از این مطالعه مشابهت دارد. اما نتایج حاصل از مطالعه سوداگر و همکاران (۲۰۰۹) بر روی ماهی کلمه و نیز مطالعه ایمان پور و همکاران (۲۰۱۰) بر روی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی با عصاره گل میخک افزایش معنی‌داری را در تعداد گلبول سفید نشان داد، اما در ۲٤ پس از بیهوشی نسبت به نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، که بر خلاف نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌باشد. کین و همکاران (۱۹۹۸) بیان نمودند که روند ایجاد بیهوشی با عصاره گل میخک و بازگشت از آن به صورت آرام و بدون هیجان بوده و زمان بازگشت از بیهوشی با آن طولانی می‌باشد.

براساس نتایج روند کاهشی در میزان هموگلوبین در تمام تیمارها به‌جز عصاره میخک و افزایش معنی‌دار در میزان هماتوکریت در تمام تیمارها در مقایسه با شاهد مشاهده شد. ولیسک و همکاران (۲۰۰۷)، در بیهوشی گربه ماهی با عصاره گل میخک نشان دادند که در ۱۰ دقیقه و ۲٤ ساعت پس از بیهوشی در میزان هموگلوبین تفاوت معنی‌داری دیده

نشد که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت ندارد. همچنین نتایج حاصل از مطالعه سوداگر و همکاران (۲۰۰۹) بر روی ماهی کلمه و نیز مطالعه ایمان پور و همکاران (۲۰۱۰) بر روی تاس ماهی ایرانی در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی با عصاره گل میخک کاهش معنی‌داری را در میزان هموگلوبین نشان داد، که بر خلاف نتایج پژوهش حاضر است. از جمله دلایل احتمالی این عدم تطابق می‌توان به تفاوت در نوع گونه مورد آزمایش، نوع و میزان ماده بیهوش کننده، تفاوت در شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب و همچنین مدت زمان استفاده از بیهوش کننده، اشاره نمود. مطالعه فرهی و همکاران (۲۰۱۱)، که در آن از عصاره گل میخک برای بیهوشی مولدین ماهی حوض نقره‌ای استفاده شد، تغییرات معنی‌داری را در مقدار هماتوکریت نشان نداد که با نتایج حاصل از این مطالعه در تیمار عصاره گل میخک تطابق کامل دارد. مطالعه چن (۲۰۱۲) نشان داد که مقادیر گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین و هماتوکریت پس از مواجهه ماهی طلایی (*Carassius auratus auratus*) با داروی بیهوشی لیدوکائین افزایش معنی‌داری می‌یابند که با نتایج حاصل از تیمار سدیم بیکربنات در این پژوهش تشابه دارد. این مسئله نشان می‌دهد که هم لیدوکائین و هم سدیم بیکربنات نمی‌توانند بیهوش کننده‌های مناسبی در صنعت آبزی پروری محسوب شوند.

افزایش کورتیزول منجر به افزایش فعالیت آنزیم ATPase و پرولیفراسیون سلول‌های کلراید می‌گردد (دین و وو، ۲۰۰۵). جایگاه اصلی تأثیر این هورمون آبشش‌ها و بافت پوششی روده است (وندولار بونگا، ۱۹۹۳). در این مطالعه میزان هورمون کورتیزول تنها در تیمار بیکربنات سدیم افزایش یافت. واگنر و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که میزان هورمون کورتیزول در خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تیمار شده با روغن میخک کاهش یافت. مطالعه اسمال (۲۰۰۳) نیز بر روی گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) نشان داد که استفاده از عصاره گل میخک ترشح هورمون کورتیزول را کاهش داد. عموما بیهوشی شامل توقف در تنفس است که انتقال گازهای تنفسی کاهش یافته و منجر به کمبود اکسیژن و اسیدوز تنفسی ناشی از کاهش اکسیژن خون (O_2) و افزایش پیوسته در CO_2 خون می‌شود. در نتیجه عدم تنفس، در غلظت‌های آدرنالین و کورتیزول خون، در ماهی‌های بیهوش شده با ۲- فنوکسی اتانول، بنزوکائین، متومیدات، افزایش مشاهده شد (ایواما و همکاران، ۱۹۸۹؛ مولینرو و گنزالز، ۱۹۹۵).

نتیجه‌گیری کلی

بهترین عملکرد مربوط به عصاره آویشن و عصاره گل میخک بود. در تیمار ۲- فنوکسی اتانول شاخص‌های اندازه‌گیری شده در ۲٤ ساعت پس از بیهوشی نتایج مطلوب تری نشان داد و اثرات غیر قابل بازگشت در این تیمار مشاهده نشد. بیکربنات سدیم نیز به‌دلیل افزایش بدون بازگشت شاخص‌های خونی و مقدار هورمون کورتیزول برای این منظور مناسب نیست.

منابع

1. Altun, T., Bilgin, R., and Danabaş, D. 2009. Effects of sodium bicarbonate on anaesthesia of common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) juveniles. Turkish Journal of Fish and Aquatic Science, 9: 29-31.
2. Blaxhall, P.C., and Daisley, K.W. 1973. Routine hematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology, 5: 771-782.
3. Chen, N.H. 2012. Comparison of clinical hematological changes under anesthetization in Crucian carp (*Carassius auratus auratus*) following treatment with local anesthetics. African Journal of Biotechnology, 11(22): 6149-6142.
4. Deane, E.E., and Woo, N.Y.S. 2005. Evidence for disruption of Na+-K+-ATPase and hsp70 during vibriosis of sea bream, *Sparus* (*Rhabdosargus*) *sarba Forsskål)*. Journal of Fish Disease, 28: 239-251.
5. Farahi, A., Kasiri, M., Sudagar, M., and Soleimani Iraei, M. 2011. Size-relative effectiveness of clove essence as an anesthetic for kutum (*Rutilus frisii kutum*). Global Veterinary Science, 6(2): 180-184.
6. Farahi, A., Kasiri, M., Talebi, A., and Sudagar, M. 2011. Effects of clove extract as an anesthetic on sperm motility traits and some hematological parameters in crucian carp *Carassius gibelio*. Advanced Environmental Biology, 5: 1406-1412.
7. Houston, A.H., and Cry, D. 1990. Thermoacclimatory variation in heamoglobin system of Goldfish and trout. Journal of Experimental biology, 61: 445-461.
8. Imanpoor, M.R., Bagheri, T., and Hedayati, S.S.A. 2010. The anesthetic effects of clove essence in Persian sturgeon, *Acipencer persicus*. World Journal of Fish Marine Science, 2: 29-36.
9. Imanpoor, M.R., and Farahi, A. 2011. The effects of different concentrations of clove extract on semen spermatological parameters and hematological characteristics in migrated kutum (*Rutilus frisii kutum*) to Valiabad river. World Journal of Zoology, 6: 149-153.
10. Iwama, G.K., McGeer, G.C., and Pawluk, M.P. 1989. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, cortisol and adrenaline in rainbow trout. Canadian Journal of Zoology, 67: 2065-2073.
11. Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D., and Soto, C.G. 1998. The efficacy of clove oil as an anesthetic for rainbow trout. Aquaculture and Research, 29: 89-101.
12. Lepic, P., Stara, A., Turek, J., Kozak, P., and Velisek, J. 2014. The effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in vimba bream, *Vimba vimba*. Veterinary Medicine, 59(2): 81-87.
13. Mohammadi Arani, M. 2006. The effect of anesthetization with clove (extract and essence) in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 22(3): 188-192. (In Persian)
14. Molinero, A., and Gonzalez, J. 1995. Comparative effects of MS222 and 2-phenoxyethanol on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) during confinement. Comparative Biochemistry and Physiology, 11(3): 405-414.
15. Rehulka, J. 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 190: 27-47.
16. Ross, L.G., and Ross, B. 2008. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals, Third Edition. 222p.
17. Small, B.C. 2003. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 218: 177-185.
18. Stoskopf, M.K. 1993. Fish medicine. Chapter 6: Anesthesia and restraint. Academic press, USA, 430p.
19. Sudagar, M., Mohammadi zarejabad, A., Mazandarani, M., and Pooralimotlagh, S. 2009. The Efficacy of clove powder

as an anesthetic and its effects on hematological parameters on roach (*Rutilus rutilus*). Journal of Aquatic Feed Science and Nutrition, 1: 1-5.

20. Velisek, J., and Svobodova, Z. 2004b. Anaesthesia of common carp (*Cyprinus carpio* L.) with 2-phenoxyethanol: acute toxicity and effects on biochemical blood profile. Acta Veterinaria Brno., 73: 247-252.
21. Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Groch, L., and Nepejchalova, L. 2005. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). Veterinary Medicine, 50: 269-274.
22. Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., and Novotny, L. 2007. Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis* L.). Veterinary Medicine, 52: 103-110.
23. Velisek, J., Stara, A.L., Silovska, S., and 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.
24. Vosoughi, G.H., and Mostajir, B. 2002. Freshwater fish. Tehran University Press. Iran. 317p. (In Persian)
25. Wagner, E., Arndt, R., and Hilton, B. 2002. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. Aquaculture, 211: 353-366.
26. Wedemeyer, G.A., Barton, B.A., and Mcleay, D.J. 1990. Stress and acclimation. In: Schreck, C.B., Moyle, P.B. (eds). Methods for fish biology. Pp: 451-489.
27. Wendelaar Bonga, S.E. 1993. Endocrinology. In: Evans, D.H. (ed.) Boca Raton. CRC Press. Pp: 469-502.