

بررسی اثرات دو ماده بیهوشی لیدوکائین، سدیم بیکربنات و ماده‌ی بیهوشی گیاهی عصاره گل میخک بر پارامترهای خون و میزان هورمون کورتیزول در مولدین نر ماهی سفید دریای مازندران (*Rutilus frisii kutum*)

لیلا بابایی‌نژاد^{۱*}، معصومه بحر کاظمی^۲، علی اصغر سعیدی^۳، مهدی خان‌زمانی محمدی^۴

چکیده

این مطالعه به منظور مقایسه میزان استرس‌زایی سه داروی بیهوشی عصاره گل میخک، لیدوکائین و سدیم بیکربنات در مولدین نر ماهی سفید دریای مازندران (*Rutilus frisii kutum*) انجام شد. تعداد ۱۲ عدد مولد نر ماهی سفید با دوزهای ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر از عصاره گل میخک، ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر لیدوکائین و ۳۹ میلی‌گرم در لیتر سدیم بیکربنات بیهوش شدند. پارامترهای خونی شامل تعداد گلبول قرمز (R.B.C)، گلبول سفید (W.B.C)، هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (Hct) و میزان هورمون کورتیزول در خون گروه شاهد که هیچ بیهوش‌کننده‌ای را دریافت نکردند و ۳ تیمار دیگر از هریک از مولدین در زمان‌های ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی مورد سنجش قرار گرفت. تفاوت تعداد گلبول سفید فقط در مورد داروی بیهوشی سدیم بیکربنات معنی‌دار بود ($p < 0/05$). میزان هموگلوبین و هماتوکریت با داروی بیهوشی عصاره گل میخک و میزان هورمون کورتیزول در مورد داروی بیهوشی لیدوکائین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد. تعداد گلبول قرمز نسبت به گروه شاهد در ۲۴ ساعت پس از بیهوشی با ۲ داروی بیهوشی عصاره گل میخک و سدیم بیکربنات تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. تعداد گلبول سفید و میزان هموگلوبین خون تنها در مورد سدیم بیکربنات دارای تفاوت معنی‌دار بود، اما میزان هماتوکریت در ۲۴ ساعت پس از بیهوشی نسبت به نمونه شاهد در سدیم بیکربنات و عصاره میخک افزایش معنی‌داری داشت. همچنین میزان هورمون کورتیزول در هر ۳ داروی بیهوشی دارای تفاوت معنی‌داری نبوده است در نتیجه‌گیری کلی داروی بیهوشی عصاره میخک و لیدوکائین در مولدین نر کمترین اثر استرس‌زایی را نسبت به سایر داروهای بیهوشی داشت.

کلید واژه: ماهی سفید دریای خزر، لیدوکائین، عصاره گل میخک، سدیم بیکربنات، بیهوشی

* ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران Lbabaeinejad@gmail.com

۲- گروه شیلات، مرکز تحصیلات تکمیلی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران

۳- بخش بهداشت و بیماریهای آبزیان، پژوهشکده اکولوژی آبزیان دریای خزر، ساری، ایران

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

۱- مقدمه

بی حس کننده‌ها به طور گسترده‌ای در صنعت آبزی پروری مورد استفاده قرار می‌گیرند و باعث به حداقل رساندن استرس ناشی از دست کاری ماهی می‌شوند. استرس می‌تواند تأثیرات منفی بر روی ماهیان به دام افتاده داشته باشد و باعث کاهش ایمنی بدن، استعداد ابتلا به بیماری و کاهش کیفیت تخم و اسپرم شود (Wagner *et al.*, 2002). هر چند استفاده از مواد بیهوش کننده، خود می‌تواند اثرات مخربی را در ماهی به دنبال داشته باشد که با توجه به نوع ماده بیهوشی متفاوت است. با توجه به اینکه خود بی حس کننده‌ها می‌توانند استرس را باشند سؤال‌های تحقیق بر اساس این است که بین بیهوش کننده گیاهی (عصاره گل میخک) و بیهوش کننده شیمیایی (لیدوکائین و سدیم بیکربنات) کدام یک می‌توانند استرس کمتری را وارد کنند.

به عنوان مثال Imanpoor و همکاران در سال ۲۰۱۰ پژوهشی را به منظور بررسی اثر بیهوش-کنندگی عصاره گل میخک بر روی ماهی قره برون (*Acipenser persicus*) از طریق سنجش پارامترهای خون (هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول سفید و گلبول قرمز) انجام دادند و همچنین Imanpoor و Farahi در سال ۲۰۱۱، اثرات بیهوش‌کنندگی عصاره میخک را در غلظت‌های مختلف بر پارامترهای مربوط به اسپرم و پارامترهای خونی در مولدین ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) مورد بررسی قرار دادند. Wagner و همکاران در سال ۲۰۰۲، تحقیقی به منظور بررسی پاسخ فیزیولوژیکی استرس (گلوکز، کورتیزول) در بقا تخم و تحرک اسپرم مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mikyss*) با استفاده از داروهای بیهوشی روغن میخک، تریکائین متان سولفات و دی اکسید کربن انجام دادند.

ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) یکی از مهم‌ترین ماهیان استخوانی اقتصادی دریای خزر است که نسل آن در معرض خطر انقراض قرار دارد و تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان جهت بازسازی ذخایر انجام می‌شود. زمان تولیدمثل به طور طبیعی یک دوره پر استرس در تمام گونه‌های ماهیان می‌باشد و هر دو جنس تحت تغییرات قابل توجه فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و رفتاری قرار می‌گیرند (Hoar, 1969). استرس بر سیستم عصبی ماهیان تأثیر می‌گذارد و طی آن آدرنالین به درون جریان خون آزاد می‌شود که به دنبال آن، هورمون‌های استروئیدی دیگر مانند کورتیزول به درون خون جریان می‌یابند (Mazeud and Mazeud, 1981) و در نتیجه تعداد گلبول‌های قرمز و اکسیژن-گیری افزایش می‌یابد و فرآیند گوارشی به طور موقت ممکن است کاهش پیدا کند (Wedemeyer *et al.*, 1990).

از کورتیزول می‌توان به عنوان یکی از شاخص‌های نشان‌دهنده میزان استرس استفاده کرد (Martinez-Porchas *et al.*, 2009).

۲- مواد و روش‌ها

این تحقیق در فروردین ماه سال ۱۳۹۱ در رودخانه شیروود انجام شد. رودخانه شیروود، در حوضه جنوبی دریای خزر در منتهی‌الیه غرب استان مازندران قرار دارد. مولدین مورد نیاز، در زمان تکثیر مصنوعی و مهاجرت ماهی سفید با همکاری مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید رجایی توسط تورهای محاصره‌ای در دهانه‌ی رودخانه‌ی شیروود صید شدند. نمونه‌ها، با تفکیک جنسیتی به تعداد ۱۲ عدد مولد نر به طور تصادفی از بین ماهیان آماده برای تکثیر با میانگین وزن $(352/5 \pm 56/2 \text{ gr})$ ، طول $(34/88 \pm 5/2 \text{ cm})$ و سن (۲ و ۳ ساله) انتخاب شدند. این ۱۲ مولد برای بیهوشی با ۳ ماده ی عصاره گل میخک، لیدوکائین و بیکربنات سدیم بر اساس برنامه‌ای که در جدول ۱ آمده است بیهوش شدند. همچنین یک گروه شاهد که هیچ بیهوش‌کننده‌ای را دریافت نکرد با ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

جدول ۱- مقادیر داروی بیهوشی استفاده شده

ردیف	داروی بیهوشی	دوز در ۱ لیتر آب	دوز در ۲۰ لیتر آب	مدت زمان القای بیهوشی (دقیقه)	مدت زمان بازگشت بیهوشی (دقیقه)
۱	عصاره گل میخک	۱۰	۲۰۰	۵	۵
۲	لیدوکائین	۱۵	۳۰۰	۲	۵
۳	سدیم بیکربنات	۲	۳۹	۱۵	۱۰

ابتدا در حوضچه‌های مجزا مواد بیهوش‌کننده‌ی موردنظر با دوزهای عنوان شده در جدول (۱) تهیه شد. سپس برای هر ماده‌ی بیهوش‌کننده ۳ مولد به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد و مولدین بعد از القاء بیهوشی و به هوش آمدن برای عمل خونگیری آماده شدند. مرحله‌ی اول خونگیری ۱۰ دقیقه پس از به هوش آمدن از ساقه‌ی دمی با سرنگ ۵ cc به میزان ۳-۲ cc انجام شد و نمونه‌های خونی به دو لوله جداگانه، که حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (۱ قطره به ازای ۱ cc خون) برای اندازه‌گیری مقدار کورتیزول و آنالیز سلول‌های و خونی دیگری بدون ماده‌ی ضد انعقاد منتقل گردیدند. سپس ماهی‌ها برای نمونه‌گیری دوم (۲۴ ساعت پس از به هوش آمدن) به حوضچه‌ها منتقل شد. نمونه‌گیری مرحله دوم مطابق با روش نمونه‌گیری اول، ۲۴ ساعت پس از به هوش آمدن ماهیان انجام شد. پارامترهای خونی مورد سنجش در این تحقیق عبارتند از تعداد گلبول‌های قرمز (R.B.C)، تعداد گلبول‌های سفید (W.B.C)، هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (Hct) و میزان هورمون کورتیزول که به روش‌های زیر اندازه‌گیری شدند.

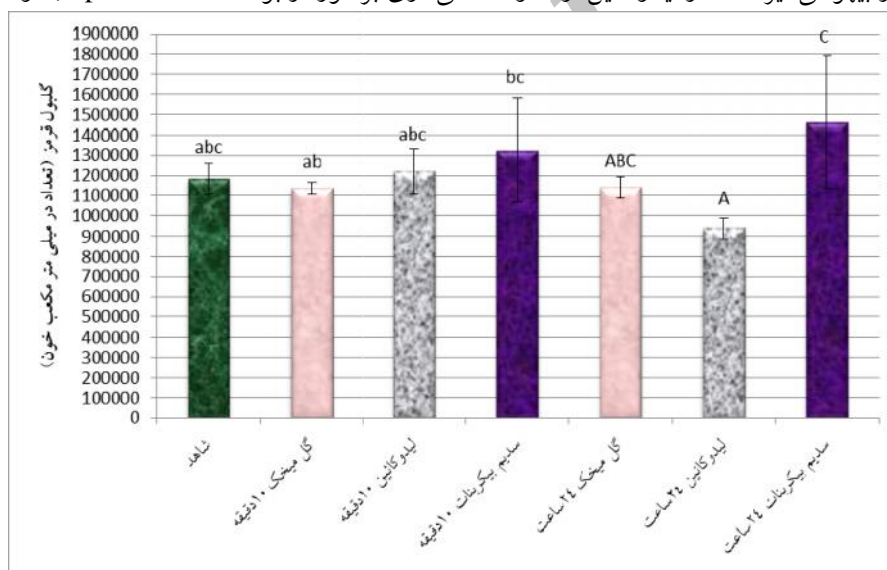
شمارش گلبول قرمز و گلبول سفید به روش دستی و توسط لام نئوبار انجام گرفت. سنجش

هموگلوبین و هماتوکریت توسط دستگاه Cell counter: Sysmex KX-21N انجام گرفت. هورمون کورتیزول به روش Luminescence Chemi توسط دستگاه خودکار Siemens Advia centaur C.P مورد سنجش قرار گرفت.

طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق طرح کاملاً تصادفی بود. در قالب این طرح ۳ ماده بیهوش کننده به عنوان ۳ تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد و هر یک در ۳ مولد نر انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یکطرفه (ANOVA) و جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. همچنین جهت بررسی معنی دار بودن تفاوت داده‌ها در زمان خونگیری ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی از آزمون T جفت شده استفاده شد. این تجزیه و تحلیل توسط نرم‌افزار SPSS در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

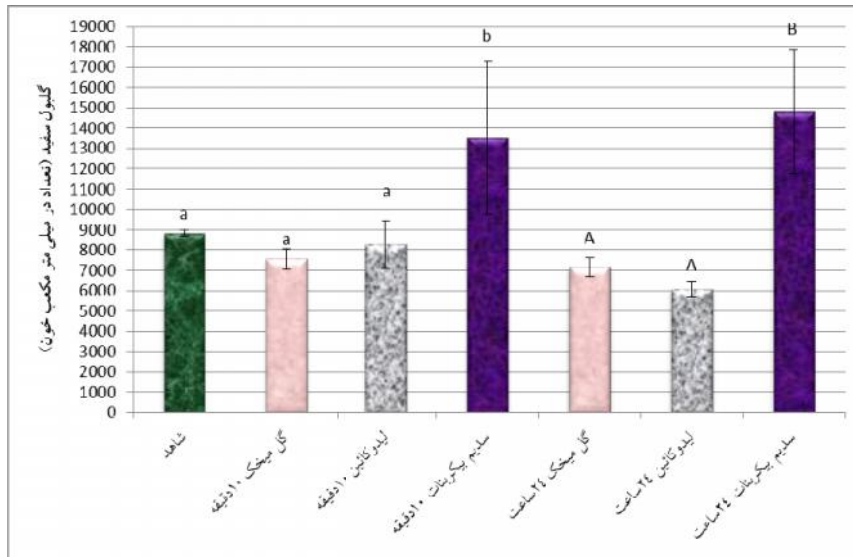
۳- نتایج

براساس نتایج بدست آمده از آزمایش‌های خون‌شناسی، تعداد گلبول‌های قرمز در خون ماهیان تیمار شده با ۳ داروی بیهوشی در ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی تفاوت معنی داری با گروه شاهد نداشتند ($p < 0/05$) (شکل ۱). در مقایسه دو به دوی تعداد گلبول قرمز در ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی نیز فقط در لیدوکائین از تفاوت معنی داری برخوردار بوده است ($p > 0/05$) (جدول ۲).



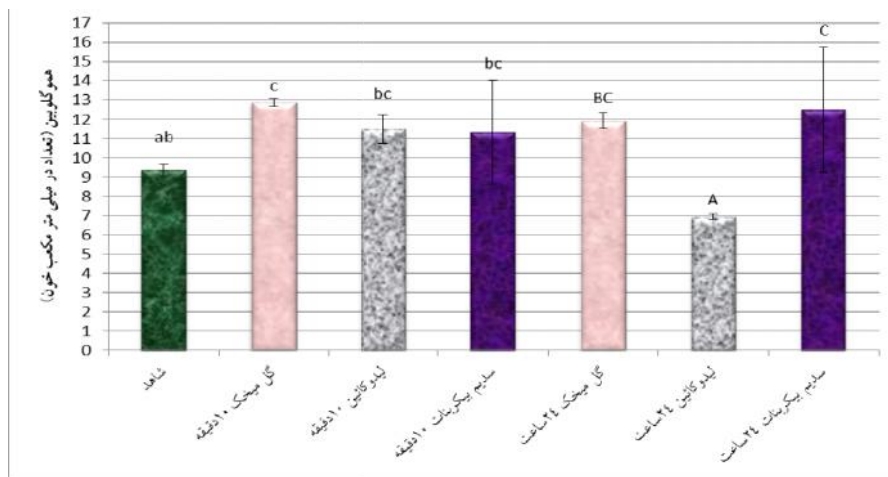
شکل ۱- مقایسه مقادیر گلبول قرمز در خون مولدین نر ماهی سفید مواجه شده با تیمارهای بیهوشی متفاوت

همچنین تفاوت تعداد گلبول‌های سفید در ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی فقط با ماده سدیم بیکربنات نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ($p > 0/05$) (شکل ۲). هر چند تفاوت تعداد گلبول سفید در استفاده از ماده سدیم بیکربنات نیز در ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی نیز معنی‌دار نبود ($p < 0/05$) (جدول ۲).



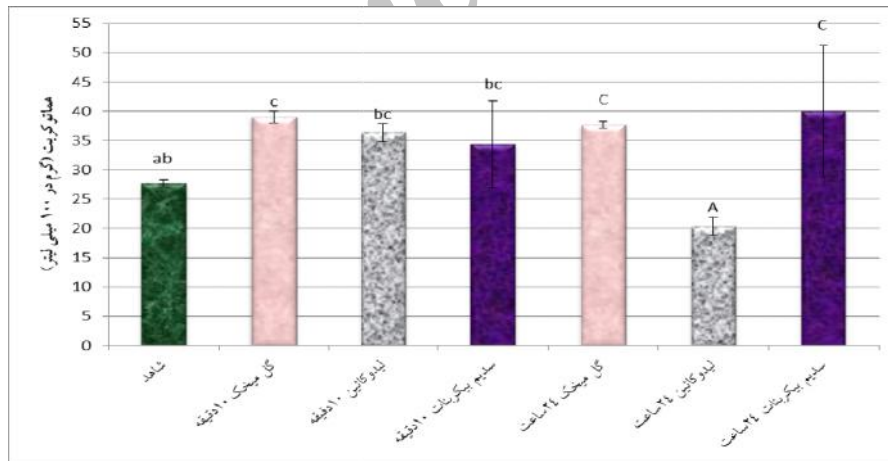
شکل ۲- مقایسه مقادیر گلبول سفید در خون مولد نرماهی سفید مواجه شده با تیمارهای بیهوشی متفاوت

طبق داده‌های آماری و نتایج بدست آمده از آزمایش‌های خون‌شناسی، میزان هموگلوبین در نمونه شاهد و ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی در مورد هر ۳ ماده‌ی بیهوشی افزایش یافت و تفاوت در مورد عصاره میخک معنی‌دار بود ($p < 0/05$) (شکل ۳). در مقایسه میزان هموگلوبین در نمونه شاهد و زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی در دو داروی بیهوشی عصاره گل میخک و سدیم بیکربنات افزایش داشته که تفاوت با سدیم بیکربنات معنی‌دار بود ($p < 0/05$) (شکل ۳). در مقایسه دو به دوی داروهای بیهوشی در دو زمان ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی تنها لیدوکائین تفاوت معنی‌داری داشته است ($p < 0/05$) (جدول ۲).



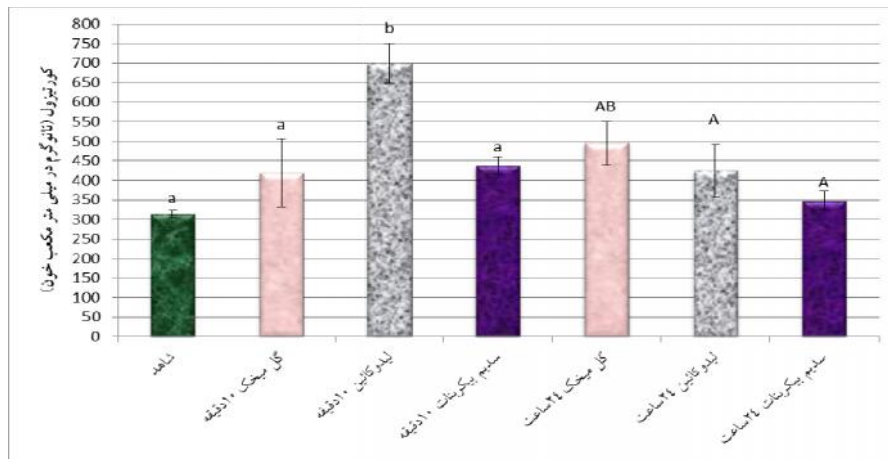
شکل ۳- مقایسه مقادیر هموگلوبین در خون مولد نر ماهی سفید مواجه شده با تیمارهای بیهوشی متفاوت

طبق نتایج بدست آمده میزان هماتوکریت در نمونه شاهد و میزان آن ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی در خون ماهیان تیمار شده با داروهای بیهوشی عصاره گل میخک، سدیم بی‌کربنات و لیدوکائین نسبت به نمونه شاهد افزایش داشته است و تفاوت با عصاره گل میخک معنی دار بود ($p < 0.05$) (شکل ۴). اما میزان هماتوکریت ۲۴ ساعت پس از بیهوشی نسبت به نمونه شاهد در سدیم بی‌کربنات و عصاره گل میخک افزایش معنی داری داشت ($p < 0.05$) (شکل ۴). هرچند که در مورد لیدوکائین کاهش یافت. در مقایسه دو به دوی نمونه‌های تیمار شده با داروهای بیهوشی ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی نسبت به ۲۴ ساعت پس از بیهوشی، فقط عصاره گل میخک تفاوت معنی داری را نشان نداد ($p < 0.05$) (شکل ۳).



شکل ۴- مقایسه مقادیر هماتوکریت در خون مولد نر ماهی سفید مواجه شده با تیمارهای بیهوشی متفاوت

بر اساس نتایج آزمایش‌های خون‌شناسی، میزان هورمون کورتیزول در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی در سدیم بیکربنات و عصاره گل میخک افزایش یافت اما تفاوت معنی‌دار نبود ($p < 0/05$) (شکل ۵). اما در مورد لیدوکائین از افزایش معنی‌داری برخوردار بود ($p < 0/05$) (شکل ۵) و زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی در هر ۳ داروی بیهوشی عصاره گل میخک، سدیم بیکربنات و لیدوکائین مقداری افزایش داشته اما این تفاوت معنی‌دار نبود (نمودار-۵). در مقایسه‌ی دو به دوی میزان هورمون کورتیزول در ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی تنها در مورد لیدوکائین تفاوت معنی‌دار بود ($p < 0/05$) (جدول ۲).



نمودار ۵- مقایسه میزان کورتیزول در خون مولد نر ماهی سفید مواجه شده با تیمارهای بیهوشی متفاوت
جدول ۲- مقایسه دو به دو پارامترهای خونی مولدین نر در ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی

داروهای بیهوشی	شاخص‌های خونی	۱۰ دقیقه پس از بیهوشی	۲۴ ساعت پس از بیهوشی
عصاره گل میخک	گلبول قرمز	۱۱۳۳۳۳۳±۲۸۸۶۷/۵۱	۱۱۴۰۰۰±۵۲۹۱۵/۰۳ ×
	گلبول سفید	۷۵۶۶/۶۷±۵۰۳/۳۲	۷۱۶۶/۶۷±۴۶۱/۸۸
	هموگلوبین	۱۲/۸۷±۰/۲۱	۱۱/۹۳±۰/۳۸
لیدوکائین	هماتوکریت	۳۹/۰۰ ± ۱/۰۰	۳۷/۶۷±۰/۵۸
	کورتیزول	۴۱۸/۶۷±۸۷/۵۵	۴۹۵/۶۷±۵۵/۶۹ ×
	گلبول قرمز	۱۲۰۰۰±۱۱۳۵۵/۲۹	۹۳۶۶۶±۴۹۳۲۸/۸۳
سدیم بیکربنات	گلبول سفید	۸۲۶۶/۶۷± ۱۱۹۳/۰۳	۶۰۶۶/۶۷ ±۴۰۴/۱۴ ×
	هموگلوبین	۱۱/۵۰±۰/۷۵	۶/۹۳ ± ۰/۱۵ ×
	هماتوکریت	۶۳/۳۳±۱/۵۳	۲۰/۳۳±۱/۵۳ ×
گلبول قرمز	کورتیزول	۷۰۰/۰۰±۵۰/۹۱	۲۴۲/۶۷±۶۷/۵۳
	گلبول قرمز	۱۳۲۳۳۳۳±۲۵۶۹۹/۵۲	۱۴۶۳۳۳۳±۳۲۷۱۵۹/۴۹ ×
	گلبول سفید	۱۳۵۳۳/۳۳± ۳۷۸۰/۶۵	۴۸۰۰/۰۰±۳۰۶۴/۳۱

۱/۵۰ ± ۳/۲۴	۱۱/۳۳±۲/۷۱	هموگلوبین
۴۰/۰۰±۱۱/۲۷*	۳۴/۳۳ ± ۷/۳۷	هماتوکریت
۳۴۷/۳۳±۲۴/۵۸*	۴۳۷/۶۷±۲۲/۶۸	کورتیزول

۴- بحث

Wedemeyer در سال ۱۹۹۰ بیان داشت که تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت در ارتباط با گونه، جنسیت، سن ماهیان و عوامل محیطی استرس‌زا (درجه حرارت، عمق آب، شوری و ...) تغییر می‌کند، به طوری که تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان گرم آبی بیشتر از ماهیان سردآبی بوده و نیز افزایش درجه حرارت موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز در خون محیطی می‌گردد و افزایش تعداد گلبول قرمز نشان دهنده‌ی افزایش میزان استرس در ماهیان است.

در تحقیق حاضر برای اولین بار تأثیر سدیم بیکربنات بعنوان یک ماده‌ی بیهوشی بر پارامترهای خونی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج بدست‌آمده از مطالعه حاضر تعداد گلبول قرمز در استفاده از عصاره گل میخک و لیدوکائین نسبت به نمونه شاهد در ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی مقدار کمی کاهش داشته است اما در سدیم بیکربنات در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی مقداری افزایش داشته و در ۲۴ ساعت پس از بیهوشی دارای افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد بوده است و نشان می‌دهد داروی بیهوشی سدیم بیکربنات ۲۴ ساعت پس از بیهوشی هم به حالت اولیه برگشته و دارای اثر غیرقابل بازگشت بر تعداد گلبول قرمز بوده و این در حالیست که ۲ داروی بیهوشی لیدوکائین و عصاره میخک دارای اثر کوتاه مدت بوده و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی به حالت اولیه خود باز گشته‌اند و این نشان می‌دهد داروی بیهوشی سدیم بیکربنات دارای اثر استرس‌زایی بیشتر است. Wedemeyer در سال ۱۹۹۰ بیان داشته است افزایش تعداد گلبول قرمز نشان دهنده‌ی افزایش میزان استرس در ماهیان است. نتایج تحقیقات Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۷ (Velisek et al., 2007) بر روی نوعی گربه ماهی *Silvurus glanis* نشان داد که در خونگیری ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی در کپور تغییرات تعداد گلبول قرمز دارای تفاوت معنی‌داری نبوده است و با نتایج تحقیقات ما در ماهیان مولد نر مشابه است (لازم به ذکر است در بسیاری از تحقیقات تفکیک جنسیت صورت نگرفته است). اما در مطالعات Soudagar و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی ماهی کلمه *Rutilus rutilus* و همچنین مطالعات Farahi و همکاران در سال ۲۰۱۰ بر روی ماهیان مولدین نر ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و با مطالعه حاضر در مولد نر مشابه است. تحقیقات محققان گروه تغذیه دانشگاه چانگ هوا بر روی اثر داروی بیهوشی لیدوکائین در کپور طلائی *Carassius auratus auratus* نشان داد تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین و هماتوکریت پس از مواجهه ماهی با داروی بیهوش لیدوکائین افزایش معنی‌داری داشته

است که با نتایج مطالعه حاضر بر روی مولد نر متفاوت است.

گروه تغذیه دانشگاه Chang Huwa در سال ۲۰۱۲ در مطالعاتی بر روی ماهی کپور طلاایی افزایش میزان گلبول سفید پس از بیهوشی را نشان دهنده ی تغییرات در محیط آبی یا ورود عوامل بیماری زا بیان کردند. در تحقیق Bridges و همکاران در سال ۱۹۷۶ بر روی ماهی فلاندر زمستانی^۱ *Pseudopleuronectes americanus* مشخص شد که اندازه گیری تغییراتی که در تعداد کل گلبول های سفید و انواع مختلف آن ایجاد می شود، غالباً به درک بهتری از حالات فیزیولوژیک یا آسیب شناسی ماهی می انجامد. احتمالاً در ماهیان بیمار گلبول های سفید بیشتری برای تولید پادتن ها، بیگانه خواری باکتری ها و مانند آن ساخته می شود. غالباً انواع متعددی از گلبول های سفید در خون ماهی یافت می شود و نقش های مختلف برای حضور آنها عنوان می کنند.

از نظر تأثیر ۳ داروی بیهوشی بر تعداد گلبول سفید در ماهی سفید تنها داروی بیهوشی سدیم بیکربنات اثر غیر قابل برگشتی داشته و دو داروی بیهوشی دیگر نسبت به نمونه شاهد تفاوتی نداشتند و دارای نتیجه ی مطلوبی بودند. طبق مطالعه حاضر ماده بیهوشی گل میخک در ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی ماهی نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری در تعداد گلبول سفید نشان داد. این در حالیست که نتایج تحقیقات Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی گربه ماهی در خونگیری ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی دارای تفاوت معنی داری نبوده است و با نتایج تحقیقات ما در ماهی مولد نر مشابه است. اما مطالعات Soudagar و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی ماهی کلمه *Rutilus rutilus* و همچنین تحقیقات Imanpoor و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus* ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی افزایش معنی داری را در تعداد گلبول سفید نشان داد اما در ۲۴ ساعت پس از بیهوشی نسبت به نمونه شاهد تفاوت معنی داری را نشان نداد. این نتایج متفاوت با نتایج مطالعات ما بر روی ماهی مولد نر بود. مطالعات Farahi و Imanpoor در سال ۲۰۱۱ بر روی مولد نر ماهی سفید تفاوت معنی داری را در تعداد گلبول سفید نشان نداد و با مطالعات حاضر در مولد نر مشابه است و همچنین مطالعات Farahi و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مولد نر ماهی حوض نقره ای *Carassius gibelio* تغییرات معنی داری را در تعداد گلبول سفید نشان نداد.

در تحقیق حاضر میزان هموگلوبین در استفاده از عصاره گل میخک در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری مشاهده شد و دارای اثر کوتاه مدت بوده و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی تفاوت معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان نداده است بطوریکه سدیم بیکربنات دارای اثر طولانی مدت بوده و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی تفاوت معنی داری را نشان داده است. این در

حالیست که نتایج تحقیقات Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی گربه ماهی در خونگیری ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی دارای تفاوت معنی داری نبوده است و با نتایج تحقیقات ما در مولد نر مشابه است. اما مطالعات Soudagar و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) و همچنین تحقیقات Imanpoor و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) کاهش معنی داری را در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی نشان داد ($P < 0/05$) و این در حالیست که ۲۴ ساعت پس از بیهوشی میزان هموگلوبین نسبت به نمونه شاهد دارای تفاوت معنی داری را نشان نداد. این نتایج مشابه نتایج مطالعات متفاوت در مولد نر است. مطالعات Imanpoor و Farahi در سال ۲۰۱۱ بر روی مولد نر ماهی سفید تفاوت معنی داری را نشان نداد و با مطالعات حاضر در مولد نر مشابه است و همچنین مطالعات Farahi و همکاران در سال ۲۰۱۱ مولد نر ماهی حوض نقره‌ای (*Carassius gibelio*) تغییرات معنی داری را در تعداد هموگلوبین نشان نداد. بر اساس نتایج بدست آمده عصاره میخک ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی دارای تفاوت معنی داری بوده و اثرات نامطلوب خود را حفظ کرده ولی سدیم بیکربنات اثر خود در ۲۴ ساعت پس از بیهوشی نشان داده و دارای تفاوت معنی داری نسبت به نمونه شاهد بوده در نتیجه سدیم بیکربنات اثر خوبی بر میزان هماتوکریت ندارد. نتایج تحقیقات Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی گربه ماهی در خونگیری ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی دارای تفاوت معنی داری نبوده است و با نتایج تحقیقات ما در مولد نر متفاوت است. اما مطالعات سوداگر و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) و همچنین تحقیقات Imanpoor و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی کاهش معنی داری را نشان داد ($P < 0/05$) این نتایج مشابه نتایج مطالعات ما بر روی مولد نر است، اما ۷۲ ساعت پس از بیهوشی در مقایسه با نمونه شاهد دارای تفاوت معنی داری نبود و این نتایج متفاوت در مولد نر است. مطالعات Imanpoor و Farahi در سال ۲۰۱۱ بر روی مولد نر ماهی سفید تفاوت معنی داری را نشان نداد و با مطالعات حاضر در مولد نر مشابه است و همچنین مطالعات Farahi و همکاران در سال ۲۰۱۱ مولد نر ماهی حوض نقره‌ای (*Carassius gibelio*) تغییرات معنی داری را در تعداد هماتوکریت نشان نداد.

بنابر مطالعات Donaldson در سال ۱۹۸۱ کورتیزول در نتیجه بروز استرس‌هایی مانند دستکاری، تغییرات دما، تحرک و غیره از بافت اینتررینال در خون ترشح شده و به عنوان هورمون استرس نیز شناخته می شود. افزایش کورتیزول منجر به افزایش فعالیت آنزیم ATPase و پرولیفراسیون سلولهای کلراید می گردد (Deane and Woo, 2005). جایگاه اصلی تأثیر این هورمون آبشش‌ها و بافت پوششی روده است (Wendelaar Bonga, 1993). مطالعات Wagner و همکاران در سال ۲۰۰۲

نشان داد میزان هورمون کورتیزول با استفاده از روغن میخک در قزل آلابی رنگین کمان کاهش یافته است و این نشان دهنده ی کاهش استرس است. مطالعات Small در سال ۲۰۰۳ بر روی گربه ماهی روگامهی (*Ictalurus punctatus*) نشان داده عصاره گل میخک ترشح هورمون کورتیزول را کاهش می دهد. میزان این هورمون در مطالعه حاضر ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی در عصاره میخک افزایش معنی دار داشته و در ۲۴ ساعت بعد مقداری کاهش داشته است ولی در مولد نر در هر دو زمان افزایش داشته است.

در نتیجه گیری کلی، بر اساس نتایج بدست آمده تحقیق حاضر و بررسی پارامترهای خونی و میزان هورمون کورتیزول در مولدین نر ماهی سفید دریای مازندران با ماده بیهوشی لیدوکائین در مولدین نر ماهی سفید از نظر میزان استرس زایی کمتر نتایج بهتری را حاصل کردند که میتوان آنها را به بخش دولتی در معرض این گونه در خطر انقراض توصیه کرد.

منابع

1. **Bridges, D. W., Cech, J. J. & Pedro, D. N. 1976.** Seasonal Hematological Changes in Winter Flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 105, 596-600.
2. **Deane, E. E. & Woo, N. Y. S. 2005.** Evidence for disruption of Na⁺-K⁺-ATPase and hsp70 during vibriosis of sea bream, *Sparus (Rhabdosargus) sarba Forsskal*). *Journal of Fish Diseases*, 28, 239-251.
2. **Donaldson, E. M. 1981.** The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. *Stress and Fish* (ed. A. D. Pickering). New York.
3. **Farahi, A., Kasiri, M., Talebi, A. & Sudagar, M. 2011.** Effects of Clove Extract as an Anesthetic on Sperm Motility Traits and Some Hematological Parameters in Prussian Carp *Carassius gibelio*. *Advances in Environmental Biology*, 5, 1406-1412.
4. **Hoar, W. S. 1969.** 1 Reproduction. In: HOAR, W. S. & RANDALL, D. J. (eds.) *Fish Physiology*. Academic Press.
5. **Imanpoor, M. R., Bagheri, T. & Hedayati, S. S. A. 2010.** The Anesthetic Effects of Clove Essence in Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*. *World J. Fish and Marine Sci*, 2, 29-36.
6. **Imanpoor, M. R. & Farahi, A. 2011.** The Effects of Different Concentrations of Clove Extract on Semen Spermatological Parameters and Hematological Characteristics in Migrated Kutum *Rutilus risii kutum* to Valiabad River. *World Journal of Zoology*, 6, 149-153.

7. **Martinez-Porchas, M., Martinez-Cordova, L. R. & Enriquez, R. 2009.** Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 4, 158-178.
8. **Mazeaud, M. M. & Mazeaud, F. 1981.** Adrenergic responses to stress in fish. *Stress and Fish (ed. A. D. Pickering)*, 49-75.
9. **Nutrition, D. O. F. 2012.** Comparison of clinical hematological changes underanesthetization in Crucian carp (*Carassius auratus auratus*) following treatment with local anesthetics. *In: TECHNOLOGY, C. H. U. O. M. (ed.) African Journal of Biotechnology*. Tainan717, Taiwan.
10. **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
11. **Sudagara, M., Mohammadizarejabada, A., Mazandarania, M. & Pooralimotlagha, S. 2009.** The Efficacy of Clove Powder as an Anesthetic and its Effects on Hematological Parameters on Roach (*Rutilus rutilus*). *Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition*, 1, 1-5.
12. **Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z. & Novotny, L. 2007.** Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis L.*). *Veterinarni Medicina*, 52, 103-110
13. **Wagner, E., Arndt, R. & 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.
14. **Wedemeyer, G. A., Barton, B. A. & Mcleay, D. J. 1990.** Stress and acclimation. In: Schreck, C. B. & Moyle, P. B. (eds). *Methods for fish biology*, 451-489.
15. **Wendelaar Bonga, S. E. 1993.** *Endocrinology*. In: *Evans, D.H. (ed.) Boca Raton, CRC Press.*