

بررسی اثرات چهار ماده بیهوشی عصاره گل میخک، آویشن، لیدوکائین و سدیم بیکربنات بر پارامترهای خون و میزان هورمون کورتیزول در ماهیان کپور نقره‌ای

(*Hypophthalmichthys molitrix*)

معصومه عفتی عباسعلی کشی^۱، معصومه بحر کاظمی^۲، علی اصغر سعیدی^۲

چکیده

در این تحقیق تأثیر چهار ماده بیهوشی عصاره گل میخک، آویشن، لیدوکائین و سدیم بیکربنات بر پارامترهای خون و میزان هورمون کورتیزول در ماهیان کپور نقره‌ای *Hypophthalmichthys molitrix* مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۹۶ قطعه ماهی کپور نقره‌ای با میانگین وزنی ۲۰۰ گرم و طول ۱۸ سانتی‌متر برای بیهوشی با ۴ ماده عصاره گل میخک، آویشن، لیدوکائین و سدیم بیکربنات و همچنین یک گروه شاهد که هیچ بیهوش-کننده‌ای را دریافت نکرد در نظر گرفته شدند. عملیات خونگیری برای هر ۴ ماده بیهوشی با دوزهای عنوانشده به همراه اندازه‌گیری میزان اکسیژن، pH و درجه حرارت آب در طول آزمایش انجام شد. پارامترهای خونی در این تحقیق تعداد گلبول‌های قرمز(R.B.C)، تعداد گلبول‌های سفید(W.B.C)، هموگلوبین(Hb)، هماتوکریت(HCT) و میزان هورمون کورتیزول بودند که اندازه‌گیری شدند. در این تحقیق در استفاده از داروهای بیهوشی بر روی کپور ماهیان نقره‌ای، تعداد گلبول‌های قرمز در ارتباط با داروی بیهوشی سدیم بیکربنات، در زمان‌های ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی تفاوت معنی‌داری نداشته است. این نشان می‌دهد داروی بیهوشی لیدوکائین در این ماهی در زمان‌های ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی در بازدارندگی از استرس (به عنوان ماده ضد استرس) بهتر از سه ماده بیهوش-کننده دیگر بود.

کلید واژه: بیهوش-کننده، فاکتورهای خونی، ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)

-۱- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران m_efati65@yahoo.com

-۲- گروه شیلات، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

۱- مقدمه

امروزه در صنعت آبزی پروری بسیاری از کشورها توجه خاصی به تکنیک‌های بیهوشی به منظور کاهش استرس‌ها و همچنین حصول گوشت با کیفیت بالاتر می‌گردد (عسکریان و کوشان، ۲۰۰۶). استفاده از داروهای بیهوشی و بی‌حسی در پزشکی، دامپزشکی و سایر رشته‌های علوم زیستی دارای کاربردهای وسیع و متعددی است. استفاده از روش‌های مناسب بیهوشی ماهیان می‌تواند تأثیر مثبت معنی‌داری بر کیفیت گوشت حاصله بگذارد (اینگولف دوتیر، ۲۰۰۴). سال هاست که از بیهوش کننده هایی مانند زوله تیل ان دی^۱، متومیدات^۲، میداترن ان دی^۳، تری کائین مтан سولفونات MS222^۴، بنزوکائین، فنوکسی اتانول، کینالدین، هیدرات کلرال و اخیراً عصاره طبیعی برخی گیاهان مانند اسانس گل میخک استفاده می‌گردد (سوتو و برهانودین، ۱۹۹۴). امروزه ماده بیهوش کننده MS222 در صنعت آبزی پروری ایران مصرف وسیعی دارد که به علت وارداتی و گران قیمت بودن آن همواره مشکلاتی را به همراه داشته است. از طرفی مدتی است که اسانس گل میخک به دلیل سهولت تهیه، اقتصادی بودن و داشتن کارایی بالا و نداشتن آثار سوء برای انسان و ماهی و همچنین داشتن خاصیت بیهوش کننگی قوی به عنوان جایگزینی مناسب برای MS222 مورد توجه واقع شده است (سلطانی و همکاران، ۲۰۰۸). از جمله این داروهای بیهوشی می‌توان به گل میخک و فنوکسی اتانول که در انسان و دام کاربرد دارند، اشاره نمود. گل میخک به عنوان یک جایگزین مناسب در ایران بیشترین کاربرد را دارد (Sattari et al., 2009) مشخص شده است که اوژنول و مشتقات آن بسرعت از خون و بافت‌های انسان خارج می‌گردند و موجب ایجاد سرطان نمی‌شوند (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۸۱). درخصوص مکانیزم اثر بیهوشی اسانس گل میخک اطلاعات دقیقی در دست نمی‌باشد اما احتمال داده می‌شود که این ماده دارای اثراتی مشابه استامینوفن بر سیستم اعصاب مرکزی بوده و بدون مهارکردن محورهای تالاموس-هیپوفیز - بافت بینابینی کلیه موجب ایجاد بیهوشی در ماهی می‌شود (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۲). با توجه به گسترده‌گی و کاربرد بیهوشی در ماهیان و مراکز تحقیقی و پرورشی آبزیان و مشکلات داروهای مصرفی متداول، نیاز به داروهای بیهوشی مناسب، قابل دسترس و ارزان، ضروری به نظر می‌رسد.

۲- مواد و روش‌ها

این تحقیق در بهار ۹۳ در مزرعه ۲۰ هکتاری پرورش ماهیان گرمایی شهید عفتی در ۴ کیلومتری

- 1 . Zoletil N D
- 2 . Metomidate
- 3 . Midatrene N D

حوضه‌ی جنوبی دریای خزر و در ۲۳ کیلومتری شمال غرب شهرستان ساری انجام شد. عدد ۹۶ قطعه ماهی کپور نقره‌ای و علفخوار با میانگین وزنی ۲۰۰ گرم و طول ۱۸ سانتی متر برای بیهوشی با ۴ ماده عصاره گل میخک، آویشن، لیدوکائین و سدیم بیکرینات براساس برنامه‌ای که در جدول ۲-۳ آمده است و همچنین یک گروه شاهد که هیچ بیهوش کننده‌ای را دریافت نکرد در نظر گرفته شدند، ماهیان تا زمان نمونه برداری در حوضچه‌ای با امکان هوادهی نگهداری شدند.

جدول ۱ - مشخصات کیفی آب کارگاه در مدت انجام آزمایش

ردیف	فاکتور کیفی	مقدار	محدوده مناسب
۱	درجه حرارت (درجه سانتی گراد)	۲۱-۲۳	۱۷-۲۵
۲	pH	۷/۷-۸/۵	۶/۵-۸
۳	آمونیاک (میلی گرم/لیتر)	۰/۶	۰-۰/۰۲
۴	نیتریت (میلی گرم/لیتر)	۰	۰-۰/۱
۵	سختی کل (میلی گرم/لیتر)	۲۸۵	۱۰-۴۰۰
۶	اکسیژن (میلی گرم/لیتر)	۸	۵-۱۰

جدول ۲- مقادیر داروی بیهوشی استفاده شده

ردیف	داروی بیهوشی	دوز بیهوشی	مدت زمان القای بیهوشی	مدت زمان بازگشت از بیهوشی
۱	لیدوکائین	۳۵۰ میلی گرم بر لیتر	۱ دقیقه	۵ دقیقه
۲	سدیم بیکرینات	۴۶۲ میلی گرم بر لیتر	۱۵ دقیقه	۱۰ دقیقه
۳	عصاره گل میخک	۴۰۰ میلی گرم بر لیتر	۵ دقیقه	۵ دقیقه
۴	اسانس آویشن	۱۰۰-۱۵۰ میلی گرم بر لیتر	۶ دقیقه	۶ دقیقه

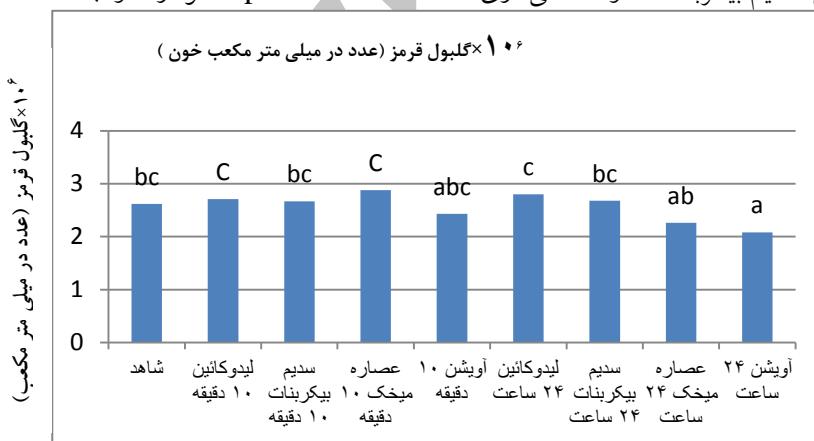
ابتدا در تست‌های مجزا که حاوی ۱۰ لیتر آب بوده‌اند مواد بیهوشی کننده‌ی مورد نظر با دوزهای عنوان شده تهیه شد و ماهیان موجود در تانک را به داخل تست منتقل نموده و سپس کرونومتر را فعال نموده و منتظر وقوع علائم اولیه‌ی بیهوشی شدیم. پس از وقوع بیهوشی کامل، ماهیان را به تست‌های بزرگتر جهت بازگشت منتقل نمودیم که از طریق هوادهی و تعویض آب، ماهیان به هوش آمدند. مدت زمان بازگشت نیز ثبت شد. سپس ماهیان برای عمل خونگیری آماده شدند. مرحله‌ی اول خونگیری ۱۰ دقیقه پس از به هوش آمدن از وریددمی با سرنگ CC ۲/۵ به میزان ۲/۵CC انجام شد. (که ۰/۵CC برای کورتیزول و ۲CC برای فاکتورهای هماتولوژی استفاده شدند). سپس نمونه‌های خونی به دولوله جداگانه یکی با حجم CC ۱/۵ که حاوی ماده ضد انعقاد EDTA برای آنالیز سلول‌های خونی و دیگری بدون ماده‌ی ضدانعقاد برای تهیه سرم خون و اندازه‌گیری مقدار کورتیزول بود منتقل گردیدند. نمونه‌گیری مرحله‌ی دوم مطابق با روش نمونه‌گیری اول، ۲۴ ساعت پس از به هوش-

آمدن ماهیان انجام شد و همچنین نمونه گیری از گروه شاهد که هیچ بیهوش کننده‌ای را دریافت نکردند نیز انجام شد و نمونه‌ها در کنار یخ سریعاً به آزمایشگاه منتقل شدند و همان روز فاکتورهای خونی مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. عملیات خونگیری برای هر ۴ ماده بیهوشی با دوزهای عنوان شده به همراه اندازه‌گیری میزان اکسیژن، pH و درجه حرارت آب در طول آزمایش انجام شد.

پارمترهای خونی نیز در این نحقیق تعداد گلbulوی های قرمز (R.B.C)، تعداد گلbulوی های سفید (W.B.C)، هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (HCT) و میزان هورمون کورتیزول بودند که اندازه‌گیری شدند. طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق طرح کاملاً تصادفی بود. در قالب این طرح ۴ ماده بیهوش کننده به عنوان ۴ تیمار آزمایشی و یک گروه شاهد و هریک در ۴ تکرار در نظر گرفته شدند. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یکطرفه^۱ (ANOVA) و جهت مقایسه داده‌ها نیز آزمون دانکن^۲ استفاده شد. این تجزیه تحلیل توسط نرم افزار spss در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

۳- نتایج

در مقایسه تعداد گلbulوی های قرمز خون در گروه شاهد و زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی، با سه داروی بیهوشی لیدوکائین، عصاره گل میخک و آویشن تفاوت معنی دار بود ($p < 0.05$). اما با داروی بیهوشی سدیم بیکربنات تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$) (نمودار ۱ و جدول ۳).

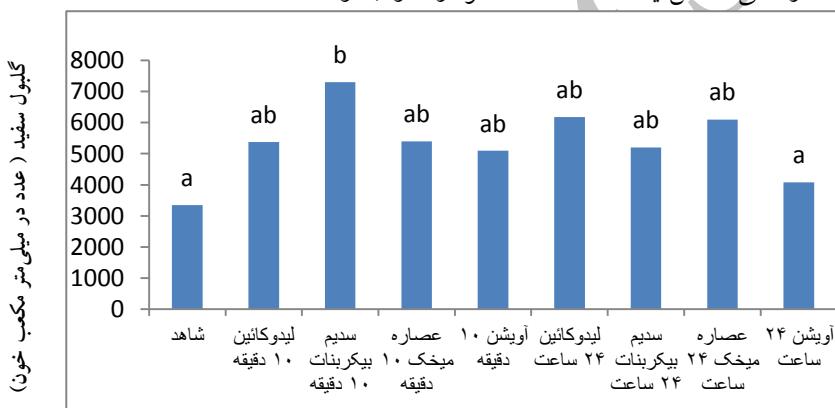


نمودار ۱- مقایسه مقادیر گلbulوی قرمز در خون ماهی آمور مواجه شده با تیمارهای بیهوشی متفاوت

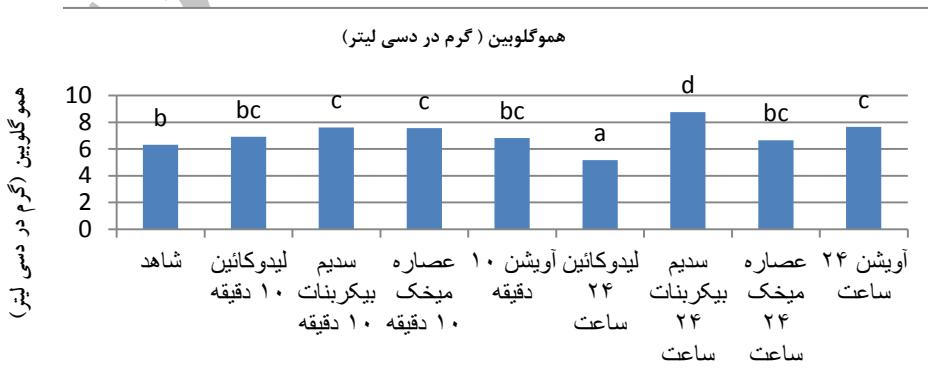
1 .One-Way ANOVA

2 . Duncan

در مقایسه تعداد گلوبول های سفید در گروه شاهد و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی، با سه داروی بیهوشی لیدوکائین، سدیم بی کربنات، عصاره گل میخک و آویشن روند افزایشی و تفاوت معنی دار بود ($P<0.05$) (نمودار ۲ و جدول ۳). در مقایسه تعداد گلوبول های سفید در گروه شاهد و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی، با سه داروی بیهوشی لیدوکائین، سدیم بی کربنات، عصاره گل میخک و آویشن روند افزایشی و تفاوت معنی دار بود ($P<0.05$). عصاره گل میخک و آویشن روند افزایشی و تفاوت معنی دار بود ($P<0.05$). عصاره گل میخک و آویشن روند افزایشی و تفاوت معنی دار بود ($P<0.05$). عصاره گل میخک و آویشن روند افزایشی و تفاوت معنی دار بود ($P<0.05$). عصاره گل میخک و آویشن روند افزایشی و تفاوت معنی دار بود ($P<0.05$). در لیدوکائین مقدار کمی کاهش یافت (نمودار ۳ و جدول ۳).

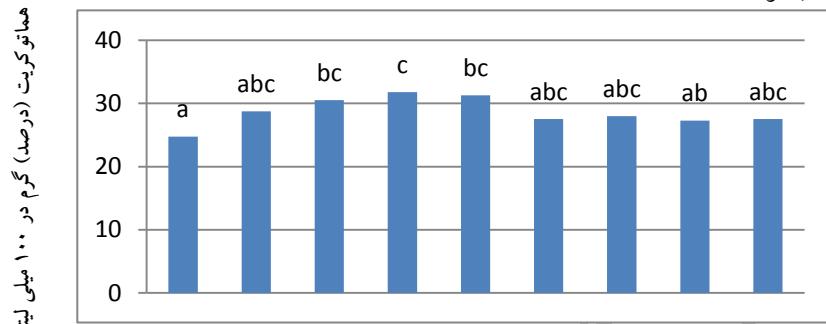


نمودار ۲ - مقایسه مقادیر گلوبول سفید در خون ماهی آمور مواجه شده با تیمارهای بیهوشی متفاوت

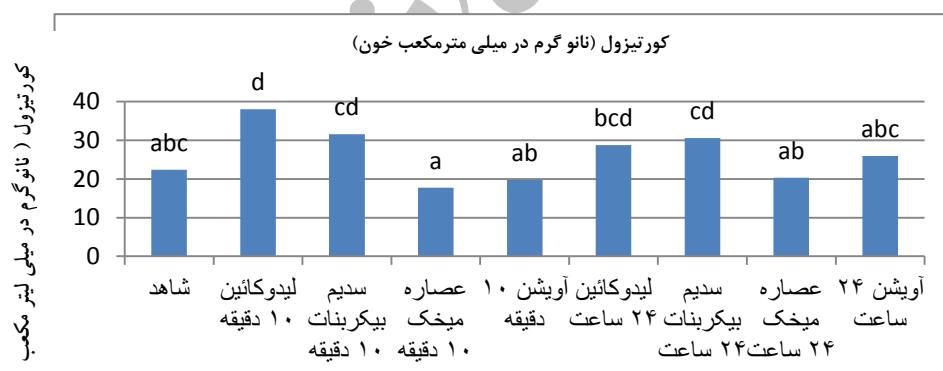


نمودار ۳ - مقایسه مقادیر هموگلوبین در خون ماهی آمور مواجه شده با تیمارهای بیهوشی متفاوت

در مقایسه نمونه های تیمار شده با داروهای بیهوشی ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی نسبت به ۲۴ ساعت پس از بیهوشی، در هر چهار داروی بیهوشی روند کاهشی داشته و تفاوت معنی داری مشاهده شد($P < 0.05$) جدول (۳).

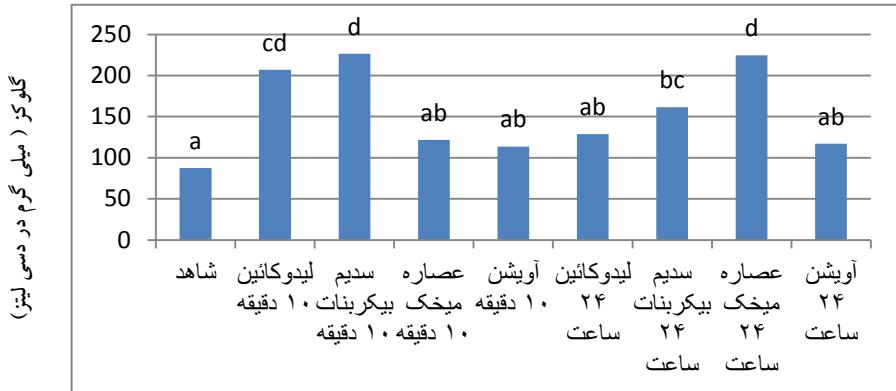


میزان هورمون کورتیزول در مقایسه نمونه شاهد با زمان ۲۴ پس از بیهوشی در دو داروی بیهوشی لیدوکائین ، سدیم بیکر بنات و افزایش معنی داری داشته اما با آویشن تفاوت معنی دار نبود و در عصاره گل میخک مقداری کاهش یافت($p < 0.05$) (نمودار ۵ و جدول ۳).



نمودار ۵ - مقایسه مقادیر کورتیزول در خون ماهی آمور مواجه شده با تیمار های بیهوشی متفاوت در مقایسه میزان گلوکز خون

در مقایسه نمونه های تیمار شده با داروهای بیهوشی ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی نسبت به ۲۴ ساعت پس از بیهوشی، در دو داروی بیهوشی لیدوکائین و سدیم کربنات کاهش معنی داری داشته است. اما در دو داروی بیهوشی عصاره گل میخک و آویشن افزایش معنی داری مشاهده شد($P < 0.05$) (جدول ۳).



نمودار ۶ - مقایسه مقادیر گلوبن در خون ماهی آمور مواجه شده با تیمار های بیهوشی متفاوت

جدول ۳- مقایسه معنی داری تفاوت در مقادیر پارامترهای مورد بررسی بین تیمارها و شاهد در ماهی آمور

پارامتر	Shahed	بلدرکابن	سلیم بیکربنات	عصاره گل میخک	آریشن
(+دقیقه)	(+دقیقه)	(+دقیقه)	(+دقیقه)	(+دقیقه)	(+دقیقه)
(ساعت)	(ساعت)	(ساعت)	(ساعت)	(ساعت)	(ساعت)
گلول فرمز R.B.C	۲/۶۲±۰/۱۹ ^b	۲/۶۲±۰/۱۹ ^b	۲/۶۲±۰/۱۸ ^c	۲/۶۲±۰/۱۸ ^c	۲/۶۲±۰/۱۸ ^b
کلیول سبد W.B.C	۳۲۵±۰/۵۰ ^a				
هولکلرین Hb	۶/۳۲±۰/۳۶ ^b				
هملاتورکیت Hct	۲۲/۷۰±۰/۷۴ ^a				
کورتیزول Cortisol	۲۲/۳۷±۰/۸۸ ^b				
گلوبن	۸/۷۳±۰/۲۹ ^a				

۴- بحث

یکی از تغییرات مهم که بر این روند تأثیرگذار است استرس های مختلفی است که به ماهی وارد می شود. استرس به شرایطی گفته می شود که تعادل یا هموستازی جانور در نتیجه عمل محرك های خارجی که عوامل استرس زا نامیده می شود تغییر می کند (Wendelaar, 1997). استرس اثر منفی

روی سیستم بدن دارد. یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامتی و فیزیولوژی ماهیان سنجش پارامترهای خون آنهاست که از تغذیه، عوامل محیطی و سن اثر می‌پذیرد (Fanouraki, 2007).

در این مطالعه از چهار داروی بیهوشی ۱- لیدوکائین ۲- سدیم بیکربنات ۳- عصاره گل میخک ۴- آویشن استفاده شد. داروهای شیمیایی به شکل گسترده در صنعت آبزی پروری (تکثیر، نقل و انتقال، جراحی ماهیان و جمع آوری خون در مطالعات تحقیقاتی) استفاده می‌گردد، اما آنچه را که در استفاده از داروهای بیهوشی در صنعت آبزی پروری اهمیت دارد، آنست که با استفاده از داروهای بیهوشی بتوان به اهداف اقتصادی (تولید) رسید و مناسب‌ترین داروی بیهوشی، که کمترین استرس و تغییرات فیزیولوژیک را در ماهی به دنبال دارد، انتخاب و به صفت آبزی پروری معروف نمود.

Robert و همکاران در سال ۱۹۷۸، Wedemeyer در سال ۱۹۷۶ و Wu و همکاران در سال ۲۰۰۰ بیان داشتند 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 گرمابی بیشتر از ماهیان سردآبی می‌باشد و نیز افزایش درجه حرارت موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز در خون محیطی می‌گردد و افزایش تعداد گلبول‌های قرمز نشان‌دهنده افزایش میزان استرس در ماهیان است.

در کپور ماهیان نقره‌ای تعداد گلبول قرمز در خون ماهی (تیمارها) با ۴ داروی بیهوشی در ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی نسبت به نمونه شاهد تفاوت کمی داشتند و در ارتباط با داروهای بیهوشی آویشن و عصاره گل میخک کاهش را نشان داد.

نتایج تحقیقات ولیسک و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی کپور معمولی (*Ciprinus carpio*) نشان داد که در خون‌گیری ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی در ماهی کپور تغییرات تعداد گلبول قرمز دارای تفاوت معنی‌داری نبوده است و با نتایج تحقیقات ما در کپور ماهیان علفخوار و نقره‌ای مشابه است.

در مطالعات سوداگر و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) و همچنین مطالعات فرحی و همکاران در سال ۲۰۱۰ بر روی ماهیان مولد نر ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و با مطالعه حاضر در کپور ماهیان آمور و فیوفاگ مشابه است. تحقیقات محققان گروه تغذیه چانگ هوا بر روی اثر داروی بیهوشی لیدوکائین در کپور طلابی (*Carassius auratus auratus*) نشان داد تعداد گلبول قرمز پس از مواجهه ماهی با داروی بیهوشی لیدوکائین افزایش معنی‌داری داشته است که با نتایج مطالعات حاضر بر روی کپور ماهیان نقره‌ای و علفخوار متفاوت است.

تعداد گلbul‌های سفید ماهی آمور در مواجهه با ۴ داروی بیهوشی لیدوکائین، سدیم بیکربنات، عصاره گل میخک و آویشن نسبت به نمونه شاهد در زمان‌های ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی روند افزایشی را نشان داده است که تفاوت معنی داری مشاهده شده است.

نتایج تحقیقات ولیسک و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی کپور معمولی در خونگیری ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی دارای تفاوت معنی داری نبوده است و با نتایج تحقیقات ما در کپور ماهیان نقره‌ای و علفخوار متفاوت است. اما مطالعات سوداگر و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) و همچنین تحقیقات ایمان پور و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی افزایش معنی داری را در تعداد گلbul 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 کپور ماهیان نقره‌ای و علفخوار بود. مطالعات ایمان پور و فرجی در سال ۲۰۱۰ بر روی مولد نر ماهی سفید تفاوت معنی داری را در تعداد گلbul سفید نشان نداد و همچنین مطالعات فرجی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مولد نر ماهی حوض نقره‌ای (*Carassius gibelio*) تغییرات معنی داری را در تعداد گلbul سفید نشان نداد.

تحقیقات محققان گروه تغذیه دانشگاه چانگ هوا بر روی اثر داروی بیهوشی لیدوکائین در کپور طلایی (*Carassius auratus auratus*) نشان داد تعداد گلbul سفید پس از قرارگیری ماهی در معرض داروی بیهوشی لیدوکائین افزایش معنی داری داشته است که با مطالعات حاضر در ماهی آمور مشابه است.

در تحقیقات انجام شده حاضر، میزان هموگلوبین در ماهی آمور ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی نسبت به نمونه شاهد در هر چهار داروی بیهوشی لیدوکائین، سدیم بیکربنات، عصاره گل میخک و آویشن کمی افزایش یافت. در مقایسه میزان هموگلوبین در نمونه شاهد و زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی در سه داروی بیهوشی سدیم بیکربنات، عصاره گل میخک و آویشن دارای روند افزایشی اما در لیدوکائین کمی کاهش یافت. در تحقیق حاضر میزان هموگلوبین در استفاده از عصاره گل میخک در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی نسبت به گروه شاهد در ماهی آمور تفاوت معنی داری را نشان داد ولی در ماهی فیتوفاج معنی دار نبود، این در حالیست که نتایج تحقیقات ولیسک و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی کپور معمولی در خونگیری ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی دارای تفاوت معنی داری نبوده است و با نتایج تحقیقات ما در ماهی فیتوفاج مشابه است اما در ماهی آمور متفاوت است.

اما مطالعات سوداگر و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) و همچنین تحقیقات ایمان پور و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) کاهش معنی داری را در ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی نشان داد و این در حالیست که ۲۴ ساعت پس از

بیهوشی میزان هموگلوبین نسبت به نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. این نتایج متفاوت با نتایج مطالعات ما بر روی کپور ماهیان آمور و فیتوفاگ است. مطالعات ایمان پور و فرجی در سال ۲۰۱۰ بر روی مولد نر ماهی سفید تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و همچنین مطالعات فرجی و همکاران در سال ۲۰۱۱ مولد نر ماهی حوض نقره‌ای (*Carassius gibelio*) تغییرات معنی‌داری را در تعداد هموگلوبین نشان نداد.

فهرست منابع

۱. ستاری، م ، شاهسونی ، داور ، شعبانی پور ، نادر . و شفیعی ، شهنام ، ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی ۱، تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر. رشت . ۶۵۹ ص.
۲. طبرستانی ، م ، ۱۳۷۶، خون‌شناسی پزشکی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۳۲۰ ص.
۳. وثوقی ، غ ، مستجير، ب ، ۱۳۷۳، ماهیان آب شیرین، انتشارات دانشگاه تهران، ۳۱۷ ص.
4. Abbas, H.H.H, Abdel-Gawad, A.S. Akkr, A.A., (2006). Toxicity and Efficacy of Lidocaine as an Anesthetic for Nile Tilapia; (*Oreochromis niloticus*). Pakistan Journal of Biological Sciences, 9: 2236-2242.
5. Benfey, T. G. and Biron, M., (2000). Acut dress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture 184: 167-176.
6. Bridges, W.W., Cech, J.J. and Pedro, D.N., (1976). Seasonal hematological changes in Winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, trans. American Fisheries Society, 105: 596-600.
7. Ellis, A. E., (1977). The Leucocytes of fish: a review. Journal of Fish Biology. Volume 11(5): 453-491.
8. Mazeaud, M.M., Mazeaud, F. (1981). Adrenergic responses to stress in fish. In A.D. Pickering (Ed) Stress in Fish, Academic press; London, England.