فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال هفتم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

بررسی اثر ماده بیهوشی MS222 بر شاخص‌های خونی ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) در غلظت‌های بیهوش‌کننده و کشنده

زینب مانگشتی[۱،۲]، نرگس جوادزاده[۱]*، حدیده معبودی[۱]

تاریخ دریافت: تیر ۹۷ تاریخ پذیرش: آذر ۹۷

چکیده

در پژوهش حاضر مقایسه غلظت‌های مختلف بیهوش‌کننده و کشنده ماده MS222 بر شاخص‌های خونی ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۱۸ قطعه ماهی با وزن متوسط ۱۵۰±۵/۵ گرم، به صورت تصادفی در سه تیمار بدون بیهوشی (تیمار شاهد)، بیهوشی با غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم بر لیتر برای بیهوش‌کنندگی و غلظت ۶۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر برای کشندگی قرار گرفتند. خونگیری از تمام نمونه‌ها در تیمارهای شاهد، بیهوشی (در ساعت‌های صفر، ۶، ۱۲ و ۲۴ بعد از بیهوشی) و کشندگی صورت گرفت و شاخص‌های خونی از جمله تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH و MCHC اندازه‌گیری شد. درصد هماتوکریت و سطح هموگلوبین در تیمارهای ساعت‌های ۶ و ۱۲ کاهش آماری معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد، زمان صفر و غلظت کشنده نشان دادند (P<۰/۰۵). شمارش کلی گلبول‌های قرمز در کلیه تیمارها به جز تیمار ساعت ۶ نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد (P>۰/۰۵). MCH و MCV در تیمارهای زمان‌های ۱۲ و ۲۴ ساعت نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). MCHC و درصد منوسیت در کلیه تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد (P>۰/۰۵). در شمارش کلی گلبول‌های سفید و میزان هتروفیل در تیمارهای زمان صفر تا ۶ ساعت روند کاهشی و در سایر تیمارها روند افزایشی مشاهده شد (P>۰/۰۵). به طورکلی نتایج حاکی از آن است که بیهوشی با ماده MS222 سبب استرس کمی در ماهی شیربت شد. این استرس باعث ایجاد یک اختلال اولیه در شاخص‌های خونی شد که نوعی واکنش دفاعی در برابر استرس تحمیل شده بود و سپس توسط فرآیند سازش‌پذیری پس از سپری شدن زمان (۲۴ ساعت) شرایط به حالت طبیعی اولیه بازگشت، بنابراین استفاده از این ماده بیهوشی در تحقیقات آبزی‌پروری بدون مانع است.

واژگان کلیدی: Arabibarbus grypus، *MS222، شیربت، شاخص‌های خونی، بیهوش‌کنندگی، کشندگی.*

۱- دانشیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.
۲- دانشیار گروه شیلات، پردیس علوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.
* نویسنده مسئول: nargesjavadzadeh@yahoo.com

مقدمه

ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) به رده ماهیان استخوانی حقیقی از راسته کپورماهی‌شکلان (Cypriniformes) و خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) تعلق دارد. این ماهی از ماهیان بومی استان خوزستان است و در حوضه رودخانه‌های فرات و کارون، خلیج فارس و هرمز انتشار دارد. ماهی شیربت در سال‌های اخیر به طور مصنوعی تکثیر و به آب‌های داخلی مانند تالاب شادگان و هورالعظیم رهاسازی می‌شود (غفله مرمضی، ۱۳۷۹). استفاده از داروهای بیهوشی و بی-حسی در پزشکی و سایر رشته‌های علوم زیستی دارای کاربردهای وسیعی است. در مراکز تکثیر و پرورش آبزیان، به ویژه ماهیان پرورشی نیز عملیاتی مانند تکثیر مصنوعی، کاهش استرس، آرام‌سازی ماهیان مولد طی عملیات تکثیر مصنوعی، کاهش فعالیت‌های فیزیولوژیکی در زمان حمل و نقل، انجام مطالعات تحقیقاتی، نمونه‌برداری از ماهیان، واکسیناسیون به روش تزریق، دستکاری مولدین هنگام تخم‌کشی و جراحی استفاده از داروهای بیهوشی اجتناب ناپذیر است (ابطحی و همکاران، ۱۳۸۱). اغلب هر تحریکی که به جانور اعمال می‌شود سبب ایجاد یک یا چند تغییر فیزیولوژیکی و رفتاری می‌شود. برخی از این تغییرات پاسخ‌های عادی در برابر واکنش-های ایجاد شده در شرایط محیطی و وضعیت جاندار هستند، در حالی که برخی دیگر از محدوده عادی فراتر رفته، در مجموع به عنوان استرس یا تنش در نظر گرفته می‌شوند (Ross and Ross, 2008). به دلیل این که پاسخ‌های استرس در بین گونه‌ها بسیار متنوع است، بنابراین بررسی انواع مواد بیهوشی و اثر غلظت-های مختلف آن‌ها بر گونه‌های پرورشی لازم و ضروری به نظر می‌رسد. استفاده از مواد ضداسترس یک فرآیند مورد توجه در آبزی-پروری مدرن است. غلظت مورد نیاز برای بیهوشی مناسب بر اساس نوع ماده بیهوشی و عوامل دیگری مانند دما، شوری، میزان اکسیژن محلول و سختی آب، وزن بدن، میزان سطح بدن، مساحت آبشش‌ها و نوع گونه ماهی متغیر است. از آنجا که بیهوشی و مواجه ماهیان با مواد بیهوش‌کننده، خود واکنش‌های استرس‌زا ایجاد می‌کنند، بنابراین در ابتدا خود ماده بیهوش کننده باید فاقد اثرات سوء بر ماهی باشد. در واقع بیهوشی خود به عنوان یک استرس بالقوه مطرح است که در این صورت مجموعه‌ای از تغییرات مهم از جمله افزایش

ضربان قلب، افزایش تنفس، افزایش گلوکز و کورتیزول در واکنش به استرس رخ می‌دهد (Ross and Ross, 2008). شاخص‌های خونی موارد مناسبی برای ارزیابی وضعیت سلامت ماهیان هستند و با استفاده از آن‌ها می‌توان بسیاری از بیماری‌ها، نارسائی‌ها و شرایط غیرطبیعی را تشخیص داد (Flynn et al., 2006). امروزه از ترکیبات متعددی برای بیهوشی ماهیان استفاده می‌شود که در این راستا می‌توان به موادی همچون متومیدات، فنوکسی اتانول، MS222، تری‌کایین متان سولفات و عصاره گل میخک اشاره کرد (علیشاهی و همکاران (۱۳۹۵).

ابطحی و همکاران (۱۳۸۱) LC_{50} اسانس گل میخک و MS222 را در بچه تاس‌ماهی ایرانی، قزل‌آلای رنگین‌کمان و کپور معمولی بررسی کردند و نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد میزان سمیت دو ماده مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری در ماهیان آزمایش شده نداشت، اما با ٪۹۵ اطمینان می‌توان گفت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تحمل کمتری نسبت به سمیت مواد نام برده شده داشت. علیشاهی و همکاران (۱۳۹۵) به مقایسه اثر سه ماده بیهوشی MS222، اسانس گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور علفخوار پرداختند و نتایج آن‌ها نشان داد در بین سه ماده بیهوشی مورد بررسی، اسانس گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور علفخوار تاثیر داشت و MS222 کمترین اثر را بر این شاخص‌ها داشت. Velisek و همکاران (۲۰۰۵a) به بررسی تاثیر اسانس گل میخک بر شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند و نتیجه گرفتند بیهوشی با اسانس گل میخک با غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بلافاصله بعد از ۱۰ دقیقه بیهوشی، تفاوتی را در نسبت گلبول‌های سفید خونی در مقایسه با گروه شاهد نشان نداد. Velisek و همکاران (۲۰۰۷a) تاثیر بیهوش کنندگی ۲- فنوکسی اتانول بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی و قزل‌آلای رنگین‌کمان را مورد مطالعه قرار دادند و نتایج آزمایش آن‌ها نشان داد که ۲- فنوکسی اتانول در غلظت ۰/۳ میلی‌لیتر در لیتر آسیب برگشت‌ناپذیری را بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی و قزل‌آلای رنگین‌کمان ایجاد نکرد. Gomulka و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی اثرات ماده بیهوشی اوژنول و MS222 بر روی تاس‌ماهی سیبری پرداختند و نتایج به دست آمده نشان داد که استفاده از MS222

در سطح ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر و اوژنول در سطح ۰/۰۷۵ میلی‌لیتر در لیتر آسیب غیرقابل برگشتی را در تاس‌ماهی سیبری ایجاد نکرد. Marco و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی اثرات MS222، روغن میخک و Medetomidine-Ketamine و عوارض جانبی آن‌ها بر روی فیزیولوژی و وضعیت گازهای خونی، تعادل اسید و بازی خون و پاسخ‌های استرسی با سنجش میزان pCo_2، pO_2، pH، HCO_3، کورتیزول، گلوکز و لاکتات تاس‌ماهیان دورگه *Acipenser naccarii* × *Acipenser baerii* پرداختند. در این مطالعه کوتاه‌ترین زمان بیهوشی در MS222 به دست آمد و بیشترین زمان بازگشت از بیهوشی در تیمار روغن گل میخک به دست آمد. PCO_2 خون و سطح کورتیزول به طرز معنی‌داری در MS222 و روغن گل میخک بالاتر بود. تمام یافته‌ها حاکی از آن بود که اثرات فیزیولوژیکی MS222 بیشتر از دیگر مواد بیهوشی است و روغن گل میخک کمترین اثرات فیزیولوژیکی را داشت (Marco et al., 2011). Pawer و همکاران (۲۰۱۱) اثر چهار ماده بیهوش کننده اسانس گل میخک، بنزوکائین، ۲- فنوکسی اتانول و MS222 را در اسب دریایی زرد (*Hippocampus kuda*) مطالعه کردند و به این نتیجه رسیدند که اسانس گل میخک و MS222 دارای بیشترین معیار به عنوان یک ماده بیهوش کننده ایده‌آل بودند.

با توجه به مطالعات انجام شده و از آنجایی که ماهی شیربت یکی از گونه‌های ارزشمند و بومی استان خوزستان است و از سوی دیگر هر گونه ماهی الگوی خونی ویژه‌ای دارد که نیاز است شاخص‌های خونی آن به طور جداگانه در برابر مواد بیهوش کننده مورد بررسی قرار گیرند، پژوهش حاضر با هدف مطالعه تعیین اثرات MS222 بر شاخص‌های خونی ماهی شیربت در غلظت‌های کشنده و بیهوش‌کننده انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در فاصله زمانی تیر و مرداد ۱۳۹۲ در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سوسنگرد واقع در ۳۵ کیلومتری جاده اهواز-سوسنگرد انجام شد. تعداد ۱۸ قطعه ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) با وزن ۱۵۰±۵/۵ گرم برای بررسی تاثیر غلظت‌های بیهوشی و کشندگی ماده MS222 بر شاخص‌های خونی مورد استفاده قرار گرفت. ماهیان مورد آزمایش از مرکز پرورش ماهی آزادگان در جنوب اهواز تهیه شدند و تحت

شرایط ایده‌آل حمل و نقل، درون وان‌های ۱۰۰ لیتری حاوی آب سرد قرار گرفتند. با استفاده از کپسول اکسیژن، هوای مورد نیاز در مدت حمل تامین شد. ماهیان پس از انتقال به مرکز تکثیر ماهیان بومی سوسنگرد، در حوضچه‌های فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری ذخیره شدند. در روز دوم تمام آب وان به منظور تخلیه فضولات دفع شده از ماهی تعویض شد. در روزهای بعد آب به میزان ٪۲۰ تعویض شد و میزان اکسیژن آب در حد ۸-۱۰ppm نگه داشته شد. دمای آب نیز در این مدت ۲۸°C بود. ماهیان به طور روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن با غذای تجاری (بیضا، شیراز) غذادهی شدند و به ترتیب در سه تیمار شامل تیمار ۱: گروه شاهد (تعداد ۳ قطعه ماهی در ۳ تکرار)، تیمار ۲: غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر MS222 به منظور بیهوش‌کنندگی (تعداد ۱۲ قطعه ماهی در ۳ تکرار) و تیمار ۳: غلظت ۶۲۵۰ میلی گرم بر لیتر به منظور کشندگی (تعداد ۳ قطعه ماهی در ۳ تکرار) تقسیم‌بندی شدند. قبل از انجام تیمارها، ابتدا غلظت مناسب بیهوشی برای ماده MS222 محاسبه شد. به این منظور ماهی در معرض غلظت‌های افزایشی ماده بیهوشی قرار گرفت. مبنای انتخاب غلظت مناسب ماده بیهوشی، القای بیهوشی در ۳ دقیقه و بازگشت از بیهوشی حداقل در ۵ دقیقه بود (قلی‌پور کنعانی، ۱۳۸۹). MS222 با غلظت‌های ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۱۲۵۰ میلی-گرم در لیتر برای تعیین غلظت بیهوش‌کنندگی استفاده شد. ماهیان تا مرحله نارکوزیس در ماده بیهوشی قرار داده شدند و به محض مشاهده علائم عدم پاسخ به تغییر وضعیت، کاهش در سطح تنفس، فقدان کامل تعادل، عدم واکنش به تحریک خارجی و کاهش انقباض خفیف عضلات، بیهوشی نارکوزیس تلقی شد و ماهیان بیهوش شده به آکواریوم-های بازگشت از بیهوشی (ریکاوری) حاوی آب تازه دارای سیستم هوادهی برگشت داده شدند (Ross and Ross, 2008). برای بررسی غلظت کشنده، غلظت‌های بالاتر از غلظت بیهوشی یعنی ۵ برابر، ۱۰ برابر و ۱۵ برابر در نظر گرفته شد و ماهیان تا زمان مرگ در آن قرار داده شدند (Pridikaris et al., 2010). در پژوهش حاضر غلظت ۶۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به عنوان غلظت کشنده در نظر گرفته شد. بلافاصله پس از بیهوشی از ۳ قطعه ماهی در زمان‌های صفر، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی، خونگیری از سیاهرگ ساقه دمی انجام شد. به منظور به حداقل رساندن استرس ناشی از عملیات آزمایش، تلاش شد که صید و

تورکشی ماهیان از فضای تحت کنترل و محدود مخازن در کمال آرامش و با خودداری از دنبال کردن و تعقیب و گریز ماهی صورت پذیرد. از نمونه‌های شاهد و تیمار کشندگی نیز به روش بالا خونگیری انجام شد. نمونه‌های خون بلافاصله به آزمایشگاه دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شدند و به منظور آزمایش‌های خون‌شناسی مورد استفاده قرار گرفت. شمارش کلی گلبول‌های قرمز (RBC) به روش دستی با رقیق کردن خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق کننده نات- هریک و با استفاده از لام نئوبار صورت گرفت. شمارش کلی گلبول‌های سفید (WBC) به روش دستی با رقیق کردن خون به نسبت ۱ به ۲۰ با محلول رقیق کننده نات- هریک انجام شد (Thrall,2004). برای شمارش افتراقی گلبول-های سفید گسترش خونی تهیه شد (نظیفی، ۱۳۷۶). هموگلوبین (Hb) به روش سیانومت هموگلوبین مورد سنجش قرار گرفت (Feldman et al.,2000). هماتوکریت (Hct) به روش میکروهماتوکریت طی ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ خون با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به وسیله دستگاه میکروسانتریفیوژ (Micro 200، Hettich، آلمان) اندازه‌گیری شد. شاخص‌های گلبول‌های قرمز شامل حجم متوسط گلبولی (MCV)، مقدار متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) نیز مطابق با رابطه‌های ۱ تا ۳ تعیین شد (Feldman et al., 2000; Thrall, 2004).

رابطه ۱:

$$\mathbf{MCV\ (fL) = [Hct / RBC] \times 10}$$

Hct: هماتوکریت (٪)؛ RBC: تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب).

رابطه ۲:

$$\mathbf{MCH\ (pg) = [Hb / RBC] \times 10}$$

Hb: هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)؛ RBC: تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب).

رابطه ۳:

$$\mathbf{MCHC\ (\%) = (Hb / Hct) \times 100}$$

Hct: هماتوکریت (٪)؛ Hb: هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر).

پس از جمع‌آوری اطلاعات، ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk مشخص شد. سپس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تیمارهای آزمایش از نظر شاخص‌های مورد نظر با استفاده از آزمون

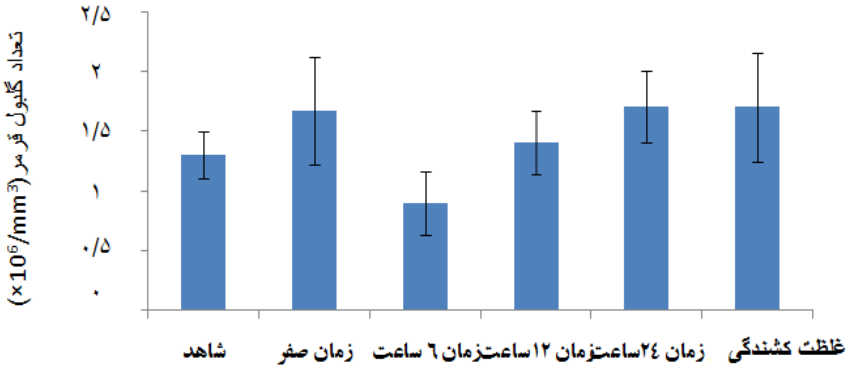
تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) مقایسه شدند. برای مقایسه اختلاف میانگین شاخص‌های به دست آمده از پس‌آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد (P<۰/۰۵) استفاده شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 استفاده شد.

نتایج

با توجه به آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه، بین تیمارهای بیهوشی با MS222 در غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر در ساعت‌های مختلف با تیمار شاهد و غلظت کشنده در ماهی شیربت از نظر میزان گلبول قرمز اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در زمان صفر (بلافاصله پس از بیهوشی) نسبت به تیمار شاهد افزایش تعداد گلبول قرمز مشاهده شد که معنی‌دار نبود. در ساعت ۶ افت شدید تعداد گلبول قرمز مشاهده شد و به مرور تا ساعت ۲۴ میزان گلبول‌های قرمز افزایش یافت (شکل ۱).

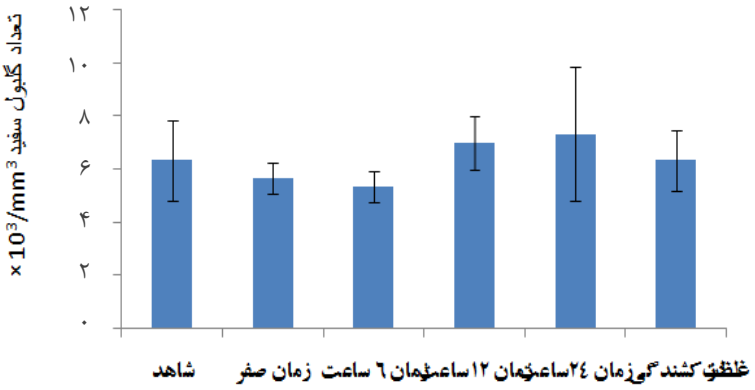
بین تیمارهای بیهوشی با تیمارهای شاهد و غلظت کشنده از نظر تعداد گلبول سفید (WBC)، منوسیت و لنفوسیت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

در زمان صفر تا ساعت ۶ افت میزان WBC مشاهده شد، اما اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و نسبت به تیمارهای شاهد و غلظت کشنده نداشتند. از ساعت ۶ تا ساعت ۲۴ افزایش میزان WBC مشاهده شد، اما اختلاف معنی‌دار نبود. در میزان منوسیت‌ها بین ساعت‌های مختلف پس از بیهوشی با تیمارهای شاهد و غلظت کشنده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما یک روند رو به افزایش از زمان صفر تا ساعت ۲۴ مشاهده شد. بیشترین میزان لنفوسیت در زمان صفر و کمترین آن در ساعت ۲۴ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با هم نشان ندادند.

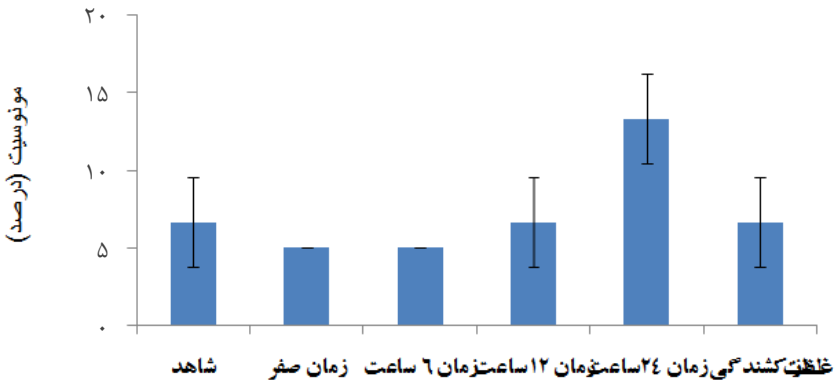


شکل ۱: تغییرات تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای مختلف بیهوشی و کشندگی با ماده MS222 در ماهی شیربت (میانگین ± انحراف معیار). بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

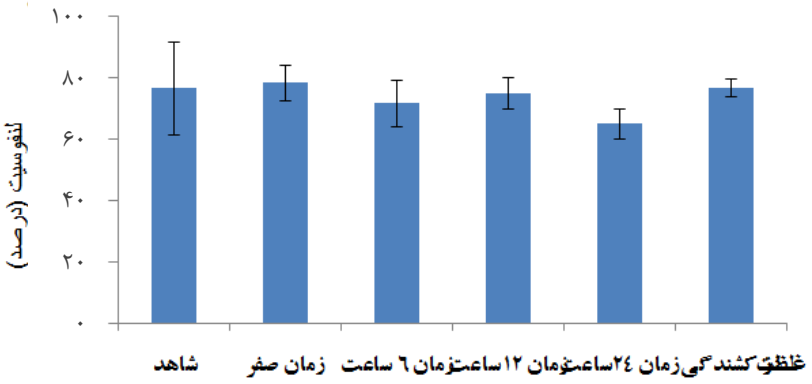
با توجه به آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه بین تیمارهای مورد بررسی با تیمار شاهد و غلظت کشندگی از نظر میزان هتروفیل اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). از زمان صفر تا ساعت ۶ کاهش و از ساعت ۶ تا ۲۴ افزایش هتروفیل مشاهده شد، اما اختلاف معنی‌دار نبود (شکل‌های ۲ تا ۵).



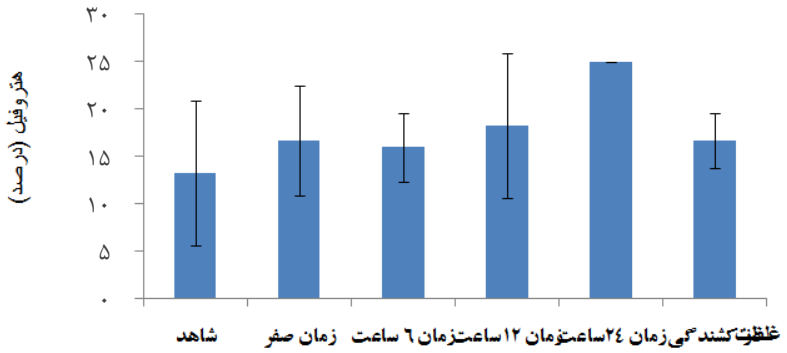
شکل ۲: تغییرات تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای مختلف بیهوشی و کشندگی با ماده MS222 در ماهی شیربت (میانگین ± انحراف معیار). بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).



شکل ۳: تغییرات میزان منوسیت‌ها در تیمارهای مختلف بیهوشی و کشندگی با ماده MS222 در ماهی شیربت (میانگین ± انحراف معیار). بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).



شکل ۴: تغییرات میزان لنفوسیت در تیمارهای مختلف بیهوشی و کشندگی با ماده MS222 در ماهی شیربت (میانگین ± انحراف معیار). بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).



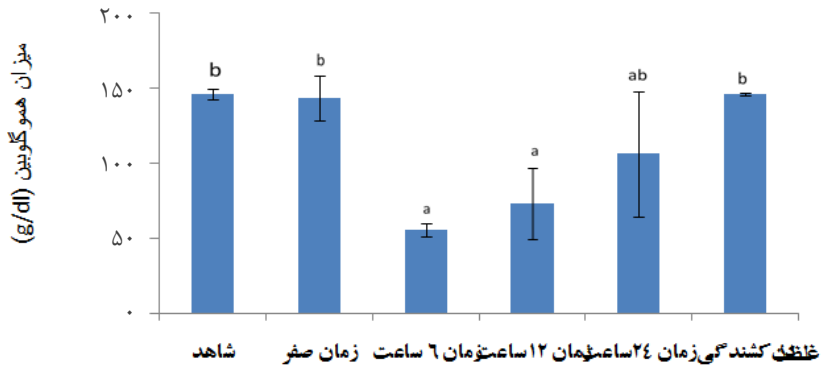
شکل ۵: تغییرات میزان هتروفیل در تیمارهای مختلف بیهوشی و کشندگی با ماده MS222 در ماهی شیربت (میانگین ± انحراف معیار). بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

بین تیمارهای مورد بررسی در ساعت‌های ۰، ۶، ۱۲ و ۲۴ پس از بیهوشی با تیمارهای شاهد و غلظت کشنده از نظر میزان هموگلوبین اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان هموگلوبین در تیمار شاهد، زمان صفر پس از بیهوشی و غلظت کشنده به دست آمد که اختلاف معنی-داری را با هم نشان ندادند. کمترین میزان هموگلوبین در ساعت‌های ۶ و ۱۲ مشاهده شد که اختلاف آن معنی‌دار نبود. از ساعت ۶ تا ۲۴ افزایش نسبی هموگلوبین مشاهده شد اما اختلاف معنی‌داری بین ساعت‌های ۶، ۱۲ و ۲۴ مشاهده نشد (P>۰/۰۵؛ شکل ۶).

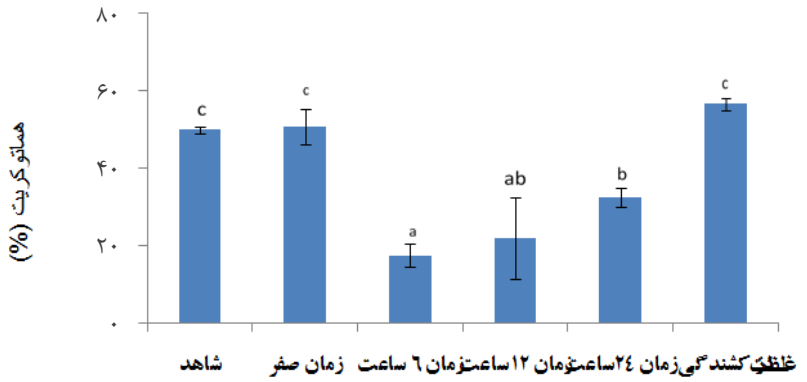
بین تیمارهای بیهوشی با تیمارهای شاهد و غلظت کشنده از نظر میزان هماتوکریت اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین میزان هماتوکریت در ۶ ساعت پس از بیهوشی و بیشترین آن در غلظت کشنده به دست آمد که اختلاف آن معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). از ساعت ۶ تا ۲۴ افزایش میزان هماتوکریت مشاهده شد. میزان هماتوکریت در ساعت‌های ۶ و ۲۴ با تیمار شاهد، تیمار زمان صفر و تیمار کشنده اختلاف معنی‌دار نشان دادند (P<۰/۰۵)، ولی بین تیمارهای ساعت‌های ۶ و ۱۲ و همچنین بین تیمارهای ساعت‌های ۱۲ و ۲۴ اختلاف معنی دار دیده نشد (P>۰/۰۵؛ شکل ۷).

بین تیمارهای بیهوشی با تیمارهای شاهد و غلظت کشنده از نظر میزان حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) اختلاف معنی‌دار آماری

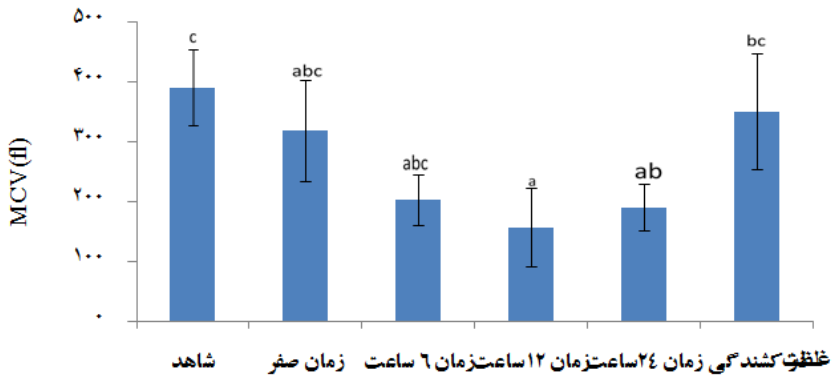
مشاهده شد (P<۰/۰۵). اختلاف میزان MCV بین تیمارهای مورد بررسی در شکل ۸ نشان داده شده است. بیشترین میزان MCV در گروه شاهد و کمترین میزان آن در تیمار ۱۲ ساعت پس از بیهوشی مشاهده شد. مقدار MCV در زمان صفر و ساعت ۶ از شاهد کمتر ولی از ساعت ۱۲ بیشتر بود. بین زمان صفر و ساعت ۶ اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵).



شکل ۶: تغییرات میزان هموگلوبین در تیمارهای مختلف بیهوشی و کشندگی با ماده MS222 در ماهی شیربت (میانگین ± انحراف معیار). حروف غیرهم‌نام نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).



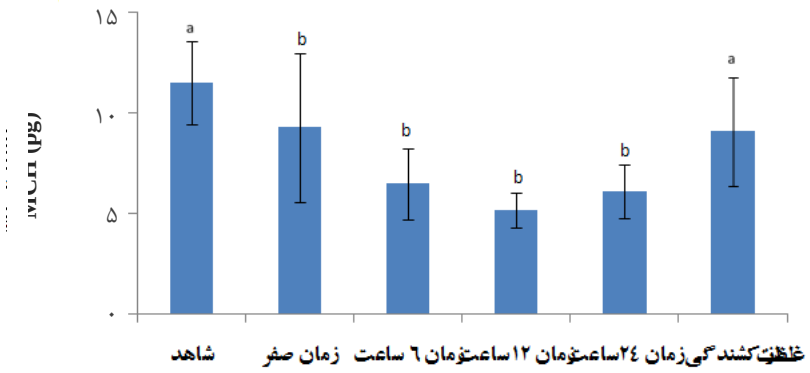
شکل ۷: تغییرات میزان هماتوکریت در تیمارهای مختلف بیهوشی و کشندگی با ماده MS222 در ماهی شیربت (میانگین ± انحراف معیار). حروف غیرهم‌نام نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).



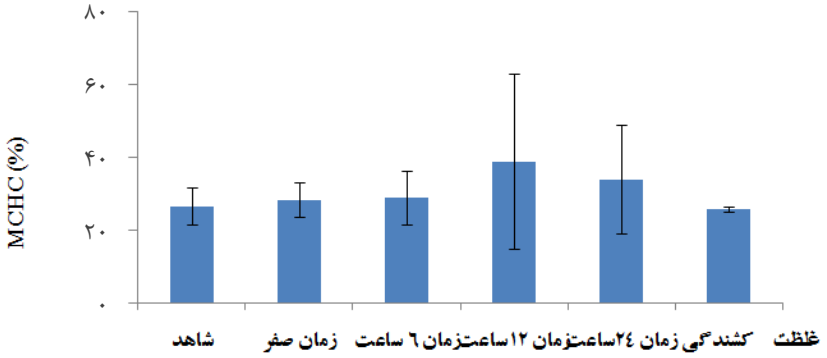
شکل ۸: تغییرات حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) در تیمارهای مختلف بیهوشی و کشندگی با ماده MS222 در ماهی شیربت (میانگین ± انحراف معیار). حروف غیرهم‌نام نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار هستند.

بین تیمارهای بیهوشی با تیمارهای شاهد و غلظت کشنده از نظر مقدار متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد (P<۰/۰۵). اختلاف میزان MCH بین تیمارهای مورد بررسی در شکل ۹ نشان داده شده است. بیشترین میزان MCH در تیمار شاهد و کمترین آن در ساعت ۱۲ مشاهده شد. از زمان صفر تا ۱۲ ساعت پس از بیهوشی کاهش MCH مشاهده شد، اما زمان صفر و ساعت ۶ اختلاف معنی داری را با یکدیگر و با ساعت ۱۲ نشان ندادند (P>۰/۰۵).

بین تیمارهای بیهوشی با تیمارهای شاهد و غلظت کشنده از نظر غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). از زمان صفر تا ۱۲ ساعت پس از بیهوشی میزان MCHC افزایش یافت، اما از ساعت ۱۲ تا ساعت ۲۴ کاهش MCHC مشاهده شد که اختلاف معنی‌دار بین هیچ کدام از ساعت‌های نمونه‌برداری با تیمارهای شاهد و غلظت کشنده وجود نداشت (P>۰/۰۵؛ شکل ۱۰).



شکل ۹: تغییرات مقدار متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) در تیمارهای مختلف بیهوشی و کشندگی با ماده MS222 در ماهی شیربت (میانگین ± انحراف معیار). حروف غیرهم‌نام نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار هستند.



شکل ۱۰: تغییرات غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) در تیمارهای مختلف بیهوشی و کشندگی با ماده MS222 در ماهی شیربت (میانگین ± انحراف معیار). بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

بحث

هدف اصلی آبزی‌پروری را می‌توان تولید ماهی در کوتاه‌ترین زمان با کمترین هزینه تلقی کرد که جز با افزایش حداکثری سرعت و بازده رشد به صورت همزمان تحقق نمی‌پذیرد و لازمه آن پرهیز از مواجهه حیوان با تنش‌های محیطی است (Ross and Ross, 2008). اگر چه استفاده از مواد بیهوشی در کاهش استرس به خوبی در مطالعات شیلاتی و آبزی‌پروری مورد بررسی و تایید قرارگرفته است، اما

استفاده از داده‌های یک گونه در خصوص پذیرش ماده بیهوشی به طور موثر و ایمن در گونه دیگر ممکن است منجر به بروز خطراتی برای گونه مورد نظر شود (Pawer et al., 2011). با توجه به نتایج مطالعه حاضر، بین تیمارهای بیهوشی با MS222 در غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر در ساعت‌های مختلف با تیمار شاهد و غلظت کشنده در ماهی شیربت اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد گلبول قرمز دیده نشد. گلبول‌های قرمز پس از افت در زمان ۶ ساعت پس از بیهوشی، روند افزایشی را تا زمان ۲۴ ساعت نشان داد، اما این اختلاف معنی‌دار نبود. در مطالعه علیشاهی و همکاران (۱۳۹۵) با عنوان مقایسه اثر سه ماده بیهوشی MS222، اسانس گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور علفخوار و همچنین مطالعه انجام شده توسط Matsche (۲۰۱۳) بر روی تاثیرات نسبی فیزیولوژیکی جراحی لاپاروسکوپی و بیهوشی با MS222 در تاس-ماهی اقیانوس اطلس، اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد گلبول قرمز مشاهده نشد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. بر اساس مطالعات صورت گرفته در مورد تاثیر اسانس گل میخک بر شاخص‌های خونی، مطالعات Abdolazizi و همکاران (۲۰۱۱) بر ماهی کاراس و Imanpoor و همکاران (۲۰۱۰) بر تاس‌ماهی ایرانی در تعداد گلبول‌های قرمز نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد که با مطالعه حاضر مطابقت ندارد. علت این تفاوت می‌تواند به اختلاف در گونه ماهی و نوع ماده بیهوشی استفاده شده در آزمایش مربوط باشد. تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت در ارتباط با گونه، جنسیت، سن ماهی و عوامل محیطی استرس‌زا (درجه حرارت، عمق آب، شوری و غیره) تغییر می-کند، به طوری که تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان گرمابی بیشتر از ماهیان سردآبی است و نیز افزایش درجه حرارت موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز در خون محیطی می-شود، افزایش تعداد گلبول قرمز نشان دهنده افزایش میزان استرس در ماهیان است (Wedemeyerand Mcleay, 1981).

گلبول‌های سفید یکی از اجزای مهم دفاع اختصاصی هستند که در خون، اندام‌های لنفاوی و برخی بافت‌های دیگر حضور دارند و دارای فعالیت بیگانه‌خواری و تولید آنتی‌بادی هستند. تعداد و نسبت این سلول‌ها به عنوان شاخص مهمی برای ارزیابی وضعیت سلامتی جانوران آبزی است و افزایش میزان آن‌ها نشان

دهنده پاسخ به استرس یا عفونت است (Misra et al., 2009). در مطالعه حاضر بین تیمارهای مختلف آزمایش، اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد گلبول سفید وجود نداشت، از ساعت ۶ تا ساعت ۲۴ پس از بیهوشی افزایش ناچیزی در میزان گلبول‌های سفید مشاهده شد، اما اختلاف معنی‌دار نبود، عدم وجود تغییرات در میزان گلبول سفید در مطالعه حاضر می‌تواند به علت عدم تغییرات در شرایط فیزیکوشیمیایی آب و عدم دستکاری به عنوان شرایط استرس‌زا باشد. در مطالعه انجام شده توسط Matsche (۲۰۱۳) بر روی تاثیرات نسبی فیزیولوژی جراحی لاپاروسکوپی و بیهوشی با MS222 در تاس‌ماهی اقیانوس اطلس و مطالعه انجام شده توسط Imanpoor و همکاران (۲۰۱۰) بر روی اثرات فیزیولوژیکی بیهوشی با اسانس گل میخک بر شاخص‌های خونی تاس‌ماهی ایرانی میزان گلبول سفید اختلاف معنی‌داری را نشان نداد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. در طول آزمایش میزان منوسیت و لنفوسیت تغییرات چندانی را نشان نداد و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. این عدم اختلاف حاکی از استرس‌زایی کم ماده بیهوشی مورد مطالعه در ماهی شیربت با شرایط موجود در آزمایش است. نتایج مطالعه حاضر با مطالعات انجام شده توسط Velisek و همکاران (۲۰۰۷a) بر گونه کپور معمولی و قزل‌آلای رنگین‌کمان که باعث افزایش تعداد نسبی و واقعی منوسیت‌ها بلافاصله پس از بیهوشی شد (پس از گذشت ۲۴ ساعت این مقادیر برگشت‌پذیر بودند)، Velisek و همکاران (۲۰۰۷b) در مطالعه بر روی گونه *Silurus glanis*، همچنین مطالعه Abdolazizi و همکاران (۲۰۱۱) بر روی ماهی کاراس و Matsche (۲۰۱۳) در مطالعه بر روی تاثیرات نسبی فیزیولوژی جراحی لاپاروسکوپی و بیهوشی با MS222 در تاس-ماهی اقیانوس اطلس همخوانی داشت. بنا بر مطالعات انجام شده به نظر می‌رسد بیهوشی به وسیله ماده MS222 کمترین اثرات را بر روی شاخص‌های خونی و ایمنی داشت. سیستم ایمنی ماهی (منوسیت و لنفوسیت) فقط در زمان مواجه با عوامل بیماری‌زا فعال می‌شوند و مقدار آن‌ها به طور قابل توجه‌ای افزایش می-یابد (Bourne, 1984). استرس از طریق تاثیر بر روی محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- غده فوق کلیوی و ترشح کورتیکواستروئیدها و هورمون محرک غده فوق کلیه در خون باعث بروز حالت‌هایی مانند کاهش منوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها می‌شود. به طور معمول در صورت

مواجه جاندار با شرایط استرس تعداد گلبول-های سفید افزایش می‌یابد (لکوسیتوزیس)، اما در صورت رویارویی جاندار با استرس‌های حاد، به طور معمول تعداد آن‌ها کاهش می‌یابد که به این حالت لکوپنیا می‌گویند. در مطالعات مشابه که در آن عوامل استرس‌زا وجود داشتند افزایش درصد لنفوسیت‌ها مشاهده شد (Biron, 2000 Benfey and). در مطالعه حاضر در زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در مورد میزان منوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها مشاهده نشد که نشان دهنده عدم بروز استرس حاد در جاندار است. در مطالعه حاضر ابتدا پدیده لکوسیتوزیس مشاهده شد، اما پس از تطابق ماهی با شرایط جدید (۲۴ ساعت بعد از بیهوشی) تعداد آن‌ها با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. مقایسه نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات دیگر کار دشواری است زیرا عوامل مختلفی از جمله گونه ماهی، نوع داروی بیهوشی، غلظت مورد استفاده، زمان بیهوشی و بازگشت از بیهوشی و شاخص‌های کیفی آب در میزان پاسخ‌های خونی ایجاد شده توسط ماهیان تاثیرگذار است. البته باید یادآور شد که تعداد و نسبت گلبول-های سفید تحت تاثیر جنس، سن، استرس، عفونت، رشد، مرحله زندگی و وضعیت تغذیه قرار می‌گیرد (Misra et al., 2009).

مقدار هموگلوبین در تیمار شاهد، زمان صفر و غلظت کشنده بیشترین میزان و در تیمارهای ساعت‌های ۶ و ۱۲ پس از بیهوشی کمترین میزان را نشان داد که نسبت به تیمار شاهد، صفر و کشنده کاهش معنی‌دار بود و در ساعت ۲۴ افزایش معنی‌داری را نسبت به ساعت ۶ نشان داد. زمانی که ماهی در معرض استرس قرار می‌گیرد، ابتدا به دلیل استرس وارد شده مقدار شاخص‌های خونی کاهش می‌یابد، اما پس از تطابق، افزایش غلظت هموگلوبین و هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز خون را نشان می‌دهد (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۵). در پژوهش حاضر کاهش در زمان ۶ و ۱۲ ساعت و افزایش در زمان ۲۴ ساعت دیده شد که با مطالعات Velisek و همکاران (۲۰۰۵a) بر ماهی کپور معمولی، Abdolazizi و همکاران (۲۰۱۱) بر ماهی کاراس و Imanpoor و همکاران (۲۰۱۰) بر روی اثرات فیزیولوژیکی بیهوشی با اسانس گل میخک بر تاس‌ماهی ایرانی همخوانی داشت. بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه، بین تیمارهای مورد بررسی با تیمار شاهد و غلظت کشنده از نظر میزان هماتوکریت اختلاف

معنی‌دار مشاهده شد. کمترین میزان هماتوکریت در ۶ ساعت پس از بیهوشی و بیشترین آن در غلظت کشنده به دست آمد که اختلاف معنی‌دار بود. Velisek و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی ماده بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی اعلام کردند که ۱۰ دقیقه قرارگیری در معرض این بیهوش کننده، در مقادیر هماتوکریت و مونوسیت افزایش معنی‌داری را باعث شد و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی این مقادیر به حالت طبیعی بازگشتند. بر اساس مطالعات صورت گرفته در مورد تاثیر اسانس گل میخک بر شاخص‌های خونی توسط Abdolazizi و همکاران (۲۰۱۱) بر ماهی کاراس، Velisek و همکاران (۲۰۰۵b) بر ماهی کپور معمولی، Velisek و همکاران (۲۰۰۵a) بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و Imanpoor و همکاران (۲۰۱۰) بر تاس‌ماهی ایرانی و همچنین مطالعه علیشاهی و همکاران (۱۳۹۵) در مقایسه اثر سه ماده بیهوشی MS222، اسانس گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور علفخوار اختلاف معنی‌داری در میزان هماتوکریت نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد که با مطالعه حاضر مطابقت ندارد. علت این اختلاف می‌تواند به نوع ماده بیهوشی و گونه ماهی مربوط باشد. افزایش میزان هموگلوبین و هماتوکریت به مرور زمان رخ داد که می‌تواند به دلیل کاهش حجم پلاسما، تورم گلبول‌های قرمز و آزاد شدن تعداد بیشتری گلبول قرمز در خون از بافت‌های خون‌ساز باشد. طی شرایط استرس، بالا رفتن هموگلوبین و هماتوکریت در جهت افزایش ظرفیت حمل اکسیژن خون و در نتیجه اکسیژن‌رسانی به اندام‌های اصلی، در پاسخ به مطالبات سوخت و ساز بالاتر رخ می‌دهد (میرزرگر و صیدگر، ۱۳۸۴).

بیشترین میزان MCV و MCH در تیمار شاهد مشاهده شد. از ساعت صفر تا ساعت ۱۲ پس از بیهوشی افت معنی‌دار MCV و MCH مشاهد شد، ولی از ساعت ۱۲ تا ۲۴، روند رو به بهبود بود. نتایج به دست آمده از MCV در مطالعه حاضر با مطالعات انجام شده توسط Velisek و همکاران (۲۰۰۷b) بر روی بررسی اثرات ماده بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول در *Silurus glanis* و نیز Gomulka و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه بر روی اثرات ماده بیهوشی اوژنول و MS222 بر روی تاس‌ماهی سیبری، همخوانی دارد، ولی با مطالعات انجام شده توسط سلطانی و همکاران (۱۳۸۳) در بررسی اثرات اسانس گل میخک هندی بر شاخص‌های

خونی و برخی آنزیم‌های خون کپور معمولی، مطالعه علیشاهی و همکاران (۱۳۹۵) با عنوان مقایسه اثر سه ماده بیهوشی MS222، اسانس گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور علفخوار، مطالعه Velisek و همکاران (۲۰۰۵a) در بررسی اسانس گل میخک بر ماهی کپور معمولی، Velisek و همکاران (۲۰۰۷a) در مطالعه اثرات ۲- فنوکسی اتانول بر ترکیب شاخص‌های خونی کپور معمولی و قزل‌آلای رنگین‌کمان، Ucar و Atamanalp (۲۰۱۰) در مطالعه اثرات بیهوشی با روغن گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول در قزل‌آلای رنگین‌کمان و قزل‌آلای خال‌قرمز، Shaluei و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه اثرات غلظت‌های مختلف ۲- فنوکسی اتانول در فیل‌ماهی همخوانی ندارد. علت این اختلاف می‌تواند به نوع ماده بیهوشی و گونه ماهی مربوط باشد. علت کم شدن مقدار MCH و MCV در ابتدا ناشی از کاهش تعداد گلبول‌های قرمز است. در ادامه افزایش میزان این شاخص‌ها مشاهده شد که علت آن تورم گلبول قرمز است (Feldman et al., 2000). تورم گلبول قرمز ممکن است پاسخی زودگذر به MS222 باشد که در تاس-ماهی سیبری بیهوش شده با ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر MS222 گزارش شد. اما در بیش از ۲۴ ساعت مشاهده نشد (Gomulka et al., 2008). در مورد نتایج مقدار MCH، مطالعات صورت گرفته در مورد تاثیر اسانس گل میخک بر شاخص‌های خونی توسط Velisek و همکاران (۲۰۰۵b) بر ماهی کپور معمولی، Velisek و همکاران (۲۰۰۵a) بر قزل‌آلای رنگین‌کمان، سلطانی و همکاران (۱۳۸۳) بر کپور معمولی و سلطانی و همکاران (۱۳۸۰) بر قزل‌آلای رنگین‌کمان، اختلاف معنی‌داری را در میزان MCH نسبت به گروه شاهد نشان نداد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد. علت تفاوت می‌تواند در نوع ماهیان مورد آزمایش، ماده بیهوشی و همچنین دمای آب مورد استفاده باشد.

میزان تغییرات غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز در طول آزمایش اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان نداد و این موضوع با مطالعات صورت گرفته در مورد تاثیر اسانس گل میخک بر شاخص‌های خونی توسط Velisek و همکاران (۲۰۰۵b) بر ماهی کپور معمولی، Velisek و همکاران (۲۰۰۵a) بر قزل‌آلای رنگین‌کمان، سلطانی و همکاران (۱۳۸۳) بر کپور معمولی و مطالعات انجام شده توسط Velisek و همکاران (۲۰۰۷a) بر روی

اثرات ۲- فنوکسی اتانول بر ترکیب شاخص‌های خونی کپور معمولی و قزل‌آلای رنگین‌کمان، Shaluei و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه اثرات غلظت‌های مختلف ۲- فنوکسی اتانول در فیل‌ماهی، Matsche (۲۰۱۱) و Matsche (۲۰۱۳) در مطالعه اثرات خون-شناسی MS222 در تاس‌ماهی اقیانوس اطلس و علیشاهی و همکاران (۱۳۹۵) در مقایسه اثر سه ماده بیهوشی MS222، اسانس گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور علفخوار همخوانی دارد. نتایج مطالعه انجام شده توسط Ucar و Atamanalp (۲۰۱۰) به منظور بررسی اثرات بیهوشی روغن گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول بر شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان با مطالعه حاضر همخوانی ندارد که علت این اختلاف می‌تواند به نوع ماده بیهوشی و گونه ماهی مربوط باشد.

اختلافات موجود در نتایج مطالعات مختلف می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که گونه‌های متفاوت ماهیان می‌توانند پاسخ‌های بسیار متفاوتی نسبت به یک ماده بیهوش کننده نشان دهند از سوی دیگر تفاوت در نوع ماده بیهوش‌کننده نیز خود عاملی برای بروز نتایج متفاوت است. به طورکلی نتایج مربوط به نمونه‌گیری شاخص‌های خونی ماهی شیربت بدون غوطه‌وری در ماده بیهوشی MS222 به عنوان تیمار شاهد، عدم تغییرات معنی‌دار شاخص‌های خونی را نسبت به نمونه‌گیری در ساعت اول نشان داد. این مطلب ثبات عوامل موثر بر شاخص‌های خونی را طی دوره انجام مطالعه بیان می‌کند. همچنین در تیمار کشندگی عدم تغییرات معنی‌دار شاخص‌های خونی نسبت به تیمار شاهد دیده شد. در مجموع بیهوشی با ماده MS222 سبب استرس کمی در ماهی شیربت شد، این استرس باعث ایجاد اختلال در شاخص‌های خونی شد که نوعی واکنش دفاعی در برابر استرس تحمیل شده است و توسط فرآیند سازش‌پذیری به منظور هماهنگی با اختلالات متابولیسمی و فعالیت‌های خونی در ماهی سبب متعادل شدن شاخص‌های خونی پس از سپری شدن زمان (۲۴ ساعت) همانند شرایط طبیعی شد.

منابع

ابطحی ب.، شریف‌پور ع.، آقاجانپور م.، رسولی ع.، فقیه‌زاده س.، امیدبیگی ر. و محمدنظری ر. ۱۳۸۱. مقایسه LC_{50} اسانس گل میخک و MS222 در بچه ماهیان تاس‌ماهی ایرانی، قزل‌آلای رنگین‌کمان و کپور معمولی. مجله علمی شیلات ایران، ۱۱(۳): ۱-۱۳.

سلطانی م.، امیدبیگی ر.، رضوانی گیل‌کلایی س.، مهرابی م.ر. و چیت‌ساز ح. ۱۳۸۰. مطالعه اثرات هوشبری اسانس و عصاره گل میخک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت برخی شرایط کیفی آب. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۶(۴): ۸۹-۸۵.

سلطانی م.، غفاری م.، خضرائی‌نیا پ. و بکایی س. ۱۳۸۳. مطالعه اثرات بیهوشی اسانس گل میخک هندی بر پارامترهای هماتولوژیک، برخی آنزیم‌های خون و آسیب شناسی بافت-های مختلف ماهی کپور معمولی. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۹(۳): ۲۹۹-۲۹۵.

علیشاهی م.، طولابی دزفولی ز. و مصباح م. ۱۳۹۵. اثر سه داوری بیهوشی MS222، اسانس گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۵(۳): ۴۸-۳۱.

غفله مرمضی ج. ۱۳۷۹. وضعیت تغذیه و تکامل جنسی ماهی شیربت در منابع آبی خوزستان. مجله علمی شیلات ایران، ۹(۳): ۸۰-۶۷.

قلی‌پور کنعانی ح. ۱۳۸۹. مطالعه اثر بیهوشی ناشی از الکتریسیته، اسانس گل میخک و تریکائین متان سولفانات بر برخی پاسخ‌های ایمنی ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). رساله دکتری، دانشگاه تهران. ۷۷ص.

میرزرگر س. و صیدگر م. ۱۳۸۴. فنون بیهوشی و تسکین در آبزیان (ترجمه). انتشارات دانشگاه تهران. ۲۲۷ص.

نظیفی س. ۱۳۷۶. هماتولوژی و بیوشیمی بالینی پرندگان. انتشارات دانشگاه شیراز. ۲۷۶ص.

Abdolazizi S., Ghaderi E., Naghdi N. and Bahrami Kamangar B. 2011. Effects of clove oil as an anesthetic on some hematological parameters of *Carassius auratus*. Journal of Aquaculture Research and Development, 2(1): 1–3.

Benfey T.J. and Biron M. 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture, 184: 167–176.

Bell G.R. 1987. An outline of anesthetics and anesthesia for Salmonids: A guide for fish culturists in British Columbia.

Pacific Biological Station, Canada. 16P.

Bourne P.K. 1984. The use of MS 222 (tricaine methanesulphonate) as an anaesthetic for routine blood sampling in three species of marine teleosts. Aquaculture, 36(4): 313–321.

Feldman B.F., Zinkl J.G. and Jain N.C. 2000. Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 1344 P.

Flynn S.R., Matsuoka M., Reith M., Martin-Robichaud D.J. and Benfey T.J. 2006. Gynogenesis and sex determination in shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum* Lesuere. Aquaculture, 253(4): 721–727.

Gomulka P., Wlasow T., Velisek J., Svobodova Z. and Chmielinska E. 2008. Effects of eugenol and MS222 anaesthesia on Siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brandt. Acta Veterinaria Brno, 77: 447–453.

Imanpoor M.R., Bagheri T. and Hedayati S.A.A. 2010. The anesthetic effects of clove essence in Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. World Journal of Fish and Marine Sciences, 2(1): 29–36.

Marco P.D., Petochi T., Longobardi A., Priori A., Finoia M.G., Donadelli V., Corsalini I. and Marino G. 2011. Efficacy of tricaine methanesulphonate, clove oil and medetomidine-ketamine and their side effects on the physiology of sturgeon hybrid *Acipenser naccarii* × *Acipenser baerii*. Applied Ichthyology, 27(2): 611–617.

Matsche M.A. 2011. Evaluation of tricaine methanesulfonate (MS222) as a surgical anesthetic for Atlantic Sturgeon *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*. Applied Ichthyology, 27(2): 600–610.

Matsche M.A. 2013. Relative physiological effects of laparoscopic surgery and anesthesia with tricaine methanesulfonate (MS-222) in Atlantic sturgeon *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*. Applied Ichthyology, 29(3): 510–519.

Misra C.K. Das B.K. and Mukherjee S.C. 2009. Immune response, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings fed with levamisole supplemented diets for longer duration. Aquaculture Nutrition, 15(4): 356–365.

Pawer H.B., Sanaye S.V., Sreepada R.A., Harish V., Suryavanshi U. and Tanu Ansari Z.A. 2011. Comparative efficacy of four anaesthetic agents in the yellow seahorse, (*Hippocampus kuda* Bleeker, 1852). Aquaculture, 311: 155–161.

Pridikaris C., Cosmas N., Evanglia G., Ugwemorubong Ujagwung G., Konestantina B., Fotini A.,

Ageliki P. and Ioannis P. 2010. Size-relative effectiveness of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) and goldfish (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758). Acta Veterinaria Brno, 79: 481–490.

Ross L.G. and Ross B. 2008. Anesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals. Blackwell, Oxford. 222P.

Shaluei F., Hedayati A., Jahanbakhshi A. and Baghfalaki M. 2012. Physiological responses of great sturgeon (*Huso huso*) to different concentrations of 2-phenoxyethanol as an anesthetic. Fish Physiology and Biochemistry, 38(6): 1627–1634.

Thrall M.A. 2004. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams and Wilkis, USA. 544P.

Ucar A. and Atamanalp M. 2010. The effects of natural (clove oil) and synthetical (2-phenoxyethanol) anesthesia substances on hematology parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta fario*). Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(14): 1925–1933.

Velisek J., Svobodova Z., Piackova V., Groch L. and Nepejchalova L. 2005a. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio*). Veterinarni Medicina, 6: 269– 275.

Velisek J., Svobodova Z. and Piackova V. 2005b. Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Acta Veterinaria Brno, 74: 139–146.

Velisek J., Svobodova Z. and Piackova V. 2007a. Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on haematological profile on common carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta Veterinaria Brno, 76: 487–492.

Velisek J., Wlasow T., Gomulka P., Svobodova Z. and Novotny L. 2007b. Effects of 2-phenoxy-ethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis* L.). Veterinarni Medicina, 52(3): 103–110.

Velisek J., Stara A., Li Z.H., Silovska S. and Turek J. 2011. Comparison of the effects of four anaethetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. Aquaculture, 310: 369–375.

Wedemeyer G.A. and Mcleay D.J. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. P: 247–275. In: Pickering A.D. (Ed.). Stress and Fish. Academic Press, London, UK.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 7, No. 3, Autumn 2019

Research Paper

Effects of MS222 on hematological indices of *Arabibarbus grypus* in anesthetic and lethal concentration

Zeinab Mangashti[1,2], Narges Javadzadeh[1]*, Hadideh Mabudy[1]

Received: July 2018 Accepted: December 2018

Abstract

The aim of this study was to compare different anesthetic and lethal concentrations of MS222 on blood parameters of *Arabibarbus grypus*. For this purpose, 18 pieces of fish with an average weight of 150 5.5g were divided into 3 types of treatments: 1) without anesthesia (control), 2) the treatment with a concentration of 750 mgL^{-1} of anesthetic agent, and 3) treatment with a concentration of 6250 mgL^{-1} used for lethal dosage. Blood samples were taken from control, anesthesia (at 0, 6, 12 and 24 hours after anesthesia) and lethal treatments. Hematological parameters including the number of red (RBC) and white blood cells (WBC), hematocrit, hemoglobin, MCV, MCH and MCHC were determined. Hematocrit percentages and hemoglobin levels in the 6 and 12 hours treatments showed a statistically significant decrease compared to the control, 0 hour and lethal concentrations ($P<0.05$). Overall counts of RBC in all treatments except the 6 hours treatment showed a significant increase ($P<0.05$). MCH and MCV showed a significant decrease in the treatments of 12 and 24 hours compared to the control ($P<0.05$). MCHC and the percentage of monocytes in all treatments were higher than control ($P> 0.05$). Overall WBC count and heterophil content decreased in 0 to 6 hours, and in the other treatments, there was an increasing trend ($P<0.05$). In conclusion, the results showed that anesthesia with MS222 caused slight stress in the fish. This stress caused an initial disturbance in blood parameters that was triggered by a stress response defense and then returned to normal by the adaptation process after 24 hours, so the use of this anesthetic in aquaculture research is unhindered.

Key words: Arabibarbus grypus, *MS222, Hematological Parameters, Anesthesia, Lethal.*

1- Associate Professor in Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.
2- Associate Professor in Department of Fisheries, Khuzestan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.
*Corresponding Author: nargesjavadzadeh@yahoo.com