

بررسی تأثیر عصاره‌ی هیدرو الکلی جوز هندی *Myristica fragrans* و فلفل سفید *Piper nigrum* به‌عنوان ماده‌ی بی‌هوش کننده بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*

چکیده

پژوهش حاضر سال ۱۳۹۸ باهدف مطالعه‌ی تأثیر عصاره‌ی هیدرو الکلی جوز هندی *Myristica fragrans* و فلفل سفید *Piper nigrum* بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی، با مقادیر ۲، ۴، ۶ و ۸ و ۱۰ گرم در لیتر جهت بی‌هوشی ۷۲ عدد ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $34/45 \pm 3/33$ گرم انجام گرفت. برای هر عصاره تعداد ۳۰ ماهی در نظر گرفته و یک گروه ۱۲ تایی از ماهیان به‌عنوان شاهد تحت تأثیر هیچ‌یک از عصاره‌ها قرار نگرفتند. خون‌گیری از ماهیان در حین بی‌هوشی و ۲۴ ساعت بعد از هوشیاری ماهیان انجام و شاخص‌های خونی شامل تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و مقدار هموگلوبین و هماتوکریت اندازه‌گیری شدند. مقادیر فوق‌الذکر از عصاره‌ی هیدرو الکلی جوز هندی و فلفل سفید در مدت‌زمان از دست دادن تعادل (شروع بی‌هوشی)، بی‌هوشی کامل و مدت‌زمان بازگشت هوشیاری، اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/05$). میانگین تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در بی‌هوشی با عصاره‌ی هیدرو الکلی جوز هندی در حین بی‌هوشی و ۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی نسبت به گروه شاهد، معنی‌دار نبودند ($P > 0/05$)، اما در مورد گلبول‌های سفید که مقدار آن در حین بی‌هوشی و ۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی به ترتیب، $1/31 \pm 1/74$ و $1/22 \pm 9/30$ بود، اختلاف معنی‌دار در ۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید ($P < 0/05$). در بی‌هوشی ماهی کپور معمولی با عصاره‌ی هیدرو الکلی فلفل سفید مشخص شد که میانگین تعداد گلبول‌های قرمز در حین بی‌هوشی و ۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی، به ترتیب $1/55 \pm 8/19$ و $6/69 \pm 0/98$ بود و نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$)، ولی در تعداد گلبول‌های سفید در ۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی و در هماتوکریت و هموگلوبین در حین بی‌هوشی نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$). با توجه به تغییرات کمتر فاکتورهای خونی در بی‌هوشی با عصاره‌ی جوز هندی این ماده به‌عنوان ماده‌ی مناسب‌تر جهت بی‌هوشی قابل استفاده می‌باشد.

واژگان کلیدی: کپور معمولی، عصاره‌ی هیدرو الکلی جوز هندی، عصاره‌ی هیدرو الکلی فلفل سفید،

بی‌هوشی، شاخص‌های خونی.

مقدمه

خانواده‌ی کپور ماهیان *Cyprinidae* بزرگ‌ترین خانواده‌ی ماهیان استخوانی و یکی از مهم‌ترین خانواده‌های ماهیان آب شیرین می‌باشد. کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از مهم‌ترین ماهیان گرمابی دارای ارزش اقتصادی بوده و تکثیر و پرورش آن در دنیا از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. در ایران نیز سالانه تعداد زیادی از آن‌ها تکثیر و در حوضه‌ی جنوبی دریای خزر رهاسازی می‌گردند (کیوانی، ۱۳۸۷).

محسن پاکباز^۱

فلورا محمدی زاده^{۲*}

امیر هوشنگ بحری^۳

دلارام نخبه زارع^۴

مریم طلا^۵

۱، ۲، ۳، ۴. گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه

آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران

۵. گروه شیلات، واحد قشم، دانشگاه آزاد اسلامی،

قشم، ایران

*مسئول مکاتبات:

Fmohammadi13@gmail.com

کد مقاله: ۱۴۰۰۰۲۰۷۹۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۱۰

این مقاله پژوهشی و برگرفته از رساله‌ی دکتری است.



مواد بی‌هوش کننده و آرام‌بخش در آبی‌پروری و در آزمایش‌های پژوهشی نظیر زیست‌سنجی، نمونه‌گیری از خون، جراحی، تولیدمثل کنترل‌شده، کاهش اختلالات فیزیولوژیک و نیز در کاهش صدمات فیزیکی و همین‌طور مرگ آسان Euthanasia کاربرد دارند (میرزرگر و همکاران، ۱۳۸۴). مواد بی‌هوشی با پایین آوردن عملکرد سیستم عصبی، پاسخ به استرس را کاهش می‌دهند، لیکن نوع و مقدار ماده و زمان، می‌تواند بر فیزیولوژی ماهی تأثیر بگذارد (Tort et al., 2002).

انتخاب و به‌کارگیری مواد بی‌هوشی در آبیان، بیشتر با در نظر گرفتن عواملی نظیر سرعت ایجاد بی‌هوشی، بازگشت سریع هوشیاری، غیر سمی بودن آن‌ها برای انسان و جانور، بازماندگی کمتر در بافت‌ها، تجزیه‌ی سریع در محیط آبی و قیمت آن‌ها انجام می‌گردد (Sattari et al., 2009).

در اکثر تحقیقات تجربی انجام‌شده در ماهیان، از داروهای بی‌هوشی استفاده می‌گردد، بدون آن‌که به اثرات فیزیولوژیک و ایمونولوژیک این داروها توجه شود (Ortuno et al., 2002).

از آنجاکه در استفاده از تری‌کائین‌متان‌سولفات MS222 که پرکاربردترین ماده‌ی بی‌هوشی در ماهیان بوده است، ضمن آن‌که دوره‌ی منع مصرف ماهی بعد از تجویز آن وجود دارد، گران‌قیمت نیز می‌باشد، لذا سایر مواد بی‌هوش کننده موردتوجه قرار گرفتند که ارزان‌قیمت‌تر بوده و اثرات سوء کمتری داشتند. در این راستا اسانس گل میخک که معایب MS222 را ندارد، به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای MS222 در ایران مطرح شد، لیکن در استفاده از اسانس گل میخک، بازگشت هوشیاری طولانی‌تر از MS222 می‌باشد (Sattari et al., 2009).

جوزهندی بانام علمی *Myristica fragrans* درختی شبیه به نارنج است که در مناطقی همچون هند و شرق اندونزی می‌روید و عصاره‌ی هیدرو الکلی آن محتوی ترکیبات ناجورحلقه یا هتروسیکلی Heterocyclic compounds، ترکیبات آلکالوئیدی Alkaloid compounds، نیتروژنی و روغن‌های فراری چون ترپنوئیدها Terpenoids، مشتقات پروپان Peropane و فنل Phenol می‌باشد و ضد اضطراب، ضد تشنج، ضد تشکیل لخته، ضد میکروب و ضد انگل، مسکن و محافظت‌کننده از اشعه است (Wahab et al., 2008).

جالب‌توجه است که فلفل سفید و فلفل سیاه هر دو میوه‌ی یک گیاه هستند و تفاوت آن‌ها فقط در زمان برداشت آن‌ها می‌باشد. به‌این ترتیب که فلفل سفید قبل از رسیدن شدن از بوته چیده شده و در آفتاب خشک می‌شود، در صورتی‌که فلفل سیاه پس از رسیدن شدن، چیده می‌شود. در طب سنتی از فلفل برای درمان درد دندان، سرفه و به‌طور کلی تسکین درد و آرام‌بخش اعصاب استفاده می‌گردد (Chevqller, 1996). ماده مؤثر فلفل، آلکالوئیدی به نام پی پیرین Piiperine می‌باشد که اثر برجسته‌ی آن ضد درد است (Liu et al., 1984).

با توجه به آنچه گفته شد، هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر مقادیر مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی جوزهندی و فلفل سفید در بی‌هوشی برای اولین بار در دنیا بر روی ماهی کپور معمولی و اثر آن در برخی شاخص‌های خونی این ماهی حین بی‌هوشی و ۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۸ انجام گردید، ابتدا مقداری جوزهندی و فلفل سفید از عطاری خریداری شد. برای تهیه‌ی عصاره‌ی هیدرو الکلی، ۳۰ گرم از دو ماده‌ی فوق به‌وسیله‌ی آسیاب برقی Gosonic مدل خانگی پودر گردید و در ظروف درب دار ریخته آنگاه ۸۰ سی‌سی الکل سفید ۹۸ درصد و ۲۰ سی‌سی آب به هر ظرف اضافه شد. هر دو مخلوط حاصل، پس از ۲۴ ساعت از کاغذ صافی عبور داده و به‌این ترتیب عصاره‌ی هر یک از دو ماده استخراج گردید (حاجی محمدی پور و همکاران، ۱۳۸۸).

به‌منظور انجام این آزمایش، ۷۲ عدد ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $3/33 \pm 34/45$ گرم از مجتمع پرورش آبیان ده شیخ یاسوج خریداری گردید. سپس ماهیان به مدت ۱ هفته در شرایط آزمایشگاهی توسط غذای کنستانتتره، غذادهی و هوادهی و تعویض آب، نگهداری شدند.

۲۴ ساعت قبل از انجام بیهوشی، غذادهی قطع گردید. در این مدت، دمای آب ۲۱ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ۷/۹ میلی‌گرم در لیتر و pH آب ۷/۴۳ اندازه‌گیری شد. برای به دست آوردن مقادیر عصاره‌ی هیدرو الکلی جوزهندی و فلفل سفید از تصاعد هندسی استفاده شد و نهایتاً مقادیر ۲، ۴، ۸ و ۱۰ گرم در لیتر که باعث بی‌هوشی ماهیان می‌شدند، انتخاب گردیدند. ماهیان نیز به دو گروه ۳۰ تایی تقسیم‌شده و هر ۳۰ عدد ماهی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم گردیدند و یک گروه ۱۰ تایی به‌عنوان گروه شاهد منظور گردید. به‌این ترتیب برای بررسی تأثیر هر یک از دو عصاره‌ی هیدرو الکلی جوزهندی و فلفل سفید، ۵ تیمار در مجموع، ۱۰ تیمار و ۱ گروه شاهد لحاظ گردید. هیچ‌یک از ماهیان گروه شاهد در معرض عصاره‌های هیدرو الکلی قرار نگرفتند، اما هر یک از ۵ تیمار مورد آزمایش در معرض مقادیر ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ گرم در لیتر از عصاره‌های مذکور قرار داده شدند و مدت‌زمان از تجویز عصاره تا از دست دادن تعادل (شروع بی‌هوشی)، مدت‌زمان از تجویز عصاره تا بی‌هوشی کامل و مدت‌زمان بازگشت دوباره‌ی هوشیاری ثبت گردید.

در این بررسی، به دلیل آن‌که هنگام خون‌گیری از محل ساقه‌ی دمی، یاخته‌های عضلانی ناحیه‌ی خون‌گیری پاره شده و مقداری لاکتات دهیدروژناز *Dehydrogenase lactate* آزاد می‌شود، لذا خون‌گیری از قلب ماهیان پس از بی‌هوشی انجام گردید (William and Wootten, 1981).

نمونه‌های خون جهت استخراج سرم و انجام آزمایش خون‌شناسی، در لوله‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقاد خون EDTA ریخته شدند. شاخص‌های خون‌شناسی مورداندازه‌گیری در این پژوهش، شامل تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، مقدار هموگلوبین و مقدار هماتوکریت Hematocrit (نسبت حجم سلول‌های خون به کل خون برحسب درصد) بودند که شمارش گلبول‌های قرمز به روش هموسیتمتر Hemocytrometer و اندازه‌گیری مقدار هماتوکریت و هموگلوبین به روش میکرو هماتوکریت Microematocrit و سیانوهیاتوکریت انجام گردید. به‌منظور شمارش تعداد گلبول‌های سفید نیز، نمونه‌های گسترش‌خونی بر روی لام تهیه و توسط رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شدند (Rabbitto et al., 2005).

به‌منظور بررسی آماری داده‌ها، از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 با سطح اطمینان ۹۵ درصد و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL استفاده گردید.

نتایج

در این بررسی، نتایج مربوط به تأثیر عصاره‌ی هیدرو الکلی جوزهندی و فلفل سفید در بی‌هوشی ماهی کپور معمولی نشان داد که با افزایش مقدار هر دو عصاره، مدت‌زمان از تجویز عصاره تا از دست دادن تعادل و مدت‌زمان از تجویز عصاره تا بی‌هوشی کامل ماهیان، کاهش یافت. همچنین آنالیز واریانس داده‌ها بیانگر آن است که متوسط زمان از تجویز عصاره تا از دست دادن تعادل و از تجویز عصاره تا بی‌هوشی کامل ماهیان در مورد مقادیر ۲، ۴، ۸ و ۱۰ گرم در لیتر هر دو عصاره‌ی هیدرو الکلی جوزهندی و فلفل سفید اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$).

بررسی میانگین‌های مدت‌زمان بازگشت هوشیاری ماهیان در مورد هر دو عصاره‌ی هیدرو الکلی جوزهندی و فلفل سفید نشان داد که با افزایش مقدار هر دو عصاره، مدت‌زمان بازگشت هوشیاری طولانی‌تر شد که این مدت‌زمان در مورد فلفل سفید طولانی‌تر از جوزهندی بود و مقایسه‌ی میانگین داده‌های فوق توسط آزمون توکی، اختلاف معنی‌داری در مدت‌زمان بازگشت هوشیاری در مقادیر ۲، ۴، ۸ و ۱۰ گرم در لیتر از هر دو عصاره نشان داد ($P < 0.05$).

در این مطالعه، تمام مقادیر هر دو عصاره‌ی هیدرو الکلی جوزهندی و فلفل سفید باعث ایجاد بی‌هوشی گردیدند و هیچ مرگ‌ومیری مشاهده نشد، همچنین در ۲۴ ساعت پس از بی‌هوشی نیز هیچ‌گونه عوارض نامطلوب و مرگ‌ومیری روی نداد. جداول ۱ و ۲، متوسط (\pm انحراف معیار)

مدت‌زمان از تجویز عصاره تا از دست دادن تعادل، مدت‌زمان از تجویز عصاره تا بی‌هوشی کامل و مدت‌زمان بازگشت هوشیاری ماهیان در استفاده از دو عصاره‌ی الکلی جوزهندی و فلفل سفید را نشان می‌دهند.

جدول ۱: بررسی تأثیر استفاده از عصاره‌ی هیدرو الکلی جوزهندی در مدت‌زمان ازدست دادن تعادل، بی‌هوشی کامل و بازگشت هوشیاری ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (سال ۱۳۹۸).

تلفات	متوسط مدت‌زمان بازگشت هوشیاری (ثانیه)	متوسط مدت‌زمان از تجویز عصاره تا بی‌هوشی کامل (ثانیه)	متوسط مدت‌زمان از تجویز عصاره تا از دست دادن تعادل (ثانیه)	تیمارها
-	-	-	-	شاهد
-	۱۰۴/۵۰ ± ۶/۳۷ ^c	۳۴۵ ± ۵/۱۷ ^a	۲۱۲/۵۰ ± ۴/۷۳ ^a	۲ گرم در لیتر
-	۲۹۰ ± ۱۰/۰۵ ^d	۲۰۱/۳۲ ± ۴/۳۲ ^b	۱۶۸/۸۳ ± ۵/۸۴ ^b	۴ گرم در لیتر
-	۴۲۹/۳۳ ± ۱۰/۴۶ ^c	۱۵۴/۵۰ ± ۴/۰۸ ^c	۱۰۴/۰۶ ± ۶/۷۰ ^c	۶ گرم در لیتر
-	۴۸۶/۴۰ ± ۶/۲۵ ^b	۱۳۲/۵۰ ± ۲/۸۸ ^d	۷۷/۱۶ ± ۲/۵۶ ^d	۸ گرم در لیتر
-	۵۶۴/۵۰ ± ۸/۰۹ ^a	۱۲۰/۱۶ ± ۴/۴۹ ^e	۶۳/۶۶ ± ۴/۶۷ ^e	۱۰ گرم در لیتر

حروف انگلیسی، بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۲: بررسی تأثیر استفاده از عصاره‌ی هیدرو الکلی فلفل سفید در مدت‌زمان ازدست دادن تعادل، بی‌هوشی کامل و بازگشت هوشیاری ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (سال ۱۳۹۸).

تلفات	متوسط مدت‌زمان بازگشت هوشیاری (ثانیه)	متوسط مدت‌زمان از تجویز عصاره تا بی‌هوشی کامل (ثانیه)	متوسط مدت‌زمان از تجویز عصاره تا از دست دادن تعادل (ثانیه)	تیمارها
-	-	-	-	شاهد
-	۲۴۵/۵۰ ± ۴/۰۳ ^e	۳۵۴/۸۳ ± ۶/۶۷ ^a	۲۳۱/۸۳ ± ۳/۶۰ ^a	۲ گرم در لیتر
-	۲۸۹/۱۶ ± ۲۱/۸۳ ^d	۲۷۵ ± ۴/۹۳ ^b	۱۷۹ ± ۵/۰۵ ^b	۴ گرم در لیتر
-	۳۶۵ ± ۱۱/۷۱ ^c	۲۱۵/۸۳ ± ۳/۶۵ ^c	۱۳۱/۷۶ ± ۳/۶۰ ^c	۶ گرم در لیتر
-	۴۹۳ ± ۱۵/۱۵ ^b	۱۹۵/۵۰ ± ۳/۴۴ ^d	۱۱۶/۳۳ ± ۲/۶۵ ^d	۸ گرم در لیتر
-	۷۸۴/۱۶ ± ۳۳ ^a	۱۷۵/۶۶ ± ۴/۱۳ ^e	۹۸/۶۶ ± ۵ ^e	۱۰ گرم در لیتر

حروف انگلیسی، بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۳: تأثیر عصاره‌ی هیدرو الکلی جوز هندی در شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در سال ۱۳۹۸.

شاخص خونی (واحد)	گروه شاهد	حین بی‌هوشی	۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی
HB (گرم بر صد میلی‌لیتر)	۷/۲۷ ± ۱/۵۲ ^a	۷/۵۴ ± ۱/۳۴ ^a	۶/۷۳ ± ۱/۰۷ ^a
RBC (سلول در میکرو لیتر)	۰/۹۳ ± ۰/۱۴ ^b	۰/۸۵ ± ۰/۱۲ ^{ca}	۰/۹۶ ± ۰/۲۲ ^{ac}
WBC (سلول در میکرو لیتر)	۱۰/۳۸ ± ۱/۱۶ ^{bc}	۱۰/۷۴ ± ۱/۳۱ ^{ac}	۹/۳۰ ± ۱/۲۲ ^{cb}
PCV (درصد)	۲۵/۵۹ ± ۳/۴۳ ^a	۲۵/۷۷ ± ۳/۵۰ ^a	۲۴/۰۸ ± ۲/۰۳ ^a

حروف انگلیسی متفاوت، بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۴: تأثیر عصاره‌ی هیدرو الکلی فلفل سفید در شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در سال ۱۳۹۸.

شاخص خونی (واحد)	گروه شاهد	حین بی‌هوشی	۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی
HB (گرم بر صد میلی‌لیتر)	۷/۲۷ ± ۱/۵۲ ^{ba}	۸/۱۹ ± ۱/۵۵ ^{ac}	۶/۶۹ ± ۰/۹۸ ^{ca}
RBC (سلول در میکرو لیتر)	۰/۹۳ ± ۰/۱۴ ^a	۰/۹۴ ± ۰/۱۸ ^a	۰/۹۵ ± ۰/۹ ^a
WBC (سلول در میکرو لیتر)	۱۰/۳۸ ± ۱/۱۶ ^{bc}	۱۰/۵۰ ± ۱/۴۸ ^{ac}	۸/۴۳ ± ۰/۹۶ ^{cb}
PCV (درصد)	۲۵/۵۹ ± ۳/۴۳ ^{ba}	۲۸/۰۵ ± ۳/۸۲ ^{ab}	۲۳/۹۸ ± ۲/۰۳ ^{ca}

در جدول ۳ تأثیر عصاره‌ی هیدرو الکلی جوز هندی در تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت ماهیان تحت تیمار در حین بی‌هوشی و ۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی، نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$)، اما در مقدار گلبول سفید در ۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده داشت ($P < 0.05$). در بررسی شاخص‌های خونی ماهیان کپور معمولی که با عصاره‌ی هیدرو الکلی فلفل سفید بی‌هوش شدند (جدول ۴)، تعداد گلبول‌های قرمز در حین بی‌هوشی و ۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی، نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$)، ولی در تعداد گلبول‌های سفید در ۲۴ ساعت بعد از بی‌هوشی و در هماتوکریت و هموگلوبین در حین بی‌هوشی نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که هر دو عصاره‌ی هیدرو الکلی جوز هندی و فلفل سفید در مقادیر ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ گرم در لیتر باعث بی‌هوشی ماهی کپور معمولی گردیدند. در این بررسی، متوسط مدت‌زمان از تجویز عصاره تا از دست دادن تعادل در ماهیان (شروع بی‌هوشی)، با افزایش مقدار هر دو عصاره‌ی جوز هندی و فلفل سفید کاهش یافت، به‌طوری‌که در مورد عصاره‌ی جوز هندی از ۴/۷۲ ± ۲۱۲ ثانیه به ۴/۶۷ ± ۶۳/۶۶ ثانیه و در مورد عصاره‌ی فلفل سفید از ۳/۶۰ ± ۲۳۱ ثانیه به ۵ ± ۹۸ ثانیه مشاهده گردید. این کاهش زمانی، مشابه با مدت‌زمان از تجویز عصاره تا از دست دادن تعادل (شروع بی‌هوشی) در استفاده از پروپوفول Propofol در ماهی کپور علفخوار *Ctenopharyngodon idella* (۲۰ ± ۷۲ و ۷ ± ۱۵ ثانیه) به دست آمد (مرتضوی زاده و همکاران، ۱۳۹۱).

مطالعاتی که بر روی ماهی تامب کوی *Celossoma macropomum* انجام گردید، نشان داد که در استفاده از بنزوکائین، مدت‌زمان از تجویز عصاره تا شروع بی‌هوشی با افزایش مقدار آن از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تا ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر کاهش می‌یابد (Gomes et al., 2001).

و نتایج مطالعات مشابهی که بر روی ماهی سیچلاید گوره خری *Cichlasoma nigrofasciata* انجام گرفت مشخص شد که اسانس روغن اسطوخودوس بر بی‌هوشی ماهی اثر معنی‌دار داشت و با افزایش مقدار آن مدت‌زمان شروع بی‌هوشی کاهش یافت (Raisi et al., 2019) در تحقیقات انجام‌گرفته بر روی گربه‌ماهی ژاپنی *Silurus asotus* که با روغن میخک و MS222 بی‌هوش شد (Park, 2019) و ماهیان کپور معمولی که با پودر میخک بی‌هوش شدند مشخص شد با افزایش غلظت این مواد به‌صورت خطی زمان بی‌هوشی کاهش یافت (Nasreen et al., 2018) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در این تحقیق، با افزایش مقدار عصاره‌ی هیدرو الکلی جوز هندی و فلفل سفید، ماهیان در مدت‌زمان کوتاه‌تری بی‌هوش شدند که کمترین میانگین (\pm انحراف معیار) زمان رسیدن به بیهوشی در مورد عصاره‌ی جوزهندی ($4/49 \pm 120/66$ ثانیه)، مربوط به مقدار ۱۰ گرم در لیتر و کمترین میانگین رسیدن به بی‌هوشی در مورد فلفل سفید ($4/13 \pm 174/66$ ثانیه)، مربوط به مقدار ۱۰ گرم در لیتر بود.

در مطالعه‌ای که روی کپور معمولی *Cyprinus carpio* و تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus* انجام شد نیز مشاهده گردید که با افزایش مقدار اسانس میخک، مدت‌زمان از تجویز عصاره تا رسیدن به بی‌هوشی کامل، کاهش می‌یابد (سلطانی، ۱۳۸۶). در این مطالعه، ضمن آن که مقادیر مختلف عصاره‌ی هیدرو الکلی جوزهندی و فلفل سفید باعث بی‌هوشی ماهیان کپور معمولی گردید، هیچ تلفاتی نیز مشاهده نشد، بنابراین بسته به نوع فعالیت موردنظر بر روی ماهی و مدت‌زمان موردنیاز برای انجام آن فعالیت، می‌توان از مقادیر مختلف عصاره استفاده نمود.

گلبول‌های سفید خون یکی از اجزای مهم دفاع اختصاصی هستند که در خون، اندام‌های لنفاوی و برخی دیگر از بافت‌ها یافت می‌شوند و دارای فعالیت بیگانه‌خواری و فعالیت آنتی‌بادی هستند. تعداد این سلول‌ها به‌عنوان شاخص خوبی برای ارزیابی وضعیت سلامت جانوران آبی محسوب می‌شود. در تحقیقاتی که توسط Farhadi (۲۰۱۱) و Gholipour Kanani (۲۰۱۰) به ترتیب در ماهی امور *Ctenopharyngodon idella* و قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* صورت گرفت، تغییر تعداد و نسبت گلبول‌های سفید خون به دنبال بی‌هوشی با اسانس میخک، فنوکسی اتانول و بی‌هوشی الکتریکی ماهیان مشاهده گردید و در تحقیقی دیگر بررسی اثرات بی‌هوشی MS222 بر شاخص‌های خونی ماهی شیربت *Arabibarbus grypus* توسط مانگشتی و همکاران (۱۳۹۸) موردبررسی قرار گرفت که اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد گلبول‌های سفید وجود نداشتند نتایج حاصل از بی‌هوشی کپور معمولی با عصاره‌ی فلفل سفید و جوزهندی در پژوهش حاضر نیز افزایش تعداد گلبول‌های سفید و اختلاف معنی‌دار آن نسبت به گروه شاهد را نشان داد (Farhadi, 2011; Gholipour, 2010) که دلیل آن می‌تواند استرس ناشی از دست‌کاری باشد.

در بررسی تأثیر اسانس گل میخک بر روی فاکتورهای خونی ماهی برزم لب پهن *Barbus barbuls* توسط پذیرش و همکاران (۱۳۹۷) مشخص شد میزان هموگلوبین تعداد گلبول‌های قرمز و سفید اختلاف معنی‌داری نداشتند و همچنین در بررسی تأثیر شاپسند لیمویی و به لیموی سفید بر بی‌هوشی ماهی آمازونی *Serrasalmus eigenmanni* هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری را در پارامترهای خونی نشان نداد (Ana et al., 2019)، اما نتایج حاصل از تحقیقی که اثرات استرس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* را موردبررسی قرارداد نشان داد که به‌طورکلی استرس سبب افزایش هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول‌های قرمز می‌گردد (Casillas and Smith, 1974). در مطالعه‌ای که اثر ماده‌ی ۲ فنوکسی اتانول را بر روی شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی کپور نقره‌ای *Hypophthalmichthys molitrix* موردبررسی قرارداد مشخص گردید که این ماده باعث اختلاف معنی‌دار در مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت شد (Hedayati, 2019) و نتایج حاصل از استفاده‌ی عصاره‌ی فلفل سفید نیز باعث اختلاف معنی‌دار در هموگلوبین و هماتوکریت شد که با نتایج فوق مطابقت داشت، اما استفاده از عصاره‌ی هیدرو الکلی جوزهندی، تفاوت معنی‌داری در مقدار هموگلوبین، گلبول قرمز و هماتوکریت نشان نداد که با نتایج فوق هم‌خوانی نداشت و این اختلاف می‌تواند به نوع ماده‌ی بی‌هوشی و گونه‌ی ماهی مربوط شود. اختلاف موجود در نتایج مطالعات مختلف می‌تواند بیانگر این موضوع

باشد که گونه‌های متفاوت ماهیان می‌توانند پاسخ‌های متفاوتی نسبت به یک ماده‌ی بی‌هوش کننده نشان دهند از سوی دیگر تفاوت در نوع ماده‌ی بی‌هوش کننده نیز خود عاملی برای بروز نتایج متفاوت است.

به‌طور کلی و با توجه به نتایج به‌دست‌آمده عصاره‌ی هیدرو الکلی جوز هندی تأثیرات کمتری بر روی فاکتورهای خونی کپور معمولی داشت که می‌تواند به‌جای عصاره‌ی هیدرو الکلی فلفل سیاه به‌عنوان ماده‌ی بی‌هوش کننده موردبررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

از جناب آقای ضرغام دشتیان و همکاران ایشان که صمیمانه در آنالیز شاخص‌های خونی همکاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را می‌نماییم.

منابع

- پذیرش، ن.، جوادزاده، ن.، و معبودی، ح.، ۱۳۹۷. تعیین دوز بی‌هوش‌کنندگی، کشندگی و بررسی تأثیر اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر فاکتورهای خونی ماهی بزم لب پهن (*Barbus barbulus*). مجله‌ی بهره‌برداری و پرورش آبزیان، شماره‌ی ۴، صفحات ۵۲-۴۱.
- کیوانی، ی.، ۱۳۸۷. خلاصه رده‌بندی فیلوژنتیکی ماهی‌ها. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، ۲۲۰ ص.
- سلطانی، م.، ۱۳۸۶. بررسی اثرات بی‌هوشی عصاره و اسانس گل میخک در برخی از گونه‌های آبزیان پرورشی. موسسه تحقیقات شیلات ایران، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر. ۳۶ ص.
- حاجی محمدی پور، ه.، خانوی، م.، شکرچی، م.، عابدی، ز.، و پیرعلی همدانی، م.، ۱۳۸۸. بررسی بهترین روش استخراج ترکیبات فنلی موجود در گیاه سرخارگل. فصلنامه‌ی گیاهان دارویی. شماره ۳۲: صفحات ۱۵۲-۱۴۵.
- مانگشتی، ز.، جواد زاده، ن.، و معبودی، ح.، ۱۳۹۸. بررسی اثر ماده‌ی بی‌هوشی MS222 بر شاخص‌های خونی ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*). مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. شماره ۳: صفحات ۵۳-۵۱.
- مرتضوی زاده، ع.، پیغان، ر.، یونس زاده فشلمی، م.، و شریفیان، م.، ۱۳۹۱. غلظت مناسب داروی بی‌هوشی پروپوفول در ماهی بنی sharpeyi *Barbus*. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۲، صفحات ۱۴۲-۱۳۳.
- میرزرگر، س.، س. و. و صیدگر، م.، ۱۳۸۴. فنون بی‌هوشی و تسکین در آبزیان، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۲۵-۷.
- Ana, P. G. A., Tiago, G. C., Berta, M. H., Adalberto, L. V. and Bernardo, B., 2019. Stress-reducing and anesthetic effects of the essential oils of *Aloysia triphylla* and *Lippia alba* on *Serrasalmus eigenmanni*. Journal Neotropical Ichthyology. vol.17 no.2 Maringá 2019 Epub July 18, 2019.
- Casillas, E. and Smith, L. S., 1974. Effects of stress on blood coagulation and haematology in rianbow trout exposed to hypoxia, Journal Fish Biology. 6. PP: 379-380.
- Chevqller, H. A., 1996. The Encyclopediat of medicinal plants. Doling Kinder Sicy Publish. 1996.
- Farhadi, R., 2011. Effects of MS222, *Eugenia caryophyllata* extract and phenoxy ethanol on some hematological factors of grass carp, Master Thesis, Science and Reasearch branch of Azad University of Ahwaz. 89p.
- Gholipour Kanani, H., 2010. Effect of anesthesia induction with electricity, *Eugenia caryophyllata* extract and MS222 on some immune responses of *Oncorhynchus mykiss*. Phd Thesis, Veterinary medicine faculty of Tehran University. 77p.
- Gomes, L. C., Adriana, R., Lopes, Z. N. P., Roubach, R. and Lima, C., 2001. Efficacy of Benzocaine as an anesthetic in juvenile, Tambaqui, *Colossoma macropomum*. Journal of the World Aquaculture Society. USA. 32(4): 426-429.
- Hedayati, A. A., 2018. Effects of 2-phenoxyethanol (2-PE) anesthesia on some haematological and biochemical indices of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 17(1): 1-10.

- Liu, G. A., Algeri, S., Ceci, A., Garattini, S., Gobbi, M. and Murai, S., 1984.** Stimulation of serotonin synthesis in rat brain after antiepilepsitine and antiepileptic piperine derivative, *Biochemical Pharmacology*, 33(23): 3883.
- Nasreen, M. A., Bakhan, R. H. and Nadir, A. S., 2018.** Physiological impacts of using clove powder as fish anesthetic on young common carp (*Cyprinus carpio*) under different levels of temperatures. *Journal of Applied Veterinary Sciences*, 3(1): 1-11.
- Ortuno, J., Esteban, M. A. and Meseguer, J., 2002.** **Effective of Phenoxyethanol on the innate immune system of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) exposed to crowding stress. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 89: 29-36.**
- Park, I. S., 2019.** **The Anesthetic Effects of Clove Oil and MS-222 on Far Eastern Catfish, *Silurus asotus*. *Development and Reproduction*,. 23(2): 183-191.**
- Rabitto, I. S., Costa, J. R. M. A., Silva de Assis, H. C., Randi, M. A. F., Akaishi, F. M., Pelletier, E. and Oliveira Ribeiro, C. A., 2005.** Dietary Pb(II) and TBT (tributyltin) exposures to neotropical fish *Hoplias malabaricus*: Histopathological and biochemical findings. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 60. PP: 147-156.
- Raisi, A., Davoodi, F., Afshar-Ghahremani, S., Shayan, T., Sharifi, S. and Adel, M., 2019.** Evaluation of the Anesthetic and Tranquilizing Effects of Clove Powder (*Syzygium aromaticum*) and Lavender Oil (*Lavandula officinalis*) in Convict Cichlid Fish (*Cichlasoma nigrofasciata*). *Iranian journal of veterinary surgery*.15(1): 1-7.
- Ross, L. G. and Ross, B., 1999.** Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Science, Oxford, UK. 87P.
- Sattari, A., Mirzargar, S. S., Abrishamifar, A., Lourakzadegan, R., Bahonar, A., Mousavi, H. E. and Niasari, A., 2009.** Comparison of electroanesthesia with chemical anesthesia (MS 222 and Clove Oil) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using plasma cortisol and glucose responses as physiological stress indicators. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advance*, 4: 306-313.
- Shalvei, F., Hedayati, A., Jahanbakhshi, A. and Baghfalaki, M., 2012.** Physiological responses of great sturgeon (*Huso huso*) to different concentrations of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic. *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*, 38(6): 1627-1634.
- Thomas, P. and Robertson, L., 1991.** Plasma cortisol and glucose stress responses of reef drum (*Selaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidant, *Aquaculture*, 96(1):69-80.
- Tort, L., Piugcerved, M., Crespo, S. and Padros, P., 2002.** Cortisol and hematological response in sea bream and trout subjected to the anaesthetics clove oil and 2-phenoxyethanol. *Aquaculture Research*, 33: 907-910.
- Wahab, A., Haq, R. U., Ahmed, A., Khan, R. A. and Raza, M., 2008.** Anticonvulsant activities of nutmeg oil of *Myristica fragrans*. *Phytotherapy Research*, 23: 153 - 8.
- William, H. A. and Wootten, R., 1981.** Some effects of therapeutic levels of formalin and cooper sulphate on blood parameters in rainbow trout. *Aquaculture* 24: 341-353.