مقایسه اثرات ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک و PI222 به عنوان مواد بیهوشی بر میزان گلوکز و هورمون کورتیزول پلاسمای خون در ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)

سمیه تجار[۱]، مژگان خدادادی*[۲]، مهران جواهری[۲]

۱- گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران، صندوق‌پستی:۱۴۵۱۵/۷۷۵

۲ - گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران، صندوق‌پستی:۱۹۱۵

تاریخ دریافت: ۱۱ آبان ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: ۹ اسفند ۱۳۹۴

چکیده

افزایش نیازکارگاه‌های تکثیرو پرورش ماهی به استفاده از بیهوش‌کننده‌ها ، مطالعه تأثیر بیهوش‌کننده‌های جدید را به منظور جایگزینی و معرفی یک ماده با کم‌ترین آسیب و استرس به ماهی را طلب می‌کند. در این مطالعه به بررسی اثرات سه ماده بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک و PI222 بر شاخص‌های استرس (گلوکز و هورمون کورتیزول) در ماهی کپورنقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) پرداخته شده است. ابتدا ۱۲۰ عدد ماهی با بهترین دوز هریک از مواد بیهوشی (بر این اساس که بیهوشی را در کم‌تر از۳ دقیقه و ریکاوری را در کم‌تر از۵ دقیقه ایجاد کند) (۲- فنوکسی اتانول ۳۰۰ قسمت در میلیون، عصاره گل میخک و PI222 ۵۰ قسمت در میلیون) بیهوش و سپس در زمان‌های ۰، ۶ و ۲۴ ساعت بعد از ریکاوری مورد خونگیری قرار گرفتند و میزان گلوکز و هورمون کورتیزول آن‌ها جهت تعیین میزان استرس وارده در حین بیهوشی مورد بررسی هماتولوژیک قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۲- فنوکسی اتانول باعث افزایش معنی‌دار گلوکز ($P<۰/۰۵$) گردید و به عنوان ماده بیهوش کننده استرس زا و عصاره گل میخک و PI222 به دلیل عدم تغییرات معنی‌دار در این شاخص‌ها به عنوان بیهوش‌کننده‌های مناسب تشخیص داده شدند.

کلمات کلیدی: بیهوشی، استرس، *Hypophthalmichthys molitrix* ، ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک، PI222.

* عهده‌دار مکاتبات (✉).mjkhodadadi@iauahvaz.ac.ir

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

مقدمه

خانواده کپورماهیان بزرگ‌ترین خانواده ماهیان استخوانی و یکی از مهم‌ترین خانواده‌های ماهی‌های آب شیرین است . مهم‌ترین ماهی‌های پرورشی گرم آبی از جمله کپور نقره‌ای یا فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) متعلق به این خانواده هستند و تقریباً در همه حوضه‌های آبی ایران یافت می‌شوند(کیوانی،۱۳۸۷). در ایران پرورش کپورماهیان یکی از فعالیت‌های قدیمی و از زیربخش‌های مهم شیلات محسوب می‌شود. کپور نقره‌ای که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته، یکی از با ارزش‌ترین ماهیان پرورشی این خانواده می‌باشد که پرورش آن کاملاً اقتصادی و مقرون به صرفه می‌باشد (وثوقی ومستجیر، ۱۳۸۵).

توسعه روزافزون آبزی پروری در بسیاری از مناطق دنیا منجر به افزایش درخواست به کارگیری و استفاده از مواد شیمیایی جدید شده است. ازجمله ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در آبزی پروری مواد بیهوش کننده هستند که در عملیات تشخیص و معاینات بهداشتی، تکثیر مصنوعی، کاهش استرس در زمان حمل و نقل، انجام مطالعات تحقیقاتی، در هنگام تخم‌کشی، جراحی و هر عملیاتی که همراه با درد باشد جهت آرام کردن یا بیهوشی استفاده از داروهای بیهوشی، اجتناب ناپذیر است (سلطانی و همکاران،۱۳۸۰). از جمله مواد بیهوشی مورد استفاده برای آبزیان تریکائین متان سولفات (MS222)، بنزوکائین، کینالدین، ۲- فنوکسی اتانول، متومیدات، اتومیدات وگل میخک و.... را می‌توان نام برد. موادبیهوشی مناسب در آبزی‌پروری باید ویژگی‌های متعددی را دارا باشند که از آن جمله می‌توان به ایجادسریع بیهوشی، ریکاوری سریع، غیر سمی بودن برای ماهی و انسان و محیط زیست، نداشتن اثرات سوء فیزیولوژیک و در دسترس بودن و ارزان بودن آن اشاره کرد (مهرابی،۱۳۷۶). تحقیقاتی نیز در مورد این مواد صورت گرفته است از جمله اثرات بیهوشی اسانس گل میخک را بر پارامترهای هماتولوژیک ، برخی آنزیم‌های خون و آسیب شناسی بافت‌های مختلف ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرارگرفت و نتایج نشان داد که مصرف اسانس گل میخک تا۲۰۰ قسمت در میلیون به عنوان ماده بیهوشی در آبزی پروری بی خطر و قابل توصیه است (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۳). اثرات بیهوشی با عصاره گل میخک بر ترکیب خونی ماهی طلایی (*Crassius auratus*) که نشان داد بیهوشی تا غلظت ۷۵ قسمت در میلیون اثرات غیر قابل برگشت و عوارضی برای ماهی طلایی ندارد (Abdolazizi *et al*., 2011). مقایسه تأثیر بیهوشی با دی‌اکسیدکربن، عصاره‌گل میخک و کشتار خارج از آب برگوشت ماهی کپور معمولی، که نشان داد ماهی بیهوش شده با عصاره گل میخک کیفیت گوشت به مراتب بالاتری نسبت به سایر تیمارها دارد (رحمانی فرح و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین‌دوز مناسب ۲- فنوکسی اتانول، در ماهی سیم خط طلایی (*Sparus sarba*) ۴۰۰ قسمت در میلیون (Hseu *et al*., 1998) و در بأس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) ۳۵۰ قسمت در میلیون و در سیم سر طلایی (*Sparus aurata*) ۳۰۰ قسمت در میلیون تعیین شد و غلظت ۴۰ppm قسمت در میلیون نیز برای عصاره گل میخک در بأس اروپایی وسیم سرطلایی ذکرشد (Mylonas *et al*., 2005).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

عصاره گل میخک و PI222 و دو-فنوکسی اتانول به عنوان مواد بیهوش کننده مورد بررسی در این مطالعه با توجه به در دسترس بودن و رایج بودن در کشور و همچنین ارزان و بی خطر بودن برای ماهی، کاربر و محیط زیست انتخاب شدند. عصاره گل میخک به عنوان یک ماده بی خطر شناخته شده عمومی توسط سازمان غذاو داروی آمریکا (FDA) برای استفاده جهانی معرفی شده است. دو- فنوکسی اتانول نیز یک مایع معطر روغنی بی رنگ با بو و طعم سوختگی است و قابلیت انحلال در آب آن ۲۷ گرم برلیتر در ۲۰ درجه سانتی‌گراد است و به عنوان یک بیهوش کننده موضعی اغلب مورد استفاده قرار می‌گیرد (Merck and Company, 1989). PI222یک ماده بیهوش کننده جدید و کاملاً طبیعی است که توسط شرکت پارس ایمن دارو با نام تجاری پی – آی – ۲۲۲ (به لحاظ تولید در شرکت پارس- ایمن - دارو) تولید گردیده است که یک ترکیب صد در صد گیاهی است. بوی نافذ و طعمی تند مزه و ادویه ای دارد. رنگ آن قهوه ای روشن بوده و به سهولت در آب حل می‌شود. این ترکیب فاقد هر گونه سمیت و عوارض جانبی است. پی – آی – ۲۲۲ فاقد دوره پرهیز مصرف است و به هیچ وجه سبب آلودگی محیط زیست نمی‌شود. مهم‌ترین مواد تشکیل دهنده پی – آی – ۲۲۲ را کارواکرول، تیمول، اوژنول، اوژنیل استات، کاریوفیلین، هومولن، اکسیدکاریوفیلن تشکیل می‌دهند.

از آنجایی‌که ترکیبات خون ماهی تحت تأثیر استرس‌های محیطی است، بیهوش کردن ماهی خود می‌تواند به عنوان یک استرس تلقی شود. 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 (رأس و راس، ۱۹۹۹). اثرات استرس اغلب زیان آور است، لذا اندازه‌گیری برخی از فاکتورهای سرم خون و هورمون‌های خونی نظیر کورتیزول و گلوکز برای سنجش میزان استرس احتمالی ناشی از مواد بیهوش کننده و بررسی تغییرات آن‌ها، می‌تواند شاخصی از وضعیت سلامتی ماهی قلمداد شود و همچنین به عنوان معیاری برای سنجش مناسب بودن دارو مورد استفاده قرارگیرد. لذا بکارگیری ماده‌ای مناسب برای بیهوشی به جهت کاهش استرس و عوارض جانبی یکی از موارد مهم و با اهمیت می‌باشد (باورصاد الله داد، ۱۳۸۶).

مواد و روش‌ها

این بررسی در خرداد و تیرماه ۱۳۹۰ در مرکز تکثیر وپروش آبزیان شوش واقع در ۹ کیلومتری جاده شوش- دزفول انجام شد. ۲۴۰ قطعه ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) نر و ماده با میانگین وزنی ۳۹/۵۱ ± ۲۰۱/۶۶ گرم و میانگین طول کل ۱/۶۲± ۲۶/۷۹ سانتی‌متر و میانگین طول استاندارد ۱/۳۱± ۲۲/۸۵ سانتی‌متر که از لحاظ ظاهری سالم بودند انتخاب گردید و به استخر سیمانی غنی از فیتوپلانکتون (جهت تغذیه ماهی در مدت سازگاری) در محیط باز با ابعاد ۴ × ۳ متر انتقال داده شد و به مدت دو هفته جهت سازگاری نگهداری گردید(Abdolazizi *et al.*, 2011). فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب روزانه در زمان نگهداری ماهی‌ها و اجرای آزمایش اندازه گیری گردید و میانگین آن‌ها ثبت شد. به این ترتیب که میانگین درجه حرارت آب ۲/۲۵±۲۳ درجه سانتی‌گراد و میزان اکسیژن آب ۱/۳۷ ± ۸/۵ میلی‌گرم بر لیتر و pH

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

آب برابر با ۷ ثبت گردید. شرایط سلامت ماهی از نظر ظاهری و شنای نرمال مورد بررسی قرار گرفت تا ماهی در شرایط استاندارد از نظر عدم وجود استرس‌های محیطی و عدم تغییر در عوامل فیزیکی و شیمیایی آب نگهداری شود. پس از سازگاری،ماهی‌ها در ۸ گروه ۳۰ تایی، برای مواد بیهوشی مورد مطالعه شامل ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک، PI222 و گروه شاهد تقسیم شدند و به حوضچه‌های داخل سالن با ابعاد ۱×۱/۵×۱ متر انتقال و به مدت ۲۴ ساعت در این حوضچه‌ها نگهداری شدند. در این مدت تغذیه ماهی‌ها به منظور کاهش استرس و کاهش نیاز اکسیژنی در حین عملیات بیهوشی، قطع گردید (Sattari *et al*., 2009). هوادهی دائمی نیز برقرار بود. در این بررسی تعیین دوز مناسب برای سه ماده بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول، عصاره گل میخک و PI222 در ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) بر این اساس که ماهی را در کم‌تر از ۳ دقیقه بیهوش کند و کم‌تر از ۵ دقیقه بازگشت از بیهوشی صورت گیرد طبق نظر Schoettger و Julin (۱۹۶۷)، صورت گرفت. هریک از مواد بیهوشی در ۴ دوز مختلف آزمایش گردید که در هر دوز ۱۰ عدد ماهی از نظر مدت زمان القاء بیهوشی و بازگشت از آن مورد بررسی قرارگرفت. عصاره گل میخک با مقادیر ppm ۲۵ ، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ به نوبت در ظروف پلاستیکی تا حجم ۲۵ لیتر تهیه گردید(Abdolazizi *et al*., 2011) سپس ماده بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول نیز در۴ دوز مختلف با مقادیر ppm۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰ و ۴۰۰ به نوبت تهیه شد(Mattson and Riple, 1989). ماده بیهوشی دیگر با نام تجاری PI222 به عنوان یک ماده جدید در بیهوشی آبزیان از شرکت گیاهان دارویی پارس ایمن دارو (تهران–ایران) تهیه گردید و در ۴ دوز مختلف با مقادیرppm ۲۵ ، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ تهیه شد و همانند موادبیهوشی دیگر مورد آزمایش قرار گرفت و زمان‌های القاء بیهوشی و بازگشت از آن در دوزهای مختلف برای این ماده نیز ثبت گردید.به علت جدید بودن این ماده بیهوشی، برای تعیین محدوده دوزهای مورد آزمایش، با تکیه به روش آزمون و خطا این محدوده در نظر گرفته شد که با موفقیت همراه بود و دوز مناسب در همین محدوده قرار داشت. لذا بهترین دوز برای ۲- فنوکسی اتانول ۳۰۰ و برای عصاره گل میخک و PI222 نیز دوز ۵۰ قسمت در میلیون تعیین شد (تجار و همکاران، ۱۳۹۰).

جهت اندازه‌گیری میزان استرس ناشی از بیهوشی، مواد بیهوشی مورد بررسی با دوز تعیین شده تا حجم ۲۵ لیتر در ظروف پلاستیکی همراه با هوادهی تهیه شد. برای هر ماده بیهوشی ۳۰ عدد ماهی (در واقع برای هر ماده بیهوشی سه تیمار شامل زمان‌های خونگیری ۰،۶ و۲۴ ساعت بعد از ریکاوری تعیین شد که هر تیمار دارای ۱۰ تکرار بود) و برای گروه شاهد نیز ۳۰ عدد ماهی در نظر گرفته شد. ماهی‌ها در دوز مناسب بیهوش و سپس مورد ریکاوری قرار می‌گرفتند و بعد از ریکاوری نمونه گیری از خون انجام می‌گرفت. نمونه‌گیری از خون در۳ نوبت (درمورد گروه شاهد ماهی‌ها بدون اینکه تحت تأثیر ماده بیهوشی قرار گیرند نمونه‌گیری شدند) صورت می‌گرفت. به این ترتیب که از هر تیمار ۶ عدد از ماهی‌ها به طور تصادفی بلافاصله بعد از ریکاوری یعنی در زمان صفر، خونگیری انجام شد. نوبت‌های بعدی خونگیری، ۶ ساعت بعد و ۲۴ ساعت بعد از ریکاوری انجام شد. خونگیری از ورید ساقه دمی و با استفاده از سرنگ ۵ میلی آغشته به هپارین صورت گرفت. سپس نمونه خون به لوله آزمایش یکبارمصرف مخصوص دستگاه سانتریفیوژ تخلیه و با

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

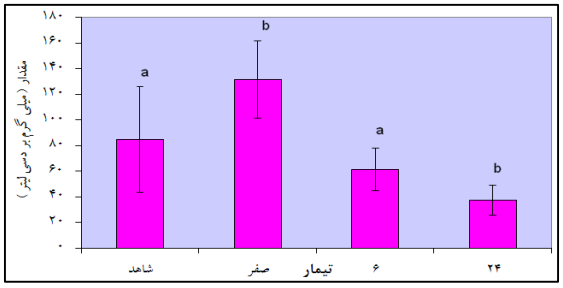
سرعت ۳۰۰۰ دور در ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. نهایتاً پلاسمای خون با سمپلر جداسازی شد و به میکروتیوب درپوش‌دار منتقل گردید و تا زمان انجام آزمایش‌های تعیین گلوکز و کورتیزول، در دمای ۱۸- درجه سانتی-گراد قرار گرفت (Sattari *et al.*, 2009). برای تعیین مقدار گلوکز از روش آنزیماتیک و با استفاده از کیت گلوکز ساخت شرکت پارس‌آزمون (کرج-ایران) انجام شد (Sattari *et al.*, 2009; Adetunji *et al.*,2008). برای تعیین کورتیزول نیز از روش الایزا و با استفاده از کیت‌های دیامترا ساخت کشور آلمان استفاده شد (Sattari *et al.*,2009; Sink *et al.*, 2008). همچنین به منظور بررسی اختلاف معنی‌داری از آزمون آنالیزواریانس یکطرفه و آزمون دانکن با استفاده از نرم افزار SPSS 16 با سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. جهت رسم نمودار نیز نرم افزار Excel 2003 مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

نتایج تغییرات شاخص‌های استرس(گلوکز وکورتیزول) در ماهی کپورنقره‌ای بیهوش شده با ۲-فنوکسی اتانول

الف) تغییرات میزان گلوکز خون

متوسط مقدار گلوکز تیمار شاهد ۴۱/۰۴±۸۴/۸۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و در در هنگام نمونه‌گیری در زمان صفر، ۶ و ۲۴ ساعت بعد از ریکاوری به‌ترتیب ۳۰/۱۷±۱۳۱/۵، ۱۶/۶۲±۶۱/۵، ۱۱/۸۲±۳۷/۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر می‌باشد که در شکل ۱ نشان داده شده است. آنالیز واریانس این داده‌ها نشان می‌دهدکه میزان گلوکز در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری با هم دارد (P<۰/۰۵). با توجه به شکل ۱ بیش‌ترین میزان گلوکز در زمان صفر یعنی بلافاصله بعد از ریکاوری و کم‌ترین مقدار آن در زمان ۲۴ می‌باشد. بنابراین میزان گلوکز با گذشت زمان روند کاهشی داشته است. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن مبین این است که گلوکز در زمان صفر اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها دارد. تیمار شاهد نیز با دو زمان ۰ و ۲۴ اختلاف معنی‌دار دارد. ولی با زمان ۶ اختلاف معنی‌دار ندارد. بنابراین تیمار ۰، ۲۴ و شاهد در سه گروه جداگانه قرار می‌گیرند و گروه ۶ در هردو گروه ۲۴ و شاهد قرار می‌گیرد.



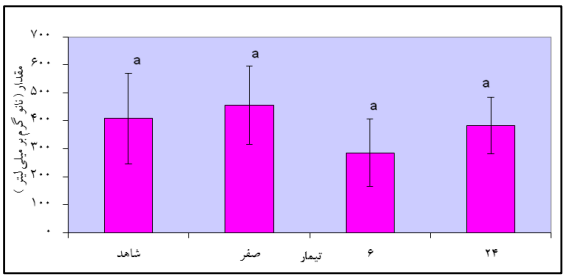
شکل ۱: میزان گلوکز پلاسمای خون ماهی کپورنقره‌ای در تیمارهای مختلف ۲- فنوکسی‌اتانول.
*حروف انگلیسی متفاوت، بیانگر وجود اختلاف معنی‌داری است.

ب) تغییرات میزان کورتیزول خون

در بیهوشی با ۲- فنوکسی‌اتانول میزان کورتیزل خون در زمان‌های ۰ و ۶ و ۲۴ ساعت بعد از ریکاوری به‌ترتیب ۱۴۰/۱۶± ۴۵۵/۸۳، ۱۲۰/۹۱ ± ۲۸۵/۶۶، ۱۰۰/۵۷ ± ۳۸۳/۸۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد که اختلاف معنی‌داری نداشت (P<۰/۰۵) (شکل۲). بیش‌ترین میزان کورتیزول در زمان صفر و کم‌ترین مقدار آن مربوط به ۶ ساعت بعد از ریکاوری است. درنتیجه با گذشت زمان میزان کورتیزول کاهش یافته است و مجدداً در ۲۴ساعت بعد افزایش داشته است

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

(شکل ۲). در مقایسه با تیمار شاهد که سطح کورتیزول آن برابر با ۴۰۸/۳۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر است، میزان کورتیزول به واسطه بیهوشی با ۲- فنوکسی‌اتانول بلافاصله بعد از ریکاوری افزایش یافته است (شکل ۷) که نشان دهنده افزایش میزان استرس در ماهی در اثر بیهوشی با این ماده می‌باشد. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن مبین این است که هیچ‌کدام از تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری ندارند و همگی در یک گروه طبقه‌بندی می‌شوند.



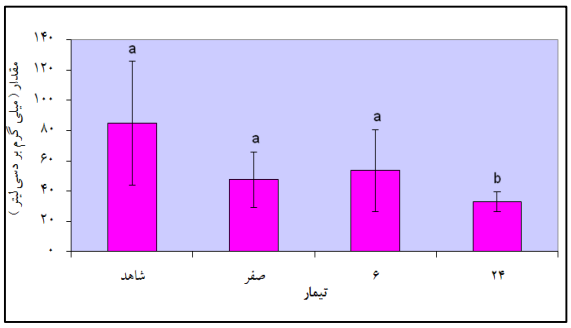
شکل۲: میزان کورتیزول پلاسمای خون ماهی کپورنقره‌ای در تیمارهای مختلف ۲- فنوکسی‌اتانول.

نتایج تغییرات شاخص‌های استرس(گلوکز وکورتیزول) در ماهی کپورنقره‌ای بیهوش شده با عصاره گل میخک

الف) تغییرات میزان گلوکز

متوسط مقدار گلوکز تیمار شاهد ۴۱/۰۴ ± ۸۴/۸۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و در هنگام نمونه‌گیری در زمان صفر، ۶ و ۲۴ ساعت بعد آر ریکاوری به‌ترتیب ۴۷/۵±۱۸/۴۶، ۴۱/۵±۲۷/۲۰، ۳۳±۶/۵۳ میلی‌گرم بر دسی لیتر می‌باشد(شکل۳). میزان گلوکز در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). با توجه به شکل ۳ بیش‌ترین میزان گلوکز خون در بیهوشی با عصاره گل‌میخک در زمان نمونه‌گیری در زمان ۶ می‌باشد. این مقدار بعد ازگذشت ۲۴ ساعت روند کاهشی یافته و به کم‌ترین میزان خود رسید.

همچنین در تمامی زمان‌ها سطح آن کم‌تر از سطح تیمارشاهد با مقدار ۴۱/۰۴ ± ۸۴/۸۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر می‌باشد. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن مبین این است زمان ۲۴ و تیمار شاهد باهم اختلاف معنی‌داری دارند. در نتیجه زمان ۲۴ و شاهد در گروه‌های جداگانه طبقه‌بندی می‌شوند ولی زمان ۰ و ۶ به همراه هم در هردوی این گروه‌ها جای می‌گیرند.



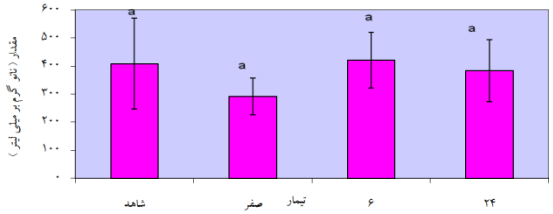
شکل۳: میزان گلوکز پلاسمای خون ماهی کپور نقره‌ای در تیمارهای مختلف عصاره گل میخک

ب) تغییرات کورتیزول خون

در بیهوشی با عصاره گل‌میخک میزان کورتیزل خون در زمان‌های ۰ و ۶ و ۲۴ ساعت بعد از ریکاوری به ترتیب ۶۶/۳۳± ۲۹۱/۵، ۹۹/۷۷±۴۲۱، ۱۱۰/۲۸±۳۸۲/۸۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد(شکل۴). که این مقادیر در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (P<۰/۰۵). در نتیجه، با توجه به شکل ۴ بیش‌ترین میزان کورتیزول مربوط به زمان ۶ می‌باشد. مقدار کورتیزول با گذشت ۲۴ ساعت از ریکاوری کم‌کم کاهش یافته است. کم‌ترین میزان نیز مربوط به زمان صفر می‌باشد. در تمامی زمان‌ها سطح کورتیزول از شاهد با مقدار۱۶۱/۸۲ ± ۴۰۸/۳۳ کم‌تر است. همچنین طبق آزمون دانکن هیچ یک از تیمارها

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

با هم اختلاف معنی‌دار نداشته در نتیجه همگی در یک گروه طبقه‌بندی می‌شوند.

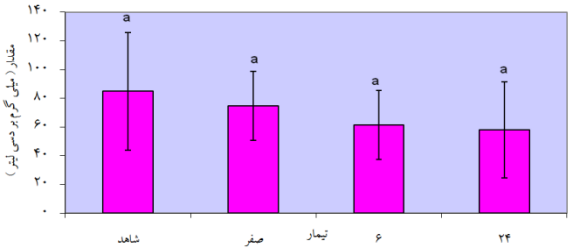


شکل۴: میزان کورتیزول پلاسمای خون ماهی کپور نقره‌ای در تیمارهای مختلف عصاره گل‌میخک

نتایج تغییرات شاخص‌های استرس(گلوکز وکورتیزول) در ماهی کپورنقره‌ای بیهوش شده با PI222

الف) تغییرات میزان گلوکز

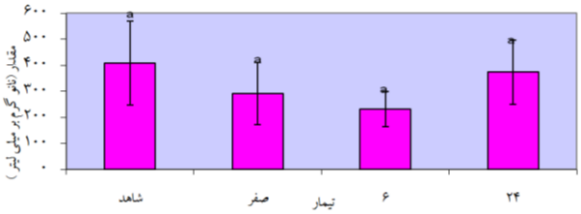
میزان گلوکز خون در بیهوشی با PI222، با توجه به شکل ۵ در زمان صفر یعنی بلافاصله بعد از ریکاوری در بیش‌ترین میزان خود به مقدار ۲۳/۹۲ ± ۷۴/۸۳ میلی گرم بر دسی‌لیتر اندازه‌گیری شد. در زمان ۶ مقدار گلوکز ۲۳/۹۶ ± ۶۱/۵ میلی گرم بر دسی‌لیتر وکم‌ترین مقدار آن در زمان ۲۴ به میزان ۳۳/۴۲ ± ۵۷/۸۳ میلی گرم بر دسی‌لیتر تعیین شد. آنالیز واریانس این داده‌ها نشان می‌دهد که میزان گلوکز در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (P<۰/۰۵). این نتیجه حاصل می‌شود که با گذشت زمان میزان گلوکز کاهش یافته است. اما در تمام زمان‌ها سطح آن کم‌تر از سطح تیمار شاهد با مقدار۴۱/۰۴± ۸۴/۸۳ میلی گرم بر دسی‌لیتر می‌باشد. طبق آزمون دانکن هیچ‌یک از تیمارها با هم اختلاف معنی‌دار نداشته در نتیجه همگی در یک گروه طبقه‌بندی می‌شوند.



شکل ۵: میزان گلوکز پلاسمای خون ماهی کپورنقره‌ای در تیمارهای مختلف PI222

ب)تغییرات کورتیزول خون

در بیهوشی با PI222 میزان کورتیزل خون در زمان‌های ۰ و ۶ و ۲۴ ساعت بعد از ریکاوری به‌ترتیب ۱۲۰/۱۱ ± ۲۹۰/۸۳، ۶۷/۹۴± ۲۳۱/۶۶، ۱۲۲/۷۸± ۳۷۳/۳۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد که اختلاف معنی‌دار نداشت (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان کورتیزول در زمان ۲۴ و کم‌ترین مقدار آن مربوط به زمان ۶ است (شکل ۶). همچنین با توجه به شکل ۶ در مقایسه با تیمار شاهد که سطح کورتیزول آن برابر با ۱۶۱/۸۲±۴۰۸/۳۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر است، میزان کورتیزول به واسطه بیهوشی با PI222 افزایشی پیدا نکرده است و طبق آزمون دانکن تیمار ۶ و شاهد در گروه‌های جداگانه قرار می‌گیرند و تیمارهای ۰ و ۲۴ به همراه هم در هردو گروه جای می‌گیرند.

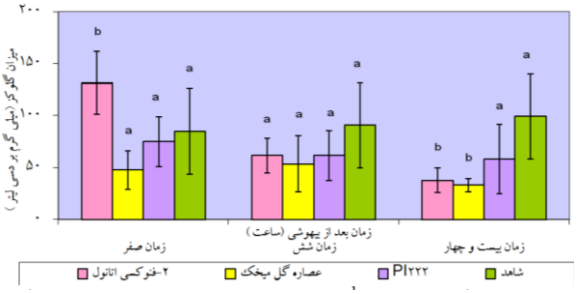


شکل۶: میزان کورتیزول پلاسمای خون ماهی کپورنقره‌ای در تیمارهای مختلف PI222

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

مقایسه مقادیر گلوکز خون در زمان‌های ۰، ۶ و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی با ۲- فنوکسی‌اتانول، عصاره گل‌میخک، PI222 و تیمار شاهد

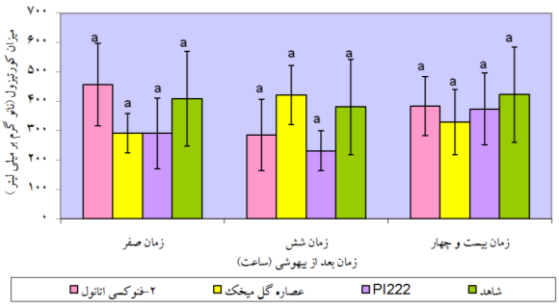
مقایسه میزان گلوکز در تیمار شاهد و تیمارهای حاصله از دوز مناسب هرکدام از مواد بیهوشی، با توجه به شکل ۷ نشان می‌دهد که فقط ۲- فنوکسی‌اتانول در زمان صفر باعث افزایش میزان گلوکز در ماهی شد. زیرا مقدار آن بیش‌تر از میزان گلوکز تیمار شاهد در زمان صفر می‌باشد. ولی با گذشت ۶و ۲۴ ساعت روند کاهشی داشته است و به سطحی کم‌تر از میزان شاهد رسیده است. عصاره گل‌میخک و PI222 دارای میزان گلوکز کم‌تری در تمام زمان‌ها نسبت به شاهد می‌باشند. به‌طور کلی، در۲- فنوکسی‌اتانول افزایش اولیه در زمان صفر نشان دهنده افزایش استرس در ماهی در مواجهه با داروی بیهوشی است که با گذشت زمان این استرس کاهش یافته است.



شکل ۷: مقایسه مقادیر گلوکز خون ماهی کپور نقره‌ای در زمان‌های مختلف بعد از بیهوشی با ۲- فنوکسی‌اتانول، عصاره گل میخک، PI222 و تیمار شاهد.

مقایسه مقادیر کورتیزول خون در زمان-های ۰ ، ۶ و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی با ۲- فنوکسی‌اتانول، عصاره گل‌میخک، PI222 و تیمار شاهد

با توجه به شکل ۸ در زمان صفر میزان کورتیزول فقط در مورد ۲- فنوکسی اتانول بیش‌تر از میزان شاهد می‌باشد که البته این افزایش معنی‌دار نیست و در مورد دو ماده بیهوشی دیگر این میزان کم‌تر ازسطح شاهد قراردارد. در زمان ۶ این روند برعکس شده و میزان کورتیزول فقط درعصاره گل‌میخک بالاتر از شاهد است که در این مورد نیز این افزایش معنی‌دار نیست و در دو ماده دیگر کم‌تر از شاهد می‌باشد. اما در زمان ۲۴ همگی مواد بیهوشی روند کاهشی را نسبت به شاهد نشان می‌دهد.



شکل۸: مقایسه مقادیر کورتیزول خون ماهی کپور نقره‌ای در زمان‌های مختلف بعد از بیهوشی با ۲- فنوکسی‌اتانول ، عصاره گل‌میخک ،PI222 و تیمار شاهد.

بحث

تغییرات گلوکز و کورتیزول

در جریان استرس در ماهی سطح گلوکز در اثر بالا رفتن سطوح کته‌کولامین‌ها افزایش می‌یابد که منجر به پدیده هایپرگلیسمی (افزایش میزان قندخون) می‌شود که از مهم‌ترین پاسخ‌های ثانویه در ارتباط با بالا رفتن کورتیزول است. هایپرگلیسمی توسط فعالیت هورمون‌های آدرنالین و کورتیزول و سایر کته‌کولامین‌های مترشحه در طی واکنش هشدار، ایجاد می‌شود (Wendelaar, 1993).

کورتیزول نیز مهم‌ترین گلوکوکورتیکوئید بدن است که از کلسترول سنتز می‌شود. کورتیزول از جمله مهم‌ترین فاکتورها در ارزیابی بروز پاسخ ماهیان نسبت به استرس محسوب می‌شود و افزایش این هورمون در

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

زمان بروز استرس در تمام ماهیان استخوانی به اثبات رسیده است (Donaldson, 1981؛ Pottinger and Carrick, 2001).

بالارفتن سطوح کورتیزول از علائم پاسخ اولیه به استرس می‌باشد و بالا رفتن غلظت گلوکز خون، از کار افتادن هورمون تیروئید، تغییرات الکرولیت‌ها و تغییرات رفتاری از پاسخ‌های ثانویه و ثالث استرس هستند که در صورت ادامه حضور عامل استرس بروز خواهند کرد (MC Donald and Milligan, 1997؛ Schreck ***et al.***, 1991). از مهم‌ترین کاربردهای مواد بیهوشی، کاهش و به حداقل رساندن استرس در خلال عملیات‌های مختلف می‌باشد. در واقع بیهوش کننده‌ها، فعالیت محور HPI مرتبط با عوامل استرس را کاهش داده و یا متوقف می‌کنند (Iwama *et al.*, 1986). با این حال، عملیات بیهوشی می‌تواند خود واکنش‌های استرس زا را ایجاد کند(Thomas and Robertson, 1991).

در تحقیق حاضر، بیهوشی توسط ۲- فنوکسی-اتانول، باعث افزایش سطح گلوکز در ماهی کپورنقره-ای گردید. این افزایش نشان‌دهنده یک واکنش ثانویه آندوکرینی نسبت به استرس می‌باشد که درواقع این ماده بیهوشی نتوانسته از این واکنش جلوگیری کند. درنتیجه بیهوشی با ۲- فنوکسی‌اتانول باعث افزایش گلوکز در پلاسما و بروز استرس در ماهی شد. میزان کورتیزول نیز در زمان صفر بالاتر از سطح شاهد اندازه‌گیری شد که البته سطح آن نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

در تحقیقی که توسط باورصادالله داد (۱۳۸۶)، برروی بیهوشی با MS222 و گل‌میخک در فیل‌ماهی جوان انجام شد، استفاده از MS222 به‌عنوان یک ماده بیهوشی در خلال عملیات دستکاری و جابجایی و خونگیری، نتوانست فعالیت محور HPI را کاهش یا متوقف کند درنتیجه این دارو باعث افزایش غلظت کورتیزول و گلوکز گردید و به عنوان ماده‌ای استرس زا معرفی گردید.

در مطالعه‌ای نیز که روی ماهی شانک سیاه (*Acanthopagrus schlegeli*) انجام شد مشخص گردید که میزان گلوکز خون تحت تأثیر ماده بیهوشی ۲- فنوکسی‌اتانول افزایش می‌یابد که با نتایج بررسی حاضر مطابقت می‌کند(Hseu *et al.*,1996). بنابراین به نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر نیز، ۲- فنوکسی-اتانول، همانند MS222 و سایر داروهایی که باعث افزایش گلوکز وکورتیزول و درنتیجه تشدید استرس در ماهی می‌شوند، قادر به بلوک کردن سلول‌های اینترنال نمی‌باشد که نتیجه آن ترشح هورمون ACTH از هیپوفیز است که می‌تواند سلول‌های اینترنال را به منظور سنتز و ترشح کورتیکوستروئیدها تحریک کرده که حاصل آن افزایش گلوکز و کورتیزول خون ماهی است.

از سوی دیگر استفاده از برخی از مواد بیهوش کننده سبب ایجاد واکنش استرس و افزایش کورتیزول و گلوکز خون ماهیان نمی‌شود. در تحقیق حاضر، با توجه به شکل۴ در بیهوشی با عصاره گل‌میخک سطح کورتیزول در ساعت ۶ نسبت به شاهد بالاتر بود اما اختلاف معنی‌داری را نشان نداد و نهایتاً نیز در ۲۴ ساعت بعد، میزان آن کاهش یافت. میزان گلوکز نیز با توجه به شکل ۳ در همه زمان‌ها کم‌تر از سطح شاهد بود که دلیلی بر غیر استرس زا بودن این ماده است. در تحقیقی که توسط باورصادالله داد (۱۳۸۶)، انجام شد در بیهوشی فیل‌ماهیان جوان با گل میخک، ماهیان بیهوش

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

شده دارای افزایش معنی‌دار کورتیزول و گلوکز سرم خون نمی‌باشند که این یافته مشابه تحقیقات صورت گرفته از جمله در گربه‌ماهی کانالی(Small, 2003) در ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) (Iverzen *et al.*, 2003 و در گربه ماهی اروپایی (Velisek *et al.*, 2006) می‌باشد که با بررسی حاضر مطابقت دارد.

در مورد بیهوشی با ماده بیهوش‌کننده PI222 و یا تأثیر این ماده بر میزان استرس در ماهی تاکنون تحقیقی صورت نگرفته است. در تحقیق حاضر نیز در ماهیان بیهوش شده با PI222، هردوی مقادیر گلوکز و کورتیزول کم‌تر از سطح شاهد بود(شکل‌های ۵ و۶). در نتیجه این ماده هیچ گونه اثر استرس زایی برای ماهی کپورنقره‌ای به همراه نداشته است.

با توجه به نتایج حاصله ۲- فنوکسی‌اتانول از این نظر که باعث افزایش میزان گلوکز در ماهی کپور نقره-ای شد می‌تواند به عنوان یک ماده بیهوشی استرس‌زا مورد توجه باشد. عصاره گل‌میخک و PI222 نیز به خاطر عدم افزایش میزان گلوکز و کورتیزول در ماهی کپور نقره‌ای به عنوان داروهای بیهوشی مناسب مطرح می‌شوند که البته باید توجه کرد که PI222 به مراتب تأثیر کم‌تری بر افزایش گلوکز و کورتیزول و در نتیجه استرس حاصله از بیهوشی بر ماهی کپور نقره‌ای داشته است. چون عصاره گل‌میخک باعث افزایش در مقدار کورتیزول در زمان ۶ نسبت به شاهد شد که البته تفاوت سطح اندک و غیر معنی‌دار بود. لذا از این حیث نسبت به PI222 که هیچ گونه افزایش سطحی در میزان گلوکز و کورتیزول در ماهی کپورنقره‌ای ایجاد نکرده است از درجه اطمینان کم‌تری از جهت ایجاد استرس برخوردار خواهد بود. علاوه براین PI222 و عصاره گل‌میخک با توجه به عواملی مثل ارزان بودن و بی‌خطر بودن برای ماهی و کاربر و عدم اثرات منفی فیزیولوژی بر ماهی و همچنین نداشتن عوارض زیست محیطی نسبت به ۲- فنوکسی‌اتانول نیز دارای برتری می‌باشند. با توجه به اینکه ۲- فنوکسی‌اتانول طبق گزارش Morton (۱۹۹۰) در استفاده‌های منظم باعث بعضی اختلالات عصبی- فیزیولوژیک در کاربر می‌شود. در صورتی که PI222و عصاره گل‌میخک هر دو برای کاربر و ماهی کاملاً بی‌خطر می‌باشند و عصاره گل‌میخک حتی در مصارف انسانی به عنوان ادویه نیز مصرف می‌شود لذا بی‌خطر می‌باشند. همچنین این دو ماده می‌توانند در مطالعات میدانی کاربردی‌تر باشند زیرا دارای دوره منع مصرف نمی‌باشند. که این مزایا در PI222 بخصوص از حیث ارزان‌تر بودن بیش‌تر قابل توجه می‌باشد. به همین دلیل در هرمطالعه با گل‌میخک و یا PI222 ، بدون استثنا این مواد به عنوان جایگزینی مؤثر و قابل قبول برای سایر بیهوش‌کننده‌ها تلقی می‌شوند.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم مرکز تکثیرو پرورش آبزیان شوش که صمیمانه شرایط و امکانات انجام این بررسی را مهیا کردند تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

۱. باورصادالله‌داد، م.، ۱۳۸۶. بررسی اثرات استرس ناشی از دستکاری،تراکم ماهی و مواد بیهوشی و برخی شاخص‌های هورمونی و بیوشیمیایی و خونی‌در فیل‌ماهی جوان پرورشی(*Huso huso*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات خوزستان، ۲۲۴ صفحه.

۲. تجار، س.، خدادادی، م.، جواهری، م.، ۱۳۹۰. مقایسه دوز مناسب سه ماده بیهوشی ۲- فنوکسی‌اتانول،عصاره گل میخک PI222 در ماهی کپور نقره‌ای

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

(*Hypophtalmichthys moltitrix*). مجله پژوهش‌های علوم و فنون دریایی تهران شمال، ۶(۳)، ۴۰ - ۵۲.

۳. رأس، ل.ج.، رأس، ب.، ۱۹۹۹. فنون بیهوشی و تسکین در آبزیان، (ترجمه) سعید میرزرگر، مسعود صیدگر. ۱۳۸۴. انتشارات دانشگاه تهران، ۲۲۷ صفحه.

۴. رحمانی‌فرح، ک.، مولودی، ز.، معینی، س.، شعبانپور، ب.، شعبانی، ع.، ایمانپور، م.، ۱۳۸۹. مقایسه تأثیر بیهوشی با CO_2، عصاره گل‌میخک وکشتار خارج از آب برگوشت ماهی کپور معمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۵(۴).

۵. سلطانی، م.، امید بیگی، ر.، رضوانی، س.، مهرابی، م.، چیت ساز، ح.، ۱۳۸۰. مطالعه اثرات هوشبری اسانس و عصاره گل‌میخک در قزل‌آلای رنگین‌کمان را تحت برخی شرایط کیفی آب. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۶(۴)، ۸۵-۸۹.

۶. سلطانی، م.، غفاری، م.، خضرائی‌نیا، پ.، بکایی، س.، ۱۳۸۳. اثرات بیهوشی اسانس گل‌میخک هندی بر پارامترهای هماتولوژیک، برخی آنزیم‌های خون و آسیب‌شناسی بافت‌های مختلف ماهی‌کپور معمولی، مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۹(۳).

۷. کیوانی، ی.، ۱۳۸۷. خلاصه رده‌بندی فیلوژنتیکی‌ماهی‌ها. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، ۲۲۰ صفحه.

۸. مهرابی، ی.، ۱۳۷۶. مطالعه اثر بیهوشی پودر گل‌میخک برروی ماهی قزل آلای رنگین‌کمان. آبزی‌پرور، ۲۱، ۴۶-۴۹.

۹. وثوقی، غ.، مستجیر، ب.، ۱۳۸۵.ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران، ۴۱۷ صفحه.

10. Abdolazizi, Sh., Ghaderi, E., Naghdi N., Bahrami Kamang**,** B**.**, 2011. Effects of Clove oil as an anesthetic on Some Hematological Parameters of *Carassius auratus*. Aquaculture Research & Development, 2(1).
11. Adetunji, O.R., Adeleye, J.O., Salako, B.L., Kuti, M.A., 2008. Usefulness of single spot plasma glucose at routine clinic a preliminary report. Pract. Diabeties Internatio., 25, 66-68.
12. Donaldson, E.M., 1981.The pituitary-Interrenal axis as an Indicator of stress in fish. In: Pickering, A.D.(Ed.), Stress and Fish. Academic press, London, 11-40.
13. Hseu Jinn, R., Yeh Shinn, L., Chu Yeong, T., Ting Yun,Y.,1996. Influence of the anesthetic, 2-phemoxy ethanol,on Hematological parameters of black porgy (*Acanthopagrus sehlegeli*). Journal of Taiwan Fisheres Reserch, 4(2), 127-132.
14. Iwama, G.K., Mcgeer, J.C., Pawluk, MP., 1989.The effects of five fish anesthetics on acid–base balance,hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. Canadian Journal of Zoology, 67(8), 2065-2073.
15. Iverzen, M., Finstad, B., Mckinley, R.S., Eliassen, R.A., 2003. The efficacy of metomidate, Clove oil, Aqui-s and Benzoak as anesthetics in Atlantic Salmon stress-reducing capacity.Aquacalture, 22, 549-566.
16. Mattson, N.S., Riple, T.H., 1989. Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gadus Morhua*) in comparison with Benzocaine,MS-222, Chlorobutanol, and Phenoxyethanol. Aquaculture, 83(1-2), 89-94.
17. McDonal, D.G., Miligan, C.L., 1997. Chemical properties of the blood. In: Fish physiology, vol. XIIB, Eds; Hoar *et al*., Academmic press, 56-133.
18. Merck and Company, 1989. The Merck Index, 11 th ed.1606pp .Rahway,New Jersey: Merck and Company.
19. Morton, W.E., 1990. Occupational Phenoxyethanol Aeurotoxicity: a report of three cases. J. Occup. Med., 32, 42-45.
20. Constantinos C. Mylonas, C. C., Cardinaletti, G., Sigelaki, I., Polzonetti-Magni, A., 2005.Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. Aquaculture, 246(1-4), 467–481.
21. Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 2001.ACTH dose not mediate divergent stress responsiveness in rainbow trout. Comparative Biochemistry & Physiology, 129A, 399-404.
22. Schreck, C.B., Fitzpatrick M.S., G.W. Yeon, C.G., 1991. Steroids: development continuum between mother and offspring, In: Scott, A.P., Sumpter, J.P, Kime , D.E., Rolf, M.S.(EDS), Proceeding of the 4 th International symposium on the reproductive physiology of fish symp.91, Sheftield, 256-258.
23. Sink, T.D., Lochmann, R.T., Fecteau, K.A., 2008. Validation use and disadvantages of enzyme-linked immunosorbant assay kits for detection of cortisol in channel catfish largemouth bass red pacu and golden shiners.Fish Physiol.Biochem, 34, 95-101.
24. Small, B.C., 2003. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine mrthanesulfonate, quinaldin and clove oil anesthetized channel

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]

catfish (*Ictalurus punctatus)*. Aquaculture, 218, 177-185.
25. Sattari, A., Mirzargar, S.S., Abrishamifar, A., Lourakzadegan, R., Bahonar, A., Mousavi, H.E., Niasari, A., 2009. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 4(6), 306-313.
26. Schoettgar, R.A., Julin, A.M., 1967. Efficacy of MS-222 as an anesthetic on four salmonids, invest. Fish Control U.S, Dept.inl.13, 1-15.
27. Thomas, P., 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 metomhdent, Aquaculture, 96(1), 69-80.
28. Velisek, J., Walson, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., Novothy, L., Ziomek, E., 2006.Effects of clove oil anesthesia on European Catfish (*Silurus glanis* L.) Acta Vet, BR NO, 75, 99-106.
29. Wendelaar, B.S.E., 1993. Endocrinology. In: Evanus, D.H.(Ed.), thephysiologyof fishes. CRC Press, FL. 469-305.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1395.10.1.4.4]