فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ٦، شمارهٔ ٣، پاییز ١٣٩٦، صفحه ٤٣- ٦٠

کارایی دو ماده بیهوشی ترکائین متان سولفانات (MS-222) و عصاره توتون و اثر بر تغییرات فیزیولوژیک بچه‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)

خیام دل افکار [1]، مسعود ستاری [2]، حسین خارا [3]، بهرام فلاحتکار* [2]

١- کارشناسی ارشد، گروه تکثیر و پرورش، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، گیلان

٢- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، گیلان

٣- استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، گیلان

دریافت:٩٤/٠٥/٢٢ پذیرش: ٩٦/٠٨/٠٨

*نویسنده مسئول مقاله: falahatkar@guilan.ac.ir

چکیده:

کارایی دو ماده بیهوشی MS-222 در غلظت‌های ٤٥، ٥٠، ٥٥، ٦٠، ٦٥ و ٧٠ میلی‌گرم در لیتر و عصاره توتون در غلظت‌های ٣٧٥، ٤٥٠، ٥٢٥، ٦٠٠، ٦٧٥ و ٧٥٠ میلی‌گرم در لیتر برروی بچه‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) با میانگین وزن ٠/٧±٥٤ گرم در سه تکرار بررسی و شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی پلاسمای آنها تحت این دو ماده بیهوشی مقایسه گردید. نتایج نشان داد که زمان تأثیر یعنی از دست رفتن تعادل و بروز بیهوشی با افزایش غلظت در هر دو ماده کاهش پیدا کرد، ولی زمان بازگشت تعادل و واکنش به محرک خارجی نیز طولانی‌تر شد. با توجه به زمان‌های بیهوشی و بازگشت، غلظت ٦٠mg/l MS-222 و ٦٧٥mg/l عصاره توتون به‌عنوان غلظت بهینه انتخاب شدند. تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان در معرض MS-222 کاهش معناداری را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند ($p<0/05$) و به‌دنبال آن تغییر در میزان میانگین حجم یک گلبول قرمز و میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز بین تیمارها مشاهده شد ($p<0/05$). همچنین تفاوت معناداری در تعداد گلبول‌های سفید، لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل بین تیمارها مشاهده شد ($p<0/05$). برهمکنش تیمار و زمان برروی سطح کورتیزول پلاسما معنادار بود ($p<0/05$)، به‌طوری‌که افزایش معناداری در غلظت کورتیزول پلاسما در زمان صفرو یک ساعت پس از به‌هوش آمدن ماهی در تیمار عصاره توتون نسبت به سایر تیمارها در زمان‌های مختلف مشاهده شد ($p<0/05$). برهمکنش تیمار و زمان برروی سطح گلوکز پلاسما معنادار نبود ($p>0/05$)، به‌طوری‌که تغییرات گلوکز تنها در تیمار شاهد در طول زمان معنادار بود ($p<0/05$). برهمکنش تیمار و زمان برروی سطح لاکتات پلاسما هم معنادار بود ($p<0/05$) و حداکثر غلظت آن به‌طورمعناداری در ماهیان بیهوش شده با عصاره توتون در زمان صفر در مقایسه با سایر گروه‌ها و زمان‌ها مشاهده شد. در مجموع باتوجه به مشاهده تغییرات کمتر در غلظت شاخص‌های بیوشیمیایی ماهیان بیهوش شده با MS-222 در مقایسه با عصاره توتون، به نظر می‌رسد این ماده پاسخ استرسی کمتری را در بچه ماهیان استرلیاد به‌همراه داشته و بنابراین استفاده از آن نسبت به عصاره توتون، توصیه می‌شود.

کلید واژگان: استرلیاد، بیهوشی، MS-222، عصاره توتون، استرس

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

مقدمه

امروزه استفاده ازمواد آرامش‌بخش نظیر مواد بیهوشی امری معمول در آبزی‌پروری نوین است (Velisek et al., 2011). چنین موادی در خلال دستکاری، رقم‌بندی، علامت‌گذاری، روند تکثیر مصنوعی و جراحی استفاده می‌شوند تا از مشکلات ناشی از استرس مثل کاهش در تغذیه و عملکرد ایمنی بکاهند (Ross and Ross, 2008). تغییرات مرتبط با استرس در شیمی خون در طی چند ثانیه،زمانی‌که ماهی تحت شرایط استرس‌زا است (Barton and Iwama, 1991) شامل تغییر در هورمون‌های پلاسما، تعادل الکترولیت و سوخت‌وساز انرژی است. ماهی دارای سیستم عصبی پایه‌ای برای تحریک درد است(Danlup and Laming, 2005). بنابراین، برای اطمینان از سلامت ماهی در خلال دستکاری که ممکن است سبب ایجاد درد شود، استفاده از مواد بیهوشی که توانایی مسدود کردن مسیرهای ایجاد کننده درد را دارند، ضروری است (Zahl et al., 2012). در واقع مواد بیهوشی استرس را از طریق ایجاد یک توقف در عملکرد عصبی کاهش می‌دهند (Iwama and Ackerman, 1994). با این وجود، نوع ماده، غلظت استفاده و زمان در معرض گذاری می‌تواند بر روی فیزیولوژی ماهی اثرگذار باشد (Gholipour et al., 2013). عوامل مختلفی برای ارزیابی یک ماده بیهوشی مطلوب در آبزی‌پروری بیان شده است که از آن جمله می‌توان به اثرگذاری و بازگشت سریع، سمیت پایین (Soto and Burhanuddin, 1995)، حاشیه ایمنی وسیع، دسترسی آسان و قیمت پایین اشاره کرد (Pirhonen et al., 2002)، بنابراین استفاده از موادی که کمترین مضرات را داشته باشد، ضروری است.

انواع مختلفی از مواد بیهوشی با ویژگی‌های متفاوت وجود دارد. یکی از معمول‌ترین مواد بیهوشی ترکائین متان سولفانات (MS-222) است که یک ماده بیهوشی محلول در آب است و به‌طور گسترده‌ای در بیهوشی ماهی و دیگر حیوانات خونسرد استفاده می‌شود (Mitjana et al., 2014). MS-222تنها داروی بیهوشی است که از سوی سازمان غذا و دارویآمریکا (Food and Drug Administration) به‌منظور استفاده در ماهی تأیید شده است (Harper, 2003).این ماده از طریق مسدود کردن کانال سدیم موجود در غشای سلولی بر روی ماهی اثر می‌گذارد (Neumcke et al., 1981) و در ماهیان بیهوشی عمومی ایجاد می‌کند، به‌طوری‌که از انتقال پیام عصبی از محیط به قسمت‌های بالاتر سیستم عصبی جلوگیری می‌کند.تاکنون مطالعات گسترده‌ای بر روی اثر بیهوش‌کنندگیMS-222انجام شده است که از جمله می‌توان به مطالعه Mitjanaو همکاران (٢٠١٤) اشاره کرد که اثرهای بیهوشیMS-222را بر روی ماهیآنجل (*Pterophyllum scalare*)بررسی کردند. Gholipourو همکاران (٢٠١٣) و Velisek و همکاران (٢٠١١) بر روی بیهوشی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تحتتأثیرMS-222 مطالعاتی انجام دادند.Feng و همکاران (٢٠١١) اثرهای بیهوش‌کنندگی اسانس گل میخک و MS-222 را بر روی شاخص‌های بیوشیمیایی خون تاس‌ماهی سیبری *Acipenserbaerii*بررسی کردند.همچنین Alishahi و همکاران (١٣٩٣) نیز تأثیر داروی MS-222 را برروی بیهوشی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* بررسی کردند.

توتون گیاهی است با نام علمی *Nicotiana tobacum* و به خانواده بادنجانیان (Solanacoae)تعلق دارد. به برگ‌های خشک و بریده شده این گیاه تنباکو می‌گویند. گیاهی یک‌ساله به ارتفاع یک تا ٢ متر (گاهی بیشتر) و پوشیده از تارهای چسبنده بسیار کوتاه است که از تمام اندام‌های آن بوی قوی و ناپسند استشمام می‌شود. ماده مؤثر موجود در

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

توتون، نیکوتین است که به میزان ۲ تا ۵ درصد در برگ خشک آن یافت می‌شود (Hassal, 1982).به‌طورکلی، توتون به‌علت داشتن نیکوتین و آلکالوئیدهای وابسته به‌عنوان مواد مخدر شناخته شده‌استو این ویژگی باعث شده تا در برخی تحقیقاتبه‌عنوان ماده بیهوشی مطالعه شود. با توجه به ارزانی تنباکو نسبت به گل میخک و همچنین کشت وسیع آن در کشور، اثر بیهوشی این ماده بر روی بیهوشی بچهماهیان استرلیاد بررسی شد. معیارهایی که برای ارزیابی عصاره توتون به‌عنوان ماده بیهوشی مطلوب در آبزی‌پروری و تحقیق به‌کار گرفته شده شاملکاربرد آسان، ارزان بودن، غیرسمی بودن، عدممشاهده اثر پایدار بر فیزیولوژی و رفتار ماهی است که از سوی Markingو Meyer(۱۹۸۵) پذیرفته شده است. تحقیقات اندکی دربارهٔ اثر بیهوشی عصاره توتون برروی ماهیان انجام شده است. Zarghamو همکاران (۲۰۱۳) اثرهای بیهوش‌کنندگی عصاره آبی و الکلی تنباکو را برروی قزل‌آلای رنگین‌کمان مطالعه کردند.Agokei و Adebisiدر سال ۲۰۱۰ از شیرابه توتون به‌عنوان ماده بیهوشی برروی ماهی تیلاپیا *Oreochromis niloticus*استفاده کردند که نتیجه آن رضایت‌بخش بود.از دیگر تحقیقات انجام شده بر روی عصاره توتون در آبزی‌پروری بررسی اثر غلظت‌های کشنده این گیاه در گربه ماهی آفریقایی *Clariasgariepinus*است که وزن گربه ماهیان به‌همراه افزایش سمیت کاهش یافت (Kori-siakpere and Oviroh, 2011).

تاکنون مطالعات مختلفی برروی بیهوشی تاس‌ماهیان انجام شده‌است (Abtahi et al., 2002; Imanpour et al., 2010; Feng et al., 2011; Hoseini and Ghelichpour, 2012; Shaluei et al., 2012)، درحالی‌که دربارهٔ اثر بیهوش‌کنندگی عصاره توتون در این ماهیان هیچ بررسی‌ایانجام نشده است. از طرفی ماهی استرلیاد *Acipenser ruthenus* یکی از گونه‌های با ارزش تاس‌ماهیان است که شرایط زیستی و رسیدگی جنسی کوتاه‌تر نسبت به سایر ماهیان خاویاری، این ماهی را به‌عنوان الگویی مناسب برای مطالعات بیولوژیک، تغذیه‌ای و دستکاری‌های کروموزومی در بین سایر ماهیان خاویاری معرفی کرده است (Williot et al., 2005). با توجه به اهمیت و ارزش ذکر شده این گونه باید در عملیاتی که بر روی آنها انجام می‌شود نهایت دقت را داشت و در حفظ سلامت و کاهش آسیب‌های ناشی از هرگونه دستکاری، استفاده از داروی بیهوشی مناسب با غلظت بهینه اهمیت و ضرورت پیدا می‌کند. از طرفی غلظت بهینه یک ماده بیهوشی برای گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت است و همچنین گونه‌های مختلف ماهی پاسخ متفاوتی را به یک ماده بیهوشی نشان می‌دهند. این امر ضرورت تعیین غلظت بهینه مواد بیهوشی را برای ماهی استرلیاد نشان می‌دهد. بنابراین مطالعه حاضر ابتدا با هدف تعیین غلظت بهینه MS-222 و عصاره توتون انجام شد و سپس اثر غلظت بهینه این مواد بر روی شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی بررسی گردید و با بچهماهیان استرلیاد قرار گرفته در معرض استرس بدون استفاده از ماده بیهوشی مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط نگهداری

تعداد ۳۲۵ قطعه بچه ماهی استرلیاد، با میانگین (± خطای استاندارد) وزنی ۰/۷ ± ٥٤ گرم و طول کل ۰/۳ ± ۲۵/۳ سانتی‌متر حاصل تکثیر اسفند ۱۳۹۰ در مجتمع تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی پس از طی عملیات رقم‌بندی، تهیه شدند. بچهماهیانبه‌منظور سازگاری به‌مدت ۲ هفته پیش از شروع آزمایشبه تانک‌های فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری با ابعاد ۰/۵×۲ ×۲ متر (حجم

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

آبگیری ۱۰۵۰ لیتر) که به‌خوبی هوادهی می‌شدند، منتقل شدند. به‌منظور تأمین آب ورودی سیستم، تانک‌ها با جریان مداوم آب سفیدرود و آب چاه به‌صورت توأم (برای حفظ ثبات دمایی در آب تانک‌ها) با دبی ۰/۲۱ ± ۱٤/٤۲ l/min آب‌رسانی شدند. دمای آب تانک‌ها در طول دوره سازگاری و انجام آزمایش ۲/۳ ± ۱۵ ºC بود. میزان اکسیژن محلول ۰/۲ ± ۷/۱ mg/l، ۰/۱pH ± ۷/۷ و میزان سختی آب ٤/۵ ± ۱۹۱ mg/l بود. غذادهی به‌صورت روزانه به اندازه ۲-۱ درصد وزن بدن با استفاده از جیره تجاری بیومار (Nersac، France، پروتئین خام ۵۳ درصد و چربی خام۱۰ درصد) انجام شد. گفتنی است که ۲٤ ساعت پیش از شروع آزمایش و نیز در مدت انجام آزمایش‌ها برای تعیین اثرهای ماده بیهوشی بر روند بیهوشی و بازگشت از آن، ماهی‌ها تغذیه نمی‌شدند (Sharifpour et al., 2002).

آزمایش اول

تعیین غلظت بهینه

به‌منظور تعیین غلظت بهینه MS-222 و عصاره توتون از ۱۸۰ قطعه ماهی استفاده شد. هریک از مواد بیهوشی شامل ٦ غلظت مختلف بودند که برای هر کدام از غلظت‌ها ۳ تکرار درنظر گرفته شد و هر تکرار بر روی ۵ قطعه بچهماهی انجام گردید.به‌منظور به‌دست آوردن عصاره آبی توتون، پودر توتون ویرجینیاحاوی ۲/۳۵ درصد نیکوتین (شرکت دخانیات، رشت، ایران) با آب مقطر مخلوط شد. پس از عبور از صافی، عصاره به‌دست آمده در ظرفی در بسته نگهداری شد (Agokei and Adebisi, 2010).در نهایت غلظت‌های ۳۷۵، ٤۵۰، ۵۲۵، ٦۰۰، ٦۷۵ و ۷۵۰ میلی‌گرم درلیتر از آن به‌دست آمد. MS-222(شرکت Sigma-Aldrich، سنت لوئیس، آمریکا) در غلظت‌های ٤۵، ۵۰، ۵۵، ٦۰، ٦۵ و ۷۰ میلی‌گرم درلیتر آب تهیه شد.

ماهی‌ها به‌طور تصادفی از تانک‌های فایبرگلاس به‌وسیله تور دستی کوچکی گرفته شدند و به تعداد لازم به ظروف بیهوشی محتوای ۱۰ لیتر آب منتقل شدند. پیش از انتقال، برای مشاهده دقیق اثر ماده بیهوشی بر ماهی، هوادهی به ظرف بیهوشی قطع شد. تمام آزمایش‌ها با روش غوطه‌ورسازی ماهی در محلول بیهوشی انجام شد. برای اندازه‌گیری زمان‌های بیهوشی و بازگشت از طبقه‌بندی ۵ مرحله‌ای Stoskopf (۱۹۹۳) استفاده گردید. غلظت بهینه براساس مشاهدات رفتار ماهی و زمان رفت و برگشت از بیهوشی تعیین گردید.

زمانی‌که ماهی به مرحله ۳ بیهوشی، یعنی زمان از دست دادن تعادل، و مرحله ٤ بیهوشی، یعنی زمان از دست دادن کامل حرکات اختیاری و فعالیتیرسید، زمان با استفاده از یک زمان‌سنج ثبت شد و به‌ترتیببه‌عنوان زمان از دست دادن تعادل و زمان بروز بیهوشی در نظر گرفته شد. پس از بروز بیهوشی، ماهی‌ها به مخازن بازگشت (ریکاوری) محتوای ۲۰ لیتر آب که با استفاده از سنگ هوا هوادهی می‌شدند، منتقل گشتند. زمانی‌که ماهی به مرحله ۳ بازگشت یعنیزمان بازگشت کامل تعادل و مرحله ٤ بازگشت یعنی زمان بازگشت واکنش ماهی به محرک خارجی، به‌صورت ضربهزدن به دیواره مخازن رسید، زمان ثبت شد و به‌ترتیببه‌عنوان زمان بازگشت تعادل و زمان بازگشت به محرک خارجی در نظر گرفته شد. پس از انجام هر یک از آزمایش‌ها، ماهیان از مخازن بازگشت و به تانک‌های فایبرگلاس منتقل شدند و به‌مدت یک هفته برای مشاهده تلفات احتمالی در نظر قرار گرفتند.

آزمایش دوم

اندازه‌گیری شاخص‌های خون‌شناسی

بچه ماهیان استرلیاد پس از آزمایش اول به‌مدت یک هفته در تانک‌های فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری با ابعاد ۰/۵ × ۲ × ۲

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

متر با حجم آبگیری ۱۰۵۰ لیتر (سیستم نگهداری) نگهداری شدند. برای تعیین اثر بیهوشی MS-222و عصاره توتون بر روی شاخص‌های خونی، ۳ تیمار هر یک با ۳ تکرار در نظر گرفتهشد و تعداد ۲٤ قطعه بچه ماهی برای هر تیمار استفادهگردید.فقط دو تیمار در معرض غلظت بهینه مواد بیهوشی قرار گرفتند و یک تیمار شاهد (بدون قرارگیری در معرض ماده بیهوشی) هم برای تعیین چگونگی تغییرشاخص‌های خون‌شناسی در ماهیان بیهوش شده با مادهٔ بیهوشی در مقایسه با تیمار شاهد در عملیات خونگیریدر نظر گرفته شد. بچه ماهیان استرلیاد به‌صورت تصادفی از تانک‌های فایبرگلاس گرفته شدند و به ظروف پلاستیکی محتوای ۱۰ لیتر آب منتقل شدند. ماهیان دو تیمار با غلظت‌های بهینه به‌دست آمده از مرحله اول(MS-۲۲۲mg/l، عصاره توتون ٦٧٥mg/l)با روش غوطه‌ورسازیبیهوش شدند. بلافاصله پس از القای بیهوشی کامل (مرحله ٤ بیهوشی)، به سرعت دو قطعه ماهی از هر تکرار گرفته و خونگیری انجام شد. هم‌زماندو قطعه ماهی از هرتکرار تیمار شاهد گرفته شد و خونگیری از آنها بدون استفاده از مواد بیهوشی انجام گردید. خونگیری ظرف مدت یک دقیقه برای هر ماهی با استفاده از سرنگ پلاستیکی ۲ میلی‌لیتری هپارینه و از سیاهرگ دمی انجام شد. ماهیان خونگیری شده به تانک‌های فایبرگلاس سیستم نگهداری منتقل شدند. ماهیان هر تکرار که خونگیری از آنها صورت نگرفت، به تانک‌های ریکاوری پلاستیکی محتوای ۲۰ لیتر آب (آبرسانی با جریان یک طرفه) منتقل شدند. در فواصل زمانی ۱، ۳، و ٦ ساعت پس از بیهوشی، خونگیری از ماهیان باقی‌مانده از هر تکرار صورت گرفت، بدین صورت که در هر فاصلهٔ زمانی دو قطعه ماهی از هر تکرار خونگیری شدند و سپس به تانک‌های فایبرگلاس سیستم نگهداری منتقل شدند.

شاخص‌های هماتولوژیک تنها بلافاصله پس از بیهوشی اندازه‌گیری شدند، درحالی‌که شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در فواصل زمانی (بلافاصله پساز بیهوشی و ۱، ۳ و ٦ ساعت پس از بیهوشی) اندازه‌گیری شدند تا روند تغییرات غلظت کورتیزول، گلوکز و لاکتات خون مشاهد شود. شاخص‌های هماتولوژیک شامل تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، هماتوکریت (Hct)، هموگلوبین (Hb)، میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH)، میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC) و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید بود.

برای شمارش WBC، از روش Blaxhall و Daisley (۱۹۷۳) استفاده شد و تعداد آن در یک میلی‌متر مکعب خون محاسبه گردید. شمارش RBCنیز با استفاده از همین روش انجام شد و تعداد آندر یک میلی‌متر مکعب خون محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری میزان Hctاز روش میکروهماتوکریت استفاده شد، به‌طوری‌که لوله‌های هماتوکریت درون دستگاه سانتریفوژ میکروهماتوکریت قرار داده شد و پس از سپری شدن ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰g مقدار Hctبه‌وسیله صفحه مدرج مخصوص قرائت شد. اندازه‌گیری Hbبا واحد گرم در دسی‌لیتر با روش اتوماسیون Lysing sysmex با استفاده از دستگاه خودکار (Sysmex, Kobe, Japan)سنجیده شد (Dacie and Lewis, 1995). برای محاسبه شاخص‌های خونی شامل MCV، MCH و MCHC از روابط زیر استفاده گردید (Dacie and Lewis, 1995):

MCV(fl)= (مقدار هماتوکریت) / (میلیون در متر مکعب) × تعداد گلبول‌های قرمز × ۱۰

MCH (pg/cell) = (مقدار هموگلوبین) / (میلیون در متر مکعب) × تعداد گلبول‌های قرمز × ۱۰

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

١٠٠ × (مقدار هماتوکریت) / (مقدار هموگلوبین) =MCHC (g/dl)

تعیین درصد هر یک از گلبول‌های سفید خونی (لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل و نوتروفیل) با روش Houston(١٩٩٠) انجام شد و سپس سلول‌ها با عدسی ١٠٠ × میکروسکوپ نوری (Model Boeco Binocular, Germany) مشاهده و درصد هر کدام به‌طور جداگانه محاسبه شد (Řehulka, 2000).

نمونه‌های خونی در نظر گرفته شده برای بررسی‌های بیوشیمیایی با سرعت ١٦٠٠g برای ١٠ دقیقه سانتریفوژ شدند. پلاسما پس از جداسازی، در دمای ٨٠ ºC- نگهداری شد. اندازه‌گیری هورمون کورتیزول با واحد نانوگرم در میلی‌لیتر با روش رادیوایمنواسی(Redding et al., 1984) براساس واکنش رقابتی با استفاده از کیت تجاری (Immunotech, Marseille, France) انجام شد.اندازه‌گیری گلوکز با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) با روش آنزیمی رنگ‌سنجی با دستگاه اتوآنالایزر (Technicon RA-1000, USA)با طول موج ٥٠٠nm انجام گرفت (Bayunova et al., 2002).لاکتات پلاسما با روش رنگ‌سنجی و براساس یک واکنش آنزیمی اندازه‌گیری شد. این اندازه‌گیری با استفاده از کیت تجاری (شرکت زیست‌شیمی، تهران، ایران) و با دستگاه اتوآنالایزر (Technicon RA-1000, USA) با طول موج ٥٢٠nm انجام شد (Barton et al., 2005).

آنالیز آماری داده‌ها

ارزیابی طبیعی بودن داده‌ها و بررسی همگنی واریانس‌ها به‌ترتیب با استفاده از آزمون One Sample Kolmogorov-Smirnov Test و آزمون Leveneانجام شد. سپس برای تعیین اثر غلظت‌های مختلف بر روی زمان‌های القا و بازگشت و همچنین مقایسه شاخص‌های هماتولوژیک از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد. از آنالیز واریانس دوطرفه(Two-Way ANOVA) برای تعیین تفاوت‌های شاخص‌های بیوشیمیایی بین تیمارها و در طول زمان استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت، اختلاف بین میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای Tukeyبررسی گردید. سطح معنادار در نظر گرفته شده در این بررسی، p<٠/٠٥ می‌باشد.تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS (version 16, Chicago, USA) انجام شد.

نتایج

آزمایش اول

تفاوت معناداری بین میانگین زمان از دست دادن تعادل و زمان ایجاد بیهوشی کامل در بچه‌ماهیان استرلیاد تحت تأثیرغلظت‌های مختلف MS-222 و عصاره توتون وجود داشت (جدول ١؛ p<٠/٠٥).از طرفی بینمیانگین زمان بازگشت تعادل و بازگشت کامل از بیهوشی تنها در بچه‌ماهیان قرار گرفته در معرض MS-222تفاوت معنادار وجود داشت (p<٠/٠٥) و برای عصاره توتون اختلاف معناداری مشاهده نشد (p>٠/٠٥). کوتاه‌ترین زمان بروز بیهوشی کامل متعلق به تیمار MS-222 بود که با میانگین زمان ٣٤/٩ ± ٢١١/٦ ثانیه با غلظت ٧٠mg/l بود. همچنین کوتاه‌ترین زمان واکنش به محرک خارجی (٢/٦ ± ١٥٥/٣ثانیه) با غلظت ٦٠mg/l در تیمار MS-222مشاهده شد. طولانی‌ترین زمان بروز بیهوشی کامل (٣/٤ ± ٦٧٤/٠ ثانیه) با غلظت ٤٥mg/l نیز متعلق به تیمار MS-222بود. درحالی‌که، طولانی‌ترین زمان واکنش به محرک خارجی (١/٠ ± ٧٤٩/٠ ثانیه) با غلظت ٣٧٥mg/l در بچه ماهیان بیهوش شده با عصاره توتون مشاهده شد.در بین غلظت‌های آزمایش شده، عصاره توتون با غلظت ٦٧٥mg/l و MS-222 با غلظت ٦٠ mg/l به‌عنوان غلظت بهینه درنظر گرفته شدند.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

جدول ۱ میانگین (± خطای استاندارد) زمان‌های رسیدن به مراحل مختلف بیهوشی و بازگشت از آن در بچهماهیان استرلیاد تحتتأثیرغلظت‌های مختلف MS-222 و عصاره توتون.

نوع ماده بیهوشی	غلظت (گرم/میلی‌لیتر)	زمان از دست رفتن تعادل (ثانیه)	زمان بروز بیهوشی (ثانیه)	زمان بازگشت تعادل(ثانیه)	زمان بازگشت واکنش به محرک خارجی (ثانیه)
MS-222	٤٥	٥٤٤ ± ٤٣/٥^{a}	٦٧٤ ± ٣/٤^{a}	–	٤٣٤/٦ ± ٥٢/٩^{a}
	٥٠	٣٦٤ ± ٤/٥^{b}	٥٣٩/٦ ± ٨/٢^{b}	١٦٤ ± ٤^{ab}	٢٠٠/٦ ± ٢٠/١^{bc}
	٥٥	٣٢١ ± ١٦/٢٥^{bc}	٣٥٩/٦ ± ٢٣/٢^{c}	١١٩/٣ ± ٤/٩^{abc}	١٥٩/٣ ± ١٣/١^{c}
	٦٠	٢٤٠/٦ ± ١/٢^{cd}	٢٩٨/٦ ± ٦/٩^{c}	٩٣/٣ ± ٨/٨^{bc}	١٥٥/٣ ± ٢/٦^{c}
	٦٥	٢٢٣/٣ ± ١٣/٦^{cd}	٢٨٠/٣ ± ٧/٠٥^{cd}	٨٧ ± ١٤/٢^{c}	١٥٦/٣ ± ٢٠/٢^{c}
	٧٠	١٩٠ ± ١٥/٢^{d}	٢١١/٦ ± ٣٤/٩^{d}	١٩٠ ± ٣٢/١^{a}	٣١٣/٣ ± ٢٠/٠٣^{ab}
عصاره توتون	٣٧٥	٤٧٤ ± ٨^{a}	٥٤٧/٥ ± ٧/٥^{a}	٣٥٦/٥ ± ١١/٥	٧٤٩ ± ١
	٤٥٠	٤٥٠ ± ٥/٧^{a}	٥٣٢/٣ ±١٨/٠٢^{a}	٤٢٧ ± ٩٠/٥	٦٥٨/٦ ± ١٢/٢
	٥٢٥	٤٢٤ ± ١٤/٤^{ab}	٤٧٣/٣ ± ٣/٣^{ab}	٤٢٤/٣ ± ٥٥/٦	٦٢٠/٣ ± ٢٠/٨
	٦٠٠	٣٧٦/٦ ± ١٣/٣^{bc}	٣٩٦/٦ ± ٣٢/١^{bc}	٣٥٧ ± ٩٠/٠١	٥٦٨ ± ٧٥/٤
	٦٧٥	٣٣٠/٣ ± ١٧/٣^{c}	٣٧٦/٦ ± ٢١/٨^{bc}	٢٣٦ ± ١٥/٥	٥٧٠ ± ١٧/٣
	٧٠٠	٢٥١ ±٩/٥^{d}	٣٣٦/٦ ± ١٨/٥^{c}	٣٢٨/٦ ± ٣٩/٠٧	٦٠٥/٣ ± ٤٢/٨

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار بینغلظت‌های مختلف هر گروه است (p<٠/٠٥) (n =١٥ برای هر تیمار).

آزمایش دوم

شاخص‌های خون‌شناسی

تفاوت معناداری در میزان RBC، WBC، Hb و Hct بین تیمارهای آزمایش مشاهده شد (جدول ۲)،به‌طوری‌کهمیزان RBC، Hb و Hct در ماهیان قرار گرفته در معرض MS222، نسبت به گروه شاهد و توتون به‌صورتمعناداری پایین‌تر بود (p<٠/٠٥)، و بین گروه شاهد و ماهیان بیهوش شده با توتون در شاخص‌های فوق تفاوت معناداری مشاهده نشد. میزان WBC در تیمار توتون نسبت به دیگر تیمارها به‌صورتمعناداری بالاتر بود.میزان MCHC بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معناداری را نشان نداد(جدول ۲؛ p>٠/٠٥)، درحالی‌که کاهش معناداری در میزان MCV و MCH در گروه MS222نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد (p<٠/٠٥). اختلاف معناداری در میزان لنفوسیت، ائوزینوفیل و نوتروفیل در بین تیمارهای آزمایش مشاهده شد (p<٠/٠٥)،درحالی‌که مونوسیت تفاوت معناداری را نشان نداد (جدول ۲؛ p>٠/٠٥).پایین‌ترین میزان لنفوسیت در ماهیان بیهوش شده با عصاره توتون مشاهده شد (p>٠/٠٥). از طرفی دیگر، تیمار MS222 بالاترین میزان ائوزینوفیل را نشان داد (p>٠/٠٥). بالاترین میزان نوتروفیل در تیمار عصاره توتون مشاهده گردید.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

جدول ٢میانگین (± خطای استاندارد) شاخص‌های خون شناسی بچهماهی استرلیاد، بلافاصله پس از قرارگیری در معرض استرس و بیهوشی باMS-222و عصاره توتون.

شاخص‌های هماتولوژیک	MS-222 (mg/l) (٦٠)	عصاره توتون (mg/l) (٦٧٥)	شاهد
WBC ($\times 10^3$ cell/mm^3)	٥/٥٣ ± ٠/٦٩^{b}	٨/٣٣ ± ٠/٢٢^{a}	٥/٦ ± ٠/١٨^{b}
RBC ($\times 10^3$ cell/mm^3)	٧٥٠/٠ ± ٦/٤^{b}	٨٧٨/٨ ± ١٢/٣^{a}	٨٨٢/٥ ± ١٣/٢^{a}
Hb (g/dL)	٥/٨٨ ± ٠/٠٣^{b}	٧/٤٨ ± ٠/٠٧^{a}	٧/٤ ± ٠/١^{a}
Hct (%)	٢٢/٦٦ ± ٠/٢١^{b}	٢٩/٠ ± ٠/٤٤^{a}	٢٨/٦ ± ٠/٣^{a}
MCV (fl)	٣٠٢/٠ ± ٠/٦٣^{b}	٣٢٩/٨٣ ± ٥/٤٤^{a}	٣٢٤/٥ ± ١/٨^{a}
MCH (pg/cell)	٧٨ ± ٠/٣٦^{ab}	٨٤/٨٣ ± ٠/٧٤^{a}	٨٤/١ ± ٠/٣^{a}
MCHC (g/dl)	٢٥/٩١ ±٠/١٥	٢٥/٧٨ ± ٠/٢٢	٢٥/٩ ± ٠/١
لنفوسیت (درصد)	٦٩/٠ ± ٠/٥١^{a}	٦٤/٦٦ ± ١/١٥^{ab}	٦٧/٨ ± ٠/٦^{a}
نوتروفیل (درصد)	٢٥/٨٣ ± ٠/٦٠^{b}	٣١/٣٣ ± ٠/٧١^{a}	٢٧/٦ ± ٠/٣^{b}
مونوسیت (درصد)	٢/٦٦ ± ٠/٣٣	٣/٣٣ ± ٠/٣٣	٣/١ ± ٠/١
ائوزینوفیل (درصد)	٢/١٦ ± ٠/١٦^{a}	٠/٦٦ ± ٠/٣٣^{b}	٠/٦ ± ٠/٣^{b}

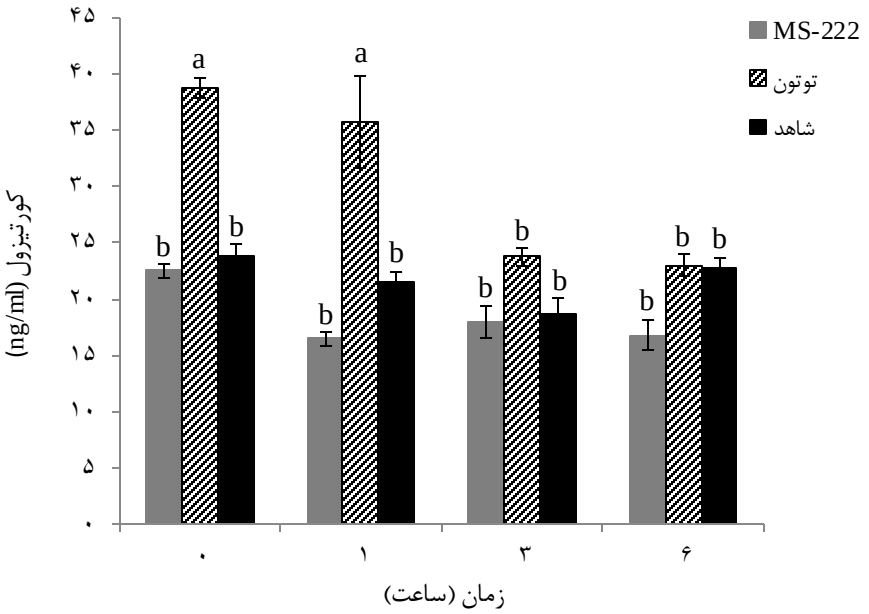
حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار بین گروه‌ها است($p<٠/٠٥$) ($n = ٢٤$ برای هر تیمار).

شاخص‌های بیوشیمیایی

تغییرات غلظت کورتیزول تحت تأثیربرهمکنش زمان و تیمار بود (شکل١؛ $p<٠/٠٥$). بیشترین میزان کورتیزول به‌طورمعناداری در ماهیان بیهوششده با عصاره توتون در زمان صفر و یک مشاهده شد، درحالی‌که بین سایر گروه‌های آزمایشی اختلاف معناداری در غلظت کورتیزول در زمان‌های مختلف وجود نداشت.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

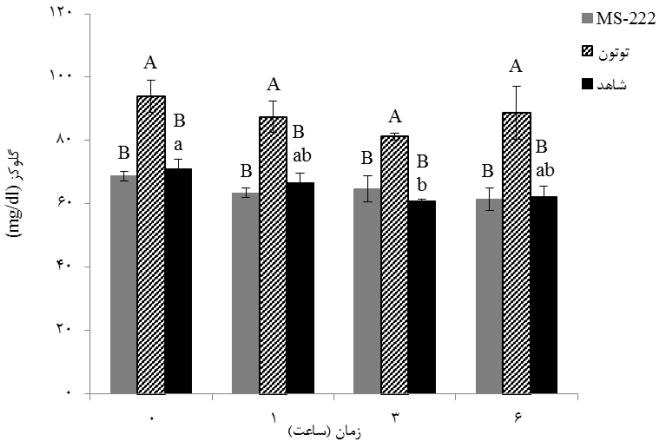


شکل۱ روند تغییرات کورتیزول پس از بیهوشی با عصاره توتون و MS-222و تیمار شاهد در بچهماهی استرلیاد در زمان‌های متفاوت نمونه‌برداریدر طول دوره آزمایش. حروف کوچک بیانگر اختلاف معناداربین میانگینتیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف صفر، ۱، ۳ و ٦ ساعت است (p<۰/۰۵). داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه شده‌اند (n = ٢٤ برای هر تیمار).

برهمکنش زمان و تیمار تأثیرمعناداری بـرروی غلظـت گلوکز نداشت (شکل ۲؛ p>۰/۰۵). در تمام زمان‌ها شاملزمان صفر، ۱، ۳ و ٦ ساعت بالاترین میزان گلوکزمتعلق به تیمار عصاره توتون بود(p<۰/۰۵)؛ درحالی‌که اختلاف معناداری بین ماهیان بیهوش شـده بـا MS-222 وتیمـار شـاهد در تمـام زمان‌های نمونه‌برداری مشاهده نشد. تغییرات دوره‌ای غلظت گلوکز در تیمار عصاره توتونو MS-222در طول دوره آزمایش معنادار نبود (p>۰/۰۵). تنها گروه شاهد اختلاف معناداری را در میزان گلوکز در طول زمان نشان دادند، به‌طوری‌که حداقل آن در ۳ ساعت بعد مشاهده شد (p<۰/۰۵) و در سایر زمان‌ها تفاوت معناداری نداشت.

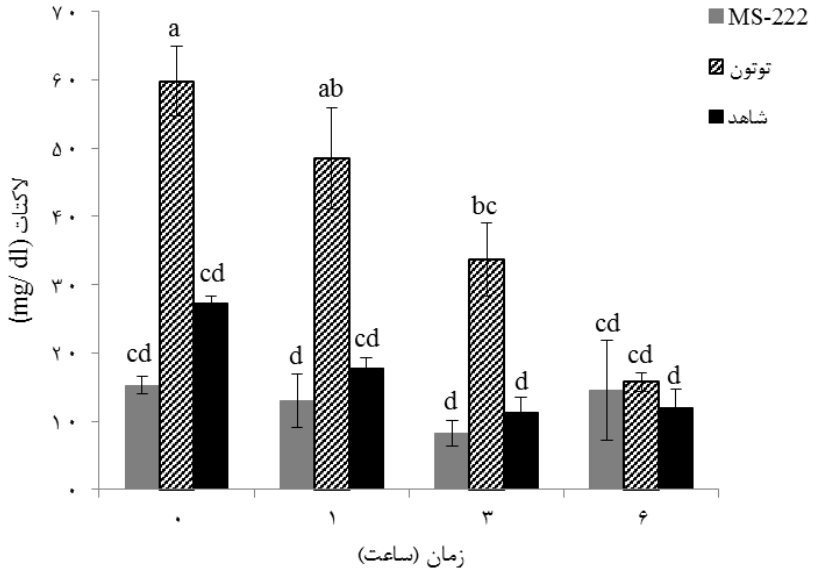
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]



شکل ۲ روند تغییرات گلوکز پس از بیهوشی با عصاره توتون و MS-222و تیمار شاهد در بچهماهی استرلیاد در زمان‌های متفاوت نمونه‌برداریدر طول دوره آزمایش. حروف بزرگ بیانگر اختلاف معناداردر یک زمان نمونه‌گیری بین تیمارهای مختلف (p<۰/۰۵) و حروف کوچک بیانگر اختلاف معناداربین میانگین‌های یک تیمار در طول آزمایش است (p<۰/۰۵). داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه شده‌اند (n = ٢٤ برای هر تیمار).

تغییراتغلظت لاکتات تحت تأثیربرهمکنش زمان و تیمار بود (شکل۳؛ p<۰/۰۵). بیشترین میزان لاکتات به‌طورمعناداری در ماهیان بیهوش شده با عصاره توتون در زمان صفر مشاهده شد و کمترین میزان آن در ماهیان بیهوش شده با MS-222 در زمان ۱ و ۳، و تیمار شاهد در زمان‌های ۳ و ٦ مشاهده شد.



شکل ۳ روند تغییرات لاکتات پس از بیهوشی با عصاره توتون و MS-222 و تیمار شاهد در بچهماهی استرلیاد در زمان‌های متفاوت نمونه‌برداریدر طول دوره آزمایش. حروف کوچک بیانگر اختلاف معناداربین میانگین تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف صفر، ۱، ۳ و ٦ ساعت است (p<۰/۰۵). داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه شده‌اند (n = ٢٤ برای هر تیمار).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

بحث

در بررسی حاضر با توجه به نتایج، دو ترکیب بیهوشی عصاره توتون و MS-222 توانست در غلظت‌های مختلف بدون مشاهده تلفات و با موفقیت باعث بیهوشی بچهماهیان استرلیاد شود. در مطالعه انجام شده از سوی Zargham و همکاران (۲۰۱۳)، زمان بیهوشی بین غلظت‌های ۲۰۰، ٤۰۰، ۸۰۰ و ۱٦۰۰ میلی‌گرم برلیتر عصاره توتون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارای اختلاف معناداری بود وغلظت‌های ۲۰۰ تا ٤۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عملکرد موفق‌تری را دارا بودند که بیهوشی را در مدت زمان کمتر از ۲ دقیقه و بازگشت را کمتر از ۵ دقیقه القا کردند؛ اما زمان بازگشت از بیهوشی اختلاف معناداری را بین غلظت‌های مختلف نشان نداد. در بررسی انجام شده بر روی بیهوشیماهی کفشک سنگالی (*Solea senegalensi*) در دو شاخص زمان بیهوشی و بازگشت، بین غلظت‌های مختلف MS-222 تفاوت معناداری مشاهده شد (Weber et al., 2009) که با نتایج بررسی حاضر مطابقت داشت. متوسط زمان بیهوشی برای هردو ماده بیهوشی با افزایش غلظت رابطهکاهشی داشت. Mitjana و همکاران (۲۰۱٤) اثرMS-222را بر روی بچهماهیان آنجل بررسی کردند و به نتیجه مشابهی دست یافتند. همچنین در مطالعه انجام شده از سوی Weber و همکاران (۲۰۰۹) بر روی ماهی کفشک سنگالی نیز افزایش غلظت MS-222،مشاهده شد. با افزایش غلظت توتون و MS-222 زمان بازگشت به‌تدریج کاهش یافت و به‌ترتیب تا غلظت ٦۰۰ و ٦۰ میلی‌گرمبه حداقل خود رسید، سپس از غلظت‌های ذکرشده به بعد زمان بازگشت افزایش یافت به‌طوری‌که حداکثرآن در بالاترین غلظت مشاهده شد.Zargham و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی خود بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان و Agokei و Adebis (۲۰۱۰) بر روی تیلاپیا (*Oreochromisniloticus*)به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت عصاره توتون زمان بیهوشی کاهش و زمان بازگشت افزایش می‌یابد.یکی از دلایل وابستگی زمان بازگشت با غلظت ممکن است به این سبب باشد که در غلظت‌های بالا به‌دلیل القای بروز بیهوشی سریع، ماهی به‌مدت طولانی در تماس با ماده بیهوشی نیست و سبب بازگشت سریع آن می‌شود (Mylonas et al., 2005). با این وجود،عواملی مثل تفاوت در پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی به مواد بیهوشی هم می‌تواند در این قضیه مؤثر باشد (Weber et al., 2009).همچنین Gullian و Villanueva (۲۰۰۹) در بررسی خود بر روی بیهوش شده (*Rachycentroncanadum*) با MS-222 به نتیجه مشابهی دست یافتند. بنابراین در بررسی حاضر، هردو ماده بیهوشی عصاره توتون و MS-222 با توجه به زمان القای بیهوشی و بازگشت به غلظت وابسته هستند.

براساس زمان بیهوشی و بازگشت، در بین غلظت‌های مورد آزمایش،MS-222 با غلظت ٦۰mg/l به‌عنوان غلظت بهینه درنظر گرفته شد که به تناسب نزدیک‌ترین معیار برای بیهوش‌کننده‌های ایده‌آل (ایجاد بیهوشی کمتر از ۵ دقیقه و ترجیحاً کمتر از ۳ دقیقه، زمان بازگشت از بیهوشی حدود ۵ دقیقه یا کمتر) ارائهشده از سوی Sharifpour و همکاران(۲۰۰۲) را دارا بود. درماهیان بیهوش شده با عصاره توتون، غلظت ٦۷۵ mg/l (با کمترین زمان بیهوشی و بازگشت) به‌عنوان غلظت بهینه درنظر گرفته شد، که باتوجه به معیار مذکوربه‌عنوان غلظت ایده‌آل نمی‌تواند باشد.Zargham و همکاران (۲۰۱۳) بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان از غلظت مؤثر ۲۰۰ تا ۱٦۰۰mg/l توتون در مطالعه خود استفاده کردند. از طرفی، غلظت مؤثر عصاره توتون ٤ تا ٤/۵mg/l برای ماهی تیلاپیا گزارش شد که بیهوشی و احیا کمتر از ٤ دقیقه صورت گرفت (Agokei and Adebis, 2010). غلظت بهینه برای بیهوشی قزل‌آلای

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

رنگین‌کمان با استفاده از MS-222، ۱۰۰mg/l پیشنهاد شد (Kolanczyk et al., 2003). این تغییرات ممکن است به‌دلیل تفاوت در عوامل محیطی مثل شوری، pH، دمای آب و سطح اکسیژن باشد؛ همچنین غلظت بهینه ممکن است در بین و درون گونه‌ها تغییر کند (Sylvester and Holland, 1982).

مواد بیهوشی می‌توانند موجب آزاد شدن هورمون‌های استرسی شوند که این موضوع سبب تورم اریتروسیت‌ها می‌شود و به‌دنبال آن طحال اریتروسیت‌های جدید را به خون آزاد کند (Wendelaar Bonga, 1997; Tort et al., 2002). تغییر در تعداد اریتروسیت‌ها می‌تواند سبب تغییر در میزان RBC، Hct و Hb در ماهیان قرار گرفته در معرض استرس باشد (Wedemeyer et al., 1990; Iwama et al.,1995) که به‌دنبال آن تغییر در میزان شاخص‌های هماتولوژیک شامل MCV، MCHC و MCHرا موجب خواهد شد.این تغییرات به‌عنوانراهبرد احتمالی محسوب می‌شود تا اکسیژن لازم را در پاسخ به شرایط استرسی مهیا کند (Caruso et al., 2005). در مطالعه حاضر، انتظار می‌رود که تیمار شاهد بیشترین پاسخ استرسی را نسبت به سایر تیمارها ایجاد کند، از آنجایی‌که عملیات خونگیری بدون استفاده از مواد بیهوشی انجام شد و ماهی در معرض استرس قرار گرفت.تیمار MS-222 کاهش معناداری را در میزان RBC، Hb و Hct نسبت به تیمار شاهد و توتون نشان دادند و به‌دنبال آن تغییر در میزان شاخص‌های خونی MCV و MCH بین تیمارها مشاهده شد. در مطالعه انجام شده در فیل‌ماهی (*Husohuso*) غلظت Hbو میزان RBC به میزان اندکی پس از قرارگیری در معرض استرس دستکاری و شرایط اسارت افزایش یافت، اما معنادار نبود و همچنین تغییری در میزان Hct مشاهده نشد (Falahatkar et al., 2009). ازطرفی در مطالعه دیگر از سوی Shaluei و Hedayati (۲۰۱۲)بر روی فیل‌ماهی، افزایش اندکی در غلظت Hct، RBC، و Hbپس از قرارگیری در معرض 2-phenoxyethanolمشاهده شد. درحالی‌که تغییری در میزان Hctدر ماهی آزاد اطلس (*Salmosalar*) بیهوش شده با MS-222، بنزوکایین و اسانس گل میخک از شروع تا پایان آزمایش و همچنین بین تیمارها مشاهد نشد (Keissling et al., 2009). اختلاف در شاخص‌های هماتولوژیکبین مطالعات مختلف ممکن است به‌دلیلاستفاده از مواد بیهوشی مختلف، گونه‌های مختلف و شرایط آزمایش باشد. کاهش فعالیت‌های تنفسی ناشی از بیهوشی نیز ممکن است دلیلی بر نوسان شاخص‌های هماتولوژیک باشد (Iwama et al., 1989; Thomas and Robertson, 1991; Holloway et al., 2004) وتفاوت‌های میان گروه‌ها ممکن است با سطوح متغیر کاهش نرخ تنفس مرتبط باشد؛اگرچه تحقیقات بیشتری برای درک سازوکار اساسی پاسخ‌های مشاهده شده لازم است.تغییر در میزان شاخص‌های هماتولوژیک می‌تواند در پاسخ به آزاد شدن هورمون‌های استرسی باشد که سبب تورم و یا تغییر در تعداد اریتروسیت‌ها می‌شود (Wendelaar Bonga, 1997; Tort et al., 2002). در بررسی حاضر، میزان WBC در دو تیمار شاهد وMS-222نسبت به تیمار توتون کاهش معناداری یافت. کاهش در میزان WBC، عمدتاً لوکوسیت، پاسخ معمول به استرس در ماهی است (Wedemeyer et al., 1990) که با آزاد شدن اپی نفرین در شرایط استرس همراه است و ضعف سیستم ایمنی را نشان می‌دهد (Adeyemo, 2007).

باوجود گزارش مطالعات مختلف درخصوص تأثیر استفاده از مواد بیهوشی در کاهش استرس ناشی از اسارت و دستکاری (Davis and Griffin, 2004; Iversen et al., 2003; Small, 2004)، بعضی مطالعات دیگر نشان داده‌اند که قرارگیری در معرض مواد بیهوشی از طریق اثرگذاری بر روی غدد درون‌ریز (Oyama and Wakayama, 1998)، سبب القای استرس به ماهی می‌شوند (Davidson et al.,

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

2000; Davis and Griffin, 2004; Kiessling et al., 2009). این امر از طریق سطوح افزایش یافته کورتیزول پلاسما ارزیابی می‌گردد (Zahl et al., 2010)، به‌طوری‌که تحت شرایط استرس، Adrenocorticotropic hormone ترشح شده از هیپوتالاموس به قسمت قدامی کلیه وارد شده و با تحریک سلول‌های بین کلیوی سبب ترشح کورتیزول می‌شود (Kubilay and Ulukay, 2002) و در ماهی اغلب به‌عنوان پاسخ اولیه به استرس درنظر گرفته می‌شود (Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2002). در مطالعه حاضر بالاترین میزان کورتیزول آزاد شده در ماهیان بیهوش شده با عصاره توتوندر مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد که در زمان صفر و یک ساعت بعد اتفاق افتاد. غلظت کورتیزول اگرچه در ماهیان بیهوش شده با MS-222 و درتیمار شاهد، درطول زمان‌های مختلف معنادار نبود، اما برای هردو تیمار در زمان صفر در بالاترین حد خود قرار داشت. افزایش در سطح کورتیزول در بسیاری از گونه‌های ماهیان شامل قزل‌آلای رنگین‌کمان، کاد اطلس (*Gadusmurhua*)، قنات سرچرب (*Pimephales promelas*)، گربه‌ماهی کانالی (*Ictaluruspunctatus*)و هالیبوت اطلس (*Hippoglossus hippoglossus*) (Pirhonen and Schreck, 2002; Wagner et al., 2003; Small, 2004; Palić et al., 2006; Zahl et al., 2010) مشاهده شد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. درواقع افزایش در سطح کورتیزول در مطالعه حاضر نوعی پاسخ اولیه به استرس محسوب می‌شود و از آنجایی‌که در تیمار عصاره توتون این پاسخ استرسی بیشتر بود، بیهوشی با عصاره توتون سبب بروز استرس در ماهیان می‌شود.

میزان کورتیزول آزاد شده در پاسخ به استرس در بین گونه‌ها و درون گونه‌ها به میزان زیادی تغییر می‌کند (Barton and Iwama, 1991; Barton, 2000). غلظت کورتیزول در آزادماهیان تحت استرس حاد بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ ng/ml گزارش شده است (Barton and Iwama, 1991)، درحالی‌که در بررسی حاضر، حداکثر میزان کورتیزول آزاد شده ۳۸/۷۵ng/ml در ماهیان بیهوش شده با توتون مشاهده شد. در مطالعه انجام شده از سوی Falahatkarو Barton (۲۰۰۷) سطح کورتیزول پلاسما در فیل‌ماهی در معرض عوامل استرس‌زای متعدد از ۱۱ تا ۱۵ng/ml افزایش یافت. مطالعات پیشین (Barton et al., 2000; Falahatkar and Barton, 2007; Falahatkar et al, 2009; Falahatkar and Poursaeid, 2012) نشان داده‌اند که تاس‌ماهیان به‌نسبت در برابر استرس مقاوم هستند.عواملمختلفی شامل تفاوت در ظرفیت پاسخ‌های فیزیولوژیک و میزان حساسیت درونی، تفاوت‌های آناتومی در بافت بینکلیوی، مسئول پاسخ‌های کورتیکوستروئیدی پایین در بعضی گونه‌های تاس‌ماهیان در مقایسه با ماهیان استخوانی سبب این موضوع می‌شود (Barton et al., 2000).

تغییرمعناداری در سطح گلوکز پلاسما تنها در تیمار شاهددر زمان صفر مشاهده شد، درحالی‌که تیمارهای دیگر تفاوتی را در غلظت گلوکز در طول دوره آزمایش نشان ندادند. افزایش سریع در غلظت گلوکز پلاسمای ماهیان بیهوش شده، به واسطه آزاد شدن کاتکول آمین‌ها به‌عنوان پاسخ استرسی ثانویه در پاسخ به کاهش اکسیژن‌رسانی و قطع تنفس رخ می‌دهد (Gingerich and Drottar, 1989; Iwama et al., 1989). در مطالعه Sattari و همکاران (۲۰۰۹) تغییری در غلظت گلوکز پلاسما در قزل‌آلای رنگین‌کمان قرار گرفته در معرض MS-222مشاهده نشد که در توافق با یافته‌های مطالعه حاضر بود. از آنجا که عملکرد اصلی سیستم عصبی مرکزی حفظ تعادل است، دلایل عدم مشاهده تغییر در سطوح گلوکز می‌تواند به این دلیل باشد که ماهی به سرعت ذخایر انرژی را تحت شرایط استرس مصرف می‌کند (Martinez-Porchas et al., 2009).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

بالاترین سطح لاکتات پلاسما در ماهیان بیهوش شده با توتون در زمان صفر مشاهده شد و کمترین میزان آن در ماهیان بیهوش شده با MS-222 در زمان ١ و ٣ و تیمار شاهد در زمان‌های ٣ و ٦ مشاهده شد که نشان می‌دهد عصاره توتون پاسخ استرسی بیشتر را در ماهی ایجاد می‌کند. لاکتات به‌عنوان زیرمجموعه‌ای از فرایند گلوکونئوژنزیزدر بعضی از ماهیان است (Renaud and Moon, 1980) و معمولاًبه‌عنوان شاخصی از متابولیسم غیرهوازی محسوب می‌شود (Virani and Rees, 2000). افزایش در غلظت لاکتات در ماهیآزاد اطلس (نام علمی) به‌دنبال بیهوشی با روغن گل میخک (Iverzen et al., 2003) و در فیل‌ماهی پس از قرارگیری در معرض استرس دستکاری و شرایط اسارت (Falahatkar et al., 2009) مشاهده شد. افزایش سطح لاکتات خون در نتیجه فعالیت تنفسی تحت شرایط بی‌هوازی اتفاق می‌افتد، به‌طوری‌که تحت چنین شرایطی منابع گلیکوژن تخلیهشده و لاکتات در بافت ماهیچه انباشته می‌شود (Milligan and Girard, 1993). بنابراین، زمانی‌که ماهی در معرض سایر مزاحمت‌های فیزیکی قرار می‌گیرد، مقدار لاکتات ممکن است افزایش یابد (Barton et al., 1998).

زمان القای بیهوشی و بازگشت از آن در ماهیان بیهوش شده با عصاره توتون از زمان ایده‌آل بیشتر بوده و این ماده نتوانست بیهوشی و ریکاوری را در محدودهٔ مجاز ایجاد کند. پاسخ استرسی ناشی از استفاده از مواد بیهوشی مختلف به میزان زیادی متفاوت است (Kiessling et al., 2009). به‌طوری‌که، براساس نتایج به‌دست آمده از شاخص‌های بیوشیمیایی، مقدار کورتیزول آزاد شده در ماهیان بیهوش شده با عصاره توتون در مقایسه با تیمار شاهد و MS-222 بیشتر بود که نشان می‌دهد عصاره توتون پاسخ استرسی بیشتری را القا می‌کند، اگرچه مرگومیری در ماهیان بیهوش شده با عصاره توتون مشاهده نشد.به‌طورکلی تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تأثیر فیزیولوژیک با بیهوشی عصاره توتوننسبت به MS-222بیشتر بود، بنابراین MS-222 کارایی بهتری را در بیهوشی کامل و برگشت از آن نسبت به عصاره توتون داشت و برای استفاده در فعالیت‌های مختلف که همراه با استرس می‌باشند اثر کمتری بر روی ماهی می‌گذارد و می‌تواند در ماهیان خاویاری بدون آثار و جنبه‌های منفی به‌کار رود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولان و کارکنان محترم مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی سد سنگر، به‌ویژه از آقای مهندس عباس‌علیزاده و همچنین از تمامی همکارانی که ما را در اجرای این پروژه یاری رساندند، کمال تشکر را داریم.

منابع

Abtahi, B., Sharifpour, A., Aghajanpour, M., Rasouli, A., Faghihzadeh, S., Omibbeigi, R. and Nazari, R.M. 2002. Comparison ofLC50of clove oilandMS222inPersian sturgeon, rainbow troutandcommon carp.***Iranian Journal of Fishery Science*****, 3: 8-10.**

Adeyemo O.K. 2007. Haematological profile of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) exposed to lead. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 7: 163-169.

Agokei, O.E. and Adebisi, A.A. 2010. Tobacco as an anesthetic for fish handling procedures.*Journal of Medicinal Plants Research*, 4: 1396-1399.

Alishahi, M., Akbari, N., Jalali, M.R. and Naddaf, H. 2014. Comparison on the effects of clove oil, MS222, and 2-phenoxy ethanol on the haemathological parameters of Common carp (*Cyprinus carpio*).*Aquatic Exploitation and Culture*, 1: 105-120.

Barton, B.A., Rahn, A.B., Feist, G., Bollig, H. and Schreck, C.B. 1998. Physiological stress responses of the freshwater chondrostean paddlefish

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

sedation by several anesthetics. *Aquaculture*, 233: 531-548.

Falahatkar, B. and Barton, B.A. 2007. Preliminary observations of physiological responses to acute handling and confinement in juvenile beluga *Huso huso* L. *Aquaculture Research*, 38: 1786-1789.

Falahatkar, B., Poursaeid, S., Shakoorian, M. and Barton, B. 2009. Responses to handling and confinement stressors in juvenile great sturgeon *Huso huso*.*Journal of Fish Biology*, 75: 784-796.

Falahatkar, B. and Poursaeid, S. 2012. Stress responses of great sturgeon *Husohuso* subjected to husbandry stressors. *Aquaculture International*, 38: 1786-1789.

Feng, G., Zhuang, P., Zhang, L., Kynard, B., Shi, X., Liu, J. and Huang, X. 2011. Effect of anaesthetics MS-222 and clove oil on blood biochemical parameters of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*).*Journal of Applied Ichthyology*, 27: 595-599.

Gholipour, H., Soltani, M. and Mirzargar, S.S. 2013. Effect of tricaine methanesulfonate (MS222), clove oil and electro-anaesthesia on respiratory burst activity in whole blood and serum alternative complement response in rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*), during the narcosis stage. *Fish & Shellfish Immunology*, 34: 692-696.

Gingerich, W. H. and Drottar K. R. 1989. Plasma catechol-amine concentrations in rainbow trout (*Saimo guirdneri*) at rest and after anesthesia and surgery.*General and Comparative Endocrinology*, 73: 390-397.

Gullian, M. and Villanueva, J. 2009. Efficacy of tricaine methanesulphonate and clove oil as anaesthetics for juvenile cobia *Rachycentron canadum*.*Aquaculture Research*, 40: 852-860.

Harper, C. 2003. Status of clove oil and eugenol for anesthesia of fish.*AquacultureMagazine*, 29: 41-42.

Hassal, K.A. 1982. The chemistry of pesticides. Macmillan Press, London, UK, 372 p.

Holloway, A.C., Keene, J.L., Noakes, D.G. and Moccia, R.D. 2004. Effects of clove oil and MS-222 on blood hormone profiles in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum.*Aquaculture Research*, 35: 1025-1030.

Hoseini, S.M. and Ghelichpour, M. 2012. Efficacy of clove solution on blood sampling and hematological study in Beluga, *Huso huso* (L.).*Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 493-498.

Houston, A.H. 1990. Blood and circulation. pp. 273-334. In C. B. Schreck and P. B. Moyle (ed.), (*Polyodon spathula*) to acute physical disturbances.*Comparative Biochemistry and Physiology*,120A: 355-363.

Barton, B.A. 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42: 517-525.

Barton, B.A. and Iwama, G.K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids.*Annual Review of Fish Diseases*, 1: 3-26.

Barton, B.A., Bollig, H., Hauskins, B.L. and Jansen, C.R. 2000. Juvenile pallid (*Scaphirhynchus albus*) and hybrid pallid.shovelnose (*S. albus* ×*platorynchus*) sturgeons exhibit low physiological responses to acute handling and severe confinement. *Comparative Biochemistry and Physiology*,126A: 125-134.

Barton, B.A., Ribas, L., Acerete, L. and Tort, L. 2005. Effects of chronic confinement on physiological responses of juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., to acute handling. *Aquaculture Research*, 36: 172-179.

Bayunova, L., Barannikova, I. and Semenkova, T. 2002. Sturgeon stress reactions in aquaculture. *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 397-404.

Caruso, G., Genovese, L. and Marcchiolo, G. 2005. Haematological, biochemical and immunological parameters as stress indicators in *Dicentrarchus labrax* and *Sparus aurata* farmed in off-shore cages. *Aquaculture International*, 13: 67-73.

Dacie, J.K. and Lewis, S.M. 1995. Practical Haematology.8th ed. Edinburgh, Churchill Livingstone, London, UK. 609p.

Daisley, K.W. and Blaxhall, P.C. 1973. Routine hematological methods for use with fish blood.*Journal of Fish Biology*, 5: 771-781.

Danlop, R. and Laming, P. 2005. Mechanoreceptive and nociceptive responses in the central nervous system of goldfish (*Carrasius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*).*Journal ofPain*, 6: 561-568.

Davidson, G.W., Davie, P.S., Young, G. and Fowler, R.T. 2000. Physiological responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to crowding and anesthesia with AQUI-STM.*Journal of the World Aquaculture Society*, 31: 105-114.

Davis, K.B. and Griffin, B.R. 2004. Physiological responses of hybrid striped bass under

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

Milligan, C.L. and Girard, S.G. 1993. Lactate metabolism in rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 180: 175-193.

Mitjana, O., Bonastre, C., Insua, D., Flaceto, M.V., Esteban, J., Josa, A. and Espinosa, E. 2014. The efficacy and effect of repeated exposure to 2-phenoxyethanol, clove oil and tricaine methanesulphonate as anesthetics agents on juvenile Angelfish (*Pterophyllumscalare*).*Aquaculture*, 433: 491-495.

Mylonas, C.C., Cardinaletti, G. and Sigelaki, I. 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: 467-481.

Neumeke, B., Schwartz, W. and Stämpfli, R. 1981. Block of Na channels in the membrane of myelinated nerve by benzocaine. *European Journal of Physiology*, 390: 230-236.

Oyama, T. and Wakayama, S. 1988.The endocrine responses to general anesthesia.*International Anesthesiology Clinics*, 26: 176-181.

Palić, D., Herolt, D.M., Andreasen, C.B., Menzel, B.W. and Roth, J.A. 2006. Anesthetic efficacy of tricaine methanesulfonate, metomidate and eugenol: effects on plasma cortisol concentration and neutrophil function in fathead minnows (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). *Aquaculture*, 254: 675-685.

Pirhonen, J. and Schreck, C.B. 2003. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO2 on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 220: 507-514.

Redding, J.M., Schreck, C.B., Birks, E.K. and Ewing, R.D. 1984. Cortisol and its effect on plasma thyroid hormone and electrolyte concentrations in freshwater and during seawater acclimation in yearling coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*.*General and Comparative Endocrinology*, 56: 146-155.

Řehulka, J. 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition and some blood indices of rainbow trout. *Aquaculture*, 190: 27-47.

Renaud, J.M. and Moon, T.W. 1980. Characterisation of gluconeogenesis in hepatocytes reptiles.*American Zoologist*, 13: 67-69.

Ross, G.L. and Ross, B. 2008. Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals, 3rd ed. Blackwell Science, Oxford, UK, 222 p.

Sattari, A., Mirzargar, S.S., Abrishamifar, A., Lourakzadegan, R., Bahonar, A., Mousavi, H.E. Methods for Fish Biology.American Fisheries Society, Bethesda, MD, USA.

Imanpour, M.R., Bagheri, T. and Hedayati, A.A. 2010. The Anesthetic Effects of Clove Essence in Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*. *World Journal of Fishery and Marine Science*,2: 29- 36.

Iverzen, M., Finstad, B., Mckinley, R.S. and Eliassen, R.A. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, AQUI–S and Benzoak as anaesthetics in Atlantic salmon stress-reducing capacity. *Aquaculture*, 221: 549-566.

Iwama, G.K. and Ackerman, P.A. 1994. Anaesthesia. pp. 1-17. In P. W. Hochachka and T.P. Mommsen (eds),Biochemistry and MolecularBiology, Analyticaltechniques. Amsterdam, Netherlands, Elsevier.

Iwama, G.K., McGeer, J.C. and Pawluk, M.P. 1989. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout.*Canadian Journal of Zoology*,67: 2065-2073.

Iwama, G.K., Morgan, J.D. and Barton, B.A. 1995. Simple field methods for monitoring stress and general condition of fish.*Aquaculture Research*,26: 273–282.

Kiessling, A., Johansson, D., Zahl, I.H. and Samuelsen, O.B. 2009. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. *Aquaculture*, 286: 301-308.

Kolanczyk, R.C., Fitzsimmons, P.N., McKim, J.M., Erickson, R.J. and Schmieder, P.K. 2003. Effects of anesthesia (tricaine methanesulfonate, MS222) on liver biotransformation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).*Aquatic Toxicology*, 64: 177-184.

Kori-siakpere, O. and Oviroh, E. O. 2011. Acute toxicity of tobacco (*Nicotiana tobaccum*) leaf dust on the African catfish: *Clariasgariepinus* (Burchell, 1822). *Archives of Applied Science Research*, 3(2): 1-7.

Kubilay, A. and Ulukay, G. 2002. The effect of acute stress on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).*Turkish Journal of Zoology*,26: 249-254.

Marking, L.L. and Meyer, F.P. 1985. Are better anesthetics needed in fisheries? *Fisheries*, 10: 2-5

Martinez-Porchas, M., Martinez-Cordova, L.R. and Ramos-Enriquez, R. 2009. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Science*, 4: 158-178.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

oxidative stress biomarkers in rainbow trout.*Aquaculture*, 310: 369-375.

Virani, N. and Rees, B.B. 2000. Oxygen consumption, blood lactate and inter-individual variation in the gulf killifish, Fundulus grandis, during hypoxia and recovery.*Comparative Biochemistry and Physiology*,126A: 397-405.

Wagner, T. and Congleton, J.L. 2003. Blood chemistry correlates of nutritional condition, tissue damage, and stress in migrating juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61: 1066-1107.

Weber, R.A., Peleterio, J.B., Garcia Martin, L.O. and Aldegunde, M. 2009. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858).*Aquaculture*, 288: 147-150.

Wedemeyer, G.A., Barton, B.A. and McLeay, D.J. 1990. Stress and acclimation. pp. 451-489. In C. B. Schreck and P.B. Moyle (ed), *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society, Bethesda, MD, USA.

Wendelaar Bonga, S. E. 1997. The stress response in fish.*Physiological Reviews*, 77: 591-625.

Williot, P., Brun, R., Rouault, T., Pelard, M., Mercier, D. and Ludwig, A. 2005. Artificial spawning in cultured Sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus* L., with special emphasis on hermaphrodites.*Aquaculture*, 246: 263-273.

Zahl, I.H., Kiessling, A., Samuelsen, O.B. and Olsen, R.E. 2010. Anesthesia induces stress in Atlantic salmon (*Salmo salar*), Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 719-730.

Zahl, I.H., Samuelsen, O. and Kiessling, A. 2012. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 201–218.

Zargham, D., Sharif-Rouhani, M., Falahat-Naserabadi, A. and Bashti, T. 2013. Investigation of anesthetizing effect of tobacco (*Nicotiana tabacum*) aqueous and alcoholic extract on Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).*Iranian Journal of Fisheries Science*, 4: 33-40. (In Persian)

and Niasari, A. 2009. Comparision of electroanesthesia with chemical anesthesia (MS222 and clove oil) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using plasma cortisol and glucose responses physiological stress indicators. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4: 306-313.

Shaluei, F. and Hedayati, A. 2012. Physiological responses of great Sturgeon (*Huso huso*) to different concentration of 2-phenoxyethanol as an anesthetic.*Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 1627-1634.

Sharifpour, A., Soltani, M., Abdolhay, H. and Ghayumi, R. 2002.The effect of clove oil (*Eugenia caryophyllata*)under different conditionsof pH andtemperature **in common carp (***Cyprinuscarpio***).** ***Iranian Journal of Fisheries Science*****, 4: 59-74.**

Small, C.B. 2004. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulphonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictaluruspunctatus*. *Aquaculture*, 218: 177-185.

Soto, C.G. and Burhanuddin, G. 1995. Clove oil as a fish anesthetic for measuring length and squid axon membranes.*European Journal of Pharmacology*, 33: 313-317.

Stoskopf, M. 1993. Anaesthesia. pp. 161-167. In L. Brown (ed), *Aquaculture for Veterinarians.* FishHusbandary and Medicine, New York, Pergamon Press.

Sylvester, J.R. and Holland, L.E. 1982. Influence of temperature, water hardness, and stocking density on MS-222 response in three species of fish. *The Progressive Fish-Culturist*, 44: 138-141.

Thomas, P. and Robertson, L. 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldne sulfate and metomidate. *Aquaculture*, 96: 69-86.

Tort, L., Puigcerver, M., Crespo, S. and Padrós, F. 2002. Cortisol and haematological response in sea bream and trout subjected to the anesthetics clove oil and 2-phenoxyethanol. *Aquaculture Research*, 33: 907-910.

Velisek, J., Stara, A., Li, Z.H., Silovska, S. and Turek, J. 2011. Comparison of effects of four anaesthetics on blood chemical profiles and

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 6, No. 3, Autumn 2017

Efficacy of MS-222 and tobacco extract and their effect on physiological changes in juvenile Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*)

Khayyam Delafkar[1], Masoud Sattari[2], Hossein Khara[3], Bahram Falahatkar*[2]

1-M.Sc. Graduated student, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran
2- Associate Prof., Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran
3- Assistant Prof., Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, Islamic Azad University of Lahijan, Lahijan

Received :13.08.2015 Accepted: 30.10.2017
*Corresponding author: falahatkar@guilan.ac.ir

Abstract

The efficacy of tobacco extract at concentrations of 375, 450, 525, 600, 675, and 750 mg/l and MS-222 at concentrations of 45, 50, 55, 60, 65 and 70 mg/l was experimented in triplicates on juvenile sterlet, *Acipenser ruthenus* (54 ± 0.7 g). In addition, the effect of these agents on hematological parameters and biochemical indices were compared. Results showed that the time of equilibrium loss or induced time of anesthesia was reduced by increasing the concentrations of these two agents, whereas time of recovery increased. Regarding the times of anesthesia and recovery, the optimal concentrations were selected as 675 mg/l and 60 mg/l for tobacco extract and MS-222, respectively. There was a significant decrease in hematocrit, hemoglobin and number of red blood cells for all treatments compared to control group ($p<0.05$); then, significant changes were observed in the mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin ($p<0.05$). Also, white blood cells, neutrophil, lymphocyte, and eosinophil changed significantly among the treatments ($p<0.05$). A significant increase in plasma cortisol was observed immediately after induction for all treatments, then decreased from start to the end ($p<0.05$). Only fish exposed to handling stress indicated significant change in glucose concentration. On the other hand, lactate concentration indicated a significant decreasing trend for both tobacco extract and handling stress, the maximum level of which occurred immediately after induction ($p<0.05$). Overall, considering the lower changes in biochemical indices for fish anesthetized with MS-222 compared to tobacco extract, it appears MS-222 had lower physiological responses in juvenile sterlet, and therefore would be recommended.

Keywords: Anesthesia, Sterlet, Tobacco extract, MS-222, Stress

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.3.2.8]