

مطالعه اثرات هوشبری گل میخک و تأثیر آن بر روی شاخص‌های هماتولوژیک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محمد رحیمی^{۱*} حسین اورجی^۲

چکیده

پودر گل میخک از گلها و ساقه‌های گل خشک درخت میخک تهیه می‌شود و به منظور بی‌هوشی کوتاه مدت ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. قابل حل در آب بوده و به راحتی و با هزینه پایین قابل دسترسی می‌باشد. تأثیر بیهوشی پودر گل میخک در بچه ماهیان قزل‌آلا و اثر دزهای مختلف گل میخک و زمان‌های هوشبری و هوشیاری آنها مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای این کار از غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد و پارامترهای هماتولوژی قبل بیهوشی، ۵ دقیقه بلافاصله بعد بیهوشی و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی در غلظت‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داده است که مدت زمان رسیدن به مراحل مختلف بی‌هوشی و مدت زمان بازیابی هوشیاری با میزان غلظت محلول بی‌هوشی رابطه مستقیم دارد نمونه‌گیری خون از بچه ماهیانی که ۵ دقیقه در معرض پودر گل میخک قرار گرفتند افزایش معنی‌داری در سطوح هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبولهای قرمز خون نشان دادند این مقادیر ۲۴ ساعت پس از بیهوشی به حالت عادی برگشت و بر روی سایر پارامترهای خونی تأثیری نداشته است. نتایج این آزمایش اشاره دارد به این که استفاده از غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ منجر به آسیب‌های غیر قابل برگشتی در پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلا نمی‌شود.

کلید واژه: بیهوشی، گل میخک، شاخص‌های هماتولوژیک، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus*)

.mykiss

۱. دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران (نویسنده مسؤول)

savadkoh66@yahoo.com

۲. گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۱- مقدمه

توسعه روزافزون آبی‌پروری در بسیاری از مناطق دنیا منجر به افزایش درخواست و استفاده از مواد شیمیایی جدید شده است به طوری که در سال‌های اخیر بسیاری از مواد شیمیایی و صنعتی تحت مطالعات دقیق قرار گرفته تا از نظر جنبه های اقتصادی و دامنه سلامتی، طبقه بندی و در آبی‌پروری مورد استفاده قرار گیرد (Munday et al, 1997., Hikasa et al. 1986., et al, 2001., Sladky, سلطانی و همکاران ۱۳۸۰ و ۱۳۸۳).

از جمله ترکیبات شیمیایی مورد نیاز در این صنعت که به عنوان مواد ضد استرس در آبی‌پروری مطرح هستند، استفاده از مواد بیهوش کننده می باشد که کاربردهای متنوعی دارند که در طی دستکاری، رقم بندی و تکثیر مصنوعی به منظور کاهش مشکلات ناشی از استرس از قبیل کاهش جذب غذا و ایمنی بکار می روند (Jolly et al, 1979., Durville et al 2000., Sudagar et al, 2009.). در انتخاب مواد بیهوش کننده در آبی‌پروری باید به فاکتورهای متعددی توجه داشت که از آن جمله می توان به بیهوشی سریع، بهبودی سریع، غیرسمی بودن برای ماهی و انسان، داشتن اثرات بازماندگی کوتاه مدت در بافت‌ها، نداشتن اثرات تجمعی در بافتها، تجزیه سریع در محیط آبی و ارزان بودن آن اشاره کرد (Munday et al, 1997., Hikasa et al. 1986., Sladky et al. 2001.).

تأثیرات بی هوش کنندگی تعداد زیادی از مواد شیمیایی بر ماهیان به اثبات رسیده است هر یک از آنها دارای مزایا و اشکالاتی هستند. اصلی ترین موادی که جهت بی هوشی در ماهیان بکار می روند شامل MS222، بنزوکائین، کینالیدین سولفات، روغن میخک و ۲ فنوکسی اتانول می باشند (Weber et al, 2006., Velisek et al, 2009., Kiessling et al 2009., Pirhonen et al 2003.).

بی هوشی در ماهی معمولاً با قرار گرفتن ماهی در محلول بی هوشی به صورت غوطه وری انجام می شود، ماده بی هوش کننده از طریق رشته های آبتشی جذب شده و وارد خون شریانی می شود، از آنجا روی سیستم عصبی مرکزی تأثیر گذاشته و ماهی را بی هوش می کند (Sudagar et al, 2009., Ross and Ross, 1999). برخی از مواد بی هوش کننده فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز (HPI) را کاهش و یا متوقف می کنند و بنابراین آزادسازی هورمون استرس کورتیزول به جریان خون را کاهش و یا ممانعت می کنند (Sudagar et al, 2009., Hoskonen and Pirhonen, 2006). پس از برگرداندن ماهیان بی هوش شده به آب تمیز، مواد بی هوشی یا متابولیت های آنها از طریق آبشش ها خارج می شوند (Ross and Ross, 1999). پارامترهای خونی ارتباط نزدیکی با واکنش حیوان به محیط دارند (Fernandes and Mason, 2003). بی هوشی ممکن است روی پارامترهای خونی تأثیر بگذارد و موجب همولیزه شدن بافت گردد (McKnight, 1966). ارزیابی پارامترهای خونی شامل تعیین تعداد کل گلبول های قرمز، میزان هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، شاخص های گلبول قرمز، شمارش افتراقی

سلول‌های خونی سفید در گسترش خونی می‌باشد (Campbell, 2004). پودر گل میخک از گل‌ها و ساقه‌های گل خشک درخت میخک تهیه می‌شود و به منظور بی‌هوشی کوتاه مدت ماهیان در کشور ما مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پودر قابل حل در آب بوده و به راحتی و با هزینه پایین قابل دسترسی می‌باشد.

باتوجه به مطالعات انجام شده بر روی گل میخک نشان می‌دهد که این گیاه یکی از مواد بیهوش-کننده مناسب در آبی‌پروری است لذا در مطالعه حاضر اثرات احتمالی پودر گل میخک بر برخی فاکتورهای هماتولوژیک ماهی قزل‌آلا مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۲- مواد و روش کار

این آزمایش در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۲ در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی سردابی شرکت تهران قزل‌آلا واقع در شهرستان فیروزکوه انجام پذیرفت.

برای انجام این آزمایش از بچه ماهیان قزل‌آلا با وزن $15/11 \pm 1/5$ گرم استفاده شد. تعداد کل بچه ماهی مورد نیاز ۱۸۰ قطعه که به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول به عنوان گروه شاهد با ۲۰ قطعه بچه ماهی در نظر گرفته شد و بدون بی‌هوش کردن از آنها نمونه خون گرفته شد. گروه دوم در ۴ سطح متفاوت از ماده بیهوشی (محلول پودر گل میخک) با تعداد کل ۸۰ قطعه بچه ماهی (۲۰ قطعه در هر سطح) بی‌هوش شده و ۵ دقیقه پس از بی‌هوشی کامل از آنها نمونه خون گرفته شد و گروه سوم نیز با تعداد کل ۸۰ قطعه بچه ماهی که در محلول بی‌هوشی با غلظتهای مشابه گروه دوم، بی‌هوش شدند و ۵ دقیقه پس از بی‌هوشی کامل از محلول بی‌هوشی خارج شده و در آب تمیز قرار داده شدند و ۲۴ ساعت بعد از آنها نمونه خون گرفته شد بچه ماهیان در و نیرو با حجم آب ۱۰۰ لیتر، دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد، pH آب ۷/۸ همراه با هوادهی کامل (اکسیژن محلول آب ۸/۵ ppm) نگهداری شدند. ماهیان گروه سوم که پس از بی‌هوشی درون آب تمیز قرار داده شدند به مدت ۲۴ ساعت درون و نیرو با حجم آب ۱۰۰ لیتر، دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد، pH آب ۷/۸ همراه با هوادهی کامل (اکسیژن محلول آب ۸/۵ppm) نگهداری شده و سپس از آنها نمونه خون گرفته شد.

جهت آماده سازی محلول‌های بی‌هوشی، گل میخک بوسیله آسیاب کاملاً آسیاب شد و سپس الک گردید. محلول‌های بی‌هوشی در ۴ غلظت ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آماده سازی شدند. برای آماده سازی محلول‌ها از آب مقطر استفاده گردید.

زمان رسیدن به مراحل ۳ و ۵ بی‌هوشی و مرحله بازیابی مدت زمان رسیدن به مراحل ۲ و ۵ هوشیاری (Keene et al., 1998) در غلظتهای مختلف پودر گل میخک تحت شرایط یکسان (میزان حجم و دمای محلول بی‌هوشی) اندازه‌گیری و ثبت گردید. جهت بررسی تغییرات خونی از بچه ماهیان

هر تیمار به روش قطع ساقه دمی خونگیری شد (Haghighi.,2009). خون هر تیمار وارد لوله های حاوی ماده ضد انعقاد هپارین شده تا برای بررسی فاکتور های خونی مورد استفاده قرار گیرد. فاکتور RBC بوسیله لام مخصوص هموسیتومتر نئوبار و محلول های رقیق کننده گاور و تورک شمارش گردیدند (Blaxhall.,1973). هموگلوبین بوسیله کیت مخصوص شرکت پارس آزمون و به روش کلرومتریک با طول موج ۵۴۰ nm در دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل JENWAY6305 ، انگلیس) اندازه گیری شد اندازه گیری هماتوکریت با استفاده از سانتریفیوژانجام شد (Haghighi.,2009).

اندیس های خونی شامل شاخص های میانگین حجم گلبول (MCV)، (Mean Corpuscular Volume) میانگین هموگلوبین گلبول (MCH) (Mean Corpuscular Hemoglobin) و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول (MCHC) (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration) می باشد که با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید (Haghighi.,2009). تعداد گلبول های قرمز بر حسب میلیون $10 \times$ میزان هماتوکریت (درصد) = میانگین حجم گلبول

تعداد گلبول های قرمز بر حسب میلیون / $10 \times$ میزان هموگلوبین = میانگین هموگلوبین گلبول - ۲

میزان هماتوکریت (درصد) / $100 \times$ میزان هموگلوبین = میانگین غلظت هموگلوبین گلبول - ۳

به منظور شمارش افتراقی گلبول های سفید، گسترش خونی بر روی لام تهیه شد. برای تهیه گسترش خونی یک قطره خون در یک سمت لام ریخته شده و با یک لام دیگر طوری روی آن می کشیم که یک گسترش بر روی لام ایجاد شود. گسترش آماده شده را در مجاورت هوا خشک کرده و با استفاده از متیلن فیکس کردیم. گسترش های فیکس شده با استفاده از رنگ گیمسا رنگ آمیزی شدند.

گلبول های سفید در یک گسترش خونی به لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل قابل تفکیک می باشند (Blaxhall and Daisley, 1973). برای شمارش افتراقی گلبول سفید گسترش های تهیه شده را با استفاده از میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده کرده و نسبت سلول های مختلف گلبول سفید شمارش شدند.

۳- تجزیه و تحلیل داده ها

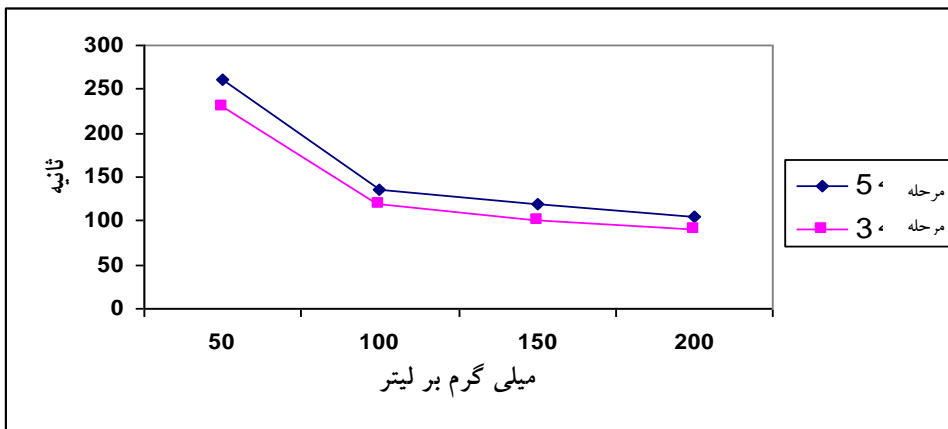
داده های آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون چند دامنه دانکن و با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS11.5 بررسی شدند.

۴- نتایج

۴-۱- مدت زمان مراحل مختلف بی هوشی در غلظت های متفاوت محلول بی هوشی

مدت زمان رسیدن به مراحل ۳ و ۵ بی هوشی در غلظت های مختلف محلول بی هوشی پودر گل

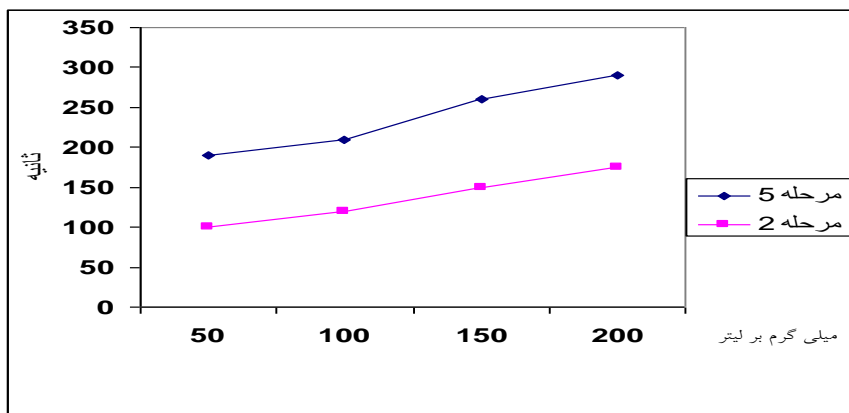
میخک در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت محلول بی‌هوشی مدت زمان رسیدن به مراحل مختلف بی‌هوشی کاهش می‌یابد.



شکل ۱: مدت زمان رسیدن به مراحل ۳ و ۵ بی‌هوشی در ماهی قزل‌آلا قرار داده شده در غلظتهای مختلف محلول بی‌هوشی پودر گل میخک

۴-۲- مدت زمان مراحل مختلف هوشیاری در غلظتهای متفاوت محلول بی‌هوشی

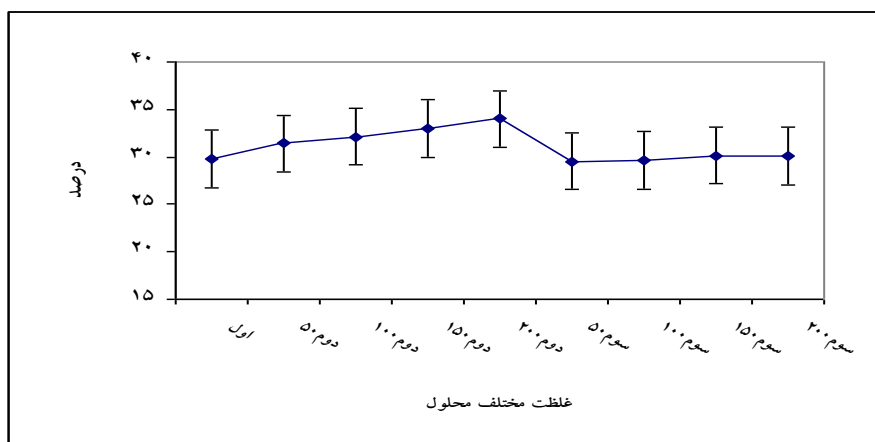
مدت زمان رسیدن به مراحل ۲ و ۵ هوشیاری در غلظتهای مختلف محلول بی‌هوشی پودر گل میخک در شکل ۲ نشان داده شده است. با مشاهده شکل می‌توان دریافت که با افزایش غلظت محلول بی‌هوشی مدت زمان بازیابی هوشیاری نیز افزایش می‌یابد.



شکل ۲: مدت زمان رسیدن به مراحل ۲ و ۵ بازیابی هوشیاری در ماهی قزل‌آلا بی‌هوش شده در غلظتهای مختلف محلول بی‌هوشی پودر گل میخک

۳-۴- اثر غلظت‌های متفاوت محلول بی‌هوشی بر شاخص هماتوکریت

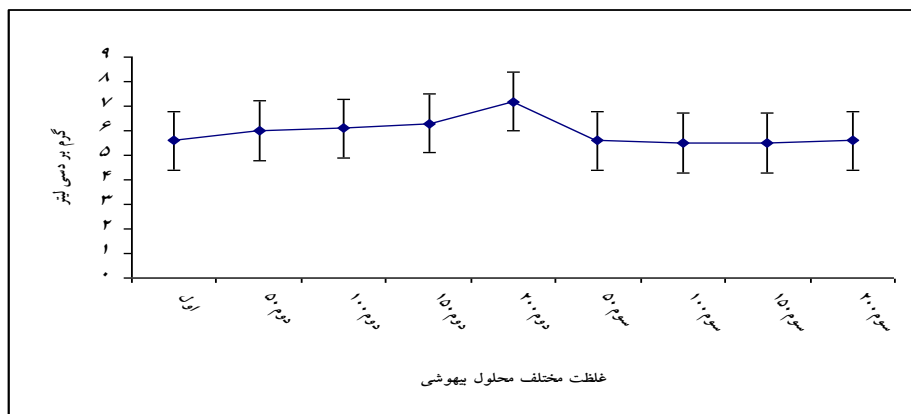
با افزایش میزان غلظت محلول بی‌هوشی درصد هماتوکریت افزایش یافت ولی دوباره پس از ۲۴ ساعت این میزان به حالت اول برگشت (شکل ۳). میزان هماتوکریت در غلظت‌های ۲۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پودر گل میخک در گروه دوم (۵ دقیقه پس از بی‌هوشی کامل) با سایر غلظت‌ها و گروه‌ها دارای اختلاف آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$).



شکل ۳: تأثیر غلظت‌های مختلف محلول بی‌هوشی پودر گل میخک بر میزان هماتوکریت ماهی قزل‌آلا

۴-۴- اثر غلظت‌های متفاوت محلول بی‌هوشی بر میزان هموگلوبین

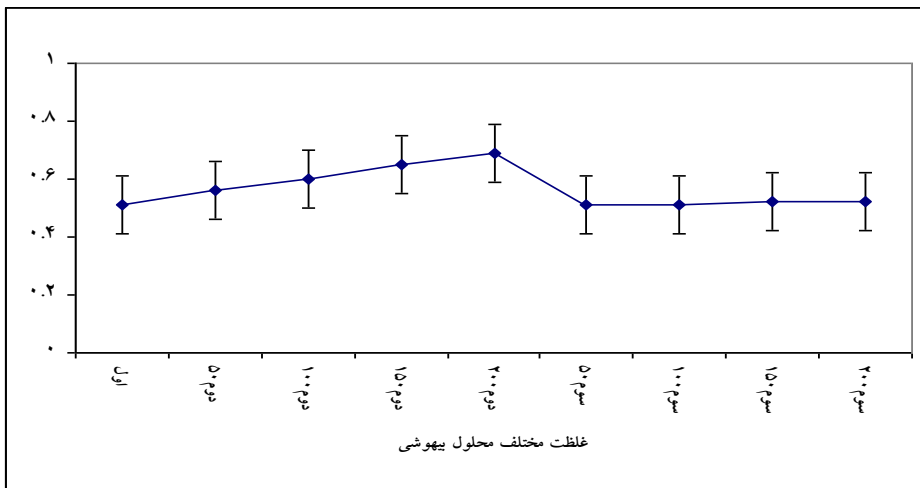
با افزایش غلظت محلول بی‌هوشی میزان هموگلوبین خون افزایش یافت و در گروه دوم اختلاف آماری معنی‌داری با سایر گروه‌ها مشاهده شد ($P < 0.05$). و در گروه سوم (۲۴ ساعت پس از بی‌هوشی) میزان هموگلوبین به حالت طبیعی بر می‌گردد (شکل ۴).



شکل ۴: تأثیر محلول بی‌هوشی پودر گل میخک بر میزان هموگلوبین خون بچه ماهیان قزل‌آلا

۴-۵- اثر غلظت‌های متفاوت محلول بی‌هوشی بر تعداد گلبول‌های قرمز

تعداد گلبول‌های قرمز در اثر بی‌هوشی توسط محلول بی‌هوشی پودر گل میخک افزایش یافت و رابطه مستقیمی با افزایش میزان غلت محلول داشت. (شکل ۵). تعداد گلبول قرمز نیز ۲۴ ساعت پس از بی‌هوشی به حالت معمولی برگشت. تعداد گلبول‌های قرمز در گروه دوم اختلاف آماری معنی داری با سایر گروه‌ها داشت ($P < 0.05$).



شکل ۵: تعداد گلبول‌های قرمز بچه ماهیان قزل آلا بی‌هوش شده با محلول بی‌هوشی پودر گل میخک

۴-۶- اثر غلظت‌های متفاوت محلول بی‌هوشی بر اندیس‌های خونی و نسبت سلول‌های

افتراقی گلبول سفید

اندیس‌های خونی بچه ماهیان تحت تأثیر محلول بی‌هوشی پودر گل میخک تغییری نداشت. ($P < 0.05$). با مشاهده گسترش‌های خونی تهیه شده مشخص شد که بی‌هوشی بوسیله محلول بی‌هوشی پودر گل میخک هیچ‌گونه تأثیری بر نسبت سلول‌های گلبول سفید نداشت و این نسبت اختلاف آماری معنی داری را در بین گروه‌های مختلف نشان نداد ($P > 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱- تاثیر محلول بی هوشی بودر گل میخک بر اندیس‌های خونی و نسبت‌های افتراقی گلبول سفید بچه ماهی قزل آلا

پارامتر گروه	Wight (g)	MCH (pg)	MCV (fl)	MCHC (g/dl)	Lymph. (%)	Neutro(%)	Mono (%)	Eos(%)
گروه اول (شاهد)	۱۵/۱۱ ± ۱/۵	۱۱۱/۶ ± ۴/۱ ^b	۵۸۳/۸ ± ۳۵/۱ ^b	۱۸/۸ ± ۲/۱ ^a	۷۷/۱ ± ۳/۶ ^a	۱۴/۶ ± ۲/۶ ^a	۳/۹ ± ۱/۵ ^a	۷۷/۰۸ ± ۴/۱۶ ^a
۵۰	۱۵/۱۱ ± ۱/۵	۱۰۷/۵ ± ۳/۸ ^b	۵۶۱/۵ ± ۳۰/۸ ^{ab}	۱۹/۱ ± ۲/۸ ^{ab}	۷۷/۵ ± ۴/۸ ^a	۱۳/۵ ± ۲/۲ ^a	۴/۱ ± ۳/۵ ^a	۷۷/۵ ± ۵/۸۲ ^a
۱۰۰	۱۵/۱۱ ± ۱/۵	۱۰۲/۴ ± ۴/۲ ^{ab}	۵۳۵/۳ ± ۴۴/۲ ^{ab}	۱۸/۳ ± ۳/۲ ^a	۷۷/۷ ± ۵/۲ ^a	۱۳/۸ ± ۳/۳ ^a	۵/۲ ± ۴/۱ ^a	۷۸/۸۳ ± ۵/۲۳ ^a
۱۵۰	۱۵/۱۱ ± ۱/۵	۹۶/۰۸ ± ۳/۷ ^a	۵۲۳/۳ ± ۲۲/۷ ^{ab}	۱۹/۰۸ ± ۲/۰۸ ^{ab}	۷۵/۱ ± ۶/۷ ^a	۱۴/۹ ± ۳/۱ ^a	۴/۸ ± ۳/۵ ^a	۷۵/۰۸ ± ۶/۷۸ ^a
۲۰۰	۱۵/۱۱ ± ۱/۵	۱۰۴/۴ ± ۵/۲ ^{ab}	۴۹۲/۴ ± ۵۰/۲ ^a	۲۱/۴ ± ۲/۲ ^b	۷۸/۴ ± ۵/۲ ^a	۱۲/۸ ± ۲/۵ ^a	۵/۴ ± ۳/۳ ^a	۷۷/۴۱ ± ۶/۲۴ ^a
۵۰	۱۵/۱۱ ± ۱/۵	۱۰۹/۶ ± ۴/۴ ^b	۵۷۹/۱ ± ۳۸/۴ ^b	۱۸/۹ ± ۳/۴ ^a	۷۶/۹ ± ۵/۴ ^a	۱۳/۶ ± ۳/۷ ^a	۳/۷ ± ۳/۸ ^a	۷۵/۹۱ ± ۸/۴۷ ^a
۱۰۰	۱۵/۱۱ ± ۱/۵	۱۰۷/۱ ± ۲/۰۴ ^b	۵۸۱/۶ ± ۴۰ ^b	۱۸/۵ ± ۲/۹ ^a	۷۵/۶ ± ۶/۱ ^a	۱۵/۱ ± ۲/۱ ^a	۴/۴ ± ۳/۵ ^a	۷۵/۱۶ ± ۶/۰۴ ^a
۱۵۰	۱۵/۱۱ ± ۱/۵	۱۰۵/۹ ± ۴/۹ ^b	۵۷۹/۹ ± ۳۵/۷ ^b	۱۸/۲ ± ۲/۰ ^a	۷۸/۱ ± ۴/۹ ^a	۱۲/۵ ± ۲/۹ ^a	۴/۸ ± ۲/۶ ^a	۷۸/۹۱ ± ۷/۹۷ ^a
۲۰۰	۱۵/۱۱ ± ۱/۵	۱۰۷/۶ ± ۳/۵ ^b	۵۷۸/۶ ± ۲۶/۵ ^b	۱۸/۶ ± ۲/۵ ^a	۷۷/۶ ± ۴/۶ ^a	۱۴/۱ ± ۳/۵ ^a	۵/۰۸ ± ۳/۷ ^a	۷۸/۱۶ ± ۶/۵۶ ^a
اثر هر متغیر		۰/۰۳ ^a	۰/۰۲	۰/۰۰۴ ^a	۰/۶۸	۰/۳۸	۰/۲۶	۰/۲۳

اعدادی که در هر ستون باحروف غیرمشابه نشان داده شده‌اند دارای اختلاف آماری معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند ($P < 0.05$).

۵- بحث

در آزمایش انجام شده مدت زمان رسیدن به مراحل مختلف بی‌هوشی و مدت زمان بازیابی هوشیاری با میزان غلظت محلول بی هوشی رابطه مستقیم دارد و با افزایش غلظت محلول مدت بی‌هوشی افزایش می‌یابد همچنین با افزایش غلظت محلول بی هوشی دامنه تغییرات مدت زمان بی هوشی کاعش یافت که مطابق با نتایج مطالعات Iversen و همکاران در سال ۲۰۰۳ روی گونه *Salmo salar* smolts و Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۵ روی گونه *Cyprinus carpio* و Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۶ روی گونه *Silurus glanis* می‌باشد. نمونه‌گیری خون از بچه ماهیانی که ۵ دقیقه در معرض محلول بی هوشی قرار گرفتند افزایش معنی‌داری در سطوح هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز خون نشان دادند و میزان این افزایش با غلظت محلول بی هوشی رابطه مستقیم داشت، ولی ۲۴ ساعت پس از بی هوشی این سطوح به حالت عادی برگشت و با گروه شاهد که بی هوش نشدند بودند اختلاف معنی‌دار نشان ندادند. Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر ۲- فنوکسی اتانول را روی ماهیان کپور معمولی و قزل آلا بررسی کرده و گزارش کردند که ۲- فنوکسی اتانول (۰/۳۰ میلی لیتر بر لیتر) در ماهی کپور معمولی ۱۰ دقیقه پس از بی‌هوشی باعث افزایش میزان هماتوکریت و تعداد مونوسیت شد که پس از ۲۴ ساعت به حالت عادی بازگشت، ولی بر روی سایر شاخص‌های خونی

تأثیری نداشت. همچنین ۲- فنوکسی اتانول (۰/۳۰ میلی لیتر بر لیتر) تأثیری روی شاخص‌های خونی ماهی قزل آلا ندارد. مقدار لکوسیت در ماهی *Silurus glanis* با غلظت ۳۰ میلی گرم بر لیتر گل میخک بعد از ۲۴ ساعت کاهش نشان داده است (Velisek et al., 2006) مطالعات متعددی در ارتباط با بیهوش کنندگی گل میخک در برخی گونه‌ها انجام شده است به طوری که Hikasa و همکاران در سال ۱۹۸۶ برای بیهوشی ماهی کپور معمولی با استفاده از گل میخک غلظت ۵۰-۱۰۰ ppm را پیشنهاد داده‌اند Anderson و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۷ در دمای ۱۱ درجه سانتیگراد ۱۲۰ ppm از اسانس گل میخک را برای بیهوشی ماهی قزل آلا ی رنگین کمان مناسب دانستند، مهربانی در سال ۱۳۷۶ غلظت ۱۵۰ ppm را برای ایجاد بیهوشی ماهی قزل آلا پیشنهاد داده است، سلطانی و همکاران در سال ۱۳۸۰ به غلظت ۲۵۰ ppm برای بیهوشی ماهی قزل آلا در دمای ۵ درجه سانتیگراد اشاره داشتند و همچنین در سال ۱۳۸۳ طی مطالعه‌ای جهت تأثیر اسانس گل میخک روی ماهی کپور معمولی، مصرف این ماده را تا ۲۰۰ ppm به عنوان ماده بیهوشی بی‌خطر در آبی پروری توصیه کردند. Sudagar و همکاران در سال ۲۰۰۹ با بررسی غلظت‌های مختلف پودر گل میخک در ماهی کلمه هیچ تأثیر غیر قابل برگشتی بر روی پارامترهای خونی مشاهده نکردند. تفاوت در مقادیر غلظت و مدت زمان بیهوشی توسط بیهوش‌کننده‌ها در مطالعات گوناگون حتی در بین گونه‌های مشابه ممکن است ناشی از شرایط و فاکتورهای محیطی و بیولوژیکی باشد که بر روی داروهای بیهوشی تأثیرگذار است فاکتورهای بیولوژیک مثل نوع گونه، مرحله تکاملی ماهی، سن ماهی اندازه و وزن، وضعیت ماهی از نظر بیماری که بر روی میزان متابولیت و درنهایت بر روی داروهای بیهوشی تأثیرگذار است فاکتورهای محیطی مثل دما، pH که می‌تواند روی سوخت و ساز بدن و در نهایت روی جذب از طریق آبشش تأثیرگذار باشد (Burka et al., 1997, Iversen, 2003).

در مطالعه حاضر بیهوشی بوسیله محلول پودر گل میخک در غلظت‌های مختلف پس از گذشت ۲۴ ساعت از بی‌هوشی شاخص‌های خونی در سطح نرمال قرار گرفت. ولی بی‌هوشی به وسیله این محلول بلافاصله پس از بی‌هوشی، بر شاخص‌های خونی مؤثر بود و افزایش معنی‌داری در سطوح هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز خون مشاهده شد. بنابراین پیشنهاد می‌شود در انجام آزمایشات زمانی که شاخص‌های خونی مورد بررسی هستند از غلظت‌های پایین تر (۱۰۰ میلی گرم در لیتر) استفاده گردد تا تأثیر کمتری بر نتایج حاصل داشته باشد. ولی زمانی که عمل بی‌هوشی به منظور کاهش استرس ناشی از هر گونه دستکاری انجام می‌شود غلظت ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر پودر گل میخک مناسب است.

فهرست منابع

۱. سلطانی.م.، امیدبیگی.ر.، رضوانی،ش.، مهربانی، م.ر. و چیت‌ساز، ح. (۱۳۸۰). مطالعه اثرات هوشبری

- و عصاره گل میخک در ماهی قزل آلا رنگین کمان تحت شرایط کیفی آب. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۴، شماره ۴، صفحه ۹۵-۹۸.
۲. سلطانی.م.، غفاری، م.، خضرای نیا.پ.، بکایی، س.، (۱۳۸۳). مطالعه اثرات بیهوشی اسانس گل میخک هندی بر پارامترهای هماتولوژیک، برخی آنزیم‌های خون و آسیب‌شناسی بافت‌های مختلف ماهی کپور معمولی، مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۹، شماره ۳، ۲۹۵-۲۹۹.
۳. مهربانی، ی. (۱۳۷۶). مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی پودر گل میخک بر روی قزل آالی رنگین کمان. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۴۰-۴۱: ۱۶۰-۱۶۲.
4. **Anderson , WG, Mclinely, RS, Colavechia, M .(1997)**. The use of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. North American Journal of Amer J Fish Management 17: 301-307.
 5. **Blaxhall, P.C., Daisley, K.W., (1973)**. Routine hematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology Volume 5 Issue (6), p. 771-781
 6. **Burka JF, Hammel KL, Horsberg TE, Johnson GR, Rainnie DJ, et al. (1997)**. Drugs in salmonid aquaculture a review. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 20: 333-349.
 7. **Campbell, T.W., (2004)**. Hematology of lower vertebrates In: proceedings of the 55th Annual meeting of the American college of veterinary pathologists (ACUPC). www.ivis.org/proceedings/ACVP/2004/Campbell1/ivis.
 8. **Durville,p.and Collet , A.(2000)**. Colve oil as an anesthetic with juvenile tropical marine fish .SPC Live Reef Fish Information.9: 17-19
 9. **Fernandes, M.N. and Mazon, A.F., (2003)**. Environmental pollution and fish gill morphology. In: Val, A.L. and Kapoor, B.G., Editors, 2003. Fish Adaptation, Science Publishers, Enfield, pp. 203-231.
 10. **Haghighi, M. (2009)**. Laboratory Methods of Fish Hematology. Iranian Fisheries Research Organization Publication. Tehran, Iran.
 11. **Hikasa Y, Takase K, Ogasawara T, et al(1986)**. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol, and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. Jpn J Vet Sci 1986;48:341-351.
 12. **Hoskonen, P., Pirhonen, J., (2006)**. Effects of repeated handling, with or without anaesthesia, on feed intake and growth in juvenile rainbow trout , *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Reaserch Volume 37, Issu (4),p. 409-415.
 13. **Iversen, M., Finstad B, MacKinley RS, Eliassen RA (2003)**. The efficacy of etomidate, clove oil, AQUI-STTM and Benzoak[®] as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) smolts, and their potential stress-reducing capacity. Aquaculture 221: 549-566.
 14. **Jolly, D.W.,Mawdesley – Thomas, L.E., Bucke, D.,(1979)**. Anesthesia of fish

- .Vet. Rec.91, 424-426. PMID: 4346046.
15. **Keene, J.L., Noakes , D.L.G.,Moccia , R.D., Soto , C.G.,(1998)**. The efficacy of clove oil as an anesthetic for rainbow trout, *oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Research, 1998 - Blackwell Synergy. Volume 29, number2, p. 89-101.
 16. **kiessling A, Johansson D, Zahl IH, Samuelsen OB .(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.
 17. **Mcknight, I. MA. (1966)**. Hematological study on the mountain white fish. Popium Willasemi South. Fish Reb.23, 45-64.
 18. **Munday PL, Wilson SK. (1997)**. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. J Fish Biol 1997;51:931–938
 19. **Pirhonen J, Schreck C B. (2003)**. Effects of anesthesia with MS-222, clove oil and CO2 on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 220: 507–514.
 20. **Ross, L.G., Ross, B., (1999)**. Anesthetic and sedative techniques for Aquatic Animals. 2 nd ed. Blackwell Science Ltd., oxford .159PP. ISBN 063205252X, 9780632052523
 21. **Sladky,k.k., Swanson,C.R., Stoskopf,M.K., Loomis,M.R and Lewbart,G.A (2001)**. Comparative efficacy of tricainemethanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). American Journal of Veterinary Researches, Vol 62: 3,337-342.
 - 22.**Sudagara, M., Mohammadizarejabada, A., Mazandarania. R and Pooralimotlagha, S. (2009)**. The Efficacy of Clove Powder as an Anesthetic and its Effects onHematological Parameters on Roach (*Rutilus rutilus*). Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition 1 (1): 1-5
 23. **Velisek, J., Suobodova, Z., Piackoua, V., (2007)**. Effects of 2- phenoxyethanol anesthesia on hematological profile on Common carp (*Cyprinus carpio*) and Rain bow trout (*Oncorhynchus mykiss*). ACTAVET. 76, 487-492.
 24. **Velisek, J., Suobodova, Z., Piackova, V., Groch, L., Nepejchalova, L., (2005)**. Effects of clove oile anesthesia on Common carp (*Cyprinus carpio*) Vet .Med .50, 269-275.
 25. **Velisek J, Wlasow T, Gomulka P, Svobodova Z, Novotny L, et al. (2006)**. Effects of Clove Oil anaesthesia on european catfish (*Silurus glanis* L.). Acta Veterinaria Brno 75: 99–106.
 26. **Velisek J, Svobodova Z, Piackova V, Groch L, Nepejchalova L. (2005)**. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). Veterinary Medicine Czech 50: 269–275.
 27. **Weber RA, Peleteiro JB, Garcia Martín LO, 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.