

مقایسه اثر بیهوش کننده اسانس اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) با اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر برخی شاخص های خونی و بیوشیمیایی سرم در ماهی جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

نرگس بهشتی^۱، سکینه یگانه^{۱*}، میلاد عادل^۲

*skyeganeh@gmail.com

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری. ساری، ایران.

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران. ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۶

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۷

چکیده

هدف از این پژوهش مقایسه اثر دو ماده بیهوش کننده اسانس اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) و گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر برخی شاخص های خونی و بیوشیمیایی سرم خون در ماهی جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بود. بچه ماهیان کپور معمولی در معرض سه تیمار شامل غلظت بهینه بیهوشی اسانس اسطوخودوس (۱۷۰ میلی گرم بر لیتر)، میخک (۳۵ میلی گرم بر لیتر) و تیمار شاهد قرار گرفتند و برخی شاخص های خونی و بیوشیمیایی سرم ماهیان در معرض غلظت بهینه بیهوشی با اسانس اسطوخودوس و میخک در زمان های مختلف صفر (بلافاصله)، ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی مقایسه گردیدند. نتایج نشان داد در غلظت بهینه اسانس اسطوخودوس و میخک اثر تیمار (ماده بیهوشی) در تمامی شاخص های خون شناسی، اثر زمان در شاخص های Hb، WBC و شاخص های MCHC، MCH، اثر متقابل تیمار در زمان، در تمام شاخص ها به جز Hct و RBC و اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار و زمان بر تمام شاخص های بیوشیمیایی سرم معنی دار بود ($p < 0.05$). با گذشت زمان پس از بیهوشی میزان RBC در تیمار شاهد و اسطوخودوس تفاوت معنی داری نداشت ($p > 0.05$)، اما در تیمار میخک بلافاصله پس از بیهوشی به طور معنی داری بیشتر از سایر زمانها بود ($p < 0.05$). میزان WBC در تمام زمانها در تیمار میخک کاهش معنی داری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p < 0.05$). با گذشت زمان در تیمار شاهد کاهش هموگلوبین و در تیمار میخک و اسطوخودوس افزایش هموگلوبین مشاهده شد ($p < 0.05$). در تیمار شاهد با گذر زمان مقدار هماتوکریت افزایش معنی دار مشاهده شد ($p < 0.05$)، اما در سایر تیمارها تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). کمترین میزان گلوکز در هر سه زمان در تیمار اسطوخودوس مشاهده شد ($p < 0.05$) و در تیمار میخک و اسطوخودوس پس از یک افزایش در ۳ ساعت پس از بیهوشی، کاهش معنی دار در ۲۴ ساعت مشاهده شد ($p < 0.05$). میزان کورتیزول در ۳ ساعت پس از بیهوشی بین تیمار شاهد و میخک تفاوت معنی دار نداشت ($p < 0.05$). در تمام زمانها میزان AST در تیمار شاهد، میزان ALT در تیمار شاهد و میخک، ALP در تیمار میخک بیشتر و میزان LDH در اسطوخودوس کمتر مشاهده شد. در مجموع اگرچه تاثیر اسانس اسطوخودوس بر شاخص های اندازه گیری شده با میخک تفاوت نشان داد، اما می توان آن را به عنوان ماده جایگزین بومی برای بیهوشی در آبی پروری معرفی نمود.

لغات کلیدی: کپور معمولی، اسانس میخک و اسطوخودوس، بیهوشی، شاخص های خونی و بیوشیمیایی سرم

*نویسنده مسئول

مقدمه

با توجه به گستردگی کاربرد بیهوشی در ماهیان و اهمیت آن در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهی، نیاز به داروهای بیهوشی مناسب، قابل دسترس و ارزان احساس می‌شود (Keene et al., 1998). استفاده از بیهوش‌کننده‌ها در اصل موجب کاهش استرس و در نتیجه جلوگیری از آسیب ماهی در زمان دستکاری مانند بیومتری، تست سلامتی، تخم‌کشی، جراحی، نمونه‌برداری خونی، واکسیناسیون و حمل و نقل می‌شود (Velisk et al., 2005). پاسخ به یک ماده بیهوشی در گونه‌های متفاوت ماهی‌ها بسته به عوامل بیولوژیک مانند سطح اپیتلیوم آبشش، حجم بدن و ضخامت اپی‌تلیوم، مرحله زندگی، وزن، سن، جنس، محتوای لیپید، وضعیت سلامتی و فاکتورهای محیطی مانند pH و دما متغیر می‌باشد (Iversen et al., 2003; Bagheri and Imanpour, 2011). به‌کارگیری مواد بیهوشی در آبزیان با توجه به فاکتورهایی چون سرعت ایجاد بیهوشی، بازگشت از بیهوشی سریع، غیر سمی بودن برای ماهی و انسان، تجمع کمتر در اندام‌ها، تجزیه سریع در محیط آبی و ارزان بودن انجام می‌شود (Sattari et al., 2009). به‌طوری که ماده‌ای به عنوان بیهوش‌کننده مناسب است که عدم تحرک و شلی عضلات را به‌خوبی فراهم کند، علاوه بر ایجاد بیهوشی و بازگشت از بیهوشی در زمان کوتاه (حدود ۵ دقیقه یا کمتر) و بدون عوارض جانبی باشد، مشتقات آن به‌آسانی از بدن خارج شوند و بر روی ایمنی و فیزیولوژی ماهی تأثیر منفی نداشته باشد، مقادیر مصرفی برای ماهی سمی نباشد، به‌آسانی در دسترس باشد و برای انسان ضرری نداشته و در آب محلول باشد (Akbulut et al., 2012; Iversen et al., 2003). از میان روش‌های متفاوت بیهوشی، در ماهیان از روش غوطه‌وری با استفاده از بیهوش‌کننده‌های محلول در آب، به دلیل سهولت کاربرد، حاشیه امنیت و اطمینان برای افراد، استفاده می‌شود (Filiciotto et al., 2012). ترکیبات مختلفی از جمله تریکائین متان سولفانات (MS222)، ۲ فنوکسی اتانول، متومیدات، اتومیدات، کتامین هیدروکلراید، لیدوکائین، دیازپام، اسانس میخک، *Zataria multiflora* Boiss و *Nicotiana tabacum* با کارایی مختلف برای بیهوشی ماهیان بررسی و یا استفاده شده‌اند (شریف روحانی و همکاران، ۱۳۸۶؛ زرغام و همکاران، ۱۳۹۱؛ Velisek et al., 2013; Ghanawi et al., 2011; Stoskopf, 1993) که در این میان بیهوش‌کننده‌های

سنتتیک دارای اثرات جانبی منفی مانند آشفتگی‌هایی در سیستم عروقی، عملکرد تنفسی و ایمنی می‌باشند (Silva et al., 2013). اسانس میخک به دلیل وجود ۷۰-۹۰ درصد اوژنول (4-allyl-2-methoxyphenol) جهت بیهوشی در کارگاه‌های پرورش در ایران و سایر کشورها استفاده می‌شود و دز پیشنهادی آن برای بیهوشی ۱۰۰-۲۵ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شده است (Bagheri and Imanpour, 2011; Keene et al., 1998). پژوهش‌هایی در ارتباط با استفاده از بیهوش‌کننده‌های مختلف در ماهیان (Adel et al., 2016; Velisk et al., 2005) و پیامدهای فیزیولوژیکی بی‌هوش‌کننده‌ها انجام شده است (Akbulut et al., 2012; Filiciotto et al., 2012; Bagheri and Imanpour, 2011; Velisk et al., 2005; al., 2005) و مشخص شده است که امکان کاربرد موفق اسانس‌ها به عنوان بی‌هوش‌کننده در آبی‌پروری نیز وجود دارد، اگرچه بیشتر تحقیقات مربوط به اسانس میخک می‌باشد (Akbulut et al., 2011a, b)، اما تعدادی پژوهش در مورد استفاده از سایر گیاهان دارویی مانند اسانس *bushy lippia* *rosemary Rosmarinus* *oil from Lippia alba* *tree basil Ocimum gratissimum oil* *officinalis oil* *camphor* *spearment Mentha spicata oil* *mint Mentha arvensis* و *Cinnamomum camphora oil* انجام شده است (Pedrazzani and Neto, 2016; Roohi and Imanpoor, 2015; Silva et al., 2013, 2015). در ایران نیز اثر بیهوشی تعدادی از گیاهان شامل اسانس گل میخک (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۸۱؛ محمدی ارانی، ۱۳۸۵)، اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) (شریف‌روحانی و همکاران، ۱۳۸۶)، پودر گل میخک (اخلاقی و میراب‌پروجرودی، ۱۳۸۷)، عصاره گیاهان سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)، خشخاش (*Papaver samniferum*) و شقایق (*Papaver bracteatum*) (صدیق‌اعتقاد و همکاران، ۱۳۸۷) و عصاره‌ی سنبل‌الطیب (*V. officinalis*)، بادرنجبویه (*M. officinalis*) و مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) (یگانه و ملکی، ۱۳۹۲) بررسی شده است. با توجه به غنای گیاهی کشور ایران و سابقه استفاده از گیاهان بومی و هم‌چنین صرفه اقتصادی و عوارض جانبی کمتر این نوع مواد، گیاهان دارویی به عنوان گزینه‌ای برای جایگزینی بی‌هوش‌کننده‌های فعلی مورد بررسی

قرار می‌گیرند. اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula angustifolia* از خانواده نعنائیان *Labiata* است و پراکنش آن در Macaronesia در غرب، North Africa و مدیترانه، جنوب شرق آسیا، غرب ایران و شرق هند می‌باشد (Upton and Andrews, 2004). اسانس این گیاه دارای اثرات دارویی بی‌حسی، ضد تشنج، ضد درد، ضد اکسیدانی و ضد ویروسی می‌باشد و به صورت محلی برای فعالیت بیهوش‌کنندگی در اهداف طبیبی استفاده می‌شود و مصارف بهداشتی آرایش نیز دارد. این اسانس دارای ترپن‌ها و مونوترپن‌ها به میزان ۵۰-۶۰ درصد است (Hassiotis et al., 2014) و لینالول و لینالیل استات از ترکیبات غالب آن است که محلول در چربی و دارای بخش آبدوست نیز می‌باشد و عملکرد آن می‌تواند به دلیل مسدود کردن کانال سدیم و یا کلسیم باشد (Ghelardini et al., 1999). تاثیر بیهوش‌کننده‌ها بر وضعیت استرس و تغییرات فاکتورهای هماتولوژی مرتبط با استرس دارای اهمیت است (Filiciotto et al., 2012). عوامل مختلف استرسی داخلی و خارجی موجب پاسخ غدد درون‌ریز و تغییر در کورتیکوستروئیدها و کته کولامین‌ها می‌شود و به دنبال آن پاسخ‌های ثانویه استرس و تغییراتی را در فاکتورهای هماتولوژی ایجاد می‌کند (Buscaino et al., 2010). بنابراین، در این تحقیق اثر اسانس اسطوخودوس بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم در مقایسه با اسانس میخک مد نظر قرار گرفت.

مواد و روش کار

تهیه ماهی

برای انجام این تحقیق، بچه‌ماهیان کپور معمولی با میانگین وزنی $1/98 \pm 26/96$ گرم از کارگاه پرورش ماهی تهیه شدند. ماهی‌ها در دوره سازش‌پذیری به مدت ده روز با غذای اکستروژنه ماهی کپور معمولی با قطر $2/5 \pm 0/2$ میلی‌متر (کارخانه خوراک دام و آبزیان، مازنداران) دو بار در روز به میزان ۳ درصد وزن بدن در دو نوبت صبح و عصر تغذیه شدند. در این مدت به‌منظور حفظ کیفیت آب، تعویض روزانه آب به میزان ۳۰ درصد از حجم مخازن از کف انجام گرفت. ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش‌ها غذادهی متوقف گردید. ابتدا با استفاده از آزمایش اولیه بر روی تاثیر بیهوشی اسانس اسطوخودوس و میخک، حداقل غلظت ایجادکننده بیهوشی در ماهیان مورد

آزمایش (۳۰ میلی‌گرم بر لیتر اسانس میخک و ۱۶۰ میلی‌گرم بر لیتر اسانس اسطوخودوس) تعیین و از بین غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس شامل ۱۶۰، ۱۶۵، ۱۷۰، ۱۷۵ و ۱۸۰ میلی‌گرم بر لیتر و غلظت‌های مختلف اسانس میخک شامل ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت بهینه بیهوشی برای اسانس اسطوخودوس در غلظت ۱۷۰ میلی‌گرم بر لیتر با زمان بیهوشی $3/35 \pm 0/3/74$ دقیقه و زمان احیا کامل $3/91 \pm 0/55$ دقیقه و برای اسانس میخک در غلظت ۳۵ میلی‌گرم بر لیتر با میانگین زمان بیهوشی $2/89 \pm 0/57$ دقیقه و زمان احیا کامل $4/49 \pm 0/38$ دقیقه بدست آمد. ماهیان با تراکم ۱۵ قطعه در هر تکرار (هر تیمار ۳ تکرار) در معرض غلظت بهینه بیهوشی اسانس اسطوخودوس و میخک و یک تیمار بدون ماده بیهوشی به عنوان شاهد قرار گرفتند و شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم خون در زمان‌های صفر، ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی انجام شد (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۱). بی‌هوش‌کردن ماهیان به روش غوطه‌وری صورت گرفت. هوادهی در تانک‌ها به‌وسیله سنگ هوا انجام می‌شد. فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب شامل دما، اکسیژن محلول (اکسیژن‌متر CMD 200، ساخت انگلیس) و pH (pH متر مدل Sartorius, PB-11)، سختی (TDS) (مدل Senciu Hach، ساخت آمریکا) و هدایت الکتریکی (مدل Senciu Hach، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری شد و در طول دوره به‌ترتیب، $28/5 \pm 1/2$ درجه سانتی‌گراد، $6/25 \pm 0/6$ میلی‌گرم بر لیتر، $8/25 \pm 0/3$ و 470 ± 24 میلی‌گرم بر لیتر و 940 ± 123 میکروزیمنس تعیین شد.

فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و آنزیمی سرم خون ماهیان

خون‌گیری از بچه‌ماهیان کپور معمولی در تمام تیمارها (تیمار شاهد بدون بیهوشی، تیمار ۱۷۰ میلی‌گرم بر لیتر اسطوخودوس و ۳۵ میلی‌گرم بر لیتر اسانس میخک) در زمان‌های صفر (بلافاصله پس از بیهوشی)، ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی، پس از خشک کردن سطح بدن ماهی، به‌وسیله سرنگ ۵ سی‌سی از ورید ساقه دمی صورت گرفت (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۱). پس از خون‌گیری بخشی از خون به لوله حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (برای فاکتورهای خونی) و بخش دیگر خون به لوله‌های آزمایش بدون EDTA (برای تعیین فاکتورهای بیوشیمیایی سرم) منتقل شدند. برای جداسازی سرم، نمونه

ها از آزمون آماری دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد. تمامی آنالیزهای آماری در نرم‌افزار SPSS21 انجام شد.

نتایج

مقایسه شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان کپور معمولی در غلظت بیهوشی بیهوشی با اسانس اسطوخودوس و میخک: آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که اثر تیمار (ماده بیهوشی) بر تمام شاخص‌ها و اثر زمان به‌جز در مقدار گلبول قرمز، هماتوکریت و MCV در دیگر شاخص‌ها معنی‌دار بود. اثر متقابل تیمار (نوع ماده‌ی بیهوشی) و زمان بر تمام شاخص‌های خونی به‌جز گلبول قرمز و هماتوکریت معنی‌دار بود (جدول ۱؛ $p < 0.05$).

پس از اعمال بیهوشی بین تیمارهای اسطوخودوس و میخک در تعداد گلبول قرمز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$), این در حالی است که در زمان‌های ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی تعداد گلبول قرمز در تیمار بیهوشی با اسطوخودوس به‌طور معنی‌داری بیشتر از میخک بود ($p < 0.05$). بیشترین تعداد گلبول قرمز در زمان‌های مختلف با اسانس اسطوخودوس و بلافاصله پس از بیهوشی با میخک مشاهده شد و کمترین تعداد گلبول قرمز مربوط به گروه شاهد در تمام زمان‌های پس از بیهوشی بدست آمد. در تعداد گلبول‌های سفید، بلافاصله و ۳ ساعت پس از بیهوشی بین تیمار میخک و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$), اما بین تیمار شاهد و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی اختلاف معنی‌داری بین همه تیمارها وجود داشت ($p < 0.05$). بیشترین تعداد گلبول سفید، در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی در تیمار شاهد، و کمترین تعداد آن در تمام زمان‌ها در تیمار میخک مشاهده شد ($p < 0.05$). با گذشت ۲۴ ساعت از بیهوشی میزان آن در شاهد و اسطوخودوس به میزان اولیه بلافاصله پس از بیهوشی رسید، اما در تیمار میخک پس از ۲۴ ساعت افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). در میزان هموگلوبین، بلافاصله پس از بیهوشی بین تیمار شاهد و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$), اما با تیمار میخک اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$).

خون به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سپس سرم خون به ویال‌های ۰/۵ میلی‌لیتری منتقل و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. شمارش گلبول قرمز (RBC) و گلبول سفید (WBC) بر اساس روش Hoston (۱۹۹۰)، غلظت هموگلوبین (Hb) و میزان هماتوکریت (Hct) بر اساس روش Drobkin (۱۹۴۵)، تعیین شد. هم‌چنین میانگین حجم گلبول قرمز^۱ (MCV)، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH^۲) و میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC^۳) بر اساس روابط ذیل محاسبه شد (Yeganeh et al., 2016).

$$MCV = (Hct \div RBC) \times 10$$

$$MCH = (Hb \div RBC) \times 10$$

$$MCHC = (Hb \div Hct) \times 100$$

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی سرم از قبیل پروتئین تام بر اساس روش Lowry و همکاران (۱۹۵۲)، آلومین بر اساس روش Wotton و Freeman (۱۹۸۲)، گلوکز، بر اساس روش Trinder (۱۹۶۹)، با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت زیست‌شیمی و کورتیزول بر اساس روش Molinero و González (۱۹۹۵) و با استفاده از کیت آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون انجام شد. آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون و طبق روش DGKC، آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و بر طبق روش Reitman-frankel (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) برآورد شد (Fischbach and Zawar, 1992).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده (پس از نرمال‌سازی داده‌ها توسط آزمون کولموگراف-اسمیرنوف) از دو تیمار ماده بیهوشی اسانس اسطوخودوس و میخک‌های در زمان‌های مختلف با کمک آزمایش فاکتوریل و با استفاده از روش آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way-ANOVA) انجام شد. برای مقایسه‌ی میانگین

¹ Mean Cell Volume

² Mean Corpuscular Hemoglobin

³ Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

جدول ۱: تغییرات شاخص‌های خونی در بچه ماهی کپور معمولی در زمان‌های صفر، ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی با غلظت بهینه اسانس اسطوخودوس (۱۷۰ میلی گرم بر لیتر) و میخک (۳۵ میلی گرم بر لیتر).

Table 1: Variation of haematological indices in common carp juvenile at 0, 3 and 24 h after anaesthesia with optimum concentration of Topped lavender essential oil (170 mg/l) and clove oil (35 mg/l) .

p value			زمان			تیمار	شاخص
تیمار × زمان	تیمار	زمان	۲۴ ساعت پس از بیهوشی	۳ ساعت پس از بیهوشی	صفر (بلافاصله) پس از بیهوشی		
۰/۰۷	۰/۳۳	۰/۰۰	۱/۲۵±۰/۰۱ ^{bc}	۱/۲۲±۰/۰۲ ^{bc}	۱/۱۸±۰/۰۱ ^c	شاهد	RBC
			۱/۴۵±۰/۰۳ ^a	۱/۵۳±۰/۰۱ ^a	۱/۵۳±۰/۰۳ ^a	اسطوخودوس	(× ۱۰ ^۶ /mm ³)
			۱/۳۳±۰/۰۱ ^b	۱/۳۳±۰/۰۱ ^b	۱/۴۶±۰/۰۶ ^a	میخک	
۰/۰۰	۰/۰۴	۰/۰۰	۱۶/۱۲±۰/۴۴ ^{Aa}	۱۴/۵۳±۰/۲۸ ^{Ab}	۱۴/۸۴±۰/۵۳ ^{Aa}	شاهد	WBC
			۱۳/۱۷±۰/۱۶ ^{Ba}	۱۴/۶۳±۰/۲۲ ^{Aa}	۱۵/۵۰±۰/۶۶ ^{Aa}	اسطوخودوس	(× ۱۰ ^۶ /mm ³)
			۹/۵۰±۰/۵۰ ^{Ca}	۶/۶۰±۰/۶۰ ^{Bb}	۵/۶۰±۰/۶۰ ^{Bb}	میخک	
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۷/۶۶±۰/۲۷ ^{Cb}	۷/۶۸±۰/۳۹ ^{Ab}	۸/۴۱±۰/۲۲ ^{Aa}	شاهد	Hb
			۹/۳۲±۰/۰۶ ^{Aa}	۸/۸۶±۰/۸۹ ^{Aab}	۸/۰۵±۰/۴۴ ^{Ab}	اسطوخودوس	(g/dl) هموگلوبین
			۸/۴۶±۰/۱۱ ^{Ba}	۷/۹۸±۰/۳۳ ^{Ab}	۶/۵۹±۰/۱۵ ^{Bc}	میخک	
۰/۴۵	۰/۷۲	۰/۰۰	۳۷/۳۳±۱/۵۳ ^{abc}	۳۵/۵۰±۰/۵۰ ^c	۳۶/۵۰±۰/۵۰ ^{bc}	شاهد	Hct
			۳۶/۰۰±۱/۰۰ ^c	۳۷/۶۷±۱/۵۲ ^{abc}	۳۸/۳۳±۳/۰۵ ^{abc}	اسطوخودوس	(%) هماتوکریت
			۳۹/۶۷±۲/۰۸ ^{ab}	۴۰/۰۰±۲/۰۰ ^a	۴۰/۰۰±۲/۰۰ ^a	میخک	
۰/۰۳	۰/۵۳	۰/۰۰	۲۹۷/۸۰±۸/۵۲ ^{Aab}	۲۹۱/۰۱±۴/۴۲ ^{Ab}	۳۰۹/۳۲±۳/۷۱ ^{Aa}	شاهد	MCV
			۲۴۷/۱۱±۲/۰۴ ^{Ba}	۲۴۶/۴۴±۱۸/۳۵ ^{Ba}	۲۴۹/۷۶±۲۶/۵۴ ^{Ba}	اسطوخودوس	حجم متوسط
			۲۹۹/۱۴±۲۳/۱۴ ^{Aab}	۳۰۳/۷۱±۱۱/۷۶ ^{Aa}	۲۶۱/۵۲±۲۲/۷۲ ^{Bb}	میخک	گلبول قرمز (fL)
۰/۰۰	۰/۰۳	۰/۰۰	۶۱/۱۴±۲/۹۲ ^{Ab}	۶۲/۹۹±۲/۶۲ ^{Aa}	۷۱/۲۶±۲/۳۱ ^{Aa}	شاهد	MCH
			۶۴/۰۳±۰/۹۵ ^{Aa}	۵۸/۱۹±۹/۶۱ ^{Aa}	۵۲/۴۷±۳/۷۸ ^{Ba}	اسطوخودوس	غلظت متوسط
			۳۸/۱۰±۲/۹۳ ^{Bb}	۶۰/۹۷±۸/۰۲ ^{Aa}	۴۳/۰۶±۱/۱۶ ^{Cb}	میخک	هموگلوبین (pg)
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱۹/۱۶±۱/۱۶ ^{Cb}	۲۰/۶۰±۱/۳۰ ^{Aab}	۲۱/۷۵±۰/۳۶ ^{Aa}	شاهد	MCHC
			۲۵/۶۷±۰/۲۹ ^{Aa}	۲۳/۵۱±۲/۰۶ ^{Aab}	۲۱/۰۴±۰/۵۹ ^{Ab}	اسطوخودوس	غلظت متوسط
			۲۱/۳۷±۱/۲۹ ^{Ba}	۲۰/۰۲±۱/۸۵ ^{Aa}	۱۶/۵۲±۱/۰۷ ^{Bb}	میخک	گلبول‌های قرمز (%)

حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر و حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در ستون برای هر شاخص می‌باشند (p<۰/۰۵).

و شاهد در میزان هماتوکریت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (p>۰/۰۵)، در ۲۴ ساعت پس از بیهوشی تیمار شاهد و میخک و شاهد و اسطوخودوس تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵) اما میزان هماتوکریت در تیمار میخک به طور معنی‌داری بیشتر از اسطوخودوس بود (p<۰/۰۵). در تیمار شاهد با گذر زمان مقدار هماتوکریت افزایش معنی‌دار (p<۰/۰۵)، اما در سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد

در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (p>۰/۰۵)، اما ۲۴ ساعت پس از بیهوشی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵). با گذشت زمان در تیمار شاهد کاهش هموگلوبین و در تیمار میخک و اسطوخودوس افزایش هموگلوبین مشاهده شد (p<۰/۰۵). پس از اعمال بیهوشی و ۳ ساعت پس از بیهوشی بین تیمارهای اسطوخودوس و میخک و تیمارهای اسطوخودوس

($p > 0.05$). در میزان MCV بلافاصله پس از بیهوشی بین تیمار میخک و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$), اما با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$). در زمان‌های ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی بین تیمار میخک و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$), اما به‌طور معنی‌داری از تیمار اسطوخودوس بیشتر بودند ($p < 0.05$). در تیمار شاهد و میخک در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی با زمان بلافاصله پس از بیهوشی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$), اما پس از ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری با زمان صفر نشان نداد, در تیمار اسطوخودوس تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$). در میزان MCH بلافاصله پس از بیهوشی, بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$), اما ۳ ساعت پس از بیهوشی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی بین تیمار شاهد و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$), اما با تیمار میخک اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0.05$). در تیمار شاهد و میخک با گذشت ۲۴ ساعت کاهش معنی‌دار ($p < 0.05$), اما در تیمار اسطوخودوس تفاوت معنی‌داری در زمان‌های مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$). در میزان MCHC بلافاصله پس از بیهوشی بین تیمار شاهد و اسطوخودوس و در زمان ۳ ساعت, بین تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$). در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد ($p < 0.05$). در تیمار شاهد با گذشت زمان تا ۲۴ ساعت کاهش معنی‌دار, اما در تیمار میخک و اسطوخودوس افزایش معنی‌دار مشاهده شد ($p < 0.05$).

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم بچه‌ماهیان کیور معمولی در غلظت‌های بهینه بیهوشی با اسانس اسطوخودوس و میخک: آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که اثر تیمار (ماده بیهوشی), زمان و اثر متقابل تیمار (نوع ماده بیهوشی) و زمان بر تمام شاخص‌های بیوشیمیایی سرم معنی‌دار بود (جدول ۲؛ $p < 0.05$).

بیشترین میزان گلوکز, در تیمار میخک در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی و کمترین میزان آن در تیمار اسطوخودوس بلافاصله پس از بیهوشی مشاهده شد. در تیمار میخک و اسطوخودوس پس از یک افزایش در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی, کاهش

معنی‌داری در ۲۴ ساعت پس از بیهوشی نشان داد, اما در تیمار شاهد فقط در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی تفاوت معنی‌داری با دو زمان دیگر مشاهده شد و در هر سه زمان نمونه‌برداری میزان گلوکز در تیمار شاهد بیشتر از دو تیمار حاوی ماده بیهوشی بود ($p < 0.05$). در میزان کورتیزول, بلافاصله و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$) و میزان آن به‌ترتیب در تیمار اسطوخودوس, شاهد و میخک کاهش یافت. در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی در تیمار اسطوخودوس کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد وجود داشت ($p < 0.05$), اما این دو تیمار با تیمار میخک تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p > 0.05$). بیشترین میزان کورتیزول در تیمار اسطوخودوس در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی مشاهده شد. در تیمار میخک در طول زمان کاهش معنی‌دار و در تیمار اسطوخودوس افزایش معنی‌دار مشاهده شد ($p < 0.05$). در تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری در طول زمان مشاهده نشد. میزان آسپارات‌آمینوترانسفراز (AST) در زمان‌های صفر, ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی, دارای اختلاف معنی‌داری بین تیمارها بود ($p < 0.05$). در تمام زمان‌ها میزان آن در تیمار شاهد بیش از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$), بیشترین میزان آسپارات‌آمینوترانسفراز, در تیمار شاهد در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی و کمترین میزان آن در تیمار اسطوخودوس بلافاصله پس از بیهوشی مشاهده شد. در میزان آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) بلافاصله پس از بیهوشی و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی, بین تیمار شاهد و میخک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$), اما با تیمار اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0.05$). در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی بین تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$). بیشترین میزان آلانین‌آمینوترانسفراز در تیمار شاهد در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی و کمترین میزان آن در تیمار اسطوخودوس بلافاصله پس از بیهوشی مشاهده شد. در میزان آلکالین فسفاتاز (ALP) در زمان‌های مختلف, بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$). بیشترین میزان آلکالین فسفاتاز در تیمار میخک در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی و کمترین میزان آن در تیمار شاهد بلافاصله پس از بیهوشی مشاهده شد.

جدول ۲: تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در بچه‌ماهی کپور معمولی در زمان‌های صفر، ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی با غلظت بهینه اسانس اسطوخودوس (۱۷۰ میلی‌گرم بر لیتر) و میخک (۳۵ میلی‌گرم بر لیتر).

Table 2: Variation of serum biochemical indices in common carp juvenile at 0, 3 and 24 h after anaesthesia with optimum concentration of Topped lavender essential oil (170 mg/l) and clove oil (35 mg/l).

p value			زمان			تیمار	شاخص
تیمار × زمان	زمان	تیمار	۲۴ ساعت پس از بیهوشی	۳ ساعت پس از بیهوشی	صفر (بلافاصله) پس از بیهوشی		
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۹۷/۳۳±۰/۵۷ ^{Ba}	۸۰/۵۰±۰/۵۰ ^{Bb}	۹۰/۳۳±۶/۱۱ ^{Aa}	شاهد	گلوکز (mg/dl)
			۵۸/۳۳±۰/۵۷ ^{Cb}	۶۵/۰۰±۰/۰۰ ^{Ca}	۴۰/۰۰±۰/۰۰ ^{Cc}	اسطوخودوس	
			۱۱۱/۵۰±۰/۵۰ ^{Ab}	۱۱۵/۰۰±۱/۰۰ ^{Aa}	۵۰/۳۳±۰/۵۷ ^{Bc}	میخک	
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۱	۶۲/۳۳±۴/۱۶ ^{Ba}	۶۱/۶۶±۴/۵۰ ^{Aa}	۵۸/۳۰±۶/۹۰ ^{Ba}	شاهد	کورتیزول (ml/ng)
			۹۷/۴۰±۲/۸۷ ^{Aa}	۵۰/۶۶±۰/۳۷ ^{Bb}	۴۹/۱۳±۰/۲۵ ^{Cb}	اسطوخودوس	
			۴۸/۱۳±۰/۷۵ ^{Cb}	۵۴/۸۳±۷/۶۵ ^{ABb}	۷۵/۴۳±۳/۶۵ ^{Aa}	میخک	
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۳۶۵/۶۷±۴/۰۴ ^{Ab}	۴۵۴/۰۰±۴/۰۰ ^{Aa}	۳۷۲/۰۰±۱۵/۷۱ ^{Ab}	شاهد	AST آسپارات آمینو ترانسفراز (U/L)
			۲۱۷/۵۰±۰/۵۰ ^{Ca}	۱۶۴/۳۳±۱/۱۵ ^{Cb}	۱۲۷/۰۰±۷/۰۰ ^{Cc}	اسطوخودوس	
			۲۳۹/۰۰±۱/۰۰ ^{Ba}	۱۷۰/۰۰±۱/۰۰ ^{Bc}	۲۲۴/۰۰±۱/۰۰ ^{Bb}	میخک	
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱۱/۳۳±۰/۵۷ ^{Ab}	۱۹/۰۰±۱/۰۰ ^{Aa}	۱۴/۶۶±۳/۵۱ ^{Ab}	شاهد	ALT آلانین آمینو ترانسفراز (U/L)
			۴/۰۰±۰/۰۰ ^{Ba}	۳/۵۰±۰/۵۰ ^{Ca}	۲/۵۰±۰/۵۰ ^{Bb}	اسطوخودوس	
			۱۱/۵۰±۰/۵۰ ^{Ab}	۱۴/۰۰±۱/۰۰ ^{Ba}	۱۴/۴۰±۰/۵۳ ^{Aa}	میخک	
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱۷۵/۰۰±۲/۶۴ ^{Ba}	۱۲۱/۶۷±۱/۵۲ ^{Bb}	۷۷/۳۳±۴/۰۴ ^{Cc}	شاهد	ALP آلکالین فسفاتاز (U/L)
			۸۰/۰۰±۹/۶۴ ^{Cb}	۹۲/۶۶±۶/۱۱ ^{Cb}	۱۱۴/۶۷±۵/۰۳ ^{Ba}	اسطوخودوس	
			۳۲۰/۲۲±۰/۵۷ ^{Aa}	۱۳۳/۰۰±۲/۰۰ ^{Ac}	۱۷۱/۵۰±۰/۵۰ ^{Ab}	میخک	
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱۳۲۲/۳۴±۲۱/۳۸ ^{Bb}	۱۸۲۱/۰۰±۹/۰۳ ^{Aa}	۱۸۲۳/۶۷±۱۰/۱۱ ^{Ba}	شاهد	LDH لاکتات-دهیدروژناز (U/L)
			۱۲۹۳/۶۷±۰/۵۷ ^{Cc}	۱۷۷۶/۶۷±۶۴/۴۳ ^{Ab}	۲۸۷۱/۰۰±۳۶/۳۷ ^{Aa}	اسطوخودوس	
			۲۳۳۰/۰۰±۲/۰۰ ^{Aa}	۱۷۵۶/۶۷±۳/۵۱ ^{Ac}	۱۷۹۸/۶۷±۳/۲۱ ^{Bb}	میخک	

حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر و حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در ستون برای هر شاخص می‌باشند ($p < 0.05$).

مشاهده شد. میزان این آنزیم با گذشت زمان از بیهوشی کاهش معنی‌داری را در تمام تیمارها نشان داد ($p < 0.05$).

بحث

شاخص‌های خونی

اسانس میخک و اسطوخودوس لیپوفیل می‌باشد و به سرعت از طریق اپیتلیوم آبشش وارد و توسط سایر بافتها مانند بافت چربی و مغز جذب می‌شود (Summerfelt and Smith, ۱۱۳

میزان لاکتات‌دهیدروژناز (LDH) در زمان بلافاصله پس از بیهوشی، بین تیمار شاهد و میخک و ۳ ساعت بعد از بیهوشی بین تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$), ۲۴ ساعت پس از بیهوشی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$). بیشترین میزان لاکتات‌دهیدروژناز در تیمار اسطوخودوس بلافاصله پس از بیهوشی و کمترین میزان آن در تیمار اسطوخودوس در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی

(1990) و میزان جذب ماده بی‌هوش‌کننده به مدت در معرض قرارگیری بستگی دارد (Javahery *et al.*, 2012). اسانس‌ها که محلول در چربی هستند ممکن است با برهمکنش با غشای پلاسمایی دولایه‌ای چربی، جلوگیری از موج یون کلسیم، یا جلوگیری از افزایش نفوذ یون سدیم عمل نمایند و نوروترنسمیشن (انتقال عصبی) را مسدود کنند (Ghelardini *et al.*, 1999). اسانس میخک به دلیل در دسترس بودن و ایمن بودن برای ماهی و انسان، پرکاربردترین ماده بیهوشی مورد استفاده در ایران است (Adel *et al.*, 2016). ماده موثره و فعال اسانس میخک شامل اوژنول (۹۰-۸۰ درصد)، اوژنول استات (۱۵ درصد)، cariofilen 5 (۱۲٪) و beta caryophyllene (۱۲-۵ درصد) می‌باشد (Velisek *et al.*, 2005). جنس *Lavandula* دارای عملکردهای متعدد دارویی، آرایشی و بهداشتی هستند و عملکرد بیهوش‌کنندگی و آرامبخشی آنها نیز شناخته شده است (Hassiotis *et al.*, 2014). محتوای لینالول و لینالیل استات در آن به ترتیب ۵۷/۵-۱۰ و ۵۵-۴ درصد گزارش شده است. عصاره متانولی lavender اثر بیهوش‌کنندگی (sedative) روی موش داشته است (Koulivand *et al.*, 2013; Alnamer *et al.*, 2012). Ghelardini و همکاران (۱۹۹۹) عملکرد بیهوشی موضعی این اسانس را حداقل برای آرامبخشی عضلانی اثبات نموده‌اند. لینالول از رهاسازی استیل کولین جلوگیری کرده و زمان بازشدن کانال را در اتصالات عصبی-ماهیچه‌ای موش کاهش می‌دهد. به علاوه اثر بی‌هوش‌کنندگی موضعی اسانس اسطوخدوس ناشی از مسدود کردن کانال سدیم و یا پتاسیم توسط ترکیبات آن بیان شده است (Koulivand *et al.*, 1999; Ghelardini *et al.*, 2013). در مطالعه حاضر نیز به‌ترتیب غلظت ۱۷۰ و ۳۵ میلی‌گرم بر لیتر اسانس اسطوخدوس و میخک توانست بیهوشی مناسب را برای ماهی کپور معمولی ایجاد کند.

شاخص‌های خون‌شناسی به‌عنوان شاخص‌های فیزیولوژیک استرس در تغییرات محیط داخلی و خارجی ماهیان استفاده می‌شوند (Masopust, 2000). شاخص‌های مربوط به خون مانند گلبول‌های سفید از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها یکی از بخش‌های سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند که نوسان در تعداد آنها می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل استرس

مطرح باشد (Svobodova *et al.*, 1991). گلبول‌های قرمز نابالغ تحت شرایط استرس‌زا از طحال آزاد می‌شوند و با افزایش متابولیسم، اکسیژن‌رسانی به ارگان‌های مهم افزایش می‌یابد که به دنبال آن گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و سطح هماتوکریت افزایش می‌یابد (جهانبخشی و همکاران، ۱۳۹۳؛ Casillas *et al.*, 1974). در پژوهش حاضر، مشخص گردید که در زمان بلافاصله پس از بیهوشی، نوع ماده بیهوشی تأثیر معنی‌داری بر مقدار هماتوکریت، گلبول قرمز و MCV نداشت، اما در سایر شاخص‌های خونی تأثیر معنی‌داری مشاهده شد. در مطالعه Bishkoul و همکاران (۲۰۱۵)، تحت تأثیر بیهوش‌کننده MS222 مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) بلافاصله پس از بیهوشی کاهش یافت، درحالی‌که در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی مقدار آنها افزایش یافت، همچنین تعداد گلبول‌های سفید (WBC) بلافاصله پس از بیهوشی تغییری نکرد، اما در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت. در مطالعه حاضر در زمان بلافاصله پس از بیهوشی مقدار هماتوکریت و گلبول قرمز (RBC) تغییری نکرد، اما میزان هموگلوبین در تیمار میخک کاهش یافت. در تحقیق Velisek و همکاران (۲۰۰۷) قرار گرفتن ماهی کپور معمولی به‌مدت ۱۰ دقیقه در معرض غلظت ۰/۳۰ میلی‌لیتر بر لیتر ۲- فنوکسی‌اتانول باعث افزایش قابل‌توجهی در مقدار هماتوکریت و تعداد نسبی و مطلق گلبول‌های سفید گردید. در پژوهش حاضر نیز در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی در بچه‌ماهی کپور معمولی در معرض غلظت ۱۷۰ میلی‌گرم بر لیتر اسانس اسطوخدوس مقدار هماتوکریت و گلبول سفید مشابه تحقیق Velisek و همکاران (۲۰۰۷) بود، اما در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بی‌هوش شده با ۲- فنوکسی‌اتانول تغییری در شاخص‌های خون‌شناسی مشاهده نشد. در پژوهش پیغان و همکاران (۱۳۸۸)، میانگین تعداد گلبول‌های قرمز در حین بیهوشی با پروپوفول به‌روش تزریق داخل وریدی به‌طور معنی‌داری بالاتر از میزان آن در ۴ روز پس از بیهوشی بود. در تحقیق حاضر در تعداد گلبول قرمز در ماهیان در معرض اسانس اسطوخدوس و تیمار شاهد در زمان‌های مختلف پس از بیهوشی (صفر، ۳ و ۲۴ ساعت) تغییری مشاهده نشد، اما در تیمار میخک تعداد آن در زمان‌های ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی کاهش یافت. میانگین میزان گلبول‌های سفید خون در حین بیهوشی با پروپوفول

به‌طور معنی‌داری بالاتر از میزان آن در گروه شاهد بود، در مطالعه حاضر مقدار گلبول سفید در تیمار اسطوخودوس نسبت به تیمار شاهد تغییری نکرد، اما در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی در تیمار اسطوخودوس نسبت به شاهد کاهش یافت. تغییرات تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند به دلیل وجود عوامل عفونی و واکنش‌های ازدیاد حساسیت، استرس ناشی از دستکاری باشد (پیغان و همکاران، ۱۳۸۸). میزان هماتوکریت در حین بیهوشی با پروپوفول به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود که در مطالعه حاضر در میزان هماتوکریت در زمان‌های مختلف پس از بیهوشی بین تیمار شاهد و اسطوخودوس تغییری مشاهده نشد، اما در تیمار میخک بالاتر از تیمار شاهد بود. میانگین میزان هموگلوبین در حین بیهوشی با پروپوفول به‌طور معنی‌داری بالاتر از میزان آن در گروه شاهد بود، در تحقیق حاضر در تیمار اسطوخودوس و شاهد تفاوتی وجود نداشت، اما در تیمار میخک در زمان صفر پس از بیهوشی مقدار آن کاهش یافت که با مطالعه پیغان و همکاران (۱۳۸۸) مطابقت ندارد. اثر سه داروی بیهوشی گل میخک، MS222 و ۲- فنوکسی اتانول تأثیری بر شاخص‌های خونی و اندیس‌های گلبولی و آنزیم‌های سرمی در ماهی کپور معمولی در هیچ یک از مراحل خون‌گیری در زمان‌های صفر، ۱، ۱۲، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از بیهوشی نداشت (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۲). در مطالعه حاضر اثر زمان بجز در مقدار گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و MCV در دیگر شاخص‌ها، اثر تیمار بر تمام شاخص‌های خونی و همچنین اثر متقابل بجز در مقدار هماتوکریت در دیگر شاخص‌ها معنی‌دار بود. در مطالعه سلطانی و همکاران (۱۳۸۱) مشخص شد که اسانس گل میخک هندی اثر سویی بر ماهی کپور معمولی ندارد و تا غلظت ۲۰۰ ppm به‌عنوان ماده بیهوشی در آبی‌پروری بی‌خطر است. تفاوت گزارش‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت فیزیولوژی گونه‌های مورد بررسی باشد (موسوی و همکاران، ۱۳۹۲). Akbary و همکاران (۲۰۱۶)، در بررسی اثر بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵، ۰/۷ و ۰/۹ میلی‌لیتر بر لیتر در کپور سرگنده نشان دادند که تعداد گلبول قرمز، سفید، هموگلوبین و هماتوکریت افزایش معنی‌داری در بعضی گروه‌های آزمایش در مقایسه با گروه شاهد داشت. بلافاصله پس از بیهوشی، مقدار MCV و MCH کاهش یافت، اما در مقدار MCHC، AST، ALP و ALT تغییری مشاهده نشد، که در مطالعه حاضر مقدار

MCV در زمان صفر (بلافاصله) پس از بیهوشی در تیمار میخک و اسطوخودوس تغییری نکرد، اما در تیمار شاهد افزایش یافت. مقدار MCH به ترتیب در تیمار شاهد، اسطوخودوس و میخک کاهش یافت، اما مقدار MCHC در تیمار شاهد و اسطوخودوس تغییری نکرد و در تیمار میخک مقدار آن کاهش یافت. به دلیل نبود داده‌ها در ارتباط با فاکتورهای خونی در معرض اسانس اسطوخودوس در زمان‌های مختلف پس از بیهوشی امکان مقایسه با مطالعات وجود ندارد.

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم

آنزیم‌های مختلف به‌ویژه ALT، AST، ALP و LDH در بسیاری از اندام‌های حیاتی ماهی به‌ویژه کبد، قلب و عضلات یافت می‌شوند. آسیب‌های بافتی می‌تواند باعث آسیب غشای سلولی این اندام‌ها و تخلیه این آنزیم‌ها و در نتیجه افزایش سطح سرمی آنها گردد (Velisek and Svobodova, 2004). البته باید توجه داشت عوامل محیطی و فیزیولوژیکی متعددی از قبیل سن، شوری آب، فصل سال، وضعیت بلوغ، جنس و دمای آب بر آنزیم‌های سرمی و فعالیت آنها مؤثر است (Woo and Bruno, 1998). در مطالعه حاضر، اثر زمان، تیمار و اثر متقابل تیمار و زمان بر تمام شاخص‌های بیوشیمیایی سرم، سطح گلوکز و کورتیزول معنی‌دار بود. در زمان‌های صفر (بلافاصله)، ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی به ترتیب میزان AST در تیمار اسطوخودوس، میخک و شاهد افزایش یافت. میزان ALT در تیمار شاهد و میخک در زمان‌های صفر (بلافاصله) و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی تغییری نکرد، اما در تیمار اسطوخودوس کاهش یافت. در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی میزان ALT به ترتیب در تیمار اسطوخودوس، میخک و شاهد افزایش یافت. در مطالعه غفاری و خسروانی‌زاده (۱۳۹۱)، مقدار ALT و AST در زمان‌های ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی در ماهیان گروه شاهد و گروه‌های بی‌هوش شده با غلظت‌های مختلف اسانس گل میخک بارگذاری شده بر روی نانو ذرات آهن تغییرات معنی‌داری را نشان نداد. میزان ALP در زمان صفر به ترتیب در تیمار شاهد، اسطوخودوس و میخک افزایش یافت و در زمان‌های ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی میزان آلکالین فسفاتاز به ترتیب در تیمار اسطوخودوس، شاهد و میخک افزایش یافت. در میزان LDH در زمان‌های صفر (بلافاصله) پس از بیهوشی در تیمار شاهد و میخک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، اما در

تیمار اسطوخودوس میزان آن افزایش یافت. در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی در بین تیمارها تفاوتی مشاهده نشد، اما در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی میزان LDH به ترتیب در تیمار اسطوخودوس، شاهد و میخک افزایش یافت. در مطالعه علیشاهی و همکاران (۱۳۹۲)، در سرم ماهیان بی‌هوش‌شده با سه داروی بیهوشی گل میخک، MS222 و ۲- فنوکسی‌اتانول و مطالعه سلطانی و همکاران (۱۳۸۱)، در بررسی اثر میخک هندی در ماهی کپور معمولی، در زمان‌های مختلف پس از بیهوشی، تفاوت معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌های ALT، AST، ALP و LDH بین تیمارها و تیمار شاهد مشاهده نشد که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد. در مطالعه Velisek و Svobodova (۲۰۰۴)، در ماهی کپور معمولی در مواجهه با ۲- فنوکسی‌اتانول در شاخص‌های بیوشیمیایی سرم به‌استثنای AST، تفاوت معنی‌داری پس از بیهوشی با قبل از بیهوشی مشاهده نشد که با یافته‌های پژوهش حاضر هم‌خوانی ندارد. افزایش سطح AST در ماهی کپور معمولی ۲۴ ساعت پس از بیهوشی با ۲- فنوکسی‌اتانول گواه بر آسیب بافتی می‌باشد، که در مطالعه حاضر میزان AST در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی به ترتیب در تیمار اسطوخودوس، میخک و شاهد افزایش یافت. مقدار گلوکز در زمان صفر (بلافاصله) پس از بیهوشی به ترتیب در تیمار اسطوخودوس، میخک و شاهد افزایش یافت، اما میزان آن در زمان‌های ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی به ترتیب در تیمار اسطوخودوس، شاهد و میخک افزایش یافت. تغییرات غلظت گلوکز ممکن است در ارتباط با آسیب‌های وارد شده به بافت‌های کلیه ماهیان و اختلالات کبدی باشد (Claire et al., 2002) و غلظت آن توسط مکانیسم‌های پیچیده‌ی هورمونی مانند گلوکاگان، انسولین و دیگر هورمون‌ها نظیر کورتیکواستروئیدها، اپی‌نفرین و تیروکسین تنظیم می‌شود، بنابراین با قرارگرفتن در معرض استرس‌های محیطی، سطح گلوکز پلاسما می‌تواند به‌صورت معنی‌داری افزایش پیدا کند (Kaattari and Piganelli, 1996). Velisek و همکاران (۲۰۰۵)، گزارش کردند که افزایش گلوکز خون بعد از بیهوشی نشان می‌دهد که استفاده از میخک برای بیهوشی ماهی کپور معمولی با ایجاد استرس همراه است. در مطالعه Imanpoor و Roohi (۲۰۱۵)، در بررسی اثر اسانس نعنای و متیل‌سالیسیلات روی سطح گلوکز ماهی کپور معمولی، تفاوت قابل‌توجهی در سطح گلوکز خون پس از

بیهوشی و احیا بین گروه‌ها مشاهده شد. افزایش کورتیزول پلاسما یک پاسخ اولیه به استرس می‌باشد (Haukenes et al., 2008). در واقع کورتیزول، گلوکوکورتیکوئید اصلی است که توسط بافت‌های کلیه ترشح می‌شود (Mommensen et al., 1999). کورتیزول نقش‌های مختلفی در پاسخ به استرس (تأمین انرژی، تحریک فرآیند تنظیم یون و کمک به تأمین یون اکسیژن در شرایط کمبود اکسیژن) ایفا می‌کند، اما افزایش طولانی‌مدت کورتیزول می‌تواند موجب کاهش لنفوسیت و گلبول سفید (Pickering and Pottinger, 1987) و تخریب اندام‌های ایمنی از قبیل کبد و تیموس (Demers and Bayne, 1997) شود. میزان کورتیزول در زمان صفر (بلافاصله) پس از بیهوشی به‌ترتیب در تیمار اسطوخودوس، شاهد و میخک افزایش یافت. در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی در تیمار شاهد و میخک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، اما در تیمار میخک نسبت به تیمار اسطوخودوس میزان آن بیشتر بود. در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی میزان کورتیزول به‌ترتیب در تیمار میخک، شاهد و اسطوخودوس افزایش یافت. در مطالعه Akbary و همکاران (۲۰۱۶)، در بررسی اثر ۲- فنوکسی‌اتانول روی کپور سرگنده (*Hypophthalmichthys nobilis*) مقدار گلوکز پلاسما و سطح کورتیزول افزایش قابل‌توجهی در مقایسه با گروه کنترل داشت. در مطالعه Velisek و Svobodova (۲۰۰۴)، ۲- فنوکسی‌اتانول تأثیری روی شاخص‌های استرس (کورتیزول و گلوکز) نداشت. نتایج متفاوت تأثیر مواد بی‌هوش‌کننده بر آنزیم‌های سرمی ماهی، به دلیل تفاوت مکانیسم‌های عملکردی و ترشحی آنزیم‌های سرمی در گونه‌های مختلف، غلظت و نوع داروی بیهوشی، همچنین شرایط محیطی انجام آزمایش، سن و وضعیت سلامت ماهی می‌باشد (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۲).

به طور کلی تأثیر اسانس اسطوخودوس بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرمی ماهی کپور معمولی در برخی موارد بهتر و در برخی موارد ضعیف‌تر از اسانس میخک می‌باشد، اما با توجه به اثر بی‌هوش‌کنندگی اسانس اسطوخودوس و بومی بودن آن می‌توان آن را به عنوان یک گزینه جدید در آبی‌پروری مطرح نمود.

منابع

- اخلاقی، م. و میراب بروجرودی، م.، ۱۳۷۸. مطالعه بررسی بی‌هوش کنندگی گل میخک (*E. caryophyllata*) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و تعیین LC₅₀. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۴(۲): ۵۲-۴۹.
- پیغان، ر.، لرکی، س.، خواجه، غ.ج. و نداف، ه.، ۱۳۸۸. بررسی تأثیر بی‌هوشی میخک بر برخی فاکتورهای خونی ماهی کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*). مجله بهداشت و بیماری‌های دام، ۳(۲): ۳۷-۴۵.
- جهانبخشی، ع.، هدایتی، ع. و جوادی موسوی، م.، ۱۳۹۳. تأثیر ۲- فنوکسی اتانول به عنوان ماده بی‌هوش کننده بر شاخص‌های خونی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*). مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۷(۳): ۳۳۸-۳۴۷.
- سلطانی، م.، غفاری، م.، خضرائی‌نیا، پ. و بکایی، س.، ۱۳۸۱. مطالعه اثرات بی‌هوشی اسانس گل میخک هندی بر پارامترهای هماتولوژیک، برخی آنزیم‌های خون و آسیب‌شناسی بافت‌های مختلف ماهی کپور معمولی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۹(۳): ۲۹۹-۲۹۵.
- شریف‌پور، ع.، سلطانی، م.، عبدالحی، ح. و قیومی ر.، ۱۳۸۱. مطالعه بررسی اثر بی‌هوش‌کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۱(۴): ۷۴-۵۹.
- شریف‌روحانی، م.، حقیقی، م.، عصائیان، ح. و لشتوآقایی، غ.، ۱۳۸۶. مطالعه بررسی اثر بی‌هوشی اسانس آویشن شیرازی (*Zatria multiflora* Boiss) بر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) و ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۶(۴): ۹۹-۱۰۶.
- صدیق‌اعتقاد، س.، قوامی، س.، مرتضوی، ج. و میرزایی، ح.، ۱۳۸۷. اثرات بی‌هوشی عصاره گیاهان سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)، خشخاش (*Papave samniferum*) و شقایق (*Papaver bracteatum*) بر ماهی قرمز حوض
- (*Carassius auratus*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۱): ۹۸-۹۱.
- ضرغام، د.، شریف روحانی، م.، فلاحت ناصرآباد، ع. و باشتی، ط.، ۱۳۹۱. بررسی اثر بی‌هوش کنندگی عصاره‌های آبی و الکلی تنباکو (*Nicotiana tabacum*) بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۱(۴): ۴۰-۳۳.
- علیشاهی، م.، اکبری، ن.، راضی‌جلالی، م. و نداف، ه.، ۱۳۹۲. مقایسه تأثیر داروهای بی‌هوشی ام- اس ۲۲۲، اسانس گل میخک و ۲- فنوکسی اتانول بر فاکتورهای خونی و آنزیم‌های سرم کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۳(۱): ۱۰۵-۱۰۳.
- غفاری، م. و خسروانی‌زاده، ع.، ۱۳۹۱. اثر اسانس گل میخک (*Eugenia cairyophyllata*) بارگذاری شده بر نانو ذرات آهن روی شاخص‌های آنزیمی و بافت‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، ۹(۴): ۸۳۶-۸۲۷.
- محمدی‌ارانی، م.، ۱۳۸۵. بررسی اثر اسانس میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر بی‌هوشی بچه تاس‌ماهی ایرانی (*persicus Acipenser*). فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۲(۳): ۱۹۲-۱۸۸.
- موسوی، س.م.، مجدی‌نسب، ا.، یآوری، و.، رجب‌زاده قطرمی، ا. و راضی‌جلالی، م.، ۱۳۹۲. تعیین محدوده سمیت و غلظت نیمه‌کشدگی (LC₅₀) اوژینول در ماهی بنی (*Barbus sharpei*). فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۹(۳): ۵۶۰-۵۵۱.
- یگانه، س. و ملکی، پ.، ۱۳۹۲. مقایسه اثر بی‌هوش‌کنندگی عصاره سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*)، بادرنجبویه (*Salvia officinalis*) و مریم‌گلی (*Melissa officinalis*) بر روی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۲(۲): ۷۷-۶۵.
- Adel, M., Sadegh, A.B., Yeganeh, S., Nosrati Movafagh, A. and Saoud, P., 2016. Anesthetic Efficacy of Clove Oil, Propofol, 2-Phenoxyethanol, and Ketamine Hydrochloride on Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*,

- Juveniles. Journal of the World Aquaculture Society, 47(6): 812-819. DOI: <https://doi.org/10.1111/jwas.12286>
- Akbary, P., Pirbeigi, A. and Jahanbakhshi, A., 2016.** Analysis of primary and secondary stress responses in bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) by anesthetization with 2-phenoxyethanol. Journal of Environmental Science and Technology, 13: 1009-1016. DOI: 10.1007/s13762-015-0923-x
- Akbulut, B., Çakmak, E., Aksungur, N. and Çavdar, Y., 2011a.** Effect of exposure duration on time to recovery from anaesthesia of clove oil in juvenile of Russian sturgeon. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science, 11: 463-467. DOI: 10.4194/1303-2712-v11_3_17
- Akbulut, B., Çavdar, Y., Çakmak, E. and Aksungur, N., 2011b.** Use of clove oil to anaesthetize larvae of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). Journal of Applied Ichthyology, 27: 618-621. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01653.x>
- Akbulut, B., Çakmak, E., Özel, O.T. and Dülger, N., 2012.** Effect of Anaesthesia with Clove Oil and Benzocaine on Feed Intake in Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 12: 667-673. DOI: 10.4194/1303-2712-v12_3_15
- Alnamer, R., Alaoui, K., Boudida el H., Benjouad, A. and Cherrah, Y., 2012.** Sedative and hypnotic activities of the methanolic and aqueous extracts of *Lavandula officinalis* from Morocco. Advances in Pharmacological Sciences, 5: 1-5. DOI: 10.1155/2012/270824
- Bagheri, T. and Imanpour, M.R., 2011.** The Efficacy, Physiological Responses and Hematology of Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*, to Clove Oil as an Anesthetic Agent. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 11: 477-483. DOI: 10.4194/1303-2712-v11_3_20
- Bishkoul, Gh.R., Halimi, M., Norousta, R., Zamani, N. and Heidari, L., 2015.** The anesthetic effects of MS222 (tricaine methanesulfonate) on some hematological parameters of starlet, *Acipenser ruthenus*. Comparative Clinical Pathology, 24: 89-92. DOI: 10.1007/s00580-013-1862-x
- Buscaino, G., Filiciotto, F., Buffa, G., Bellante, A., Stefano, V.D., Assenza, A., Fazio, F., Caola, G. and Mazzola, S., 2010.** Impact of an acoustic stimulus on the motility and blood parameters of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Marine Environmental Research, 69: 136-142. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2009.09.004>
- Casillas, E. and Smith, L.S., 1974.** Effects of stress on blood coagulation and haematology in rainbow trout exposed to hypoxia. Journal Fish Biology, 6: 379-380. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1977.tb04081.x>
- Claire, M., Holland, M.C.H. and Lambris, J.D., 2002.** The complement system in teleost. Fish and shellfish Immunology, 12(5): 399-420. DOI: <https://doi.org/10.1006/fsim.2001.0408>
- Demers, N.E. and Bayne, C.J., 1997.** The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. Developmental and Comparative Immunology,

- 21: 363-373. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(97\)00009-8](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(97)00009-8)
- Drobkin, D.R., 1945.** Crystallographic and optical properties of human hemoglobin: proposal of standardization of hemoglobin. The American Journal of the Medical Sciences, 209(2): 268-270.
- Filiciotto, F., Buscaini, G., Bellante, A., Maccarrone, V. and Mazzola S., 2012.** Anaesthetic Qualities of Eugenol and 2-Phenoxyethanol and their effect on some haematological parameters in farmed European Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Journal of Animal and Veterinary Advances, 11(4): 494-502. DOI: 10.3923/javaa.2012.494.502
- Fischbach, F. and Zawat, B., 1992.** Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klinicheskaia Laboratornaia Diagnostika, 38: 555-61.
- Ghanawi, J., Monzer, S. and Saoud, I.P., 2013.** Anaesthetic efficacy of clove oil, benzocaine, 2-phenoxyethanol, and tricaine methanesulfonate in juvenile marbled spinefoot (*Siganus rivulatus*). Aquaculture Research, 44:359-366. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03039.x>
- Ghelardini, C., Galeotti, N., Salvatore, S. and Mazzanti, G., 1999.** Local Anaesthetic Activity of the Essential Oil of *Lavandula angustifolia*. Planta Medica, 65: 700-703. DOI: 10.1055/s-1999-14045
- Hassiotis, C.N., Ntana, F., Lazari, D.M., Poullos, S. and Vlachonassios, K.E., 2014.** Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. Industrial Crops and Products, 62: 359-366. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.048>
- Haukenes, A.H., Barton, B.A. and Bolligs, H., 2008.** Cortisol responses of pallid sturgeon and yellow perch following challenge with lipopolysaccharide. Journal of Fish Biology, 72: 780-784. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01730.x>
- Hoston, A.H., 1990.** Blood and circulation. In: Shreck CB, Moyle PB. Methods in fish biology. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, 273-335.
- Iversen, M., Finstad, B., McKinley, R.S. and Eliassen, R.A., 2003.** The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-STM and Benzoak[®] as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress reducing capacity. Aquaculture, 221: 549-566. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00111-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00111-X)
- Javahery, S., Haji Moradlu, A. and Ghorbani, R., 2012.** Efficacy of Clove Oil as an Anaesthetic for two sizes of *Rutilus frisii kutum*. Global Veterinaria, 9(3): 319-322. DOI: 10.5829/idosi.gv.2012.9.3.64101
- Kaattari, S.L. and Piganelli, J.D., 1996.** The specific immune system humoral defence: In: "The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment press, Inc. USA. 233-239.
- Keene, J.K., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D. and Soto, C.G., 1998.** The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 29: 89-101. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1998.00927.x>

- Koulivand, P.H., Khaleghi Ghadiri, M. and Gorji, A., 2013.** Lavender and the Nervous System. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 10 pages. DOI: 10.1155/2013/681304.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1952.** Protein measurement with folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, 193-256.
- Masopust, J., 2000:** Clinical biochemistry. Karolinum Praha. 832 p. (In Czech)
- Molinero, A. and González, J., 1995.** Comparative effects of MS-222 and 2-phenoxyethanol on gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) during confinement. Comparative Biochemistry and Physiology (part A), 111: 405-414. DOI: [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(95\)00037-8](https://doi.org/10.1016/0300-9629(95)00037-8)
- Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. and Moon, T.W., 1999.** Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 9: 211-268. DOI:10.1023/A:1008924418720
- Pedrazzani, A.S. and Neto, A.O., 2016.** The anaesthetic effect of camphor (*Cinnamomum camphora*), clove (*Syzygium aromaticum*) and mint (*Mentha arvensis*) essential oils on clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier 1830). Aquaculture Research, 47: 769-776. DOI: <https://doi.org/10.1111/are.12535>
- Pickering, A.D. and Pottinger, T.G., 1987.** Crowding causes prolonged leucopenia in salmon fish despite interrenal acclimation. Journal of Fish Biology, 32: 701-712. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1987.tb05799.x>
- Roohi, Z. and Imanpoor, M., 2015.** The efficacy of the oils of spearmint and methyl salicylate as new anesthetics and their effect on glucose levels in common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) juveniles. Aquaculture, 437: 327-332. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.019>
- Sattari, A., Mirzargar, S.S., Abrishamifar, A., Lourakzadegan, R., Bahonar, A., Mousavi, H.E. and Niasari, A., 2009.** Comparison of electroanesthesia with chemical anesthesia (MS222 and Clove Oil) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using plasma cortisol and glucose responses as physiological stress indicators. Asian Journal of Animal and Veterinary Advance, 4: 306-313. DOI: 10.3923/ajava.2009.306.313
- Silva, L.L., Silva, D.T. Garlet, Q.I. Cunha, M.A. Mallmann, C.A. Baldisserotto, B., Longhi, S.J. Pereira, A.M.S. and Heinzmann, B.M., 2013.** Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). Neotropical Ichthyology, 11: 443-451. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252013000200014>
- Silva, L.L., Garlet, Q.I., Koakoski, G., Abreu, M.S., Mallmann, C.A., Baldisserotto, B., Barcellos L.J.S. and Heinzmann, B.M., 2015.** Anesthetic activity of the essential oil of *Ocimum americanum* in *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824) and its effects on stress parameters. Neotropical Ichthyology, 13: 715-722. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1982-0224-20150012>
- Stoskopf, M.A., 1993.** Fish medicine. Saunders Company, U.S.A, PP 882.

- Summerfelt, R.C. and Smith, L.S., 1990.** Anaesthesia, surgery, and related techniques. In: C.B. Schreck and P.B. Moyle (Eds.), *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society, Bethesda, USA: 451-489.
- Svobodova, Z., Pravda, D. and Palackova, J., 1991.** Unified methods of haematological examination of fish. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodnany, Edition Methods No 20: 31.
- Trinder, P., 1969.** Determination of glucose concentration in the blood. *Annals of Clinical Biochemistry*, 6-24.
- Upson, T.M. and Andrews, S., 2004.** The Genus *Lavandula*. A Botanical Magazine Monograph. Royal Botanic Gardens, Kew, U.K. PP 442.
- Velisek, J. and Svobodová, Z., 2004.** Anaesthesia of common carp (*Cyprinus carpio*) with 2-phenoxyethanol: Acute toxicity and effects on biochemical blood profile. *Acta Veterinaria Brno*, 73(2): 247-252. DOI: 10.2754/avb200473020247
- Velisek, J., Svobodova, Z., Plackova, V., Groch, L. and Nepejchalova, L., 2005.** Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Medicine of Czech Republic*, 6: 269-275. DOI: 10.17221/5623-VETMED
- Velisek, J., Svobodova, Z. and Plackova, V., 2007.** Effects of 2-Phenoxyethanol Anaesthesia on Hematological Profile on Common Carp (*Cyprinus carpio*) and Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Veterinaria*, 76: 487-492. DOI: https://doi.org/10.2754/avb200776030487
- Velisek, J., Stara, A., Li, Z.H., Silovska, S. and Turek, J., 2011.** Comparison of the effects of four anaesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. *Aquaculture*, 310: 369-375. DOI: https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.11.010
- Woo, P.T.K. and Bruno D.W., 1998.** Fish disease and disorders. *BYCABI*. 3: 427-429.
- Wotton, I.D. and Freeman, H., 1982.** Microanalysis in Medical Biochemistry. Churchill, New York, USA.
- Yeganeh, S., Adel, M., Ahmadvand, Sh., Ahmadvand, Sh. and Velisek, J., 2016.** Toxicity of organic selenium (Selemax) and its effects on haematological and biochemical parameters and histopathological changes of common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *Toxin Reviews*, 207-213. DOI: 10.1080/15569543.2016.1213749.

Comparative study of the effect of anesthetic Topped lavender essential oil (*Lavandula angustifolia*) with clove oil (*Eugenia caryophyllata*) on some hematological and serum biochemical parameters of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles

Beheshti N.¹, Yeganeh S.^{1*}, Adel M.²

*skyeganeh@gmail.com

1. Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
2. Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Tehran, Iran

Abstract

This study was conducted to compare the effect of two anesthetizers Topped lavender essential oil (*Lavandula angustifolia*) and clove oil on some hematological and serum biochemical parameters in common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. Common carp juveniles exposed to three treatments including optimum concentration of Topped lavender essential oil (170 mg l⁻¹), clove oil (35 mg l⁻¹) and control and hematological, serum biochemical and stress parameters were determined at different times including 0, 3 and 24 h after anesthetizing. The results showed the effect of treatment (anesthetizing agent) on all hematological parameters, the effect of time on WBC, Hb, MCH and MCHC, the interaction effect of treatment and time on Hct and RBC and the effect of treatment, time and the interaction effect of them on all serum biochemical parameters were significant (p<0.05). Over the studied period after anesthetizing, RBC didn't show significant difference between Topped lavender and control (p>0.05), but in clove oil at the start of anesthetizing time (0) was significantly higher than other sampling times (p<0.05). WBC showed significant decrease compare to other treatments in all sampling times (p<0.05). Over the studied period after anesthetizing, Hb decreased in the control group and increased in Topped lavender and clove oil treatments (p<0.05), Hct also showed significant increase in the control group (p<0.05) and didn't significant difference in other treatments (p>0.05). In all times, the lowest amount of glucose was observed in Topped lavender treatment; in Topped lavender and clove oil treatment, after increase in 3 h after anesthetizing, showed decrease in 24 h (p<0.05). The amount of Cortisol didn't have significant difference between the control and Clove oil groups (p>0.05). In all the studied times, higher level of AST in the control, ALT in the control and clove oil, ALP in clove oil and the lower LDH in Topped lavender groups were observed (p<0.05). Overall, although the effect of Topped lavender essential oil on determined parameters showed some difference with clove oil, but Topped lavender essential oil can introduce as native anesthetizing replacement agent for aquaculture.

Keywords: *Cyprinus carpio*, Clove oil and Topped Lavender essential oil, Anaesthetic, Hematological and serum biochemical parameters

*Corresponding author