مقایسه اثر بیهوش‌کننده اسانس اسطوخدوس (*Lavandula angustifolia*) با اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر برخی شاخص‌های 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 بیهوش‌کننده اسانس اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) و گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر برخی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم خون در ماهی جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بود. بچه‌ماهیان کپور معمولی در معرض سه تیمار شامل غلظت بهینه بیهوشی اسانس اسطوخودوس (۱۷۰ میلی‌گرم بر لیتر)، میخک (۳۵ میلی‌گرم بر لیتر) و تیمار شاهد قرار گرفتند و برخی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم ماهیان در معرض غلظت بهینه بیهوشی با اسانس اسطوخودوس و میخک در زمان‌های 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 شاخص‌های خون‌شناسی، اثر زمان در شاخص‌های WBC، Hb و شاخص‌های MCH، MCHC، اثر متقابل تیمار در زمان، در تمام شاخص‌ها به جز Hct و RBC و اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار و زمان بر تمام شاخص‌های بیوشیمیایی سرم معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). با گذشت زمان پس از بیهوشی میزان RBC در تیمار شاهد و اسطوخدوس تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$)، اما در تیمار میخک بلافاصله پس از بیهوشی به طور معنی‌داری بیشتر از سایر زمانها بود ($p<۰/۰۵$). میزان WBC در تمام زمان‌ها در تیمار میخک کاهش معنی‌داری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p<۰/۰۵$). با گذشت زمان در تیمار شاهد کاهش هموگلوبین و در تیمار میخک و اسطوخدوس افزایش هموگلوبین مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در تیمار شاهد با گذر زمان مقدار هماتوکریت افزایش معنی‌دار مشاهده شد ($p<۰/۰۵$)، اما در سایر تیمارها تفاوت معنی داری مشاهد نشد ($p>۰/۰۵$). کمترین میزان گلوکز در هر سه زمان در تیمار اسطوخدوس مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) و در تیمار میخک و اسطوخدوس پس از یک افزایش در ۳ ساعت پس از بیهوشی، کاهش معنی‌دار در ۲۴ ساعت مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). میزان کورتیزول در ۳ ساعت پس از بیهوشی بین تیمار شاهد و میخک تفاوت معنی‌دار نداشت ($p<۰/۰۵$). در تمام زمان‌ها میزان AST در تیمار شاهد، میزان ALT در تیمار شاهد و میخک، ALP در تیمار میخک بیشتر و میزان LDH در اسطوخدوس کمتر مشاهده شد. در مجموع اگرچه تاثیر اسانس اسطوخدوس بر شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده با میخک تفاوت نشان داد، اما می‌توان آن را به عنوان ماده جایگزین بومی برای بیهوشی در آبزی‌پروری معرفی نمود.

لغات کلیدی: کپور معمولی، اسانس میخک و اسطوخودوس، بیهوشی، شاخص‌های 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 بیهوش کننده‌ها 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 اپی تلیوم، 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 می شود (Sattari *et al*., 2009). به طوری 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 بیهوش کننده‌های 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؛ ضرغام و همکاران، ۱۳۹۱؛ Ghanawi *et al*., 2013; Velisek *et al*., 2011; Stoskopf, 1993) که در این میان بیهوش کننده‌های سنتتیک دارای اثرات جانبی منفی مانند آشفتگی‌هایی در سیستم عروقی، عملکرد تنفسی و ایمنی می‌باشند (Silva *et al*., 2013). اسانس میخک به دلیل وجود ۹۰-۷۰ 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 بی‌هوش کننده‌ها انجام شده است (Akbulut *et al*., 2012; Filiciotto *et al*., 2012; Bagheri and Imanpour, 2011; Velisk *et al*., 2005) و مشخص شده است که امکان کاربرد موفق اسانس‌ها به عنوان بی‌هوش کننده در آبزی‌پروری 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 oil from *Lippia alba*، rosemary *Rosmarinus officeinalis* oil، tree basil *Ocimum gratissimum* oil، spearmint *Mentha spicata* oil، camphor *Cinnamomum camphora* oil و mint *Mentha arvensis* 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 میراب‌بروجردی، 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 بی‌هوش کننده‌های فعلی مورد بررسی

قرار می‌گیرند. اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula angustifolia* از خانواده نعناییان *Labiatea* است و پراکنش آن در Macaronesia در غرب، North Africa و مدیترانه، جنوب شرق اسیا، غرب ایران و شرق هند می باشد (Upson 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 بیهوش کنندگی در اهداف طبی استفاده می‌شود و مصارف بهداشتی آرایش نیز دارد. این اسانس دارای ترپن‌ها و مونوترپن‌ها به میزان ۶۰-۵۰ درصد است (Hassiotis *et al.*, 2014) و لینالول و لینالیل‌استات از ترکیبات غالب آن است که محلول در چربی و دارای بخش آبدوست نیز می باشد و عملکرد آن می‌تواند به دلیل مسدود کردن کانال سدیم و یا کلسیم باشد (Ghelardini *et al.*, 1999). تاثیر بیهوش کننده‌ها 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 اسطوخدوس 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 ۱/۹۸± ۲۶/۹۶ گرم از کارگاه پرورش ماهی تهیه شدند. ماهی‌ها در دوره سازش‌پذیری به مدت ده روز با غذای اکسترود ماهی کپور معمولی با قطر ۲/۵±۰/۲ 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 اسطوخدوس و میخک، حداقل غلظت ایجاد کننده بیهوشی در ماهیان مورد آزمایش (۳۰ میلی‌گرم بر لیتر اسانس میخک و ۱۶۰ میلی‌گرم بر لیتر اسانس اسطوخدوس) تعیین و از بین غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخدوس 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 اسطوخدوس در غلظت ۱۷۰ میلی‌گرم بر لیتر با زمان بیهوشی ۳/۷۴±۰/۳۵ دقیقه و زمان احیا کامل ۳/۹۱±۰/۵۵ دقیقه و برای اسانس میخک در غلظت ۳۵ میلی‌گرم بر لیتر با میانگین زمان بیهوشی ۲/۸۹±۰/۵۷ دقیقه و زمان احیا کامل ۴/۴۹±۰/۳۸ دقیقه بدست آمد. ماهیان با تراکم ۱۵ قطعه در هر تکرار (هر تیمار ۳ تکرار) در معرض غلظت بهینه بیهوشی اسانس اسطوخدوس 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 فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، اکسیژن محلول (اکسیژن‌متر CMD 200، ساخت انگلیس) و pH (pH متر مدل Sartorius, PB-11)، سختی (TDS) (مدل Senciun Hach، ساخت آمریکا) و هدایت الکتریکی (مدل Senciun Hach، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری شد و در طول دوره به‌ترتیب، ۲۸/۵±۱/۲ درجه سانتی‌گراد، ۶/۲۵±۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر، ۸/۲۵±۰/۳، ۴۷۰±۲۴ میلی‌گرم بر لیتر و ۹۴۰±۱۲۳ 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 اسطوخدوس 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

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 (MCV)[1]، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH[2]) و میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC[3]) 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)، آلبومین بر اساس روش Wotton وFreeman (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 آلکالین‌فسفاتاز (ALP) و لاکتات‌دهیدروژناز (LDH) با استفاده از کیت شرکت پارس‌آزمون و طبق روش DGKC، آنزیم آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و بر طبق روش Reitman-frankel (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) برآورد شد (Fischbach and Zawat, 1992).

تجزیه و تحلیل داده ها

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد و تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده (پس از نرمال‌سازی داده‌ها توسط آزمون کولموگراف-اسمیرنوف) از دو تیمار ماده بیهوشی اسانس اسطوخدوس و میخک های در زمان‌های مختلف با کمک آزمایش فاکتوریل و با استفاده از روش آنالیز واریانس دوطرفه (Two–Way-ANOVA) انجام شد. برای مقایسه‌ی میانگین 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 بهینه‌ی بیهوشی با اسانس اسطوخدوس 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 (جدول۱؛ $p<۰/۰۵$).

پس از اعمال بیهوشی بین تیمارهای اسطوخودوس و میخک در تعداد گلبول قرمز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$)، 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 ($p<۰/۰۵$). 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 ($p<۰/۰۵$)، اما بین تیمار شاهد و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی اختلاف معنی‌داری بین همه تیمارها وجود داشت ($p<۰/۰۵$). 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 ($p<۰/۰۵$). با گذشت ۲۴ ساعت از بیهوشی میزان آن در شاهد و اسطوخدوس به میزان اولیه بلافاصله پس از بیهوشی رسید، اما در تیمار میخک پس از ۲۴ ساعت افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). در میزان هموگلوبین، بلافاصله پس از بیهوشی بین تیمار شاهد و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$)، اما با تیمار میخک اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$).

[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 میلی‌گرم بر لیتر) و میخک (۳۵ میلی‌گرم 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) .

شاخص	تیمار	زمان			*p* value		
		صفر (بلافاصله) پس از بیهوشی	۳ ساعت پس از بیهوشی	۲۴ ساعت پس از بیهوشی	تیمار	زمان	تیمار × زمان
RBC ($\times 10^6/mm^3$)	شاهد	۱/۱۸±۰/۰۱^{c}	۱/۲۲±۰/۰۲^{bc}	۱/۲۵±۰/۰۱^{bc}	۰/۰۰	۰/۳۳	۰/۰۷
	اسطوخودوس	۱/۵۳±۰/۰۳^{a}	۱/۵۳±۰/۱۱^{a}	۱/۴۵±۰/۰۳^{a}			
	میخک	۱/۴۶±۰/۰۶^{a}	۱/۳۳±۰/۱۱^{b}	۱/۳۳±۰/۱۰^{b}			
WBC ($\times 10^3/mm^3$)	شاهد	۱۴/۸۴±۰/۵۳^{Aa}	۱۴/۵۳±۰/۲۸^{Ab}	۱۶/۱۲±۰/۴۴^{Aa}	۰/۰۰	۰/۰۴	۰/۰۰
	اسطوخودوس	۱۵/۵۰±۰/۶۶^{Aa}	۱۴/۶۳±۱/۲۲^{Aa}	۱۳/۱۷±۱/۱۶^{Ba}			
	میخک	۵/۶۰±۰/۶۰^{Bb}	۶/۶۰±۰/۶۰^{Bb}	۹/۵۰±۰/۵۰^{Ca}			
Hb هموگلوبین(g/dl)	شاهد	۸/۴۱±۰/۲۲^{Aa}	۷/۶۸±۰/۳۹^{Ab}	۷/۶۶±۰/۲۷^{Cb}	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	اسطوخودوس	۸/۰۵±۰/۴۴^{Ab}	۸/۸۶±۰/۸۹^{Aab}	۹/۳۲±۰/۰۶^{Aa}			
	میخک	۶/۵۹±۰/۱۵^{Bc}	۷/۹۸±۰/۳۳^{Ab}	۸/۴۶±۰/۱۱^{Ba}			
Hct هماتوکریت(٪)	شاهد	۳۶/۵۰±۰/۵۰^{bc}	۳۵/۵۰±۰/۵۰^{c}	۳۷/۳۳±۱/۵۳^{abc}	۰/۰۰	۰/۷۲	۰/۴۵
	اسطوخودوس	۳۸/۳۳±۳/۰۵^{abc}	۳۷/۶۷±۱/۵۲^{abc}	۳۶/۰۰±۱/۰۰^{c}			
	میخک	۴۰/۰۰±۲/۰۰^{a}	۴۰/۰۰±۲/۰۰^{a}	۳۹/۶۷±۲/۰۸^{ab}			
MCV حجم متوسط گلبول قرمز(fL)	شاهد	۳۰۹/۳۲±۳/۷۱^{Aa}	۲۹۱/۰۱±۴/۴۲^{Ab}	۲۹۷/۸۰±۸/۵۲^{Aab}	۰/۰۰	۰/۵۳	۰/۰۳
	اسطوخودوس	۲۴۹/۷۶±۲۶/۵۴^{Ba}	۲۴۶/۴۴±۱۸/۳۵^{Ba}	۲۴۷/۱۱±۲/۰۴^{Ba}			
	میخک	۲۶۱/۵۲±۲۲/۷۲^{Bb}	۳۰۳/۷۱±۱۱/۷۶^{Aa}	۲۹۹/۱۴±۲۳/۱۴^{Aab}			
MCH غلظت متوسط هموگلوبین(pg)	شاهد	۷۱/۲۶±۲/۳۱^{Aa}	۶۲/۹۹±۲/۶۲^{Aa}	۶۱/۱۴±۲/۹۲^{Ab}	۰/۰۰	۰/۰۳	۰/۰۰
	اسطوخودوس	۵۲/۴۷±۳/۷۸^{Ba}	۵۸/۱۹±۹/۶۱^{Aa}	۶۴/۰۳±۰/۹۵^{Aa}			
	میخک	۴۳/۰۶±۱/۱۶^{Cb}	۶۰/۹۷±۸/۰۲^{Aa}	۳۸/۱۰±۲/۹۳^{Bb}			
MCHC غلظت متوسط گلبول‌های قرمز(٪)	شاهد	۲۱/۷۵±۰/۳۶^{Aa}	۲۰/۶۰±۱/۳۰^{Aab}	۱۹/۱۶±۱/۱۶^{Cb}	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	اسطوخودوس	۲۱/۰۴±۰/۵۹^{Ab}	۲۳/۵۱±۲/۰۶^{Aab}	۲۵/۶۷±۰/۲۹^{Aa}			
	میخک	۱۶/۵۲±۱/۰۷^{Bb}	۲۰/۰۲±۱/۸۵^{Aa}	۲۱/۳۷±۱/۲۹^{Ba}			

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

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 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 مشاهد 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

(p>۰/۰۵). در میزان MCV بلافاصله پس از بیهوشی بین تیمار میخک و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (p>۰/۰۵)، اما با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (p<۰/۰۵). در زمان‌های ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی بین تیمار میخک و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (p>۰/۰۵)، اما به‌طور معنی‌داری از تیمار اسطوخودوس بیشتر بودند (p<۰/۰۵). در تیمار شاهد و میخک در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی با زمان بلافاصله پس از بیهوشی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (p<۰/۰۵)، اما پس از ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری با زمان صفر نشان نداد، در تیمار اسطوخدوس تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های مختلف مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در میزان MCH بلافاصله پس از بیهوشی، بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵)، اما ۳ ساعت پس از بیهوشی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی بین تیمار شاهد و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (p>۰/۰۵)، اما با تیمار میخک اختلاف معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۵). در تیمار شاهد و میخک با گذشت ۲۴ ساعت کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۵)، اما در تیمار اسطوخدوس تفاوت معنی‌داری در زمان‌های مختلف مشاهده نشد (p>۰/۰۵). 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>۰/۰۵). در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد (p<۰/۰۵). در تیمار شاهد با گذشت زمان تا ۲۴ ساعت کاهش معنی‌دار، اما در تیمار میخک و اسطوخدوس افزایش معنی‌دار مشاهده شد (p<۰/۰۵).

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم بچه‌ماهیان کپور 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 ماده‌ی بیهوشی) و زمان بر تمام شاخص‌های بیوشیمیایی سرم معنی‌دار بود (جدول ۲؛ p<۰/۰۵).

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 اسطوخدوس 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<۰/۰۵). در میزان کورتیزول، بلافاصله و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵) 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<۰/۰۵)، اما این دو تیمار با تیمار میخک تفاوت معنی‌داری نداشتند (p>۰/۰۵). 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 اسطوخدوس افزایش معنی دار مشاهده شد (p<۰/۰۵). در تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری در طول زمان مشاهده نشد. میزان آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST) در زمان‌های صفر، ۳ و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی، دارای اختلاف معنی‌داری بین تیمارها بود (p<۰/۰۵). در تمام زمان‌ها میزان آن در تیمار شاهد بیش از سایر تیمارها بود (p<۰/۰۵)، بیشترین میزان آسپارتات آمینوترانسفراز، 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>۰/۰۵)، اما با تیمار اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۵). در زمان ۳ ساعت پس از بیهوشی بین تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵). 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 آلکالین‌فسفاتاز (ALP) در زمان‌های مختلف، بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵). بیشترین میزان آلکالین‌فسفاتاز 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).

شاخص	تیمار	زمان			*p* value		
		صفر (بلافاصله) پس از بیهوشی	۳ ساعت پس از بیهوشی	۲۴ ساعت پس از بیهوشی	تیمار	زمان	تیمار × زمان
گلوکز (mg/dl)	شاهد	۹۰/۳۳±۶/۱۱^{Aa}	۸۰/۵۰±۰/۵۰^{Bb}	۹۷/۳۳±۰/۵۷^{Ba}	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	اسطوخودوس	۴۰/۰۰±۰/۰۰^{Cc}	۶۵/۰۰±۰/۰۰^{Ca}	۵۸/۳۳±۰/۵۷^{Cb}			
	میخک	۵۰/۳۳±۰/۵۷^{Bc}	۱۱۵/۰۰±۱/۰۰^{Aa}	۱۱۱/۵۰±۰/۵۰^{Ab}			
کورتیزول (ml/ng)	شاهد	۵۸/۳۰±۶/۹۰^{Ba}	۶۱/۶۶±۴/۵۰^{Aa}	۶۲/۳۳±۴/۱۶^{Ba}	۰/۰۱	۰/۰۰	۰/۰۰
	اسطوخودوس	۴۹/۱۳±۰/۲۵^{Cb}	۵۰/۶۶±۰/۳۷^{Bb}	۹۷/۴۰±۲/۸۷^{Aa}			
	میخک	۷۵/۴۳±۳/۶۵^{Aa}	۵۴/۸۳±۷/۶۵^{ABb}	۴۸/۱۳±۰/۷۵^{Cb}			
AST آسپارتات آمینو ترانسفراز (U/L)	شاهد	۳۷۲/۰۰±۱۵/۷۱^{Ab}	۴۵۴/۰۰±۴/۰۰^{Aa}	۳۶۵/۶۷±۴/۰۴^{Ab}	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	اسطوخودوس	۱۲۷/۰۰±۷/۰۰^{Cc}	۱۶۴/۳۳±۱/۱۵^{Cb}	۲۱۷/۵۰±۰/۵۰^{Ca}			
	میخک	۲۲۴/۰۰±۱/۰۰^{Bb}	۱۷۰/۰۰±۱/۰۰^{Bc}	۲۳۹/۰۰±۱/۰۰^{Ba}			
ALT آلانین آمینو ترانسفراز (U/L)	شاهد	۱۴/۶۶±۳/۵۱^{Ab}	۱۹/۰۰±۱/۰۰^{Aa}	۱۱/۳۳±۰/۵۷^{Ab}	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	اسطوخودوس	۲/۵۰±۰/۵۰^{Bb}	۳/۵۰±۰/۵۰^{Ca}	۴/۰۰±۰/۰۰^{Ba}			
	میخک	۱۴/۴۰±۰/۵۳^{Aa}	۱۴/۰۰±۱/۰۰^{Ba}	۱۱/۵۰±۰/۵۰^{Ab}			
ALP آلکالین‌فسفاتاز (U/L)	شاهد	۷۷/۳۳±۴/۰۴^{Cc}	۱۲۱/۶۷±۱/۵۲^{Bb}	۱۷۵/۰۰±۲/۶۴^{Ba}	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	اسطوخودوس	۱۱۴/۶۷±۵/۰۳^{Ba}	۹۲/۶۶±۶/۱۱^{Cb}	۸۰/۰۰±۹/۶۴^{Cb}			
	میخک	۱۷۱/۵۰±۰/۵۰^{Ab}	۱۳۳/۰۰±۲/۰۰^{Ac}	۳۲۰/۲۲±۰/۵۷^{Aa}			
LDH لاکتات-دهیدروژناز (U/L)	شاهد	۱۸۲۳/۶۷±۱۰/۱۱^{Ba}	۱۸۲۱/۰۰±۹/۰۲^{Aa}	۱۳۲۲/۳۴±۲۱/۳۸^{Bb}	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	اسطوخودوس	۲۸۷۱/۰۰±۳۶/۳۷^{Aa}	۱۷۷۶/۶۷±۶۴/۴۳^{Ab}	۱۲۹۳/۶۷±۰/۵۷^{Cc}			
	میخک	۱۷۹۸/۶۷±۳/۲۱^{Bb}	۱۷۵۶/۶۷±۳/۵۱^{Ac}	۲۳۳۰/۰۰±۲/۰۰^{Aa}			

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

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 ($p>۰/۰۵$)، ۲۴ ساعت پس از بیهوشی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). بیشترین میزان لاکتات‌دهیدروژناز در تیمار اسطوخودوس بلافاصله پس از بیهوشی و کمترین میزان آن در تیمار اسطوخودوس در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی مشاهده شد. میزان این آنزیم با گذشت زمان از بیهوشی کاهش معنی‌داری را در تمام تیمارها نشان داد ($p<۰/۰۵$).

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,

1990) و میزان جذب ماده بی‌هوش کننده 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 بیهوش کنندگی 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*., 2013; Ghelardini *et al*., 1999). 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 می شوند 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 تاثیر 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 اسطوخودوس 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 اسطوخودوس 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 ppm ۲۰۰ به‌عنوان ماده بیهوشی در آبزی‌پروری 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- فنوکسی‌اتانول 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 AST، ALT، 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 AST و ALT 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 آلکالین‌فسفاتاز 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 AST، ALT، 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 Roohi و Imanpoor (۲۰۱۵)، در بررسی اثر اسانس نعناع 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 (Mommsen *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 بی‌هوش کننده 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 تاثیر اسانس اسطوخدوس 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 بی‌هوش کنندگی اسانس اسطوخدوس و بومی‌بودن آن می‌توان آن را به عنوان یک گزینه جدید در آبزی‌پروری مطرح نمود.

منابع

اخلاقی، م. و میراب‌بروجردی، م.، ۱۳۷۸. مطالعه بررسی بی‌هوش کنندگی گل میخک (*E. caryophyllata*) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و تعیین LC_{50}. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۴(۲): ۵۲-۴۹.

پیغان، ر.، لرکی، س.، خواجه، غ.ح. و نداف، ه.، ۱۳۸۸. بررسی تأثیر بیهوشی میخک بر برخی فاکتورهای خونی ماهی کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon iddella*). مجله بهداشت و بیماری‌های دام، ۳(۲): ۴۵-۳۷.

جهانبخشی، ع.، هدایتی، ع. و جوادی موسوی، م.، ۱۳۹۳. تأثیر ۲- فنوکسی‌اتانول به‌عنوان ماده بیهوش‌کننده بر شاخص‌های خونی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*). مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۷(۳): ۳۴۷-۳۳۸.

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 درجه‌حرارت 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 moltiflora* Boiss *(Labiatae)* بر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) و ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۶(۴): ۱۰۶- ۹۹.

صدیق‌اعتقاد، س.، قوامی، س.، مرتضوی، ج. و میرزایی، ح.، ۱۳۸۷. اثرات بیهوشی عصاره گیاهان سنبل‌الطیب (*Valerian 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): ۳۳-۴۰.

علیشاهی، م.، اکبری، ن.، راضی‌جلالی، م. و نداف، ه.، ۱۳۹۲. مقایسه تأثیر داروهای بیهوشی ام- اس ۲۲۲، اسانس گل میخک و ۲- فنوکسی‌اتانول بر فاکتورهای خونی و آنزیم‌های سرم کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۳(۱):۰-۱۰۵.

غفاری، م. و خسروانی‌زاده، ع.، ۱۳۹۱. اثر اسانس گل میخک (*Eugenia cairyophillata*) 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.، یاوری، و.، رجب‌زاده قطرمی، ا. و راضی‌جلالی، م.، ۱۳۹۲. تعیین محدوده سمیت و غلظت نیمه‌کشندگی (LC_{50}) 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 (*Melissa officinalis*) و مریم‌گلی (*Salvia 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 Effcacy 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: DOI: 10.4194/1303-2712-v12_3_15

Alnamer, R., Alaoui, K., Bouidida 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 parmeters 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 rianbow 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

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 same haematological parameters in farmed European Sea bass (*Dicentrachus 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 effcacy 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., Poulios, S. and Vlachonasios, 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 stturgeon 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-S^{TM} 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

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 efficancy 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

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.İ, 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 Ichthyolology, 13: 715-722. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/1982-0224-20150012

Stoskopf, M.A., 1993. Fish medicine. Sounders 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 Piackova, V., 2007. Effects of 2-Phenoxyethanol Anaesthesia on Hematological Profile on Common Carp (*Cyprinus carpio*) and Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta Veterinary, 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 anesthetizer 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