Journal of Aquaculture Sciences 12(22): 151-162 (2024)
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

نشریه علوم آبزی‌پروری
دوره ۱۲، شماره ۲۲: ۱۵۱-۱۶۲ (۱۴۰۳)

مقایسه تأثیر بیهوشی با اسانس‌های گل میخک (*Eugenia caryophyllata*)، گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) و گیاه مورد (*Myrtus communis*) برشاخص‌های خونی و استرسی ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*)

علیرضا سیاهی[۱]، معصومه بحرکاظمی[۱*]، محبوبه اسلامی[۲]

[۱]گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران.
[۲]بخش تحقیقات مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری قره برون (ساری، ایران).

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۵ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۸**

چکیده

مطالعه حاضر به‌منظور مقایسه کارایی سه ماده بیهوشی شامل اسانس‌های گل میخک (*Eugenia caryophyllata*)، گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) و گیاه مورد (*Myrtus communis*) بر شاخص‌های خونی و میزان استرس‌زایی در ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) (میانگین وزنی ۱۰/۱۳±۹۰/۶۲ گرم) انجام شد. براساس پیش آزمایش انجام شده به‌منظور تعیین غلظت بهینه هر یک از اسانس‌های فوق، غلظت بهینه اسانس گل میخک ۷۵، اسانس گشنیز ۲۰۰ و اسانس مورد ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تعیین گردید. در آزمایش دوم که به‌منظور مقایسه اثرات اسانس‌های میخک، گشنیز و مورد بر شاخص‌های خون‌شناسی و استرس در ماهی شیپ انجام شد، ماهیان با غلظت‌های بهینه اسانس‌ها بیهوش شدند و از آن‌ها ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی خون‌گیری انجام شد. براساس نتایج، هیچ گونه تلفاتی در مطالعه حاضر مشاهده نشد. تأثیر بیهوشی با اسانس‌های مختلف بر تعداد گلبول‌های قرمز خون، میزان هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH و MCHC معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$)، اما اثر زمان بر تعداد گلبول‌های قرمز و و درصد هماتوکریت در مورد هر سه اسانس معنی‌دار بوده و میزان این شاخص‌ها در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی نسبت به ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی افزایش معنی‌داری یافت ($P<۰/۰۵$). میزان هورمون کورتیزول و گلوکز خون نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اسانس‌های بیهوشی و زمان قرار گرفت و بیشترین میزان آن‌ها در تیمار میخک در ۱۰ دقیقه بعد از بیهوشی مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). در مجموع عملکرد اسانس گیاه گشنیز و مورد در بیهوشی ماهی شیپ تا حد زیادی شبیه یکدیگر بود و با عملکرد اسانس میخک تفاوت معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$)، بنابراین در مقایسه با اسانس میخک، اسانس‌های گیاه مورد و گشنیز مواد مناسب‌تری برای بیهوشی گونه ماهی شیپ هستند.

کلید واژگان: شیپ، بیهوشی، اسانس گیاه، فاکتورهای خونی

*نویسنده مسئول ma.bahrekazemi@gmail.com

مقدمه

شرایط اسارت و روند دستکاری ماهی، اغلب سبب افزایش پاسخ‌های استرسی فیزیولوژیک می‌شود (Ross and Ross, 2008)، از اثرات منفی استرس می‌توان به کاهش ایمنی بدن، استعداد ابتلا به بیماری و کاهش کیفیت تخمک و اسپرم اشاره کرد (Wanger *et al*., 2002). از این‌رو، جهت کاهش استرس و آسیب‌های فیزیولوژیک ناشی از تراکم، اسارت، دستکاری و رهاسازی، امرزوه بیهوشی به‌عنوان ابزار ارزشمند در آبزی‌پروری، صید ماهی و مدیریت شیلاتی بکار می‌رود (Palic *et al*., 2006). انتظار می‌رود بیهوشی‌های مناسب در غلظت‌های بهینه اثرات زیان‌بار استرس بر ماهی را به حداقل برساند (Roohi and Imanpour, 2015). یک داروی بیهوش‌کننده مناسب باید ماهی را به‌سرعت بی حرکت کند و منجر به بهبودی بدون حادثه شود (Aydin and Barbas, 2020). علاوه بر این، به‌طور گسترده در دسترس، مقرون به صرفه و دارای سمیت کم یا بدون سمیت باشد (Azad *et al*., 2015). مواد بیهوشی نباید در بافت‌ها و اندام‌های ماهی رسوب کنند و برای مصرف انسان یا حیوان مشکل ایجاد کنند (Aydin and Barbas, 2020). علاوه بر آن، دفع مواد بیهوش‌کننده از بدن ماهی باید سریع باشد (Mylonas *et al*., 2005; Javahery *et al*., 2012; Azad *et al*., 2015).

بیهوش‌کننده‌های ماهی را می‌توان به دو دسته محصولات مصنوعی و طبیعی (گیاهی) تقسیم کرد. از جمله بیهوش‌کننده‌های مصنوعی که بیشترین استفاده را دارند شامل ۲-فنوکسی اتانول، تریکائین متان سولفونات (MS222)، بنزوکائین، متومیدات، اتومیدات، سولفات کینالدین، پروپوفول و کتامین هیدروکلراید می‌باشد. برخی از آنها قیمت بالایی داشته و یا عوارض جانبی نامطلوبی مانند افزایش تونوس عضلانی، رفتار آشفته مانند بیش‌فعالی، ترشح بیش از حد مخاط، آسیب قرنیه، و تحریک پوست و آبشش ایجاد کرده‌اند (Teixeira *et al*., 2017). تمایل به تولید مواد غذایی بدون مواد مصنوعی با گذشت زمان افزایش می‌یابد و با توجه به اثرات نامطلوب احتمالی بیهوش‌کننده‌های مصنوعی بر محیطزیست و فیزیولوژی ماهی، استفاده از بیهوش‌کننده‌های گیاهی جایگزین مناسبی برای بیهوش‌کننده‌های مصنوعی در صنعت آبزی‌پروری می‌باشند.

در کشور ایران، بیش از ۸۰۰۰ گونه گیاهی شناخته شده است که بسیاری از آنها خواص دارویی و درمانی دارند در میان این طیف وسیع از گیاهان دارویی گل گیاه میخک (*Syzygium aromaticum*) درختی از خانواده مورد می‌باشد از نظر ترکیبات شیمیایی میخک دارای مقدار قابل ملاحظه‌ای اسانس روغنی فرار است. سال‌های زیادی این ماده به‌عنوان بی‌حس‌کننده در آبزی‌پروری استفاده می‌شود. گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) از خانواده چتریان می‌باشد که از گیاهان دارویی با ارزش محسوب می‌شود. گیاه مورد (*Myrtus communis*) یک سرده از تیره موردیان است که گیاهی درختچه‌ای همیشه سبز می‌باشد. اسانس گل میخک از ترکیباتی مانند اوژنول (۸۵-۷۰ درصد)، استات اوژنول (۱۵-۱۰ درصد)، کاریوفیلین (۱۲-۲ درصد) تشکیل شده است که به‌طور عمده از اوژنول تشیکل شده است که به‌عنوان ترکیب اصلی دارای خواص ضد عفونی‌کننده و ضد درد است و می‌تواند به‌عنوان یک ماده بیهوشی عمل کند (فراهانی و همکاران، ۱۳۹۶). اسانس گشنیز از ترکیباتی مانند لینالول (۷۰-۶۰ درصد)، ژرانیول (۱۵-۵ درصد)، بورنئول (۱۰-۵ درصد) و کامفور (۱۰-۵ درصد) تشکیل شده است که لینالول به‌عنوان ترکیب اصلی دارای خواص آرام بخش است و می‌توانند در بیهوشی مؤثر باشد (میرزائی و همکاران، ۱۳۹۹). اسانس گیاه مورد از میرتول (۳۰-۲۰ درصد)، لینالول (۳۰-۲۰ درصد)، آلفا-پیلن (۲۰-۱۰ درصد) و سینئول (۱۰-۲۰ درصد) تشکیل شده است (اخباری و همکاران، ۱۳۹۴). ترکیبات متنوعی مانند میرتول و سینئول دارای خاصیت آرام‌بخش هستند.

ماهیان خاویاری به‌علت کیفیت بالای گوشت و ارزش خاویار جزء گران‌ترین و با ارزش‌ترین ماهیان محسوب می‌شوند، اما به‌دلایل مختلفی از جمله صید، عدم محافظت، آلودگی‌های شدید زیست‌محیطی و ساخت سد روی رودخانه‌ها، محیطزیست و محل تولیدمثل آنها با محدودیت روبه‌رو شده است و جمعیت آنها در سراسر جهان رو به کاهش است (Mohammadzadeh *et al*., 2021). با توجه به اهمیت و ارزش ذکر شده این ماهیان، باید در طی بررسی‌های مختلفی که بر روی آنها انجام می‌شود نهایت دقت را داشت و برای حفظ آنان و کاهش آسیب‌های ناشی از انواع عملیات، استفاده از داروهای بیهوشی اهمیت و ضرورت پیدا می‌کند. برای یافتن بهترین نوع ماده بیهوشی بر روی گونه‌های

مختلف ماهیان خاویاری مطالعات مختلفی صورت گرفته است که از جمله آنها می‌توان به بررسی‌های صورت گرفته توسط حلاجیان و همکارن (۱۳۹۷)، Abtahi و همکاران (۲۰۰۲)، Imanpoor و همکاران (۲۰۱۰)، Delafkar و Sattari (۲۰۱۹) و Baaberoo و همکاران (۲۰۱۶) اشاره کرد. اگرچه مطالعات مختلفی بر روی بیهوشی تاسماهیان انجام شده است، تاکنون مطالعات اندکی در مورد اثر بیهوش‌کنندگی اسانس گیاه مورد و گیاه گشنیز در ماهی شیپ صورت گرفته است. گونه ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) از خانواده تاسماهیان است که در دریای خزر و رودخانه‌های اطراف آن پراکنش دارد (Eagderi *et al*., 2022). این ماهی بزرگ و مهاجر است که به‌دلیل صید بی‌رویه، تخریب زیستگاه و آلودگی در محدوده بومی خود به‌شدت در معرض خطر است. تلاش‌های حفاظتی برای حفاظت از این گونه و جلوگیری از انقراض آن در حال انجام است (Falahatkar, 2024). بنابراین، تحقیق حاضر به بررسی اثر بیهوش‌کنندگی اسانس‌های گل میخک، گیاه گشنیز و گیاه مورد در تاسماهی شیپ پرداخته است.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط نگهداری: تعداد ۱۰۰ قطعه تاسماهی شیپ با میانگین وزنی ۱۰/۱۳ ± ۹۰/۶۲ گرم و طول کل ۱/۱۶±۲۷/۴۶ سانتی‌متر در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری قره‌برون واقع در چبکرود (ساری) مورد استفاده قرار گرفت. ماهیان به‌مدت دو هفته قبل از شروع آزمایش به‌منظور سازگاری در محل جدید نگهداری شدند. برای نگهداری ماهی‌ها قبل و بعد از انجام آزمایش‌های بیهوشی، از ۵ مخزن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری (آبگیری ۱۰۵۰ لیتر) که به‌خوبی هوادهی شدند، استفاده شد. دمای آب تانک‌ها در طول دوره سازگاری و انجام آزمایش ۰/۱±۱۸/۶ درجه سانتی‌گراد بود. غذادهی به‌صورت روزانه به اندازه ۲-۱ درصد وزن بدن با استفاده از جیره تهیه شده در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری قره‌برون (۴۶ درصد پروتئین، ۱۹ درصد چربی) انجام می‌شد. بیست و چهار ساعت پیش از انجام آزمایش‌ها و نیز در مدت انجام آزمایش‌ها برای مشخص شدن بهتر اثرات ماده بیهوشی بر روند بیهوشی و بازگشت آن، ماهی‌ها تغذیه نمی‌شدند (شریف پور و همکاران، ۱۳۸۱).

آزمایش اول: تعیین غلظت بهینه بیهوش کننده‌ها

برای تعیین غلظت بهینه تعداد ۵۴ قطعه ماهی مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش با استفاده از سه ماده بیهوشی اسانس گل میخک با غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (ابطحی و همکاران، ۱۳۸۲؛ والی و همکاران، ۱۳۹۴)، گیاه گشنیز با غلظت‌های ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر (Yigit *et al*., 2023) و گیاه مورد با غلظت‌های ۶۰۰، ۷۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (Al-Niaeem *et al*., 2019) انجام گرفت. برای هر کدام از غلظت‌ها دو تکرار در نظر گرفته شد و هر تکرار بر روی سه عدد ماهی انجام گردید. اسانس‌های مورد استفاده از شرکت سبحان دارو شهر رشت تهیه شد.

کلیه آزمایش‌ها با روش غوطه‌ورسازی ماهی در محلول بیهوشی انجام شد. قبل از انجام هر یک از ترکیب‌های آزمایشی، ماهی به‌طور تصادفی از تانک‌های فایبرگلاس به‌وسیله تور دستی کوچکی صید و به تعداد مورد نیاز به ظروف بیهوشی محتوی ۲۰ لیتر آب منتقل شدند. برای مشاهده دقیق اثرات بیهوشی بر ماهی، هوادهی در ظرف بیهوشی قطع شد. پس از بیهوشی ماهی‌ها به مخازن محتوی ۴۰ لیتر آب که با استفاده از سنگ هوا هوادهی می‌شدند به‌منظور بازگشت از بیهوشی منتقل شدند. پس از اتمام بیهوشی با هریک از از غلظت‌ها، ماهی‌ها از مخازن بازگشت به تانک‌های فایبرگلاس منتقل شدند و به‌مدت یک هفته برای مشاهده تلفات احتمالی تحت نظر قرار گرفتند. مدت زمان القا بیهوشی و به‌هوش آمدن پس از انتقال ماهی از ظرف حاوی محلول بیهوشی به مخزن بازگشت، با یک کورنومتر ثبت شد و غلظت بهینه براساس مشاهدات رفتار ماهی و زمان رفت و برگشت از بیهوشی تعیین گردید.

آزمایش دوم اندازه‌گیری پارامترهای خونی و استرسی: جهت تعیین اثر بیهوشی اسانس‌های گل میخک، گشنیز و مورد بر پارامترهای خونی و استرسی، تعداد ۳۶ قطعه ماهی شیپ از تانک‌های فایبرگلاس جمع‌آوری شدند و سپس به‌صورت تصادفی به سه گروه گروه هر یک با سه تکرار تقسیم‌بندی با چهار ماهی در هر مخزن شدند. گروه‌های آزمایشی شامل سه گروه بیهوش شده با غلظت بهینه از اسانس‌های گل میخک، مورد و گشنیز بودند. جهت انجام این مرحله از آزمایش، ابتدا ماهیان با غلظت‌های بهینه به‌دست آمده بیهوش شدند. ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی نمونه‌برداری خون از هر سه گروه صورت گرفت،

به‌طوری‌که دو قطعه از هر تکرار در مجموع شش قطعه از هر تیمار مورد استفاده قرار گرفت و بعد از خون‌گیری به مخزن با آب تازه و هوادهی شده ذخیره شدند. برای جلوگیری از ورود آب و موکوس به نمونه خون، ابتدا ماهی‌ها با حوله خشک شدند. خون‌گیری با استفاده از سرنگ پلاستیکی دو میلی‌لیتری هپارینه از سیاهرگ دمی ماهیان انجام شد.

بررسی شاخص‌های خونی: فاکتورهای خونی مورد بررسی شامل شمارش گلبول‌های قرمز خون (Red blood cell, RBC) و شمارش گلبول‌های سفید خون (Whiet blood cell, WBC) به روش دستی با لام نئوبار (Kenari *et al.*, 2013)، اندازه‌گیری مقدار هموگلوبین (Hemaglubin, Hb) به روش سیانومت هموگلوبین (Drabkin, 1945) و مقدار هماتوکریت (Hematocerit, Hct) به روش میکرو هماتوکریت (Řehulka *et al.*, 2004)، بودند. گلبول‌های قرمز خون با استفاده از لام هماسیتومتر پس از رقیق‌سازی با استفاده از Natt, M.P. و محلول C.A. Herrick به نسبت ۱: ۲۰۰ که محتوی ۰/۱ گرم آبی کریستالی درخشان، ۳/۸ گرم سدیم سیترات و ۰/۲ میلی لیتر فرمالدئید ۳۷٪ رقیق شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر بودند، انجام شد. پنج بخش مرکزی مربع میانی لام نئوبار شمارش شد و نتایج در ۱۰۰۰۰ ضرب شد (Kenari *et al.*, 2013). جهت شمارش گلبول‌های سفید خون، پس از رقیق‌شدن خون به نسبت ۱:۵۰ با محلول Natt، M. P. و C. A. Herrick، از چهار مربع حاشیه لام نئوبار برای شمارش گلبول‌های سفید استفاده شد که نتایج آن در ۵۰ ضرب شد (Kenari *et al.*, 2013). برای اندازه‌گیری میزان هموگلوبین، خون لخته نشده (۲۰ میکرولیتر) با ۵ میلی‌لیتر محلول درابکین مخلوط شد و به‌مدت ۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. سپس توسط اسپکتروفتومتر ۵۴۰ نانومتر (بر حسب گرم در دسی لیتر) قرائت شد (Drabkin, 1945). هماتوکریت با روش میکروهماتوکریت تعیین شد. در ابتدا، بیش از دو سوم لوله‌های مویرگی هماتوکریت با خون لخته نشده پر شد. لوله‌ها با سرعت ۱۳۰۰۰ دور به‌مدت ۵ دقیقه در دستگاه میکروهماتوکریت سانتریفیوژ شدند و سپس مقادیر هماتوکریت با استفاده از یک صفحه درجه‌بندی شده قرائت شد (Řehulka *et al.*, 2004). میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH) و میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC) براساس فرمول محاسبه شد:

$$MCV=Hct*10/RBC$$
$$MCH=Hb*10/RBC$$
$$MCHC=Hb/Hct$$

اندازه‌گیری پارامترهای استرسی: به‌منظور تعیین غلظت کورتیزول، گلوکز و لاکتات سرم در پاسخ به بیهوشی نمونه‌برداری خون از هر سه گروه صورت گرفت، به‌طوری‌که دو قطعه از هر تکرار در مجموع شش قطعه از هر تیمار مورد استفاده قرار گرفت. سپس نمونه‌های خون سانترفیوژ شده و سرم به‌دست آمده جهت سنجش کورتیزول و گلوکز مورد استفاده قرار گرفت. هورمون کورتیزول به روش رادیوایمنواسی (RIA) و با استفاده از دستگاه گاماکانتر تمام خودکار LKB (Wallace، Finland) و با کیت هورمونی immunotech (Marseille, France) انجام شد. اندازه‌گیری گلوکز با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون، تهران، ایران) با روش آنزیمی رنگ‌سنجی با دستگاه اتوآنالایزر با انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: این تحقیق در قالب طرح فاکتوریل (شامل سه ماده بیهوش کننده و دو زمان نمونه‌برداری) انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف–اسمیرنوف و سپس آزمون لون برای بررسی همگنی واریانس‌ها انجام شد. در صورت برقراری شرایط فوق به‌منظور مقایسه معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌ها از آنالیز واریانس دو طرفه (Two-Way ANOVA) استفاده شد. تفاوت بین تیمارها نیز با آزمون دانکن بررسی گردید. اختلاف معنی‌داری در هر فاکتور در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری با استفاده از آزمون T-test student بررسی شد. کلیه آزمون‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت. داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شدند.

نتایج

نتایج آزمایش اول: تلفاتی در طول القاء بیهوشی و بازگشت از بیهوشی مشاهده نشد و تمام تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش برای القاء بیهوشی در ماهی شیپ مؤثر و بی‌خطر بودند. اما با توجه به زمان لازم برای القاء بیهوشی و بازگشت از بیهوشی غلظت بهینه برای اسانس گل میخک، گیاه گشنیز و گیاه مورد به‌ترتیب: ۷۵، ۲۰۰، و ۸۰۰ میلی‌گرم

جدول ۱- زمان‌های القای بیهوشی و بازگشت از آن در ماهی شیپ تحت تاثیر غلظت بهینه اسانس‌های گل میخک، گیاه گشنیز و گیاه مورد

نوع ماده بیهوشی	غلظت بهینه (میلی‌گرم بر لیتر)	زمان بروز بیهوشی (ثانیه)	زمان بازگشت از بیهوشی (ثانیه)
اسانس گل میخک	۷۵	۹۱/۱±۴/۸	۴۸۰/۵±۹/۷
اسانس گشنیز	۲۰۰	۱۳۳/۱±۵/۴	۶۰۰±۸/۹
اسانس مورد	۸۰۰	۱۲۰/۲±۴/۳	۷۸۰/۲±۱۶/۵

جدول ۲- پارامترهای خون‌شناسی ماهی شیپ، ۱۰ دقیقه و ۲٤ ساعت بعد از قرار گرفتن در معرض ماده بیهوشی (میانگین ± انحراف معیار)

اسانس /شاخص	RBC ($*10^3/mm^3$)	WBC (10^4/ml)	Hb (g/dl)	Hct (%)	MCV (fl)	MCH (pg/cell)	MCHC (%)
۱۰ دقیقه							
میخک	۹۴۸/۶±۱۶/۵*	۳/۰±۰/۳^{b}	۵/۰±۹/۱	۲۶/۰±۶/۵	۲۸۶/۷±۶/۵	۶۲/۰±۹/۱	۲۱/۰±۸/۷
گشنیز	۹۳۷/۲۵±۰/۰*	۲/۰±۸/۰۵^{ab}	۵/۰±۶/۱	۲۶/۱±۳/۵	۲۷۸/۲±۳/۳	۶۲/۰±۸/۸	۲۲/۱±۵/۵
مورد	۹۷۸/۱۸±۰/۰*	۲/۰±۶/۱^{a}	۶/۰±۱/۱	۲۸/۱±۰/۰	۲۸۶/۱±۳/۵	۶۳/۰±۲/۴	۲۲/۰±۱/۰۸
۲٤ ساعت							
میخک	۸۸۳/۲۴±۳/۸	۲/۰±۷/۰۸^{b*}	۵/۰±۶/۱	۲۵/۰±۳/۵	۲۸۰/۳±۳/۲	۶۲/۰±۷/۱	۲۲/۰±۱/۱
گشنیز	۸۹۷/۲۶±۳/۵	۲/۰±۴/۱^{a*}	۵/۰±۵/۲	۲۵/۱±۰/۰	۲۸۰/۳±۰/۰	۶۲/۰±۱/۷	۲۲/۰±۱/۰۹
مورد	۸۵۴/۱۸±۴/۵	۲/۰±۴/۰۶^{a*}	۶/۰±۰/۱	۲۷/۰±۳/۵	۲۸۰/۵±۰/۶	۶۳/۰±۳/۶	۲۱/۰±۳/۹
اسانس	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
زمان	*	*	ns	ns	ns	ns	ns
اثر متقابل	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns

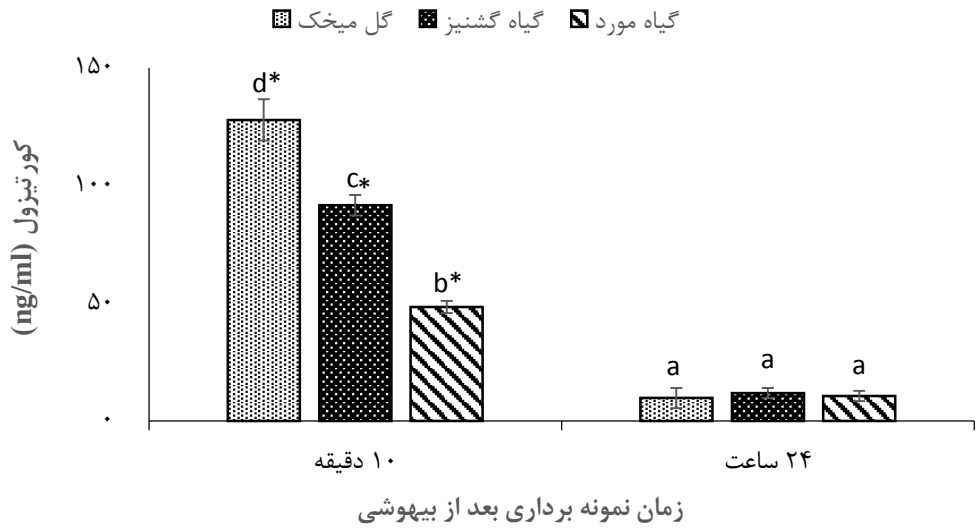
اعداد در هر ستون با حروف بالانویس متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین اسانس‌های مختلف با استفاده از آزمون دانکن و علامت ستاره (*) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در دو زمان خون‌گیری در هر اسانس با استفاده از آزمون T-test student است ($P<۰/۰۵$).

بر لیتر به‌دست آمد (جدول ۱). در تیماری که با اسانس گل میخک بیهوش شدند زمان بیهوشی کوتاه‌تر بوده و همچنین در زمان بازگشت از بیهوشی هم در گروهی که اسانس گل میخک را دریافت کردند کوتاه‌تر از سایر تیمارها بود.

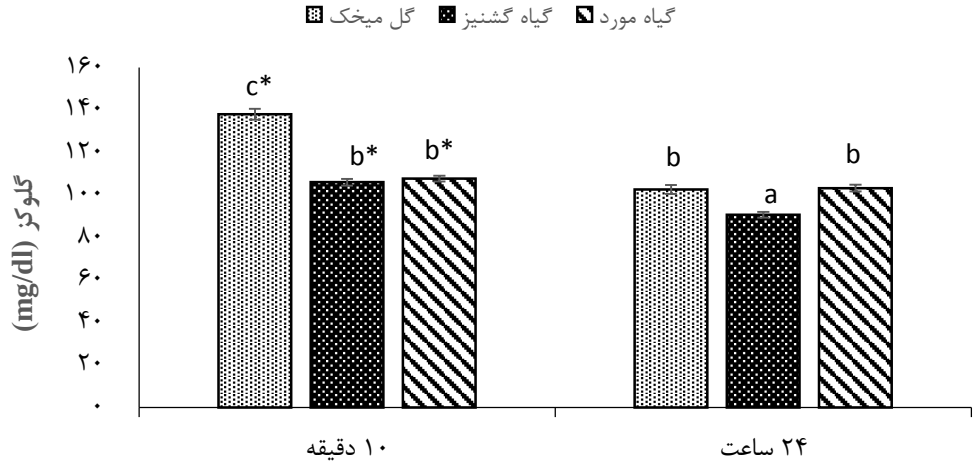
نتایج آزمایش دوم: بر اساس نتایج آزمایش دوم، تأثیر بیهوشی با اسانس‌های مختلف بر تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، درصد هماتوکریت، MCV، MCH و MCHC معنی‌دار نبود) (جدول ۲، $P>۰/۰۵$). اما اثر زمان بر تعداد گلبول‌های قرمز و و درصد هماتوکریت در مورد هر سه اسانس معنی‌دار بوده و میزان این شاخص‌ها در زمان ۲۴ ساعت پس از بیهوشی نسبت به ۱۰ دقیقه پس از بیهوشی افزایش معنی‌دار یافت. در ارتباط با تأیر بیهوش‌کننده‌ها بر تعداد گلبول‌های سفید خون نتایج بیانگر اثر معنی‌دار هر دو متغیر یعنی اسانس‌ها و زمان بود. بدین‌معنی که در هر سه ماده تعداد گلبول‌های سفید در ۲۴ ساعت پس از بیهوشی کاهش معنی‌دار یافت. در هر دو زمان خون‌گیری نیز بیشترین تعداد WBC در تیمار بیهوش شده با اسانس گل میخک مشاهده شد و هر سه تیمار با هم تفاوت معنی‌دار نشان دادند (جدول ۲، $P<۰/۰۵$).

نتایج مربوط به تغییرات هورمون کورتیزول در شکل ۱ ارائه شده است. تأثیر بیهوشی با اسانس‌های مختلف و زمان نمونه‌برداری بر میزان هورمون کورتیزول معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) و بیشترین میزان هورمون کورتیزول در تیمار بیهوش شده با اسانس گل میخک مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) و در هر سه تیمار میزان هورمون کورتیزول در زمان ۲۴ ساعت نسبت به زمان ۱۰ دقیقه کاهش معنی‌دار یافت.

در ارتباط با تأثیر بیهوش‌کننده‌ها بر میزان گلوکز خون، نتایج بیان‌کننده تأثیر معنی‌دار اسانس و زمان نمونه‌برداری بود ($P<۰/۰۵$). بدین‌معنی که در هر سه تیمار آزمایشی میزان گلوکز در ۲۴ ساعت پس از بیهوشی کاهش معنی‌دار یافت و در هر دو زمان نمونه‌برداری نیز کمترین میزان گلوکز در تیمار گشنیز مشاهده شد.



شکل ۱- سطح کورتیزول در ماهی شیپ بیهوش شده با اسانس‌های میخک، گشنیز و مورد در زمان ده دقیقه و ۲٤ ساعت بعد از بیهوشی. حروف a، b و c نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین اسانس‌های مختلف با استفاده از آزمون دانکن و علامت ستاره (*) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در دو زمان خون‌گیری در هر اسانس با استفاده از آزمون T-test student است (*P*<۰/۰۵).



شکل ۲- میزان گلوکز در ماهی شیپ بیهوش شده با اسانس‌های میخک، گشنیز و مورد در زمان ده دقیقه و ۲٤ ساعت بعد از بیهوشی. حروف a، b و c نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین اسانس‌های مختلف با استفاده از آزمون دانکن و علامت ستاره (*) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در دو زمان خون‌گیری در هر اسانس با استفاده از آزمون T-test student است (*P*<۰/۰۵).

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که اسانس‌های گل میخک، گیاه گشنیز و گیاه مورد می‌تواند بدون مشاهده تلفات و با موفقیت باعث بیهوشی ماهی شیپ شود. در این مطالعه، با گذشت ۱۲۰–۹۰ ثاینه تمام ماهی‌ها در غلظت‌های ۷۵، ۲۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌ترتیب در اسانس‌های گل میخک، گیاه گشنیز و گیاه مورد وارد مرحله بیهوشی شدند. در فیل ماهی، ppm ۴۰۰ اسانس میخک ۹۰ ثانیه بعد از در معرض قرار گرفتن سبب بیهوشی در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد شده است (Imanpoor *et al*., 2010). در مطالعه روحی و همکاران (۱۳۹۵) با گذشت ۲۷۰–۶۸ ثانیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در غلظت‌های ۳۹۵، ۵۲۶، و ۶۵۷ میکرولیتر در لیتر اسانس نعناع وارد مرحله بیهوشی شد. همچنین عصاره گیاهان سنبل‌الطیب (*Valerian officinalis*)، بادرنجبویه

(*Melissa officinalis*)، خشخاش (*Papaver samniferum*) و شقایق (*Papaver bracteatum*) سبب بیهوشی در ماهی قرمز حوض (*Carassius auratus*) شده است (صدیق اعتقاد و همکاران، ۱۳۸۷). گیاهان به‌خاطر داشتن مواد مؤثر از قبیل منتول، اوژنول، لینالول، پس از حل شدن در آب، از طریق آبشش جذب و روی مغز ماهی اثر گذاشته، به‌طور موقت ارتباط گیرنده‌های عصبی را قطع و ماهی در ابتدا یک دوره‌ی شنای توام با بی‌قراری و به‌دنبال آن نامنظم داشته و سپس بی‌تحرک شده به حالت بیهوشی به پهلو یا پشت می‌فتد (Hoseini et al., 2018). در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، ۵۰۰–۵۰ میلی‌گرم در لیتر منتول باعث بیهوشی عمیق در عرض ۳۵۰–۵۳ ثانیه، با زمان بهبودی ۱۰۰۰–۱۸۸ ثانیه شد (Mazandarani and Hoseini, 2017)، منتول در غلظت‌های ۵۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم باعث بیهوشی در ۳۲ تا ۶۰ ثانیه در لامپری (*Astyanax altiparanae*) با زمان بازگشت ۲۵۰–۱۱۰ ثانیه شد (Da Silva *et al*., 2016). طول مدت بازگشت از بیهوشی در مطالعه حاضر برای اسانس گل میخک ۴۸۰ ثانیه، برای گیاه گشنیز ۶۰۰ و برای گیاه مورد ۷۸۰ ثانیه بود. نتایج حاصل از آزمایش‌های سایر محققان در استفاده از گل میخک در مورد بیهوش شدن ماهیان بیانگر آن است که طول مدت بازگشت با اسانس گل میخک در غلظت‌های ۵۰ تا ۱۲۰ میلی‌گرم بر لیتر در بچه تاسماهی ایرانی با وزن کمتر از ۴/۲۵ گرم ۵ تا ۱۵ دقیقه (ابطحی و همکاران، ۱۳۸۲)، در قزل‌آلای رنگین‌کمان زیر یک گرم تا مولد در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بین یک تا ۲ تا ۸ دقیقه (یوسفیان و همکاران، ۱۳۸۰) بود. در استفاده از ترکیبات مختلف جهت بیهوشی بازگشت از بیهوشی بستگی به مقدار دارو و زمان بیهوشی دارد. هر چه از زمان حل شده اسانس‌های گیاهی بیشتر بگذرد ماهی سریع‌تر بیهوش می شود.

آنالیز پارامترهای خون یک روش بسیار مهم و قابل اعتماد است که می‌تواند اطلاعات حیاتی درباره وضعیت سلامت ماهی به ما ارائه دهد (Kristan *et al*., 2012). در مطالعه حاضر، اسانس‌های بیهوشی تأثیر معنی‌داری بر تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، درصد هماتوکریت، MCV، MCH و MCHC نداشتند، اما مقادیر آنها به‌طور معنی‌داری در ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی کمتر از ۱۰ دقیقه بعد از بیهوشی در هر سه تیمار دریافت کننده اسانس بود. در واقع القاء بیهوشی با هر سه اسانس موجب افزایش گلبول-های قرمز و دیگر شاخص‌های مرتبط با تأمین اکسیژن ماهی شد تا اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها افزایش یابد. اما این اثر کوتاه‌مدت بود و با گذشت ۲۴ ساعت کاهش معنی‌دار این پارامترها مشاهده شد. نتایج مشابهی در ماهی برزم لب پهن (*Barbus barbulus*) بیهوش شده با اسانس گل میخک توسط پذیرش و همکاران (۱۳۹۷)، در ماهی کپور معمولی بیهوش شده با اسانس گل میخک (Vislec *et al*., 2005) و سلطانی و همکاران (۲۰۰۴) گزارش شده است. در مطالعه ایمانپور و همکاران (۲۰۱۰) بر تاسماهی ایرانی و مطالعه عبدالعزیزی و همکاران (۲۰۱۱) در ماهی کاراس (*Carassius auratus*) اختلاف معنی‌داری در فاکتورهای خون‌شناسی مشاهده شد که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد علت آن تفاوت در گونه مورد آزمایش است. عدم تغییر در میزان فاکتورهای خونی در مطالعه حاضر دلیلی بر استرس‌زایی کمتر اسانس‌های مورد استفاده در ماهی شیپ است.

بروز استرس در ماهیان می‌تواند تعداد گلبول‌های سفید خون را تغییر دهد، اما اثر استرس بر گلبول‌های سفید متفاوت است. مغز و بدن ماهی ارتباط مستمری با یکدیگر دارند. در هنگام استرس حاد یا کوتاه‌مدت، اولین پاسخ مغز کمک به بدن برای مقابله با عامل استرس‌زا است که ممکن است تعداد گلبول‌های سفید را افزایش دهد. در پایان رویداد استرس‌زا، مغز پیام‌هایی را برای معکوس کردن واکنش استرس اولیه ارسال می‌کند و به گلبول‌های سفید اجازه می-دهد به وضعیت عادی بازگردند. البته استرس مزمن و طولانی‌مدت اغلب موجب تضعیف ایمنی ماهی می‌شود، زیرا افزایش طولانی‌مدت کورتیزول موجب کاهش لنفوسیت و گلبول های سفید و تخریب اندام‌های مسئول ایمنی مانند تیموس می‌شود (Demers and Bayne, 1997). در مطالعه حاضر، اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید بین تیمارهای بیهوش شده با اسانس‌های مختلف مشاهده شد و هر سه تیمار بیهوشی در زمان ۱۰ دقیقه بیشتراز ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی بود. در مطالعه Babaiinezhad و Bahrekazemi(۲۰۱۹) نیز نتایج مشابهی در مولدین ماهی سفید دریای خزر گزارش شد. همچنین در مطالعه Sudagar و همکاران (۲۰۰۹) در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) و

Imanpoor و همکاران (۲۰۱۰) در تاسماهی ایرانی تعداد گلبول‌های سفید ۱۰ دقیقه بعد از بیهوشی افزایش یافت اما ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی مجدد کاهش یافت.

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 تخریب گلبول سفید اندام‌های ایمنی از قبیل کبد و تیموس شود. میزان کورتیزول در مطالعه حاضر ۱۰ دقیقه بعد از بیهوشی در هر سه تیمار افزایش یافت و بیشترین میزان در تیمار بیهوش شده با اسانس گل میخک مشاهده شد. در مطالعه بهشتی و همکاران (۱۳۹۷) افزایش سطح گلوکز بعد از بیهوشی با عصاره گل میخک و گیاه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) در کپور معمولی گزارش شد. اگرچه مواد بیهوشی در کاهش استرس ناشی از شرایط اسارت و دستکاری مؤثر هستند، دلایلی وجود دارد که خود بیهوشی می‌تواند سبب القای پاسخ استرس شود که این امر اغلب از طریق اندازه‌گیری سطح کورتیزول و گلوکز پلاسما ارزیابی می‌شود (Zahl *et al*., 2012). در مطالعه حاضر میزان گلوکز خون تحت تأثیر هر دو متغیر اسانس و زمان قرار گرفت. در هر سه تیمار آزمایشی با گذشت زمان میزان گلوکز کاهش یافت و در هر دو زمان نمونه‌برداری کمترین میزان گلوکز مربوط به تیمار مورد و گشنیز بود. میزان گلوکز در مطالعه بهشتی و همکاران (۱۳۹۷) در کپور معمولی بیهوش شده با اسانس گل میخک و اسطوخودوس بعد از بیهوشی بالا و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی کاهش 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 پیچیده هورمونی مانند گلوکان، انسولین و دیگر هورمون‌های نظیر کورتیکوستروئیدها، اپی‌نفرین و تیروکسین تنظیم می‌شود، بنابراین قرار گرفتن در معرض استرس‌های محیطی، سطح گلوکز خون می‌تواند به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کند (Kaattari and Piganelli, 1996). در مطالعه حاضر سطح گلوکز در تیمار بیهوش شده با اسانس گل میخک بالاتر از تیمارهای بیهوش‌شده با اسانس گیاه مورد و گیاه گشنیز بود. هم‌راستا با مطالعه حاضر، 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 گلوگز ماهی کپور معمولی، تفاوت قابل توجهی در سطح گلوکز خون پس از بیهوشی و احیا بین گروه‌ها مشاهده شد.

نتایج این مطالعه نشان داد از نظر القای بیهوشی و زمان احیا هر سه ماده مورد آزمایش کارایی مناسبی داشتند و سبب القای بیهوشی در زمان کمتر از سه دقیقه و احیا در زمان کمتر از ۱۰ دقیقه شدند، اما با توجه به میزان هورمون کورتیزول و گلوکز در تیمار بیهوش شده با اسانس‌های گیاه مورد و گشنیز این دو اسانس گزینه‌های بهتری برای بیهوشی ماهی شیپ هستند. با این وجود، مطالعات تکمیلی بیشتری در خصوص اثر بیهوشی اسانس گیاهان مورد و گشنیز به‌ویژه بر روی گونه‌های ارزشمند خاویاری لازم است.

تشکر و قدردانی

از مسئولین و پرسنل محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری قره‌برون واقع در ساری به‌خصوص از خانم دکتر امینه زارع تبار و همچنین تمامی همکارانی که ما را در اجرای این پروژه یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

ابطحی ب.، سلطانی م.، محمدی ارانی م.، امین، غ.، خوش باوررستمی ح. ۱۳۸۲. اثرات بیهوشی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). *نشریه علوم کشاورزی و منابع طبیعی*. ۱۰(۱): ۱۶۱-۱۷۲.

اخباری م.، آقاجانی ز.، کریمی ا.، مازوچی ا. ۱۳۹٤. بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی ترکیبات روغنی گیاه *Mentha longifolia*. *مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی*. ۶(۲۱): ۸-۱.

بهشتی ن.، یگانه س.، عادل م. ۱۳۹٦. مقایسه اثر بیهوش کننده اسانس اسطوخدوس (*Lavandula angustifolia*) با اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر برخی شاخص‌های خونی و بیوشیمایی سرم در ماهی جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). *مجله شیلات ایران*. ۲۷(۴). ۱۲۳-۱۰۷.

پذیرش ن.، جوادزاده ن.، معبودی و. ۱۳۹۷. تعیین دوز بیهوش‌کنندگی کشندگی و بررسی تاثیر اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر فاکتورهای خونی ماهی برزم لب پهن (*Barbus barbulus*). بهره‌برداری و پرورش آبزیان. ۷(۴): ۵۳-۴۱.

حلاجیان ع.، کاظمی ر.، یوسفی جوردهی ا. ۱۳۹۷. اثر پودر گل میخک بر مدت زمان بیهوشی و بازگشت از بیهوشی در فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی ۴ ساله. *فنآوری های نوین در توسعه آبزی پروری*. ۵(۲): ۱۴۰-۱۳۳

روحی ز.، ایمانپور م.، محمدی ح.، محمدی م. ۱۳۹۵. اثرات میخک و اموسیون اسانس نعناع و متیل سالیسیلات بر بیهوشی و گلوکز خون ماهی قزل آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*). *مجله پژوهش‌های جانوری*. ۲۹(۲): ۱۹۵-۱۸۶.

شریف‌پور ع.، سلطانی م.، عبدالحی ح.، قیومی راضیه. ۱۳۸۱. اثر بیهوش کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). *مجله علمی شیلات ایران*. ۱۱(۴): ۷۴-۵۹.

صدیق اعتقاد س، قوامی س.، موتضوی ج.، میرزائیح. ۱۳۸۷. اثرات بیهوشی عصاره گیاهان سنبل الطیب (*Valerian officinalis*)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)، خشخاش (*Papaver samniiferum*) و شقایق (Papaver bracteatum) بر ماهی قرمز حوض (Carassius auratus). *مجله علمی شیلات ایران*. ۱۷(۱): ۹۸-۹۱.

فراهانی ز.، فراهانی ف. ۱۳۹٦. شناسایی ترکیبات موجود در عصاره و اسانس گیاه میخک Syzgiumarmaticum. *فصلنامه علمی-پژوهشی بیولوژی کاربردی*. ۲۷(۷): ۷-۱.

میرزائی م.، حجتی م.، بهبهانی ب.، نوشاد م. ۱۳۹۹. تعیین ترکیبات شیمیایی، ویژگی‌های ضد اکسایشی و فعالیت ضد میکروبی اسانس دانه گشنیز بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا. نشریه *پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران*. ۱۶(۲): ۲۳۳-۲۲۱.

یوسفیان م.، عریان ش.، نوحی آ. ۱۳۸۰. بررسی اثرات بیهوش کننده‌های ACA (استن، کلروفوم، الکل) و AES (الکل، اتر، نمک) بر روی مولدین و بچه ماهیان کپور معمولی و کپور چینی. *پژوهش و سازندگی*. ۵۱: ۴۷-۴۴.

Abdolazizi S., Ghaderi E., Naghdi N., Kamangar B.B. 2011. Effects of clove oil as an anesthetic on some hematological parameters of *Carassius auratus*. *Journal of Aquaculture Research & Development* 2(1), 108.

Al-Niaeem K.S., Abdulrahman N.M., Attee R.S. 2019. Using of anise (*Pimpinella anisum*) and chamomile (*Matricaria chamomilla*) powders for common carp *Cyprinus carpio* L. anesthesia. *Biological Applied Environmental Research* 3, 111-117.

Aydın B., Barbas L.A.L. 2020. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. *Aquaculture* 520, 734999.

Azad A.A., Eigl B.J., Murray R.N., Kollmannsberger C., Chi K.N. 2015. Efficacy of enzalutamide following abiraterone acetate in chemotherapy-naive metastatic castration-resistant prostate cancer patients. *European Urology* 67(1), 23-29.

Baaberoo J., Khara H., Jourdehi A.Y. 2016. Chemical and electrical approaches to anesthesia of Ship sturgeon, *Acipenser nudiventris*: induction and recovery, physiological response to anesthesia. *Comparative Clinical Pathology* 25, 569-576.

Babaiinezhad L., Bahrekazemi M. 2019. Effects of three anesthetics of clove extract, sodium bicarbonate, and lidocaine on blood parameters and cortisol level in male and female broodstocks of Caspian kutum (*Rutilus kutum*). *International Journal of Aquatic Biology* 7(5), 260-270.

Coyle S.D., Durrorow R.M., Tidwell H.J. 2004. Effects of an aesthetics on the water parameters in a simulated transport experiment of platy fish (*Xiphorus maculatus*). *Aquaculture Research* 26, 256-271.

Delafkar K., Sattari M., Khara H., Poursaeid S., Falahatkar B. 2019. Sedative efficacy of tobacco extract, clove oil, tricaine methanesulfonate, and ketamine: effects on hematological parameters and blood biochemical profile in sterlet. *North American Journal of Aquaculture* 81(3), 258-268.

Demers N.E., Bayne C.J. 1997. The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. *Developmental & Comparative Immunology* 21(4), 363-373.

Drabkin D.L. 1945. Hemoglobin, glucose, oxygen and water in the erythrocyte: a concept of biological magnitudes, based upon molecular dimensions. *Science* 101(2627), 445-451.

Eagderi S., Mouludi-Saleh A., Esmaeli H.R., Sayyadzadeh G., Nasri M. 2022. Freshwater lamprey and fishes of Iran; a revised and updated annotated checklist-2022. *Turkish Journal of Zoology* 46(6), 500-522.

Falahatkar B. 2024. Ship sturgeon extinction risk in the Caspian Sea. *Science* 383(6685), 838-838.

Haukenes A.H., Barton B.A., Bollig H. 2008. Cortisol responses of pallid sturgeon and yellow perch following challenge with lipopolysaccharide. *Journal of Fish Biology* 72(3), 780-784.

Hoseini S.M., Taheri Mirghaed A., Yousefi M. 2019. Application of herbal anaesthetics in aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 11(3), 550-564.

Hoskonen P., Pirhonen J. 2006. Effects of repeated handling, with or without anaesthesia, on feed intake and growth in juvenile rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum). *Aquaculture Research* 37(4), 409-415.

Hurvitz A., Jackson K., Degani G., Levavi-Sivan B. 2007. Use of endoscopy for gender and ovarian stage determinations in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) grown in aquaculture. *Aquaculture* 270(1-4), 158-166.

Imanpoor M.R., Bagheri T., Hedayati S.A.A. 2010. The anesthetic effects of clove essence in Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *World Journal of Fish and Marine Sciences 2*(1), 29-36.

Imanpoor M.R., Bagheri T., Hedayati S.A.A. 2010. The anesthetic effects of clove essence in Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *World Journal of Fish and Marine Sciences 2*(1), 29-36.

Inoue L.A.K.A., Santos Neto C.D., Moraes G. 2003. Clove oil as anesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). *Ciência Rural* 33, 943-947

Iversen M., Finstad B., McKinley R.S., Eliassen R.A. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S™ and Benzoak® as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture* 221(1-4), 549-566.

Javahery S., Nekoubin H., Moradlu A.H. 2012. Effect of anaesthesia with clove oil in fish. *Fish physiology and Biochemistry* 38, 1545-1552.

Kenari A.A., Mahmoudi N., Soltani M., Abediankenari S.J.A.N. 2013. Dietary nucleotide supplements influence the growth, haemato-immunological parameters and stress responses in endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). *Aquaculture Nutrition* 19(1), 54-63.

Kristan J., Stara A., Turek J., Policar T., Velisek J. 2012. Comparison of the effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Neuroendocrinol Letter* 33(3), 66-71.

Mazandarani M., Hoseini S.M., 2017. Anesthesia of juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus*; Borodin 1897, by peppermint, Mentha piperita, extract–Anesthetic efficacy, stress response and behavior. *International Journal of Aquatic Biology* 5(6), 393-400.

Mohammadzadeh S., Yeganeh S., Moradian F., Milla S., Falahatkar B. 2021. Spawning induction in Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) with recombinant GnRH: Analysis of hormone profiles and spawning indices. *Aquaculture* 533, p.736108.

Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9, 211-268.

Mylonas C.C., Cardinaletti G., Sigelaki I., Polzonetti-Magni A. 2005. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. *Aquaculture* 246(1-4), 467-481.

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

Řehulka J., Minařík B., Řehulková E. 2004. Red blood cell indices of rainbow trout Oncorhynchus mykiss (Walbaum) in aquaculture. *Aquaculture Research* 35(6), 529-546.

Roohi Z., Imanpoor M.R. 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*) juveniles. *Aquaculture* 437, 327-332.

Soltani S., Ghaffari M., Khazraeinia P., Bokaei S. 2004. Effects of clove oil (*Eugenia caryophyllata*) anesthesia on haematological parameters, certain serum enzymes and some tissues in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Veterinary Research* 59(3): 295-299.

Sudagara M., Mohammadizarejabada A., Mazandarania R., Pooralimotlagha S. 2009. The efficacy of clove powder as an anesthetic and its effects on hematological parameters on roach (*Rutilus rutilus*). *Journal of aquaculture feed science and nutrition*, *1*(1), pp.1-5.

Teixeira, W., Oliveira, E.P. and Marques, L.S., 2017. Nature and evolution of the Archean crust of the São Francisco Craton. *São Francisco Craton, Eastern Brazil: tectonic genealogy of a miniature continent*, pp.29-56.

Velíšek J., Svobodova Z., Piačková V. 2005. Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Veterinaria Brno* 74(1), 139-146.

Velisek J., Wlasow T., Gomulka P., Svobodova Z., Novotny L. 2007. Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis L.*). *Veterinarni Medicina* 52, 103-110

Wagner E., Arndt R., Hilton B. 2002. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. *Aquaculture* 211, 353-366.

Yigit N.O., Kocaayan H. 2023. Efficiency of thyme (*Origanum onites*) and coriander (*Coriandrum sativum*) essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout (*Oncorhynchus* mykiss). *Aquaculture* 562, p.738813.

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

Journal of Aquaculture Sciences Vol. 12, No 22, 151-162
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

Comparing the effect of anesthesia with clove (*Eugenia caryophyllata*), coriander (*Coriandrum sativum*), and myrtus (*Myrtus communis*) oils on blood and stress indices in Ship sturgeon (*Acipenser nudiventris*)

Alireza Siahi[1], Masoumeh Bahrekazemi[1]*, Mahboubeh Eslami[2]

[1]Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.
[2]Research and Development Unit, Gharahboroun Cooperative Co., Sari, Mazandaran, Iran.

*Corresponding author: ma.bahrekazemi@gmail.com

Received: 26.July.2024 **Accepted: 18.Sep.2024**

Abstract

This study aimed to assess the impact of three different anesthetic agents, viz. clove (*Eugenia caryophyllata*), coriander (*Coriandrum* sativum*),* and myrtus (*Myrtus communis*) oils - on hematology indices and stress factors in Ship sturgeon, *Acipenser nudiventris* with an average weight of 90.62±10.13 g. Through a preliminary test, optimal concentrations of each oil were determined to be 75 mg/L for clove, 200 mg/L for coriander, and 800 mg/L for myrtus. The subsequent experiment compared the effects of these oils on hematological indicators and stress factors in Ship sturgeon after anesthesia at their respective optimal concentrations. Blood samples were collected at 10 minutes and 24 hours post-anesthesia. The results showed no mortalities during the study period. Anesthesia with different oils did not significantly affect red blood cell count, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular volume (MCV) or mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) (P>0.05). However, sampling time significantly influenced red blood cell count and hematocrit levels (P<0.05). Furthermore, cortisol hormone and blood glucose levels were significantly impacted by the type of anesthetic agent used and the sampling timing; notably, their highest levels were observed following anesthesia with clove oil.

Keywords: Ship sturgeon, Anesthesia, Herbal oil, Hematological factors