University of Tehran

Journal of Fisheries

Home Page: https://jfisheries.ut.ac.ir

Online ISSN: 2423-7809

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

Alireza Siahi[1] | Masoumeh Bahrekazemi[1*] | Roholla Javadian[3]

1. Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. Email: siahai1223@yahoo.com
2. Corresponding author, Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. Email: ma.bahrekazemi@gmail.com
3. Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. Email: ro.javadian@gmail.com

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article History:
Received: 24 June 2024
Revised: 16 August 2024
Accepted: 17 October 2024
Published online: 20 December 2024

Keywords:
Anesthesia,
Hematology indices,
Plant olis,
Stress factors,
Stellate sturgeon.

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of three anesthetic agents including clove (Eugenia caryophyllata), coriander (*Coriandrum sativum*), and myrtus (*Myrtus communis*) oils on hematology indices and stress factors in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) with mean weight 62.90±8.21 g. Based on the preliminary test conducted to determine the optimal concentration of each oil, the optimal concentrations were determined to be 75, 200, and 800 mg/liter for clove, coriander, and myrtus, respectively. The second experiment was conducted to compare the effects of clove, coriander, and myrtus oils on hematological indicators and stress factors in stellate sturgeon. The fish were anesthetized with optimal concentrations of oils, and blood samples were taken 10 minutes and 24 hours after anesthesia. Based on the results, no mortalities were observed in the present study. The effect of anesthesia with different oils on red blood cell count, hemoglobin, hematocrit, MCH, and MCHC was insignificant, but the effects on white blood cell count and MCV were significant (P<0.05). The timing of sampling significantly affected all the above indices except for MCH and MCHC (P<0.05). Cortisol hormone and blood glucose levels were also significantly influenced by anesthetic agents and sampling time, and their highest levels were observed in the myrtle oil treatment. In general, the performance of coriander and clove oils in the anesthetizing stellate sturgeon was quite similar and significantly different from that of myrtle oil (P<0.05). Therefore, compared to myrtle oil, clove and coriander oils are more suitable for stellate sturgeon anesthesia.

Cite this article: Siahi, A., Bahrekazemi, M., Javadian, S.R. (2024). Comparing the effect of anesthesia with clove (*Eugenia caryophyllata*), coriander (*Coriandrum sativum*) and myrtus (*Myrtus communis*) oils on blood and stress indices in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*). *Journal of Fisheries*, 77 (4), 337-346. DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376736.1426

© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.
DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376736.1426

دانشگاه تهران

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

سایت نشریه: https://jfisheries.ut.ac.ir

شاپا الکترونیکی: ۷۸۰۹-۲۴۲۳

مقایسهٔ تأثیر بیهوشی با اسانس‌های گل‌میخک (*Eugenia caryophyllata*)، گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) و گیاه مورد (*Myrtus communis*) برشاخص‌های خونی و استرس در ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*)

علیرضا سیاهی[۱] | معصومه بحرکاظمی[۲*] | سید روح اله جوادیان[۳]

۱. گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران. رایانامه:siahai1223@yahoo.com

۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران. رایانامه: ma.bahrekazemi@gmail.com

۳. گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران. رایانامه: ro.javadian@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۵/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۶
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۹/۳۰

کلیدواژه:
ازون‌برون،
اسانس گیاه،
بیهوشی،
شاخص‌های خونی،
فاکتورهای استرس.

چکیده

مطالعهٔ حاضر به‌منظور مقایسهٔ کارایی سه مادهٔ بیهوشی شامل اسانس‌های گل میخک (*Eugenia caryophyllata*)، گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) و گیاه مورد (*Myrtus communis*) بر شاخص‌های خونی و میزان استرس‌زایی در ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) (میانگین وزنی ۸/۲۱±۹۰/۶۲ گرم) انجام شد. براساس پیش آزمایش انجام شده به‌منظور تعیین غلظت بهینهٔ هر یک از اسانس‌های فوق، غلظت بهینهٔ اسانس گل میخک ۷۵، اسانس گشنیز ۲۰۰ و اسانس مورد ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تعیین گردید. سپس آزمایش دوم به‌منظور مقایسهٔ اثرات اسانس‌های میخک، گشنیز و مورد بر شاخص‌های خون‌شناسی و استرس در ماهی ازون‌برون انجام شد. ماهیان با غلظت‌های بهینهٔ اسانس‌ها بیهوش شدند و از آنها ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی خون‌گیری انجام شد. براساس نتایج حاصل، هیچ گونه تلفاتی در مطالعه حاضر مشاهده نشد. تأثیر بیهوشی با اسانس‌های مختلف بر تعداد گلبول‌های قرمز خون، میزان هموگلوبین، هماتوکریت، MCH و MCHC معنی‌دار نبود، اما تأثیر آنها بر تعداد گلبول‌های سفید خون و میزان MCV معنی‌دار بود ($P<0/05$). تأثیر زمان نمونه‌برداری بر تمام پارامترهای فوق به‌جز MCH و MCHC معنی‌دار بود. میزان هورمون کورتیزول و گلوکز خون نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اسانس‌های بیهوشی و زمان قرار گرفت و بیشترین میزان آنها در تیمار مورد مشاهده شد. در مجموع عملکرد اسانس گشنیز و میخک در بیهوشی ماهی ازون‌برون تا حد زیادی شبیه یکدیگر بود و با عملکرد اسانس مورد تفاوت معنی‌دار داشت ($P<0/05$). بنابراین در مقایسه با اسانس مورد، اسانس‌های میخک و گشنیز مواد مناسب‌تری برای بیهوشی گونهٔ ازون‌برون هستند.

استناد: سیاهی، علیرضا؛ بحرکاظمی، معصومه؛ جوادیان، سیدروح‌اله، (۱۴۰۳). مقایسهٔ تأثیر بیهوشی با اسانس‌های گل‌میخک (*Eugenia caryophyllata*)، گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) و گیاه مورد (*Myrtus communis*) برشاخص‌های خونی و استرس در ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*). *نشریهٔ شیلات، مجله منابع طبیعی ایران*، ۷۷ (۴)، ۳۴۶-۳۳۷. DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376736.1426

© نویسندگان.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.
DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2024.376736.1426

۱. مقدمه

ماهیان در شرایط پرورشی اغلب در معرض عوامل استرس‌زا مانند دستکاری، وزن‌کشی، خون‌گیری، تکثیر مصنوعی، حمل و نقل و جراحی قرار می‌گیرند. استرس موجب مجموعه‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیک در ماهیان می‌شود، که می‌تواند رشد، تولیدمثل، عملکردهای ایمنی و میزان بازماندگی را تحت تأثیر قرار دهد. بیهوشی یکی از راهکارهای مؤثر جهت کاهش استرس در ماهیان می‌باشد. بیهوشی یک وضعیت زیستی با از دست دادن جزئی یا کامل حس پاسخگویی و از دست دادن کنترل ارادی، عصبی و حرکتی ناشی از آن در ماهیان است (Summerfelt *et al*., 1990). بنابراین، بیهوشی برای جابجایی، حمل و نقل و جراحی ماهیان می‌تواند مفید باشد (Summerfelt *et al*., 1990; Keene *et al*., 1998; Hoseini *et al*., 2015; Mazandarani *et al*., 2017). مواد بیهوش کننده به‌طور کلی به دو دسته ترکیبات شیمیایی و گیاهی تقسیم می‌شوند. تریکائین متان سولفونات، ۲-فنوکسی اتانول، کینالدین و بنزوکائین از عوامل شیمیایی هستند (Stoskopf and Posner, 2008). اگرچه این مواد در بیهوشی ماهی مؤثر هستند، اما به‌دلیل دسترسی کم، هزینهٔ زیاد واثرات منفی (گاهی بدون بازگشت) که بر سلامت ماهی می‌گذارند (Velisek *et al*., 2011)، امروزه توجه روزافزونی به استفاده از مواد گیاهی برای بیهوشی ماهی معطوف شده است (Zahl *et al*., 2010; Hoseini *et al*., 2011; Salbego *et al*., 2015).

برای انتخاب ماده‌ای به‌عنوان بیهوش‌کننده، باید به برخی از ملاحظات از جمله هزینهٔ کلی تهیهٔ آن، کارایی آن، سهولت استفاده در بیهوشی ماهی و اثرات آن بر سلامتی ماهی و انسان توجه کرد (Summerfelt *et al*., 1990). براساس تحقیقات انجام شده، اسانس‌های گیاهی برای القای بیهوشی در ماهی گزینه‌های مناسبی هستند (Hoseini *et al*., 2019). امروزه در کارگاه‌های تکثیر و پرورش در ایران از گل میخک به اشکال پودر، اسانس و عصاره به‌دلیل در دسترس بودن و ایمنی برای ماهی و انسان، به فراوانی برای بیهوشی استفاده می‌شود و تأثیرات فیزیولوژیک بیهوشی با آن به‌خوبی مطالعه شده است (Bahrekazemi and Yousefi, 2017; Effati and Bahrekazemi, 2017; Babaiinezhad and Bahrekazemi, 2019). در مورد ماهیان خاویاری نیز، مطالعات بسیاری استفاده از پودر گل میخک را برای بیهوشی مناسب گزارش کرده‌اند (Avazeh et al., 2023; Ba Abero et al., 2016) همین امر محققین را بر آن داشت تا با توجه به غنای گیاهان دارویی در کشور، به‌منظور معرفی بیهوش‌کننده‌های بیشتر و شاید مناسب‌تر، اثرات بیهوشی با سایر گیاهان مانند اسطوخدوس (*Lavandula angustifolia*) (Beheshti et al., 2018) و مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) (Yeganeh et al., 2013) را در بیهوشی گونه‌های مختلف مورد مطالعه قرار دادند. گزارش‌ها در استفاده از گیاه گشنیز و گیاه مورد به‌عنوان بیهوش کننده بسیار اندک است. اسانس گشنیز تنها توسط Yigit و Kocaayan (۲۰۲۳) برای بیهوشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، و اسانس مورد توسط Al-Niaeem و همکاران (۲۰۱۹) برای بیهوشی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد استفاده قرار گرفته است.

گونهٔ ازون‌برون یکی از گونه‌های مهم و در معرض خطر انقراض ماهیان خاویاری است که در برخی از مراکز تکثیر و پرورش شمال کشور به‌عنوان گونه پرورشی مطرح است. از مزیت‌های این گونه می‌توان به کیفیت بالای گوشت، بازارپسندی فوق‌العاده آن و مدت زمان کمتر برای رسیدن به مرحلهٔ بلوغ و تولید خاویار اشاره کرد. بنابراین در این مطالعه به مقایسهٔ اثرات بیهوشی با اسانس‌های گل میخک، گیاه گشنیز و گیاه مورد بر پارامترهای خونی و میزان استرس‌زایی در ماهی ازون‌برون به‌منظور امکان معرفی بیهوش‌کنندهٔ بهتر پرداخته شد.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. ماهی و شرایط نگهدای

تعداد ۱۰۰ قطعه ماهی ازون برون با میانگین وزنی ۸/۲۱±۹۰/۶۲ گرم و طول کل ۱/۴۹±۳۶/۴۵ سانتی‌متر در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری قره‌برون واقع در چپکرود (ساری) مورد استفاده قرار گرفتند. ماهیان به‌مدت دو هفته قبل از شروع آزمایش به‌منظور سازگاری با محیط جدید نگهداری شدند. برای نگهداری ماهی‌ها قبل و بعد از انجام آزمایش‌های بیهوشی، از

سه مخزن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری (آب‌گیری ۱۰۵۰ لیتر) که به‌خوبی هوادهی شدند، استفاده شد. میانگین دمای آب مخازن در طول دورهٔ سازگاری و انجام آزمایش ۱۸/۶±۰/۱ درجهٔ سانتی‌گراد بود. غذادهی به‌صورت روزانه به اندازهٔ ۲–۱ درصد وزن بدن با استفاده از جیرهٔ تجاری (کارخانه خوراک آبزیان، مازندران) انجام شد. بیست و چهار ساعت پیش از انجام آزمایش‌ها و نیز در مدت انجام آزمایش‌ها برای مشخص شدن بهتر اثرات مادهٔ بیهوشی بر روند بیهوشی و بازگشت آن، تغذیهٔ ماهی‌ها متوقف گردید (Sharifpour *et al*., 2003).

۲–۲. آزمایش اول: تعیین غلظت بهینهٔ بیهوش‌کننده‌ها

برای تعیین غلظت بهینه، تعداد ۵۴ قطعه ماهی مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش با استفاده از سه مادهٔ بیهوشی اسانس گل میخک با غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (Abtahi *et al*., 2003)، 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 دارای سه عدد ماهی بود. اسانس‌های مورد استفاده از شرکت سبحان دارو شهر رشت تهیه شدند.

کلیهٔ آزمایش‌ها با روش غوطه‌ورسازی ماهی در محلول بیهوشی انجام شد. ماهی‌ها به‌طور تصادفی از مخازن فایبرگلاس به‌وسیلهٔ تور دستی کوچکی صید و 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. سپس ماهی‌ها از مخازن بازگشت به مخازن فایبرگلاس منتقل شدند و به‌مدت یک هفته برای مشاهده تلفات احتمالی تحت نظر قرار گرفتند. مدت زمان القا بیهوشی و به‌هوش آمدن با یک کورنومتر ثبت شد و غلظت بهینه براساس مشاهدات رفتار ماهی و زمان رفت و برگشت از بیهوشی تعیین گردید.

۲–۳. آزمایش دوم: اندازه‌گیری شاخص‌های خونی و استرسی

جهت تعیین اثر بیهوشی اسانس‌های گل میخک، گیاه گشنیز و گیاه مورد بر شاخص های خونی و استرس، تعداد ۴۵ قطعه ماهی ازون‌برون از مخازن فایبرگلاس صید و به‌صورت تصادفی به سه گروه هر یک با سه تکرار تقسیم شدند. این آزمایش شامل سه گروه بیهوش شده با غلظت بهینه از اسانس‌های گل میخک، (۷۵ میلی‌گرم بر لیتر)، گشنیز (۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و مورد (۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود و ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی، خونگیری از هر سه گروه صورت گرفت (Velisek *et al*., 2011, Babaiinezhad and Bahrekazemi, 2019). برای جلوگیری از ورود آب و موکوس به نمونهٔ خون، ماهی‌ها با حوله خشک شدند. خون‌گیری با استفاده از سرنگ پلاستیکی پنج میلی‌لیتری از سیاهرگ دمی ماهیان انجام شد. ۲ میلی‌لیتر از خون به لولهٔ حاوی مادهٔ ضد انعقاد هپارین برای سنجش شاخص‌های خونی و ۲ میلی‌لیتر نیز به لولهٔ بدون مادهٔ ضد انعقاد برای سنجش شاخص‌های استرس انتقال داده شد.

۲–۴. سنجش شاخص های خونی

شاخص های خونی مورد بررسی شامل تعداد گلبول‌های قرمز خون (Red blood cell, RBC) و گلبول‌های سفید خون (Whiet blood cell, WBC) بود که به روش دستی با لام نئوبار شمارش شدند (Kenari *et al*., 2013). اندازه‌گیری مقدار هموگلوبین (Hemaglubin, Hb) به روش سیانومت هموگلوبین (Drabkin, 1945) و مقدارهماتوکریت (Hematocerit, Hct) نیز به روش میکرو هماتوکریت (Řehulka *et al*., 2004)، انجام شد. به‌منظور محاسبهٔ میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین میزان هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCH) و میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC) نیز از روابط زیر استفاده شد (Hoffman *et al*., 2018).

$$MCV\ (fl) = (Hct/RBC) \times 10$$
$$MCH\ (pg) = (Hb/RBC) \times 10$$
$$MCHC\ (\%) = (Hb/Hct) \times 100$$

به‌منظور تعیین میزان هورمون کورتیزول و گلوکز در سرم خون در پاسخ به بیهوشی نیز پس از خونگیری از ماهیان، نمونه‌های خون به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و سرم به‌دست آمده جهت سنجش میزان 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 (Mareseille, France) سنجیده شد. مقدار گلوکز نیز با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون، تهران، ایران) با روش آنزیمی گلوکزاکسیداز با دستگاه اتوآنالایزر با طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

۲-۵. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این تحقیق در قالب طرح فاکتوریل (شامل سه مادهٔ بیهوش‌کننده 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 مقایسهٔ معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌ها از تجزیه واریانس دو طرفه (Two-Way ANOVA) استفاده شد. تفاوت بین تیمارها نیز با آزمون دانکن بررسی گردید. اختلاف معنی‌داری در هر متغییر در بین تیمارها در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری با استفاده از آزمون T-test student بررسی شد. کلیهٔ آزمون‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱۶ در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت. داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شدند.

۳. یافته‌های پژوهش

۳-۱. نتایج آزمایش اول

نتایج نشان داد که هیچ تلفاتی در ماهیان مشاهده نشد و تمام غلظت‌های مورد استفاده در این آزمایش برای القاء بیهوشی در ماهی ازون‌برون مؤثر و بی خطر بودند. اما با توجه به زمان لازم برای القاء بیهوشی، غلظت بهینه برای اسانس میخک، گشنیز و مورد به‌ترتیب: ۷۵، ۲۰۰، و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر به‌دست آمد (جدول ۱).

جدول ۱- زمان‌های القای بیهوشی و بازگشت از آن در ماهی ازون‌برون تحت تأثیر غلظت بهینهٔ اسانس‌های گل میخک، گیاه گشنیز و گیاه مورد

نوع مادهٔ بیهوشی	غلظت بهینه (میلی‌گرم بر لیتر)	زمان بروز بیهوشی (ثانیه)	زمان بازگشت از بیهوشی (ثانیه)
اسانس گل میخک	۷۵	۹۰/۷±۶/۹	۱۲۰/۲±۸/۹
اسانس گشنیز	۲۰۰	۱۳۰/۲±۲/۵	۲۴۰±۴
اسانس مورد	۸۰۰	۱۴۱/۲±۱	۴۰۰/۲±۱۵/۵

۳-۲. نتایج آزمایش دوم

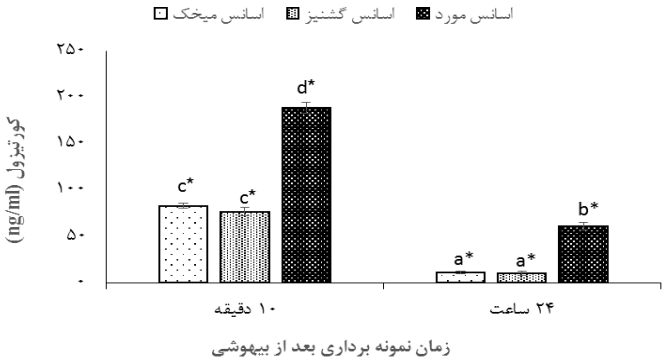
نتایج مربوط به شاخص‌های خونی براساس نتایج آزمایش دوم، تأثیر بیهوشی با اسانس‌های مختلف بر تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، هماتوکریت، MCH و MCHC معنی‌دار نبود، اما تأثیر آنها بر میزان MCV معنی‌دار بود (جدول ۲، $P<۰/۰۵$). این در حالی‌است که تأثیر زمان نمونه‌برداری بر شاخص تعداد گلبول قرمز در تیمارهای مختلف معنی‌دار نبود (جدول ۲، $P>۰/۰۵$). میزان هموگلوبین و MCV در تیمار بیهوش شده با اسانس گل میخک در زمان ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی به‌طور معنی‌داری کمتر از زمان ۱۰ دقیقه بود (جدول ۲، $P<۰/۰۵$) اما، اختلاف معنی‌داری در زمان‌های نمونه‌برداری در تیمارهای بیهوش شده با اسانس گیاه مورد و گیاه گشنیز مشاهده نشد. میزان هماتوکریت در تیمارهای بیهوش شده با اسانس گل میخک و گیاه گشنیز به‌طور معنی‌داری ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی کمتر از ۱۰ دقیقه بعد از بیهوشی بود (جدول ۲، $P<۰/۰۵$) اما، اختلاف معنی‌داری در تیمار بیهوش شده با اسانس گیاه مورد مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری در زمان نمونه‌برداری در MCH و MCHC در تیمارهای مختلف مشاهده نشد (جدول ۲، $P>۰/۰۵$). در ارتباط با تأثیر بیهوش‌کننده‌ها بر تعداد گلبول‌های سفید خون نتایج بیان‌کنندهٔ اثر معنی‌دار هر دو متغیر یعنی اسانس‌ها و زمان بود. بدین‌معنی که تعداد گلبول‌های سفید پس از ۲۴ ساعت تحت تأثیر هر سه اسانس بیهوش‌کننده کاهش معنی‌دار یافت (جدول ۲، $P<۰/۰۵$) در هر دو زمان خونگیری نیز بیشترین تعداد WBC در تیمار مورد 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 ($P<۰/۰۵$). بیشترین میزان هورمون کورتیزول در تیمار مورد در هر دو زمان نمونه‌برداری اندازه‌گیری شد

و تفاوت بین تیمار میخک و گشنیز معنی‌دار نبود ($P<۰/۰۵$). در هر سه تیمار، میزان هورمون کورتیزول در زمان ۲۴ ساعت نسبت به زمان ۱۰ دقیقه کاهش معنی‌دار یافت ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲- شاخص های خون‌شناسی ماهی ازون‌برون، ۱۰ دقیقه و ۲۴ ساعت بعد از قرار گرفتن در معرض مادهٔ بیهوشی (میانگین±انحراف معیار)

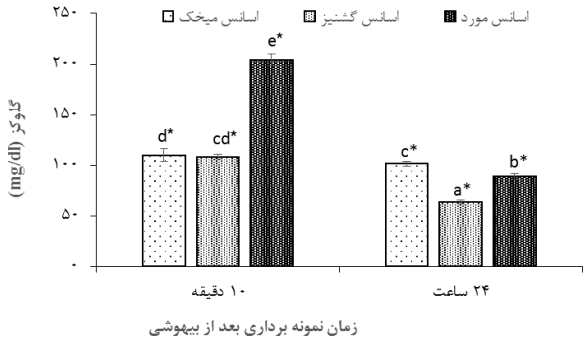
اسانس /شاخص	RBC (10^3/ml)	WBC (10^4/ml)	Hb (g/dl)	Hct (%)	MCV (Fl)	MCH (pg)	MCHC (%)
۱۰ دقیقه							
میخک	۸۱۳/۶±۶۷/۱	۱/۰±۷۲/۰۸^{a}	۶/۰±۴۲/۰۴	۳۱/۰±۶/۵۷	۳۸۶/۴±۶/۱^{b}	۷۹/۰±۰/۷	۲۰/۰±۷/۲
گشنیز	۷۹۷/۱۹±۰/۰۷	۲/۰±۰۲/۰۶^{b}	۶/۰±۳۰/۱۵	۳۰/۰±۳/۵۷	۳۸۰/۴±۳/۱^{ab}	۷۹/۰±۰/۳	۲۰/۰±۱/۱
مورد	۸۱۴/۶±۳/۵	۲/۰±۳۵/۲۲^{b}	۶/۰±۴۵/۰۶	۳۱/۱±۳/۰۹	۳۸۸/۵±۰/۰^{b}	۷۹/۰±۱/۸	۲۱/۰±۲/۱
۲۴ ساعت							
میخک	۷۷۰/۲۸±۶۷/۹۸	۱/۰±۴۷/۰۶^{a*}	۶/۰±۰۲/۱۶*	۲۹/۱±۰/۰*	۳۷۴/۳±۰/۶^{a*}	۷۸/۰±۸/۰	۲۰/۰±۲/۲
گشنیز	۷۵۰/۱۷±۰/۳۴	۱/۰±۵۴/۰۶^{ab*}	۵/۰±۹۸/۱۱	۲۸/۰±۳/۵۷*	۲۸۰/۳±۰/۰^{a}	۷۹/۰±۰/۲	۲۰/۰±۶/۲
مورد	۷۹۰/۲۶±۶۷/۷۶	۱/۰±۸۷/۱۱^{b*}	۶/۰±۲۵/۲۶	۳۰/۱±۶/۵	۲۸۰/۵±۰/۶^{ab}	۷۹/۰±۱/۵	۲۰/۰±۶/۱
اسانس	ns	❋	ns	ns	*	ns	ns
زمان	ns	❋	❋	❋	❋	ns	ns
اثر متقابل	ns	*	ns	ns	❋	ns	ns

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



شکل ۱- نمودار سطح کورتیزول در ماهی ازون‌برون بیهوش شده با اسانس‌های میخک، گشنیز و مورد در زمان ده دقیقه و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی. اعداد در هر ستون با حروف بالانویس متفاوت نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین اسانس‌های مختلف با استفاده از آزمون دانکن و علامت ستاره (❋) نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در دو زمان خونگیری در هر اسانس با استفاده از آزمون T-test student است ($P<۰/۰۵$).

در ارتباط با تأثیر بیهوش‌کننده‌ها بر میزان گلوکز خون، نتایج بیان‌کنندهٔ تأثیر معنی‌دار اسانس و زمان نمونه‌برداری بود ($P<۰/۰۵$). بدین‌معنی که در هر سه تیمار آزمایشی میزان گلوکز پس از ۲۴ ساعت بیهوشی کاهش معنی‌دار یافت و در هر دو زمان نمونه‌برداری نیز کمترین میزان گلوکز در تیمار گشنیز مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲. نمودار میزان گلوکز در ماهی ازون‌برون بیهوش‌شده با اسانس‌های میخک، گشنیز و مورد در زمان ده دقیقه و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی. اعداد در هر ستون با حروف بالانویس متفاوت نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین اسانس‌های مختلف با استفاده از آزمون دانکن و علامت ستاره (❋) نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در دو زمان خونگیری در هر اسانس با استفاده از آزمون T-test student است ($P<۰/۰۵$).

۴. بحث

با توجه به اینکه استفاده از داروهای بیهوش‌کننده در آبزیان اجتناب‌ناپذیر است، بنابراین انتخاب یک داروی بیهوشی مناسب از اهمیت بالایی برخوردار است (Padiyoor *et al*., 2017). از آنجا که گونه‌های مختلف ماهی واکنش‌های متفاوتی به مواد بیهوش‌کننده نشان می‌دهند، تعیین نوع و غلظت بهینه برای هر گونه ضروری است (Lepic *et al*., 2014). نتایج مربوط به زمان بیهوشی و زمان بازگشت از بیهوشی در مطالعهٔ حاضر نشان داد که در اسانس میخک زمان شروع بیهوشی و بازگشت از آن، کمتر از اسانس‌های گشنیز و مورد بود (جدول ۱). این امر با وجود یکسان بودن شرایط آزمایش و وزن ماهی مورد مطالعه می‌تواند به‌دلیل ویژگی‌های هر مادهٔ بیهوشی و یا مکانیسم عملکرد آنها باشد. اسانس‌ها از نظر شیمیایی ترکیبات روغنی هستند که دارای خاصیت بی‌حس‌کنندگی هستند. این خاصیت به‌دلیل جذب سریع از طریق اپیتلیوم آبشش و به‌دنبال آن جذب توسط سایر بافت‌ها است (Summerfelt and Smith, 1990). اسانس‌ها از طرق متفاوتی انتقال عصبی را مسدود و موجب آرام بخشی می شوند که شامل واکنش با غشاء پلاسمایی سلول، جلوگیری از موج یون کلسیم و جلوگیری از افزایش نفوذ یون سدیم می‌باشد. در آبزی‌پروری ماده‌ای از نظر بیهوشی دارای کارایی بالا محسوب می‌شود که قادر باشد طی سه دقیقه یا کمتر در ماهی بیهوشی ایجاد کند و ماهی‌ها طی ۱۰ دقیقه یا کمتر احیا شوند و در صورتی که ماهی ۱۵ دقیقه در معرض آن قرار گیرد مرگ و میر رخ ندهد (Marking and Meyer, 1985). براساس گزارشات موجود غلظت مناسب اسانس میخک در بیهوشی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) ۵۰ تا ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر است و تا غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر هم قابل قبول است (Abtahi *et al*., 2003). بهترین غلظت اسانس مورد برای بیهوشی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)۷۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (Al-Niaeem *et al*., 2020)، و غلظت بهینه اسانس گشنیز برای بیهوشی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شده است (Yigit and Kocaayan, 2023).

تجزیه و تحلیل پارامترهای خون یکی از مهم‌ترین و قابل اعتمادترین روش‌هایی است که می‌تواند اطلاعات مهمی در مورد شرایط سلامتی ماهی‌ها ارائه دهد (Kristan *et al*., 2012). بروز استرس در ماهیان به‌دلیل نیاز به اکسیژن‌رسانی بیشتر موجب آزاد شدن گلبول‌های قرمز از طحال شده و به‌دنبال آن میزان هموگلوبین و هماتوکریت نیز افزایش می‌یابد (Babaiinezhad and Bahrekazemi, 2019). در مطالعهٔ حاضر، اسانس‌هاس بیهوشی تأثیر معنی‌داری بر تعداد RBC، میزان Hb، Hct، 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 دریافت‌کنندهٔ اسانس بود. در واقع القاء بیهوشی با هر سه اسانس موجب افزایش گلبول‌های 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 کلمه (*Rutilus rutilus*) توسط Sudagar و همکاران (۲۰۰۹) و در ماهی سفید (*Rutilus frissi kutum*) توسط Babaiinezhad و Bahrekazemi (۲۰۱۹) گزارش شده است. در مطالعهٔ Delafkar و همکاران (۲۰۱۹) نیز تفاوت معنی‌داری در پارامترهای خون‌شناسی در گونهٔ استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) مشاهده شد.. اگرچه در مطالعهٔ حاضر تعداد گلبول قرمز در تیمار بیهوش شده با اسانس مورد در هر دو زمان خونگیری، بیشتر از تیمار بیهوش شده با اسانس‌های گشنیز و میخک بود اما این افزایش معنی‌دار نبود که نشان می‌دهد هر سه اسانس تأثیرات مشابهی از نظر نیاز به اکسیژن‌رسانی بیشتر به بافت‌ها در ماهی داشتند.

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 می کند و به گلبول‌های سفید اجازه می‌دهد به وضعیت عادی بازگردند. البته استرس مزمن و طولانی‌مدت اغلب موجب تضعیف ایمنی ماهی می‌شود، زیرا افزایش طولانی‌مدت کورتیزول موجب کاهش لنفوسیت و گلبول‌های سفید و تخریب اندام‌های مسئول ایمنی مانند تیموس می‌شود (Demers and Bayne, 1997). در مطالعهٔ حاضر، اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید بین تیمارهای بیهوش‌شده با اسانس‌های مختلف مشاهده شد و هر سه تیمار

بیهوشی در زمان ۱۰ دقیقه بیشتر از ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی بود. در مطالعهٔ Babaiinezhad و Bahrekazemi (۲۰۱۹) نیز نتایج مشابهی در مولدین ماهی سفید دریای خزر گزارش شد. همچنین در مطالعهٔ Sudagar و همکاران (۲۰۰۹) در ماهی کلمه (*Rutilus kutum*) 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.

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 پلاسما ارزیابی می‌شود (Zahl *et al.*, 2012). در بررسی حاضر، افزایش معنی‌داری در سطح کورتیزول پلاسما بلافاصله پس از القاء بیهوشی در ماهیان مشاهده شد، اما سطح آن در ماهیان بیهوش‌شده با اسانس مورد بیشتر از تیمارهای میخک و گشنیز بود. این امر نشان داد که گیاه میخک و گشنیز در مهار محور هیپوتالاموس–هیپوفیز– اینترنال و رها شدن کورتیزول در پاسخ به استرس بیهوشی در مقایسه با اسانس مورد به‌صورت مؤثرتری عمل کردند. لازم به ذکر است که با گذشت ۲۴ ساعت از بیهوشی میزان کورتیزول در هر سه تیمار کاهش معنی‌دار یافت. کاهش میزان کورتیزول با گذشت زمان در بیهوشی با اسانس و عصارهٔ میخک در گونه‌های دیگر نیز گزارش شده است (Bahrekazemi and Yousefi, 2017; Beheshti et al., 2018; Babaiinezhad and Bahrekazemi, 2019). برخلاف این تحقیق، در مطالعهٔ Delafkar و همکاران (۲۰۱۹) اثر معنی‌داری در سطح کورتیزول در بچه‌ماهی استرلیاد بیهوش‌شده با روغن میخک مشاهده نشد.در مطالعهٔ فوق اثر روغن گل میخک با کتامین در بیهوشی بچه ماهی استرلیاد مقایسه شد و روغن گل میخک کارایی بهتری در بیهوشی کامل و برگشت از آن نسبت به کتامین داشت.

افزایش سریع گلوکز خون که توسط آزادسازی کاتیکول‌آمین‌ها بر اثر بیهوشی اتفاق می‌افتد، پاسخ ثانویه به استرس در ماهیان محسوب شود (Wedemeyer *et al.*, 1990). در مطالعهٔ 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 گشنیز بود. همچنین نتایج مشابهی توسط Rahdari و همکاران (۲۰۱۷) در ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) بیهوش شده با اسانس نعناع گزارش شده است. برخلاف تحقیق حاضر، بیهوش‌کردن ماهی کپور با اسانس مورد تأثیر معنی‌داری بر میزان گلوکز خون نداشت و بر مبنای تجزیه و تحلیل آنزیم‌های خون، اسانس مورد برای بیهوشی ماهی کپور معمولی مناسب گزارش شده است (Al-Niaeem *et al.*, 2020). در ارتباط با تأثیر بیهوشی با اسانس گشنیز بر ماهیان به‌دلیل فقدان اطلاعات امکان مقایسه وجود ندارد. تنها تحقیق انجام شده بیان کرده است که هیچ گونه عوارض بافت‌شناسی در کلیه، کبد و آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده نشد (Yigit and Kocaayan, 2023).

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 شد که به‌عنوان ترکیب اصلی دارای خواص ضد عفونی‌کننده و ضد درد است و می‌تواند به‌عنوان یک مادهٔ بیهوشی عمل کند (Farhani *et al.*, 2017). 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 آرام‌بخش است و می‌توانند در بیهوشی مؤثر باشد (Mirzaei *et al.*, 2020)، اسانس گیاه مورد از میرتول (۳۰–۲۰ درصد)، لینالول (۳۰–۲۰ درصد)، آلفا–پیلن (۲۰–۱۰ درصد) و سینئول (۲۰–۱۰ درصد) تشکیل شده است (Akhbari *et al.*,) ترکیبات متنوعی مانند میرتول و سینئول دارای خاصیت آرام‌بخش هستند.

۵. نتیجه‌گیری نهایی

به‌طور کلی، از نظر القای بیهوشی و زمان احیاء، هر سه مادهٔ مورد آزمایش کارایی مناسبی داشتند و سبب القای بیهوشی در زمان کمتر از سه دقیقه و احیاء در زمان کمتر از ۱۰ دقیقه شدند، اما با توجه به میزان هورمون کورتیزول و گلوکز در تیمار بیهوش‌شده با اسانس‌های میخک و گشنیز، این دو اسانس گزینه‌های بهتری برای بیهوشی ماهی ازون‌برون هستند. با این وجود، مطالعات تکمیلی بیشتری در خصوص اثر بیهوشی اسانس مورد 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 محبوبه اسلامی و دکتر امینه زارع‌تبار و همچنین تمامی همکارانی که ما را در اجرای این پروژه یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

Abtahi, B., Soltani, M., Mohammadi, M., Amin, G.H., Hoseinali, K., 2003. Anesthetic effects of carnation essential oil (*Eugenia caryophyllata*) on Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Agricultural Sciences and Natural Resources* 10(1), 161.172. (In Persian)

Akhbar M, Aghajani Z, karimi E, Mazoochi A., 2016. Composition analysis of essential oil and biological activity of oily compounds of *Mentha longifolia*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 6(21), 59-66. (In Persian)

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 Environment Research* 3, 111-117. (In Persian)

Avazeh, A., Elmdust, A., Mirvaghefi, A., Soltani, M., 2023. Comparing the efficiency of anesthesia with clove, propofol and electric method on the duration and return from anesthesia and its effect on some immune and physiological responses in the beluga (*Huso huso*). *Journal of Fisheries* 76(2), 209-221. (In Persian)

Ba Abero, J., Khara, H., Jourdehil, A., 2016. Imoact od anesthesiia on som of physiological parameters in *Acipenser nudiventris*. *Journal of Marine Science and Technology* 15(3), 46-53. (In Persian)

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. DOI: 10.22034/ijab.v7i5.319

Bahrekazemi, M., Yousefi, N., 2017. Plasma enzymatic, biochemical and hormonal responses to clove oil, 2-phenoxy ethanol, and MS-222 exposed to Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*, kessleri). *Sustainable Aquaculture and Health Management Journal* 3(1), 47-60.

Beheshti N., Yeganeh S., Adel M., 2018. 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. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 27 (4), 107-121. (In Persian)

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. DOI: 10.1002/naaq.10094

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. DOI: 10.1016/S0145-305X(97)00009-8

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. DOI: 10.1126/science.101.2627.445

Effati, M., Bahrekazemi, M., 2017. Effects of four anesthetics, clove extract, thyme extract, lidocaine, and sodium bicarbonate on the blood parameters and cortisol amount in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of Marine Biology and Aquaculture* 4, 1-4.

Farahani, Z., Farahani, F., 2017. Identification of the compounds in *Syzgiumarmaticum* extract and essential oil. *Scientific-Research Terminology of Applied Biology* 7(27), 1-7. (In Persian)

Hoffmann, G., Bietenbeck, A., Lichtinghagen, R., Klawonn, F., 2018. Using machine learning techniques to generate laboratory diagnostic pathways—a case study. *Journal of Laboratory and Precision Medicine* 3(6).

Hoseini, S.M., 2011. Efficacy of clove powder solution on stress mitigation in juvenile common carps, *Cyprinus carpio* (Linnaeus). *Comparative Clinical Pathology* 20, 359-362. DOI: 10.1007/s00580-010-1002-9

Hoseini, S.M., Rajabiesterabadi, H., Tarkhani, R., 2015. Anaesthetic efficacy of eugenol on iridescent shark, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) in different size classes. *Aquaculture Research* 46(2): 405-412. DOI: 10.1111/are.12188

Hoseini, S.M., Taheri Mirghaed, A., Yousefi, M., 2019. Application of herbal anaesthetics in aquaculture. *Reviews in Aquaculture 11*(3), 550-564. DOI: 10.1111/raq.12245

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.

Keene, J.L., 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(2), 89-101. DOI: 10.1046/j.1365-2109.1998.00927.x

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. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2012.00938.x

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 Lett* 33(3), 66-71.

Lepic, P., Stara, A., Turek, J., Kozak, P., Velisek, J., 2014. The effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in vimba bream, Vimba vimba. *Veterinarni Medicina* 59(2), 81-87.

Marking, L.L., Meyer, F.P., 1985. Are better anesthetics needed in fisheries?. *Fisheries* 10(6), 2-5. DOI: 10.1577/1548-8446(1985)010<0002:ABANIF>2.0.CO;2

Mazandarani, M., Hoseini, S.M., 2017. Menthol and 1, 8-cineole as new anaesthetics in common carp, *Cyprinus carpi*o (Linnaeus, 1758). *Aquaculture Research* 48(6), 3041-3051. DOI: 10.1111/are.13136

Mirzaei, M., Hojjati, M., Behbahani, B., Noshad, M., 2020. Determination of chemical composition, antioxidant properties and antimicrobial activity of coriander seed essential oil on a number of pathogenic microorganisms. *Scientific Journal of food Science and Industry Research* 16(2), 221-233. (In Persian)10.22067/ifstrj.v16i2.82025

Padiyoor, B.A., Benno, F., Pereira Jayaprakas, V., 2017. Assessment of clove oil and Benzocaine Anaesthesia on Haematological and Histopathological profile of *Haludaria fasciata*. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* 10(4), 27-37.

Rahdari, A., Khosravanizadeh, A., Dahmaedeh, H., Gharaei, A., Mirdar J., 2017. Anesthetic effects and biochemical changes of peppermint essence (*Mentha spicata*) in snow trout (*Schizothorax zarudnyi*). *Aquatic Animals Nutrition* 3(2), 35-42. (In Persian)

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. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2004.01035.x

Ron, T.B., Bressler, K., 2004. Effect of anesthetics on stress and the innate immune system of gilthead seabream (*Sparus surata*). *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 56.

Salbego, J., Becker, A.G., Parodi, T.V., Zeppenfeld, C.C., Goncalves, J.F., Loro, V.L., Morsch, V.M., Schetinger, M.R.C., Maldaner, G., Morel, A.F., Baldisserotto, B., 2015. Methanolic extract of *Condalia buxifolia* added to transport water alters biochemical parameters of the silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture* 437, 46-50. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.11.022

Sharifpour, E., Soltani, M., Abdelhy, H., Razieh, G.H., 2003. Anesthetic effect of carnation essential oil (*Eugenia caryophyllata*) in different conditions of pH and temperature in common carp fry (*Cyprinus carpio*). *Iranian Scientific Fisheries Journal* 11(4), 74-79. (In Persian)

Stoskopf, M., 2008. Anesthesia and restraint of laboratory fish. *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals* 2, 519-534.

Sudagar, 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), 1-5.

Summerfelt, R.C., Smith, L., Schreck, C., Moyle, P., 1990. Anesthesia, surgery, and related techniques. Methods for Fish Biology. *American Fisheries Society, Bethesda, Maryland* 8, 2.

Velisek, J., Stara, A., Li, Z.H., Silovska, S., Turek, J., 2011. Comparison of the effects of four anaesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. *Aquaculture* 310(3-4), 369-375. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.11.010

Wedemeyer, G.A., 1990. Stress and acclimation. *Methods for fish biology*, pp.415-488.

Yeganeh S., Maleki, P., 2013. Comparison of anesthetic effects produced by extracts of *Valeriana officinalis*, *Melissa officinalis* and Salvia officinalis on common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics* 2(2), 65-77. (In Persian)

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* 562,738813. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2022.738813

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. DOI: 10.1007/s10695-009-9346-2