

آماده انتشار

معصومه چهاربرجی^۱، محمدرضا ایمانپور^{۲*}، رقیه صفری^۳، علی جافر نوده^۴، الهه روحانی^۵

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، رایانامه: masumehcheharborji@Gmail.com

۲. استاد، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، رایانامه: mrmanpoor53@yahoo.com

۳. دانشیار، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، رایانامه: fisheriessafari@yahoo.com

۴. دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، رایانامه: a.jafar55@gmail.com

۵. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، رایانامه: Elaherohani4@gmail.com

Doi: 10.22069/japu.2024.21382.1782

تاریخ دریافت: 1402-02-31

تاریخ ویرایش: 1402-04-10

تاریخ پذیرش: 1402-04-22

Masumeh chaharborji¹, Mohammadreza imanpour^{*2}, Roghaye safari³, Ali jafar nodeh⁴, Elahe rohani⁵

1.Student of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: masumehcheharborji@Gmail.com

2.Corresponding Author, professor, Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: mrmanpoor53@yahoo.com

3.associate professor, Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: fisheriessafari@yahoo.com

4.Ph.D. Student of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: a.jafar55@gmail.com

5.Ph.D. Student of Aquatic biotechnology, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: Elaherohani4@gmail.com

کاهش استرس در زمان حمل و نقل و مقاومت در برابر دوزهای متفاوت شوری بر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با استفاده از سطوح مختلف اسانس گل میخک

چکیده

سابقه و هدف: امروزه در آبی پروری جهت به حداقل رساندن استرس در فرایندهایی نظیر دستکاری و حمل و نقل از مواد آرام-کننده استفاده می‌کنند. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات اسانس گل میخک بر کاهش استرس کپور معمولی با وزن $1/5 \pm 0/2$ گرم بعد از حمل و نقل یک ساعته و بعد از تنش شوری یک هفته‌ای بود.

مواد و روش: بدین منظور ۳۰۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (با میانگین وزن $1/5 \pm 0/2$ گرم) با تراکم ۲۵ قطعه در کیسه‌های حمل ماهی در معرض غلظت‌های مختلف اسانس گل میخک ((بعنوان شاهد)، ۶، ۹ و ۱۲ میکرولیتر در لیتر) قرار گرفته و بعد از یک ساعت حمل و نقل، آزمایش‌های مورد نظر برای گرفتن پارامترهای بیوشیمیایی خون مرتبط با استرس (گلوکز، کورتیزول، پروتئین کل، آلبومین و ایمونوگلوبین) انجام شد؛ سپس بچه ماهیان تیمارهای ماده آرام‌کننده گل میخک در دو تیمار با شوری ۶ و ۱۲ ppt در دسته‌های ۱۰ تایی و با سه تکرار رهاسازی و به مدت ۷ روز نگهداری شدند. پس از گذشت ۷ روز مجدداً پارامترهای استرس (گلوکز، پروتئین کل، آلبومین و ایمونوگلوبین) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بعد از حمل و نقل یک ساعته میزان گلوکز، کورتیزول و پروتئین کل در تیمارهای حاوی اسانس گل میخک نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/05$). به‌طوری که کمترین میزان گلوکز و کورتیزول در تیمار ۱۲ میکرولیتر بر لیتر اسانس گل میخک مشاهده شد ($P < 0/05$). میزان آلبومین و ایمونوگلوبولین نیز در تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ($P \geq 0/05$). بعد از تنش شوری یک هفته‌ای میزان گلوکز با افزایش میزان اسانس میخک در هر دو شوری ۶ و ۱۲ ppt کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/05$). میزان آلبومین در تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P \geq 0/05$). پروتئین کل و ایمونوگلوبولین با افزایش میزان اسانس میخک در هر یک از شوری‌ها، روند کاهشی را نشان داد و میزان پروتئین کل و ایمونوگلوبولین در شوری ۱۲ نسبت به شوری ۶ در همه تیمارهای میخک بالاتر بود ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی استفاده از گل میخک می‌تواند به عنوان آرام‌کننده و کاهنده استرس در شرایط استرس‌زای حمل و نقل و شوری استفاده گردد.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، میخک، شوری، حمل و نقل

مقدمه

در صنعت آبی‌پروری همواره عوامل استرس‌زا مانند تراکم بالا، حمل و نقل، دستکاری و تغییر کیفیت آب وجود دارد که موجب اثر نامطلوب بر سلامتی و رشد ماهیان می‌شود (۱ و ۲)؛ لذا در آبی‌پروری برای انجام اعمال مختلفی از قبیل رقم‌بندی، حمل‌ونقل، علامت‌گذاری، تزریق هورمون و تخم‌کشی، معاینه بهداشتی، اندازه‌گیری وزن و طول، خون‌گیری و برخی جراحی‌ها از بیهوشی استفاده می‌شود (۳ و ۴). حمل و نقل ماهی یک رویداد استرس‌زا در صنعت آبی‌پروری است که باعث استرس اکسیداتیو، هیپوکسی و آلودگی آب می‌شود. بنابراین حفظ کیفیت آب در طول زمان حمل‌ونقل برای کاهش استرس اهمیت زیادی دارد (۵). افزایش سلامتی و کاهش استرس در طول حمل‌ونقل از طریق استفاده از مواد افزودنی و توجه به پارامترهای کیفیت آب قبل و در حین حمل و نقل مسئله بسیار مهمی می‌باشد (۶ و ۷) و اگر جابه‌جایی و حمل‌ونقل با دقت کافی صورت نگیرد، تلفیق استرس‌های محیطی می‌تواند منجر به مرگ‌ومیر شود (۸). یکی از مهم‌ترین عوامل فیزیولوژیک موثر در موفقیت رهاسازی ماهیان، توانایی تنظیم اسمزی توسط بچه ماهیان در محل رهاسازی و نیز در هنگام انتقال از محل رهاسازی به مقصد نهایی یعنی دریا است (۹). تنظیم اسمزی شامل تبادلات پمپ یونی در آبشش‌ها و سایر اندام‌های تنظیم اسمزی مانند روده و کلیه می‌باشد. به علاوه روند تنظیم اسمزی فرایندی استرس‌زا و انرژی‌خواه است که می‌تواند باعث ایجاد تلفات در ماهیان شود (۱۰). ساده‌ترین عمل ممکن برای کاهش استرس و کاهش پاسخ‌های منفی فیزیولوژیک ناشی از تراکم، اسارت، حمل و نقل و رهاسازی، آرام کردن ماهیان می‌باشد. یکی از روش‌ها که به طور معمول برای تسکین تأثیرات استرس در ماهیان بکار می‌رود، استفاده از مواد بیهوش‌کننده است (۱۱ و ۱۲). در حال حاضر برخی مواد بیهوش‌کننده شیمیایی و گیاهی جهت آرام کردن و بیهوشی ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد که از آن جمله می‌توان به تری‌کائین‌متان‌سولفونات، فنوکسی اتانول، بنزوکائین و کینالدین به عنوان مواد بیهوش‌کننده شیمیایی و سنتتیک اشاره کرد. داروهای گیاهی نیز قابلیت بیهوش‌کنندگی دارند و اثرات آن‌ها در گونه‌های مختلف ماهی بررسی شده است از جمله معمول‌ترین این داروها اسانس گل میخک است (۱۳؛ ۱۴؛ ۱۵؛ ۱۶؛ ۱۷ و ۱۸). گل میخک بومی منطقه خاورمیانه، جزایر اندونزی و اقیانوسیه است. گیاهان تیره میخک *Cariophyllaceae* گیاهان علفی و بوته‌ای هستند و گاهاً با انشعاب و شاخه‌های فشرده بوته‌های بالشتکی یا کوسنی تشکیل می‌دهد. اسانس گل میخک دارای کاربوفلین، الکل، بنزلیک، بنزوات دموئیل، فورفول و اتیلن می‌باشد. منافع و مضرات اسانس گل میخک برای آبیان توسط مولفین زیادی بررسی شده (۱۹؛ ۲۰ و ۲۱) و به عنوان یک ماده بیهوشی موثر، ایمن و همچنین دارای خاصیت ضدویروسی (۲۲)، ضد باکتری (۲۳) و ضدقارچی (۲۴) می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه اثرات اسانس گل میخک بر کاهش استرس در زمان حمل و نقل و مقاومت در برابر تنش شوری در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش

این پژوهش در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال و مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید فضل‌ی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. بدین منظور از ۳۰۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (با میانگین وزن $1/5 \pm 0/2$ گرم) با تراکم ۲۵ قطعه در کیسه‌های حمل ماهی که حاوی آب و اسانس گل میخک با دوزهای ((بعنوان شاهد)، ۶، ۹ و ۱۲ میکرولیتر در لیتر) با ۳ تکرار قرار داده شدند و از مرکز تکثیر و پرورش سیجوال به آزمایشگاه شهید فضل‌ی برآبادی منتقل شد. بعد از یک ساعت حمل و نقل، آزمایش‌های مورد نظر برای گرفتن پارامترهای بیوشیمیایی خون مرتبط با استرس

(گلوکز، کورتیزول، پروتئین کل، آلبومین و ایمنوگلوبین) انجام شد. به منظور سازگاری با شرایط پرورشی، ماهیان به مدت یک هفته با آب شهری (منبع آب مرکز تکثیر) تحت درجه حرارت ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. به منظور تأمین اکسیژن در حد اشباع، هوادهی در مخزن به کمک پمپ هوا انجام شد. در طول دوره سازگاری بچه ماهیان با جیره پایه مخصوص ماهی کپور (فراذانه؛ ایران) با قطر ۳ میلی متر و ترکیبات تقریبی ۳۸٪ پروتئین خام، ۸٪ چربی خام، ۷٪ فیبر خام، ۱۱٪ خاکستر، ۱۱٪ رطوبت و ۱/۵٪ فسفر و به اندازه ۳ درصد وزن بدن به صورت روزانه غذادهی شدند. میانگین دمای آب 25 ± 2 درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول ۵/۶ میلی گرم بر لیتر، pH ۷ و سختی آب $286 \pm 1/2$ میلی گرم بر لیتر کربنات کلسیم بود. سیفون کشی جهت حذف فضولات و باقی مانده های غذا انجام شد؛ سپس بچه ماهیان تیمارهای ماده آرام کننده گل میخک در دو تیمار با شوری ۶ و ۱۲ قسمت در هزار در دسته های ۱۰ تایی و با سه تکرار رهاسازی و به مدت ۷ روز نگهداری شدند. پس از گذشت ۷ روز مجددا پارامترهای استرس (گلوکز، پروتئین کل، آلبومین و ایمنوگلوبین) اندازه گیری شد.

تهیه و آماده سازی

اسانس گل میخک از شرکت داروسازی گیاه اسانس (گرگان، ایران) تهیه گردید. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی دارای ۳ تیمار (هر تیمار شامل ۳ تکرار) و گروه شاهد (بدون ماده بیهوش کننده) بود. تیمارها شامل: تیمار ۱ حاوی ۶، تیمار ۲ حاوی ۹ و تیمار ۳ حاوی ۱۲ میکرولیتر در لیتر اسانس گل میخک طراحی گردید. اسانس گل میخک به دلیل خاصیت آب گریزی، محلول اسانس با افزودن ۱ قسمت در ۱۰ قسمت اتانول ۱۰۰٪ تهیه گردید.

شاخص های خونی

بعد از انتقال ۱ ساعته و بعد از اتمام ۱ هفته تنش شوری، جهت اندازه گیری پارامترهای استرس، از ماهیان نمونه برداری انجام شد. به این منظور از بچه ماهیان (از هریک از تکرارها) تعداد ۵ ماهی به طور تصادفی انتخاب و با استفاده از روش قطع ساقه دمی خون گیری انجام شد. اندازه گیری مقدار کورتیزول به روش الیزا و در طول موج ۴۰۵-۶۰۳ نانومتر صورت پذیرفت (۱۸). مقدار گلوکز، پروتئین کل، آلبومین سرم خون، با استفاده از کیت های تجاری (پارس آزمون) به روش فتومتریک اندازه گیری شدند (۲۵) و با به دست آوردن تفاضل پروتئین کل و آلبومین، مقدار ایمنوگلوبولین به دست آمد (۲۶).

تجزیه و تحلیل داده ها

آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی پایه ریزی شد. داده های فاکتورهای بیوشیمیایی خون بعد از محاسبه جهت بررسی نرمالیتی با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف تست و به وسیله آنالیز واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین ها انجام شد. اختلاف بین میانگین ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان ۹۵ درصد تعیین گردید. جهت مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نمایش داده شد. برای عملیات از آماری از نرم افزار SPSS ۱۸ استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی خون مرتبط با استرس در شرایط انتقال و بعد از یک هفته تنش شوری به ترتیب در جدول ۱ و شکل‌های ۱ تا ۴ نشان داده شده است. مطابق جدول ۱ بعد از حمل و نقل یک ساعته میزان شاخص‌های خونی گلوکز، کورتیزول و پروتئین کل در تیمارهای حاوی اسانس گل میخک نسبت به گروه کنترل روند کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0.05$). به‌طوری که کمترین میزان گلوکز و کورتیزول در تیمار ۱۲ میکرولیتر بر لیتر اسانس گل میخک مشاهده شد ($P < 0.05$). اما میزان آلبومین و ایمونوگلوبولین نیز در تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P \geq 0.05$).

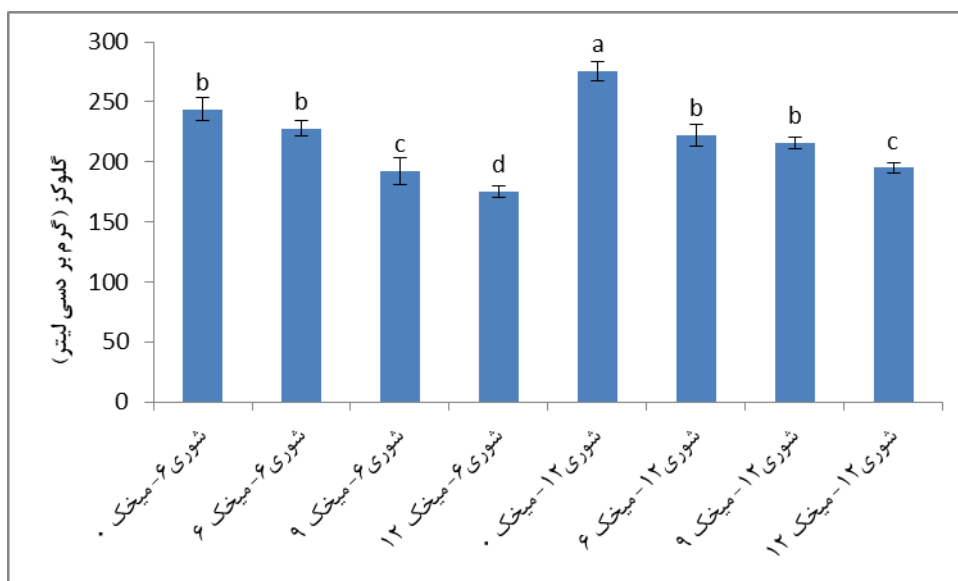
بعد از تنش شوری یک هفته‌ای میزان گلوکز با افزایش میزان اسانس میخک در هر دو شوری ۶ و ۱۲ گرم بر لیتر کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0.05$). میزان آلبومین در تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P \geq 0.05$). میزان پروتئین کل و ایمونوگلوبولین با افزایش میزان اسانس میخک در هر دو شوری ۶ و ۱۲ گرم بر لیتر، روند کاهشی را نشان داد و میزان پروتئین کل و ایمونوگلوبولین در شوری ۱۲ گرم بر لیتر نسبت به شوری ۶ گرم بر لیتر در همه تیمارهای اسانس گل میخک بالاتر بود ($P < 0.05$).

جدول ۱- شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپور در تیمارهای مختلف حاوی اسانس میخک بعد از حمل و نقل ۱ ساعته.

Table 1- Biochemical indices of blood serum of carp in different treatments containing clove essential oil after 1 hour of transportation.

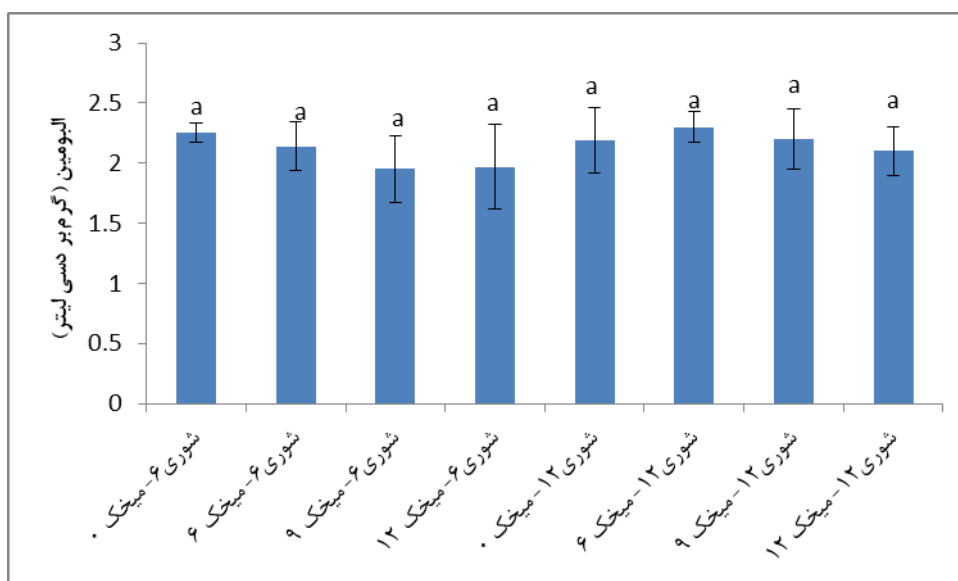
تیمارهای مختلف (گرم در لیتر) Different treatments (grams per liter)				شاخص‌های بیوشیمیایی Biochemical indicators
میخک ۱۲	میخک ۹	میخک ۶	شاهد	
$164/9 \pm 6/59^d$	$185/98 \pm 7/27^c$	$241/51 \pm 6/47^b$	$271/87 \pm 10/66^a$	گلوکز Glucose
$4/73 \pm 0/24^d$	$5/77 \pm 0/51^c$	$10/25 \pm 0/45^b$	$12/83 \pm 0/23^a$	کورتیزول Cortisol
$2/20 \pm 0/15^c$	$3/26 \pm 0/31^b$	$4/19 \pm 0/02^a$	$4/53 \pm 0/28^a$	پروتئین کل Total protein
$1/75 \pm 0/46^a$	$1/81 \pm 0/52^a$	$1/33 \pm 0/26^a$	$1/58 \pm 0/42^a$	آلبومین Albumin
$1/19 \pm 0/32^a$	$1/08 \pm 0/1^a$	$1/00 \pm 0/24^a$	$1/1 \pm 0/2^a$	ایمونوگلوبولین Immunoglobulin

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.



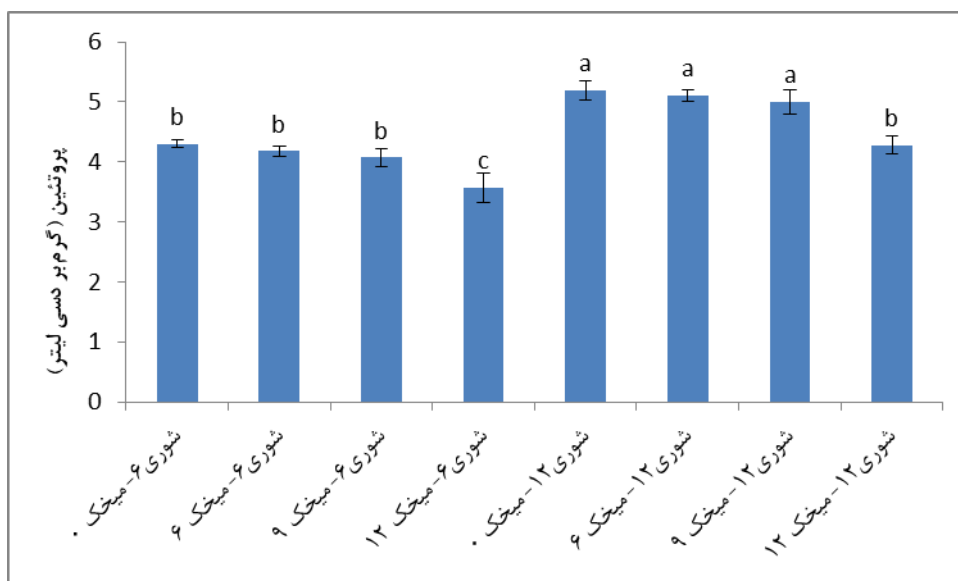
شکل ۱- میزان گلوکز (میانگین $\pm$ انحراف معیار) سرم خون بچه ماهیان کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایش اسانس میخک
حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار می باشد ($P < 0.05$).

Figure 1- Glucose levels (mean $\pm$ standard deviation) in the serum of common carp fry in different clove essential oil treatments.
Unsimilar letters indicate significant differences ($P < 0.05$).



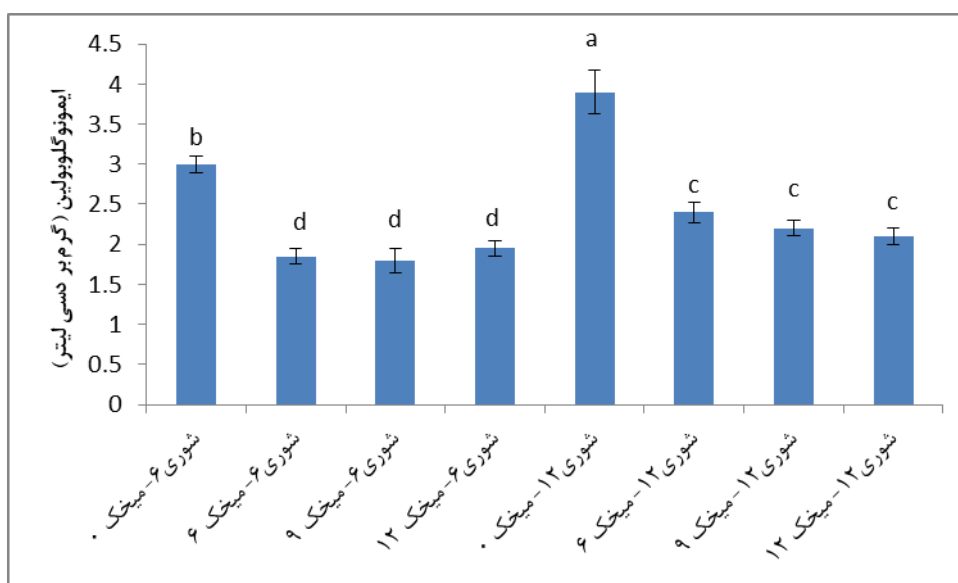
شکل ۲- میزان آلبومین (میانگین $\pm$ انحراف معیار) سرم خون بچه ماهیان کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایش اسانس میخک
حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار می باشد ($P < 0.05$).

Figure 2- Serum albumin levels (mean $\pm$ standard deviation) of common carp fry in different clove essential oil treatments. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$).



شکل ۳- میزان پروتئین (میانگین $\pm$ انحراف معیار) کل سرم خون بچه ماهیان کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایش اسانس میخک
حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار می باشد ($P < 0.05$).

Figure 3- Protein content (mean $\pm$ standard deviation) of whole blood serum of common carp fry in different clove essential oil treatments. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$).



شکل ۴- میزان ایمونوگلوبولین (میانگین $\pm$ انحراف معیار) کل سرم خون بچه ماهیان کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایش اسانس میخک
حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار می باشد ($P < 0.05$).

Figure 4- Immunoglobulin levels (mean $\pm$ standard deviation) in whole blood serum of common carp fry in different clove essential oil treatments. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

بحث

ماهیان، در محیط‌های طبیعی و پرورشی با شرایط مختلفی مواجه می‌شوند که ممکن است منجر به بروز استرس و اختلال در شرایط هموستازی آن‌ها شود (۲۷). استرس پاسخ‌های مختلفی در ماهیان ایجاد می‌کند (۲۸) که باعث آزادسازی و افزایش کاتکول آمین‌ها و کورتیکواستروئیدها، گلوکز و کورتیزول شده که در نهایت کاهش رشد و تولید مثل را به همراه خواهند داشت (۲۹). در واقع افزایش استرس در ماهی سبب القای ترشح هورمون کورتیزول می‌شود و به دنبال آن گلوکز پلاسما افزایش می‌یابد (۳۰، ۳۱، ۳۲ و ۳۳). در مطالعه حاضر به‌طور کلی بعد از حمل و نقل یک ساعته میزان گلوکز، کورتیزول و پروتئین کل در تیمارهای حاوی اسانس گل میخک نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. به‌طوری که کمترین میزان فاکتورهای ذکر شده در تیمار ۱۲ میکروگرم بر لیتر مشاهده شد. میزان آلبومین و ایمونوگلوبولین نیز در تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. همچنین طبق نتایج میزان گلوکز با افزایش میزان اسانس میخک در تیمارهای مختلف شوری نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد. میزان پروتئین کل و ایمونوگلوبولین در تیمارهای حاوی اسانس میخک نسبت به گروه شاهد در هر دو شوری ۶ و ۱۲ کاهش معنی‌داری را نشان داد. در مطالعه‌ای که روی کپور معمولی *Cyprinus carpio* انجام شد نیز نتایج نشان داده استرس شوری سبب تغییر در فاکتورهای خونی این ماهی می‌گردد (۳۴). در مطالعه افشاری و همکاران (۱۳۹۵) نیز میزان هورمون کورتیزول و گلوکز پلاسما با افزایش شوری افزایش یافت به‌طوری که بیش‌ترین میزان آن در تیمار با شوری ۱۲ گرم در هزار و کم‌ترین میزان در تیمار شاهد (بدون شوری) مشاهده شد (۳۵). اندازه‌گیری میزان پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین سرم به‌منظور تعیین مرحله بیماری یا تشخیص برخی نواقص ایمنی، اختلال در عملکرد کبد و اختلال در فعالیت بافت‌های خون‌ساز کاربرد دارد (۳۶). همراستا با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه‌ای که توسط علیشاهی و همکاران (۲۰۱۳) که با هدف بررسی تأثیر بیهوشی سه داروی MS۲۲۲، اسانس گل میخک و فنوکسی اتانول بر برخی شاخص‌های ایمنی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* صورت گرفت، ثابت شد فاکتورهای بیوشیمیایی سرم شامل پروتئین کل و آلبومین و گلوبولین تحت تأثیر بیهوشی با داروهای ذکر شده، قرار نگرفتند (۱۲). فرهادی نیز عدم تأثیر بیهوشی با گل میخک و MS۲۲۲ را بر میزان پروتئین کل و گلوبولین سرم ماهی کپور علفخوار *Ctenopharyngodon idella* را گزارش نمود (۳۷). عوامل سرکوب‌گر ایمنی به روش‌های مختلفی بر میزان گلوبولین و همچنین میزان پروتئین کل سرم تأثیر می‌گذارند و معمولاً کاهش تعداد لنفوسیت‌های خونی، کاهش گلوبولین کل خون ماهی باعث می‌شود (۳۸). همچنین محققان بیهوشی با اسانس گل میخک را باعث ایجاد نوعی لمفوپنی در ماهی خاویاری سبیری *Acipenser baerii* دانستند که نتیجه آن کاهش میزان ایمونوگلوبولین کل و نهایتاً کاهش پروتئین کل سرمی است (۳۹). نتایج مطالعه‌ای که با هدف بررسی اثرات گلايسين جیره بر عملکرد رشد، استرس و پاسخ‌های آنتی اکسیدانی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* در طول حمل و نقل انجام شد، نیز همراستا با نتایج مطالعه حاضر بود. طبق نتایج بدست آمده مکمل گلايسين به طور قابل توجهی کورتیزول پلاسما، گلوکز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز، گلوکاتایون-S-ترانسفراز و مالون دی آلدئید را پس از انتقال، به ویژه در ۵ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم، کاهش می‌دهد (۵). مطالعات انجام شده روی ماهی کپور علفخوار *Ctenopharyngodon idella* نشان داده است که سطوح کورتیزول و گلوکز این ماهی پس از قرار گرفتن در معرض استرس شوری افزایش می‌یابد (۳۳). در پژوهشی که در سال ۲۰۲۰ توسط ریس سانتوز و همکاران انجام گرفت، ثابت شد که استفاده از اسانس‌های ترکیبی درخت چای و میخک در ۱۰۴ میلی‌گرم در لیتر برای حمل و نقل ۱۵ ساعته و ۳۶ ساعته، اثرات مطلوب‌تری جهت کنترل استرس دارد (۴۰). در مطالعه حسینی و همکارانش در سال ۲۰۲۲ تأثیر استفاده زرد چوبه به عنوان کاهنده استرس در زمان حمل و نقل در ماهی کپور معمولی، مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده از این پژوهش ثابت شد که مکمل زردچوبه به میزان ۱٪ می‌تواند به عنوان یک افزودنی عالی

خوراک به منظور بهبود اثرات نامطلوب حمل و نقل در کپور معمولی *Cyprinus carpio* استفاده شود (۱). همچنین در مطالعات یعقوبی و همکاران (۱۳۹۲)؛ هانگونو و آرچون (۲۰۰۴) تاثیر بیهوشی میخک اثبات شده است (۴۱ و ۴۲). در مطالعه-ای دیگر (۴۳) کارایی میخک و تاثیر مثبت آن تایید شده است. اسانس گل میخک معیارها و خواص یک بیهوش کننده خوب را دارا است (۴۴) و به عنوان جایگزین مناسب بیهوش کننده های شیمیایی، در ایران بکار برده می شود (۴۵). از گل و ساقه ی میخک (که حاوی ترکیب فنولی اوژنول است)، می توان برای بیهوشی در آبیان استفاده کرد (۴۷ و ۴۶)؛ همچنین در مطالعات یعقوبی و همکاران، (۱۳۹۲)؛ هانگونو و (۲۰۰۴) و عالیشاهی و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر بیهوشی میخک اثبات شده است (۴۱، ۴۲ و ۴۳). مطابق با گزارشات هاشمی و همکاران، (۱۳۹۱)؛ اسمال، (۲۰۰۴)؛ سیمس و همکاران (۲۰۱۱) و باقری و ایمان پور، (۲۰۱۱) اسانس گل میخک در زمان حمل و نقل باعث جلوگیری از استرس حمل و نقل می شود (۳۲؛ ۴۸؛ ۴۹؛ ۴۷).

نتیجه گیری کلی

به طور کلی طبق نتایج بدست آمده، استفاده از اسانس گل میخک در سطوح مناسب می تواند به عنوان آرام کننده و کاهنده استرس در شرایط استرس زای حمل و نقل و شوری استفاده گردد. با توجه به پارامترهای بیوشیمیایی و خونی استفاده از نمک در دوز مناسب ۶ گرم بر لیتر و اسانس میخک در سطح ۱۲ میکرولیتر بر لیتر جهت حمل و نقل پیشنهاد می گردد. با این وجود، به نظر می رسد ارائه نتایج دقیق تر نیازمند مطالعات بیشتر در سطوح بافت شناسی و ملکولی می باشد.

منابع

- Hoseini, M., Gupta, S., Yousefi, M., Vladimirovich Kulikov, E., Drukovsky, S., Petrov, A., Taheri Mirghaied, A., Hoseinifar, S.H., & Van Doan, H. (2022). Mitigation of transportation stress in common carp, *Cyprinus carpio*, by dietary administration of turmeric, *Aquaculture*. 546.73-80.
- Freitas Souza, C.D., Dellaméa Baldissera, M., Baldisserotto, B., Heinzmann, B., M., Martos-Sitcha A.J., & Mancera, J.M. (2019). Essential Oils as Stress-Reducing Agents for Fish Aquaculture: A Review. *Front. Physiol.* 20:10. 785.
- Ross, L.G., & Ross, B. 2008. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Publishing, 3th Edition. 1:10. 137-149.
- Hoseini, S. M., Rajabieherabadi, H., & Tarkhani, R. (2015). Anaesthetic efficacy of eugenol on iridescent shark, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) in different size classes. *Aquaculture research*. 46. 405-412.
- Hoseini, M., Majidiyan, N., Taheri Mirghaied, A., Hoseinifar, S.H., & Van Doan, H. (2022). Dietary glycine supplementation alleviates transportation-induced stress in common carp, *Cyprinus carpio*, *Aquaculture*, Volume 551.
- Vanderzwalmen, M., Eaton, L., Mullen, C., Henriquez, F., Carey, P., Snellgrove, D., & Katherine A. Sloman. (2019). The use of feed and water additives for live fish transport, *Aquaculture*, Volume 11, Issue 1.

7. Tytler, P., & Hawkins, A.D. (1981). Vivisection, anaesthetics and minor surgery. In: Aquarium systems (Edited by A.D. Hawkins). Academic Press. London.
8. Carmichael, G.J.; Tomasso, J.R., & Schwelder, T.e. (2001). Fish transportation In: Wedemeyer GA (ed.) Fish Hatchery Management, American Fisheries Society, Bethesda, MD. pp: 641-660.
9. Ataea mehr. B., Abdolahi. H., & Mirvaghefi. A.R. (2006). Investigating the changes in the number and size of gill chloride cells and the mortality rate of free-ranging fish of the Caspian Sea, *Salmo salar caspicus* Kesler, 1877 with different weights in different water salinities. Scientific Journal of Iranian Fisheries. 11:4. 119-127
10. Hwang, P. P., & Lee, T. H. (2007). New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cell. Comp. Biochem. Physiol. Parta. 148, PP: 479-497.
11. McFarland, W.N. (1959). A study of the effects of anesthetics on the behavior and physiology of fishes. Publication of ichthyology of fishes. Publication of the Institute of Marine Science 6. 2255.
12. Alishahi. M. Cheshmeh. B. Peygham. R., & Mohamadian. T. (2013). Investigating the effects of anesthesia with MS222, clove essential oil and phenoxyethanol on the immune parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). Scientific and Research Quarterly Journal of Wetland Ecology - Islamic Azad University, Ahvaz Branch. 5:18. 23-32.
13. Holloway, A.C., Keene, J. Noakes, D.G., & Moccia, R.D. (2005). Effects of clove oil and MS222 on blood hormone profiles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research. 35:1025-1030.
14. Tort, L.; Puigcerver, M.; Crespo, S., & Padros, F. (2002). Cortisol and hematological response in sea bream and trout subjected to the anesthetics clove oil and 2-phenoxyethanol. Aquaculture Research, 33. 907-910.
15. Velisek, J., Svobodova, Z. Piackova, V., Groch, L., & Nepejchalova, L. (2005). Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio*). Veterinary Medicine-Czech. 50. 269–275.
16. Hoseini, S. M. (2011). Efficacy of clove powder solution on stress mitigation in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Comparative Clinical Pathology. 20, PP: 359-362.
17. Hoseini, S. M., & Jafar Nodeh, A. (2013). Changes in blood biochemistry of common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus), following exposure to different concentrations of clove solution. Comparative Clinical Pathology. 22. 9-13.
18. Hoseini, S. M., & Tarkhani, R. (2013). Serum biochemical characteristics of *Carassius auratus* following short-term formalin or NaCl treatment. International Journal of Aquatic Biology. 1. 14-21 .
19. Stone, D., & Tostin, N. (1999). Clove bud oil a big yawn for silver perch. Fish NSW Mag. Springer.
20. Waterstrat, P.R. (1999). Induction and recovery from anaesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. Journal of the World Aquaculture Society. 30. 250-255.
21. King, M.A.; Allan, G.L., & Kearney, R.E. (2004). Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and AQUIS from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture, 232. 265-277.

- 22.Siddiqui, Y.M. (1996). Effect of essential oils on the enveloped viruses: antiviral activity of oregano and clove oil on herpes simplex virus type I and Newcastle disease virus. *Medical Science Research*, 24. 185-168.
- 23.Stecchini, M.L.; Sarais, I., & Giavedoni, P. (1993). Effects of essential oils on *Aeromonas hydrophila* in a culture medium and in cooked pork. *Journal of Food Protection*, 56: 406-409.
- 24.Karapinar, M. (1990). Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 10. 193-200.
- 25.Bradford, M., (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein. *Analytical biochemistry*, 72: 248-254.
26. Nayak, S. K., Swain, P., & Mukherjee, S. C. (2007). Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of *Indian major carp*, *Labeorohita* (Ham.). *Fish & Shellfish Immunology*, 23: 892- 896.
- 27.Koakoski, G., & Abreu, M. (2013). Cortisol response in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* following acute exposure to a glyphosate-based herbicide. *Environmental Sciences*, 1:1. 25-32.
- 28.Barton, B. (2002). Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42, 517-525.
- 29.Naserizadeh, M., Nematollahi, M.A., & Hosseini, S.V. (2013). The relationship between water quality parameters and response to density stress in Pacu fish (*Piaractus brachypomus*). *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 4:6. 1518-1523.
- 30.Rottland, J., & Tort L. (1997). Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowing stress, *The Journal of Fish Biology*, 51. 21-28.
- 31.Barton, B. A., Schreck, C. B., & Sigismundil. A. (1987). Changes in plasma cortisol during stress and smoltification in oncorhynchus kisutch, *Ecological Research Center*, 18. 41-59.
- 32.Hashemi, M., Sajadi, M., Saedi, M.V., & Vesali. M. (2012). The effect of using zeolite and clove essential oil on survival and reducing stress during the transportation of *rainbow trout*. *Fisheries science and technology*. 1:1. 63-75
- 33.Makvandi, H., Khodadadi, M., Keyvanshokoh, S., & Mohammadi Makvandi, Z. (2012). Effect of salinity stress on cortisol hormone and glucose in Grass carp fingerlings (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of Aquatic Animals and Fisheries*, 2:8. 77-84. (in persian).
- 34.Hafez Amini, P., & Oryan, S. (2002). The effect of NaCl on hematocrit and hemoglobin of *Cyprinus carpio* blood. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 11:3. 13-22.
35. Afshari, A.R., Sorinejad, A., Shibak, H., & Arabnejad, S. (2016). The effect of salinity stress on the growth rate, biochemical parameters and blood cortisol of Sistan whitefish *Schizothorax zarudnyi*, Gonbad Kavos University, *Journal of Applied Fisheries Research*. 4:3. 43-52.
- 36.Banaea, M., Mirvaghefi, A. Majazamiri. B. Rafiea. GH., & Nematdost. B. (2011). Investigation of hematology and tissue pathology in experimental poisoning with diazinon in common carp (*Cyprinus carpio*), *Shilat Journal*. 64:1. 1-3.

37. Farhadi rad, A. (2011). Comparison of the effect of three anesthetic drugs, tricaine methane sulfate, clove essential oil and 2-phenoxyethanol on the immune factors of herbivorous carp, Master's Thesis of Fisheries, Azad University, Khuzestan Science and Research Unit.
38. Gomulka, P., Wlasow, T., Velíšek, J., Svobodová, Z., & Chmielinska, E. (2008). Effects of Eugenol and MS-222 Anaesthesia on Siberian Sturgeon (*Acipenserbaerii Brandt*) ACTA VET. BRNO, 447–453
39. GHolipour, H. (2010). Studying the effect of anesthesia caused by electricity, clove essential oil and tricaine methane sulfonate on some immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Doctoral thesis of Tehran Veterinary School.
40. Santos, ELR., Rezende, FP., & Moron, SE. (2020), Physiological and histological stress-related responses of tobacco (*Colossoma macropomum*) to transfer in water with anesthetics of tea tree essential oil and clove, Aquaculture, Volume 523:735164.
41. Yaghobi. M., Yekan heirati. F., Darafghan. S., & Bahrami babaheydari. S. (2013). Anesthesia induction of pangosius catfish (*pangosiussutchi*) using valerian (*Valerian officinalis*) extract and its comparison with clove extract. Quarterly scientific journal of fisheries science. 2:4. 69-74.
42. Hanggono, B., & Areechon, N. (2004). Application of clove oil as anesthetic for sea bass (*Lates calcarifer Bloch*), Situbondo Brackishwater Aquaculture Development Center, 8. 1-15.
43. Alishahi. M. Akbari. N. Jalali. M.R. (2013). Comparison of the effect of MS-222 biochemistry drugs, clove essential oil and 2-phenoxyethanol on blood factors and serum enzymes of common carp (*Cyprinus carpio*). Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Journal of Aquaculture. 3:1. 105-120.
44. Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D., & Soto, C.G. (1998). The efficacy of clove oil as an anesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research 29. 89-101.
45. Sattari, A., Mirzargar, S.S., Abrish amifar, A., Lourakzadegan, R., Bahonar, A., Mousavi, H.E., & niasari, A. (2009). Comoarsion of electo anesthesia 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 velerinary Advances, 4:6. 306-313.
46. 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. 369–375.
47. Imanpoor, M.R., Bagheri, T., & Hedayati, S.A.A. (2010). The anesthetic effects of clove essence in persian strurgeon (*Acipenser persicus*). World Journal of Fish and Marine Sciences, 2:1. 29-36. (in persian).
48. Small, B. C. (2004). Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors; Aquaculture, 238. 469-481.
49. Simoes, L. N., Lombardi, D. C., Gomide, A. T. M., & Gomes, L.C. (2011). Efficacy of clove oil as anesthetic in handling and transportation of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (*Actinopterygii: Cichlidae*) juveniles, Zoologia, 28:3. 285–290.

Reducing stress during transportation and resistance to different doses of salinity on common carp (*Cyprinus carpio*) using different levels of clove essential oil.

Abstract:

Background and objectives: Today, in aquaculture, tranquilizers are used to minimize stress during processes such as handling and transportation. The aim of this study was to evaluate the effects of clove essential oil on stress reduction in common carp weighing 1.5 ± 0.2 g after one hour of transportation and one week of salinity stress.

Materials and methods: For this purpose, 300 common carp fry (with an average weight of 1.5 ± 0.2 g) at a density of 25 pieces in fish transport bags were exposed to different concentrations of clove essential oil ((0 as control), 6, 9 and 12 $\mu\text{l/l}$) and after one hour of transport, the desired tests were performed to obtain biochemical blood parameters related to stress (glucose, cortisol, total protein, albumin and immunoglobulin); then the fry treated with clove tranquilizer were released in two treatments with salinity of 6 and 12 ppt in groups of 10 and with three replications and kept for 7 days. After 7 days, the stress parameters (glucose, total protein, albumin and immunoglobulin) were measured again.

Results: After one hour of transportation, the levels of glucose, cortisol and total protein in the treatments containing clove essential oil showed a significant decrease compared to the control group ($P < 0.05$). So that the lowest levels of glucose and cortisol were observed in the treatment of 12 microliters/liter of clove essential oil ($P < 0.05$). The levels of albumin and immunoglobulin also did not show a significant difference in the experimental treatments ($P \leq 0.05$). After one week of salinity stress, the levels of glucose showed a significant decrease with increasing levels of clove essential oil in both salinities of 6 and 12 ppt ($P < 0.05$). The levels of albumin in the experimental treatments did not show a significant difference ($P \leq 0.05$). Total protein and immunoglobulin showed a decreasing trend with increasing clove essential oil content in each salinity, and the total protein and immunoglobulin content in salinity 12 was higher than in salinity 6 in all clove treatments ($P < 0.05$).

Conclusion: In general, the use of cloves can be used as a sedative and stress reducer in stressful situations such as transportation and saltiness.

Keywords: common carp, cloves, salinity, transportation