Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics
Print ISSN: 2345-427X
Online ISSN: 2345-4288

انجمن علمی ماهیان زینتی ایران
Iranian Ornamental Fish Society (IOFS)

(OPEN ACCESS)

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

Masumeh Cheharborji[1], Mohammad Reza Imanpour[*2], Roghieh Safari[3], Ali Jafar Nodeh[4], Elahe Rohani[5]

1. M.Sc. Student in 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 Prof., 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 in 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 in Aquatic Biotechnology, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: elaherohani4@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 05.21.2023
Revised: 07.01.2023
Accepted: 07.13.2023

Keywords:
Cloves,
Common carp,
Salinity,
Transportation

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 µl/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 ($P\leq0.05$). 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.

Cite this article: Cheharborji, Masumeh, Imanpour, Mohammad Reza, Safari, Roghieh, Jafar Nodeh, Ali, Rohani, Elahe. 2026. Reducing stress during transportation and resistance to different doses of salinity on common carp (*Cyprinus carpio*) using different levels of clove essential oil. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 14 (4), 119-132.

© The Author(s).
Doi: 10.22069/japu.2024.21382.1782
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان
شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

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

معصومه چهاربرجی[۱]، محمدرضا ایمانپور*[۲]، رقیه صفری[۳]، علی جافر نوده[٤]، الهه روحانی[٥]

۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: masumehcheharborji@gmail.com

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

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

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

٥. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: elaherohani4@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/۰۲/۳۱
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۲/۰٤/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۰٤/۲۲

واژه‌های کلیدی:
حمل‌ونقل،
شوری،
کپور معمولی،
میخک

چکیده

سابقه و هدف: امروزه در آبزی‌پروری جهت به حداقل رساندن استرس در فرایندهایی مانند دستکاری و حمل‌ونقل از مواد آرام‌کننده استفاده می‌کنند. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات اسانس گل میخک بر کاهش استرس کپور معمولی با وزن ۰/۲ ± ۱/۵ گرم بعد از حمل و نقل یک ساعته و بعد از تنش شوری یک هفته‌ای بود.

مواد و روش‌ها: بدین‌منظور ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی (با میانگین وزن ۰/۲ ± ۱/۵ گرم) با تراکم ۲۵ قطعه در کیسه‌های حمل ماهی در معرض غلظت‌های مختلف اسانس گل میخک ((۰ به‌عنوان شاهد)، ٦، ۹ و ۱۲ میکرولیتر در لیتر) قرار گرفته و بعد از یک ساعت حمل‌ونقل، آزمایش‌های موردنظر برای گرفتن پارامترهای بیوشیمیایی خون مرتبط با استرس (گلوکز، کورتیزول، پروتین کل، آلبومین و ایمنوگلوبین) انجام شد؛ سپس بچه‌ماهیان تیمارهای ماده آرام‌کننده گل میخک در دو تیمار با شوری ٦ و ۱۲ ppt در دسته‌های ۱۰ تایی و با سه تکرار رهاسازی و به‌مدت ۷ روز نگهداری شدند. پس از گذشت ۷ روز مجدداً پارامترهای استرس (گلوکز، پروتئین کل، آلبومین و ایمنوگلوبین) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بعد از حمل‌ونقل یک ساعته میزان گلوکز، کورتیزول و پروتئین کل در تیمارهای حاوی اسانس گل میخک نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که کم‌ترین میزان گلوکز و کورتیزول در تیمار ۱۲ میکرولیتر بر لیتر اسانس گل میخک مشاهده شد (P<۰/۰۵). میزان آلبومین و ایمنوگلوبولین نیز در تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (P≥۰/۰۵). بعد از تنش شوری یک هفته‌ای میزان گلوکز با افزایش میزان اسانس میخک در هر دو شوری ٦ و ۱۲ ppt کاهش معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). میزان آلبومین در تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P≥۰/۰۵). پروتئین کل و ایمونوگلوبولین با افزایش میزان اسانس میخک در هر یک از شوری‌ها، روند کاهشی را نشان داد و میزان پروتئین‌کل و ایمونوگلوبولین در شوری ۱۲ نسبت به شوری ٦ در همه تیمارهای میخک بالاتر بود (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی استفاده از گل میخک می‌تواند به عنوان آرام‌کننده و کاهنده استرس در شرایط استرس‌زای حمل‌ونقل و شوری استفاده گردد.

استناد: چهاربرجی، معصومه، ایمانپور، محمدرضا، صفری، رقیه، جافر نوده، علی، روحانی، الهه (۱۴۰۴). کاهش استرس در زمان حمل‌ونقل و مقاومت در برابر دوزهای متفاوت شوری بر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با استفاده از سطوح مختلف اسانس گل میخک. *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۴ (۴)، ۱۳۲-۱۱۹.

Doi: 10.22069/japu.2024.21382.1782

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

در صنعت آبزی‌پروری 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)؛ بنابراین در آبزی‌پروری برای انجام اعمال مختلفی مانند رقم‌بندی، حمل‌ونقل، علامت‌گذاری، تزریق هورمون و تخم‌کشی، معاینه بهداشتی، اندازه‌گیری وزن و طول، خون‌گیری و برخی جراحی‌ها از بیهوشی استفاده می‌شود (۳ و ٤). حمل‌ونقل ماهی یک رویداد استرس‌زا در صنعت آبزی‌پروری 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 مسأله بسیار مهمی می‌باشد (٦ 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 مؤثر 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، حمل‌ونقل و رهاسازی، آرام کردن ماهیان می‌باشد. یکی از روش‌ها که به‌طور معمول برای تسکین تأثیرات استرس در ماهیان به‌کار 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 تری‌کائین‌متان سولفونات، فنوکسی اتانول، بنزوکائین و کینالدین به‌عنوان 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، ١٤، ١٥، ١٦، ۱۷ و ۱۸). گل میخک بومی منطقه خاورمیانه، جزایر اندونزی و اقیانوسیه است. گیاهان تیره میخک *Cariophyllaceae* گیاهان علفی و بوته‌ای هستند و گاها با انشعاب و شاخه‌های فشرده بوته‌های بالشتکی یا کوسنی تشکیل می‌دهد. اسانس گل میخک دارای کاربوفلین، الکل، بنزلیک، بنزوات دموتیل، فورفوول و اتیلن می‌باشد. منافع و مضرات اسانس گل میخک برای آبزیان توسط مولفین زیادی بررسی شده (۱۹، ۲۰ و ۲۱) و به عنوان یک ماده بیهوشی مؤثر، ایمن و هم‌چنین دارای خاصیت ضدویروسی (۲۲)، ضدباکتری (۲۳) و ضدقارچی (٢٤) می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه اثرات اسانس گل میخک بر کاهش استرس در زمان حمل‌ونقل 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 آبزی‌پروری شهید فضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. بدین‌منظور از ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی (با میانگین وزن ۰/۲ ± ۱/۵

گرم) با تراکم ۲۵ قطعه در کیسه‌های حمل ماهی که حاوی آب و اسانس گل میخک با دوزهای ((۰ به‌عنوان شاهد)، ٦، ۹ و ۱۲ میکرولیتر در لیتر) با ۳ تکرار قرار داده شدند و از مرکز تکثیر و پرورش سیجوال به آزمایشگاه شهید فضلی‌برآبادی منتقل شد. بعد از یک ساعت حمل و نقل، آزمایش‌های موردنظر برای گرفتن پارامترهای بیوشیمیایی خون مرتبط با استرس (گلوکز، کورتیزول، پروتین کل، آلبومین و ایمنوگلوبین) انجام شد. به‌منظور 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. به‌منظور تأمین اکسیژن در حد اشباع، هوادهی در مخزن به کمک پمپ هوا انجام شد. در طول دوره سازگاری بچه‌ماهیان با جیره پایه مخصوص ماهی کپور (فرادانه؛ ایران) با قطر ۳ میلی‌متر و ترکیبات تقریبی ۳۸ درصد پروتئین خام، ۸ درصد چربی خام، ۷ درصد فیبر خام، ۱۱ درصد خاکستر، ۱۱ درصد رطوبت و ۱/۵ درصد فسفر و به اندازه ۳ درصد وزن بدن به صورت روزانه غذادهی شدند. میانگین دمای آب ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۵/٦ میلی‌گرم بر لیتر، pH ۷ و سختی آب ۱/۲ ± ۲۸٦ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم بود. سیفون‌کشی جهت حذف فضولات و باقی مانده‌های غذا انجام شد؛ سپس بچه‌ماهیان تیمارهای ماده آرام‌کننده گل میخک در دو تیمار با شوری ٦ و۱۲ قسمت در هزار 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 ایمنوگلوبین) اندازه‌گیری شد.

تهیه و آماده‌سازی: اسانس گل میخک از شرکت داروسازی گیاه اسانس (گرگان، ایران) تهیه گردید. این آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی دارای ۳ تیمار (هر تیمار شامل ۳ تکرار) و گروه شاهد (بدون ماده بیهوش‌کننده) بود. تیمارها شامل : تیمار ۱ حاوی ٦، تیمار ۲ حاوی ۹ و تیمار ۳ حاوی ۱۲ میکرولیتر در لیتر اسانس گل میخک طراحی گردید. اسانس گل میخک به دلیل خاصیت آب‌گریزی، محلول اسانس با افزودن ۱ قسمت در ۱۰ قسمت اتانول ۱۰۰ درصد تهیّه گردید.

شاخص‌های خونی: بعد از انتقال ۱ ساعته و بعد از اتمام ۱ هفته تنش شوری، جهت اندازه‌گیری پارامترهای استرس، از ماهیان نمونه‌برداری انجام شد. به این‌منظور از بچه‌ماهیان (از هر یک از تکرارها) تعداد ۵ ماهی به‌طور تصادفی انتخاب و با استفاده از روش قطع ساقه دمی خون‌گیری انجام شد. اندازه‌گیری مقدار کورتیزول به روش الایزا و در طول موج ٤٠٥-٦٠٣ نانومتر صورت پذیرفت (۱۸). مقدار گلوکز، پروتئین کل، آلبومین سرم خون، با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون) به روش فتومتریک اندازه‌گیری شدند (۲۵) و با به‌دست آوردن تفاضل پروتئین کل و آلبومین، مقدار ایمنوگلوبولین به دست آمد (۲٦).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی پایه‌ریزی شد. داده‌های فاکتورهای بیوشیمیایی خون بعد از محاسبه جهت بررسی نرمالیتی با استفاده از آزمون کولوموگروف اسمیرنوف تست و به وسیله آنالیز واریانس یک‌طرفه جهت مقایسه میانگین‌ها انجام شد. اختلاف بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان ۹۵ درصد تعیین گردید. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده و نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شد. برای عملیات از آماری از نرم‌افزار 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 ٤ نشان داده شده است. مطابق جدول ۱ بعد از حمل‌ونقل 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($P<۰/۰۵$). به‌طوری‌که کم‌ترین میزان گلوکز و کورتیزول در تیمار ۱۲ میکرولیتر بر لیتر اسانس گل میخک مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). اما میزان آلبومین و ایمنوگلوبولین نیز در تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P\geq۰/۰۵$).

بعد از تنش شوری یک هفته‌ای میزان گلوکز با افزایش میزان اسانس میخک در هر دو شوری ٦ و ۱۲ گرم بر لیتر کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P<۰/۰۵$). میزان آلبومین در تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P\geq۰/۰۵$). میزان پروتئین کل و ایمونوگلوبولین با افزایش میزان اسانس میخک در هر دو شوری ٦ 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 ٦ گرم بر لیتر در همه تیمارهای اسانس گل میخک بالاتر بود ($P<۰/۰۵$).

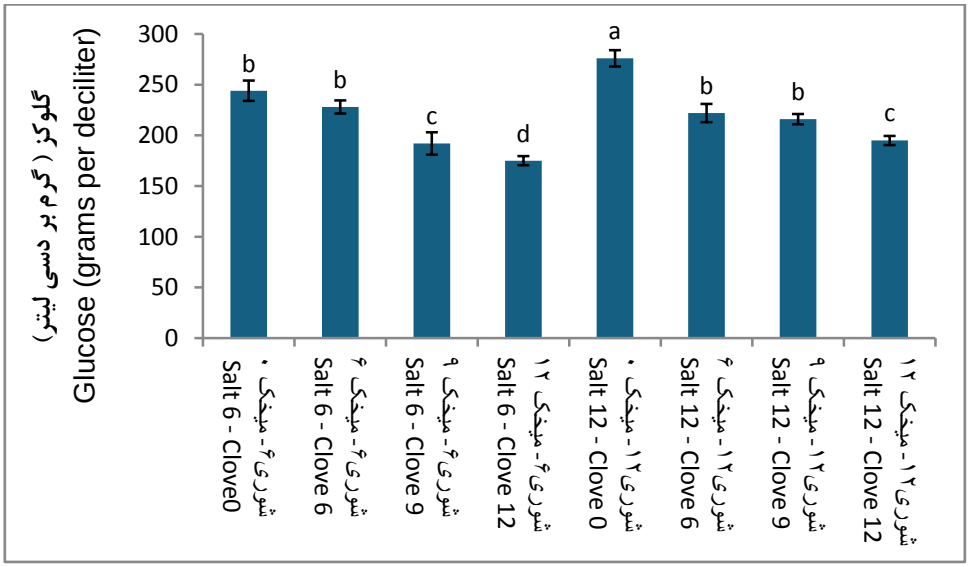
جدول ۱- شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپور در تیمارهای مختلف حاوی اسانس میخک بعد از حمل‌ونقل ۱ ساعته.

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

شاخص‌های بیوشیمیایی Biochemical indicators	تیمارهای مختلف (میکرولیتر در لیتر) Different treatments (µL/L)			
	شاهد control	میخک ٦ Clove 6	میخک ۹ Clove 9	میخک ۱۲ Clove 12
گلوکز Glucose	271.87 ± 10.66^{a}	241.51 ± 6.47^{b}	185.98 ± 7.27^{c}	164.9 ± 6.59^{d}
کورتیزول Cortisol	12.83 ± 0.23^{a}	10.25 ± 0.45^{b}	5.77 ± 0.51^{c}	4.73 ± 0.24^{d}
پروتیئن کل Total protein	$٤/٥٣ \pm ۰/۲۸^{a}$	4.19 ± 0.02^{a}	3.26 ± 0.31^{d}	2.20 ± 0.15^{c}
آلبومین Albumin	1.58 ± 0.42^{a}	1.33 ± 0.26^{a}	1.81 ± 0.52^{a}	1.75 ± 0.46^{a}
ایمنوگلوبولین Immunoglobulin	1.1 ± 0.2^{a}	1.00 ± 0.24^{a}	1.08 ± 0.1^{a}	1.19 ± 0.23^{a}

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

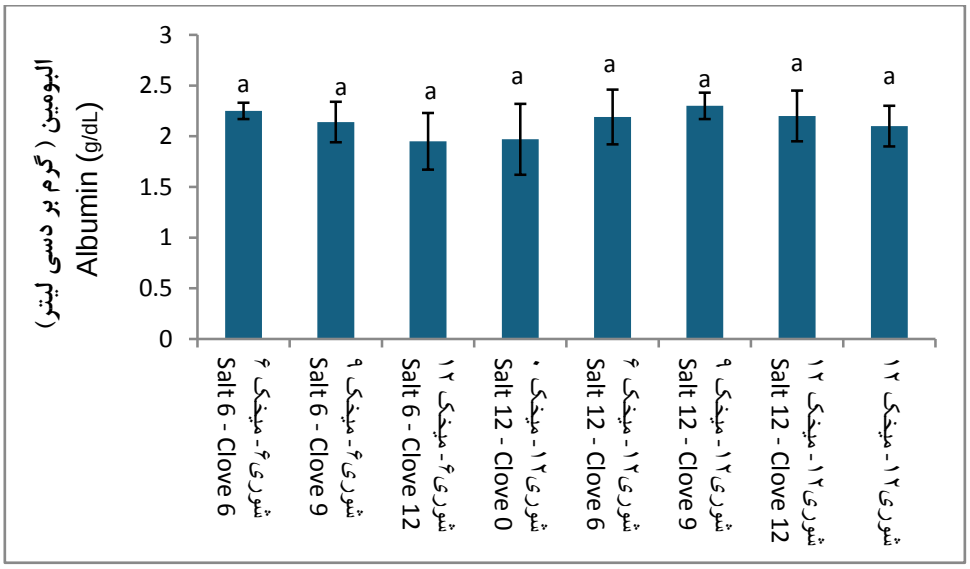
Different letters in each row indicate significant differences at the 0.05 level



شکل ۱- میزان گلوکز (میانگین ± انحرف معیار) سرم خون بچه‌ماهیان کپور معمولی در تیمارهایی با سطوح مختلف شوری و اسانس میخک.

حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار می‌باشد (P<۰/۰۵).

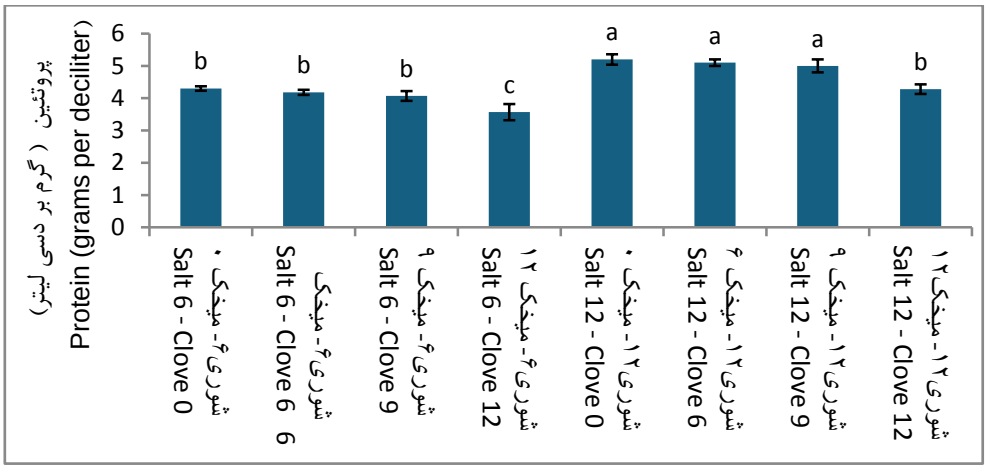
Figure 1. Glucose levels (mean ± standard deviation) in the blood serum of common carp fry in treatments with different levels of salinity and clove essential oil.
Unlike letters indicate a significant difference (P<0.05).



شکل ۲- میزان آلبومین (میانگین ± انحرف معیار) سرم خون بچه‌ماهیان کپور معمولی در تیمارهایی با سطوح مختلف شوری و اسانس میخک.

حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار می‌باشد (P<۰/۰۵).

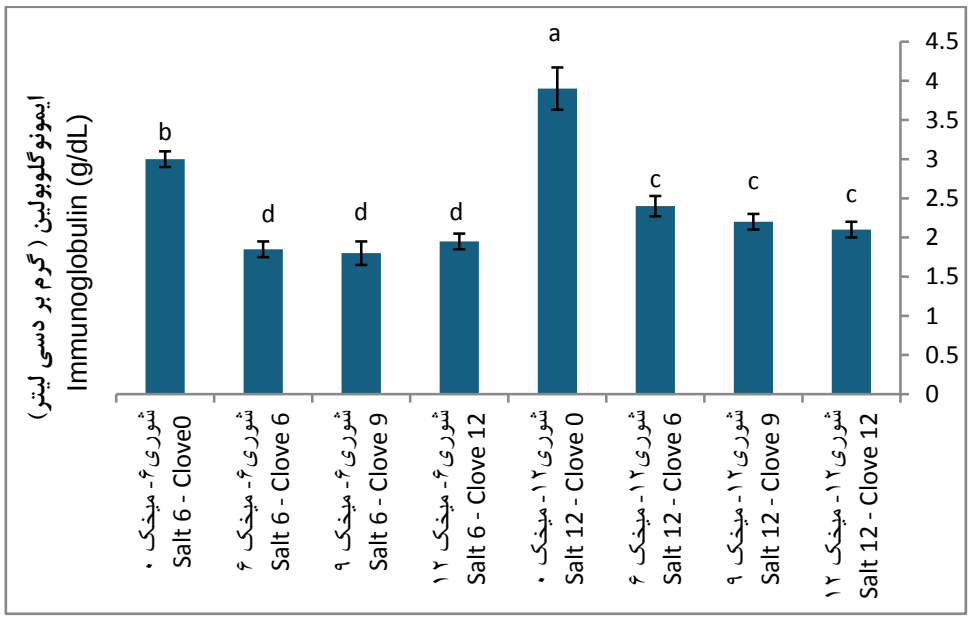
Figure 2. Serum albumin levels (mean ± standard deviation) of common carp fry in treatments with different levels of salinity and clove essential oil.
Unlike letters indicate significant differences (P<0.05).



شکل ۳- میزان پروتئین (میانگین ± انحرف معیار)کل سرم خون بچه‌ماهیان کپور معمولی در تیمارهایی با سطوح مختلف شوری و اسانس میخک.

حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار می‌باشد (P<۰/۰۵).

Figure 3. Total serum protein content (mean ± standard deviation) of common carp fry in treatments with different levels of salinity and clove essential oil.
Different letters indicate significant differences (P<0.05).



شکل ٤- میزان ایمونوگلوبین (میانگین ± انحرف معیار)کل سرم خون بچه‌ماهیان کپور معمولی در تیمارهایی با سطوح مختلف شوری و اسانس میخک.

حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار می‌باشد (P<۰/۰۵).

Figure 4. Immunoglobin levels (mean ± standard deviation) in whole blood serum of common carp fry in treatments with different levels of salinity and clove essential oil.
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 تولیدمثل را به همراه خواهند داشت (۲۹). در واقع افزایش استرس در ماهی سبب القای ترشح هورمون کورتیزول می‌شود و به‌دنبال آن گلوکز پلاسما افزایش می‌یابد (۳۰، ۳۱، ۳۲ و ۳۳). در مطالعه حاضر به‌طورکلی بعد از حمل‌ونقل یک ساعته میزان گلوکز، کورتیزول و پروتئین کل در تیمارهای حاوی اسانس گل میخک نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان فاکتورهای ذکر شده در تیمار ۱۲ میکروگرم بر لیتر مشاهده شد. میزان آلبومین و ایمنوگلوبولین 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 ایمنوگلوبولین در تیمارهای حاوی اسانس میخک نسبت به گروه شاهد در هر دو شوری ٦ و ١٢ 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 (٣٤). در مطالعه افشاری و همکاران (۱۳۹۵) نیز میزان هورمون کورتیزول و گلوکز پلاسما با افزایش شوری افزایش یافت به‌طوری‌که 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 (٣٦). 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 بیوشیمایی سرم شامل پروتئین‌کل و آلبومین و گلوبولین تحت‌تأثیر 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 گلوبولین‌کل خون ماهی باعث می‌شود (۳۸). هم‌چنین پژوهش‌گران بیهوشی با اسانس گل میخک را باعث ایجاد نوعی لمفوپنی در ماهی خاویاری سیبری *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 گلایسین جیره بر عملکرد رشد، استرس و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* در طول حمل‌ونقل انجام شد، نیز هم‌راستا با نتایج مطالعه حاضر بود. طبق نتایج به‌دست آمده مکمل گلایسین به‌طور قابل‌توجهی کورتیزول پلاسما، گلوکز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون-S-ترانسفراز و مالون دی آلدئید را پس از انتقال، به ویژه در ۵ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم، کاهش می‌دهد (۵). مطالعات انجام‌شده 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 ۱۰/٤ میلی‌گرم در لیتر برای حمل‌ونقل ۱۵ ساعته و ۳٦ ساعته، اثرات مطلوب‌تری جهت کنترل استرس دارد (٤۰). در مطالعه حسینی و همکاران (۲۰۲۲) تأثیر استفاده زردچوبه به عنوان کاهنده استرس در زمان حمل‌ونقل در ماهی کپور معمولی، مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج به‌دست آمده از این پژوهش ثابت شد که مکمل زردچوبه به میزان ۱ درصد می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی عالی خوراک به‌منظور بهبود اثرات نامطلوب حمل‌ونقل در کپور معمولی *Cyprinus carpio* استفاده شود (۱). هم‌چنین در مطالعات یعقوبی و همکاران (۱۳۹۲)؛ هانگونو و آرچون (۲۰۰٤) تأثیر بیهوشی میخک اثبات شده است (٤۱ و ٤۲). در مطالعه‌ای دیگر (٤۳) کارایی میخک و تأثیر مثبت آن تأیید شده است. اسانس گل میخک معیارها و خواص یک بیهوش‌کننده خوب را دارا است (٤٤) و به‌عنوان جایگزین مناسب بیهوش‌کننده‌های شیمیایی، در ایران به‌کار برده می‌شود (٤۵). از گل و ساقه میخک (که حاوی ترکیب فنولی اوژنول است)، می‌توان برای بیهوشی در آبزیان استفاده کرد (٤٦ و ٤۷)؛ هم‌چنین در مطالعات یعقوبی و همکاران، (۱۳۹۲)؛ هانگونو و آریچون (۲۰۰٤) و عالیشاهی و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر بیهوشی میخک اثبات شده است (٤۱، ٤۲ و ٤۳). مطابق با گزارش‌های هاشمی و همکاران، (۱۳۹۱)؛ اسمال، (۲۰۰٤)؛ سیمس و همکاران (۲۰۱۱) و باقری و ایمان‌پور (۲۰۱۱) اسانس گل میخک در زمان حمل‌ونقل باعث جلوگیری از استرس حمل‌ونقل می‌شود (۳۲، ٤۸، ٤۷ و ٤۹).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی طبق نتایج به‌دست آمده، استفاده از اسانس گل میخک در سطوح مناسب می‌تواند به‌عنوان آرام‌کننده و کاهنده استرس در شرایط استرس‌زای حمل‌ونقل و شوری استفاده گردد. با توجه به پارامترهای بیوشیمیایی و خونی استفاده از نمک در دوز مناسب ٦ گرم بر لیتر و اسانس میخک در سطح ۱۲ میکرولیتر بر لیتر جهت حمل‌ونقل پیشنهاد می‌گردد. با این وجود، به‌نظر می‌رسد ارائه نتایج دقیق‌تر نیازمند مطالعات بیش‌تر در سطوح بافت‌شناسی و ملکولی می‌باشد.

منابع

1. Hoseini, M., Gupta, S., Yousefi, M., Vladimirovich Kulikov, E., Drukovsky, S., Petrov, A., Taheri Mirghaed, 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.
2. 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.
3. Ross, L. G., & Ross, B. (2008). Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Publishing, 3th Edition. 1 (10), 137-149.
4. 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, 405-412.

5.Hoseini, M., Majidiyan, N., Taheri Mirghaed, A., Hoseinifar, S. H., & Van Doan, H. (2022). Dietary glycine supplementation alleviates transportation-induced stress in common carp, *Cyprinus carpio*, *Aquaculture*, 551.
6.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*, 11, 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, G.A (ed.) Fish Hatchery Management, American Fisheries Society, Bethesda, MD. pp: 641-660.
9.Ataeamehr, 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 fishion regulation and mitochondrion-rich cell. *Comp*. *Biochem*. *Physiol*. *Parta*. 148, 479-497.
11.McFarland, W. N. (1959). A study of the effects of anesthetics on the behavior and physiology of fishes. Publication of iology 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 Ecobiology* - Islamic Azad University, Ahvaz Branch. 5 (18), 23-32.
13.Holloway, A. C., Keene, J., Noakes, D. G., & Moccia, R. D. (2005). Effects of colve oil and MS222 on blood hormone profiles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*. 35, 1025-1030.
14.Tort, L., Puigcever, M., Crespo, S., & Padros, F. (2002). Cortisol and hematological response in sea bream and trout subjected to the anesthetics colve 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, 359-362.
17.Hoseini, S. M., & Jafar Nodeh, A. (2013). Changes in blood biochemistry of common carp *Cyprinus carpio (Linnaeus)*, fllowing 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 Aqueculture Society*. 30, 250-255.
21.King, M. A., Allan, G. L., & Kearney, R.E. (2004). Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and AQUI_S from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aqauaculture*, 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). Inhabitory 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., & Sigismondil. 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.Farhadirad, 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, E. L. R., Rezende, F. P., & Moron, S. E. (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*, 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., Abrishamifar, 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 anaethetics 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.