

تعیین غلظت نیمه‌کشنده (LC₅₀) و بررسی اثر بی‌هوش‌کنندگی اسانس اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) در بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

نرگس بهشتی^۱ سکینه یگانه^{۱*} میلاد عادل^۲

۱) گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲) گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۱۷ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۲۶ تیر ماه ۱۳۹۷)

چکیده

زمینه مطالعه: در دهه اخیر تمایل به استفاده از گیاهان دارویی در صنعت آبزی‌پروری رو به افزایش نهاده است. هدف: این مطالعه، به منظور تعیین غلظت نیمه‌کشندگی (LC₅₀) اسانس اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) در طی مدت زمان ۹۶ h و بررسی اثر بی‌هوشی آن در بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام شد. روش کار: تعیین غلظت نیمه‌کشنده اسانس بر اساس استاندارد OECD و بصورت ساکن انجام شد. برای تعیین LC₅₀، ۱۵۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۱/۹۸ ± ۲۶/۹۶ در ۶ گروه تیمار بندی شدند. بعد از سپری شدن دوره سازش‌پذیری (دو هفته)، بچه‌ماهی‌ها در معرض غلظت‌های مختلف ۷۲/۱۱، ۷۳/۱۱، ۷۴/۱۳، ۷۵/۱۶ mg/l که به روش لگاریتمی محاسبه شدند قرار گرفتند و تغییرات رفتاری و تلفات در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ h پس از در معرض قرار گرفتن با اسانس اسطوخودوس ثبت شد. برای تعیین اثر بی‌هوشی، بچه‌ماهیان کپور معمولی در ۵ گروه ۱۰ تایی در معرض غلظت‌های صعودی (۱۶۰، ۱۶۵، ۱۷۰، ۱۷۵ و ۱۸۰ mg/l) اسانس قرار گرفتند و یک گروه بعنوان شاهد در نظر گرفته شد. نتایج: غلظت نیمه‌کشندگی (LC₅₀) ۹۶ h اسانس اسطوخودوس ۷۰/۹۹ mg/l تعیین گردید. کوتاه‌ترین زمان برای بی‌هوشی کامل (مرحله ۳ بی‌هوشی) در غلظت ۱۷۰ mg/l با زمان بی‌هوشی ۳/۲۵ ± ۰/۷۴ min و زمان احیا کامل ۳/۹۱ ± ۰/۵۵ min بدست آمد که بهترین غلظت بی‌هوشی اسانس اسطوخودوس در این آزمایش تعیین شد. نتیجه‌گیری نهایی: بر اساس نتایج این تحقیق اسانس اسطوخودوس می‌تواند بعنوان بی‌هوش‌کننده بکار برده شود.

واژه‌های کلیدی: اسطوخودوس، بی‌هوشی، تعیین LC₅₀، کپور معمولی

مقدمه

نداشته باشد، دسترسی آسان و سالم بودن برای انسان اشاره کرد (۲۵). اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula angustifolia* از خانواده نعنائیان Labiatea است. گیاهی چندساله به ارتفاع حدود ۰/۵ m می‌رسد، خیلی پرشاخه، ساقه‌های آن ۴ گوش، با برگ‌های متقابل سبز رنگ و پوشیده از کرک‌های سفید پنبه‌ای است و برگ‌های آن در بهار ظاهر می‌شود (۱۷). ترکیبات شیمیایی عمده اسانس اسطوخودوس شامل لینالول (۲۷/۸۹٪)، کامفور (۱۰/۸۲٪)، ۱ و ۸ سینئول (۹/۰۵٪)، آلفا ترپینئول (۵/۰۴٪)، بورنتول (۷/۲۹٪) و استات لینالول (۸/۸۶٪) می‌باشد (۲۹). Santos و Rao در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که ۱ و ۸ سینئول در تست رایذینگ (Writhing) اثر ضد درد در موش سوری دارد. بنابراین با توجه به حضور درصد بالایی از این ماده در اسانس این گیاه ممکن است اثر بیهوشی‌کنندگی داشته باشد (۱۱). همچنین یکی از موارد مهم در انتخاب ماده بی‌هوشی فاصله غلظت مؤثر در بی‌هوشی و غلظت سمیت می‌باشد (۶). در حال حاضر بهترین و متداول‌ترین داروی بی‌هوشی در صنعت تکثیر و پرورش ماهی، تریکلایب متان سولفانات با نام تجاری MS۲۲۲ است. ولی این دارو نسبتاً گران قیمت است و امکان دسترسی آسان به آن در تمام کشورها وجود ندارد (۱۹). پودر گل میخک در آب قابل حل بوده، و به دلیل دسترسی آسان در آبزی‌پروری به صورت

استفاده از مواد بی‌هوش‌کننده در آبزی‌پروری به منظور رقم‌بندی، وزن‌کشی، خون‌گیری، تکثیر مصنوعی و تزریقات هورمونی، حمل و نقل از اهمیت قابل ملاحظه‌ای برخوردار است (۳۲). انتخاب یک ماده بی‌هوشی مؤثر اساساً وابسته به میزان تأثیر آن بر سیستم فیزیولوژی ماهی می‌باشد (۴). این میزان تأثیر وابسته به شاخص‌های محیطی (دما، pH، شوری، سختی) و شاخص‌های بیولوژیکی (طول، وزن و گونه ماهی) می‌باشد (۱۸، ۲۱). در دهه اخیر تمایل به استفاده از گیاهان دارویی در صنعت آبزی‌پروری رو به افزایش نهاده است. یکی از دلایل این امر وجود باقی‌مانده‌های مواد دارویی شیمیایی در بافت آبزیان، امکان مقاومت دارویی و عدم تأثیر مناسب این مواد بر آبزیان از یک سو و وجود اثرات سمی و سرطان‌زا بر روی اکوسیستم زنده و انسان‌ها از سوی دیگر است (۱۶). از جمله معیارهای مورد نظر جهت انتخاب یک ماده بی‌هوش‌کننده می‌توان به: عدم تحرک و شلی عضلات، ایجاد بی‌هوشی کمتر از ۵ min و ترجیحاً کمتر از ۳ min، زمان بازگشت از بی‌هوشی کوتاه (حدود ۵ min یا کمتر) و بدون عوارض جانبی (مشتقات آن به آسانی از بدن خارج شود و بر روی ایمنی و فیزیولوژی ماهی تأثیر منفی



بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تعیین ترکیب شیمیایی و غلظت نیمه کشنده (LC₅₀) ۹۶ h اسانس این گیاه می باشد.

مواد و روش کار

برای انجام این آزمایش ۳۲۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی 1.98 ± 0.26 g از کارگاه پرورش نصر ماهیان شهرستان ساری خریداری و به سالن ونیرو دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل گردیدند. ماهی ها به ظاهر سالم بوده و به مدت ۱۰ روز به منظور سازش پذیری با شرایط در مخازن، با پلت اکستروود ماهی کپور معمولی با قطر 2.5 ± 0.2 mm (کارخانه خوراک دام و آبزیان مازندران) دو بار در روز به میزان ۳٪ وزن بدن در دو نوبت صبح و عصر تغذیه شدند. در این مدت فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب شامل: اکسیژن محلول بوسیله اکسیژن متر CMD ۲۰۰ ساخت انگلیس، pH بوسیله pH متر مدل Sartorius, PB-۱۱، دما بوسیله دماسنج، سختی (TDS) و هدایت الکتریکی (EC) بوسیله EC سنسج مدل Senciun Hach، ساخت آمریکا اندازه گیری شد. در این مدت به منظور حفظ کیفیت آب، تعویض روزانه آب به میزان ۳۰٪ از حجم مخازن انجام می گرفت.

تهیه و سنجش ترکیبات تشکیل دهنده اسانس اسطوخودوس: اسانس اسطوخودوس از شرکت دارویی بارپج اسانس کاشان تهیه شد. جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از دستگاه های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیفسنج جرمی (GC/MS) انجام شد. کروماتوگراف گازی مدل (Agilent USA) ۷۸۹۰N مجهز به دتکتور FID (یونیزاسیون شعله هیدروژن)، ستون ۵M۵-HP به طول ۳۰ m، و قطر داخلی ۰/۲۵ mm بود. ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ μ بود؛ گاز حامل هلیوم و سرعت جریان گاز حامل ۱ ml/min بود. برنامه حرارتی C ۴۰ تا ۲۵۰ با سرعت C/min ۳ و دمای محفظه تزریق C ۲۶۰ بود. کروماتوگراف گازی متصل به طیفسنج جرمی مدل Agilent ۵۹۷۵C، با سیستم تله یونی و ستون ۵M۵-HP به طول ۳۰ m، قطر داخلی ۰/۲۵ mm و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ μ بود. برنامه حرارتی C ۴۰ تا ۲۴۰ با سرعت C/min ۴ بود. گاز حامل هلیوم، سرعت جریان گاز حامل C/min ۱ و انرژی یونیزاسیون در طیفسنج جرمی معادل ۷۰ eV بود. درجه حرارت محفظه تزریق C ۲۶۰ و دمای ترانسفر لاین C ۲۶۰ تنظیم شد (۳۳).

آزمایش تعیین محدوده سمیت و غلظت کشنده (LC₅₀): برای تعیین غلظت نیمه کشنده (LC₅₀) اسانس اسطوخودوس از روش استاندارد Organization Economic Cooperation and Development (OECD) بصورت ساکن استفاده شد که در آن غلظت های اسانس اسطوخودوس در طول دوره آزمایش در محیط آزمایشی ثابت بود. ابتدا در آزمایش پایه از غلظت های ۷۵ mg/l و ۱۰۰ استفاده شد

متداول استفاده می شود (۱۸). با این وجود، گل میخک معایبی نیز دارد. از جمله اینکه شاخص درمانی یا نسبت غلظت درمانی به غلظت سمی آن نسبتاً پایین است به طوری که در مطالعه Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۵ این نسبت برای ماهی قزل آلائی رنگین کمان ۲/۷:۱ تعیین شد. علاوه بر این اسانس میخک روی حس بویایی ماهیان به خصوص آزاد ماهیان اثر منفی دارد (۳۱). مطالعاتی در ارتباط با بی هوشی ماهیان با استفاده از گیاهان دارویی انجام شده است که اگرچه بیشتر مطالعات مربوط به میخک می باشد، اما تعدادی مطالعه در مورد استفاده از سایر گیاهان دارویی برای بی هوشی ماهی وجود دارد، از جمله مطالعات انجام شده می توان به مطالعه Shariphpoor و همکاران در سال ۲۰۰۲ در بررسی اثر درجه حرارت و pH بر بی هوش کنندگی اسانس گل میخک در بچه ماهیان کپور معمولی (۲۵)، Abtahi و همکاران در سال ۲۰۰۲ در بررسی مقایسه غلظت کشنده (LC₅₀) اسانس میخک و تری کابین متان سولفانات در بچه ماهی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۱)، Mohammadi Arani در سال ۲۰۰۶ در بررسی غلظت بهینه بی هوشی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با اسانس میخک (*Eugenia caryophyllata*) (۱۴)، Shariph Rohani و همکاران در سال ۲۰۱۱ در استفاده از اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) در بی هوشی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*) و قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (۲۶)، Akhlaghi و Mirab Brojerdi در سال ۱۹۹۹ در بررسی اثر بی هوش کنندگی و تعیین غلظت کشنده پودر گل میخک در ماهی قزل آلائی رنگین کمان (۲)، Sadigh Eteghad و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثرات بی هوشی عصاره گیاهان سنبل الطیب (*Valeriana officinalis*)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)، خشخاش (*Papaver somniferum*) و شقایق (*Papaver bracteatum*) بر ماهی قرمز حوض (Carassius auratus) (۲۲)، Yeganeh و Maleki در سال ۲۰۱۲ در بررسی اثر بی هوش کنندگی عصاره سنبل الطیب (*Valeriana officinalis*)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) و مریم گلی (*Salvia officinalis*) بر روی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۳۴)، Mousavi و همکاران در سال ۲۰۱۲ در بررسی تعیین محدوده سمیت و غلظت نیمه کشندگی اوژنول در ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) (۱۵)، Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۵ در بررسی سمیت حاد اسانس گل میخک در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۳۱) و Cunha و همکاران در سال ۲۰۱۰ در بررسی اسانس *Lippia alba* در بی هوشی گربه ماهی نقره ای (*Rhamdia quelen*) (۵) اشاره داشت. با توجه به مطالب عنوان شده و امکان استفاده از اسانس اسطوخودوس به عنوان بی هوش کننده، هدف از این تحقیق، بررسی اثرات بی هوشی کنندگی اسانس اسطوخودوس در



جدول ۱. آنالیز مواد تشکیل‌دهنده و میزان (%) آن‌ها در اسانس اسطوخودوس با استفاده از GC/MS.

ترکیبات (%)	ترکیبات (%)	ترکیبات (%)	ترکیبات (%)
۲/۴۸	۳-Cyclohexen-۱-ol, ۴-methyl	۰/۰۸	methyl-۲, Pentene-۱
۲/۴۱	Alpha, Terpineol	۰/۰۷	Tricyclene
۷/۹۳	۱, ۶-Octadien-۳-ol, ۳, ۷-dimethyl	۲/۳۸	Alpha, pinene
۰/۰۵	Trans- Anethole	۰/۸۸	Camphene
۰/۹۱	Lavandulyl Acetate	۲/۷	Bicyclo
۰/۷۵	trans-Caryophyllene	۷/۲۶	beta.-Myrcene
۷/۴۶	trans.-beta.-Farnesene	۷/۴	Delta.۳-Carene
۰/۱۴	Butanoic acid, ۳, ۷-dimethyl	۲۵/۱۴	۱, ۸-Cineole
۰/۶۶	gamma.-Terpinene	۳/۶۴	cis-Ocimene
۰/۲۷	Caryophyllene oxide	۰/۷۴	Alpha, Terpinolene
۰/۲۸	Alpha-Cadinol	۱۸/۲۶	Linalol
۰/۶۱	Alpha-Bisabolol	۷/۲۶	Camphor
		۱/۵۲	Borneol

به تانک‌های دیگری که محتوی آب تازه بدون اسانس همراه با هواده بود منتقل شدند و زمان بازگشت از حالت بی‌هوشی و برگشت به حالت طبیعی توسط کرنومتر دیجیتال ثبت شد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های مربوط به غلظت نیمه‌کشنده‌گی (LC₅₀) اسطوخودوس در طی مدت زمان ۹۶ h با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ پردازش و با استفاده از روش آماری Probit Analysis مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمایش تعیین غلظت بی‌هوشی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و آنالیز داده‌ها پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ و با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) و در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

نتایج

تعیین ترکیب شیمیایی اسانس اسطوخودوس: در آنالیز شیمیایی اسانس اسطوخودوس بکار رفته در این تحقیق که به روش کروماتوگرافی گاز مایع متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) انجام شد، بیشترین مواد تشکیل‌دهنده آن را ۱ و ۸ سینئول (۱,۸-Cineole) به میزان ۲۵/۱۴٪، لینالول (Linalool) به میزان ۱۸/۲۶٪، کامفور (Camphor) به میزان ۷/۲۶٪، بورنئول (Borneol) به میزان ۱۰/۵۲٪ تشکیل می‌دادند. ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس به صورت کامل در جدول ۱ آمده است.

تعیین غلظت نیمه‌کشنده اسانس اسطوخودوس: پس از انجام آزمایش‌های ابتدایی به منظور یافتن محدوده کشنده‌گی اسانس اسطوخودوس بر روی ماهی کپور معمولی غلظت‌های ۷۵-۷۰ mg/l بر اساس روش لگاریتمی به عنوان محدوده کشنده‌گی اسانس اسطوخودوس

که موجب تلفات ۱۰۰٪ ماهیان عرض ۱۲ h گردید. سپس غلظت‌های ۷۵/۱۶ و ۷۴/۱۳، ۷۳/۱۱، ۷۲/۱۱، ۷۱/۱۲ mg/l (رابطه ۱) بین غلظتی که در آن تلفاتی مشاهده نشد (۷۰ mg/l) و غلظتی که صد در صد تلفات طی ۲۴ h (۷۵ mg/l) مشاهده شد، استفاده گردید. در طول دوره آزمایش با هر یک از غلظت‌های ذکر شده تعداد تلفات در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ h پس از مجاورت ماهی با اسانس اسطوخودوس ثبت شد. رابطه ۱:

$$X = (\log C_n - \log C_1) / (n - 1)$$

C_1 = غلظت تیمار اول

C_n = غلظت در تیمار آخر

X = قدر نسبت لگاریتمی

C_p = غلظت در تیمار دوم ($C_p = \text{Anti log} (\log C_1 + X)$)

C_p = غلظت در تیمار سوم ($C_p = \text{Anti log} (\log C_p + X)$)

آزمایش تعیین غلظت بی‌هوشی: بی‌هوش کردن ماهیان به روش

غوطه‌وری صورت گرفت. ابتدا یک آزمایش پایه به منظور تعیین غلظت‌های مناسب اسانس صورت گرفت، که در غلظت‌های کمتر از ۱۶۰ mg/l بی‌حسی را در ماهیان ایجاد نکرد. غلظت‌های تعیین شده، ابتدا به نسبت ۱ به ۱۰ در اتانول ۹۵٪ حل شد. سپس ماهیان (۱۰ قطعه بچه‌ماهی) هر تیمار بطور مجزا به تانک محتوی غلظت مشخص اسانس منتقل شدند. هواده‌ی در تانک‌ها توسط سنگ هوا انجام می‌شد. بچه‌ماهیان ۲۴ h قبل از انجام شروع آزمایش غذادهی نشدند. آزمایش در ۶ تیمار با غلظت‌های مختلف ۰، ۱۶۰، ۱۶۵، ۱۷۰، ۱۷۵ و ۱۸۰ اسانس اسطوخودوس با سه تکرار انجام شد. زمان شروع بی‌هوشی (توقف حرکت سرپوش آبششی و رفتن به کناره‌های ظرف)، زمان بی‌هوشی کامل (مرحله ۳ بی‌هوشی: شناور شدن و توقف ماهی در کف تانک) و زمان بازگشت از بی‌هوشی (تحرك مجدد سرپوش آبششی و شنای فعال) ثبت شد (۳۱). سپس ماهیان بی‌هوش شده



جدول ۲. غلظت‌های ایجادکننده ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۹۹٪ تلفات پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ h مجاورت با اسانس اسطوخودوس در بچه‌ماهی کپور معمولی.

غلظت‌کشنده	غلظت‌کشنده ± خطای معیار (SE) (mg/l) (سطح اطمینان ۹۵٪)			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
LC ₁₀	۲۲/۳۵±/۱۳۹	۷۱/۹۵±/۱۴۴	۷۰/۹۹±/۴۳۶	۶۹/۹۰±/۲۳۵
LC _{۲۰}	۲۳/۲۳±/۱۳۹	۷۲/۷۸±/۱۴۴	۷۱/۳۸±/۴۳۶	۷۰/۵۴±/۲۳۵
LC _{۵۰}	۲۳/۸۵±/۱۳۹	۷۳/۳۶±/۱۴۴	۷۱/۶۵±/۴۳۶	۷۰/۹۹±/۲۳۵
LC _{۷۰}	۲۴/۴۷±/۱۳۹	۷۳/۹۳±/۱۴۴	۷۱/۹۲±/۴۳۶	۷۱/۴۳±/۲۳۵
LC _{۹۰}	۲۵/۳۶±/۱۳۹	۷۴/۷۷±/۱۴۴	۷۲/۳۱±/۴۳۶	۷۲/۰۷±/۲۳۵
LC _{۹۹}	۲۶/۵۶±/۱۳۹	۷۵/۹۲±/۱۴۴	۷۲/۸۴±/۴۳۶	۷۲/۹۶±/۲۳۵

جدول ۳. میانگین (± انحراف معیار) زمان شروع بی‌هوشی، بی‌هوشی کامل (مرحله ۳ بی‌هوشی) و بازگشت از بی‌هوشی در طی مجاورت ماهی کپور معمولی با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

تیمارها (mg/l)	متوسط زمان شروع بی‌هوشی (min)	متوسط زمان بی‌هوشی کامل (min)	متوسط زمان برگشت از بی‌هوشی (min)
صفر (شاهد)	۲/۴۳±/۲۸ ^a	۴/۳۷±/۵۰ ^a	۴/۵۱±/۳۵ ^b
۱۶۰	۲/۵۱±/۲۹ ^a	۴/۴۱±/۵۷ ^a	۲/۹۲±/۷۸ ^c
۱۶۵	۲/۲۳±/۴۷ ^a	۳/۷۴±/۳۵ ^b	۳/۹۱±/۵۵ ^b
۱۷۰	۲/۲۱±/۳۱ ^a	۴/۰۱±/۴۳ ^{ab}	۵/۳۱±/۶۵ ^a
۱۷۵	۲/۲۶±/۱۲ ^a	۳/۷۶±/۴۷ ^b	۵/۵۴±/۸۲ ^a

۱۶۵ کمترین میانگین زمان بازگشت از بی‌هوشی $2/92 \pm 0.78$ min و در غلظت 180 mg/l بیشترین میانگین زمان بازگشت از بی‌هوشی مشاهده شد ($P < 0.05$). میانگین مدت زمان بازگشت از بی‌هوشی در غلظت 170 mg/l، $3/91 \pm 0.55$ min بود که با غلظت 160 mg/l تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$). میانگین زمان بازگشت از بی‌هوشی در غلظت‌های 175 و 180 mg/l با هم تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$)، اما با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($P < 0.05$).

بحث

استفاده از هر ماده بی‌هوش‌کننده جدید و جایگزینی آن برای استفاده در سیستم بیولوژیک نیاز به تعیین میزان سمیت آن ماده دارد. در تحقیق حاضر غلظت نیمه‌کشنده (LC_{50}) 96 h اسانس اسطوخودوس در ماهی کپور معمولی $70/99$ mg/l بدست آمد. برای تقسیم‌بندی مواد و فرآورده‌های دارویی از نظر سمیت از LC_{50} 48 h استفاده می‌شود (۱۶). LC_{50} 48 h اسانس اسطوخودوس در بچه‌ماهی کپور معمولی در این مطالعه ($173/36$ mg/l) نشان داد که اسانس اسطوخودوس از سمیت متوسط برخوردار است (جدول ۴). در بچه‌ماهیان در معرض اسانس اسطوخودوس، تیره‌شدن پوست، افزایش موکوس سطح بدن و تیغه‌های آبششی، افزایش تعداد دفعات باز و بسته شدن سرپوش آبششی مشاهده شد. افزایش ترشح موکوس در سطح آبشش مانع انتقال اکسیژن به مویرگ‌های آبششی گردیده و با ایجاد اختلال تنفسی، موجب تلفات بچه‌ماهی‌ها می‌شود (۲۶). در مطالعه Abtahi و همکاران در سال روی سه گونه قزل‌آلای

در زمان‌های 24 ، 48 ، 72 و 96 تعیین گردید. غلظت 70 mg/l اسانس اسطوخودوس تا 96 h هیچ‌گونه تلفاتی را به همراه نداشت. در غلظت 75 mg/l تمام ماهیان در 24 h اول تلف شدند. علایم رفتاری مشاهده‌شده در بچه‌ماهیان در معرض اسانس شامل تیره‌شدن پوست، افزایش موکوس سطح بدن و تیغه‌های آبششی، افزایش تعداد دفعات باز و بسته شدن سرپوش آبششی بود. غلظت $71/12$ mg/l تا 72 h هیچ تلفاتی نداشت. غلظت $75/16$ mg/l در 24 h اول و $74/13$ mg/l در 48 h اول همه ماهی‌ها تلف شدند. غلظت نیمه‌کشنده (LC_{50}) 96 h اسانس اسطوخودوس برای بچه‌ماهی کپور معمولی $70/99$ mg/l تعیین شد (جدول ۲).

تعیین غلظت بی‌هوشی: بر اساس نتایج حاصله (جدول ۳) هیچ مرگ و میر یا عوارض جانبی تا 24 h بعد از بازگشت از بی‌هوشی مشاهده نشد. میانگین زمان بی‌هوشی کامل و بازگشت از بی‌هوشی در بین غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس، اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). میانگین زمان بی‌هوشی کامل در کمترین غلظت مورد استفاده (160 mg/l) $4/37 \pm 0.50$ min و در بیشترین غلظت مورد استفاده (180 mg/l) $3/76 \pm 0.47$ min بود ($P < 0.05$). کمترین میانگین مدت زمان بی‌هوشی کامل در غلظت 170 mg/l ($3/74 \pm 0.35$ min) که با غلظت‌های 175 و 180 mg/l تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). بیشترین میانگین مدت زمان بی‌هوشی کامل در غلظت 165 mg/l، $4/41 \pm 0.57$ min به دست آمد که با غلظت‌های 160 و 175 mg/l تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). در کمترین غلظت استفاده شده از اسانس اسطوخودوس (160 mg/l) میانگین زمان بازگشت از بی‌هوشی $4/51 \pm 0.33$ min و در بیشترین غلظت مورد استفاده (180 mg/l) $5/54 \pm 0.82$ min بود ($P < 0.05$). در غلظت 175 mg/l



جدول ۴. تقسیم‌بندی میزان سمیت مواد و فرآورده‌های دارویی بر اساس LC₅₀ بر حسب mg/l پس از ۴۸ h (۱۵).

محدوده غلظت نیمه‌کشنده (LC ₅₀)	میزان سمیت mg/l
LC ₅₀ < ۱۰۰۰ < LC ₅₀ > ۱۰۰۰	سمیت خیلی کم
LC ₅₀ < ۱۰۰ < LC ₅₀ > ۱۰	سمیت کم
LC ₅₀ < ۱۰ < LC ₅₀ > ۱	سمیت متوسط
LC ₅₀ < ۱ < LC ₅₀ > ۰/۱	سمیت زیاد
LC ₅₀ < ۰/۱	سمیت خیلی زیاد
	بی‌نهایت سمی

از طریق رشته‌های آیششی جذب شده و وارد شریان می‌شود، سپس روی سیستم عصبی مرکزی تأثیر گذاشته و ماهی را بی‌هوش می‌کند (۱۸، ۲۱). بی‌هوش‌کننده‌های مختلف اثرات متفاوتی بر گونه‌های ماهی با شرایط متفاوتی از نظر سن، اندازه و جنس دارند، شرایط محیطی مانند شوری، دمای آب، مقدار اکسیژن محلول و pH در واکنش ماهی نسبت به ماده بی‌هوش‌کننده مؤثر می‌باشد (۳۵). اسانس اسطوخودوس رسپتور-هایی که در پیاز بویایی قرار دارند را تحریک کرده و پیام بویایی را به دستگاه لیمبیک منتقل می‌کند. سیستم لیمبیک مرکز احساس مغز است که می‌تواند در پاسخ به استرس انکفالین، اندورفین و سروتونین ترشح شود و در ایجاد حس آرامش مؤثر باشد (۳۳). با توجه به نتایج بدست آمده از این آزمایش، اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های مختلف مورد استفاده، بی‌هوشی را در کمتر از ۵ min در بچه‌ماهی کپور معمولی القا کرده و زمان بازگشت از بی‌هوشی در غلظت‌های ۱۶۰، ۱۶۵ و ۱۷۰ mg/l اسانس در کمتر از ۵ min اتفاق افتاد، بنابراین می‌توان گفت که اسانس اسطوخودوس می‌تواند بعنوان یک ماده بی‌هوشی جدید مورد استفاده قرار بگیرد. اثر بی‌هوش‌کنندگی اسانس اسطوخودوس ممکن است به حضور مقدار زیاد ۱ و ۸ سینئول در آن مرتبط باشد (۱۱). در این مطالعه، غلظت مؤثر بی‌هوشی اسانس اسطوخودوس ۱۷۰ mg/l بدست آمد که بی‌هوشی را در مدت زمان ۰/۳۵ ± ۳/۷۴ min و زمان بازگشت از بی‌هوشی را در مدت زمان ۰/۵۵ ± ۳/۹۱ min در بچه‌ماهی کپور معمولی القا کرد. این در حالی است که در غلظت پایین‌تر با غلظت ۱۶۵ mg/l، بیشترین میانگین زمان ۰/۵۷ ± ۴/۴۱ min برای رسیدن به بی‌هوشی کامل بدست آمد. کم‌ترین زمان بی‌هوشی و احیا در این تحقیق، به ترتیب از غلظت‌های ۱۷۰ و ۱۶۵ mg/l با میانگین زمان ۰/۳۵ ± ۳/۷۴ و ۲/۹۲ ± ۵/۷۸ بدست آمد. همچنین بیشترین زمان بی‌هوشی و احیا به ترتیب از غلظت‌های ۱۶۵ و ۱۸۰ mg/l با میانگین زمان ۰/۵۷ ± ۴/۴۱ و ۰/۸۲ ± ۵/۵۴ بدست آمد. با افزایش مقدار اسانس، مدت زمان بازگشت از بی‌هوشی نیز افزایش یافت. در این راستا، Shariphpoor و همکاران در سال ۲۰۰۲ با بررسی غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ mg/l اسانس گل میخک روی ماهی کپور معمولی نشان دادند که در تمام غلظت‌های اسانس گل میخک، بی‌هوشی در کمتر از ۳ min ایجاد شد، ولی زمان بازگشت تعادل و بازگشت به محرک خارجی در بیشتر موارد طولانی‌تر و بیشتر از ۵ min بود که دلیل آن را در تأثیر بازدارندگی اسانس گل میخک بر سیستم تنفسی ماهی و کاهش میزان تنفس و به تبع آن کاهش توانایی دفع ماده بی‌هوشی از سیستم آبخش ماهی دانستند (۲۵). Soltani و همکاران در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که استفاده از غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ mg/l اسانس و عصاره میخک پس از ۲۱۰-۱۶۶ و ۹۹-۷۷ s به ترتیب موجب بی‌هوشی کامل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای ۱۵°C و pH برابر ۷ گردید (۱۹). Roohi و Imanpoor در سال ۲۰۱۴ با بررسی اثر بی‌هوش‌کنندگی

رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزن ۴/۱ g، تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با میانگین وزنی ۴/۳ g و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با میانگین وزنی ۳/۸ g، غلظت سمی برای اسانس گل میخک در گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان ۱۹۹ mg/l، برای کپور معمولی ۲۷۱ mg/l و برای تاس‌ماهی ایرانی ۲۹۷ mg/l مشخص گردید (۱). در مطالعه Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۵ مقادیر LC₅₀ h ۹۶ اسانس میخک برای ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۱۵ g، ۱۸/۱۰ تعیین گردید (۳۱)، که اختلاف در غلظت کشنده مشاهده شده در مطالعات انجام شده ممکن است به دلیل عواملی چون گونه، اندازه و سن ماهی، درجه حرارت و کیفیت آب متفاوت باشد (۱۳). Shariph Rohani و همکاران در سال ۲۰۱۱، در بررسی غلظت نیمه‌کشنده اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) روی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی ۵ g، مقدار LC₅₀ h ۹۶ اسانس آویشن شیرازی را ۱۳/۶ mg/l تعیین کردند (۲۶). Macova و همکاران در سال ۲۰۱۱، در بررسی غلظت نیمه‌کشنده (LC₅₀) h ۹۶ اسانس گل میخک روی ماهی گورخری (*Danio rerio*) ۱۸/۲ mg/l و در ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*)، ۲۱/۷ mg/l تعیین کردند (۱۳). در مطالعه حاضر غلظت نیمه‌کشنده (LC₅₀) h ۹۶ اسانس اسطوخودوس ۷۰/۹۹ mg/l بدست آمد.

ترکیب شیمیایی اسانس اسطوخودوس و تأثیر آن در بی‌هوشی:

در این مطالعه ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس اسطوخودوس شامل ۱ و ۸ سینئول (Cineole-۱،۸) به میزان ۲۵/۱۴٪، لینالول (Linalol) به میزان ۱۸/۲۶٪، کامفور (Camphor) به میزان ۷/۲۶٪، بورنتول (Borneol) به میزان ۱۰/۵۲٪ می‌باشد. طبق گزارش Taha Nejad در سال ۲۰۱۲، ترکیبات شیمیایی عمده اسانس اسطوخودوس شامل لینالول (۲۷/۸۹٪)، کامفور (۱۰/۸۲٪)، ۱ و ۸ سینئول (۹/۰۵٪)، آلفا ترپینئول (۵/۰۴٪)، بورنتول (۷/۲۹٪) و استات لینالول (۸/۸۶٪) می‌باشد. فاکتورهای مختلف محیطی از قبیل میزان مواد غذایی موجود در خاک، شرایط اقلیمی منطقه کاشت (ارتفاع، دما و بارندگی) و زمان برداشت از عوامل مهم تأثیرگذار روی میزان ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده گیاه می‌باشند (۳۳). بی‌هوشی معمولاً با غوطه‌وری ماهی، در محلول بی‌هوشی انجام می‌شود و ماده بی‌هوش‌کننده



و ضربان قلب می‌باشد که منجر به تأثیر سیستمیک آن و ماندگاری بیشتر اوژنول در سیستم عروقی می‌گردد (۹).

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت ۱۷۰ mg/l اسانس اسطوخودوس می‌تواند برای بی‌هوشی بچه‌ماهی کپور معمولی به کار رود و به عنوان ماده بی‌هوشی جدید معرفی شود. شرایط متفاوت از نظر گونه، جنس و شرایط محیطی بر غلظت مؤثر در بی‌هوشی مؤثر می‌باشد، لذا تعیین آن برای هر گونه نیاز به بررسی دارد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش بررسی اثرات این اسانس روی شاخص‌های خونی، استرس و بیوشیمیایی سرم و نیز باقیمانده بافتی اسانس اسطوخودوس به لحاظ بهداشت گوشت ماهی به طریقه کروماتوگرافی گازی و بررسی اثرات احتمالی پاتولوژیک این اسانس بر روی بافت‌های آبشش و پوست می‌تواند توصیه شود.

تشکر و قدردانی

از آقای مهندس خسرو جانی خلیلی به جهت کمک‌های ایشان در انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Abtahi, B., Shariph poor, A., Aghajanpoor, M., Rasooli, A., Faghieh Zadeh, S., Omid Baigi, R., Mohammad Nazari, R. (2002) Compared LC50 clove oil (*Eugenia caryophyllata*) and MS222 in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*). Iran Sci Fish. J. 11(3): 1-12.
2. Akhlaghi, M., Mirab Brojerdi, M. (1999) Anesthetic effect of clove tree and LC50 determination in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J Vet Res. 54 (2): 49-52.
3. Bagheri, M., Soltani, R., Haj Hashemi, R., So-hailipoor, S., and Asghari, GH. (2013) Effect of Lavender Essential Oil on Pain Using Aromatherapy. J Islamic and Iran Traditional Med. 3(4): 483-488.
4. Burka, J. F., Hammell, K. L., Horsberg, T. E., Johnson, G. R., Rainnie, D. J., Speare, D. J. (1997) Drugs in salmonid aquaculture - a review. J Vet Pharmacol Ther. 20: 333-349.
5. Cunha, M. A., Barros, F. M., Lima Veek, P., Heinzmann, B. M., Loro, V. L. (2010) Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. Short communication.

اسانس نعناع و متیل سالیسیلات (methyl salicylate) روی ماهی کپور معمولی غلظت مناسب بی‌هوشی را به ترتیب ۵ ml/l و ۳ بیان کردند (۲۰). در مطالعه Mousavi و همکاران در سال ۲۰۱۲ غلظت‌های مورد مطالعه (۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/l) باعث اختلالاتی در تنفس گردید که می‌تواند بدلیل اثرات اوژنول بر سیستم عصبی ماهی و کاهش فعالیت تنفسی ماهی باشد. در این مطالعه غلظت ۴۰ mg/l اوژنول بهترین غلظت برای بی‌هوشی ماهی بنی (*Barbus sharpeii*) تعیین شد (۱۶). Tamaru و همکاران در سال ۱۹۹۵ بیان کردند که با افزایش غلظت دارو مدت زمان رسیدن به مرحله بی‌هوشی عمیق کاهش می‌یابد که نتایج مطالعه حاضر نیز همسو با نتایج این محققین می‌باشد (۲۸). Hajek و همکاران در سال ۲۰۰۶ در مطالعات خود دریافتند که افزایش غلظت باعث کند شدن فرایند تنفسی توسط ماهی و طولانی‌تر شدن مدت زمان برگشت از بی‌هوشی می‌شود (۱۰). Keene و همکاران در سال ۱۹۹۸ القای بی‌هوشی با عصاره گل میخک را در قزل‌آلای رنگین‌کمان در غلظت ۶۰-۴۰ mg/l، ۴۰ min و ۳-۴ و مدت زمان برگشت از بی‌هوشی را ۱۴-۱۲ min گزارش کردند (۱۲). Griffiths در سال ۲۰۰۰ و Mohammad Arani در سال ۲۰۰۶ نتایج مشابهی را در مطالعه روی عصاره میخک به‌دست آوردند و به این نتیجه رسیدند که هر چه غلظت و مدت زمان قرارگیری ماهی در آب حاوی مواد بی‌هوش‌کننده بیشتر باشد، مرحله شروع بی‌هوشی سریع‌تر و مرحله بازگشت از بی‌هوشی آهسته‌تر اتفاق می‌افتد (۸، ۱۴). Grush و همکاران در سال ۲۰۰۴ دریافتند که غلظت ۶۰-۴۰ mg/l اوژنول باعث بی‌هوشی سریع در گونه Zebra fish (*Danio rerio*) می‌شود (۹). مطالعات Gomes و همکاران در سال ۲۰۰۱ روی ماهی Tambaqui (*Colossoma macropomum*) نشان داد که مدت زمان بازگشت از بی‌هوشی در ماهیانی که تحت تأثیر مقدار بالایی از ماده بی‌هوشی بنزو کائین قرار گرفتند، بالاتر است (۸/۹ min)، اما در مقادیر پایین‌تر از ۵۰ mg/l این میزان ۱/۰۲±۲/۶ بود (۷). در مطالعه Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان شد که زمان بازگشت از بی‌هوشی ماهی کپور معمولی در غلظت‌های پایین ۳۰ mg/l در مدت زمان حدود ۱۵ min و در غلظت‌های بالا بتدریج با افزایش میزان غلظت تا ۹۰ mg/l این میزان افزایش یافته و به ۳۰ min رسید و با افزایش غلظت به ۱۰۰ mg/l، بازگشت از بی‌هوشی اتفاق نیفتاد و گزارش شد که زمان بازگشت از بی‌هوشی در ماهیانی که بیشتر از ۱۵ min در معرض ماده بی‌هوشی قرار گیرند، زمان بازگشت از بی‌هوشی طولانی‌شده و مرگ افزایش می‌یابد (۳۱)، که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی (با افزایش غلظت اسانس، زمان احیا افزایش یافت) دارد. در مطالعه Grush و همکاران در سال ۲۰۰۴، با افزایش غلظت اسانس میخک (در محدوده ۶۰ ppm تا ۱۰۰)، زمان بازگشت از بی‌هوشی افزایش یافت. به نظر می‌رسد افزایش مدت زمان بازگشت از بی‌هوشی به دلیل تأثیر ماده بی‌هوشی بر سیستم تنفسی و عروقی و در نتیجه کاهش نرخ تنفس



- Aquaculture. 306: 403-406.
6. Ghaffari, M., Khosravani Zadeh, A. (2012) Effect of clove oil (*Eugenia caryophyllata*) essence loaded on iron nanoparticles on aminotransferase enzymes and some tissues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J Comp Pathol. 9 (4): 827-836.
 7. Gomes, L. C., Chiparri-Gomes, A. R., Lopes, N. P., Roubach, R., Araujo-Lima, C. A. R. M. (2001) Efficacy of benzocaine as an anaesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. J World Aquac Soc. 32: 426-431.
 8. Griffiths, S. P. (2000) The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. J Fish Biol. 57(6): 1453-1464.
 9. Grush, J., Noakes, D. L. G., Moccia, R. D. (2004) The efficacy of clove oil as an anesthetic for the zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). Zebrafish. 1(1): 46-53.
 10. Hajek, G. J., Keyszejko, B., Dziaman R. (2006) The anaesthetic effect of clove oil on common carp, *Cyprinus carpio* L. Acta Ichthyol. Piscat. 36(2): 93-97.
 11. Juergens, U. R., Stober, M., Kleuver, T., Vetter, H. (1998) Antiinflammatory effects of euclyptol (1,8-cineole) in bronchial asthma: inhibition of arachidonic acid metabolism in human blood monocytes ex vivo. European J Med Res. 3: 407-412.
 12. Keene, J. L., Noakes, D. L. G., Moccia, R. D., Soto, C. G. (1998) The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquac Res. 29(2): 89-101.
 13. Macova, S., Dolezelova, P., Plhalova, L., Pistekova, V., Svobodova, Z. (2011) The acute toxicity of clove oil to fish *Danio rerio* and *Poecilia reticulata*. Acta Vet Brno. 80: 305-308.
 14. Mohammadi Arani, M. (2006) Study on anesthetization of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fingerlings using clove (*Eugenia caryophyllata*) oil. Iran J Med Aromat Plants. 22(3): 188-192.
 15. Mousavi, S. M., Majdi Nasab, E., Yavari, V., Rajabzadeh Ghatarami, E., Razi Jalali, M. (2012) Determination of toxicity and mean lethal concentration (LC50) of Eugenol on *Barbus sharpey* Iran. J Med Aromat Plants. 29 (3): 551-560.
 16. Mousavi, S. M., Mirzargar, S. S., Ebrahim Zadeh, H., Khosravi, A., Bahonar, A., Ahmadi, M. R. (2009) Evaluation of antifungal activity of new combined essential oils in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs. J Fish Aquat Sci. 4(2): 103-110.
 17. Nasiri moghaddam, H., Bidar, N., Hassanabadi. (2012) The effect of the effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil on performance and blood metabolites of broiler chicks. Iran. J Animal Sci Res. 4 (2): 115-121.
 18. Okey, I. B., Keremah, R. I., Gabriel, U. U. (2018) The efficacy of clove (*Eugenia caryophyllata*) powder as anaesthesia on African catfishes (*Clarias gariepinus* and *Heterobranchus bidorsalis*) fingerlings. J Aquac Mar Biol. 7(4): 182-188.
 19. Pirhonen, J., Schreck, C. B. (2003) Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO2 on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 220: 507-514.
 20. Roohi, Z., Imanpoor, M. (2014) The efficacy of the oils of spearmint and methyl salicylate as new anesthetics and their effect on glucose levels in common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) juveniles. Aquaculture. 437: 327-332.
 21. Ross, L.G., Ross, B. (2008) Anesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals. (3rd ed.) Blackwell Publishing Editorial Office, London, UK. 221 p.
 22. Sadigh Eteghad, S., Ghavami, S., Mortazavi, J., Mirzaei, H. (2008) Comparative survey on anesthetizing effects of medicinal herbs *Valerian officinalis*, *Melissa officinalis*, *Papaver somniferum* and *Papaver bracteatum* on gold fish (*Carassius auratus*). Iran Sci Fish J. 17 (1): 91-98.
 23. Saeedi, K. A., Sayedi, F. S., Kiani, M. (2016) Evaluation of essential oil content and composition of some improved cultivars of chamomile, moldavian dragonhead and fennel in Shahrekord climate condition. Agric Crop Manage. 17(4): 1101-1109.
 24. Santos, F. A., Rao, V. S. (2000) Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of 1.8-cineole a



- terpenoid oxide present in many plant essential oils. *J Phytother Res.* 4:240-244.
25. Sharifphoor, A., Soltani, M., Abdolhay, H., Ghaumi, R. (2002) Effect of clove oil (*Eugenia caryophyllata*) at different pH and °C in comoon carp (*Cyprinus carpio*) finger lings. *Iran Sci Fish J.* 11(4): 59-74.
 26. Sharif Rohani, M., Haghghi, M., Assaeian, H. (2011) The lethal concentration (LC50) of *Zataria multiflora* essential oil in fries of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iran Sci Fish J.* 20(2): 89-96.
 27. Soltani, M., Omidbeigi, R., Rezvani, S., Meh-rabi, M. R., Chitsaz, H. (2001) Study of Anes-thetic effects induced by clove flower (*Eugenia caryophyllata*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under various water quality conditions. *J Fac Vet Med.* 56 (4): 85-89.
 28. Tamaru, C. S. C. C., Trickand, W. J., Gerald, F. (1995) Clove oil, minyak cengkeh, a natural fish anesthices sustainable aquaculture. *Voail. Pro-ceeding of the pacon conference on sustainable Aquaculture.* 955: 265-371.
 29. Taha Nejad, M., Barzegar, M., Sahari, M. A., Naghdi badi, H. A. (2012) Evaluation of antioxi-dant of essential oil (*Lavandula angustifolia*) in crude Soybean oil system. *J Med Aromat Plants.* 11 (1): 127-140.
 30. Vakilian, K., Karamat, A., Mousavi, A., Shariati, M., Ajami, M.E., and Atarha, M. (2011) The ef-fect of Lavender essence via inhalation method on labor pain. *Shahrekord. J Uni Med Sci.* 14(1): 34-40.
 31. Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Groch, L., Nepej CHalova, L. (2005) Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Vet Med-Czech.* 50(6): 269- 275.
 32. Weber, R. A., Peleteiro, J. B., García Martín, L. O., Aldegunde, M. (2009) The efficacy of 2-Phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858). *Aquacul-ture.* 288: 147-150.
 33. Yazdani, D., Jamshidi, A. H., Mojab, F. (2002) Comparison amount of menthol and essential oil in peppermint (*Mentha piperita*) plant in differ-ent parts of the country. *J Med Plants.* 3: 73-78.
 34. Yeganeh, S., Maleki, P. (2012) Comparison of anesthetic effects produced by extracts of *Vale-riana officinalis*, *Melissa officinalis* and *Salvia officinalis* on common carp (*Cyprinus carpio*). *J Aquat exploit Cultiv.* 2(2): 65-77.
 35. Zahl, I. H., Kiesling, A., Smuelsen, O. B., Hensen, M. K. (2009) Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*)-Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, tem-perature and stress. *Aquaculture.* 295: 52-59.



Determination of Mean Lethal Concentration (LC₅₀) and Anaesthetic Effect of Topped Lavender Essential Oil (*Lavandula angustifolia*) on Common Carp (*Cyprinus carpio*) Juvenile

Beheshti, N.¹, Yeganeh, S.^{1*}, Adel, M.²

¹Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

²Department of Aquatic Animal Health and Diseases, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

(Received 7 May 2018, Accepted 17 July 2018)

Abstract:

BACKGROUND: In recent years, medicinal plants have become an important option for use in aquaculture industry. **OBJECTIVES:** This study was conducted to determine mean lethal concentration (LC₅₀) and investigated the anesthetic effect of Topped lavender essential oil (*Lavandula angustifolia*) on common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. **METHODS:** Mean lethal concentration of essential oil was calculated based on the OECD (Organization Economic Cooperation and Development) standard in static system. For determining LC₅₀, 150 common carp juveniles with mean body weight of 26.96 ± 1.98 g were used in 6 groups and one control group and each group with three replications (7 juveniles were used for each replication). After Compatibility period (about 2 weeks), juveniles were exposed to different concentrations including 71.12, 72.11, 73.11, 74.13, 75.16 mg/l that were calculated by logarithmic formula. Juvenile behavioral changes and mortality were recorded in the time period at 24, 48, 72 and 96 hours after exposed to Topped lavender essential oil. Determination of Topped lavender essential oil anesthetic effect was done in 6 groups (with 3 replicates), as 10 fish exposed to increasing concentrations including 0 (control), 160, 165, 170, 175 and 180 mg/l. **RESULTS:** Mean lethal concentration (LC₅₀) after 96 hours was obtained 99.70 mg/l. The lowest time for completion of anesthesia (stage 3 anesthesia) was obtained at a concentration of 170 mg/l with 3.74± 0.35 min and the full recovery of this concentration was obtained at 3.91±0.55 min. The results showed that the best anaesthetic concentration of Topped lavender essential oil was 170 mg/l. **CONCLUSIONS:** It seems that Topped lavender essential oil could be used as anesthetic agent.

Keyword: Topped lavender, Essential oil, Anaesthetic, LC₅₀, *Cyprinus carpio*

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Ingredient analysis and their amount (%) in Topped Lavender essential oil using GC/MS.

Table 2. The dosage for 10, 30, 50, 70, 90 and 99 % mortality after 24, 48, 72 and 96 h exposure to Topped Lavender essential oil in Common carp Juvenile.

Table 3. Mean (± STD) time to start of anesthesia, completion (step 3 of anesthesia) of anesthesia and recovery time during exposure to different levels of Lavender essential oil in Common Carp Juvenile. Different letters in each column show significant difference (P< 0.05).

Table 4. Toxicity classification of materials and medicinal products based on LC₅₀ (mg/l) after 48h (17).



*Corresponding author's email: s.yeganeh@sanru.ac.ir, Tel: 011-33687574, Fax: 011-33687715

J. Vet. Res. 73, 3, 2018