دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی"
دوره اول، شماره اول، بهار ۹۲
http://jair.gonbad.ac.ir

اثر غلظت‌های مختلف یوجینول و زمان بیهوشی بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

*سیدمرتضی حسینی[1] و ملیکا قلیچ پور[2]
[1]دانشجوی دکتری؛ دانشکده شیلات و محیطزیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان، گرگان
[1]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، دانشکده شیلات و محیطزیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان، گرگان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۲۷

چکیده

در این تحقیق اثر دوزهای مختلف یوجینول و زمان بیهوشی بر کورتیزول و گلوکز خون ماهی قرمز (*C. auratus*) مورد بررسی قرار گرفت. ماهیان قرمز در معرض غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ قسمت در میلیون یوجینول به‌مدت ۴۰-۳۶۰ ثانیه قرار گرفتند و خونگیری شدند. در آزمایشی دیگر، ماهیان در معرض غلظت ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ و ۱۷۵ قسمت در میلیون یوجینول قرار گرفتند و پس از رسیدن به مرحله ۴ و ۵ بیهوشی، زمان بیهوشی ثبت و ماهیان خونگیری شدند. نمونه‌های خون جهت تعیین سطوح کورتیزول و گلوکز و بررسی ارتباط بین این شاخص‌ها و زمان بیهوشی و یا غلظت یوجینول استفاده شدند. در غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ قسمت در میلیون، سطوح کورتیزول و گلوکز خون به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر مدت زمان بیهوشی بود. در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۲۵ قسمت در میلیون، سطوح کورتیزول و گلوکز خون به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر مدت زمان بیهوشی، غلظت یوجینول و برهمکنش آنها بود. در غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون تنها کورتیزول خون با افزایش زمان بیهوشی افزایش معنی‌دار داشت ولی تغییری در گلوکز خون مشاهده نگردید. بررسی همبستگی کورتیزول و گلوکز خون با زمان بیهوشی و غلظت یوجینول حاکی از این بود که زمان بیهوشی عامل کلیدی تعیین کننده سطوح این مولفه‌های خونی می‌باشد. زمان بیهوشی نسبت به غلظت ماده بیهوشی تاثیر بیشتری در تعیین سطوح کورتیزول و گلوکز خون ماهی قرمز دارد. بر این اساس، ماهی قرمز باید با استفاده از غلظت‌های بالای یوجینول در زمان کوتاه بیهوش و خونگیری شود تا حداقل استرس به آن وارد شود.

***واژه‌های کلیدی*: ماهی قرمز، بیهوشی، کورتیزول، گلوکز، یوجینول**

*مسئول مکاتبه: seyyedmorteza.hoseini@gmail.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

مقدمه

بررسی تغییراتِ مؤلفه‌های خونی، یکی از روش‌های ارزیابیِ وضعیت فیزیولوژیکی در ماهیان بوده و برای مطالعات خون‌شناسی در ماهیان، نیاز به بیهوشی و خون‌گیری از ماهیان است (Hoseini *et al*., 2010). بدون بیهوشی، ماهیان واکنش‌های شدیدی به صید و خون‌گیری نشان می‌دهند که می‌تواند باعث تغییر در برخی مؤلفه‌های خونی به‌خصوص شاخص‌های استرس شود (Hoseini *et al*., 2010). این امر باعث ایجاد تفاوت‌هایی در نتایج آزمایشات مختلف می‌گردد. بنابراین بیهوشی، به‌عنوان یک ابزار مؤثر جهت تسهیل عملیات خون‌گیری استفاده می‌شود (Hoseini *et al*., 2010).

روش‌های متفاوت بیهوشی باعث تفاوت در سطوح شاخص‌های استرس می‌شود (Auperin *et al*., 1997; Holloway *et al*., 2004; Heo and Shin, 2010; Hoseini *et al*., 2010). زمان بیهوشی و غلظت ماده بیهوش کننده دو عامل مهم در تعیین سطوح شاخص‌های استرس می‌باشند. درحالیکه برخی محققین استفاده از دوزهای بالای بیهوش کننده را در زمان‌های کوتاه برای کاهش استرس پیشنهاد نمودند (Auperin *et al*., 1997; Heo and Shin, 2010; Hoseini *et al*., 2010; Hoseini and Ghelichpour, 2011)، سایر محققین دوزهای پایین بیهوش کننده در زمان‌های طولانی را جهت کاهش استرس مناسب بیان نمودند (Holloway *et al*., 2004). این تفاوت‌های موجود در نتایج نشان می‌دهد که نیاز است تا اثر دستورالعمل‌های متفاوت بیهوشی (غلظت ماده بیهوشی، زمان بیهوشی و نوع ماده بیهوش کننده) در ماهیان مختلف سنجیده شود. همچنین، مشخص نیست که کدام یک از دو عامل غلظت ماده بیهوشی و زمان بیهوشی نقش تعیین‌کننده‌تری در شاخص‌های استرس ماهیان دارند.

علاوه بر دوز و زمان، عامل اثرگذار دیگر در عملیات بیهوشی، مراحل بیهوشی می‌باشد. مراحل بیهوشی خود متأثر از غلظت مادهٔ بیهوشی و مدت زمان قرارگیری در معرض آن است (Hikasa *et al*., 1986). مراحل بیهوشی بر اساس رفتارهای ماهی در خلال بیهوشی تعریف می‌شوند که خود تابع زمان بیهوشی و غلظت ماده بیهوش کننده است (Hikasa *et al*., 1986). در واقع این تغییرات رفتاری می‌توانند مبنای قضاوت برای شروع خونگیری ماهی باشند؛ زیرا عملاً تا زمانی که ماهی بی‌حرکت نشده باشد، خونگیری ساده نخواهد بود و بیهوشی فایده‌ای نخواهد داشت. مراحل مختلف بیهوشی در ماهی مطالعه و توصیف شده‌اند (McFarland, 1959; Jolly, 1972). این مراحل شامل تحریک اولیه، سست شدن، عدم پاسخ به محرک، از دست رفتن تعادل، ضربان نا منظم آبششی و کاهش ضربان آبششی می‌باشد. بر این اساس می‌توان ماهی را پس از رسیدن به مرحله ۴ (از دست دادن واکنش عضلات و تعادل) و ۵ (از دست دادن کامل واکنش) بیهوشی خونگیری نمود. با این حال لازم است که

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

مشخص شود که کدام یک از این مراحل مناسب‌تر هستند. از آنجا که در هر دو مرحله ماهیان بی‌حرکت هستند، بنابراین تفاوتی در سهولت خونگیری بین این دو مرحله وجود ندارد. ولی اثر این مراحل بر پارامترهای خونی مانند شاخص‌های استرس باید مشخص گردد.

یوجینول از مشتقات روغن میخک است که از برگ، ساقه و غنچه درخت میخک (*Eugenia caryophyllata*) استحصال می‌شود (Roubach *et al*., 2005). این ماده دارای خاصیت بیهوش کنندگی در ماهی می‌باشد (Roubach *et al*., 2005). یوجینول دارای مشخصه‌های یک بیهوش کننده‌ی بی‌خطر می‌باشد که شامل قیمت پایین، حاشیه امنیت مناسب و عدم مسمومیت‌زایی در انسان در دوزهای مورد استفاده، می‌باشد (Roubach *et al*., 2005). در کشورمان از این ماده برای بیهوشی ماهی مستقیماً استفاده نمی‌شود، بلکه اغلب از محلول میخک و اسانس میخک که حاوی مقادیر بالایی یوجینول است استفاده می‌شود. تقریباً ۸۸ درصد ترکیب روغن میخک را یوجینول تشکیل می‌دهد (Chaieb *et al*., 2007). مطالعات پیشین، در ماهی نشان دهنده‌ی موثر بودن یوجینول در بیهوش کردن ماهی بوده است (Roubach *et al*., 2005; Hikasa *et al*., 1986).

بنابراین با توجه به تحقیقات اندک در خصوص بیهوشی با یوجینول و از آنجا که مشخص نیست که اثر دوز یوجینول بر شاخص‌های استرس بیشتر است یا اثر زمان قرارگیری در معرض آن، این تحقیق با هدف بررسی اثر دوزهای مختلف یوجینول در زمان‌های مختلف بر شاخص‌های استرس ماهی قرمز انجام گردید. همچنین میزان وابستگی شاخص‌های استرس به دوز یوجینول و زمان بیهوشی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

آماده سازی ماده بیهوش کننده

یوجینول (محصول سیگما، آمریکا) با درجه خلوص ۹۹ درصد به نسبت ۱ به ۱۰ در اتانول حل شد. از این محلول در تمام مراحل آزمایش استفاده گردید.

آزمایش اول (بررسی اثر غلظت یوجینول و زمان بیهوشی)

تعداد ۱۵۰ قطعه ماهی قرمز (۲/۱±۳۵/۱ گرم) به‌طور تصادفی در ۱۵ آکواریوم (۳۰×۴۰×۶۰ سانتی‌متر) قرار گرفتند (۱۰ ماهی در هر آکواریوم). هر آکواریوم توسط ۵۰ لیتر آب کلرزدایی شده پر شد. همه آکواریوم‌ها به طور مداوم هوادهی شدند و ماهیان توسط غذای خشک حاوی ۳۱ درصد پروتئین و ۱۲/۵ درصد چربی به میزان ۱/۵ درصد وزن بدن و دو وعده در روز تغذیه شدند. هر روز مقدار ۷۵ درصد آب هر آکواریوم تعویض شد. پس از ۲۰ روز سازگاری با این شرایط، آکواریوم‌ها به ۵ گروه سه تایی تقسیم شدند. هر یک از این گروه‌ها در

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

معرض یکی از غلظت‌های ۵۰ قسمت در میلیون یوجینول (به‌مدت ۲۴۰ و ۳۶۰ ثانیه)، ۷۵ قسمت در میلیون یوجینول (به‌مدت ۲۴۰ و ۳۶۰ ثانیه)، ۱۰۰ قسمت در میلیون یوجینول (به‌مدت ۹۰ و ۱۸۰ ثانیه)، ۱۲۵ قسمت در میلیون یوجینول (به‌مدت ۹۰ و ۱۸۰ ثانیه) و ۱۵۰ قسمت در میلیون یوجینول (به مدت ۴۰ و ۶۰ ثانیه) قرار گرفتند. در هر ترکیب غلظت × زمان، ۶ ماهی استفاده شد. پس از این زمان‌ها ماهیان با قطع ساقه دمی خونگیری شدند. این زمان‌ها بر اساس آزمایشات اولیه انتخاب شدند. در این زمان‌ها ماهیان به سطحی از بیهوشی می‌رسیدند که به آسانی توسط قطع ساقه دمی از آنها خونگیری می‌شد.

آزمایش دوم (بررسی اهمیت زمان بیهوشی و غلظت ماده بیهوش کننده بر شاخص‌های استرس):

۸۰ قطعه ماهی قرمز (۱/۹±۳۵/۹ گرم) به صورت تصافی در ۱۸ آکواریوم قرار داده شدند (۱۰ ماهی در هر آکواریوم). ماهیان به‌مدت ۲۰ روز تحت شرایطی مشابه آزمایش اول نگهداری شدند. سپس آکواریوم‌ها به شش گروه سه تایی تقسیم شدند. هر یک از گروه‌ها در معرض یکی از غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ و ۱۷۵ قسمت در میلیون یوجینول قرار گرفتند. از هر آکواریوم ۴ ماهی به طور همزمان صید شدند (کمتر از ۵۰ ثانیه) و در معرض یوجینول قرار گرفتند و پس از رسیدن به مرحله ۴ و ۵ بیهوشی، زمان بیهوشی ثبت شده و ماهیان خونگیری شدند (دو ماهی برای هر مرحله). به این ترتیب برای هر ترکیب تیمار × مرحله بیهوشی ۶ ماهی خونگیری شدند.

خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب

خصوصیات آب به این صورت بود: دما= ۲۵-۲۷ درجه سانتی‌گراد، پی‌اچ = ۷/۸-۷/۵، اکسیژن محلول = ۷/۲-۶/۵ میلی‌گرم بر لیتر، سختی کل= ۲۸۳ قسمت در میلیون کربنات کلسیم، نیترات= ۱/۵-۰/۵ قسمت در میلیون. اکسیژن محلول و پی‌اچ توسط دستگاه sensION 156 (آمریکا) اندازه‌گیری شد. سایر خصوصیات آب توسط دستگاه فتومتر Wagtecch Portable Photometer 7100 (انگلستان) اندازه‌گیری شدند.

نمونه برداری و اندازه‌گیری کورتیزول و گلوکز

ماهیان به مدت ۲۴ ساعت پیش از خونگیری، غذادهی نشدند. نمونه‌های خون (۰/۴ میلی‌لیتر) توسط قطع ساقه دمی در لوله‌های غیرهپارینه جمع‌آوری شد. نمونه‌های سرم پس از سانتریفوژ به مدت ۷ دقیقه (۵۰۰۰ دور در دقیقه) استحصال شدند و تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. کورتیزول به روش ELISA توسط کیت تجاری (HBL، آلمان) اندازه‌گیری شد. گلوکز به روش رنگ‌سنجی و با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

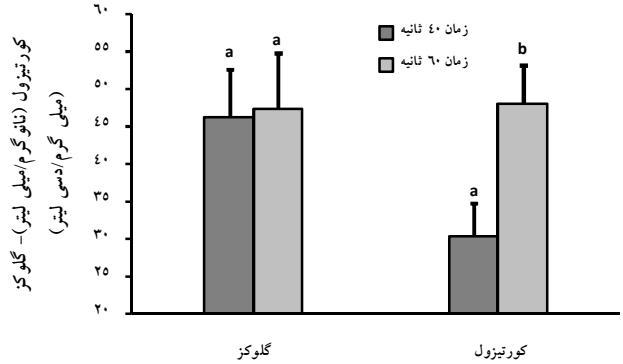
تجزیه و تحلیل آماری

نرمال بودن داده‌ها و همگن بودن واریانس‌ها به ترتیب با استفاده از آزمون‌های شاپریو–ویلک و لون (Levene & Shapiro-Wilk) تایید شدند. دو آزمون ANOVA دو طرفه برای آزمایش اول به طور مجزا انجام شد. یک آزمون برای غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ قسمت بر میلیون و در زمان‌ها ۲۴۰ و ۳۶۰ ثانیه انجام شد. آزمون دیگر برای غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۲۵ قسمت بر میلیون و در زمان‌های ۹۰ و ۱۸۰ ثانیه انجام شد. اختلاف معنی‌دار بین تمارها توسط آزمون LSMEANS مشخص گردید. داده‌های مربوط به غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون و زمان‌های ۴۰ و ۶۰ ثانیه توسط *T-test* مقایسه شدند. داده‌های مربوط به آزمایش دوم، توسط رگرسیون چندگانه تجزیه تحلیل شدند که غلظت یوجینول و زمان بیهوشی به عنوان متغیرهای مستقل و سطوح کورتیزول یا گلوکز به عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شدند. کلیه تجزیه و تحلیل‌ها توسط نرم افزار آماری SAS Ver.2 انجام شدند. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند. ($P<۰/۰۵$) به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

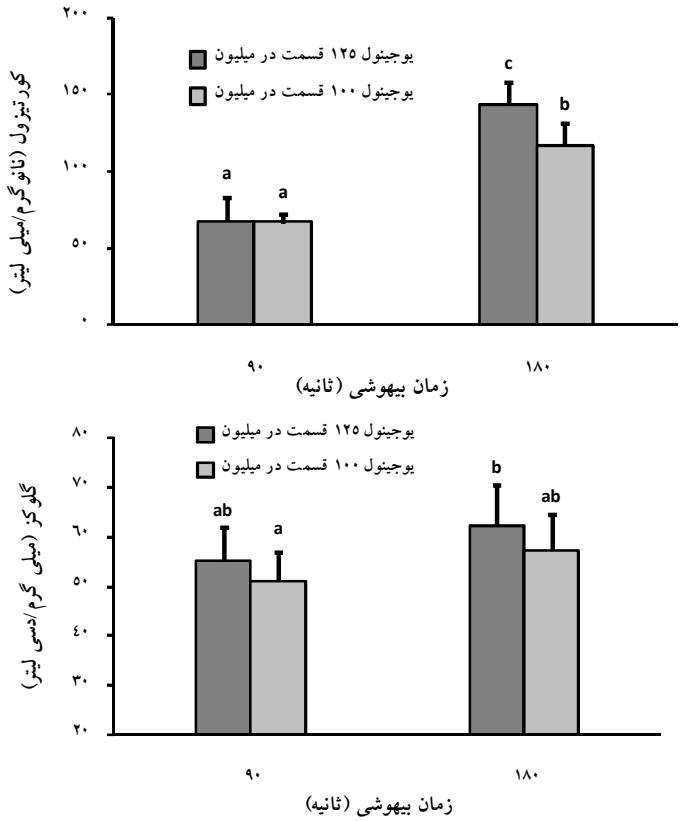
آزمایش اول

نتایج آزمایش اول در شکل‌های ۱ تا ۳ نشان داده شده‌اند. در غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون یوجینول (شکل ۱)، با افزایش زمان بیهوشی از ۴۰ به ۶۰ ثانیه، کورتیزول خون به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) افزایش یافت ولی اختلاف معنی‌داری در میزان گلوکز مشاهده نشد.



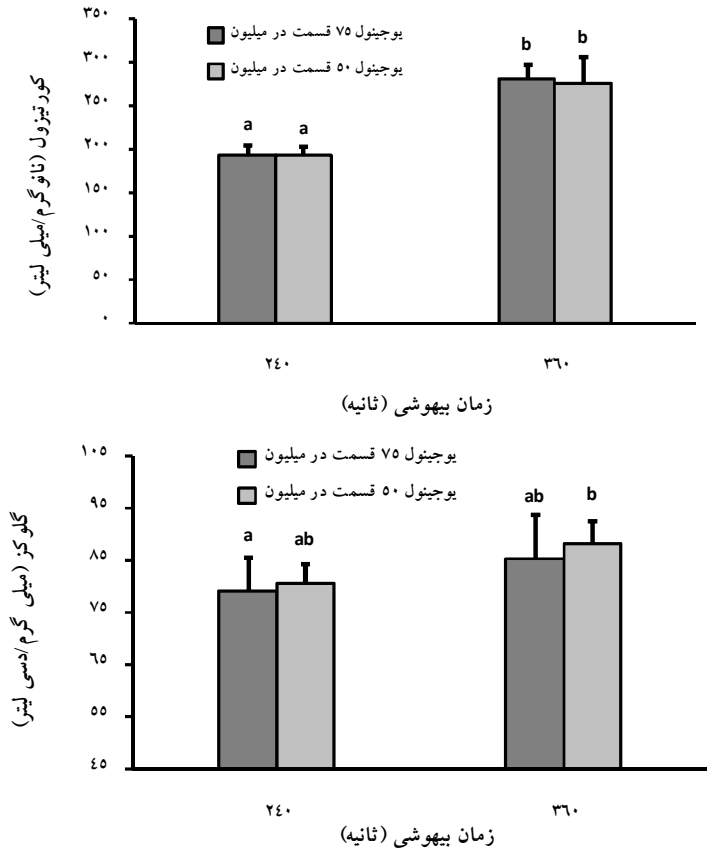
شکل ۱- سطوح کورتیزول و گلوکز سرم ماهی قرمز پس از ۴۰ و ۶۰ ثانیه بیهوشی توسط ۱۵۰ قسمت در میلیون یوجینول. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار هستند.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]



شکل ۲- سطوح کورتیزول (شکل بالا) و گلوکز (شکل پایین) سرم ماهی قرمز پس از ۹۰ و ۱۸۰ ثانیه بیهوشی توسط ۱۰۰ و ۱۲۵ قسمت در میلیون یوجینول. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار هستند.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]



شکل ۳- سطوح کورتیزول (شکل بالا) و گلوکز (شکل پایین) سرم ماهی قرمز پس از ۲۴۰ و ۳۶۰ ثانیه بیهوشی توسط ۵۰ و ۷۵ قسمت در میلیون یوجینول. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار هستند.

در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۲۵ قسمت در میلیون یوجینول در زمان‌های ۹۰ و ۱۸۰ ثانیه (شکل ۲)، سطوح کورتیزول و گلوکز خون به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) تحت تاثیر غلظت یوجینول، زمان بیهوشی و برهمکنش آنها بود.

در غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ قسمت در میلیون یوجینول در زمان‌های ۲۴۰ و ۳۶۰ ثانیه (شکل ۳)، سطوح کورتیزول و گلوکز خون به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) تحت تاثیر زمان بیهوشی بود ولی غلظت یوجینول و برهمکنش آنها تاثیر معنی‌داری نداشتند.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

آزمایش دوم

جدول ۱ نشان دهنده زمان بیهوشی و دامنه آن در غلظت‌های مختلف یوجینول و در مرحله ۴ و۵ بیهوشی است. نتایج حاکی از وجود اختلاف بین فردی بالا در زمان بیهوشی در هر غلظت یوجینول و مرحله بیهوشی بود.

جدول ۱- میانگین و دامنه زمان بیهوشی (ثانیه) ماهی قرمز در غلظت‌های مختلف یوجینول (قسمت در میلیون) و مراحل ۴ و ۵ بیهوشی. تعداد نمونه = ۶.

غلظت یوجینول	مرحله بیهوشی	میانگین زمان بیهوشی	دامنه
۵۰	۴	۳۲۷	۲۷۲-۱۸۷
	۵	۳۴۴	۴۱۸-۲۶۴
۷۵	۴	۲۳۲	۲۷۶-۱۵۴
	۵	۲۹۱	۳۵۴-۲۴۹
۱۰۰	۴	۹۶	۱۱۰-۷۰
	۵	۱۶۳	۱۸۰-۱۴۰
۱۲۵	۴	۸۲	۹۰-۷۰
	۵	۱۱۷	۱۸۰-۸۰
۱۵۰	۴	۳۷	۴۵-۳۰
	۵	۶۵	۷۶-۵۷
۱۷۵	۴	۳۵	۳۷-۳۱
	۵	۵۸	۶۲-۵۰

رگرسیون چندگانه برای کورتیزول حاکی از یک مدل قوی ($P < 0.0001, R^2 = 0.83$) به شرح ذیل بود:

$$y = 0.49x + 0.23z - 27.5$$

y = کورتیزول (نانوگرم/میلی لیتر)

x = زمان بیهوشی (ثانیه)

z = غلظت یوجینول (قسمت در میلیون)

با این وجود، غلظت یوجینول ($P = 0.049, \beta = 0.21$) نسبت به زمان بیهوشی ($P > 0.0001, \beta = 1.09$)، نقش کمتری در پیش‌بینی کورتیزول خون داشت.

رگرسیون چندگانه برای کورتیزول حاکی از یک مدل قوی ($P < 0.0001, R^2 = 0.86$) به شرح ذیل بود:

$$y = 0.13x - 0.067z + 50.18$$

y = کورتیزول (نانوگرم/میلی لیتر)

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

x = زمان بیهوشی (ثانیه)

z = غلظت یوجینول (قسمت در میلیون)

غلظت یوجینول ($P = 0.064, \beta = -0.17$) نقش معنی‌داری در پیش‌بینی گلوکز خون نداشت، درحالیکه نسبت به زمان بیهوشی ($P > 0.0001, \beta = 0.78$)، نقش معنی‌داری در پیش‌بینی گلوکز خون داشت.

بحث

بیهوشی یک عامل کلیدی در تحقیقات است که باعث تغییر برخی فاکتورهای خونی در ماهی می‌شود. استفاده از دستورالعمل‌های بیهوشی متفاوت باعث تغییر در مقدار پایه برخی فاکتورهای خونی می‌شود که مقایسه نتایج بین مطالعات مختلف را پیچیده می‌کند (Hoseini and Jafar Nodeh, 2011).

این مطالعه نشان داد که یوجینول می‌تواند به عنوان یک بیهوش کننده موثر در ماهی قرمز استفاده شود. روباک و همکاران (Roubach *et al*., 2005) نشان دادند که یوجینول می‌تواند یک بیهوش کننده موثر در گربه ماهی (*Colossoma macropomum*) باشد. در آن مطالعه قرار گرفتن ماهی در معرض ۳۵-۱۳۵ قسمت در میلیون یوجینول باعث بیهوشی ماهی طی ۱۸۱-۲۵۱ ثانیه شد. ۵۰ قسمت در میلیون یوجینول باعث رسیدن ماهی به مرحله ۴ و ۵ بیهوشی به‌ترتیب پس از ۱۶۰/۲ و ۲۰۵/۸ ثانیه شد که در مقایسه با تحقیق کنونی زمان کوتاه‌تری است. همچنین قرار گرفتن ماهی در معرض ۱۰۰ قسمت در میلیون یوجینول باعث رسیدن ماهی به مرحله ۴ بیهوشی پس از ۱۱۴ ثانیه شد که نسبت به تحقیق کنونی طولانی‌تر است. همچنین در همین غلظت، ماهیان پس از ۱۳۶/۸ ثانیه به مرحله ۵ بیهوشی رسیدند که از تحقیق کنونی کوتاه‌تر است. در مطاله‌ای دیگر، قرار گرفتن ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در معرض غلظت ۵۰ قسمت در میلیون یوجینول باعث رسیدن ماهیان به مرحله ۴ بیهوشی پس از ۱۶۸ ثانیه شد که در مقایسه با مطالعه کنونی کوتاه‌تر است ولی رسیدن به مرحله ۵ در همین غلظت، ۱۲۶۰ ثانیه به طول انجامید که از مطاله کنونی طولانی‌تر است (Hikasa *et al*., 1986). همچنین قرار گرفتن ماهیان در معرض غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون یوجینول باعث رسیدن ماهیان به مرحله ۴ و ۵ بیهوشی پس از به‌ترتیب ۱۳۲ و ۷۲۶ ثانیه شد که در مقایسه با مطالعه کنونی طولانی‌تر است. دقیقاً مشخص نیست که این اختلافات ناشی از چه عواملی است، ولی مشخص شده که زمان بیهوشی تحت تاثیر برخی عوامل مانند گونه ماهی (Zahl *et al*., 2009)، اندازه ماهی (Woody *et al*., 2002) و دما (Zahl *et al*., 2009) می‌باشد که در این مطالعات متفاوت بوده‌اند.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

مواد بیهوش کننده عموماً جهت کاهش استرس در خلال دستکاری ماهیان به‌کار می‌روند؛ با این حال بیهوشی خود می‌تواند باعث بروز پاسخ استرس شود (Ortuno *et al*., 2002 a,b). استرس ناشی از بیهوشی می‌تواند باعث تغییرات هورمونی و متابولیتی خون شود (Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2002). کورتیزول معمول‌ترین هورمون شاخص استرس می‌باشد و اندازه‌گیری آن می‌تواند نشان‌دهنده بروز استرس و شدت آن باشد (Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2002). افزایش قند خون، یک پاسخ متداول به استرس است که در نتیجه اثر کتکول‌آمین‌ها و کورتیزول بروز می‌کند (Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2002).

بر اساس نتایج این تحقیق، می‌توان اظهار داشت که بیهوشی در زمان کوتاه نسبت به زمان بلند، استرس کمتری را در ماهی ایجاد می‌کند. این نتایج تا حدودی با تحقیقات قبلی روی بیهوشی فیل ماهی (*Huso huso*) و ماهی کپور (*C. carpio*) با استفاده از محلول میخک، همخوانی داشت (Hoseini *et al*., 2010; Hoseini and Jafar Nodeh, 2011; Hoseini and Ghelichpour, 2011). همچنین محققین دیگر نیز به نتایج مشابهی با استفاده از مواد بیهوش کننده دیگر در تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) و کاراس (*Carassius carassius*) رسیدند (Auperin *et al*., 1997; Heo and Shin, 2010). از طرفی هولووی و همکاران (Holloway *et al*., 2002) به نتایجی معکوس در قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) رسیدند.

انتظار می‌رود که وقتی ماهیان در زمان ثابت در معرض غلظت بالاتری از ماده بیهوش کننده قرار گیرد، نسبت به غلظت‌های پایین‌تر، به مراحل بالاتری از بیهوشی برسد. نتایج فعلی، اهمیت مرحله بیهوشی در غلظت‌های میانی یوجینول را بر شاخص‌های استرس نشان داد. ماهیانی که به‌مدت ۱۸۰ ثانیه در معرض غلظت ۱۲۵ قسمت در میلیون یوجینول قرار گرفتند، دچار استرس بیشتری نسبت به آنهایی شدند که در همین مدت در معرض غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون قرار گرفتند. این نتایج با نتایج محمدی زرج‌آباد و همکاران (Mohammadizarejabad *et al*., 2009) بر روی فیل ماهی همخوانی داشت. دلیل این امر می‌تواند جذب مقادیر بالاتری از یوجینول توسط ماهی در غلظت‌های بالا نسبت به غلظت‌های پایین باشد.

مشاهده شد که پراکندگی بین فردی بالایی در مدت زمان بیهوشی در همه‌ی غلظت‌های یوجینول در بین ماهیان وجود داشت. مطالعات پیشین نیز چنین نتایجی را در قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) (Keene *et al*., 1998)، گربه ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*) (Waterstrat, 1999) و گربه ماهی (*C. macropomum*) (Roubach *et al*., 2005) گزارش نمودند. این امر حاکی از وجود اختلافات فردی بالا در یک گونه ماهی می‌باشد. از طرفی قضاوت در خصوص مراحل بیهوشی تحت تاثیر نظر و مهارت شخص محقق نیز قرار دارد. بر این اساس، رفتار ماهی (مثلاً بی‌حرکت شدن آن) معیار مطمئنی برای قضاوت برای بیهوشی ماهی و شروع خونگیری نیست.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

مدل‌های بدست آمده در این تحقیق، به طور کلی نشان می‌دهند که زمان بیهوشی عامل مهمی است که بر پاسخ استرس ماهی اثر می‌گذارند. این مدل‌ها می‌توانند جهت پیش‌بینی سطوح کورتیزول و گلوکز ماهی قرمز پس از بیهوشی با یوجینول، استفاده شوند. البته باید مد نظر داشت که این مدل‌ها در غلظت‌ها و زمان‌های آزمایش شده بدست آمده‌اند و اعتبار دارند. خارج از این غلظت‌ها و زمان‌ها، احتمال دارد که مدل‌ها و نتایج دیگری بدست آید (مثلاً قرار گرفتن ماهی در معرض غلظت کم یوجینول به مدت کوتاه).

نتایج این تحقیق نشان داد که سطوح کورتیزول و گلوکز خون ماهی قرمز همبستگی بالایی با زمان بیهوشی دارد و این همبستگی با غلظت یوجینول کم است. پیشنهاد می‌شود که ماهی قرمز در زمان کوتاه پس از قرار گرفتن در معرض یوجینول خونگیری شود تا از بروز استرس جلوگیری شود. برای اینکار استفاده از غلظت‌های بالا مناسب است.

منابع

Auperin B., Baroiller J.F., Ricordel M.J., Fostier A., Prunet P. 1997. Effect of confinement stress on circulating levels of growth hormone and two prolactins in freshwater adapted Tilapia (*Oreochromis niloticus*). General and comparative endocrinology, 108: 35–44.

Barton B.C. 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and comparative biology, 42: 517–525.

Bjerselius R., Lundstedt-Enkel A., Olsen H., Mayer I., Dimberg K. 2001. Male goldfish reproductive behaviour and physiology are severely affected by exogenous exposure to 17 β-estradiol. Aquatic Toxicology, 53: 139–152.

Chaieb K., Hajlaoui H., Zmantar T., Kahla Nakbi A.B., Rouabhia M., Mahdouani K., Bakhrouf A. 2007. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. Phytotherapy research, 21: 501-506.

Congleton J.L., Wagner T. 2006. Blood chemistry indicators of nutritional status in juvenile salmonids. Journal of fish biology, 69:473–490.

Heo G.J., Shin G. 2010. Efficacy of benzocaine as an anesthetic for Crucian carp (*Carassius carassius*). Veterinary anesthesia and analgesia, 37:132–135.

Hikasa T., Takase K., Ogasawara T., Ogasawara S. 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. Japanese journal of veterinary sciences, 48:341–351.

Holloway A.C., Keene J., Noakes D.G., Moccia R.D. 2004. Effects of clove oil and MS222 on blood hormone profiles in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Walbaum. Aquaculture Research, 35:1025–1030.

Hoseini S.M., Ghelichpour M. 2011. Efficacy of clove solution on blood

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

sampling and hematological study in Beluga, *Huso huso* (L.). Fish physiology and biochemistry, doi: 10.1007/s1069501195295 (online publication).

Hoseini S.M., Jafar Nodeh A. 2011. Changes in blood biochemistry of common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus), following exposure to different concentrations of clove solution. Comparative clinical pathology, doi: 10.1007/s0058001113629 (online publication).

Hoseini S.M., Hosseini S.A., Jafar Nodeh A. 2010. Serum biochemical characteristics of Beluga, *Huso huso* (L.), in response to blood sampling after clove powder solution exposure. Fish physiology and biochemistry doi: 10.1007/s1069501094588 (online publication).

Jolly D.W., Mawdesley-Thomas L.E., Bucke D. 1972. Anesthesia of fish. Veterinary Record, 91: 424–426.

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*). Aquaculture research, 29: 89–101.

McFarland W.N. 1959. A study of the effects of anesthetics on the behavior and physiology of fishes. Publication of the Institute of Marine Science, University of Texas, 6: 23–55.

Mohammadizarejabad A., Bastami K.D., Sudagar M., Pourali Motlagh S. 2009. Hematology of great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juvenile exposed to clove powder as an anesthetic. Comparative clinical pathology, 19: 465-468.

Ortuno J., Esteban M.A., Meseguer J. 2002a. Effects of four anesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish and shellfish immunology, 12: 49–59.

Ortuno J., Esteban M.A., Meseguer J. 2002b. Effects of phenoxyethanol on the innate immune system of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) exposed to crowding stress. Veterinary immunology and immunopathology, 89:29–36.

Roubach R., Gomes L.C., Fonseca F.A.L., Val A.L. 2005. Eugenol as an efficacious anesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). Aquaculture research, 36: 1056–1061.

Waterstrat P.R. 1999. Induction and recovery from anesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. Journal of the world aquaculture society, 30: 250-255.

Wendelaar Bonga S.E. 1997. The stress response in fish. Physiological review, 77: 591–625.

Woody C.A., Nelson J., Ramstad K. 2002. Clove oil as an anesthetic for adult sockeye salmon: field trials. Journal of fish biology, 60: 340-347.

Zahl I.H., Kiessling A., Samuelsen O.B., Hansen M.K. 2009. Anesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) Effect of preanesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. Aquaculture, 295: 52–59.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]