نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد اول، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۱
http://japu.gau.ac.ir

ارتباط شاخص‌های استرس با زمان و مرحله بی‌هوشی در کپور معمولی *Cyprinus carpio* (Linnaeus) در غلظت‌های مختلف محلول میخک

*سیدمرتضی حسینی[۱] و سیدعباس حسینی[۲]

[۱]دانشجوی دکتری گروه شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۲]دانشیار گروه شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۰

چکیده

برای بررسی اثر غلظت ماده بی‌هوش‌کننده، زمان بی‌هوشی و مرحله بی‌هوشی، آزمایش روی ماهی کپور معمولی انجام شد. ماهیان در معرض دوزهای ۰/۷، ۱، ۲، ۳، ٤ و ۵ گرم بر لیتر محلول میخک قرار گرفتند و مدت زمان رسیدن به مرحله ۳ و ۵ بی‌هوشی ثبت گردید. بلافاصله پس از رسیدن به این مراحل از ماهیان خون‌گیری و جهت سنجش شاخص‌های استرس (کورتیزول و گلوکز) استفاده شد. نتایج نشان داد که در مرحله ۳ بی‌هوشی، کورتیزول تنها با زمان ارتباط داشت (ضریب هم‌بستگی =۰/٦۳؛ P<۰/۰۰۰۱) ولی گلوکز با زمان یا غلظت ارتباط نداشت. ولی در مرحله ۵ بی‌هوشی، هم کورتیزول و هم گلوکز ارتباط معنی‌داری با زمان و غلظت داشتند و اثر زمان بیش‌تر از غلظت بود. از مدل‌های به‌دست آمده می‌توان برای پیش‌بینی استرس ناشی از بیهوشی با دوزهای مختلف محلول میخک در زمان‌های گوناگون، استفاده نمود. نتایج نشان داد که قضاوت روی رفتار ماهی نمی‌تواند مبنای مناسبی برای بیهوشی و شروع خون‌گیری باشد. با توجه به نتایج پیشنهاد می‌شود که ماهیان در زمان یکسان خون‌گیری شوند تا داده‌های به‌دست آمده متأثر از روش نمونه‌برداری نباشند. هم‌چنین برای کاهش استرس ناشی از بی‌هوشی بهتر است که زمان بی‌هوشی کوتاه (زیر ۱ دقیقه) باشد.

واژه‌های کلیدی: میخک، بی‌هوشی، شاخص‌های استرس، کپور معمولی

مسئول مکاتبه: seyyedmorteza.hoseini@gmail.com

مقدمه

بررسی تغییرات مؤلفه‌های خونی، یکی از روش‌های ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی در ماهیان بوده و برای مطالعات خون‌شناسی در ماهیان، نیاز به بی‌هوشی و خون‌گیری از ماهیان است. بدون بی‌هوشی، ماهیان واکنش‌های شدیدی به صید و خون‌گیری نشان می‌دهند که می‌تواند باعث تغییر در برخی مؤلفه‌های خونی به‌خصوص شاخص‌های استرس شود. این امر باعث ایجاد تفاوت‌هایی در نتایج آزمایش‌های مختلف می‌گردد. بنابراین بی‌هوشی، به‌عنوان یک ابزار مؤثر برای تسهیل عملیات خون‌گیری استفاده می‌شود.

مشخص شده است که دستورالعمل‌های متفاوت بی‌هوشی، روی شاخص‌های استرس ماهی تأثیر می‌گذارند (حسین و همکاران، ۲۰۱۰؛ هو و شین، ۲۰۱۰؛ هولوی و همکاران، ۲۰۰٤؛ اپرین و همکاران، ۱۹۹۷). در حالی‌که بی‌هوشی سریع با استفاده از دوزهای بالا را برای کاهش استرس پیشنهاد نمودند، هولوی و همکاران (۲۰۰٤) بیهوشی کُند توسط دوزهای پایین را مناسب دانسته است.

علاوه‌بر دوز و زمان، عامل مؤثر دیگر در عملیات بی‌هوشی، مراحل بی‌هوشی می‌باشد. مراحل بی‌هوشی خود متأثر از دوز ماده بی‌هوشی و مدت زمان قرارگیری در معرض آن است. براساس تغییرات رفتاری، مراحل بی‌هوشی برای برخی ماهیان توصیف شده است (روباچ و همکاران، ۲۰۰۵؛ کین و همکاران، ۱۹۹۸؛ هیکاسا و همکاران، ۱۹۸٦). براساس نظر هیکاسا و همکاران (۱۹۸٦)، مراحل بی‌هوشی از این قرارند: مرحله صفر= نرمال، مرحله ۱= نبود واکنش یا واکنش ضعیف به محرک‌های بیرونی، مرحله ۲= از دست دادن بخشی از تعادل مرحله ۳= از دست دادن کامل تعادل، مرحله ٤= نبود واکنش‌های رفلکسی، مرحله ۵= قطع تنفس و فعالیت مغز، و در ادامه این شرایط منجر به مرگ می‌شود. عملاً تا قبل از مرحله ۳ بی‌هوشی (از دست دادن تعادل)، خون‌گیری به روش قطع ساقه دمی امکان‌پذیر نیست؛ زیرا ماهی هنوز به محرک‌هایی مثل برش توسط تیغ، پاسخ می‌دهد و تقلا می‌کند که این امر باعث استرس و هم‌چنین مشکل شدن عملیات خون‌گیری می‌شود. در مرحله ۵ بیهوشی، ماهی به‌طور عمیق بی‌هوش شده و قطع ساقه دمی یا خون‌گیری با سرنگ بسیار ساده است. قرار گرفتن ماهی در محلول بی‌هوشی پس از مرحله ۵، می‌تواند باعث مرگ آن شود (هیکاسا و همکاران، ۱۹۸٦).

اطلاع از دوز ماده بی‌هوشی، مدت زمان قرارگیری در ماده بی‌هوشی و مرحله بی‌هوشی، می‌تواند به پژوهشگران کمک کند تا دستورالعمل مناسبی برای بی‌هوشی اتخاذ کنند که باعث تغییر در شاخص‌های خونی ماهی نشود. اگرچه برخی پژوهشگران ایرانی به بررسی کارایی میخک در بی‌هوشی ماهی پرداخته‌اند (اخلاقی و میراب‌بروجردی، ۲۰۰۰؛ سلطانی و همکاران، ۲۰۰۱)، ولی براساس

اطلاعات ما تنها مطالعه‌ای که به بررسی اثر دوزهای مختلف میخک بر پارامترهای خونی پرداخته، مطالعه سلطانی و همکاران (۲۰۰٤) می‌باشد. بنابراین با توجه به کم بودن اطلاعات در این زمینه و از آن‌جا که تاکنون مشخص نشده که اثر دوز ماده بی‌هوشی بر شاخص‌های استرس بیش‌تر است یا اثر زمان قرارگیری در معرض ماده بی‌هوشی، این پژوهش با هدف بررسی ارتباط شاخص‌های استرس بچه‌ماهی کپور معمولی با غلظت ماده بی‌هوشی و مدت زمان بی‌هوشی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ١٤٤ عدد ماهی کپور با وزن ١٦٠-١٤٠ گرم در ٦ تیمار، هر تیمار با ۳ تکرار و در هر تکرار ۸ ماهی تقسیم شدند. تانک‌ها هوادهی شده و تعویض آب روزانه ۸۰-۵۰ درصد و غذادهی (ساخته شده در آزمایشگاه، ۳۱ درصد پروتئین و ۱۲/۵ درصد چربی) روزی یک‌بار به‌میزان ۱/۵ درصد وزن بدن انجام شد. پس از ۲۰ روز سازگاری، ٦ ماهی از هر تیمار در ظرف‌های محتوی محلول میخک با غلظت‌های ۰/۷، ۱، ۲، ۳، ٤ و ۵ گرم بر لیتر قرار گرفتند. ابتدا نصف ماهیان که در مرحله ۳ بی‌هوشی قرار داشتند و سپس نصف دیگر ماهیان که به مرحله ۵ بی‌هوشی وارد شده بودند (مراحل توصیف شده توسط هیکاسا و همکاران (١٩٨٦) برای ماهی کپور)، خون‌گیری شدند. خون‌گیری با عمل قطع ساقه دمی صورت پذیرفت. به‌دلیل فاصله زمانی کوتاه بین رسیدن به مرحله‌های ۳ و ۵ بی‌هوشی، ماهیان هر یک از مراحل توسط افراد مجزا خون‌گیری شدند. ماهیان باقی‌مانده در تانک‌ها دوباره غذادهی و تیمار شدند (مثل قبل) و این آزمایش دوباره ٤ روز بعد به همین روش اجرا شد (از آن‌جا که صید مداوم چند ماهی از یک تانک، خود باعث استرس می‌شود، نمونه‌برداری به دو بخش تقسیم شد). به‌این ترتیب برای هر غلظت ۱۲ نمونه خون به‌دست آمد که نصف آن‌ها متعلق به مرحله ۳ و بقیه متعلق به مرحله ۵ بود.

نمونه‌های خون در لوله‌های پلاستیکی غیرهپارینه جمع‌آوری شدند. جهت اندازه‌گیری کورتیزول و گلوکز، سرم نمونه‌ها توسط دستگاه سانتریفوژ با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه جدا و تا زمان اندازه‌گیری در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

کورتیزول به روش ELISA و با استفاده از کیت تشخیصی خارجی (IBL، آلمان) و گلوکز به روش رنگ‌سنجی و توسط کیتِ تشخیصیِ ایرانی (پارس آزمون، تهران) اندازه‌گیری شدند.

نرمال بودن داده‌ها مورد آزمون کولموگروف- اسمیرنوف قرار گرفت. داده‌های هر مرحله بی‌هوشی (۳ و ۵) به‌طور مجزا آنالیز شدند. پیش از انجام تحلیل‌های هم‌بستگی، داده‌های به‌دست آمده از دو

زمان خون‌گیری (خون‌گیری در دو مرحله و با فاصله ٤ روز انجام شد) توسط آزمون مربع کای تست شدند. برای به‌دست آوردن ارتباط بین کورتیزول و گلوکز با غلظت محلول میخک و زمان قرارگیری در معرض محلول بی‌هوشی، ابتدا از رگرسیون چندگانه استفاده شد و اگر این روش قادر به ارایه مدل هم‌زمان برای زمان و غلظت نبود، از رگرسیون ساده استفاده گردید.

نتایج

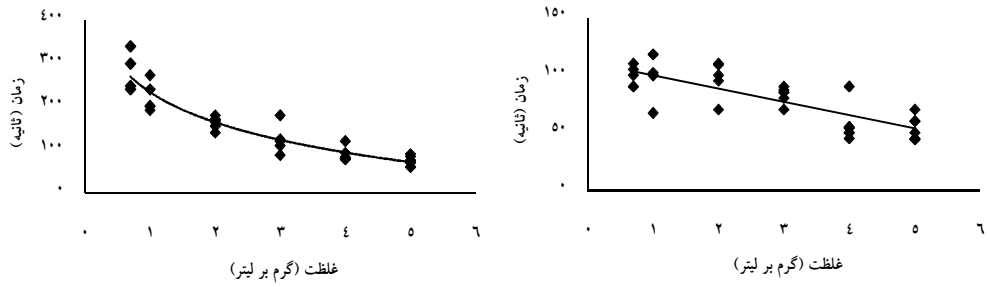
نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف- اسمیرنوف تأیید شد. آزمون مربع کای نشان داد که اختلافی بین ۲ روز نمونه‌برداری وجود نداشت، بنابراین داده‌ها با هم مخلوط و برای آنالیزهای بعدی استفاده شدند.

میانگین، حداقل و حداکثر زمان بی‌هوشی، کورتیزول و گلوکز خون در غلظت‌های مختلف میخک و مرحله ۳ و ۵ بی‌هوشی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- میانگین، حداقل و حداکثر زمان بی‌هوشی، کورتیزول و گلوکز خون ماهی کپور معمولی در غلظت‌های مختلف میخک و مرحله ۳ و ۵ بی‌هوشی

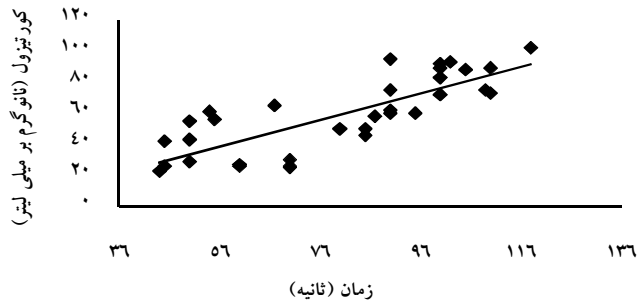
		زمان (ثانیه)			کورتیزول (نانوگرم بر میلی‌لیتر)			گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)		
غلظت	مرحله	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر
۰/۷	۳	۹۵	۷۵	۱۱۰	۷۱	٤۰	۸۹	٦۷	٤۸	۸۵
۰/۷	۵	۳۱۳	۲٤۰	۳۸۰	۲۵۵	۱۹۲	۳۵۰	۲۱۷	۱۹۰	۲٦۵
۱	۳	۱۰۱	۱۰۰	۱۲۰	۱۰۰	٦۵	۱٦۰	۸۲	۵۵	۱۵۰
۱	۵	۲۲٤	۱۹۲	۲۷۳	۱۸۵	۱۵۰	۲٦۰	۱٦۵	۱۲۲	۲۱۲
۲	۳	۹٦	۷۰	۱۱۰	۵۸	۲۵	۷۳	۵۹	٤۰	۸۵
۲	۵	۱٦۳	۱٤۰	۱۸۰	۱٤۷	۱۱۵	۲۰۰	۱۳۲	۱۰۳	۱۷۰
۳	۳	۸۲	۷۰	۹۰	۵۱	۲٦	۷۵	۵۰	٤۰	٦۳
۳	۵	۱۱۷	۸۰	۱۸۰	۹۰	۵۲	۱٤۵	۸۸	٦۲	۱۲۸
٤	۳	۵۷	٤۵	۹۰	۵۹	٤۲	۹۵	٦۲	۵۰	۸۹
٤	۵	۹۸	۷۸	۱۲۰	۸٤	٦۵	۱۱۸	۷۹	۷۰	۹۵
۵	۳	۵٤	٤٤	۷۰	۲۷	۲۳	۳۰	٤۹	٤۵	۵۵
۵	۵	۷۵	۹۰	۹۰	٤۵	۳۰	۷۰	۵۷	٤٦	٦۹

نتایج نشان داد که زمان رسیدن به مرحله ۳ بی‌هوشی رابطهٔ خطی معکوسی (P<۰/۰۰۰۱) با غلظت محلول میخک دارد، در حالی‌که این رابطه برای مرحله ۵ به‌صورت لگاریتمی معکوس (P<۰/۰۰۰۱) بود (شکل ۱). هم‌چنین این هم‌بستگی در مرحله ۵ بیش‌تر از مرحله ۳ بود (ضریب هم‌بستگی ۰/۸۸ در مقابل ۰/٦۳).



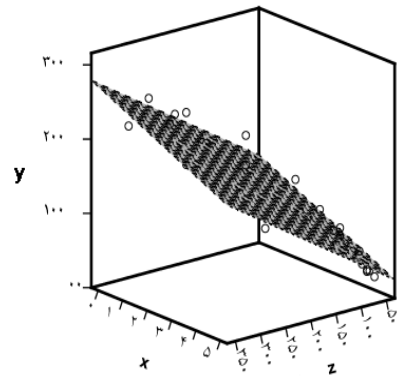
شکل ۱- رابطه غلظت محلول میخک و زمان رسیدن به مرحله ۳ بی‌هوشی (شکل بالا؛ y= −۱۱/۵۵x +۱۱۱/۵؛ ضریب هم‌بستگی اصلاح شده = ۰/٦۳؛ P<۰۰۰۱) و ۵ مرحله بیهوشی (شکل پایین؛ y= −۱۰۱/۲۳Ln(x) + ۲۳۳/۹؛ ضریب هم‌بستگی اصلاح شده = ۰/۸۸؛ P<۰۰۰۱)

مدل رگرسیونی کورتیزول در مقابل زمان بی‌هوشی در مرحله ۳ و غلظت محلول میخک، اگرچه دارای ضریب هم‌بستگی اصلاح شده ۰/٦٤ بود، ولی غلظت اثر معنی‌داری در این مدل نداشت (P= ۰/۱۷۳؛ β= −۰/۲٤۸) و وزن زمان بیش از غلظت بود (P=۰/۰۰۲؛ β= −۰/٦۰). بنابراین، برای پیش‌بینی کورتیزول در مرحله ۳ بی‌هوشی از رگرسیون ساده استفاده گردید. از آن‌جا که در رگرسیون چندگانه، زمان دارای اثر معنی‌دار و وزن بیش‌تری نسبت به غلظت بود، در رگرسیون ساده، هم‌بستگی کورتیزول، فقط با زمان بررسی گردید. کورتیزول و زمان بی‌هوشی در مرحله ۳، دارای یک رابطه خطی ضعیف بودند (ضریب هم‌بستگی اصلاح شده= ۰/٦۲) (شکل ۲). گلوکز هم‌بستگی معنی‌داری را با غلظت یا زمان بی‌هوشی در مرحله ۳ نشان نداد (P= ۰/۲۵ برای غلظت و P=۰/۲ برای زمان).



شکل ۲- هم‌بستگی کورتیزول و زمان بی‌هوشی در مرحله سه y=۰/۸۵x–۹/۱۵.
ضریب هم‌بستگی اصلاح شده =۰/٦۲؛ P<۰/۰۰۰۱

بر خلاف مرحله ۳، در مرحله ۵ بی‌هوشی، کورتیزول و گلوکز خون تابعی از زمان بی‌هوشی و غلظت محلول میخک بود (شکل‌های ۳ و ٤). هر دو مدل ضریب هم‌بستگی بالایی داشتند (۰/۸۷ و ۰/۸۸). در مدل کورتیزول، زمان اثر معنی‌دارتری نسبت به غلظت داشت (P=۰/۰۰۰۱؛ β=۰/٥٦ در مقابل P=۰/۰۰۸؛ β=-۰/٤۱).



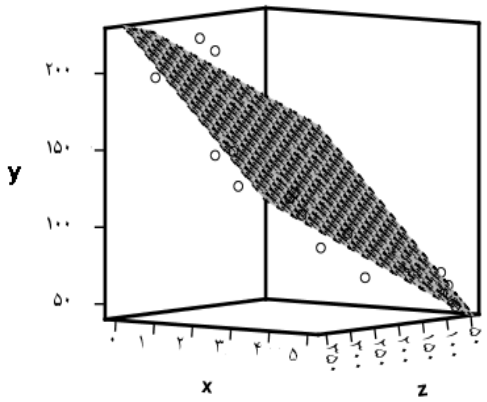
$y = -16/76x + 0/48z + 97/38$ ؛ ضریب هم‌بستگی اصلاح شده = ۰/۸۸

$P_{\text{زمان}} < 0/0001$ $\quad P_{\text{غلظت}} = 0/008$

$\beta_{\text{زمان}} = 0/56$ $\quad \beta_{\text{غلظت}} = -0/41$

شکل ۳- ارتباط کورتیزول با زمان بی‌هوشی مرحله ۵ و غلظت محلول میخک. y= کورتیزول (نانوگرم بر میلی‌لیتر)، x= غلظت محلول میخک (گرم بر لیتر) و z= زمان (ثانیه)

در مدل گلوکز هم همین حالت وجود داشت با این تفاوت که زمان در این مدل نسبت به مدل کورتیزول دارای اثر معنی‌دارتری بود (P=۰/۰۰۰۱؛ β = ۰/۶۰ در مقابل P=۰/۰۲۳؛ β = −۰/۳۶).



$y = -12/34x + 0/42z + 86/33$ ؛ ضریب هم‌بستگی اصلاح شده =۰/۸۷

$\beta_{\text{زمان}}$ = ۰/۶۰ $\beta_{\text{غلظت}}$ = −۰/۳۶

$P_{\text{زمان}}$ <۰/۰۰۰۱ $P_{\text{غلظت}}$ = ۰/۰۲۳

شکل ٤- ارتباط گلوکز با زمان بی‌هوشی مرحله ۵ و غلظت محلول میخک. y= گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)، x= غلظت محلول میخک (گرم بر لیتر) و z= زمان (ثانیه)

بحث

به‌طور عموم برای کاهش استرس در زمان خون‌گیری و سهولت کار، از مواد بی‌هوش‌کننده استفاده می‌شود؛ ولی این مواد خود نیز می‌توانند باعث استرس شوند (اورتونو و همکاران، ۲۰۰۲). به‌طور عموم کورتیزول به‌عنوان هورمون استرس شناخته می‌شود و افزایش آن نشانه بروز استرس می‌باشد. افزایش کورتیزول باعث بروز برخی پاسخ‌های ثانوی در بدن از جمله بالا رفتن قند خون می‌شود که این افزایش در جهت تأمین انرژی مورد نیاز برای غلبه بر شرایط استرس رخ می‌دهد (وندلار بونگا، ۱۹۹۷).

نتایج نشان داد که محلول میخک در غلظت‌های مورد استفاده دارای اثر بی‌هوش‌کنندگی در ماهیان مورد آزمایش بود. این نتیجه‌ها با نتایج مطالعه سلطانی و همکاران (۲۰۰۱) روی قزل‌آلای رنگین‌کمان

مغایرت داشت، به‌طوری‌که در آزمایش قبلی نویسندگان اعلام داشتند که محلول میخک تا غلظت ۲ گرم بر لیتر بدون اثر بی‌هوش‌کنندگی بود. دلیل این تفاوت مشخص نیست ولی ممکن است به‌دلیل اختلاف در روش اجرای آزمایش‌ها باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش زمان بی‌هوشی باعث بالا رفتن شاخص‌های استرس می‌شود که با نتایج قبلی (حسینی و قلیچ‌پور، ۲۰۱۱؛ حسینی و همکاران، ۲۰۱۰؛ هو و شین، ۲۰۱۰؛ اپرین و همکاران، ۱۹۹۷) هم‌خوانی دارد. این در حالی است که سلطانی و همکاران (۲۰۰٤) تفاوتی در فاکتورهای خونی کپور پس از بی‌هوشی با میخک (غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) مشاهده نکردند. دلیل نداشتن هم‌خوانی نتایج فعلی با مطالعه قبلی (سلطانی و همکاران، ۲۰۰٤) می‌تواند به‌دلیل تفاوت در انجام آزمایش‌ها و فاکتورهای خونی مورد مطالعه باشد؛ به‌طوری‌که در مطالعه قبل کورتیزول و گلوکز که دو شاخص مهم استرس هستند اندازه‌گیری نشد.

تفاوت مدل‌های تغییر در میزان کورتیزول و گلوکز خون در این پژوهش، نشان داد که روش بی‌هوشی، نقش مهمی در میزان کورتیزول و گلوکز دارد. براساس مدل‌های به‌دست آمده، می‌توان گفت که پیش‌بینی میزان کورتیزول و گلوکز در ماهیانی که در مرحله ۳ بی‌هوشی خون‌گیری می‌شوند چندان ساده نیست. در مدل زمان و کورتیزول در مرحله ۳، ضریب هم‌بستگی پایین بود که علت آن می‌تواند این باشد که بازه زمانی که ماهیان در خلال آن به مرحله ۳ بی‌هوشی می‌رسند، در مقایسه با مرحله ۵ کوچک‌تر است و برای داشتن یک مدل رگرسیونی خوب، داده‌ها باید پراکندگی مناسبی داشته باشند. حداقل و حداکثر زمان بی‌هوشی در این مرحله، ٤٤ و ۱۱۸ ثانیه بود که برای نشان دادن تغییرات کورتیزول چندان مناسب نیست. هم‌چنین، از آن‌جا که در شرایط استرس، افزایش گلوکز نسبت به کورتیزول با یک فاصله زمانی رخ می‌دهد، این مشکل نمود بیش‌تری پیدا کرد و به‌همین دلیل هیچ مدلی برای گلوکز در مرحله ۳ پیدا نشد.

نتایج این مطالعه نشان داد که برعکس مرحله ۳، در مرحله ۵ بی‌هوشی می‌توان کورتیزول و گلوکز خون را با دقت خوبی پیش‌بینی نمود. هم‌چنین ضرایب به‌دست آمده در این مدل‌ها مشخص شد که زمان نسبت به غلظت دارای اثر بیش‌تری در تعیین کورتیزول و گلوکز دارد. برای این‌که از استرس ناشی از بی‌هوشی در مرحله ۵ در ماهی کپور جلوگیری کرد، باید در کم‌ترین زمان و با استفاده از دوزهای پایین نمونه‌برداری انجام شود.

اگر معیار بی‌هوشی ماهی و شروع خون‌گیری به‌طور عموم قضاوت رفتاری باشد (مثلاً بی‌حرکت شدن ماهی و پاسخ ندادن به صید) نه زمان بی‌هوشی، احتمال به‌وجود آمدن اختلاف در نتایج کورتیزول و گلوکز وجود دارد زیرا نتایج این مطالعه و برخی مطالعه‌های دیگر (روباچ و همکاران، ۲۰۰۵؛ کین و همکاران، ۱۹۹۸؛ هیکاسا و همکاران، ۱۹۸٦) نشان داده است که داده‌های مربوط به زمان رسیدن به یک مرحله بی‌هوشی در ماهیان پراکندگی زیادی دارند. هم‌چنین غلظت محلول میخک هم در تعیین میزان کورتیزول و گلوکز نقش دارد. بنابراین باید دقت شود که در مطالعاتی که در آن‌ها کورتیزول و گلوکز اندازه‌گیری می‌شوند همه ماهیان با یک غلظت مشخص محلول میخک بی‌هوش و خون‌گیری شوند. این مورد در مطالعاتی که در آن‌ها با فاصله زمانی خون‌گیری انجام می‌شود و محلول بی‌هوشی باید چندبار ساخته یا استفاده شود، اهمیت دارد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده، پیشنهاد می‌شود اگر هدف اندازه‌گیری کورتیزول و گلوکز است، ماهیان در زمان یکسان خون‌گیری شوند تا داده‌ها به‌دست آمده متأثر از روش نمونه‌برداری نباشند. هم‌چنین برای کاهش استرس ناشی از بی‌هوشی بهتر است که زمان بیهوشی کوتاه (زیر ۱ دقیقه) باشد.

منابع

1.Akhlaghi, M. and Mirab Brojerdi, M. 2000. Anesthetic effect of clove tree and LC_{50} determination in rainbow trout (*Oncorhynhus mykiss*). Journal of Veterinary Research 54: 49-52. (In Persian)

2.Auperin, B., Baroiller, J.F., Ricordel, M.J., Fostier, A. and 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.

3.Heo, G.J. and Shin, G. 2010. Efficacy of benzocaine as an anesthetic for Crucian carp (*Carassius carassius*). Veterinary Anaesthesia and Analgesia 37: 132-135.

4.Hikasa, T., Takase, K., Ogasawara, T. and Ogasawara, S. 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp (*Cyprinus carpio*). Japanese Journal of Veterinary Science 48: 341-351.

5.Holloway, A.C., Keene, J., Noakes, D.G. and Moccia, R.D. 2004. Effects of clove oil and MS-222 on blood hormone profiles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research 35: 1025-1030.

6.Hoseini, S.M., Hosseini, S.A. and Jafar Nodeh, A. 2010. Serum biochemical characteristics of Beluga, *Huso huso*, in response to blood sampling after clove powder solution exposure. Fish Physiology and Biochemistry doi: 10.1007/s10695-010-9458-8.

7.Hoseini, S.M. and Ghelichpour, M. 2011. Efficacy of clove solution on blood sampling and hematological study in Beluga, *(Huso huso)*. Fish physiology and Biochemistry doi: 10.1007/s10695-011-9529-5.
8.Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D. and Soto, C.G. 1998. The efficacy of clove oil as an anesthetic for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research 29: 89-101.
9.Ortuno, J., Esteban, M.A. and Meseguer, J. 2002. Effects of four anesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata*). Fish and Shellfish Immunology 12: 49-59.
10.Roubach, R., Gomes, L.C., Fonseca, F.A.L. and Val, A.L. 2005. Eugenolas an efficacious anesthetic for tambaqui (*Colossoma macropomum*). Aquaculture Research 36: 1056-1061.
11.Soltani, M., Obidbeigi, R., Rezvani, S., Mehrabi, M.R. and Chitaz, H. 2001. Study of anaesthetic effects induced by clove flower (*Eugina caryopillata*) on rainbow trout (*Oncorhynhus mykiss*) under various water quality conditions. Journal of Veterinary Research 56: 85-89. (In Persian)
12.Soltani, S., Ghaffari, M., Khazraeinia, P. and Bokaei, S. 2004. Effects of clove oil (*Eugina caryopillata*) anesthesia on haematological parameters, certain serum enzymes and some tissues in common carp (*cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research 59: 295-299. (In Persian)
13.Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews 77: 591-625.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Utilization and Cultivation of Aquatics, Vol. 1(4), 2012
http://japu.gau.ac.ir

Correlation between stress indicators with anesthesia time and stage in common carp, *Cyprinus carpio* under different clove solution concentrations

[*]S.M. Hoseini[1] and S.A. Hosseini[2]

[1]Ph.D. Student, Dept. of Fisheries and Environmental, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Associate Prof., Dept. of Fisheries and Environmental, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: 10/01/2011; Accepted: 04/29/2012

Abstract

To investigate the effect of anesthetic concentration, time of anesthesia and stage of anesthesia, an experiment was conducted on common carp. Fish were subjected to concentrations 0.7, 1, 2, 3, 4 and 5 g/l clove solution and times of stage 3 and 5 induction were recorded. Immediately after induction, fish were bled and blood levels of cortisol and glucose were determined. At stage 3, cortisol showed correlation only with time, not concentration (R^2=0.63). However, glucose showed no correlation with time and/or concentration at this stage. On the other hand, both cortisol and glucose showed strong correlation with both time and concentration at stage 5, which the effect of time was more pronounced and significant than concentration. The obtained models could be used to predict of anesthesia-induced stress under various concentrations of clove solution and different times. The results showed that judgment on the fish behavior could not be a suitable means for induction of anesthesia and start of blood sampling. According to the results, it is suggested that fish should be bled at constant time so that obtained data are not affected by sampling method. Likewise, it is better to use short induction time (less than one min) to suppress anesthesia-induced stress.

Keywords: Clove, Anesthesia, Stress markers, Common carp

[*]Corresponding Author; Email: seyyedmorteza.hoseini@gmail.com