فصلنامه علمی
دورهٔ ۱، شمارهٔ ۱، زمستان ۱۳۹۱، صفحه ۶۳ – ۷۵

تأثیر استفاده از زئولیت (Clinoptiolite) و اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر بازماندگی و کاهش استرس در زمان حمل و نقل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مجید هاشمی[1*]، میر مسعود سجادی[2]، مجید ساعدی[3] و سید ابوالفضل وصالی[4]

۱- کارشناس ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

۳- کارشناس شیلات، جهاد کشاورزی، تنکابن

۴- کارشناس شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل

دریافت: ۱۳۹۱/۰۴/۰۹ پذیرش : ۱۳۹۱/۰۹/۱۴

*- نویسنده مسئول مقاله: Email: hashemi_majeed@yahoo.com

چکیده

مهمترین دغدغه در حمل و نقل ماهیان حداقل‌کردن استرس ایجاد شده طی زمان حمل و نقل می‌باشد. در این مطالعه تأثیر استفاده از زئولیت و اسانس گل میخک در شرایط حمل و نقل بر بازماندگی و استرس قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) بررسی شد. برای این منظور، ۴ تیمار (هر تیمار، ۳ تکرار) شامل شاهد، اسانس گل میخک (۲۵mg/L)، زئولیت (۱۴g/L) و تیمار اسانس گل میخک (۲۵mg/l) + زئولیت (۱۴g/L) درنظر گرفته شد. ۱۵۶ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۴/۴ ± ۸۰ با تراکم ۱۳۰ کیلوگرم در مترمکعب به صورت تصادفی ذخیره‌سازی شدند. در زمانهای صفر، ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت پس از شروع حمل و نقل، درصد بازماندگی، میزان کورتیزول و گلوکز خون (شاخص‌های استرس) بررسی و اندازه‌گیری شدند. در پایان، کمترین درصد بازماندگی در تیمار شاهد مشاهده شد که با سایر تیمارها تفاوت معنادار داشت ($P < ۰/۰۵$). در میزان کورتیزول و گلوکز خون در زمانهای صفر، ۶ و ۱۲ ساعت در بین تیمارهای مختلف اختلاف معناداری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$)، در حالی که در زمان ۱۸ ساعت، بیشترین میزان کورتیزول و گلوکز خون در تیمار شاهد مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). جمعبندی تحقیق نشان داد که استفاده از اسانس گل میخک و زئولیت در حمل و نقل بلند مدت (بیش از ۱۲ ساعت) قزل‌آلای رنگین‌کمان، با جلوگیری از افزایش کورتیزول و گلوکز خون، منجر به کاهش استرس و در نهایت تلفات ماهیان طی دوره حمل و نقل می‌شود.

کلید واژگان: قزل‌آلای رنگین‌کمان، زئولیت، اسانس گل میخک، حمل و نقل، شاخص استرس.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]

مقدمه

استرس ناشی از حمل و نقل ماهیان از مهمترین محدودیت‌های کاهش تراکم در مخازن حمل و نقل می باشد (Iverson et al., 2005). با محدودکردن محیط طی حمل و نقل، استرس به ماهیان وارد می‌شود که منجر به ایجاد یک‌سری تغییرات بیوشیمیایی برای بازماندگی و تنظیم هموستازی می‌شود. این تغییرات شامل ترشح کاتیکول آمین‌ها (آدرنالین و نور آدرنالین) از بافت کرومافین است که باعث افزایش کورتیزول (هورمون استرس) می‌شود. افزایش ترشح هورمون کورتیزول باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیک از قبیل تجمع جریان خون در ماهیچه‌های حرکتی و اندام‌های حساس، کاهش جذب گلوکز و تشدید نیاز به سدیم و آب در بدن می‌شود (Hanson, 2009). واکنش‌های حاصل از استرس‌های اولیه باعث القای آثار ثانویه شامل اختلال در تنظیم اسمزی، متابولیک و ایمنی بدن می‌شود و اثری زیانبار بر سلامتی، رشد و بازماندگی ماهی دارد (Carmichael, 1984; Barton et al., 2002). در واقع افزایش استرس ماهی در مواقع بحرانی سبب القای ترشح هورمون کورتیزول می‌شود و به دنبال آن گلوکز پلاسما افزایش می‌یابد (Rottland and Tort, 1997; Barton et al., 1987). این مسأله در زمان حمل و نقل ماهی کپور معمولی (svobodoa et al., 1999)، ماهی آزاد اطلس[1] (Gatica et al., 2010) و صید و جابجایی ماهی جزایر مرجانی[2] نیز اثبات شده است (Grutter and Pankhurst, 2000). به طور کلی استرس در حمل و نقل ماهیان مربوط به ایجاد شرایطی می‌شود که ماهی نمی‌تواند حالت فیزیولوژیک معمول خود را به علت عوامل مختلف اثرگذار نامطلوب حفظ کند (Iverson et al., 2005). استرس ناشی از حمل و نقل ماهیان به طور کلی به تراکم نگهداری نامناسب، حبس در مخزن، دستکاری فیزیکی و آماده‌سازی ماهی برای محیط جدید مربوط می‌شود. امروزه به طور کلی در حمل و نقل ماهیان از دو روش برای افزایش تراکم حمل و نقل و کاهش تلفات استفاده می‌شود؛ در روش اول عوامل محدودکننده آب به حداقل می‌رسد و در روش دوم سعی در کم کردن فعالیت‌های متابولیک بدن ماهیان است تا تأثیر سوء کمتری بر روی آب داشته باشد. کاربرد زئولیت، کربن فعال، تعویض و گردش آب جزء روش اول و استفاده از مواد آرام‌کننده از قبیل مواد بیهوشی، تغییرات دما، عدم غذادهی و غیره جزء روش دوم محسوب می‌شود (Dadashpoor, 1999). گل میخک بومی جزایر اندونزی و اقیانوسیه می‌باشد و در تمام سال سبز است. اسانس گل میخک از نظر ترکیب شیمیایی، دارای اوژنول، کاربوفلین، الکل، بنزیلیک، اتیلن، بنزوات دموتیل می‌باشد که ماده اصلی آن اوژنول است و خاصیت آرام‌کنندگی و ضدعفونی‌کنندگی دارد و در دندان پزشکی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات گسترده‌ای با استفاده از اسانس گل میخک در حمل و نقل ماهیان مختلف انجام شده است که می‌توان به استفاده از این ماده در حمل و نقل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Anderson et al., 1997)، خرگوش ماهی[3] (Tamaru et al., 1995)، ماترینسکا[4] (Inoue at al., 2005) و سی‌باس[5] (Hanggono and Areechon, 2004) اشاره کرد. زئولیت‌ها، مواد معدنی از جنس سیلیکات آلومینیوم با ساختار چهار وجهی

1. *Salmo salar*
2. *Hemigymnus melapterus*
3. *Sigmus lineatus*
4. *Brycon cephalus*
5. *Lates calcarifer* Bloch

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]

(چهار اتم اکسیژن حول یک اتم سیلیسیم) می‌باشند و در آن حفره‌ها و کانالهایی با ابعاد۱۰-۳ آنگستروم جهت عبور یا حبس یونهای مختلف وجود دارد. زئولیت‌ها با ساختار شیمیایی منحصر بفرد خود و قابلیت تبادل کانیونی قادر به جذب گازهای سمی از قبیل آمونیاک در محیط آبی‌اند (Gottardi and Galli, 1985; Kayabali Kezer, 1998). مطالعات مختلفی با استفاده از زئولیت با مقادیر مختلف در حمل و نقل ماهیان از قبیل کپورماهیان هندی[1] (Singh et al., 2004; Singh et al., 2005) صورت گرفته است. هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیرات زئولیت و اسانس گل میخک بر بازماندگی و استرس (شاخص‌های خونی استرس از قبیل گلوگز و کورتیزول) در زمان حمل و نقل متراکم قزل‌آلای رنگین‌کمان است.

مواد و روش کار

این مطالعه در استان فارس، شهرستان شیراز در بخش دشت ارژن در فواصل بین کارگاههای تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان منطقه انجام شد.

تهیه مواد

اسانس گل میخک طی مراحلی با اجرای فرآیند تقطیر به وسیله دستگاه کلونجر و با روش فارماکوپه مجارستان[2] در دانشگاه منابع طبیعی کرج (دانشگاه تهران) از غنچه گل میخک تهیه شد. به دلیل خاصیت آب‌گریزی اسانس گل میخک در دمای پایین آب، محلول اسانس گل میخک با افزودن ۱ قسمت در ۲۰ قسمت اتانول ۱۰۰٪ تهیه گردید.

زئولیت با نام تجاری آنزیمیت از شرکت تعاونی مرغداران فارس به نمایندگی از شرکت افرند توسکا – ایران (شرکت سهامی خاص تولیدکننده آنزیمیت ایران) تهیه شد.

طراحی و اجرای آزمایش

برای انجام این مطالعه از ۴ تیمار (هر تیمار شامل ۳ تکرار) شامل تیمار شاهد (بدون افزودن اسانس گل میخک یا زئولیت)، تیمار اسانس گل میخک (با غلظت ۲۵ میلیگرم در لیتر)، تیمار زئولیت (با غلظت ۱۴ گرم بر لیتر) و تیمار اسانس گل میخک + زئولیت (با غلظت ۴۰ میلیگرم بر لیتر و زئولیت به مقدار۱۴ گرم بر لیتر) استفاده شد. ماهیان با تراکم ۱۳۰ کیلوگرم در متر مکعب (میانگین وزن ۴/۵ ± ۸۰ گرم) به صورت کاملاً تصادفی در ۱۲ مخزن پلاستیکی۱۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند و طی مدت ۱۸ ساعت عملیات شبیه‌سازی حمل و نقل اصولی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گرفت.

شاخص‌های خونی استرس

شاخص‌های خونی استرس شامل هورمون کورتیزول و گلوکز خون در زمان‌های شروع ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت پس از شروع حمل و نقل در تیمارهای مختلف اندازه-گیری شدند. خونگیری از ماهیان با استفاده از سرنگ هپارینه شده از ورید باله دمی صورت گرفت. پس از خونگیری، جداسازی پلاسما از سلول‌های خونی به وسیله سانتریفوژ (مدل Labofuge ۲۰۰۰ شرکت Heraeus Sepatech ساخت آلمان) به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm انجام شد. سپس با استفاده از پی‌پت پاستور، پلاسمای مربوط به لوله آزمایشگاه درب‌دار شماره‌گذاری شده انتقال یافت و در فریزر با دمای

1. Indian major carps
2. Hungarian Pharmacopoeia Gnont Planta Medicina Budapest

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]

$-۲۰^{\circ}C$ تا اندازه‌گیری شاخص‌های مورد نظر ذخیره‌سازی شد.

کورتیزول به روش RIA با استفاده از دستگاه گاما کانتر LKB ساخت فنلاند و با به‌کارگیری کیت Immunotech کمپانی Immunotech مارسل فرانسه اندازه‌گیری شد. گلوکز پلاسمای خون با استفاده از روش آنزیماتیک پروکسیداز-گلوکوز اکساید رنگ‌سنجی با کیت Greiner Diagnostic GmbH کمپانی Greiner شهر باهلینگین کشور آلمان و به صورت اتوماسیون با دستگاه اسپکتروفتومتر شرکت Technicon (ساخت آمریکا) برحسب واحد میلی‌گرم در دسی‌لیتر سنجش گردید (Lister et al., 2008).

تجزیه و تحلیل آماری

در پایان آزمایش پس از جمع‌آوری اطلاعات ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنف[1] مشخص گردید. سپس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ تجزیه و تحلیل شدند. تیمارهای آزمایش از نظر شاخص‌های مورد نظر در زمان‌های مختلف با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه[2] مقایسه شدند. جدول و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel-۲۰۱۰ ترسیم شد. برای مقایسه اختلاف میانگین شاخص‌های به دست آمده از آزمون دانکن در سطح آماری ۹۵ ٪ استفاده شد. نتایج به صورت میانگین و انحراف از معیار (mean± S.D.) نشان داده شدند.

نتایج

درصد بازماندگی ماهیان در تیمارهای مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج اختلاف معناداری را بین تیمارهای مختلف نشان داد به طوری که تیمار شاهد کمترین درصد بازماندگی را داشت ($P<۰/۰۵$). میزان کورتیزول و تغییرات آن طی دوره حمل و نقل در تیمارهای مختلف در نمودار ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱ درصد بازماندگی ماهیان در تیمارهای مختلف طی زمان حمل و نقل (mean±S.D.) (n=۳)

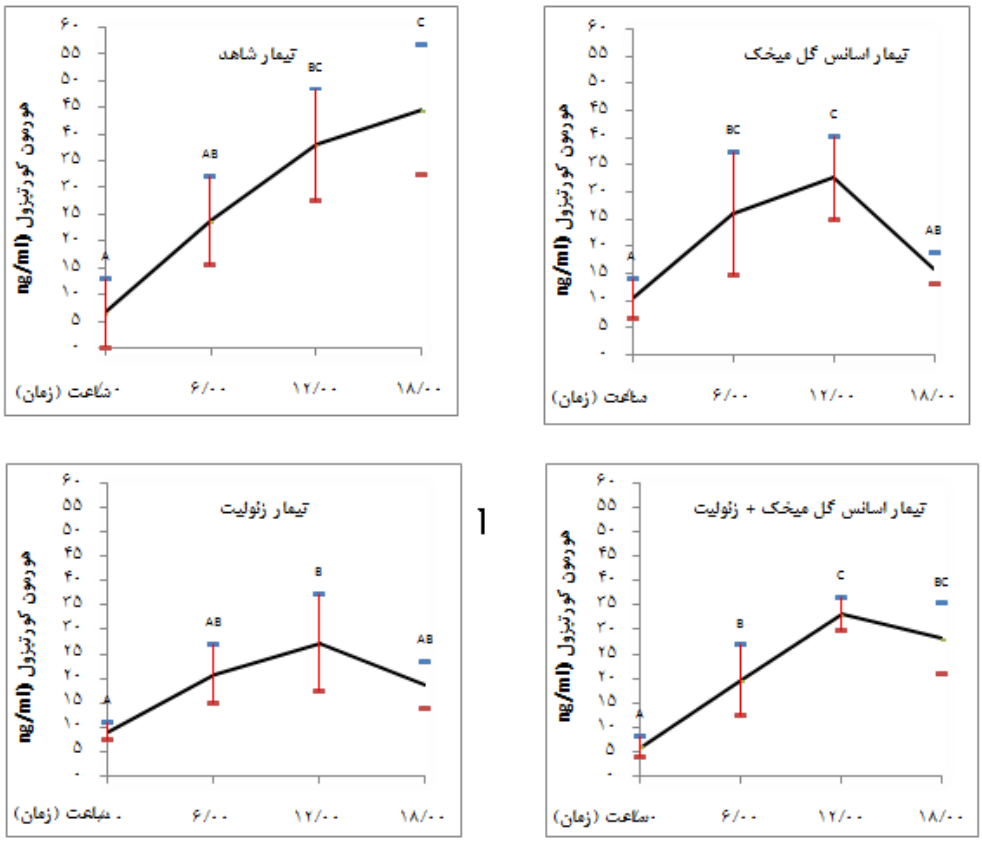
تیمار	شاهد	اسانس گل میخک	زئولیت	اسانس گل میخک + زئولیت
بازماندگی شروع (ساعت)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۶	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۲	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۸	۹۴/۸۷ ^{b}	۱۰۰^{a}	۱۰۰ ^{a}	۱۰۰^{a}

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌کنید روند افزایشی کورتیزول در تیمار شاهد مشاهده می‌شود به طوری که زمان‌های ۱۲ و ۱۸ ساعت نسبت به شروع آزمایش تفاوت معناداری وجود دارد. افزایش کورتیزول در تیمار اسانس گل میخک و زئولیت در زمان ۱۲ ساعت مشاهده شد، ولی در زمان ۱۸ ساعت تفاوت معناداری با شروع آزمایش نداشت. کورتیزول در تیمار اسانس گل میخک + زئولیت در زمان ۱۲ ساعت نسبت به زمان‌های ۰ و ۶ ساعت افزایش یافت، اما در زمان ۱۸ ساعت کاهش یافت به طوری که نسبت به زمان‌های ۶ و ۱۲ ساعت تفاوت معنادار نداشت.

1. Kolmogorov-Smirnov
2. NOVA One-Way

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]



نمودار ۱ روند تغییرات میزان کورتیزول خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش

میانگین و انحراف معیار (mean ± S.D.) (n = ۳) با حروف متفاوت در هر نمودار، اختلاف معنادار درون تیمار نسبت به زمان را نشان می‌دهد.

براساس نمودار ۱ بیشترین مقدار کورتیزول برابر ۱۲/۲۶±۴۴/۶۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر، ۱۸ساعت پس از حمل و نقل در تیمار شاهد مشاهده شد و کمترین مقدار هورمون کورتیزول به مقدار ۲/۸۸± ۱۵/۷۶ نانوگرم بر لیتر، ۱۸ساعت پس از حمل و نقل در تیمار اسانس گل میخک مشاهده گردید. نتایج اختلاف معناداری را در میانگین مقدار هورمون کورتیزول در زمان‌های شروع ۶ و ۱۲ ساعت نشان نداد (P>۰/۰۵)، درحالی که در زمان ۱۸ساعت اختلاف معناداری مشاهده شد (P<۰/۰۵). ۱۸ ساعت پس از حمل و نقل، تیمار شاهد با بیشترین میزان کورتیزول برابر با ۱۲/۲۶±۴۴/۶۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر اختلاف معناداری با سایر تیمارها داشت و تیمارهای اسانس گل میخک، زئولیت و اسانس گل میخک+زئولیت تفاوت معناداری با هم نداشتند (P>۰/۰۵).

میزان گلوکز و تغییرات آن طی زمان حمل و نقل در تیمارهای مختلف در نمودار ۲ نشان داده شده است.

با توجه به نمودار ۲، میزان گلوکز در تیمار شاهد در ۱۲ و ۱۸ ساعت پس از حمل و نقل نسبت به زمان شروع و ۶ ساعت پس از حمل و نقل افزایش معناداری داشت (P>۰/۰۵). در تیمار اسانس گل میخک در زمان‌های مختلف تفاوت معناداری در میزان گلوکز مشاهده نشد. روند افزایشی گلوکز در تیمارهای زئولیت و اسانس گل میخک+زئولیت در زمان ۱۲ ساعت نسبت به زمان‌های قبل

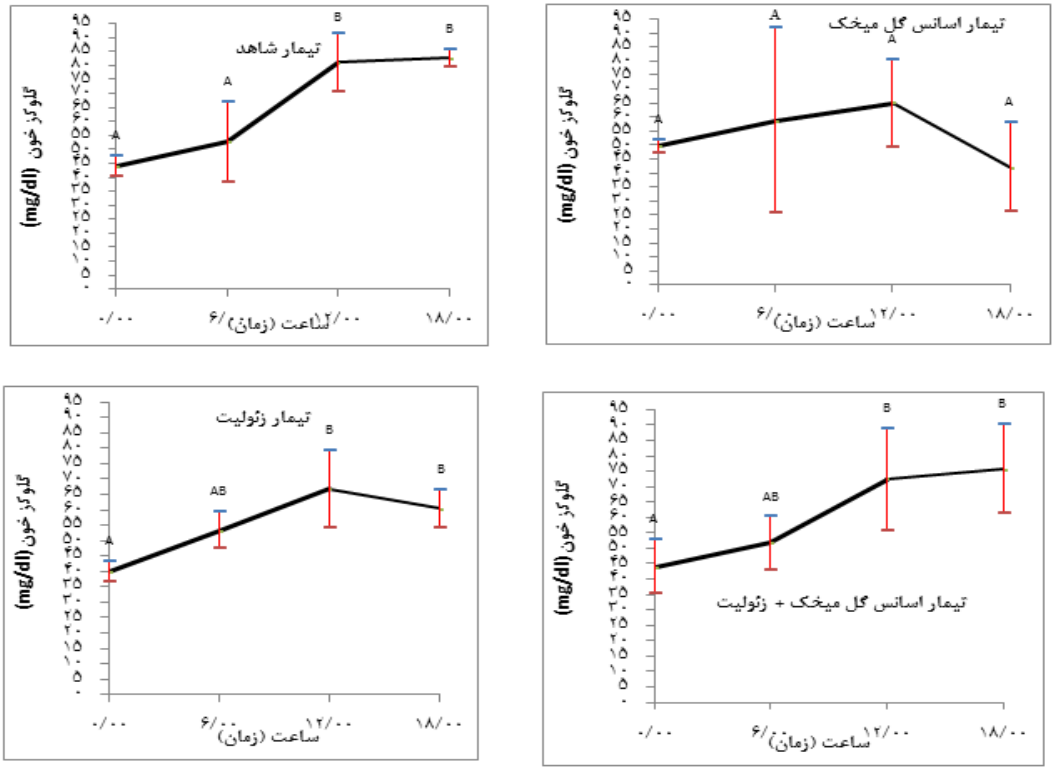
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]

مشاهده شد ولی در پایان آزمایش (۱۸ ساعت) افزایش معناداری نداشت.

براساس نمودار ۲ حداکثر مقدار گلوکز برابر با ۳/۲۱ ± ۸۲/۶۶ میلیگرم بر دسی‌لیتر در تیمار شاهد و حداقل مقدار گلوکز به مقدار ۱۵/۸۷±۴۲ میلیگرم بر دسی‌لیتر در زمان ۱۸ ساعت نمونه‌برداری در تیمار اسانس گل میخک مشاهده گردید.

نتایج اختلاف معناداری را در میانگین مقدار گلوکز خون در زمان‌های شروع ۶ و ۱۲ ساعت پس از حمل و نقل در بین تیمارهای مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵)، اما ۱۸ ساعت پس از حمل و نقل میزان گلوکز خون در بین تیمارهای مختلف اختلاف معناداری نشان داد (P<۰/۰۵). ۱۸ ساعت پس از حمل و نقل، تیمار شاهد با میزان گلوکز ۳/۲۱ ± ۸۲/۶۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر اختلاف معنادار با تیمارهای اسانس گل میخک و زئولیت داشت (P<۰/۰۵) درحالی که با تیمار اسانس گل میخک+زئولیت، اختلاف معناداری نداشت (P>۰/۰۵). تیمار ترکیبی اسانس گل میخک+زئولیت با میزان گلوکز ۱۴/۵۰± ۷۵/۶۶ میلی‌لیتر در دسی‌لیتر با تیمار شاهد تفاوت معنادار داشت اما با تیمارهای اسانس گل میخک و زئولیت تفاوت معنادار نداشت (P>۰/۰۵).



نمودار ۲ روند تغییرات میزان گلوکز خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش میانگین و انحراف معیار (mean±S.D.) (n=۳) با حروف متفاوت در هر نمودار، اختلاف معنادار درون تیمار را نسبت به زمان نشان می‌دهد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]

بحث

هدف اصلی در توسعه و پیشرفت حمل و نقل آبزیان، افزایش تراکم با کاهش حجم آب مورد استفاده در مقابل حداکثر بازماندگی و سلامت ماهیان می‌باشد. دستکاری و حمل و نقل القا کننده اصلی استرس در ماهیان می‌باشند (McDonald et al., 1991). شاخص‌های اصلی استرس ناشی از حمل و نقل، گلوکز پلاسما و کورتیزول خون می‌باشند (Inoue et al., 2005). استرس در فعال‌سازی دو نوع از واکنش‌های اندوکرین، سیستم آدرنرژیک (آدرنالین/نورآدرنالین) و محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی درگیر می‌شود. استرس باعث القای هورمون کورتیزول می‌شود که این عامل بر سرکوب ظرفیت ایمنی و بازماندگی ماهی تأثیر دارد (Barton and Iwama, 1991; Einarsdotirr et al., 2000). بنابراین کاهش القای کورتیزول در شرایط بحرانی، افزایش سلامتی و بازماندگی ماهی را در پی دارد. کاهش فعالیت‌های متابولیکی و حرکتی ماهیان می‌تواند از ایجاد استرس در حمل و نقل متراکم جلوگیری کند. امروزه استفاده از مواد آرام‌کننده و بیهوش‌کننده به همراه مواد معدنی جذب‌کننده و حذف‌کننده گازهای سمی ایجاد شده در حمل و نقل آبزیان توسعه یافته است که به این شکل می‌توان استرس فیزیولوژیکی، مصرف اکسیژن، تولید دی اکسیدکربن و آمونیاک کل را کاهش داد (Wendelaar-Bonga, 1997). در این مطالعه از اسانس گل میخک به علت داشتن خاصیت آرام‌کنندگی و کاهش فعالیت‌های حرکتی و متابولیک در مقایسه با مواد معدنی زئولیت با خاصیت جذب آمونیاک تولید شده در اثر فعالیت‌های حیاتی ماهیان، استفاده شد.

استفاده از اسانس گل میخک با غلظت‌های مختلف در زمان حمل و نقل روی ماهیان زیادی از جمله باس دریایی با غلظت ۱۰-۵ میلیگرم در لیتر (Hanggono and Areechon, 2004)، خرگوش ماهی با غلظت ۳۵ میلیگرم در لیتر (Tamaru et al., 1995)، پلاتی[1] (Guo et al., 1995)، تیلاپیای نیل[2] با غلظت ۹ و ۱۸ میلیگرم در لیتر (Simoes et al., 2011) و بسیاری از گونه‌های دیگر بررسی شده است. در این مطالعه استفاده از ۲۵ میلیگرم در لیتر اسانس گل میخک تا ۱۸ ساعت از شروع حمل و نقل با تراکم ۱۳۰ کیلوگرم در متر مکعب تلفاتی طی حمل و نقل نشان نداد. این امر می‌تواند به علت تأثیر آرام‌کنندگی و کاهش استرس ایجاد شده در ماهیان باشد، به طوری که Inoue و همکاران با مطالعه بر روی حمل و نقل ماهی ماترینسکا هیچگونه تلفاتی را در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلیگرم بر لیتر در طول دوره حمل و نقل گزارش نکردند. دلیل آن را خاصیت آرام‌کنندگی و کاهش فعالیت‌های متابولیکی ماهیان عنوان کردند. همچنین نتیجه مشابه‌ای با مطالعه روی تیلاپیای نیل گزارش شده است (Simoes et al., 2011). در مطالعه حاضر، ماده آرام‌کننده اسانس گل میخک در پایان آزمایش باعث کاهش کورتیزول شد و در نتیجه استرس را کاهش داد. اکثر مطالعات در زمینه تأثیر اسانس گل میخک بر کورتیزول در شرایط اسارت با غلظت بالا (۱۴۰-۱۰۰میلیگرم بر لیتر) و مدت زمان کوتاه (۳۰-۱ دقیقه) صورت گرفته است (Small, 2004; Woody et al., 2003). ولی در پژوهشی مشابه می‌توان به مطالعه Inoue و همکاران (۲۰۰۵) اشاره کرد. آنها نشان دادند که غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر اسانس گل میخک باعث کاهش کورتیزول ماهی ماترینکسا می‌شود. همچنین نتایج مشابه در مطالعه روی ماهی آزاد اطلس به دست آمد (Iversen et al., 1998). مکانیسم تأثیر اسانس گل میخک روی هورمون کورتیزول دقیقاً مشخص نشده است. احتمالاً اسانس گل میخک باعث بلوکه شدن انتقال اطلاعات از هیپوتالاموس

1. *Xiphophorus aculates*
2. *Oreochromis niloticus*

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]

می‌شود و به این صورت استفاده از ماده بیهوشی باعث جلوگیری از فعالیت محور داخلی هیپوتالاموس-هیپوفیز می‌شود، به طوری که ممکن است از پاسخ هورمون کورتیزول جلوگیری کند (Kayabali and Kezer, 1998; Iversen et al., 2003). همچنین یک بازخورد منفی بین هورمون کورتیزول و هورمون‌های مترشحه از هیپوتالاموس و هیپوفیز وجود دارد که همین مسأله باعث جلوگیری از ترشح هورمون کورتیزول می‌شود (Barton et al., 1987). نتایج مطالعهٔ حاضر مشابه گزارش‌های ارائه شده درخصوص تأثیر اضافه شدن اسانس گل میخک در زمان حمل و نقل بر روی گلوکز خون تعدادی از ماهیان بود، به طوری که ماهی ماترینسکا با استفاده از غلظت‌های متفاوت اسانس گل میخک در زمان حمل و نقل باعث کاهش معناداری گلوکز خون شد و استفاده از غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر اسانس گل میخک در کیسه‌های حمل و نقل بهترین نتیجه را به دست آورد (Inoue et al., 2005). Small در سال ۲۰۰۴ گزارش کرد که با قرارگرفتن گربه ماهی کانالی[1] در معرض ۱۰۰میلیگرم بر لیتر اسانس گل میخک، گلوکز به طور معناداری کاهش پیدا می‌کند. نتایج مشابه‌ای در مطالعه Iversen و همکاران (۲۰۰۳) روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس به دست آمده است. استفاده از اسانس گل میخک در زمان حمل و نقل باعث کاهش گلوکز پلاسما می‌شود و این تأثیر به شرایط حمل و نقل از جمله دمای آب، مدت زمان قرارگرفتن در معرض دارو، غلظت آن، گونه و سن ماهی و خیلی عوامل دیگر بستگی دارد (Small, 2004). مطابق با گزارش مذکور، Barton و همکاران (۱۹۸۷) بیان کردند که اسانس گل میخک در زمان حمل و نقل باعث جلوگیری از افزایش گلوکز ناشی از استرس حمل و نقل می‌شود.

مواد دفعی ماهیان بخصوص آمونیاک سمی طی دوره حمل و نقل می‌تواند باعث استرس شدید در ماهی قزل‌آلا شود و به دنبال آن سطح کورتیزول خون بالا خواهد رفت. زئولیت می‌تواند با تبادلات یونی انجام داده باعث حبس یون آمونیاک شود و منجر به کاهش آمونیاک آب شود. این مسأله باعث بهبود کیفیت آب و جلوگیری از به زوال رفتن آب مخزن حمل و نقل می‌شود (Donaldson, 1981). بنابراین با توجه به دلایل فوق می‌توان گفت که زئولیت می‌تواند به طور غیرمستقیم ترشح هورمون کورتیزول را تحت تأثیر قرار دهد. در مطالعه حاضر کاهش کورتیزول در زمان ۱۸ ساعت پس از شروع حمل و نقل در تیمار زئولیت می‌تواند به دلیل کاهش آمونیاک به علت تأثیر استفاده از زئولیت در مخازن حمل و نقل باشد. نتایج مشابهی در مطالعات انجام گرفته روی کپور ماهیان هندی (Singh et al., 2004; Singh et al., 2005)، گوپی[2] (Teo et al., 1989) و میگوی سفید هندی[3] (Akbari et al., 2010) به دست آمده است.

در مطالعه حاضر میزان گلوکز پلاسما و کورتیزول خون با افزایش زمان حمل و نقل بالا رفت، به طوری که تیمار شاهد بیشترین مقدار گلوکز و کورتیزول و بقیه تیمارها نوساناتی را در افزایش این شاخص‌ها نشان دادند. نتایج مشابه این مطالعه در گزارش‌های ارائه شده درخصوص اثر استرس حمل و نقل بر روی واکنش گلوکز خون در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (Gatica et al., 2010)، ماهی کاراس[4] (Urbinati et al., 2003)، ماهی آزاد کوهو[5] (Specker and Schreck, 1980) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (Kubilay and Ulukay, 2002) به دست آمده است.

1. *Ictalurus punctatus*

2. *Poecilia reticulate*
3. *Feneropenaus indicus*
4. *Carassius carassius*
5. *Oncorhynchus kisutch*

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان بیان کرد استفاده از اسانس گل میخک و زئولیت در زمان حمل و نقل بلند مدت (بیش از ۱۲ساعت) قزل‌آلای رنگین‌کمان، می‌تواند باعث کاهش استرس با جلوگیری از افزایش شاخص‌های استرس‌زا از قبیل کورتیزول و گلوکز شود و می‌توان برای افزایش تراکم حمل و نقل و همچنین حمل و نقل‌های طولانی مدت قزل‌آلای رنگین‌کمان از این مواد استفاده کرد.

منابع

1. Akbari, S., Khoshnod, M. J., Rajaian, H., Afsharnasab, M. 2010. The use of eugenol as an anesthetic in transportation of with Indian shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) post larva, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10: 423-429 (Translated in Persian).
2. Anderson, W. G., McKinley, R. S., Colavecchia, M. 1997. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance, North American *Journal of Fisheries Management*, 17: 301-307.
3. Barton, B. A. and Iwama, G. K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids, *Annual Review of Fish Diseases*, 1: 3-26.
4. 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.
5. Barton, B., Morgan, J. D., Vijayan, M. M. 2002. Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish, P111-148 In: Adams S. M. (eds.), Biological indicators of aquatic ecosystem stress; American Fisheries Society, Bethasda, 460p.
6. Carmichael G. J. 1984. Long distance truck transport of intensively reared largemouth bass, *Progressive Fish Culturist*, 46: 111–115.
7. Dadashpoor, A. A. 1999. Fingerling transportation, Shaghayegh Rustah Cultural-Art Institution, Tehran, 42p.
8. Donaldson, E. M. 1981. The pituitary internal axis as an indicator of stress in fish; P11–47. In: Pickering A. D. (eds.), Stress and fish, Academic Press, London, 287 p.
9. Einarsdóttir, I. E., Nilssen, K. J., Iversen, M. 2000. Effects of rearing stress on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) antibody response to non-pathogenic antigen; *Aqua Restaurant*; 31: 923-931.
10. Gatica, M. C., Monti, G. E., Krowles, T. G., Warriss P. D., Gallo, C. B. 2010. Effects of commercial live transportation and pre slaughter handling of Atlantic salmon on blood constituents, *Archivos the Medicina Veterinaria*, 42: 73-78.
11. Gottardi, G. and Galli E. 1985. Natural zeolite, *Springer-Velag*, Berlin, 409 p.
12. Grutter, A. S. and Pankhurst N. W. 2000. The effects of capture, handling, confinement and ectoparasite load on plasma levels of cortisol, glucose and lactate in the coral reef fish *Hemigymnus melapterus*. *Journal of Fish Biology*, 57: 391-401.
13. Guo, F. C., Teo, L. H., Chen, T. W. 1995. Effects of anaesthetics on the water parameters in a simulated transport experiment of platyfish, *Xiphophorus aculates* (Günther), *Aquaculture Research*, 26: 265-271.
14. Hanggono, B. and Areechon, N. 2004. Application of clove oil as anesthetic for sea bass (*Lates calcarifer* Bloch), Situbondo Brackishwater Aquaculture Development Center, 8: 1-15.
15. Hanson, K. 2009. Evaluation of short term saltwater immersion to alleviate handling stress in steel head trout; Abernathy Fish Technology Center, 2: 1-14.
16. Inoue, L. A., Afonso, L. O., Iwama, G. K., Moraes, G. 2005. Effects of clove oil on the stress response of matrinxa (*Brycon cephalus*) subjected to transport, *Acta Amazonica*, 35: 193-265.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]

17. Iversen, M., Finstad, B., McKinley, E. R. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, aqui-s and benzoak anestheticsin Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity, *Aquaculture*, 221: 549-566.
18. Iversen, M., Finstad, B., McKinley, R. S., Eliassen, R. A., Carlsen, K. T., Evjen, T. 2005. Stress responses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts during commercial well boat Transports and effects on survival after transfer to sea, *Aquaculture Research*, 243: 373-382.
19. Iversen, M., Finstad, B., Nilssen, K. J. 1998. Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts, *Aquaculture Research*, 168: 87-394.
20. Kayabali, K., Kiser, H. 1998. Testing the ability of bentonite amended natural zeolite (*clinoptilolite*) to remove heavy metals from liquid waste, *Journal of Environmental Geology*, 34: 95-100.
21. Kubilay, A. and Ulukay, G. 2002. The effect of acute stress on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Turkish Journal of Zoology*, 26: 249-254.
22. Lister, A., Nero, V., Farwell, A., Dioxn, D. G., Van Der Kraak, G. 2008. Reproductive and stress hormone levels in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water, *Aquaculture Toxicologist*, 87: 170–177.
23. McDonald, D. G., Cavdek, V., Ellis, R. 1991. Gill design in freshwater fishes: interrelationships among gas exchange, ion regulation, and acid–base regulation; *Physiological Zoology*, 64: 103-123.
24. Rottland, J. and 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.
25. 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.
26. Singh, A. K., Kumar, A., Singh, I. J., Ram, R. N. 2005. Seasonal ovarian cycle in freshwater teleost, *Labeo rohita* (Ham) in Tarai region of Uttaranchal, *Journal of Environmental Biology*, 26 (3): 557-565.
27. Singh, R. K., Vartak, V., Balange, A., Ghughuskar, M. 2004. Water quality management during transportation of fry of Indian major carps, *Catla catla*, *Labeo rohito* and *Cirrhinus mrigala*, *Aquaculture*, 232: 297-302.
28. 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.
29. Specker, J. L. and Schreck, C. B. 1980. Stress responses to transportation and fitness for marine survival in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 27: 765-760.
30. Svobodoa, Z., Kalab, P., Dusek, L., Vykusova, B., Kolarova, J., Janouskova, D. 1999. The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp, *Acta Veterinaria* 68: 265-274.
31. Tamaru, C. S., Trick, C. C., Fitz Gerald, W. J. 1995. Clove oil, a natural fish anesthetic; *Sustainable Aquaculture*, 1: 1-7.
32. Teo, L. H., Chen, T. W., Lee, B. H. 1989. Packaging of the guppy, *Poecilia reticulata*, for air transport in a closed system, *Aquaculture*, 78: 321–332.
33. Urbinati, E. C., Abreu, J. S., Camargo, A. C. S., Parra, M. A. L. 2003. Loading and transport stress of juvenile matrinxa (*Brycon cephalus, Characidae*) at various densities, *Aquaculture Research*, 229: 389-400.
34. Wendelaar-Bonga, S. E. 1997. The stress response in fish, *Physiological Reviews*, 77: 591-625.
35. Woody, C. A., Nelson, J., Ramstad, K. 2002. Clove oil as an anaesthetic for adult Sockeye Salmon, field trails, *Journal of Fish Biology*, 60 (2): 340-347.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]

The effect of zeolite (*Clinoptiolite*) and clove oil (*Eugenia caryophyllata*) on survival rate and reduction of stress during transportation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Majid Hashemi[1], Mir Masoud Sajjadi[2], Majid Saaedi[3] and Seyed Abolfazl Vesali[4]

1- M. Sc. of Fisheries Science, Hormozgan University, Department of Fisheries, Bandar Abass, Iran
2- Associate Prof, Hormozgan University, Faculty of Science, Department of Marine Biology, Bandar Abass, Iran
3- B. Sc. of Fisheries, Jahad-Keshavarzi Institute, Tonekabon, Iran
4- B. Sc. of Fisheries, Zabol University, Faculty of Natural resources, Departement of Fisheries, Zabol, Iran

*Corresponding author: hashemi_majeed@yahoo.com

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-07-29]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1391.1.1.2.9]

Abstract: The main concern in fish transportation is about minimizing stress during transportation. In this study, the effects of zeolite and clove essence on rainbow trout survival and stress were investigated during transportation. 4 treatments (each one includes 3 replicates) consisting of control, clove essence (25 mg/l), zeolite (14g/l) and clove essence (25mg/l) + (14g/l) were considered. 156 fish (an average weight about 80 ± 4.4 g) with a density of 130 kg/m^3 were distributed randomly. Survival rates, cortisol and glucose levels were measured and analyzed (as indicators of stress) at zero, 6, 12 and 18 hours after the beginning of transportation. In the end, the results showed a significant difference in the survival rates as the control group had the lowest rates ($P < 0.05$). There were no significant differences in cortisol and glucose levels at zero, 6 and 12 hours in different treatments, while the control group had the highest levels of cortisol and glucose at 18 hours ($P <$ 0/05). The results of this study showed that by using clove essence and zeolite in long-term transportation of rainbow trout (over than 12 hours), cortisol and glucose can be reduced, therefore reducing fish stress and mortality.

Keywords: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Zeolite, Clove essence, Transport, Stress indices