

اثر امولسیون اسانس نعناع (کاروون) و متیل‌سالیسیلات بر بیهوشی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*)

زهرا روحی*، محمدرضا ایمان‌پور و بی‌بی مهسا جوادی موسوی

گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده شیلات و محیط زیست، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۱

چکیده

بیهوش‌کننده‌ها در آبی‌پروری عمدتاً به‌منظور کاهش استرس و جلوگیری از آسیب ماهیان طی دستکاری استفاده می‌شود. بررسی حاضر اولین مطالعه در زمینه اثر امولسیون اسانس نعناع (کاروون) و متیل‌سالیسیلات (ECMS) بر بیهوشی ماهی سفید با میانگین وزنی $3/35 \pm 0/25$ گرم در ایران می‌باشد. ماهیان در معرض غلظت‌های ۱۹۷، ۲۶۳ و ۳۹۵ میکرولیتر در لیتر ECMS قرار گرفتند. در طول آزمایش دمای آب ۲۰ درجه سانتی‌گراد و pH آن ۸/۱ بود. نتایج نشان داد که زمان القاء بیهوشی با افزایش غلظت ECMS به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). در زنش سرپوش آبخشی و زمان برگشت از بیهوشی بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$). زنش سرپوش آبخشی در ابتدا افزایش و سپس با افزایش غلظت بیهوش‌کننده به آرامی کاهش یافت. همچنین، در این مطالعه مرگ و میری مشاهده نشد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که کاربرد امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات در غلظت ۲۶۳ میکرولیتر در لیتر می‌تواند برای بیهوشی ماهی سفید مناسب باشد.

واژه‌های کلیدی: بیهوشی، زمان القاء، نعناع، ماهی سفید

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۰۶۰۷۱۰۷۹، پست الکترونیکی: roohi26_iut@yahoo.com

مقدمه

بی‌خطر بودن برای انسان، ماهی و محیط زیست، ارزان باشد، در دسترس و برگرفته از طبیعت باشد (۱۴، ۲۵، ۳۰). استفاده از بیهوش‌کننده‌ها در آبی‌پروری و مدیریت آن، کاهش استرس و کاهش تأثیر بر رفتار و فرآیندهای فیزیولوژی ماهی را به‌همراه دارد (۱). طی سالیان گذشته به‌منظور به حداقل رساندن اثرات استرس در ماهی، مطالعاتی جهت استفاده از محصولات طبیعی با خواص بی‌حس‌کنندگی صورت گرفته است (۳۳)، که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به اسانس میخک، به‌لیمو و رزماری اشاره کرد (۲۰، ۲۳، ۲۴، ۲۹، ۳۵، ۳۶). گیاهان دارویی به‌علاوه دارا بودن مواد مؤثره گوناگون می‌توانند در درمان بسیاری از بیماری‌ها و علائم آن‌ها مثل درد، مورد استفاده قرار گیرند (۶).

ماهیان در شرایط پرورشی اغلب در معرض عوامل استرس‌زا مانند دستکاری، وزن‌کشی، خون‌گیری، تکثیر مصنوعی، حمل و نقل و جراحی قرار می‌گیرند (۲۷). استرس موجب مجموعه‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیکی می‌شود (۱۱، ۱۹، ۲۱، ۲۲)، که به شدت می‌تواند رشد، تولید مثل، عملکردهای ایمنی و میزان بازماندگی را تحت تأثیر قرار دهد (۱۳، ۳۷). داروهای بیهوش‌کننده برای کاهش یا به حداقل رساندن استرس در ماهیان مؤثر شناخته شده‌اند (۱۶، ۳۱، ۳۲). با این حال، این عوامل می‌توانند اثرات جانبی داشته باشند که باید با احتیاط مصرف شوند (۳۸). معیارهای اساسی که برای ارزیابی بیهوش‌کننده مطلوب در آبی‌پروری در نظر گرفته می‌شود عبارتند از:

تهیه امولسیون بیهوشی: امولسیون اسانس نعناع و متیل-سالیسیلات (ECMS) از ۲۸/۴٪ کاروون، ۴٪ متیل-سالیسیلات، به‌عنوان اجزاء گیاهی و ۲۵٪ گلیسرین و ۵٪ پلی‌سوربات ۸۰٪ به‌عنوان ماده امولسیون‌کننده در یک محلول آبی تشکیل شده است. اسانس نعناع از شرکت داروسازی گیاه اسانس (گرگان، ایران)، متیل‌سالیسیلات، گلیسرین و پلی‌سوربات ۸۰٪ از شرکت دانش‌صنعت پژوهش خزر (گرگان، ایران) تهیه گردید. مواد تشکیل‌دهنده با هم ترکیب و با دستگاه همگن‌کننده به مدت سه دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه مخلوط شدند تا مایع سفید درخشان شکل گرفت.

برای تعیین غلظت مناسب امولسیون بیهوشی از هجده قطعه ماهی سفید (با میانگین وزنی $3/35 \pm 0/25$ گرم و میانگین طول کل $7/61 \pm 0/2$ سانتی‌متر) استفاده شد که به‌طور تصادفی به سه گروه شش‌تای تقسیم شدند. براساس مطالعات گذشته، غلظت‌های مورد نظر برای انجام آزمایش عبارت بود از ۱۹۷، ۲۶۳ و ۳۹۵ میکرولیتر در لیتر که به آبی با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و pH در حدود ۸/۱ اضافه گردید. در این آزمایش، مدت زمان القاء بیهوشی، مدت زمان بازگشت از بیهوشی، زنش سرپوش آبخشی در زمان القاء بیهوشی و در زمان بازگشت از بیهوشی محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک-طرفه و آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها انجام شد. اختلاف بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان $P < 0/05$ تعیین گردید. برای عملیات آماری از نرم-افزار ۱۶ SPSS استفاده شد.

نتایج

میانگین زیست‌سنجی ماهیان مورد آزمون مطابق جدول ۱ می‌باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میانگین زمان ایجاد بیهوشی در بین غلظت‌های مختلف امولسیون اسانس نعناع

نعناع خوراکی (*Mentha spicata*) متعلق به خانواده لامیاسه (Lamiaceae) با سرشاخه‌های معطر است که مصارف صنعتی و دارویی فراوانی دارد (۳، ۷). در ایران در اکثر مناطق این گیاه را می‌توان کشت کرد (۸). از اسانس این گیاه در زمینه تهیه داروهای مسکن در درمان تب، سردرد و غیره و در صنایع غذایی به‌عنوان طعم‌دهنده غذاها و شیرینی‌جات استفاده می‌شود (۲). کاروون ترکیبی از اسانس نعناع است که باعث طعم و عطر آن می‌شود (۸). اثر بی‌حس‌کنندگی کاروون روی سیستم عصبی مرکزی و محیطی شامل اثرات ضد درد، آرام بخش و ضد تشنج است (۱۷).

اسانس کاج حاوی ماده خالص متیل‌سالیسیلات است که در ساخت پمادهای مسکن درد استفاده می‌شود. متیل-سالیسیلات را می‌توان با استری کردن سالیسیلیک اسید با متانول سنتز کرد. خواص دارویی آن شامل اثرات ضد درد، ضد التهابی، مهار تجمعی پلاکت و سمیت است (۱۷).

اگرچه نعناع و متیل‌سالیسیلات به‌طور جداگانه نیز داری اثر بیهوش‌کنندگی هستند با این حال، ترکیب آن‌ها اثر بیهوشی-کنندگی با دوز پایین‌تر، القاء سریع‌تر و برگشت از بیهوشی سریع‌تر دارد (۱۷). لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر بیهوشی امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات و تعیین غلظت مؤثر آن در ماهی سفید است.

مواد و روشها

تهیه ماهی: این پژوهش در تابستان ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این مطالعه، ماهی سفید (با میانگین وزنی $3/35 \pm 0/25$ گرم و میانگین طول کل $7/61 \pm 0/2$ سانتی‌متر) از کارگاه تکثیر و پرورش سیجوال در استان گلستان تهیه و به مدت دو هفته عمل سازگار شدن انجام شد.

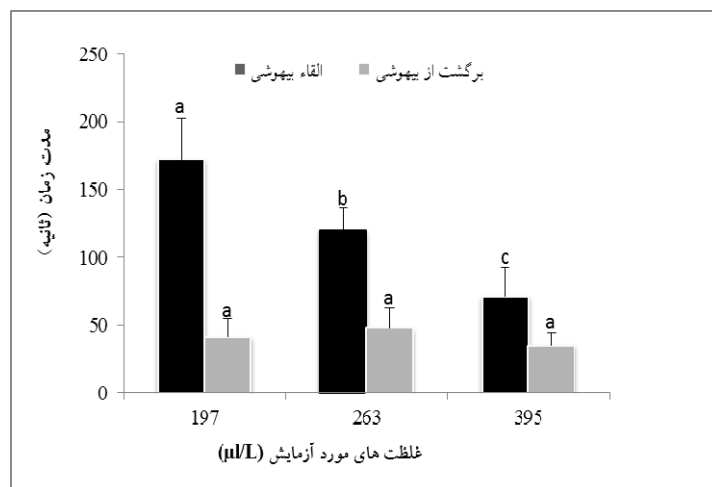
علاوه‌براین، متوسط سرعت زنش سرپوش آبشش طی بیهوشی و نیز طی برگشت از بیهوشی در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). ماهیان مورد آزمایش تا دو هفته از نظر تلفات احتمالی تحت کنترل بودند که هیچ مورد تلفاتی در میان آن‌ها مشاهده نشد.

و متیل‌سالیسیلات تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). به‌طوری‌که، بیهوشی با غلظت ۳۹۵ میکرولیتر در لیتر در مقایسه با غلظت‌های دیگر سریع‌تر ایجاد شد (شکل ۱). بین متوسط زمان برگشت از بیهوشی در غلظت‌های مختلف تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

جدول ۱- میانگین زیست‌سنجی ماهی سفید بیهوش‌شده با غلظت‌های مختلف ECMS

غلظت ECMS ($\mu\text{L/L}$)	وزن (گرم)	طول کل (سانتی‌متر)
۱۹۷ (n=۶)	$3/517 \pm 0.22^a$	$7/56 \pm 0.306^a$
۲۶۳ (n=۶)	$3/3 \pm 0.072^a$	$7/66 \pm 0.115^a$
۳۹۵ (n=۶)	$3/223 \pm 0.345^a$	$7/6 \pm 0.2^a$

تذکر: حروف مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$



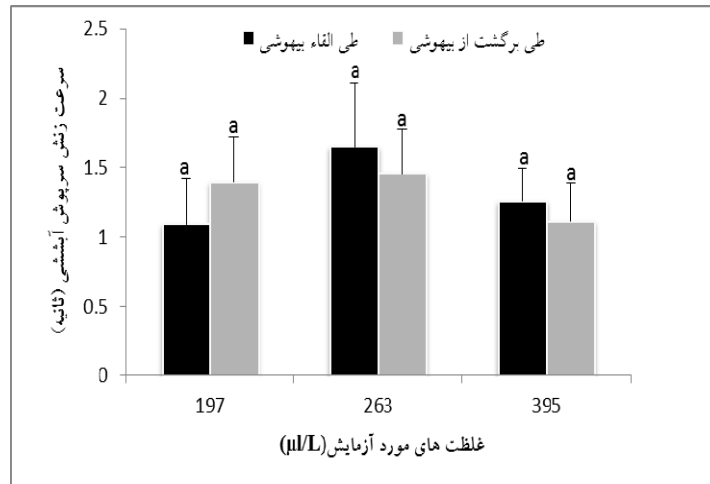
شکل ۱- میانگین زمان بیهوشی و برگشت از بیهوشی در ماهی سفید بیهوش‌شده با ECMS

حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار و حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$)

بحث و نتیجه‌گیری

اسکلتی و عضلانی است. روش القاء بیهوش‌کننده‌های ماهی شامل غوطه‌وری، تزریق وریدی، عضلانی و یا داخل صفاقی و بلع از راه دهان است (۱۷). متداول‌ترین روش از طریق استنشاق است که داروی بیهوشی در آب پراکنده شده و توسط آبشش‌ها جذب می‌شود (۲۸). فاکتورهای متعددی مانند گونه‌ماهی، اندازه‌ی بدن و کیفیت آب (مانند سختی، دما و شوری) بر عملکرد بیهوش‌کننده‌ها اثر می‌گذارد (۱۵، ۳۴).

در آبی‌پروری مدرن، ماهیان اغلب در معرض عوامل مختلف استرس‌زا مانند دستکاری، تکثیر مصنوعی و حمل و نقل قرار می‌گیرند که اثر منفی بر عملکرد رشد و بقاء ماهی دارد (۹، ۲۱). یکی از روش‌های متداول برای کاهش پاسخ استرس و مرگ و میر ماهیان طی دستکاری، استفاده از بیهوش‌کننده‌ها است (۱۱، ۱۲، ۱۸). بیهوشی مجموعه‌ای از حالات بی‌حسی، خواب‌آلودگی، بی‌دردی و شلی



شکل ۲- متوسط سرعت ززش سرپوش آبشش در ماهی سفید بیهوش شده با ECMS

حروف غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار و حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$)

آبششی متفاوتی دارند که می‌تواند میزان جذب داروی بیهوش‌کننده و القاء بیهوشی را نشان دهد. طبق نتایج بدست آمده از این مطالعه، تیمار ۲۶۳ میکرولیتر در لیتر برای بیهوشی مناسب تشخیص داده می‌شود. در مطالعه دنیرو و همکاران (۲۰۱۱) بر اثر امولسیون اسانس نعناع و متیل-سالیسیلات در بیهوشی آزاد ماهی اطلس با میانگین وزنی 117 ± 26 گرم، غلظت ۷۸۹ میکرولیتر در لیتر مناسب تشخیص داده شد.

با توجه به اینکه پس از انجام آزمایش تلفات یا رفتارهای غیرطبیعی در ماهی‌ها طی دو هفته تحت نظر گرفتن آنها مشاهده نگردید، به نظر می‌رسد که امولسیون اسانس نعناع (کاروون) و متیل‌سالیسیلات (ECMS) اثرات منفی بر فیزیولوژی یا رفتار ماهی ندارد و از آنجایی که یک ترکیب گیاهی است انتظار می‌رود که به آسانی در محیط تجزیه شود و اثرات سوء زیست‌محیطی نیز نداشته باشد. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت که امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات می‌تواند در کنار سایر بیهوش‌کننده‌ها به عنوان یک داروی بیهوشی مؤثر و مطلوب مد نظر قرار داد.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر نشان داد که امولسیون اسانس نعناع و متیل-سالیسیلات می‌تواند بدون مشاهده تلفات و با موفقیت باعث بیهوشی ماهی شود. نتایج آنالیز آماری در مورد زمان بیهوشی بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار است، به طوری که هرچه مقدار دوز دارو بیشتر باشد مدت زمان رسیدن به مرحله ۴ بیهوشی کمتر می‌شود. این نتایج در مورد سایر بیهوش‌کننده‌ها مانند گل‌میخک، تنباکو، بی-کربنات سدیم و اسانس آویشن نیز گزارش شده است (۴، ۵، ۱۰). بنابراین، زمان ایجاد بیهوشی با غلظت امولسیون بیهوشی رابطه مستقیم دارد که با مطالعه جواهری و همکاران (۲۰۱۲) بر ماهی سفید بیهوش‌شده با اسانس میخک مطابقت دارد.

شکل ۲ تغییرات سرعت ززش سرپوش آبشش ماهی سفید را طی القاء بیهوشی و طی برگشت از بیهوشی نشان می‌دهد. در ابتدا ززش سرپوش با افزایش غلظت بیهوش‌کننده افزایش و سپس کاهش می‌یابد. سرعت ززش سرپوش آبشش طی بیهوشی و طی برگشت از بیهوشی در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت. با این حال، بیشترین سرعت ززش سرپوش طی القاء بیهوشی و برگشت از بیهوشی مربوط به تیمار ۲۶۳ میکرولیتر در لیتر بود. گونه‌های مختلف ماهیان سرعت ززش سرپوش

دانشکده شیلات و محیط‌زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، نهایت تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

بدین وسیله از سرکار خانم دکتر سارا خراسانی‌نژاد و آقای دکتر خداپار همتی، اعضای محترم هیئت علمی دانشکده علوم باغبانی و سرکار خانم مهندس معصومه کمالی از

منابع

۱. ابطحی، ب.، شریف‌پور، ع.، آقاجانپور، م.، رسولی، ع.، فقیه‌زاده، س.، امیدبیگی، ر. و محمدنظری، ر. ۱۳۸۱. مقایسه LC_{50} اسانس گل میخک و MS222 در بچه‌ماهیان تاسماهی ایرانی، قزل‌آلای رنگین‌کمان و کپور معمولی. مجله شیلات ایران. سال یازدهم، شماره ۳، صفحه ۱۲-۱.
۲. زارع ده‌آبادی، س. و اسرار، ز. ۱۳۸۸. بررسی اثر مقدار اضافی عنصر روی (Zinc) بر القای تنش اکسیداتیو و تجمع برخی عناصر در گیاه نعناع سبز (*Mentha spicata*). مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۲، شماره ۲، صفحه ۲۱۸-۲۲۸.
۳. زارع ده‌آبادی، س. و اسرار، ز. ۱۳۸۷. اثر مقدار اضافی عنصر روی بر میزان تجمع عناصر ضروری و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی نعناع سبز (*Mentha spicata*). فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۴، شماره ۴، صفحه ۵۳۰-۵۴۰.
۴. شریف روحانی، م.، حقیقی، م.، عصائیان، ح. و لشتوآقایی، غ. ۱۳۸۶. بررسی اثر بیهوشی اسانس آویش شیرازی بر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) و ماهی قزل‌آلای
۵. رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. سال شانزدهم، شماره ۴، صفحه ۱۰۶-۹۹.
۵. ضرغام، د.، شریف‌روحانی، م.، فلاحت ناصر آباد، ع. و باشتی، ط. ۱۳۹۱. بررسی اثر بیهوش‌کنندگی عصاره‌های آبی و الکلی تنباکو (*Nicotiana tabacum*) بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله شیلات ایران. سال بیست و یکم، شماره ۴، صفحه ۴۰-۳۳.
۶. فاضلی، ن. ۱۳۸۳. تأثیر سوپر مینت (اسانس نعناع) بر شدت درد پس از سزارین. مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل. سال هفتم، شماره ۱، صفحه ۳۳-۲۸.
۷. کامکار، ا.، اسدی، ف.، جلی جوان، ا. و جمشیدی، ر. ۱۳۸۸. ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره نعناع ایرانی. مجله دامپزشکی و آزمایشگاه. دوره ۱، شماره ۱، صفحه ۷۲-۶۴.
۸. نورالدینی، م.، نورالدین، م.، سلامی، م.، مصداقی‌نیا، ا.، وردی، ج. و سلیمیان، م. ۱۳۸۵. بررسی اثرات ضد دردی عرق نعناع در موش صحرائی نر. فصلنامه علمی-پژوهشی فیض. دوره دهم، شماره ۴، صفحه ۲۳-۱۹.
9. Akar, A.M.A. 2011. Effects of clove oil on the response of blue tilapia (*Oreochromis aureus*) by transportation stress. Journal of the Arabian Aquaculture Society, 6(1): 77-86.
10. Altun, T., Bilgin, R. and Danabas, D. 2009. Effects of sodium bicarbonate on anaesthesia of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 9: 29-31.
11. Barton, A.B. 2002. Stress in fishes: Adversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative Biology 42: 517-525.
12. Bressler, K. and Ron, B. 2004. Effect of anesthetics on stress and the innate immune system of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah, 56: 5-13.
13. Carmichael, G.J. 1984. Long distance truck transport of intensively reared largemouth bass. Progressive Fish-Culturist 46: 111-115.
14. Cho, G.K. and Heath, D.D. 2000. Comparison of tricaine methanesulphonate (MS-222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture Research, 31: 537-546.
15. Coyle, S.D., Durrorow, R.M. and Tidwell, H.J. 2004. Effects of anaesthetics on the water parameters in a simulated transport experiment of platy fish (*Xiphorus maculatus*). Aquaculture Research, 26: 256-271.
16. Cunha, M.A., Silva, B.F., Delunardo, F.A.C., Benovite, S.C., Gomes, L.C., Heinzmann, B.M. and Baldisserotto, B. 2011. Anesthetic induction and recovery of *Hippocampus reidi* exposed to the essential oil of *Lippia alba*. Neotropical Ichthyology, 9(3): 683-688.
17. Danner, G.R., Muto, K.W., Zieba, A.M., Stillman, C.M., Seggio, J.A. and Ahmad, S.T. 2011. Spearmint (*l*-carvone) oil and wintergreen

- (methyl salicylate) oil emulsion is an immersion anesthetic of fishes. *Journal of Fish and Wildlife Management*, 2(2): 146-155.
18. Façanha, M.F. and Gomes, L.C. 2005. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). *Acta Amazonica*, 35: 71-75.
 19. Feng, G., Liu, J., Zhuang, P., Zhang, L. and Duan, M. 2011. Anesthesia and recovery with clove oil in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Bioinformatics and Biomedical Engineering*. 1-4.
 20. Ghazilou, A. and Chenary, F. 2011. Evaluation of rosemary oil anesthesia in carp. *Online Journal of Veterinary Research*, 15(2): 112-118.
 21. Gholipourkanani, H. and Ahadzadeh, S. 2013. Use of propofol as an anesthetic and its efficacy on some hematological values of ornamental fish *Carassius auratus*. *SpringerPlus*, 2: 76-80.
 22. Gholipour Kanani, H., Mirzargar, S.S., Soltani, M., Ahmadi, M., Abrishamifar, A., Bahonar, A. and Yousefi, P. 2011. Anestthetic effect of tricaine methanesulfonate, clove oil and electroanesthesia on lysozyme activity of *Oncorhynchus mykiss*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(3): 393-402.
 23. Gressler, L.T., Riffel, A.P.K., Parodi, T.V., Saccol, E.M.H., Koakoski, G., Costa, S.T., Pavanato, M.A., Heinzmann, B.M., Caron, B., Schmidt, D., Llesuy, S.F., Barcellos, L.J.G. and Baldisserotto, B. 2012. Silver catfish (*Rhamdia quelen*) immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. *Aquaculture Research*, doi:10.1111/are.12043.
 24. Imanpoor, M.R., Bagheri, T. and Hedayati, S.A.A. 2010. The anesthetic effects of clove essence in persian strurgeon (*Acipenser persicus*). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2(1): 29-36.
 25. Iversen, M., B. Finstad, B., McKinley, R.S. and Eliassen, R.A. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-Sk and BenzoakR as anaesthetics in atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture*, 221: 549-566.
 26. Javahery, S., Haji Moradlu, A. and Ghornani, R. 2012. Efficacy of clove oil as an anaesthetic for two size of *Rutilus frisii kutum*. *Global Veterinaria*, 9(3): 319-322.
 27. Kiessling, A., Johansson, D., Zahl, I.H. and Samuelsen, O.B. 2009. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. *Aquaculture*, 286: 301-308.
 28. Mavadati, A.H. and Habibian, R. 2011. Comparison of effect of clove oil and 2-Phenoxyethanol on serum biochemical parameters in *Oncorhynchus mykiss*. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 3(4): 318-322.
 29. Parodi, T.V., Cunha, M.A., Becker, A.G., Zeppenfeld, C.C., Martins, D.I., Koakoski, G., Barcellos, L.G., Heinzmann, B.M. and Baldisserotto, B. 2013. Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, doi: 10.1007/s10695-013-9845-z.
 30. Pirhonen, J. and Schreck, C.B. 2003. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mukiss*). *Aquaculture*, 220: 507-514.
 31. Rotllant, J., Balm, P.H.M., Pérez-Sánchez, J., Bonga, S.E.W. and Tort, L. 2001. Pituitary and interrenal function in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) after handling and confinement stress. *General Comparative Endocrinology*, 121: 333-342.
 32. Skjervold, P.O., Fjoera, S.V., Østby, P.B., Einem, O. 2001. Livechilling and crowding stress before slaughter of atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 192: 265-280.
 33. Toni, C., Becker, A.G., Simões, L.N., Pinherio, C.G., de Lima Silva, L., Heinzmann, B.M., Caron, B.O. and Baldisserotto, B. 2013. Fish anesthesia: effects of the essential oils of *Hesperozygis ringens* and *Lippia alba* on the biochemistry and physiology of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, DOI: 10.1007/s10695-013-9877-4.
 34. Ucar, A. and Atamanalp, M. 2010. The effects of natural (clove oil) and synthetical (2-phenoxyethanol) anesthesia substances on hematology parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta fario*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(14): 1925-1933.

35. Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Groch, L. and Nepejchalova, L. 2005. effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio*). Veterinary Medicine-Czech, 50: 269-275.
36. Wagner, G.N., Singer, T.D. and McKinley, R.S. 2003. The ability of clove oil and MS-22 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research, 34: 1139-1146.
37. Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews, 77: 591-625.
38. Zahl, I.H., Samuelsen, O. and Kiessling, A. 2012. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. Fish Physiology and Biochemistry, 38: 201-218.

Effect of emulsion of spearmint (carvone) oil and methyl salicylate on anesthesia of *Rutilus frisii kutum*

Roohi Z., Imanpoor M.R. and Javadi Mousavi B.M.

Fisheries Dept., Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. of Iran

Abstract

Anesthetics are used with increasing frequency in aquaculture, mainly to reduce the stress and to prevent mechanical damage to fish during handling. Present study is the first study on the effect of emulsion of spearmint (carvone) oil and methyl salicylate (ECMS) on anesthesia of *Rutilus frisii kutum* with average body weights 3.35 ± 0.25 g in Iran. The water temperature was 20 °C and pH was 8.1 during the investigation. Fish were exposed to the concentrations of 197, 263 and 395 $\mu\text{L/L}$ of ECMS. Results showed that induction time decreased significantly with increasing of the concentration of ECMS ($P < 0.05$). There is also no significant difference between recovery time and opercular rates in experimental groups ($P > 0.05$). Opercular rate firstly increased and then slowly decreased with increasing the concentration of anesthetic. Also, no mortality was observed in the study. The results of this study show that applications of spearmint and methyl salicylate oil emulsion in 263 $\mu\text{L/L}$ level, can be suitable for anesthetization of *Rutilus frisii kutum*.

Key words: Anesthesia, Induction time, Spearmint, *Rutilus frisii kutum*