اثرات میخک و امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات بر بیهوشی و گلوکز خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)

زهرا روحی*، محمدرضا ایمان‌پور، حامد محمدی و مجید محمدی

گرگان، دانشگاه علوم‌کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۴

چکیده

استفاده از داورهای بیهوشی یکی از روش‌های متداول جهت به حداقل رساندن و یا کاهش اثرات استرس در ماهیان می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات میخک و امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات (CMSE) بر بیهوشی و گلوکز خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (۰/۲۵±۲۷/۳۵ گرم) بود. ماهیان جهت بیهوشی در معرض غلظت‌های مختلف CMSE (۳۹۵، ۵۲۶ و ۶۵۷ میکرولیتر در لیتر) قرارگرفتند. نتایج به دست آمده نشان داد که زمان القاء بیهوشی با افزایش غلظت CMSE به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$). با این‌حال، زمان برگشت از بیهوشی با افزایش غلظت بیهوش‌کننده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$). سرعت زنش سرپوش آبششی در ابتدا افزایش و سپس با افزایش غلظت بیهوش‌کننده به‌آرامی کاهش یافت. میزان گلوکز خون به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت بیهوش‌کننده بود ($P<0/05$). بیشترین مقادیر گلوکز بعد از بیهوشی و برگشت از بیهوشی مربوط به غلظت ۶۵۷ میکرولیتر در لیتر بود. آزمایش دیگری نیز به‌منظور مقایسه امولسیون اسانس نعناع و متیل-سالیسیلات با پودر گل میخک انجام شد که در آن ماهیان در غلظت ۵۲۶ میکرولیتر در لیتر CMSE و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر پورد گل‌میخک غوطه‌ور شدند. زمان القاء بیهوشی و زمان برگشت از بیهوشی در گروه CMSE سریع‌تر بود. همچنین، کمترین مقادیر گلوکز و بالاترین سرعت زنش سرپوش مربوط به گروه CMSE بود. در این مطالعه مرگ‌ومیری مشاهده نشد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که کاربرد امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات در غلظت ۵۲۶ میکرولیتر در لیتر می‌تواند برای بیهوشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مناسب باشد.

واژه های کلیدی: بیهوشی، زمان القاء بیهوشی، نعناع، متیل‌سالیسیلات، قزل‌آلای رنگین‌کمان.

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

مقدمه

در عملیات آبزی‌پروری مدرن، ماهیان اغلب در معرض عوامل مختلف استرس‌زا شدید قرار می‌گیرند (۸). استرس موجب مجموعه‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیکی می‌شود (۱۹، ۲۲، ۲۳)، که به شدت می‌تواند رشد، تولیدمثل، عملکردهای ایمنی و میزان بازماندگی را تحت تأثیر قراردهد (۱۵، ۴۳). داروهای بیهوش‌کننده در کاهش یا به-حداقل رساندن استرس در ماهیان مؤثر شناخته شده‌اند (۲۷) و در سال‌های اخیر، انواع مختلفی از داروهای بیهوش‌کننده به‌عنوان ضداسترس برای کمک به صید، دستکاری، تکثیر مصنوعی، عملیات جراحی و حمل‌ونقل ماهیان استفاده می‌شود (۱۶، ۳۸). اگرچه بیهوش‌کننده‌ها می‌توانند ابزاری ارزشمند برای اطمینان از آسایش حیوان طی این وقایع باشند، بااین‌حال می‌توانند اثرات جانبی ناخواسته‌ای داشته باشند که درنتیجه باید بااحتیاط مورد استفاده قرارگیرند (۴۷).

طی سالیان گذشته، برای به حداقل رساندن اثرات استرس بر ماهیان، مطالعات گسترده‌ای به‌منظور بررسی تولیدات طبیعی با خواص بی‌حس‌کنندگی صورت گرفته است (۴۰)، که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به رزماری، میخک، به-لیمو و ریحان اشاره کرد (۲۱، ۲۵، ۲۸، ۳۴، ۴۱، ۴۲). گیاهان دارویی به علت دارا بودن مواد مؤثره گوناگون می-توانند در درمان بسیاری از بیماری‌ها و علائم آن‌ها مثل درد، مورد استفاده قرارگیرند (۵). از طرفی با توجه به غنای اکولوژی گیاهی کشور ایران و سابقه فرهنگی استفاده از گیاهان بومی و همچنین صرفه اقتصادی و عوارض کمتر این نوع مواد، گیاهان دارویی در اولویت اول مطالعات قرار دارند (۴).

نعناع سبز (*Mentha spicata*) متعلق به خانواده لامیاسه (Lamiaceae) با سرشاخه‌های معطر است که مصارف صنعتی و دارویی فراوانی دارد (۱، ۶). بومی ایران و در اکثر مناطق این گیاه را می‌توان کشت کرد (۸). از اسانس این گیاه در زمینه تهیّه داروهای مسکن در درمان تب، سردرد و غیره و در صنایع غذایی به عنوان طعم‌دهنده غذاها و شیرینی‌جات استفاده می‌شود (۱). گونه نعناع خوراکی از لحاظ ترکیب اسانس تفاوت‌هایی با گونه‌های نعناع دارد که اصلی‌ترین این تفاوت‌ها عدم وجود منتول و تشکیل شدن ترکیبی به نام کاروون (Carvone) است که درصد بالایی (۷۳٪) از اسانس را شامل می‌شود (۲۰). اثر بی‌حس‌کنندگی کاروون روی سیستم عصبی مرکزی و محیطی شامل اثرات ضد درد، آرام‌بخش و ضد تشنج است (۲۱).

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. ازجمله خواص دارویی آن می‌توان به اثرات ضد درد، ضدالتهاب، مهار تجمع پلاکت‌ها و سمیّت اشاره کرد (۱۸).

میخک به‌عنوان بیهوش‌کننده قدیمی، بیشتر معیارها و خواص بیهوش‌کننده خوب را داراست (۷). اثرات بیهوش-کنندگی میخک بر ماهیان مختلف توسط محققان گزارش شده است (۲۸، ۳۱، ۳۳، ۴۵). ائوژنول، ایزوائوژنول و متیل‌ائوژنول از ترکیبات فعال میخک است، به‌طوری که ۸۵ تا ۹۵ درصد میخک را ائوژنول تشکیل می‌دهد (۹). عمده میخک مصرفی از سایر کشورها وارد می‌شود و در سال-های اخیر قیمت آن به‌شدت افزایش‌یافته است (۳۹)، از این‌رو یافتن جایگزین برای آن می‌تواند مناسب باشد. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر بیهوش‌کنندگی امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات و تعیین غلظت مؤثر آن در قزل‌آلای رنگین‌کمان و مقایسه آن با پودر گل میخک، به-عنوان بیهوش‌کننده متداول در آبزی‌پروری است.

مواد و روشها

تهیّه ماهی: این پژوهش در پاییز ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم‌کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان انجام شد. در این مطالعه، تعداد ۴۰ قطعه ماهی نر قزل‌آلای رنگین‌کمان تهیّه و به مدت دو هفته آداپتاسیون انجام شد.

تهیّه امولسیون بیهوشی: امولسیون اسانس نعناع و متیل-سالیسیلات (CMSE) از ۲۸/۴٪ کاروون، ۴٪ متیل-سالیسیلات، به‌عنوان اجزاء گیاهی و ۲۵٪ گلیسیرین و ۵٪ پلی‌سوربات ۸۰ به‌عنوان امولسی‌فایر در یک محلول آبی تشکیل‌شده است. اسانس نعناع از شرکت داروسازی گیاه اسانس (گرگان، ایران)، متیل‌سالیسیلات، گلیسیرین و پلی-سوربات ۸۰ از شرکت دانش صنعت پژوهش خزر (گرگان، ایران) تهیّه گردید. مواد تشکیل‌دهنده باهم ترکیب و با دستگاه هموژنایزر به مدت سه دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه مخلوط شدند تا مایع سفید درخشان شکل گرفت (۴۵).

برای تعیین غلظت مناسب امولسیون بیهوشی از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (با میانگین وزنی ۰/۲۵±۲۷/۳۵ گرم و میانگین طول کل ۰/۲±۱۵/۶۱ سانتی‌متر) استفاده شد که به‌طور تصادفی به سه گروه پنج‌تای تقسیم شدند. براساس مطالعات گذشته، غلظت‌های موردنظر برای انجام آزمایش عبارت بود از ۳۹۵، ۵۲۶ و ۶۵۷ میکرولیتر در لیتر که به آبی با دمای ۱۹/۵ درجه سانتی‌گراد و pH در حدود ۷/۱ اضافه گردید (۴۵). در این آزمایش، مدت‌زمان القاء بیهوشی، مدت‌زمان بازگشت از بیهوشی، سرعت زنش سرپوش آبششی طی القاء بیهوشی و نیز در زمان بازگشت از بیهوشی و میزان گلوکز خون بعد از بیهوشی و بعد از برگشت از بیهوشی محاسبه گردید.

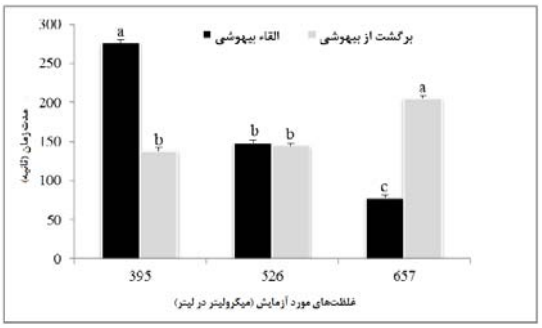
برای اندازه‌گیری گلوکز، با استفاده از سرنگ غیرهپارینه از ساقه دمی ماهیان خون‌گیری شد و نمونه‌های خون در دمای اتاق سانتریفیوژ (۵ دقیقه، دور در دقیقه ۶۰۰۰) و سرم جداشده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد. میزان گلوکز با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر و کیت‌های تجاری (شرکت پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد.

آزمایش دوّم: برای مقایسه اثر بیهوشی امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات با پودر گل‌میخک، دزهای تجربی ۵۲۶ میکرولیتر در لیتر CMSE و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر پودر گل‌میخک برای بیهوشی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده شد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها انجام شد. اختلاف بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان (P<۰/۰۵) تعیین گردید. برای عملیات آماری از نرم‌افزار SPSS ۱۶ استفاده شد.

نتایج

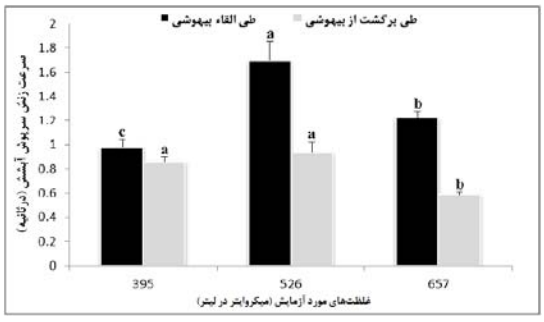
نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میانگین زمان ایجاد بیهوشی در بین غلظت‌های مختلف امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که، بیهوشی با غلظت ۶۵۷ میکرولیتر در لیتر در مقایسه با غلظت‌های دیگر سریع‌تر ایجاد شد (شکل ۱).



شکل ۱- زمان بیهوشی و برگشت از بیهوشی (میانگین± انحراف معیار) در قزل‌آلای رنگین‌کمان بیهوش شده با CMSE

حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار و حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

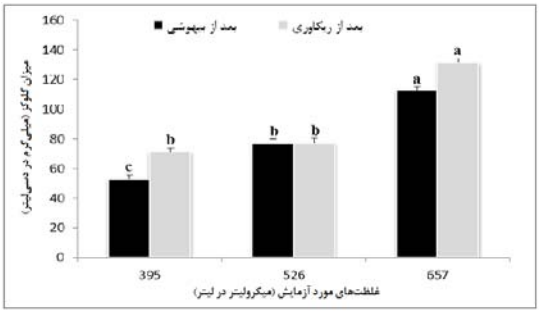
میانگین زمان لازم برای برگشت از بیهوشی ۲۰۵-۱۳۷ ثانیه بود. علاوه‌براین، متوسط سرعت زنش سرپوش آبشش طی بیهوشی و نیز طی برگشت از بیهوشی در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) و بیشترین سرعت زنش آبشش در غلظت ۵۲۶ میکرولیتر در لیتر مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲- سرعت زنش سرپوش آبشش (میانگین± انحراف معیار) در قزل‌آلای رنگین‌کمان بیهوش شده با CMSE

حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار و حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

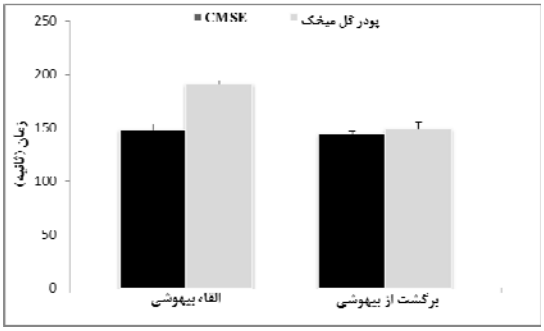
میزان گلوکز بعد از بیهوشی و بعد از برگشت از بیهوشی به‌طور معنی‌داری در غلظت ۶۵۷ میکرولیتر در لیتر افزایش یافت (P<۰/۰۵) (شکل ۳).



شکل ۳- متوسط میزان گلوکز (میانگین± انحراف معیار) در قزل‌آلای رنگین‌کمان بیهوش شده با CMSE

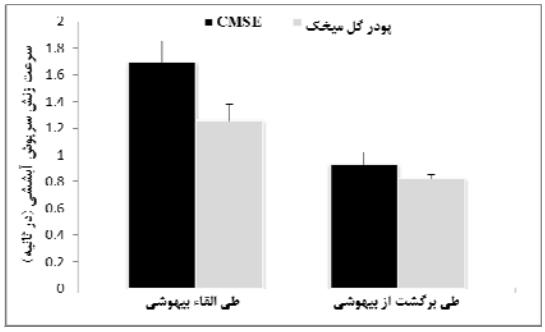
حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار و حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

نتایج آزمایش دوم نشان داد که زمان ایجاد بیهوشی در تیمار CMSE در مقایسه با پودر گل‌میخک به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (شکل ۴).

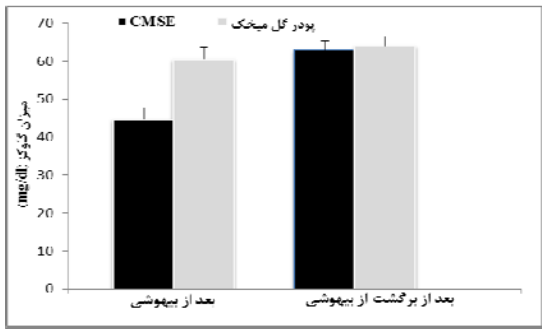


شکل ۴- القاء و برگشت بیهوشی (میانگین± انحراف معیار) در ماهیان بیهوش‌شده با پودر گل‌میخک یا CMSE

علاوه براین، سرعت زنش سرپوش آبششی در ماهیان بیهوش شده با اومولسیون نیز افزایش یافت (شکل ۵). سطوح گلوکز بعد از بیهوشی در CMSE نسبت به پودر گل‌میخک کاهش یافت (شکل ۶). ماهیان مورد آزمایش تا ۴۸ ساعت از نظر تلفات احتمالی تحت کنترل بودند که هیچ مورد تلفاتی در میان آنها مشاهده نشد.



شکل ۵- سرعت زنش سرپوش آبششی (میانگین± انحراف معیار) در ماهیان بیهوش‌شده با پودر گل‌میخک یا CMSE



شکل ۶- میزان گلوکز (میانگین± انحراف معیار) در ماهیان بیهوش‌شده با پودر گل‌میخک یا CMSE

بحث و نتیجه‌گیری

داروهای بیهوش‌کننده می‌توانند در آبزی‌پروری و فرآیندهای زیست‌شناسی ماهیان برای بی‌حس کردن طی دستکاری و در نتیجه جلوگیری از آسیب‌های فیزیکی و استرس ماهیان مفید باشند (۲۷، ۲۹). فاکتورهای متعددی مانند گونه‌ماهی، اندازه‌ی بدن، جنسیت ماهی و کیفیت آب (مانند سختی، دما و شوری) بر عملکرد بیهوش‌کننده‌ها اثر می‌گذارند (۱۲، ۱۷، ۴۶). معیارهای اساسی که برای ارزیابی بیهوش‌کننده مطلوب در آبزی‌پروری در نظر گرفته می‌شود عبارتند از: در دسترس و برگرفته از طبیعت باشد، برای ماهی، انسان و محیط‌زیست زیانی نداشته باشد، به‌سرعت دفع یا متابولیزه شود و در بافت‌ها باقی نماند و نیازی به دوره‌ی دفع دارو نباشد و بیهوشی را سریع و با حداقل استرس القاء کند (۳۰، ۳۵).

مطالعه حاضر نشان داد که امولسیون اسانس نعناع و متیل-سالیسیلات می‌تواند بدون مشاهده تلفات و با موفقیت باعث بیهوشی قزل‌آلای رنگین‌کمان شود. در این مطالعه، باگذشت ۲۷۰–۶۸ ثانیه تمام ماهی‌ها در غلظت‌های ۳۹۵، ۵۲۶ و ۶۵۷ میکرولیتر در لیتر وارد مرحله ۴ بیهوشی شدند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت ماده بیهوش‌کننده، زمان رسیدن به مرحله ۴ بیهوشی کاهش می‌یابد. این نتایج در مورد سایر بیهوش‌کننده‌ها مانند گل‌میخک، بی‌کربنات سدیم و اسانس آویشن نیز گزارش شده است (۳ و ۱۰). بنابراین، زمان ایجاد بیهوشی با غلظت امولسیون بیهوشی رابطه مستقیم دارد (۳۷). علاوه‌براین، متوسط زمان برگشت از بیهوشی با افزایش دز ماده بیهوشی افزایش یافت. این نتایج با مطالعه ضرغام و همکاران (۱۳۹۱) بر قزل‌آلای رنگین‌کمان بیهوش شده با تنباکو مطابقت دارد.

شکل ۲ تغییرات سرعت زنش سرپوش آبشش قزل‌آلای رنگین‌کمان را طی القاء بیهوشی و طی برگشت از بیهوشی نشان می‌دهد. در ابتدا با افزایش غلظت بیهوش‌کننده، سرعت زنش سرپوش افزایش و سپس کاهش یافت که با مطالعه روحی و ایمان‌پور (۲۰۱۵) بر ماهی کپور معمولی بیهوش شده با اسانس نعناع و اسانس متیل‌سالیسیلات مطابقت دارد. سرعت زنش سرپوش آبشش طی بیهوشی و طی برگشت از بیهوشی در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشت. به‌طوری‌که، بیشترین سرعت زنش سرپوش طی القاء بیهوشی و برگشت از بیهوشی مربوط به تیمار ۵۲۶ میکرولیتر در لیتر بود. گونه‌های مختلف ماهیان سرعت زنش سرپوش آبششی متفاوتی دارند که می‌تواند میزان جذب داروی بیهوش‌کننده و القاء بیهوشی را نشان دهد.

به‌دلیل اینکه پاسخ به داروهای بیهوش‌کننده در هرگونه بسیار متنوع است، آزمایش استفاده از آن‌ها امری ضروری است (۲۵). آنالیز پارامترهای خونی یکی از روش‌های ارزشمند برای ارزیابی داروهای بیهوش‌کننده است، زیرا نشان می‌دهد که اثرات فیزیولوژیکی داروهای بیهوشی به گونه و سن ماهی بستگی دارد (۱۱). میزان گلوکز شاخصی متداول برای پاسخ به استرس در ماهیان استخوانی است (۲۴)، به‌طوری که استرس می‌تواند میزان گلوکز را افزایش دهد (۱۳، ۱۴، ۱۵). در این مطالعه، میزان گلوکز در ماهیان بیهوش شده با دز ۶۵۷ میکرولیتر در لیتر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. هولوی (Holloway) و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که پاسخ به استرس در قزل‌آلای رنگین‌کمان بیهوش شده با دزهای بالای اسانس میخک در مقایسه با دزهای پایین‌تر، افزایش یافت که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۲۶).

طبق نتایج بدست آمده از این مطالعه، غلظت ۵۲۶ میکرولیتر در لیتر برای بیهوشی مناسب تشخیص داده می‌شود. در مطالعه روحی و ایمان‌پور (Roohi)(۲۰۱۴) براثر امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات در بیهوشی کپور معمولی با میانگین وزنی ۱/۲۳±۱۱/۵۹ گرم، غلظت ۵۲۶ میکرولیتر در لیتر مناسب تشخیص داده شد (۳۶).

نتایج آزمایش دوّم نشان داد که CMSE القاء بیهوشی و برگشت از بیهوشی سریعتری نسبت به پودر گل‌میخک دارد (شکل ۴). علاوه‌براین، سرعت زنش سرپوش آبششی در ماهیان بیهوش شده با CMSE در مقایسه با پودر گل میخک بیشتر بود (شکل ۵). بسیاری از بیهوش‌کننده‌ها اثر بازدارندگی بر سیستم تنفسی دارند که منجر به کاهش میزان تنفس شده و بدنبال آن توانایی دفع ماده بیهوشی از سیستم آبششی ماهیان کاهش می‌یابد (۳۴). در این مطالعه میزان گلوکز بعد از بیهوشی در ماهیان بیهوش شده با CMSE نسبت ماهیان بیهوش شده با پودر گل‌میخک به‌طور قابل‌توجهی کمتر بود. بااین‌حال، سطوح آن بعد از برگشت از بیهوشی در هر دو گروه تفاوت قابل مشاهده‌ای نداشت (شکل ۶).

با توجه به اینکه پس از انجام آزمایش تلفات یا رفتارهای غیرطبیعی در ماهی‌ها طی ۴۸ ساعت تحت نظر گرفتن آنها

مشاهده نگردید، به نظر می‌رسد که CMSE اثرات منفی بر فیزیولوژی یا رفتار ماهی ندارد و از آن‌جایی که یک ترکیب گیاهی است انتظار می‌رود که به‌آسانی در محیط تجزیه شود و اثرات سوء زیست‌محیطی نیز نداشته باشد. از آن-جایی که اثر هم‌افزایی ترکیب داروهای بیهوشی به‌خوبی ثبت‌شده و اساس برنامه‌های پزشکی برای کنترل درد است (۴۴)، با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت که امولسیون اسانس نعناع و متیل‌سالیسیلات می‌تواند در کنار سایر بیهوش‌کننده‌ها به‌عنوان یک داروی بیهوشی ترکیبی مؤثر و مطلوب مدنظر قرارداد.

منابع

۱- 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، صفحات ۲۲۸-۲۱۸.

۲- شریف‌روحانی، 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 رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. سال شانزدهم، شماره ۴، صفحات ۱۰۶-۹۹.

۳- ضرغام، د.، شریف روحانی، م.، فلاحت ناصرآباد، 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، صفحات ۴۰-۳۳.

۴- صدیق اعتقاد، س.، قوامی، س.، مرتضوی، ج.، و میرزایی، ح.، ۱۳۸۷. اثرات بیهوشی عصاره گیاهان سنبل‌الطیب (*Valerian officinalis*)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)، خشخاش (*Papaver samniferum*) و شقایق (*Papaver bracteratum*) بر ماهی قرمز حوض (*Carassius auratus*)، مجله شیلات ایران، سال هفتم، شماره یک، صفحات ۹۸-۹۱.

۵- فاضلی، ن.، ۱۳۸۳. تأثیر سوپرمینت (اسانس نعناع) بر شدت درد پس از سزارین، مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، سال هفتم، شماره ۱، صفحات ۳۳-۲۸.

۶- کامکار، ا.، اسدی، ف.، جبلی‌جوان، ا.، و جمشیدی، ر.، ۱۳۸۸. ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره نعناع ایرانی، مجله دامپزشکی و آزمایشگاه، دوره ۱، شماره ۱، صفحات ۷۲-۶۴.

۷- محمدی‌ارانی، م.، ۱۳۸۵. بررسی اثر اسانس میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر بیهوشی بچه‌ماهیان تاس-ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۲، شماره ۳، صفحات ۱۹۲-۱۸۸.

۸- نورالدینی، م.، نورالدین، م.، سلامی، م.، مصداقی‌نیا، ا.، وردی، ج.، و سلیمیان، م.، ۱۳۸۵. بررسی اثرات ضد دردی عرق نعناع در موش صحرایی نر، فصلنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره دهم، شماره ۴، صفحات ۲۳-۱۹.

9- Akbulut, B., Cakmak, E., Aksungur, N., and Cavdar, Y., 2011. Effect of exposure duration on time to recovery from anesthesia of clove oil in juvenile of Russian sturgeon. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 11, PP: 463-467.

10- Altun, T., Bilgin, R., and Danabas, D., 2009. Effects of sodium bicarbonate on anesthesia of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.9, PP: 29-31.

11- Anver Celik, E., 2004. Blood chemistry (electrolytes, lipoprotein and enzymes) values of black scorpion fish (*Scorpaena porcus*) in the Dardanelles. Turkey Journal of Biology Sciences. 4, PP: 716-719.

12- Bagheri, T., and Imanpoor, M.R., 2011. The efficacy, physiology responses and hematology of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) to clove oil as an anesthetic agent. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 11, PP: 477-483.

13- Barcellos, L.J.G., Kreutz, L.C., Quevedo, R.M., Fioreza, I., Rodrigues, L.B., Soso, A.B., Ritter, F., Conrad, J., Cericato, L., Fagundes, M., and Terra, S.R., 2003. Haematological and biochemical characteristics of male jundia

(*Rhamdia quelen*): changes after acute stress. Aquaculture Research. 34, PP: 1465-1469.

14- Biron, M., and Benfey, T.J., 1994. Cortisol, glucose and hematocrit changes during acute stress, cohort sampling, and the diel cycle in diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Fish Physiology and Biochemistry. 13, PP: 153-160.

15- Carmichael, G.J., 1984. Long distance truck transport of intensively reared largemouth bass. Progressive Fish-Culturist. 46, PP: 111-115.

16- 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, PP: 537-546.

17- Coyle, S.D., Durrorow, R.M., and Tidwell, H.J., 2004. Effects of anesthetics on the water parameters in a simulated transport experiment of platy fish (*Xiphorus maculatus*). Aquaculture Research. 26, PP: 256-271.

18- 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), PP: 146-155.

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, PP: 1-4.

20- Feo, V.D., Ricciardi, A.I., Biscardi, D., and Senatore, F., 1998. Chemical composition and antimicrobial screening of the essential oil of *Minthostachys verticillate* Ep1. Journal of Essential Oil Research. 10(1), PP: 61-65.

21- Ghazilou, A., and Chenary, F., 2011. Evaluation of rosemary oil anesthesia in carp. Online Journal of Veterinary Research. 15(2), PP: 112-118.

22- Gholipourkanani, H., and Ahadizadeh, S., 2013. Use of propofol as an anesthetic and its efficacy on some hematological values of ornamental fish *Carassius auratus*. SpringerPlus. 2, PP: 76-80.

23- 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), PP: 393-402.

24- Greenwell, M.G., Sherrill, J., and Clayton, L.A., 2003. Osmoregulation in fish mechanisms and clinical implications. Veterinarry Clinics of North America: Exotic Animal Practice. 6, PP: 169-189.

25- 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 anesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. Aquaculture Research, 45: 1061-1072.

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

27- Hoskonen, P., and Pirhinen, J., 2006. Effects of repeated handling, with or without anesthesia, on feed intake and growth in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research. 37, PP: 409-415.

28- Imanpoor, M.R., Bagheri, T., and Hedayaty, S.A.A., 2010. The anesthetic effects of clove essence in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). World Journal of Fish and Marine Sciences.2(1), PP: 29-36.

29- Inoue, L.A.K.A., Neto, C.S., and Moraes, G., 2003. Clove oil as anesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus*. Ciência Rural. 33, PP: 943-947.

30- Iversen, M., Finstad, B., McKinley, R.S., and Eliassen, R.A., 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-Sk and BenzoakR as anesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts and their potential stress-reducing capacity. Aquaculture. 221, PP: 549-566.

31- Javahery, S., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R., 2012. Efficacy of clove oil as anesthetic for two size of *Rutilus frisii kutum*. Global Veterinaria. 9(3), PP: 319-322.

32- Keene, J.L., Noakes, D.L., Moccia, R.D., and Soto, C.G. 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research. 29, PP: 89-101.

33- Park, M.O., Im, S.Y., Soel, D.W., and Park, I.S., Efficacy and physiological responses of rock bream (*Oplegnathus fasciatus*) to

anesthetization with clove oil. Aquaculture. 287, PP: 427-430.

34- 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, 323-334.

35- Pirhonen, J., and Schreck, C.B., 2003. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO_2 on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mukiss*). Aquaculture. 220, PP: 507-514.

36- Roohi, Z., and Imanpoor, M.R., 2014. Effects of spearmint (*I*-carvone) oil and methyl salicylate oil emulsion on anesthesia of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture Research and Development. 5(221): 1-7.

37- Roohi, Z., Imanpoor, M.R., 2015. The efficacy of the oils of spearmint and methyl salicylate as new anesthetics and their effect on glucose levels in common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. Aquaculture. 437, PP: 327-332.

38- Roubach, R., Gomes, L.C., Fonseca, F.A.L., and Val, A.L., 2005. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui (*Colossoma macropomum*). Aquaculture Research. 36, PP: 1056-1061.

39- SadighEteghad, S., Ghovami, S., Mortazavi, S., Mortazavi, J., and Mirzaie, H., 2008. Effect of *Valerian officinalis*, *Melissa officinalis*, *Papavers amniferum*, *Papaver bracteatum* in *Carassius auratus*. Iranian Journal of Fisheries Science. 17(1), PP: 91-98.

40- Toni, C., Becker, A.G., Simões, L.N., Pinheiro, C.G., Silva, L.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, 40(3): 701-714.

41- 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, PP: 269–275.

42- Wagner, G.N., Singer, T.D., and McKinley, R.S., 2003. The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research. 34, PP: 1139–1146.

43- Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews. 77, PP: 591–625.

44- West, G., Heard, D.J., and Caulkett, N., 2007. Zoo animal and wildlife immobilization and anesthesia. 1st edition, Ames, lowa: Blackwell Publishing Professional.

45- Yamanaka, H., Sogabe, A., Handoh, I.C., and Kawabata, Z., 2011. The effectiveness of clove oil as an anesthetic on adult common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Animal and Veterinary Advances. 10(2), PP: 210-213.

46- Zahl, I.H., Kiessling, A., Samuelsen, O.B., and Hansen, M.K., 2009. Anesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*): effect of pre-anesthetic sedation and importance of body weight, temperature and stress. Aquaculture. 295, PP: 52-59.

47- Zahl, I.H., Samuelsen, O., and Kiessling, A., 2012. Anesthesia of farmed fish: implications for welfare. Fish Physiology and Biochemistry. 38, PP: 201-218.

Effects of clove and emulsion of spearmint oil and methyl salicylate on anesthesia and blood glucose of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Roohi Z., Imanpoor M.R., Mohammadi H. and Mohammadi M.

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

Abstract

One method commonly used to minimize or mitigate the effects of stress on fish is the use of anesthetics. The purpose of this study was to evaluate the effects of clove and emulsion of spearmint oil and methyl salicylate (CMSE) on anesthesia and blood glucose of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (27.35±0.25 g). Fish were exposed to different concentrations of the CMSE (395, 526 and 657 µl L^{-1}) for induction of anesthesia. The obtain results showed that induction time decreased significantly with increasing of the concentration of the CMSE ($P<0.05$). However, recovery time significantly increased with increasing of the concentration of the CMSE ($P<0.05$). Opercular rate first increased and then slowly decreased with increasing the concentration of the CMSE. Blood glucose levels were significantly affected by concentration of the CMSE ($P<0.05$). The highest levels of glucose after anesthesia and recovery belong to concentrations of 657 µI L^{-1}. A second experiment was conducted in which rainbow trout were immersed in either 526 µI L^{-1} CMSE and 200 mg L^{-1} clove powder in order to compare them with each other. Anesthesia induction time and recovery time were quickly in the CMSE group. Also, lower levels of glucose and the highest opercular rate belong to the CMSE group. No mortality was observed in the study. The results of this study show that applications of the emulsion of spearmint oil and methyl salicylate in the concentration of 526 µI L^{-1}, can be suitable for anesthetization of rainbow trout.

Key words: Anesthesia, Induction time, Spearmint, Methyl salicylate, *Oncorhynchus mykiss*