تغــذیه آبزیــان
سال سوم، شماره دوم،
پاییز و زمستان ۱۳۹۶

اثرات بیهوش کننده و تغییرات بیوشیمیایی اسانس نعناع (*Mentha spicata*) در ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)

عبدالعلی راهداری*[1]، علی خسروانی‌زاده[1]، حسینعلی دهمرده[2]، احمد قرایی[1]، جواد میردار هریجانی[2]
۱- گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان
۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان

تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۳۱

چکیده
همزمان با افزایش نیاز مراکز تکثیر و پرورش آبزیان به بیهوش کننده‌هایی با کارایی بالا، استفاده از مواد و ترکیبات جدید مطالعه و بررسی می‌شود. در همین راستا، در مطالعه حاضر از اسانس نعناع (*Mentha spicata*) برای بیهوشی ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) با وزن متوسط ۳۸/۲۶ ± ۹۰/۹۷ گرم استفاده شد. ماهی‌ها به پنج تیمار (هر تیمار هفت ماهی) تقسیم شدند. تیمار شاهد در معرض ماده بیهوش کننده قرار نگرفت. ماهی های چهار تیمار دیگر با غلظت‌های ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به روش غوطه‌وری بیهوش شدند. مدت زمان مراحل مختلف بیهوشی و احیاء بررسی شد. نتایج نشان داد افزایش غلظت ماده بیهوش کننده موجب کاهش مدت زمان رسیدن به بیهوشی می شود. کمترین و بیشترین زمان رسیدن به بیهوشی کامل در تیمارهای ۵۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و به ترتیب پس از ۲۲/۵۲ ± ۸۸/۱۷ و ۳۸/۲۰ ± ۱۶۱/۰۰ ثانیه بود. کمترین زمان احیاء مربوط به تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۹۷/۳۵ ± ۱۸۰/۰۰ ثانیه بود. آزمایش سمیت حاد نشان داد که LC_{50} ۹۶ ساعته اسانس نعناع در ماهی سفیدک ۱۲۹/۵۸ میلی‌گرم در لیتر است. با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش، اسانس نعناع به عنوان یک ماده بیهوش کننده بی‌خطر در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کارایی مناسبی برای ماهی سفیدک سیستان دارد.

کلمات کلیدی: بیهوشی، ماهی سفیدک، نعناع (*Mentha spicata*)

* نویسنده مسئول: Rahdari67@gmail.com

مقدمه

ماهی‌ها هنگام دست‌کاری و جابه‌جایی به آسانی دچار استرس، جراحت و حتی مرگ می‌شوند. لذا در آبزی‌پروری برای انجام اعمال مختلفی از قبیل رقم‌بندی، حمل و نقل، علامت‌گذاری، تزریق هورمون و تخم‌کشی، معاینه بهداشتی، اندازه‌گیری وزن و طول، خون‌گیری و برخی جراحی‌ها که به ناچار ماهی‌ها در معرض دست‌کاری و جابه‌جایی قرار می‌گیرند، از بیهوشی استفاده می‌شود (Velisek et al. 2006). بیهوشی به معنی از دست دادن احساس یا ایجاد بی‌حسی است و می‌تواند در برگیرنده حالات مختلفی مانند تسکین، بیهوشی عمومی و تخدیر باشد. بیهوشی عمومی با تأثیر روی آکسون های عصبی، رهاسازی میانجی‌ها، تأثیر بر قابلیت تحریک‌پذیری غشاء سلولی و یا ترکیب آنها موجب مختل شدن همه جانبه دستگاه اعصاب مرکزی را فراهم می‌آورد (Ross and Ross, 2008).

یک داروی بیهوشی ایده‌آل بایستی واجد ویژگی‌هایی مانند القای سریع بیهوشی و با حداقل استرس، استفاده آسان، تأثیر در دوزهای پایین، سمی نبودن برای کاربر، قابلیت حلالیت مطلوب در آب، نداشتن پایداری شیمیایی زیاد، ارزان بودن، تجزیه سریع در محیط و سوخت و ساز سریع در بدن ماهی باشد (غفاری و همکاران، ۱۳۹۲; Coyle et al. 2004; Ross and Ross, 2008).

ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) متعلق به خانواده کپور ماهیان یک گونه مهم بومی است که در ایران تنها در منطقه سیستان وجود دارد. این گونه مورد توجه و علاقه شدید مردم قرار دارد و در سال‌های اخیر تکثیر مصنوعی و تولید بچه ماهی آن در راستای بازسازی ذخایر با موفقیت انجام شده است (Gharaei et al. 2011).

تاکنون اثر بیهوشی مواد مختلف گیاهی برای ماهی مطالعه شده است. اثر بیهوشی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) بر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) و قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) مطالعه شده است. بر اساس نتایج این مطالعه اسانس آویشن شیرازی دارای اثرات بیهوش کنندگی است، ولی به دلیل ایجاد عوارض شدید تنفسی غیر قابل برگشت و ناهنجاری شکلی ماهی، به کارگیری آن در مقایسه با مواد بیهوش کننده دیگر توصیه نشده است (شریف روحانی و همکاران، ۱۳۸۶). از پودر گل میخک با غلظت ۰/۷ گرم در لیتر برای بیهوشی فیل ماهیان ۴ ساله استفاده شده است (حلاجیان و همکاران، ۱۳۹۰). تأثیر اسانس گیاه لرگ (*Pterocarya fraxinifolia*) به عنوان یک ماده بیهوش کننده بر روی کپور معمولی مطالعه شده است و بر اساس نتایج آن، عصاره متانولی این گیاه با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر قابل توجهی در بیهوشی ماهی‌های کپور ۹۰ گرمی داشته است (کیهانی و همکاران، ۱۳۹۲).

گیاه نعناع (*Mentha spicata*) متعلق به خانواده Lamiaceae گیاهی محکم و پایاست که تمام قسمت‌های آن بوی معطر قوی و نافذ همراه با طعم تند و خنک کننده دارد. در ایران در اکثر نقاط می‌توان این گیاه را کشت کرد. گیاه نعناع در طب سنتی مصارف متنوعی داشته و به عنوان تقویت کننده معده، ضد درد، ضد تشنج و آرام کننده اعصاب از آن استفاده می‌شود. اسانس نعناع دارای خواص ضد قارچی و قارچ کشی در برابر برخی قارچ‌های پوستی در انسان است (Adam et al. 1998). مطالعات متعدد کارایی نعناع را در کاهش تهوع و استفراغ پس از عمل جراحی (Tate, 1997)، تهوع ناشی از شیمی‌درمانی (Buckle, 2003)، تشنج‌های مزمن در حین کولونوسکوپی (Leicester and Hunt, 1982; Asoa et al. 2001) و پس از جراحی روده‌ای (McKenzie and Gallacher, 1989) در انسان به اثبات رسانده اند. اسانس نعناع در مبارزه با آفات گیاهی نیز قابل استفاده است (فهیم و همکاران، ۱۳۸۹). اسانس نعناع به عنوان بیهوش کننده دارای مزایایی مانند صرفه‌جویی در زمان و القای بیهوشی با غلظت پایین، قیمت ارزان است و به احتمال زیاد عواقب سویی مانند سرطان‌زایی و جهش‌زایی را که در برخی مواد شیمیایی دیده می شود، را ندارد. گونه‌های مختلف نعناع (جنس *Mentha*) ارزش دارویی، خواص ضدعفونی کننده و ضدمیکروبی در طب سنتی و کاربرد در آشپزی به خاطر طعم و بویشان دارند (Bremnes, 2002). ترکیبات شیمیایی اسانس نعناع در جدول ۱ آورده شده است. ۲۷ ترکیب در این گیاه شناسایی شده است که ۹۲/۴٪ کل اسانس را شامل می‌شود، کارون (carvone) با ۴۹/۵ و

منتون (menthone) با ۲۱/۹٪، ترکیبات اصلی اسانس این گیاه را تشکیل می‌دهند (Soković et al. 2009). مهم‌ترین مطلبی که در مورد اسانس نعناع به اثبات رسیده است، خصوصیات ضد قارچی آن است (Soković et al. 2009) که خصوصیتی بسیار مثبت برای بهره‌گیری در ماهی محسوب می شود. خصوصیت ضدقارچی بالای *M. spicata* به علت وجود ماده‌ای به نام کارون در ترکیبات آن است که فعالیت ضدقارچی بالایی دارد (Soković et al. 2009). البته این موضوع که آیا با غلظت و مدتی که ماهی در معرض اسانس نعناع برای بیهوشی قرار می‌گیرد، ویژگی ضدقارچی آن اعمال می‌شود یا خیر، نیاز به بررسی دارد، ولی به هر حال یک ویژگی مثبت محسوب می‌شود.

با توجه به انجام موفقیت‌آمیز تکثیر مصنوعی ماهی سفیدک سیستان در سال‌های اخیر و ضرورت توسعه تکثیر و پرورش این ماهی، هدف از مطالعه حاضر تعیین میزان کارایی اسانس نعناع به عنوان یک ماده بیهوش کننده ارزان قیمت و در دسترس و نیز تنوع بخشی به مواد بیهوش کننده موجود برای استفاده در مراکز تکثیر ماهی سفیدک سیستان بود.

جدول ۱- ترکیب اسانس نعناع مورد استفاده در تحقیق حاضر (Soković et al. 2009).

نام	مقدار (٪)	نام	مقدار (٪)
Tricyclene	۰/۳	Menthol	۰/۵
α-Thujene	۰/۱	Terpin-4-ol	۰/۷
α-Pinene	۰/۱	Cis-Dihydrocarvone	۰/۳
Sabinene	۰/۷	Trans-Ddihydrocarvone	۰/۵
β-Pinene	۰/۴	Trans-Carveol	۰/۲
β-Myrcene	۳/۲	**Carvone**	**۴۹/۵**
p-Cymene	۰/۵	Piperitone	۰/۶
Limonene	۵/۸	Trans-Anethole	۰/۵
1,8-Cineole	۳	β-Bourbonene	۱/۳
γ-Terpinene	۱/۴	β-Caryophyllene	۰/۷
α-Terpinolene	۰/۳	Germacrene D	۰/۳
Menthone	**۲۱/۹**	Germacrene A	۰/۵

مواد و روش‌ها

تعیین غلظت کشنده ۹۶ ساعته

آزمایش سمیت حاد[1] طبق راهنمای OECD شماره ۲۰۳ انجام شد. بر اساس این راهنما برای انجام تست سمیت مواد، ماهی‌ها به مدت ۹۶ ساعت در معرض ماده مورد نظر قرار گرفتند. در این دوره زمانی مرگ و میر ماهی‌ها پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت و غلظت‌هایی که ۵۰٪ ماهی را می‌کشد، تعیین شد (OECD, 1992).

ابتدا ماهی‌ها در پنج غلظت ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس نعناع و یک تیمار شاهد بدون اسانس با سه تکرار (هر تکرار هفت ماهی) قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت کلیه ماهی‌های تیمارهای ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر تلف شدند و در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ تلفاتی مشاهده نشد. به همین دلیل پنج تیمار بین ۱۰۰ و ۲۰۰ انتخاب شد (۱۱۰، ۱۳۰، ۱۵۰، ۱۷۰ و ۱۹۰ میلی‌گرم در لیتر). تعداد ماهی‌های زنده و تلفات آنها در هر ۲۴ ساعت به مدت ۹۶ ساعت ثبت شد.

آزمایش بیهوشی

تعداد ۵۵ عدد ماهی سفیدک سیستان از یک مزرعه پرورش ماهی در منطقه سیستان تهیه و توسط مخزن مجهز به کپسول اکسیژن‌دار به آزمایشگاه پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون دانشگاه زابل منتقل شدند. از بین این ماهیان، تعداد ۳۰ عدد بچه ماهی به صورت تصادفی جدا شده و وزن و طول آنها اندازه‌گیری شد. وزن متوسط این ماهیان ۱۸/۲۶ ± ۹۰/۹۷ گرم و طول متوسط ۲/۹۰ ± ۲۲/۰۵ سانتیمتر بود. ماهیان به صورت تصادفی در پنج تیمار شش‌تایی مجزا و درون مخازن ۳۰۰ لیتری نگهداری شدند. در طول مدت نگهداری فاکتورهای مهم فیزیکی و شیمیایی آب تانک‌ها شامل دما، pH و اکسیژن محلول اندازه‌گیری و ثبت شد و در طی آزمایش در شرایط بهینه حفظ شدند. برای القای بیهوشی از اسانس نعناع ساخت شرکت باریج اسانس کاشان استفاده شد.

تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد و چهار تیمار آرام بخشی و بیهوشی (هر تیمار ۷ عدد ماهی) با غلظت‌های ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بودند. ماهیان

[1] Acute toxicity

تیمار شاهد در معرض ماده بیهوشی قرار نگرفتند. ماهی‌های هر تیمار یک روز قبل از انجام آزمایش برای عادت‌پذیری به درون تانک محل آزمایش قرار داده شدند. ماهیان به شیوه حمام در آکواریومی به ظرفیت ۴۰ لیتر به آرام بخشی رسیده و در نهایت بیهوش شدند و پس از ایجاد بیهوشی کامل و احیاء در مخازن حاوی آب اکسیژن‌دار، به تانک‌های مربوطه منتقل شدند. زمان‌های رسیدن به مراحل مختلف بیهوشی و احیاء (جدول ۲) توسط زمان‌سنج با دقت دهم ثانیه ثبت شد.

خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب در طول مدت نگهداری ماهی‌ها و انجام آزمایش تقریباً ثابت و در حد مطلوب (دمای آب ۲۴-۲۳ درجه سانتیگراد، pH ۵-۷/۸ و اکسیژن محلول ۶۰٪ تا ۷۰٪ اشباعیت) حفظ شد.

جدول ۲- مراحل بیهوشی (اصلاح شده از McFarland, 1959 و Jolly et al. 1972) و بازگشت از بیهوشی در ماهیان (اصلاح شده از Hikasa et al. 1986).

مراحل بیهوشی	تسکین جزئی	از دست دادن جزئی واکنش به تحریک بینایی و لمس بیرونی؛ حرکت سرپوش آبششی اندکی کاهش می‌یابد؛ تعادل متعارف
	تسکین عمیق	از دست دادن کامل واکنش به تحریک خارجی به‌جز اعمال فشار قوی، کاهش جزئی حرکت سرپوش آبششی؛ تعادل متعارف
	عدم تعادل جزئی	شنای نامنظم؛ افزایش حرکت سرپوش آبششی؛ فقط واکنش به لمس قوی و تحریک لرزشی
	عدم تعادل کامل	از دست دادن کامل تعادل؛ حرکت سرپوش آبششی کم ولی منظم؛ از دست دادن واکنش نخاعی
	بیهوشی سبک	از دست دادن کامل واکنش‌پذیری؛ حرکات سرپوش آبششی کم و نامنظم؛ ضربان قلب بسیار کند؛ از دست دادن کلیه واکنش‌ها
	بیهوشی عمیق	حرکات سرپوش آبششی ناچیز؛ معمولاً ایست قلبی سریع اتفاق می‌افتد.
مراحل احیاء یا بازگشت از بیهوشی	سرپوش	حرکت سرپوش آبششی
	بازگشت تعادل جزیی	برگشت جزئی تعادل و شنا
	بازگشت تعادل کامل	احیای تعادل
	پاسخ به محرک	ظهور حرکت شنای اجباری و واکنش به تحریک بیرونی؛ پاسخ رفتاری هنوز کامل نیست.
	احیاء (ریکاوری)	احیای رفتاری کامل؛ شنای متعارف

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون

برای اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون، خون‌گیری با سرنگ ۲ میلی‌لیتری از محل ساقه دمی و در زمان‌های پس از القای بیهوشی و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی انجام شد. خون گرفته شده به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و سرم آن جدا شد. سرم تهیه شده در لوله‌های اپندورف در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شد. شاخص‌های بیوشیمیایی شامل کورتیزول به روش ELISA با کیت تجاری (HBL ساخت کشور آلمان)، گلوکز (GLU) به روش رنگ سنجی، پروتئین کل (TP)، آلبومین (ALB)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آلکالاین فسفاتاز (ALP) و کلسترول با کیت‌های تجاری (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری در محیط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ با روش آنالیز واریانس یک طرفه (One - way ANOVA) انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها در سطح $P<۰/۰۵$ از آزمون دانکن استفاده شد. برای محاسبه غلظت‌های کشنده ۱۰، ۵۰ و ۹۰٪ (LC_{10}، LC_{50} و

(LC_{90}) از نرم‌افزار POLO-PC (LeOra Software, 1987) استفاده شد. این نرم‌افزار با دریافت تعداد ماهیان مورد آزمایش و تعداد ماهیانی که پس از قرار گرفتن در معرض دارو زنده مانده و یا تلف شده‌اند، غلظت‌های کشنده را با سطح اعتماد ۹۵٪ ارائه می‌کند.

نتایج

بر اساس نتایج (جدول ۳) بیشترین زمانی که طول کشید تا بیهوشی کامل حاصل شود ۸۳/۲۰ ± ۱۶۱/۰۰ ثانیه (کمتر از سه دقیقه)، در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود که با تیمارهای دیگر اختلاف معناداری داشت (P<۰/۰۵) و کمترین زمان ۲۲/۵۲ ± ۸۸/۱۷ (حدود ۱/۵ دقیقه) در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. در واقع، با ۲/۵ برابر شدن غلظت، زمان رسیدن به بیهوشی کامل به نصف کاهش پیدا کرد. همچنین، کمترین زمانی که احیای کامل به دست آمد ۹۷/۳۵ ± ۱۸۰/۰۰ ثانیه (سه دقیقه) در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود، ولی با تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر این زمان به ۸۳/۹۲ ± ۲۵۹/۸۳ ثانیه (حدود ۴/۵ دقیقه) رسید و اختلاف معناداری بین تیمارهای ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده نشد (P>۰/۰۵)، هر چند تیمار ۵۰۰ با تیمارهای ۲۵۰ و ۳۵۰ اختلاف معنادار داشت (P<۰/۰۵).

جدول ۳- متوسط (± انحراف معیار) زمان‌های بیهوشی (ثانیه) و بازگشت از آن تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس نعناع در ماهی سفیدک سیستان.

		غلظت اسانس نعناع ($mg\ L^{-1}$)			
		۲۰۰	۲۵۰	۳۵۰	۵۰۰
مراحل القای بیهوشی	تسکین جزئی	۵۴/۸۰ ± ۲۰/۴۴^{a}	۴۸/۳۳ ± ۸/۰۴^{ab}	۳۸/۰۰ ± ۱۱/۳۷^{ab}	۳۰/۸۳ ± ۷/۸۱^{b}
	تسکین عمیق	۷۹/۴۰ ± ۲۴/۶۱^{a}	۶۵/۰۰ ± ۱۱/۸۷^{ab}	۵۹/۳۳ ± ۹/۸۵^{ab}	۴۱/۳۳ ± ۸/۰۷^{b}
	عدم تعادل جزئی	۹۴/۸۰ ± ۲۲/۸۸^{a}	۸۰/۵۰ ± ۱۱/۶۱^{a}	۷۴/۸۳ ± ۱۲/۸۶^{ab}	۵۱/۶۷ ± ۱۱/۱۵^{b}
	عدم تعادل کامل	۱۱۲/۴۰ ± ۱۷/۳۹^{a}	۸۹/۰۰ ± ۱۱/۲۰^{b}	۸۳/۳۳ ± ۱۱/۱۳^{ab}	۶۳/۱۷ ± ۱۳/۸۰^{b}
	بیهوشی سبک	±۶۰/۱۳۰ ۲۲/۸۰^{a}	۹۸/۵۰ ± ۱۲/۳۰^{b}	۹۷/۳۳ ± ۱۶/۰۰^{b}	۷۶/۱۷ ± ۱۸/۳۲^{b}
	بیهوشی عمیق	۱۶۱/۰۰ ± ۳۸/۲۰^{a}	۱۱۵/۵۰ ± ۱۶/۹۰^{b}	۱۱۶/۶۷ ± ۱۳/۸۴^{b}	۸۸/۱۷ ± ۲۲/۵۲^{b}
مراحل بازگشت از بیهوشی	حرکت سرپوش	۳۳/۸۰ ± ۱۵/۴۰	۳۴/۱۷ ± ۳۹/۶۹	۲۵/۰۰ ± ۷/۸۷	۶۴/۵۰ ± ۲۶/۱۷
	بازگشت تعادل جزئی	۷۲/۲۰ ± ۱۹/۷۷^{b}	۶۹/۵۰ ± ۲۹/۳۷^{b}	۶۰/۱۷ ± ۳/۷۶^{b}	۱۳۶/۸۳ ± ۵۳/۵۳^{a}
	بازگشت تعادل کامل	۱۲۶/۰۰ ± ۹۵/۲۲	۹۹/۵۰ ± ۲۹/۸۰	۱۰۱/۳۳ ± ۳۷/۶۰	۱۸۲/۸۳ ± ۶۵/۰۶
	پاسخ به محرک	۱۴۷/۴۰ ± ۹۲/۲۰^{ab}	۱۲۱/۱۷ ± ۳۶/۸۲^{b}	۱۳۴/۰۰ ± ۴۹/۹۹^{b}	۲۳۶/۸۳ ± ۴۶/۲۴^{a}
	احیاء (ریکاوری)	۱۸۰/۰۰ ± ۹۷/۳۵^{ab}	۱۴۱/۶۷ ± ۴۵/۰۴^{b}	۱۵۲/۰۰ ± ۴۳/۵۱^{b}	۲۵۹/۸۳ ± ۳۸/۹۲^{a}

حروف متفاوت هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین میانگین‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

غلظت‌های کشنده ۱۰، ۵۰ و ۹۰٪ (LC_{10}، LC_{50} و LC_{90}) ماهی‌ها در مدت ۹۶ ساعت به ترتیب ۱۲۶/۶۰، ۱۲۹/۵۸ و ۱۳۶/۶۲ میلی‌گرم در لیتر بود.

مقدار شاخص‌های بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در ماهیان تیمارهای آزمایشی و شاهد در جدول ۴ ارائه شده است. از بین این شاخص‌ها مقادیر کورتیزول، کلسترول و پروتئین کل بین تیمارها و ساعات مختلف تفاوت معنادار داشت (P<۰/۰۵)، ولی در شاخص‌های دیگر تفاوت معناداری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۴- تأثیر بیهوشی با اسانس نعناع بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهی سفیدک سیستان طی مدت ۲۴ ساعت.

غلظت ماده بیهوشی ($mg\ L^{-1}$)	پس از القای بیهوشی					۲۴ ساعت پس از بیهوشی			
	شاهد	۲۰۰	۲۵۰	۳۵۰	۵۰۰	۲۰۰	۲۵۰	۳۵۰	۵۰۰
کورتیزول ($ng\ mL^{-1}$)	۶۴/۹۰ ± ۱/۴۰^{a}	۶۱/۹۰ ± ۵/۰۷^{ab}	۲۳/۱۵ ± ۳/۵۵^{d}	۴۶/۶۰ ± ۵/۶۵^{abcd}	۳۹/۰۰ ± ۶/۲۲^{bcd}	۵۱/۰۳ ± ۱۰/۷۰^{abc}	۳۳/۵۷ ± ۱۸/۵۷^{cd}	۶۲/۱۰ ± ۷/۶۰^{ab}	۵۰/۲۰ ± ۹/۱۰^{abc}
گلوکز ($mg\ dL^{-1}$)	۱۴۲/۶۷ ± ۲۱/۱۳	۱۵۷/۶۷ ± ۴۴/۵۶	۱۴۸/۶۷ ± ۱۸/۶۱	۱۴۴ ± ۲۰/۹۵	۱۵۱/۳۳ ± ۲۳/۲۹	۱۴۰ ± ۱۳/۵۳	۱۴۷ ± ۲۸/۶۲	۱۶۷/۳۳ ± ۴۱/۷۴	۱۶۳/۶۷ ± ۷۱/۳۲
پروتئین کل ($g\ dL^{-1}$)	۵/۵۰ ± ۱/۱۵^{ab}	۵/۳۰ ± ۰/۱۹^{ab}	۵/۱۵ ± ۰/۷۵^{ab}	۵/۱۰ ± ۱/۰۴^{ab}	۶ ± ۰/۷۵^{a}	۵/۶۰ ± ۰/۴۰^{ab}	۴/۷۷ ± ۰/۴۲^{ab}	۵/۴۰ ± ۰/۱۰^{ab}	۴/۴۵ ± ۰/۰۵^{b}
آلکالاین فسفاتاز ($IU\ L^{-1}$)	۷۷/۶۷ ± ۱۹/۴۸	۶۸ ± ۱۵/۷۴	۹۴ ± ۱۶/۹۵	۸۷/۳۳ ± ۱۹/۷۱	۱۰۶ ± ۲۶/۲۳	۸۱/۶۷ ± ۱۷/۸۴	۱۲۷/۳۳ ± ۲۱/۰۷	۵۳/۳۳ ± ۱۱/۵۰	۶۸/۳۳ ± ۲۰/۷۳
لاکتات دهیدروژناز ($IU\ L^{-1}$)	۷۸۳ ± ۴۰/۱۵	۶۷۷ ± ۷۵/۶۵	۸۲۴ ± ۴۸	۵۶۸ ± ۷۶	۴۸۷ ± ۴۷/۹۹	۸۳۹ ± ۸۱/۱۳	۶۹۸ ± ۷۴/۲۹	۷۵۰ ± ۳۰	۵۷۶ ± ۳۱
آلانین آمینوترانسفراز ($IU\ L^{-1}$)	۴۸ ± ۶/۸۵	۴۴/۶۷ ± ۱۴/۰۱	۴۵/۳۳ ± ۹/۲۶	۴۷ ± ۹/۵۳	۴۶/۶۷ ± ۱۱/۹۳	۴۱/۳۳ ± ۸/۰۲	۴۹/۶۷ ± ۱۱/۰۱	۳۹/۳۳ ± ۷/۵۰	۴۴/۶۷ ± ۹/۴۰
آسپارات آمینوترانسفراز ($IU\ L^{-1}$)	۳۷۲/۶۷ ± ۸۸/۷۹	۴۰۹/۳۳ ± ۶۵/۰۴	۳۴۳ ± ۷۸/۳۰	۳۳۹/۶۷ ± ۲۶/۹۳	۳۶۱ ± ۱۶/۴۳	۳۴۹ ± ۴۵/۰۵	۴۴۱/۶۷ ± ۴۴/۰۷	۳۸۰/۳۳ ± ۴۳/۹۳	۳۷۷ ± ۸۷/۱۳
آلبومین ($g\ dL^{-1}$)	۱/۷۰ ± ۰/۱۰	۱/۸۰ ± ۰/۱۰	۱/۷۰ ± ۰/۲۰	۱/۷۰ ± ۰/۲۶	۱/۸۰ ± ۰/۲۶	۱/۸۰ ± ۰/۱۰	۱/۵۰ ± ۰/۱۰	۱/۷۳ ± ۰/۰۵	۱/۵۳ ± ۰/۰۵
کلسترول ($mg\ dL^{-1}$)	۲۳۶ ± ۱۶/۰۹^{ab}	۲۲۹/۶۷ ± ۱۴/۰۱^{b}	۲۱۴/۳۳ ± ۱۱/۳۷^{b}	۲۳۰/۶۷ ± ۱۵/۳۷^{b}	۲۳۰/۳۳ ± ۱۶/۲۵^{b}	۲۳۹/۶۷ ± ۸/۳۹^{ab}	۲۱۴/۳۳ ± ۶/۴۳^{b}	۲۸۴/۶۷ ± ۵۶/۶۶^{a}	۲۳۴ ± ۴۸/۴۴^{ab}

حروف متفاوت هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین میانگین‌ها می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

بحث

با توجه به پاسخ متفاوت گونه‌های مختلف ماهیان به مواد بیهوش کننده، به دست آوردن غلظت‌های بیهوشی این مواد ضروری است. بر اساس نتایج این مطالعه، مدت زمان رسیدن به بیهوشی با اسانس نعناع (۱/۵ تا ۳ دقیقه بسته به غلظت) و احیاء (۳ تا ۴/۵ دقیقه) برای فعالیت‌هایی مثل وزن‌کشی و جابه‌جایی ماهی سفیدک سیستان مناسب به نظر می‌رسد.

معمولاً بیهوشی عمومی با تأثیر گسترده ماده بیهوش‌کننده بر آکسون‌های عصبی، آزاد شدن انتقال دهنده‌ها، تحریک‌پذیری غشاء سلولی و یا ترکیبی از اینها ایجاد می‌شود. تنها اصل کلی این است که بیهوشی حاصل تعامل ماده بیهوش کننده و ترکیبات غشاء سلولی است و مکانیسم سلولی منحصر به فردی وجود ندارد که مبین اثرات بیهوشی بر دستگاه عصبی مرکزی باشد (Winlow et al. 1992)، هر چند که احتمالاً مواد بیهوش کننده فعالیت مجاری یونی را تغییر می‌دهند (Klement and Nilsson, 2003). تحقیقات نشان می دهند که اسانس نعناع دارای ترکیبات منتول، منتون و تانن است (جوبانکار، ۱۳۷۷). از طرف دیگر گزارش‌ها در مورد اثرات سلولی نعناع بیان می‌کند که منتول دارای گیرنده اختصاصی در غشای سلول است (Wright et al. 1998) و از طریق آنها منجر به کاهش جریان به داخل سلول در حالت استراحت شده و آستانه تحریک سلول‌ها را افزایش می‌دهد (Okazawa et al. 2000). با توجه به گزارش های بالا، می‌توان بیان کرد که احتمالاً اسانس نعناع از طریق اثر روی مجاری کلسیمی موجود در غشای سلول‌های عصبی، به ویژه نرون‌های درد، جریان کلسیم به داخل سلول را کاهش داده، بدین طریق تحریک‌پذیری و میزان انتقال سیناپسی را کاهش داده، منجر به کاهش احساس درد می‌شود. همچنین منتول روی گیرنده‌های kappa-opioid اثر می‌گذارد، جریان و انتقال پیام درد را مهار و منجر به کاهش احساس درد می‌شود (توکلی صابری و صداقت، ۱۳۷۹).

ماده‌ای از نظر بیهوشی دارای کارایی بالا محسوب می‌شود که قادر باشد طی سه دقیقه یا کمتر در ماهی بیهوشی ایجاد کند و طی ۱۰ دقیقه یا کمتر ماهی احیاء شود و در صورتی که ماهی ۱۵ دقیقه در معرض آن قرار گیرد، مرگ و میر اتفاق نیفتد (Marking and Meyer, 1985). اسانس نعناع حتی با کمترین غلظت به کار رفته در این آزمایش یعنی تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر در زمان ۳۸/۲۰ ± ۱۶۱/۰۰ ثانیه (حدود سه دقیقه) بیهوشی عمیق را القا می‌کند و در تیمار ۵۰۰ این زمان تقریباً به نصف کاهش پیدا می‌کند. چنین زمانی در انجام بسیاری از فعالیت‌های تکثیر و پرورش ماهی زمان مناسبی است. از طرفی، مدت زمان احیای ماهی در تیمارهای ۲۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بین سه تا پنج دقیقه است که زمان بسیار مناسبی است. همزمان با افزایش غلظت اسانس نعناع، مدت زمان مراحل مختلف بیهوشی کاهش یافت. در واقع، بین غلظت ماده بیهوش کننده و مدت زمان بیهوشی رابطه عکس وجود دارد. چنین نتایجی در مورد ماهیانی مثل کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Hikasa et al. 1986)، قزل‌آلای رنگین کمان (Keene et al. 1998) و ماهی آزاد (*Salmo salar*) (Iversen et al. 2003) که با روغن میخک بیهوش شده بودند، به دست آمده است.

تجزیه و تحلیل پارامترهای خونی یکی از بهترین روش‌های تشخیصی است (Anver Celik, 2004) و اطلاعات مهمی از وضعیت محیط داخلی موجود زنده ارائه می‌دهد (Anver Celik, 2004; Velisek et al. 2009, 2011; Kristan et al. 2012). تهیه تابلوهای خون شناختی و بیوشیمیایی خون مکرراً توسط محققان برای ارزیابی اثرات مواد بیهوش کننده مورد استفاده قرار گرفته است (Velisek et al. 2006, 2007, 2009, 2011; Kristan et al. 2012).

در مطالعه حاضر، مقدار کورتیزول پس از القای بیهوشی نسبت به تیمار شاهد کاهش معناداری پیدا کرد، اگر چه ۲۴ ساعت بعد از القای بیهوشی مقدار آن در برخی تیمارها افزایش یافت، ولی باز هم نسبت به تیمار شاهد به طور معناداری کمتر بود. کم شدن مقدار کورتیزول نشان دهنده کاهش استرس است. چنین نتایجی در قزل‌آلای رنگین کمان بیهوش شده با روغن میخک (Wagner et al. 2002) و گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) بیهوش شده با عصاره گل میخک به دست آمده است (Small, 2003).

معمولاً وارد شدن استرس ناگهانی به ماهی موجب افزایش گلوکز و القای پدیده گلیکونئوژنزیز در ماهی می‌شود و در

نتیجه باعث می‌شود مقدار آمونیاک افزایش و مقدار پروتئین کل کاهش یابد (Gomulka et al. 2014). چنین نتیجه‌ای در مورد سفید ماهی اروپایی *Coregonus lavaretus* که در معرض بیهوش‌کننده پروفونول قرار گرفته بود، به دست آمده است (Gomulka et al. 2014). تغییر مقادیر گلوکز و پروتئین کل گربه ماهی اروپایی و کپور معمولی که در معرض مواد بیهوش‌کننده قرار گرفته بودند، مشاهده نشد (Velisek and Svobodova, 2004b). اگر در ماهی بیهوش شده مقدار گلوکز خون افزایش یابد، نشان دهنده پاسخ ماهی به استرس متابولیک است. افزایش گلوکز خون از طریق آزاد شدن کاتکول آمین‌ها صورت می‌گیرد که احتمالاً پاسخی به ایجاد خفگی در اثر کاهش تنفس طی عمل بیهوشی است (Gingerich and Drottar, 1989; Iwama et al. 1989). در این مطالعه مقدار گلوکز خون پس از اینکه ماهی در معرض اسانس نعناع قرار گرفت، مقدار کمی افزایش یافت، ولی پس از ۲۴ ساعت در تیمارهای ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر، به اندازه مقدار پس از القای بیهوشی بود و در تیمارهای ۳۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر مقدار گلوکز در ساعت ۲۴ نسبت به پس از القای بیهوشی مقداری افزایش یافت، ولی این افزایش نسبت به تیمار شاهد و دیگر تیمارها تفاوت معناداری نداشت. بازگشت گلوکز به سطح متعارف پس از ۲۴ ساعت در ماهی کپور معمولی بیهوش شده با غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر روغن میخک مشاهده شده است (Velisek et al. 2005). می‌توان نتیجه گرفت که بیهوشی با این ماده، موجب وارد شدن استرس متابولیک به ماهی در حدی نیست که موجب تغییر مقدار گلوکز شود. بیشترین مقدار پروتئین کل پس از القای بیهوشی در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن در تیمار ۵۰۰ و ۲۴ ساعت بعد از بیهوشی به دست آمد که با بقیه تیمارها اختلاف معنادار داشت، ولی در بین تیمارهای دیگر اختلافی وجود نداشت.

فعالیت آنزیمی در خون نیز یکی از شاخص‌هایی هست که نشان دهنده استرس است. به همین دلیل، در این مطالعه مقادیر آنزیم‌های LDH، AST و ALT اندازه‌گیری شد. اگر فعالیت این آنزیم‌ها به طور معناداری افزایش یابد، نشان دهنده صدمه بافتی است که می‌تواند ناشی از استرس باشد (Svoboda, 2001). در این آزمایش مقدار هیچ یک از این آنزیم‌ها تغییر معناداری نداشت. میزان فعالیت AST در گربه ماهی اروپایی و کپور معمولی که در معرض مواد بیهوش کننده ۲-فنوکسی اتانول و گل میخک قرار گرفته بودند، تغییر نکرده است. همچنین، عدم تغییر مقدار LDH در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان، کپور معمولی و گربه ماهی اروپایی بیهوش شده با ۲-فنوکسی اتانول مشاهده شده است (Velisek and Svobodova, 2004a,b; Velisek et al. 2007).

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که اسانس نعناع با غلظت ۲۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای بیهوشی ماهی سفیدک سیستان مناسب است، ولی برای صرفه‌جویی در مصرف مواد، غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر قابل توصیه است. اسانس نعناع علاوه بر داشتن بوی مطبوع و مناسب، استرس کم و محدودی ایجاد می‌کند، ولی قیمت آن اندکی بیش از میخک است. با وجود این، لازم است مطالعات بیشتری برای تعیین تأثیر اسانس نعناع بر بافت‌ها و اندام‌های درونی این ماهی، همچنین وزن‌های دیگر این ماهی، از جمله ماهیان مولد و نیز گونه‌های دیگر انجام شود.

منابع

توکلی صابری، م.ر.، صداقت، م.ر. ۱۳۷۹. گیاهان دارویی (ترجمه). چاپ چهارم، انتشارات روزبهان. ۲۶۴ ص.

جوبانکار، ش. ۱۳۷۷. میوه‌ها و گیاهان آرام‌بخش. چاپ بهار. ۱۳۵ ص.

حلاجیان، ع.، کاظمی، ر.، یوسفی جوردهی، ا. ۱۳۹۰. اثر پودر گل میخک بر مدت زمان بیهوشی و بازگشت از بیهوشی در فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی ۴ ساله. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر ۲: ۱۳۳-۱۴۰.

شریف روحانی، م.، حقیقی، م.، عصائیان، ح.، لشتوآقایی، غ. ۱۳۸۶. بررسی اثر بیهوشی اسانس آویشن شیرازی

Zataria multiflora Boiss (Labiatae) بـر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) و قزل‌آلای رنگین کمان پرورشـی (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران ۱۶: ۱۰۶-۹۹.

غفاری، م.، خسروانی‌زاده، ع.، قرایی، ا.، صالحی، ح.، ابطحی، ب.، راهداری، ع. ۱۳۹۲. اثرات بیهوش کننده اسانس میخک بارگذاری شده با نانو ذرات آهن در ماهی آنجل. مجله دامپزشکی ایران ۹: ۸۹-۸۱.

فهیم، م.، صفر علیزاده، م.ح.، صفوی، س.ع. ۱۳۸۹. ارزیابی حساسیت تخم، پوره و حشره کامل سفید بالک گلخانه به دو اسانس گیاهی نعناع و زیره سبز در شرایط آزمایشگاهی. دانش کشاورزی و تولید پایدار ۲۲: ۳۵-۲۷.

کیهانی، س.ح.، حسینی فرد، س.م.، قاسـم نـژاد بصـرا، ح. ۱۳۹۲. بررسی تأثیر عصـاره آبـی، متـانولی، اتـانولی و اسانس گیاه لرگ (*Pterocarya fraxinifolia*) به عنوان یک ماده بیهـوش‌کننـده بـر روی مـاهی کپـور معمولی (*Cyprinus carpio*). فصلنامه علوم تکثیـر و آبزی‌پروری ۲: ۷۸-۷۱.

Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. hirtum, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 1739-1745.

Anver Celik, E. 2004. Blood chemistry (electrolytes, lipoprotein and enzymes) values of black scorpion fish (*Scorpaena porcus* 1758) in the Dardanelles, Turkey. Journal of Biology Sciences 4: 716-719.

Asao, T., Mochiki, E., Suzuki, H., Nakamura, J., Hirayama, I., Morinaga, N. 2001. An easy method for the intraluminal administration of peppermint oil before colonoscopy, its effectiveness in reducing colonic spasm, Gastrointestinal Endoscopy 53: 172-177.

Bremnes, L. 2002. Herbs. Eyewitness-Handbooks, DK Publishing, New York, USA.

Brown, L.A. 1988. Tropical fish medicine. Anesthesia in fish. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 18: 317-330.

Buckle, J. 2003. Clinical Aromatherapy: Essential Oils in Practice. 2nd edn. Edinburg: Churchill Livingstone.

Coyle, S.D., Durborow, R.M. Tidwell, J.H. 2004. Anesthetics in Aquaculture. SRAC Publication No. 3900, 6 p.

Gharaei, A. Rahdari, A. Ghafari, M. 2011. Induced spawning of *Schizothorax zarudnyi* by using synthetic hormones. Journal of Marine Sciences and Technologies 10: 1-11.

Gingerich, W.H., Drottar, K.R. 1989. Plasma catecholamine concentrations in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest and after anesthesia and surgery. General and Comparative Endocrinology 73: 390-397.

Gomulka, P., Wlaspw, T., Szczepkowski, M., Misiewicz, L., Ziomek, E. 2014. The effect of propofol anaesthesia on haematological and biochemical blood profile of European whitefish. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 14: 331-337.

Hikasa, Y., Takase, K., Ogasawara, T., Ogasawara, S. 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methane sulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. Japanese Journal of Veterinary Sciences 48: 341-351.

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

Iversen, M., Finstad, B., Mckinlay, R.S., Eliassen, R.A. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, AQUI- STM and Benzoak1 as an aesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and

their potential stress- reducing capacity. Aquaculture 221: 549-566.

Iwama, G. K., McGeer, J. C., Pawluk, M. P. 1989. The effects of five fish anesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. Canadian Journal of Zoology 67: 2065-2073.

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

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

Klement, A.P., Nilsson, J. 2003. Mechanisms of anesthesia: towards integrating network, cellular and molecular level modeling. Neuropsychopharmacology 28 (Suppl. 1): 40-47.

Knobloch, E., Pauli, A., Iberl, B., Wies, N., Weigand, H. 1998. Mode of action of essential oil components on whole cells of bacteria and fungi in plate tests. In Bioflavour'87; Schreier, P. (Ed). Walter de Gruyter: Berlin, Germany, 287-299.

Kristan, J., Stara, A., Turek, J., Policar, T., Velisek, J. 2012. Comparison of the effects of four anesthetics on hematological and blood biochemical profiles in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). Neuroendocrinology 33: 66-71.

Leicester, R.J., Hunt, R.H. 1982. Peppermint oil to reduce colonic spasm during endoscopy. Lancet 2: 989.

LeOra Software. 1987. POLO-PC, user's guide to probit or logit analysis, LeOra Software Inc., Berkeley, CA.

Marking, L.L., Meyer, F.P. 1985. Are better anesthetics needed in fisheries? Fisheries 10: 2-5.

McFarland, W.N. 1959. A study of the effects of anesthetics on the behavior and physiology of fishes. Publication of the Institute of Marine Science 6: 22-55.

McKenzie, J., Gallacher, M. 1989. A sweet smelling success, Nursing Times 85: 48-9.

OECD. 1992. Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, 1-9.

Okazawa, M., Terauchi, T., Shiraki, T., Matsumura, K., Kobayashi, S. 2000. l-Menthol-induced $[Ca^{2+}]i$ increase and impulses in cultured sensory neurons. NeuroReport 11: 2151-2155.

Ross, L.G., Ross, B. 2008. Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals. 3rd ed. Blackwell Science, Oxford, 1-10.

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

Small, B.C. 2003. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. Aquaculture 218: 177-185.

Soković, M.D., Vukojević, J., Marin, P.D., Brkić, D.D., Vajs, V., Van Griensve, L.G. 2009. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. Molecules 14: 238-249.

Svobodova, Z., Pravda, D., Palackova, J. 1991. Unified methods of hematological examination of fish. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodňany, 31P.

Svoboda, M. 2001. Stress in fish - review. Bulletin of Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology 37: 169-191.

Tate, S. 1997. Peppermint oil: a treatment for postoperative nausea. Journal of Advanced Nursing 26: 543-549.

Velisek, J., Svobodova, Z. 2004a. Anesthesia of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with 2-

phenoxyethanol: Acute toxicity and biochemical blood profile. Acta Veterinaria Brno 73: 379-384.

Velisek, J., Svobodova, Z. 2004b. Anesthesia of common carp (*Cyprinus carpio* L.) with 2-phenoxyethanol: Acute toxicity and effects on biochemical blood profile. Acta Veterinaria Brno 73: 247-252.

Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Groch, L., Nepejchalova, L. 2005. Effects of clove oil an aesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). Veterinarni Medicina 6: 269-275.

Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., Novotny, L., Ziomek, E. 2006. Effects of clove oil an aesthesia on European catfish (*Silurus glanis* L.). Acta Veterinaria Brno 75: 99-106.

Velisek, J., Wlasow, T., Gomulko, P., Svobodova, Z., Novotny, L. 2007. Effects of 2-phenoxyethanol anesthesia on sheat fish (*Silurus glanis* L.). Veterinarni Medicina 52: 103-110.

Velisek, J., Stejskal, V., Kouril, J., Svobodova, Z. 2009. Comparison of the effects of four anesthetics on biochemical blood profiles of perch. Aquaculture Research 40: 354-361.

Velisek, J., Stara, A., Li, Z., Silovska, S., Turek, J. 2011. Comparison of the effects of four anesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. Aquaculture 310: 369-375.

Wagner, E., Arndt, R., Hilton, B. 2002. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. Aquaculture 211: 353-366.

Winlow, W., Yar, T., Spencer, G., Girdlestone, D., Hancox, J. 1992. Differential effects of general anesthetics on identified molluscan neurons in situ and in culture. General Pharmacology 23: 985-992.

Wright, C.E., Bowen, W.P., Grattan, T.J., Morice, A.H. 1998. Identification of the L-menthol binding site in guinea pig lung membranes. British Journal of Pharmacology 123: 481-486.

Anesthetic effects and biochemical changes of peppermint essence (*Mentha spicata*) in snow trout (*Schizothorax zarudnyi*)

Abdolali Rahdari*[1], Ali Khosravanizadeh[1], Hosein Dahmardeh[2], Ahmad Gharaei[1], Javad Mirdar Harijani[2]

1- Department of Fisheries, International Hamun Wetland Institute, University of Zabol, Zabol, Sistan & Baluchistan, Iran

2- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Sistan & Baluchistan, Iran

Received 4 April 2017; accepted 21 September 2017

Abstract

By increasing the aquaculture facilities, using effective anesthetics and introducing new ingredients is so important. In this study, the efficacy of peppermint (*Mentha spicata*) as an anesthetic for snow trout (*Schizothorax zarudnyi*) was investigated. The peppermint essence was used for 30 farmed snow trout with mean (±SD) weight 90.97 ± 38.26 g. The fish were divided into five treatments (each consisting of six fish). Four treatments were exposed to peppermint with 200, 250, 350 and 500 mg L^{-1} concentrations by immersion method. The control group was not exposed to any dose of the anesthetic. The mean time of each anesthetic doses and recovery stages were measured. Results showed that by increasing the peppermint doses, the time of anesthesia were reduced. The minimum and maximum times of total anesthesia were recorded in 500 and 250 mg L^{-1} with 161.00 ± 83.20 and 88.17 ± 22.52 seconds, while those in 200 mg L^{-1} was significantly different from the other treatments. The mean recovery time in snow trout in treatment 200 mg L^{-1} was the lowest (180.00 ± 97.35s) compared to the other treatments. Acute toxicity test indicated that the 96-h LC_{50} value of peppermint essence was 119.58 mg L^{-1}. The result of this experiment clearly indicated that peppermint essence in 200 mg L^{-1} could be used as an effective anesthetic for handling and transport practices of this species.

Keywords: Anesthetic, Snow trout (*Schizothorax zarudnyi*), Peppermint essence (*Mentha spicata*).

*Corresponding author: Rahdari67@gmail.com