فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال دوازدهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۳

مقاله پژوهشی

اثرات بیهوشی اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در مقایسه با اسانس گل میخک (*Syzygium aromaticum*) بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

ادریس رحیمی‌کیا[1]*، سید حسین مرادیان[2]، اسماعیل کاظمی[2]، علی خسروانی‌زاده[3]

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۲ DOI: 10.22124/japb.2023.25471.1512 تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۲

چکیده

در این پژوهش اثرات بیهوشی اسانس گیاه نعناع فلفلی با غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مقایسه آن با غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد ارزیابی قرار گرفت. برای انجام آزمایش‌های بیهوشی ۱۳۲ عدد ماهی با میانگین وزن ۱/۲۷±۲۳/۳۱ گرم استفاده شد. زمان القای بیهوشی با استفاده از اسانس نعناع فلفلی در غلظت‌های مختلف از ۱/۶۹ تا ۴/۸۱ دقیقه متغیر بود. در مورد اسانس میخک این زمان از ۰/۸۲ تا ۲/۵۱ دقیقه در غلظت‌های مختلف متغیر بود. بازگشت از بیهوشی کامل در هر دو ماده بیهوشی به طور معنی‌داری با افزایش غلظت ماده بیهوش کننده، افزایش یافت. زمان بازگشت از بیهوشی کامل در مورد اسانس نعناع فلفلی از ۲/۵۰ تا ۵/۵۵ دقیقه و در ماهیان بیهوش شده با اسانس میخک از ۲/۹۶ تا ۳/۸۷ متغیر بود. بر اساس معیارهای ایده‌آل القای بیهوشی (کمتر از ۳ دقیقه) و بازگشت از بیهوشی (کمتر از ۵ دقیقه)، مناسب‌ترین غلظت اسانس نعناع فلفلی برای بیهوشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در وزن آزمایش شده ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مناسب‌ترین غلظت اسانس میخک ۳۰ میلی‌گرم در لیتر پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: *اسانس، میخک، نعناع فلفلی، بیهوشی، قزل‌آلای رنگین‌کمان.*

۱- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویراحمد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران.
۲- دکتری شیلات، مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران.
۳- استادیار گروه علوم آبزیان، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، پژوهشگاه زابل، زابل، ایران.
* نویسنده مسئول: dr.rahimikia@gmail.com

مقدمه

ماهی‌ها هنگام دستکاری و جابه‌جایی به آسانی دچار استرس، جراحت و حتی مرگ می‌شوند. از این رو، در آبزی‌پروری برای انجام اعمال مختلفی مانند رقم بندی، 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). ماده‌ای از نظر بیهوشی دارای کارایی بالا محسوب می‌شود که قادر باشد در زمان سه دقیقه یا کمتر در ماهی بیهوشی ایجاد کند و در زمان ۱۰ دقیقه یا کمتر ماهی احیا شود و در صورتی که ماهی ۱۵ دقیقه در معرض آن قرار گیرد مرگ و میر اتفاق نیفتد (Marking and Meyer, 1985). ویژگی‌های مختلفی در انتخاب یک ماده بیهوش کننده مناسب در آبزی‌پروری مد نظر قرار دارد که از آن جمله می‌توان به قیمت پایین، کارایی بالا، دوره کوتاه ماندگاری در بافت، عدم وجود اثرات جانبی بر اشتها، عوامل بیوشیمیایی و سلامت ماهی، آستانه سمیت گسترده بر روی ماهی و انسان اشاره کرد (Marking and Meyer, 1985; Tarkhani et al., 2017).

تاثیرات بیهوش کنندگی تعداد زیادی از مواد شیمیایی بر ماهیان به اثبات رسیده است (Velisek et al., 2005). هر یک از آنها دارای مزایا و اشکالاتی هستند. اصلی‌ترین موادی که برای بیهوشی در ماهیان به کار می‌روند شامل MS222، بنزوکائین، کینالدین سولفات و ۲-فنوکسی اتانول (Svoboda and Kolarova, 1999) هستند. برخی مطالعات بر روی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، نعناع معمولی (*Mentha spicata*) و منتول به عنوان ترکیب اصلی اسانس استخراج شده از گیاهان جنس *Mentha* متمرکز شده است. به عنوان مثال Danner و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که امولوسیون اسانس نعناع معمولی و Wintergreen (متیل سالیسیلات) در مقایسه با MS-222 یک بیهوش کننده سریع و موثر در ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) است. علاوه بر این Pedrazzani و Ostrensky (۲۰۱۶) نیز به خواص بیهوشی اسانس نعناع در ماهی Clown Anemonefish (*Amphiprion ocellaris*) اشاره کردند. Mazandarani و Hoseini (۲۰۱۷) نیز اثرات بیهوش کنندگی منتول را در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند

که غلظت ۱۱۸ تا ۵۱۲ قسمت در میلیون منتول قادر به بیهوشی ماهی کپور معمولی بین ۱ تا ۳ دقیقه است.

نعناع فلفلی اولین بار در سال ۱۷۵۳ توسط لینه در انگلستان شناسایی و تعریف شد. او در ابتدا این گیاه را به عنوان یک گونه معرفی کرد ولی بعدها مشخص شد که گیاهی دورگه و حاصل تلاقی گونه‌های نعناع آبی (Watermint) و نعناع معمولی (Spearmint) است. نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است. بسیاری از اسانس‌های گیاهی مشهور از جمله نعناع معمولی، ریحان (*Ocimum basilicum*)، اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*)، رزماری (*Salvia rosmarinus*)، درمنه (برنجاسف، *Artemisia*)، مرزنجوش (*Origanum vulgare*) و آویشن (*Thymus vulgaris*) به این خانواده تعلق دارند. ۴۳ ترکیب در گیاه نعناع شناسایی شده است که ۹۹/۸ درصد کل اسانس را شامل می‌شود، منتول، منتون، متیل استات و کارون اجزای اصلی اسانس نعناع فلفلی را تشکیل می‌دهند (Mahboubi and Kazempour, 2014). اغلب مطالعات منتول را ترکیب اصلی اسانس نعناع فلفلی عنوان کرده‌اند (Iscan et al., 2002; Behnam et al., 2006; Sokovic et al., 2009; Hussain et al., 2010)، اما در مطالعات Iscan و همکاران (۲۰۰۲) و Hussain و همکاران (۲۰۱۰) نیز به ترتیب منتون و لیمونن دومین جزء اصلی تشکیل دهنده این اسانس معرفی شده‌اند. با این حال با توجه به برخی گزارش‌ها (Yadegarinia et al., 2006) همیشه منتول ترکیب اصلی اسانس نعناع فلفلی را شامل نمی‌شود.

منتول (۲- ایزوپروپیل- ۵- متیل- سیکلو هگزانول) که یکی از ترکیبات اسانس استخراج شده از گیاهان جنس *Mentha* است، به طور متداول برای بیهوشی بی‌مهرگان دریایی استفاده می‌شود و همچنین اثرات بیهوشی آن در ماهیان نیز گزارش شده است (Kasai et al., 2014). دستیابی به آن راحت است و برای فرد استفاده کننده و محیط زیست خطری در پی ندارد (Roubach et al., 2005; Goncalves et al., 2008) و می‌تواند به عنوان یک جایگزین برای مواد صنعتی از جمله MS-222 و بنزوکائین مطرح باشد که سبب آسیب به قرنیه و تخریب و از بین بردن موکوس آبشش‌ها می‌شوند (Inoue et al., 2003). نتایج مطالعه Kasai و همکاران (۲۰۱۴) نشان

می‌دهد که بخشی از اثرات بیهوش کنندگی منتول ناشی از تاثیر بر گیرنده‌های GABAA (γ- Aminobutyric Acid Type A) است. با این حال محل تاثیرگذاری و مکانیسم‌های دخیل در القای بیهوشی توسط منتول هنوز مشخص نشده است.

اسانس گل میخک از گونه *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum*) استخراج می‌شود و از سه ترکیب اصلی شامل اوژنول، ایزواوژنول و متیل اوژنول تشکیل شده است. به دلایلی از جمله قیمت پایین، کارایی و ایمنی بالا از اسانس گل میخک به طور گسترده در آبزی‌پروری در دنیا استفاده می‌شود (Keene et al., 1998). با این وجود در کشور ایران استفاده از پودر میخک استفاده گسترده‌تری دارد. بنابراین هدف از اجرای این مطالعه تعیین کارایی اثر بیهوش کنندگی، بررسی مدت زمان القای بیهوشی و بازگشت از بیهوشی در غلظت‌های متفاوت اسانس گیاه نعناع فلفلی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقایسه با اسانس گل میخک است.

مواد و روش‌ها

محل اجرا و تهیه ماهیان مورد نیاز

این پژوهش در مرکز تحقیقاتی اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج انجام شد. تعداد ۱۳۲ بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزن ۱/۲۷±۲۳/۳۱ گرم از ماهیان مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج استفاده شد. ماهیان در وان‌های ۳۰۰ لیتری دارای جریان مداوم آب چشمه نگهداری شدند. در طول مدت نگهداری شاخص‌های مهم فیزیکوشیمیایی آب وان‌ها شامل دما، اکسیژن، pH و اکسیژن محلول اندازه‌گیری و ثبت و در طی آزمایش در شرایط بهینه حفظ شدند. میانگین دمای آب ۱±۱۱ درجه سانتی‌گراد، pH آب ۰/۷۵±۷/۹۳ و اکسیژن محلول ۰/۳۹±۸/۶۱ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد.

نحوه آماده‌سازی محلول‌های بیهوشی

در این مطالعه از اسانس‌های گل میخک (*Syzygium aromaticum*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) به عنوان مواد بیهوش کننده استفاده شد. اسانس‌ها از شرکت باریج اسانس کاشان تهیه شدند. نتایج بررسی ترکیب اسانس‌ها نشان داد که به طور خلاصه اسانس نعناع فلفلی دارای ۲۸ درصد ماده موثر منتول و اسانس میخک دارای ۷۸/۱۲ درصد اوژنول و

۷/۶۷ درصد استیل اوژنول بود. با توجه به این که اسانس این دو گیاه در دمای کمتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد به طور کامل در آب حل نمی‌شوند (Keene et al., 1998)، ابتدا در اتانول، به نسبت ۱ قسمت اسانس و ۱۰ قسمت اتانول حل شدند. غلظت اسانس میخک حدود ۱ گرم در میلی‌لیتر است (Soto and Burhanuddin, 1995). در مطالعه حاضر غلظت اسانس میخک ۱/۰۴۵ گرم در میلی‌لیتر و غلظت اسانس نعناع فلفلی نیز ۰/۹۰۴ گرم در میلی‌لیتر بود. در نتیجه به عنوان مثال، برای تهیه غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک، جهت بیهوشی در ۲۰ لیتر آب، ۰/۴ میلی لیتر اسانس در ۴ میلی لیتر اتانول حل شد. با توجه به این که غلظت کشنده ۹۶ ساعته اتانول (LC_{50}) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با وزن ۸۰ گرم، بین ۱۲۰۰۰ تا ۱۶۰۰۰ قسمت در میلیون تعیین شده است، بنابراین غلظت اتانول مورد استفاده در این مطالعه برای حل کردن اسانس‌ها (حداکثر ۳۰۰۰ppm) تاثیر ناچیزی بر نتایج آزمایش خواهد داشت یا بدون تاثیر است (Mayer and Ellersieck, 1986). محلول استوک بیهوشی به صورت روزانه تهیه شد و به منظور جلوگیری از تاثیر نور در تاریکی نگهداری شد (Mayer and Ellersieck, 1986). به منظور اطمینان از این که اثرات بیهوشی اسانس‌ها تحت تاثیر اتانول نبوده است، تعدادی ماهی در بالاترین غلظت استفاده شده اتانول به تنهایی یعنی ۳۰۰۰ppm قرار داده شدند و هیچ گونه علائم بیهوشی مشاهده نشد. غلظت‌های آزمایش شده در این مطالعه شامل ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک و غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس نعناع فلفلی بود.

بیهوش کردن ماهیان و بررسی رفتار بیهوشی

یک هفته قبل از انجام آزمایش، ماهی‌های هر گروه برای عادت‌پذیری درون وان محل آزمایش قرار داده شدند. زمان شروع بیهوشی برای اسانس‌های گل میخک و نعناع فلفلی تحت شرایط یکسانی اندازه‌گیری شد. برای بیهوشی از وان‌های ۲۰ لیتری مجهز به هواده و آب با دمای ۱۱±۰/۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. قبل از معرفی ماهیان، غلظت‌های آزمایشی به وان‌ها اضافه شد. در زمان بیهوش شدن، ماهیان به یکباره بیهوش نشدند و بیهوش شدن به تدریج رخ داد. در مدت زمان قرار گرفتن ماهی در محلول بیهوشی رفتارهای مختلفی مشاهده شد. ماهیان به شیوه حمام در یک تشت به ظرفیت

۲۰ لیتر به آرام‌بخشی رسیده و در نهایت بیهوش شدند و پس از ایجاد بیهوشی کامل و احیا (ریکاوری) به وان‌های مربوطه منتقل شدند. ۱۲ قطعه ماهی از هر تیمار برای آزمایش به صورت تصادفی انتخاب و سپس جداگانه در وان‌های بیهوشی قرار داده شد. هنگام قرار گرفتن ماهیان در محلول بیهوشی رفتار ماهیان به دقت زیر نظر گرفته شد و مدت زمان (با زمان‌سنج ورزشی دیجیتال، Xinxin،ZSD-013 ، چین) رسیدن به مراحل ۳ و ۵ بیهوشی (McFarland, 1959; Jolly et al., 1972) در غلظت‌های مختلف اسانس نعناع فلفلی و اسانس گل میخک در شرایط یکسان (میزان حجم و دمای محلول بیهوشی) اندازه‌گیری و ثبت شد (جدول ۱). سپس ماهی بیهوش شده به وان‌های ۳۰۰ لیتری دارای جریان مداوم آب انتقال داده شدند. زمان بازگشت از بیهوشی نیز با استفاده از زمان‌سنج اندازه‌گیری شد. در ادامه ماهیان بر اساس تیمارهای بیهوشی به وان‌های ۲۰۰ لیتری دارای جریان مداوم آب انتقال داده شدند و رفتارها و مرگ و میر آنها طی دو هفته بررسی شد. همچنین طی مرحله بازیابی مدت زمان رسیدن به مراحل ۲ و ۵ هوشیاری (Keene et al., 1998) نیز اندازه‌گیری و ثبت شد (جدول۲).

جدول ۱: مراحل مختلف بیهوشی در ماهی (McFarland, 1959; Jolly et al., 1972)

مرحله	مشخصه	رفتارهای ماهی
۱	**تسکین جزئی**	از دست دادن جزئی واکنش به تحریک بینایی و لمسی بیرونی؛ حرکت سرپوش آبششی اندکی کاهش می‌یابد؛ تعادل نرمال
۲	**تسکین عمیق**	از دست دادن کامل واکنش به تحریک خارجی بجز اعمال فشار قوی، کاهش جزئی حرکت سرپوش آبششی؛ تعادل نرمال
۳	**عدم تعادل جزئی**	شنای نامنظم؛ افزایش حرکت سرپوش آبششی؛ فقط واکنش به لمس قوی و تحریک لرزشی
۴	**عدم تعادل کامل**	از دست دادن کامل تعادل؛ حرکت سرپوش آبششی کم ولی منظم؛ از دست دادن واکنش نخاعی
۵	**بیهوشی سبک**	از دست دادن کامل واکنش‌پذیری؛ حرکات سرپوش آبششی کم و نامنظم؛ ضربان قلب بسیار کند؛ از دست دادن کلیه واکنش‌ها
۶	**بیهوشی عمیق**	حرکات سرپوش آبششی ناچیز؛ معمولا ایست قلبی سریعا اتفاق می‌افتد

جدول ۲: مراحل بازگشت از بیهوشی در ماهی (Hikasa et al., 1986)

مرحله	مشخصه	رفتارهای ماهی
۱	**سرپوش**	حرکت سرپوش آبششی
۲	**بازگشت تعادل جزئی**	برگشت جزئی تعادل و شنا
۳	**بازگشت تعادل کامل**	احیا تعادل
۴	**پاسخ به محرک**	ظهور حرکت شنای اجباری و واکنش به تحریک بیرونی؛ پاسخ رفتاری هنوز کامل نیست.
۵	**احیا**	احیا رفتاری کامل؛ شنا نرمال

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

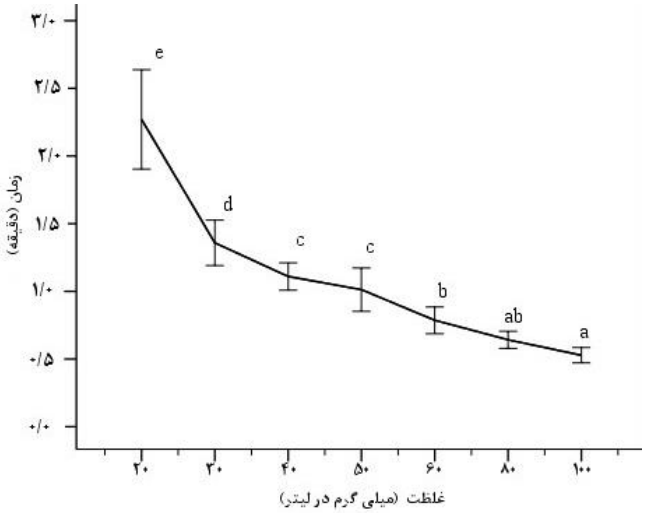
طرح کلی این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی (Completely Randomized Design) برنامه‌ریزی و اجرا شد. کلیه داده‌های جمع‌آوری شده در هر مرحله در نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 ثبت و برخی تحلیل‌های توصیفی بر حسب نیاز در این برنامه انجام پذیرفت. بخش دیگر پس از کنترل نرمال بودن داده‌ها به وسیله آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ در سطح اطمینان ۹۵ درصد (P<۰/۰۵) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

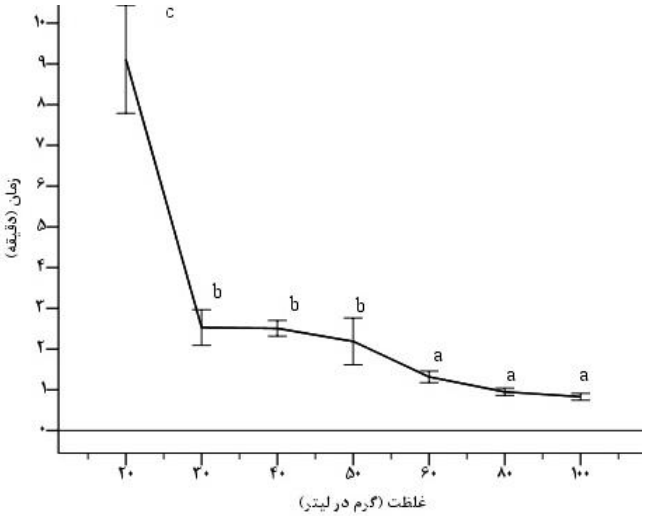
مدت زمان مراحل مختلف بیهوشی در غلظت‌های متفاوت اسانس گل میخک

مدت زمان از دست دادن تعادل ماهیان (مرحله ۳ بیهوشی) قزل‌آلای رنگین‌کمان بعد از مواجهه با اسانس گل میخک دارای تغییرات لگاریتمی بر اساس غلظت اسانس بود (شکل ۱). غلظت‌های ۴۰ تا ۱۰۰ (میلی‌گرم در لیتر) تقریبا دارای زمان از دست دادن تعادل مشابهی بودند. مدت زمان از دست دادن تعادل از ۰/۵۲ دقیقه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تا ۲/۲۷ دقیقه در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود.

مدت زمان رسیدن به مرحله ۵ بیهوشی یا همان بیهوشی سبک با تغییر غلظت به طور لگاریتمی تغییر پیدا کرد (شکل ۲).



شکل ۱: مدت زمان رسیدن به مرحله ۳ بیهوشی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در معرض غلظت‌های مختلف محلول بیهوشی اسانس میخک (میانگین ± انحراف معیار). مقادیر با حروف متفاوت دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).



شکل ۲: مدت زمان رسیدن به مرحله ۵ بیهوشی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در معرض غلظت‌های مختلف محلول بیهوشی اسانس میخک (میانگین ± انحراف معیار). مقادیر با حروف متفاوت دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

بیهوشی در تمامی تیمارها به غیر از غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان کمتر از ۲/۵۲ دقیقه به دست آمد. مدت زمان رسیدن به بیهوشی نیز از ۰/۸۲ دقیقه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تا ۹/۱۱ دقیقه با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. نکته قابل توجه اختلاف خیلی زیاد میان غلظت ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بود که در حدود ۶/۶ دقیقه بود. طبق نمودارها در شکل‌های ۱ تا ۴ با افزایش غلظت محلول بیهوشی، مدت زمان رسیدن به مراحل مختلف بیهوشی کاهش یافت. همچنین دامنه تغییرات مدت زمان این مراحل نیز با افزایش میزان غلظت محلول بیهوشی کاهش یافت.

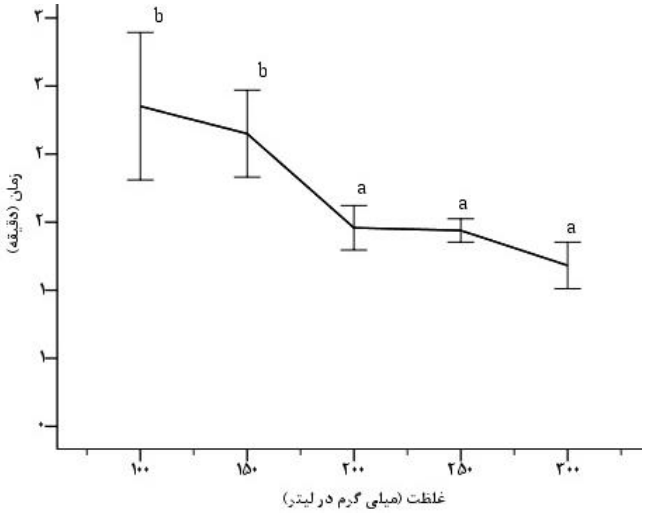
مدت زمان مراحل مختلف بیهوشی در غلظت‌های متفاوت اسانس نعناع فلفلی

مدت زمان از دست دادن تعادل ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بعد از مواجهه با اسانس نعناع فلفلی در شکل ۳ نشان داده شده است. مدت زمان از دست دادن تعادل با استفاده از اسانس نعناع فلفلی از ۱/۱۸ دقیقه در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر تا ۲/۳۵ دقیقه با استفاده از غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. با این وجود، غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری را با هم نشان ندادند ولی با غلظت‌های ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<0/05$).

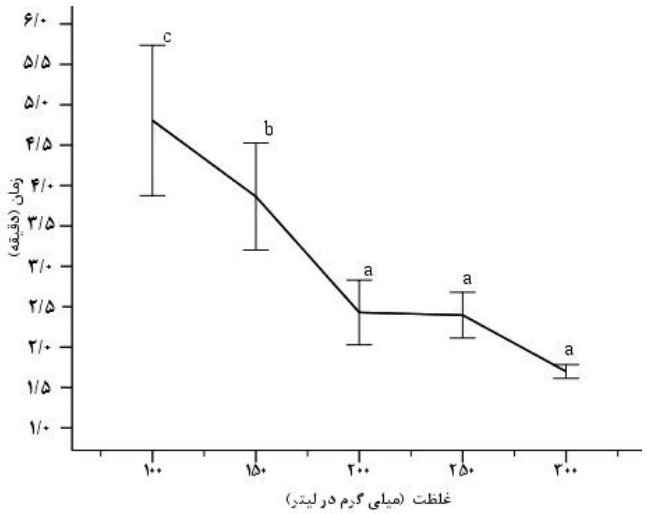
مدت زمان رسیدن به مرحله ۵ بیهوشی نیز در نمودار ۴ نشان داده شده است. مدت زمان بیهوشی نیز از ۱/۴۶±۴/۸۱ دقیقه با استفاده از غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تا ۰/۱۳±۱/۷۰ دقیقه در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. مدت زمان بیهوشی در غلظت‌های ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر نیز به ترتیب ۱/۴۶±۳/۸۶ دقیقه، ۱/۰۴±۲/۴۳ دقیقه و ۰/۶۳±۲/۴۰ دقیقه بود.

مطابق شکل‌های ۳ و ۴ با افزایش غلظت محلول بیهوشی، مدت زمان رسیدن به مراحل مختلف بیهوشی کاهش یافت. همچنین دامنه تغییرات مدت زمان این مراحل نیز با افزایش میزان غلظت محلول بیهوشی کاهش یافت. مدت زمان بیهوشی در سه غلظت ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر کمتر از سه دقیقه بود.

لازم به ذکر است که غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نعناع فلفلی نیز مورد آزمایش واقع شد، ولی با توجه به این که بعد از گذشت ۱۰ دقیقه هیچ گونه علائم بیهوشی مشاهده نشد، در آزمایش‌ها گنجانده نشد.



شکل ۳: مدت زمان رسیدن به مرحله ۳ بیهوشی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در معرض غلظت‌های مختلف محلول بیهوشی اسانس نعناع فلفلی (میانگین ± انحراف معیار). مقادیر با حروف متفاوت دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

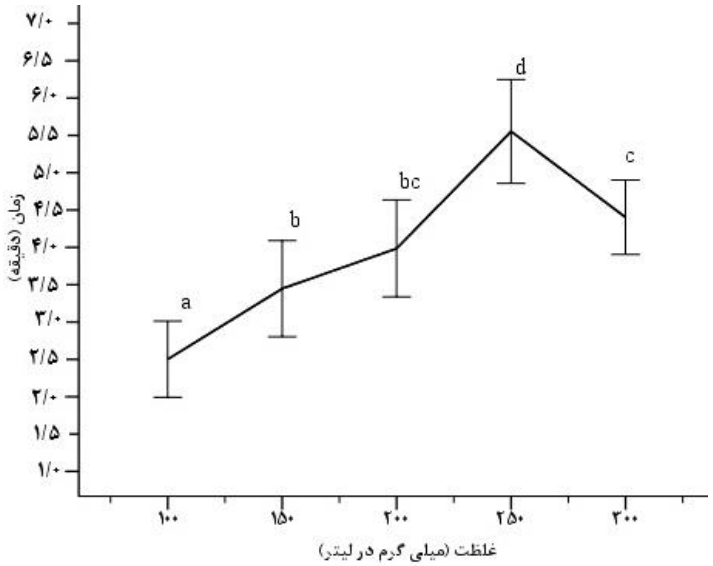


شکل ۴: مدت زمان رسیدن به مرحله ۵ بیهوشی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در معرض غلظت‌های مختلف محلول بیهوشی اسانس نعناع فلفلی (میانگین ± انحراف معیار). مقادیر با حروف متفاوت دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

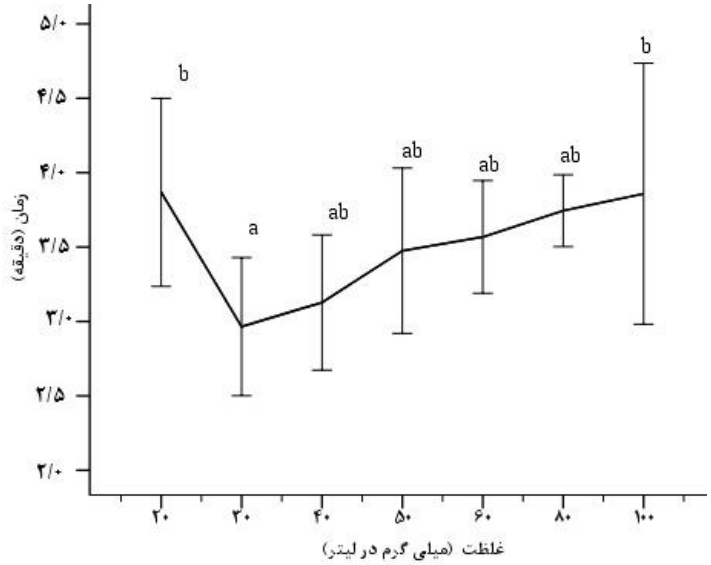
مدت زمان مراحل مختلف بازگشت از بیهوشی در غلظت‌های متفاوت محلول‌های بیهوشی

مدت زمان بازگشت از بیهوشی در غلظت‌های مختلف محلول‌های بیهوشی اسانس نعناع فلفلی و اسانس میخک در شکل‌های ۵ و ۶ نشان داده شده است. در تیمار با اسانس نعناع فلفلی، مدت زمان بازگشت از بیهوشی از ۲/۵۰±۰/۸۰ دقیقه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تا ۵/۵۵±۱/۰۹ دقیقه در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مدت زمان بازگشت از بیهوشی کمتر از ۴ دقیقه بود.

در تیمار با اسانس میخک، مدت زمان بازگشت از بیهوشی از ۲/۹۶±۰/۷۳ دقیقه در غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر تا ۳/۸۷±۰/۹۹ دقیقه در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. با این حال در تمامی غلظت‌ها مدت زمان بازگشت از بیهوشی کمتر از ۴ دقیقه بود.



شکل ۵: مدت زمان رسیدن به مرحله ۵ بازگشت از بیهوشی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بیهوش شده در غلظت‌های مختلف محلول بیهوشی اسانس نعناع فلفلی (میانگین ± انحراف معیار). مقادیر با حروف متفاوت دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).



شکل ۶: مدت زمان رسیدن به مرحله ۵ بازگشت از بیهوشی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بیهوش شده در غلظت‌های مختلف محلول بیهوشی اسانس میخک (میانگین ± انحراف معیار). مقادیر با حروف متفاوت دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس نعناع فلفلی دارای قدرت بیهوش کنندگی در ماهیان قزل‌آلا رنگین‌کمان بود. روند کلی مراحل بیهوشی و بازگشت از بیهوشی همراه با افزایش غلظت از الگوی عمومی بیهوشی ماهیان تبعیت داشت (McFarland 1959; Jolly et al., 1972; Hikasa et al., 1986). این تاثیر بیهوش کنندگی نعناع فلفلی می‌تواند همسو با استفاده از روغن نعناع به صورت موضعی برای درمان سردرد، دردهای عضلانی و عصبی، دندان درد، خارش، عفونت‌های ویروسی و باکتریایی و تسکین جای نیش پشه‌ها و حشرات باشد (Shah and De Mello, 2004).

در پژوهش حاضر اسانس نعناع فلفلی حتی با کمترین غلظت به کار رفته در این آزمایش یعنی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در زمان ۴/۸ دقیقه بیهوشی عمیق را القا کرد و در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر این زمان تقریبا به نصف کاهش پیدا کرد (۲/۴ دقیقه) و در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به ۱/۷ دقیقه رسید. چنین زمانی در انجام بسیاری از فعالیت‌های تکثیر و

پرورش ماهی زمان مناسبی است. از طرفی مدت زمان احیای ماهی در تمامی غلظت‌های بررسی شده در این پژوهش بین ۲/۵ تا ۵/۵ دقیقه بود که زمان بسیار مناسبی است. با توجه به نتایج به دست آمده برای بیهوشی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۱/۲۷±۲۳/۳۱ گرم غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس نعناع فلفلی پیشنهاد می‌شود، چرا که در کمتر از ۳ دقیقه منجر به ایجاد بیهوشی شد و زمان بازگشت از بیهوشی در این غلظت نیز حدود ۳/۹۸ دقیقه بود. با این وجود با بررسی وضعیت ظاهری ماهیان بعد از مواجهه با اسانس نعناع فلفلی تغییر رنگ سریع به سمت تیره شدن در ماهیان مشاهده شد که بعد از ۲ تا ۳ ساعت رنگ ماهیان به حالت عادی تغییر پیدا کرد. بنابراین ضرورت دارد که مطالعات فیزیولوژی و آسیب‌شناسی در ماهیان بیهوش شده با غلظت‌های متفاوت اسانس نعناع فلفلی اجرا شود.

در مطالعه Simoes و Gomes (۲۰۰۹) با استفاده از منتول به عنوان بیهوش کننده، غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به عنوان غلظت مناسب برای القای بیهوشی در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) عنوان شد که با نتایج به دست آمده از این پژوهش همخوانی دارد. Rakhshani و همکاران (۲۰۱۷) غلظت بهینه مورد نیاز اسانس نعناع فلفلی برای بیهوش کردن ماهی کپور معمولی را در زمان توصیه شده (حداکثر زمان القای بیهوشی ۳ دقیقه) ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و زمان بازگشت کامل ماهیان بیهوش شده با این غلظت را حدود ۴ دقیقه بیان کرد. منتول که یکی از ترکیبات اسانس استخراج شده از گیاهان جنس *Mentha* است، به طور متداول برای بیهوشی بی‌مهرگان دریایی استفاده می‌شود (Ruppert and Barnes, 1996) و همچنین اثرات بیهوشی آن در ماهیان نیز گزارش شده است (Kasai et al., 2014)، دارای سهولت دسترسی و امنیت زیستی است (Roubach et al., 2005; Goncalves et al., 2008) و می‌تواند به عنوان جایگزین موادی مثل MS-222 و بنزوکائین که سبب آسیب به قرنیه و تخریب و از بین بردن موکوس آبشش‌ها می‌شوند، مطرح باشد (Inoue et al., 2003). نتایج مطالعه Kasai و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که بخشی از اثرات بیهوش کنندگی منتول ناشی از تاثیر بر گیرنده‌های GABAA (γ-Aminobutyric Acid Type A) است. با این حال محل تاثیرگذاری و مکانیسم‌های دخیل در القای بیهوشی توسط منتول هنوز مشخص نشده است.

کارایی بیهوشی منتول در ماهیان متعددی از جمله تیلاپیای نیل (Simoes and Gomes, 2009; Mello et al., 2012)، تامباکی (tambaqui، *Colossoma macropomum*) (Roubach et al., 2005)، پاکو (Pacu، *Piaractus mesopotamicus*) (Goncalves et al., 2008)، دورادو (Dourado، *Salminus brasiliensis*) (De Padua et al., 2010) و ماهی Fat Snook (De Souza et al., 2012) (*Centropomus parallelus*) ثابت شده است. در بچه ماهی‌های تامباکی که به صورت جداگانه در معرض غلظت‌های ۳۵، ۵۰، ۶۵، ۸۵، ۱۰۰ یا ۱۳۵ میلی‌گرم در لیتر اوژنول به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفته بودند، غلظت اوژنول ۶۵ میلی‌گرم در لیتر برای وادار کردن ماهیان به حالت بیهوشی کافی بود (Roubach et al., 2005).

در ماهی‌های دورادو با میانگین وزن ۹/۰۶±۱۹۴/۱۳ گرم و میانگین طول کل ۰/۹۰±۲۵/۳۰ سانتی‌متر که در غلظت‌های مختلف منتول (۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار داده شده بودند، تمام ماهیان در معرض غلظت‌های مختلف منتول به مرحله بیهوشی عمیق و بدون مرگ و میر رسیدند. طولانی‌ترین زمان بهبودی (۱۷۲/۶۰ ثانیه) برای دورادو تحت درمان با ۱۲۰ میلی‌گرم مشاهده شد. با وجود این که تمام سطوح ارزیابی شده در این مطالعه ایمن و موثر بودند، غلظت ۶۰ میلی‌گرم در لیتر برای دورادو بر اساس هزینه کمتر و پاسخ‌های القایی و زمان بازیابی، کافی پیشنهاد شد (De Padua et al., 2010).

همزمان با افزایش غلظت اسانس نعناع فلفلی مدت زمان مراحل مختلف بیهوشی کاهش یافت. در واقع بین غلظت ماده بیهوش کننده با مدت زمان بیهوشی رابطه عکس وجود دارد. چنین نتایجی در مورد ماهیانی مثل کپور معمولی (Hikasa et al., 1986)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Keene et al., 1998) و ماهی آزاد اطلس (Iversen et al., 2003) که با روغن میخک بیهوش شده بودند نیز به دست آمده است. درباره علت انحراف معیار زیاد زمان القا و تفاوت فردی در زمان شروع بیهوشی در بین ماهیان هم‌اندازه در غلظت‌ها و شرایط یکسان، نیاز به انجام مطالعات بیشتری برای تعیین و تشریح عوامل دخیل در این امر است. همچنین باید مطالعات بیشتری در مورد تفاوت بین گونه‌ها صورت پذیرد تا تمام عوامل موثر و سهم هر کدام شناخته شوند (Sonawane and Kulkarni, 2001). چنان که نتایج این مطالعه نیز نشان داد ثابت شده است با افزودن بر غلظت

داروی بیهوشی زمان لازم برای شروع مراحل مختلف بیهوشی کاهش خواهد یافت و در عوض زمان لازم برای احیا ماهی افزایش خواهد یافت. هر چند این افزایش در غلظت‌های نزدیک به هم خیلی زیاد نخواهد بود.

اسانس میخک یک ماده بیهوشی متداول در آبزی‌پروری در جهان محسوب می‌شود، ولی در کشور ما از پودر گل میخک به منظور بیهوشی ماهیان برای حمل و نقل و دستکاری‌های ماهیان استفاده می‌شود. میخک از گذشته‌های دور به عنوان بی‌حس کننده موضعی (Local Anesthetic)، بیهوش کننده موضعی (Topical Anesthetic) و تسکین درد (Analgesic) در انسان استفاده شده است که حاکی از آن است که اوژنول میخک همان گونه که به عنوان داروی آرام‌بخش (Tranquilizer)، بیهوش کننده خواب‌آور (Narcoanaesthetic)، شل کننده عضلات (Muscle Relaxant) و پارالیتیک (Paralytic) پیشنهاد شده است، می‌توان به عنوان یک داروی بیهوشی نیز قلمداد کرد (Guenette et al., 2007). در مطالعه حاضر مدت زمان رسیدن به مرحله ۵ بیهوشی یا همان بیهوشی سبک با تغییر غلظت اسانس میخک به طور لگاریتمی تغییر پیدا کرد (شکل ۲). بیهوشی در تمامی تیمارها به غیر از غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان کمتر از ۲/۵۲ دقیقه حاصل شد. مدت زمان رسیدن به بیهوشی نیز از ۰/۸۲ دقیقه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تا ۹/۱۱ دقیقه با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. نکته قابل توجه اختلاف خیلی زیاد میان غلظت ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بود که در حدود ۶/۶ دقیقه بود. مطابق شکل‌های ۱ و ۲ با افزایش غلظت محلول بیهوشی، مدت زمان رسیدن به مراحل مختلف بیهوشی کاهش یافت. همچنین دامنه تغییرات مدت زمان این مراحل نیز با افزایش میزان غلظت محلول بیهوشی کاهش یافت. با توجه به نتایج به دست آمده برای بیهوشی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۱/۲۷±۲۳/۳۱ گرم غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس میخک پیشنهاد می‌شود، چرا که در کمتر از ۳ دقیقه منجر به ایجاد بیهوشی شد و زمان بازگشت از بیهوشی در این غلظت نیز حدود ۲/۹۶ دقیقه بود.

به طور کلی، نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که اسانس نعناع فلفلی با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای بیهوشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن ۱/۲۷±۲۳/۳۱ گرم مناسب است. با توجه به این که تاثیر بیهوشی با اسانس نعناع فلفلی بر

شاخص‌های خونی و آسیب‌شناسی این ماهیان، بررسی نشده است، اجرای این بخش از پژوهش نیز ضروری به نظر می‌رسد تا بتوان آن را به عنوان یک ماده بیهوش کننده مناسب در آبزی‌پروری معرفی کرد. از این رو، در حال حاضر استفاده از اسانس میخک در اولویت است. در مورد اسانس میخک بیهوشی در تمامی تیمارها به غیر از غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان کمتر از ۲/۵۲ دقیقه حاصل شد.

منابع

Behnam S., Farzaneh M., Ahmadzadeh M. and Tehrani A.S. 2006. Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* and *Lavendula angustifolia* on post-harvest phytopathogens. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 71(3): 1321–1326.

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 effective immersion anesthetic of fishes. Journal of Fish and Wildlife Management, 2(2): 146–155. doi: 10.3996/032011-JFWM-025

De Padua S.B., De Pietro P.S. and Iglessias-Filho P.S. 2010. Mentol como anestesico para dourado (*Salminus brasiliensis*). Boletim do Instituto de Pesca, 36(2): 143–148.

De Souza R.A.R., De Carvalho C.V.A. and Flores F. 2012. Efeito comparativo da benzocaína, mentol e eugenol como anestesicos para juvenis de robalo peva. Boletim do Instituto de Pesca, 38: 247–255.

Goncalves A.F.N., Santos E.C.C. and Fernandes J.B.K. 2008. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaina na induçao anestesica de juvenis de pacu. Acta Scientiarum, Animal Sciences, 30(3): 339–344. doi: 10.4025/acta scianimsci. v30i3. 1081

Guenette S.A., Uhland F.C. and Helie P. 2007. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Aquaculture, 266(1): 262–265. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.02.046

Hikasa Y., Takase K. and Ogasawara T. 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp (*Cyprinus carpio*). The Japanese Journal of Veterinary Science, 48(2): 341–351. doi: 10.1292/jvms1939.48.341

Hussain A.I., Anwar F. and Nigam P.S. 2010. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(11): 1827–1836. doi: 10.1002/ jsfa.4021

Inoue L.A.K.A., Santos Neto C. and Moraes G. 2003. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxa *Brycon cephalus* (Gunther, 1869), Ciencia Rural. SciELO Brasil, 33(5): 943–947. doi: 10.1590/S0103-84782003000500023

Iscan G., Kirimer N. and Kurkcuoglu M. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(14): 3943–3946. doi: 10.1021/jf011476k

Iversen M., Finstad B. and McKinley R.S. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-STM and Benzoak as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. Aquaculture, 221(1): 549–566. doi: 10.1016/S0044-8486(03)00111-X

Jolly D.W., Mawdesley-Thomas L.E. and Bucke D. 1972. Anaesthesia of fish. Veterinary Record, 91(18): 424–426. doi: 10.11 36/vr.91.18.424

Kasai M., Hososhima S.H. and Yun-Fei L. 2014. Menthol induces surgical anesthesia and rapid movement in fishes. The Open Neuroscience Journal, 8: 1–8. doi: 10.2174/1874082001408010001

Keene J.L., Noakes D.L.G., Moccia R.D. and Soto C.G. 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 29(2): 89–101. doi: 10.1046/j.1365-2109.1998.00927.x

Mahboubi M. and Kazempour N. 2014. Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 36(1): 83–87.

Marking L.L. and Meyer F.P. 1985. Are better anesthetics needed in fisheries? Fisheries, 10(6): 2–5. doi: 10.1577/1548-8446(1985)010<0002:ABANIF>2.0.CO;2

Mayer F.L. and Ellersieck M.R. 1986. Manual of Acute Toxicity: Interpretation and Data Base for 410 Chemicals and 66 Species of Freshwater Animals. US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, USA. 588P.

Mazandarani M. and Hoseini S.M. 2017. Menthol and 1, 8-cineole as new anaesthetics in common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). Aquaculture Research, 48: 3041–3051. doi: 10.1111/are.13136

McFarland W.N. 1959. A study of the effects of anaesthetics on the behaviour and physiology of fishes. Publication of the Institute of Marine Science, 6: 23–55.

Mello R.A., Costa L., Okamura D., Araujo F.G., Ribeiro P.A.P., Correa F.M. and Rosa P.V. 2012. Avaliacao de 2-fenoxietanol e mentol como agentes anestesicos em tilapias. Boletim do Instituto de Pesca, 38: 53–59.

Pedrazzani A.S. and Ostrensky A. 2016. The anaesthetic effect of camphor (*Cinnamomum camphora*), clove (*Syzygium aromaticum*) and mint (*Mentha arvensis*) essential oils on clown anemone fish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier 1830).

Aquaculture Research, 47: 769–776. doi: org/10.1111/are.12535

Rakhshani M., Mirdar Harijani J.1. and Gharaei A. 2017. Investigating the anesthetic vigor and histopathological effects of peppermint (*Mentha piperita*) essential oils in common carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 27(1): 1–10. doi: 10.22092/ISFJ.2018.116274

Roubach R., Gomes L.C. and Leao Fonseca F.A. 2005. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). Aquaculture Research, 36(11): 1056–1061. doi: 10.1111/j. 1365-210 9.2005.01319.x

Ruppert E.E. and Barnes R.D. 1996. Zoologia dos Invertebrados. Roca, Brazil. 1029P.

Shah P.P. and De Mello P.M. 2004. A review of medicinal uses and pharmacological effects of *Mentha piperita*. CSIR, 3(4): 214–221.

Simoes L.N. and Gomes LC. 2009. Eficacia do mentol como anestesico para juvenis de tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia, 61(3): 613–620. doi: 10.1590/S0102-09352009000300014

Sokovic M.D., Vukojevic J. and Marin P.D. 2009. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. Molecules, 14(1): 238–249. doi: 10.3390/molecules14010238

Sonawane U.D. and Kulkarni G.N. 2001. Anaesthetic effects of clove oil and sodium bicarbonate on the fry of *Liza parsia*. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 3: 49–62.

Soto C.G. and Burhanuddin C.G. 1995. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). Aquaculture, 136(1-2): 149–152. doi: 10.1016/0044-8486(95)01051-3

Svoboda M. and Kolarova J. 1999. A survey of anaesthetics used in the fish farming. Health Protection of Fish- Proceeding of Papers. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodnany, 49–72. doi: 10.17221/2011

Tarkhani R., Imani A., Jamali H. and Farsani H.G. 2017. Anaesthetic efficacy of eugenol on various size classes of angelfish (*Pterophyllum scalare* Schultze, 1823). Aquaculture Research, 2017: 1–8. doi: 10.1111/are.13339

Velisek J., Svobodova Z. and Piackova V. 2005. Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta Veterinaria Brno, 74: 139–146. doi: 10.2754/avb200574010139

Velisek J., Wlasow T., Gomulka P., Svobodova Z., Novotny L. and Ziomek E. 2006. Effects of clove oil anaesthesia on European

catfish (*Silurus glanis* L.). Acta Veterinaria Brno, 75: 99–106. doi: 10.2754/avb200675010099

Yadegarinia D., Gachkar L. and Rezaei M.B. 2006. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. Phytochemistry, 67(12): 1249–1255. doi: 10.1016/j.phytochem.2006.04.025

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 12, No. 2, Summer 2024

Research Paper

Anesthetic effects of peppermint (*Mentha piperita*) essential oil in comparison with clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Edris Rahimikia[1]*, Seyed Hossein Moradian[2], Esmaeil Kazemi[2], Ali Khosravanizadeh[3]

Accepted: December 2023 DOI: 10.22124/japb.2023.25471.1512 Received: September 2023

Abstract

In this research, the anesthetic effects of peppermint essential oil with concentrations of 100, 150, 200, 250 and 300 mg/L and its comparison with concentrations of 20, 30, 40, 60, 80 and 100 mg/L of clove essential oil were evaluated in rainbow trout. 132 fish with an average weight of 23.31±1.27g were used for anesthesia experiments. The induction time of anesthesia using peppermint essential oil varied from 1.69 to 4.81 minutes among different concentrations. In the case of clove essential oil, this time varied from 0.82 to 2.51 minutes in different concentrations. Recovery from complete anesthesia in both anesthetics significantly increase with increasing concentration of the anesthetic. The recovery time from complete anesthesia in the case of peppermint essential oil was from 2.50 to 5.55 minutes and in fish anesthetized with Clove essential oil varied from 2.96 to 3.87. Based on the ideal criteria of induction of anesthesia (less than 3 minutes) and recovery from anesthesia (less than 5 minutes), it is recommended that the most suitable concentration of peppermint essential oil to anesthetize rainbow trout in the tested weight is 200mg/L and the most suitable concentration of clove essential oil is 30mg/L.

Key words: *Essential Oil, Clove, Peppermint, Anesthesia, Rainbow Trout.*

1- Assistant Professor in Department of Animal Science Research, Center for Research and Education of Agriculture and Natural Resources of Kohgiluyeh and Boir Ahmad Province, of Agricultural Research, Education and Extension Organization, Yasouj, Iran.
2- Ph.D. in Fisheries, Shahid Motahari Yasouj Coldwater Fish Genetics and Breeding Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Yasouj, Iran.
3- Assistant Professor in Department of Aquatic Sciences, Hamoun International Wetland Institute, Research Institute of Zabol, Zabol, Iran.

*Corresponding Author: dr.rahimikia@gmail.com