

بررسی اثر بیهوشی اسانس آویشن شیرازی بر *Zataria multiflora* Boiss. (Labiatae) ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) و ماهی قزل آلائی رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*)

مصطفی شریف روحانی^{(۱)*}؛ مسعود حقیقی^(۲)؛ حسین عصائیان^(۳) و

غلامرضا لشتو آقایی^(۳)

rohani@ifro.ir

۱- مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران خیابان فاطمی غربی، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

۲، ۳- مرکز تحقیقات ماهیان سرد آبی، تنکابن جاده دو هزار، صندوق پستی: ۴۶۷-۴۶۸۱۵

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۶

چکیده

بررسی حاضر اولین مطالعه در زمینه اثر بیهوشی اسانس آویشن شیرازی بر روی ماهی در دنیا می باشد. در این تحقیق اثر بیهوش کنندگی غلظتهای ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) روی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) با میانگین وزنی 4 ± 40 گرم و ماهی قزل آلائی رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی 2 ± 15 گرم مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی، درجه حرارت آب ۱۶ تا ۱۷ درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول $2/7 \pm 0/7$ میلی گرم در لیتر و $8 = \text{pH}$ بود. میانگین زمان رسیدن به مرحله بیهوشی کامل در غلظتهای ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون چه در ماهی آزاد و چه در ماهی قزل آلا بترتیب ۳ و ۲ دقیقه بود و میانگین زمان ایجاد تعادل و زمان برگشت از بیهوشی بترتیب ۲ و ۳ دقیقه بود. در مقایسه بین زمان ایجاد بیهوشی و زمان برگشت از بیهوشی با غلظتهای ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm در هر دو نوع از ماهی ها، اختلاف معنی دار وجود داشت ($P < 0/0001$).

ماهی های بیهوش شده با غلظت ۱۰۰ ppm پس از انتقال به آب عاری از اسانس آویشن برای مدت زمان ۳۰ دقیقه آرام بودند و نسبت به محرک ضعیف خارجی (لمسی) واکنشی از خود نشان نمی دادند. در مقایسه میان زمان رسیدن به مرحله بیهوشی و زمان برگشت از بیهوشی با غلظتهای مختلف اسانس آویشن، اختلاف معنی داری بین ماهی آزاد و ماهی قزل آلا وجود نداشت ($P > 0/05$). این تحقیق نشان می دهد که اسانس آویشن شیرازی دارای اثرات بیهوش کنندگی است ولی بدلیل ایجاد عوارض شدید تنفسی غیرقابل برگشت و دفرمه شدن ماهی که مغایر با اخلاق شیلاتی است (مرگ همراه با زجر) بکارگیری آن در مقایسه با دیگر مواد بیهوش کننده موجود توصیه نمی شود و فقط از غلظت ۱۵ تا ۲۰ ppm می توان بعنوان آرام بخش جهت کاهش استرس به هنگام هر نوع دستکاری ماهی استفاده نمود.

لغات کلیدی: آویشن شیرازی، *Zataria multiflora*، ماهی آزاد، قزل آلائی رنگین کمان، دریای خزر

* نویسنده مسئول

مقدمه

آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)، از تیره نعناع، گیاهی پایا، با بوته‌هایی در پایه چوبی، پر ساقه، گردینه‌پوش و معطر است. ارتفاع آن به ۴۰ تا ۸۰ سانتیمتر می‌رسد. این گیاه دارای ساقه متعدد با پوست خاکستری متمایل به سفید و برگهای کوچک دارای دم‌برگ کوتاه، مدور یا بیضی شکل است. از آویشن برای معطر کردن سس‌ها، غذاهای گوشتی و ماهیها در کنسروسازی و همچنین در مراسم مذهبی از عطر آن استفاده می‌شود (زمان، ۱۳۷۹). در طب سنتی ایران از گیاه آویشن شیرازی بعنوان ماده ضد عفونی کننده، بی‌حس کننده و ضد اسپاسم استفاده می‌گردد (زرگری، ۱۳۷۱). سرشاخه‌های آن حاوی اسانس روغنی (ماده اصلی تشکیل دهنده این اسانس تیمول و کارواکرول است)، تانن‌ها، مواد اصلی تلخ، ساپونین‌ها و ضد عفونی کننده‌های گیاهی می‌باشد. دو ماده فعال و مهم این گیاه، تیمول و کارواکرول می‌باشند. تیمول نوعی فتل است و در فرآورده‌های دارویی بعنوان ماده ثابت کننده مصرف می‌شود. اسید روزمارینیک دیگر ماده فعال موجود در روغن اصلی این گیاه است که دارای اثرات ضد باکتری، ضد ویروسی، آنتی اکسیدان و ضد التهابی است (Parnham & Kesselring, 1985; Mohagheghzadeh et al., 2000; Osakabe et al., 2004).

بیهوش کننده‌ها در ماهی به جهت کاهش استرس ناشی از دستکاری ماهی‌ها به هنگام انجام فعالیتهای تحقیقاتی، واکسیناسیون، تشخیص رسیدگی جنسی و تخم‌کشی از مولدین در عملیات تکثیر مصنوعی، جابجایی و نقل و انتقال ماهیها از مکانی به مکان دیگر، اعمال جراحی و دیگر موارد از اهمیت خاصی برخوردارند.

تاکنون در تحقیقات سیلاتی، مدیریت سیلات، تکثیر و پرورش و بهداشت ماهی از بیهوش کننده‌های شیمیایی بسیاری استفاده شده است (Ross & Ross, 1999; Brown, 1993; Summerfelt & Smith, 1990). همچنین از گیاه میخک (*Eugenia caryophyllata*) نیز برای بیهوش نمودن گونه‌های متعددی از ماهیان استفاده شده است (مهرابی، ۱۳۷۶؛ چیت‌ساز، ۱۳۷۹؛ شریف‌پور و همکاران، ۱۳۸۱؛ Peake, 1998; Anderson et al., 1997; Soto & Burhanuddin, 1995; Keene et al., 1998). ولی در ارتباط با گیاه آویشن شیرازی گزارشی منتشر نشده است و در دنیا اولین بار است که اثر

بیهوش‌کنندگی اسانس آویشن شیرازی در ماهی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته است.

هدف از این تحقیق بررسی اثر بیهوشی اسانس آویشن شیرازی در ماهی آزاد دریای خزر و ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی بود.

مواد و روش کار

در این تحقیق از ۴۰ عدد ماهی آزاد دریای خزر با میانگین وزنی 40 ± 4 گرم و ۴۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزنی 15 ± 2 گرم استفاده شد. هر یک از انواع ماهی‌ها در چهار گروه ده‌تایی تقسیم بندی شدند. برای انجام آزمایش با هر یک از غلظت‌های ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی، از ۱۰ عدد ماهی بصورت تصادفی در طشت‌های پلاستیکی حاوی ۴۰ لیتر آب استفاده شد (۲ تکرار برای هر غلظت). اسانس آویشن شیرازی به روش تقطیر حجمی توسط شرکت باربج اسانس تولید شده بود و درجه خلوص آن ۱۰۰ درصد فرض گردید. در آنالیز شیمیایی اسانس آویشن شیرازی بکار گرفته شده در این تحقیق که در پژوهشکده گیاهان دارویی به روش کروماتوگرافی گاز مایع متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) انجام شد، بیشترین مواد تشکیل دهنده آن را فلاونوئیدها عمدتاً تیمول به میزان ۳۹/۶۷ درصد، کارواکرول ۳۶/۲۱ درصد، پاراسیمن ۱۰/۶۲ درصد، کارواکرول متیل استر ۱/۷۷ درصد، لینالول ۱/۷۶ درصد و بتا-کاربوفیلین ۰/۴۸ درصد تشکیل می‌دادند. تیمول و کارواکرول مجموعاً نزدیک به ۷۶ درصد بودند که خواص ضد عفونی کنندگی دارند.

قبل از پی بردن به خاصیت بیهوش‌کنندگی اسانس آویشن شیرازی، از غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون جهت بررسی اثرات ضد قارچی این اسانس بر روی ماهی استفاده شده بود که در این راستا پس از انجام آزمایشهای مقدماتی غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون بعنوان غلظت‌های هوشبر مشخص شدند. درجه بی‌حسی در ماهی به غلظت ماده هوشبر و مدت زمان غوطه‌وری در آن ماده هوشبر بستگی دارد (جدول ۱). مطابق با جدول یک مرحله ۴ بعنوان زمان رسیدن به بیهوشی و مرحله ۱ بعنوان زمان برگشت از بیهوشی در نظر گرفته شد. برای انجام آزمایش، ابتدا مقدار غلظت‌های ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm این اسانس برای ۴۰ لیتر آب

انفرادی اضافه شدند (روش غوطه‌وری). پس از آن، مراحل مختلف بیهوشی در هر ماهی مشاهده و زمان مرحله ۴ بیهوشی (جدول ۱) هر یک از ماهی‌ها ثبت شد. سپس ماهی‌های بیهوش شده در هر یک از طشت‌ها بلافاصله به طشت‌های آب عاری از اسانس آویشن که بخوبی هوادهی می‌شدند، بازگردانده شدند و زمان مرحله بازگشت از بیهوشی (رسیدن به حد تعادل) ثبت شد (لازم به ذکر است که منظور از رسیدن به حد تعادل این است که ماهی از وضعیت قرارگیری به پهلو، به وضعیت طبیعی برمی‌گشت).

(بترتیب ۲ و ۴ میلی لیتر) محاسبه و در ظروف پلاستیکی ۱۰۰ میلی لیتری دربدار ریخته شد. سپس هر یک از این غلظت‌ها با ۱۰ میلی لیتر از آب طشت مذکور بخوبی ترکیب و رقیق شدند. پس از آن ترکیب حاصله به آب طشت‌های پلاستیکی حاوی ۴۰ لیتر آب (با دمای ۱۶ تا ۱۷ درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول 7 ± 0.2 میلی گرم در لیتر و $\text{pH}=8$) که بخوبی هوادهی شده بودند، اضافه شد. سپس به هر یک از طشت‌های حاوی ماده بیهوشی مذکور، تعداد ۱۰ عدد ماهی قنزل‌آلا یا ماهی آزاد بترتیب با میانگین وزنی 15 ± 2 گرم و 40 ± 4 گرم بصورت

جدول ۱: مراحل بیهوشی (برگرفته از: Summerflet & Smith, 1990)

مرحله	شرح	پاسخ رفتاری ماهی
۰	طبیعی	پاسخ طبیعی به محرکهای خارجی، تعداد حرکات سرپوشش آبششی و تونیسیته عضلات طبیعی
۱	تسکین سبک	کاهش پاسخ به محرکهای خارجی؛ کاهش تعداد حرکات سرپوشش آبششی؛ تعادل طبیعی
۲	تسکین عمیق	عدم پاسخ به محرکهای خارجی به جز محرکهای قوی؛ کاهش تعداد حرکات تنفس؛ تعادل طبیعی
۳	عدم جزیی تعادل	کاهش جزیی تونوس عضلات؛ توقف شنا؛ افزایش تعداد حرکات تنفس؛ واکنش به محرکهای ملامسه‌ای و ارتعاشی قوی
۴	عدم تعادل کل	عدم تعادل و فقدان عمومی تونوس عضلات؛ کاهش تعداد حرکات تنفس ولی منظم؛ عدم واکنش نخاعی
۵	واکنش ناپذیری	کاهش واکنش به طور نامنظم؛ کاهش بیش از حد تعداد حرکات تنفس؛ کاهش بیش از حد ضربان قلب؛ از بین رفتن همه واکنش‌ها
۶	نارسایی مغزی (مرحله آسفیکیسی یا خفگی)	توقف حرکات تنفسی؛ و ایست سریع قلب

نتایج

و $p=0.01$ بود. پس از ثبت زمان برگشت از بیهوشی ماهیها (مرحله یک جدول ۱) در آب عاری از اسانس آویشن شیرازی دارای هواده، زمان رسیدن به حالت طبیعی نیز (مرحله صفر جدول ۱) با دو غلظت ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm مورد توجه قرار گرفت که نسبتاً طولانی و بترتیب ۲۵ و ۴۵ دقیقه بود. پس از این مدت، ماهیها به وضعیت اولیه خود همانند رفتارهای ماهی طبیعی بازگشتند. در این آزمایشها و در فاصله زمانی ذکر شده هیچگونه تلفاتی وجود نداشت. ولی افزایش مدت زمان غوطه‌وری ماهیها با غلظت‌های مذکور موجب عوارض شدید در ماهیها شد و شدت این عوارض به غلظت اسانس آویشن و طول مدت زمان غوطه‌وری بستگی داشت. علائم ظاهری ماهیها در مسمومیت با اسانس آویشن شیرازی بشرح زیر خلاصه شده است:

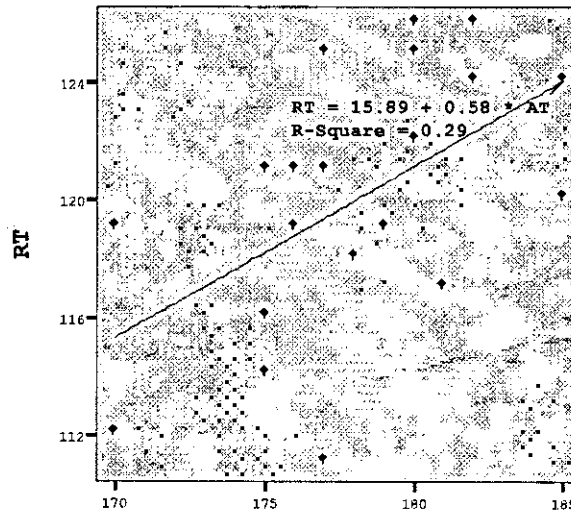
- تیره شدن رنگ پوست؛
- افزایش فعالیت و تحریک‌پذیری؛
- تشکیل موکوس فراوان روی پوست و سطح تیغه‌های آبششی؛
- افزایش تعداد دفعات باز و بسته شدن سرپوشهای آبششی؛
- وضعیت شنای به پشت عمدتاً در کف استخر و به میزان کمتر در سطح آب؛
- ایجاد انحنای شدید ستون فقرات احتمالاً به دلیل انقباض شدید عضلات اسکلتی.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میانگین زمان رسیدن به عدم تعادل و ایجاد بیهوشی با غلظت‌های ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی چه در ماهی آزاد و چه در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی بترتیب ۳ و ۲ دقیقه بودند و میانگین زمان برگشت از بیهوشی (رسیدن به حد تعادل و نه واکنش به محرکهای خارجی) بلافاصله پس از انتقال ماهی‌های بیهوش شده به آب عاری از اسانس آویشن شیرازی دارای هواده بترتیب ۲ و ۳ دقیقه بودند (جدول ۲). در مقایسه زمانهای ایجاد بیهوشی و زمانهای برگشت از بیهوشی بین دو غلظت مختلف اسانس آویشن شیرازی اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P<0.0001$). این نتایج نشان می‌دهد که زمان ایجاد بیهوشی رابطه مستقیم با غلظت اسانس داشت. به این صورت که بیهوشی با غلظت ۱۰۰ ppm سریعتر از غلظت ۵۰ ppm ایجاد شد. بر عکس، زمان برگشت از بیهوشی با غلظت اسانس رابطه معکوس داشت. به این صورت که زمان برگشت از بیهوشی با غلظت ۵۰ ppm سریعتر از غلظت ۱۰۰ ppm ایجاد شد. منحنی همبستگی زمان رسیدن به بیهوشی و زمان برگشت از بیهوشی با هر یک از غلظت‌های ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی بترتیب در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده‌اند. معادله رگرسیون زمان ایجاد بیهوشی (X) و زمان برگشت از بیهوشی (Y) با غلظت ۵۰ ppm اسانس آویشن شیرازی، بصورت $Y=0.58X+15.89$ و $p=0.014$ و با غلظت ۱۰۰ ppm بصورت $Y=2.39X-106.83$

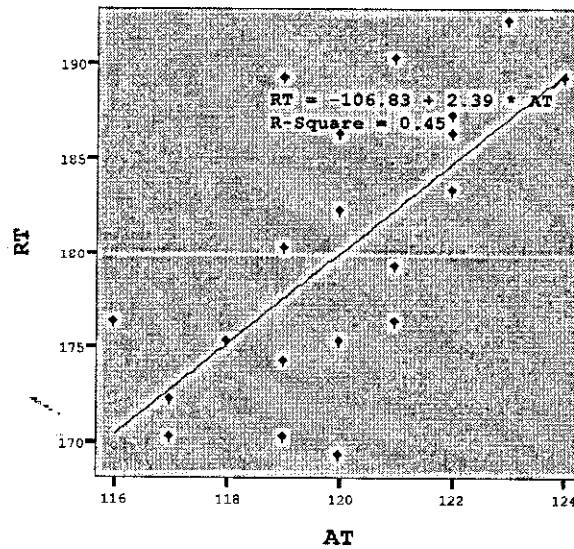
جدول ۲: نتایج اثر بیهوشی غلظتهای مختلف اسانس آویشن شیرازی در ماهی آزاد دریای خزر و ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی

غلظت اسانس آویشن شیرازی (ppm)		میانگین زمان از دست دادن تعادل (ثانیه)		میانگین زمان بیهوشی کامل (ثانیه)	
		ماهی آزاد		ماهی قزل‌آلا	
۵۰	۸۹***	۸۸***	۱۸۰***	۱۷۸***	۱۲۰***
۱۰۰	۵۷	۵۸	۱۲۱	۱۲۰	۱۸۰

* ستاره‌ها نشانه اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm در هر نوع از ماهیها در مراحل بیهوشی یکسان است ($P<0.0001$)



نمودار ۱: منحنی همبستگی زمان ایجاد بیهوشی ($AT=X$) و زمان برگشت از بیهوشی ($RT=Y$) با ۵۰ قسمت در میلیون اسانس آویشن شیرازی ($p=0.014$, $Y=0.58X+15.89$).



نمودار ۲: منحنی همبستگی زمان ایجاد بیهوشی ($AT=X$) و زمان برگشت از بیهوشی ($RT=Y$) با ۱۰۰ قسمت در میلیون اسانس آویشن شیرازی ($p=0.01$, $Y=2.39X-106.83$).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس آویشن شیرازی اثرات آرام بخشی و بیهوش کنندگی در ماهی دارد. اسانس آویشن شیرازی با کمترین غلظت (10 ppm) موجب اثر تسکینی سبک در ماهیان آزاد دریای خزر و قزل آلائی رنگین کمان پرورشی شد. غلظت‌های بالاتر از 20 ppm اسانس آویشن شیرازی موجب بیهوشی در ماهی شدند ولی غلظت‌های 50 ppm و 100 ppm آن برای ایجاد بیهوشی مناسبتر بودند. در این تحقیق اثر بیهوشی‌کنندگی غلظت‌های 50 و 100 قسمت در میلیون اسانس آویشن شیرازی مورد آزمایش قرار گرفت که این اثر وابسته به غلظت بود. بدین صورت که زمان رسیدن به بیهوشی با غلظت بیشتر سریعتر ایجاد شد و زمان برگشت از بیهوشی نیز کندتر ایجاد شد. درجه و عمق بیهوشی با اسانس آویشن شیرازی به غلظت آن و مدت زمانی که ماهی در آن غلظت غوطه‌ور می‌شد، بستگی داشت. تمام فعالیت‌های ماهیان مورد آزمایش پس از بازگشت از بیهوشی طبیعی بودند و هیچگونه عوارضی مشاهده نشد و تمام ماهیها رفتار طبیعی داشتند (حداقل 3 روز پس از اتمام آزمایشها). با افزایش غلظت اسانس آویشن شیرازی یا افزایش مدت زمان غوطه‌وری ماهیها در غلظت‌های مذکور عوارضی در ماهیها ایجاد می‌شد که شامل: هیجان بیش از حد، شتاب در شنا کردن، شنا با مسیرهای کوتاه و بی‌هدف در جهات مختلف، از دست دادن کامل تعادل، به پشت افتادن ماهی و بالاخره انحنای ستون فقرات بدنال انقباض شدید عضلات و مرگ در ماهی بود. شدت این عوارض و میزان تلفات با غلظت و مدت زمان غوطه‌وری رابطه مستقیم داشت. در مقایسه بین زمانهای ایجاد بیهوشی و برگشت از بیهوشی با غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی در دو گونه ماهی قزل‌آلا و ماهی آزاد دریای خزر در شرایط محیطی یکسان، تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($P > 0.05$). با توجه به این مقایسه، به نظر می‌رسد که در شرایط محیطی یکسان اثر بیهوشی اسانس آویشن شیرازی به گونه ماهی بستگی نداشته باشد.

تاکنون اثرات Antinociceptive (کاهش حساسیت به تحریکات دردناک) انفوزیون آبی و عصاره اتانولی آویشن شیرازی در رت و نیز عصاره هیدروالکلی قسمت‌های هوایی این گیاه نشان داده شده است (Hosseinzadeh et al., 2000 ; Ramezani et al., 2004 ; Jaffary et al., 2004). اثرات ضد دردی و آنتی نوسیسپتو عصاره آویشن شیرازی را به فلاوونوئیدها نسبت می‌دهند (Hosseinzadeh et al., 2000; Ramezani et al., 2004; Jaffary et al., 2004; Martinez-Vazquez et al., 1998 ; Ramesh et al., 1996). عمده فلاوونوئیدهای اسانس آویشن شیرازی، تیمول، کارواکرول، پی - سیمن، لینالول و گاما- ترپینن هستند.

به طور کلی، این تحقیق نشان می‌دهد که اسانس آویشن شیرازی دارای اثرات آرام‌بخشی و بیهوش‌کنندگی است. از غلظت‌های کم آن (15 تا 20 ppm) می‌توان برای ایجاد آرامبخشی و کاهش استرس در ماهی به هنگام هر نوع دستکاری ماهی استفاده کرد. همچنین غلظت‌های 50 تا 100 ppm این ماده دارای اثرات بیهوش‌کنندگی است و احتمالاً این اثر ناشی از فلاوونوئیدهای موجود در اسانس آویشن شیرازی باشد. با این وجود استفاده از این ماده بعنوان بیهوشی توصیه نمی‌شود زیرا نسبت به سایر بیهوش‌کننده‌ها عوارض تنفسی شدیدتر و تلفات بیشتری را در ماهی موجب می‌شود. علائم مسمومیت با اسانس آویشن شیرازی بسیار حاد بوده و با ایجاد اختلالات شدید تنفسی موجب تلفات و مرگ ماهیها در فاصله زمانی کوتاه می‌شود.

تیره شدن رنگ پوست، افزایش فعالیت و تحریک‌پذیری، تشکیل موکوس فراوان روی پوست و سطح تیغه‌های آبششی، افزایش تعداد دفعات باز و بسته شدن سرپوشهای آبششی، وضعیت شنای به پشت عمدتاً در کف استخر و به میزان کمتر در سطح آب، ایجاد انحنای شدید ستون فقرات احتمالاً بدلیل انقباض شدید عضلات اسکلتی و بالاخره مرگ از جمله اثرات سونی است که در بیهوشی با اسانس آویشن شیرازی ایجاد می‌شوند. بیشترین مواد تشکیل‌دهنده و فعال اسانس آویشن شیرازی، تیمول و کارواکرول هستند که این مواد دارای ساختمان فنلی بوده و احتمالاً می‌توانند مسبب اصلی ایجاد اثرات سوء باشند. مشابه همین عوارض در مسمومیت با ترکیبات فنل گزارش شده است (نظامی و همکاران، 1384).

منابع

- چیت ساز، ح. ، 1379. مطالعه اثرات بیهوشی گل میخک (عصاره و اسانس) در ماهی قزل‌آلائی رنگین کمان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، 74 صفحه.
- زرگری، ع. ، 1371. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ چهارم، صفحات 1 تا 57.
- زمان، س. ، 1379. گیاهان دارویی، روشهای کشت، برداشت و شرح مصور رنگی 256 گیاه. انتشارات ققنوس، 367 صفحه.
- شریف‌پور، ع. ؛ سلطانی، م. ؛ عبدالحی، ح. و قیومی، ر. ، 1381. اثر بیهوش‌کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهی کپور معمولی. مجله علمی شیلات ایران، سال یازدهم، شماره 4، صفحات 59 تا 74.

- Mohagheghzadeh, A. ; Shams-Ardekani, M. and Ghannadi, A. , 2000.** Volatile constituents of callus and flower-bearing tops of *Zataria multiflora* Boiss (Lamiaceae). *Flavour Fragr J.* Vol. 15, pp.373-376.
- Osakabe, N. ; Yasuda, A. ; Natsume, M. and Yoshikawa, T. , 2004.** Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: Anticarcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two stage skin model. *Carcinogenesis.* Vol. 25, pp.549-557.
- Parnham, M.J. and Kesselring, K. , 1985.** Rosmarinic acid. *Drug Future.* Vol. 10, pp.756-757.
- Peake, S. , 1998.** Sodium bicarbonate and clove oil as potential anaesthetics for nonsalmonid fishes. *North American Journal of Fish Management.* Vol. 18, pp.919-924.
- Ramesh, M. ; Rao, Y.N. ; Rao, A.V. ; Prabhakar, M.C. ; Muralidhar, N. , 1998.** Antinociceptive and anti-inflammatory activity of a flavonoid isolated from *Caralluma attenuate*. *Journal of Ethnopharmacol.* Vol. 62, pp.63-66.
- Ramezani, M. ; Hosseinzadeh, H. and Samizadeh, S. , 2004.** Antinociceptive effects of *Zataria multiflora* Boiss fractions in mice. *Journal of Ethnopharmacology.* Vol. 91, No. 1, pp.167-170.
- Ross, L.G. and Ross, B. 1999.** Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. London: Blackwell Sciences, Ltd. 2nd ed.
- Soto, G.G. and Burhanuddin, 1995.** Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish. *Aquaculture.* Vol. 136, pp.149-152.
- Summerfelt, R.C. and Smith, L.S. , 1990.** Anesthesia, surgery, and related techniques. *In:* (eds. C.B. Schreck and P.B. Moyle). *Methods for Fishery Biology.* American Fisheries Society. Bethesda, Maryland, USA. pp.213-272.
- مهرابی، ی. ، ۱۳۷۶. مطالعه اثر بیهوشی پودر گل میخک روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. مجله آبی پروری، معاونت تکثیر و پرورش شیلات ایران، سال ششم، شماره ۲۱، صفحات ۳۶ تا ۳۹.
- نظامی، ش.؛ پزند، ذ.؛ خارا، ح.؛ افسرده، ع. ، ۱۳۸۴. تعیین LC50 طی ۹۶ ساعت دو ترکیب نفتی فنل و ۱- نفتل بر بچه ماهیان تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله علمی شیلات ایران، سال چهاردهم، شماره ۱، صفحات ۱۴۷ تا ۱۶۰.
- Anderson, W.G. ; Mckinley, R.S. and Colvecchia, M. , 1997.** The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *North American Journal Fishery Management,* Vol. 17, No. 2, pp.301-307.
- Brown, L.A. , 1993.** Anesthesia and restraint. *In:* (ed. M.K. Stoskopf). *Fish Medicine.* Philadelphia: WB Saunders Company. pp.79-90.
- Hosseinzadeh, H. ; Ramezani, M. and Salmani, G.A. , 2000.** Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology.* Vol. 73, No. 3, pp.379-385.
- Jaffary, F. ; Ghannadi, A. and Siahpoush, A. , 2004.** Antinociceptive effects of hydroalcoholic extract and essential oil of *Zataria multiflora*. *Fitotrapia.* Vol. 75, pp.217-220.
- Keene, J.K. ; Noakes, D.L.G. ; Moccia, R.D. and Soto, C.G., 1998.** The efficiency of clove oil as an anesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research,* Vol. 29, pp.89-101.
- Martinez-Vazquez, M. ; Ramirez Apan, T.O. ; Aguilar H. and Bye, R. , 1996.** Analgesic and antipyretic activities of an aqueous extract and of the flavon linarin of *Buddleia cordata*. *Planta Med.* Vol. 62, pp.137-140.

**A study of the anesthetic effect of *Zataria multiflora* Boiss
(Labiatae) essence on *Oncorhynchus mykiss* and
cultured *Salmo trutta caspius***

**Sharif Rohani M. ^{(1)*} ; Haghghi, M. ⁽²⁾ ; Assaeian, H. ⁽³⁾ and
Lashtoo Aghae, Gh.R. ⁽⁴⁾**

rohani@ifro.ir

1- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

2, 3, 4- Coldwater Fishes Research Center (CFRC), P.O.Box: 46815-467 Tonekabon, Iran

Received: May 2006

Accepted: November 2007

Keywords: *Zataria multiflora*, Anesthetics, *Salmo trutta caspius*, *Oncorhynchus mykiss*, Caspian Sea, Iran

Abstract

For the first time in the world, the effect of *Zataria multiflora* essence in concentrations of 50 and 100 ppm on *Oncorhynchus mykiss* fry weighing on average 15 ± 2 g and cultured *Salmo trutta caspius* weighing on average 40 ± 4 g was studied. The water temperature was 16-17°C, dissolved oxygen was 7 ± 0.2 and pH was 8 during the investigation. *Oncorhynchus mykiss* and *Salmo trutta caspius* reached complete sedation during an average time of 3 and 2 minutes respectively in the two concentrations. The mean balance and recovery time were 2 and 3 minutes respectively. Results showed that the sedation and recovery time are significantly different in the two species and with the two concentrations of the sedative ($P < 0.0001$).

The fish anesthetized with 100ppm concentration of the sedative were calm for 30 minutes after transfer to clean water and showed no reaction to weak stimuli such as touching. The two concentrations of the sedative had no significantly different effect on the time to complete sedation and recovery in the two species ($P > 0.05$). The research also showed that *Zataria multiflora* essence has an anesthetic effect on the two species, but because of the unwanted severe irreparable breathing side effects and the accompanied body deformation of the two species, the essence is not suggested as an anesthetic for the fish.

The essence is not recommended as a general anesthetic, but it may be used in 15-20ppm as a sedative during manipulation of the fish.

* Corresponding author