

غلظت نیمه کشنده اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) در بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*)

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

rohani@ifro.ir

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

۲ و ۳- مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور، تنکابن، صندوق پستی: ۴۶۷-۴۶۸۱۵

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۰

چکیده

هدف از این تحقیق، تعیین غلظت نیمه کشنده (LC_{50}) اسانس آویشن شیرازی طی مدت زمان ۹۶ ساعت روی بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) بود. روش تحقیق براساس روش استاندارد OECD و بصورت ساکن انجام شد. از ۱۸۰ بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان پرورشی با میانگین ($\pm SD$) وزنی 5 ± 1 گرم بصورت تصادفی در ۵ گروه تیمار و یک گروه شاهد و هر گروه با ۳ تکرار و هر تکرار با ۱۰ عدد بچه ماهی استفاده شد. در طول مدت آزمایش میانگین ($\pm SD$) دمای آب معادل 16 ± 1 درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول معادل 7 ± 0.2 میلیگرم در لیتر و میزان pH برابر با 8 ± 0.4 بود. برای تعیین محدوده کشندگی مقادیر اسانس آویشن شیرازی به روش تصاعد هندسی و بر پایه ۵ppm (قسمت در میلیون) محاسبه گردید. نتایج نشان داد که غلظت نیمه کشنده اسانس آویشن شیرازی طی مدت زمان ۹۶ ساعت برای بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان پرورشی، $13/6$ ppm می باشد. ضریب درمانی (Therapeutic index)، اسانس آویشن شیرازی باریک است یعنی با کمترین افزایش غلظت، اثرات سمی آن ظاهر می شود.

لغات کلیدی: گیاهان دارویی، قزل آلائی رنگین کمان، سمیت، ایران

* نویسنده مسئول

مقدمه

آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)، گیاهی معطر و از تیره نعناع است. این گیاه در مناطق نجف آباد اصفهان، کلاه گزی، شاه کوه، یزد، دزفول، فیروزآباد، کوه سیوند، بین زرنند و کرمان، خاش به سمت ایرانشهر و تنگه سرخ پراکنده است (زرگری، ۱۳۷۱). سرشاخه‌های هوایی این گیاه حاوی اسانس روغنی، تانن‌ها، ساپونین‌ها و مواد ضد عفونی‌کننده است.

ترکیبات روغن اصلی گیاه آویشن شیرازی از طریق کروماتوگرافی گاز مایع (GLC)، کروماتوگرافی ستون (CC)، رزونانس مغناطیسی هسته ای (NMR)، و کروماتوگرافی گاز مایع متصل به طیف سنج جرمی (GLC/MS) مورد مطالعه قرار گرفته است (Shafiee & Javidnia, 1997; Ebrahimzadeh et al., 2003; Mohagheghzadeh et al., 2000; Shaiq et al., 2000; Ali et al., 2000). دو ماده فعال و مهم این گیاه، تیمول و کارواکرول هستند. تیمول نوعی فنل است و در فرآورده‌های دارویی بعنوان ماده ثابت کننده مصرف می شود. در غربالگری فیتوشیمیایی از عصاره اتانولی این گیاه به شناسایی فلاوونوئیدها (Martinez-Vazquez et al., 1996; Ramesh et al., 1998) کرد که عمدتاً تیمول، کارواکرول، پی-سیمن، لینالول و گاما-ترپنین بودند (Mohagheghzadeh et al., 2000). اثر Antinociceptive (کاهش حساسیت به تحریکات دردناک) انفوزیون آبی و عصاره اتانولی آویشن شیرازی و نیز عصاره هیدروالکلی قسمت‌های هوایی این گیاه در موش صحرایی (Rat) نشان داده شده است (Hosseinzadeh et al., 2000; Ramezani et al., 2004; Jaffary et al., 2004). اثرات ضد دردی و Antinociceptive عصاره آویشن شیرازی را به فلاوونوئیدها نسبت می‌دهند (Hosseinzadeh et al., 2000; Ramezani et al., 2004; Jaffary et al., 2004; Martinez-Vazquez et al., 1996; Ramesh et al., 1998) اسید رزمارینیک یکی دیگر از مواد 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., 2004; Osakabe et al., 2004).

در آنالیز شیمیایی اسانس آویشن شیرازی بکار گرفته شده در این تحقیق که در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی به روش کروماتوگرافی گاز مایع متصل به طیف سنج جرمی (GLC/MS) انجام شد، بیشترین مواد تشکیل دهنده آن را فلاوونوئیدها عمدتاً تیمول به میزان ۳۹/۶۷ درصد، کارواکرول ۳۶/۲۱ درصد، پاراسیمین ۱۰/۶۲ درصد، کارواکرول متیل استر ۱/۷۷ درصد، لینالول ۱/۷۶ درصد، بتا-کاریوفیلین ۰/۴۸ درصد تشکیل می‌دادند. تیمول و کارواکرول مجموعاً نزدیک به ۷۶ درصد ترکیبات این اسانس را تشکیل می‌دادند که خاصیت ضد عفونی‌کنندگی دارند (جدول ۱).

این گیاه در طب سنتی ایران بعنوان ضد عفونی‌کننده، بی‌حس‌کننده و ضد اسپاسم استفاده می‌شود. اثرات ضد قارچی (شریف روحانی، ۱۳۸۳)، آرام‌بخشی و بیهوش‌کنندگی اسانس آویشن شیرازی (شریف روحانی و همکاران، ۱۳۸۶) در ماهیان گزارش شده است.

ماهیان از جمله موجودات آبی هستند که بدلیل ارزش غذایی و اقتصادی از اهمیت خاصی برخوردارند. لذا به منظور جلوگیری از مسمومیت آب‌ها به هنگام استفاده از هر نوع مواد طبیعی، دارویی یا شیمیایی، ضروری است که آزمایش‌های زیست‌سنجی (Bioassay) روی آنها انجام شود.

هدف از این تحقیق، تعیین غلظت نیمه کشنده ۹۶ ساعته اسانس آویشن شیرازی روی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) بود.

جدول ۱: آنالیز مواد تشکیل دهنده و میزان درصد آنها در اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده در این تحقیق

ردیف	نام ماده شیمیایی	میزان درصد	ردیف	نام ماده شیمیایی	میزان درصد
۱	Alpha-Pinene	۰/۶۵	۲۳	Carvacrol Methylether	۱/۷۷
۲	Camphene	۰/۰۴	۲۴	Thymol	۳۹/۶۷
۳	Beta-Pinen	۰/۱۷	۲۵	Carvacrol	۳۶/۲۱
۴	3-Octanone	۰/۵۰	۲۶	Thymol Acetate	۰/۵۳
۵	Myrcene	۰/۳۰	۲۷	Carvacrol Acetate	۰/۶۹
۶	3-Octanol	۰/۱۳	۲۸	Isolongifolene	۰/۰۴
۷	Alpha-Phellandrene	۰/۰۱	۲۹	Beta-Caryophyllene	۱/۴۸
۸	Delta 3-Carene	۰/۰۲	۳۰	Calarene	۰/۰۳
۹	Alpha-Terpinene	۰/۲۶	۳۱	Aromadendrene	۰/۴۴
۱۰	Para Cymene	۱۰/۶۲	۳۲	Alpha-Humulene	۰/۰۹
۱۱	1,8-Cineole	۰/۴۱	۳۳	Alloaromadendrene	۰/۰۴
۱۲	Gamma-Terpinene	۰/۰۶	۳۴	Beta-Guaiene	۰/۰۷
۱۳	Cis-Sabinene Hydrate	۰/۰۳	۳۵	Ledene	۰/۲۱
۱۴	Linalool Oxide	۰/۰۳	۳۶	Cis-Calamenene	۰/۰۲
۱۵	Alpha, 4-Dimethylstyrene	۰/۰۸	۳۷	Dodecanoic Acid	۰/۱۰
۱۶	Linalool	۱/۷۶	۳۸	Spathulenol	۰/۳۶
۱۷	Cis-Thujone	۰/۰۵	۳۹	Caryophyllene Oxide	۰/۷۸
۱۸	Trans-Thujone	۰/۰۲	۴۰	Vulgarol	۰/۰۶
۱۹	Bornelol	۰/۱۵	۴۱	Myristic Acid	۰/۰۳
۲۰	Terpinen-4-ol	۰/۵۶	۴۲	Di-(2-ethylhexyl) Phthalate	۰/۰۳
۲۱	Alpha-Terpineol	۰/۶۱	۴۳	Oleic Acid	۰/۰۸
۲۲	Thymol Methylether	۰/۸۰			

مواد و روش کار

در این تحقیق، از ۱۸۰ بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین ($\pm SD$) وزنی 5 ± 1 گرم در ۵ گروه تیمار و یک گروه شاهد و هر گروه با ۳ تکرار و هر تکرار با ۱۰ عدد ماهی بصورت تصادفی قرار داده شدند. در طول مدت آزمایش دمای آب 16 ± 1 درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول 7 ± 0.2 میلی‌گرم در لیتر و میزان pH معادل با ۸ بود. در طول دوره آزمایش آب موجود در ترافها بوسیله یک دستگاه کمپرسور هوا، هوادهی می‌شدند. اسانس آویشن شیرازی با خلوص ۱۰۰ درصد از شرکت باریج اسانس تهیه شد. برای تعیین غلظت نیمه کشنده (LC_{50}) اسانس آویشن شیرازی از روش استاندارد Organization Economic Cooperation and Development (OECD) (TRC, 1984) بصورت ساکن استفاده شد که در آن غلظت‌های اسانس آویشن شیرازی در طول دوره آزمایش در محیط ترافها ثابت بود. ابتدا از غلظت‌های ۵۰ ppm و ۱۰۰ استفاده شد که موجب تلفات ۱۰۰ درصدی ماهیان در عرض ۲۴ ساعت گردید. برای تعیین محدوده کشندگی اسانس آویشن شیرازی ابتدا از غلظت ۵ ppm که پایین‌ترین غلظت مورد نظر بود، استفاده گردید. سپس از مقادیر ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ قسمت در میلیون که به شکل تصاعد هندسی محاسبه گردید، استفاده شد. در طول دوره آزمایش با هر یک از غلظت‌های یاد شده علایم رفتاری ماهی‌ها و تعداد تلفات در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از مجاورت ماهی با اسانس آویشن شیرازی ثبت شد. در پایان آزمایش، داده‌های حاصله با استفاده از برنامه‌های Quatro Pro و SPSS پردازش و با استفاده از روش آماری Probit Analysis مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Finney, 1971, 1978). در این روش آماری با استفاده از معادله خطی ضریب همبستگی، LC_{50} ۹۶ ساعته اسانس آویشن شیرازی روی بچه

ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) تعیین شد.

نتایج

نتایج این تحقیق نشان داد که میزان حداقل و حداکثر غلظت کشندگی برای ماهیان ۲۵ ppm - ۵ بود. در واقع محدوده اثر اسانس آویشن شیرازی در غلظتی که هیچگونه تلفاتی نداشت و در غلظتی که تلفات ۱۰۰ درصدی را برای ماهیان به همراه داشت محدوده کشندگی تعیین شد. جدول ۲، تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی را در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از مجاورت با ماهی نشان می‌دهد. مصرف غلظت ۵ ppm اسانس آویشن شیرازی تا ۹۶ ساعت، هیچگونه تلفاتی را همراه نداشت. غلظت ۱۰ ppm تا ۴۸ ساعت تلفاتی نداشت ولی تعداد تلفات در ساعات ۷۲ و ۹۶ بترتیب ۱ و ۳ عدد بود. تلفات در غلظت‌های ۱۵ ppm و ۲۰ ppm از همان ۲۴ ساعت اول ولی با درجات مختلف وجود داشت. در غلظت ۲۵ ppm، تمام ماهی‌ها در ۲۴ ساعت اول تلف شدند (جدول ۲). غلظت نیمه کشنده (LC_{50}) ۹۶ ساعته اسانس آویشن شیرازی برای بچه ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی مورد آزمایش، ۱۳/۶ ppm تعیین شد. نتایج بدست آمده نشان داد که مجاورت بچه ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی با غلظت کمتر از ۱۰ ppm اسانس آویشن شیرازی برای مدت ۹۶ ساعت هیچگونه عوارضی برای ماهی نداشت. همچنین هر قدر که بر غلظت اسانس آویشن شیرازی افزوده می‌شد میزان ترشح موکوس در سطح بدن ماهی افزایش داشت که این افزایش ترشح موکوس با غلظت‌های ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm آشکارتر بود.

جدول ۲: تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی بر میزان بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*)

تیمار	غلظت اسانس آویشن شیرازی (ppm)	۲۴ ساعت				۴۸ ساعت				۷۲ ساعت				۹۶ ساعت				تغییرات نسبت به شاهد	لگاریتم غلظت اسانس آویشن
		تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده		
شاهد	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱	۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۷
۲	۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱
۳	۱۵	۶	۲۴	۱۳	۱۷	۱۵	۱۵	۱۵	۱۷	۱۸	۱۲	۲۰	۴۳/۳	۵۰	۶۰	۱/۲	۱/۳	۱/۲	۱/۲
۴	۲۰	۹	۲۱	۱۳	۱۷	۱۳	۱۷	۱۳	۱۷	۲۲	۸	۳۰	۴۳/۳	۵۶/۶	۷۳/۳	۱/۳	۱/۴	۱/۳	۱/۳
۵	۲۵	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴

بحث

اگرچه تاکنون اسانس آویشن شیرازی بعنوان ماده ضد میکروبی، ضد اسپاسم، بیحس کننده و بیهوش کننده مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته است و بررسی‌های تحقیقاتی آن رو به افزایش است، ولیکن در ارتباط با ایمنی و سمیت آن اطلاعات چندانی وجود ندارد. هدف از این تحقیق یافتن غلظت نیمه کشنده (LC₅₀) ۹۶ ساعته اسانس روغنی آویشن بر روی بچه ماهی های قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود. نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت نیمه کشنده (LC₅₀) ۹۶ ساعته اسانس روغنی آویشن شیرازی بر روی بچه ماهی های قزل آلائی رنگین کمان پرورشی، ۱۳/۶ppm بود. نتایج بدست آمده نشان داد که با افزایش زمان آزمایش، مقدار غلظت اسانس آویشن شیرازی برای ایجاد ۵۰ درصد تلفات در جمعیت ماهی‌ها کمتر می‌شود یعنی رابطه معکوس وجود دارد. در آزمایش‌های انجام شده میزان اکسیژن محلول آب در قبل و پس از آزمایش با غلظت‌های یکسان اسانس آویشن شیرازی تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. ولی هر قدر که بر غلظت اسانس افزوده می‌شد میزان ترشح موکوس در سطح بدن ماهی افزایش داشت که این افزایش ترشح موکوس با غلظت های ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm آشکارتر بود. ترشح بیش از حد موکوس، مانع از انتقال اکسیژن آب به مویرگ‌های آبششی گردیده و با ایجاد اختلال تنفسی و دیگر عوارض، موجب تلفات بچه ماهی‌ها شده است. هر قدر میزان غلظت اسانس آویشن شیرازی و زمان مجاورت بچه ماهی‌ها با آن کمتر بود، به همان اندازه نیز ترشح موکوس و عوارض و تلفات ناشی از آن کمتر بود و بالعکس. بنابراین میزان ترشح موکوس در بچه ماهی‌های قزل‌الای رنگین کمان پرورشی به میزان اسانس آویشن شیرازی و زمان مجاورت با آن وابسته بود. غلظت‌های کمتر از ۱۰ ppm نه تنها عارضه‌ای برای بچه ماهی‌ها نداشت، بلکه موجب آرامش بچه ماهی‌های مورد آزمایش گردید. غلظت ۱۰ ppm اسانس آویشن شیرازی طی ۹۶ ساعت مجاورت بچه ماهی‌ها با این غلظت تنها ۱۰ درصد از ماهیان مورد آزمایش تلف شدند. ولی در غلظت ۱۵ ppm، درصد تلفات طی ۲۴ ساعت اول ۲۰ درصد و طی ۹۶ ساعت به

۶۰ درصد رسید. غلظت ۲۰ ppm، طی ۲۴ ساعت اول ۳۰ درصد تلفات داشت که طی ۹۶ ساعت به بیش از ۷۳ درصد رسید. حال آن که غلظت ۲۵ ppm، در همان ۲۴ ساعت اول موجب تلفات ۱۰۰ درصدی بچه ماهی‌های مورد آزمایش شد.

تاکنون از اسانس آویشن شیرازی جهت اثرات ضد قارچی آن بر روی تخم انواعی از ماهیان مورد آزمایش قرار گرفته است (شریف روحانی، ۱۳۸۳). همچنین گزارش شده است که مقادیر ۱۰۰ ppm این ماده روی تخم ماهی قزل‌آلا سمیتی را ایجاد نکرده است (شریف روحانی، ۱۳۸۳)، ولیکن مقدار LC₅₀ آن گزارش نشده است. اسانس آویشن شیرازی از ترکیبات متعددی تشکیل شده است (جدول ۱). تیمول و کارواکرول دو ترکیب عمده اسانس روغنی آویشن شیرازی را تشکیل می‌دهند. این که سمیت حاد ناشی از مصرف اسانس روغنی آویشن شیرازی روی جانوران آبی (ماهی و میگو) بر اثر کدامیک از ترکیبات تشکیل‌دهنده این اسانس باشد هنوز مشخص نشده است و در این راستا پیشنهاد می‌شود که تحقیقاتی صورت گیرد. اثرات ضد دردی و Antinociceptive عصاره آویشن شیرازی را به فلاوونوئیدها نسبت می‌دهند (Hosseinzadeh et al., 2000; Ramezani et al., 2004; Jaffary et al., 2004; Martinez-Vazquez et al., 1996; Ramesh et al., 1998). عمده فلاوونوئیدهای اسانس آویشن شیرازی، تیمول، کارواکرول، پی-سیمن، لینالول و گاما-ترپینن می‌باشند. پیشنهاد می‌شود که اثر مسمومیت حاد این اسانس در آبزیان در نتیجه وجود دو ترکیب تیمول (نوعی فنل است که در فراورده‌های دارویی بعنوان ثابت کننده بکار می‌رود و دارای اثر ضد عفونی‌کنندگی است) و کارواکرول باشد. هر چند که اخیراً سمیت حاد و مقدار LC₅₀ فلاوونوئید α -terpineol موجود در روغن *Melaleuca alternifolia* (tea tree) روی بچه ماهی قزل‌آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان داده شده است (Hammera et al., 2006).

در این تحقیق مشخص شد که ضریب درمانی (Therapeutic index) اسانس آویشن شیرازی باریک است

- Chemical composition of the essential oil and supercritical CO₂ extracts of *Zataria multiflora* Boiss. Food Chemistry, 83:357-361.
- Finney D.J., 1971.** Probit Analysis. Cambridge University Press.
- Finney D.J. 1978.** Statistical method in biological assay. Charles Griffin & Co.
- Hammera, K.A., Carsona C.F., Riley a,b, T.V. and Nielsen J.B., 2006.** A review of the toxicity of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil. Food and Chemical Toxicology. 44:616-625.
- 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, 73(3): 379-385.
- Jaffary F., Ghannadi A. and Siahpoush A., 2004.** Antinociceptive effects of hydroalcoholic extract and essential oil of *Zataria multiflora*. Fitotrapia, 75:217-220.
- 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 Medicine. 62:137-140.
- Mohagheghzadeh A., Shams-Ardekani M. and Ghannadi A., 2000.** Volatile constituents of callus and flower-bearing tops of *Zataria multiflora* Boiss (Lamiaceae). Flavour Fragr Journal. 15:373-376.
- Mohagheghzadeh A., Shams-Ardekani M., Ghannadi A. and Minaeian M., 2004.** Rosmarinic acid from *Zataria multiflora* tops and *in vitro* cultures. Fitoterapia, 75:315-321.
- یعنی با کمترین افزایش غلظت ممکن است که علایم مسمومیت با آن ظاهر شود. علایم مسمومیت با رفتار غیرطبیعی ماهی شامل افزایش فعالیت، افزایش تحریک‌پذیری، شنای با شتاب و بی‌هدف در جهات مختلف و در مسیرهای کوتاه، عدم تعادل و قرار گرفتن ماهی به پشت و فرو رفتن ماهی در عمق آب، انقباض شدید عضلات و بدنبال آن ایجاد انحنای ستون فقرات و بالاخره مرگ همراه بود. این رفتارهای غیر طبیعی در ماهی با هوادهی و اکسیژن رسانی آب به تأخیر افتاد و با شدت خفیف‌تری ایجاد گردید. لذا برای جلوگیری از ایجاد مسمومیت، لازم است که در بکارگیری اسانس آویشن شیرازی در صنعت پرورش ماهی به مقدار و مدت زمان مصرف آن توجه کافی نمود. از آنجا که این ماده منشاء طبیعی دارد لذا سازگار با محیط‌زیست است و ایجاد آلودگی نمی‌کند. همچنین، این گیاه جهت مصارف دارویی و غذایی در انسان استفاده می‌شود و لذا مصرف آن در صنعت پرورش ماهی مشکلی را برای مصرف‌کنندگان ماهی به همراه نخواهد داشت.
- در مجموع با توجه به نتایج بدست آمده استفاده از غلظت‌های کمتر از ۱۰ ppm اسانس آویشن شیرازی برای ضد عفونی نمودن آب و کاهش بار میکروبی سطح بدن ماهی و نیز ایجاد آرامش قبل از هرگونه عمل تنش‌زا در ماهی مفید می‌باشد.
- ### منابع
- زرگری، ع.، ۱۳۷۱. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ چهارم، صفحات ۱ تا ۵۷.
- شریف‌روحانی، م.؛ حقیقی، م.؛ عصاییان، ح. و لشتوآقایی، غ.، ۱۳۸۶. بررسی اثر بیپوشی اسانس آویشن شیرازی *Zataria multiflora* Boiss. (Labiatae) بر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) و ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، سال شانزدهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۶، صفحات ۹۹ تا ۱۰۶.
- Ebrahimzadeh H., Yamini Y., Sefidkon F., Chalooosi M. and Pourmortazavi, SM., 2003.**

- Osakabe N., Yasuda A., Natsume M. and Yoshikawa T., 2004.** Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: Anti-carcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two stage skin model. *Carcinogenesis*, 25:549-557.
- Parnham M.J. and Kesselring K., 1985.** Rosmarinic acid. *Drug Future*. 10:756-757.
- Ramesh M., Rao YN., Rao A.V., Prabhakar M.C., Muralidhar N., 1998.** Antinociceptive and anti-inflammatory activity of a flavonoid isolated from *Caralluma attenuate*. *Journal of Ethnopharmacol*, 62:63-66.
- Ramezani M., Hosseinzadeh H. and Samizadeh S., 2004.** Antinociceptive effects of *Zataria multiflora* Boiss fractions in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(1):167-170.
- Shafiee A. and Javidnia K., 1997.** Composition of essential oil of *Zataria multiflora*. *Planta Medicine*. 63:371-372.
- Shaiq Ali M., Saleem M., Ali Z. and Ahmad V.U., 2000.** Chemistry of *Zataria multiflora* (Lamiaceae). *Phytochemistry*. 55(8):933-936.
- TRC, 1984.** OECD guideline for testing of chemicals. Section 2. Effects on biotic systems. pp.1-39.

The lethal concentration (LC₅₀) of *Zataria multiflora* essential oil in fries of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Sharif Rohani M.^{(1)*}; Haghighi M.⁽²⁾ and Assaeian H.⁽³⁾

rohani@ifro.ir

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

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

Received: November 2010

Accepted: July 2011

Keywords: Medicinal plants, Rainbow trout, Toxicity, Iran

Abstract

This research was carried out to determine LC₅₀ for *Zataria multiflora* essential oil in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fries at 96 hours. In the process, we used the static O.E.C.D method for 180 rainbow trout fries weighing 5±1 grams in five treatments and one control with three replicates. During the experiments, the mean (±SD) of water temperature was kept at 16±1 °C, dissolved oxygen (DO) was 7±0.2mg/l and pH was 8±0.4. We used 5-25ppm of the essential oil and the results were analyzed using probit analysis procedure. The LC₅₀ 96h of *Zataria multiflora* essential oil was determined as 13.6ppm for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. Based on the results, the useful maximum concentration of *Zataria multiflora* essential oil was less than 10ppm in rainbow trout fry. The results indicated a narrow therapeutic index for *Zataria multiflora* essential oil.

*Corresponding author