مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۷، دوره ۷۳، شماره ۱، ۸۵-۹۰
Original Article
DOI: 10.22059/jvr.2018.139459.2408

تأثیر بی‌هوشی اسانس اسطوخودوس(*Lavendula officinalis*) بر آسیب‌های بافتی و آنزیم‌های بیوشیمیایی خون ماهی کپور نقره‌ای

نغمه گلشن[۱] جواد میردار هریجانی[۱*] احمد قرایی[۲] عباس جمشیدیان[۳]

۱) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲)گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و پژوهشکده تالاب بین المللی‌هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳)گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل، زابل، ایران

(دریافت مقاله: ۲۷ آذر ماه ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۱۶ اسفند ماه ۱۳۹۶)

چکیده

زمینه مطالعه: دستیابی به یک داروی بیهوش‌کننده مناسب جهت بیهوشی سریع با بازگشت طولانی مدت و ایمن از آن، همواره دغدغه محققین علوم شیلاتی بوده است. **هدف:** در این مطالعه به بررسی اثر بی‌هوشی اسانس اسطوخودوس بر آسیب‌های بافتی و فاکتورهای آنزیمی خون ماهی کپور نقره‌ای پرداخته شد. **روش کار:** تعداد ۲۶۰ قطعه بچه ماهی کپور نقره‌ای با میانگین وزن و طول کل به ترتیب g ۱/۵ ±۲۳/۵۵ و Cm ۱ ±۱۵/۶ در چهار گروه دسته‌بندی شدند. ۳ گروه از ماهیان با غلظت‌هایppm ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ اسانس اسطوخودوس بیهوش شدند و گروه چهارم به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. زمان‌های رسیدن به مراحل مختلف بیهوشی اندازه‌گیری و ثبت شد و در ساعات صفر و ۲۴ پس از بیهوشی از گروه‌های مختلف خونگیری به عمل آمد. پس از جدا نمودن سرم پلاسما توسط سانتریفیوژ، مقادیر آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) نمونه‌های پلاسما اندازه‌گیری شد. بافت‌های کلیه، کبد و آبشش ماهیان خونگیری شده نیز خارج و جهت بافت‌شناسی نگه‌داری گردید. **نتایج:** اسانس اسطوخودوس در غلظتppm ۳۰۰، کپور نقره‌ای را درکمتر از min ۳ بیهوش کرد و بازگشت از بیهوشی نیز کمتر از min ۳ طول کشید. از طرفی بیهوشی با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس تأثیری برپروفیل خون‌شناسی نداشته و تغییرات معنی‌داری در میزان آنزیم‌های AST،ALT و ALPدرهیچ یک از ساعت‌های مذکورمشاهده نشد ($p>0/05$) و در آسیب شناسی بافتی نشان داد که غلظت ppm ۳۰۰ فاقد تأثیرات جانبی است و می‌توان از این غلظت بدون نگرانی از آسیب‌های احتمالی اسانس مورد نظر استفاده نمود. **نتیجه‌گیری نهایی:** به نظر می‌رسدمصرف اسانس اسطوخودوس به عنوان یک داروی استاندارد در امور بیهوشی و به عنوان جایگزین مواد شیمیایی متداول در ایجاد بیهوشی و آرام بخشی در ماهیان قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: اسانس اسطوخودوس،بی‌هوشی، کپور نقره‌ای، آسیب‌های بافتی

مقدمه

بیهوشی به عنوان یک ابزار مدیریتی کارآمد در آبزی‌پروری مطرح می‌باشد. از این‌رو همواره دستیابی به یک داروی بیهوش‌کننده مناسب جهت بیهوشی سریع با بازگشت طولانی مدت و ایمن از آن، دغدغه محققین علوم شیلاتی بوده است.

معیارهای اساسی برای ارزیابی یک ماده بیهوشی مطلوب در آبزی پروری شامل: زمان القای کمتر از min ۱۵ و ترجیحا کمتر از min ۳، غیر سمی بودن برای ماهی و انسان، بازماندگی کمتر در اندام‌ها و تجزیه سریع آن در محیط آبی می‌باشند (۹).

گیاه اسطوخودوس از خانواده Lamiaceae با نام علمی *Lavendula officinalis* و نام انگلیسی Lavander می‌باشد(۶). خصوصیات درمانی و آروماتراپی اسطوخودوس را عمدتاً به منوترپن‌های آن نسبت می‌دهند. منوترپن‌ها دسته‌ای از ترکیبات آلی فرار هستند که بخش عمده اسانس اسطوخودوس را تشکیل می‌دهند. از جمله مواد مؤثره موجود در ترکیب این گیاه می‌توان لینالول و لینالیل استات را نام برد که لینالول با اثر بر روی گیرنده‌های گاما آمینو بوتیریک اسید در سیستم عصبی مرکزی به عنوان آرام بخش عمل می‌کند، لینالیل استات نیز دارای عملکرد نارکوتیک است (۳). از طرفی اسطوخودوس ۸ معیار اساسی که برای ارزیابی یک ماده بیهوشی مطلوب در آبزی‌پروری توسط Marking و Meyer در سال ۱۹۸۵ ارائه شده است را دارا می‌باشد و بنابر استدلال Sharif pour و همکاران در سال ۲۰۰۳ انتظار می‌رود که اسانس اسطوخودوس به آسانی در محیط تجزیه شود و اثرات سوء زیست محیطی نیز نداشته باشد. مزیت اسطوخودوس در مقایسه با داروی شیمیایی MS۲۲۲ که در حال حاضر مصرف آن محدود شده و احتمال تأثیر گذاری منفی آن بر ماهی و فراورده‌های حاصله وجود دارد، منشاء طبیعی و بی‌ضرر بودن آن برای محیط زیست می‌باشد که در این مطالعه استفاده از آن و تعیین بهترین غلظت درمانی و سطح بیهوشی آن مد نظر قرار گرفته است.

در مطالعه حاضر برای ارزیابی میزان اثرات جانبی احتمالی اسانس اسطوخودوس، آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) جهت تشخیص ایمنی داروهای بیهوشی و آزمایشات هیستوپاتولوژی مورد سنجش قرار گرفتند.

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۳۲۲۳۲۶۰۰ نمابر: ۰۲۱-۳۲۲۳۲۶۰۰ Email: javadmirdar@uoz.ac.ir

مواد و روش کار

تعداد ۲۶۰ قطعه ماهی کپور نقره‌ای در محدوده وزنی g ۱/۵ ±۲۳/۵۵، از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی زهک واقع در شمال استان سیستان و بلوچستان صید و به آزمایشگاه منتقل شدند. به منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید، ماهیان به مدت یک هفته در تانک‌های L ۳۰۰ حاوی L ۲۵۰آب در شرایط بهینه نگهداری شدند. وزن و طول کل ماهیان با ترازو دیجیتال بادقت g ۰/۱ و خط‌کش با دقت ml ۱ اندازه‌گیری شد. دما، pH وسختی آب نیز در زمان آزمایشبه ترتیب برابر۱ ± ۲۴، mg/l ۷/۶ و ۱۷۰ بود. در ضمن h ۲۴ قبل ازشروع آزمایش و نیز در مدت زمان انجام آزمایش غذا دهی قطع شد (۱۳).

اسانس اسطوخودوس مورد استفاده در این آزمایش از خانواده Lamiaceae با نام علمی *Lavendula officinalis* و نام انگلیسی Lavanderمی‌باشد که از شرکت باریج اسانس خریداری شد. بیهوشی در آکواریوم L ۲۰ محتوی L ۱۰محلول بیهوشی که از ترکیب آب و ماده بیهوشی در غلظت‌های مورد آزمایش (ppm۳۰۰،۲۰۰ و ۴۰۰) به دست آمده بود صورت گرفت. از آنجا که در تحقیقات شیلاتی و آبزی‌پروری جهت آسانتر شدن روندهای مختلف دستکاری از قبیل: بیومتری، وزن کشی و حمل ونقل به منظور کاهش استرس، مواد بیهوش کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷،۱۶) و همچنین به دلیل اینکه در این موارد احتیاجی به بیهوشی عمیق نمی‌باشد بنابراین در این مطالعه نیز جهت اندازه‌گیری فاکتورهای ذکر شده از بیهوشی سبک استفاده شد. انتقال ماهیان پس از بیهوش شدن تا مرحله بیهوشی سبک، با استفاده از ساچوک به آکواریوم L ۴۰ حاوی L ۲۵ آب فاقد ماده بیهوشی که به خوبی هوا دهی می‌شد انجام شد. سپس زمان‌های رسیدن به مراحل ازدست رفتن تعادل و بیهوشی سبک با دقت دهم ثانیه توسط زمان سنج ثبت شد(۸).

در پژوهش حاضر در تمام غلظت‌های بکار گرفته شده اسانس اسطوخودوس، زمان القا بیهوشی کمتر از ۳ دقیقه و مدت زمان لازم برای احیا کامل ماهی به طور میانگین ۳ دقیقه بود. با عنایت به اینکه توصیه شده است ماده بیهوش کننده مطلوب برای ماهیان بایستی به ترتیب زمان‌های القا و احیا کامل ۳ و حدود ۵ دقیقه را داشته باشد (۹) غلظت‌های به کار گرفته در این مطالعه معیارهای لازم جهت القا بیهوشی مناسب را به نمایش گذاشتند (جدول۱). بنابراین مطابق با سایر مطالعات صورت گرفته در این پژوهش زمان ۳ دقیقه مد نظر قرار گرفت.

خون‌گیری از طریق ساقه دمی صورت گرفت. سپس نمونه‌های خون در لوله‌های آزمایش استریل فاقد ماده ضد انعقاد جمع آوری و به مدت min ۱۵با سرعت r/min ۳۰۰۰ سانتریفوژ و نمونه‌های سرم جدا و در لوله‌های اپندروف ریخته شده و سپس در فریزر در دمای °C ۲۰- تا زمان آزمایش جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی باقی ماند (۲).پس از جداسازی پلاسمای خون از طریق سانتریفیوژ، اندازه‌گیری آنزیم‌های ALP (آلکالین فسفاتاز)،AST (آسپارتات آمینو ترانسفراز)ALT، (آلانین آمینو ترانسفراز)، با دستگاه اتوآنالایزر سلکترا (Selectra) مدل PROM ساخت کشور هلند سنجیده شد (۱۴).جهت انجام بافت شناسی از هر تیمار، ۳ عدد ماهی بلافاصله پس از احیا و ۳ عدد دیگر h ۲۴ پس از بیهوشی جداسازی وبافت‌های کبد، کلیه و آبشش آن‌ها در فرمالین ۱۰ ٪ فیکس شدند.نمونه‌های فیکس شده جهت تهیه مقاطع بافتی میکروسکوپی، به منظور فرآیند آبگیری در درجات مختلف الکل اتیلیک (۷۰ تا ۱۰۰٪) قرار داده شدند. پس از آبگیری، نمونه‌ها جهت شفاف سازی و خروج الکل از آن‌ها ، در محلول گزیلول قرار داده شد. سپس نمونه‌ها در پارافین مذاب در دمای °C۶۰-۵۸ قرار گرفتند و پس از اتمام این مرحله، قالب‌گیری در پارافین صورت گرفت. لام‌های تهیه شده، با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند و با استفاده از لامل و چسب بالزام سطح نمونه‌ها پوشیده شد و در نهایت توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و تفسیرقرار گرفتند (۱۲).

به منظور انجام تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، ابتدا نرمال بودن آن‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov انجام شد.سپس از آنالیز واریانس یک طرفه (One WayANOVA) در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی جهت مقایسه تیمارها استفاده شد. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها برای تعیین اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌ها در گروه‌های مختلف از آزمون دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد و همه نتایج بدست آمده به صورت میانگین± انحراف معیارهای آماری در نرم افزار SPSS۱۶، Excel ۲۰۱۰ نشان داده شدند.

نتایج

از نتایج بدست آمده از بیهوشی ماهی کپور نقره‌ای با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس چنین استنباط می‌شود که با افزایش غلظت ماده بیهوش کننده زمان القای بیهوشی سریع‌تر و احیا کامل از بیهوشی روند افزایشی دارد. از طرفی بیهوشی با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس تأثیری برپروفیل خون‌شناسی نداشته و تغییرات معنی‌داری در میزان آنزیم‌های AST،ALT و ALP مشاهده نشد ($p<0/05$) همچنین آسیب‌های بافتی در بافت آبشش (تصاویر۵،۴،۲،۱) و بافت کلیه (تصویر۶) ماهیان مورد آزمایش در زمان‌های صفر و ۲۴ ساعت از بیهوشی، در تصاویر مذکور قابل مشاهده بود اما در پایان، بررسی هیستوپاتولوژی نمونه‌های برداشته شده از آبشش و کلیه ماهیانی که با غلظت‌های (ppm۳۰۰،۲۰۰ و ۴۰۰) از اسانس اسطوخودوس بیهوش شده بودند و به مدت یک هفته در آکواریوم‌های ریکاوری تحت نظر بودند، حاکی از کاهش یا عدم مشاهده ضایعات (از جمله نفوذ سلول‌های آماسی، پرخونی، ادم و چسبندگی وهایپرپلازی لاملاها در آبشش و نفریت و تورم سلولی بافت پوششی در کلیه) (تصویر۳) در آن بافت‌ها بود. در نهایت آسیب‌شناسی بافتی نشان داد که غلظت بهینه ppm ۳۰۰ فاقد تأثیرات جانبی است و می‌توان از

جدول۱. میانگین و انحراف معیار زمان‌های رسیدن به مراحل مختلف بیهوشی و بازگشت از آن در ماهی کپور نقره‌ای تحت تأثیر اسانس اسطوخودوس (زمان به ثانیه). حروف متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین گروه‌هاست.

مراحل/تیمار	۲۰۰ ppm	۳۰۰ppm	۴۰۰ppm
از دست دادن تعادل	۱۰۵/۸±۵/۰۳ a	۸۴/۵۴±۶/۸۹ b	۶۵/۲±۷/۸۷ c
بیهوشی سبک	۱۶۶/۹±۴/۷۲ a	۱۴۷/۶±۳/۵۷ b	۱۲۴/۱±۳/۶ c
بازگشت تعادل	۸۱/۹۹±۳/۶ a	۸۴/۶۲±۳/۷۵ ab	۸۷/۷۳±۲/۶۰ b
احیاکامل	۱۰۸/۴±۳/۸۴ a	۱۲۵/۹±۴/۵۱ b	۱۴۸/۸±۴/۲۱ c

جدول۲. فعالیت آنزیم‌هایALT،ASTوALP،در ساعت صفر پس از بیهوشی در گروه شاهد و گروه‌های بیهوش شده با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس. حروف متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین گروه‌هاست.

آنزیم/زمان	ساعت صفر بعد از بیهوشی			
آنزیم (IU/L)	گروه شاهد	القای بیهوشی باغلظتppm ۲۰۰	القای بیهوشی با غلظت ppm ۳۰۰	القای بیهوشی با غلظت ppm ۴۰۰
AST	۴۷/۳±۱/۵a	۴۷/۶±۱/۵ a	۴۳/۳±۰/۶۴ a	۴۳/۵±۰/۴۷ a
ALT	۵/۶±۲/۱ a	۶/۳±۱/۵ a	۸/۳±۱/۵ a	۱۰±۲ a
ALP	۵۳/۴±۴/۲ a	۵۶/۳±۴/۷ a	۶۰/۴±۱/۹ a	۶۰/۹±۲/۱ a

جدول۳. فعالیت آنزیم‌هایALT،ASTوALP،در ساعت ۲۴پس از بیهوشی در گروه شاهد و گروه‌های بیهوش شده با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس. حروف متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵)بین گروه‌هاست.

آنزیم/زمان	ساعت۲۴ بعد از بیهوشی			
آنزیم(IU/L)	گروه شاهد	القای بیهوشی باغلظتppm ۲۰۰	القای بیهوشی با غلظت ppm ۳۰۰	القای بیهوشی با غلظت ppm ۴۰۰
AST	۸۱/۶±۲/۱ a	۸۳±۱ a	۸۶/۶±۲/۵ a	۸۸/۳±۳/۷ a
ALT	۷/۶±۱/۵ a	۸/۶±۱/۵ a	۱۰/۳±۲/۳ a	۱۱/۳±۲/۰۸ a
ALP	۶۶±۱۴/۱ a	۶۸±۹/۸ a	۶۸±۱۱/۵ a	۷۸/۶±۱/۵ a

این غلظت بدون نگرانی از آسیب‌های احتمالی اسانس مورد نظر استفاده نمود. در ضمن غلظت‌هایppm ۲۰۰ و ۴۰۰ نیز می‌توانند به عنوان کاهش دهنده استرس در زمان انتقال ماهی کپور نقره‌ای استفاده گردند.

بحث

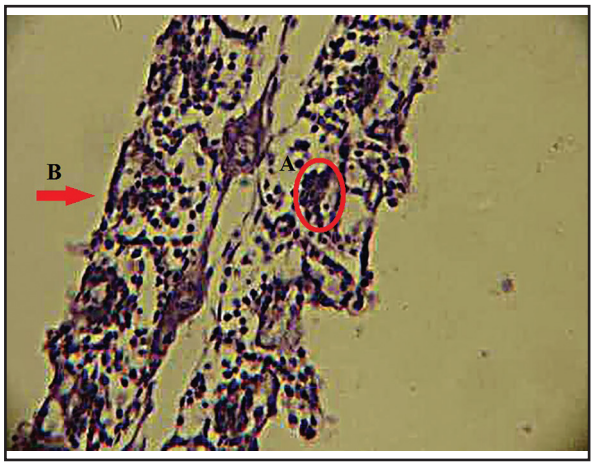
نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت بهینه مورد نیاز اسانس اسطوخودوس جهت بیهوش نمودن ماهی کپور نقره‌ای در زمان توصیه شده (حداکثر زمان القاء بیهوشیmin ۳)ppm ۳۰۰ می‌باشد. از طرفی زمان بازگشت کامل ماهیان بیهوش شده با این غلظت حدود min ۳ بود. بر اساس مشاهدات صورت گرفته،با افزایش غلظت ماده بیهوش‌کننده زمان القای بیهوشی کمتر و مدت زمان برگشت از بی‌هوشی بیشتر می‌شود که با مطالعه Sharif pour و همکاران در سال ۲۰۰۳همخوانی دارد(۱۰). با عنایت به اینکه دوز مؤثر بیهوش‌کننده غلظتی است که کوتاهترین القا و سریع‌ترین احیا را داشته باشد (۸) و با در نظر گرفتن صرفه اقتصادی ،که از جمله ملاک‌های مد نظر در این مطالعه می‌باشد، همچنین بررسی نتایج حاصل از آسیب‌شناسی بافتی که حاکی میزان آسیب‌های کمتر غلظت ppm ۳۰۰ نسبت به غلظت ppm ۴۰۰می‌باشد می‌توان از این غلظت بدون نگرانی از آسیب‌های احتمالی اسانس مورد نظر استفاده نمود.

داروهای بیهوش کننده می‌توانند بر قسمت‌های مختلف سلول‌عصبی از جمله غشا سلول، انتقال دهنده‌های عصبی، گیرنده‌ها و کانال‌های یونی مختلف اثر بگذارند (۱). این اثرات همیشه مثبت و در کنترل ما نخواهد بود و استعمال بعضی از داروهای بیهوشی ممکن است عوارض جانبی را در پی داشته باشد. عوارض جانبی که در داروهای شیمیایی بیهوش کننده مشاهده شده است در داروهای گیاهی از جمله اسانس اسطوخودوس ثابت نشده، به عنوان مثال در صورتی که ماهی مدت کوتاهی در معرض اسانس اسطوخودوس قرار گیرد رشد آن تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد (۱۱،۱۵).

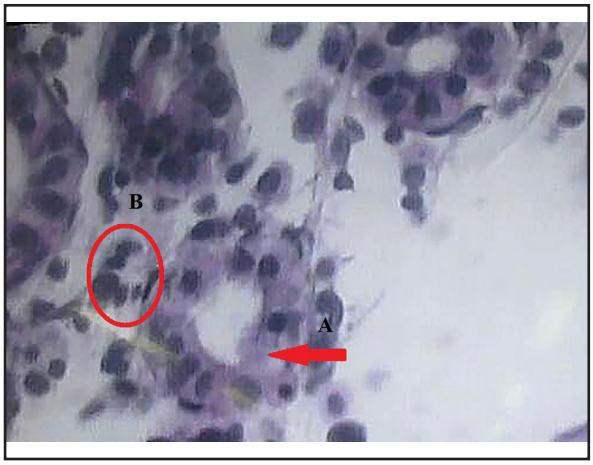
در آزمایش انجام گرفته توسط Zargham و همکاران در سال ۲۰۱۳، روی اثر بیهوش‌کنندگی عصاره‌های آبی و الکلی تنباکو بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان،غلظت‌های mg/l ۲۰۰ تا ۸۰۰ عصاره آبی تنباکو عملکرد موفق‌تری را دارا بود به طور کلی می‌توان گفت عصاره تنباکو قزل آلا را در کمتر از min ۳ بیهوش می‌کند و بازگشت از بیهوشی کمتر از ۵ دقیقه طول می‌کشد (۲۰) در حالیکه در تحقیق حاضر، پائین‌ترین غلظت مؤثر که باعث بیهوشی با متوسط زمان القای کمتر از min ۳ شد،غلظت ppm ۳۰۰ بود. زمان القا، در نتایج حاصل از تحقیق حاضر با افزایش غلظت مواد بیهوش کننده رابطه معکوس دارد بطوریکه با افزایش غلظت، زمان القا کاهش می‌یابد.

آنزیم‌های سرم به ویژه ALP، AST و ALT در بسیاری از اندام‌های حیاتی ماهی به ویژه کبد، قلب و عضلات یافت می‌شوند. آسیب‌های بافتی و بیماری‌های این اندام‌ها می‌تواند باعث آسیب غشای سلولی این اندام‌ها و تخلیه این آنزیم‌ها وافزایش سطح سرمی آن‌ها شود (۱۷،۱۸).

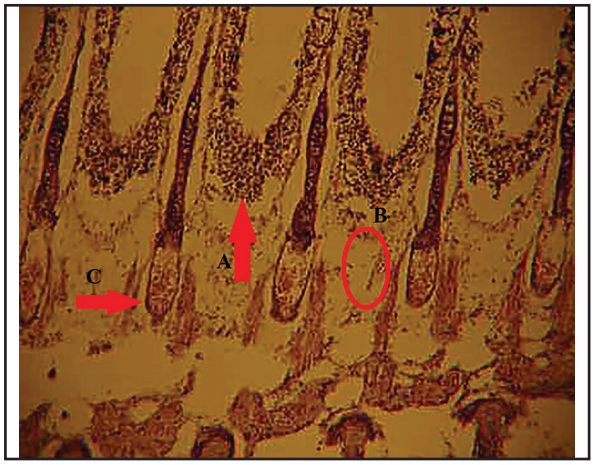
تصویر۱. بافت آبشش کپورنقره‌ای، غلظت ppm ۳۰۰، در طی ۲۴ ساعت، چسبندگی لاملاها(H&E) (۴۰X,A).



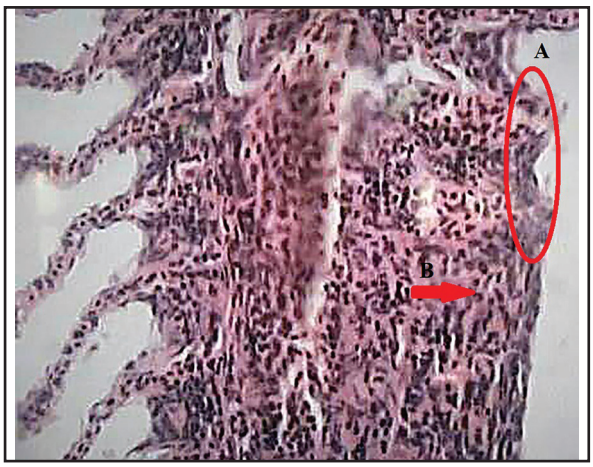
تصویر۲. بافت آبشش کپور نقره‌ای، غلظت ppm ۴۰۰، در طی ۲۴ ساعت، نفوذ سلول‌های آماسی در رشته اولیه(A) و از بین رفتن لاملاها(H&E) (۴۰X,A).



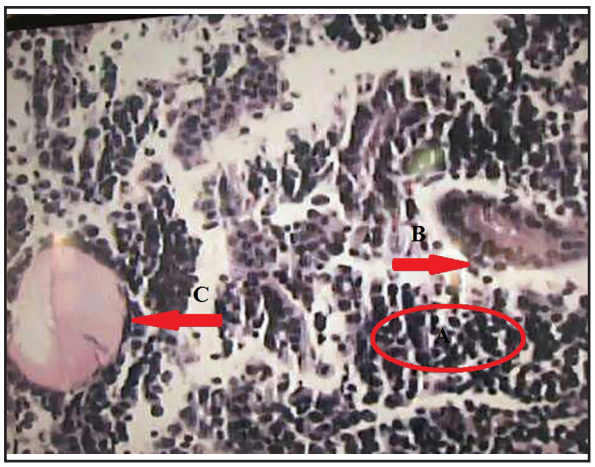
تصویر۳. بافت کلیه کپور نقره‌ای، غلظت ppm ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ در طی یک هفته، تورم سلولی بافت پوششی (A) و کاهش نفریت(H&E) (۴۰X,A).



تصویر۴. بافت آبشش کپور نقره‌ای، غلظت ppm ۴۰۰، در شروع آزمایش، نفوذ سلول‌های آماسی در کمان آبشش (A)، ادم (B) و پرخونی (اتساع عروق خونی) (H&E) (۴۰X,A).



تصویر۵. بافت آبشش کپور نقره‌ای، غلظت ppm ۴۰۰، در طی ۲۴ ساعت، چسبندگی لاملاها(A) و هیپرپلازی(B). (H&E) (۴۰X,A).



تصویر۶. بافت کلیه کپور نقره‌ای، غلظت ppm ۴۰۰، در طی۲۴ ساعت،نفریت (A)، تورم سلول‌های بافت پوششی (B) و کست هیالین(H&E) (۴۰X,A).

در این پژوهش فعالیت هر سه آنزیم در سرم خون ماهیان بیهوش شده با اسانس اسطوخودوس در مراحل مختلف نمونه‌گیری در فواصل زمانی (صفر و ۲۴ ساعت پس از ایجاد بیهوشی) تحت تأثیر قرار نگرفته و تفاوت معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌ها بین گروههای تیماری و تیمار شاهد مشاهده

نشد($p<۰/۰۵$).

نتایج مطالعه انجام شـده توسـط Soltani و همکاران در سال ۲۰۰۴ بـر روی کپور معمولی تحت تأثیر غلظت‌های ppm ۱۰۰ و ۲۰۰ اسـانس گل میخک هندی در رابطه با معنی‌دار نشـدن مقادیر فاکتورهای آنزیمی خون شـامل آلانین آمینو ترانسـفراز (ALT)،آسـپارتات آمینو ترانسفراز (AST)،آلکالاین فسفاتاز (ALP) همخوانی دارد (۱۱). در مطالعه پارامترهای خونی کپور معمولی متعاقب مواجهه با غلظت کم کادمیوم توسط Ghiasi و همکاران در سـال ۲۰۱۱ در مقدار آنزیم‌های سرمی ALP،AST و ALT ماهیان گروه تیمار اختلاف معنی‌داری در مقایسـه با گروه شـاهد مشاهده نشـد. البته در مقادیر آنزیم‌هـای مذکور بین ماهیان گروه شـاهد با تیمار افزایش مشـاهده شـد اما این تفاوت به شـکل معنی‌دار نبود که افزایش این آنزیم‌ها به آسـیب‌های سلولی در بافت‌های هدف که در مسمومیت با کادمیوم درگیر می‌شـوند همچون کبد، کلیه و آبشش نسبت داده شد (۴). در پژوهش حاضر با توجه به عدم تأثیر معنی‌دار اسانس اسطوخودوس مورد استفاده بر آنزیم‌های سرمی (ALT، AST و ALP) می‌توان چنین استنباط کرد که غلظت‌های بکار برده شده در این تحقیق بی‌خطر می‌باشند و با نتایج مقاله فوق مطابقت دارد.

بررسی‌های میکروسکوپی مقاطع به دست آمده از بافت‌های آبشش، کلیه و کبد ماهیان بیهوش شـده با اسـانس اسطوخودوس در غلظت‌های مختلـف (ppm۳۰۰،۲۰۰و۴۰۰)، آسـیب‌های بافتـی را در ماهیان مورد آزمایش در زمان‌های صفر وh ۲۴ پس از بیهوشی، نشان داد اما در پایان، بررسی هیسـتوپاتولوژی نمونه‌های برداشته شده از آبشش و کلیه ماهیان تحت تیمار اسانس اسطوخودوس بیهوش شده بودند و به مدت یک هفته در آکواریوم‌های ریکاوری تحت نظر بودند، حاکی از کاهش یا عدم مشاهده ضایعات در آن بافت‌ها بود. در مطالعه Halajian و همکارانش در سال۲۰۱۴ بر روی اثرات حاد نیترات روی بر بافت آبشـش ماهی فیتوفاگ پرورشـی، مطالعات میکروسکوپی عوارضی مانند هیپرپلازی، تلانژیکتازی، نکروزی شدن رشـته‌های ثانویه، آنوریسـم، پرخونی و به هم چسبیدن رشته‌های ثانویه آبششـی را در تیمارهای مورد آزمون در مقایسـه با شاهد نشان داد (۵). در نهایت به این نتیجه دست یافتند که با افزایش غلظت نیترات روی و با افزایش زمان مجاورت ماهی، شدت آسیب‌های بافتی در آبشش بیشتر می‌شود. همچنین در مطالعه‌ای که Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۵ به بررسی تأثیر بیهوشی اسانس میخک در ماهی قزل‌آلا پرداختند، مشاهدات بافت‌شناسی نمونه‌های بافتی (آبشش،کبد، کلیه،طحال وجمجمه)، h۲۴ پس از بیهوشـی نشـان داد که در ۲۰ ٪ از ماهیان، گشادشـدگی برخی از تیغه‌های آبششی وجود دارد اما هیچگونه تغییری در سایر بافت‌های مورد مطالعه در این پژوهش مشاهده نشد در نتیجه آن‌ها بیان کردند که استفاده از اسانس میخک با غلظتmg/l ۳۰ هیچگونه آسیب غیر قابل برگشتی در قزل‌آلای رنگین‌کمان ایجاد نمی‌کند (۱۵).

در نهایت با توجه به عدم مشاهده آسیب‌های برگشت‌پذیر در بافت‌های مـورد مطالعه (آبشـش،کبد وکلیه) و نیز عدم تغییرات معنـی‌دار در برخی از فاکتورهـای بیوشـیمیایی خون در تحقیق حاضر و تحقیق‌های مشـابه انجام گرفته و با عنایت به عدم خطر مسـمومیت انسـانی توسـط اسانس اسطوخودوس در مقایسـه با بیهوش کننده‌های شیمیایی متداول از قبیل MS۲۲۲ و بنزوکائین، همچنین سـازگاری آن با محیط زیسـت به علت تجزیه سـریع در محیط آب، ایجاد بیهوشـی و نیز بهبودی سریع و ارزان بودن آن،این اسـانس به عنوان یک داروی استاندارد در امور بیهوشی و به عنوان جایگزین مواد شـیمیایی متداول در ایجاد بیهوشی و آرام بخشی در ماهیان قابل توصیه است.

تشکر و قدردانی

از مسـئولین و کارکنـان پژوهشـکده‌ی تالاب بیـن المللی‌هامون و آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین منابع مالی این تحقیق از محل پژوهانه شماره ۵۹- ۹۵۱۷_UOZ_GR معاونت پژوهشی دانشگاه زابل تأمین گردیده است که بدینوسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Akhlaghi, M., Mirab Brojerdi, M. (2000) Anesthetic effect of clove oil and Lc50 determination in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J Vet Res. 54(2):49-52.
2. Alishahi, M., Cheshmeh, B., Pighan, R., Ghorban pour, M., Mohamadian, T. (2014) Anesthetic effect with MS222, Clove oil and 2-phenoxy-ethanol on Common carp (*Cyprinus carpio*) biochemical blood profile. Journal of wetland ecobiology. 18:23-32.
3. Dabirian, A., Sadeghim, M., Mojab, F., Talebi, A. (2013) The Effect of Lavender Aromatherapy on Sleep Quality in Hemodialysis Patients. J Nurs Midwifery Shahid Beheshti Univ Med Sci. 79(22): 9-16.
4. Ghiasi, F., Mirzargar, S. S., Salar Amoli, J., Bahonar, A., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A. (2011) Study on Hematology and Serum Biochemistry of Common carp (*Cyprinus carpio*) After low Cadmium Concentration Exposure. J Vet Res. 65(1): 61-66.
5. Halajian, A., Yousfi jordehi, A. Alah Kazemi, R., Shakouri, M. (2014) Acute zinc nitrate effects on

Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) gills. Journal of Azad shahr Islamic Azad University of Fisheries. 1(7):73-80.

6. Jafarnia, S., Khosro shahi, S., Ghasemi, M. (2008) A Comprehensive guide and illustrated the properties and application of medicinal plants.(1st ed.) Sokhan Gostar publisher. Mashhad, Iran. 3: 64-65.
7. Marking, L. L., Meyer, F. P. (1985) A better anesthetics needed in fisheries. Fisheries. 10(6): 2-5.
8. Munday, P. L., Wilson, S.k. (1997) Comparative efficacy of clove oil and other chemical, in anaesthetization of Pomacentrus amboinensis, a coral reef fish. J Fish Biol. (5): 931-938.
9. Pousti, A., Sedigh Marousti, A. (2000) Atlas of Fish Histology. (1st ed.) Tehran University publisher. Tehran, Iran.
10. Sharif pour, A., Soltani, M., abdolhy, H., Ghauomi, R. (2003) Effects of Clove oil (Eugenia caryophyllata) anesthetic in Different Conditions of pH and temperature in common carp (*Cyprinus carpio*). ISFJ. (4):59-74.
11. Soltani, M., Ghafari, M., Khazraeinia, P., Bokaei, S. (2004) Effects of Clove oil (Eugenia caryophyllata) anesthesia on haematological parameters, certain serum enzymes and some tissues in common carp(*Cyprinus carpio*). J Vet Res. 59(3): 295-299.
12. Soto, C.G., Burhanuddin, S. (1995) Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and Weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). Aquacult. 136: 149-152.
13. Velisek, J., Svobodov, Z. (2004) a Anaesthesia of Common carp (*Cyprinus carpio* L.) with 2-phenoxyethanol Acute toxicity and biochemical blood profile. Acta Vet Brno. 73(2): 247-252.
14. Velisek, J., Svobodov, Z. (2004) b Anaesthesia of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with 2-phenoxyethanol: Acute toxicity and effects on biochemical blood profile. Acta Vet Brno. 73 (3): 379-384.
15. Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Groch, L., Nepejchalova, L. (2005) a Effect of Clove oil anaesthesia on Common carp (*Cyprinus carpio*L). Vet Med. 50(6): 269-275.
16. Zargham, D., Sharifrohani, M., Falahat Naserabad, I., Bashti,T. (2013) Investigation of anesthetizing effect of tobacco (*Nicotiana tabacum*) aqueous and alcoholic extract on Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). ISFJ. 21: 33-40.

The Effect of Anesthetic Lavender (*Lavendula officinalis*) Essential Oil on Histopathological and Blood Biochemical Anzyms of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)

Golshan, N.[1], Mirdar Harijani, J.[1*], Gharaei, A.[2], Jamshidian, A.[3]

[1]*Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources,University of Zabol, Zabol, Iran*
[2]*Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Hamoon International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran*
[3]*Department of Veterinary, Faculty of Veterinary, University of Zabol, Zabol, Iran*
(Received 18 December 2017, Accepted 7 March 2018)

Abstract:

BACKGROUND: Obtaining an appropriate anesthetic drug for rapid anesthesia with long term and safe recovery has always been the concern of fisheries science researchers. **OBJECTIVES:** In this study the anesthetic strength of *Lavendula officinalis* essence oil on histopathological and blood biochemical factors of *Hypophthalmichthys molitrix* has been investigated. **METHODS:** 260 juvenile silver carp were divided into four groups with a mean weight and length of about 23.55±1.5 g and 15.6±1 cm, respectively. Three groups were anesthetized with concentrations of 200, 300 and 400 ppm Lavender essence oil and 4 groups were considered as control group. The time needed to reach different stages of anesthesia was recorded and in two times (0 and 24h after anesthesia), hematology tests were conducted. After removing plasma serum by centrifugation, ALP, AST and ALT amounts were measured, venesection histological (sampling of liver, kidney and gills) and conserved for histology. **RESULTS:** Lavender essence oil anaesthetizes *Hypophthalmichthys molitrix* in less than 3 minutes and recovery time was also less than 3 minutes. Moreover, anesthesia with different concentrations of lavander had no effect on hematological profile and no significant changes in the AST, ALT and ALP were observed ($p<0.05$). Histopathological analysis showed the optimum concentration of 300 ppm with no side effects and indicated that the concentration power of essences can be used without fear of damage. **CONCLUSIONS:** It is advised that Lavender essence oil be used as a standard medicine to anesthetize and supersede prevalent chemicals to create anesthesia and sedation in fish.

Keyword: Lavander essential oil, anesthesia, *Hypophthalmichthys moltrix*, histopathology

Figure Legends and Table Captions

Table 1. The Mean ±SD times to different phases of anesthesia and recovery by lavender on silver carp.[(a,b,c)] different letters indicate significance (05/0> p) between the groups in each row.

Table 2. Enzymes activity of AST, ALT, ALP for 0 h after anesthesia in the control group and anesthesia of groups with different lavender concentrations.[(a,b,c)] Different letters indicate significance (05/0> p)between the groups in each row.

Table 3. Enzymes activity of AST, ALT, ALP for 24 h after anesthesia in the control group and anesthesia of groups with lavender at different concentration.[(a,b,c)] Different letters indicate significance (05/0> p)between the groups in each row.

Figure 1. Gill tissue of silver carp exposed to 300ppm for24h: (A) Adhesion of lamellae (H&E,40X).

Figure 2. Gill tissue of silver carp exposed to 400ppm for24h: (A) infiltration of inflammatory cells in the gill filaments, (B) Destruction of lamellae (H&E,40X).

Figure 3. Kidney tissue of silver carp exposed to 200,300 and 400 ppm for one week: (A) epithelial tissue,(B) Reduction of nephritis (H&E,40X).

Figure 4. Gill tissue of silver carp exposed to 400 ppm for start: (A) Infiltration of inflammatory cells in the gill arch (B) Edema ,(C) Hyperemia (Vasodilation) (H&E,40X).

Figure 5. Gill tissue of silver carp exposed to 400 ppm for 24 h: (A) Adhesion of lamella,(B) Hyperplasia (H&E,40X).

Figure 6. Kidney tissue of silver carp exposed to 400 ppm for 24 h: (A) Nephritis (B) epithelial tissue, (C) Hyaline cast (H&E,40X).

***Corresponding author's email: javadmirdar@uoz.ac.ir, Tel: 054-32232600, Fax: 054-32232600**