

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

نغمه گلشن<sup>۱</sup>، جواد میردار هریجانی<sup>۱\*</sup>، احمد قرایی<sup>۲</sup>، عباس جمشیدیان<sup>۳</sup>

۱) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، 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 بیهوش کننده 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  $1/5 \pm 23/55$  و  $1 \pm 15/6$  Cm در چهار گروه دسته‌بندی شدند. ۳ گروه از ماهیان با غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ppm 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)، آسپارات 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 غلظت ۳۰۰ ppm، کپور نقره‌ای را در کمتر از ۳ min بیهوش کرد و بازگشت از بیهوشی نیز کمتر از ۳ min طول کشید. از طرفی بیهوشی با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس تأثیری بر پروفیل خون‌شناسی نداشته و تغییرات معنی‌داری در میزان آنزیم‌های ALT، AST و ALP در هیچ یک از ساعات‌های مذکور مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ) و در آسیب‌شناسی بافتی نشان داد که غلظت ۳۰۰ ppm فاقد تأثیرات جانبی است و می‌توان از این غلظت بدون نگرانی از آسیب‌های احتمالی اسانس مورد نظر استفاده نمود. **نتیجه‌گیری نهایی:** به نظر می‌رسد مصرف 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 آبی‌پروری مطرح می‌باشد. از این رو همواره دستیابی به یک داروی بیهوش کننده 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 آبی‌پروری شامل: زمان القای کمتر از ۱۵ min و ترجیحاً کمتر از ۳ min، 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 آروماترپی 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 آبی‌پروری 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 فرآورده‌های 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)، آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) جهت تشخیص ایمنی داروهای بیهوشی و آزمایشات هیستوپاتولوژی مورد سنجش قرار گرفتند.



## مواد و روش کار

تعداد ۲۶۰ قطعه ماهی کپور نقره‌ای در محدوده وزنی  $g \pm 1/5$  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 ۳۰۰ L حاوی ۲۵۰ L آب در شرایط بهینه نگهداری شدند. وزن و طول کل ماهیان با ترازو دیجیتال با دقت  $g \pm 0/1$  و خط‌کش با دقت ۱ ml اندازه‌گیری شد. دما، pH و سختی آب نیز در زمان آزمایش به ترتیب برابر  $24 \pm 0/4$ ،  $7/6 \text{ mg/l}$  و ۱۷۰ بود. در ضمن ۲۴ h قبل از شروع 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 Lavander می‌باشد که از شرکت باریج اسانس خریداری شد. بیهوشی در آکواریوم ۲۰ L حاوی ۱۰ L محلول بیهوشی که از ترکیب آب و ماده بیهوشی در غلظت‌های مورد آزمایش (۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ ppm) به دست آمده بود صورت گرفت. از آنجا که در تحقیقات شیلاتی و آبی پروری جهت آسانتر شدن روندهای مختلف دستکاری از قبیل: بیومتری، وزن کشی و حمل و نقل 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 ۴۰ L حاوی ۲۵ L آب فاقد ماده بیهوشی که به خوبی هوا دهی می‌شد انجام شد. سپس زمان‌های رسیدن به مراحل از دست 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 (جدول ۱). 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 جمع‌آوری و به مدت ۱۵ min با سرعت  $3000 \text{ r/min}$  سانتریفیوژ و نمونه‌های سرم جدا و در لوله‌های اپندروف ریخته شده و سپس در فریزر در دمای  $20^\circ \text{C}$  تا زمان آزمایش جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی باقی ماند (۲). پس از جداسازی پلاسما خون از طریق سانتریفیوژ، اندازه‌گیری آنزیم‌های

ALP (آلکالین فسفاتاز)، AST (آسپارات آمینو ترانسفراز)، ALT (آلانین آمینو ترانسفراز)، با دستگاه اتوالا لایزر 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 ۲۴ h 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 آبیگری در درجات مختلف الکل اتیلیک (۷۰ تا ۱۰۰٪) قرار داده شدند. پس از آبیگری، نمونه‌ها جهت شفاف سازی و خروج الکل از آن‌ها، در محلول گزیلول قرار داده شد. سپس نمونه‌ها در پارافین مذاب در دمای  $60-58^\circ \text{C}$  قرار گرفتند و پس از اتمام این مرحله، قالب‌گیری در پارافین صورت گرفت. لام‌های تهیه شده، با هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شدند و با استفاده از لامل و چسب بالزام سطح نمونه‌ها پوشیده شد و در نهایت توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و تفسیر قرار 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 Way ANOVA) 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  $\pm$  انحراف معیارهای آماری در نرم افزار Excel، SPSS ۱۶، 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 بر پروفیل خون‌شناسی نداشت و تغییرات معنی‌داری در میزان آنزیم‌های ALT، AST و ALP مشاهده نشد ( $p < 0/05$ ) همچنین آسیب‌های بافتی در بافت آبشش (تصاویر ۵، ۴، ۲، ۱) و بافت کلیه (تصویر ۶) 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 (۲۰۰، ۳۰۰ ppm) 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 نفرتیت و تورم سلولی بافت پوششی در کلیه) (تصویر ۳) در آن بافت‌ها بود. در نهایت آسیب‌شناسی بافتی نشان داد که غلظت بهینه ۳۰۰ ppm فاقد تأثیرات جانبی است و می‌توان از

جدول ۱. 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 ( $p < 0.05$ ) بین گروه‌هاست.

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

جدول ۲. فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP 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 ( $p < 0.05$ ) بین گروه‌هاست.

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

جدول ۳. فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP در ساعت ۲۴ پس از بی‌هوشی در گروه شاهد و گروه‌های بی‌هوش شده با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس. حروف متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین گروه‌هاست.

آنزیم/زمان	ساعت ۲۴ بعد از بی‌هوشی		
آنزیم (IU/L)	گروه شاهد	القای بی‌هوشی با غلظت ۲۰۰ ppm	القای بی‌هوشی با غلظت ۳۰۰ ppm
AST	۸۷/۶±۲/۱ <sup>a</sup>	۸۳±۱ <sup>a</sup>	۸۸/۳±۳/۷ <sup>a</sup>
ALT	۷/۶±۱/۵ <sup>a</sup>	۸/۶±۱/۵ <sup>a</sup>	۱۷/۳±۲/۰۸ <sup>a</sup>
ALP	۶۶±۱۴/۱ <sup>a</sup>	۶۸±۹/۸ <sup>a</sup>	۷۸/۶±۱/۵ <sup>a</sup>

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 بی‌هوش کنندگی عصاره‌های آبی و الکلی تنباکو بر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، غلظت‌های ۲۰۰ تا ۸۰۰ mg/l عصاره آبی تنباکو عملکرد موفق تری را دارا بود به طور کلی می‌توان گفت عصاره تنباکو قزل‌آلا را در کمتر از ۳ min 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 ۳ min شد، غلظت ۳۰۰ ppm 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 AST، ALP 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 و افزایش سطح سرمی آن‌ها شود (۱۷، ۱۸).

این غلظت بدون نگرانی از آسیب‌های احتمالی اسانس مورد نظر استفاده نمود. در ضمن غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm 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 بی‌هوشی ۳ min) ۳۰۰ ppm می‌باشد. از طرفی زمان بازگشت کامل ماهیان بی‌هوش شده با این غلظت حدود ۳ min بود. بر اساس مشاهدات صورت گرفته، با افزایش غلظت ماده بی‌هوش کننده زمان القای بی‌هوشی کمتر و مدت زمان برگشت از بی‌هوشی بیشتر می‌شود که با مطالعه Sharif pour و همکاران در سال ۲۰۰۳ همخوانی دارد (۱۰). با عنایت به اینکه دوز مؤثر بی‌هوش کننده 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 ۳۰۰ ppm نسبت به غلظت ۴۰۰ ppm می‌باشد می‌توان از این غلظت بدون نگرانی از آسیب‌های احتمالی اسانس مورد نظر استفاده نمود.

داروهای بی‌هوش کننده می‌توانند بر قسمت‌های مختلف سلول عصبی از جمله غشا سلول، انتقال دهنده‌های عصبی، گیرنده‌ها و کانال‌های یونی



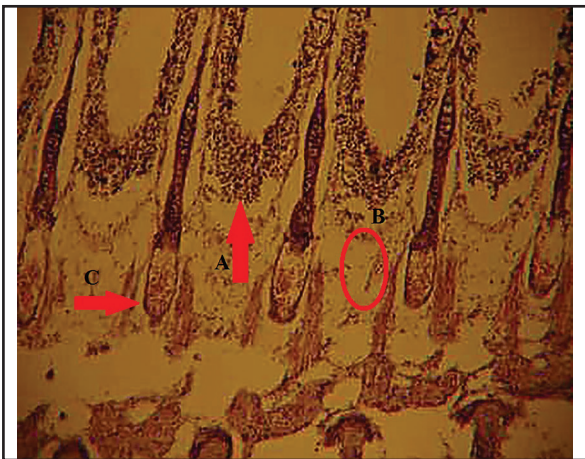




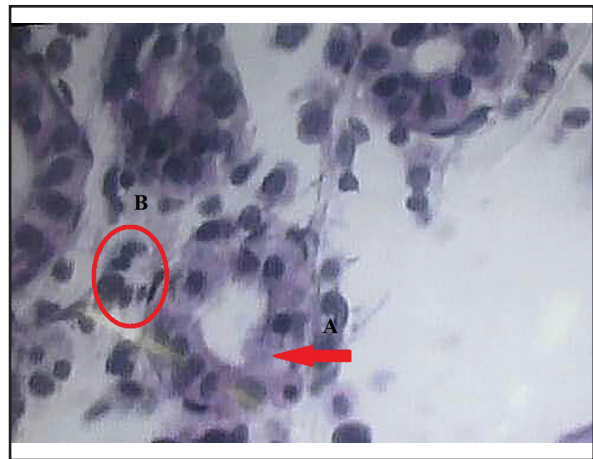
تصویر ۲. بافت آبهش کپور نقره‌ای، غلظت ۴۰۰ ppm، در طی ۲۴ ساعت، نفوذ سلول‌های آماسی در رشته اولیه (A) و از بین رفتن لاملاها (H&E) (۴۰X,A).



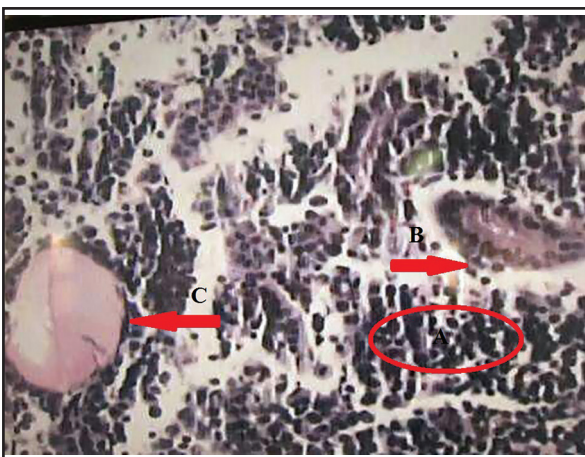
تصویر ۱. بافت آبهش کپور نقره‌ای، غلظت ۳۰۰ ppm، در طی ۲۴ ساعت، چسبندگی لاملاها (H&E) (۴۰X,A).



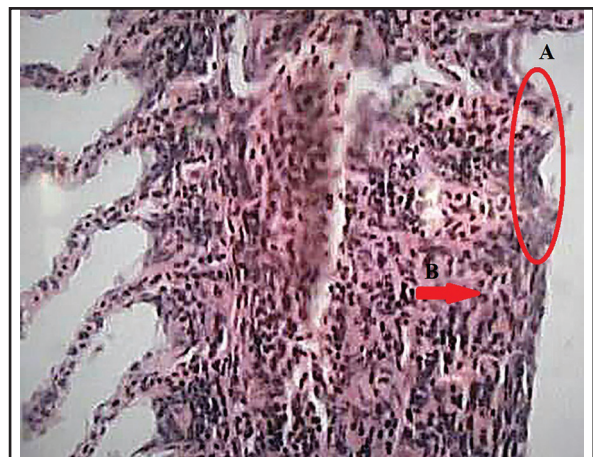
تصویر ۴. بافت آبهش کپور نقره‌ای، غلظت ۴۰۰ ppm، در شروع آزمایش، نفوذ سلول‌های آماسی در کمان آبهش (A)، ادم (B) و پرخونی (اتساع عروق خونی) (H&E) (۴۰X,A).



تصویر ۳. بافت کلیه کپور نقره‌ای، غلظت ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ppm در طی یک هفته، تورم سلولی بافت پوششی (A) و کاهش نفیریت (H&E) (۴۰X,A).



تصویر ۶. بافت کلیه کپور نقره‌ای، غلظت ۴۰۰ ppm، در طی ۲۴ ساعت، نفیریت (A)، تورم سلول‌های بافت پوششی (B) و کست هیالین (H&E) (۴۰X,A).



تصویر ۵. بافت آبهش کپور نقره‌ای، غلظت ۴۰۰ ppm، در طی ۲۴ ساعت، چسبندگی لاملاها (A) و هیپرپلازی (B). (H&E) (۴۰X,A).

(صفر و ۲۴ ساعت پس از ایجاد بیهوشی) تحت تأثیر قرار نگرفته و تفاوت معنی داری بین فعالیت آنزیم‌ها بین گروه‌های تیماری و تیمار شاهد مشاهده

در این پژوهش فعالیت هر سه آنزیم در سرم خون ماهیان بیهوش شده با اسانس اسطوخودوس در مراحل مختلف نمونه‌گیری در فواصل زمانی

نشد ( $p < 0.05$ ).

در نهایت با توجه به عدم مشاهده آسیب‌های برگشت‌پذیر در بافت‌های مورد مطالعه (آبشش، کبد و کلیه) و نیز عدم تغییرات معنی‌دار در برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون در تحقیق حاضر و تحقیق‌های مشابه انجام گرفته و با عنایت به عدم خطر مسمومیت انسانی توسط اسانس اسطوخودوس در مقایسه با بیهوش کننده‌های شیمیایی متداول از قبیل MS222 و بنزوکائین، همچنین سازگاری آن با محیط زیست به علت تجزیه سریع در محیط آب، ایجاد بیهوشی و نیز بهبودی سریع و ارزان بودن آن، این اسانس 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.

### تشکر و قدردانی

از مسئولین و کارکنان پژوهشکده‌ی تالاب بین‌المللی هامون 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-phenoxyethanol 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

نتایج مطالعه انجام شده توسط Soltani و همکاران در سال ۲۰۰۴ بر روی کپور معمولی تحت تأثیر غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm اسانس گل میخک هندی در رابطه با معنی‌دار نشدن مقادیر فاکتورهای آنزیمی خون شامل آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارات 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 سال ۲۰۱۱ در مقدار آنزیم‌های سرمی ALT، AST، ALP و ماهیان گروه تیمار اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد. البته در مقادیر آنزیم‌های مذکور بین ماهیان گروه شاهد با تیمار افزایش مشاهده شد اما این تفاوت به شکل معنی‌دار نبود که افزایش این آنزیم‌ها به آسیب‌های سلولی در بافت‌های هدف که در مسمومیت با کادمیوم درگیر می‌شوند 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، 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 شده با اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های مختلف (۳۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm)، آسیب‌های بافتی را در ماهیان مورد آزمایش در زمان‌های صفر و ۲۴ h پس از بیهوشی، نشان داد اما در پایان، بررسی هیستوپاتولوژی نمونه‌های برداشته شده از آبشش و کلیه ماهیان تحت تیمار اسانس اسطوخودوس بیهوش شده بودند و به مدت یک هفته در آکواریوم‌های ریکواری تحت نظر بودند، حاکی از کاهش یا عدم مشاهده ضایعات در آن بافت‌ها بود. در مطالعه Halajian و همکارانش در سال ۲۰۱۴ بر روی اثرات حاد نیترات روی بر بافت آبشش ماهی فیتوفاگ پرورشی، مطالعات میکروسکوپی عوارضی مانند هیپرپلازی، تلانژیکتازی، نکروز می شدن رشته‌های ثانویه، آنوریسم، پرخونی و به هم چسبیدن رشته‌های ثانویه آبششی را در تیمارهای مورد آزمون در مقایسه 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 و جمجمه)، h۲۴ پس از بیهوشی نشان داد که در ۲۰٪ از ماهیان، گشادشدگی 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 غلظت ۳۰ mg/l هیچگونه آسیب غیر قابل برگشتی در قزل‌آلای رنگین کمان ایجاد نمی‌کند (۱۵).





- 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.(1<sup>st</sup> ed.) Sokhan Gostar publisher. Mashhad, Iran. 3: 64-65.
  7. Marking, L. L., Meyer, F. P. (1985) A better anesthetic 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. (1<sup>st</sup> 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., Bokaie, 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 Nasera-bad, I., Bashti,T. (2013) Investigation of anesthetic 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.<sup>1</sup>, Mirdar Harijani, J.<sup>1\*</sup>, Gharaei, A.<sup>2</sup>, Jamshidian, A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran

<sup>2</sup>Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Hamoon International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran

<sup>3</sup>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 lavender 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:** Lavender essential oil, anesthesia, *Hypophthalmichthys molitrix*, histopathology

## Figure Legends and Table Captions

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

**Figure 1.** Gill tissue of silver carp exposed to 300ppm for 24h: (A) Adhesion of lamellae (H&E,40X).

**Figure 2.** Gill tissue of silver carp exposed to 400ppm for 24h: (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

J. Vet. Res. 73, 1, 2018