تأثیر بی‌هوشی اسانس اسطوخودوس(*Lavendula officinalis*) بر آسیب‌های بافتی و آنزیم‌های سرمی خون ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)

صفیه توفیقی مقدم[۱]، جواد میردار هریجانی[۱*]، احمد قرایی[۱] و مصطفی غفاری[۲]

[۱] **زابل، دانشگاه زابل، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات**

[۲] **چابهار، دانشگاه علوم و فنون دریایی، دانشکده علوم دریایی، گروه شیلات**

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۱۵

چکیده

دستیابی به یک داروی بیهوش‌کننده مناسب جهت بیهوشی سریع با بازگشت طولانی مدت و ایمن از آن، همواره دغدغه محققین علوم شیلاتی بوده است. در مطالعه حاضر به بررسی اثر بی‌هوش کنندگی اسانس اسطوخودوس روی ماهی سفیدک سیستان پرداخته شد. تعداد ۲۶۰ عدد بچه‌ماهی شیزوتراکس با میانگین وزن و طول کل به ترتیب ۱/۵۰±۵۸/۶۹ گرم ۱/۱۶±۲۰/۷۷ سانتی‌متر در غلظت‌های ppm ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ اسانس اسطوخودوس به شیوه حمام بیهوش شدند و جهت انجام بررسی آنزیم‌های AST (آسپارتات آمینوترانسفراز)، ALT (آلانین آمینوترانسفراز) و ALP (آلکالین فسفاتاز) و آزمایش‌های بافت‌شناسی، اقدام به نمونه‌برداری از ماهیان در دو نوبت صفر (۱۰ دقیقه پس از بیهوشی) و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی شد. اسانس اسطوخودوس در غلظت ppm ۳۰۰ بیهوشی عمومی را القا کرده و تأثیری بر آنزیم‌های سرمی فوق‌الذکر نداشت. آسیب‌شناسی بافتی نشان داد که غلظت بهینه ppm ۲۰۰ خاصیت آرام بخشی و غلظت ppm ۳۰۰ غلظت مناسب بیهوشی و فاقد تأثیرات جانبی بود و می‌توان از این غلظت بدون نگرانی از آسیب‌های احتمالی اسانس موردنظر استفاده نمود. مصرف اسانس اسطوخودوس به‌عنوان یک داروی استاندارد در امور بیهوشی و به‌عنوان جایگزین مواد شیمیایی متداول در ایجاد بیهوشی و آرام بخشی در ماهیان قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: اسانس اسطوخودوس، بیهوشی، *Schizothorax zarudnyi* ، آسیب‌های بافتی، فعالیت آنزیمی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۲۸۰۷۳۸۳ ، پست الکترونیکی: javadmirdar@uoz.ac.ir

مقدمه

به علت کاربردهای متنوع مواد بیهوشی، پژوهشگران و متخصصان علوم آبزیان همواره درصدد یافتن مواد مناسب و مطلوب بیهوش کننده برای موجودات مختلف ازجمله ماهی هستند. یک داروی بیهوشی ایده‌آل بایستی واجد ویژگی‌های زیر باشد: ۱- القای بیهوشی را به سرعت و با حداقل استرس ایجاد نماید. ۲- استفاده از آن به‌آسانی صورت پذیرد. ۳- بی‌حرکتی مطلوبی را ایجاد کند. ۴- مؤثر و مطمئن باشد و منجر به عدم تعادل بلندمدت و سایر مشکلات نشود. ۵- در غلظتهای پایین مؤثر باشد و غلظت مؤثر آن با غلظت سمیت فاصله زیادی داشته باشد. ۶- برای فرد کاربر محرک و سمی نباشد. ۷- قابلیت حلالیت مطلوبی در آب داشته باشد و در غیر این صورت حلال‌های آن به مقدار کافی در دسترس و ارزان باشد. ۸- پایداری زیادی ازنظر شیمیایی داشته باشد و سریع فاسد نشود. ۹- بی‌دردی خوبی ایجاد کند. ۱۰- ارزان باشد و احیا ماهی از بیهوشی ایجادشده توسط آن آسان، ایمن و سریع باشد. ۱۱- برای مصرف‌کننده گوشت ماهی بیهوش شده خطری نداشته باشد. ۱۲- به سرعت در محیط تجزیه

شود و برای سایر موجودات زنده اکوسیستم غیرسمی باشد. ۱۳- اثرات تجمعی در اثر کاربرد مکرر آن ایجاد نگردد. ۱۴- سوخت‌وساز سریعی در بدن ماهی داشته باشد (۶).

گیاه اسطوخودوس از خانواده *Lamiaceae* بانام علمی *Lavendula officinalis* و نام انگلیسی Lavander می‌باشد (۲). اسانس اسطوخودوس (بیش از ۳ درصد) از تقطیر سرشاخه‌های گلدار و به‌ویژه ازگل‌های آن به دست می‌آید. اسانس آن بیش از ۴۰ نوع ترکیب مختلف دارد که مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از: لینالیل استات، سینئول، لینالول، نرول و بورنئول (۱۲). عمده‌ترین ترکیبات اسانس اسطوخودوس به ترتیب مربوط به لینالول (۴۴/۵ درصد)، لینالیل استات (۳۲/۷ درصد) و سینئول (۴/۸ درصد) می‌باشد (۱۳و ۲۱). از طرفی اثر ضد اضطرابی اسطوخودوس توسط Fiber and Quante در سال ۲۰۱۴ مورد بررسی قرارگرفت (۱۵). رضایی و همکاران در سال ۱۳۸۹ اثرات تسکینی، پیش بیهوشی و ضداضطرابی این گیاه را اثبات کردند (۵).

ماهی سفیدک سیستان دارای دو جفت سبیلک، دهان زیرین و نعل اسبی شکل و دندان حلقی سه ردیفی به فرمول ۵،۴،۲- ۲،۳،۵ می‌باشد. این ماهی در دریاچه‌هایی با آب شیرین، قسمت‌های پایین‌دست رودخانه‌ها با بستر ماسه‌ای توأم با گل‌ولای که در اطراف آن گیاهان آبزی مانند نی وجود دارد، زندگی می‌کند. با توجه به رشد نسبتاً خوب و نیز فراوانی آن در تالاب هامون، ارزش صید ورزشی و اقتصادی بالایی برای مردم سیستان دارد (۹). در مطالعه حاضر برای ارزیابی میزان اثرات جانبی احتمالی اسانس اسطوخودوس، آنزیم‌های آلانین ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) جهت تشخیص ایمنی داروهای بیهوشی و آزمایشات هیستوپاتولوژی مورد سنجش قرارگرفتند که با آسیب سلول‌ها، آنزیم‌هایی به خون ترشح می‌شود که با اندازه‌گیری آن‌ها به‌عنوان شاخص‌های آسیب سلولی می‌توان به‌شدت آسیب پی برد. یکی از این آنزیم‌ها آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) است که به‌طور مشخص در آسیب‌های کبدی افزایش می‌یابد. آنزیم دیگر آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) است که نقش مشابهی را در سایر بافت‌ها ایفا کرده ولی مختص کبد نبوده و در هنگام آسیب‌های سلولی میزان آنزیم‌های ALT و AST خون قبل از بروز نشانه‌های بالینی و علائم ظاهری افزایش می‌یابد (۱۴). با اندازه‌گیری ALT و AST موجود در سرم می‌توان ضایعات ناشی از مسمومیت با سموم و فلزات سنگین را تشخیص داد (۱۱). هم‌چنین در سال‌های اخیر سنجش ALT و AST به‌عنوان یکی از آزمایش‌های رایج جهت تشخیص ایمنی داروهای بی‌هوشی تبدیل‌شده است (۷).

سلطانی و همکاران در سال ۱۳۸۳ به مطالعه اثرات بیهوشی اسانس گل‌میخک هندی بر پارامترهای هماتولوژیک، برخی آنزیم‌های خون و آسیب‌شناسی بافتهای مختلف ماهی‌کپور معمولی پرداختند که در این مطالعه اثرات جانبی احتمالی هوشبری اسانس گل‌میخک با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm بر برخی از فاکتورهای هماتولوژیک، آنزیم‌های سرمی و بافت‌های کبد، کلیه، طحال، آبشش و مغز ماهی‌کپور معمولی مورد مطالعه قرارگرفت که نتایج حاصله نشان داد که اختلاف معنی‌داری در مقادیر فاکتورهای خونی شامل جمعیت لکوسیتی و گلبول قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و آنزیمی شامل ALT، AST و لاکتات دهیدروژناز مشاهده نگردید (۷). حسینی و حسینی در سال ۱۳۹۱ به بررسی ارتباط شاخص‌های استرس بازمان و مرحله بیهوشی در کپور معمولی (Linnaeus) *Cyprinus carpio* در غلظت‌های مختلف محلول میخک پرداختند. ماهیان در معرض غلظت‌های ۰/۷، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ گرم برلیتر محلول میخک قرارگرفتند و مدت‌زمان رسیدن به مرحله ۳ و ۵ بیهوشی ثبت گردید. نتایج نشان داد که در مرحله ۳ بیهوشی، کورتیزول تنها با زمان ارتباط داشت ولی گلوکز با زمان یا غلظت ارتباط نداشت. ولی در مرحله ۵ بیهوشی،

هم کورتیزول و هم گلوکز ارتباط معناداری با زمان و غلظت داشتند و اثر زمان بیش‌تر از غلظت بود (۴).

هدف از این مطالعه تعیین میزان کارایی اسانس اسطوخودوس بعنوان یک ماده بیهوش کننده جهت استفاده در فعالیت‌های تکثیر و پرورش ماهی سفیدک سیستان(شیزوتوراکس) و تأثیرات سوء احتمالی آن بر آنزیم‌های سرمی خون در این‌گونه شامل ALT, AST و ALP است.

مواد و روشها

اسانس اسطوخودوس مورد استفاده در این آزمایش از شرکت باریج اسانس تهیه شد. به‌منظور انجام آزمایش تعداد ۲۶۰ عدد ماهی شیزوتراکس با میانگین وزن و طول کل به ترتیب ۱/۵۰±۵۸/۶۹ گرم و ۱/۱۶±۲۰/۷۷ سانتی‌متر در آکواریوم‌های حاوی ۳۰ لیتر آب به‌طور تصادفی توزیع شدند و۲۴ ساعت پیش از انجام آزمایش‌ها و نیز در مدت انجام آزمایش‌ها برای مشخص شدن بهتر اثرات ماده بیهوشی و شرایط کیفی آب بر روند بیهوشی و بازگشت از آن، ماهی‌ها تغذیه نمی‌شدند (۸). گروه‌های آزمایشی شامل گروه شاهد و سه گروه آرام بخشی و بیهوشی با غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر بودند. ماهیان گروه شاهد در معرض ماده بیهوشی قرارنگرفتند. با توجه به اینکه غلظتهای بالای اسانس اسطوخودوس نتوانست باعث مرگ‌ومیر در گونه مورد آزمایش شود بنابراین از غلظت‌های مشابه با تحقیقات دیگر، برای تیماردهی استفاده شد. ماهیان به شیوه حمام در آکواریوم‌ها به آرام بخشی رسیده و درنهایت بیهوش شدند و پس از ایجاد بیهوشی کامل و احیاء به تانک‌های مجزای فاقد ماده بیهوشی منتقل شدند.

زمان‌های رسیدن به مراحل از دست رفتن تعادل و بیهوشی سبک (جدول۲) با دقت دهم ثانیه، بر اساس جدول ۱، توسط کرنومتر ثبت شد.

خون‌گیری از تعداد ۹ ماهی در هر تیمار از طریق سیاهرگ وریدی ساقه دمی و به روش جانبی صورت گرفت. پس از جداسازی سرم خون از طریق سانتریفیوژ، اندازه‌گیری آنزیم‌های AST،ALT و ALP با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر سلکترا (Selectra) مدل PROM ساخت کشور هلند در آزمایشگاه دامپزشکی دانشگاه زابل براساس روش پیشنهادی سلطانی و همکاران (۱۳۸۳) انجام شد (۷).

جدول ۱- مراحل بیهوشی و بازگشت از بیهوشی در ماهی (اصلاح شده از ۱۶)

مراحل بیهوشی	تسکین جزئی	از دست دادن جزئی واکنش به تحریک بینایی و لمسی بیرونی؛ حرکت سرپوش آبششی اندکی کاهش می‌یابد؛ تعادل نرمال
	تسکین عمیق	از دست دادن کامل واکنش به تحریک خارجی بجز اعمال فشارقوی، کاهش جزئی حرکت سرپوش آبششی؛ تعادل نرمال
	عدم تعادل جزئی	شنای نامنظم، افزایش حرکت سرپوش آبششی، فقط واکنش به لمس قوی و تحریک لرزشی
	عدم تعادل کامل	از دست دادن کامل تعادل، حرکت سرپوش آبششی کم ولی منظم، از دست دادن واکنش نخاعی
	بیهوشی سبک	از دست دادن کامل واکنش‌پذیری، حرکات سرپوش آبششی کم و نامنظم، ضربان قلب بسیار کند، از دست دادن کلیه واکنش‌ها
	بیهوشی عمیق	حرکات سرپوش آبششی ناچیز، معمولاً ایست قلبی سریعاً اتفاق می‌افتد.
	مرحله	رفتار ماهی
مراحل احیاء یا بازگشت از بیهوشی	سرپوش	حرکت سرپوش آبششی
	بازگشت تعادل جزیی	برگشت جزئی تعادل و شنا
	بازگشت تعادل کامل	احیاء تعادل
	پاسخ به محرک	ظهور حرکت شنای اجباری و واکنش به تحریک بیرونی، پاسخ رفتاری هنوز کامل نیست.
	احیاء (ریکاوری)	احیاء رفتاری کامل، شنا نرمال

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار زمان‌های رسیدن به مراحل مختلف بیهوشی و بازگشت از آن در ماهی شیزوتراکس تحت تأثیر اسانس اسطوخودوس (زمان به ثانیه).

مراحل/تیمار	۲۰۰ ppm	۳۰۰ppm	۴۰۰ppm
از دست دادن تعادل	۸۵±۱۳/۲ [a]	۷۰/۵۰۰ ±۶/۹ [ab]	۵۳/۲۵ ±۵ [b]
بیهوشی سبک	۱۸۰/۷۵ ±۲/۸ [a]	۱۱۱ ± ۶/۷ [b]	۷۸/۵ ±۷/۵ [b]
بازگشت تعادل	۱۰۳/۷۵ ±۱۰/۷ [a]	۱۱۳/۷۵ ±۳/۵ [a]	۱۳۶/۷۵ ±۲/۵ [a]
احیا کامل	۱۴۰/۷۵ ±۴/۳[a]	۱۹۱/۷۵ ±۱۳/۶ [b]	۲۲۶/۲۵ ±۵/۸ [c]

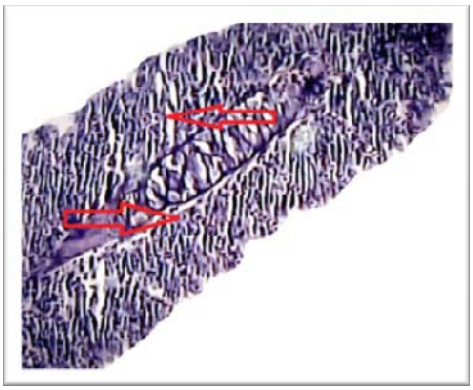
حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵)بین گروه‌هاست.

جهت انجام بافت‌شناسی از هر تیمار، ۳ عدد ماهی بلافاصله پس از احیا و ۳ عدد دیگر ۲۴ ساعت پس از بیهوشی جداسازی و بافت‌های کبد، کلیه و آبشش آن‌ها در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. نمونه‌های فیکس شده جهت تهیه مقاطع بافتی میکروسکوپی، به‌منظور فرایند آبگیری در درجات مختلف الکل اتیلیک (۷۰ تا ۱۰۰درصد) قرارداده شدند. پس از آبگیری، نمونه‌ها جهت شفاف‌سازی و خروج الکل از آن‌ها، در محلول گزیلول قرارداده شد. سپس نمونه‌ها در پارافین مذاب در دمای ۶۰-۵۸ درجه سانتی‌گراد قرارگرفتند و پس از اتمام این مرحله، قالب‌گیری در پارافین صورت گرفت. لام‌های تهیه شده، با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و با استفاده از لامل و چسب بالزام سطح نمونه‌ها پوشیده شد و درنهایت توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و تفسیر قرارگرفتند (۱).

به‌منظور انجام تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها، ابتدا نرمال بودن آن‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov انجام شد. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی جهت مقایسه میانگین بین تیمارها و برای تعیین اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌ها در گروه‌های مختلف از آزمون دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. کلیه مراحل آماری در نرم‌افزارSPSS16 و رسم نمودارها درExcell 2010 انجام شد.

نتایج

اسانس اسطوخودوس در محدوده‌ی غلظت‌های ۲۰۰ تا ۴۰۰ ppm منجر به مرگ‌ومیر ماهیان مورد آزمایش نشد و باعث ایجاد القای بیهوشی ماهیان شیزوتراکس گشت. زمان‌های متوسط بیهوشی و بازگشت مجدد در جدول های ۳ و ۴ ارائه‌شده‌اند. القا بیهوشی در ماهیان شیزوتراکس با استفاده از اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های مختلف نشان داد که با افزایش بر غلظت آن مدت‌زمان لازم برای رسیدن به مرحله از دست رفتن تعادل ماهی کاهش می‌یابد. از طرفی بیهوشی با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس تأثیری بر پروفیل خون‌شناسی نداشته و تغییرات معنی‌داری را در میزان آنزیم‌های AST، ALT و ALP نشان نداد (P<۰/۰۵).

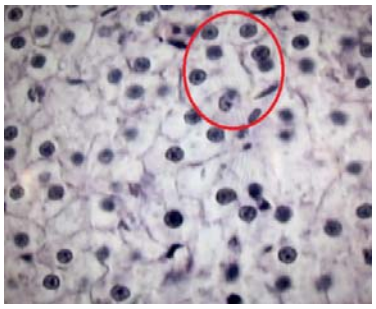


شکل۱- بافت آبشش گروه تیماری ppm ۴۰۰، در ابتدای آزمایش، پیکان نشان‌دهنده چسبندگی لاملاها، (H & E ،۴۰x)

همچنین آسیب‌های بافتی در بافت آبشش (شکل‌های۱ و۲)، کبد (شکل‌های ۳ و۴) و کلیه (شکل‌های ۵،۶ و۷)

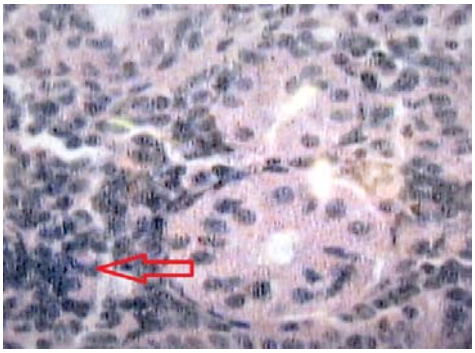
ماهیان مورد آزمایش در زمان‌های صفر و ۲۴ ساعت پس از بیهوشی، در شکل‌های مذکور قابل‌مشاهده بود.

شکل۲- بافت آبشش گروه تیماری ppm ۴۰۰، پس از ۲۴ ساعت، پیکان‌ها نشان‌دهنده کاهش چسبندگی لاملاها، (H & E ،۴۰x)

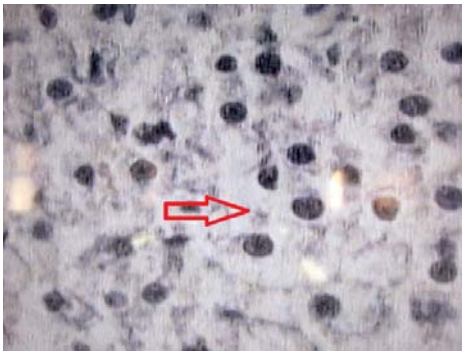


شکل ۳- بافت کبد ماهیان، گروه تیماری ppm ۳۰۰، در ابتدای آزمایش، دایره نشان‌دهنده دژنره شدن بافت به‌صورت خفیف (H & E ،۴۰x)

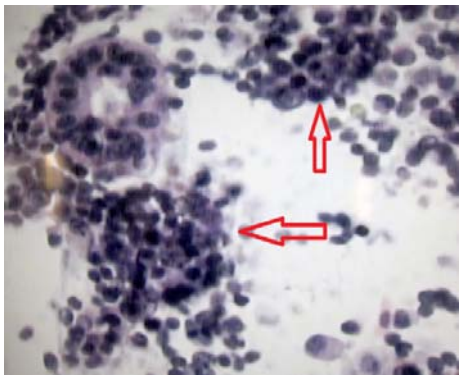
در نهایت آسیب‌شناسی بافتی نشان داد که غلظت بهینه ۳۰۰ppm فاقد تأثیرات جانبی است و می‌توان از این غلظت بدون نگرانی از آسیب‌های احتمالی اسانس موردنظر استفاده نمود. در ضمن غلظت ppm ۲۰۰ نیز می‌تواند به‌عنوان کاهش‌دهنده استرس در زمان انتقال ماهی سفیدک سیستان (شیزوتوراکس) استفاده گردد.



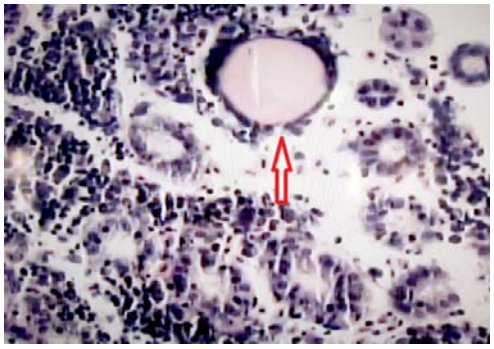
شکل۴- تصویر کبد ماهیان گروه تیماری ppm ۳۰۰،پس از ۲۴ ساعت ، پیکان نشان‌دهنده کاهش آسیب‌دیدگی(H & E ،۴۰x)



شکل ۵- بافت کلیه ماهیان گروه تیماری ppm ۳۰۰، در ابتدای آزمایش، پیکان نشان‌دهنده پرخونی و نفریت (H & E ،۴۰x)



شکل ۶- بافت کلیه ماهیان گروه تیماری ppm ۳۰۰، پس از ۲۴ ساعت، پیکان نشان‌دهنده کاهش پرخونی و نفریت (H & E ،۴۰x)



شکل ۷- نمونه بافت کلیه ماهی مربوط به گروه تیماری ppm ۴۰۰، در ابتدای آزمایش، پیکان نشان‌دهنده پرخونی، نفریت و کست هیالین(H & E ،۴۰x)

جدول۳- فعالیت آنزیم‌های AST،ALT وALP، در زمان شروع بیهوشی در گروه شاهد و گروه‌های بیهوش شده با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس

آنزیم/زمان		شروع بیهوشی		
آنزیم(IU/L)	گروه شاهد	القای بیهوشی با غلظت ۲۰۰ppm	القای بیهوشی با غلظت ۳۰۰ppm	القای بیهوشی با غلظت ۴۰۰ppm
AST	۲۷۵/۳ ±۷/۳	۲۸۲ ±۷/۲	۱۹۰/۶ ±۶/۷	۲۶۰ ±۷
ALT	۱۰۵/۳ ±۲/۷	۱۰۹/۳ ±۹/۴	۹۶ ±۸/۶	۹۰/۶ ±۸/۲
ALP	۸۷/۶ ±۹/۶	۱۰۸/۶ ±۶	۶۷ ±۷/۵	۸۴ ±۵/۷

جدول۴- فعالیت آنزیم‌های AST،ALT وALP، طی ۲۴ ساعت پس از بیهوشی در گروه شاهد و گروه‌های بیهوش شده با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس

آنزیم/زمان		ساعت۲۴ بعد از بیهوشی		
آنزیم(IU/L)	گروه شاهد	القای بیهوشی با غلظت ۲۰۰ppm	القای بیهوشی با غلظت ۳۰۰ppm	القای بیهوشی با غلظت ۴۰۰ppm
AST	۲۸۲/۶ ±۲/۴	۳۶۳/۳ ±۵/۷	۳۵۶ ±۲/۷	۲۸۴/۶ ±۳/۴
ALT	۱۱۶/۳ ±۲/۳	۹۳/۶ ±۵/۱	۱۰۵ ±۷/۸	۷۷/۳ ±۵/۵
ALP	۹۱ ±۹/۹	۹۷/۶ ±۴/۵	۷۱/۳ ±۳/۲	۶۴/۶ ±۹/۵

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت بهینه موردنیاز اسانس اسطوخودوس جهت بیهوش نمودن ماهی شیزوتراکس در زمان توصیه شده (حداکثر زمان القاء بیهوشی ۳ دقیقه) ۳۰۰ppm می‌باشد. از طرفی زمان بازگشت کامل ماهیان بیهوش شده با این غلظت حدود ۳ دقیقه بود. طبیعی است که با افزایش غلظت ماده بیهوش‌کننده زمان القای بیهوشی سریعتر و احیا کامل از بیهوشی روند افزایشی داشته باشد.

با توجه به اینکه یک ماده بیهوش کننده مطلوب برای ماهیان بایستی به ترتیب زمان‌های القا و احیا کامل ۳ و ۵ دقیقه را داشته باشند (۲۰). تمامی غلظت‌های به کار گرفته‌شده در این تحقیق، معیارهای لازم برای یک ماده بیهوش کننده‌ی مناسب را به نمایش گذاشتند. بنابراین دلایل و هم‌چنین حاشیه‌ی امنیت خوب (تفاوت زیاد بین غلظت مؤثر و کشنده) (۲۲) اسانس اسطوخودوس، این اسانس را بعنوان یک بیهوش کننده مناسب برای بیهوشی ماهی شیزوتراکس مطرح می‌نماید، زیرا در بین حداقل غلظت ppm ۲۰۰ و ppm ۴۰۰ که حداکثر غلظت مورد آزمایش است، آسیب قابل‌توجهی متوجه ماهیان نشد.

توماس و رابرتسون (۱۹۹۱) مدعی شده‌اند که مواد بیهوشی تأثیرات استرس‌زایی را در ماهی ایجاد می‌کنند و متعاقب آن سیستم ایمنی ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۳). پارامترهای خون‌شناسی بعنوان شاخص‌های فیزیولوژیکی استرس در تغییرات محیط داخلی و خارجی ماهیان استفاده می‌شوند (۱۰). استرس ناشی از بیهوشی می‌تواند باعث تغییرات هورمونی و متابولیکی خون شود (۳). هنگامی‌که برخی از سلول‌ها آسیب ببینند، آنزیم‌هایی را به داخل خون آزاد می‌کنند، بنابراین این آنزیم‌ها معرفی برای آسیب دیدن سلول می‌باشند. درواقع آسیب رسیدن کبد با اندازه‌گیری میزان آنزیم‌های AST, ALT و تا حدی ALP سرم خون تشخیص داده می‌شود چراکه با آسیب دیدن سلول کبدی این آنزیم‌ها به داخل خون آزاد می‌شوند (۱۹).

با مقایسه نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق، با نتایج به‌دست‌آمده توسط سلطانی و همکاران در سال ۱۳۸۳، روی ماهی کپور معمولی و نیز نتایج حاصل از مطالعه

ولیسک و همکاران در سال ۲۰۰۵، روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، که هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در میزان ALT و AST به دنبال بیهوشی با اسانس میخک دیده نشد (۷ و ۲۴)، می‌توان نتیجه گرفت که اسانس اسطوخودوس نیز همانند اسانس میخک می‌تواند به‌عنوان یک ماده بیهوشی جدید و ایمن برای بیهوش نمودن ماهی شیزوتراکس پیشنهاد گردد.

همچنین بیهوشی با غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس تأثیری بر پروفیل خون‌شناسی نداشته و تغییرات معنی‌داری در میزان آنزیم‌های AST، ALT و ALPمشاهده نشد (P<۰/۰۵). مطالعات مربوط به آسیب-شناسی بافتی نشان داد که غلظت بهینه ۳۰۰ppm فاقد تأثیرات جانبی است و می‌توان از این غلظت بدون نگرانی از آسیب‌های احتمالی استفاده نمود. ماده‌ی بیهوش کننده‌ی پرکاربرد MS222 با غلظت ۲۵۰ تا ۳۵۰ میلی‌گرم بر لیتر برای بیهوش کردن بچه ماهیان کپور معمولی توصیه‌شده است (۱۸)، همچنین نتایج به‌دست‌آمده توسط سلطانی و همکاران در سال ۱۳۸۳ نشان داد که مصرف اسانس گل میخک تا ۲۰۰ ppm بعنوان ماده بیهوشی در آبزی‌پروری بی‌خطر و قابل توصیه می‌باشد (۷). با مقایسه این نتایج با داده‌های بدست آمده در تحقیق حاضر می‌توان به این نتیجه رسید که مقدار اسانس اسطوخودوس مورد استفاده جهت بیهوش کردن ماهی شیزوتوراکس نیز در حد کاملاً منطقی و معمول می‌باشد.

در بررسی منابع، مطالعه مشابهی در مورد بیهوشی با اسانس اسطوخودوس و بررسی اثرات اسانس این گیاه بر بافت ماهیان یافت نشد. مقایسه نتایج بدست آمده در فواصل زمانی صفر و ۲۴ ساعت، بیانگر کاهش درصد آسیب‌های برگشت‌پذیر (پرخونی و ادم) بافت آبشش بوده و در بافت کبد مقدار دژرسانس چربی که یکی از آسیب‌های برگشت‌پذیر بوده و در اثر ورود سموم در بدن ایجاد می‌شود در غلظت‌های موردنظر (۳۰۰ و ۴۰۰ ppm) کاهش داشت. در بافت کلیه نیز آسیب‌های برگشت‌پذیر موردنظر رو به کاهش است. مدت‌زمان حذف دارو در بدن به نوع داروی مورد استفاده، خصوصیات بافتی، میزان غلظت مصرفی و دیگر شرایط بستگی دارد (۱۷). بااین‌حال، با توجه به عدم مشاهده ضایعات بافتی غیرقابل بازگشت در اندام‌های حیاتی آبشش، کلیه و کبد و نیز عدم خطر مسمومیت انسانی در مقایسه با بیهوش کننده‌های شیمیایی متداول از قبیل MS222 و بنزوکائین، سازگاری آن با محیط‌زیست به علت تجزیه سریع در محیط آب، ایجاد بیهوشی و نیز بهبودی سریع و نیز ارزان بودن آن، مصرف اسانس اسطوخودوس به‌عنوان جایگزین مواد شیمیایی متداول در ایجاد بیهوشی و آرام بخشی ماهیان قابل توصیه است.

منابع

۱- پوستی، ا.، و صدیق مروستی، س.، ۱۳۷۸. اطلس بافت‌شناسی ماهی. انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۸۰ .

۲- جعفرنیا، س.، خسروشاهی، س.، و قاسمی، م.، ۱۳۸۷. راهنمای جامع و مصور خواص و کاربرد گیاهان دارویی، چاپ سوم، انتشارات سخن‌گستر، صفحات ۶۵-۶۴.

۳- جهانبخشی، ع.، هدایتی، ع.، و جوادی موسوی، م.، ۱۳۹۳. تأثیر ماده‌ی ۲-فنوکسی‌اتانول (۲-phenoxyethanol) به‌عنوان ماده‌ی بیهوش کننده بر شاخص‌های خونی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspius*)، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، (۳) ۲۷، صفحات ۳۴۷-۳۳۸.

۴- حسینی، م.، و حسینی، ع.، ۱۳۹۱. ارتباط شاخص‌های استرس بازمان و مرحله بیهوشی در کپور معمولی (Linnaeus) *Cyprinus carpio* در غلظت‌های محلول میخک، نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱ (۴)، صفحات ۶۷-۵۷.

۵- رضایی، ع.، جعفری، ب.، و جلیل زاده هدایتی، م.، ۱۳۸۹. مطالعه اثرات تسکینی، پیش بیهوشی و ضد اضطرابی عصاره گیاه اسطوخودوس (*Lavandula stoechas*) در مقایسه با دیازپام

در موش صحرایی، مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، (۳)۴، صفحات ۹۰۵-۸۹۹.

۶- غفاری، م.، خسروانی زاده، ع.، قرائی، ا.، صالحی، ح.، ابطحی، ب.، و راهداری، ع.، ۱۳۹۲. اثرات بیهوش کننده اسانس میخک بارگذاری شده با نانو ذرات آهن در ماهی آنجل، مجله دامپزشکی ایران، ۹(۳)، صفحات ۸۸-۸۱.

۷- سلطانی، م.، غفاری، م.، خضرائی نیا، پ.، و بکایی، س.، ۱۳۸۳. مطالعه اثرات بیهوشی اسانس گل میخک هندی بر پارامترهای هماتولوژیک، برخی آنزیم‌های خون و آسیب‌شناسی بافت‌های مختلف ماهی کپور معمولی، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۳) ۵۹، صفحات ۲۹۹-۲۹۵.

۸- شریف پور، ع.، سلطانی. م.، عبدالهی، ح.، و قیومی، ر.، ۱۳۸۱. اثر بیهوش کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) و در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، مجله علمی شیلات ایران، ۱۱(۴)، صفحات ۷۴-۵۹.

۹- عبدلی، ا.، ۱۳۷۸. ماهیان آبهای داخلی ایران، انتشارات نقش‌نما، صفحه ۱۵۰.

۱۰- عنایت غلامپور، ط.، ایمانپور، م.، حسینی، ع.، و شعبانپور، ب.، ۱۳۹۰. تأثیر سطوح مختلف شوری بر شاخصهای رشد، میزان بازماندگی، غذاگیری و پارامترهای خونی در بچه ماهیان سفید، مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۴، شماره ۴، صفحات ۵۴۸-۵۳۹.

11- Balint, T., Szegletes, T., Szegletes, Z.S., Halasy, K., and Nemcsok, J., 1995. Biochemical and subcellular changes in carp exposed to the organophosohorus methidation and the pyrethroid deltamethrin. *Aquatic Toxicology*, 33(3-4), PP: 279-295.

12- Barazande, M., 1999. Chemical analysis of Iran and France lavender essential oil by capillary gas chromatography techniue. *Iranian Medicinal and Aromatic Plants Res*, 3(0).

13- Dimitra, J., Basil, N., and Moschos, G., 2000. GC-MS analysis of essential oils from some Greek romatic plants and their fungitoxicity on *penicillium digitatum*, J. Agric. Food Chem, 48, PP: 2576-2581.

14- Durfour, D.R., Latt, J.A., Nolte, F.S., Gretch, D.R., Koff, R.S., and Seeff, L.B., 2000. Diagnosis and monitoring of hepatic injury II, Recommendation for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring Clin, *Chem*, 46, PP: 2050-2068.

15- Fiber, M., and Quante, A., 2014. A case series on the use of lavendula oil capsules in patients suffering from major depressive disorder and symptoms of psychomotor agitation, insomnia and anxiety. *US National Library of Medicine National Institutes of Health*, 22(1), PP: 9-63.

16- Hikasa, T., Takase, K., Ogasawara, T., and Ogasawara, S., 1986. Anesthesia and Recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp (*Cyprinus carpio)*, *Japanese Journal of Veterinary Science*, 48, PP: 341-351.

17- Iwama, G.K., Yesaki, T.Y., and Ahlborn, D., 1994. The refinement of the administration of carbon dioxide gas as a fish anaesthetic: The effects of varying the water hardness and ionic content in carbon dioxide anaesthesia, *ICES Council meeting papers*, ICES-CM-1991-F27, 29 p.

18- Jain, S.K., 1987. Ethnobotany, its scope and various subdisciplines In: A Manual of Ethno botany. S. K, Jain (Ed.), Scientific Publishers, Jodhpur, PP: 1-11.

19- Lee, C.H., Park, S.W., Kim, Y.S., Kang, S.S., Kim. J.A., Lee, S.H., and Lee, S.M., 2007. Protective mechanism of glycyrrhizin on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice, *Journal of Biological and pharmaceutical Bulletin*, 30(10) PP: 1898- 1904.

20- Marking, L.L., and Meyer, F.P., 1985. A better fish anaesthetics needed in fisheries. *Fisheries*, PP: 10: 2-5.

21- Morgan, T.J., Morden, W.E., AL- Muhareb, E., Herod, A.A., and Kandiyoti, R., 2006. Essential oils investigated by size exclusion chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Energ, Fuel*, 20, PP: 734-737.

22- Ross, L.G., and Ross, B., 2008. Anaesthesia and Sedation of Aquatic Animals. *Third Edition. Wiley-Blackwell*, ISBN: 978-1-4051-4938-9.

23- Thomas, P., and Robertson, L., 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaeno psocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS_{222}, quinaldinesulphate and metomidate. *Aquaculture*, 96, PP: 69-86.

24- Velisek, J., Svobodova, Z., and Piackova, V., 2005. Effects of clove oil anaesthesia on rainbow rtout (*Oncorhynchus mykiss*), *Acta Vet, Brno*, 74, PP: 139-146.

The Effect of Anesthetic Lavander (*Lavendula officinalis*) essential oil on histopathological and blood serum enzymes of Snow trout (*Schizothorax zarudnyi*)

Tofighi Moghadam S.[1], Mirdar Harijani J.[1], Gharaei A.[1] and Ghaffari M.[2]

[1]FisheriesDept., Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, I.R. of Iran

[2] Fisheries Demt., Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, I.R. of Iran

Abstract

Obtaining an appropriate anesthetic drug for rapid anesthesia with long term and safe recovery has always been the concern of fisheries science researchers. In this study, survey the effect of anesthetic essential oil of lavender (*Lavendula officinalis*) on *Schizothorax zarudnyi* was investigated. 260 Snow trout (*Schizothorax zarudnyi*) juveniles with an average total weight and length 58.69±1.50 g and 20.77±1.16 cm, respectively were anesthetized in four group treatment including, 0, 200, 300 and 400 ppm essential oil of lavender. The expriment carried out base on bath method in order to determine position sedative and anesthetic dose of Lavender essential oil. Kidney, Liver and Gills tissue and blood serum for evaluation of AST (asparate aminotransferase), ALT (alanine amino trasferase) and ALP (alkaline phosphatase) enzymes activity histopathological effects was done in two times, 10 minutes after anesthesia and 24 hours after anesthesia. The results showed that the essential oil of lavender in concentration of 300 ppm induces general anesthesia. Comparison of AST, ALT and ALP enzyme activity ($P<0.05$) between all group treatment did not show significant difference and histopathological result suggested that the concentration of 200 ppm lavender for sedative position and 300 ppm lavender was proper for anesthesia in Snow trout without side effect and it can recommended that use this concentrations of lavender essential oil in aquaculture activities without side effect or damages. Advisable *Lavander* essence oil use as a standard medicine to anesthetize and superseded prevalent chemicals to create anesthesia and sedation in fish.

Key words: Lavander essential oil, Anesthesia, *Schizothorax zarudnyi*, Histopathology, enzyme activity.