بررسی قدرت بیهوشی و آسیب‌های بافتی اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

مرضیه رخشانی[۱]، جواد میردار هریجانی*[۱]، احمد قرایی[۲]

*javadmirdar@uoz.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۶

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر بیهوش کنندگی و آسیب‌های بافتی اسانس نعناع فلفلی در ماهی کپور معمولی است. تعداد ۷۰ عدد ماهی کپور معمولی با میانگین وزن و طول کل به ترتیب ۱/۵۴±۸/۵۲ گرم و ۱/۱۶±۸/۴۷ سانتی متر در غلظت‌های مختلف اسانس نعناع فلفلی شامل ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ ppm به شیوه حمام بیهوش شدند. میانگین دما، pH و سختی آب مورد استفاده در طی دوره آزمایش به ترتیب برابر ۲۲±۲°C، ۷ و ۹۸۱ میلی گرم بر لیتر ثبت شد. پس از تیمار ماهیان، زمان‌های رسیدن به مراحل مختلف بیهوشی، از دست‌رفتن تعادل، بیهوشی سبک، بازگشت تعادل و احیا کامل در گروه-های مختلف اندازه‌گیری شد. سپس به منظور تعیین تاثیرات احتمالی اسانس نعناع فلفلی از غلظت های ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ppm ۵۰۰ در زمان‌های صفر و ۲۴ ساعت، اقدام به نمونه‌برداری بافتی از اندام‌های کبد، کلیه و آبشش ماهیان شد و بعد از تهیه مقاطع میکروسکوپی و رنگ‌آمیزی آن‌ها، با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین زمان رسیدن به بیهوشی کامل در تیمار های ۲۰۰ و ppm ۵۰۰ و به ترتیب پس از ۱۱±۱۰۰/۵ و ۱۶±۷۳ ثانیه بود. کمترین زمان احیاء مربوط به تیمار ppm ۲۰۰ و به مدت ۸/۴±۳۰۰ ثانیه ثبت شد. همچنین مشخص شد که با افزایش غلظت ماده بیهوش کننده، زمان القا بیهوشی سریعتر و زمان بازگشت از بیهوشی افزایش می‌یابد. از طرفی آسیب شناسی بافتی نیز نشان داد که غلظت بهینه ppm ۲۰۰ فاقد تأثیرات جانبی است و می‌توان از این غلظت بدون نگرانی از آسیب‌های احتمالی به عنوان یک ماده بیهوش کننده بی خطر استفاده نمود.

لغات کلیدی: اسانس نعناع فلفلی، بیهوشی، کپور معمولی، هیستوپاتولوژی

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]

مقدمه

مواد بیهوش کننده بصورت روزافزون در آبزی پروری مورد استفاده قرار می‌گیرند و اصولا این مواد برای کاهش دادن استرس و جلوگیری از صدمات فیزیکی به ماهیان در طی حمل و نقل به کار می‌روند. این مواد نقش مهمی در تحقیقات شیلاتی و آبزی پروری ایفا می‌کنند که باعث آسانتر شدن شیوه های مختلف دستکاری از قبیل وزن کشی، تخم کشی و نشانه‌گذاری می‌شوند (Kazun and Siwicki, 2001; Sumerfelt and Smith, 1990). مهمترین موارد کاربرد بیهوشی در ماهیان عبارتند از ضدعفونی کردن جراحات سطحی، خون گیری، تخم کشی، حمل و نقل، بیوپسی، نمونه برداری و جراحی می-باشد (Munday and Wilson, 1997; Ross and Ross, 2008). بنابراین استفاده از مواد بیهوش کننده یکی از مهم ترین نیازها برای پرهیز حیوانات از درد کشیدن است. رشد سریع آبزی‌پروری در جهان و پیشرفت‌های فنی کاربردی آن، اقدامات و مواد شیمیایی جدیدی را می‌طلبد. امروزه مواد شیمیایی مورد استفاده آبزی پروری به ویژه از لحاظ ایمنی و کارایی شان در معرض کنترل شدید قرار دارند (Taylor and Roberts, 1999). ایجاد بیهوشی عمومی در ماهیان منجر به از دست دادن هوشیاری، ممانعت از انجام عکس العمل و کاهش ترشح مخاط می‌شود. فرآیند بیهوشی در ماهیان بصورت یکنواخت پیشرفت کرده و طبق الگوی پیش رونده به جلو حرکت می‌کند (McFarland, 1959). ماهیان به سادگی بوسیله دستکاری و حمل و نقل دچار استرس می-شوند و این می‌تواند منجر به اختلال در سیستم ایمنی، جراحات فیزیکی و حتی مرگ شود. در آبزی‌پروری، مواد بیهوش کننده در طی حمل و نقل و برای جلوگیری از جراحات فیزیکی و کاهش متابولیسم (مصرف اکسیژن و دفع)، مورد استفاده قرار می‌گیرند. آن‌ها همچنین جهت بی‌تحرک کردن ماهیان بکار می‌روند، بطوریکه آن‌ها بتوانند به سادگی در طی روند برداشت، نمونه گیری و تخم گیری مورد استفاده قرار گیرند. بنابراین به نظر می‌رسد در فعالیت‌های تحقیقاتی قبل از هر گونه دستکاری بهتر است ماهیان بیهوش گردند. اغلب هر تحریکی که در ماهی ایجاد شود سبب ایجاد تغییرات فیزیولوژیک و رفتاری می‌شود. برخی از این‌ها، پاسخ‌های عادی در شرایط محیط یا وضعیت ماهی هستند در حالی که برخی دیگر از این محدوده‌ها فراترند و در مجموع به عنوان استرس در نظر گرفته می‌شوند. استرس ممکن است به افزایش حساسیت نسبت به بیماری‌ها، کاهش رشد و نواقص تولیدمثلی منجر شود (Ross and Ross, 1999). به منظور پیشگیری از اثرات نامطلوب استرس بر سلامتی و وضعیت فیزیولوژیک ماهیان نظیر عوامل استرس‌زای حاد و مزمن مانند دستکاری و ازدحام که فراتر از تحمل فیزیولوژیک ماهی هستند و نسبتاً سریع به شکل کاهش میزان یا درصد بقاء ماهیان تظاهر می‌یابند، نیاز به اعمال مدیریت بسیار دقیق بر محیط آبی می‌باشد (مشایی، ۱۳۷۹). جهت اعمال این مدیریت دقیق استفاده از ابزارهای کارآمد ضرورت دارد. از جمله این ابزارهای مورد نیاز برای مدیریت ماهی‌پروری، استفاده از روش‌های ایجاد بیهوشی، آرام‌بخشی و تخفیف درد در ماهیان را می‌توان نام برد. لمس ماهیان چه در درون و چه در بیرون محیط طبیعی آن‌ها هم در زمینه فیزیولوژی و هم در رفتار آن‌ها همواره مشکل آفرین است، لذا تلاش برای آرام‌سازی ماهی پیش از انجام ساده‌ترین کارها ضروری می‌نماید (Tytler and Hawkins, 1981). مواد و ترکیبات شیمیایی مختلفی در مزارع پرورش ماهی به عنوان بیهوش کننده استفاده می‌شوند تا استرس ناشی از گرفتن ماهی را کم کرده و به مهار و مقید کردن در حین انجام عملیات مختلف کمک کنند (محمدی ارانی، ۱۳۸۵؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۳؛ شریف پور و همکاران، ۱۳۸۱). سال-هاست که از بیهوش کننده‌هایی همچون Tricaine methanesulphonate با نام تجاری MS222، Benzocaine، Quinaldine، Chloral hydrate (احمدی، ۱۳۸۵) و اخیرا عصاره طبیعی برخی گیاهان مانند اسانس گل میخک استفاده می‌گردد (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۰؛ Soto and Burhanuddin, 1995). با وجود این، محققان همواره در تلاش برای دست یابی به بیهوش کننده‌هایی هستند که ضمن موثر بودن دارای کمترین اثرات جانبی بوده و در عین حال ارزان و به

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]

سهولت در دسترس و قابل تهیه باشند. استفاده از ماده بیهوش کننده MS222 در ایران به علت وارداتی و گران قیمت بودن، همواره مشکلاتی را در زمان تکثیر به وجود می‌آورد (محمدی ارانی، ۱۳۸۵). از طرفی مدتی است که اسانس گل میخک به دلیل سهولت تهیه، اقتصادی بودن و همچنین داشتن خاصیت بیهوش کنندگی قوی به عنوان جایگزین مناسب برای MS222 مورد توجه قرار گرفته است (Anderson *et al.*, 1997؛ مهرابی، ۱۳۷۸). ترکیبات اصلی اسانس نعناع فلفلی را منتول (۲۹ درصد)، منتون (۲۰ تا ۳۰ درصد) و متیل استات (۱ تا ۳ درصد) تشکیل می دهند. سایر ترکیباتی که در اسانس نعناع فلفلی یافت می شوند شامل فلاونوییدها (۱۲ درصد)، پلی فنل های پلیمریزه شده (۱۹ درصد)، کاروتن، توکوفرول، بتایین و کولین می باشند (یزدانی و همکاران، ۱۳۸۱). همچنین استفاده از عصاره این گیاه به عنوان محرک ایمنی در جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان، توصیه شده است(عادل و همکاران، ۱۳۹۴). مطالعاتی که در خصوص اثرات جانبی اسانس گل میخک روی ماهیان انجام شده نشان داده اسانس گل میخک می‌تواند عوارض جانبی را در ماهیان تیمار شده با آن ایجاد نماید (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۳؛ Velíšek *et al.*, 2005a; Velíšek *et al.*, 2005b). لذا با توجه به گستردگی کاربرد بیهوشی در آبزیان و مشکلات داروهای مصرفی متداول نیاز به داروهای مناسب، قابل دسترس و ارزان ضروری به نظر می‌رسد و با عنایت به طیف وسیع کاربرد بیهوشی در ماهیان و اهمیت آن در کارگاه‌های تکثیر و پرورش و مراکز تحقیقات آبزیان نیاز به داروهای بیهوش کننده مناسب که کمترین اثرات جانبی را داشته و ارزان قیمت و قابل دسترس باشند، احساس می‌شود. البته از آنجا که مصرف هیچ دارویی چه طبیعی و چه مصنوعی، بدون اثرات جانبی حتی به مقدار جزئی نمی‌تواند باشد. در این تحقیق سعی خواهد شد تا تأثیر اسانس نعناع فلفلی بر بیهوشی ماهی کپور معمولی به عنوان ماده ای طبیعی و ارزان قیمت ارزیابی شود.

مواد و روش کار

ماهی و شرایط ذخیره

تعداد ۱۵۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی ۸ تا ۱۰ گرمی از مرکز تکثیر و پرورش زهک توسط تانک حمل ماهی مجهز به کپسول اکسیژن به سالن آبزی پروری پژوهشکده تالاب بین المللی هامون واقع در دانشگاه زابل منتقل شدند. به منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید، ماهیان به مدت یک هفته در تانک‌های ۳۰۰ لیتری حاوی ۲۵۰ لیتر آب نگهداری شدند. نور سالن، نور طبیعی شبانه روز بود. به منظور تامین اکسیژن در حد اشباع هوادهی توسط پمپ هواده و سنگ هوا صورت گرفت. شایان ذکر است که ۲۴ 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، ماهی-ها تغذیه نشدند (شریف پور و همکاران، ۱۳۸۱).

گروه های آزمایش و بیهوشی

اسانس نعناع فلفلی مورد استفاده از شرکت باریج اسانس خریداری شد. بطور تصادفی وزن و طول کل ۱۵۰ عدد از ماهیان تهیه شده آنها با ترازو دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم و خط‌کش با دقت یک میلی متر اندازه‌گیری شد. ماهی کپور معمولی با میانگین وزن و طول کل به ترتیب ۱/۵۴±۸/۵۲ گرم و ۱/۱۶±۸/۸۴۷ سانتی‌متر در غلظت‌های ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰ و ppm ۵۰۰ اسانس نعناع فلفلی به شیوه حمام بیهوش شدند. دما، pH و سختی آب در زمان آزمایش به ترتیب برابر ۲±۲۲ درجه سانتی گراد، ۷ و ۹۸۱ میلی‌گرم بر لیتر بود. بیهوشی در آکواریوم های ۲۰ لیتری محتوی ۱۰ لیتر آب و ماده بیهوشی در غلظت‌های ذکر شده به دست آمده بود، صورت گرفت. در هر آکواریوم برای هر غلظت تعداد ۱۰ عدد ماهی مورد استفاده قرار گرفت. پس از انتقال هر یک از ماهیان به آکواریوم حاوی ماده بیهوشی، زمان های رسیدن به مراحل از دست رفتن تعادل و بیهوشی سبک بر اساس جدول (۱) با دقت دهم ثانیه توسط زمان سنج ثبت شد. ماهیان پس از بیهوش شدن تا مرحله بیهوشی سبک، با استفاده از ساچوک به آکواریوم ۴۰ لیتری حاوی ۲۵ لیتر آب تازه فاقد ماده

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]

بیهوشی که به خوبی هوادهی شده بود، منتقل شدند و زمان‌های مربوط به مراحل مختلف بازگشت از بیهوشی شامل مراحل بازگشت تعادل و احیاء کامل ثبت شدند. ماهیان احیاء شده به مدت ۹۶ ساعت برای رویت هر نوع اثر سوء ناشی از بیهوشی مانند شنای غیرطبیعی و مرگ و میر به دقت تحت نظر قرار گرفتند.

جدول ۱: طبقه بندی مراحل مختلف بیهوشی در ماهیان (Keene *et al.*, 1998)

Table 1: Classification of different stages of anesthesia in fish (Keene *et al.*, 1998).

مرحله	رفتار ماهی
از دست رفتن تعادل	فقدان کامل تعادل، افزایش موقتی تعداد تنفس و واکنش پذیر نسبت به محرک های لمسی قوی
بیهوشی سبک	از دست رفتن کامل تونیسیته عضلات، عدم پاسخ گویی به محرک های خارجی و ضربان قلب آهسته
بازگشت تعادل	بازگشت کامل تعادل و افزایش تعداد تنفس
احیاء کامل	شنا عادی، واکنش پذیر نسبت به انواع محرک های خارجی

نمونه‌گیری جهت مطالعات آسیب‌شناسی

بافت‌شناسی کلاسیک برای تشخیص میزان آسیب‌های احتمالی بافتی در بافت‌های کبد، کلیه و آبشش انجام گرفت. جهت مطالعات آسیب‌شناسی بافتی، نمونه‌گیری تصادفی از هر تیمار (دو عدد ماهی بلافاصله پس از احیا و ۲ عدد دیگر ۲۴ ساعت پس از بیهوشی) انجام پذیرفت. سپس بافت‌های آبشش، کلیه و کبد آن‌ها جداسازی و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. سپس طبق روش آروند و گنجی از این نمونه‌ها مقاطع بافتی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و پس از رنگ آمیزی در زیر میکروسکوپ قرار گرفته و مورد بررسی آسیب شناسی بافتی قرار گرفتند (آروند و گنجی، ۱۳۸۹).

روش آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS۱۶ انجام شد. به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر بدست آمده از آزمایش‌ها، ابتدا نرمال بودن آن‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف (Kolmogrov-Smirnov) بررسی شد. سپس از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one way) در قالب طرح آماری کاملا تصادفی جهت مقایسه تیمارها استفاده شد. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها برای تعیین اختلاف معنی-داری بین میانگین‌ها در گروه های مختلف از آزمون دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

بیهوشی

در این پژوهش، غلظت‌های ۲۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰ و ppm ۵۰۰ اسانس نعناع فلفلی مورد بررسی قرار گرفتند تا موثرترین و بهینه ترین غلظت بیهوشی برای ماهی کپور معمولی به دست آید. میزان غلظت ها بر اساس مطالعات انجام شده در مورد گونه های مشابه انتخاب گردید. بعلاوه غلظت ها طوری انتخاب گردیدند که نتایج بررسی قابل مقایسه با آزمایشهای سایر محققان باشند. همچنین برخی از بافت‌های این ماهی نیز مورد بررسی قرار گرفت تا اثرات احتمالی این اسانس مشخص گردد.

ماهیان با غلظت‌های مذکور، بیهوش شدند و مراحل مواجهه بطور کامل بصورت بصری پایش شدند و نتایج ذیل بدست آمد:

۱- ماهیان در هنگام مواجهه با دارو، هیچ گونه فعالیت غیر عادی از خود نشان ندادند.

۲- پس از چند ثانیه ماهیان شروع به تسریع حرکات آبششی کرده، رفته رفته حرکات سرپوش آبششی کند شده و به آرامی در ته آکواریوم قرار گرفتند.

۳- القا سریع بود و ماهیان بطور مشخص مراحل مختلف بیهوشی را طی می‌کردند.

۴- بیهوشی پس از زمان کوتاهی بعد از بی‌تعادل شدن، انجام می‌گرفت.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]

۵- بیهوشی کامل و سریع بود و هیچ گونه عکس العمل غیر عادی وجود نداشت.
۶- بازگشت به آرامی انجام می‌گرفت.
۷- پس از بدست آوردن تعادل، ماهیان بدون رفتار غیر عادی از بیهوشی خارج می‌شدند.
۸- همه ماهیان بدون نیاز به کمک، مرحله بازگشت یا بهبود را طی کردند.
۹- هیچ گونه مرگ و میری پس از بیهوشی مشاهده نشد.

نتایج حاصل از زمان از دست دادن تعادل کلی، زمان ایجاد بیهوشی سبک، زمان بازگشت تعادل و زمان احیا کامل ماهی کپور معمولی در غلظتهای مختلف اسانس نعناع فلفلی در جدول (۲) مشخص شده است.

جدول ۲: زمان های رسیدن (ثانیه) به مراحل مختلف بیهوشی و بازگشت از آن (میانگین±انحراف معیار) در ماهی کپور معمولی (n=۱۰) تحت تاثیر اسانس نعناع فلفلی

Table 2: The time (in seconds) taken to reach different stages of anesthesia and complete recovery (mean±SD) in common carp (n=10) influenced by peppermint essential oils.

تیمارها / مراحل	۲۰۰ppm	۲۵۰ppm	۳۰۰ppm	۳۵۰ppm	۴۰۰ppm	۴۵۰ppm	۵۰۰ppm
ازدست‌دادن تعادل کلی	۱۰۰/۵±۱۱^{a}	۹۵/۶±۱۵^{a}	۹۵/۶±۱۴^{ab}	۸۹/۱۴±۱۴^{ab}	۸۸/۴±۱۸^{bc}	۷۷/۷±۱۲^{bc}	۷۳±۱۶^{c}
بیهوشی سبک	۱۱۰/۷±۱۲/۶^{a}	۱۰۰/۹±۱۶/۵^{a}	۱۰۰/۳±۱۴/۴^{ab}	۹۸/۲±۱۵/۴^{bc}	۹۶/۳±۱۶/۹^{bc}	۸۷±۲۴/۵^{bc}	۸۲±۱۷/۱^{c}
بازگشت به تعادل	۲۰۳±۱۵^{b}	۲۰۸±۱۶^{b}	۲۷۰±۱۲^{ab}	۳۱۴±۱۷^{ab}	۳۰۰/۱±۱۳^{ab}	۳۵۰/۷±۱۲^{a}	۳۷۱/۴±۱۵^{a}
احیاء کامل	۳۰۰/۸±۱۴^{b}	۳۰۸±۱۷^{b}	۳۶۴±۱۲^{ab}	۳۸۹/۷±۱۶^{ab}	۳۷۹±۱۶^{ab}	۴۲۳±۱۳^{ab}	۴۴۷±۱۷^{a}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار (p<۰/۰۵) بین تیمارها می باشد.

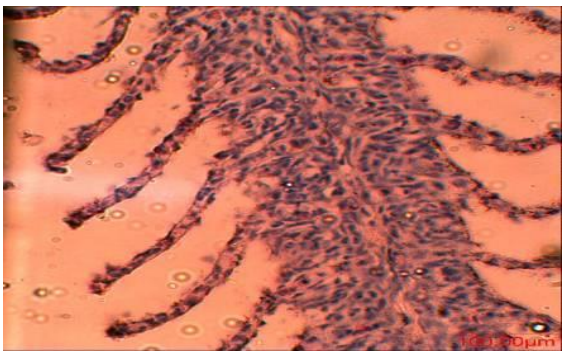
بررسی نتایج حاصل از زمان بیهوش شدن و بازگشت از بیهوشی ماهی کپور، تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف را نشان دادند (P<۰/۰۵). بررسی میانگین زمان از دست دادن تعادل ماهی در محلول بیهوشی با غلظت‌های مختلف نشان داد که در غلظت ۲۰۰ ppm اسانس نعناع فلفلی، زمان بیشتری لازم است تا ماهی تعادلش را از دست بدهد و با افزایش غلظت اسانس تا ۵۰۰ ppm این زمان کاهش یافت و ماهی سریعتر تعادلش را از دست داد و اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف مشاهده شد (P<۰/۰۵). نتایج زمان بیهوشی سبک ماهی کپور، اختلاف معنی داری بین غلظت‌های مختلف نشان داد (P<۰/۰۵). بیشترین و کمترین میانگین زمان ایجاد بیهوشی سبک به ترتیب در محلول با غلظت ۲۰۰ و ۵۰۰ ppm اسانس مشاهده شد که میزان آن به ترتیب ۱۱۰/۷±۱۲/۶ و ۸۳±۱۷/۱ ثانیه بود. پس از بیهوشی، ماهی در آب تازه فاقد ماده بیهوشی قرار گرفت و هنگامی که ماهی تعادل خود را بدست آورد، این زمان ثبت شد. بررسی میانگین زمان بازگشت تعادل ماهی کپور در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). ماهیانی که با غلظت ۲۰۰ ppm بیهوش شدند، سریعتر از دیگر غلظت یا تیمارها تعادل خود را بدست آوردند (زمان باز گشت تعادل ۲۰۳±۱۵ ثانیه). ماهیانی که با غلظت بالاتر اسانس نعناع فلفلی بیهوش شدند در هنگام قرار گرفتن در آب تازه، زمان بیشتری طول کشید تا تعادل خود را بدست آورند. ماهیان همچنان در آب تازه باقی ماندند تا به احیا کامل برسند و این زمان نیز ثبت شد. ماهیانی که با غلظت ۵۰۰ppm اسانس نعناع فلفلی بیهوش شدند نسبت به دیگر غلظت‌ها، زمان بیشتری طول کشید تا به احیا کامل

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]

برسند و با غلظت ppm ۲۰۰ اختلاف معنی‌داری را نشان داد (**P<۰/۰۵**). همچنان که نتایج این تحقیق نشان داد ثابت شده با افزودن بر غلظت داروی بیهوشی زمان لازم رفتار ماهیان تا ۹۶ ساعت پس از بیهوشی موید بی‌خطر بودن اسانس نعناع فلفلی در همه غلظت‌های بکار رفته برای ماهی کپور است، زیرا هیچگونه اثر نامطلوب جانبی شامل تغییرات رفتاری و مشکلات تنفسی در ماهیان بیهوش شده مشاهده نگردید. همچنین در طول مدت مذکور فوق هیچگونه تلفاتی در ماهیان رخ نداد. با افزایش غلظت، زمان لازم برای شروع مراحل مختلف بیهوشی کاهش یافت و در عوض زمان لازم برای احیا ماهی افزایش یافت، هر چند این افزایش در غلظت‌های نزدیک به هم خیلی زیاد نبود.

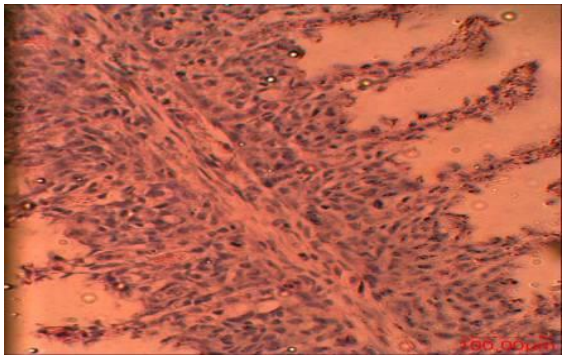
هیستوپاتولوژی

بافت‌های آبشش، کبد و کلیه ماهی کپور معمولی تیمار شده با غلظت ppm ۲۰۰ اسانس نعناع فلفلی جهت بررسی آسیب احتمالی مورد ارزیابی قرار گرفتند. در بررسی آسیب شناسی بافت‌های آبشش، کبد و کلیه ماهی‌های گروه کنترل و غلظت ppm ۲۰۰، هیچگونه آسیب بافت شناسی مشاهده نشد (شکل های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶).



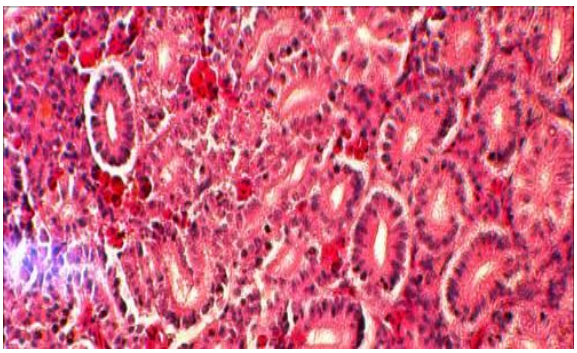
شکل ۱: بافت آبشش ماهی کپور معمولی در گروه شاهد (H & E, 40x)

Figure 1: Gill tissue of common carp in the control group (H & E, 40x).



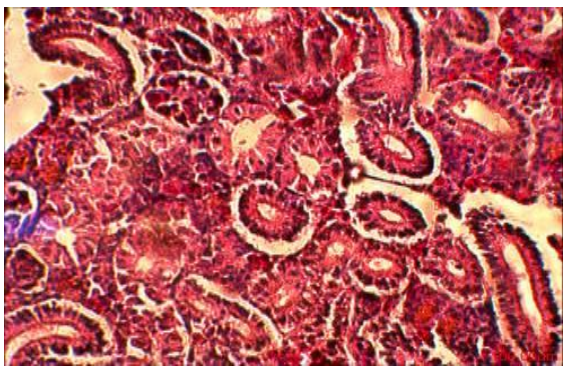
شکل ۲: بافت آبشش ماهی کپور معمولی در تیمار ppm ۲۰۰ اسانس نعناع فلفلی (H & E, 40x)

Figure 2: Gill tissue of common carp in the treatment of 200 ppm peppermint essential oils (H & E, 40x).



شکل ۳: بافت کلیه ماهی کپور معمولی در گروه شاهد (H & E, 40x)

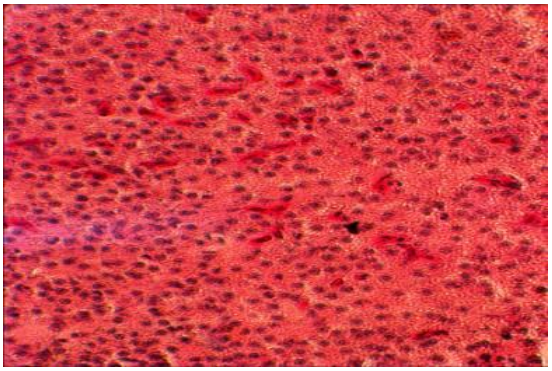
Figure 3: Kidney tissue of common carp in the control group (H & E, 40x).



شکل ۴: بافت کلیه ماهی کپور معمولی در تیمار ppm ۲۰۰ اسانس نعناع فلفلی (H & E, 40x)

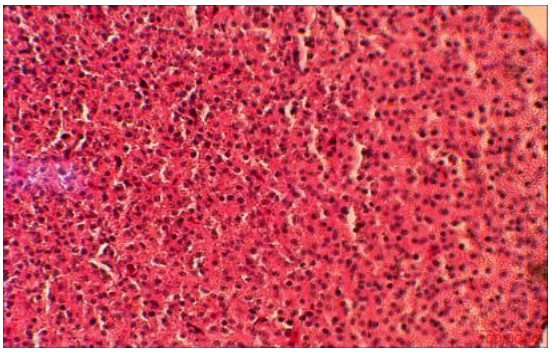
Figure 4: Kidney tissue of common carp in the treatment of 200 ppm peppermint essential oils (H & E, 40x).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]



شکل ۵: بافت کبد ماهی کپور معمولی در گروه شاهد (H & E, 40x)

Figure 5: Liver tissue of common carp in the control group (H & E, 40x).



شکل ۶: بافت کبد ماهی کپور معمولی در تیمار ۲۰۰ ppm (H & E, 40x)

Figure 6: Liver tissue of common carp carp in the treatment of 200 ppm peppermint essential oils (H & E, 40x).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسانس نعناع فلفلی در بیهوشی ماهی کپور معمولی موثر است و با افزایش غلظت این اسانس، زمان لازم برای القا بیهوشی کاهش و زمان بازگشت از بیهوشی افزایش پیدا می‌کند (جدول ۲). در پژوهش حاضر در تمام غلظت‌های به کار گرفته شده اسانس نعناع فلفلی، زمان القا بیهوشی کمتر از ۳ دقیقه و مدت زمان لازم برای احیا کامل ماهی ۵ تا ۷ دقیقه و بطور میانگین ۶ دقیقه است. با توجه به اینکه توصیه شده است ماده بیهوش کننده مطلوب برای ماهیان بایستی به ترتیب زمان‌های القاء و احیا کامل ۳ و ۵ دقیقه را داشته باشد (Marking and Meyer, 1985)، غلظت‌های به کار گرفته شده در این مطالعه معیارهای لازم جهت القا بیهوشی مناسب را به نمایش گذاشتند (جدول ۲) و در مجموع می توان اسانس نعناع فلفلی را بیهوش کننده ای مناسب برای ماهی کپور به شمار آورد. با عنایت به اینکه غلظت مؤثر بیهوش کننده غلظتی است که کوتاهترین القاء و سریع ترین احیا را داشته باشد (Keene *et al*., 1998) و با در نظر گرفتن صرفه اقتصادی، غلظت ۲۰۰ ppm غلظت مؤثر و بهینه این دارو تشخیص داده شد، ضمن اینکه در غلظت‌های بالاتر زمان بازگشت از بیهوشی افزایش می‌یابد. بنابراین در مواردی که تعداد ماهیان بیهوش شونده زیاد و امکانات محدود باشد، دچار مشکل شده و در عملیات تکثیر یا پرورش وقفه ایجاد می‌کند و در نتیجه این امر خسارات اقتصادی به بار می‌آورد (Woody *et al*., 2002). بر اساس مشاهدات صورت گرفته، هر چه غلظت داروی بیهوشی بیشتر شود زمان القای بیهوشی کمتر و مدت زمان برگشت از بیهوشی بیشتر می‌شود که با مطالعه موسوی و همکاران در سال ۱۳۹۲ همخوانی دارد. شریف پور و همکاران (۱۳۸۱) نیز در مورد ماهی کپور معمولی با بررسی غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس گل میخک نشان دادند که در تمام غلظت‌ها، بیهوشی مورد نظر در زمان کمتر از ۳ دقیقه ایجاد شد ولی زمان‌های بازگشت تعادل و بازگشت واکنش به محرک خارجی در بیشتر موارد طولانی تر از ۵ دقیقه بود که دلیل آن را تاثیر بازدارندگی اسانس گل میخک بر سیستم تنفسی ماهی و کاهش میزان تنفس و به تبع آن کاهش توانایی دفع ماده بیهوشی از سیستم آبششی ماهی مربوط دانستند که با مطالعه حاضر در ارتباط با افزایش غلظت اسانس نعناع فلفلی و به تبع آن افزایش زمان بازگشت از بیهوشی در کپور معمولی همخوانی داشت. همچنین در مطالعات Hajek و همکاران (۲۰۰۶) مدت زمان القای بیهوشی عصاره گل میخک در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر بر کپور معمولی بیشتر از ۵ دقیقه و زمان بازگشت از بیهوشی زیر ۱۰ دقیقه بود و با افزایش غلظت دارو مدت زمان القاء بیهوشی کمتر و مدت زمان برگشت از بیهوشی طولانی تر می‌شد. آن‌ها در تحقیقات خود دریافتند که افزایش غلظت باعث کند شدن فرآیند تنفسی توسط ماهی و طولانی تر شدن مدت زمان

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]

برگشت از بیهوشی می‌شود که با نتایج حاصل از این مطالعه هم‌خوانی دارد. Inoue و همکاران (۲۰۰۳) و Griffiths (۲۰۰۰) نتایج مشابهی از مطالعه بر عصاره گل میخک بدست آوردند و نتیجه گرفتند که هر چه غلظت و مدت قرارگیری ماهی در آب حاوی مواد بیهوش کننده بیشتر باشد، مراحل بیهوشی سریع تر و بازگشت از بیهوشی آهسته تر صورت می‌گیرد که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. شایان ذکر است که مطالعه و بررسی بیشتری برای یافتن غلظت مؤثر برای گونه‌ها و اندازه‌های متفاوت ماهی لازم است. با توجه به ارزان بودن قیمت اسانس نعناع فلفلی، سهولت در تهیه اسانس و عدم ایجاد مشکلات زیست محیطی و بویژه اثرات سریع ایجاد و بازگشت از بیهوشی می‌توان از این ماده برای بیهوشی ماهی کپور معمولی استفاده کرد.

نتیجه گیری

تاکنون گزارشی از بیهوشی با اسانس نعناع فلفلی بر روی آبزیان در دسترس نمی‌باشد و این پژوهش اولین مطالعه‌ای است که در مورد بیهوشی و تأثیرات نامطلوب احتمالی بیهوشی با این اسانس انجام شده است. تفاوت تغذیه ای، محیطی، گونه ماهی، سن، جنس، زمان نمونه گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه گیری از جمله عواملی هستند که می‌توانند موجب تغییر در نتایج بدست آمده باشند. با توجه به اینکه پس از آزمایش‌ها رفتارهای غیر طبیعی در ماهی‌ها طی یک هفته تحت نظر گرفتن آن‌ها مشاهده نگردید، به نظر می‌رسد که اسانس نعناع فلفلی اثرات دائمی یا مخفی بر فیزیولوژی یا رفتار ماهی ندارد. نتایج نشان داد که غلظت بهینه مورد نیاز اسانس نعناع فلفلی جهت بیهوش نمودن ماهی کپور معمولی در زمان توصیه شده (حداکثر زمان القاء بیهوشی ۳ دقیقه) ppm ۲۰۰ می‌باشد و زمان بازگشت کامل ماهیان بیهوش شده با این غلظت مناسب و حدود ۵ دقیقه بود. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت ماده بیهوش کننده، زمان القا بیهوشی سریعتر و زمان بازگشت از بیهوشی افزایش می‌یابد. در بررسی ضایعات بالینی ناشی از اسانس نعناع فلفلی هیچگونه تأثیر نامطلوبی مشاهده نشد. از نظر آسیب شناسی بافتی نیز در غلظت بهینه ppm ۲۰۰ هیچگونه آسیب بافتی مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

منابع مالی این تحقیق از محل پژوهانه شماره UOZ-GR-9517-59 معاونت پژوهشی دانشگاه زابل تامین گردیده است که بدینوسیله تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

احمدی، م.، ۱۳۸۵. استفاده از اسانس گل میخک به عنوان یک ماده بیهوشی در ماهی کپور معمولی. پایان نامه، دانشکده دامپزشکی شهرکرد.

آروند، م. و گنجی، ف.ک.، ۱۳۸۹. بافت شناسی عملی. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد. ۳۰۲صفحه.

سلطانی، م.، غفاری، م.، خضرائی نیا، پ. و بکایی، س.، ۱۳۸۳. مطالعه اثرات بیهوشی اسانس گل میخک بر پارامترهای هماتولوژیک برخی آنزیم‌های خون و آسیب شناسی بافت‌های مختلف ماهی کپور معمولی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۹ (۳): ۲۹۹-۲۹۶.

شریف پور، ع.، سلطانی، م.، عبدالحی، 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): ۷۴- ۵۹.

عادل، م.، پورغلام، ر.، ذریه زهرا، ج. و قیاسی، مریم.، ۱۳۹۴. تاثیر سطوح مختلف عصاره نعناع فلفلی بر برخی شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) . مجله علمی شیلات ایران. ۲۴ (۱) : ۴۶-۳۷.

عبدالله مشائی، م.، ۱۳۷۹. فیزیولوژی ماهی در سیستم های پرورش متراکم. چاپ اول، تهران: انتشارات دانش نگار، ۳۰۴ صفحه.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]

محمدی ارانی، م.، ۱۳۸۵. بررسی اثر اسانس میخک بر بیهوشی بچه تاس ماهی ایرانی. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات دارویی و معطر ایران،۲۲ (۳): ۱۹۲- ۱۸۸.

مهرابی، ی.، ۱۳۷۸. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی پودر درخت گل میخک بر روی ماهی قزل الای رنگین کمان. مجله پژوهش و سازندگی، ۴۲: ۱۶۲-۱۶۰.

موسوی، م.، مجدی نسب، ا.، یاوری، و.، رجب زاده، ا. و راضی جلالی، م.، ۱۳۹۲. تعیین محدوده سمیت و غلظت نیمه کشندگی LC_{50} اوژنول در ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*). فصلنامهٔ علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۹ (۳): ۵۶۰- ۵۵۱.

یزدانی، د.، جمشیدی، ا.ح. و مجاب، ف.، ۱۳۸۱. مقایسه میزان اسانس و منتول موجود در نعناع فلفلی کاشته شده درمناطق مختلف کشور. مجله گیاهان دارویی، ۱ (۳): ۷۸- ۷۳.

Andersson, W.G., Mckinley, R.S. and Colavecchia, M., 1997. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and effects on swimming performance, North American Journal of Fish Management, 17: 301-307. DOI: 10.1577/1548- 8675 (1997)017<0301:TUOCOA>2.3.CO;2

Griffiths, S.P., 2000. The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. Journal of Fish Biology, 6:1453-1464. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2000.tb02224.x

Hajek, G.J., K£yszejko, B. and Dziaman, R., 2006. The anaesthetic effect of clove oil on common carp, *Cyprinus carpio* L. Acta Ichthyologica Piscatoria, 2:93-97.

Inoue, L.A.K.A., Neto, C.S. and Moraes, G., 2003. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxa *Brycon cephalus*. Ciência Rural, 5:943-947. DOI: 10.1590/S0103-84782003000500023

Kazun, K. and Siwicki, A.K., 2001. Propiscin-a safe new anesthetic for fish. Archives of Polish Fisheries, 9:183-190. DOI: 10.2478/v10086-012-0021-3

Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D. and Soto, C.G., 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 2:89-101. DOI: 10.1046/j.1365-2109. 1998. 00927.x

Marking, L.L., Meyer, F.P., 1985. Are better fish anaesthects needed in fisheries? Fisheries, 10 (6):2-5.

McFarland, W.N., 1959. A study of the effects of anesthetics on the behavior and physiology of fishes. Publications of the Institute of Marine Sciences, 6:22-55.

Munday, P.L. and Wilson, S.K., 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *pomacentrus amboinesnsis*, a coral reef fish, Journal of Fish Biology, 51:931-938. DOI: 10.1111/j.1095-8649. 1997. tb01532.x

Ross, L.G. and Ross, B., 1999. Anesthesia of fish. In: Ross L.G. and Ross B., (ed) Anesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals, Blackwell Science, Oxford, UK. pp58-88.

Ross, L.G. and Ross, B., 2008. Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals. Oxford: Willy-Blackwell Publishing editorial offices, Hoboken, New

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]

Jersey, USA. pp1-51. DOI: 10.7589/0090-3558-45.2.552

Soto, C.G. and Burhanuddin, C., 1995. Clove oil as a fish anesthetic for measuring length and weight of rabbit fish (*Siguanus lineatus*). Aquaculture, 136:149-152. DOI: 10.1016/0044-8486(95)01051-3

Summerfelt R.C. and Smith L.S., 1990. Anesthesia, surgery, and related techniques. In: Schreck, C.B. and Moyle, P.B., (ed) Methods for fish biology. American Fisheries Society, Bethesda, MD, USA. pp213-272. DOI: 10.1016/0044-8486(95)01051-3

Tytler, P. and Hawkins, A.D., 1981. Vivisection, Anaesthetics and Minor Surgery. In: Hawkins, A.D., (ed) Aquarium Systems, Academic Press, New York, USA. pp247-278.

Taylor, P.W. and Roberts, S.D., 1999. Clove oil: an alternative anesthetic for aquaculture. North American Journal of Aquaculture, 61:150-155. DOI: 10.1577/1548-8454(1999) 061< 0150:COAAAF>2.0.CO;2

Velíšek, J., Svobodová, Z., Piačková, v., Groch, L. and Nepejchalova, L., 2005a. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). Veterinaria Medicine, 50:269-275. DOI:10.17221/5623-VETMED

Velíšek, J., Svobodová, Z. and Piačková, V., 2005b. Effects of clove oil anaesthesia on Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta Veterinaria Brno , 74: 139-146. DOI:org/10.2754/avb200574010139

Woody, C.A., Nelson, J. and Ramstad, K., 2002. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trails. Journal of Fish Biology, 60:304-347. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2002.tb00284.x

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]

Investigating the anesthetic vigor and histopathological effects of Peppermint (*Mentha piperita*) essential oils in Common carp (*Cyprinus carpio*)

Rakhshani M.[1]; Mirdar Harijani J.[1*]; Gharaei A. [2]

[*]javadmirdar@uoz.ac.ir

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

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.1.14.8]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116274]

Abstract

The aims of this study were to assess the anesthetic vigor and histopathological effects of peppermint (*Mentha piperita*) essential oils in common carp (*Cyprinus carpio*). The total number of 70 fish with the average weight and length of 8.52±1.54 g and 8.47±1.16 cm were anesthetized by various concentrations of peppermint essential oils including 200, 250, 300, 350, 400, 450 and 500 ppm using the immersion method. The average amounts of temperature, pH and the hardness of water were 22±2˚C, 7 and 981 mg/L, respectively. The time taken to reach different stages of anesthesia, loss of equilibrium, twilight anesthesia, balance recovery and complete recovery were measured after exposure of fish to various concentrations of peppermint essential oils. In order to determine the effects of various concentrations of peppermint essential oils including 200, 300, 400 and 500 ppm at time 0 and 24 h, the tissue samples that were taken from the liver, kidney and gill of fish were examined by light microscopy. The results showed that the maximum and minimum time taken to reach complete anesthesia were observed after 10±5.11 and 73±16 seconds of exposure to 200 and 500 ppm of peppermint essential oils, respectively. The minimum time taken for recovery was 300±8.4 seconds which belonged to the treatment of 200 ppm peppermint essential oils. Moreover, the results showed that by increasing the concentration of anesthetic substance, the induction of anesthesia was faster and the time taken for complete recovery from anesthesia was increased. Histopathological studies showed that the optimum concentration of 200 ppm peppermint essential oils had no side effects. Therefore, this anesthetic concentration of peppermint essential oils can be safely used.

Keywords: Peppermint essential oil, Anesthesia, Common carp, Histopathology

*Corresponding author