نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دوم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۲
http://japu.gau.ac.ir

مقایسه اثر بیهوش‌کنندگی عصاره سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) و مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) بر روی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

***سکینه یگانه[۱] و پریسا ملکی[۲]**

[۱]استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۲]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه گنبد

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۲۳

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی اثرات بیهوشی عصاره گیاهان بادرنجبویه، سنبل‌الطیب و مریم‌گلی بر بچه‌ماهی کپور معمولی بود. عصاره گیاهان بادرنجبویه و سنبل‌الطیب به روش ماسراسیون (غرق‌آبی) تهیه شد و عصاره گیاه مریم‌گلی به‌صورت آماده از بازار خریداری و در غلظت‌های متفاوت روی بچه‌ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) با میانگین طول کل ۱/۸۵±۱۲/۴۸ سانتی‌متر و میانگین وزن ۷/۹۹±۲۷/۲۵ گرم آزمایش شد. از عصاره بادرنجبویه غلظت‌های ۲۵/۵، ۵۱ و ۷۶/۵ گرم در لیتر، از عصاره سنبل‌الطیب غلظت‌های ۴/۱۵ و ۶/۸۱ گرم در لیتر و از گیاه مریم‌گلی غلظت‌های ۰/۰۷۵، ۰/۱۲۵، ۰/۱۷۵ و ۰/۲۲۵ گرم در لیتر مورد استفاده قرار گرفت. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، pH، شوری و سختی آب مورد استفاده به‌ترتیب ۲۱، ۶/۷ و ۱/۰۲ درجه سانتی‌گراد (قسمت در هزار) و ۶۵۱ (میلی‌گرم کربنات کلسیم در لیتر) بود. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن ($P<0/05$) صورت گرفت. با مقایسه سنبل‌الطیب، بادرنجبویه و مریم‌گلی می‌توان نتیجه گرفت که اثر بیهوش‌کنندگی، در غلظت‌های کم مورد استفاده در هر ۳ گیاه، تفاوت معنی‌داری داشته ($P<0/05$) و در غلظت‌های بالاتر، روند معنی‌دار کاهش می‌یابد. کوتاه‌ترین زمان برای بیهوشی کامل در غلظت ۰/۲۲۵ گرم در لیتر مریم‌گلی با زمان ۰/۵±۲۵۳/۳ ثانیه و برای احیای کامل در

* مسئول مکاتبه: skyeganeh@gmail.com

غلظت ۷۶/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه با زمان ۳۰±۲۱۰ ثانیه به‌دست آمد. همچنین بیش‌ترین زمان برای بیهوشی کامل در غلظت ۲۵/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه با زمان ۳۰±۱۱۷۰ ثانیه و بیش‌ترین زمان برای احیای کامل در غلظت ۰/۰۷۵ گرم در لیتر مریم‌گلی با زمان ۳/۵۱±۴۹۰/۳ ثانیه به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: سنبل‌الطیب، بادرنجبویه، مریم‌گلی، بیهوشی، *Cyprinus carpio*

مقدمه

تاکنون به‌علت کاربردهای متنوع مواد بیهوشی در فعالیت‌های آبزی‌پروری، مواد شیمیایی و داروهای مختلفی به بازار عرضه شده است. از یک‌سو نیاز روزافزون به استفاده از این داروها و از سوی دیگر کشف و ساخت انواع مفید و مؤثر بیهوش‌کننده‌هایی که ضمن دارا بودن کارایی بالا، کم‌ترین اثرات جانبی را بر انسان، ماهی و محیط زیست داشته باشند، موجب شده است که پژوهش‌گران و متخصصان علوم آبزیان همواره در صدد یافتن مواد مناسب و مطلوب بیهوش‌کننده برای موجودات مختلف از جمله ماهی می‌باشند. به‌عنوان اولین تلاش در امر بیهوشی ماهیان، پژوهشی توسط دانشمندان روسی در دهه ۱۹۶۰ در کنار یک کار پژوهشی در زمینه جراحی ماهی صورت پذیرفت. در مورد نام برده از اتر به‌عنوان ماده بیهوش‌کننده استفاده گردید (امینی و فاطمی، ۱۹۹۹). با توجه به کاربرد به‌نسبت وسیع $MS_{۲۲۲}$ در آبزی‌پروری کارهای گوناگون برای تعیین دز مناسب این دارو انجام شده است. از آن جمله بل (۱۹۸۷) مقدار بیهوش‌کنندگی $MS_{۲۲۲}$ را روی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کرده و مناسب‌ترین دز بیهوشی را ۸۰-۴۰ میلی‌گرم در لیتر بیان نمود. نیدهام (۱۹۹۰) در پژوهش‌های خود بیش‌تر به جنبه‌های فنی و کاربردی بیهوشی اشاره کرده و غلظت ۱۰۰-۲۵ پی‌پی‌ام را برای بیهوشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد کرد. مطالعه در مورد اثر دارویی اسانس گل میخک از اواخر دهه هشتاد آغاز شده است. استوس‌کاف و همکاران (۱۹۹۳) از اسانس گل میخک به‌عنوان ماده بیهوشی برای بیومتری ماهیان *Siganus Lineatus* استفاده کردند و غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام را برای این منظور مناسب‌تر تشخیص دادند. در پژوهشی که توسط اندرسون و همکاران (۱۹۹۷) انجام شد، تأثیر بیهوش‌کنندگی اسانس گل میخک و $MS_{۲۲۲}$ بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مقایسه و اسانس گل میخک به‌عنوان جایگزینی مناسب برای $MS_{۲۲۲}$ پیشنهاد شد. در ایران اولین پژوهش به‌منظور استفاده از مواد بیهوشی در جراحی ماهیان در سال ۱۳۷۲ توسط مخیر برای تعیین

غلظت بیهوش‌کنندگی $MS_{۲۲۲}$ صورت پذیرفت. این پژوهش‌گر غلظت ۷۰ پی‌پی‌ام را برای ماهیان خاویاری پیشنهاد نمود (محمدی‌آرانی، ۲۰۰۶). محرابی (۱۹۹۹) در مطالعات خود برای اولین بار به ارزیابی اثر بیهوش‌کنندگی پودر گل میخک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخت و پیشنهاد کرد که از پودر گل میخک به‌علت عوارض جانبی کم‌تر و قیمت ارزان‌تر و بیهوشی مناسب به‌جای $MS_{۲۲۲}$ استفاده گردد. اخلاقی و میراب‌بروجردی (۱۹۹۹) به‌منظور تعیین $LC_{۵۰}$ پودر گل میخک در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در وزن‌های مختلف آزمایش‌هایی انجام دادند. سلطانی و همکاران (۲۰۰۱) به بررسی اثرات بیهوشی اسانس و عصاره گل میخک و تأثیر برخی فاکتورهای کیفی آب شامل درجه حرارت و pH بر میزان بیهوشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخت. بیهوشی ماهی برای کاهش آسیب‌های مکانیکی و استرس برای اهداف مختلفی مانند دست‌کاری، حمل و نقل و... انجام می‌شود (پیرونین و اسکرک، ۲۰۰۳؛ زال و همکاران، ۲۰۰۹). در انتخاب ماده بیهوش‌کننده ممکن است فاکتورهای مختلفی مانند سهولت استفاده و دسترسی، امنیت برای ماهی و بشر، میزان تأثیر، پیامدهای فیزیولوژیکی و قیمت مدنظر قرار گیرد. متداول‌ترین ماده بیهوش‌کننده مورد استفاده تریکایین متان سولفونات ($MS_{۲۲۲}$) می‌باشد که علاوه‌بر قیمت زیاد و اثرات سرطان‌زایی، تا ۲۱ روز پس از استفاده در ماهی باقی‌مانده و در صورت مصرف برای انسان خطرناک می‌باشد. مواد دیگری مانند ۲- فنوکسی اتانول و متومیدات هیدروکلراید و کینالدین سولفات نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. مواد شیمیایی مورد استفاده بیش‌تر وارداتی و گران‌قیمت بوده و اثرات جانبی را بر جا می‌گذارند (صدیق‌اعتقاد و همکاران، ۲۰۰۸). اسانس گل میخک به‌عنوان یک اسانس گیاهی معرفی شده است که عیب‌های استفاده از $MS_{۲۲۲}$ را ندارد (میلوناس و همکاران، ۲۰۰۵؛ پیرونین و اسکرک، ۲۰۰۳). اما زمان بهبودی پس از بیهوشی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در استفاده از اسانس گل میخک طولانی‌تر از $MS_{۲۲۲}$ می‌باشد (هیکاسا و همکاران، ۱۹۸۶؛ کینی و همکاران، ۱۹۹۸). با توجه به غنای اکولوژیکی ایران می‌توان عصاره‌های گیاهی دیگری نیز به این لیست افزود، از جمله این گیاهان می‌توان به سنبل‌الطیب، بادرنجبویه و مریم‌گلی اشاره کرد، براساس مطالعات پیشین، گیاه مریم‌گلی دارای ترکیبات مواد تاننی، فلاونوئید، مواد گلیکوزیدی، رزینی و اسانس‌های ساپونین می‌باشد و خاصیت آرام‌بخشی دارد (رضوی‌افشار، ۱۹۷۹). پژوهش بر روی موش آزمایشگاهی نشان داد که اسانس گیاه مریم‌گلی از طریق فعال نمودن سیستم سیستم اوپیوییدی اثر ضددردی خود را اعمال می‌کند که این اثر احتمالا به

ترکیبات فنولیک و فلاونوییدی برمی‌گردد. اسانس مریم‌گلی اثر ضددردی مشابه مورفین دارد (عیدی و همکاران، ۲۰۰۸). اثر آرام‌بخشی گیاه سنبل‌الطیب و بادرنجبویه به اثبات رسیده است (سجادی و همکاران، ۲۰۰۳). اثرات تسکین عضلانی و خواب در گیاه سنبل‌الطیب شناسایی شده است، مطالعات نشان داده است که اثرات آرام‌بخشی این گیاه به ترکیب اسید والرنیک مرتبط است که با مهار آنزیم مسئول کاتابولیسم گابا[1]، موجب افزایش غلظت گابا در نسوج مغزی، کاهش فعالیت هسته‌های مغزی و در نتیجه آرام‌بخشی می‌گردد. در مطالعه‌ای بر روی موش صحرایی مشخص شد که عصاره گیاه سنبل‌الطیب بسته به دز می‌تواند اثر تسکینی بهتری از دیازپام ایجاد کند (رضایی و همکاران، ۲۰۱۱). اثرات اسانس بادرنجبویه نیز بر گیرنده‌های استیل‌کولینی بیان شده است (صدیق‌اعتقاد و همکاران، ۲۰۰۸). اثرات بیهوشی عصاره گیاهان سنبل‌الطیب، بادرنجبویه، خشخاش (*Papaver samniferum*) و شقایق (*Papaver bracteatum*) بر ماهی قرمز حوض (*Carassius auratus*) مطالعه شده است (صدیق‌اعتقاد و همکاران، ۲۰۰۸). با توجه به این‌که جز پژوهش بالا، پژوهش دیگری در ارتباط با اثر بیهوشی عصاره‌های گیاهی سنبل‌الطیب و بادرنجبویه بر روی ماهی وجود ندارد و در مورد عصاره مریم‌گلی هیچ بررسی‌ای انجام نشده است بنابراین در این پژوهش، اثرات بیهوشی سنبل‌الطیب، بادرنجبویه و مریم‌گلی بر بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت تا در صورت امکان بتوان، عصاره‌های نام برده را به‌عنوان ماده بیهوشی معرفی و مورد استفاده قرار داد.

مواد و روش‌ها

برای تهیه عصاره گیاهان بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) و سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*) از قسمت‌های برگ و سرشاخه گیاهان استفاده شد، ۲۵ گرم از این گیاهان، کاملا پودر شده و سپس در ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸-۲۴ ساعت در آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، پس از گذشت این مدت زمان، آن را صاف نموده و عصاره تهیه شد (بیست و ویچتل، ۲۰۰۱). عصاره مریم‌گلی از بازار به‌صورت آماده خریداری شد. ۶۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی (میانگین طول کل و وزن به‌ترتیب ۱/۸۵±۱۲/۴۸ سانتی‌متر و ۷/۹۹±۲۷/۲۵ گرم)، پس از انتقال، به‌مدت ۱ هفته برای سازگاری با شرایط جدید در آکواریوم نگه‌داری شدند و عمل غذادهی، هوادهی و تعویض آب با تکرار زیاد انجام می‌شد و از ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش

1- Gama Amino Butiric Acid

غذادهی قطع شد. ماهی‌ها را در ۳ گروه تقسیم کرده و به‌ازای هر غلظت معین گروه ۵ تایی انتخاب و هر غلظت عصاره در ۳ تکرار بررسی شد. برای مریم‌گلی ۴ زیرگروه ۵ تایی، برای سنبل‌الطیب دو زیرگروه و برای بادرنجبویه ۳ زیرگروه ۵ تایی مورد مطالعه قرار گرفت. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب مورد استفاده از جمله دما ۲۱ درجه سانتی‌گراد (همواره ثابت نگهداری شد)، pH=۶/۷ شوری ppt ۱/۰۲ و سختی ۶۵۱ پی‌پی‌ام اندازه‌گیری شد. برای به‌دست آوردن دز مؤثر عصاره، ابتدا به‌صورت تدریجی عصاره به ظرف دارای آب و ماهی افزوده شد تا زمان مشاهده شروع علایم بیهوشی ماهی همچنین رسیدن به مرحله کامل بیهوشی به‌دست آورده شود، سپس با توجه به غلظت به‌دست آمده دزهای آزمایش را معین گردید. عصاره بادرنجبویه با غلظت‌های ۲۵/۵، ۵۱ و ۷۶/۵ گرم در لیتر، عصاره سنبل‌الطیب غلظت‌های ۴/۱۵ و ۶/۸۱ گرم در لیتر و گیاه مریم‌گلی غلظت‌های ۰/۰۷۵، ۰/۱۲۵، ۰/۱۷۵ و ۰/۲۲۵ گرم در لیتر مورد بررسی قرار گرفت. هر غلظت برای هر تکرار، در ۳ لیتر آب تهیه شد و زمان رسیدن به بیهوشی ثبت شد. سپس ماهیان بیهوش به تشت‌های دیگری که شامل ۳ لیتر آب تازه بدون عصاره بود، منتقل شدند و زمان احیا (بازگشت از حالت بیهوشی به حالت طبیعی) نیز ثبت شد. لازم به ذکر است که هوادهی در تشت‌های آزمایش در طی آزمایش قطع گردید (صدیق‌اعتقاد و همکاران، ۲۰۰۸). تمامی غلظت‌ها برای سنبل‌الطیب، بادرنجبویه و مریم‌گلی در ۳ تکرار انجام گرفت و در طول آزمایش و بعد از گذشت ۲۴ ساعت که ماهی‌ها تحت نظر بودند هیچ‌گونه تلفاتی مشاهده نشد. اعدادی که به‌دست آمد با مشاهده علایمی که ماهی‌ها از خود نشان دادند ثبت شد و با مشاهده فیلم‌هایی که از مراحل بیهوشی در طی انجام پروژه گرفته شده بود تکمیل شد. برای انجام عملیات آماری از نرم‌افزار SPSS 19 استفاده شد. تمام تغییرات مشاهده شده در طول زمان بیهوشی و احیا ثبت شد و تجزیه و تحلیل داده‌ها در طول بیهوشی براساس بیهوشی کامل و در طول زمان احیا براساس احیای کامل انجام شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و مقایسه معنی‌داری تفاوت میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

آنالیز آماری داده‌ها نشان داد میانگین زمان بیهوشی به‌دست آمده از غلظت ۴/۱۵ گرم در لیتر سنبل‌الطیب (۲۴/۵±۵۷۵/۳ ثانیه) و ۲۵/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه (۳۰±۱۱۷۰ ثانیه) با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت ($P<0/05$). میانگین زمان بیهوشی به‌دست آمده از

غلظت ۶/۸۱ گرم در لیتر سنبل‌الطیب (۸۶/۵±۴۱۱/۳ ثانیه)، با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها به‌جز از غلظت ۵۱ گرم در لیتر بادرنجبویه (۲۸±۴۵۸) و ۰/۰۷۵ گرم در لیتر مریم‌گلی (۹/۵±۳۳۱/۶ ثانیه) تفاوت معنی‌داری داشت. میانگین زمان بیهوشی به‌دست آمده از غلظت ۵۱ گرم در لیتر بادرنجبویه به‌جز با میانگین زمان به‌دست آمده از غلظت ۶/۸۱ گرم در لیتر سنبل‌الطیب با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود.

جدول ۱- مدت زمان لازم برای رسیدن به مرحله بیهوشی کامل و احیا در ماهی کپور معمولی در غلظت‌های مختلف سه گیاه مریم‌گلی، سنبل‌الطیب و بادرنجبویه

عصاره مورد استفاده	غلظت مورد استفاده (گرم در لیتر)	زمان بیهوشی (ثانیه)	زمان احیا (ثانیه)
سنبل‌الطیب	۴/۱۵	۵۷۵/۳۳±۲۴/۵^{a*}	۳۴۲/۳۳±۱۷/۵^{ab}
	۶/۸۱	۴۱۱/۳۳±۸۶/۵^{b}	۴۱۹±۸۲/۶^{b}
میانگین		۴۹۳/۳	۳۸۰/۶۷
بادرنجبویه	۲۵/۵	۱۱۷۰±۳۰^{c}	۵۱۰±۳۰^{b}
	۵۱	۴۵۸±۲۸^{db}	۲۸۹±۱۱^{acdf}
	۷۶/۵	۲۹۲/۳۳±۷/۵^{eb}	۲۱۰±۳۰^{c}
میانگین		۶۴۰/۱۱	۳۳۶/۳۳
مریم‌گلی	۰/۰۷۵	۳۳۱/۶۶±۹/۵^{be}	۹۶۱/۶۶±۳/۵۱^{d}
	۰/۱۲۵	۲۷۹±۹^{e}	۴۹۰/۳۳±۱۰/۵^{b}
	۰/۱۷۵	۲۶۷±۲^{e}	۴۰۶±۱۴^{abc}
	۰/۲۲۵	۲۵۳/۳۳±۰/۵۷^{e}	۳۶۵±۵^{abcf}
میانگین		۲۸۲/۷۵	۵۷۵/۷۵

* حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد (P<۰/۰۵).

میانگین زمان بیهوشی به‌دست آمده از غلظت ۷۶/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه (۷/۵±۲۹۲/۳ ثانیه) با زمان‌های به‌دست آمده از غلظت‌های ۴/۱۵ و ۶/۸۱ گرم در لیتر سنبل‌الطیب و ۲۵/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه تفاوت معنی‌دار داشته (P<۰/۰۵) و با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری نبود (P>۰/۰۵). میانگین زمان بیهوشی به‌دست آمده از غلظت ۰/۰۷۵ گرم در لیتر مریم‌گلی (۹/۵±۳۳۱/۶ ثانیه) با میانگین زمان بیهوشی به‌دست آمده از غلظت‌های ۴/۱۵ گرم در لیتر سنبل‌الطیب

و ۲۵/۵ و ۵۱ گرم در لیتر بادرنجبویه تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) و با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). میانگین زمان بیهوشی به‌دست آمده از غلظت ۰/۱۲۵، ۰/۱۷۵ و ۰/۲۲۵ گرم در لیتر مریم‌گلی (۹±۲۷۹ ثانیه)، (۲±۲۶۷ ثانیه) و (۰/۵±۲۵۳/۳ ثانیه) با میانگین زمان‌های بیهوشی به‌دست آمده از غلظت‌های ۴/۱۵ و ۶/۸۱ گرم در لیتر سنبل‌الطیب و ۵۱ و ۲۵/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه دارای تفاوت معنی‌داری بود (P<۰/۰۵) و با میانگین زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵) (جدول ۱). میانگین زمان احیا به‌دست آمده از غلظت ۴/۱۵ گرم در لیتر سنبل‌الطیب (۱۷/۵±۳۴۲/۳ ثانیه) با زمان‌های به‌دست آمده از غلظت‌های ۲۵/۵ و ۷۶/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه (۳۰±۵۱۰ ثانیه)، (۳۰±۲۱۰ ثانیه) و ۰/۰۷۵ و ۰/۱۲۵ گرم در لیتر گیاه مریم‌گلی (۳/۵۱±۹۶۱/۶ ثانیه)، (۱۰/۵±۴۹۰/۳ ثانیه) تفاوت معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵) و با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). میانگین زمان احیا به‌دست آمده از غلظت ۶/۸۱ گرم در لیتر سنبل‌الطیب (۸۲/۶±۴۱۹ ثانیه) به غیر از زمان‌های احیای به‌دست آمده از غلظت‌های ۵۱ و ۷۶/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه (۱۱±۲۸۹ ثانیه)، (۳۰±۲۱۰ ثانیه) و ۰/۰۷۵ گرم در لیتر مریم‌گلی (۳/۵۱±۹۶۱/۶ ثانیه) با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت (P<۰/۰۵). میانگین زمان‌های احیای به‌دست آمده از غلظت ۲۵/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه فقط با زمان‌های احیای به‌دست آمده از غلظت‌های ۶/۸۱ گرم در لیتر سنبل‌الطیب و ۰/۱۲۵ مریم‌گلی تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). میانگین زمان‌های احیای به‌دست آمده از غلظت ۵۱ گرم در لیتر بادرنجبویه فقط با زمان‌های به‌دست آمده از غلظت‌های ۴/۱۵ گرم در لیتر سنبل‌الطیب و ۷۶/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه و ۰/۲۲۵ گرم در لیتر مریم‌گلی تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). میانگین زمان احیای به‌دست آمده از غلظت ۷۶/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه به‌جز زمان‌های احیای به‌دست آمده از غلظت ۵۱ گرم در لیتر بادرنجبویه با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). میانگین زمان احیای به‌دست آمده از غلظت‌های ۰/۰۷۵ گرم در لیتر مریم‌گلی با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری بود (P<۰/۰۵). میانگین زمان احیای به‌دست آمده از غلظت ۰/۱۲۵ گرم در لیتر مریم‌گلی با زمان‌های به‌دست آمده از غلظت‌های ۶/۸۱ گرم در لیتر و ۲۵/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه و ۰/۱۷۵ گرم در لیتر مریم‌گلی (۱۴±۴۰۶ ثانیه) تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵)، ولی با زمان‌های به‌دست

آمده از سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). میانگین زمان احیای به‌دست آمده از غلظت ۰/۱۷۵ گرم در لیتر مریم‌گلی با زمان‌های به‌دست آمده از غلظت‌های ۲۵/۵، ۵۱ و ۷۶/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه غلظت ۰/۰۷۵ گرم در لیتر مریم‌گلی تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵) و با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). میانگین زمان احیای به‌دست آمده از غلظت ۰/۲۲۵ گرم در لیتر مریم‌گلی (۵±۳۶۵ ثانیه) با میانگین زمان‌های احیای به‌دست آمده از غلظت‌های ۲۵/۵ و ۷۶/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه و ۰/۰۷۵ و ۰/۱۲۵ گرم در لیتر مریم‌گلی تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵) و با زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵) (جدول ۱).

جدول ۱، میانگین زمان‌های مورد نیاز برای رسیدن به مرحله بیهوشی کامل و احیای کامل در سه گیاه سنبل‌الطیب، بادرنجبویه و مریم‌گلی را نشان می‌دهد. میانگین زمان‌های بیهوشی به‌دست آمده از غلظت‌های مختلف گیاه سنبل‌الطیب (۴۹۳/۳ ثانیه)، تفاوت معنی‌داری با میانگین زمان‌های به‌دست آمده از سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵) و به‌ترتیب از زمان‌های بیهوشی دو گیاه بادرنجبویه و مریم‌گلی، کم‌تر و بیش‌تر بود. میانگین زمان‌های بیهوشی به‌دست آمده از غلظت‌های مختلف گیاه بادرنجبویه (۶۴۰/۱۱ ثانیه) با زمان‌های بیهوشی به‌دست آمده از گیاه سنبل‌الطیب تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) و با زمان‌های بیهوشی به‌دست آمده از گیاه مریم‌گلی، تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). میانگین زمان‌های بیهوشی به‌دست آمده از غلظت‌های مختلف گیاه مریم‌گلی (۲۸۲/۷۵ ثانیه) با میانگین زمان‌های بیهوشی به‌دست آمده از گیاه بادرنجبویه، تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) و با میانگین زمان‌های بیهوشی به‌دست آمده از گیاه سنبل‌الطیب تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). میانگین زمان‌های احیا به‌دست آمده از غلظت‌های مختلف گیاه سنبل‌الطیب (۳۸۰/۶۷ ثانیه) با میانگین زمان‌های احیا به‌دست آمده از سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). میانگین زمان‌های احیا به‌دست آمده از غلظت‌های مختلف گیاه بادرنجبویه (۳۳۶/۳۳ ثانیه) با میانگین زمان‌های احیای به‌دست آمده از گیاه مریم‌گلی دارای تفاوت معنی‌داری نمی‌باشد (P>۰/۰۵) و با میانگین زمان‌های احیا به‌دست آمده از گیاه سنبل‌الطیب دارای تفاوت معنی‌داری بود (P<۰/۰۵). میانگین زمان‌های احیا به‌دست آمده از غلظت‌های مختلف گیاه مریم‌گلی (۵۷۵/۷۵ ثانیه) با میانگین زمان‌های احیای به‌دست آمده از گیاه سنبل‌الطیب دارای تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) و با میانگین زمان‌های احیا به‌دست آمده از گیاه بادرنجبویه تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵) (جدول ۱). کم‌ترین زمان بیهوشی و احیا

به‌ترتیب از غلظت‌های ۰/۲۲۵ گرم در لیتر مریم‌گلی و ۷۶/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه با میانگین زمان‌های ۰/۵±۲۵۳/۳ ثانیه و ۳۰±۲۱۰ ثانیه به‌دست آمد. بیش‌ترین زمان بیهوشی و احیا به‌ترتیب از غلظت‌های ۲۵/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه و ۰/۰۷۵ گرم در لیتر مریم‌گلی با میانگین زمان‌های ۳۰±۱۱۷۰ ثانیه و ۱۰/۵±۴۹۰/۳ ثانیه به‌دست آمد. قابل‌توجه است در روند مطالعات، علایم تشنجات زودگذر در تمام غلظت‌های مصرفی مریم‌گلی و بادرنجبویه و در فاصله‌های زمانی مختلف مشاهده گردید.

بحث

نتایج اولیه بیانگر آن هستند که عصاره گیاهی سنبل‌الطیب و بادرنجبویه دارای اثرات بیهوش‌کنندگی می‌باشند (صدیق‌اعتقاد و همکاران، ۲۰۰۸)، مکانیسم اثر برخی از بیهوش‌کننده‌ها تا حدودی شناخته شده است، ۲- فنوکسی اتانول و متومیدات هیدروکلراید، به‌ترتیب، مانع از فعالیت گیرنده‌های ان- متیل- دی- آسپارات (NMDA) و سبب تحریک فعالیت بازدارندگی گیرنده‌های تیپ A گاما آمینو بوتیریک اسید ($GABA_A$) می‌گردند. بیهوش‌کننده‌های مختلف اثرات متفاوتی بر گونه‌های ماهی با شرایط متفاوتی از نظر سن، اندازه و جنس دارند، شرایط محیطی مانند شوری، دمای آب، مقدار اکسیژن و pH نیز در پاسخ‌گویی ماهی نسبت به بیهوش‌کننده مؤثرند (زال و همکاران، ۲۰۰۹). مطالعات به‌نسبت زیادی، کارایی و اثرات فیزیولوژیکی بیهوش‌کننده‌های مختلفی را توصیف نموده‌اند (چو و هس، ۲۰۰۰؛ ایواما و همکاران، ۱۹۸۹؛ سیویو و همکاران، ۱۹۷۷). براساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش سنبل‌الطیب اثرات تضعیفی روی سیستم عصبی مرکزی دارد همچنین براساس پژوهش‌هایی از برونئول به‌عنوان یکی از ترکیبات سنبل‌الطیب با اثراتی در حدود ۶ برابر قوی‌تر از دیازپام یاد شده است (گراهام و جانسون، ۲۰۰۳). کم‌ترین زمان بیهوشی و احیا در این پژوهش، به‌ترتیب از غلظت‌های ۰/۲۲۵ گرم در لیتر مریم‌گلی و ۷۶/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه با میانگین زمان ۰/۵±۲۵۳/۳ ثانیه و ۳۰±۲۱۰ ثانیه به‌دست آمد، بیش‌ترین زمان بیهوشی و احیا به‌ترتیب از غلظت‌های ۲۵/۵ گرم در لیتر بادرنجبویه و ۰/۰۷۵ گرم در لیتر مریم‌گلی با میانگین زمان ۳۰±۱۱۷۰ ثانیه و ۱۰/۵±۴۹۰/۳ ثانیه به‌دست آمد. تامارو و همکاران (۱۹۹۵) بیان کردند که با افزایش غلظت دارو مدت زمان رسیدن به مرحله بیهوشی کامل کاهش می‌یابد. غلظت‌های کم‌تر از دزهای تعیین شده در این آزمایش نیز می‌توانند باعث بیهوشی ماهی‌ها شوند اما زمان بیهوشی و به هوش آمدن این ماهیان بیش‌تر خارج از زمان مناسب برای بیهوشی ماهیان (با توجه به اصول بیهوشی، دز کشنده و دز بیهوشی

باید بیش از نصف با یکدیگر اختلاف داشته باشند) می‌باشد (یوان و همکاران، ۲۰۰۴). بادرنجبویه و مریم‌گلی گیرنده‌های استیل کولینی مغز را حساس کرده و از طرف دیگر باعث تحریک تولید استیل کولین استراز می‌گردد (آخوندزاده و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین به‌صورت جانبی می‌توانند بر گیرنده‌های نیکوتینی و موسکارینی اعمال اثر نمایند (ویک و همکاران، ۲۰۰۰). با توجه به تحریکی بودن گیرنده‌های نام برده و همچنین مشاهده تشنجات طی فرآیند آزمایش در ماهی‌های تحت مطالعه تصور می‌شود که بیهوشی به‌دست آمده، نتیجه تحریک گیرنده‌های عصبی بوده و هایپرپولازاسیون مکرر باعث خستگی عصبی شده و بعد از فرآیند تشنج، ایجاد علایم بیهوشی می‌نمایند (فقیهی، ۲۰۰۳).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که هر سه گیاه نام برده اثرات بیهوش‌کنندگی را دارا می‌باشند به‌طوری‌که کم‌ترین زمان بیهوشی از گیاه مریم‌گلی با ۴/۳۱±۷۵/۲۸۲ ثانیه و کم‌ترین زمان احیا از گیاه بادرنجبویه با ۳/۳۳۶±۳۶/۴ ثانیه به‌دست آمد. با این وجود به‌دلیل مشاهده تشنجات ایجاد شده توسط هر دو گیاه نام برده در این مطالعه و مطالعه انجام‌شده توسط صدیق‌اعتقاد و همکاران (۲۰۰۸) و همچنین گستره تغییرات زمانی وسیع به‌دست آمده در این پژوهش برای گیاه مریم‌گلی (بیهوشی ۲۸۲/۷۵ ثانیه و احیا ۵۷۵/۷۵ ثانیه) و گیاه بادرنجبویه (بیهوشی ۶۴۰/۱۱ ثانیه و احیا ۳۳۶/۳۳ ثانیه)، استفاده از این گیاهان توصیه نمی‌شود ولی سنبل‌الطیب به‌دلیل عملکرد قابل‌توجه و بدون اثرات جانبی در این مطالعه و مطالعه انجام‌شده توسط صدیق‌اعتقاد و همکاران (۲۰۰۸) و گستره تغییرات زمانی مقبول به‌دست آمده در این پژوهش (بیهوشی ۴۹۳/۳ و احیا ۳۸۰/۶۷ ثانیه)، برای استفاده در بیهوشی آبزیان پیشنهاد می‌گردد. لازم به ذکر است که مطالعه و بررسی بیش‌تری برای یافتن دز مؤثر برای گونه‌ها و اندازه‌های متفاوت ماهی لازم است.

منابع

1. Akhlaghi, M., and Mirab Brojerdi, M. 1999. Anesthetic of clove tree and LC_{50} determination in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Vet. Res. 54: 49-52.
2. Akhondzadeh, S., Noroozian, M., Mohamadi, M., Ohadinia, S., Jamshidi, H.A., and Khani, K. 2003. *Melissa officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimers disease: a double blind, randomized, placebo controlled trial. Neurol Neurosurg Psychiatry, 74: 863-866.

3.Amani, M., and Fatemi, S.M.R. 1999. Artificial propagation of the white sturgeon guideline and its application to other North American sturgeons. Islamic Azad University, Center for Academic Publications, 223p.
4.Anerson, W.G., Mckinley, R.S., and Colvecchia, M. 1997. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effect on swimming performance. Amer. J. Fish. Manage. 17: 301-307.
5.Bell, G. 1987. An outline of anesthetic and anesthesia for Salmonids, a guide for fish culturists in british Columbia. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences, No1534.
6.Bisset, N.G., and Wichtl, M. 2001. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. Second Edition. Medpharm Scientific Publishers, Pp: 24, 329, 513, 420.
7.Cho, G.K., and Heath, D.D. 2000. Comparison of tricaine methanesulphonate (MS_{222}) and clove oil anesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. Aquaculture Research, 31: 537-546.
8.Eidi, A., Eidi, M., and Badiei, L. 2008. Antinociceptive Effects of Essential Oil of *Salvia officinalis* in Mice. J. Med. Plants, 7th year, 4: 94-99.
9.Faghihi, S.M. 2003. Fundamentals of veterinary pharmacology. Forest Press, 383p.
10.Graham, A.R., and Johnston, H. 2003. Dietary chemical and brain function. Journal and Proceeding of the Royal Society of New South Wales, 135: 57-71.
11.Hikasa, Y., Takase, K., Ogasawara, T., and Ogasawara, S. 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thipental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. Japan. J. Vet. Sci. 48: 341-351.
12.Iwama, G.K., McGeer, J.C., and Pawluk, M.P. 1989. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol and adrenaline in rainbow trout. Can. J. Zool. 67: 2065-2073.
13.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*. Aquaculture Research, 29: 89-101.
14.Mehrabi, Y. 1999. Preliminary study of the effects of anesthetic clove powder, flower tree (*Syzygium aromaticum*) on rainbow trout. J. Res. Dev. 40: 160-162.
15.Mohammadi Arani, M. 2006. Study on anesthetization of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) fingerlings using Clove (*Eugenia caryophyllata*) oil. Iran. J. Med. Arom. Plant. 22: 188-192.
16.Mylonas, C.C., Cardinaletti, G., Sigelaki, I., and Polzonetti-Magni, A. 2005. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. Aquaculture, 246: 467-481.
17.Needham, D.J. 1990. Anesthesia and surgery, In: Fish Diseases (ed. I. Bryden). University of Study, Pp: 513-547.

18. Pirhonen, J., and Schreck, C.B. 2003. Effects of anaesthesia with MS_{222}, clove oil and CO_2 on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 220: 507-514.
19. Razavi Afshar, K. 1979. Scientific principles of anesthesia veranymasyvn. Tehran, Iran's National University, Pp: 1 and 2.
20. Rezaei, A., Pashazadeh, M., Ahmadizadeh, C., Jafari, B., and Jalilzadeh, M. 2011. Study of Sedative and Anxiolytic Effect of Herbal Extract of Nardostachys jatamansi in Comparison With Diazepam in Rats. J. Med. Plants. 9th year, 4: 169-174.
21. Sadigh Eteghad, S., Ghavami, S., Mortazavi, J., and Mirzaei, H. 2008. Comparative survey on anesthetizing effects of medicinal herbs *Valerian officinalis, Melissa officinalis, Papaver somniferum and Papaver bracteatum* on gold fish (*Carassius auratus*). Iran. Sci. Fish. J. 17: 91-98.
22. Sajjadi, S.E., Tavakoli, N., Samaian, M., and Pharm, D. 2003. Formulation of a sedative film tablet from extracts of *Melissa officinalis* and *Valerian officinalis*. J. Kerman Univ. Med. Sci. 10: 71-78.
23. Soivio, A., Nyholm, K., and Huhti, M. 1977. Effects of anaesthesia with MS_{222}, neutralized MS_{222} and benzocaine on the blood constituents of rainbow trout, *Salmo gairdneri.* J. Fish Biol. 10: 91-101.
24. Soltani, M., Omidbeigi, R., Rezvani, S., Mehrabi, M.R., and Chitsaz, H. 2001. Study of Anesthetic effects induced by clove flower (*Eugenia caryophillata*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under various water quality conditions. J. Fac. Vet. Med. Tehran Univ. 56: 85-89.
25. Stoskopf, M. 1993. Anaesthesia. In: Aquaculture for Veterinarians; Fish Husbandry and Medicine (ed. L. Brown), Pergamon Press, USA. Pp: 161-167.
26. Tamaru, C.S.C.C., Trickand, W.J., and Gerald, F. 1995. Clove oil, minyak cengkeh, a natural fish anesthices Sustainable Aquaculture. voail. Proceeding of the pacon conference on sustainable Aquaculture-955, Pp: 265-371.
27. Wake, G., Court, J., Pickering, A., Lewis, R., Wilkins, R., and Perry, E. 2000. CNS acetylcholine receptore activity in activity in European medicinal plants traditionally used to improve failing memory. J. Ethnopharma-Cology. 69: 105-114.
28. Yuan, C.H.S., Mehendale, S., Xiao, Y., Aung, H.H., Xie, J.T., and Michael, K. 2004. The Gamma-Aminobutyric Acidergic effects of valerian and valerenic acid on rat brain stern Neuronal Activity. International Bibliographic Information on Dietary Supplements. 43: 353-358.
29. Zahl, I.H., Kiesling, A., Smuelsen, O.B., and Hensen, M.K. 2009. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*)-Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. Aquaculture, 295: 52-59.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Utilization and Cultivation of Aquatics, Vol. 2(2), 2013
http://japu.gau.ac.ir

Comparison of anesthetic effects produced by extracts of *Valeriana officinalis*, *Melissa officinalis* and *Salvia officinalis* on common carp (*Cyprinus carpio*)

***S. Yeganeh[1] and P. Maleki[2]**

[1]Assistant Prof., Dept. of Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]M.Sc. Student, Dept. of Fisheries, Gonbad University

Received: 05/09/2012; Accepted: 10/14/2012

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the anesthetic effects of three plant extracts on common carp (*Cyprinus carpio*). *Melissa officinalis* and *Valeriana officinalis* extracts were prepared by the method of Maceration and *Salvia officinalis* extract was purchased from market. Different concentrations of those extracts were used on common carp with a mean total length of 12.48±1.85 cm and mean body weight of 27.25±7.99 g. *Melissa officinalis* concentrations were used 25.5, 51 and 76.5 g/l, *Valeriana officinalis* concentrations were used 4.15 and 6.81 g/l and *Salvia officinalis* concentrations were used 0.075, 0.125, 0.175 and 0.225 g/l. During the experiment, physicochemical factors including water temperature, pH, salinity and water hardness, were measured 21 ^{o}C, 6.7, 1.02 ppt and 651 mg $CaCo_3$/lit, respectively. Statistical analysis of all data was performed using ANOVA and Duncan test was used for determining of significant differences between treatments ($P<0.05$). Comparing of three extracts can be concluded that the application of low concentrations of all three extracts showed significant differences ($P<0.05$) and at higher concentrations, the significant trend is reduced. The shortest time to complete anesthesia was 253.3±0.5 seconds in concentrations of 0.225 g/l of *Salvia officinalis* and for full recovery was 210±30 seconds in concentration of 76.5 g/l of *Melissa officinalis*. The maximum time for full anesthetic was 1170±30 seconds in concentration of 25.5 g/l of *Melissa officinalis* and maximum time for full recovery was 490.3±3.51 seconds in concentration of 0.075 g/l of *Salvia officinalis*.

Keywords: *Melissa officinalis*, *Valeriana officinalis*, *Salvia officinalis*, Anesthesia, *Cyprinus carpio*

* Corresponding Author; E-mail: skyeganeh@gmail.com