

“Research article”

DOI: 10.30495/JVCP.2021.1889774.1253

## Effect of dietary supplementation of essential oil of *Pistacia atlantica* on hepatic tissue and some blood parameters of *Oncorhynchus mykiss*

Parsa, A.<sup>1</sup>

1- Assistant Professor, Department of Fish Health and Disease, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.

\*Corresponding author's email: a.parsa@iausdj.ac.ir

(Received: 202/7/18 Accepted: 2020/12/31)

### Abstract

The use of plant products in aquaculture can be important for humans in many ways. The aim of this study was to determine the effects of oral administration of *Pistacia atlantica* extract on liver and blood of rainbow trout. For this purpose, 60 apparently healthy rainbow trout weighing about 150 gr were randomly selected and equally divided into 2 groups of control and treatment with 3 replicates in each group. The essential oil was added to the daily diet at the rate of 10 gr/kg of feed and after 3 months blood samples were collected from all the fish and the amounts of leukocytes, erythrocytes, haematocrit, total protein, albumin, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, uric acid, cholesterol, triglycerides, glucose and creatinine were measured. Liver samples were also collected for histological analysis. The results showed that the control group had lower food conversion ratio ( $p<0.05$ ). Also, consumption of essential oil at this dose had negative effect on liver function and liver enzymes significantly increased ( $p<0.05$ ). Total protein, albumin, and blood glucose were decreased and uric acid and creatinine were significantly increased ( $p<0.05$ ). The blood cells were significantly decreased. In the histological examination, non-infectious degeneration and hepatocyte atrophy was observed around the central veins of liver. So, it seems that consumption of corm essential oil at this dose is not recommended and results in tissue damage.

**Conflict of interest:** None declared

**Keywords:** Blood parameters, Essential oil of *Pistacia atlantica*, Liver, Performance, Rainbow trout.

"مقاله پژوهشی"

DOI: 10.30495/JVCP.2021.1889774.1253

## بررسی تاثیر مصرف خوراکی اسانس شیره درخت بنه (*Pistacia atlantica*) بر بافت کبد و برخی پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

علی پارسا<sup>۱</sup>

۱- استادیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

نویسنده مسئول مکاتبات: a.parsa@iausdj.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۹/۴/۲۸ پذیرش نهایی: ۹۹/۱۰/۱۱)

### چکیده

استفاده از فراورده‌های گیاهی در آبی‌پروری از جهات مختلف می‌تواند برای انسان حائز اهمیت باشد. هدف مطالعه حاضر، شناخت اثرات مصرف خوراکی اسانس شیره گیاه بنه بر بافت کبد و برخی پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بود. در این راستا تعداد ۶۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به ظاهر سالم با وزن تقریبی ۱۵۰ گرم در ۲ گروه کنترل و تیمار، با ۳ تکرار، به‌طور تصادفی در نظر گرفته شدند. اسانس مذکور به مقدار ۱۰ گرم در کیلوگرم به غذای روزانه ماهیان اضافه شد و بعد از ۳ ماه، از همه ماهی‌ها خونگیری انجام گرفت. پارامترهای خونی شامل شمارش گلبول‌های سفید و قرمز، هماتوکریت، پروتئین کل، آل‌بومین، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارات آمینوترانسفراز، اسید اوریک، کلسترول، تری‌گلیسیرید، گلوکز و کراتینین اندازه‌گیری شد. همچنین همزمان از کبد ماهی‌های مذکور، نمونه بافت‌شناسی تهیه شد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ماهیان گروه کنترل ضریب تبدیل کمتری نسبت به ماهیان گروه تیمار داشتند ( $p < 0/05$ ). همچنین مصرف اسانس بنه با دوز استفاده‌شده در مورد ماهی قزل‌آلای بر عملکرد کبدی تاثیر سوء داشته و نیز آنزیم‌های کبدی هم افزایش داشتند ( $p < 0/05$ ). اما پروتئین کل، آل‌بومین و قند خون کاهش پیدا کرده و اسید اوریک و کراتینین افزایش معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ). در ارزیابی هماتولوژیک کاهش تعداد سلول‌های خونی مشهود بود و در بررسی بافت‌شناسی در اطراف وریدهای مرکزی کبد ماهیان گروه کنترل، دژنراسیون غیر عفونی و نیز آتروفی در هیپاتوسیت‌ها وجود داشت. به نظر می‌رسد که می‌توان اعلام کرد، مصرف خوراکی اسانس درخت بنه به مقدار ۱۰ گرم در کیلوگرم غذای روزانه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، قابل توصیه نبوده و صدمات بافتی ایجاد می‌نماید.

کلیدواژه‌ها: قزل‌آلای رنگین کمان، اسانس بنه، بافت کبد، پارامترهای خون.

## مقدمه

مورد استفاده قرار گرفته و بر متابولیسم قند و چربی‌ها تاثیر داشته باشد. فلاونوئیدهای موجود در گیاهان نیز می‌توانند از طریق ممانعت از مکانیسم انتقال گلوکز وابسته به سدیم، جذب گلوکز روده را کاهش دهند (Song et al., 2002).

مکمل‌های مختلفی در غذای لاروها و بچه ماهیان استفاده می‌گردد از آن جمله میتوان به مواد محرک رشد، محرک ایمنی و آنتی‌بیوتیک‌ها اشاره کرد، اما استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به خاطر مخاطراتی از قبیل ایجاد مقاومت دارویی در انسان، سمیت حاصله از باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی، حساسیت‌زایی در انسان و خطرات زیست محیطی، اغلب توصیه نمی‌شود (Serrano, 2005). در عوض استفاده از مواد جایگزین جانوری و گیاهی بیشتر سفارش و تاکید می‌گردد (Austin et al., 1995). البته گیاهان دارویی به دلیل طبیعی بودن، خطرات و عوارض کمتر و در دسترس و ارزان بودن نسبت به مواد جانوری و سنتتیک، مقبولیت بیشتری دارند. بر این اساس، عصاره‌های گیاهی یکی از مواد افزودنی هستند که در دهه اخیر در آبزی‌پروری بیشتر مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Motamedi et al., 2010). از آنجایی که برخی گیاهان دارویی دارای طیف وسیعی از خواص مفید از جمله تحریک و تقویت سیستم ایمنی هستند، به همین علت استفاده از آن‌ها در مزارع پرورش ماهی سبب بهبود رشد، ایمنی و در نتیجه افزایش تولید می‌گردد و سیاست داروسازی نوین در طی دو دهه اخیر به شکل قابل توجهی به سوی گیاهان دارویی و درمان با داروهای گیاهی پیش رفته است. آمار جهانی نشان می‌دهد که استفاده از گیاهان دارویی به دلیل افزایش مقاومت عوامل بیماری‌زا به داروهای مصنوعی در سال

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با دارا بودن قابلیت سازگاری مناسب، در اغلب آب‌های شیرین که دارای شرایط مناسب هستند، یافت می‌شود (Nafisi Bahabadi, 2007).

براساس آمار منتشر شده توسط سازمان ملل، ایران در پرورش آزاد ماهیان دارای رتبه پنجم جهان می‌باشد، از این رو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، به‌عنوان یک گونه اقتصادی در ایران مطرح می‌باشد (Adeli and Baghaei, 2013).

از جمله اهداف روش‌های نوین تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی به منظور کاهش میزان تلفات در جهت اقتصادی نمودن تولید این گونه ارزشمند می‌باشد. ساختار فیزیولوژیکی ماهی‌ها و اهمیت گوشت آن در تغذیه انسان و نیز آمار مصرف سرانه ۲۰ کیلوگرم آبزی در برخی کشورها، باعث شده که آبزی‌پروری اقتصادی و استفاده از محصولات ارگانیک در دهه‌های اخیر مورد توجه قرار گیرد (Alishahi et al., 2010).

گیاهان بیش از ۵۰۰۰۰۰ متابولیت ثانویه را به عنوان بخشی از پروسه‌های رشد طبیعی و در واکنش بر علیه عوامل استرس‌زای محیط تولید می‌کنند. متابولیت‌های ثانویه گیاهی به منظور حفاظت از گیاه در برابر پاتوژن‌ها، گیاه‌خواران و نیز به منظور تاثیر گذاشتن بر رشد گیاهان مجاور به کار می‌روند. از جمله متابولیت‌های ثانویه گیاهی می‌توان به تانن‌ها، ساپونین‌ها، لکتین‌ها، آلکالوئیدها و سیانوژن‌ها اشاره کرد (Sharifi and Hazell, 2011). اسانس بنه به‌عنوان کاهنده قند، کلسترول و تری‌گلیسیرید خون می‌تواند

### مواد و روش‌ها

بررسی حاضر، در مزرعه پرورش ماهی آیدر شهر سندنجان در تابستان سال ۱۳۹۷ با استفاده از تعداد ۶۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به ظاهر سالم با وزن تقریبی ۱۵۰ گرم در غالب ۲ گروه کنترل و تیمار با ۳ تکرار، به‌طور کاملاً تصادفی در حوضچه‌هایی از جنس فایبرگلاس با حجم ۱۵۰ لیتر انجام شد. در ابتدا پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب تانکرها توسط دستگاه مولتی‌متر دیجیتال (مدل PL-700PC ساخت gondo تایوان) با دقت ۰/۱ اندازه‌گیری شد که اکسیژن محلول در آب، بین ۷/۵-۸/۵ میلی‌گرم در لیتر ثبت گردید. همچنین pH آب در محدوده ۸/۳-۷/۵ بود و درجه حرارت آن هم، ۱۳ درجه سلسیوس ثبت گردید. حجم ورودی آب در واحد زمان برای هر تانکر نیز، ۱۵ لیتر در دقیقه بود.

جهت انجام تحقیق، ماهیان موردنظر، به‌مدت ۱۰ روز در شرایط فوق‌نگهداری شدند تا با محیط سازگاری یابند. غذای مورد استفاده برای همه ماهی‌های مورد آزمایش، غذای اکستروود مرحله رشد شماره ۱ شرکت فرادانه شهرکرد بود که مقدار غذای مورد نیاز ماهیان بر اساس جدول توصیه شده شرکت در دو نوبت صبح و عصر محاسبه و در اختیار ماهیان قرار می‌گرفت. همچنین اسانس شیره درخت بنه از کارخانه سقزسازی ون واقع در روستای حسن‌آباد سندنجان خریداری شده و به مقدار ۱۰ گرم در کیلوگرم به غذای روزانه ماهیان گروه تیمار اضافه شد.

بعد از ۳ ماه عمل خونگیری از قلب ماهیان انجام شده و نمونه خون کامل با استفاده از ماده ضد انعقاد

های اخیر پیشرفت چشمگیری داشته است (Ghasmi, 2010). مکمل‌های گیاهی علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، منجر به تحریک سیستم ایمنی غیر-اختصاصی، افزایش تحمل تنش‌های محیطی و مقاومت در برابر برخی بیماری‌های عفونی آبزیان می‌گردند که همه این عوامل در نهایت منجر به اقتصادی‌تر شدن تولید آبزیان پرورشی می‌شود (Rao et al., 2006). درخت بنه (*Pistacia atlantica*) از جمله گونه‌های وحشی پسته می‌باشد که در ایران در حدفاصل استان‌های فارس و کردستان به صورت انبوه و در بقیه نقاط کشور به صورت پراکنده دیده می‌شود (Sedaghat and Tavakoli, 2011). صمغ استخراج شده از درخت پسته وحشی تحت عنوان "سقز" نامیده می‌شود و به‌طور سنتی یا صنعتی برای موارد خوراکی و دارویی استفاده می‌شود (Saber-Tehrani, 2013).

در طب سنتی گیاه پسته وحشی یا بنه نیرودهنده و محرک قلمداد شده و پوست و برگ آن به علت دارا بودن تانن زیاد قابض است و در اسهال‌های ساده تجویز می‌شود. همچنین از گیاه بنه در درمان بیماری‌های عفونی دستگاه ادراری استفاده می‌شود. با پختن صمغ گیاه ماده سفید رنگی بنام سقز به‌دست می‌آید که هنوز مقادیر کمی از ترکیبات مختلف اسانس را در خود دارد و می‌تواند به‌عنوان یک غذای مفید برای میکروفلور دستگاه گوارش در تغذیه انسان و دام استفاده شود (Sedaghat and Tavakoli, 2011). به دلیل اهمیت پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و اثرات مفید فوق‌الذکر برای پسته وحشی بومی ایران، مطالعه حاضر انجام شد.

استفاده از کیت‌های شرکت تجهیز آزما اندازه‌گیری شدند.

از طرف دیگر، همزمان با خونگیری، از کبد ماهیان نمونه بافت‌شناسی تهیه شده و در فرمالین بافردار (شرکت صنایع شیمیایی آروین، ساخت ایران) ۱۰ درصد قرار داده می‌شد. بعد از تثبیت بافتی، آماده سازی و تهیه مقاطع با استفاده از دستگاه‌های اتوتکنیکون (ROTO-CUT400) و دستگاه میکروتوم (SL800) انجام شده و از کیت رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (شرکت صنایع شیمیایی آروین، ساخت ایران) که رنگ آمیزی متعارف و معمول برای نسوج جانوری است، استفاده گردید.

-**تحلیل آماری داده‌ها:** بررسی حاضر در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و به روش مقایسه میانگین‌ها انجام گرفت. نتایج گردآوری شده توسط نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای آزمون فرضیه هم از روش آماری (Two-Sample t-test) استفاده گردید.

### یافته‌ها

در بررسی شاخص‌های رشد ماهی قزل آلا اختلاف بین میانگین وزن گروه کنترل و تیمار در طول دوره معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) نبود (جدول ۱).

EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) — آزمايشگاه دانشكده دامپزشكي واحد سنندج ارسال شد. شمارش تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون ماهی‌ها به کمک محلول دایسس (dacies fluid) و با رقیق کردن خون به غلظت ۱ به ۵۰ و با استفاده از لام هماسیتومتر (hemacytometer) انجام پذیرفت. همچنین با انتقال خون کامل به لوله‌های میکروهماتوکریت (microhematocrit) و مسدود کردن ته لوله‌ها با خمیر، با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ میکروهماتوکریت (TAT-Mic شرکت طیف آزما طب، ساخت ایران)، با دور ۱۴۰۰۰ در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه و با استفاده از خط‌کش مخصوص، هماتوکریت هم اندازه‌گیری شد (Stoskopf, 1992). برای شمارش تفریقی گلبول‌های سفید نیز، از رنگ‌آمیزی گیمسا برای گسترش‌های خونی تهیه شده، استفاده شد. بدین منظور گسترش‌ها خونی به مدت ۳ دقیقه با استفاده از متانول (methanol) تثبیت شده و سپس در محلول گیمسا (gimsa) به مدت ۱۵ دقیقه رنگ‌آمیزی شده و بعد از شستشو و خشک‌شدن، لامها با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند.

همچنین میزان پارامترهای خونی شامل پروتئین کل، آلبومین، آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، اسید اوریک، کلسترول، تری‌گلیسیرید، گلوکز و کراتینین با دستگاه اتوآنالایزر (Hitachi912) و با

جدول ۱- مقایسه وزن ماهیان (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

وزن	گروه کنترل	گروه تیمار
میانگین وزن اولیه	۱۱۵۲/۳۴ <sup>a*</sup>	۱۱۵۰/۵۵ <sup>a</sup>
میانگین وزن ثانویه	۲۱۶۷/۵۸ <sup>a</sup>	۲۲۸۳/۳۹ <sup>b</sup>

\*حروف کوچک غیرهمسان در هر سطر نشان‌دهنده وجود رابطه معنی دار آماری می‌باشد ( $p < 0/05$ )

هپاتوسیت‌ها وجود داشت. عدم حضور سلول‌های آماسی و زیاد نشدن مراکز ملانوماکروفاژ نشان‌دهنده غیرعفونی بودن این صدمه بافتی بود (شکل ۱).

همچنین در بررسی‌های میکروسکوپی به عمل آمده از مقاطع بافت کبد در اطراف ورید مرکزی کبد ماهیان گروه کنترل دژنراسانس غیرعفونی و آتروفی شدید در



شکل ۱- مقطع بافتی از کبد ماهی گروه تیمار: تغییرات دژنراسانس غیرعفونی و آتروفی هپاتوسیت‌ها در اطراف ورید مرکزی (پیکان سبز مراکز ملانوماکروفاژ، پیکان قرمز هپاتوسیت‌های دچار دژنراسانس، پیکان مشکی هپاتوسیت‌های نرمال) (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- اتوزین، بزرگ‌نمایی ۴۰۰×)

شد ( $p < 0/05$ ) به طوری که در مورد همه پارامترهای ذکر شده، کاهش شدیدی در ماهیان گروه تیمار در مقایسه با ماهیان گروه کنترل ثبت گردید (جدول ۲).

در بررسی تابلوی خونی ماهیانی که از اسانس درخت بنه در تغذیه آن‌ها استفاده شده بود، تفاوت آماری معنی‌داری در تعداد گویچه‌های سرخ و سفید، هماتوکریت، درصد نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها مشاهده

جدول ۲- مقایسه میانگین  $\pm$  انحراف معیار برخی شاخص‌های خونی ماهیان گروه کنترل و تیمار

شاخص بررسی شده	گروه‌های مورد آزمایش	گروه کنترل	گروه تیمار
تعداد گویچه‌های قرمز $10^6 \times$ (در هر میلی‌لیتر)	$1/0 \pm 0.2/25^a$	$1/0 \pm 0.2/25^a$	$0/0 \pm 81/3^b$
تعداد گویچه‌های سفید $10^3 \times$ (در هر میلی‌لیتر)	$5/1 \pm 71/2^a$	$5/1 \pm 71/2^a$	$3/1 \pm 51/3^b$
هماتوکریت (درصد)	$45/2 \pm 23/2^a$	$45/2 \pm 23/2^a$	$40/2 \pm 84/3^b$
لنفوسیت (درصد)	$88/3 \pm 52^a$	$88/3 \pm 52^a$	$81/2 \pm 38^b$
نوتروفیل (درصد)	$7/1 \pm 14^a$	$7/1 \pm 14^a$	$5/1 \pm 27^b$

a, b: حروف غیر یکسان در هر ردیف، نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

تیمار به طور معنی‌دار افزایش و پروتئین کل و آلبومین در گروه تیمار به طور معنی‌دار کاهش یافته است

بررسی مقادیر بیوشیمیایی خون نشان داد که مقادیر آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز در گروه

( $p < 0/05$ ). اسید اوریک در ماهیان تیمار نسبت به کنترل بالاتر بوده و تغییر معنی داری داشته است ( $p < 0/05$ ) ولی در مورد کلسترول، تری گلیسیرید اگرچه هر دو این ترکیبات در گروه تیمار دچار کاهش شده بودند ولی تفاوت معنی داری بین گروه کنترل و تیمار

وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). میزان قند خون در گروه تیمار به طور معنی داری کاهش داشته است ( $p < 0/05$ ). کراتینین هم بعنوان شاخص عملکرد کلیوی افزایش معنی دار داشت ( $p < 0/05$ ) (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین  $\pm$  انحراف معیار برخی شاخص های بیوشیمیایی خون ماهیان گروه کنترل و تیمار

شاخص بررسی شده	گروه های مورد آزمایش	گروه کنترل	گروه تیمار
پروتئین تام (گرم بر دسی لیتر)	۵/۰ $\pm$ ۵۲/۳ <sup>a*</sup>	۴/۰ $\pm$ ۸۵/۶ <sup>b</sup>	
آلبومین (میلی گرم بر دسی لیتر)	۳/۰ $\pm$ ۸۶/۵ <sup>a</sup>	۱/۰ $\pm$ ۵۷/۳ <sup>b</sup>	
آلانین آمینو ترنسفراز (واحد در لیتر)	۱۵/۲ $\pm$ ۰۱ <sup>a</sup>	۲۱/۱ $\pm$ ۳۳ <sup>b</sup>	
آسپاراتات آمینو ترنسفراز (واحد در لیتر)	۳۱۲/۳ $\pm$ ۴۳ <sup>a</sup>	۳۴۵/۳ $\pm$ ۴۱ <sup>b</sup>	
اسید اوریک (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱/۰ $\pm$ ۲۹/۵ <sup>a</sup>	۲/۰ $\pm$ ۵۶/۶ <sup>b</sup>	
کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)	۳۴۷/۴ $\pm$ ۵۷ <sup>a</sup>	۳۳۰/۴ $\pm$ ۴۴ <sup>a</sup>	
تری گلیسیرید (میلی گرم بر دسی لیتر)	۳۷۸/۶ $\pm$ ۶۲ <sup>a</sup>	۳۹۶/۴ $\pm$ ۳۷ <sup>a</sup>	
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۳۵/۲ $\pm$ ۵۵/۵ <sup>a</sup>	۸۹/۲ $\pm$ ۶۳/۴ <sup>b</sup>	
کراتینین (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱/۰ $\pm$ ۸۱/۳ <sup>a</sup>	۲/۰ $\pm$ ۸۳/۲۳ <sup>b</sup>	

\* حروف غیر یکسان در هر ردیف، نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار می باشد ( $p < 0/05$ ).

## بحث و نتیجه گیری

نتایج بررسی حاضر نشان داد که مصرف اسانس شیره درخت بنه به مقدار ۱۰ گرم در کیلوگرم در غذای روزانه ماهی ها، می تواند وزن آن ها را در بازه زمانی مشخصی، در مقایسه با ماهیان گروه کنترل کاهش داده و متعاقب آن موجب افزایش معنی دار در ضریب تبدیل غذایی شود ( $p < 0/05$ ). به عبارتی ماهیان گروه تیمار در مقایسه با ماهی های گروه کنترل وزن گیری کمتری داشته و ضریب تبدیل غذایی بالاتری را به خود اختصاص دادند که در وهله اول پیش آگهی خوبی در مورد مصرف اسانس بنه در این دوز در ذهن ایجاد نموده و لذا به نظر می رسد که قابلیت مصرف با این دوز را ندارد.

مطمئناً عملکرد یک اسانس گیاهی در موجود زنده به عوامل مختلفی همچون نحوه تهیه و ذخیره گیاه، استفاده از اسانس، عصاره و یا ماده خام گیاه، نحوه مصرف آن، شرایط محیطی و حتی نحوه کاشت و داشت و برداشت گیاه بستگی دارد. ترکیبات گیاهی به علت دارا بودن مواد مؤثره گوناگون می توانند در درمان بسیاری از بیماری ها کاربرد داشته باشند، بدون آن که مجموعه مواد مؤثره آن ها باهم تداخل عمل داشته باشند ( Choobkar, 2015).

می توان عملکرد ضعیف ماهیان گروه تیمار را به تاثیرات اسانس در سایر قسمت های بدن ماهی همانند دستگاه گوارش، کلیه و کبد نسبت داد. دستگاه گوارش،

کبد و سیستم آندوکروینی نقش اصلی را در افزایش عملکرد رشد در موجود زنده دارند ولی ترکیبات طبیعی دارویی با وجود تأثیر کند، اثر بسیار پایدارتری در مقایسه با سایر داروها دارند.

کبد به‌عنوان مهم‌ترین ارگان متابولیسمی بدن، نقش اصلی در واکنش‌های شیمیایی بر روی مواد غذایی مصرف‌شده در بدن ماهی را دارد. نتایج بررسی حاضر نشان داد که سلول‌های کبدی در ماهیان گروه کنترل حالت نرمال داشته و با تشکیل نه چندان کامل طناب‌های کبدی و هسته‌های کروی و با مقادیر مختلف هتروکروماتین دیده شدند، اما در بافت کبد ماهیان گروه تیمار، در اطراف وریدهای مرکزی دژنراسانس و آتروفی هپاتوسیت‌ها مشهود بود (شکل ۱). عدم حضور سلول‌های آماسی و کم‌تراکم بودن مراکز ملانوماکروفاز هم می‌تواند دلیل بر غیرعفونی بودن صدمه سلولی باشد. گزارش شده که این حالت به دلیل تماس هپاتوسیت‌ها با یک ماده توکسیک و متراکم شدن کروماتین هسته و به‌دنبال آن افزایش حالت ائوزینوفیلی سیتوپلاسم و انقباض هپاتوسیت‌ها و چسبندگی آن‌ها به همدیگر دیده می‌شود و این تغییرات ممکن است با تراوش سلول‌های آماسی و التهابی همراه باشد. همچنین اعلام شده که تغییرات ناحیه‌ای در ماهی‌ها نسبت به پستانداران کمتر شایع است، هر چند که این تغییرات در اطراف ورید مرکزی کبد، در اختلالات متابولیک دیده می‌شود (Iwama and Nakanishi, 1996). یکی از اجزاء اسانس‌های گیاهی، تانن‌ها می‌باشند که در منابع، تأثیر تزریق تانن در ایجاد صدمات کبد تأیید شده است و ممکن است ترکیبات تاننی موجود در اسانس پسته وحشی ایرانی صدمات کبدی را ایجاد کرده‌باشند.

تانن‌ها ترکیباتی هستند که دارای عوامل فنل و گلوکز بر مولکول خود می‌باشند. بر اساس مطالعات انجام شده بر روی موش‌ها، گزارش شده که تزریق داخل صفاقی مقادیر ۵، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید تانیک، اثرات زیان‌آور چشمگیری به کبد و سایر بافت‌ها وارد نکرده، اما تزریق داخل صفاقی دوزهای ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید تانیک منجر به آسیب کبدی می‌شود که این آسیب از تغییرات جزئی در بافت کبد تا نکرده کبدی متفاوت بوده است (Phillip et al., 1996).  
براین اساس، می‌توان بیان کرد که مصرف اسانس بنه با دوز استفاده شده در مطالعه حاضر (۱۰ گرم در کیلوگرم در غذای روزانه) در مورد ماهی قزل‌آلا، بر عملکرد کبدی تأثیر منفی داشته که نتیجه آن را در کاهش میزان پروتئین کل، آلبومین، چربی‌ها و قند خون و افزایش آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز می‌توان دید. از سوی دیگر، تأثیر سوء اسانس مذکور بر عملکرد کلیه باعث افزایش در میزان کراتینین خون شده است (جدول ۳).

همچنین در بررسی حاضر مشخص شد، تابلوی خونی ماهیان گروه تیمار و کنترل از نظر تعداد گلبول‌ها، هماتوکریت و درصد نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها اختلاف معنی‌دار با هم داشتند و کاهش مشخصی در آن‌ها وجود داشت. می‌توان این روند را در راستای کاهش فعالیت سیستم خون‌ساز ماهیان قلمداد نمود. بخش خون‌ساز کلیه به‌عنوان مرکز اصلی تولید کننده سلول‌های خونی، می‌تواند در اثر اسانس مصرف‌شده، دچار تغییرات شده و موجبات کاهش گلبول‌های سفید خون را فراهم آورد. همچنین افزایش معنی‌دار میزان کراتینین خون می‌تواند مویذ این ادعا باشد که اسانس بنه به بافت کلیه



آمینوترانسفراز در صدمات کبدی به‌طور قابل ملاحظه افزایش می‌یابد (Racicot et al., 1975). در تحقیق حاضر هم افزایش میزان این فاکتورها در خون ماهیان گروه تیمار به وضوح دیده می‌شد که این امر مویده صدمات کبدی می‌باشد. همچنین تفسیر بافت‌شناسی نمونه‌های کبدی نیز این نتیجه را تایید نموده و آسیب گسترده هپاتوسیت‌های اطراف وریدهای مرکزی را نشان می‌دهد به طوری که الگوی آسیب هپاتوسیت‌ها نشان دهنده حالت دژنراسیون توکسیک می‌باشد. در این خصوص هم لازم به ذکر است که کبد اندام مهمی است که تاثیرات مواد سمی در بدن را نشان می‌دهد و نیز این اندام در خون‌رسانی و سیستم ایمنی ماهی نقش مهمی دارد (Akhlaghi et al., 2012). تبدیل اسید اوریک به اوره در کبد و دفع آن از آبشش در ماهی به‌شکل فرآیندی معمول انجام می‌گیرد ولی در بررسی حاضر با توجه به آسیب سلول‌های کبدی ممکن است این فرآیند به‌طور کامل صورت نگرفته و افزایش میزان اسیداوریک نیز از آن منشأ گرفته باشد. همچنین سنجش سطح پروتئین‌های سرم خون شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت ایمنی‌شناسی ماهی بوده و به نظر می‌رسد که کاهش آلبومین در ماهیان گروه تیمار تحقیق حاضر می‌تواند در اثر اختلالات کبدی و عدم تولید کافی آلبومین باشد، همچنین دفع پروتئین از کلیه در صدمات کلیوی نیز می‌تواند منجر به این فرآیند شود. در عین حال گزارش شده، مصرف برخی گیاهان همانند نعناع فلفلی بر آنزیم‌های کبدی ماهی تاثیر معنی‌دار نداشته و می‌توان گفت که گیاه مذکور فاقد مواد آسیب‌رسان کبدی می‌باشد، هرچند که اعلام شده جهت اظهار نظر قطعی، بایستی با انجام آزمایشات تکمیلی، مطالعات

آسیب‌زده و قسمت‌های خون‌ساز و دفعی آن را تحت تاثیر قرار داده است. از طرف دیگر، میزان کاهش سلول‌های خونی نسبت به افزایش کراتینین خون بیشتر می‌باشد (جدول ۲) که این امر احتمالاً تاییدکننده آسیب کمتر در قسمت ادراری بافت کلیه و آسیب پذیری بیشتر قسمت خون‌ساز آن نسبت به اسانس بنه می‌باشد به عبارت دیگر سلامت نسبی قسمت ادراری بافت کلیه مشخص بوده و به دلیل ویژگی تقسیم سلولی سریع در قسمت خون‌ساز کلیه تاثیر پذیری آن از اسانس بنه بیشتر بوده است (Dugenci et al., 2003). در این ارتباط، نتایج یک بررسی نشان داده که میزان لنفوسیت‌های خون ماهی‌های قزل‌آلای تغذیه‌شده با اسانس مرزه در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته، درحالی‌که درصد هتروفیل‌های خون آن‌ها افزایش معنی‌دار داشت (Ghasemi Pirbalouti et al., 2011)، که با در نظر گرفتن این نتایج در مورد تعداد سلول‌های خونی که مهم‌ترین نقش دفاعی در بدن ماهی را دارند و منشاء تولیدشان از بافت واحدی است، می‌توان پیچیدگی اثر اسانس‌های گیاهان دارویی را مشاهده کرد و اثرات اسانس بنه در دوز ۱۰ گرم در کیلوگرم غذا را با دوز ۱ درصد اسانس مرزه مقایسه نمود و تاثیر برایند ترکیبات شیمیایی در داروهای گیاهی را مد نظر قرار داد.

آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخص فعالیت کبدی محسوب می‌شوند و تغییر در میزان فعالیت و ترشح آن‌ها می‌تواند متأثر از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، تراکم، شرایط پرورشی، نوع جیره مصرفی، سن، جنس و وضعیت سلامت ماهیان بوده و مقادیر برخی آنزیم‌های کبدی مثل آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات

هیستوپاتولوژی بر روی بافت کبد، کلیه و روده انجام گیرد (Adel et al., 2015). همچنین در تحقیقی مشخص شده که مصرف عصاره آلوئه ورا بر روی محور هیپوفیز-گناد اثر تضعیف‌کنندگی داشته و در ترشح هورمون‌های گنادوتروپین و تستوسترون اختلال ایجاد می‌نماید، با توجه به وجود ترکیبات شیمیایی مشترک در دو گیاه بنه و آلوئه‌ورا و تاثیرات آن‌ها بر عملکرد دستگاه گوارش و متابولیسم کبدی، بررسی تاثیر اسانس بنه بر عملکرد حرکات دستگاه گوارش ماهی و آندوکرینولوژی بدن ماهی نیز می‌تواند شروعی برای سایر تحقیقات در این زمینه باشد. البته شرط انجام این تحقیقات رسیدن به یک نتیجه جامع در مورد قابلیت استفاده اسانس شیره درخت بنه در تغذیه ماهی قزل‌آلا در مورد بخش‌هایی با اولویت اصلی پرورشی همانند اثرات تقویت رشد و ایمنی می‌باشد (Shariati et al., 2009).

وجود تفاوت در نتایج مصرف ترکیبات گیاهی می‌تواند به دلایل مختلف همچون دوز استفاده‌شده، نحوه استخراج عصاره یا اسانس، واریته گیاه، شرایط کاشت، داشت و برداشت و نژاد حیوان بوده و با استانداردسازی می‌توان ترکیبات گیاهی با اشکال دارویی متنوع و موثر و مورد اطمینان تهیه کرد. همچنین اگرچه گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها اثربخشی خود را مدیون متابولیت‌های ثانویه هستند ولی گزارشاتی در دست است که نشان می‌دهد برخی متابولیت‌های ثانویه باعث بروز عوارض سوء در حیوانات می‌شوند. همچنین پژوهش‌های انجام گرفته درباره فعالیت بیولوژیک اسانس گیاهان دارویی نتایج گوناگونی را ارائه می‌دهند، به طوری که حتی در بررسی‌های انجام گرفته

در مورد گیاهان یک گونه در مناطق مختلف، همخوانی کمی دیده می‌شود. گزارش شده که عوامل محیطی و ژنتیکی در این موضوع می‌تواند تاثیرگذار باشد. همچنین عقیده بر این است که با توجه به پیچیدگی ساختار شیمیایی اسانس‌ها، نحوه اثر آن‌ها نیز پیچیده خواهد بود (Aali et al., 2017). گیاه پسته وحشی نیز از این قضیه مستثنی نبوده و متابولیت‌های زیادی در ترکیب اسانس آن وجود دارد. لذا برای شناخت کامل اثرات مفید و خطرات احتمالی آن بررسی‌های تکمیلی در ادامه لازم است تا در جهت شناخت عملکرد کلیه و بررسی آندوکرینولوژی اطلاعات جامعی کسب شود. مهم‌ترین ترکیب شیمیایی موجود در اسانس بنه آلفا پینن می‌باشد، بنابراین گیاهانی که در ترکیبات آن‌ها این مواد یا مواد مشابه وجود دارد، می‌توانند در مقام مقایسه با اسانس بنه باشند. چون در داروهای گیاهی ترکیبات متعدد شیمیایی با مقادیر متفاوت وجود دارد، در صورت انتخاب نادرست و فرآوری غلط و دوز نامناسب، یا داروی گیاهی اثر درمانی لازم را نخواهد داشت و یا باعث ایجاد صدمات غیرمنتظره به بدن موجود زنده خواهد شد، زیرا که در این حال تنها یک ماده شیمیایی با دوز بالا وارد بدن نشده‌است و گروهی از ترکیبات با اثرات پاتولوژیکی متفاوت وارد بدن موجود زنده شده‌اند که در مقام قیاس با داروهای ژنریک، وسعت و میزان صدمات نه تنها کمتر نخواهد بود، بلکه به همان صورت که در بررسی حاضر ملاحظه شد، ممکن است از پراکندگی و تنوع بیشتری نیز برخوردار باشد (Saeb et al., 2008).

به‌طور کلی با تکیه بر یافته‌های تحقیق حاضر و باتوجه به نقش سم‌زدایی بافت‌های کلیه و کبد، به‌نظر

بررسی‌های مبسوط در این زمینه لازم و ضروری به نظر می‌رسد تا این‌که فواید استفاده از این گیاه با در نظر گرفتن ترکیبات شیمیایی آن و تعیین دوز مناسب و اثرات جانبی آن بر ارگان‌های مختلف بدن ماهی صورت گرفته و با مقادیر بسیار جزئی و با حلال‌های مناسب و همگن و قائم به اسناد علمی معتبر صورت گیرد تا این‌که در مورد مصرف یا عدم مصرف و یا مصرف مشروط این اسانس تصمیم‌گیری شده و با تایید بالینی و بومی‌سازی برای کشور، در مزارع پرورش ماهی افزایش راندمان تولید و بهره‌وری را ایجاد نماید.

### سپاسگزاری

بودجه تحقیق حاضر، با مساعدت حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج تامین شده- است که بدین وسیله قدردانی می‌گردد.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

می‌رسد که مصرف میزان ۱۰ گرم بر کیلوگرم از اسانس گیاه بنه در غذای روزانه ماهیان، به‌عنوان دوز توکسیک قلمداد شده و این بافت‌ها را درگیر نموده‌است. اگرچه باید به این موضوع دقت کرد که پارامترهای خونی حیوانات خونسرده به ویژه ماهی برخلاف حیوانات خونگرم به طور قابل توجهی تحت تاثیر فاکتورهای مختلف مانند استرس، دما، فصل و تغذیه قرار داشته و لذا تابلوی خونی برای بررسی وضعیت سلامت یا ایمنی ماهی چندان قابل اطمینان نیست (Iwama and Nakanishi, 1996).

اما در عین حال به عنوان نتیجه نهائی تحقیق حاضر به نظر می‌رسد می‌توان اعلام کرد که استفاده از اسانس شیره گیاه بنه با توجه به وجود شکل مایع تولید شده به‌عنوان یک محصول جانبی در کارخانه‌های تولید آدامس، به راحتی در پلت‌های غذای ماهی قابل افزودن می‌باشد و با توجه به این‌که کاشت گیاه بنه و تولید شیره و اسانس آن در منطقه کردستان رایج بوده و کارخانه فرآوری و جداسازی اسانس وجود دارد و در سطح ملی نیز صنعت فرآوری داروهای گیاهی با وجود نوپا بودن توسعه چشم‌گیری یافته است، فلذا

### منابع

- Aali, A., Mahmoudi, M., Kazeminia, M., Hazrati, R. and Azarpey, F. (2017). Essential oils as natural medicinal substances: review article. *Tehran University Medical Journal*, 75(7): 480-489.
- Adel, M., Pourgholam, R., Zorriehzakra, S.J. and Ghiasi, M. (2015). The effect of different level of *Mentha piperita* on some of the hematological, biochemical and immune parameters of *Oncorhynchus mykiss*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 24(1): 9-13.
- Adeli, A. and Baghaei, F. (2013). Production and Supply of Rainbow Trout in Iran and the World. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 5 (3): 335-341.
- Akhlaghi, M., Siavosh Haghghi, Z.M. and Mansouri, H. (2012). Immunocytochemical study on liver, spleen and intestine of *Oncorhynchus mykiss* immunized with *Vibrio anguillarum* lipopolysaccharide. *Journal of Veterinary Reserch*, 67(2): 191-197.

- Alishahi, M., Ranjbar, M. M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M. and Razi jalali, M. (2010). Effects of dietary on some specific and nonspecific immunity in the common carp. *International Journal of Veterinary Research*, 4(3): 189-195.
- Austin, B., Stuckey, L.F., Robertson, P.A.W., Effendi, I. and Griffith, D.R.W. (1995). A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. *Journal of Fish Diseases*, 1(4): 93-96.
- Choobkar, N. (2015). Effect of using *Falcaria vulgaris* on skin wound healing and immune response of common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Clinical Pathology*, 9(3) 28-33.
- Dügenci, S.K., Arda, N. and Candan, A. (2003). Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 8(8): 99-106.
- Ghasmi pirbaloti, E. (2010). Medicinal and Aromatic Plants (Identification and their effects). Islamic Azad University Publishing, 1(4): 13-16.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Pir ali, A., Pishkar, G., Jalali, M., Raeisi, M., Jafarian dehkordi, M. and Hamed, B. (2011). Effects of some herbal plants essential oil on rainbow trout immunity. *Journal of Herbal Drugs*, 2(2): 149-155.
- Iwama, G. and Nakanishi, T. (1996). The fish immune system. Academic Press, Chapter 3, Innate Immunity in fish. London, pp: 73-114.
- Motamedi H., Darabpour E., Ghoholipour M. and Seyyednejd, S.M. (2010). Antibacterial effect of ethanolic and methanolic extracts of *Plantago ovata* and *Olivaria decumbens* endemic in Iran against some pathogenic bacteria. *International Journal of Pharmacology*, 6(2): 117-22.
- Nafisi Bahabadi, M. (2007). Guide reproduction and breeding of *Oncorhynchus mykiss*. 3rd ed., University of Hormozgan Publishing, pp: 282.
- Phillip, A., Oscar, N., Alexander, R., and Riegelman, S. (1996). Toxicity studies on tannic acid administered by enema. *Journal of Roentgenology*, 9(6): 498-504.
- Racicot, J.G., Gaudet, M. and Leray, C. (1975). Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) with emphasis on their diagnostic use: study of CC1, Toxicology and a case of *Aeromonas* infection. *Journal of Fish Biology*, 13(7): 825-835.
- Rao, Y.Y., Das B.K., Iyotymayee, P. and Chakrabarti, R. (2006). Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 2(1): 265-273.
- Saber-Tehrani, M., Givianrad, M.H., Aberoomand-Azar, P., Waqif-Husain, S. and Jafari-Mohammadi, S.A. (2013). Chemical composition of Iran's *Pistacia atlantica* cold-pressed oil. *Journal of Chemistry*, 6(1): 23-25.
- Saeb, M., Nazifi, S., Beizae, A., Gheisari, H.R. and Jalae, J. (2008). Effect of Wild Pistachio Oil on Serum Leptin Concentration and Thyroid Hormones in the Male Rat. *Iranian Journal of Endocrinology & Metabolism*, 9(4): 17-23
- Sedaghat, N. and Tavakoli, J. (2011). Evaluation of the qualitative properties of (*Pistacia atlantica* var. *mutica*) cormorant under different storage and packaging conditions. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 7(1): 17-26.
- Serrano, P.H. (2005). Responsible use of antibiotics in aquaculture, FAO Fisheries Technical Paper, 2: 469-497.
- Shariati, M., Mokhtari, M. and Rastgar, S. (2009). The effect of Aloe vera extract on concentration changes of testosterone and gonadotropin hormones in adult male rat. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*, 16(1): 12-17.
- Sharifi, M.S. and Hazell, S.L. (2011). GC-MS Analysis and Antimicrobial activity of the essential oil of the trunk exudates from *Pistacia atlantica* Kurdica. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(8): 1364-1367.
- Song, J., Kwon, O., Chen, S., Daruwala, R., Eck, P., Park, J.B. and Levine, M. (2002). Flavonoid inhibition of sodium-dependent vitamin C transport 1 (SVCT1) and glucose transporter isoform 2

---

(GLUT2), intestinal transporters for vitamin C and Glucose. *Journal of Biological Chemistry*, 18(277): 15252-15260.

- Stoskopf, M.K. (1992). *Fish Medicine*. 5rd ed., W.B. Saunders Company, pp: 118-112.