

## بررسی اثر بیوهش کنندگی عصاره‌های آبی و الکلی تباکو بر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Nicotiana tabacum*) (*Oncorhynchus mykiss*)

داود ضرغام<sup>(۱)\*</sup>؛ مصطفی شریف روحانی<sup>(۲)</sup>؛ عیسی فلاحت ناصر آباد<sup>(۳)</sup>؛ طبیه باشتی<sup>(۴)</sup>

davoodzargham@hotmail.com

۱-دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۶۵-۳۸۶

۲- مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۰۵

۳ و ۴- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج، صندوق پستی: ۳۵۸/۱۴۷۵۹۱۴

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۱

### چکیده

هدف اصلی از بیوهش کردن ماهی قزل‌آلای کاهش تحرک و کم کردن استرس ناشی از دستکاری به منظور تکثیر مصنوعی و نیز تسهیل عملیاتی مانند نشان‌گذاری، زیست سنگی، رقم بندی، معاینه و نمونه‌برداری می‌باشد. در تحقیق حاضر از عصاره‌های آبی و الکلی گیاه تباکو (*Nicotiana tabacum*) برای بیوهش کودن ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در ۳ گروه وزنی بچه ماهی (کوچکتر از ۸۰ گرم)، پروواری (حدود ۲۰۰ گرم) و مولد (بزرگتر از ۱۵۰۰ گرم) مورد استفاده قرار گرفت که غلظت موثر تباکو در عصاره آبی در تیمارهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میلی گرم در لیتر آب و غلظت مؤثر عصاره الکلی تباکو در تیمارهای ۱/۷، ۱/۷ و ۳/۵ میلی لیتر در یک لیتر آب مورد آزمایش قرار گرفت. به طور کلی می‌توان گفت عصاره تباکو قزل‌آلای را در کمتر از ۳ دقیقه بیوهش می‌کند و بازگشت از بیوهشی کمتر از ۵ دقیقه طول می‌کشد. با توجه به مدت بیوهشی، زمان بازگشت از بیوهشی و آرامش ماهی در زمان بیوهشی، عصاره آبی در مقایسه با عصاره الکلی بیوهشی آرامتری را در ماهی قزل‌آلای اعمال می‌کند و غلظت‌های ۲۰۰ تا ۸۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره آبی عملکرد موفق تری را دارا بودند. همچنین با توجه به ارتباط معنی داری که بین غلظت و شدت بیوهشی و مدت زمان ریکاوری وجود دارد. می‌توان از غلظت‌های پایین‌تر عصاره تباکو برای آرام کردن ماهی برای حمل و نقل استفاده کرد.

**لغات کلیدی:** تباکو، قزل‌آلای رنگین کمان، بیوهش کننده

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

تنباقو یا توتوون گیاهی با برگهای پهن است که در اصل در آمریکای شمال و جنوبی رشد کرده و امروزه در سراسر جهان کشت می‌شود. به برگهای خشک و برباد شده آن گیاه هم تنباقو می‌گویند. مصرف اصلی این گیاه تدخین دود حاصل از سوزاندن برگ خشک آن است که دارای نیکوتین می‌باشد. اولین مردمی که توتوون را کشف کردند، سرخپوستان آمریکا بودند. آنان باور داشتند که تنباقو خواص درمانی دارد و با کشیدن آن، از بیماری‌ها و شیاطین در امان می‌مانند... در دوران گذشته در قرون ۱۵ و ۱۶ تنباقو بعنوان دارو استفاده می‌شد و پزشکان اسپانیایی از آن بعنوان مسکن استفاده می‌کردند (نیک خلق، ۱۳۸۹).

استفاده از تنباقو در آبزیپروری دارای سابقه می‌باشد. استفاده از بودر برگ این گیاه به منظور از بین بردن موجودات شکارگر و نیز علفها در استخرهای ماهی قبل از ماهی دار کردن استخر استفاده شده است (Konar, 1970). مهمترین شکارگران در استخرهای ماهی قورباغه، حشرات و لارو حشرات، زالو، و ماهیان ناخواسته موجود در محیط آبی هستند. این شکارگران در محیط گاهی به اندازه‌ای زیاد هستند که در صورت عدم حذف آنها خسارات قابل ملاحظه‌ای را به آبزیپرور متتحمل می‌کند (Tobar, 1990). همچنین ماهی گیران بومی در نیجریه از آن برای صید ماهی استفاده می‌کردند (Reed *et al.*, 1969). از جمله تحقیقات صورت گرفته روی تنباقو در آبزیپروری بررسی سمیت حاد این گیاه روی گربه ماهی آفریقایی با نام علمی (*Kori-Siakpere & Oviroh, 2011*) *Clarias gariepinus* و همچنین گونه *Oreochromis niloticus* می‌باشد (Agbon *et al.*, 2002) است که به میزان ۲ تا ۵ درصد در برگ خشک آن یافت می‌شود (Hassal, 1982).

براساس آمار نامه کشاورزی سال ۱۳۸۸، در سال زراعی ۸۶ تا ۸۷ تولید تنباقو در کشور حدود ۱۷ هزار تن برآورد شده است. استانهای مازندران، گلستان، بوشهر، هرمزگان و گیلان رتبه‌ای اوکشت تنباقو در کشور را دارا هستند. تنباقو به منظور آماده‌سازی برای مصرف به مدت هفت روز مقابله باشد مستقیم آفتاب خشک و روانه بازار می‌شود. ماهیها در زمان دستکاری به منظور تکثیر مصنوعی و نیز عملیاتی مانند نشان‌گذاری، زیست‌سنجه، رقم‌بندی، معاینه و نمونه‌برداری برای آزمایشات

آسیب‌شناسی و غیره دچار استرس می‌شوند که برای کاهش استرس و به منظور تسهیل کارکردن با ماهی و مهار کردن آن از مواد بیهوش کننده استفاده می‌شود.

مواد بیهوش کننده داروهایی هستند که سبب ایجاد بی‌دردی، از بین رفتن هوشیاری، شل شدن عضلات و فعالیت رفلکسی شده و این عمل را با تضعیف سیستم اعصاب مرکزی بطور غیر انتخابی و برگشت‌پذیر از طریق یک مکانیزم فیزیکی و شیمیایی انجام می‌دهند (Stoelting & Miller, 1994). مواد شیمیایی بیهوش کننده که عموماً در ماهیها استفاده می‌شود عبارتند از: بنزوکایین، تریکائین متان سولفونیت، کوئینالدین سولفیت و متومیدات.

طی سالیان گذشته آزمایشاتی برای جایگزین کردن گیاهان در بیهوشی آبریزان به جای مواد شیمیایی وارداتی و گرانقیمت مانند تریکائین متان سولفونات (MS222) صورت گرفته است که از مهمترین آنها می‌توان به اسانس گل میخک (مهراهی، ۱۳۷۶)، (شریفپور و همکاران، ۱۳۸۱) و نیز اسانس آویشن شیرازی (شریف‌روحانی و همکاران، ۱۳۸۶) اشاره کرد. در حال حاضر در کشور از گل میخک به عنوان یک بیهوش کننده طبیعی جهت بیهوشی گونه‌های مختلف ماهی استفاده می‌شود. نیکوتین و آلکالوئیدهای وابسته موجود در تنباقو بطور کلی بعنوان مخدر شناخته شده است که این ویژگی باعث شد تا در این تحقیق بعنوان بی‌هوش کننده در ماهی مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به ارزان بودن تنباقو نسبت به گل میخک و همچنین کشت وسیع آن در کشور اثر این گیاه بر بیهوشی ماهی قرل‌آل در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت. تحقیقات در مورد استفاده از تنباقو برای بیهوشی ماهیان نادر می‌باشد. Agokei و Adebisi (۲۰۱۰) اثر عصاره آبی و الکلی تنباقو را برای اعمال بیهوشی در ماهی *Tilapia* مورد آزمایش قرار دادند. مقاله‌ای در استفاده از تنباقو بعنوان بی‌هوش کننده برای ماهی قزل‌آل در دسترس نمی‌باشد و به نظر می‌رسد که مطالعات تجربی در مورد این موضوع نادر است.

معیارهای اساسی برای ارزیابی یک ماده بیهوشی مطلوب در آبزیپروری توسط Marking و Meyer (۱۹۸۵) ارائه شده است که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره نمود: ۱- دارای زمان القای کمتر از ۱۵ دقیقه و ترجیحاً کمتر از ۳ دقیقه

و عصاره الكلی مورد نظر ما می باشد تشکیل شد. عصاره که مایع قهقهه ای رنگ بسیار تیره می باشد از طریق کاغذ صافی شماره ۱ Agokei & Abedisi 2010 (Abedisi, 2010). غلظت های مورد نظر برای انجام آزمایش عبارت بودند از  $0/7$ ،  $1/7$ ،  $2/5$  میلی لیتر عصاره الكلی در  $1$  لیتر آب که به این منظور بترتیب مقادیر  $3/5$ ،  $5$ ،  $8/5$ ،  $17/5$  میلی لیتر از عصاره به  $5$  لیتر آب اضافه شد. این آزمایش روی سه گروه وزنی بچه ماهی (با میانگین وزن کمتر از  $80$  گرم)، پرواری (با میانگین وزن  $200$  گرم) و مولد ( $1500$  گرم به بالا) صورت گرفت و برای هر گروه وزنی و برای هر کدام از غلظت های فوق الذکر  $5$  عدد ماهی جدا شده و عملیات میانگین نتایج حاصل از تاثیر عصاره آبی و الكلی روی بیهوشی ماهی محاسبه و بترتیب در جدول های شماره  $1$  و  $2$  نشان داده شده است. در مقایسه تیماره ای عصاره آبی تیمار  $200$  میلی گرم در لیتر بیهوشی را در زمان طولانی تر از سایر تیمارها ( $118 \pm 6/2$  ثانیه) اعمال کرد و بیهوشی با آرامش بیشتری برای ماهی همراه بود. حتی در مورد برخی از ماهیها بیهوشی کامل صورت نمی گرفت ولی ماهیها نسبت به تحريك خارجی عکس العملی از خود نشان نمی دادند. با افزایش غلظت دارو، سرعت بیهوشی افزایش پیدا کرده و نیز استرس و حرکات بدنی ماهی در زمان بیهوشی اضافه می گردد. در مقایسه گروه های وزنی مورد آزمایش نتایج نشان دهنده این مطلب بودند که تاثیر پذیری ماهیان پرواری از این دارو سریعتر از دو گروه مولدین و بچه ماهیها بود (جدول  $2$ ). با توجه به نتایج به دست آمده می توان گفت که به طور کلی عصاره آبی تنباكو بیهوشی را در مورد ماهی قزل آلا در مدت زمانی کمتر از  $2$  دقیقه القاء کرده و بازگشت از بیهوشی در مدت زمانی کمتر از  $5$  دقیقه انجام شد. نحوه بیهوشی ماهیها به این صورت مشاهده شد که ماهیها در ابتدای ورود به محلول بیهوشی به آرامی درون تشت حرکت می کردند. با گذشت زمان سرعت تنفس و حرکت سریپوش آبششی افزایش پیدا کرده و کمی قبل از ایجاد بیهوشی، ماهیها برای حدود  $5$  تا  $10$  ثانیه به صورت تشنجی بدن خود را تکان می دادند و در نهایت ماهی آرام آرام و بدون تشنج تعادل خود را از دست داده و به پهلو در کف ظرف قرار می گرفت. بازگشت ماهیها از بیهوشی نیز به آرامی صورت گرفت و گاهی در طول این بازگشت حرکت تشنجی کوچکی نیز در برخی از ماهیها مشاهده می شد.

- ۲- زمان ریکاوری پس از استفاده از آن کوتاه باشد،  $5$  دقیقه یا کمتر
- ۳- غیررسمی باشد و ضریب ایمنی بالایی برای ماهی داشته باشد.
- ۴- استفاده از آن بسیار ساده باشد در طول استفاده برای انسانها خطناک نباشد.
- ۵- اثر پایدار در فیزیولوژی و رفتار ماهی نداشته باشد.
- ۶- به سرعت دفع یا متابولیزه شود و هیچ باقیمانده و نیاز به زمان خروج نداشته باشد.
- ۷- هیچ اثر تجمعی یا مشکلات قرار گرفتن در معرض آن را در تولید نسل جدید نداشته باشد.
- ۸- ارزان باشد.

هدف اصلی در این مطالعه عبارت است از تعیین غلظت موثر عصاره الكلی و عصاره آبی پودر برگ خشک تنباكو در ایجاد بیهوشی در سه گروه وزنی بچه ماهی (کمتر از  $80$  گرم)، پرواری (حدود  $200$  گرم) و مولد (بزرگتر از  $1500$  گرم) ماهی قزل آلای رنگین کمان.

## مواد و روش کار

ابتدا تنباكوی مورد نیاز بصورت خشک شده به مدت  $2$  دقیقه در آسیاب خرد شد. پودر حاصله پس از عبور دادن از الک  $500$  تا  $700$  میکرونی، بوسیله ترازوی دقیق توزین و جهت مصرف آمده شد.

به منظور تهیه عصاره آبی مقادیر  $1$ ،  $2$ ،  $4$  و  $8$  گرم از پودر الک شده تنباكو در  $5$  لیتر آب خیسانده شد تا نهایتاً غلظت های  $200$ ،  $400$ ،  $800$  و  $1600$  میلی گرم در لیتر برای تیمارها بدست آید (شريفپور و همکاران، ۱۳۸۱). Abedisi و Agokei (۲۰۱۰) هم زدن سوسپانسیون بوسیله قاشق پلاستیکی را برای تهیه عصاره کافی دانستند. با این وجود به منظور حصول اطمینان، سوسپانسیون حاصله به مدت  $30$  دقیقه کنار گذاشته شد تا مواد مؤثره تنباكو در آب حل شود.

برای تهیه عصاره الكلی  $20$  گرم پودر تنباكو را در یک اrlen ریخته و  $150$  میلی لیتر الكل اتیلیک  $50$  درصد به آن اضافه شد. آنگاه مخلوط هم زده و روی اrlen توسط نوار پارافین پوشانده شد. مخلوط آماده شده به مدت  $48$  ساعت به منظور استخراج مواد تشکیل دهنده فعال از پودر، دور از نور و در دمای اتاق قرار داده شد. در پایان روز دوم، فاز جامد که در زیر قرار گرفته و در حقیقت تفاله تنباكو می باشد و فاز مایع که روی تفاله قرار داشته

ایجاد شوک و تشنج در تیمارهای عصاره‌آبی و عصاره الکلی به تبع افزایش غلظت دارو در تیمارهای مورد آزمایش، بیشتر می‌شد ولی می‌توان گفت که بطور کلی بیهوشی مورد تلفاتی در میان آنها مشاهده نگردید.

توسط عصاره آبی با آرامش بیشتری نسبت به عصاره الکلی

جدول ۱: نتایج بیهوشی ماهی قزل‌آلابا استفاده از عصاره آبی تباکو

| مشاهدات                              | زمان ریکاوری<br>(بازگشت<br>تعادل)<br>(ثانیه) | انحراف معیار<br>(بازگشت<br>تعادل)<br>(ثانیه) | زمان بیهوش<br>شدن<br>(ثانیه) | گروه وزنی<br>ماهی<br>(گرم) | میزان پودر در<br>آب (میلی‌گرم<br>در لیتر) |
|--------------------------------------|--|--|------------------------------|----------------------------|---|
| حرکات تشنجی کم و ریکاوری نسبتاً آرام | ۲۳۷  | ۳/۷۱   | ۱۱۸                          | کوچکتر از ۸۰               | ۲۰۰                                       |
| حرکات تشنجی کم و ریکاوری نسبتاً آرام | ۲۶۹  | ۳/۵۱   | ۱۱۲                          | ۲۰۰                        | ۲۰۰                                       |
| بیهوشی کامل صورت نگرفت               | ۲۵۳  | ۳/۹۲   | ۱۱۶                          | بزرگتر از ۱۵۰۰             | ۲۰۰                                       |
| حرکات تشنجی کم و ریکاوری نسبتاً آرام | ۱۸۷  | ۴/۰۸   | ۱۰۸                          | کوچکتر از ۸۰               | ۴۰۰                                       |
| حرکات تشنجی کم و ریکاوری نسبتاً آرام | ۲۵۴  | ۴/۰۹   | ۹۱                           | ۲۰۰                        | ۴۰۰                                       |
| بیهوشی عادی و نسبتاً آرام            | ۳۰۲  | ۳/۴۸   | ۱۰۲                          | بزرگتر از ۱۵۰۰             | ۴۰۰                                       |
| افزایش تشنج در زمان بیهوشی           | ۲۲۱  | ۴/۱۵   | ۸۷                           | کوچکتر از ۸۰               | ۸۰۰                                       |
| افزایش تشنج در زمان بیهوشی           | ۲۴۴  | ۳/۳۸   | ۷۴                           | ۲۰۰                        | ۸۰۰                                       |
| افزایش تشنج در زمان بیهوشی           | ۳۱۸  | ۴/۰۵   | ۱۰۳                          | بزرگتر از ۱۵۰۰             | ۸۰۰                                       |
| افزایش تشنج در زمان بیهوشی و ریکاوری | ۲۸۶  | ۳/۴۲   | ۶۷                           | کوچکتر از ۸۰               | ۱۶۰۰                                      |
| افزایش تشنج در زمان بیهوشی و ریکاوری | ۲۴۸  | ۲/۳۷   | ۵۳                           | ۲۰۰                        | ۱۶۰۰                                      |
| افزایش تشنج در زمان بیهوشی           | ۲۸۳  | ۳/۱۸   | ۸۶                           | بزرگتر از ۱۵۰۰             | ۱۶۰۰                                      |

جدول ۲: مقایسه زمان ایجاد بیهوشی با مقادیر مختلف عصاره آبی تباکو در گروههای وزنی مورد آزمایش به ثانیه- (گروههای وزنی مختلف در هر مقدار مقایسه شده‌اند).

| گروه وزنی<br>(میانگین ± انحراف معیار)<br>(میلی‌گرم در لیتر)          | مقدار عصاره<br>(میانگین ± انحراف معیار)<br>(میلی‌گرم در لیتر)         | مقدار عصاره<br>(میانگین ± انحراف معیار)<br>(میلی‌گرم در لیتر)          | مقدار عصاره<br>(میانگین ± انحراف معیار)<br>(میلی‌گرم در لیتر)           |
|--|---|--|---|
| ۱۶۰۰<br>(میلی‌گرم در لیتر)   | ۸۰۰<br>(میلی‌گرم در لیتر)   | ۴۰۰<br>(میلی‌گرم در لیتر)  | ۲۰۰<br>(میلی‌گرم در لیتر)   |
| ۶۷±۳/۴۲ <sup>b</sup><br>۵۳±۲/۳۷ <sup>a</sup><br>۸۶±۳/۱۸ <sup>c</sup> | ۸۷±۴/۱۵ <sup>b</sup><br>۷۴±۳/۳۸ <sup>a</sup><br>۱۰۳±۴/۰۵ <sup>c</sup> | ۱۰۸±۴/۰۸ <sup>c</sup><br>۹۱±۴/۰۹ <sup>a</sup><br>۱۰۲±۳/۴۸ <sup>b</sup> | ۱۱۸±۳/۷۱ <sup>b</sup><br>۱۱۲±۳/۵۱ <sup>a</sup><br>۱۱۰±۳/۹۱ <sup>b</sup> |
|  |   |  | کوچکتر از ۸۰ گرم<br>۲۰۰ گرم<br>بزرگتر از ۱۵۰۰ گرم                       |

معنی داری را نشان نداد ( $P > 0.05$ ). ولی سرعت بیهوشی مولدین بیشتر از تیمار ۰/۷ میلی گرم بود. در تیمار ۳/۵ میلی گرم در لیتر، بیهوشی در تمامی گروههای وزنی سریعتر از سایر تیمارها انجام گرفت.

همانطور که در جدول ۳ در مورد تیمارهای عصاره الکلی نشان داده شده است، تیمار اول با غلظت ۰/۰ میلی لیتر در لیتر، نتوانست بیهوشی را در گروههای وزنی بچه ماهی و پروراری اعمال کند ولی در گروه مولدین این امر صورت گرفت. در دو تیمار ۱ و ۰/۷ میلی گرم در لیتر، سرعت بیهوشی تفاوت

جدول ۳: نتایج بیهوشی ماهی قزل آلا با استفاده از عصاره الکلی تباکو

| مشاهدهات   | میانگین زمان<br>ریکاوری<br>(بازگشت تعادل)<br>به ثانیه | انحراف<br>معیار | میانگین زمان<br>بیهوش شدن<br>(ثانیه) | گروه وزنی<br>(گرم) | میزان عصاره<br>الکلی در آب<br>(میلی لیتر در لیتر) |
|--|---|-----------------|--------------------------------------|--------------------|---|
| ماهیها بیهوش نشدند   | -   | -               | -                                    | کوچکتر از<br>۸۰    | ۰/۷   |
| ماهیها بیهوش نشدند   | -   | -               | -                                    | بزرگتر از<br>۲۰۰   | ۰/۷   |
| بیهوشی همراه با کمی تشنج                                       | ۳۶۰   | ۲/۲۴            | ۱۰۹                                  | بزرگتر از<br>۱۵۰۰  | ۰/۷   |
| بیهوشی همراه با کمی تشنج                                       | ۱۹۶   | ۳/۰۲            | ۹۲                                   | کوچکتر از<br>۸۰    | ۱   |
| بیهوشی همراه با کمی تشنج                                       | ۲۲۳   | ۳/۱۳            | ۸۳                                   | ۲۰۰                | ۱   |
| بعد از ۱۰ دقیقه ماهیها هنوز به محرك خارجي واکنش نشان نمی دادند | ۳۰۴   | ۴/۰۷            | ۱۰۲                                  | بزرگتر از<br>۱۵۰۰  | ۱   |
| بیهوشی همراه با کمی تشنج                                       | ۲۸۱   | ۳/۸۲            | ۹۴                                   | کوچکتر از<br>۸۰    | ۱/۷   |
| بیهوشی همراه با کمی تشنج                                       | ۲۰۹   | ۳/۷۳            | ۷۳                                   | ۲۰۰                | ۱/۷   |
| بیهوشی همراه با کمی تشنج                                       | ۲۸۳   | ۲/۰۳            | ۹۶                                   | بزرگتر از<br>۱۵۰۰  | ۱/۷   |
| تشنج بیشتر از تیمار قبل  | ۱۸۸   | ۴/۱۲            | ۶۲                                   | کوچکتر از<br>۸۰    | ۲/۵   |
| تشنج شدید. ۴۰ درصد ماهیها تلف شدند.                            | ۲۰۹   | ۳/۰۵            | ۶۹                                   | ۲۰۰                | ۳/۵   |
| تشنج شدید  | ۳۰۳   | ۲/۷۱            | ۸۳                                   | بزرگتر از<br>۱۵۰۰  | ۳/۵   |

جدول ۴: مقایسه زمان ایجاد بیهوشی با مقادیر مختلف عصاره الکلی تباکو در گروههای وزنی مورد آزمایش به ثانیه - (گروههای وزنی مختلف در هر مقدار مقایسه شده اند).

| گروه وزنی<br>(میانگین ± انحراف معیار) | مقدار عصاره<br>(میانگین ۰/۷ میلی گرم در لیتر) | ۱ (میلی گرم در لیتر)  | ۱/۷ (میلی گرم در لیتر) | ۳/۵ (میلی گرم در لیتر) |
|---------------------------------------|---|-----------------------|------------------------|------------------------|
| کوچکتر از ۸۰ گرم                      | -   | -                     | -                      | ۶۲±۴/۱۲ <sup>a</sup>   |
| ۲۰۰ گرم                               | -   | -                     | -                      | ۶۹±۳/۰۵ <sup>b</sup>   |
| بزرگتر از ۱۵۰۰ گرم                    | ۱۰۹±۲/۲۴                                      | ۱۰۲±۴/۰۷ <sup>c</sup> | ۹۲±۳/۰۲ <sup>d</sup>   | ۷۳±۳/۰۳ <sup>a</sup>   |

غلظت دارو حرکات تشنجی ماهی در زمان بیهوشی نیز افزایش پیدا می کرد تا جایی که در تیمار ۳/۵ میلی لیتر در لیتر عصاره الکلی حدود ۴۰ درصد از ماهیان گروه وزنی پروراری حین بیهوشی تلف شدند.

در مورد زمان بازگشت از بیهوشی در تیمارهای مختلف روند مشخصی مشاهده نشد و نتایج بدست آمده برای ماهیان درون هر گروه وزنی و هر تیمار نیز نوسان زیادی داشت. اما بازه زمانی ریکاوری بطور کلی بین ۳ تا ۵ دقیقه مشاهده شد. با افزایش

زیستمحیطی نیز نداشته باشد. غلظت مؤثر دارو در تحقیق حاضر ۲۰۰ تا ۱۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای عصاره آبی و ۱ تا ۳/۵ میلی‌لیتر در لیتر برای عصاره الکلی است که این میزان حدوداً یک دهم میزان لازم برای بیهوشی تیلاپیاست (Agokei & Adebisi, 2010). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مقاومت و میزان تحمل ماهیان مختلف در مقابل تنباقو متفاوت است.

مزیت تنباقو در مقایسه با داروی شیمیایی MS222 که در حال حاضر مصرف آن محدود شده و احتمال تاثیرگذاری منفی آن بر ماهی و فرآورده‌های حاصله وجود دارد (& Smith, 1990)، منشا طبیعی و بی ضرر بودن آن برای محیط MS222 زیست می‌باشد. یکی از مشکلات ایجاد شده توسط تغییر pH آب بطور سریع و به میزان زیاد است. تا حدی که این دارو pH آب را در زمان استفاده جهت بیهوشی به حدود ۵ می‌رساند (Stoskopok & Posner, 2008). این در حالی است که تغییر pH محسوسی در زمان استفاده از تنباقو مشاهده نگردید. ضمناً قیمت پایین و دسترسی ساده به این گیاه، یکی دیگر از محسان تنباقو در مقایسه با این داروی شیمیایی و حتی گل میخک می‌باشد بطوریکه قیمت تنباقو به علت کشت فراوان در داخل کشور بسیار ارزانتر از گل میخک می‌باشد. یکی از موارد مشاهده شده در بیهوشی ماهی توسط تنباقو، وجود شوک در ماهی بالافاصله پیش از بیهوشی کامل می‌باشد که این حالت در مورد عصاره آویشن نیز گزارش گردیده است (شریف روحانی و همکاران، ۱۳۸۶). این نحوه بیهوشی کاملاً با مشاهدات (Agokei & Adebisi, 2010) در مورد تیلاپیا نیز مطابقت دارد. شایان ذکر است که این شوک در مورد عصاره الکلی بیشتر از عصاره آبی مشاهده شد که این امر در مورد تیلاپیا نیز گزارش شده است (Agokei & Adebisi, 2010). علت آن را می‌توان به اختلال ایجاد شده در تنفس به واسطه تاثیر نیکوتین بر عملکرد آبشش مربوط دانست (Kori-Siakpere & Oviroh, 2011). اینگونه حرکات با شدت کمتر در مورد گل میخک نیز دیده می‌شود. مهرانی (۱۳۸۱) علت بیهوشی توسط گل میخک را تاثیر بر اعصاب مرکزی ماهی از طریق جذب مواد مؤثره توسط کمانهای آبششی و قطع موقعی ارتباط گیرنده‌های عصبی می‌داند و احتمالاً همین امر باعث ایجاد شوک در ماهی می‌گردد. در نهایت می‌توان با توجه به خصوصیاتی مانند قیمت ارزان، در دسترس بودن و کشت وافر در داخل کشور (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۸) و تجزیه‌پذیر بودن در طبیعت و نهایتاً گیاهی

در مجموع نتایج نشان داد که عصاره الکلی تنباقو بیهوشی را در مدت زمانی کمتر از دو دقیقه القاء می‌کند و بازگشت از بیهوشی در مدت زمانی کمتر از ۵ دقیقه انجام می‌شود. شرایط آب در زمان انجام آزمایش ثبت شد که pH در حدود ۷/۶، دمای آب ۱۱ درجه سانتیگراد و مقدار اکسیژن محلول ۸/۱ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری گردید. میزان سختی آب نیز در همه آزمایشها ثابت و حدود ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری گردید.

## بحث

در تحقیق حاضر همانطور که نتایج نشان می‌دهد هم عصاره آبی و هم عصاره الکلی تنباقو توانست در غلظتها مختلف بدون مشاهده عوارض جانبی و با موفقیت باعث بیهوشی ماهی در سایزهای مختلف شود. نتایج آنالیز آماری در مورد درصد ماهیان بیهوش شده و زمان بیهوشی بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی دار است. ولی در مورد زمان بازگشت از بیهوشی اختلاف معنی داری را بین تیمارهای عصاره آبی و همچنین بین تیمارهای عصاره الکلی نشان نمی‌دهد. مشاهدات بالیستی نشان‌دهنده این مطلب بود که عصاره آبی در مقایسه با عصاره الکلی شوک کمتری به ماهیها وارد می‌کند و بیهوشی و ریکاوری با آرامش بیشتری انجام می‌گردد.

به علت عدم وجود تلفات در ماهیها پس از بازگشت از بیهوشی احتمال کشنده‌گی تنباقو منتفی می‌شود و با توجه به اینکه پس از انجام آزمایشات تلفات یا رفتارهای غیر طبیعی در ماهیها طی ۷ روز نگهداری و تحت نظر گرفتن آنها مشاهده نگردید به نظر می‌رسد تنباقو اثرات مخرب بلند مدت بر فیزیولوژی ماهی ندارد. همچنین افزایش تدریجی طول مدت بیهوشی به تبع بالارفتن دز این دارو، با معیارهای تعیین شده Marking (برای یک داروی بیهوش کننده ماهی همخوانی دارد) (Meyer, 1985; Keene et al., 1998) هر چه مقدار دز دارو بیشتر باشد مدت زمان تا شروع بیهوشی کمتر می‌شود. این نتایج در مورد سایر بیهوش کننده‌های رایج مانند گل میخک نیز گزارش شده است (اخلاقی، ۱۳۷۸). تنباقو ۵ معیار از معیارهای بیان شده برای یک بیهوش کننده مناسب را دارا می‌باشد. بنابراین می‌تواند بعنوان یک داروی بیهوشی استاندارد مطرح گردد. ضمناً از آنجاییکه عصاره تنباقو یک ترکیب گیاهی است و بنابر استدلال شریف پور و همکاران (۱۳۸۱) انتظار می‌رود که تنباقو به آسانی در محیط تجزیه شود و اثرات سوء

- Agokei O.E. and Adebisi A.A., 2010.** Tobacco as an anaesthetic for fish handling procedures. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(14):1396-1399.
- Aleem S.O., 1987.** An assessment of tobacco waste for control of the gastropod, *Tymanonotus fuscatus* (Linnaeus) in brackishwater fishponds. African Regional Aquaculture Center, Nigeria.
- Hassal K.A., 1982.** The chemistry of pesticides. Macmillan Press, London, UK. 372P.
- Keene J.K., Noakes D.L.G., Moccia R.D. and Soto C.G., 1998.** The efficiency of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout; *Aquaculture Research*, 29:89-101.
- Konar S.K., 1970.** Progressive Fish Culturist. Fish Culturist, 32:103–104.
- Kori-Siakpere O. and Oviroh E.O., 2011.** Acute toxicity of tobacco (*Nicotiana tabaccum*) leaf dust on the African catfish: *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822); *Archives of Applied Science Research*. 3:1-7.
- Marking L.L. and Meyer, F.P., 1985.** A better anaesthetics needed in fisheries. 10:2-5.
- Reed W., Birchard J., Hopson A.J., Jenness J. and Yaro I., 1969.** Fish and fisheries of Northern Nigeria. Gaskiya Corporation, Zaria, Nigeria. 226P.
- Stoelting R.K. and Miller R.D., 1994.** Basics of anaesthesia, 3<sup>rd</sup> edition. Churchill livingstone. pp.67-72.
- Stoskopf M. and Posner L.M., 2008.** Anesthesia and restraint of laboratory fish. In: (R. E. Fish *et al* eds.) *Anesthesia and analgesia in laboratory animals*. Academic Press USA. pp.519-533.
- Summerfelt R.C. and Smith L.S., 1990.** *Anesthesia Surgery and related Techniques for biology*. American Fisheries Society Bethesda. pp.213-237.
- Tobor J.G., 1990.** The fishing industry in Nigeria: Status and potential for self sufficiency in fish production. NIOMR Technical paper; Nigeria Institute for Oceanography Research. 26P.

و طبیعی بودن تباکو (Aleem, 1987)، این گیاه را در کنار سایر بیهوده‌ها بعنوان یک داروی بیهوده‌ی مؤثر و مطلوب مد نظر قرار داد. با توجه به مدت بیهوده‌ی، زمان بازگشت از بیهوده‌ی، و آرامش ماهی در زمان بیهوده‌ی، عصاره آبی در مقایسه با عصاره الکلی بیهوده‌ی آرامتری را در ماهی قزل‌آلا اعمال می‌کند و غلظت‌های ۲۰۰ تا ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آبی عملکرد موفقتری را دارا بودند. همچنین غلظت‌های کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز می‌تواند بعنوان آرامبخش و بعنوان کاهش دهنده استرس در زمان انتقال ماهی قزل‌آلا مورد استفاده قرار گیرد.

## منابع

- اخلاقی، م و میراب بروجردی، م.. ۱۳۷۸. بررسی اثر بیهوده کنندگی گل میخک در ماهی و تعیین LC<sub>50</sub> آن، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۴، شماره ۲، صفحات ۵۲ تا ۴۹.
- آمارنامه کشاورزی سال، ۱۳۸۸. وزارت جهاد کشاورزی. دفتر آمار و فناوری اطلاعات، تهران، ۲۹۰ صفحه.
- شريفپور، ع؛ سلطاني، م؛ عبدالحفي، ح. و قيومي، ر.. ۱۳۸۱ . اثر بیهوده کنندگی انسانس گل میخک در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهی کپور معمولی، مجله علمی شیلات ایران، سال یازدهم، شماره ۴. صفحات ۵۹ تا ۷۴.
- شريفروحاني. م؛ حقيقي، م؛ عصائبان، ح. و لشتو آقائي، غ.. ۱۳۸۶. بررسی اثر بیهوده انسانس آويشن شيرازی بر بیهوده ماهی آزاد دریای خزر و ماهی قزل‌آلاي رنگين، کمان. مجله علمی شیلات ایران. سال شانزدهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۶، صفحات ۹۹ تا ۱۰۶.
- مهرابي، ي.. ۱۳۷۶. مطالعه اثر بیهوده پودر گل میخک روی ماهی قزل‌آلاي رنگين کمان. مجله آبری پروری، معاونت تکثیر و پرورش شیلات ایران. سال ششم، شماره ۲۱، صفحات ۳۶ تا ۳۹.
- مهرابي، ي.. ۱۳۸۱. بیهوده و تکثیر دو بار در سال ماهی قزل‌آلاي رنگين کمان. انتشارات اسلامي، تهران، صفحات ۱۶ تا ۲۳.
- نيك خلق، آ.. ۱۳۸۹ . روشهای نوین ترک سیگار. انتشارات کاوش پرداز، تهران. ۱۵۲ صفحه.
- Agbon A.O., Omoniyi I.T. and Teko A.A., 2002.** Acute toxicity of tobacco (*Nicotiana tabaccum*) leaf dust on *Oreochromis niloticus* and haematological changes resulting from sublethal exposure. *Journal of Aquatic Sciences*, 17(1):5-8.

## Investigation of anesthetizing effect of tobacco (*Nicotiana tabacum*) aqueous and alcoholic extract on Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Zargham D.<sup>(1)\*</sup>; Sharifrohani M.<sup>(2)</sup>; Falahat Naserabad I.<sup>(3)</sup> and Bashti T.<sup>(4)</sup>

davoodzargham@hotmail.com

- 1- Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, P.O.Box: 49168-386  
Gorgan, Iran.
- 2- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran
- 3,4- Genetic and Breeding Research Center for Coldwater Fish, Yasuj P.O.Box: 75914/358

Received: Mat 2012

Accepted: January 2013

**Keywords:** Tobacco, Rainbow trout, Anesthetic

### Abstract

The main goal of anesthesia in rainbow trout is decrease mobility and reduce stress of fish while breeding, and also facilitate operation such as manipulation to Tagging, Biometry, Sorting, Inspection and Sampling for pathology test. In the present study, Aqueous and alcoholic extract of tobacco plant (*Nicotiana tabacum*) for Anaesthetizing Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in 3 weight groups: fry (less than 80 g), growing(about 200 g) and breeding(larger than 1500g) were used. The effective dose of tobacco in treatments 200, 400, 800 and 1600mg/lit in aqueous and 0.7, 1, 1.7 and 3.5mg/lit in alcoholic extract were tested. Totally, we can say that tobacco extract Anaesthetizes the rainbow trout in less than 3 minutes and recovery time is less that 5 minutes. Regarding to anesthetizing time, recovery time and fish relaxing during anesthesia, aqueous extract applies more gentle anesthesia in rainbow trout, and dose 200 to 800 mg/lit of aqueous extract were more successful. Also Regarding to significant correlation between doze and Anesthetics extremity and recovery time ( $P<0.05$ ), lower dose of tobacco extract can be used to making fish calm for transportation.

\*Corresponding author