

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

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

davoodzargham@hotmail.com

۱-دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۶۵-۲۸۶

۲-مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

۳و۴- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج، صندوق پستی: ۷۵۹۱۴/۳۵۸

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۱

### چکیده

هدف اصلی از بیهوش کردن ماهی قزل‌آلا کاهش تحرک و کم کردن استرس ناشی از دستکاری به منظور تکثیر مصنوعی و نیز تسهیل عملیاتی مانند نشان‌گذاری، زیست‌سنجی، رقم‌بندی، معاینه و نمونه‌برداری می‌باشد. در تحقیق حاضر از عصاره‌های آبی و الکلی گیاه تنباکو (*Nicotiana tabacum*) برای بیهوش کردن ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در ۳ گروه وزنی بچه ماهی (کوچکتر از ۸۰ گرم)، پرواری (حدود ۲۰۰ گرم) و مولد (بزرگتر از ۱۵۰۰ گرم) مورد استفاده قرار گرفت که غلظت موثر تنباکو در عصاره آبی در تیمارهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب و غلظت موثر عصاره الکلی تنباکو در تیمارهای ۱/۷، ۳/۵ و ۱۰/۷ میلی‌لیتر در یک لیتر آب مورد آزمایش قرار گرفت. به طور کلی می‌توان گفت عصاره تنباکو قزل‌آلا را در کمتر از ۳ دقیقه بیهوش می‌کند و بازگشت از بیهوشی کمتر از ۵ دقیقه طول می‌کشد. با توجه به مدت بیهوشی، زمان بازگشت از بیهوشی و آرامش ماهی در زمان بیهوشی، عصاره آبی در مقایسه با عصاره الکلی بیهوشی آرامتری را در ماهی قزل‌آلا اعمال می‌کند و غلظت‌های ۲۰۰ تا ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آبی عملکرد موفق تری را دارا بودند. همچنین با توجه به ارتباط معنی‌داری که بین غلظت و شدت بیهوشی و مدت زمان ریکاوری وجود دارد. می‌توان از غلظت‌های پایین‌تر عصاره تنباکو برای آرام کردن ماهی برای حمل و نقل استفاده کرد.

**کلمات کلیدی:** تنباکو، قزل‌آلای رنگین کمان، بیهوش کننده

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

تنباکو یا توتون 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 بریده شده آن گیاه هم تنباکو می‌گویند. مصرف اصلی این گیاه تدخین دود حاصل از سوزاندن برگ خشک آن است که دارای نیکوتین می‌باشد. اولین مردمی که توتون را کشف کردند، سرخپوستان آمریکا بودند. آنان باور داشتند که تنباکو خواص درمانی دارد و با کشیدن آن، از بیماری‌ها و شیاطین در امان می‌مانند... در دوران گذشته در قرون ۱۵ و ۱۶ تنباکو بعنوان دارو استفاده می‌شد و پزشکان اسپانیایی از آن بعنوان مسکن استفاده می‌کردند (نیک خلق، ۱۳۸۹).

استفاده از تنباکو در آبی‌پروری دارای سابقه می‌باشد. استفاده از پودر برگ این گیاه به منظور از بین بردن موجودات شکارگر و نیز علفها در استخرهای ماهی قبل از ماهی‌دار 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 آبی‌پرور متحمل می‌کند (Tobar, 1990). همچنین ماهی‌گیران بومی در نیجریه از آن برای صید ماهی استفاده می‌کردند (Reed et al., 1969). از جمله تحقیقات صورت گرفته روی تنباکو در آبی‌پروری بررسی سمیت حاد این گیاه روی گربه ماهی آفریقایی با نام علمی *Clarias gariepinus* (Kori-Siakpere & Oviroh, 2011) و همچنین گونه *Oreochromis niloticus* می‌باشد (Agbon et al., 2002). ماده مؤثر موجود در تنباکو نیکوتین 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 تنباکو در کشور حدود ۱۷ هزار تن برآورد شده است. استانهای مازندران، گلستان، بوشهر، هرمزگان و گیلان رتبه‌ای اول کشت تنباکو در کشور را دارا هستند. تنباکو به منظور آماده‌سازی برای مصرف به مدت هفت روز مقابل تابش مستقیم آفتاب خشک و روانه بازار می‌شود. ماهیها در زمان دستکاری به منظور تکثیر مصنوعی و نیز عملیاتی مانند نشان‌گذاری، زیست‌سنجی، 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: بنزوکائین، تریکائین متان سولفونیت، کوئینالیدین سولفیت و متومیدات.

طی سالیان گذشته آزمایشاتی برای جایگزین کردن گیاهان در بیهوشی آبزیان به جای مواد شیمیایی وارداتی و گرانقیمت مانند تریکائین متان سولفونات (MS222) صورت گرفته است که از مهمترین آنها می‌توان به اسانس گل میخک (مهرابی، 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 تنباکو 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 تنباکو نسبت به گل میخک و همچنین کشت وسیع آن در کشور اثر این گیاه بر بیهوشی ماهی قزل‌آلا در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت. تحقیقات در مورد استفاده از تنباکو برای بیهوشی ماهیان نادر می‌باشد. Agokei و Adebisi (۲۰۱۰) اثر عصاره آبی و الکلی تنباکو را برای اعمال بیهوشی در ماهی تیلپیا مورد آزمایش قرار دادند. مقاله‌ای در استفاده از تنباکو بعنوان بی‌هوش کننده برای ماهی قزل‌آلا 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 آبی‌پروری 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 الکلی مورد نظر ما می‌باشد تشکیل شد. عصاره که مایع قهوه‌ای رنگ بسیار تیره می‌باشد از طریق کاغذ صافی شماره ۱ فیلتر گردید تا تفاله بطور کامل از عصاره جدا گردد (Agokei & Abedisi, 2010). غلظت‌های مورد نظر برای انجام آزمایش عبارت بودند از ۰/۷، ۱، ۱/۷، ۳/۵ میلی‌لیتر عصاره الکلی در ۱ لیتر آب که به این منظور بترتیب مقادیر ۳/۵، ۵، ۸/۵، ۱۷/۵ میلی‌لیتر از عصاره به ۵ لیتر آب اضافه شد. این آزمایش روی سه گروه وزنی بچه ماهی (با میانگین وزن کمتر از ۸۰ گرم)، پرواری (با میانگین وزن ۲۰۰ گرم) و مولد (۱۵۰۰ گرم به بالا) صورت گرفت و برای هر گروه وزنی و برای هر کدام از غلظت‌های فوق‌الذکر ۵ عدد ماهی جدا شده و عملیات

میانگین نتایج حاصل از تاثیر عصاره آبی و الکلی روی بیهوشی ماهی محاسبه و بترتیب در جدول‌های شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. در مقایسه تیمارهای عصاره آبی تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوشی را در زمان طولانی‌تر از سایر تیمارها (۱۱۸±۶/۲ ثانیه) اعمال کرد و بیهوشی با آرامش بیشتری برای ماهی همراه بود. حتی در مورد برخی از ماهیها بیهوشی کامل صورت نمی‌گرفت ولی ماهیها نسبت به تحریک خارجی عکس‌العملی از خود نشان نمی‌دادند. با افزایش غلظت دارو، سرعت بیهوشی افزایش پیدا کرده و نیز استرس و حرکات بدنی ماهی در زمان بیهوشی اضافه می‌گردید. در مقایسه گروه‌های 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 ۲). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که به طور کلی عصاره آبی تنباکو بیهوشی را در مورد ماهی قزل‌آلا در مدت زمانی کمتر از ۲ دقیقه القاء کرده و بازگشت از بیهوشی در مدت زمانی کمتر از ۵ دقیقه انجام شد. نحوه بیهوشی ماهیها به این صورت مشاهده شد که ماهیها در ابتدای ورود به محلول بیهوشی به آرامی درون تشت حرکت می‌کردند. با گذشت زمان سرعت تنفس و حرکت سرپوش آبششی افزایش پیدا کرده و کمی قبل از ایجاد بیهوشی، ماهیها برای حدود ۵ تا ۱۰ ثانیه به صورت تشنجی بدن خود را تکان می‌دادند و در نهایت ماهی آرام و بدون تشنج تعادل خود را از دست داده و به پهلو در کف ظرف قرار می‌گرفت. بازگشت ماهیها از بیهوشی نیز به آرامی صورت گرفت و گاهی در طول این بازگشت حرکت تشنجی کوچکی نیز در برخی از ماهیها مشاهده می‌شد.

۲- زمان ریکاوری پس از استفاده از آن کوتاه باشد، ۵ دقیقه یا کمتر  
 ۳- غیرسمی باشد و ضریب ایمنی بالایی برای ماهی داشته باشد.  
 ۴- استفاده از آن بسیار ساده باشد در طول استفاده برای انسانها خطرناک 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 الکلی و عصاره آبی پودر برگ خشک تنباکو در ایجاد بیهوشی در سه گروه وزنی بچه ماهی (کمتر از ۸۰ گرم)، پرواری (حدود ۲۰۰ گرم) و مولد (بزرگتر از ۱۵۰۰ گرم) ماهی قزل‌آلای رنگین کمان.

## مواد و روش کار

ابتدا تنباکوی مورد نیاز بصورت خشک شده به مدت ۲ دقیقه در آسیاب خرد شد. پودر حاصله پس از عبور دادن از الک ۵۰۰ تا ۷۰۰ میکرونی، بوسیله ترازوی دقیق توزین و جهت مصرف آماده شد.

به منظور تهیه عصاره آبی مقادیر ۱، ۲، ۴ و ۸ گرم از پودر الک شده تنباکو در ۵ لیتر آب خیسانده شد تا نهایتاً غلظتهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای تیمارها بدست آید (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۸۱). Agokei و Abedisi (۲۰۱۰) هم زدن سوسپانسیون بوسیله قاشق پلاستیکی را برای تهیه عصاره کافی دانستند. با این وجود به منظور حصول اطمینان، سوسپانسیون حاصله به مدت ۳۰ دقیقه کنار گذاشته شد تا مواد مؤثره تنباکو در آب حل شود.

برای تهیه عصاره الکلی ۲۰ گرم پودر تنباکو را در یک ارلن ریخته و ۱۵۰ میلی لیتر الکل اتیلیک ۵۰ درصد به آن اضافه شد. آنگاه مخلوط هم‌زده و روی ارلن توسط نوار پارافین پوشانده شد. مخلوط آماده شده به مدت ۴۸ 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 تنباکو می‌باشد و فاز مایع که روی تفاله قرار داشته

ایجاد شوک و تشنج در تیمارهای عصاره آبی و عصاره الکلی به تبع افزایش غلظت دارو در تیمارهای مورد آزمایش، بیشتر می‌شد ولی می‌توان گفت که بطور کلی بیهوشی توسط عصاره آبی با آرامش بیشتری نسبت به عصاره الکلی صورت می‌گرفت. ماهیان مورد آزمایش تا یک هفته از نظر رفتار عمومی و تلفات احتمالی تحت کنترل بودند که هیچ مورد تلفاتی در میان آنها مشاهده نگردید.

جدول ۱: نتایج بیهوشی ماهی قزل‌آلا با استفاده از عصاره آبی تنباکو

مشاهدات	زمان ریکاوری (بازگشت تعادل ثانیه)	انحراف معیار	زمان بیهوش شدن (ثانیه)	گروه وزنی ماهی (گرم)	میزان پودر در آب (میلی‌گرم 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 تنباکو در گروههای وزنی مورد آزمایش به ثانیه- گروههای وزنی مختلف در هر مقدار مقایسه شده‌اند).

مقدار عصاره (میانگین ± انحراف معیار) گروه وزنی	۱۶۰۰ (میلی‌گرم در لیتر)	۸۰۰ (میلی‌گرم در لیتر)	۴۰۰ (میلی‌گرم در لیتر)	۲۰۰ (میلی‌گرم در لیتر)
کوچکتر از ۸۰ گرم	۶۷±۳/۴۱ <sup>b</sup>	۸۷±۴/۱۵ <sup>b</sup>	۱۰۸±۴/۰۸ <sup>c</sup>	۱۱۸±۳/۷۱ <sup>b</sup>
۲۰۰ گرم	۵۳±۲/۳۷ <sup>a</sup>	۷۴±۳/۳۸ <sup>a</sup>	۹۱±۴/۰۹ <sup>a</sup>	۱۱۲±۳/۵۱ <sup>a</sup>
بزرگتر از ۱۵۰۰ گرم	۸۶±۳/۱۸ <sup>c</sup>	۱۰۳±۴/۰۵ <sup>c</sup>	۱۰۲±۳/۴۸ <sup>b</sup>	۱۱۵±۳/۹۲ <sup>b</sup>

معنی‌داری را نشان نداد ( $P > 0.05$ ). ولی سرعت بیهوشی مولدین بیشتر از تیمار ۰/۷ میلی‌گرم بود. در تیمار ۳/۵ میلی‌گرم 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 ۰/۷ میلی‌لیتر در لیتر، نتوانست بیهوشی را در گروه‌های وزنی بچه ماهی و پرواری اعمال کند ولی در گروه مولدین این امر صورت گرفت. در دو تیمار ۱ و ۱/۷ میلی‌گرم در لیتر، سرعت بیهوشی تفاوت

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

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

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

مقدار عصاره (میانگین $\pm$ انحراف معیار) گروه وزنی	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	-	$92 \pm 3 / 0.2^D$	$94 \pm 3 / 1.1^D$	$62 \pm 4 / 1.2^D$
۲۰۰ گرم	-	$83 \pm 3 / 1.3^a$	$73 \pm 3 / 1.3^a$	$69 \pm 3 / 0.5^D$
بزرگتر از ۱۵۰۰ گرم	$109 \pm 2 / 2.4$	$102 \pm 4 / 0.7^c$	$96 \pm 2 / 0.3^D$	$83 \pm 2 / 1.1^c$

غلظت دارو حرکات تشنجی ماهی در زمان بیهوشی نیز افزایش پیدا می‌کرد تا جایی که در تیمار ۳/۵ میلی لیتر در لیتر عصاره الکلی حدود ۴۰ درصد از ماهیان گروه وزنی پرواری 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 تیلایپاست (Agokei & Adebisi, 2010). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مقاومت و میزان تحمل ماهیان مختلف در مقابل تنباکو متفاوت است.

مزیت تنباکو 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 (Summerfelt & Smith, 1990)، منشا طبیعی و بی‌ضرر بودن آن برای محیط زیست می‌باشد. یکی از مشکلات ایجاد شده توسط MS222 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 (Stoskopk & Posner, 2008). این در حالی است که تغییر pH محسوسی در زمان استفاده از تنباکو مشاهده نگردید. ضمناً قیمت پایین و دسترسی ساده به این گیاه، یکی دیگر از محاسن تنباکو در مقایسه با این داروی شیمیایی و حتی گل میخک می‌باشد بطوریکه قیمت تنباکو به علت کشت فراوان در داخل کشور بسیار ارزانتر از گل میخک می‌باشد. یکی از موارد مشاهده شده در بیهوشی ماهی توسط تنباکو، وجود شوک در ماهی بلافاصله 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 تیلایپاست نیز مطابقت دارد. شایان ذکر است که این شوک در مورد عصاره الکلی بیشتر از عصاره آبی مشاهده شد که این امر در مورد تیلایپاست 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. مهربانی (۱۳۸۱) علت بیهوشی توسط گل میخک را تاثیر بر اعصاب مرکزی ماهی از طریق جذب مواد مؤثره توسط کمانهای آبششی و قطع موقتی ارتباط گیرنده‌های عصبی می‌داند و احتمالاً همین امر باعث ایجاد شوک در ماهی می‌گردد. در نهایت می‌توان با توجه به خصوصیات مانده 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 تنباکو 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 تنباکو توانست در غلظتهای 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 معنی‌دار است. ولی در مورد زمان بازگشت از بیهوشی اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای عصاره آبی و همچنین بین تیمارهای عصاره الکلی نشان نمی‌دهد. مشاهدات بالینی 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 کشندگی تنباکو 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 تنباکو اثرات مخرب بلند مدت بر فیزیولوژی ماهی ندارد. همچنین افزایش تدریجی طول مدت بیهوشی به تبع بالا رفتن دز این دارو، با معیارهای تعیین شده برای یک داروی بیهوش کننده ماهی همخوانی دارد (Marking & 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). تنباکو 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 آنجائیکه عصاره تنباکو یک ترکیب گیاهی است و بنابر استدلال شریف پور و همکاران (۱۳۸۱) انتظار می‌رود که تنباکو به آسانی در محیط تجزیه شود و اثرات سوء

- Agokei O.E. and Adebisi A.A., 2010.** Tobacco as an anesthetic 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, *Tympanotonus 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 tabacum*) 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 anesthetic 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 تنباکو (Aleem, 1987)، این گیاه را در کنار سایر بیهوش کننده‌ها بعنوان یک داروی بیهوشی مؤثر و مطلوب مد نظر قرار داد. با توجه به مدت بیهوشی، زمان بازگشت از بیهوشی، و آرامش ماهی در زمان بیهوشی، عصاره آبی در مقایسه با عصاره الکلی بیهوشی 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 بیهوش 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.
- شریف‌پور، ع.؛ سلطانی، م.؛ عبدالحی، ح. و قیومی، ر.، ۱۳۸۱.** اثر بیهوش‌کنندگی اسانس 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.
- شریف‌روحانی، م.؛ حقیقی، م.؛ عصائیان، ح. و لشتو آقایی، غ.، ۱۳۸۶.** بررسی اثر بیهوشی اسانس آویشن شیرازی بر بیهوشی ماهی آزاد دریای خزر و ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. *مجله علمی شیلات ایران*. سال شانزدهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۶، صفحات ۹۹ تا ۱۰۶.
- مهرابی، ی.، ۱۳۷۶.** مطالعه اثر بیهوشی پودر گل میخک روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. *مجله آبی‌پروری، معاونت تکثیر و پرورش شیلات ایران*. سال ششم، شماره ۲۱، صفحات ۳۶ تا ۳۹.
- مهرابی، ی.، ۱۳۸۱.** بیهوشی و تکثیر دو بار در سال ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. انتشارات اصلاحی، تهران، صفحات ۱۶ تا ۲۳.
- نیک 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 tabacum*) 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 than 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