

تعیین محدوده کشندگی و بررسی اثرات ناشی از عصاره تنباکو بر بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

- **صبا حسینی:** گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی، خرمشهر، صندوق‌پستی: ۶۶۹
- **عبدالعلی موحدی‌نیا:** گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی، خرمشهر، صندوق‌پستی: ۶۶۹
- **محسن حیدری:** گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، صندوق‌پستی: ۱۳۱۸-۱۳۱۴۵
- **معصومه قدمی:** گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی، قزوین
- **جواد مهدوی:** مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج
- **زینب صالحپور*:** مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۴

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی دامنه سمیت ناشی از عصاره تنباکو بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. با توجه به مطالعات انجام شده، بیش‌تر به آثار سوء و زیان‌بار تنباکو و دیگر ترکیبات آن بر انسان اشاره شده و کم‌تر به استفاده‌های مفید آن در صنایع توجه شده است. این مطالعه را می‌توان اولین گام در شناخت و توسعه استفاده مفید تنباکو در صنایع دیگر دانست. آزمایش سمیت حاد به صورت ساکن و براساس روش استاندارد OECD به مدت ۴ روز انجام و پارامترهای موثر فیزیکوشیمیایی آب شامل pH، اکسیژن محلول و درجه حرارت کنترل گردید. در هر تیمار از ۳۰ عدد ماهی قزل‌آلا با میانگین وزنی 0.2 ± 0.05 گرم استفاده شد. بعد از به‌دست آوردن دامنه غلظت کشندگی، تیمارهای نهایی با ۵ تیمار برای تعیین غلظت کشنده (LC_{۵۰}) انجام پذیرفت. نتایج کمی به‌دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS version ۱۶ و روش آماری Probit با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. غلظت کشنده (LC_{۵۰}) عصاره تنباکو برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۳/۵۵ میلی‌گرم بر لیتر و غلظت غیرموثر مربوطه (NOEC)، معادل ۰/۳۵ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. غلظت ۰/۰۱ LC_{۵۰} را سطح ایمن و مطمئن برای پرورش آبزیان توصیه می‌کنند در صورتی که در مطالعه فعلی غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر جهت پرورش لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد می‌گردد. ضمن توصیه به کارگیری عصاره آبی تنباکو در غلظت‌های پایین در استخرهای پرورشی جهت ماهی قزل‌آلا براساس یافته‌های این تحقیق غلظت غیرسمی و موثر و مجاز حداکثر ۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر جهت استفاده سالم در استخرهای پرورشی پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: عصاره آبی تنباکو، ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، سمیت

مقدمه

ماهی به‌خاطر اهمیت اکولوژیکی و اقتصادی به‌عنوان یک گونه مناسب در ارزیابی سمیت آبریان مورد توجه است. گونه‌های بسیار زیادی از ماهی‌ها برای مطالعه سمیت استفاده می‌شوند. انتخاب یک گونه برای انجام آزمایش، به در دسترس بودن گونه، سهولت پرورش و سهولت حمل و نقل آن بستگی دارد (Clark, 2001; OECD, 1992). ماهیان یکی از مهم‌ترین موجودات آبرزی می‌باشند که به‌علت ارزش اقتصادی و حساسیت در مقابل آلاینده‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند و به‌همین دلیل جهت انجام آزمایشات زیست‌سنجی، در بعد وسیعی از آن‌ها استفاده می‌گردد (Nemmar و همکاران، 2013). حساسیت گونه‌های مختلف ماهی به مواد سمی متفاوت، متغیر است، از این‌رو آزمایش‌های سم‌شناسی روی ماهیان مختلف صورت می‌گیرد (Neuspiel, 1994). برای محاسبه سمیت روی ماهی قزل‌آلا از مدل زمان-غلظت (زف) و مدل زمان غلظت کامل (زهف) استفاده می‌شود (Chambon و Canivet, 2001).

در هنگام انجام تست سمیت حاد، کنترل کردن شرایط آزمایش از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. عوامل متعددی در نتایج آزمایش‌های سمیت روی آبریان تأثیر دارند که می‌توان به ویژگی‌های آب و خصوصیات زیستی گونه‌های مورد آزمایش اشاره کرد. به هنگام اجرای آزمایش‌های سمیت، از روش‌های آزمایش استاندارد شده برای به حداقل رساندن متغیرهای خارجی و تصادفی استفاده نمود و شرایط آزمایش را باید تحت کنترل قرار داد (Abel و Axiak, 1990). اطمینان از این‌که همه موجودات مورد آزمایش از یک گروه سالم بوده و توزیع آن‌ها به‌صورت تصادفی در هنگام انجام آزمایش می‌باشد، نکته‌ای مهم است. یکی از عوامل تأثیرگذار در مسمومیت آبریان عامل زمان است. هنگامی که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم باشد، به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می‌رود و هم سم فرصت بیشتری برای تأثیرگذاری روی ماهی دارد. علاوه بر این در مواردی تجمع سم در بافت‌های ماهی نیز باعث افزایش تأثیر سو آن بر بدن ماهی و در مدت 96 ساعت انجام آزمایش‌ها موجب پایین آمدن LC₅₀ می‌شود (David و همکاران، 2003).

به‌طور کلی سمیت یک آلاینده از طریق آزمایش سنجش زیستی ارزیابی می‌گردد که به‌وسیله آن غلظت لازم جهت ایجاد تلفات نیمی از موجودات مورد آزمایش در یک دوره زمانی مشخص (کوتاه و بلندمدت) معلوم می‌شود. این آزمایش‌ها شاخه‌ای از علم اکوتوکسیکولوژی بوده و وظیفه آن قضاوت درباره توان بالقوه مواد

آلاینده و بررسی تأثیرات زیان بخش این مواد بر اکوسیستم‌ها و موجودات زنده در آن می‌باشد (Narahashi و همکاران، 2000). برای ارزیابی آلودگی زیست آزمون لازم است، زیرا آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی برای ارزیابی اثرات بالقوه بر حیات آبریان کافی نیست (Clesceria و همکاران، 1998). زیست آزمون می‌تواند در ارزیابی تأثیر فرآیندهای تصفیه آب در کاهش سمیت آب نقش بسیار ارزنده‌ای داشته باشد (ندافی، 1379؛ Clesceria و همکاران، 1998).

تنباکو یا توتون گیاهی با برگ‌های پهن است که در اصل در آمریکای شمالی و جنوبی رشد کرده و امروزه در سراسر جهان کشت می‌شود. به برگ‌های خشک و بریده شده آن گیاه هم تنباکو می‌گویند. استفاده از تنباکو در آبرزی پروری دارای سابقه طولانی می‌باشد. استفاده از پودر برگ این گیاه به‌منظور از بین بردن موجودات شکارگر و نیز علف‌ها در استخرهای ماهی قبل از ماهی‌دار کردن استخر استفاده شده است (Kori-Siakpere و Oviroh, 2011). ماهی‌گیران بومی در نیجریه از تنباکو برای صید ماهی استفاده می‌کنند (Reed و همکاران، 1969). ماده مؤثر موجود در تنباکو نیکوتین است که به‌میزان 2 تا 5 درصد در برگ خشک آن یافت می‌شود (Hassal, 1982). مهره‌داران و بی‌مهرگان هر دو گروه دارای گیرنده‌های نیکوتینی با ساختار و فعالیت مشابهی هستند اما می‌تواند ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی متفاوتی داشته باشد و نیکوتین احتمالاً می‌تواند موجب صدمه و آسیب سمی در مهره‌داران شود (Ballivet و همکاران، 1996). در طب سنتی دنیا از گیاه تنباکو به‌عنوان یک داروی ضداسپاسم، مدر، قی‌آور، خلط‌آور، مسکن و بزاق‌آور استفاده می‌شود (Narahashi و همکاران، 2000). نیکوتین با اثر بر گیرنده استیل-کولین باعث شلی عضلانی می‌گردد (Narahashi و همکاران، 2000).

انواع دخانیات و برندهای آن حاوی فلزات سنگین آهن، مس، روی، کروم، نیکل، سرب و کادمیوم با بیش‌ترین مقدار و دیگر فلزات سنگین می‌باشد (Verma و همکاران، 2010). به‌ترتیب حداکثر مقدار فلزات سنگین در نمونه‌های سیگار و توتون معطر موجود در بازار ایران به‌صورت $Fe > Zn > Ni > Cu > Cd > Pb > Cr$ می‌باشد (عبداله‌نژاد و همکاران، 1392). ضرغام و همکاران (1391) با بررسی اثر بی‌هوش‌کنندگی عصاره‌های آبی و الکلی تنباکو (*Nicotiana tabacum*) بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بیان داشتند که ارتباط معنی‌داری بین غلظت و شدت بی‌هوشی و مدت بازگشت وجود دارد و در این مطالعه کاربرد 3/5 میلی‌لیتر



و همکاران، ۲۰۱۱). پارامترهای موثر فیزیکوشیمیایی آب شامل pH، اکسیژن محلول و دما به‌طور روزانه ثبت گردید. بعد از تعیین محدوده کشندگی آزمایش نهایی سمیت حاد عصاره تنباکو بر بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برای بررسی سمیت این گیاه از چهار تیمار (غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر) آب مخازن حاوی ماهی زنده و یک گروه شاهد استفاده شد. در هر تیمار ۳۰ عدد ماهی (با میانگین وزنی 5 ± 0.2 گرم) درون آکواریوم‌های ۶۰ لیتری محتوی ۴۰ لیتر آب که از قبل هوادهی شده بود قرار داده شد. ماهیان تلف شده از محیط آکواریوم به محض مشاهده جمع‌آوری و تعداد تلفات ماهی‌ها در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت و ۹۶ ساعت محاسبه و ثبت گردیدند.

آنالیز آماری: پس از اتمام آزمایش داده‌های حاصل از انجام آزمایش تست سمیت حاد با روش آماری Probit Analysis با سطح اطمینان ۹۵ درصد و نرم‌افزار SPSS version.۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برحسب غلظت‌های کشنده (Sub Lethal Concentration) تنباکو و با استفاده از شیب خط رگرسیون غلظت نیمه‌کشنده (Lethal Concentration) در مدت ۹۶ ساعت محاسبه شد.

نتایج

در طی انجام آزمایش فاکتورهای فیزیکوشیمیایی (pH، دما و اکسیژن محلول) آکواریوم‌ها به‌طور روزانه سنجیده و ثبت گردید (جدول ۱).

جدول ۱: مقادیر پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مورد استفاده

مقدار	پارامتر
12.75 ± 0.95	دما (درجه سلیسیوس)
7.33 ± 0.14	pH
8.87 ± 0.29	اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر)

در هنگام انجام تست سمیت حاد، کنترل کردن شرایط آزمایش از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. عوامل متعددی در نتایج آزمایش‌های سمیت روی آبزیان تاثیر دارند که می‌توان به ویژگی‌های آب و خصوصیات زیستی گونه‌های مورد آزمایش اشاره کرد. به هنگام اجرای آزمایش‌های سمیت، از روش‌های آزمایش استاندارد شده برای به حداقل رساندن متغیرهای خارجی

بر لیتر عصاره الکلی تنباکو برای ماهی‌های ۲۰۰ گرمی (پروراری) سبب تلف شدن ۴۰ درصد بچه ماهی‌ها شد.

هدف از انجام این مطالعه، مشخص نمودن محدوده کشندگی، تعیین غلظت کشنده (LC_{50} ، ۹۶ h)، تعیین حداکثر غلظت مجاز (MATC یا Maximum acceptable toxicant concentration) و تعیین حداقل غلظت موثر (LOEC یا Lowest Observed Effect Concentration) عصاره هیدرو الکلی تنباکو بر بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری از گیاه مورد مطالعه: گیاه تنباکو پس از تهیه از بازار شهر یاسوج به‌وسیله آسیاب برقی به پودر تبدیل شد. پودر حاصله به نسبت (W/V) ۱/۲۰ در آب مقطر ریخته شده و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری و هر چند مدت یک‌بار به‌هم‌زده می‌شوند. بعد از رد کردن از صافی عصاره‌های حاصل به‌منظور خروج حلال در تبخیرکننده گردان (روتاری) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرد (Salehi و همکاران، ۲۰۰۵). پس از خروج حلال عصاره‌های حاصله توسط دستگاه لیوفیلیزه می‌شود و تا زمان شروع مراحل آزمایش درون یخچال قرار می‌گیرد.

بررسی خواص سمیت عصاره گیاه مورد مطالعه: عملیات شروع طرح در شهریورماه سال ۱۳۹۳ روی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج بود. برای این منظور ۱۵۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جهت سازگار شدن با شرایط محیط به‌مدت یک هفته در وان‌های سالن ونیرو این مرکز نگهداری شدند. در این مدت ضمن هوادهی مناسب، غذادهی توسط پلت (روزانه به‌ازای ۰/۰۲ وزن بدن) صورت گرفت. از آنجایی‌که غلظت کشنده (LC_{50} ، ۹۶ h) عصاره تنباکو بر روی این ماهی معلوم نبود، برای یافتن محدوده کشندگی عصاره تنباکو بر روی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، ابتدا یک آزمایش اولیه (Range finding test) انجام شد (Inyang و همکاران، ۲۰۱۰). تست سمیت حاد به روش ساکن (Static) و براساس دستورالعمل استاندارد (O.E.C.D Organization of Economic Cooperation and Development) (TRC و همکاران، ۱۹۸۴) به‌مدت ۴ روز بر روی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. تغذیه بچه‌ماهیان ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش سمیت حاد متوقف شد (Banaee



پس از گذشت ۴۸ ساعت در تیمار شاهد هیچ‌گونه تلفاتی مشاهده نشد ولی در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ۸۰ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر پس از ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب ۸، ۱۵، ۲۰ و ۲۴ عدد به دست آمد. بر این اساس میزان غلظت کشنده ۴۸ ساعته (LC_{۵۰}، ۴۸ h) تنباکو با حدود اطمینان ۹۵ درصد ۳۱/۰۴ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد که میزان LC_{۵۰}، ۴۸ h نسبت به میزان LC_{۵۰}، ۲۴ h کاهش داشته است. سایر مقادیر LC (LC_{۵۰-۹۵}) با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۳ آمده است.

در تیمار شاهد پس از مدت زمان ۷۲ ساعت ۳ درصد تلفات مشاهده شد در حالی که در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ۹۳ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب ۱۰، ۱۷، ۲۲ و ۲۸ عدد به دست آمد. میزان غلظت کشنده ۷۲ ساعته (LC_{۵۰}، ۷۲ h) تنباکو با حدود اطمینان ۹۵ درصد، ۱۴/۴۲ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. همان‌گونه که ملاحظه می‌گردد کلیه غلظت‌های کشنده در مدت زمان ۷۲ ساعت نسبت به ۲۴ و ۴۸ ساعت کاهش واضحی را نشان می‌دهد. سایر مقادیر LC (LC_{۵۰-۹۵}) با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۳ آمده است.

در غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان مرگ و میر پس از ۹۶ ساعت به ترتیب ۱۱، ۱۸، ۲۴ و ۳۰ عدد به دست آمد و در تیمار شاهد ۳ درصد تلفات مشاهده شد. میزان غلظت کشنده ۹۶ ساعته (LC_{۵۰}، ۹۶ h) عصاره تنباکو با حدود اطمینان ۹۵ درصد، ۳/۵۵ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. سایر مقادیر LC (LC_{۵۰-۹۵}) با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۳ آمده است. با ایجاد همبستگی بین زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت از در معرض قرار گیری با عصاره تنباکو و میزان LC_{۵۰} در طی زمان‌های ذکر شده معادله خط برابر با $y = -0.563x + 56.85$ می‌باشد. از آن‌جاکه میزان R^۲ در معادله بالا برابر با ۹۹ درصد است می‌توان با این معادله میزان LC_{۵۰} را در طی زمان‌های مختلف به دست آورد (شکل ۱).

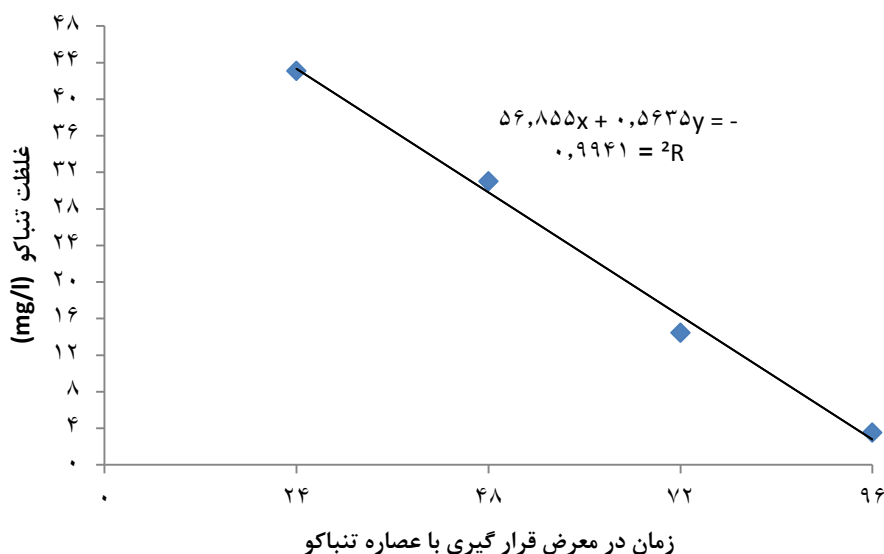
و تصادفی استفاده نمود و شرایط آزمایش را باید تحت کنترل قرار داد (Abel و Axiak، ۱۹۹۰). پس از تعیین محدوده کشندگی تنباکو بر بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، تست سمیت حاد (LC_{۵۰}) در ۵ غلظت مختلف (۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به همراه شاهد انجام گردید و نتایج مرگ و میر در طی زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه‌گیری شدند (جدول ۳). در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ۷۳ درصد تلفات مشاهده شد. میزان مرگ و میر در غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۷، ۱۳، ۱۸ و ۲۲ عدد به دست آمد. بر اساس این نتایج میزان غلظت کشنده (LC_{۵۰-۹۵}) تنباکو بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی زمان ۲۴ ساعت به دست آمد. غلظت کشنده ۲۴ ساعته (LC_{۵۰}، ۲۴ h) تنباکو بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با حدود اطمینان ۹۵ درصد ۴۳/۱۱ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. سایر مقادیر LC (LC_{۵۰-۹۵}) با حدود اطمینان ۹۵ درصد در جدول ۳ آمده است.

جدول ۲: میزان مرگ و میر بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تست سمیت حاد تنباکو (تعداد ماهی در هر تیمار = ۳۰ عدد)

غلظت (میلی‌گرم بر لیتر)	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
شاهد	۰	۰	۱	۱
۰/۱	۷	۸	۱۰	۱۱
۱	۱۳	۱۵	۱۷	۱۸
۱۰	۱۸	۲۰	۲۲	۲۴
۱۰۰	۲۲	۲۴	۲۸	۳۰

جدول ۳: غلظت کشنده (LC_{۵۰-۹۵}) تنباکو بر روی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب در طی زمان ۲۴، ۴۶، ۷۲ و ۹۶ ساعت

LC	غلظت کشنده			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
LC _{۵۰}	۲۴/۸۹	۸۹/۵۰	۶۸/۹۳	۷۱/۸۹
LC _{۵۰}	۶۰/۳۷	۶۲/۸۸	۵۰/۵۰	۵/۳۶
LC _{۱۰}	۲۴/۸۵	۳۰/۲۴	۲۸/۱۹	۲/۳۰
LC _{۲۰}	۰/۷۶	۷/۳۹	۱۲/۱۰	۰/۰۹
LC _{۴۰}	۲۲/۶۵	۱۲/۴۷	۱/۶۴	۱/۷۹
LC _{۵۰}	۴۳/۱۱	۳۱/۰۴	۱۴/۴۹	۳/۵۵
LC _{۶۰}	۶۳/۵۷	۴۹/۶۰	۲۷/۳۴	۵/۳۱
LC _{۷۰}	۸۵/۴۶	۶۹/۴۷	۴۱/۰۹	۷/۲۰
LC _{۸۰}	۱۱۱/۰۸	۹۲/۷۲	۵۷/۱۸	۹/۴۱
LC _{۹۰}	۱۴۶/۶۱	۱۲۴/۹۶	۷۹/۵۰	۱۲/۴۷
LC _{۹۵}	۱۷۵/۹۵	۱۵۱/۵۹	۹۷/۹۳	۱۵



شکل ۱: نمودار همبستگی بین زمان در معرض قرار گیری عصاره تنباکو با غلظت‌های مختلف

سمیت متوسط محسوب می‌گردد (Loui و همکاران، ۱۹۹۶) (جدول ۴).

بحث

در مقایسه و تعیین ارجحیت داروها لازم است کیفیت اثر، اثرات سمی و جانبی، پایداری دارو در شرایط محیط نگهداری، سهولت تهیه و کاربرد خصوصاً در مصارف دام و آبریان قیمت آن‌ها را مورد توجه قرار داد. در مطالعه سمیت دارو با استفاده از روش‌های محاسبه کمی داروشناسی می‌توان معیارهایی برای مقایسه به‌دست آورد. این معیارها بسته به هدف پژوهش، علائم و اثرات معینی از دارو را مد نظر قرار می‌دهند که می‌تواند شامل فعالیت قلب و دستگاه گردش خون، حرکات تنفسی، واکنش‌های عصبی و رفتاری، عملکرد دستگاه دفعی یا سایر اعمال فیزیولوژیک موجود زنده باشد. در مطالعات جانوری و خصوصاً آبریان، میان اثرات متحمل دارو یا سم، اثر کشندگی به لحاظ قطعی بودن و دقت آن کاربرد وسیع‌تری دارد (Gray, ۱۹۹۵). LC_{50} را سطح ایمن و مطمئن برای آبریان توصیه می‌کنند (CWQC, ۱۹۷۲). که در این مطالعه برابر با $0/03$ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. براساس جدول ۳ میزان غلظت کشنده تنباکو در طی چهار روز متوالی (۹۶ ساعت) برای ۵۰ درصد LC_{50} از بچه‌ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان، $3/55$ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد.

درجه‌بندی سمیت آفت‌کش‌ها با استفاده از میزان LC_{50} مشخص می‌شود، اگر از این تقسیم‌بندی برای سمیت تنباکو نیز استفاده شود، تنباکو برای بچه‌ماهی قزل‌آلای دارای

جدول ۴: دسته بندی سطوح سمیت آفت‌کش‌ها

درجه سمیت	LC_{50} (میلی‌گرم)
نسبتاً سمی	۱۰۰
کمی سمی	۱۰-۱۰۰
متوسط سمی	۱-۱۰
خیلی سمی	۰/۱-۱
شدیداً سمی	۰/۱

حداکثر غلظت سمی که وجود آن در آب برای آبریان مجاز در نظر گرفته می‌شود غلظتی معادل $0/1$ غلظت کشندگی حاد ۹۶ ساعته (LC_{50} , ۹۶h) می‌باشد (Gray, ۱۹۹۵). این غلظت که غلظت غیر موثر (NOEC) نیز نامیده می‌شود برای بچه‌ماهی قزل‌آلا با کاربرد تنباکو، برابر با $0/35$ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. ضرغام و همکاران (۱۳۹۱) با بررسی اثر بی‌هوش‌کنندگی عصاره‌های آبی و الکلی تنباکو (*Nicotiana tabacum*) بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در سه گروه وزنی بچه‌ماهی (کوچک‌تر از ۸۰ گرم)، پرواری (حدود ۲۰۰ گرم)



Asadi و همکاران (۲۰۱۰) اثر گیاه *Nasturtium nasturtium*

را روی فاکتورهای ایمنی از جمله لیزوزیم و عامل مکمل در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که این عصاره موجب افزایش فعالیت سیستم عامل مکمل و لیزوزیم می‌شود.

بهمنی و همکاران (۱۳۸۹) با بررسی اثر ضد زالو عصاره متانولی تنباکو (*Nicotina tabacum*) در مقایسه سوکسینیل و چند داروی ضد انگل با بررسی فلجی و مرگ زالو مشخص نشان دادند عصاره متانولی تنباکو با دوز ۶۰۰ میلی‌گرم با میانگین ۱۷ دقیقه باعث مرگ زالوها می‌شود.

با توجه به نتایج LC_{50} ۹۶h سمیت عصاره تنباکو روی ماهی قزل‌آلا با افزایش غلظت و زمان مواجهه افزایش می‌یابد به عبارت دیگر با افزایش ساعات آزمایش میزان غلظت کم‌تری از سم لازم است تا ۵۰ درصد از جمعیت ماهیان تلف شوند و مقدار LC_{50} در ۲۴ ساعت اولیه آزمایش همواره بیش‌تر از LC_{50} در پایان ۹۶ ساعت می‌باشد. یکی از عوامل تأثیرگذار در مسمومیت آبیان عامل زمان است. هنگامی که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم باشد، به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می‌رود و هم سم فرصت بیش‌تری برای تأثیرگذاری روی ماهی دارد. علاوه بر این در مواردی تجمع سم در بافت‌های ماهی نیز باعث افزایش تأثیر سوآن بر بدن ماهی و در مدت ۹۶ ساعت انجام آزمایش‌ها موجب پایین آمدن LC_{50} می‌شود. نتایج مرگ و میر در غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۲۳/۳۳، ۴۳/۳۳، ۶۰ و ۷۳/۳۳ درصد، ۴۸ ساعت به ترتیب ۲۶/۶۷، ۵۰، ۶۶/۶۷ و ۸۰ درصد، ۷۲ ساعت به ترتیب ۳۳/۳۳، ۵۶/۶۷، ۷۳/۳۳ و ۹۳/۳۳ درصد و ۹۶ ساعت به ترتیب ۳۶/۶۷، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد در مطالعه حاضر محاسبه شد.

غلظت ۰/۱ LC_{50} ۹۶h را سطح ایمن و مطمئن برای پرورش آبیان توصیه می‌کنند که در مطالعه فعلی غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر جهت پرورش لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد می‌گردد. مقاومت ماهی قزل‌آلا در برابر عصاره تنباکو نسبت به سایر گونه‌ها متوسط می‌باشد. با توجه به نتایج آزمایش‌های سمیت عصاره تنباکو روی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ضمن توصیه به کارگیری عصاره آبی تنباکو در غلظت‌های پایین در استخرهای پرورشی براساس یافته‌های این تحقیق غلظت غیرسمی و موثر و مجاز حداکثر ۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر جهت استفاده استخرهای پرورشی پیشنهاد می‌گردد.

و مولد (بزرگ‌تر از ۱۵۰۰ گرم) و غلظت تنباکو در عصاره آبی در تیمارهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب و عصاره الکلی تنباکو در تیمارهای ۰/۷، ۱، ۱/۷ و ۳/۵ میلی‌لیتر در یک لیتر آب بیان داشتند که ارتباط معنی‌داری بین غلظت و شدت بی‌هوشی و مدت بازگشت وجود دارد و در این مطالعه کاربرد ۳/۵ میلی‌لیتر بر لیتر عصاره الکلی تنباکو برای ماهی‌های ۲۰۰ گرمی (پرورشی) سبب تلف شدن ۴۰ درصد بچه‌ماهی‌ها شد. Banaee و همکاران (۲۰۱۱) با مطالعه سمیت حاد دیزاینون روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، LC_{50} آن را ۱/۱۷ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آوردند.

کم‌ترین غلظت موثر سم بر بچه‌ماهیان قزل‌آلا (LOEC) معادل LC_{10} ۹۶h (غلظتی از سم که در مدت زمان ۹۶ ساعت ۱۰٪ از ماهیان را می‌کشد) می‌باشد. این غلظت برای تنباکو بر بچه ماهی‌های قزل‌آلای مورد مطالعه معادل ۵/۳۶- میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید. این سطح در واقع حداقل غلظتی است که در مقایسه با نمونه شاهد اثر قابل توجهی بر مرگ و میر ماهی مورد آزمایش اعمال نماید (CWQC، ۱۹۷۲).

عصاره تنباکو یک ترکیب گیاهی است که انتظار می‌رود به آسانی در محیط تجزیه شود و اثرات سوء زیست محیطی نیز نداشته است (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۸۱). استفاده از پودر برگ این گیاه به‌منظور از بین بردن موجودات شکارگر و نیز علف‌ها در استخرهای ماهی قبل از ماهی‌دار کردن استخر استفاده شده است (Konar، ۱۹۷۰). از جمله تحقیقات صورت گرفته روی تنباکو در آبی‌پروری بررسی سمیت حاد این گیاه روی گربه‌ماهی آفریقایی با نام علمی *Clarias gariepinus* (Kori-) *Oreochromis* و *Siakpere* (Oviroh، ۲۰۱۱) و هم‌چنین گونه *niloticus* (Agbon و همکاران، ۲۰۰۲). Oviroh (۲۰۱۱) با بررسی سمیت حاد تنباکو روی گربه‌ماهی آفریقایی با نام علمی *Clarias gariepinus* و با کاربرد غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر و در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بر گربه‌ماهی آفریقایی نشان دادند که کشندگی در تمامی غلظت‌های مورد آزمایش تنباکو در مقایسه با تیمار شاهد اتفاق افتاد و سمیت تنباکو روی گربه‌ماهی با افزایش غلظت و زمان مواجهه افزایش می‌یابد که در توافق با مطالعه حاضر است، هم‌چنین در آن مطالعه LC_{50} ۹۶h ۱۰/۹۰ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. که به‌نظر می‌رسد گربه‌ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* نسبت به بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به سمیت حاد تنباکو مقاوم‌تر باشد.



parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Opan Veterinary Journal. Vol. ۲, pp: ۳۲-۳۹.

۱۰. Ballivet, M.; Alloïd, C.; Bertrand, S. and Bertrand, D., ۱۹۹۶. Nicotine acetylcholine receptors in the nematode *caenorhabditis elegans*. J Mol Biol. Vol. ۲۵۸, No. ۲, pp: ۹-۲۱.
۱۱. Banaee, M.; Mirvaghefi, R.; Rafei, G. and Majazi Amiri, B., ۲۰۰۸. Effect of sub-lethal Diazinon Concentrations on Blood Plasma Biochemistry. Int. J. Environ. Res. Vol. ۲, No. ۲, pp: ۱۸۹-۱۹۸.
۱۲. Banaee, M.; Sureda, A.; Mirvaghefi, R. and Ahmadi, A., ۲۰۱۱. Effect of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. ۹۹, pp: ۱-۶.
۱۳. Canivet, V. and Chambon, P., ۲۰۰۱. Toxicity and bioaccumulation of arsenic and chromium in epigeal and hypogean freshwater macro invertebrates. J. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. ۴۰, No. ۳, pp: ۳۴۵-۳۵۴.
۱۴. Clark, R.B., ۲۰۰۱. Marine pollution. Oxford University Press, London, ۱۵th (Ed). ۲۳۷ p.
۱۵. Clesceria, L.S.; Greenberg, A.E. and Eaton, A.D., ۱۹۹۸. Standard methods for the examination of water and wastewater, APHA, WEF, AWWA. ۲۰th(Ed), Washington, D. C. ۷۴۸ p
۱۶. Committee on Water Quality Criteria (CWQC). ۱۹۷۲. A Report of the committee on water Quality Criteria. Ecological Research Series, EPA-R۳-۷۳-۰۰۳, US Environmental Protection Agency Report; CWQC: Cincinnati, OH, USA. ۳۴۲ p.
۱۷. David, M.; Mushigeri, S.B.; Shivakumar, R. and Philip, G.H., ۲۰۰۲. Response of Cyprinus carpio (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolism profiles Chemosphere. Vol. ۵۶, pp: ۳۴۷-۳۵۲.
۱۸. Gray, M. Rand., ۱۹۹۵. Fundamentals of aquatic toxicology. Taylor and Francis Pub. Washington, USA. pp: ۲۸-۲۹.
۱۹. Hassal, K.A., ۱۹۸۲. The chemistry of pesticides. Macmillan Press, London, UK. ۳۷۲ p.
۲۰. Inyang, I.R.; Daka, E.R. and Ogamba, E.D., ۲۰۱۰. Changes in electrolyte activities of *Clarias gariepinus* exposed to diazinon. Biol Environ Sci. J. Trop. Vol. ۷, pp: ۱۹۸-۲۰۰.
۲۱. Louis, A.H.; Diana, L.W.; Patricia, H. and Elizabeth, R.S., ۱۹۹۶. Pesticides and Aquatic Animals, Virginia Cooperation Extension. Virginia State University, Virginia. ۲۴ p.
۲۲. Kazi, T.G.; Jalbani, N.; Arain, M.B.; Jamali, M.K.; Afridi, H.I.; Sarfraz, R.A. and Shah, A.Q., ۲۰۰۹. Toxic metals distribution in different components of Pakistani and imported cigarettes by electrothermal atomic absorption spectrometer. Journal of hazardous materials. Vol. ۱۶۳, No. ۱, pp: ۳۰۲-۳۰۷.
۲۳. Konar, S.K., ۱۹۷۰. Progressive Fish Culturist. Fish Culturist. Vol. ۳۲, pp: ۱۰۳-۱۰۴.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از مدیریت مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج به خاطر فراهم کردن شرایط مورد نیاز کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

۱. بهمنی، م.؛ حسینی، س.ر.؛ آویژگان، م. و قربانی، م.، ۱۳۸۹. بررسی اثر ضد زالو عصاره متانولی تنباکو (*Nicotina tabacum*) در مقایسه با سوکسینیل و چند داروی ضد انگل. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. دوره ۱۲، شماره ۳، صفحات ۵۳ تا ۵۹.
۲. شریعتی فیض آبادی، ف.، ۱۳۸۰. تعیین فنل، ۱-نفتول و قارچ کش هینوزان بر روی ماهیان سیم، سفید و کپور نقره‌ای. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم و فنون دریایی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ۱۶۰ صفحه.
۳. شریف‌پور، ع.؛ سلطانی، م.؛ عبدالحی، ح. و قیومی، ر.، ۱۳۸۱. اثر بی‌هوش‌کنندگی اسانس گل میخک در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه‌ماهی کپور معمولی. مجله علمی شیلات ایران. سال ۱۱، شماره ۴، صفحات ۵۹ تا ۷۴.
۴. ضرغام، د.؛ شریف‌روحانی، م.؛ فلاح‌ناصرآباد، ع. و باشتی، ط.، ۱۳۹۱. بررسی اثر بی‌هوش‌کنندگی عصاره‌های آبی و الکلی تنباکو (*Nicotiana tabacum*) بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۱، شماره ۴، صفحات ۳۳ تا ۴۰.
۵. عبداله‌نژاد، ع.؛ ابراهیمی، ا.؛ جعفری، ن.؛ وحیددستجردی، م. و نورمرادی، ح.، ۱۳۹۲. تعیین مقدار فلزات سنگین در برخی نمونه‌های پر مصرف سیگار و توتون‌های معطر موجود در بازار ایران. فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده بهداشت یزد. سال ۱۲، شماره ۳، صفحات ۱۱۶ تا ۱۲۷.
۶. ندافی، ک.؛ نبی‌زاده، ر.؛ یونسیان، م.؛ جاهد، غ. و بیکی، ا.، ۱۳۸۵. استفاده از ماهی قزل‌آلای برای سنجش سمیت ناشی از آرسنیک در آب. مجله آب و فاضلاب. شماره ۵۸، صفحات ۶۲ تا ۶۸.
۷. Abel, P. and Axiak, V., ۱۹۹۰. Ecotoxicology and the marine environment. Old University Building Malta. pp: ۱۷-۲۶۹.
۸. Agbon, A.O.; Omoniyi, I.T. and Teko, A.A., ۲۰۰۲. Acute toxicity of tobacco (*Nicotiana tabacum*) leaf dust on *Oreochromis niloticus* and haematological changes resulting from sublethal exposure. Journal of Aquatic Sciences. Vol. ۱۷, No: ۱, pp: ۵-۸.
۹. Asadi, M.S.; Mirvaghefi, A.R.; Nematollahi, M.A.; Banaee, M. and Ahmadi, K., ۲۰۱۲. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological



۲۴. **Kori-Siakpere, O. and Oviroh, E.O., ۲۰۱۱.** Acute toxicity of tobacco (*Nicotiana tobaccum*) leaf dust on the African catfish: *Clarias gariepinus* (Burchell, ۱۸۲۲). Archives of Applied Science Research. Vol. ۳, No. ۲, pp: ۱-۷.
۲۵. **Narahashi, T.; Fenster, C.; Quick, M.W.; Laster, R.A.; Marszalec, W.; Aistrup, G.L.; Sattelle, D.B.; Martin, B.R. and Levin, E.D., ۲۰۰۰.** Symposium overview: mechanism of action of nicotine on neuronal acetylcholine receptors, from molecule to behavior. Toxicol Sci. Vol. ۵۷, No. ۲, pp: ۱۹۳-۲۰۲.
۲۶. **Nemmar, A.; Raza, H.; Subramanian, D.; Yasin, J.; John, A.; Ali, B.H. and Kazzam, E.E., ۲۰۱۳.** Short-term systemic effects of nose-only cigarette smoke exposure in mice: Role of oxidative stress. Cell Physiol Biochem. Vol. ۳۱, No. ۱, pp: ۱۵-۲۴.
۲۷. **Neuspiel, D.R.; Markowitz, M. and Drucker, E., ۱۹۹۴.** Intrauterine cocaine, lead, and nicotine exposure and fetal growth. American journal of public health. Vol. ۸۴, No. ۹, pp: ۱۴۹۲-۱۴۹۵.
۲۸. **OECD, ۱۹۹۲.** Guidelines for testing of chemicals. Section ۲: Adopted by the Council on ۱۷th July ۱۹۹۲. Fish acute toxicity test. ۴۱۱ p.
۲۹. **Ovie, K.S.; Bemingho, I.R. and Gbemi, O.M., ۲۰۱۰.** Variations in alanine amino transferase and aspartate aminotransferase activities in African catfish: *Clarias gariepinus* (Burchell, ۱۸۲۲) at different sub lethal concentrations of potassium permanganate. Scientific Research and Essays. Vol. ۵, No. ۱۲, pp: ۱۵۰۱-۱۵۰۳.
۳۰. **Reed, W.; Birchard, J.; Hopson, A.J.; Jenness, J. and Yaro, I., ۱۹۶۹.** Fish and fisheries of Northern Nigeria. Gaskiya Corporation, Zaria, Nigeria. ۲۲۶ p.
۳۱. **Salehi, P.; Sonboli, A.; Eftekhar, F.; Nejad Ebrahimi, S. and Yousefzadi, M., ۲۰۰۵.** Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. rigida (Boiss.) Rech. from Iran. Biol. & Pharm. Bull. Vol. ۲۸, No. ۱۰, pp: ۱۸۹۲-۱۸۹۶.
۳۲. **Verma, S.; Yadav, S. and Singh, I., ۲۰۱۰.** Trace metal concentration in different Indian tobacco products and related health implications. Food and Chemical Toxicology. Vol. ۴۸, No. ۸-۹, pp: ۲۲۹۱-۲۲۹۷.

