ارزیابی کارایی اکسیژن‌دهی پراکسید هیدروژن در مقایسه با روش رایج برای بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

***آزاده ابراهیمی[۱]، حبیب وهاب‌زاده رودسری[۲] و عباسعلی زمینی[۳]**

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان مرکز تحقیقات علوم شیلات و فنون دریایی دکتر کیوان،
[۲]استادیار گروه شیلات دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان،مرکز تحقیقات علوم شیلات و فنون دریایی دکتر کیوان، [۳]استادیار گروه شیلات دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۱۱

چکیده

حمل و نقل و اکسیژن دهی به ماهی در بازماندگی و رشد ماهیان پس از جابجایی، تاثیر چشمگیری دارد. پراکسید هیدروژن تاکنون در مباحث مربوط به جایگزینی مالاشیت گرین استفاده می‌گردید ولی با توجه به نقش مثبت آن در اکسیژن‌دهی، استفاده از آن را می‌توان برای حمل و نقل بچه ماهیان توصیه نمود. در این راستا، تعیین دوز موثر و نیز بررسی عملکرد آن در فواصل زمانی کوتاه بررسی و تغییرات فیزیولوژیکی ماهی و آب پرورشی بچه‌ماهیان، ضروری می‌باشد. در این تحقیق، اثر اکسیژن‌دهی تیمارهای پراکسیدهیدروژن و کپسول اکسیژن مقایسه شد که هر تیمار شامل ٤ تکرار و حاوی ٤٥ بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. ٤ وان از طریق کپسول اکسیژن و ٤ وان دیگر از طریق پراکسیدهیدروژن هوادهی شد. پراکسیدهیدروژن که برای هر وان از طریق یک ظرف پلاستیکی حاوی ٤ سی‌سی از پراکسید هیدروژن به ازای هر لیتر آب به همراه یک گرم از کبد ماهی آمور به‌عنوان کاتالیزور بود. در فواصل زمانی صفر، ۳ و ٦ ساعت خونگیری از ماهیان تیمارها و شاهد انجام شد. نتایج اندازه‌گیری پارامترهای خونی نشان می‌دهد که استفاده از پراکسید هیدروژن، هیچ تاثیر منفی را برروی فاکتورهای خونی شامل لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل، MCHC، MCH، MCV، RBC، Hb، HCT و شاخص‌های استرس شامل گلوکز و کورتیزول ندارد. همچنین تأثیر کاهشی بر فاکتورهای شیمیایی آب شامل NO_2، NO_3، NH_4 داشته است. با توجه به ارزان قیمت بودن پراکسیدهیدروژن و افزایش نیاز به حمل و نقل بچه‌ماهیان در فواصل زمانی کوتاه و گرانی، پرهزینه و سنگین بودن کپسول‌های اکسیژن و همچنین اهمیت سلامت در حمل و نقل بچه ماهیان این روش به‌عنوان یک روش مناسب قابل بکارگیری در مقیاس‌های کوچک می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: حمل و نقل، پراکسید هیدروژن، اکسیژن‌دهی، قزل‌آلای رنگین کمان

مقدمه

تولید ماهیان سردابی در سال ۱۳۸۷ به بیش از ٦۰ هزار تن گزارش شده است (گزارش عملکرد توسعه منابع آبزی و ماهیان آب شیرین شیلات، ۱۳۸۷). در این میان برخی از مزارع نسبت به تکثیر و پرورش ماهی مشخصاً اقدام می‌نمایند ولی بسیاری نیز نسبت به تهیه بچه‌ماهی و حمل و نقل آن از سایر مراکز تکثیر بچه ماهی اقدام می‌نمایند. روش‌های حمل و

*مسئول مکاتبه: ebrahimi_8816@yahoo.com

نقل بسته به مسافت مورد نظر، نوع گونه و اندازه آن می‌تواند متفاوت باشد. روش‌های حمل و نقل رایج استفاده از تانکرها و محفظه‌های به‌عنوان مخزن حمل بچه ماهی می‌باشد که از کپسول اکسیژن برای اکسیژن‌رسانی به آن استفاده می‌شود و توسط یک وسیله نقلیه انجام می‌شود. می‌توان از کیسه‌های پلاستیکی پر شده از اکسیژن خالص به حجم ۱/۳ کیسه‌های پلاستیکی که سر آن محکم با طناب یا باندهای کشی بسته شده باشد هم استفاده کرد. سپس کیسه‌های پلاستیکی حاوی بچه‌ماهی را درون جعبه‌های حاوی یخ قرار داد و حمل کرد.

اکسیژن محلول در ساعات اولیه بارگیری به‌دلیل ایجاد هیجانات و استرس‌های ناشی از دستکاری ماهیان به‌هنگام صید و بارگیری به‌سرعت کاهش می‌یابد. به همین جهت لازم است با راه‌اندازی سیستم هوادهی در ۵ تا ۱۰ دقیقه قبل از انجام عملیات بارگیری نیاز اولیه ماهیان به اکسیژن برآورده شود و اکسیژن محلول در آب مخزن به حالت صددرصد اشباع برسد. داروهای آرام بخش علاوه بر کاهش استرس، باعث کاهش فعالیت شناگری ماهیان شده و در نتیجه زخم‌های ناشی از هیجانات مانند شکسته شدن باله‌ها و یا کنده شدن فلس‌ها کاهش می‌یابد.

پراکسید هیدروژن در بسیاری از نواحی دنیا به‌عنوان مصارف دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین استفاده از مخزن اکسیژن بسیار گران‌تر از اکسیژن فشرده است. اما پراکسیدهیدروژن می‌تواند با مبالغ اندک خریداری شود که معقول‌تر نیز به نظر می‌رسد. بنابراین اگر از مخازن سالم تهیه شود، می‌توان از آن استفاده کرد. پراکسید هیدروژن در آب به اکسیژن محلول و آب تجزیه می‌شود و موازنه این واکنش به سمت تجزیه پیش می‌رود. تجزیه طبیعی معمولاً به آرامی صورت می‌گیرد اما به‌واسطه ترکیبات و عناصر متنوع تحت عنوان کاتالیزور سرعت تجزیه افزایش می‌یابد، به‌همین دلایل محلول رقیق شده پراکسید هیدروژن در ظروف تیره در بازار موجود است که شامل مقادیر اندک از ترکیباتی است که در مقابل هر کاتالیزوری غیرفعال است تا به راحتی تجزیه شود (Abbot، ۱۹۷۱). روش‌های عملی برای استفاده از پراکسید هیدروژن در حمل و نقل بچه ماهیان توسط Ross و Tylor (۱۹۸۸) در انجمن آبزی‌پروری دانشگاه Sterling بریتانیا در حال آزمایش و بهره‌برداری است. در سال ۱۹۸۸ توسط Tylor و Ross تاثیر ٤ ماده به‌عنوان کاتالیزور تجزیه کننده پراکسید هیدروژن در تانکرهای حمل ونقل بررسی شد. Dixon و Webb (۱۹۹۷) و Lehninger (۱۹۷۷) طی آزمایشاتی در خصوص اضافه کردن پراکسید هیدروژن در آب پرورشی در حضور کاتالیزور، به این نتیجه رسیدند که آنزیم کاتالاز در بافت‌های بیشتر حیوانات موجود است، بویژه در پستانداران در کبد دارای بالاترین غلظت است.

مواد و روش کار

تیمارهای مورد آزمایش: برای انجام این آزمایش، از ۸ عدد وان ۵۰۰ لیتری به‌عنوان تیمارهای پراکسیدهیدروژن و اکسیژن استفاده شد که به‌طور کامل با استفاده از مقوا مسدود شده بود. به هر وان تعداد ٤٥ قطعه بچه ماهی‌قزل‌آلا که از ۲ روز قطع غذادهی شده بودند، منتقل شدند.

٤ وان از طریق کپسول اکسیژن و ٤ وان دیگر با استفاده از مخزن‌های پراکسید هیدروژن در نظر گرفته شد. برای این منظور درون هر یک از مخزن‌های پلاستیکی مرتبط با وان‌ها، ۲ لیتر آب به همراه ۸ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن و ۲ گرم کبد له شده ماهی

آمور اضافه شد (به ازای هر لیتر آب ٤ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن، ۱ گرم کبد) سپس در مخزن پراکسیدهیدروژن را بسته و به‌مدت ۵ دقیقه مخزن تکان داده شد تا محتویات درون آن به خوبی با هم مخلوط شود و نیز کبد بیشتر در معرض پراکسید هیدروژن قرار گیرد تا تجزیه‌کنندگی آن بیشتر شود. ٤ مخزن پراکسیدهیدروژن مرتبط با ٤ وان بچه ماهی با اضافه کردن به فاصله‌های زمانی هر ۱ ساعت ٤ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن به‌همراه ۱ گرم کبد ماهی و تکان دادن مخازن، تا پایان ٦ ساعت مورد استفاده قرار گرفت.

شکل ۱- نمایی از مخازن نگهداری بچه ماهیان در تیمارهای آزمایشی

نمونه‌برداری و آزمایشات خون‌شناسی: در زمان صفر (ابتدای آزمایش) یک مرحله خون‌گیری از بچه‌ماهیان گروه‌های شاهد و تیمارها، (٦ نمونه برای هر آزمایش)، انجام شد. ماهیانی که به مدت ٦ ساعت در معرض پراکسید هیدروژن قرار گرفتند را با استفاده از پارچه تنظیف خشک کرده و اقدام به خون‌گیری با سرنگ از ساقه دمی شد. بخشی از خون را داخل لوله‌های درب‌دار هپارینه قرار گرفت و در جعبه‌های یخ جهت مطالعات سرولوژی و هماتولوژی به آزمایشگاه منتقل شد. همچنین در فواصل زمانی ۰، ۳ و ٦ ساعت بعد از انجام آزمایش در ۳ مرحله برای اندازه گیری فاکتورهای خونی و شاخص‌های استرس شامل: لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل، MCHC%، MCH، MCV، RBC، Hb، HCT، گلوکز و کورتیزول، از ماهی خون‌گیری به‌عمل آمد و برای اندازه‌گیری فاکتورها، نمونه‌های خونی به آزمایشگاه ارسال شد.

اندازه‌گیری پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب: در حین آزمایش و پس از اضافه کردن پراکسید هیدروژن در هر ساعت فاکتورهایی چون اکسیژن، pH و دما اندازه‌گیری شد. همچنین فاکتورهای شیمیایی آب نظیر NO_2، NO_3، NH_4 از طریق نمونه‌گیری آب پرورشی برای انجام آزمایشات به آزمایشگاه ارسال شد.

مقایسات آماری: در تیمارهای مختلف از آزمون Shapiro-Wilk جهت بررسی وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری هر یک از فاکتورها انجام شد. بر اساس تیمارهای مختلف، به‌دلیل نرمال بودن داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و برای مقایسه میانگین‌ها با یکدیگر از آزمون توکی استفاده شد. جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها، محاسبات آماری و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. **نتایج**

نتایج آزمایشان خون در تیمارهای مختلف: براساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه نتایج نشان می‌دهد که پارامترهای خونی شامل حجم متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز، حجم متوسط گلبول خونی، تعداد کل گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین و درصد لنفوسیت و درصد مونوسیت، درصد نوتروفیل و درصد ائوزینوفیل اختلاف معنی‌داری بین تیمارها با هم و با شاهد مشاهده نشده است و همچنین شاخص‌های استرس نیز شامل کورتیزول و گلوکز در تیمارهای پراکسیدهیدروژن نسبت به تیمار اکسیژن و شاهد، اختلاف معنی‌داری را نشان نداده است.

نتایج

مقایسه پارامترهای فیزیکو شیمیایی آب در تیمارهای مختلف: اندازه‌گیری پارامترهای شیمیایی آب پرورشی شامل NO_2، NO_3، NH_4 در تیمارهای پراکسید هیدروژن و اکسیژن تفاوت معنی‌داری را نشان داده است. نتایج نشان می‌دهد که میزان NO_2، NO_3، NH_4 در تیمار پراکسید هیدروژن نسبت به تیمارهای اکسیژن و شاهد کمتر بود که به علت درصد خلوص بالای اکسیژن آزاد شده در تیمارهای پراکسیدهیدروژن می‌باشد که باعث بهبود کیفیت آب پرورشی و نگهداری بچه ماهیان شده است.

جدول ۱- مقایسه میانگین فاکتورهای خونی در تیمارهای مختلف

فاکتورهای خون‌شناسی	شاهد	تیمار اول پراکسید هیدروژن	تیمار دوم پراکسید هیدروژن	تیمار اول کپسول اکسیزن	تیمار دوم کپسول اکسیژن
هماتوکریت (درصد)	٤٦/١٢±١/٥٠	٤٦/١٦±١/٥٦	٤٦/٣٦ ±١/٨٦	٤٦/٣٦±١/٣٨	٤٣/٤١±١/٣٤
هموگلوبین(g/dl)	٥/٤٥ ±٠/٢٥	٥/٨١±٠/٢٥	٦/٠٧±٠/٣٣	٥/٨٩±٠/٣٥	٥/٤٥±٠/٣١
تعداد کل گلبول‌های قرمز	١٢٦٠٠٠٠±٢٦٠٤٩/٤	١١٨٠٤١٧±٣٤٩٨٠/٨٣	١٢١٠٩٠٩±٤٥١٥٥/٣٨	١٢٧٠٠٠٠±٣٠٩٨٣/٨٧	١٢١٤١٦٧±٣٥٣٤٣/٧٣
حجم متوسط گلوبولی خون	٣٦٦/٠٩±٩/٣٩	٣٩٠/٩٠±٤/٤١	٣٨٣/١٤±٦/٤٧	٣٦٤/٦٨±٣/٤٩	٣٥٧/٦١±٤/٠٠٣
حجم متوسط هموگلوبین در گلبول	٤٣/١٣±١/٤٠	٤٩/١٩±١/٢٨	٥٠/٢٧±٢/٣١	٤٦/٢١±٢/٣٥	٤٤/٦٠±١/٥٣
تعداد گلبول سفید	١٢٦٧٨/٥±١٢٣٩	١٤٤٥٨/٣٣±٣١٥٠	١٥٧٢٧/٢٧±١٤٧٤	١٣٠٠٠±١٩٩٨	١٣٤١٦/٦٧±١٣٠٠
درصد لنفوسیت	٩٠/٨٧±٠/٩٨	٩٢±٠/٧٢	٩٢/٨١±٠/٧٩	٩١/١٨±٠/٦٨	٩١/٩١±٠/٦٢
درصد مونوسیت	٢/٣٧±٠/٥٦	١±٠/٣٨	٢/٢٧±٠/٥٢	١/٧٢±٠/٣٨	٢/٥٨±٠/٣٩
درصد نوتروفیل	٥/٦٢±٠/٩٩	٥/٧٥±٦٧١	٣/٩٠±٠/٦٠	٥/٩٠١±٠/٥٦	٤/١٦±٠/٤٠
درصد ائوزینوفیل	١/٢٥±٠/٣٩	١/٢٥±٠/٣٠	١/٠٩٩±٠/٢٨	١/٢٧±٠/٤٠	١/٢٥±٠/٣٢
میزان کورتیزول خون	١٦/٦١±٢/٩٨	١/٢٥±٤/١٣	٨/١٥±١/٥٧	٣/٨٧±١/٠٠١	٨/٩٨±٠/٨٥
میزان گلوکزخون	٢٥/٥±٤/٢٨	٣٠/١٢±٣/٢٥	٢٩/٦٢±١/١٤	٢٠/٨٧±١/٠٢	٢٨/٢٥±١/٤١

همچنین ثبت نتایج اندازه‌گیری اکسیژن و دما و pH حین انجام آزمایش نشان می‌دهد که به علت استفاده از اکسیژن خالص در کپسول‌های اکسیژن، میزان اکسیژن وان‌های متصل به کپسول اکسیژن در حد فوق اشباع قرارگرفت و در وان‌های متصل به پراکسید هیدروژن به‌علت اثر کوتاه مدت پراکسیدهیدروژن در تولید اکسیژن این ماده، در فواصل زمانی هر یک ساعت به مخزن اضافه شد (دوز مصرفی ٤ میلی‌لیتر به ازای هر لیتر آب به همراه ۱ گرم کبد ماهی آمور). میزان اکسیژن تولیدی در تیمارهای پراکسید هیدروژن با دوز ٤ میلی‌لیتر در هر لیتر آب استفاده به‌صورت غیر مستقیم و در مخازن جداگانه اندازه‌گیری شد. اکسیژن تولیدی توسط دوز ٤ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن برابر با ٥/٦ تا ٦ میلی‌گرم در لیتر بود.

بحث و نتیجه‌گیری

میزان دوز مصرفی پراکسید هیدروژن در شرایط متعارف به‌منظور تولید اکسیژن طی حمل و نقل برای بچه ماهیان، ٤ میلی‌گرم در لیتر به ازای هر لیتر محاسبه گردید. در این آزمایش به فواصل زمانی هر یک ساعت تا پایان حمل و نقل به مخزن پراکسید هیدروژن اضافه شد. استفاده بیش از حد مجاز باعث ایجاد سمیت و بروز بی‌حالی و در نهایت مرگ و میر برای بچه‌ماهیان خواهد شد (Tylor و Ross، ۱۹۸۸). میزان اکسیژن از هر تیمار ٤ میلی‌گرم در لیتر پراکسید هیدروژن، به میزان ٥/٦ تا ٦ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن بود. پژوهش‌های انجام شده توسط Tylor و Ross (۱۹۸۸) در ماهی تیلاپیای نیل با در معرض مستقیم قرار دادن ماهی با پراکسید هیدروژن در دوزهای ۲و۳ میلی‌گرم در لیتر منجر به مردگی بافت، اپی تلیوم بافت آبشش و سلول‌های خونی، نکروز پوست سر شد. در دوز یک میلی‌گرم در لیتر پراکسید هیدروژن، شدت صدمات کمتر بود و هیچ اثری از نکروز بافت پوست و سر مشاهده نشد. در دوزهای ۰/۵۰ و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر پراکسید هیدروژن ۱۲ درصد هیچ علائمی از برآمدگی بافت اپی تلیوم تشخیص داده نشد (Tylor و Ross، ۱۹۸۸). در نتیجه طبق آزمایش مذکور، مطمئن‌ترین دوز مصرفی پراکسید هیدروژن در یک دوره زمانی ٦ ساعت، ۰/۱۵ میلی‌گرم در لیتر معرفی شده است.

نتایج این تحقیق براساس اهداف تحقیق نشان می‌دهد که پراکسید هیدروژن در صنعت حمل و نقل بچه‌ماهیان قزل‌آلا برای تولید اکسیژن در فواصل زمانی کوتاه کارایی داشته است و میزان اکسیژن تولیدی در دوز ٤ میلی‌گرم درلیتر H_2O_2 به ازای هر لیتر آب در حضور کاتالیزور فعال که در این تحقیق از کبد ماهی فیتوفاگ و کپور استفاده شد، ٥/٦ تا ٦ میلی‌گرم در لیتر بود.

در مطالعات فاکتورهای شیمیایی آب شامل NO_2، NO_3، NH_4 در تیمار پراکسید هیدروژن نسبت به تیمارهای اکسیژن و نیز گروه شاهد کاهش یافته است که به معنی کاهش ضایعات متابولیکی بچه ماهیان تحت آزمایش با تیمار پراکسید هیدروژن طی حمل و نقل بوده است و به علت درصد خلوص اکسیژن آزاد شده از پراکسیدهیدروژن می‌باشد که باعث بهبود کیفیت آب شده است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مسئولین محترم مرکز تحقیقات علوم شیلات و فنون دریایی دکتر کیوان و همچنین از کارکنان این مرکز و تمام عزیزانی که در پیشبرد این تحقیق همکاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌نمائیم.

منابع

۱- شیلات ایران، ۱۳۸۷. گزارش عملکرد توسعه منابع آبزی و ماهیان آب شیرین شیلات.

2.Abbot, D. 1971. Inorganic chemistry. Mills and Boon, London, 252 pp.

3.Dixon, M., and Webb, E.C. 1997. Enzymes. 3rd edition. Longman, London, 1116 pp.

4.Taylor, N.I., and Ross, L.G. 1988. The use of hydrogen peroxide as a source of oxygen for the transportation of live fish 70:183-192.

Journal of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch
Vol. 6, No. 3, October 2012

Evaluation of Hydrogen peroxide oxygenation efficacy comparing current method for rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) juveniles

A. Ebrahimi[1], H. Vahabzadeh Roodsari[2] and A.A. Zamini[3]
[1]M.Sc graduated from Islamic Azad University, Lahijan Branch, Dept. of Fisheries and Aquaculture, [2]Member of scientific board in Islamic Azad University, branch of Lahijan, Dr Keyvan Research Center for Fisheries Sciences and Marine Technologies, [3]Member of scientific board in Islamic Azad University, Lahijan branch

Abstract

Fish transportation and oxygenation are the subjects that can significantly affect the fish survival and growth after transportation. Recently, Hydrogen peroxide used instead of the Malachite Green as a disinfector but considering its positive role in the oxygenation it can be propose to use for the juveniles transportation. In this way it is necessary to determine the optimum concentrations its function in the short time and fish physiological changes and water quality during transportation. In this study, Oxygenation effect of H_2O_2 and oxygen capsules in two different treatments was compared. Each treatment included four replicates (45 fish per tank) both for hydrogen peroxide and oxygen capsule. Four plastic cones contain 4 CC H_2O_2 per liter of water added to 1 gr. grass carp liver as catalyzer to exhaust oxygen. Produced oxygen transferred to tanks via tubes. Fish samples were beaded in 0, 3 and 6 hours intervals in both groups. Results of this study showed that using of the hydrogen peroxide has no negative effect on the hematological parameters such as lymphocyte monocyte, neutrophil, eosinophil, MCHC, HCT, Hb, RBC, MCV, MCH and stress indices including Glucose and Cortisol. Water chemical quality factors include NH_4, NO_3, NO_2 decreased meanwhile using hydrogen peroxide in tanks. Considering low price of H_2O_2 and increasing demand for short time fish transport and the costs of oxygen capsules and its heavy weight and with a look to importance of fish health during transport operation the proposed method has potential to apply as appropriate way in small scale fish transport.

Keywords: Transport, Hydrogen peroxide, Oxygenation, Rainbow trout

*Corresponding Author; Email: ebrahimi_8816@yahoo.com