دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی

گروه شیلات

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی شیلات
گرایش تکثیر و پرورش آبزیان

عنوان پایان‌نامه:

تأثیر استفاده از زئولیت و اسانس گل میخک در حمل و نقل بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر روی بازماندگی، شاخص‌های خونی استرس و فاکتورهای کیفی آب

استاد راهنما :

دکتر میر مسعود سجادی

اساتید مشاور:

دکتر احمد نوری

دکتر احسان کامرانی

نگارش:

مجید هاشمی

اسفند ۱۳۹۰

تقدیم به:

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم پدر و مادری فداکار نصیبم ساخته تا در سایه درخت پر بار وجودشان بیاسایم و از ریشه آن‌ها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم ودانش تلاش نمایم.

والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم چرا که این دو وجود پس از پروردگار مایه هستی ام بوده اند دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب آموختند.

آموزگارانی که برایم زندگی، بودن و انسان بودن را معنا کردند

برادارن و خواهران عزیزم که جزئی از وجودم هستند و همیشه یاریم می کنند.

حال این برگ سبزی است تحفه درویش تقدیم آنان....

تقدیر و تشکر

پس از سپاس و ثنای بی حد بر آستان صفات بی همتای احدیت که در کمال رافت و در نهایت عطوفت رخصت اتمام این پایان نامه را به نگارنده عطا فرموده است؛ در کمال مودت و مسرت از زحمات بی دریغ، تلاش های بی وقفه و راهنمایی های ارزشمند استاد گرامی جناب آقای دکتر میر مسعود سجادی به عنوان استاد راهنما کمال تشکر و قدردانی را دارم. همچنین لازم است از مدیریت کارگاه پرورش ماهی قزل آلای کهمره- شیراز جناب آقای فریدون محمدی به علت همکاری های لازم در جهت انجام این پایان نامه کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم. از کارشناس محترم شیلات جناب آقای مهندس نیکوکار کمال تشکر و قدردانی را داشته و آرزوی موفقیت توام با سلامتی را برای آن‌ها خواستارم.

چکیده:

در این مطالعه تأثیر استفاده از زئولیت (کلینوپتیولیت) و اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در شرایط حمل و نقل بر روی بازماندگی، شاخص‌های خونی استرس و فاکتورهای کیفی آب بررسی شد. تعداد ۱۵۶ عدد ماهی با میانگین وزن ۴/۴ ±۸۰ گرم (M ± S.D) و تراکم ۱۳۰ گرم در لیتر در مخازن ۱۰ لیتری به صورت کاملاً تصادفی ذخیره سازی شد. تیمارها با سه تکرار شامل تیمارهای شاهد، اسانس گل میخک (۲۵ ppm)، زئولیت و اسانس گل میخک (۴۰ ppm) همراه زئولیت بود. فاکتورهای بازماندگی، شاخص‌های خونی استرس (هورمون کورتیزول، گلوکز خون) و کیفیت آب مخازن (NH_3، NH_4^+، pH، CO_2 و دمای آب) در زمان‌های ۰/۰۰، ۶/۰۰، ۱۲/۰۰، ۱۸/۰۰ ساعت سنجش شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS آنالیز شد. بازماندگی در پایان آزمایش در تیمار شاهد ۹۷/۴۴ درصد و در بقیه تیمارها ۱۰۰ درصد بود. میزان NH_3 در زمان‌های ۱۲/۰۰ و ۱۸/۰۰ ساعت در تیمارهای زئولیت و اسانس گل میخک همراه زئولیت کمتر و دارای اختلاف معنی دار با تیمار شاهد بود ($p<0/05$). کمترین میزان NH_4^+ در پایان آزمایش مربوط به تیمار زئولیت بود و با سایر تیمارها تفاوت معنی داری داشت ($p<0/05$). نتایج اختلاف معنی داری را در CO_2 آب در تیمار اسانس گل میخک در زمان‌های ۱۲/۰۰ و ۱۸/۰۰ ساعت نسبت به دیگر تیمارها نشان داد ($p<0/05$). میزان pH اختلاف معنی داری را در بین تیمارهای مختلف نشان نداد ($p>0/05$). نتایج حاصل تفاوت معنی داری را در میانگین میزان هورمون کورتیزول و گلوکز خون در زمان‌های ۶/۰۰ و ۱۲/۰۰ ساعت نشان نداد ($p>0/05$)، در حالی که در زمان ۱۸/۰۰ ساعت، تیمار شاهد با بیشترین میزان هورمون کورتیزول و گلوکز خون با سایر تیمارها اختلاف معنی دار داشت ($p<0/05$). نتایج نشان داد که استفاده از اسانس گل میخک در زمان حمل و نقل دراز مدت (بیش از ۱۲ ساعت) ماهی قزل آلا رنگین کمان، باعث کاهش هورمون کورتیزول و گلوکز خون می‌شود. نتیجه دیگر نشان داد که استفاده از زئولیت می‌تواند باعث بهبود کیفیت آب و در نتیجه تسهیل حمل و نقل ماهی گردد.

کلمات کلیدی: زئولیت، اسانس گل میخک، حمل و نقل، *Oncorhynchus mykiss* ، فاکتورهای کیفی آب، شاخص استرس

فهرست مطالب

مقدمه ۲

۱ کلیات ۵

۱-۱ حمل و نقل: ۵

۱-۲ تاریخچه حمل و نقل آبزیان: ۵

۱-۳ انواع روش‌های حمل و نقل: ۶

۱-۳-۱ روش حمل و نقل باز: ۶

۱-۳-۲ سیستم حمل و نقل بسته: ۸

۱-۴ رعایت اصول اولیه حمل و نقل: ۹

۱-۴-۱ توجه به فاکتورهای موثر در حمل و نقل: ۹

۱-۴-۲ تأمین اکسیژن مورد نیاز: ۹

۱-۴-۳ جلوگیری از ایجاد گازهای سمّی مخازن: ۱۰

۱-۴-۴ بهبود شرایط حمل و نقل: ۱۰

۱-۵ ماهی قزل آلای رنگین کمان: ۱۱

۱-۶ زئولیت و کاربرد آن: ۱۲

۱-۷ اسانس گل میخک و کاربرد آن: ۱۳

۱-۸ تغییر کیفی آب: ۱۴

۱-۸-۱ آمونیاک ۱۵

۱-۸-۲ دی اکسید کربن (CO_2) ۱۶

۱-۹ فیزیولوژی استرس ماهی: ۱۷

۱-۱۰ پیشینه تحقیق : ۱۸

هدف‌های اساسی تحقیق : ۲۲

فرضیه های تحقیق ۲۲

سؤالات تحقیق ۲۲

۲ مواد و روش‌ها ۲۴

۲-۱ تهیه ماهی و ذخیره سازی اولیه: ۲۴

۲-۲ آماده سازی مخازن: ۲۵

۲-۳ تهیه مواد: ۲۷

۲-۴ طراحی و اجرای آزمایش: ۲۸

۲-۵ فاکتورهای محیطی ۳۰
۲-۶ فاکتورهای کیفی آب: ۳۰
۲-۶-۱ درجه اسیدیته آب (pH): ۳۱
۲-۶-۲ دی اکسید کربن(CO_2): ۳۲
۲-۶-۳ آمونیاک یونیزه (NH_4^+) و آمونیاک غیر یونیزه (NH_3): ۳۳
۲-۷ شاخص‌های خونی استرس: ۳۵
۲-۷-۱ آماده سازی پلاسما: ۳۶
۲-۷-۲ تعیین مقدار کورتیزول: ۳۷
۲-۷-۳ تعیین مقدار گلوکز: ۳۷
۲-۸ تجزیه و تحلیل آماری ۳۹
۳ نتایج: ۴۱
۳-۱ بازماندگی: ۴۱
۳-۲ فاکتورهای کیفی آب: ۴۱
۳-۲-۱ آمونیاک: ۴۱
۳-۲-۲ آمونیوم یونیزه (NH_4^+) ۴۳
۳-۲-۳ دی اکسید کربن(CO_2): ۴۶
۳-۲-۴ درجه اسیدیته (pH): ۴۸
۳-۳ شاخص‌های استرس ۵۰
۳-۳-۱ هورمون کورتیزول(Cortisol): ۵۰
۳-۳-۲ گلوکز خون: ۵۲
۴ بحث ۵۵
۴-۱ بازماندگی ۵۵
۴-۱-۱ آمونیاک ۵۶
۴-۱-۲ آمونیوم یونیزه ۵۸
۴-۱-۳ دی اکسید کربن (CO_2) ۵۹
۴-۱-۴ درجه اسیدیته (pH) ۵۹
۴-۲ شاخص‌های خونی استرس ۶۰
۴-۲-۱ هورمون کورتیزول ۶۰
۴-۲-۲ گلوکز خون ۶۱
۴-۳ نتیجه گیری کلی: ۶۳
۴-۴ پیشنهادات اجرایی: ۶۳

۴-۵ پیشنهادات پژوهشی: ۶۳
مراجع ۶۴

فهرست جدول‌ها

جدول ۲-۱ : میزان NH_3 آب در pH و دماهای مختلف (بر حسب درصد از آمونیاک کامل) ۳۴
جدول ۳-۱ میانگین میزان بازماندگی ماهی قزل آلا در مخازن آب حمل و نقل در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف (۰/۰۰-۰/۰۰-۶/۰۰-۱۲/۰۰ و۱۸/۰۰ساعت) (mean±S.D.) (n=3)..... ۴۱
جدول ۳-۲ میزان آمونیاک (NH_3) آب موجود در مخازن حمل و نقل ماهی قزل آلا بر حسب میلی گرم بر لیتر(ppm) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف (۰/۰۰-۰/۰۰-۶/۰۰-۱۲/۰۰ و۱۸/۰۰ساعت) (mean±S.D.)(n=3) ۴۲
جدول ۳-۳ میزان آمونیوم یونیزه (NH_4^+) آب مخازن حمل و نقل ماهی قزل آلا بر حسب میلی گرم بر لیتر(ppm) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف (۰/۰۰-۰/۰۰-۶/۰۰-۱۲/۰۰ و۱۸/۰۰ساعت) (mean±S.D.) (n=3)..... ۴۴
جدول ۳-۴ میزان دی اکسید کربن(CO_2) موجود در آب مخازن حمل و نقل ماهی قزل آلا بر حسب میلی گرم بر لیتر (ppm) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف (۰/۰۰-۰/۰۰-۶/۰۰-۱۲/۰۰ و۱۸/۰۰ساعت) (mean±S.D.) (n=3) ۴۶
جدول ۳-۵ میزان درجه اسیدیته (pH) آب مخازن حمل و نقل ماهی قزل آلا در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف (۰/۰۰-۰/۰۰-۶/۰۰-۱۲/۰۰ و۱۸/۰۰ساعت) (mean±S.D.)(n=3)..... ۴۸
جدول ۳-۶ میزان هورمون کورتیزول بر حسب نانو گرم بر میلی گرم(ng/ml) در ماهی قزل آلا در مخازن حمل و نقل در تیمارهای مختلف و در زمان‌های مختلف (۰/۰۰-۰/۰۰-۶/۰۰-۱۲/۰۰ و۱۸/۰۰ ساعت) (mean±S.D.) (n=3) ۵۰
جدول ۳-۷ شاخص خونی استرس(گلوکز) بر حسب میلی گرم بر دسی لیتر(mg/dl) در ماهی قزل آلا در مخازن حمل و نقل در تیمارهای مختلف و در زمان‌های مختلف (۰/۰۰-۰/۰۰-۶/۰۰-۱۲/۰۰ و۱۸/۰۰ساعت) (mean±S.D.)(n=3).. ۵۲

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱ ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) ۱۲
شکل ۱-۲ : سطوح CO_2 ، pH و مصرف اکسیژن آب در دوره ۱۸/۰۰ ساعت حمل و نقل ماهی آزاد..... ۱۵
شکل ۲-۱ آماده سازی و ذخیره اولیه ماهی در استخر ۲۴
شکل ۲-۲ رها سازی ماهی در سایت جدید..... ۲۵
شکل ۲-۳ : آماده سازی مخازن پلاستیکی حمل و نقل ماهی قزل آلا ۲۶
شکل ۲-۴ : نمای داخل مخازن پلاستیکی با نصب شیلنگ و سنگ هوا ۲۶
شکل ۲-۵ : آماده سازی کپسول اکسیژن و نصب مانومتر ۲۶
شکل ۲-۶ : اسانس گل میخک با استخراج از روش تقطیر فارماکوپه..... ۲۷
شکل ۲-۷ : شستشو و آماده سازی زئولیت (کلینوپتیولیت) ۲۸
شکل ۲-۸ : نمای مخزن پلاستیکی همراه با یخ و تجهیزات هوادهی..... ۲۹
شکل ۲-۹ : مخزن حمل و نقل با ذخیره تراکم ۱۳۰ گرم در لیتر ماهی قزل آلا ۳۰
شکل ۲-۱۰ : نمونه های آب در تماس با یخ و انتقال به آزمایشگاه آب ۳۰
شکل ۲-۱۱ : دستگاه Winlab-pH-meter همراه با محلول‌های بافر..... ۳۱
شکل ۲-۱۲ : ثبت دما و pH متر در زمان‌های مختلف ۳۱
شکل ۲-۱۳ : تعیین میزان دی اکسید کربن در شرایط کارگاهی..... ۳۲
شکل ۲-۱۴: خون گیری از ورید باله دمی ماهی قزل آلا با استفاده از سرنگ..... ۳۵
شکل ۲-۱۵ : نمونه برداری از تیمارهای مختلف و انتقال به آزمایشگاه ۳۵
شکل ۲-۱۶ : دستگاه سانتریفیوژ برای جدا کردن پلاسمای خون ۳۶
شکل ۲-۱۷ : قرار گیری نمونه های خونی در دستگاه سانتریفیوژ ۳۶
شکل ۲-۱۸ : دستگاه گاما کانتر LKB..... ۳۷
شکل ۲-۱۹ : دستگاه اسپکتروفتومتر ۳۸
شکل ۳-۱: روند تغییرات میزان آمونیاک (NH_3) آب مخازن حمل ماهی قزل آلای رنگین کمان در تیمار های مختلف در طول دوره آزمایش (mean±S.D.) (n=3)..... ۴۳
شکل ۳-۲ : روند تغییرات میزان آمونیوم یونیزه (NH_4^+) آب مخازن حمل و نقل ماهی قزل آلای رنگین کمان در تیمار های مختلف در طول دوره آزمایش (mean±S.D.) (n=3)..... ۴۵
شکل ۳-۳ : روند تغییرات میزان دی اکسید کربن (CO_2) آب مخازن حمل و نقل ماهی قزل آلای رنگین کمان در تیمار های مختلف در طول دوره آزمایش (mean±S.D.)(n=3)..... ۴۷
شکل ۳-۴: روند تغییرات میزان درجه اسیدیته (pH) آب مخازن حمل و نقل ماهی قزل آلای رنگین کمان در تیمار های مختلف در طول دوره آزمایش (mean±S.D.) (n=3)..... ۴۹
شکل ۳-۵: روند تغییرات میزان کورتیزول خون ماهی قزل آلای رنگین کمان در تیمار های مختلف در طول دوره آزمایش (mean±S.D.)(n=3)..... ۵۱
شکل ۳-۶ : روند تغییرات گلوکز خون ماهی قزل آلای رنگین کمان در تیمار های مختلف در طول دوره آزمایش (mean±S.D.)(n=3) ۵۳

فصل اول

مقدمه

و

کلیات

مقدمه

ماهیان دارای ارزش غذایی بالا و منابع غنی از پروتئین حیوانی هستند. منابع تأمین ماهیان جهت استفاده به عنوان غذا از طریق صید و صیادی و آبزی پروری بدست می‌آید. با توجه به افزایش جمعیت جهان و همچنین کاهش منابع و ذخایر طبیعی ماهیان به علت صید و صیادی بیش از حد (صید متوسط ۹۰ میلیون تن در سال)، استفاده از عملیات آبزی پروری جهت تأمین پروتئین مورد نیاز مردم و احیاء ذخایر طبیعی آبزیان ضروری می‌باشد. مصرف ماهی به عنوان غذا از مقدار ۴۶ میلیون تن در سال ۱۹۷۰ به ۸۶ میلیون تن در سال ۱۹۹۸ رسید (White *et al.*, 2004). در سال‌های اخیر، آبزی پروری از سریع‌ترین بخش‌های تولید غذا و پروتئین بوده است، به گونه‌ای که این بخش در دوره‌ی ۱۹۹۵-۱۹۸۴ سالیانه ۱۰ درصد رشد داشته، در حالی که نرخ رشد سالیانه تولید گوشت قرمز برابر ۳ درصد و نرخ رشد سالیانه صید آبزیان برابر ۱/۶ درصد بوده است (ضیایی، ۱۳۸۲). رشد سالیانه صنعت آبزی پروری در دنیا سریع‌تر از بخش‌های دیگر گروه‌های دامی و یا حتی صید ماهی می‌باشد (FAO, 2008). از آنجایی که تکثیر و پرورش آبزیان روز به روز در حال توسعه است، لزوم استفاده از علم و تکنولوژی در بخش‌های مختلف این رشته بیش از پیش اهمیت یافته است. تقاضای روز افزون بشر برای مصرف محصولات آبزی از یک طرف و کاهش ذخایر وحشی این جانوران از طرف دیگر موجب تلاش‌های زیادی در توسعه آبزی پروری شده است (سلطانی، ۱۳۸۷). توسعه همه جانبه آبزی پروری با اهداف مشترک از جمله افزایش تولید، بهره‌وری، کاهش هزینه، استفاده از وسایل و امکانات مدرن مقدور می‌باشد. یکی از فعالیت‌های مهم در راستای این اهداف لزوم حمل و نقل و انتقال اصولی و درست انواع ماهی و سایر آبزیان در مراحل مختلف حمل و نقل می‌باشد (Swann, 2005). انواع ماهیان در مراحل مختلف زندگی یعنی مراحل تخم، لارو، بچه ماهی نورس، انگشت قد، پرورای و بازاری به مکان‌ها با فاصله های متفاوت و شرایط مختلف حمل می‌شوند و هر گروه از ماهیان حساسیت‌های متفاوت و متنوعی از خود نشان می‌دهند. توجه به روش‌های حمل و نقل و جابجایی صحیح و اصولی ماهیان، در حفظ سلامت و افزایش درصد بازماندگی آن‌ها به هنگام حمل و نقل یا بعد از آن تأثیر مطلوبی دارد. در این صورت است که رها سازی انواع ماهیان در دریا و منابع آبی داخلی نظیر تالاب، آبگیر و مزارع، جهت حفظ ذخایر ماهیان در این گونه منابع تضمین می‌شود. آمار دقیقی از حمل و نقل ماهیان در دسترس نیست، اما ماهیان به طور معمول حداقل دو بار در سال حمل می‌شوند یک بار از مراکز تکثیر به سایت پرورش و دومین بار هنگام صید و انتقال برای عرضه به بازار، بنابراین مقدار تولید نهایی، مقدار ماهی که مراحل مختلف حمل و نقل را بطور سالم پشت سر گذاشته، نشان می‌دهد (Swann, 2005). آبزیان در طی مراحل رشد به سایت‌های مختلف آبزی پروری و نیز در پایان پرورش برای صادرات و فروش حمل می‌گردند. روش‌های مختلفی در حمل و

نقل آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش‌ها شامل ۱- حمل و نقل از طریق ساحل: با استفاده از قایق، جابجایی مستقیم بین دو قفس دریایی ۲- حمل و نقل در خشکی: با استفاده از تانکرهای سرپوشیده و روباز به صورت مجزا ۳- حمل و نقل هوایی: با استفاده از هلیکوپتر و هواپیما در مسافت‌های طولانی، می‌باشد (EFSA, 2004).

فرآیند حمل و نقل ماهی زنده در مدیریت آبزی پروری و شیلات باعث ایجاد استرس چندگانه به ماهیان می‌شود که این تغییر فیزیولوژی، تلفات و کاهش رشد ماهی را در پی دارد. با توجه به این مسئله می‌توان گفت که عملیات حمل و نقل در کاهش تولید نهایی ماهی موثر می‌باشد. این فرآیند جزئی از عملیات آبزی پروری محسوب می‌شود و به حداقل رساندن تغییرات فیزیولوژیک در ماهیان یکی از اهداف مهم آن می‌باشد (Iverson *et al*., 2005).

عملیات حمل و نقل علاوه بر تغییر در فیزیولوژی آبزی، کیفیت آب مخازن حمل و نقل را نیز تغییر می‌دهد و ممکن است سلامت آبزی به خطر بیافتد. فاکتورهای کیفی آب در زمان حمل و نقل ماهی از جمله pH، دی اکسید کربن و آمونیاک (NH_3) تغییر می‌کنند و باعث کاهش کیفیت آب مخازن می‌شود (Piper, 1982). حفظ کیفیت خوب آب در زمان حمل و نقل ماهیان جزء فاکتور اصلی و جزء نیاز اولیه برای موفقیت است(Taylor and Solomon, 1979). استرس‌های اولیه در زمان حمل و نقل باعث القای اثرات ثانویه شامل اختلال در تنظیم اسمزی، متابولیک و ایمنی بدن ماهی می‌شود و یک اثر زیان بار روی سلامتی، رشد و بازماندگی ماهی دارد. بنابراین نیاز به آزمایشاتی است که اختلالات به وجود آمده در زمان حمل و نقل و در نتیجه ارتباط آن با اثرات فیزیولوژیکی و بیولوژیکی بر روی ماهی را شناسایی کرده و برای اصلاح و بهینه کردن روش‌های حمل و نقل با حداقل استرس در ماهیان، اقدام شود (Barton and Iwama, 1991; Carmichael, 1984). مطالعاتی راجع به دستیابی به فیزیولوژی پایه مورد نیاز برای آبزیان از جمله مدیریت کیفیت آب در زمان حمل و نقل صورت گرفته است که این موارد شامل کم کردن دمای آب (Pillips and Brockway, 1954; Norris *et al*., 1960)، گرسنگی قبل از حمل (Takashima *et al*., 1982 and Brockway, Pillips 1954;)، استفاده از اکسیژن و مواد بیهوشی مختلف (Durve and Dharma Raja, 1966; Durye,1975; Hasan and Bart, 2007)، زئولیت و محلول بافر (Singh *et al*., 2004) و نمک (Carneiro and Urbinati, 2001) می‌باشد.

هدف اصلی در حمل و نقل، حداقل کردن حجم آب و تجهیزات مورد نیاز و نیز هزینه های مواد و وسایل و حداکثر کردن بازماندگی و سلامتی ماهیان حمل شده، می‌باشد. در راستای این اهداف از تکنیک‌ها و ترفندهای مختلف استفاده می‌شود. یک روش معمول، حداقل کردن استرس وارده به ماهی با استفاده از مواد بیهوشی با غلظت کم می‌باشد (McFarland, 1959; Berka, 1986). استفاده از مواد بیهوشی در زمان حمل و نقل ماهی می‌تواند باعث کاهش میزان متابولیسم و از این رو

تقاضای اکسیژن شود و این به نوبه خود باعث کاهش فعالیت عمومی، سهولت بیشتر در دست‌کاری و انتقال و کاهش میزان استرس ماهی می‌شود (McFarland, 1959). سطح ایده آل تسکین حاصل از ماده بیهوشی در زمان حمل و نقل ماهی بستگی به عواملی از جمله واکنش پذیری به محرک‌های خارجی و کاهش متابولیسم، عدم اختلال در تعادل حیاتی (McFarland, 1959) و در عین حال باعث کاهش استرس از طریق بلوکه کردن محور HPI[1] شود (Keene *et al*., 1998). بیهوشی سبک باعث حفظ تعادل و فعالیت شنای ماهی و کاهش استرس ناشی از دست‌کاری و حمل و نقل می‌شود (Piper *et al*., 1982).

هاسکون و پیهرنون[2] (۲۰۰۴) گزارش دادند، استفاده از مواد بیهوشی بیش از غلظت مورد نیاز برای بیهوشی سبک در ماهی، باعث از دست داد تعادل ماهی می‌شود. یکی از مواد بیهوشی که در سال‌های اخیر به طور گسترده استفاده می‌شود، اسانس گل میخک می‌باشد. اسانس گل میخک در مقایسه با دیگر مواد بیهوشی مانند تریکائین متانوسولفونات (MS_{222}) یا کینالدین از نظر مدت زمان القای موثر بیهوشی و برگشت از زمان بیهوشی، مطلوب می‌باشد (Anderson., 1997). استفاده از اسانس گل میخک در مدیریت آبزی پروری و تحقیقات تولیدی نتایج خوبی در پی داشته است (Pince and Powell, 2000; Srivastava *et al*., 2003).

با توجه به اینکه در زمان حمل و نقل کیفیت آب پایین می‌آید و فیزیولوژی ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و فیزیولوژی مورد نیاز ماهی در زمان حمل و نقل نباید اختلاف معنی داری با زمان کل پرورش داشته باشد، بنابراین باید از روش‌هایی استفاده شود که کیفیت آب را حفظ کند (Bone and Marshall, 1982). در مواقعی مثل زمان حمل و نقل آبزیان که امکان تعویض آب کم می‌شود، استفاده از مواد کاهش دهنده آمونیاک آب در رفع این مشکل عمومی مزارع پرورش ماهی لازم است (Bergero, 1994). در این خصوص استفاده از زئولیت که کاربردهای فراوانی دارد پیشنهاد گردیده است. زئولیت می‌تواند در جابجایی یون‌ها، فیلتر کردن آب و حذف گازهای مضر استفاده شود و همچنین برای جذب یون‌های مضر آب نیز مؤثر واقع شده است (Pond, 1984). توسعه سریع و قابل توجه صنعت آبزی پروری در کشور به ویژه تکثیر و پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان لزوم استفاده از روش‌های موثر و کارا در زمان حمل و نقل ماهی در طی مراحل مختلف زندگی آن‌ها در جهت کاهش اثرات سوء حمل و نقل بر روی ماهی، را در پی دارد. در این مطالعه اثر استفاده از اسانس گل میخک و زئولیت در زمان حمل و نقل ماهی قزل آلا به منظور بهبود شرایط حمل، کیفیت آب و کاهش استرس و متابولیسم بدن ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

[1] hypothalamus-pituitary-interrenal
[2] Hoskonen and Pirhonen

۱ کلیات

۱-۱ حمل و نقل:

هدف از حمل و نقل ماهی، ایجاد شرایط مناسب جهت تأمین سلامت ماهی در مدت زمان جابجایی آن می‌باشد (Madu, 1999). عوامل تأثیر گذار بر بازماندگی در زمان حمل و نقل شامل افزایش متابولیسم ماهی، کاهش اندوخته چربی، غلظت پروتئین و اسمولالیته خون ماهی می‌باشد و در همه شرایط می‌تواند منجر به مرگ موجود یا مستعد بیماری شود (Wendelaar Bonga, 1997; Portz *et al*., 2006). ماهیان قبل از حمل و نقل از نظر گونه، اندازه و وزن درجه بندی می‌شوند. قبل از بارگیری موقعیت بهداشتی و تکنیکی و تجهیزات، وضعیت ماهی بارگیری شده، یخ، سوخت و شرایط آب بررسی می‌شود و ماهیانی که قرار است به صورت زنده جابجا شوند، از لحاظ سلامتی، بهداشت و بیماری بررسی می‌شوند (Wenche *et al*., 2008). ظرفیت مخزن‌ها با توجه به شرایط لازم برای زنده نگهداشتن ماهی در زمان جابجایی مانند تأمین اکسیژن مورد نیاز، جلوگیری از ایجاد گازهای سمی در داخل مخزن و غیره، محاسبه می‌شوند (داداش پور، ۱۳۷۸). با استفاده از تکنولوژی مدرن، جابجایی انواع ماهیان در تراکم بالا با موفقیت انجام می‌شود. بطوریکه حمل بچه ماهیان نورس و انگشت قد در مخزن‌های مذکور اغلب با تراکم ۱۵۰ کیلوگرم در هر متر مکعب آب شیرین و ۱۰۰ کیلوگرم در هر متر مکعب آب شور صورت می‌گیرد و همچنین می‌توان ماهیان با اندازه بازاری را با تراکم ۲۵۰ کیلوگرم در هر متر مکعب جابجا نمود (داداش پور، ۱۳۷۸). شایان ذکر است که حمل ماهی در این مقیاس در کشور ما با توجه به عدم وجود امکانات و تجهیزات پیشرفته و تکنولوژی مدرن امکان‌پذیر نیست و در حال حاضر با توجه به امکانات موجود، در مقیاس ۲۵ تا ۴۰ کیلوگرم در هر متر مکعب انجام می‌گیرد (داداش پور، ۱۳۷۸). با توجه به این مسائل در مطالعه حاضر با استفاده از مواد و بدون تکنولوژی‌های مدرن در حمل و نقل تراکم ماهیان ۱۳۰ کیلوگرم بر لیتر در نظر گرفته شد.

۱-۲ تاریخچه حمل و نقل آبزیان:

فرآیند حمل و نقل آبزیان به اندازه پرورش آن‌ها در چین و روم باستان قدمت دارد. اطلاعات کمی در مورد روش‌های واقعی و امکانات و تجهیزاتی که در حمل و نقل استفاده می‌کردند، در دسترس می‌باشد. اما احتمالاً بیشتر این عملیات در فواصل کوتاه و متوسط بوده است، چرا که حمل و نقل در فواصل طولانی، نیاز به مهارت و کاردانی زیادی دارد (McCraren, 1978). اولین سابقه حمل و نقل ماهی در فاصله طولانی در واحد گسترده در سال ۱۸۷۴ توسط دکتر لیوینگستون استون[1] در آمریکا ثبت شده است. دکتر استون توانست تعداد ۳۵۰۰۰ عدد ماهی Shad (*Alosa sapidissin*) به

[1] Stone

صورت روباز در حدود ۳۰۰۰ مایل با استفاده از قطار حمل کند (Stone, 1874). نیروی زیادی برای حمل و نقل ماهیان در گذشته لازم بوده است و اغلب در مدیریت عمومی شیلات نیاز به نیروی انسانی زیادی بوده است. هچری های عمل آوری به صورت متراکم و با کمترین تلفات به شکل امروز وجود نداشته است و اغلب به صورت گسترده و جداگانه در حصارهای آبی، کار ذخیره سازی تخم ماهی و هچری صورت می‌گرفته و این کار، مشکلات حمل و نقل و دست‌کاری ماهیان را دو چندان می‌نموده است (Gary and WeDemeyer., 1996). استون و دیگر اندیشمندان با استفاده از هواده‌های دستی، فیلتر و حذف فضولات و لجن، حمل و نقل آبزیان را انجام می‌دادند و نشان دادند که اضافه کردن یخ به ظروف حمل آبزیان باعث افزایش ظرفیت اکسیژن آب و کاهش مصرف اکسیژن توسط ماهی می‌شود (Gary and WeDemeyer., 1996). استون در سال ۱۸۷۹ اقدام به حمل بچه ماهی bass Striped (*Morone Saxatilis*) از نیوجرسی به کالیفرنیا کرد و از برخی تجهیزات و روش‌های توسعه یافته آن موقعه استفاده کرد. این کار با استفاده از یخ و هوادهی دستی در جعبه‌هایی که در واگن قطار نصب شده بود، صورت پذیرفت.

۱-۳ انواع روش‌های حمل و نقل:

روش‌های بسیار مختلفی در حمل و نقل آبزیان در طی مراحل آبزی پروری مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما هدف همه آن‌ها کاهش استرس، اپتیمم کیفیت آب و سطح اکسیژن و حداقل کردن ترشحات متابولیکی و آمونیاک است. حمل و نقل شامل صید، بارگیری، حمل و نقل و تخلیه نهایی می‌باشد و می‌تواند یک واکنش استرس طولانی را القا کند که باعث تأثیر بر سلامت ماهی و مدت بازگشت ماهی به حالت طبیعی می‌شود (Iversen *et al*., 1998 and Schreck *et al*., 1989).

۱-۳-۱ روش حمل و نقل باز:

در این روش ماهیان در تانک‌هایی که به طور مداوم هوادهی می‌شوند، توسط کامیون، کشتی، قطار و ... حمل می‌شوند. در این سیستم مهم‌ترین وسایل مورد نیاز عبارتند از: مخازن حمل ماهی و دستگاه‌های هوادهی برای تأمین اکسیژن در طول مسیر انتقال می‌باشد (Vollmann and Schipper., 1975). میزان وزن ماهی که می‌تواند در یک تانکر به صورت سالم منتقل شود، بستگی به کارایی سیستم هوادهی، طول مدت حمل و نقل، دمای آب، اندازه و گونه های ماهی دارد. وقتی که شرایط طبیعی کاملاً یکسان باشد، ظرفیت حمل در تانکرها بستگی به اندازه ماهیان دارد. مقدار تراکم ماهی در زمان حمل و نقل یک بازه گسترده را شامل می‌شود و ماکزیمم ظرفیت حمل در انواع گونه های مختلف در واحدهای تولیدی مشخص نشده است (Berka, 1986). تعیین ظرفیت حمل برای برخی از ماهیان تا حدودی تعیین شده است. تحت شرایط ایده آل ماکزیمم تراکم حمل ماهی‌های

قزل‌آلا، قزل‌آلای قهوه‌ای[1] و قزل آلای رودخانه با طول ۲۰ تا ۳۸ سانتی متر برابر با ۳ الی ۳/۱ کیلوگرم بر لیتر در مدت زمان ۸ تا ۱۰ ساعت می‌باشد (Piper *et al.*, 1982). حد بیشینه مجاز جهت حمل و نقل ماهی قزل‌آلا از لحاظ وزنی متناسب با طول آن‌ها پیشنهاد شده است. بنابراین اگر ظرفیت یک تانکر برابر با ۵۰ کیلوگرم باشد و ماهیان با طول ۵ سانتی متر را حمل کند، امکان حمل ۱۰۰ کیلوگرم ماهی با طول ۱۰ سانتی متر و ۱۵۰ کیلوگرم با طول ۱۵ سانتی متر در همان تانک‌ها، وجود دارد (Piper *et al.*, 1982).

بیشتر تانک‌ها به صورت روپوش دار و عایق می‌باشند و معمول با استیریفوم[2] و یورتان[3] یا فایبرگلاس ساخته می‌شوند. جنس استیریفوم و فایبرگلاس از کیفیت بهتری برخوردار هستند و در مقابل عوامل نامساعد از استحکام بهتری برخوردار است و رطوبت اثر کمتری روی آن‌ها دارد (Madu, 1999). برای ایجاد هوادهی مناسب در تمام نقاط مخازن نیاز به چرخش آب می‌باشد. در واقع شکل تانکرها، چرخش مناسب آب، نوع هوادهی و دیگر شرایط طراحی بر موفقیت نسبی فرآیند حمل و نقل آبزیان موثر می‌باشد. ظرفیت تانکرهای مورد استفاده در حمل و نقل روباز معمولاً بین ۱۰۰۰ تا ۲۷۰۰ لیتر و بطور میانگین ۱۷۰۰ لیتر گنجایش دارند. اگر چه در آمریکا از تانکرهای ۴۵۰۰ لیتری نیز برای حمل گربه ماهی، قزل آلا و باس دریایی[4] استفاده می‌گردد (Piper *et al.*, 1982). اشکال متفاوتی از تانکرها موجود می‌باشد که در حال حاضر از تانکرهای مستطیلی استفاده می‌کنند ولی در سالهای اخیر از تانک‌های بیضوی شکل نیز برای حمل ماهی استفاده می‌شود. اشکال تانک‌های بیضوی، V شکل و نیم دایره با مخلوط کردن بهتر آب و کاهش حجم اشغال شده نسبت به دیگر اشکال تانک‌ها، بیشتر ترجیح داده می‌شود (Madu, 1999).

سیستم‌های چرخشی در اندازه‌ها و طرح‌های مختلف ساخته می‌شوند. پمپ‌های آب و سیستم هواده مکانیکی از جمله تجهیزات مورد استفاده در تأمین اکسیژن می‌باشد. پمپ‌ها با استفاده از یک پوشش منفذدار از کف تانکر، آب را به بالا هدایت کرده و در سطح آب به صورت اسپری پخش می‌کند. هواده-های مکانیکی ۱۲ ولتی برای چرخش و پخش آب در پیکره آبی استفاده می‌شود. بدین صورت که با اتصال لوله‌های کربنی منفذ دار در انتهای سیستم هواده، در واقع حباب‌های هوا به قسمت‌های کوچک تبدیل می‌شود و این باعث پخش و حرکت آب و نیز افزایش سطح تماس هوا با آب و نهایتاً تبادل بیشتر با آب می‌شود (Piper *et al.*, 1982).

[1] brook brown
[2] Styrofoam
[3] Urethane
[4] *Lates calcarifer* Bloch

۱-۳-۱-۱ حمل و نقل باز در مسافت کوتاه:

کانتینرهای کوچک حمل برای جابجایی بچه ماهی و در مواردی برای ماهی قزل آلا و دیگر ماهیان استفاده می‌شود. کانتینرهایی که برای حمل ماهی بین مزارع استفاده می‌شود، از این نوع می‌باشد. معمولاً به صورت روباز و بدون پوشش دریچه هستند و در حجم‌های ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ لیتری ساخته می‌شوند. در کف این نوع کانتینرها دریچه‌هایی وجود دارد تا بتوان فاضلاب را از کف مخازن خارج نماید (Vollmann-Schipper,1975). مواد و وسایل مورد نیاز در حمل و نقل ماهیان در مسافت-های کوتاه به صورت اختصار شامل موارد زیر می‌باشد: ۱- مخازن برزنتی ۲- کیسه های کوچک ۳- سطل‌های پلاستیکی ۴- ساچوک (داداش پور، ۱۳۷۸).

۱-۳-۱-۲ حمل و نقل باز در مسافت زیاد:

این نوع سیستم‌ها در انواع مختلف ساخته می‌شوند معمولاً مجهز به شبکه هوادهی در کف و به صورت مجزا می‌باشد. وسایل جانبی شامل فیلتر و پخش کننده آب، هوادهی ویژه و جداگانه، بدنه عایق دمایی و امثال آن جزء لوازم ضروری این نوع سیستم می‌باشد (Horvath *et al*., 1984). تانکرهای بزرگ معمولاً به دو قسمت جداگانه یا پیوسته به هم با حداکثر حجم ۲۰۰۰ متر مکعب تقسیم می‌شوند و مجهز به حداقل ۶ هواده (هر ۳ عدد به طور جداگانه برای هر مخزن) می‌باشد (Okoniewski, 1975). مخازن حمل و نقل به شکل مکعب مستطیل از جنس فایبرگلاس یا آلومینیوم یا چوب‌های مرغوب که با یک لایه فایبرگلاس پوشیده شده‌اند، ساخته می‌شود. ظرفیت‌های مخازن حمل و نقل با توجه به مسافت‌های مختلف و وزن بچه ماهیان و نیز شرایط زیستی گونه های مختلف متفاوت می‌باشد (Leis *et al*., 1975; Dyagilev, 1974).

۱-۳-۲ سیستم حمل و نقل بسته:

روش حمل و نقل ماهیان کپور و علف خوار از مجارستان تا مصر و ایران توسط وارگا[1] (۱۹۸۴) توصیف شده است. این نوع سیستم بیشتر برای مراحل نوزاد و بچه ماهی بطور گسترده در سطح جهان و همچنین برای حمل مولدین نیز استفاده می‌شود. روش‌های حمل و نقل که تا حدودی موفقیت حمل و نقل را تضمین می‌کند، در مطالعات مختلف با شرح جزئیات بیان شده است (Orlov *et al*., 1974; Berka, 1986; Pecha *et al*., 1983; Vollmann-Schipper, 1975; Woynarowich and Horváth, 1980). در این روش‌ها، انواع بچه ماهیان، تخم‌های لقاح نیافته و یافته ، در درون ظروف در بسته جابجا می‌شوند. در این روش از مهم‌ترین ابزار و وسایل مورد نیاز حمل و نقل بچه ماهیان

[1] Varga

می‌توان به کیسه‌های پلاستیکی، کپسول اکسیژن و وسیله نقلیه اشاره کرد (داداش پور، ۱۳۷۸). نیاز اصلی در این مورد حفظ سلامتی و فیزیولوژی ماهیان مولد می‌باشد و این ماهیان ارزش بالقوه زیادی دارند و نمی‌توان به این روش حمل و نقل انجام داد. با این وجود تراکم حمل این ماهی‌ها ۵ تا ۱۰ برابر کمتر از ماهیان بازاری در اندازه همسان می‌باشد (Ovlor *et al*., 1974). یکی از روش‌های خیلی موثر در سیستم حمل و نقل بسته ماهی، استفاده از کیسه های پلی اتیلن همراه با اکسیژن می‌باشد. استفاده از این روش باعث کاهش حجم کلی و وزن آب حمل شده، می‌شود و از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه می‌باشد (Vollmann- Schipper., 1975; Pecha *et al*., 1983).

۱-۴ رعایت اصول اولیه حمل و نقل:

۱-۴-۱ توجه به فاکتورهای موثر در حمل و نقل:

۱- سازگاری و تحمل ماهی: پایداری ماهی در شرایط استرس‌زای حمل و نقل بستگی به توانایی ماهی در سازگاری با محیط جدید دارد و استقامت آن‌ها در مراحل مختلف رشد تغییر می‌کند.
۲- عدم وجود غذا در روده: برای بازماندگی بیشتر ماهی می‌بایست ۱ تا ۲ روز قبل از حمل، غذا دهی به ماهی را قطع کرد. این عمل به دلیل سازگاری بهتر با شرایط استرس زا و بازماندگی ماهی می‌باشد.
۳- سن و اندازه: ماهیان با اندازه های مختلف از کوچک‌ترین تا بزرگ‌ترین سایز با رعایت نسبت مشخص آب، حمل می‌گردد (Bolorunduro, 1995).

۱-۴-۲ تأمین اکسیژن مورد نیاز:

در شرایط معمولی، اغلب گونه‌های ماهی، در هر ساعت معادل ۲۰۰ الی ۴۰۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن خود، اکسیژن مصرف می‌کنند (داداش‌پور، ۱۳۷۸). این مقدار مربوط به شرایط عادی است، اما در شرایط استرس‌زا مصرف اکسیژن به دو برابر مقدار مذکور نیز افزایش می‌یابد. برای مثال مخزن ۱۰۰۰ لیتری، با فرض غلظت اکسیژنی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، بعد از قرار گرفتن بچه ماهیان در مخزن، قسمت اعظم اکسیژن محلول در آب، در مدت کوتاهی مصرف خواهد شد. به منظور جبران اکسیژن مصرف شده، باید سیستم هوادهی برای تأمین اکسیژن مورد نیاز بچه ماهیان استفاده شود. سیستم‌های هوادهی و اکسیژن دهی در حمل و نقل استفاده می‌شود و میزان کارایی آن‌ها تحت تأثیر تکنیک‌های مورد استفاده، شرایط اختصاصی و بررسی و رفع مشکلات آن‌ها می‌باشد (Heiner.,1982; Johnson., 1979). سیستم هوادهی علاوه بر تأمین اکسیژن می‌تواند در از بین بردن گاز دی‌اکسید کربن موجود در آب نیز مؤثر باشد و پمپ چرخاننده آب باعث تبادل گازهای زائد

محلول در آب با هوا می‌شود (Proske, 1982; Leis, 1978). بدین منظور برای حفظ سلامتی ماهیان در حین جابجایی آب مخزن، باید نصف حجم آب در دقیقه چرخش یابد، این مقدار چرخش آب مخزن برای ماهیان گرم آبی و آزاد ماهیان ضروری است (داداش پور، ۱۳۷۸). استفاده از میله های کربنی با منفذهای ریز و سنگ سرامیکی به عنوان سنگ هوا، بازده انتقال گازها به آب را افزایش می‌دهد. به دلیل فراوانی عوامل متغیر در اکسیژن دهی، با قطعیت نمی‌توان مقدار جریان اکسیژن ورودی مورد نیاز برای نگهداری آب در حد اشباع یا نزدیک به آن را تعیین کرد (داداش پور، ۱۳۷۸). همچنین مقدار اکسیژن لازم برای خروج گازهای زائد از آب را نیز نمی‌توان تعیین کرد. مقدار اکسیژن ورودی به مخزن ماهی به عوامل مختلف بستگی دارد، شدت هیجانات و استرس ماهی، فعالیت شناگری، تراکم ماهی در مخزن، مدت زمانی که از آخرین وعده تغذیه گذشته است و شرایط فیزیکی و شیمیایی آب از جمله این عوامل می‌باشد (Swann, 2005).

شایان ذکر است که آب مخزن‌های حمل و نقل ماهیان باید از اکسیژن، فوق اشباع شود. در این حالت، اگرچه می‌توان وزن ماهی حمل شده یا تراکم آن را افزایش داد که از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه باشد؛ اما با وجود افزایش احتمال درصد بازماندگی، سطح CO_2 در خون شریانی ماهی افزایش خواهد یافت. حالت فوق اشباع در حمل و نقل هوایی در ارتفاع بالا نیز به وجود می‌آید (داداش پور، ۱۳۷۸).

۱-۴-۳ جلوگیری از ایجاد گازهای سمّی مخازن:

پس از بارگیری ماهیان و انتقال ماهی به مخازن حمل، آمونیاک و بقیه مواد دفعی ماهیان تولید شده به سرعت در آب مخازن جمع می‌شوند. با توجه به زمان تغذیه ماهیان و فاصله تا مقصد ممکن است غلظت آمونیاک موجود در آب به ۱۰ میلی‌گرم در لیتر یا حتی بیشتر هم برسد. غلظت کل آمونیاک موجود در آب نسبت به حالت سمّی آن موضوع مهمّی است که بیشتر از همه با pH آب ارتباط دارد ولی تا حدودی هم به دمای آب و غلظت کل جامدات محلول در آب و شوری آب نیز ارتباط پیدا می‌کند (داداش پور، ۱۳۷۸).

۱-۴-۴ بهبود شرایط حمل و نقل:

با ایجاد شرایط هوادهی ۵ تا ۱۰ دقیقه قبل از انجام عملیات بارگیری نیاز اولیه اکسیژن ماهی برآورده می‌شود. عدم غذا دهی به ماهی به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت قبل از حمل و استفاده از داروهای آرام‌کننده باعث کاهش استرس ناشی از دست‌کاری و حمل و جابجایی ماهیان می‌شود (داداش پور، ۱۳۷۸). عدم غذا دهی و گرسنگی در زمان حمل و نقل باعث کاهش متابولیسم ماهی و در نتیجه کاهش فضولات دفعی می‌شود (Zhou *et al.*, 2001). ایجاد شرایط دمایی مناسب برای ماهیان در زمان حمل و نقل از نکات خیلی مهم می‌باشد. تغییر دما در حمل و نقل بستگی به مدت زمان