(DOI): 10.22092/ISFJ.2025.134691 34(5) 1-16 Iranian Scientific Fisheries Journal

Effects of sodium formaldehyde bisulfite on ammonia detoxification and biological responses in Koi (*Cyprinus rubrofuscus*)

Adibi S.[1]; Ramezani M.[1*]; Kakoolaki S.[2]; Kazempoor R.[3]

*dr.mramezani@yahoo.com

1-Department of Science and Environment, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2-Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

3-Department of Aquatic Animal Health and Diseases, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: September 2024 Accepted: July 2025 Published: January 2026

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Introduction

In fish and other aquatic animal farming systems, ammonia is produced by protein metabolism and bacterial activity on excreta and ingested or unabsorbed nutrients (Zhang and Perschbacher, 2003). Exposure to ammonia can cause many toxic effects on fish, affecting physiological and biochemical functions. Ammonia accumulation in fish tissue causes disruption of the circulatory system and various hematological parameters related to lipid metabolism, the immune defense system, blood coagulation, and molecular transport. Exposure to ammonia also causes tissue damage, including to fish gills, liver, and kidneys, through oxidative damage and physiological toxicity. For this reason, in this study, it was decided to use sodium formaldehyde bisulfite (sodium hydroxymethanesulfonate) to reduce nitrogen compounds in reservoir water and some liver and immune blood indices of koi fish, for example, *Cyprinus rubrofuscus* (Xu *et al*., 2021). The present study aimed to evaluate the toxic effects of high ammonia (1.5 mg/L) on koi carp and the potential protective role of FBS. Specifically, the objectives were: (1) to assess the impact of severe Sodium formaldehyde bisulfite (CH_3NaO_4S; FBS) is widely used to mitigate ammonia toxicity in aquaculture. It functions by chelating free ammonia, reducing its bioavailability and harmful effects. FBS has been approved by the U.S. Food and Drug Administration (FDA) for use in edible aquatic species since 1989 and is effective across a broad range of water ,temperatures, including near-freezing conditions. Its application has been documented in fish, bivalves and crustaceans, making it a versatile and cost-effective solution for ammonia management in diverse aquaculture settings.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

Methodology

A total of 360 koi Fish (*Cyprinus rubrofuscus*) with an average weight of 50 g were randomly assigned to 24 aquaria, following a completely randomized design. Six treatments were established, but this study focuses on the highest ammonia exposure (T4, 1.5 mg/L) and two control groups: a positive control (FBS only) and a negative control (no additives**)**. Each treatment had four replicates with 15 fish per tank. FBS was administered proportionally to ammonia concentration. The experiment continued until 50% mortality occurred in T4. Water quality parameters—including ammonia, nitrite, nitrate, pH, hardness, dissolved oxygen, and temperature—were monitored daily, in line with standard aquaculture management guidelines (Boyd and Tucker, 1998). Fish were sampled at mortality checkpoints; two individuals per tank were collected for hematological, serum, and histopathological analyses. Blood was analyzed for RBC and WBC counts, hemoglobin, hematocrit, lymphocyte percentages, and neutrophil percentages. Serum complement proteins C3 and C4 and enzyme activities including ALT (SGPT), AST, and ALP were measured .Tissue samples from gills, liver, and kidneys were fixed, sectioned, and examined microscopically for histopathological changes. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at $p<0.05$.

Results

Exposure to high ammonia (T4, 1.5 mg/L) caused significant negative impacts on koi rubrofuscus. Final body weights in T4 were significantly lower than controls, with a negative specific growth rate (SGR) indicating growth suppression. Survival was 100% in +C and -C, but lower in higher ammonia treatment4. Table 1 summarizes biometric differences.

Table 1: Investigating the differences in biometric and growth indices of koi fish

Treatment	Initial weight(grams)	Secondary weight (gram)	Specific growth rate (SGR)	Weight gain (gram) WG	Initial length (cm)	Secondary length (cm)	Survival rate SR
T4	48.58±0.26	48.12±0.45 [a]	-0.032±0.04	46.58±0.0	16.51±0.18 [ab]	16.48±0.18	77/98±3/85 a
C+	48.26±0.26	48.96±0.14 [b]	0.048±0.016	0.71±0.22	16.7±0.14 [b]	16.9±0.12	100±0 c
C-	48.14±0.23	48.71±0.28 [ab]	0.039±0.034	0.57±0.49	16.4±0.27 [ab]	16.6±0.21	100±0 c
p-value	0.199	0.036*	0.045	0.041	0.053	0.064	0/041*

Water quality in treatmentT4 . The results revealed no significant difference in pH between experimental treatments based on the days of study. the study, the highest and the lowest pH was related to the main treatment3 and negative control treatment, respectively. Also on the sixth day, the highest and the treatment4. Hematological analysis revealed significant stress in T4 fish. Hemoglobin and hematocrit decreased, and RBC and WBC counts were significantly lower than in controls., with C3 and C4 complement proteins elevated, alongside increased ALT, AST, and ALP, indicating hepatic disturbance. Histopathology showed epithelial hyperplasia and lamellar fusion in gills, tubular degeneration in kidneys, and vacuolated hepatocytes in the liver. Positive control fish maintained nearly normal tissue architecture, supporting the protective role of FBS. Overall, T4 ammonia exposure induced multi-level disturbances affecting growth, hematology, serum chemistry, and tissue integrity. FBS mitigated these effects, maintaining better survival, growth, and physiological health.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

Discussion and conclusion

High ammonia levels are a significant stressor for koi carp, causing hematological, enzymatic, and histopathological abnormalities Decreased hemoglobin and hematocrit impair oxygen transport, while elevated liver enzymes indicate metabolic dysfunction. Histopathological changes in the gills, kidney and liver indicate direct tissue damage and confirm the multi- organ toxicity of ammonia (Das *et al*., 2004; Gao *et al*., 2020). Research has shown that exposure of fish to nitrite will decrease the amount of immunoglobulin IgM and lysozyme (Ciji and Akhtar, 2020). This is also agrees with the findings of this study (Table4). it was found that the change in the results of some researchers (Garcia et al., 2020) showed that the decrease in MDA levels after exposure of lamprey fish to diesel oil contaminants is likely to indicate a relationship between increased antioxidant protection, MDA metabolism and MDA excretion in water. There was no significant difference between the control and 1 groups in terms of MDA content, but it increased with increasing ammonia content. This indicates that FBS has been able to inhibit the negative effects of ammonia, but this problem has shown itself in groups 3 and 4.

According to the research, it is necessary to conduct additional research on the removal of FBS on other fish, in larger scale and for a longer period of storage. It is obvious that since nitrogenous substances are one of the main problems of aquaculture farms, this additional research can be effective in reducing such toxic substances. Ammonia nitrogen is a common environmental limiting factor in aquaculture that can accumulate rapidly in water and reach toxic concentrations. In most aquatic environments, fish are vulnerable to the toxic effects of high levels of ammonia nitrogen. It has been determined that the toxic effects of ammonia nitrogen on fish are multi-mechanistic. Therefore, the aim of this review is to investigate the various toxic effects of ammonia nitrogen on fish, including oxidative stress, neurotoxicity, tissue damage, and immune response.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors thank the ornamental fish breeding center for providing experimental fish and laboratory staff for technical assistance with water analysis, blood sampling, and histopathology.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

مجله علمی شیلات ایران ۱۶-۱ (۵) ۳٤ (DOI): 10.22092/ISFJ.2025.134691

مقاله علمی – پژوهشی:

بررسی اثر فرمالدئید بی سولفیت سدیم (هیدروکسی متانوسولفانات سدیم) در کاهش ترکیبات ازته آب مخازن و بر برخی شاخص‌های خونی، ایمنی و کبدی ماهی کوی (*Cyprinus rubrofuscus*)

سمانه ادیبی[۱]، مهدی رمضانی*[۱]، شاپور کاکولکی[۲]، رضا کاظم پور[۳]

*Dr.mramezani@yahoo.com

۱- گروه علوم و محیط زیست، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳- گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، واحد علوم و تحقیقات،دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ۱٤۰۳ تاریخ پذیرش: تیر ۱٤۰٤ تاریخ چاپ: دی ۱٤۰٤

چکیده

نیتروژن آمونیاکی آلاینده اصلی، مصرف‌کننده اکسیژن و یک عامل محدودکننده محیطی رایج در آبزی‌پروری است که می‌تواند به‌سرعت در آب انباشته شود و به غلظت‌های سمی برسد. ماهی‌ها به‌خصوص ماهی کوی (*Cyprinus rubrofuscus*)، در برابر سمیّت ناشی از نیتروژن آمونیاکی آسیب‌پذیر هستند. در مطالعه حاضر، اثرات سمی مختلف آمونیاک بر ماهی کوی ازجمله شاخص‌های آبی، خونی، کبدی، رشدی و پاسخ ایمنی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، تعداد ۳۶۰ عدد ماهی کوی با میانگین وزنی ۵۰ گرم به صورت تصادفی در ۲۴ آکواریوم (۱۵ قطعه در هر اکواریوم) قرار داده شدند. و آزمون در ۶ تیمار با چهار تکرار و در هر تکرار ۱۵ عدد ماهی به ازاء هر ۱ ppm آمونیاک تام ۳۱ میلیگرم FBS در هر لیتر استفاده شد. آزمون‌ها تا تلف شدن ۵۰ درصد ماهیان ادامه یافت و نمونه‌برداری از روز صفر لغایت روز ۱۴ انجام شد. نتایج بررسی شاخص‌های رشد مربوط به ماهی‌های کوی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در گروه‌های مختلف از مقادیر میانگین وزن، درصد بازماندگی و درصد رشد روزانه پس از پایان تحقیق وجود دارد. بررسی شاخص‌های مربوط به آب نشان داد که تفاوت معناداری در میزان سختی آب بین روزهای مورد بررسی مربوط به تیمار چهارم (p=۰/۰۳۹) وجود دارد. نتایج مربوط به شاخص‌های خونی مانند (لمفوسیت ، نوتروفیل ، هماتوکریت ، هموگلوبین، گلبول سفید و گلبول قرمز) نشان داد که تفاوت معناداری در بین تیمار ۴ در شاخص لمفوسیت وجود دارد. همچنین در تیمار موردنظر در شاخص نوتروفیل، هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) (میلی‌لیتر) و تعداد گلبول‌های سفید خون (WBC) (میلی لیتر)، تفاوت معنادار مشاهده شد. بررسی نتایج نشان داد که در تیمار ۴، در شاخص‌های سرمی C3و C4 (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)، SGPT[۱] (واحد بر لیتر) و(ALP[۲] (واحد بر لیتر)، تفاوت معناداری نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد (p<0.05).نتایج هیستوپاتولوژی نشان داد که هپاستوسیت‌ها و سینوزوئیدهای کبدی بدون عارضه دیده می‌شوند که نشان از عدم تأثیر آمونیاک به مقدار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر در مواجهه با FBS (۵۵/۱ گرم)، بوده است. نتیجه نهایی این تحقیق نشان داد که FBS به‌تنهایی توانست بیشترین بار آمونیاکی را طی ۶ روز تحقیق و حتی پس از برداشتن کیسه FBS از آکواریوم‌ها بردارد. براساس نتایج حاصله از جدول نیتریت چنین به نظر می رسد که FBS توانسته است مقادیر نیتریت ۶ روزه را به میزان قابل ملاحظه ای در گروه کنترل مثبت نسبت به گروه کنترل منفی کاهش دهد. عدم تفاوت معنی‌دار بین مقادیر آمونیاک در گروه‌های شاهد مثبت و منفی در روزهای مشابه نمونه‌برداری می‌تواند حاکی از عدم تأثیرFBS بر کاهش نیترات آب در مطالعه حاضر است. براساس نتایج حاصله، هر یک از شاخص‌های خونی، ایمنی و کبدی ماهی کوی در حضور FBS تغییر می‌کند.

لغات کلیدی: ماهی کوی، بی سولفیت سدیم، آمونیاک، آب مخازن، شاخص خونی

*نویسنده مسئول

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

[1] Serum glutamate pyruvate transaminase (SGPT)
[2] Alkaline Phosphatase (ALP)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

مقدمه

آمونیاک متداول‌ترین عامل آلودگی آب است که می‌تواند از طریق خروج مواد زائد گیاهی، تخریب مواد آلی حاوی نیتروژن، رواناب کود و منابع صنعتی وارد سیستم‌های طبیعی آبی شود (Capkin *et al.*, 2009). ترکیبات نیتروژن (نیتریت، نیترات و آمونیاک)، برای ماهی سمی در نظر گرفته می‌شوند، زیرا می‌توانند تغییرات بافت‌شناسی و بیوشیمیایی را افزایش دهند، ظرفیت حمل اکسیژن در خون را کاهش دهند و بر تناسب‌اندام (آمادگی بدن از نظر رشد و شنا)، تأثیر بگذارند. تغییرات به‌اصطلاح جهانی (تغییرات آب و هوایی و کاربری زمین)، می‌تواند این ورود ترکیبات نیتروژنی را از طریق فعالیت‌های انسانی (کشاورزی و انتشار پساب‌هایی مانند فاضلاب خانگی)، تقویت و تشدید کند. ماهی‌ها معمولاً با آلاینده‌های مختلف در تماس هستند و ترکیبی از عوامل محیطی (دما، pH، در دسترس بودن اکسیژن و سختی)، می‌تواند اثرات هم‌افزایی یا متضاد داشته باشد (de Araújo *et al*., 2021). آبزی‌پروری در دو دهه اخیر بیشترین رشد را بین سایر بخش‌های تولید غذا از جمله دام و طیور از خود نشان داده است. براساس گزارش سازمان خوار و بار جهانی (FAO) در بین بیش از ۷۰ سیستم پرورش انواع موجودات زنده تأمین‌کننده غذای جامعه بشری، آبزی‌پروری تنها منبعی است که بیشترین انگیزش را برای اشتغال‌زایی و فقرزدایی دارد (FAO, 2012).

افزایش فعالیت‌های آبزی‌پروری با مشکلاتی نیز همراه است. یکی از مشکلات این فعالیت، پساب آمونیاکی ناشی از فعالیت‌های آبزی‌پروری است که باعث یوتریفیکاسیون آبهای دریافت‌کننده آنها می‌شود. آمونیاک به‌واسطه سمی بودن حتی در غلظت‌های پایین، ممکن است اثرات منفی بر بافت‌ها و شاخص‌های فیزیولوژیک (نرخ رشد، میزان مصرف اکسیژن و مقاومت در برابر بیماری)، در ماهی‌ها داشته باشد. آبزی‌پروری طی دهه‌های اخیر رشد فزاینده‌ای داشته است به‌طوری‌که در دهه ۵۰ میلادی، تولید آبزیان پرورشی قریب به یک میلیون تن بوده و در سال ۲۰۱۶ این مقدار بیش از ۱۵۰ میلیون تن گزارش گردیده است. یکی از مهم‌ترین مسائل مربوط به پرورش یک‌گونه آبزی، شناخت روابط بین شاخص‌های زیستی و غیر زیستی و تأثیر آنها بر رشد و بازماندگی موجود و تعیین الگوی روابط بین آنهاست (Boyd and Tucker, 1998).با توجه به اهمیت مسمومیت با آمونیاک در آبزی‌پروری و مشکلاتی که در تشخیص و رفع این عارضه وجود دارد، لزوم یافتن روش‌های جدید حذف عوامل استرس‌زای ماهی ازجمله آمونیاک آزاد با توجه به امکانات موجود کشور احساس می‌گردد.

یکی از مواد شیمیایی رایج برای خنثی‌سازی آمونیاک آزاد فرمالدئید بی‌سولفیت سدیم (CH_3NaO_4S) است که قادر است، آمونیاک آب را به‌خود شلاته کرده و از محیط حذف نماید و هم‌زمان مورد تأیید سازمان دارو و غذا آمریکاست (FDA). این ترکیب، ارزان است و امکان استفاده آن در هر دمای آبی حتی تا دمای صفر درجه نیز وجود دارد. این ترکیب را سازمان FDA (۱۹۸۹) بر کلیه آبزیان خوراکی (در محیط آبی) از جمله ماهی، دوکفه‌ای‌ها و سخت‌پوستان استفاده کرده و تأیید شده است.

شاخص‌های کلیدی مانند تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون، هموگلوبین، هماتوکریت، پروتئین‌های کمپلمان سرم و فعالیت‌های آنزیمی، بینش‌های مهمی در مورد پاسخ ماهی به استرس آمونیاک ارائه می‌دهند (Atli and Canli, 2010; Gao *et al*., 2020).

در سیستمهای پرورشی ماهیان و سایر آبزیان، آمونیاک به واسطه متابولیسم پروتئین و فعالیتهای باکتریایی بر مواد دفعی و مواد غذایی خورده شده یا جذب نشده، تولید می‌شود Zhang and Perschbacher, 2003 قرار گرفتن در معرض آمونیاک میتواند اثرات سمّی بسیاری را برای ماهی ایجاد کند و بر عملکردهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تأثیر بگذارد .تجمع آمونیاک در بافت ماهی باعث اختلال در سیستم گردش خون

و پارامترهای مختلف هماتولوژیک مرتبط با متابولیسم لیپید، سیستم دفاعی ایمنی، انعقاد خون و انتقال مولکولی میشود ..قرار گرفتن در معرض آمونیاک همچنین باعث آسیب بافتی از جمله آبشش ماهی، کبد و کلیه ها از طریق آسیب اکسیداتیو و سمیّت فیزیولوژیکی میشود .به همین دلیل در این مطالعه تصمیم گرفته شد که جهت کاهش ترکیبات ازته آب مخازن و برخی شاخصهای خونی کبدی وایمنی ماهی کوی به طور نمونه ماهی کوی *Cyprinus*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

*rubrofuscus*از فرمالدئید بی سولفیت سدیم هیدروکسی متانوسولفانات سدیم استفاده کنیم (Xu *et al*., 2021).

ماهی کوی (*Cyprinus rubrofuscus*)، گونه‌ای از ماهی سیپرینید است و شکل وحشی آن به کوی معروف است. این ماهی در آبهای شیرین آسیای شرقی، بومی چین، ویتنام و لائوس از حوضه رودخانه آمور تا سرخ گسترده شده و خارج از محدوده بومی خود معرفی شده است. کوی دارای رنگ‌های روشن و الگوهای متنوع است. ماهی کوی بدنی کشیده دارد و دارای باله پشتی، یک جفت باله سینه‌ای، یک جفت باله لگنی، باله دمی و باله مخرجی است. ماهی کوی در آب‌وهوای معتدل، آب شیرین و در دمای ۳۰-۸ درجه سانتی‌گراد زندگی می‌کند. رشد نتیجه افزایش وزن و طول است به‌طوری‌که ماهی‌ها بزرگ به‌نظر می‌رسند. افزایش وزن ماهی تحت تأثیر عوامل متعددی ازجمله تغذیه خوراک، ویژگی‌های ژنتیکی، شرایط محیطی به‌خصوص شرایط عاری از آفات و بیماری‌هاست. کیفیت آب یکی از عوامل تعیین‌کننده رشد ماهی است. یکی از شرایطی که می‌تواند زندگی ماهیان را مختل کند، pH بسیار پایین (بسیار اسیدی) یا خیلی زیاد (بسیار قلیایی) است. دمای آب عامل مهمی است که باید مورد توجه قرار گیرد زیرا می‌تواند بر میزان متابولیسم بدن ماهی در رشد تأثیر بگذارد. یکی از نیازهای ماهی‌ها برای زنده ماندن، اکسیژن است. میزان اکسیژن محلولی که می‌تواند از نگهداری ماهی کوی پشتیبانی کند، حدود ۳ میلی‌گرم در لیتر است. در ادامه به چندین مورد از مطالعات انجام شده در این زمینه اشاره می‌شود.

Handy و Poxton (۱۹۹۳) بیان نمودند که افزایش سمیت آمونیاک برخلاف آب شیرین در آب شور با کاهش قلیائیت، افزایش می‌یابد. مقدار سمیت برای ماهیان دریائی ۰/۰۹ تا ۳/۳۵ میلی گرم در لیتر بسته به دما، pH و گونه آبزی متفاوت است.

Seager و همکاران (۱۹۸۸) بیان نمودند که اکثر بافت‌های بیولوژیک نسبت به آمونیاک (بر خلاف آمونیوم یا آمونیاک یونیزه)، نفوذپذیر است. Ramos و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای به بررسی حذف نیتروژن به روش بیولوژیک و فنل از فاضلاب‌های نمکی صنعتی به‌وسیله راکتور فیلم ثابت غوطه‌ور پرداختند. به رغم محدودیت‌های مورد مشاهده در فرایند نیتریفیکاسیون، نتایج مربوط به حذف نیتروژن کل به میزان ۸۳٪، به دلیل ترکیبی از فرآیندهای مختلف برای از بین بردن نیتروژن انجام شد. (Shengming *et al.,* 2015)

به مطالعه حذف آمونیوم از استخرهای آبزی‌پروری با استفاده از میکروارگانیسم‌های اکسیدکننده آمونیاک بی‌تحرک بیوکسیل موقت پرداختند. نتایج حاکی از آن بود که استفاده از PFC به عنوان یک بیوشکر معلق در استخرهای آبزی‌پروری، یک روش عملی و ارزان برای از بین بردن یون آمونیوم در محل است. Khalil و همکاران (۲۰۱۸) به مطالعه حذف آمونیوم از مزارع پرورش ماهی با استفاده از بیوچار حاصل از نی برنج پرداختند و ایزوترم‌ها و مطالعات جنبشی جذب آمونیوم را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که معیار به‌دست آمده از برنج از معادله شبه مرتبه دوم برای سینتیک جذب آمونیوم پیروی می‌کند (R=۰/۹۸). همچنین ایزوترم جذب از مدل فروندلیچ (R^2=۰/۹۹) و مدل لانگمویر (R^2=۰/۹۸) پیروی می‌کند. (Kim *et al*.,2021)

به ارزیابی فیزیولوژی خون و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی و ایمنی ماهی کفشک زیتونی (Olive Flounder) در اثر تغییرات pH در آب پرداختند. پارامترهای فیزیولوژی خون، مانند سطوح هماتوکریت، منیزیم، گلوکز، گلوتامیک اگزالات ترانس آمیناز (GOT)، گلوتامیک پیروات ترانس آمیناز (GPT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) به طور قابل توجهی توسط pH پایین (اسیدی) یا pH بالا (قلیایی) تغییر کردند. مطالعه حاضر، به منظور شناسایی پاسخ‌های ماهیان کوی نسبت به استرس مزمن آمونیاک در آکواریوم انجام شد تا اثرات مخرب آمونیاک و کاهش احتمالی حذف این اثرات با استفاده از فرمالدئید بی‌سولفیت سدیم بر این گونه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌کار

زمان و محل اجرای تحقیق

از روز اول لغایت روز پنجم مقادیر مختلفی از آمونیاک و FBS در آکواریوم‌ها ریخته شد و سپس یکی از بسته‌های FBS از ۴ آکواریوم هر گروه خارج گردید و در عمل تا روز

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

ششم تحقیق، هیچ بخشی از FBS در ۳ آکواریوم باقی‌مانده جابه‌جا نگردید.

تهیه ماهی و سازگاری به شرایط آزمایشگاه

بر اساس طرح، تعداد ۲۴ عدد آکواریوم ۱۰۰ لیتری به ابعاد ۴۰×۴۰×۱۰۰ انتخاب شد. برای انجام این تحقیق، تعداد ۳۶۰ عدد ماهی کوی با میانگین وزنی ۱/۶۹۸±۴۸/۴۸ گرم و میانگین طولی ۰/۹۹± ۱۶/۵۵ سانتی متر از یک مرکز پرورش ماهیان زینتی در گیلان خریداری شد و پس از انتقال به آزمایشگاه به صورت تصادفی در ۲۴ آکواریوم (۱۵ عدد در هر آکواریوم) تقسیم شدند. برای سازگاری ماهی با شرایط آزمایشگاهی، ماهی‌های خریداری شده دو هفته پیش از شروع آزمون در تانک‌های دارای پمپ هوای مرکزی نگهداری شده و در این مدت دو مرتبه در روز با خوراک تجاری تغذیه شدند. طی آزمایش، دوره نوری با لامپ‌های ۲۵ واتی به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی برای مخزن‌ها تنظیم شد. پس از آبگیری اولیه آکواریوم‌ها، اکسیژن‌رسانی در داخل هر آکواریوم از طریق پمپ مرکزی به طور یکسان در هر ۲۴ تانک صورت گرفت. سپس آکواریوم‌ها ماهی‌دار شدند. ماهیان پس از دو هفته سازگاری با شرایط کارگاه، از نظر سلامتی و وضع ظاهری بررسی شدند. به منظور خروج فضولات و مواد زاید در دوره آداپتاسیون، آب تانک‌ها هر روز غروب پس از آخرین وعده غذایی سیفون شدند و هفته‌ای یک الی دوبار آب تانک‌ها به میزان ۵۰-۲۵ درصد تعویض گردید.

تغذیه و غذادهی

غذای مورد نیاز هر تانک با توجه به نتایج به‌دست آمده از زیست‌سنجی هر تانک پرورشی محاسبه و تنظیم گردید. غذادهی در زمان آداپته شدن و آزمایش به اندازه ۵ درصد وزن بدن و مدت دوره آزمایش ۱ ماه، در دو نوبت (ساعات ۹:۰۰، ۱۶:۰۰) با جیره آماده صورت گرفت. در تحقیق حاضر، از جیره غذایی (پروتئین ۵۲ درصد، چربی ۱۲/۵درصد و فیبر خام ۱/۵درصد) شرکت ۲۱ بیضاء (شیراز، ایران) با اندازه ۲ میلی‌متر استفاده شد.

تیمارهای آزمایش

آزمایش در ۶ تیمار و با چهار تکرار که به ازاء هر ۱ ppm آمونیاک تام ۳۱ میلیگرم FBS در هر لیتر استفاده شد و بصورت ذیل بود:

T1، مواجهه با آمونیاک در غلظت (میلی گرم در لیتر) ۰/۵ و مقدار ۱/۵۵ گرم FBS به ازاء هر ۱۰۰ لیتر آب
T2، مواجهه با آمونیاک در غلظت (میلی گرم در لیتر) ۰/۷۵ و مقدار ۲/۳۲۵ گرم FBS به ازاء هر ۱۰۰ لیتر آب
T3، مواجهه با آمونیاک در غلظت (میلی گرم در لیتر) ۱ و مقدار ۳/۱ گرم FBS به ازاء هر ۱۰۰ لیتر آب
T4، مواجهه با آمونیاک در غلظت (میلی گرم در لیتر) ۱/۵ و مقدار ۴/۶۵ گرم FBS به ازاء هر ۱۰۰ لیتر آب
C-که شاهد منفی بوده و هیچ ترکیب افزودنی ندارد.
C+به‌عنوان شاهد مثبت، ۴/۶۵ گرم FBS در ۱۰۰ لیتر آب بود (برای بررسی اثر منفی احتمالی این ترکیب).

در مطالعه حاضر، ابتدا ۴ غلظت آمونیاک که حداقل احتمال تلفات در ۲ مورد از آنها بر اساس منابع محتمل است، به عنوان تیمارهای مرحله اول تحقیق انتخاب شدند (Watson *et al*, 2010). در واقع، ۴ تیمار ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۵ (میلی‌گرم در لیتر) آمونیاک در ۴ تکرار به‌گونه‌ای انتخاب شدند که در هر مخزن ماهی ۱۵ ماهی وجود داشته باشد. پس از ذخیره‌سازی ماهی‌ها به مدت دو روز، اجازه داده شد تا ماهی‌ها با محیط جدید سازگار شوند و سپس کار در روز سوم تحقیق شروع شد. چون به ازاء هر ۱ ppm آمونیاک تام ۳۱ میلیگرم FBS در هر لیتر استفاده شد. بنابراین، در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر، مقدار ۱/۵۵ گرم FBS در داخل یک کیسه به آب اضافه شد. به همین ترتیب به تیمارهای ۰/۷۵، ۱ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر به‌ترتیب میزان ۲/۳۲۵ گرم، ۳/۱ گرم و ۴/۶۵ گرم FBS به ازاء هر ۱۰۰ لیتر در

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

داخل یک کیسه به آب آکواریوم اضافه گردید. به عبارت دیگر، با احتساب ۲ گروه شاهد (اولی شاهد منفی بوده که هیچ ترکیب افزودنی ندارد و دومی به عنوان شاهد مثبت دارای ۴/۶۵ گرم FBS در ۱۰۰ لیتر آب است)؛ ۶ گروه اصلی در ۴ تکرار، ۳۶۰ ماهی مورد نیاز بود. طول زمان تحقیق در این فاز مبتنی بر مدت زمانی بود که ۵۰ درصد ماهی‌ها در مخازن زنده باشند. البته حداکثر مدت زمان موردنظر برای این تحقیق ۱ ماه بود تا بتوان تأثیر غلظت‌های مختلف آمونیاک را بر بافت‌های ماهی مشخص نمود.

بررسی کیفی ماهی‌ها در طول دوره آزمایش

تلفات و تغییر رفتارهای شنا و رنگ ماهی‌ها با گرفتن عکس از آنها، در آکواریوم‌هایی که کیسه از آنها خارج شده یا مواردی که کیسه FBS آنها خارج نشده بود، در روزهای بعدی صورت گرفت. همچنین در ابتدا و در انتهای دوره، ماهی‌ها توزین شده و طول آنها اندازه‌گیری شد.

بررسی کیفی محیط پرورش ماهی‌ها

هوادهی تانک‌ها با استفاده از سنگ هوای متصل به کمپرسور مرکزی انجام شد. به منظور جلوگیری از آلودگی و خارج کردن غذای باقی‌مانده و فضولات، در ابتدا آب تانک‌ها برای کاهش استرس ماهیان، هر روز غروب پس از آخرین وعده غذایی سیفون گردید و سپس آب تانک‌ها هفته‌ای یک الی دوبار به میزان ۵۰-۲۵ درصد تعویض شد. در صورت مشاهده تلفات در حوضچه‌ها، بلافاصله ماهی‌های تلف‌شده خارج گردید. اندازه‌گیری آمونیاک روزانه یک‌بار صورت گرفت و ثبت شد تا مشخص شود چه میزان از آمونیاک بر ماهی تحمیل‌شده است. آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی آب مانند سختی کل (استاندارد ملی ایران ۸۶۵۲)، آمونیاک کل (استاندارد بین‌المللی ۸۰۳۸)، نیترات (استاندارد بین‌المللی ۸۰۳۹)، نیتریت (استاندارد بین‌المللی ۸۵۰۷)، اسیدیته (استاندارد ملی ایران ۱۴۱۳۱)، هدایت الکتریکی (استاندارد ایران ۷۴۷۶)، دما، اکسیژن محلول (دستگاه‌های اکسیژن متر و pH متر) اندازه گیری شد و آمونیاک غیریونیزه نیز از طریق تبدیل آمونیاک تام بدست آمد. برای اندازه‌گیری سختی کل از روش (EDTA Titrimetric) (ISIRI,8652) ، برای آمونیاک کل از روش (EPA Method 8038, 2010) (USEPA/Colorimetric)، برای نیترات از روش (USA/Colorimetric) یا (Cadmium Reduction Method)، برای نیتریت از روش (Colorimetric) یا (Method 8507,2010 USEPA)، برای اسیدیته از روش (Electrometric یا pH Meter ,ISIRI,1431)، برای هدایت الکتریکی از (ISIRI ,7476 Conductivity Meter)، برای دما از (BENETECH GM1311.Thermometric Probe)، برای اکسیژن محلول از روش (Electrode/Optical DO) (AZ-8403) (Meter) استفاده شد و مقدار آمونیاک غیریونیزه نیز بر اساس آمونیاک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری شاخص‌های آب

نمونه‌برداری از همان مخزن نگهداری ماهی انجام شد. آب از اکواریوم ماهی، در دو عمق (سطح و میانه) با ۴ تکرار جمع‌آوری گردید و ازهر تکرار دو ماهی نمونه‌برداری شد.

اکسیژن محلول موجود با استفاده از دستگاه اکسیژن‌متر مدل (AZ-8403) (میلی گرم در لیتر) اندازه‌گیری شد. اکسیژن‌متر دارای یک الکترود است که نمونه محلول در آن با غشایی که نسبت به اکسیژن خاصیت تراوایی دارد، نگهداری می‌شود. زمانی که اکسیژن از این غشاء عبور کند، به الکترود می‌رسد.

برای اندازه‌گیری نیترات و نیتریت محلول در آب از روش کالریمتریک به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتری استفاده شد. غلظت نیترات و نیتریت محلول در آب با استفاده به روش رنگ‌سنجی مطابق با استانداردهای (Method 8507, 2010) (USEPA/Colorimetric) (USA/Colorimetric) و (Cadmium Reduction Method)، اندازه‌گیری شد. مقدار سختی کلی آب بیانگر مقادیر یون‌های منیزیم و کلسیم حل‌شده در آب است. در این پژوهش مقدار کلسیم و منیزیم موجود در آب با روش تیتراسیون اندازه‌گیری شد. میزان آمونیاک در آب از طریق روش نسلر و با استفاده از اسپکتروفتومتری تعیین شد. برای اندازه‌گیری میزان آمونیوم در آب نیز ابتدا محلول‌های استاندارد تهیه شد. برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (EC) از دستگاه هدایت‌سنج

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

(ECمتر)، استفاده شد که عملکرد آن بر مبنای اندازه‌گیری آنیون‌ها و کاتیون‌های موجود در آب است.

اندازه‌گیری pH

در این پژوهش برای اندازه‌گیری مقدار pH از دستگاه pH متر دیجیتالی استفاده شد. کار با آن بسیار ساده است به‌طوری‌که پس از قرارگرفتن در آب، میزان دقیق pH در صفحه نمایشگر به نمایش درآمد.

اندازه‌گیری دما

برای اندازه‌گیری دمای آب از دماسنج آکواریومی استفاده شد. برای تنظیم دمای آب، بخاری روی دمای مشخصی قرار داده شد و پس از چند ساعت، دمای آب قرائت گردید.

مطالعه هماتولوژی

به منظور بررسی شاخص‌های خونی در انتهای دوره آزمایش بعد از شروع تلفات از هر تکرار و تیمار به صورت تصادفی تعداد ۲ عدد ماهی (در مجموع ۴۸ نمونه) انتخاب شد و از خون آنها نمونه‌برداری گردید. برای این‌کار، با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌متری و از طریق سیاهرگ ساقه دمی واقع در پشت باله مخرجی، خون‌گیری انجام شد. شاخص‌های خونی شامل تعداد هماتوکریت، هموگلوبین و نوتروفیل اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری هماتوکریت

برای اندازه‌گیری هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت همراه با سانتریفیوژ Nuve به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه استفاده شد. برای محاسبه درصد هماتوکریت خون، بلافاصله پس از خونگیری و پیش از لخته شدن خون، ۲/۳ حجم لوله‌های موئینه هپارینه با خون همگن‌شده پر شدند. درصد هماتوکریت هر نمونه خون روی خط کش مخصوص محاسبه گردید.

اندازه‌گیری هموگلوبین

هموگلوبین (HB) با واحد گرم در دسی لیتر با استفاده از محلول درابکین (سیانومت هموگلووبین) در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از منحنی استاندارد اندازه گیری شده است.

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون

آلبومین

در آزمایش تعیین مقدار آلبومین سرم خون با روش فتومتریک، آلبومین موجود در سرم ,BROMOCRF501 GREAN(در pH اسیدی) یک کمپلکس رنگی سبز - آبی ایجاد کرد که شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار آلبومین در نمونه است. به منظور اندازه‌گیری پروتئین کل (TP)، از کیت‌های تشخیصی شرکت بیونیک (تهران، ایران) به روش کالریمتریک در طول موج ۵۴۰ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. سنجش آنزیم لیزوزیم به روش کدورت‌سنجی (توربیدیمتریک) و به‌وسیله کیت الیزا با استفاده از لیزوزیم سفیده تخم مرغ به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری این شاخص از کیت ZellBioGmbH استفاده شد. این کیت برای سنجش کیفی نمونه‌های بیولوژیک انسانی و حیوانی به‌کار می‌رود. مالون دی آلدهید بر اساس روش کالریمتریک در طول موج ۵۳۵ نانومتر است.

اندازه‌گیری کمپلکس C3 و C4

برای اندازه‌گیری شاخص‌های C3 و C4 از روش ایمنوتوربیدی متری و دستگاه اتوآنالایزر (پرستیژ، ژاپن) استفاده شد. از کیت الیزا (ELISA) یا کیت کمپلمان ماهی (C4)[1] برای سنجش C3 در نمونه سرم ماهی استفاده شد (ZellBio GmbH، آلمان). از کیت الیزا (ELISA) یا کیت کمپلمان ماهی (C3)[2] برای سنجش C3 در نمونه سرم ماهی استفاده شد (ZellBio GmbH، آلمان). سوپراکسید دیسموتاز (SOD) کیت سنجش ZellBio Gmbh، از سوپر اکسید آنیون برای تبدیل به پراکسید هیدروژن و اکسیژن در شرایط واکنش آنزیمی استفاده می‌کند. در نهایت محصول

[1] Fish Complement 4 (C4)

[2] Fish Complement 3(C3)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

یک کروموژن رنگی است که نتیجه رنگ‌سنجی در ۴۲۰ نانومتر، قابل اندازه‌گیری است (ZellBio GmbH، آلمان).

سنجش شاخص‌های کبدی

استخراج عصاره آنزیمی بافت کبد (Atli and Canli, 2010)، پروتئین محلول عصاره آنزیمی بافت کبد (Bradford, 1976)، آنزیم‌های(ALP[1] klin *et al*., 1972، AST[2] و ALT[3]) و اسید فسفاتاز (Bessey *et al.*,1946). انجام شد .

آنزیم ALP

در این مطالعه، برای سنجش آنزیم ALP از روش DGKC (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) فتومتریک و کیت Alkaline (Phosphatase LS)، استفاده شد. این کیت به‌وسیله سوبسترای (ρ-Nitrophenylphosphate) و بافر DEA طراحی شده است. برای سنجش از دو معرف(R1: Buffer Reagent) و (R2: Substrate Reagent) استفاده شد. ابتدا مقدار ۲۰ میکرولیتر از نمونه سرم هپارینه با مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول معرف R1 با یکدیگر مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد آنکوبه شد و سپس مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از معرف R2 اضافه گردید. پس از مخلوط نمودن، مقدار جذب نوری در طول موج ۴۱۰-۴۰۵ نانومتر بعد از یک دقیقه قرائت شد و بلافاصله کورنومتر به کار انداخته شد و دقیقاً پس از ۱، ۲ و ۳ دقیقه، اختلاف جذب نوری در دقیقه قبل تعیین شد. روش محاسبه براساس معادله (۱) است:

$$ALP(U/L)= \Delta A/min \times 3433 \quad (۱$$

آنزیم AST

سنجش آنزیم AST نیز با کیت تشخیصی پارس آزمون با روش فتومتریک مطابق با دستورالعمل ریتمن و فرانکل (۱۹۷۵) انجام شد. در ابتدا، نمونه‌ها و معرف‌ها آماده‌سازی شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر نمونه و ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف ۱ پس از ۵ دقیقه مخلوط شدن با یکدیگر، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و سپس ۲۵۰ میکرولیتر معرف ۲ به آن اضافه شد. ۱ دقیقه پس از اضافه شدن معرف ۲ و مخلوط شدن محتویات کووت، جذب نوری در ۳۴۰ نانومتر قرائت شد و این‌کار برای دقیقه ۲ و ۳ نیز تکرار شد تا میزان اختلاف جذب نوری به‌دست آید. مقدار اختلافات جذب نوری پس از دقایق ۱، ۲ و ۳ با هم جمع شده و بر عدد ۳ تقسیم شد. در نهایت، میانگین حاصله با توجه به اتوآنالایزر استاندارد در عدد ۱۹۸۵ ضرب گردید.

آنزیم ALT

سنجش آنزیم ALT نیز با کیت تشخیصی پارس آزمون با روش فتومتریک مطابق با دستورالعمل ریتمن و فرانکل (۱۹۷۵) انجام شد. در ابتدا، نمونه‌ها و معرف‌ها آماده‌سازی شدند. سپس،۱۰۰ میکرولیتر نمونه و ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف ۱ پس از ۵ دقیقه مخلوط شدن با یکدیگر در دمای ۳۷ انکوبه شده و سپس ۲۵۰ میکرولیتر معرف ۲ به آن اضافه شد. ۱ دقیقه پس از اضافه شدن معرف ۲ و مخلوط شدن محتویات کووت، جذب نوری در ۳۴۰ نانومتر قرائت شد و این‌کار برای دقیقه ۲ و ۳ نیز تکرار شد تا میزان اختلاف جذب نوری به دست آید. مقدار اختلافات جذب نوری پس از دقایق ۱، ۲ و ۳ با هم جمع شده و بر عدد ۳ تقسیم شد. در نهایت، میانگین حاصله با توجه به اتوآنالایزر استاندارد در عدد ۱۹۸۵ ضرب گردید.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد

برای تعیین توده زنده، ۱۰۰ درصد ماهیان هر تکرار با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم توزین شد. همچنین با دقت یک میلی‌متر طول کل آنها اندازه‌گیری شده و در فرم‌های مخصوص ثبت شد. ماهیان دو ساعت قبل از غذادهی زیست‌سنجی شدند. اندازه‌گیری شاخص‌های رشد با استفاده از فرمول‌های ذیل (۲ الی ۷) اندازه‌گیری شدند (Hassani *et al.,* 2019):

۲) افزایش وزن (WG) :

$$WG=BWf-BWi$$

[1] Alkaline phosphatase (ALP)
[2] Aspartate transaminase (AST)
[3] Alanine Aminotransferease (ALT)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

۳) درصد افزایش وزن(WG%) :

$$BWI== \frac{BW_f-BW_i}{BW_i} * 100$$

۴) میزان افزایش وزن (GR) :

$$GR== \frac{BW_f-BW_i}{T}$$

۵) نرخ رشد ویژه (SGR) :

$$SGR=\frac{\ln W_f-\ln W_i}{T} * 100$$

۶) میانگین رشد روزانه (ADG) :

$$ADG=\frac{W_f-W_i}{W_i*T} * 100$$

۷) درصد بازماندگی (SR) :

$$SR=\frac{Q_f}{Q_i} * 100$$

BW_i = متوسط وزن اولیه بچه‌ماهی (گرم)، BW_f = متوسط وزن نهایی بچه ماهی (گرم)، W_i= میانگین بیوماس اولیه بچه ماهی (گرم)، W_f = میانگین بیوماس نهایی بچه‌ماهی (گرم)، TL = طول کل بچه ماهی (سانتی‌متر)، Q_i = تعداد اولیه بچه ماهی، Q_f = تعداد نهایی بچه ماهی، F = مقدار غذای مصرفی بچه ماهی، T = طول مدت پرورش (روز)

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از بسته‌های نرم‌افزاری Excel و SPSS 17 انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و به کمک آزمون دانکن انجام شد و وجود یا فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۵ درصد ($p<0/05$) تعیین گردید.

نتایج

شاخص‌های رشد مربوط به ماهی‌های کوی

وزن و مقادیر اولیه طول اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). اما همین نتایج مؤید تفاوت معنی‌داری ($p>۰/۰۵$) در گروه‌های مختلف از مقادیر میانگین وزن، درصد بازماندگی و درصد رشد روزانه پس از پایان تحقیق است که به عبارت دیگر، مؤید تأثیر مقادیر مواد مختلف به‌کار رفته بر شاخص‌های مذکور است. بیشترین میانگین وزن اولیه (گرم) مربوط به تیمار ۴ (۴۸/۵۸) بدون تفاوت معنی‌دار با سایر مشاهده گردید ($p>۰/۰۵$). پس از پایان آزمایش تجربی، کمترین مقدار وزن ثانویه (گرم) مربوط به گروه ۴ (۴۸/۱۲) بوده که صرفاً با گروه شاهد مثبت (۴۸/۹۶) اختلاف معنی‌داری نشان داده است ($p>۰/۰۵$). به‌هرحال، این اختلاف در طول کل ماهی در پایان تحقیق مؤثر نبوده است. این در حالی است که مقدار درصد افزایش وزن بدن در گروه شاهد مثبت (۱/۴۷درصد) و از سایر گروه‌ها به طور قابل‌توجهی بیشتر است ($p>۰/۰۵$). میزان درصد بازماندگی گروه شاهد مثبت که ۴/۶۵ گرمFBS را تجربه کرده است نیز ۱۰۰ درصد بدون تفاوت معنی‌دار با شاهد منفی ۱۰۰ درصد بوده است. بیشترین افزایش وزن بدن (گرم) مربوط به گروه شاهد مثبت (۰/۷۱) و با اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد منفی (۰/۵۷) بوده و نسبت به سایر به طور معنی‌داری بیشتر بوده است (جدول ۱).

جدول ۱: بررسی تفاوت شاخص‌های بیومتری و رشدی ماهیان کوی

Table 1: Investigating the differences in biometric and growth indices of koi fish

Treatment	Initial weight(grams)	secondary weight (gram)	Specific growth rate (SGR)	weight gain (gram) WG	Initial length (cm)	Secondary length (cm)	Survival rate SR
T4	48.58±0.26	48.12±0.45 [a]	-0.032±0.04	46.58±0.0	16.51±0.18 [ab]	16.48±0.18	77/98±3/85 a
C+	48.26±0.26	48.96±0.14 [b]	0.048±0.016	0.71±0.22	16.7±0.14 [b]	16.9±0.12	100±0 c
C-	48.14±0.23	48.71±0.28 [ab]	0.039±0.034	0.57±0.49	16.4±0.27 [ab]	16.6±0.21	100±0 c
p-value	0.199	0.036*	0.045	0.041	0.053	0.064	0/041*

شاخص‌های آب

مطابق با جدول ۲، نتایج بررسی‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان سختی آب بین روزهای مورد بررسی تیمار چهارم ($p=۰/۰۳۹$) وجود دارد. شایان ذکر است، در تمامی آکواریوم‌ها میزان یون کلر ۲۳-۱۹ میلی‌گرم در لیتر در نوسان بود. این در حالی بود که نوسان میزان سختی آب

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

۲۵۱-۲۲۶ میلی‌گرم در لیتر در نوسان بود. همچنین در روز اول، بیشترین مقدار آمونیاک بر حسب میلی‌گرم ازت به ازاء هر لیتر (۱/۶۷) در گروه ۴ و کمترین آن (۰/۰۳) در گروه شاهد مثبت و با تعقیب به‌وسیله گروه شاهد منفی (۰/۸۷) گزارش گردید. هر چند در روز ششم این مقدار کمی افزایش یافت. مقادیر آمونیاک در روزهای اول لغایت ششم در گروه ۴ حاکی از عدم تغییر مقادیر آمونیاک آب مخازن پس از برداشته شدن کیسه FBS دارد. پائین بودن و کاهش میانگین وزنی ماهی‌ها در گروه ۴ می‌تواند نشانه تأثیر منفی آمونیاک در مقادیر بالا باشد به‌طوری‌که FBS نیز به‌خوبی نتوانسته است در کاهش این اثر به طور قابل‌توجهی مؤثر باشد. این تغییر وزنی در هر حال با تغییر طول بدن ماهی همراه نبوده است. منفی بودن رشد روزانه گروه ۴، حاکی از اثرات منفی و مخرب آمونیاک و عدم پیشگیری FBS است.

مقدار درصد رشد روزانه در گروه ۴ پایین بود که نشانگر تأثیر منفی آمونیاک در مقادیر بالا و عدم عملکرد مثبت FBS در پیشگیری از آن در این مقادیر است.

طی تحقیق، دامنه مقدار نیترات گروه کنترل منفی، بین ۱۲/۵۷ در روز اول الی ۳۴/۳۳ میلی‌گرم در لیتر در روز ششم در نوسان بوده است. این مقادیر با مقادیر گروه کنترل مثبت در زمان‌های نمونه‌برداری تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$) به‌طوری‌که دامنه مقادیر شاهد مثبت نیز در دامنه ۱۹/۹۷-۰/۰۳۳ طی ۶ روز تحقیق در نوسان بوده و با افزایش زمان همان‌طوری‌که در گروه کنترل منفی مشخص بود، در این گروه نیز مقادیر نیترات افزایش معنی‌داری داشته است ($p>۰/۰۵$).

جدول ۲: بررسی شاخص‌های آب

Table 2: Water related indicators

Parameter	Treatment	First day	Sixth day	*p*-value
Total hardness (mg.l)	T4	234.33±6.03[a]	236.67±6.11[ab]	*0.039
	C+	238.33±7.64	243.67±25.97	0.636
	C-	240.67±6.03	251.33±3.21	0.073
	p-value	0.313	0.165	
Ammonia	T4	1.67±0.16Dbc	2.43±0.05Cc	*0.007
	C+	0.03±0.00Aa	0.20±0.01Aa	*0.011
	C-	0.87±0.01Ba	1.12±0.01Bb	*0.007
	p-value	*0.006 *0.007	*0.006 *0.007	
Nitrate (mg.l)	T4	33.5±2.02Cb	4400.±10.15Bc	*0.012
	C+	13.17±0.91Aa	3300.±7.55Ab	*0.01
	C-	12.57±0.55Aa	34.33±3.06Ac	*0.006
	p-value	*0.008 *0.034	*0.008 *0.034	
Nitrite (mg.l)	T4	0.51±0.04Cc	0.69±0.02Cd	*0.007
	C+	0.06±0.01Aa	0.04±0.01Ab	*0.01
	C-	0.15±0.03ABa	0.18±0.01Ba	0.095
	p-value	0.006*	0.008*	
pH	T4	8.19±0.01bB	8.13±0.01b	0.048
	C+	8.12±0.09bB	8.18±0.02b	0.049
	C-	7.7±0.2aA	8.15±0.02b	0.016
	p-value	0.047	0.07	
Electrical conductivity (MS)	T4	920±5ab	931.67±2.89b	*0.021
	C+	934.67±5.03ab	941±7.94b	*0.022
	C-	925±5	935±5	0.127
	p-value	392	218	*0.021
Temperature (C)	T4	19±0	19±0	0.544
	C+	19.67±0.58	19.33±0.58	0.423
	C-	19.33±0.58	19±0	0.487
	p-value	726	787	0.544
Dissolved oxygen (mg.l)	T4	4.4±0.74	4.4±0.68A	0.906
	C+	6.3±1.09	6.4±0.38AB	0.562
	C-	5.9±1.06	7.2±0.25B	0.423
	p-value	0.195 *	0.024	0.906

*در سطح ۰/۰۵ معنادار است.

It is meaningful in5 percent level

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

بیشترین مقدار نیترات گروه ۴ برابر ۶۴/۶۷ میلی‌گرم در لیتر در روز سوم است. ($p>۰/۰۵$). چنانچه از روز قبل از شروع مطالعه صرفنظر نمود، کمترین مقدار گروه‌های ۱ الی ۴ به‌ترتیب ۲۱/۶۳، ۲۵/۲۷، ۳۳/۵۰ و ۳۴/۲ میلی‌گرم در لیتر ($p>۰/۰۵$) در روز اول تحقیق ثبت شده است.

در گروه شاهد مثبت، مقدار نیتریت به‌تدریج از روز صفر (۰/۱۵ میلی‌گرم در لیتر) کم شده و در روز آخر به کمترین مقدار (۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر) رسیده است ($p>۰/۰۵$). با مقایسه این مقادیر با مقادیر گروه شاهد منفی، چنین به‌نظر می‌رسد که مقادیر نیتریت گروه شاهد مثبت از مقادیر گروه شاهد منفی حدود یک دوم الی یک چهارم به‌مراتب کمتر است ($p>۰/۰۵$). مقایسه مقادیر گروه شاهد مثبت با گروه تیمار ۴ نشانگر وجود کمترین مقادیر نیتریت ($p>۰/۰۵$) گروه شاهد مثبت است.این دامنه در گروه ۴ افزایش قابل‌ملاحظه‌ای پیدا کرده است به‌طوری‌که در ۶ روز تحقیق در دامنه ۶۹/۰-۳۳/۰ در گروه ۴ در نوسان بوده است ($p>۰/۰۵$). بر اساس انتظار تا حدودی مقدار نیتریت طی تحقیق روندی افزایشی داشته است ولیکن مقدار آن در روز ششم گروه ۴ (۰/۶۹) میلی گرم در لیتر)، بسیار بیشتر از مقدار شاهد منفی (۰/۱۸ میلی‌گرم در لیتر) و با اختلاف معنی‌دار ($p>۰/۰۵$) ثبت گردیده است. همچنین کمترین میانگین pH مطالعه به‌ترتیب مربوط به تیمار ۴ (۸/۱۵) و تیمار شاهده منفی (۷/۹) است. در روز ششم مطالعه، کمترین میانگین pH به‌ترتیب مربوط به تیمار ۴ (۸/۱۳) مشاهده گردید. pH آب در گروه ۴ که FBS به آن اضافه شده، صرفاً در روز اول نسبت به شاهد منفی قلیایی‌تر است ($p>۰/۰۵$). به‌علاوه، نتایج هدایت الکتریکی (MS) نشان داد که تفاوت معناداری در میزان هدایت الکتریکی بین روزهای موردبررسی مربوط به تیمار ۴ ($p=۰/۰۲۱$) و شاهد مثبت ($p=۰/۰۲۲$) مشاهده گردید. بیشترین و کمترین میانگین هدایت الکتریکی در روز اول بیشترین و کمترین میانگین هدایت الکتریکی به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد مثبت (۹۳۴/۶۷) و تیمار ۴ (۹۲۰) و در روز ششم مطالعه بیشترین و کمترین میانگین هدایت الکتریکی به‌ترتیب مربوط به شاهد مثبت (۹۴۱) و تیمار ۴ (۹۳۱/۶۷) مشاهده گردید. علاوه‌براین، میانگین هدایت الکتریکی در تیمار ۴ بیشترین و کمترین مقدار در روز ششم مطالعه (۹۳۱/۶۷)، در تیمار شاهد مثبت بیشترین و کمترین مقدار به‌ترتیب در روزهای ششم (۹۴۱) و در تیمار شاهد منفی کمترین مقدار در روز اول (۹۳۵) مشاهده گردید.

نتایج دما (درجه سانتی‌گراد) نشان داد که در روز اول بیشترین و کمترین میانگین دما به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد مثبت (۱۹/۶۷) و تیمار ۴ (۱۹) و در روز ششم مطالعه، کمترین میانگین دما مربوط به تیمار ۴ و شاهد منفی (۱۹/۰) مشاهده گردید. علاوه‌براین، میانگین دما در تیمار ۴ بیشترین و کمترین مقدار به‌ترتیب در روز اول و روز ششم مطالعه (۱۹/۰) و در تیمار شاهد مثبت بیشترین و کمترین مقدار به‌ترتیب در روز اول مطالعه (۱۹/۶۷) و ششم (۱۹/۳۳) و در تیمار شاهد منفی بیشترین مقدار به‌ترتیب در روز اول (۱۹/۳۳) مشاهده گردید.

نتایج اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر) نشان داد که بیشترین و کمترین میانگین اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر) در روز ششم به‌ترتیب در تیمار شاهد منفی (۷/۲) و تیمار ۴ (۴/۴) مشاهده گردید.

بررسی تفاوت‌های شاخص‌های خونی تیمار چهارم

بررسی‌ها نشان داد که کمترین درصد میانگین شاخص لمفوسیت در تیمار شاهد منفی (۷۸/۳۳) و تیمار ۲ (۵/ ۸۳) مشاهده گردید (با تفاوت معنی‌دار از یکدیگر ($p<0.05$). همچنین در شاخص نوتروفیل تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($p=۰/۰۰۷$) که بیشترین و کمترین درصد میانگین شاخص نوتروفیل به‌ترتیب در تیمار شاهد منفی (۱۶/۳۳) و تیمار۲(33/ 12) مشاهده گردید. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میانگین شاخص هماتوکریت (درصد) به‌ترتیب در تیمار شاهد منفی (درصد ۳۵/۲) و تیمار ۴ (درصد ۳۱/۷) مشاهده گردید. کمترین میانگین شاخص هموگلوبین (گرم/ دسی لیتر) در تیمار شاهد منفی (۸/۲) و تیمار ۳ (۷/۵) مشاهده گردید. بیشترین و کمترین میانگین شاخص RBC به‌ترتیب در تیمار شاهد منفی ۱/۲۷×۱۰۶ و تیمار ۴ به مقدار ۱/۱۴×۱۰۶ مشاهده گردید. بیشترین میانگین شاخص WBC در تیمار شاهد منفی

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

(۱۰۳×۷/۱۱۶) و تیمار۲(۳۱۰ × ۶۳۳ / ۳)]مشاهده گردید (جدول ۳).

با توجه به جدول ۴، بیشترین و کمترین میانگین شاخص C3(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) به‌ترتیب در تیمار ۴ (۹۰/۳) و تیمار شاهد منفی (۶۲/۲) مشاهده گردید. همچنین بیشترین و کمترین میانگین شاخص C4 (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) به‌ترتیب در تیمار ۴ (46/4±1/5ab) و شاهد مثبت (۱۴/۶) مشاهده گردید. بیشترین و کمترین میانگین شاخص ALP (U/l) به‌ترتیب در تیمار ۴ (۲/۵) و شاهد منفی (۰/۷۷) مشاهده گردید. علاوه بر این بیشترین و کمترین میانگین شاخص SGPT(ALT) (U/l) به ترتیب مربوط به تیمار۴ (۴۱/۲) و تیمار شاهد مثبت (۶/۸) مشاهده گردید بیشترین و کمترین میانگین شاخص SGOT(AST) (U/l) به ترتیب مربوط به شاهد منفی (۷/۳۳) و تیمار۴ (۱۱/۵) مشاهده گردید.. در شوک گرمائی ماهی سرماری منقوط(Javed *et al.*, 2016) مقدار ALT از ۴/۳ در گروه کنترل به ۳۲/۴ واحد در لیتر در گروه تیمار و مقدار AST از ۹/۱۸ به ۳۱ واحد در لیتر افزایش یافته است. جدول ۴ همچنین میزان ALT با افزایش آمونیاک افزایش می‌یابد که نشان از آسیب بافت کبدی است. این افزایش مشمول AST و ALP نیز شده است که درگیری بافت‌های مختلف (کبد، کلیه و عضلات مخطط) را مد نظر دارد. این نتایج نشانگر آن است که آسیب بافتی قابل‌ملاحظه‌ای در کبد گروه‌های شاهد منفی و شاهد مثبت مشاهده شده است. علاوه بر این تفاوت معناداری در بین تیمارها در شاخص MDA (nmol/ml) که بیشترین و کمترین میانگین شاخص MDA (nmol/ml) به ترتیب مربوط به تیمار (۴۳/۳) و شاهد منفی (۶۵/۵) مشاهده گردید هپاستوسیت‌ها و سینوزوئیدهای کبدی بدون عارضه دیده می‌شوند که حاکی از عدم تأثیر آمونیاک به مقدار ۵۰ میلی گرم در لیتر در مواجهه با FBS ۵۵/۱گرم، بوده است.

تجزیه‌وتحلیل یافته‌های بافت‌شناسی

نتایج بافت‌شناسی مرضی در بافت‌های مختلف و با توجه به غلظت آمونیاک اضافه شده، تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد (شکل‌های ۱ الی ۴).

جدول ۳: تفاوت شاخص‌های خونی مندرج در تیمار چهارم

Table 3: Examining the differences in blood parameters

Blood indicators	Treatment four	Positive controls	Negative controls	*p*-value
Eosinophils (%)	71.5±0.	1±0.6	1±0	0.528
Monocytes(%)	4±0.9	4.±0.8	5±0.6	0.239
Lymphocytes (%)	82.7±1.0 [b]	80.3±2.5 [ab]	78.3±2.4 [a]	0.017
Neutrophils (%)	12.8±1۵.[a]	14.3±1.4[ab]	16.3±1۸.[b]	0.007
MCHC1 (g.l)	236.3±0.4	236.6±0.5	232.4±0.	0.758
MCH2 (pg.cell)	64.9±1.7	66.5±1.3	65.2±0.7	0.365
MCV3 (FL)	274.8±5.4	281.2±7.5	278.5±2.4	0.26
HCT4 (%)	2±2.731 [ab]	5±1.234.[ab]	35.2±1.7 [b]	0.026*
Hb5 (g.dl)	7.5±0. **4**[a]	18±0.2[b]	8.2±0.4[b]	0.006*
RBC6 (10^6.)(mm)	.14±010441[a]	0.0046 ± 1.21 [ab]	0.27±0.0581[b]	0.924
WBC7 (10^3.)(mm)	4.016±.47[a]	5.483±0.70[b]	7.116±0/32[c]	0.001*

*در سطح ۰/۰۵ معنادار است.

It is meaningful in5 percent level

[1]Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (غلظت هموگلوبین متوسط گلبول قرمز)

[2]Mean Corpuscular Hemoglobin (میانگین هموگلوبین هر گلبول قرمز)

[3]Mean Corpuscular Volume (میانگین حجم گلبول قرمز)

[4]Hematocrit (درصد حجم گلبول قرمز از کل خون)

[5]Hemoglobin (هموگلوبین)

[6]red blood cell (گلبول‌های قرمز خون)

[7]White blood cell (گلبول های سفید خون)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

جدول ۴: بررسی تفاوت شاخص‌های سرمی C3 و C4

Table 4: Examining the Serum indicators C3 and C4

Serum indicators	Treatment1	Treatment4	positive witness	negative witness	*p*-value
C3 (mg.dl)		98.5±5.9ab	68.5±5.9 a	62.2±3.9 b	0.37*.
C4 (mg.dl)		46.4±1.5ab	14.6±0.8a	16.9±1.1b	<0.001*
ALT[1] (U.l)		2.41±0.2d	8.6±0.3a	6.9±0.1 a	<0.001*
AST[2] (U.l)		33.7±0.4d	11.8±0.5a	11.5±0.3 a	<0.001*
ALP[3] (U.l)					<0.001*
MDA[4] (nmol/ml)	51±3/16 b	2.5±0.6 b	0.83±0.09b	0.77±0.09 c	<0.001*
lgM۵ (mg/dl)		47±1/4 b	56/7±2/8 d	65/5±2/7 e	<0.001*
Lysosome		57±2/3 c	52/7±3/8 b	66/5±3/3 d	<0.001*
Activity		25±3/16ab	20/8±3/2 a	29/3±1/9 c	
(U/ml/min)					

*در سطح ۰/۰۵ معنادار است.

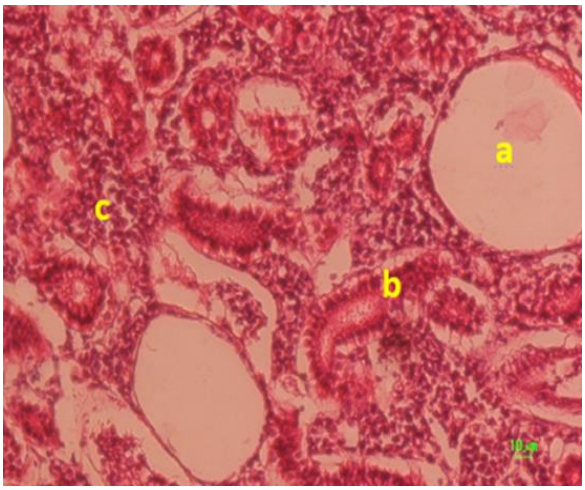
It is meaningful in5 percent level

[1]Alanine Aminotransferase (آلانین‌آمینوترانسفراز)

[2]Aspartate Aminotransferase (آسپارتات‌آمینوترانسفراز)

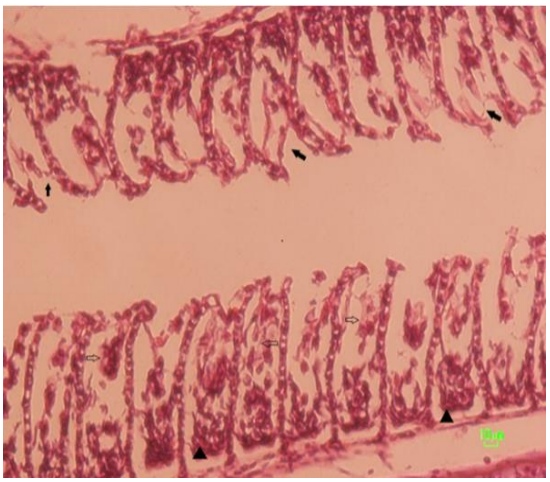
[3]Alkaline Phosphatase (آلکالن فسفاتاز)

[4]IgM ایمنو گلوبین [3]Malondialdehyde (مالون دی الد هید)



شکل ۱: در تیمار ۴. کلیه، a) نکروز گلومرول‌ها، b) نکروز لوله‌های ادراری، c) نکروزبافت‌های بینابینی دیده می‌شود.

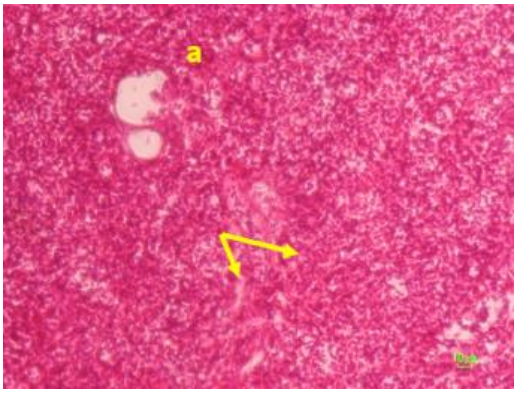
Figure 1: Treatment 4. The kidney. a) necrosis of glomeruli, b) necrosis of urinary tubes, c) necrosis of interstitial tissues can be seen



شکل ۲: تیمار ۴. آبشش، هایپرپلازی سلول‌ها در ابتدای رشته‌های ثانویه (مثلث)، به‌هم ریختگی و کنده شدن سلول‌های هیپرپلازی شده قائده رشته‌های ثانویه (پیکان خالی)، جداشدگی اپیدرم رشته‌های ثانویه (پیکان‌های توپر). (H&E, Bar= 10 µm)

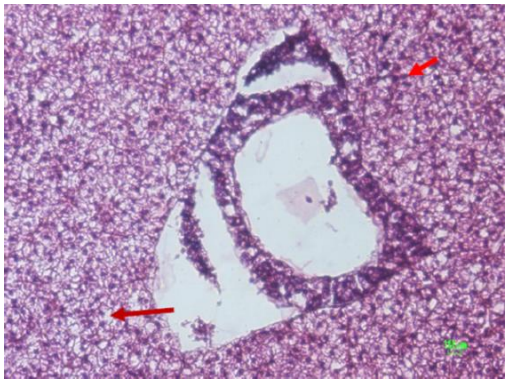
Figure 2: Treatment 4. The gills, hyperplasia of cells at the base of the secondary filaments (triangle), disarray and tearing of hyperplastic cells at the base of secondary filaments (empty arrow), separation of epidermis of secondary filaments (solid arrows). (H and E, Bar= 10 µm)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]



شکل ۳: تیمار ۴. a) طحال دژنراسیون، b) نکروز و ازهم گسیختگی (پیکان‌های بلند) بافت طحال دیده می‌شود (HandE, Bar= 10 µm).

Figure 3: Treatment 4. a) The spleen degeneration, b) necrosis and disintegration (long arrows) of spleen tissue can be seen (HandE, Bar= 10 µm).



شکل ۴: تیمار ۴. کبد: دژنراسیون هپاتوسیت‌ها (پیکان کوتاه)، واکوئله شدن شدید هپاتوسیت‌های کبدی (پیکان بلند) دیده می‌شود (H&E, Bar= 10 µm)

Figure 4: Treatment 4. The degeneration of hepatocytes (short arrow), intense vacuolation of liver hepatocytes (long arrow) can be seen (HandE, Bar= 10 µm)

بحث

سطوح بالای آمونیاک یک عامل استرس‌زای قابل توجه برای کپور کوی است که باعث اختلالات خونی، آنزیمی و هیستوپاتولوژیکی می‌شود، که با گزارش‌های قبلی مطابقت دارد کاهش هموگلوبین و هماتوکریت، انتقال اکسیژن را مختل می‌کند، در حالی که افزایش آنزیم‌های کبدی نشان‌دهنده اختلال متابولیک است. تغییرات هیستوپاتولوژیکی در آبشش‌ها، کلیه و کبد، آسیب مستقیم بافت را نشان می‌دهد و سمیت چند اندامی آمونیاک را تأیید می‌کند (Das *et al*., 2004; Gao *et al*., 2020) تحقیقات نشان داده که مواجهه ماهی با نیتریت باعث کاهش مقدار ایمونوگلوبولین IgM و لیزوزیم خواهد شد (Ciji and Akhtar, 2020) این موضوع با نتایج این تحقیق نیز کاملا در یک راستا است (جدول۴)

آمونیاک و آمونیوم حدود ۹۰-۶۰ درصد ماده ازته مترشحه عبوری از آبشش ماهی را شامل می شوند و اوره حدود ۲۷-۹ درصد آن را تشکیل می‌دهد. سایر منابع آمونیاکی موجود در آکواریوم یا استخرها ناشی از نیتریفیکاسیون مواد ازته به‌وسیله میکروب‌هاست (Grommen *et al*., 2002). مقدار LC50 (غلظت حاد کشنده ۵۰ درصد آمونیاک) (میلی‌گرم ازت به ازاء هر لیتر آمونیاک محیط آبی)، برای ماهیان در حال استراحت (۰/۲۰۷) بسیار بیشتر از ماهیان در حال شنا (۰/۳۲) است (Randall and Tsui, 2002). این امر نشانگر آن است که به رغم بالا رفتن تراکم ماهی در سیستم‌های پرورشی به دلیل عدم تحرک ماهی، میزان غلظت کشندگی آمونیاک باید بسیار بالاتر باشد. بنابراین، افزایش فعالیت ماهی در مقدار آمونیاک بالا، کشنده‌تر است. در آزمایش‌های رشد ۳۰ روزه با *Topeka shiners* در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد مشخص گردید که غلظت کمترین اثر مشاهده شده (LOEC)[1]آمونیاک کل برای ماهی *T. shiners* از راسته کپور ماهی شکلان به مقدار ۱۷/۹۳ میلی‌گرم در لیتر است. برای این ماهی غلظت اثر مشاهده نشده (NOEC)[2] و غلظت بیشینه سمی قابل پذیرش (MATC)[3] به‌ترتیب حدود ۸/۰۵ و ۱۲/۰۱ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است. این مقادیر در دمای ۱۲/۴ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب ۶/۶۵ و ۱۰/۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است. در ماهی مینوی سر گنده، MATC در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در ۳۰ روز مواجهه با آمونیاک، ۲۹/۱۲ میلی گرم در لیتر گزارش شده است (Adelman *et al*., 2009).

[1] Lowest Observed Effect Concentration (LOEC)

[2] No observed effect concentration (NOEC)

[3] Maximum acceptable toxic concentration (MATC)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

آمونیاک در آب استخرها یا آکواریوم‌ها معمولاً به دو شکل یونیزه NH_4 و غیر یونیزه NH_3 دیده می‌شود و منظور از آمونیاک تام مجموع هر دو شکل آن است(Gromman *et al*., 2002). در مطالعه‌ای، آمونیاک تام به مقدار ۲ میلی‌گرم ازت به ازاء هر لیتر در مراحل لاروی ماهی در صورت مواجهه مزمن (مستمر) موجب مسمومیت می‌گردد (CSP, 2010). به‌علاوه، بر اساس یک قاعده کلی، میزان حداکثر قابل قبول مواد ازته (آمونیاک کل و نیتریت)، حدود ۱۰درصد میزان LD50 یا LC50 96 ساعته است (Molayemraftar *et al*., 2022). بدین‌ترتیب، مقدار غلظت قابل قبول آمونیاک ۵۱/۲۴ میلی‌گرم در لیتر در کپور نورس است.

FBS به‌تنهایی توانست بیشترین بار آمونیاکی را طی ۶ روز تحقیق، حتی پس از برداشتن کیسه FBS از آکواریوم‌ها کاهش دهد. نتایج حاصل از گروه شاهد منفی به‌خوبی نتایج تأثیر FBS را در گروه شاهد مثبت تائید می‌کند به‌طوری‌که مقادیر شاهد مثبت در روزهای نمونه‌برداری مختلف از مقادیر شاهد منفی در روزهای مشابه، به طور معنی‌داری کمتر است که خود نتیجه حذف مناسب آمونیاک به‌وسیله FBS را نشان می‌دهد. فقط مقدار آمونیاک تام گروه چهارم، در روزهای پنجم و ششم به طور معنی داری حدود ۱ میلی‌گرم ازت به ازاء هر لیتر نسبت به روز چهارم افزایش نشان داده است. این نتایج می‌تولند نقش FBS را به طور کامل در کاهش بار آمونیاکی تائید نماید.

در تیمار موردنظر مقدار نیترات از همان روز اول در محدوده ناایمن قرار گرفته است. این مقدار برای گروه‌های شاهد تا پایان تحقیق وارد محدوده سمی نشده است که عدم ورود مقدار نیترات گروه شاهد مثبت به محدوده غیر ایمن و عدم تفاوت معنی‌دار مقادیر هر دو شاهد در روزهای مشابه، حاکی از بی‌خطر بودن FBS است. نوسانات نیترات در طول آزمایش که در گروه ۴ مشاهده گردید، می‌تواند ناشی از تعویض آب و کاهش یا بالا ماندن مقدار باکتری‌های نیتروزوموناس و نیتروباکتر، که عهده‌دار اکسیداسیون مواد ازته موجود در آب هستند، باشد. عدم تفاوت معنی‌دار بین مقادیر آمونیاک در گروه‌های شاهد مثبت و شاهد منفی در روزهای مشابه نمونه‌برداری می‌تولند حاکی از عدم تأثیر FBSبر کاهش نیترات آب در این تحقیق است.

بالا بودن پروتئین در این ماهیان می‌تواند ناشی از نیاز بدن برای ترمیم بافت‌های آسیب دیده و پاسخ‌های ایمنی افزایش یافته باشد که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. نتایج مطالعه حاضر، نشانگر آن است که میزان ALT با افزایش آمونیاک افزایش می‌یابد که حاکی از آسیب بافت کبدی است. این افزایش مشمول AST و ALP نیز شده است که نشانگر درگیری بافت‌های مختلف از جمله کبد، کلیه و عضلات مخطط است. در مطالعه Shin و همکاران (۲۰۱۶) بر ماهی صخره‌ای (*Sebastes schlegelii*) افزایش ۱ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک در آب ماهی‌ها باعث افزایش مقدار ALT از ۵/۳۷ در گروه کنترل به ۹/۴۷ و باعث افزایش مقدار AST از ۴/۲۱ به ۸/۴۴ واحد گردید البته در مطالعه بر ماهی هامور (گروپر هیبرید) (*Epinephelus fuscoguttatus*) که در معرض غلظت‌های متفاوت نیتریت نیز انجام شد، میزان ALP تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نیتریت حتی تا دو هفته پس از مواجهه تغییری نشان نداد (Kim *et al*., 2021). در مطالعه Das و همکاران (۲۰۰۴) میزان ALP در مواجهه ماهیان کپور هندی، مریگال، روهو با غلظت‌های متفاوت نیتریت در محدوده ۱۱-۱ میلی‌گرم در لیتر تغییرات معنی داری مشاهده نگردید(Das *et al*., 2004)که با نتایج مطالعه حاضر حتی در مواجهه با FBS نیز همخوانی ندارد.

سطوح عوامل کمپلمان C4 و C3 در ماهیانی که در معرض ۳ و ۶ میلی‌مولار نیتریت به مدت ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت قرار داشتند، در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت که نشان داد، سیستم کمپلمان با قرار گرفتن در معرض نیتریت، فعال می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض نیتریت پاسخ ایمنی را تغییر می‌دهد و باعث سمیت ایمنی و مهار پاسخ ایمنی ذاتی در*T. rubripes* (از بادکنک ماهی‌ها) می‌شود (Gao *et al*., 2020).

نتایج مطالعه حاضر، نشان داد که افزایش آمونیاک تا ۱ میلی‌گرم در لیتر موجب کاهش کمپلمان‌های C3 و C4 در تیمار ۴ شد که می‌تواند ناشی از آسیب بافتی در ماهی‌های این گروه ناشی از آمونیاک بالا باشد.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

تغییر نتایج برخی محققین نشان داد که کاهش سطوح MDA پس از قرار گرفتن ماهی لامباری (*Astyanax altiparanae*) در معرض آلاینده های روغن دیزل، احتمالا نشاندهنده ارتباط بین حفاظت آنتی اکسیدانی افزایش یافته، متابولیسم MDA و دفعMDA در آب است (Garcia *et al*., 2020). در جدول (۴) تغییر محسوسی در بین گروههای شاهد و گروه 1 از بعد مقدار MDA مشاهده نشد ولی با افزایش مقدار آمونیاک برمیزانMDA افزوده شد .این موضوع نشان می دهد FBS توانسته است تا حد زیادی اثرات منفی آمونیاک را مهارکند ولی در گروه‌های 3 و 4 این مشکل خود را نشان داده است (.جدول4). کاهش هموگلوبین و هماتوکریت، انتقال اکسیژن را مختل می کند این کاهش با تغییرات خونی سایر محققین همسو بوده است(shin *et al.,* 2016). تحقیقات نشان داده که مواجهه ماهی با نیتریت باعث کاهش مقدار ایمونوگلوبولین IgM و لیزوزیم خواهد شد (Ciji and Akhtar, 2020) این موضوع با نتایج این تحقیق نیز کاملا در یک راستا است (جدول۴).

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کارکنان مرکز تکثیر ماهیان زینتی استان گیلان (رشت) برای فراهم کردن ماهیان کوی مورداستفاده در این مطالعهو از حمایت‌ها و امکانات فراهم‌شده از مؤسسات وابسته که زمینه اجرای آزمایش‌ها و تحلیل داده‌ها را فراهم ساختند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

Adelman, I.R., Kusilek, L.I., Koehle, J. and Hess, J., 2009. Acute and chronic toxicity of ammonia, nitrite, and nitrate to the endangered Topeka shiner (*Notropis topeka*) and fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(10):2216–2223. DOI:10.1897/08-619.S1

Atli, G. and Canli, M., 2010. Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(8):1884–1889. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2010.09.005

Bessey, O.A., Lowtery, O.H. and Brock, M.J., 1946. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with fivecubic millimeters of serum. *Journal of Biological Chemistry*, 164:321-329.

Boyd, C.E. and Tucker, C.S., 1998. Pond aquaculture water quality management. Kluwer Academic Publisher, Massachusetts. 700 P. DOI:10.1007/978-1-4615-5407-3

Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248–254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

Capkin, E., Birincioglu, S. and Altinok, Ilhan., 2009. Histopathological changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after exposure to sublethal composite *nitrogen* fertilizers. *Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7):1999-2004 DOI: 10.1016/j.ecoenv.2009.05.007

Das, P., Ayyappan, S., Das, B. and Jena, J., 2004. Nitrite toxicity in Indian major carps. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 138(1):3–10. DOI:10.1016/j.cca.2004.04.004

de Araújo, T.P., Brighenti, L.S., dos Santos, H.B., Castro, A.H.F. and Thomé, R.G., 2021. Toxicidade de compostos nitrogenados em peixes. *Research, Society and Development*, 10(11): e359101119779. DOI:10.33448/rsd-v10i11.19779

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]

FAO, 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture. 230 P. DOI:10.1596/978-0-8213-7137-4

Gao, X.Q., Fei, F., Huo, H.H., Huang, B., Meng, X.S., Zhang, T. and Liu, B.L., 2020. Impact of nitrite exposure on plasma biochemical parameters and immune-related responses in *Takifugu rubripes. Aquatic Toxicology*, 218:105362. DOI:10.1016/j.aquatox.2019.105362.

Ciji, A. and Akhtar, M.S., 2020. Nitrite implications and its management strategies in aquaculture*:* A review. *Reviews in Aquaculture,* 12(2):878-908. DOI: 10.1111/raq.12354

Grommen, R., Van Hauteghem, I., Van Wambeke, M. and Verstraete, W., 2002. An improved nitrifying enrichment. *Aquaculture*, 211(1–4):115–124. DOI:10.1016/S0044-8486(01)00883-3

Handy, D. and Poxton, M.G., 1993. Nitrogen pollution in mariculture. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 3:205–241. DOI:10.1007/BF00042795

Hassani, M.H., Yousefi Jourdehi, A., Hosseinpour Zelti, A., Shenavar Masouleh, A. and Bagherzadeh, F., 2019. Effects of commercial superzist probiotic on growth performance and hematological and immune indices in fingerlings *Acipenser baerii. Aquaculture International*, 28:377-387. DOI:10.1007/s10 499-019-00468-1

Khalil, A., Sergeevich, N. and Borisova, V., 2018. Removal of ammonium from fish farms. *Adsorption Science and Technology*, 36(5–6):1-16. DOI:026361741879

Jun Hwan, K., Seok Ryel, K., Su Kyoung, K. and HeeWoong, K., 2021. Effects of pH changes on blood physiology, antioxidant responses and lgM of juvenile olive flounder, *Paralilichthys oliveceus. Aquaculture Reports,* 21: 1-7. DOI: 10.1016/j.aqrep.2021100790 .

Klin, Z. and Klin, U., 1972. German society for clinical chemistry: Recommendations of the enzyme commission. https://www.pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4199309.

Molayemraftar, T., Peyghan, R., Razi Jalali, M. and Shahriari, A., 2022. Single and combined effects of ammonia and nitrite on common carp, *Cyprinus carpio*: Toxicity, hematological parameters, antioxidant defenses, acetylcholinesterase, and acid phosphatase activities. *Aquaculture*, 548:737676. DOI:10.1016/j.*aquaculture*.2022.737676

Xue, S.Q., Lin, J.W., Han, Y. and Han, Y., 2021. Ammonia stress-induced apoptosis by p53-BAX/BCL-2 signal pathway in hepatopancreas of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture International,* 29: 1895–1907.

Zhang, Z. and Perschbacher, P., 2003. Comparison of the zeolite sodium chabazite and activated charcoal for ammonia control in sealed containers. *Asian Fisheries Science*, 16: 141-145.

Danielly, G., Daína, L., Danilo Grünig, S. and Eduardo, H.A., 2020. Decreased malondialdehyde levels in fish (*Astyanax altiparanae)* exposed to diesel: Evidence of metabolism by aldehyde dehydrogenase in the liver and excretion in water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190: 110107. DOI: /10.1016/j.ecoenv.2019.110107

Craig, J.F., 2015. Freshwater fisheries ecology. Wiley-Blackwell. 297P. DOI:10.1111/faf.12250

CSPP (Center for Science in Public Participation)., 2010. A literature review of effects of ammonia on fish. Retrieved from Alaska on 02/01/2023.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-06]