Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
سال دهم ـ شماره دوم ـ تابستان ۱۳۸۲
www.magiran.com/jasnr

بررسی نقش زئولیت طبیعی در کاهش مسمومیت با آمونیاک در قزل‌آلای رنگین‌کمان

محمد فرهنگی، ابوالقاسم کمالی و عبدالمجید حاجی مرادلو

گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۰/۷/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۱/۵/۲۶

چکیده

نقش زئولیت طبیعی در آب شیرین به‌منظور سنجش کارآیی آن در جذب آمونیاک محیط پرورشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. ماهیانی با وزن ۲۱-۹/۵گرم (میانگین ۱۵ گرم) در معرض ٤ غلظت مختلف از آمونیاک کل ($NH4^+ + NH3^+$) از ۲۵-۱۰ میلی‌گرم در لیتر (۲۵و۲۰و۱۵و۱۰ میلی‌گرم درلیتر) قرارگرفتند. یک گروه ۱۳ تایی هم به‌عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت. غلظت کشنده و نیمه کشنده (LC_{50})[1] درمدت ٢٤ ساعت تعیین شد. تحت شرایط ثابت دما و pH (Ph=۷/۷-۷/۸ و T=۱٦°c) غلظت کشنده آمونیاک برابر با ۲۵ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل بود (معادل ۰/٤٤میلی‌گرم درلیتر آمونیاک غیریونیزه). کاربرد ۱۵ گرم در لیتر زئولیت توانست تلفات را به صفر برساند. از بافتهای کبد، کلیه و آبشش ماهیانی که در معرض غلظت کشنده آمونیاک و گروه‌هایی که در معرض زئولیت بدون آمونیاک بودند، جهت بررسی آسیب‌شناسی این اندامها مقاطع بافتی تهیه شد. در بررسی‌های آسیب‌شناسی بیشترین ضایعات در آبشش شامل خونریزی، پرخونی، هیپرپلازی، ادم و نکروز سلولهای پوششی بود. در کلیه، ضایعات شامل تخریب مجاری کلیوی، اتساع کپسول بومن، خونریزی و پرخونی بوده و در کبد ضایعات شامل خونریزی، پرخونی و نکروز سلولهای کبدی بود.

واژه‌های کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، آمونیاک، زئولیت، آبشش، کلیه، کبد

1- Subleathal Concentration

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

با وجودی کـه پـرورش رو بـه توسـعه مـاهی قزل‌آلا در استخرهای بتونـی از قدمـت زیـادی در کشور ما برخوردار می‌باشد، ولی مشخص شده بـا در نظر گرفتن محدودیت منابع آبی کشور می‌توان از استخرهای خاکی پرورش کپورماهیان و میگو و شالیزارها نیز برای پرورش ماهی قزل‌آلا سود بـرد. در این راسـتا حفـظ کیفیـت آب بعنـوان یکـی از عوامل مهم در دستیابی بـه تولیـد مناسـب مطـرح است. دراین بین آمونیاک، بعنوان مـاده حـاصل از متابولیسم پروتئیـن در آبزیـان نقـش مـهمی را در آبزی‌پروری دارد. آمونیاک گازی بی‌رنگ و محلول در آب است و می‌تواند به حالت یونیزه درآید کـه یون آمونیوم ($NH4^+$) نامیده می‌شود(٤و٥).

آمونیاک در آب خیلی محلول بـوده و افزایـش انـدک فشـار جزئـی[1] آمونیـاک می‌توانـد افزایـش آمونیاک محلول درآب را به همراه داشته باشد(١). از این رو حذف آمونیاک با هوادهی کـار مشـکلی است (١٢ و ١٤). آمونیاک در آب بصورت زیر بـا یون آمونیوم در تعادل است:

$$NH3^+ + H2O \rightleftharpoons NH4^+ + OH^-$$

نسبت بین این دو به pH و دمای آب بستگی دارد. علاوه بر این تابع چرخه روزانه pH و CO2 است.

با توجه به اهمیت مسـمومیت بـا آمونیـاک در آبزی‌پروری و مشکلاتی کـه در تشـخیص و رفـع ایـن عارضـه وجـود دارد، بخصـوص در مـزارع خاکی، شالیزارها، ماشین‌های حمل و نقل مـاهی و سیستمهای مدار بسته آب که امکـان تعویـض آب به حد کافی نیست، لزوم یـافتن روشـهای جدیـد تشخیص و پیشگیری که مطابق با امکانات موجود کشور باشد کمـک شـایانی بـه رفـع ایـن عارضـه خواهد کرد.

استفاده از مـواد افزایش‌دهنـده کیفیـت آب به‌عنوان بخشی از مدیریت آب در آبزی‌پـروری از دیر باز مطرح بوده اسـت، کـه شـامل انـواع مـواد شیمیایی، معدنـی و بیولـوژیـک می‌باشـد. تـاکنون مطالعات زیادی در این رابطه صورت گرفته اسـت (١، ٦، ١٢، ١٤ و ١٥).یکـی از مـواد معدنـی افزایش‌دهنـده کیفیـت آب زئولیت[2] می‌باشـد. زئولیت‌ها در واقـع کانیـهایی از جنـس سـیلیکات آلومنیوم با ساختار چهار وجهی (چهار اتم اکسیژن حول یک اتم سیلیسیم) هستند کـه در آن حفره‌هـا و کانالهایی با ابعاد ١٠-٣ آنگستروم وجود دارد(٨ و ١٣). در داخل ایـن حفره‌هـا بـه مـیزان ٢٠ -١٠ درصد آب وجود دارد. وجـود ایـن سـاختمان در زئولیت به آنها اجازه می‌دهد تبادل کـاتیونی را بـا ظرفیت بین meq/g ٤/٧٣-٢/١٦ داشته باشـند(١٠ و ١٣). کاتیونهای خارجی قابل تبادل در زئولیت‌ها معمولا Na, K , Ca , Mg می‌باشـد کـه بـرای زئولیت مورد نظر (کلینوپتیلولیت) این یونها شـامل Na و K باشـد (٧ و٨). در بیـن زئولیت‌هـا ی طبیعی تنها ٨ نوع به وفور در رسوبات و بـه‌میزان اقتصادی یافت می‌شـوند کـه در بیـن آنـها ٢ نـوع فیلیپسیت[3] و کلینوپتیلولیت[4] به‌دلیل تمـایل بـالا در جـذب یـون آمونیـوم از اهمیـت بیشـتری در آبزی‌پروری برخوردارند (١٠،٧ و ١١).

ترتیب تمایل جذبـی در کلینـوپیلولیت بصـورت زیراست (٧):

1- Partial pressure

2- Zeolite
3- Phillipsite
4- Clinoptiloites

www.SID.ir

Archive of SID

Cs-Rb-NH4-Ba-Sr-Na-Ca-Fe-Mg-Li
از چپ به راست به‌ترتیب کم می‌شود

مواد و روشها

ماهی: ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۱۵ گرم (۲۱– ۹/۵گرم) از کارگاه پرورش ماهی منطقه واقع در استان فاضل‌آباد تهیه و در یک استخر(۰/۸×۲×۲۵متر) بصورت جداگانه نگهداری شدند.

شرایط محیطی: آب مورد آزمایش آب کارگاه پرورش ماهی چشمه و رودخانه بود که فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آن (اکسیژن محلول، آمونیاک، درجه حرارت، pH) اندازه‌گیری شد.

مطالعات آزمایشگاهی: آزمایشها با استفاده از روش آب ساکن و در شرایط ثابت دما و pH صورت گرفت (pH=۷/۷–۷/۸ و C° ۱+ ۱۶=T). مدت زمان آزمایش برای هر گروه ۲٤ ساعت بود. برای تعیین غلظت آمونیاک کل پس از تعیین حجم آب (۵۰ لیتر) به ازاء واحد حجم، کلرور آمونیوم (NH4Cl ساخت کارخانه Merck آلمان) به‌صورت وزنی توزین و به آب اضافه گردید. برای حل کردن کلرور آمونیوم درآب آکواریوم، ابتدا آنرا در بشر حل کرده و سپس محلول حاصله به آب اضافه گردید تا محلول یکنواختی بدست آید. بعد از گذشت ۲٤ ساعت میزان آمونیاک کل در ظروف آزمایش توسط دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ٤۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

زئولیت مورد نظر زئولیت طبیعی ازنوع کلینوپتیلولیت با ۹۰ درصد خلوص بود که از شرکت افرند توسکا ـ ایران (شرکت سهامی خاص تولیدکننده آنزیمیت ایران) تهیه گردید. زئولیت‌های مورد بررسی پس از شستشو و رفع آلودگی سطح آن ازمواد آلی با استفاده از هاون دستی خرد کرده و به‌منظور دانه‌بندی متفاوت بعد از چند بار الک‌کردن با چشمه توری ۲۰–۰/۱۲۵ میلی‌متر، مورد استفاده قرار گرفت. آزمایشها در چند مرحله صورت گرفت:

مرحله اول: در این مرحله جهت تعیین اثر هواده و دانه‌بندی زئولیت در جذب آمونیاک، آزمایشها در طرح کاملاً تصادفی فاکتوریل با ۸ تیمار در ۳ تکرار اجرا شد. در غلظت ٤ میلی‌گرم درلیتر آمونیاک کل مقدار ٤ گرم در لیتر زئولیت با اندازه‌های متفاوت (۲۰ – ۰/۱۲۵ میلی‌متر) بصورت آرد، گرانول و تکه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. از سنگ هوا به‌عنوان هواده استفاده گردید. بعد از گذشت ۲٤ ساعت نتایج آزمایش با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSd)[1] مقایسه شدند.

مرحله دوم: در این مرحله ماهیها در۵ گروه (تیمار) با ۱۳ قطعه ماهی (تکرار) در هر گروه در معرض غلظت‌های مختلف آمونیاک کل (۲۵،۲۰،۱۵،۱۰و۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار داده شدند. تعیین این غلظت‌ها براساس یکسری آزمایشهای مقدماتی، برای تعیین غلظت آمونیاک موردنظر بوده است، بطوریکه درغلظت‌های بکار رفته تلفات در ماهیها، از ۱۰۰–۰ درصد مشاهده گردید. یک گروه ۱۳ تایی از ماهیها هم به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد.

مرحله سوم: دراین مرحله برای مشخص کردن اثرات زئولیت در پیشگیری از مسمومیت با

1- Least significant difference test

www.SID.ir

Archive of SID

آمونیاک ۵ گروه ۱۰ تایی از ماهیها در معرض غلظت‌کشنده آمونیاک قرار داده شدند. به هر یک از آکواریوم‌ها مقادیر ۲، ۵ ، ۱۰، ۱۳ و ۱۵گرم در لیتر زئولیت بصورت آرد اضافه گردید. یک گروه ۱۰ تایی نیز در معرض زئولیت بدون آمونیاک قرار داده شد تا تأثیر زئولیت در جلوگیری از اثرات آسیب شناسی آمونیاک در ماهی برای یک دوره کوتاه مورد بررسی قرار گیرد.

مرحله چهارم: در این مرحله جهت تعیین اثر زئولیت بر خواص فیزیکوشیمیایی آب از مقادیر ۱۵ و ۳۰ گرم در لیتر زئولیت استفاده شد. آزمایشها در ظروف ۲ لیتری در طرح کاملا تصادفی نامتعادل (با تکرارهای نابرابر) با غلظت ۹میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل اجرا گردید. طی زمانهای متوالی (۲٤، ٤٨، ۷۲، ۹٦ و ۱٤٤ ساعت) فاکتورهای فیزیکوشیمیائی آب نظیر pH ، شوری، هدایت الکتریکی (با استفاده از دستگاه واترچکر مدل u-10)، نیتریت، نیترات (با استفاده از دستگاه دیجیتالی نیتریت‌سنج HANNA)، آمونیاک (با استفاده از جذب نوری و دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ٤٥۰ نانومتر) و سختی کل (به روش تیتراسیون با EDTA) اندازه‌گیری شد (۳و۹). نتایج با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار مقایسه شدند.

مطالعات آسیب شناسی: به‌منظور بررسی ضایعات آسیب شناسی بافتهای آبشش، کبد وکلیه از ماهیهایی که در معرض غلظت کشنده آمونیاک و نمونه‌هایی که در معرض زئولیت بدون آمونیاک قرار داشتند، نمونه‌گیری به‌عمل آمد و نمونه‌ها درفرمالین ۱۰ درصد ثابت شدند. پس از گذشت دو هفته (به‌منظور نفوذ ماده تثبیت کننده در بافتهای ماهی) از بافتهای مورد نظر مقاطع بافتی تهیه شد و ضایعات آسیب شناسی آنها مورد بررسی قرارگرفت.

نتایج

مطالعات آزمایشگاهی مرحله اول: بعد از گذشت ٢٤ ساعت میزان آمونیاک درظروف آزمایش اندازه‌گیری گردید و نتایج با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (Lsd) بررسی شدند که در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱ - میانگین و انحراف معیار غلظت آمونیاک کل (mg/l) بعد از گذشت ٢٤ساعت در گروه‌های مورد آزمایش تحت شرایط دمایی ١٦ درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول ٥/٦ میلی‌گرم در لیتر و pH= ٨/٣٧ با غلظت اولیه ٤ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل.

گروه اول	گروه دوم	گروه سوم	گروه چهارم	گروه پنجم	گروه ششم	گروه هفتم	گروه هشتم
شاهد	آرد رئولیت	گرانول زئولیت	دانه زئولیت	هواده	هواده وآردزئولیت	هواده وگرانول زئولیت	هواده ودانه زئولیت
۳/۹۵*/۱۲ e	۳/۷۵*۰/۱۸ ced	۳/۳۲*۰/۰۱ bc	۳/۸۷*۰/۲۲ de	۳/۷۳*۰/۳٦ cde	۰/۹۸*۰/۵ a	/۸۵*۰/۵۲ b	۳/۳۸*۰/۲۹ cd

× حروف a,b,c,d,e بیانگر اختلاف معنی‌داری ($p < 0/05$) دربین گروه‌هاست.

× حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری ($p > 0/05$) در بین گروه‌هاست.

www.SID.ir

Archive of SID

همانطوریکه در جدول ۱ مشخص شده است زمانی که از هواده و زئولیت بطور توأم استفاده می‌شود (گروه‌های ٦، ۷ و ۸)، درمقایسه با گروه‌هایی که از هواده (گروه ۵) و یا زئولیت (۲ و ٤) به‌تنهائی استفاده شده است، اختلاف معنی‌داری ($p < 0/05$) را نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد. همچنین در بین گروه‌های حاوی زئولیت، گروه ٦ (هواده و آرد زئولیت) اختلاف خیلی معنی‌داری ($p < 0/01$) نسبت به گروههای دیگر دارد. این امر نشان می‌دهد ذرات زئولیتی ریزتر دارای جذب بیشتری هستند.

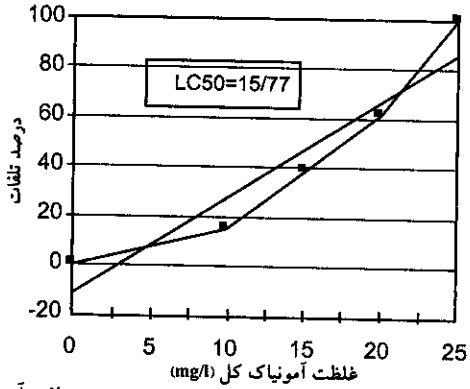
مرحله دوم: با افزایش غلظت آمونیاک کل درصد تلفات نیز بهمان نسبت افزایش می‌یابد(جدول۲)

جدول ۲ - نتایج حاصل از قرارگرفتن ماهیها در معرض غلظت‌های مختلف آ مونیاک در طی ۲٤ ساعت تحت شرایط دمای۱+۱٦ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول mg/l ۱۱-۱۰، ۷/۸- pH=۷/۷، حجم آب ۵۰ لیتر و تعداد ماهی در هر گروه ۱۳ قطعه.

گروه	غلظت آمونیاک کل(mg/l)	غلظت آمونیاک غیر یونیزه(mg/l)	تعداد تلفات	درصد بقاء ٪
شاهد	۰	۰	۰	۱۰۰
۱	۱۰	۰/۱۷	۲	۸٦/٤
۲	۱۵	۰/۲٦	۵	٦۱/۵
۳	۲۰	۰/۳۵	۸	۳۸/٤
٤	۲۵	۰/٤٤	۱۳	۰

با رسم منحنی تغییرات تلفات در غلظت‌های مختلف و با استفاده از شیب خط رگرسیون غلظت نیمه‌کشنده آمونیاک (LC50) در ۲٤ ساعت برابر ۱۵/۷۷ میلی‌گرم در لیتر است که با توجه به دما و pH و با استفاده از فرمول زیر برابر با ۰/۲۸ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک غیر یونیزه می‌باشد(شکل۱).

$$NH3 - N = \frac{NH4 - N}{10^{(10/07 - 0/033T^{oc} - PH)} + 1}$$



شکل ۱ - منحنی خط رگرسیون و تغییرات تلفات ماهی در غلظت‌های مختلف آمونیاک کل (mg/l).

www.SID.ir

Archive of SID

مرحله سوم: بـا افزایـش مقـادیر زئولیـت بـه آب درصد بقاء افزایش می‌یابد (جدول۳).

بـا اضافـه‌کردن مقـادیر زئولیـت بـه آب (۵،۱۰،۱۳،۱۵ و۲گرم در لیـتر) درصـد بقـاء در۲٤ ساعت بـه‌ترتیب برابـر ۱۰۰،۹۰،٦۰،۲۰ و ۰ درصـد بوده است (جدول ۳).

جدول ۳- نتایج حاصله از قرارگیری ماهیها در مقابل میزان کشنده آمونیاک کل (mg/l) با آرد زئولیت در طی ۲٤ ساعت تحت شرایط دمایی ۱+۱٦درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۱۱-۱۰ میلی‌گرم درلیتر، pH= ۷/۸-۷/۷، حجم آب ۵۰ لیتر، تعداد مـاهی درهرگروه ۱۰ قطعه.

گروه	مقدار زئولیت (g/l)	تعداد تلفات	درصد تلفات ٪
شاهد	۰	۱۰	۱۰۰
۱	۲	۱۰	۱۰۰
۲	۵	۸	۸۰
۳	۱۰	٤	٤۰
٤	۱۳	۱	۱۰
۵	۱۵	۰	۰

مرحله چهارم: نتایج حاصل از آزمایش این مرحله در جدول ٤ آورده شده است.

جدول ٤ - نتایج حاصل از اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب در مقابل آرد زئولیت با غلظت اولیه ۹ میلی‌گرم درلیـتر آمونیاک کل (mg/l).

زمان	گروه	PH	هدایت الکتریکی (cm-ms)	شوری (g/l)	نیترات (mg/l)	نیتریت (mg/l)	آمونیاک کل (mg/l)	سختی کل (mg/l)
بعد از گذشت	شاهد	۸/۰۵±۰/۰۰	۰/۵۲۵±۰/۰۰	۲ ±۰/۰۰	٤/۲۵±۰/۰۷	۰/۰۷۵±۰/۰۰۷	۸/٦۵±۰/۳۵	٤۰۰±۰/۰۰
۲٤ ساعت:	۱۵ گرم در لیتر آرد زئولیت	۸/۱۲±۰/۰۰	۰/۵۲۵±۰/۰۰۱	۲ ±۰/۰۰	٤/۲±۰/٤۲	۰/۰۷۳±۰/۰۲	٦/۵۸±۱/۳۹	۳٤۵/۳±۱۸/۵۸
	۳۰ گرم در لیتر آرد زئولیت	۸/۱۱±۰/۰۰۷	۰/۵۲٤±۰/۰۰	۲ ±۰/۰۰	٤/۷±۰/۱٤	۰/۰۷۵±۰/۰۰۷	۳/۹۳±۰/٦۷	۳۲۰±۰/۰۰
بعد از گذشت	شاهد	۸/۱۳±۰/۰۳	۰/۵۲٤±۰/۰۱۵	۲ ±۰/۰۰	٤/۵±۰/۰۰	۰/۰۸±۰/۰۰	۸/۸۵±۰/۳۵	٤۰۰±۰/۰۰
٤۸ ساعت:	۱۵ گرم در لیتر آرد زئولیت	۸/۲٤±۰/۰۵	۰/۵۳۳±۰/۰۰۲	۲ ±۰/۰۰	٤/۲±۰/۰۰	۰/۰٦±۰/۰۱	۵/۳±۰/۳۰	۳۱۰±۰/۰۰
	۳۰ گرم در لیتر آرد زئولیت	۸/۲۲±۰/۰۰۷	۰/۵۲۹±۰/۰۰۱	۲ ±۰/۰۰	۳/۹±۰/۰۰	۰/۰۷±۰/۰۰	۲/۹۳±۰/۰۵	۲۸۰±۰/۰۰
بعد از گذشت	شاهد	۸/۱۳±۰/۰۰	۰/۵۲۷±۰/۰۰۲	۲ ±۰/۰۰	٤/۲±۰/۰۰	۰/۰۸±۰/۰۰	۸/۲±۰/۹۹	۳۹۵±۷/۰۷
۷۲ ساعت:	۱۵ گرم در.لیتر آرد زئولیت	۸/۲۲±۰/۰۲	۰/۵۲۷±۰/۰۰۲	۲ ±۰/۰۰	۳/۸±۰/۰۰	۰/۰۸±۰/۰۰	۵/۰۵±۰/۱۵	۲۷۳/۳±۵/۷۷
	۳۰ گرم در لیتر آرد زئولیت	۸/۲۲±۰/۰۰۷	۰/۵۲٦±۰/۰۰۳	۲ ±۰/۰۰	۳/۹±۰/۰۰	۰/۰۷±۰/۰۰	۱/۹±۰/۰۱	۲٤۵±۷/۰۷
بعد از گذشت	شاهد	۸/۲۵±۰/۰۷	۰/۵٤۰±۰/۰۰	۲ ±۰/۰۰	٤/٤±۰/۰۰	۰/۰۸±۰/۰۰	۸/۵±۰/۹۹	۳۹۰±۱٤/۱٤
۹٦ ساعت:	۱۵ گرم در لیتر آرد زئولیت	۸/٤±۰/۰۰۵	۰/۵٦۲±۰/۰٦	۲ ±۰/۰۰	٤/٤±۰/۰۰	۰/۰۷±۰/۰۰	۲/۸۷±۰/۷۲	۲۵۸/٦±۲/۳۱
	۳۰ گرم در لیتر آرد زئولیت	۸/۲۲±۰/۰۰۷	۰/۵٤۱±۰/۰۰۲	۲ ±۰/۰۰	٤/۳±۰/۰۰	۰/۰۸±۰/۰۰	۲/٦±۰/۰۱	۲۳۵±۷/۰۷
بعد از گذشت	شاهد	۸/۲۹±۰/۰۷a	۰/۵۳۷±۰/۰۱a	۲a	٤/۳a	۰/۰۸a	۸/۷±۰/۲۸a	۳۹۵±۷/۷۰a
۱٤٤ ساعت:	۱۵ گرم در لیتر آرد زئولیت	۸/۳۲±۰/۰۲a	۰/۵۷۳±۰/۰۵b	۲a	٤/۲a	۰/۰۷a	۲/۲۵±۰/۵۲b	۲۷٤/٦۷±۱۲/۸٦b
	۳۰ گرم در لیتر آرد زئولیت	۸/۳۲±۰/۰۲a	۰/۵۷٦±۰/۰۱b	۲a	٤/٤a	۰/۰۹a	۳/٦۱±۰/۳۷c	۲٤۰c

× حروف a, b,c در هر ستون بیانگر اختلاف خیلی معنی‌دار ($p < 0/01$) در بین گروه‌ها می‌باشد.

× حروف b, a در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) در بین گروه‌ها می باشد.

× حروف مشترک در ستونها بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار ($p > 0/05$) دربین گروه‌ها می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

همانطوریکه در جدول ٤ مشخص شده است، زئولیت علاوه بر جذب آمونیاک آب، سختی کل آب (مجموع یونهای کلسیم و منیزیم) را نیز کاهش داده است. بعد از گذشت ١٤٤ ساعت اختلاف معنی‌داری ($p<0/05$) در فاکتورهای سختی کل و آمونیاک کل و هدایت الکتریکی در بین گروه‌ها دیده شد. در بین سایر فاکتورها اختلاف معنی‌داری ($p > 0/05$) مشاهده نشد (جدول ٤). بعد از گذشت ٩٦ ساعت زئولیت‌ها اشباع گردیده و کارآیی خود را از دست دادند(جدول ٤).

مطالعات آسیب شناسی

مشاهدات ظاهری: در ماهیانی که در معرض غلظت ٢٠ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل و بالا تر از آن قرار گرفته بودند، بی‌قراری شدید، خم شدن ناگهانی عضلات تنه، باز و بسته شدن سرپوشهای آبششی و دهان، حرکات تشنجی، برخورد با کناره‌های آکواریوم، سعی در بیرون پریدن، بلعیدن هوا از سطح، پرخونی و قرمز شدن آبششها مشاهده گردید.

مشاهدات مقاطع بافتی: در بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از آبشش ماهیانی که در معرض غلظت‌های مختلف آمونیاک کل (٢٥،٢٠،١٥و١٠ میلی‌گرم در لیتر) قرار داشتند، عمومی‌ترین ضایعات شامل هیپر پلازی[1]، ادم یا خیز[2]، اتساع لاملاهای ثانویه، پرخونی[3]، خونریزی[4]، نکروز سلولهای پوششی و نفوذ سلولهای آماسی تک هسته‌ای در لابه‌لای رشته‌های آبششی بودند (شکلهای٢ و٣). در گروه شاهد و زئولیت بدون آمونیاک درجات خفیفی از هیپرپلازی رأس رشته‌های آبشش و ادم دیده شد. ضایعات مربوط به کلیه، در ماهیانی که در معرض غلظتهای مختلف آمونیاک کل قرار داشتند بطور عمده شامل اتساع کپسول بومن، تخریب مجاری کلیوی، خونریزی، پر وجود مقادیر فراوان سلولهای تک هسته‌ای و تغییر شکل سلولهای پوششی لوله‌های کلیوی بوده است (شکل ٤ و٥). در کلیه ماهیان گروه شاهد ضایعه خاصی مشاهده نشد.

عمده‌ترین ضایعات در کبد ماهیانی که در معرض غلظتهای مختلف آمونیاک کل قرار داشتند، شامل نکروز سلولهای کبدی، نفوذ سلولهای آماسی، خونریزی و پرخونی بوده است(شکل ٦). در گروه‌های شاهد و زئولیت بودن آمونیاک ضایعه‌ای مشاهده نشد.

1- Hyperplasia
2- Edema
3- Hyperemia
4- Hemorrhage

www.SID.ir

Archive of SID

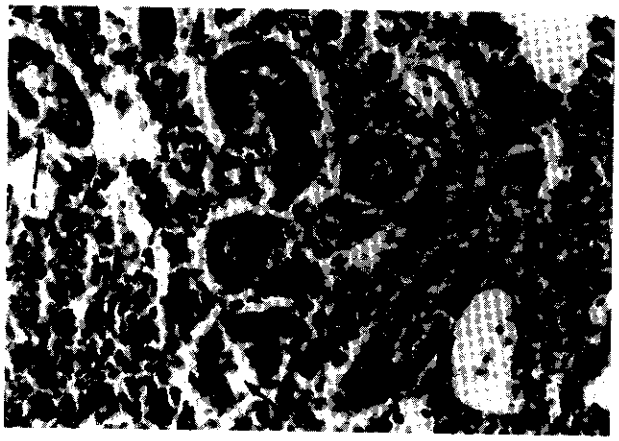
شکل ۲- مقطع بافتی آبشش ماهی در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل(mg/l). نوک پیکان پرخونی را نشـــان می‌دهـد (بزرگنمائی ۲۰۰×).

شکل ۳ - مقطع بافتی آبشش ماهی در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل (mg/l). نـوک پیکـان ادم را نشـان می‌دهـد (بزرگنمایی ×۲۰۰).

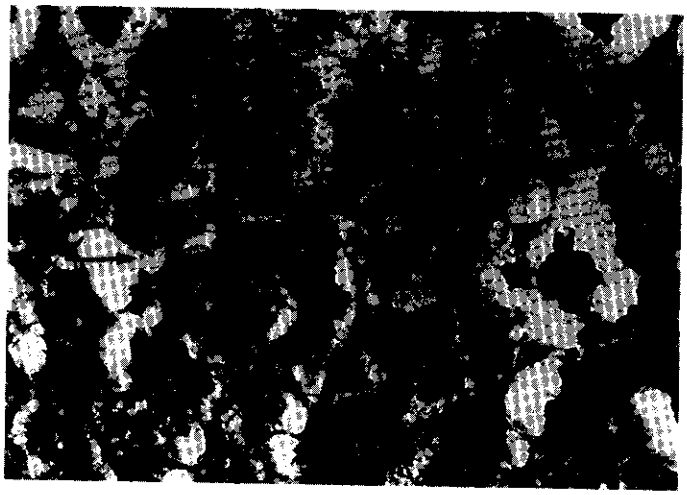
شکل ٤ - مقطع بافتی کلیه ماهی در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل (mg/l). ۱- حالت پرخونی را نشان می‌دهد.
۲- وجود رنگدانه های ملانین را نشان می دهد (بزرگنمای ۲۰۰×)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵ - مقطع بافتی کلیه ماهی در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل (mg/l). ۱- تخریب مجاری کلیوی را نشان می‌دهد. ۲- وجود سلولهای آماسی را نشان می‌دهد (بزرگنمایی ٤٠٠×).



شکل ٦ - مقطع بافتی کبد ماهی در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل (mg/l). نوک پیکانها نکروز سلولهای کبدی را نشان می‌دهد (بزرگنمایی ٤٠٠×).

بحث

تحقیقات زیادی در ارتباط با مسمومیت ماهی و میگو با آمونیاک در جهان صورت گرفته که هر کدام جنبه خاصی را مد نظر دارد. آنچه مسلم است افزایش آمونیاک آب سبب بروز تظاهراتی در رفتار و ساختار ماهی می‌شود که شامل خم شدن عضلات تنه، تحریکات عصبی، پرخونی آبششها، عدم تعادل و شنای ناموزن، کاهش رشد و در نهایت مرگ ماهی می‌باشد.

در یک تحقیق نشان داده شده است که هوادهی در خروج آمونیاک نقشی ندارد، بلکه مقاومت ماهی را افزایش می‌دهد(۱۵).

بر اساس آزمایشات صورت گرفته، استفاده از هواده‌هایی با قدرت ۱۱۱ کیلووات در هکتار فقط می‌تواند اندکی از غلظت آمونیاک را کاهش دهد به‌طوریکه بعد از گذشت ٢٤ ساعت در دمای ۲۹- ۲٦ و pH = ۷/۳۷ غلظت آمونیاک کل را از ٤/٤۳ میلی‌گرم در لیتر به ٤/۲۹ میلی‌گرم در لیتر برساند.

www.SID.ir

Archive of SID

هر چند کارایی هواده‌ها در pH های بالاتر بـه مراتـب بیشـتر اسـت، به‌طوریکـــه در pH=۹/۰۷ غلظـــت آمونیـــــاک را از ٤/۰٤ بـــــه ۲/۷٤ می‌رسـاند(١٤). همانطوریکـه در اولیـــن مرحلـه آزمایش نشان داده شد استفاده از هـواده(گـروه ٥) اختلاف معنی‌داری ($p>0/05$) را در کاهش غلظت آمونیاک آب نشان نـداد (جـدول ١). از آنجـا کـه هواده در روند آزمایشها نخواهد گذاشت، در ادامه از هواده فقط جهت نیازهای تنفسی ماهی اسـتفاده گردید.

با استفاده از شـیب خـط رگرسـیون و منحنـی تغییرات مربوط به درصـد تلفـات در غلظت‌هـای مختلف آمونیاک میزان LC50 در ٢٤ ساعت برابـر ۱۵/۷۷ میلی‌گرم در لیتر (معادل ۰/۲۸ میلی‌گـرم در لیترآمونیاک غیر یونیزه) به‌دســت آمـد (شـکل ١). البته میزان بدست آمده در شرایط آزمایشـی (۰/۲۸ میلی‌گرم در لیترآمونیـاک غـیر یونـیزه) در شـرایط بهینه از نظر دمـایی و pH و بـدون وجـود سـایر عوامل نامساعد محیطی برای ماهی به‌دســت آمـده است. در محیطهای پرورشـی بـا توجـه بـه اینکـه عوامل مضر دیگر از جمله سولفید هیدروژن، متان و همچنین شرایط نامساعد محیطی از جمله کمبود اکسیژن و بالا بودن درجه حرارت نیز ممکن است وجود داشته باشد، لذا این عوامل می‌توانند سمیت آمونیـاک را تشـدید کننـد. بنـابراین مقـادیر کمـتر آمونیاک نیز می‌تواند باعث تلفات در ماهیها شـود. هرچند سن و اندازه ماهی نیز در حساسیت آنها به آمونیاک مؤثر است (٤،١ و٥). بعنوان نمونـه طـی آزمایشی که بر روی اسمولت مـاهی آزاد صـورت گرفـت غلظـت نیمه‌کشـنده آمونیـاک بعـد از ٤٨ ساعت برابر ۰/۳٤ میلی‌گرم در لیـتر آمونیـاک غـیر یونیزه به‌دست آمد(١٢).

در ارتباط با مرگ و میر ماهیها دلایل متعـددی وجود دارد:

تخریب لوله‌های کلیـوی و گلومرولـها، عمـل کلیه را مختل ساخته و سبب مرگ ماهی می‌شـود. در اثر آسیبهای آبشش، تنظیم اسـمزی مـاهی بـهم خورده، کاهش اکسیژن رسانی بـه بافتـها صـورت گرفته که منجر به اختـلالات تنفسـی و در نـهایت مرگ ماهی می‌شود.

استفاده از مقـادیر مختلـف زئولیـت (۳۰ و۱۵ گـرم در لیـتر) در شـرایط آزمایشـــگاهی بعـد از گذشت ١٤٤ ساعت نتوانست غلظـت آمونیـاک را بـه صفـر برسـاند و تنـها حـدود ۸۰ درصـد آن‌را جذب کرد (جدول ٤). هر چه میزان آمونیـاک آب بیشتر باشد میزان آمونیاک بیشتری جذب زئولیـت می‌شود، ولـی باکـاهش غلظـت آمونیـاک کـارآیی زئولیت در جـذب آن کـاهش می‌یـابد. در ضمـن هرچه ذرات زئولیت ریزتـر باشـد، سـطح تمـاس مولکولها بیشتر شده و سرعت جذب بالا مـی‌رود، بطوریکه وقتی از آرد زئولیت در مقایسه با گرانول و تکه‌های زئولیت در حضور هواده اسـتفاده شـد، بیشترین مـیزان جـذب آمونیـاک را شـاهد بودیـم (جدول ١). این امر با سایر آزمایشاتی که صـورت گرفته مطابقت دارد (١٤و٦) .

زئولیتها با جذب یونهای کلسیم و منـیزیم آب باعث کاهش سختی کـل آب می‌شـوند، کـه ایـن امرکـارآیی زئولیـت را در جـــذب آمونیـاک آب کاهش می‌دهد، به‌طوریکه در شرایط این آزمـایش استفاده از ۱۵ گرم زئولیت توانست سختی کل آب را بعد از گذشت ١٤٤ ساعت از ٤۰۰ میلی‌گـرم در لیـتر کربنـات کلسـیم بـه ٢٦۰ میلـی‌گـرم در لیـتر کربنات کلسیم برساند(جدول ٤).

www.SID.ir

Archive of SID

سختی کل آب که مجموعه‌ای از یونهای کلسیم و منیزیم موجود در آب می‌باشد، علاوه بر اینکه باعث کاهش کارآیی زئولیت در جذب یون آمونیوم آب می‌شود، خاصیت تامپونی آب را از بین برده وسبب نوسانات pH در طول شبانه روز در آبهای ساکن می‌گردد. البته باید توجه داشت که تأثیر زئولیت در کاهش سختی آب کمتر از آمونیاک آب است که علت آن را نیز می‌توان در ارتباط با تمایل جذبی بیشتر زئولیت برای یون آمونیوم نسبت به یون کلسیم و منیزیم دانست(۷، ۱۰ و ۱۱).

استفاده از زئولیت بعد از گذشت ۱٤٤ ساعت، هدایت الکتریکی محلول را افزایش داد (جدول٤). با توجه به اینکه یون خارجی قابل تبادل در زئولیت مورد آزمایش (کلینوپتیلولیت) سدیم می‌باشد، علت آن را می‌توان نتیجه تبادل یون آمونیوم با یون سدیم دانست (۷ و ۸). زئولیت تأثیری در غلظت نیترات و نیتریت نداشت (جدول ٤). همانطوریکه اشاره شد، با توجه به اینکه زئولیت کلینوپتیلولیت از نوع تبادل کاتیونی است، لذا این امر بیانگر آن است که زئولیت مورد استفاده قادر به جذب آنیونها از محیط نیست (۱۰ و ۱۳).

استفاده از زئولیت طبیعی به میزان ۱۵ گرم در لیتر در غلظت کشنده آمونیاک (۲۵ میلی‌گرم درلیترآمونیاک کل) توانست تلفات ماهیها را به صفر برساند(جدول ۳). در حالی که برای ماهی‌کپور در غلظت کشنده (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل) استفاده از ۱۰۰ گرم در لیتر زئولیت کلینوپتیلولیت توانست تلفات ماهیها را بعد از گذشت ۲٤ ساعت به صفر برساند(۱). با مقایسه این دو گونه ماهی (کپور و قزل آلا) مشاهده می‌شود غلظت کشنده آمونیاک در ۲٤ ساعت برای ماهی قزل آلا (۲۵ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل) بسیارکمتر از غلظت کشنده آمونیاک برای ماهی کپور (۱۵۰میلی‌گرم در لیتر آمونیاک کل) است، با این وجود مقدار زئولیت بکار برده شده در غلظت کشنده آمونیاک برای ماهی قزل آلا (۱۵ گرم در لیتر) به‌مراتب بیشتر از مقدار زئولیت بکار برده شده در غلظت کشنده آمونیاک برای ماهی کپور (۱۰ گرم درلیتر) است. این امر حساسیت ماهی قزل‌آلا را نسبت به آمونیاک در مقایسه با سایر کپور ماهیان نشان می‌دهد.

جدول ۳ کاربرد زئولیت طبیعی را در کاهش آمونیاک و جلوگیری از تلفات در ماهی قزل‌آلا انشان می‌دهد، هر چند در ماهیهایی که توسط زئولیت زنده مانده‌ا ند، هنوز درجاتی از خونریزی و هیپرپلازی دیده می‌شود (شکلهای ٦ و ۷)که می‌تواند در دراز مدت و در طول دوره پرورش اعمال فیزیولوژی جانور را تحت تأثیر قرار دهد و موجب کندی رشد ماهی گردد و یا اینکه بهبود یابد. در هر حال استفاده از زئولیت در آبهای شیرین نتایج مثبتی را نشان می‌دهد(۱، ۱۰ و ۱٤)، بطوریکه زئولیت قادر به جذب ۹۰-۸۰ درصد آمونیاک محیط‌های آب شیرین می‌باشد و پس از آن بعد از گذشت ۹٦ ساعت به حالت اشباع در آمده و کارآیی خود را از دست می‌دهد (جدول ٤)، لذا برای احیاء مجدد باید آنها را از محیط آبی خارج ساخت و در یک محلول نمکی (Nacl) شستشو داد تا دوباره به حالت اولیه برگردد (زیرا یون قابل تبادل در زئولیت، Na می‌باشد) (۷،۱ و ۱٤). بطورکلی استفاده از زئولیت در آبهای شیرین نتایج مثبتی را نشان داده است ولی در آبهای شور کارآیی زئولیت به شدت کاهش می‌یابد. با

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه‌ای که بر روی میگوها در آب‌شور صورت گرفت، نشان داده شد که جذب آمونیوم و سایر احیاء آن و همچنین تکرار این روند نوسان متوالی غلظت آمونیوم را می‌شود. همچنین مشخص گردید که استفاده از زئولیت تاثیر مستقیم بر افزایش رشد و درصد بازماندگی میگوها در شرایط آزمایشی مورد مطالعه ندارد (٦).

با توجه به یافته‌های به‌دست آمده در شرایط این آزمایش، استفاده از زئولیت ممکن است در بهبود شرایط زیست محیطی ماهی یا میگو به قرار زیر مؤثر باشد(٦):

زئولیت‌ها با ایجاد یک پوشش فیزیکی مناسب در روی مواد آلی بستر از طریق جذب سطحی گازهای سمی مانند سولفید هیدروژن و متان، می‌تواند اثرات مثبتی بر رشد ماهی و میگو داشته و با جذب یون آمونیوم از محیط آب شیرین، سبب بهبود وضعیت کیفی آب و در نهایت سبب بهبود رشد و بقاء ماهیان می‌گردد. همچنین می‌تواند با جذب یونهای مثبت آب از جمله کلسیم، خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب را تحت تأثیر قرار دهد، بدون آنکه تأثیری بر بافتهای ماهی داشته باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات آقایان دکتر رقیمی، دکتر یغمایی، مهندس نعیمی و مهندس خیرآبادی و آقای‌لطیفی که صمیمانه ما را در اجرای مراحل مختلف انجام این طرح یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

١. پیغان، ر. ١٣٧٨. بررسی تجربی مسمومیت حاد با آمونیاک در کپور معمولی بر اساس تغییرات هیستوپاتولوژیک و آنزیمهای سرمی و امکان پیشگیری آن با زئولیت. پایان‌نامه دکتری تخصصی بهداشت و بیماریهای آبزیان. دانشگاه تهران. ١٠٤ ص.

٢. چالکش امیری، م. ١٣٧٨. اصول تصفیه آب. انتشارات نشر ارکان اصفهان. ٤٤٢ ص.

٣. رجبی، ف. و ح. تقی نصیری. ١٣٨٠. پرورش ماهی قزل‌آلا در استخرهای خاکی. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان. ٢٦ص.

٤. شریف‌روحانی، م. ١٣٧٤. تشخیص، پیشگیری و درمان بیماریها و مسمومیتهای ماهی، معاونت تکثیر و پرورش آبزیان. انتشارات سبز رویش. ٢٥٦ ص.

٥. مشائی، م. ١٣٧٩. راهنمای تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلا. تهران. انتشارات نور بخش. ٢٥ ص.

٦. مکرمی، ق. ١٣٧٩. کاربرد زئولیت در پرورش میگو. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ١١٨ ص.

7.Bergero, D., M.Boccignone, and G.B. Palmegiano. 1994. Ammonia removal capacity of European natural zeolite tuffs: Application to aquaculture waste water. Aqua. and fish. Manag. 25:813-82.

8.Gottardi, G., and E.Galli. 1985. Natural zeolite, 2 nd ed. Springer Velag, Berlin.409 pp.

9.Greenberg, A. E., A.D. Eaton, and L.S. Clesceri. 1992. Standard methods for the examination of water and waste water, 18 th ed. Maryannh Franson, American public Health Associution, Washington. 1037 pp.

www.SID.ir

Archive of SID

10.Kayabali, K.; H, Kezer. 1998. Testing the ability of bentonite amended natural zeolite (clinoptilolite) to remove heavy metals from liquid waste. J.Environ. Geo.34: 95-100.
11.Keith, F. 1981. The Encyclopedia of mineralogy, 2-nd ed. Hatchincon Ross is publishing company, Pensylvania. Chapt (10) 523-530.
12.Knoph, M.B. 1996. Gill ventilation frequency and mortality of Atlantic salmon (*salmo salar*) exposed to high ammonia levels in sea water. Water.Res.oxford.30: 837-842.
13.Mumpton, F.A., and P.H. Fishman. 1977. The application of natural zeolite animal science and aquaculture. J.Anim. Sci. 45:1188-1203.
14.Sommai,Ch., and C.Boyd.1993.Effects of zeolite, formalin, bacteria augmentation, and aeration on total ammonia nitrogen concentration. Aqua. 116:35-45.
15.Tudor,M.,I.Katavic, and J.M.Lucic.1994. Acute toxicity of ammonia to juvenile sea bass (*Dicentrarchus Labrax)* at different aeration levels. Aqua.128: 85-95.

www.SID.ir

Archive of SID

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vo2. 10(2), Summer 2003
www.magiran.com/jasnr

Study of natural zeolites efficiency for reduction of ammonia Toxicity in rainbow trout (Oncorhynchus *mykiss*).

M. Farhangi, A. Kamali and A. Hajimoradloo

Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Abstract

The role of natural zeolite efficiency for absorption of ammonia in rainbow trout has been studied. The fish weight were 9.5-21 grams that exposed to four different concentrations of 10-25mg/l (10,15,20,25 mg/l) total ammonia nitrogen. A group of 13 fish considered as control. Lethal and sublethal concentrations of during 24 hours determined. Under stable temprature and pH condition (T= 16+1^{0C}, PH = 7.7-7.8) the lethal concentration of total ammonia nitrogen was 25 mg/l. In lethal concentration of ammonia different amounts of zeolite (2,5,10.13,15 g/l) were used. Application of 15g/l could prevent mortalities. Samples were taken from liver, gill and kidneys of fish (exposed lethal ammonia as groups with only zeolite) and histopathological sections were prepared.

The histopathologic lesions were studied. The major lesions in the gills were hemorrhag, hyperplasia, edema and epithalial cells necrosis.

In the kidney lesions were degenerated tubules of kidney, expansion of Bowman's capsule, hemorrhage and hyperamia. In liver the lesions were hepatocytes necrosis, hemorrhage and hyperamia.

Keywords: Rainbow trout; Ammonia; Zeolite; Gill; Kidney; Liver

سال دهم - شماره ۲ - تابستان ۱۳۸۲

www.SID.ir