

## عملکرد خرده‌های چوب در کاهش میزان آمونیاک محیط آکواریوم (NH<sub>3</sub>) و افزایش شانس بقای ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

احمد محمدی<sup>۱</sup>، محمد فروهر<sup>۱</sup>، سیدعلی اکبر هدایتی<sup>۱\*</sup>

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

\*hedayati@gau.ac.i

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۴

### چکیده

هدف از مطالعه حاضر استفاده از خرده‌های چوب (خاک اره) به عنوان یک بستر ارزان قیمت و منبع تأمین کربن، در فرآیند تثبیت آمونیاک و تأثیر آن بر افزایش شانس بقای ماهیان بود. بر این اساس، ماهیان در دو گروه شامل گروه شاهد (آکواریوم فاقد براده‌ی چوب) و گروه تیمار (آکواریوم آب حاوی معادل ۱۰٪ حجم کل براده چوب) بود) با چهار تکرار انتخاب شد. میزان ۱۰ میلی‌گرم آمونیاک به همهی آکواریوم‌ها اضافه شد و پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از افزودن آمونیاک، میزان آن محاسبه شد. در مرحله دوم آزمایش آکواریوم‌ها علاوه بر خرده‌های چوب حاوی ماهی نیز بودند. میزان تلفات ماهیان در بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت پس از اضافه کردن آمونیاک شمارش گردید. نتایج نشان داد بین غلظت آمونیاک در تیمار در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معناداری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). کمترین میزان مرگ و میر ماهیان مربوط به تیمار آمونیاک بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد، استفاده از خرده‌های چوب باعث افزایش کارایی سیستم بیولوژیکی تثبیت کننده آمونیاک و افزایش شانس بقای ماهیان شد.

**کلمات کلیدی:** بیوفیلتر طبیعی، آمونیاک، خرده چوب (خاک اره)، ماهیان زینتی.

## مقدمه

پرورش و نگهداری آبزیان به روش متراکم با موانعی همچون تراکم، تغذیه، کیفیت آب و بیماری مواجه است (Bennison, 2004). این مشکلات می‌تواند منجر به کاهش کیفیت محیط آب و کاهش سودآوری شود (Conte, 2004). اگرچه محیط کیفیت محیط آبی دارای یک ساختار پیچیده است، تنها تعداد کمی از عوامل موجود در این ساختار نقش تاثیرگذار در کیفیت محیط پرورش دارند. درجه حرارت، نیتريت، میزان آمونیاک، قلیائیت یا pH، میزان دی اکسید کربن و اکسیژن محلول در آب از جمله شاخصه‌های اصلی کیفیت آب هستند (Timmons and Fred, 2002).

آمونیاک محلول در آب از عوامل محدود کننده‌ی پرورش آبزیان است؛ آمونیاک موجود در محیط آبی، دارای دو منشأ آلی و معدنی است؛ یون آمونیاک (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) و آمونیاک مولکولی (NH<sub>3</sub>) که در محیط‌های آبی و مایعات زیستی یافت می‌گردد، دو شکل رایج آمونیاک هستند. البته فراوانی هر یک از این دو شکل آمونیاک، رابطه مستقیمی با دما و pH دارد. دیواره‌های سلولی نسبت به ورود NH<sub>4</sub><sup>+</sup> نسبتاً نفوذناپذیر هستند؛ ولی شکل مولکولی آمونیاک (NH<sub>3</sub>) می‌تواند در جهت شیب غلظت به راحتی از دیواره‌های سلولی عبور کند؛ به همین دلیل آمونیاک بطور بالقوه برای ماهیان خطرناک است (Martyniuk and Martyniuk, 2004; Timmons and Fred, 2002). این ترکیب با تأثیر بر عملکرد نوروهای انتقال دهنده‌ی پیام عصبی، بر کارکرد مغز تأثیر مخرب می‌گذرد (Svobodova et al., 1993).

در طبیعت دسته‌ای از باکتری‌ها که بیشتر متعلق به خانواده ازتوباکترها هستند کار تثبیت هُمونیاک را برعهده دارند و آن را در نهایت به شکل NO<sub>3</sub> که غالباً بر آبزیان غیر سمی است، درمی‌آورند (Thurston et al., 1981). مطالعات مطالعات سوارز و ابلویویچ (Soares and Abeliovich, 1998)؛ اصلان و ترکمان (Aslan and Turkman, 2005) به همراه مطالعات رباه و همکاران (Rabah and Dahab, 2004)، نشان دادفرآیند تثبیت آمونیاک در بستر مناسب برای جایگزینی باکتری هستند نسبت به سیستم‌های متکی بر باکتری معلق بازده بالاتری دارد. از همین روی امروزه بسترهای متنوعی از جنس پلیمر مثل پلی وینیل کلراید، برای بهبود فرآیند تثبیت آمونیاک بکاربرده می‌شود. عمده مشکل بسترهایی که از انواع پلیمرهای مصنوعی (پلاستیک) تولید شده‌اند هزینه بالای تولید و مشکلات زیستی آنان است (Jones et al., 2007)؛ به همین دلیل، امروزه استفاده از مواد طبیعی و زود تجدید شونده، در زمینه تسریع فرآیند دنیتروفيکاسیون کانون توجه محققین و صاحبان صنایع است.

مطالعات گذشته نشان داده که فرآیند طبیعی تثبیت آمونیاک (دنیتروفيکاسیون) در سیستم‌های دارای بستر بازده بالاتری نسبت

به انواع دیگر (فاقد بستر) دارد. در سال های اخیر انواع بسترهای مصنوعی (پلیمر) برای این منظور تولید شده است که عمده مشکل آن‌ها هزینه بالای تولید و آلودگی محیط زیست است. در مطالعه حاضر با توجه به مشکلات بخش پرورش آبزیان و هزینه استفاده از بسترهای مصنوعی برای تسریع فرآیند دنیتروفيکاسیون، کارایی بسترهای مبتنی بر براده چوب (خاک اره) بر فرآیند تثبیت آمونیاک را مطالعه کردیم و در گام بعدی تأثیر کاربرد این روش بر افزایش شانس بقای ماهیان بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

با توجه به بررسی‌های اولیه و امکانات آزمایشگاهی میزان ۳۰ کیلوگرم خرده چوب (خاک اره) از کارگاه‌های نجاری شهر گرگان تهیه شد و پس از انتقال به محیط آزمایشگاه با محلول ۱ میلی‌گرم در لیتر فرمالین شستشو شد؛ خرده‌های چوب پس از آبکشی به مدت ۲۴ ساعت در برابر حرارت غیر مستقیم قرار گرفت تا خشک شود. آمونیاک مورد استفاده در این آزمایش محصول لابراتوار دکتر مجلی با غلظت ۲۵٪ بود.

تعداد ۱۳۰ عدد ماهی قرمز (*Carassius auratus*) با میانگین وزنی ۴±۰/۵ گرم از کارگاه‌های تکثیر آبزیان سطح استان گلستان تهیه شد و به سالن ونیرو دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان انتقال یافت. ماهیان به مدت ۲ هفته جهت سازگاری در چهار مخزن ۲۵۰ لیتری جهت سازگاری نگهداری شدند. غذا دهی در دو نوبت و معادل ۳٪ وزن بدن ماهیان با استفاده از غذای بیومار انجام شد. شرایط فیزیکوشیمیایی آب دمای ۲۳-۲۵ درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول ۵±۰/۷۵٪ اشباع، میزان آمونیاک ۰/۱±۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر و pH برابر با ۷/۸-۸/۳ بود.

تعداد ۸ عدد آکواریوم شیشه‌ای (با ابعاد طول ۱۲۰، عرض ۳۰ و ارتفاع ۵۵ سانتیمتر) انتخاب شد و به دو گروه (تیمار و شاهد) تقسیم شد (حجم آگیری معادل ۱۹۰ لیتر بود)؛ هر گروه دارای چهار تکرار بود. معادل ۱۰٪ حجم آکواریوم گروه تیمار، خرده چوب به آن‌ها اضافه شد؛ برای جلوگیری از پخش شدن خرده‌های چوب آن‌ها را در توری‌های دانه ریز ریخته و در آکواریوم گذاشته شد. ۲۴ ساعت پس از معرفی براده‌های چوب به مخازن معادل ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک به مخازن اضافه شد. میزان آمونیاک مخازن، در بازه‌های زمانی ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از افزودن آمونیاک با استفاده از ابزار فوتومتر (Wagtech 7100) مورد محاسبه قرار گرفت. در مرحله دوم آزمایش ۷ عدد ماهی قرمز به آکواریوم‌ها اضافه گردید (در مجموع برای هر گروه ۲۸ عدد ماهی). تیماربندی‌ها در این مرحله آزمایش مشابه مرحله قبل بود؛ با این تفاوت که مخازن علاوه بر براده‌ی چوب حاوی ماهی نیز بودند (آکواریوم‌های

زمان، از آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) استفاده گردید؛ همچنین با استفاده از نرم افزار SPSS مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون LSD در سطح اطمینان ۰/۰۵ صورت گرفت.

## نتایج

نتایج نشان داد بین غلظت آمونیاک در گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معناداری وجود داشت ( $P < 0/05$ )؛ میانگین غلظت آمونیاک در گروه تیمار پس از گذشت ۹۶ ساعت  $0/12 \pm 0/189$  و در گروه شاهد  $1/54 \pm 0/06$  بود (جدول ۱).

مرحله‌ی دوم آزمایش متفاوت از مرحله اول بودند و تنها گروه‌بندی، میزان آبیگری و ابعاد مشابه داشتند. میزان تلفات در بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت پس از اضافه کردن آمونیاک شمارش گردید. ماهیان ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش به مخازن معرفی گشتند. هیچگونه غذادهی، پس از معرفی ماهیان به مخازن آزمایش و در طول ۹۶ ساعت آزمایش اصلی صورت نپذیرفت. هوادهی در تمام مراحل آزمایش برقرار بود. بجز مقدار آمونیاک دیگر شاخصه‌ها کیفی آب مشابه مرحله سازگاری ماهیان بود.

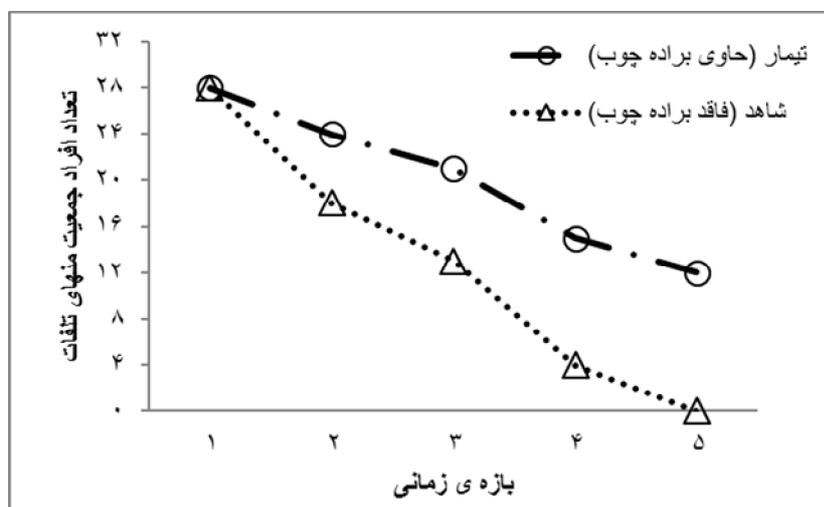
برای مقایسه داده‌ها بین تیمارها به تفکیک زمان و همچنین برای مقایسه داده‌های بدست آمده از هر یک از تیمارها با گذشت

جدول ۱: تغییرات غلظت آمونیاک در دو گروه تیمار و شاهد در واحد زمان است. حروف لاتین کوچک بیانگر عدم تفاوت معناداری در اعداد همان ستون است. حروف لاتین بزرگ بیانگر تفاوت معناداری در اعداد همان ردیف است

ساعت	۰ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	
شاهد	$1.0 \pm 0/00$ Aa	$7/34 \pm 0/10$ Ba	$4/60 \pm 0/05$ Ca	$2/46 \pm 0/02$ Da	$1/54 \pm 0/06$ Ea	
تیمار	$1.0 \pm 0/00$ Aa	$5/13 \pm 0/21$ Bb	$3/13 \pm 0/01$ Cb	$1/77 \pm 0/14$ Db	$0/89 \pm 0/12$ Eb	

تلفات مربوط به گروه شاهد (۲۸ عدد) و کمترین میزان تلفات مربوط به گروه تیمار (۱۶ عدد) بود (شکل ۱).

بین تعداد تلفات ماهیان در تیمار در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معناداری وجود داشت ( $P < 0/05$ )؛ بیشترین میزان



شکل ۱: تغییرات جمعیت ماهیان در مواجهه با غلظت فوق حاد آمونیاک است.

## بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات گذشته اثبات نموده است، افزایش تخلخل و سطح بستر باعث افزایش چسبندگی باکتری و افزایش سرعت دنیتروفيکاسیون می‌شود (Rajapakes and Scott, 1999). استفاده از براده‌ی چوب در کف مخازن نگهداری آب همراه با

ماهیانی که در مواجهه با مقادیر فوق حاد قرار داشتند دارای علائم بالینی مسمومیت با آمونیاک همچون، اضطراب، تیرگی رنگ، افزایش حرکت آبششی، عدم تعادل و در نهایت مرگ با دهان باز بودند.

## منابع

- Aslan, U., Turkman, A., 2005. Combined biological removal of nitrate and pesticides using wheat straw as substrate. *Process Biochemistry*, Vol. 40, pp. 935-943.
- Bennison, S., 2004. Animal welfare in the Australian aquaculture industry. *Welfare underwater*.
- Conte, F.S., 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behavior Science*, Vol. 86, pp. 205-223.
- Jones B.S., Philip W.W., Thomas M.L., 2007. Wood chips and wheat straw as alternative biofilter media for denitrification reactors treating aquaculture another wastewaters with high nitrate concentrations. *Aquaculture Engineering*. Vol. 37, Pp. 222-233.
- Kim, H.E., Seagren A., Davis, A.P., 2003. Engineered biorentention for removal of nitrate from stormwater runoff. *Water Environment Research*, Vol, 75, pp. 355-367.
- Martyniuk, S., Martyniuk, M., 2004. Occurrence of Azotoacter sp. in some Polish soils. *Polish Journal Environment Study*, Vol. 12, pp. 371-374.
- Rabah, F.K., Dahab, M.F., 2004. Nitrate removal characteristics of high performance fluidized - bed biofilm reactors. *Water Research*, Vol. 38, pp. 3719-3728.
- Rajapakes, J.P., Scott, J.E., 1999. Denitrification with natural gas and various new growth media. *Water Research*, Vol. 33, pp. 3723-3734.
- Soares, M.I.M., Abeliovich, A., 1998. Wheat straw as substrate for denitrification. *Water Res.* 32 (12), 3790-3794.
- Svobodova, Z., Lioyd, R., Machova J., Vykusova B. 1993. Water quality and fish health. EIFAC Technical Paper.No. 54. Rome, Fao. 59p.
- Thurston, R., Phillips R.G., Russo, C.R., 1981. Increased toxicity of ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) resulting from reduced concentrations of dissolved oxygen. *Canada Journal Fish Aquatic Science*, Vol. 38, pp. 983-988.
- Timmons, J., Fred, S.B., 2002. Recirculation Aquaculture Systems. NRAC publication. No. 01-02.
- Watson C. A., Hill J. E. and Deborah B. Poudler, 2004. Species Profile: Koi and Goldfish. Southern Regional Aquaculture Center, No. 7201.

هوادهی مداوم تا ۲ برابر بازده بالاتری نسبت به سیستم‌های مبتنی بر باکتری‌های معلق در آب داشت.

میزان آمونیاک محلول در این آزمایش تقریباً ۲۰۰ برابر سطح توصیه شده برای ماهی قرمز (*Carassius auratus*) بود (Watson *et al.*, 2004)؛ با این وجود شانس بقای ماهی قرمز (*Carassius auratus*) در مواجهه با مقادیر فوق حد آمونیاک در گروه تیمار (دارای خرده چوب) بسیار افزایش یافت؛ در انتهای ۹۶ ساعت تمام ماهیان در گروه شاهد (۲۸ عدد) بر اثر مواجهه با غلظت فوق حد آمونیاک مردند. در حالی که تقریباً نزدیک به نیمی از ماهیان (۱۲ عدد) در گروه تیمار زنده ماندند.

اصلان و ترکمان (Aslan and Turkman, 2005) در سال ۲۰۰۵ گزارش کردند، از گاه می‌توان در سیستم‌های موجود، برای تصفیه سموم کشاورزی که منشأ نیتروژنی دارند، استفاده کرد. آنان در بخشی از نتایج مطالعه‌ی خویش عنوان کردند؛ دنیتروفیکاسیون در سیستم‌هایی که داری بستر برای جاگذاری باکتری بود بازده بالاتری نسبت به سیستم‌های متکی بر باکتری معلق در ستون آب داشت. نتایج مطالعه حاضر مشابه این بخش از نتایج مطالعه اصلان و ترکمان بود.

کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2003)، در سال ۲۰۰۳ با استفاده از خاک اره و ساقه گندم راکتوری برای کنترل آمونیاک محیط‌های پرورشی تهیه کردند؛ آنان بیان داشتند بازده فرآیند تثبیت آمونیاک در این راکتورها تفاوت معناداری با راکتورهای فاقد بستر (مبتنی بر باکتری معلق در ستون آب) دارد و بیشتر است ( $P < 0.05$ ). نتایج مطالعه حاضر با مطالعات کیم و همکاران مطابقت داشت.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد استفاده از مواد طبیعی و ارزان قیمت می‌تواند راهکاری مؤثر در مقابله با تنش‌های محیطی باشد. ساختار متخلخل براده‌ی چوب محل مناسبی برای مکان‌یابی باکتری‌ها است؛ از طرفی چوب و دیگر ساختارهای گیاهی بر اساس ماهیت خود می‌توانند، به عنوان دهنده‌ی کربن در فرآیند دنیتروفیکاسیون شرکت کنند. استفاده از مواد دور ریختنی و بازیافت آن‌ها به همراه دیگر مواد طبیعی گیاهی و معدنی می‌تواند موضوع مطالعات بعدی در این زمینه باشد.