14(4) 211-220, Winter 2023

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Investigation of interactive effect of salinity and ammonia poisoning on some hematology factors and enzymes in oxidative stress reactions of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and common carp (*Cyprinus carpio*) liver

Mohammadreza Bigdeli [1], Ali Shahriari [1*], Rahim Peyghan [2,3], Takavar Mohammadian [2,3]

[1] *Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*
[2] *Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*
[3] *Excellence Center of Warm Water Fish Health, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*

Key Words
Ammonia poisoning
Salinity
Tilapia
Catalase
Superoxide dismutase
Glutathione

Abstract

Introduction: The present study was designed to investigate the interaction effect of acute and subacute ammonia toxication in different salinity levels (1 and 4 g/l) on oxidative enzymes in in liver of common carp and Nile tilapia.

Materials & Methods: To investigate the interactions, fish were randomly divided into 10 treatment groups (each with three replicates). Temperature, pH and other water quality factors were kept constant during the experiments. At the end of the experiment, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH) and MDA were measured.

Results: According to the results, LC50- 96 hours of NH3 was 0.86 and 102.45 mg/l in Nile tilapia and common carp respectively. The results showed that the toxicity of ammonia and salinity in the short term induces antioxidant responses in both fish.

Conclusion: Although salinity has an effect on reducing the amount of ammonia in water, but salinity and ammonia levels and their interactions during 96 hours of testing Indicates more stress in common carp than in tilapia.

* Corresponding Author's email: a.shahriari@scu.ac.ir
Received: 30 October 2021; Reviewed: 2 December 2021; Revised: 4 February 2022; Accepted: 8 March 2022
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.326591.2744

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر تداخلی شوری و آمونیاک بردفاع آنتی‌اکسیدانی در کبد تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

محمدرضا بیگدلی[۱]، علی شهریاری[۱*]، رحیم پیغان[۲و۳]، تکاور محمدیان[۲و۳]

[۱] گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۲] گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۳] قطب بهداشت و بیماری‌های ماهیان گرمابی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

کلمات کلیدی

مسمومیت با آمونیاک
شوری
تیلاپیا
کاتالاز
سوپر اکسید دسیموتاز
گلوتاتیون احیاء

چکیده

مقدمه: پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر متقابل مسمومیت حاد و تحت حاد با آمونیاک در سطوح مختلف شوری ۱ و ٤ گرم در لیتر بر شاخص‌های اکسیداتیو بافت کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) طراحی شد.

مواد و روش‌ها: برای این‌کار، ماهیان به‌طور تصادفی در ۱۰ تیمار (هر کدام در سه تکرار) تقسیم شدند. در طول دوره آزماش دما، pH و دیگر فاکتورهای آب ثابت نگه‌داشته شد. در پایان آزمایش میزان آنزیم کاتالاز (CAT)، سوپر اکسید دسیموتاز (SOD) و گلوتاتیون احیاء (GSH) مالون دی‌آلدئید (MDA) کبد ماهیان اندازه‌گیری شد.

نتایج: طبق نتایج میزان LC50 در ۹٦ ساعت آمونیاک ۰/۸٦ و ۱۰۲/٤٥ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب در ماهی تیلاپیا و کپور معمولی بود. نتایج نشان داد که سمیت آمونیاک و شوری به‌صورت کوتاه‌مدت باعث القاء پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های‌مورد بررسی می‌شود.

نتیجه‌گیری و بحث: اگرچه شوری در کاهش میزان آمونیاک آب اثر کاهنده دارد اما سطوح شوری و آمونیاک و اثرات متقابل آن‌ها در طول ۹٦ ساعت آزمایش حاکی از ایجاد استرس بیش‌تری در ماهی کپور معمولی نسبت به تیلاپیا دارد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: a.shahriari@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸ آبان ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۱۱ آذر ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۱۵ بهمن ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۷ اسفند ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.326591.2744

مقدمه

افزایش مواد آلاینده در محیط زیست به‌خصوص منابع آبی یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های بشر امروز است. از مهم‌ترین آلاینده‌های محیط زیست، ترکیبات نیتروژن‌دار (-NO3، -NO2، +NH4) هستند که به طرق مختلف مثل تماس منابع آب با فاضلاب و یا تخلیه آب‌های شستشوی زمین‌های کشاورزی در رودخانه و اکسیداسیون مواد آلی نیتروژن‌دار نظیر پروتئین‌ها به‌کمک باکتری‌های خاص، سبب آلودگی می‌شوند. این افزایش خصوصاً در سیستم‌های تکثیر ماهی و میگو، سیستم‌های فوق متراکم پرورش ماهی با گردش مجدد آب، آکواریوم‌ها و در هنگام انتقال ماهی همواره مطرح بوده است (۵۱). آمونیاک متداول‌ترین آلودگی در آب‌های شیرین است، که می‌تواند از طریق خروج مواد زائد گیاهی، تخریب مواد آلی حاوی نیتروژن، رواناب، کود و منابع صنعتی وارد سیستم‌های آبی طبیعی شود. آمونیاک هم‌چنین به‌عنوان یک محصول از کاتابولیسم پروتئین در ماهیان استخوانی مطرح است (۴۲). آمونیاک یکی از سمی‌ترین مواد برای اکوسیستم‌ها و ارگانیسم‌های آبزی است، غلظت‌های بالای آن می‌تواند باعث کاهش رشد، آسیب بافتی، سرکوب سیستم ایمنی و مرگ و میر اکثر ماهیان شود (۲۹، ۳۹). دو شکل از آمونیاک در آب تشکیل می‌شود یکی آمونیاک غیریونیزه NH3 که برای ماهی بسیار سمی است و به آسانی از اپیتلیوم آبشش عبور کرده و از طریق خون به کبد و اندام‌های دیگر منتقل می‌شود و دیگری شکل یونیزه+ NH4 می‌باشد که سمیت بسیار کم‌تری برای ماهی دارد. میزان نسبی هر کدام بستگی به میزان pH، دما و شوری دارد (۹، ۱۸، ۴۵). از میان عوامل یاد شده نوسانات شوری نقش مهمی در میزان مسمومیت آمونیاک دارد. تعادل یونیزاسیون (کل) آمونیاک به گازهای سمی (NH3) و یونیزه غیر سمی (+NH4) به‌طور عمده توسط شوری محیط آبزی تنظیم می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که در محیط زیست با سمیت ناشی از آمونیاک بالا در چندین گونه دریایی می‌تواند توسط نوسانات شوری تعدیل شود (۸، ۴۷). از سوی دیگر شواهد نشان می‌دهد که سازگاری ماهیان با درجات مختلف شوری توسط تنظیم اسمزی (Osmoregulation) یک روند انرژی بر است که با فعال‌سازی متابولیکی و درنتیجه افزایش تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال (ROS: Reactive Oxygen Species) همراه است. رابطه مستقیمی بین شدت متابولیسم و فعال شدن آنزیم‌های اکسیداتیو وجود دارد (۵۱،۴۳). تحمل گونه‌های مختلف ماهی نسبت به نوسانات شوری متفاوت است. ماهیان یوری هالین (Euryhaline) مثل تیلاپیا قابلیت تحمل محدوده وسیع شوری و ماهیان استنوهالین (Stenohaline) مثل کپور محدوده تحمل شوری کمی را دارند. بنابراین گروه اول در نوسانات شوری با صرف انرژی کم‌تری، فشار اسمزی و یون‌ها را تنظیم کرده و تحت استرس کم‌تری قرار می‌گیرند (۱۷، ۲۰، ۴۰). مطالعات متعدد نشان داده است که قرار گرفتن ماهی در معرض آمونیاک می‌تواند با افزایش تولید ROS و یا کاهش دفاعی آنتی‌اکسیدانی، استرس اکسیداتیو ایجاد کند (۱۲، ۱۳، ۱۹، ۴۷، ۵۳). در واقع شناخته شده‌ترین مکانیسم سمیت آمونیاک، القای استرس اکسیداتیو از طریق افزایش غلظت گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) مانند پراکسید هیدروژن (H2O2) ، هیدروکسیل رادیکال (.HO) و سوپراکسیدرادیکال (۳۵، ۴۱) است. تولید بیش از حد ROS در سلول‌ها می‌تواند منجر به اکسیداسیون پروتئین‌ها، DNA و لیپیدها شده و در نهایت منجر به مرگ سلولی شود (۱۹، ۳۲). آبزیان در برخورد با استرس‌های اکسیداتیو دو دفاع دارند که شامل دفاع آنزیمی اکسیداتیو (SOD, CAT, GPX, GR, GS) و دفاع غیرآنزیمی (گلوتاتیون، کارتنوئیدها، ویتامین A، C و E) می‌شوند که ROS را به متابولیت‌های بی‌ضرر تبدیل می‌کند (۲۳، ۳۱، ۵۴، ۵۷). گزارشات حاکی از قرار گرفتن در معرض آمونیاک می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را برای جلوگیری از آسیب اکسیداتیو در آبشش، ماهیچه‌ها، کبد و مغز ماهی‌ها تغییر دهد (۱۹، ۳۹). از میان ارگان‌های یاد شده، کبد یک عضو حیاتی فعال از نظر متابولیکی است که به‌خاطر تولید بالای ROS برای ارزیابی وضعیت استرس اکسیداتیو و دفاع آنتی‌اکسیدانی در موجودات زنده، مناسب است. سیستم اکسیداسیون و احیا گلوتاتیون در کبد (Glutathione redox system) شامل گلوتاتیون ، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) نقش مهمی در حفظ هموستاز ردوکس سلولی و محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو در طول تنش محیطی را دارند (۲۸). گلوتاتیون یک تری‌پپتید متشکل از ۳ اسیدآمینه، گلیسین، L گلوتامیک اسید و L سیستئین است. بسته به شرایط فیزیولوژیکی سلول، گروه تیول موجود در گلوتاتیون به‌صورت احیا (GSH) یا اکسید (GSSG) می‌باشد. گلوتاتیون احیا (GSH) هم به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی موثر می‌تواند وضعیت ردوکس پروتئین تیول‌ها را تعدیل کرده و به‌طور مستقیم اکسیژن و رادیکال‌های هیدروکسیل منفرد را جارو کند (۲۱)، هم‌چنین به‌عنوان کوفاکتور آنزیم Gpx سیتوزولی، H2O2 و هیدروپراکسیدها را سم زدایی کند. GR یک اکسیدوردوکتاز وابسته به NADPH است که می‌تواند تبدیل GSSG به GSH را کاتالیز کند (۷، ۴۹). تعادل دینامیکی بین GSH و GSSG که برای سم‌زدایی ROS و بقای سلولی مهم است و نسبت GSH/GSSG که به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان شاخص وضعیت ردوکس سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴۶)، تابع فعالیت سیستم‌های تولیدکننده کوآنزیم احیایی (NADPH) است. مسیر پنتوز فسفات، مسیر اصلی تولید NADPH در مهره‌داران است، اما در شرایط خاص

در برخی گونه‌ها مسیرهای Malic Enzyme و Isocitrate dehydrogenase سیتوزولی نیز در تولید NADPH نقش کمکی دارند. ماهی تیلاپیا با رشد ۸/۸-۶/۸ درصدی در تولید جهانی بین سال‌های ۲۰۲۰-۲۰۱۸ به‌عنوان یکی از ماهیان مهم در آبزی‌پروری مطرح‌شده است و تولید جهانی تیلاپیا در سال ۲۰۲۰ بالغ بر ۷ میلیون تن بوده است (۱۶). ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) به‌خاطر رشد غیرقابل انکار، رشد سریع، امکان پرورش متراکم و کاهش نیاز به تعویض آب در شرایط کمبود کشور ایران، می‌تواند در آینده نه چندان دور به یکی از تولیدات آبزی پروری در سطح تجاری در ایران تبدیل شود. ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نیز به‌دلیل رشد سریع و سهولت پرورش یکی از رایج‌ترین گونه‌های پرورشی آب شیرین درنظر گرفته شده است. این‌گونه در بین سایر کپور ماهیان از لحاظ تولیدات در مرتبه سوم قرار دارد. با توجه به شور شدن بسیاری از آب‌های جاری و تالاب‌ها، امکان نوسانات‌شوری در استخرهای پرورشی، سیستم‌های متراکم در اثرعدم مدیریت صحیح آب و غذادهی وجود دارد. با توجه به نقش مسمومیت آمونیاکی در القاء ترکیبات ROS و استرس اکسیداتیو از یک‌سو و نقش‌نوسانات شوری در تعدیل این مسمومیت از سوی دیگر، انتظار می‌رود که تداخل شوری و آمونیاک با کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش سطح دفاع آنتی‌اکسیدان همراه باشد. از نگاهی دیگر، سازش‌پذیری ماهی با نوسانات شوری یک روند مصرف کننده انرژی است که بدن را در یک استرس مضاعف قرار می‌دهد. بنابراین به‌نظر می‌رسد تداخل‌شوری و آمونیاک اثر هم‌افزایی بر ایجاد اکسیداتیو استرس داشته باشند. کبد به‌عنوان یک ارگان متابولیکی فعال از نظر تولید ROS و نیز دارا بودن سیستم احیا گلوتایتون فعال، مهم‌ترین ارگان برای بررسی وضعیت ردوکس و نیز شناخت مکانیسم مسمومیت‌زایی است، لذا تحقیق حاضر در سه سطح مسمومیت آمونیاکی (آب بدون آمونیاک، غلظت تحت حاد و حاد) در ۲ سطح شوری ۱ و ۴ گرم‌در لیتر به‌منظور به‌دست آوردن‌اطلاعاتی در زمینه تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC50 در ۹۶ ساعت) آمونیاک در ماهی تیلاپیا و کپور معمولی طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی: تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) با میانگین وزنی ۵/۸ ± ۴۰/۵۱ گرم (انحراف معیار±وزن) از یکی از مزارع پرورش ماهی شهرستان اهواز تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی بخش بهداشت آبزیان‌دانشکده‌دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، منتقل شدند. به‌منظور آداپتاسیون‌ماهیان به‌مدت یک‌هفته در آکواریوم‌های حاوی آب لوله‌کشی کلرزدایی شده (در شرایط مشابه محیطی و تغذیه‌ای) نگه‌داری‌شدند. هم‌چنین‌تعویض آب، روزانه انجام می‌شد. برای ایجاد غلظت‌های‌مورد‌نیاز آمونیاک، از کلرید آمونیوم (NH_4Cl) ساخت شرکت مرک‌آلمان با خلوص ۹۹٪ مورد استفاده‌قرار گرفت. هدایت الکتریکی با استفاده از EC متر (شرکت JENWAY مدل ۴۳۱۰) و هم‌چنین pH با استفاده از pHمتر (Metrohm مدل ۷۴۴) اندازه‌گیری می‌شد.

تعیین LC_{50} آمونیاک در ماهی تیلاپیا و کپورمعمولی: برای این‌کار ماهی‌ها در آکواریوم‌های ۱۰۰ لیتری مجزا، در گروه‌های ۱۰ تایی با غلظت‌های ۱۰۰، ۱۱۰، ۱۲۰، ۱۳۰، ۱۴۰، ۱۶۰ میلی‌گرم کلرید آمونیم به‌ازای هر لیتر آب مجاور شدند. تعویض آب در طول ۹۶ ساعت به‌صورت روزانه و کامل انجام شد و در هر روز غلظت‌های مورد نظر کلرید آمونیم به آب تازه اضافه شد. سپس تلفات در طی آزمایشات بررسی و ثبت گردید. بعد از ثبت تلفات، اقدام به تعیین LC_{50} در ۹۶ ساعت با استفاده از نرم‌افزار spss و رگرسیون پروبیت شد. در طول دوره آزمایش فاکتور فیزیکی و شیمیایی آب مثل دما (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، pH (۸/۸-۴/۸) که ثابت نگه داشتن pH با استفاده از هیدروکلریک اسید ۰/۴ نرمال و سدیم هیدروکسید ۰/۴ نرمال)، ثابت نگه داشته شد. میزان آمونیاک پس از محاسبه TAN (مجموع آمونیاک یونیزه‌شده‌وغیریونیزه‌شده) با روش‌کلدال و استفاده از دما، pH و نسبت TAN از جدول استاندارد محاسبه شد (۱۰).

تیماربندی ماهیان: تعداد مورد نیاز ماهی در آکواریوم‌های مجزا، در گروه‌های ۱۰ تایی با مسمومیت آمونیاکی حاد (با غلظت ۵۰٪ کشنده در ۹۶ ساعت) و تحت‌حاد (۳۰٪ غلظت‌کشنده ۵۰٪ در ۹۶ ساعت) در شوری‌های مختلف‌طبق جدول ۱ مجاورشدند (۱، ۲). تعویض‌آب در طول ۹۶ ساعت به‌صورت‌روزانه و کامل انجام‌شد و در هر روز غلظت‌های مورد نیاز از کلرید آمونیم به آب تازه اضافه شد.

نمونه‌برداری‌از‌کبد ماهی‌ها: ۹۶ساعت‌پس از شروع درمعرض قرارگیری، ماهی‌ها پس از بی‌هوشی آسان‌کشی شده و نمونه‌های کبد آن‌ها پس از جداسازی، برای اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو در دمای $-20\ ^{\circ}C$ نگه‌داری شدند.

شاخص‌های‌استرس‌اکسیداتیو: اندازه‌گیری Malondialdehyde (MDA) براساس واکنش محصولات پراکسیداسیون لیپیدی با اسید تیوباربیتوریک (۳۸)، Superoxide Dismutase Activity (SOD)، بر اساس مهار احیای نیتروبلوتترازولیوم توسط آنزیم (۲۱) gluthatione Reduced-(GSH): براساس احیاء DTNB توسط GSH و اندازه‌گیری جذب‌نوری کمپلکس رنگی (۱۵)؛ gluthatione Oxidized (GSSG): ابتدا مولکول‌های GSSG توسط احیاکننده مانند دیتیوتریول به GSH احیا شده در مرحله بعد با استفاده از روش Elman گلوتاتیون تام

(GSH+GSSG) اندازه‌گیری می‌شود (۱۵)؛ Catalase activity (CAT): براساس واکنش آمونیم مولیبدات با باقی‌مانده H_2O_2 بعد تاثیر آنزیم در یک مدت معین (۲۲) و سنجش Gluthation peroxidase و Gluthathion reductase با استفاده از کیت تجاری رندوکس (Randox) انگلستان، انجام شد.

جدول ۱: تیماربندی ماهیان با غلظت‌هایی از کلرید سدیم، کلرید آمونیم

ماهی	تیمار	گروه	تعداد ماهی
کپور	شاهد	آب شیرین	۱۰ قطعه در ۳ تکرار (جمعا ۳۰ قطعه)
	تیمار ۱	آب با شوری ۱ ppt و آمونیاک حاد	۱۰ قطعه در ۳ تکرار (جمعا ۳۰ قطعه)
	تیمار ۲	آب با شوری ۴ ppt و آمونیاک حاد	۱۰ قطعه در ۳ تکرار (جمعا ۳۰ قطعه)
	تیمار ۳	آب با شوری ۱ ppt و آمونیاک تحت حاد	۱۰ قطعه در ۳ تکرار (جمعا ۳۰ قطعه)
	تیمار ۴	آب با شوری ۴ ppt و آمونیاک تحت حاد	۱۰ قطعه در ۳ تکرار (جمعا ۳۰ قطعه)
تیلاپیا	شاهد	آب شیرین	۱۰ قطعه در ۳ تکرار (جمعا ۳۰ قطعه)
	تیمار ۱	آب با شوری ۱ ppt و آمونیاک حاد	۱۰ قطعه در ۳ تکرار (جمعا ۳۰ قطعه)
	تیمار ۲	آب با شوری ۴ ppt و آمونیاک حاد	۱۰ قطعه در ۳ تکرار (جمعا ۳۰ قطعه)
	تیمار ۳	آب با شوری ۱ ppt و آمونیاک تحت حاد	۱۰ قطعه در ۳ تکرار (جمعا ۳۰ قطعه)
	تیمار ۴	آب با شوری ۴ ppt و آمونیاک تحت حاد	۱۰ قطعه در ۳ تکرار (جمعا ۳۰ قطعه)

تجزیه و تحلیل آماری: به‌منظور ارزیابی نتایج حاصل از تحقیق ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنف (Kolmogorov-Smirnov) و همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون (Levene) بررسی شد. نتایج حاصل از این بررسی با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد مقایسه و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌های مورد بررسی با استفاده از تجزیه واریانس دوطرفه (two-way ANOVA) و آزمون یونیوریت (Univariate) و سپس آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفتند. فاکتورهای فیزیکی و شیمایی آب با آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد بررسی شدند.

نتایج

نتایج بررسی در ماهی تیلاپیا و کپور نشان داد میزان غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) در ۹۶ ساعت به‌ترتیب با ۰/۸۶ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک است. در این تحقیق فعالیت فاکتورهای اکسیدان/آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالاز، گلوتاتیون و سوپراکسید دیسموتاز در ماهی تیلاپیا (به‌عنوان گونه یوری‌هالین) و کپورمعمولی (گونه استنوهالین) در مواجهه سطوح مسمومیت آمونیاکی تحت حاد (۳۰٪ غلظت کشنده)، حاد (۵۰٪ غلظت کشنده) و سطوح مختلف شوری در آب (۱ و ۴ قسمت در هزار) و تداخل سطوح مسمومیت و شوری به‌مدت ۹۶ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند، که مقادیر به دست آمده از آن‌ها، به‌صورت میانگین±انحراف معیار در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است. میزان فعالیت مالون دی آلدهید ماهی تیلاپیا در تیمار سوم (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۱) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت ($P<0/05$). نتایج در فاکتور کاتالاز روند ثابتی در بین تیمارها داشت به‌نحوی‌که میانگین فعالیت آنزیمی در تیمار ۱ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۱) نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود ($P<0/05$) و تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها کاهش نشان دادند ($P<0/05$). جدول ۲ نشان می‌دهد که نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های فاکتور فعالیت آنزیمی گلوتاتیون کل در تیمار ۱ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۱) نسبت به تیمار ۲ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۴) بیش‌تر بود ($P<0/05$). اما فاکتور فعالیت آنزیمی احیا گلوتاتیون در تیمار شاهد (آب‌شیرین) نسبت به تیمار ۴ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۴) بیش‌تر بود ($P<0/05$). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های فاکتور فعالیت آنزیمی اکسایش گلوتاتیون در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>0/05$). جدول ۲ نشان می‌دهد که نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیمی احیا گلوتاتیون به اکسایش گلوتاتیون در تیمار شاهد (آب‌شیرین) نسبت به تیمار ۱ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۱) و تیمار ۴ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۴) بیش‌تر بود ($P<0/05$) ولی با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما نتایج در فاکتور فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان کل در ماهی تیلاپیا روند ثابتی در بین تیمارها داشت به‌نحوی‌که میانگین تیمار ۲ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۴) نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود ($P<0/05$). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در تیمار شاهد (آب‌شیرین) و سایر گروه‌های آزمایشی نسبت به تیمار ۴ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۴) بیش‌تر بود ($P<0/05$). نتایج در فاکتور فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز کل روند ثابتی در بین تیمارها داشت به‌نحوی که میانگین تیمار ۱ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۱) نسبت به سایر

تیمارها بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). در ماهی کپورمعمولی نتایج متفاوتی به‌دست آمد به‌طوری‌که نتایج فاکتور فعالیت آنزیمی کاتالاز در کبد ماهی کپور نشان داد که همه تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار ۴ (مسمومیت تحت‌حاد، شوری ppt ۴) بیش‌تر بودند و بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار ۳ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۱) می‌باشد (P<۰/۰۵). نتایج فاکتور فعالیت آنزیمی مالون دی آلدیید در کبد ماهی کپور نشان داد که تیمار ۱ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۱) نسبت به تیمار ۴ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۴) و ۳ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۱) بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). نتایج فاکتور فعالیت آنزیمی گلوتاتیون کل در کبد ماهی کپور نشان داد که تیمار ۴ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۴) نسبت همه تیمارهای آزمایشی بیش‌تر بود و با تیمارهای ۲ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۴) و ۳ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۱) اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). نتایج فاکتور فعالیت آنزیمی کاهش گلوتاتیون در کبد ماهی کپور نشان داد که همه تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار ۴ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۴) کم‌تر بودند و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیمی کاهش گلوتاتیون مربوط به تیمار شاهد (آب‌شیرین) می‌باشد (P<۰/۰۵). نتایج فاکتور فعالیت آنزیمی اکسایش گلوتاتیون در کبد ماهی کپور نشان داد که تیمار ۴ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۴) نسبت همه تیمارهای آزمایشی به‌جز تیمار ۱ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۱) افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنزیمی احیا گلوتاتیون به اکسایش گلوتاتیون در تیمار شاهد (آب‌شیرین) نسبت به تیمار ۴ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۴) بیش‌تر بود (P<۰/۰۵) ولی با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت. اما نتایج در فاکتور فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدان کل کبد ماهی کپور معمولی روند ثابتی در بین تیمارها داشت به‌نحوی‌که میانگین تیمار ۲ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۴) نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). نتایج در فاکتور فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز کبد ماهی کپور معمولی روند ثابتی در بین تیمارها داشت به‌نحوی‌که میانگین تیمار ۱ (مسمومیت حاد، شوری ppt ۱) و ۳ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۱) نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر (P<۰/۰۵). نتایج فاکتور فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسی‌داز در کبد ماهی کپور نشان داد که تیمار ۴ (مسمومیت تحت حاد، شوری ppt ۴) نسبت همه تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) (جدول ۳).

جدول۲: میزان سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون احیاء کبد ماهی تیلاپیا تیمارهای مختلف آزمایش بعد از یک دوره ۹۶ ساعته (انحراف معیار±میانگین)

تیمار	Catalase mU/mgPr	MDA µmol/mgPr	tGSH µmol/mgPr	rGSH µmol/mgPr	TAC µmol/mgPr	SOD µmol/mgPr	GPX µmol/mgPr
C	۵۷,۲±۱۲,۸^{a}	۰,۱۷±۰,۰۲^{b}	۰,۱۴۳±۰,۰۳۶^{ab}	۰,۰۴±۰,۰۰۹^{a}	۰,۵۸۱۰,۱۴^{a}	۱۲,۸±۱۰۹^{a}	۲,۹۲±۲,۵^{a}
T1	۷۲,۶±۲۶,۹^{a}	۰,۲۴±۰,۰۷^{ab}	۰,۱۵۸±۰,۰۳۷^{a}	۰,۰۳۷±۰,۰۱^{ab}	۰,۵۷±۰,۱^{a}	۱۵,۳±۳,۹^{a}	۸,۰۸±۳,۱۹^{a}
T2	۵۸,۰۱±۷,۴۱^{a}	۰,۲۰±۰,۰۶^{ab}	۰,۱۱۱±۰,۰۱۸^{b}	۰,۰۲±۰,۰۰۹^{ab}	۰,۶۰±۰,۲^{a}	۱۲,۳±۲,۳^{a}	۵,۴۷±۱,۹^{a}
T3	۶۰,۴±۱۳,۵^{a}	۰,۲۸±۰,۰۴^{b}	۰,۱۴۰±۰,۰۰۷^{ab}	۰,۰۳±۰,۰۱$^{ab\cdot}$	۰,۵۶±۰,۱۰۹^{a}	۱۳,۹±۲,۱^{a}	۶,۳۰±۳,۰۳^{a}
T4	۷۱,۲±۱۴,۵^{a}	۰,۲۳±۰,۰۹^{ab}	۰,۱۲۷±۰,۰۱۲^{ab}	۰,۰۲±۰,۰۰۸^{b}	۰۵۶±۰,۰۹^{a}	۰,۶±۰,۰۹^{b}	۷,۱۷±۲,۸۱^{a}

جدول ۳: میزان سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون احیاء کبد کپور معمولی تیمارهای مختلف آزمایش بعد از یک دوره ۹۶ ساعته (انحراف معیار±میانگین)

تیمار	Catalase mU/mgPr	MDA µmol/mgPr	tGSH µmol/mgPr	rGSH µmol/mgPr	TAC µmol/mgPr	SOD µmol/mgPr	GPX µmol/mgPr
C	۵۳,۷۷±۷^{ab}	۰,۱۳۳±۰,۳۸^{ab}	۰,۱۹۸±۰,۰۶۴^{ab}	۰,۰۷۱±۰,۰۳۶^{e}	۸,۷۷±۲,۶۷^{a}	۶,۹۸±۱,۵۵^{a}	۰,۵۲۷±۰,۱۴۲^{b}
T1	۴۰,۸۶±۱۰,۴۶^{bc}	۰,۱۷۴±۰,۰۹۶^{a}	۰,۲۶۵±۰,۰۵۵^{ab}	۰,۱۱۸±۰,۰۱۴^{d}	۸,۵۹±۳,۰۳^{a}	۸,۶۶±۱,۵۵^{a}	۰,۴۶۸±۰,۲۰۵^{b}
T2	۵۳,۲۷±۷,۲۷^{ab}	۰,۱۲۴±۰,۰۴۸^{ab}	۰,۱۸۱±۰,۰۷۸^{b}	۰,۱۶۴±۰,۰۱۴^{c}	۸,۰۱±۲,۵۳^{a}	۵,۴۲±۰,۷۸۷^{a}	۰,۲۴۲±۰,۰۷۵^{b}
T3	۶۲,۷۹±۱۷,۵۸^{a}	۰,۰۸۴±۰,۰۳۱^{b}	۰,۱۸۷±۰,۰۹۳^{b}	۰,۲۱۰±۰,۰۱۴^{b}	۹,۹۵±۱,۵۲^{a}	۸,۷۸±۲,۴۵^{a}	۰,۴۹۰±۰,۲۰۷^{b}
T4	۲۸,۴۹±۷,۵۰^{c}	۰,۰۷۹±۰,۰۴۹^{b}	۰,۳۳۰±۰,۱۵۸^{a}	۰,۲۵۶±۰,۰۱۴^{a}	۸,۳۳±۱,۰۰^{a}	۵,۶۵±۲,۴۵^{a}	۱,۸۰±۰,۹۸۸^{a}

بحث

یکی از مشکلات اساسی آبزی‌پروری، یافتن غلظتی از آمونیاک می‌باشد که برای آبزی خطرناک نباشد و هم‌چنین ایجاد محیطی است که با وجود این سموم در آب کم‌ترین آسیب را به آبزیان وارد کند. در این تحقیق اثرات سمیت حاد آمونیاک بر ماهی کپور معمولی و تیلاپیای نیل پرورشی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده

برای LC50 در مدت چهار روز متوالی (۹۶ ساعت) نشان داد که با افزوده شدن آمونیاک تا غلظت مورد مطالعه، میزان مرگ و میر بچه ماهیان کپور افزایش یافته است. علاوه بر این، با افزایش ساعات آزمایش میزان غلظت کم‌تری از آمونیاک لازم است تا ۵۰٪ از جمعیت ماهیان تلف شود. میزان غلظت‌کشنده آمونیاک در طی ۹۶ ساعت برای ۵۰٪ از بچه ماهیان کپور و تیلاپیا به‌ترتیب ۳۰,۴۵ و ۰,۸۶ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک بود. در پژوهشی که Peyghan و Azary Takami، بر سمیت حاد آمونیاک در ماهی کپور معمولی انجام دادند، میزان LC_{50} ۲۴ ساعته آمونیاک را ۱۲۳ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک کل گزارش کردند (۳۷). در مطالعه حاضر، ماهیان کپور معمولی و تیلاپیا بر اثر مسمومیت با آمونیاک یک‌سری تغییرات رفتاری ازجمله افزایش سرعت تنفس، حرکات تشنجی، افزایش ترشح موکوس و تغییر رنگ از خود نشان دادند. در مطالعه‌ای که توسط Thangam و همکاران، بر مسمومیت حاد و تحت حاد ترکیبات آمونیاکی در ماهی *Cirrhinus mrigala* انجام‌شد، نیز چنین علائم مشابهی مشاهده شد (۴۹). در مسمومیت مزمن با آمونیاک، معمولاً میزان رشد و درصد بقاء ماهیان کاهش می‌یابد و ماهی‌ها نسبت به عوامل عفونت‌زا حساس‌تر می‌شوند. با توجه به نتایج به‌دست آمده، به‌نظر می‌رسد در ماهی کپورمعمولی و تیلاپیا در شرایط آب و هوایی استان خوزستان، احتمال تلفات ناشی از آمونیاک به‌مراتب کم‌تر از دیگر مناطق باشد (۲). این موضوع را می‌توان به بالا بودن نسبی شوری آب منطقه و سختی قابل توجه آب آن نسبت داد. شاید به‌همین دلیل است که علی‌رغم پرورش وسیع ماهیان گرمابی در استان، مسمومیت به مواد نیتروژنی در ماهیان استان خوزستان تاکنون گزارش نشده است. زمانی که حیوانات آبزی در معرض استرس های نامناسبی قرار می‌گیرند بعضی تغییرات فیزیولوژیکی اتفاق می‌افتد که منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو در بدن آن‌ها می‌شود. تجمع مواد سمی باعث واکنش‌های اکسایش-کاهش و تولید رادیکال‌های آزاد، به‌ویژه رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند، هم‌چنین دیگر گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) که موجب تغییرات بیوشیمیایی در بافت ماهی شده، تولید می‌شوند (۳۶، ۴۴). استرس‌های محیط آبی شامل استرس‌های آمونیاک و شوری است و بایستی واکنش متقابل بین این دو فاکتور را کاملاً متوجه شد (۴). مادر این مطالعه اثرات کوتاه‌مدت در معرض قرارگیری این دو فاکتور را با اثرگذاری آن‌ها بر روی پاسخ‌های استرس اکسیداتیو در ماهی تیلاپیا و کپور معمولی مورد بررسی قرار دادیم. به‌نظر می‌رسد، که اندازه‌گیری شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی (شامل گلوتاتیون (GHS)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، (۲۶)) و درگیر در استرس اکسیداتیو به عنوان شاخص‌های حساس به مسمومیت می‌توانند اثرات مسمومیت آمونیاکی و شوری و اثرات متقابل آن‌ها بر وضعیت سلامت به‌خوبی مشخص کنند. در مقادیر گلوتاتیون احیاء (GSH) در کبد در هر دو متغیر شوری، آمونیاک تفاوت معنی‌دار دیده شد (جداول ۲، ۳). در مطالعه حاضر در ماهی تیلاپیا میزان گلوتاتیون احیا (rGSH) به‌طور معنی‌داری در گروه چهارم کاهش یافت درحالی‌که گلوتاتیون ترانسفراز (tGSH) به‌طور معنی‌داری در گروه اول نسبت به گروه شاهد بعد از ۹۶ ساعت در محل قرارگیری با سمیت با شوری آمونیاک افزایش داشت. اما در کپورمعمولی شرایط تقریباً متفاوت از تیلاپیا پیش رفت به‌طوری‌که میزان گلوتاتیون احیا (rGSH) و گلوتاتیون ترانسفراز (tGSH) به‌طور معنی‌داری در گروه شاهد (آب‌شیرین) کاهش یافت درحالی‌که افزایش معنی‌داری در گروه چهارم (شوری ۴ گرم در لیتر، سمیت تحت حاد آمونیاک) نسبت به گروه شاهد بعد از ۹۶ ساعت در محل قرارگیری با سمیت با شوری آمونیاک افزایش داشت. با توجه به نتایج فوق، احتمالاً افزایش شوری در غلظت‌های بالا عاملی در تشکیل رادیکال‌های آزاد یا افزایش اکسیداسیون چربی باشد و تفاوت در نتایج میزان روند تغییرات GSH در دو ماهی را به تفاوت فیزیولوژیکی آن‌ها در مواجه با شوری متفاوت دانست. سیستم دفاعی در ماهی تیلاپیا به‌طور عمده وابسته به گلوتاتیون است درحالی‌که کپورمعمولی از SOD، CAT و آسکوربات به‌عنوان عامل ضداکسیداتیو استفاده می‌کند. بنابراین استرس اکسیداتیو و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی به‌وضوح بین گونه‌های تیلاپیا و کپور متفاوت است (۴۷). تحقیقات نشان داده است که استرس‌های محیطی که سیستم تنظیم اسمزی را درگیر می‌کنند، می‌توانند باعث تشکیل مقدار زیاد رادیکال‌های آزاد شوند (۳۰، ۳۱). سوپراکسید دیسموتاز اولین خط دفاعی علیه ROS می‌باشد و افزایش فعالیت آن نشان‌دهنده افزایش تولید ROS است (۳۳). نتایج به‌دست آمده در انتهای آزمایش در ماهی کپور معمولی، اختلاف معنی‌داری را میان گروه‌های مختلف با گروه شاهد در میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان نداد. این عدم تفاوت می‌تواند نشان‌دهنده میزان ROS کم در تیمارهای شوری باشد. هم‌سو با مطالعه حاضر، در مطالعه‌ای که Yang و همکاران، روی القاء ۹۶ ساعته آمونیاک (به‌میزان ۰، ۰,۱۷۸، ۰,۲۲۴، ۰/۲۸۲، ۰,۳۸ و ۰,۵۰۱) در ماهی *Carassius auratus* (با وزن متوسط ۱,۱۹ ± ۴,۶۸، دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد) انجام دادند، گزارش نمودند که میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز موجود در خون اختلاف معنی‌داری را در غلظت‌های مختلف آمونیاک نشان نداد و میزان این آنزیم در خون با مدت زمان آزمایش نیز اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (۵۴). اما نتایج نشان داد که القاء سمیت آمونیاک باعث کاهش این آنزیم در گروه ۴ (شوری ۴ گرم در لیتر و آمونیاک تحت حاد) نسبت به گروه شاهد در ماهی تیلاپیا شد. مقادیر کم آمونیاک باعث تحریک بیش‌تر

اندام‌ها در تولید ROS بیش‌تر می‌شود و در نتیجه فعالیت بالای SOD در راستای مقابله هرچه بیش‌تر با ROS دیده می‌شود (۱۱). اما در مطالعه حاضر میزان این آنزیم در گروه تحت حاد آمونیاک به میزان معنی‌داری کاهش یافته است. احتمالاً فعالیت SODدر دوزهای بالا شوری کاهش می‌یابد که می‌توان بخاطر ناتوانی SOD در غلبه بر ROS باشد و ROS بیش از اندازه ماهی تیلاپیا می‌تواند SOD را غیرفعال کند. کاهش در فعالیت SOD می‌تواند به‌عنوان شاخص توانایی حذف رادیکال‌های آزاد مورد استفاده قرار گیرد و نشان می‌دهد که سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به‌وسیله ROS ضعیف شده‌است (۵۰). در مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری در کاتالاز بعد از ۹۶ ساعت در معرض قرار گیری آمونیاک و شوری در ماهی تیلاپیا مشاهده نشد. تغییر در فعالیت کاتالاز در معرض قرارگیری با عوامل استرسی آب می‌تواند به ویژگی شیمیایی، زمان در معرض قرار گیری و هم‌چنین غلظت آن ماده سمی وابسته باشد. عدم افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای ماهی تیلاپیا شاید ناشی از تجمع سنگین رادیکال‌های آزاد در بدن در مواجهه با این مواد و مصرف بیش‌تر کاتالاز به‌دلیل خنثی کردن رادیکال‌های آزاد تولید شده باشد. هم‌چنین یوری‌هالین بودن ماهی باعث افزایش مقاومت نسبت به تغییرات شوری و در نتیجه تولید کم‌تر رادیکال‌های آزاد باشد. در توجیه کم بودن میزان کاتالاز در گروه ۴ (مسمومیت تحت حاد آمونیاکی) ماهی کپور، می‌توان بیان داشت که احتمالاً کاهش فعالیت این آنزیم به‌علت کاهش در سرعت واکنش کاتالاز به تولید بیش از حد H_2O_2 باشد یا در اثر فعالیت زیاد این آنزیم در سرم، در راستای حذف رادیکال‌های آزاد، مقادیر آن کاهش پیدا کرده است. در ماهی کپور میزان CAT در مسمویت تحت حاد (تیمار ۳) به‌طور معنی‌دار از مسمومیت حاد (تیمار ۱) بیش‌تر بود که نتایج تحقیقات نشان داده است که میزان تحریک اندام‌ها در تولید ROS در غلظت‌های کم آمونیاک بیش‌تر است (۱۹) که به‌نحوی موید نتایج تحقیق حاضر است. نتایج این تحقیق نشان داد (جدول ۲) با افزایش شوری (تیمار ۲) میزان TAC در کبد ماهی تیلاپیا نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت، اما معنی‌دار نبود که احتمالاً افزایش شوری تنهایی باعث ایجاد یک چالش اکسیداتیو برای ماهی شده‌است. مخالف نتایج مطالعه حاضر Zhang و همکاران، گزارش کردند که سطح آنتی‌اکسیدان کل به‌دنبال در معرض قرارگیری با آمونیاک به‌مدت ۷ روز در ماهی *Pelteobagrus fulvidraco* کاهش می‌یابد (۵۸). دلیل این تفاوت‌ها در میزان آنتی‌اکسیدان کل، احتمالاً به‌دلیل تفاوت غلظت شوری و آمونیاک، زمان در معرض قرارگیری، نوع بافت مورد مطالعه و گونه ماهی می‌باشد. میزان TAC کبد ماهی کپور معمولی در مسمومیت آمونیاکی حاد (تیمار ۱ و۲) و مسمومیت آمونیاکی تحت حاد (تیمار ۳ و ۴) نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. چنان‌چه ذکر شد، کبد در غلظت‌های آمونیاکی کم، نسبت به تولید ROS بیش‌تر تحریک می‌شوند که علت این افزایش TAC در مسمومیت تحت حاد می‌تواند مربوط به این قضیه باشد. در مجموع می‌توان چنین استدلال کرد که با افزایش عوامل موثر در پدیدار شدن شرایط اکسیداتیو توسط گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز کاهش می‌یابد (۳۴). در مطالعه ما مقدار MDA کبد تیلاپیا به‌طور معنی‌داری در گروه سوم (شوری ۱ گرم درلیتر و مسمومیت تحت حاد) در مقایسه با گروه شاهد بعد از در معرض قرارگیری ۹۶ ساعته با سمیت آمونیاک-آشوری افزایش یافت. آمونیاک می‌تواند به‌طور معنی‌داری استرس اکسیداتیو را افزایش دهد که در مطالعه ما این اتفاق مشاهده شد. هم‌چنین کاهش آنزیم SOD منجر به تولید پراکسیداسیون لیپیدی و تشکیل MDA می‌شود. هم‌سو با مطالعه حاضر، Yu، نشان دادند که سطح MDA در آبشش، مغز و طحال ماهی *Rhynchocypris lagowski* به‌طور معنی‌داری بعد از در معرض قرارگیری با سمیت ۹۶ ساعته آمونیاک افزایش می‌یابد (۵۶). نتایج تحقیق نشان داد که با افزایش شوری میزان مالون دی آلدهید (MDA) کبد ماهی کپور کاهش معنی‌داری را در مسمویت‌های حاد و تحت حاد نداشت (جدول ۳). با توجه به این نتایج، با مسمومیت تحت‌حاد آمونیاک در آب، اکسیداسیون چربی‌های کبد کاهش یافت. افزایش شوری تا ۴ گرم در لیتر (تیمار ۲) میزان MDA نسبت به تیمار ۱ کاهش داشت که نشان می‌دهد افزایش شوری باعث کاهش اکسیداسیون لیپید در کبد شده است. Ding و همکاران، در بررسی اثر استرس شوری بر سیستم آنتی اکسیدان یک نوع لاک‌پشت (*Trachemys scripta elegans*) نشان دادند که در شوری ۱۵ گرم در لیتر از ۶ تا ۴۸ ساعت میزان MDA کبد افزایش معنی‌داری داشت و پس از آن تا ۳۰ روز تغییرات معنی‌دار نداشت (۱۴). تفاوت نتایج با تحقیق حاضر احتمالاً مربوط به تفاوت گونه‌های مورد بررسی، مدت در معرض قرارگیری و مقدار شوری است. نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌دهد که در معرض قرارگیری با سمیت آمونیاک و شوری به‌صورت کوتاه‌مدت باعث القاء پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهیان کپور معمولی و تیلاپیا می‌شود. علاوه بر این ما دریافتیم که سمیت بالای آمونیاک و شوری می‌تواند باعث تغییرات استرس اکسیداتیو در ماهی تیلاپیا شود اما سمیت پایین و شوری پایین به‌عنوان یک حالت استرسی غیر نرمال که می‌تواند باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در این ماهی شود. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد اگر چه شوری در کاهش میزان آمونیاک آب اثر کاهنده دارد اما سطوح شوری و آمونیاک و اثرات متقابل آن‌ها در طول ۹۶ ساعت آزمایش

حاکی از ایجاد استرس بیش‌تری در ماهی کپور معمولی نسبت به تیلاپیا است.

تشکر و قدردانی

این کار با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز (شماره قرارداد پژوهانه: scu.vc98.299) و قطب علمی ماهیان گرمابی، دانشگاه شهید چمران اهواز تأمین شد. نویسندگان این تحقیق از دستورالعمل‌های دانشگاهی تبعیت کردند و آزمایش‌ها را براساس دستورالعمل اخلاقی حیوانات آزمایشگاهی انجام پذیرفت.

منابع

1. **Ghani, S., Haji Moradlou, A., Paknejad, H. and Abulfathi, M., 2021.** Investigation of some mucosal and serum indices in exposed common carp (*Cyprinus carpio*) with salinity stress. Journal of Animal Environment. 13(1): 319-324. (In Persian)
2. **Ranjbar, Gh. and Pirasteh Anosheh, H., 2015.** A glance to the salinity research in Iran with emphasis on improvement of field crops production. Iranian Journal of Crop Sciences. 17(2): 165-178. (In Persian)
3. **Molayemraftar, T., Peyghan, R., Razi jalali, M. and Shahriari, A., 2018.** Interactive effect of treatment with copper sulfate and formalin bath with nitrite and ammonia intoxication, on some biochemical parameters of blood serum of common carp. Iranian Veterinary Journal. 14(1): 70-80. (In Persian)
4. **Mokhtari, M., Imanpoor, M.R., Hajimoradloo, A. and Hoseinifar, S.H., 2016.** Effects of bactocell probiotic and galactooligosaccharide peribiotic on the growth, survival, blood parameters and resistance to salinity stress in tree-spot gourami (*Trichogaster trichopterus*). Journal of Animal Environment. 8(3): 199-206. (In Persian)
5. **Naji, T., Khara, H., Rostami, M. and Nasiri Parman, A., 2009.** Investigating the effect of ammonia toxicity on the liver tissue of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Environmental Science and Technology. 11(1): 131-148. (In Persian)
6. **Arthur, J.R. 2001.** The glutathione peroxidases. CMLS Cell. Mol Life Sci. 57: 1825-1835.
7. **Bianchini, A., Wasielesky, W.Jr. and Miranda Filho, K.C., 1996.** Toxicity of nitrogenous compounds to juveniles of flatfish Paralichthys orbignyanus. Bull Environ Contam Tox. 56(3): 453-459.
8. **Bower, C.E. and Bidwell, J.P., 1978.** Ionization of Ammonia in Seawater - Effects of Temperature, Ph, and Salinity. Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 35: 1012-1016.
9. **Boyd, C.E. and Tucker, C.S., 2012.** Pond aquaculture water quality management. Springer-Verlag New York. 700 p.
10. **Castellani, R.J., Honda, K. and Zhu, X., 2004.** Contribution of redox-active iron and copper to oxidative damage in Alzheimer disease, Ageing Research Reviews. 3(3): 319-326.
11. **Cheng, C.H., Yang, F.F., Ling, R.Z., Liao, S.A., Miao, Y.T., Ye, C.X. and Wang, A.L., 2015.** Effects of ammonia exposure on apoptosis, oxidative stress and immune response in pufferfish (*Takifugu obscurus*). Aquat Toxicol. 164: 61-71.
12. **Ching, B.Y., Chew, S.F., Wong, W.P. and Ip, Y.K., 2009.** Environmental ammonia exposure induces oxidative stress in gills and brain of *Boleophthalmus boddarti* (mudskipper). Aquatic Toxicology, 95: 203-212.
13. **Ding, L., Li, W., Li, N., Liang, L., Zhang, X., Jin, H., Shi, H., Storey, K.B. and Hong, M., 2019.** Antioxidant responses to salinity stress in an invasive species, the red earedslider (*Trachemys scripta elegans*) and involvement of a TOR-Nrf2 signaling pathway. Comparative Biochemistry and Physiology Part C. 219: 59-67.
14. **Ellman, G.L., 1959.** Tissue sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys. 82(1): 70-77.
15. **FAO. 2020.** The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action., Rome. https://doi.org/10.4060/ca9229en.
16. **Gonzalez, R.J., 2012.** The physiology of hyper-salinity tolerance in teleost fish: A review. J. Comp. Physiol. B. 182: 321-329.
17. **Hampson, B.L., 1976.** Ammonia concentration in relation to ammonia toxicity during a rainbow trout rearing experiment in a closed freshwater-seawater system. Aquaculture. 9: 61-70.
18. **Hegazi, M.M., Attia, Z.I. and Ashour, O.A., 2010.** Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure. Aquat. Toxicol. 99: 118-125.
19. **Jumah, Y.U., Traifalgar, R.F.M. and Monteclaro, H.M., 2016.** Influence of hyperosmotic culture conditions on osmoregulatory ions, gill chloride cells and Na+/K+-ATPase activity of Nile tilapia, Oreochromis niloticus. AACL Bioflux. 9(3): 498-506.
20. **Kono, Y., 1978.** Generation of superoxide radical during autoxidation of hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. Archives of Biochemistry and Biophysics. 186(1): 189-195.
21. **Koroluk, M., Ivanova, L., Mayorova, I. and Tokorev, W., 1988.** Method of determination of catalase activity. Laboratory Techniques. 1: 16-19.
22. **Li, C., Sun, H., Chen, A., Ning, X., Wu, H., Qin, S., Xue, Q. and Zhao, J., 2010.** Identification and characterization of an intracellular Cu, Znesuperoxide dismutase

34. **Murthy, C.R.K., Rama Rao, K.V., Bai, G. and Norenberg, M.D., 2001.** Ammoniainduced production of free radicals in primary cultures of rat astrocytes. J Neurosci Res. 66: 282-288.

35. **Narra, M.R., 2016.** Single and cartel effect of pesticides onbiochemical and haematological status of Clarias batrachus: a long-termmonitoring. Chemosphere. 144: 966-974.

36. **Peyghan, R. and Azary Takamy, G., 2002.** Histopathological, Serum Enzyme, Cholesterol and Urea Changes in Experimental Acute Toxicity of Ammonia inCommon Carp (*Cyprinus carpio*) and Use of Natural Zeolite for Prevention. Aquaculture International. 10: 317-325.

37. **Placer, Z.A., Cushman, L.L. and Johnson, B.C., 1966.** Estimation of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. Analytical Biochemistry. 16(2): 359-364.

38. **Qi, X.Z., Xue, M.Y., Yang, S.B., Zha, S.B., Wang, G.X. and Ling, F., 2017.** Ammonia exposure alters the expression of immune-related and antioxidant enzymes-related genes and the gut microbial community of crucian carp (*Carassius auratus*). Fish Shellfish Immunol. 70: 485-492.

39. **Quentin, B., Richard, H. and Moore, M., 2008.** Biology of Fishes, Taylor & Francis Group.

40. **Rama, S. and Manjabhat, S.N., 2014.** Protective effect of shrimp carotenoids against ammonia stress in common carp, *Cyprinus carpio*. Ecotoxicol Environ Saf. 107: 207-213.

41. **Randall, D.J. and Wright, P.A., 1987.** Ammonia distribution and excretion in fish. Fish Physiol. Biochem. 3: 107-120.

42. **Roche, H. and Bogé, G., 1996.** Fish blood parameters as a potential toll for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication. Mar. Environ. Res. 41: 27-43.

43. **Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. and Raisuddin, S., 2003.** Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrinin freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. Ecotoxicology and Environmental Safety. 56: 295-301.

44. **Shingles, A., McKenzie, D.J., Taylor, E.W., Moretti, A., Butler, P.J. and Ceradini, S., 2001.** Effects of sublethal ammonia exposure on swimming performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J Exp Biol. 204: 2691-2698.

45. **Sies, H., 1999.** Glutathione and its role in cellular functions. Free Radic Biol Med. 27: 916-921.

46. **Sinha, A.K., AbdElgawad, H., Giblen, T., Zinta, G., De Rop, M., Asard, H., Blust, R. and DeBoeck, G., 2014.** Anti-oxidative defences are modulated differentially in threefreshwater teleosts in response to ammonia-induced oxidative stress. PLOSONE. 9(4): e95319.

(icCu/ZneSOD) gene from clam Venerupis philippinarum. Fish Shellfish Immunol. 28: 499-503.

23. **Li, H., Wang, J., Konig, R., Ansari, GA. and Khan, M.F., 2007.** Formaldehyde-protein conjugate-specific antibodies in ratsexposed to formaldehyde. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A. 70: 1071-1075.

24. **Li, M., Gong, S., Li, Q., Yuan, L., Meng, F. and Wang, R., 2016.** Ammonia toxicity induces glutamine accumulation, oxidative stress and 2 immunosuppression in juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. Comparative Biochemistry and Physiology. 183-184: 1-6.

25. **Li, Y., Hugenholtz, J., Abee, J. and Molenaar, D. 2003.** Glutathione protects Lactococcus lactis against oxidative stress. Appl Environ Microbiol. 69: 5739-5745.

26. **Lim, C.B., Chew, S.F., Anderson, P.M. and Ip, Y.K., 2001.** Reduction in the rates of protein and amino acid catabolism to slow down the accumulation of endogenous ammonia: a strategy potentially adopted by mudskippers (*Periophtalmodon schlosseri* and *Boleophthalmus boddaerti*) during aerial exposure in constant darkness. Journal of Experimental Biology. 204: 1605-1641.

27. **Lin, Y., Miao, L.H., Pan, W.J., Huang, X., Dengua, J.M., Zhang, W.X., Ge, X.P., Liu, B., Ren, M.C., Zhou, Q.L., Xie, J. and Pan, L.K., 2018.** Effect of nitrite exposure on the antioxidant enzymes and glutathione system in the liver of bighead carp, Aristichthys nobilis. Fish Shellfish Immunol. 76: 126-132.

28. **Liang, Y., Lu, X., Min, Y., Liu, L. and Yang, J., 2018 .** Interactive effects of microcystin and ammonia on the reproductive performance and phenotypic traits of the rotifer *Brachionus calyciflorus*. Ecotoxicol.

29. **Liu, Y., Wang, W.N., Wang, A., Wang, J.M. and Sun, Y., 2007.** Effects of dietary vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) exposed to acute salinity changes. Aquaculture. 265: 351-358.

30. **Lushchak, V.I., 2011.** Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. Aquat. Toxicol. 101: 13-30.

31. **Martinez-Alvarez, R.M., Morales, A.E. and Sanz, A., 2005.** Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. Rev Fish Biol Fish. 15: 75-88.

32. **Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Kumar, R., Seth, C.S. and Gupta, D.K., 2006.** Leaddetoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. Chemosphere. 65(6): 1027-1039.

33. **Monteiro, D.A., Almeida, J.A.D., Rantin, F.T. and Kalinin, A.L., 2006.** Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, Brycon cephalus, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). Comparative Biochemical and Physiological. 141: 143-149.

47. **Srikanth, K., Pereira, E., Duarte, A.C. and Ahmad, I., 2013.** Glutathione and its dependent enzymes' modulatory responses to toxic metals and metalloids in fish-a review. Environ Sci Pollut Res. 20: 2133-2149.

48. **Thangam, Y., Perumayee, M., Jayaprakash, S., Umavathi, S. and Basheer, S.K., 2014.** Studies ofammonia toxicity on haematological parameters to freshwater fish *Cyprinus carpio* (common carp). Int J Curr Microbiol Appl Sci. 3(12): 535-542.

49. **Vander Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environ. Toxicol. Pharmacol. 24(2): 211-217.

50. **Wilhelm Filho, D., Giulivi, C. and Boveris, A., 1993.** Antioxidant defences in marine fish. I. Teleosts. Comp. Biochem. Physiol. C. 106: 409-413.

51. **Wright, P.A. and Wood, C.M., 1985.** An analysis of branchial ammonia excretion in the freshwater rainbow trout: effects of environmental pH change and sodium uptake blockage. J. exp. Biol. 11(4): 329-353.

52. **Yang, W., Xiang, F., Liang, L. and Yang, Z., 2010.** Toxicity of ammonia and its effects on oxidative stress mechanisms of juvenile crucian carp (*Carassius auratus*). Journal of Freshwater Ecology. 25: 297-302.

53. **Yang, W., Xiang, F., Liang, X. and Yang, Zh., 2011.** Toxicity of Ammonia and Its Effects on OxidativeStress Mechanisms of Juvenile Crucian Carp (*Carassius auratus*). J. Freshw. Ecol. 25: 297-302.

54. **Ye, X., Jiang, R., Zhang, Q., Wang, R., Yang, C., Ma, J. and Du, H., 2016.** Increased 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in leukocyte DNA from patients with type 2 diabetesand microangiopathy. Journal of International Medical Research. 44(3): 472-482

55. **Yu, B.P., 1994.** Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiological reviews. 74: 139-162. https://doi.org/10.1152/physrev.1994.74.1.139.

56. **Zhang, L., Liu, X., Chen, L., You, L., Pei, D., Cong, M., Zhao, J., Li, C., Liu, D., Yu, J. and Wu, H., 2011.** Transcriptional regulation of seleniumedependent glutathione peroxidase from Venerupis philippinarum in response to pathogen and contaminants challenge. Fish Shellfish Immunol. 31: 831-837.

57. **Zhang, M., Li, M., Wang, R. and Qian, Y., 2018.** Effects of acute ammonia toxicity on oxidative stress, immune response and apoptosis of juvenile yellow catfish Pelteobagrus fulvidraco and the mitigation of exogenous taurine. Fish Shellfish Immunol. 79: 313-320. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.036.