



## تعیین غلظت کشنده آمونیاک و محدوده قابل تحمل pH برای ماهی گورخری (*Danio rerio*)

عیسی ابراهیمی\*، مصطفی علی‌شیری، پدram ملک‌پوری

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶، اصفهان

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۹۵/۰۱/۲۲	
اصلاح: ۹۵/۰۷/۰۶	
پذیرش: ۹۵/۰۸/۰۶	
کلمات کلیدی:	
آمونیاک	
ماهی گورخری	
<i>Danio rerio</i>	
LC <sub>50</sub>	

افزایش آمونیاک آب، یکی از مشکلات عمده در پرورش و نگهداری آبزیان است. مواد نیتروژن‌دار به طرق مختلف مانند اکسیداسیون مواد آلی نیتروژن‌دار نظیر پروتئین‌ها، تجزیه فضولات و آمونیاک دفعی توسط ماهیان تولید می‌شود. افزایش این ترکیبات در سیستم‌های گردش مجدد آب و آکواریوم‌ها همواره مطرح بوده است و به‌عنوان یک عامل استرس‌زا محسوب می‌شود. از طرف دیگر افزایش و یا کاهش آمونیاک غیریونیزه نیز تحت تأثیر تغییرات pH قرار دارد. برای اندازه‌گیری LC<sub>50</sub> آمونیاک هفت تیمار شامل تیمار شاهد و تیمارهایی با غلظت‌های ۰/۰۶۹، ۰/۱۳۸، ۰/۲۷۶، ۰/۵۵۲، ۱/۱۰۵ و ۲/۲۱۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک غیریونیزه در نظر گرفته شد. سپس به‌منظور به دست آوردن محدوده قابل تحمل pH، ماهیان به‌صورت انفرادی در معرض کاهش و یا افزایش تدریجی (۱/۰ واحد به ازای هر دقیقه) pH با استفاده از HCl و NaOH ۰/۴ نرمال قرار گرفتند. میزان LC<sub>50</sub> برای دوره‌های زمانی مختلف با استفاده از نرم‌افزار پروبیت تعیین شد و میزان LC<sub>50</sub> برای مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب برابر ۰/۷۶۶، ۰/۶۳۴، ۰/۵۳۲ و ۰/۴۷۱ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد. میانگین آستانه تحمل بیشینه و کمینه pH به ترتیب ۱۱/۶۴±۰/۰۴ و ۲/۶۰±۰/۰۹ محاسبه گردید. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که ماهی گورخری جزو ماهیان حساس به مسمومیت آمونیاکی محسوب می‌شود اما نسبت به تغییرات pH نسبتاً مقاوم است.

### مقدمه

ماهی گورخری یا دانیوگورخری با نام علمی (*Danio rerio* (Hamilton, 1822) به خانواده کپورماهیان تعلق دارد. این ماهی دارای نام‌های دیگری مانند زبرا یا گورخری، زبرا دانیو، ماهی راه راه و یا دانیو راه راه نیز است (Robins *et al.*, 1991). زیستگاه طبیعی این گونه، آب‌های شیرین مناطق گرمسیری گزارش شده است (Riehl and Baensch, 1991). محدوده دمایی بهینه این گونه بین ۱۸ الی ۲۴ درجه سانتی‌گراد و محدوده بهینه pH بین ۶/۸ الی ۷/۵ بوده و به‌دلیل اندازه کوچک، نگهداری آسان، عادت‌پذیری خوب و احتیاجات غذایی اندک، جز ماهیانی است که در آکواریوم‌های کوچک آب شیرین به‌راحتی نگهداری می‌شود (Spence *et al.*, 2008).

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [e\\_brahim@cc.iut.ac.ir](mailto:e_brahim@cc.iut.ac.ir)

افزایش آمونیاک آب، یکی از مشکلات عمده در آبریز پروری است. مواد نیتروژن‌دار به طرق مختلف مانند اکسیداسیون مواد آلی نیتروژن‌دار نظیر پروتئین‌ها، تجزیه فضولات و آمونیاک دفعی ماهیان تولید می‌شوند. افزایش این ترکیبات در سیستم‌های فوق‌متراکم پرورش ماهی با گردش مجدد آب، آکواریوم‌ها و در هنگام انتقال و جابجایی ماهی همواره مطرح بوده است و به‌عنوان یک عامل استرس‌زا محسوب می‌شود (Banhashemi et al., 1392; Wang et al., 2000).

آمونیاک در آب به دو شکل یونیزه شده یا همان  $\text{NH}_4^+$  و شکل مولکولی یا غیر یونیزه یا  $\text{NH}_3$  وجود دارد. حالت شیمیایی اول برای ماهیان چندان مشکل‌ساز نیست و در واقع سمیت آمونیاک برای ماهیان و دیگر موجودات آبریز عمدتاً مربوط به شکل غیر یونیزه آن است که به راحتی از طریق شیب غلظت از آبشش ماهی جذب شده و از طریق خون خود را به تمامی اندام‌ها می‌رساند (Banhashemi et al., 1392). آمونیاک کل ( $^1\text{TAN}$ ) به مجموع آمونیاک یونیزه شده ( $\text{NH}_4^+$ ) و آمونیاک غیر یونیزه ( $\text{NH}_3$ ) اطلاق می‌شود. نسبت این دو ترکیب و بالطبع مسمومیت آمونیاک عمدتاً وابسته به درجه حرارت، ثابت یونیزاسیون آب، نوسانات روزانه pH و دی‌اکسید کربن، تا اندازه‌ای شوری آب، مراحل سنی، نوع گونه و جثه آن است که در این میان pH از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، به طوری که با افزایش pH آب از مقدار آمونیوم کاسته شده و بر نسبت آمونیاک یونیزه نشده افزوده می‌گردد (Smart, 1981; Bader and Grizzle, 1992; Boyd and Tucker, 2012).

تاکنون غلظت کشنده آمونیاک در بسیاری از ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است. به‌طور مثال، در مطالعه‌ای غلظت میانه کشنده طی ۹۶ ساعت ( $\text{LC}_{50-96\text{h}}$ ) آمونیاک برای کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) ۱۵ گرمی با سن ۶۰ روز ۰/۹۹ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه گردید (Naji et al., 2009). در مطالعه‌ای دیگر اثر سمیت حاد آمونیاک برای بچه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با میانگین وزنی ۳ گرم مورد بررسی قرار گرفت؛ در این پژوهش میزان  $\text{LC}_{50}$  آمونیاک در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب برابر ۱۲/۶، ۹/۸۲، ۸ و ۶/۳۷ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد (Banhashemi et al., 1392). میزان  $\text{LC}_{50-96\text{h}}$  آمونیاک برای قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یک ماهه (۳/۵ الی ۵/۵ سانتی‌متر طول و ۰/۳۲ الی ۱/۷۵ گرم وزن) برابر ۰/۸۴ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شد (Keturah and Stephen, 1990).  $\text{LC}_{50-96\text{h}}$  آمونیاک برای گروهی دیگر از قزل‌آلای رنگین‌کمان چهار ماهه (با طول ۹/۵ الی ۱۴/۵ سانتی‌متر و وزن ۱۰ الی ۳۲/۶ گرم) برابر ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شد (Maria et al., 2014). در مطالعه‌ای دیگر نیز سمیت حاد آمونیاک در لارو و بچه ماهیان انگشت قد ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) بررسی شد که میزان  $\text{LC}_{50-48\text{h}}$  به ترتیب برابر با ۱/۰۰۹ و ۷/۴۰ میلی‌گرم بر لیتر برای لارو و انگشت قد گزارش شد (Benli and Köksal, 2005).

pH مناسب برای زندگی ماهیان آب‌شیرین در محدوده ۶/۵ الی ۹ تعیین شده است (USEPA 1976, 1986). تغییرات pH می‌تواند مستقیماً موجب مرگ ماهیان از طریق مختل شدن pH عادی مایعات بدن و تغییر تعادل اسید و باز، عدم توانایی دفع یون بی‌کربنات، جذب اکسیژن، ایجاد زخم در پوست و آبشش و غیره شود و یا در اثر ایجاد استرس به‌طور غیرمستقیم مرگ آن‌ها را فراهم نماید (Mokhayer, 2010). تحقیقات نشان داده است که pH بین ۹ الی ۱۰ در ماهی شش‌آبی (*Lepomis macrochirus*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان و قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta*) سبب تلفات جزئی و pH بالاتر از ۱۰ سبب تلفات قابل‌توجهی در جمعیت این ماهیان می‌شود (Wiebe, 1931; Alabaster and Lloyd, 1980). محدوده قابل تحمل pH برای ماهی شش‌آبی ۳/۶ الی ۱۰/۵ گزارش شده است در حالی که این بازه برای قزل‌آلای قهوه‌ای از ۳/۳ الی ۱۰/۷ است (Mckee, 1963; USEPA, 1986).

با توجه به اینکه ماهی گورخری به‌صورت گروهی در آکواریوم‌ها و یا در سیستم‌های مدار بسته و بدون تعویض آب نگهداری می‌شوند امکان تجمع آمونیاک در آب محیط پرورش آن‌ها زیاد است. بنابراین هدف از انجام این پژوهش تعیین غلظت کشنده آمونیاک در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت است. علاوه بر این، محدوده قابل تحمل pH به دلیل تأثیرگذاری نوسانات pH بر سمیت آمونیاک نیز در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است.

<sup>1</sup> Total Ammonia Nitrogen

## مواد و روش‌ها

جهت انجام این پژوهش تعداد ۶۵ قطعه ماهی گورخری (*D. rerio*) خریداری و پس از انتقال به آزمایشگاه در مخازن پلی اتیلنی ۳۰۰ لیتری به مدت دو هفته در آب کلرزدایی شده (آب لوله‌کشی شهر که کاملاً هوادهی شده) نگهداری شدند تا با شرایط جدید سازگار شوند. طی این مدت ماهیان با غذای دستی روزانه به میزان سه درصد وزن بدن تغذیه شدند و هر روز ۵۰٪ آب مخازن نگهداری آن‌ها تعویض شد. یک روز قبل از شروع آزمایش غذادهی متوقف گردید. در طول مدت‌زمان سازگاری تلفاتی مشاهده نشد. آمونیوم کلرید ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) ساخت شرکت مرک آلمان و با خلوص ۹۹٪ جهت تهیه استوک مورد استفاده قرار گرفت. هدایت الکتریکی با استفاده از EC متر (شرکت Jenway، مدل ۴۳۱۰) و همچنین جهت اندازه‌گیری اکسیژن محلول در آب از اکسیژن متر (شرکت WTW مدل ۳۲۰۵ Oxi) و pH نیز با استفاده از pH متر (شرکت WTW، مدل Inolab ۷۲۰) استفاده شد.

غلظت کشنده ( $\text{LC}_{50}$ )

جهت اندازه‌گیری  $\text{LC}_{50}$  آمونیاک، ابتدا هفت تیمار شامل تیمار شاهد (صفر) و تیمارهایی با غلظت‌های ۰/۰۶۹، ۰/۱۳۸، ۰/۲۷۶، ۰/۵۵۲، ۱/۱۰۵ و ۲/۲۱۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک غیریونیزه آماده شد. به این منظور، استوک آمونیوم کلرید ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) با غلظت ۲۵ گرم بر لیتر تهیه شد. سپس به ترتیب با برداشتن حجم‌های ۳/۷۵، ۷/۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی‌لیتر از استوک آمونیوم کلرید با توجه به درجه حرارت و pH آب، غلظت‌های نهایی برحسب میلی‌گرم آمونیاک غیریونیزه بر لیتر در حجم‌های مورد نیاز تهیه گردید. تعداد ۴۹ قطعه ماهی در این بخش از آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. به این صورت که هر واحد آزمایشی شامل هفت قطعه ماهی با میانگین وزنی و طولی به ترتیب ۱/۱۵±۰ گرم و ۲/۲±۰ سانتی‌متر و ۱۰ لیتر آب با هوادهی دائمی و یکسان در طول مدت آزمایش در نظر گرفته شد. در طول مدت آزمایش دمای آب ۲/۲±۰ درجه سانتی-گراد، میزان اکسیژن محلول آب بالاتر از ۹۰٪ (۶/۲ الی ۶/۵ میلی‌گرم بر لیتر) و pH آب برابر ۷/۷±۰/۱ (با استفاده از هیدروکلریک اسید ۴/۴ HCl نرمال و سدیم‌هیدروکسید ۴/۴ NaOH نرمال) ثابت نگه داشته شد. آب هریک از واحدهای آزمایشی هر ۲۴ ساعت یک‌بار تعویض گردید. این قسمت از آزمایش به مدت ۹۶ ساعت (۴ روز) به طول انجامید و تلفات در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بررسی و ثبت گردید. میزان TAN (آمونیاک یونیزه نشده + آمونیاک یونیزه شده) هر تیمار نیز با نمونه‌برداری از آب در هر ۲۴ ساعت و با استفاده از روش اندازه‌گیری کلدال تعیین و سپس با استفاده از میزان pH، دما و نسبت TAN با استفاده از جدول استاندارد، میزان آمونیاک محاسبه و ثبت شد (Boyd and Tucker, 2012). جدول ۱ بیانگر میزان آمونیوم کلرید برداشته شده از محلول استوک و غلظت‌های نهایی ایجاد شده در واحدهای آزمایشی است.

## محدوده قابل تحمل pH

به‌منظور تعیین حدود بیشینه و کمینه pH قابل تحمل برای ماهی گورخری، ۱۶ قطعه ماهی با میانگین وزنی و طولی به ترتیب ۱/۱۵±۰ گرم و ۲/۲±۰ سانتی‌متر انتخاب شد. تعداد ۸ قطعه ماهی برای به دست آوردن حد قابل تحمل کمینه و ۸ ماهی برای به دست آوردن حد قابل تحمل بیشینه مورد استفاده قرار گرفت. برای به دست آوردن حد قابل تحمل کمینه از کاهش تدریجی pH (۱/۰ واحد به ازای هر دقیقه) با استفاده از هیدروکلریک اسید ۴/۴ نرمال استفاده شد. به این صورت که در هر دقیقه فقط ۱/۰ واحد از میزان pH اولیه کاسته شد تا به ماهی استرس تغییر ناگهانی وارد نشود. برای به دست آوردن حد بیشینه قابل تحمل از افزایش تدریجی pH (۱/۰ واحد به ازای هر دقیقه) با استفاده از سدیم‌هیدروکسید ۴/۴ نرمال استفاده شد. الکتروود pH متر همواره در آب واحد آزمایشی ماهی قرار داشت و pH نهایی که در آن ماهی اولین علائم مرگ مانند بی‌حالی و عدم تعادل را نشان داد به‌عنوان آستانه تحمل pH ثبت گردید. در طول مدت آزمایش دمای آب اندازه‌گیری و ثبت گردید، میزان اکسیژن محلول آب بالاتر از ۹۰٪ (۶/۲ الی ۶/۵ میلی‌گرم بر لیتر) با هوادهی ثابت نگه داشته شد.

جدول ۱. میزان حجم برداشت شده از محلول استوک آمونیوم و نسبت ترکیبات آمونیاکی

شاهد	تیمار	حجم برداشته شده از استوک آمونیوم کلرید (میلی لیتر)	آمونیم کلرید (میلی گرم در لیتر)	آمونیاک کل (میلی-گرم در لیتر)	آمونیاک غیر یونیزه (میلی گرم در لیتر)
۱	۳/۷۵	۹/۳۷	۳/۱۶	۰/۰۶۹	۰
۲	۷/۵	۱۸/۷۵	۶/۳۲	۰/۱۳۸	۰
۳	۱۵	۳۷/۵	۱۲/۶۴	۰/۲۷۶	۰
۴	۳۰	۷۵	۲۵/۲۹	۰/۵۵۲	۰
۵	۶۰	۱۵۰	۵۰/۵۸	۱/۱۰۵	۰
۶	۱۲۰	۳۰۰	۱۰/۱۱۷	۲/۲۱۰	۰

## آنالیزهای آماری

به منظور محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS، نسخه ۱۸ استفاده شد. به منظور تعیین LC<sub>50</sub> آمونیاک برای ماهی گورخری از آنالیز رگرسیون پروبیت استفاده گردید.

## نتایج

غلظت میانه کشنده آمونیاک (LC<sub>50</sub>)

به منظور تعیین LC<sub>50</sub> آمونیاک، تعداد تلفات در هر یک از غلظت‌های مطرح شده در قسمت مواد و روش‌ها طی زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت شمارش گردید. سپس میزان تلفات به صورت تجمعی برحسب درصد محاسبه و وارد محیط نرم‌افزار گردید. در ادامه، LC<sub>50</sub> برای هر یک از دوره‌های زمانی با استفاده از آنالیز رگرسیون پروبیت<sup>۲</sup> تعیین شد. بر این اساس، میزان LC<sub>50</sub> برای مدت‌زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب برابر ۰/۷۶۶، ۰/۶۳۴، ۰/۵۳۲ و ۰/۴۷۱ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد (جدول ۲).

## محدوده قابل تحمل pH

در جدول ۳ و ۴ pH شروع آزمایش، هدایت الکتریکی، دما و مدت‌زمان انجام آزمایش به صورت جداگانه برای حد تحمل کمینه و بیشینه ارائه شده است. در آنالیز داده‌های pH پایانی به صورت میانگین و انحراف معیار آستانه حد تحمل بیشینه ۰/۴ ± ۱۱/۶۴ و آستانه حد تحمل کمینه ۰/۹ ± ۶۰/۲۰ محاسبه گردید و بنابراین محدوده قابل تحمل pH ۲/۵۹ الی ۱۱/۶ به دست آمد.

جدول ۲. تعیین غلظت کشنده آمونیاک و درصد تلفات تجمعی جمعیت ماهی گورخری *D. rerio* در زمان‌های مختلف

مدت‌زمان (ساعت)	شاهد (۰)	۰/۰۶۹	۰/۱۳۸	۰/۲۷۶	۰/۵۵۲	۱/۱۰۵	۲/۲۱۰	LC <sub>50</sub> (mg/L)
۲۴	۰	۰	۰	۰	۰	۴۲/۸	۱۰۰	۰/۷۶۶
۴۸	۰	۰	۰	۰	۲۸/۵۷	۱۰۰	۱۰۰	۰/۶۳۴
۷۲	۰	۰	۰	۰	۵۷/۱۴	۱۰۰	۱۰۰	۰/۵۳۲
۹۶	۰	۰	۰	۱۴/۲	۵۷/۱۴	۱۰۰	۱۰۰	۰/۴۷۱

<sup>۲</sup> Probit

جدول ۳. تعیین حد بیشینه تحمل pH برای ماهی گورخری *D. rerio*

تیمار	pH اولیه	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی متر)	دما (سانتی گراد)	مدت زمان (دقیقه)	حد تحمل pH بیشینه
۱	۸/۰۰	۳۴۴	۲۰/۲	۳۷	۱۱/۶۵
۲	۸/۲۴	۳۴۸	۲۰/۳	۳۵	۱۱/۶۷
۳	۸/۱۸	۳۳۵	۲۰/۸	۳۶	۱۱/۶۳
۴	۸/۰۸	۳۴۷	۲۰/۸	۳۷	۱۱/۶۸
۵	۸/۱۴	۳۴۲	۲۳/۵	۳۵	۱۱/۶۰
۶	۸/۱۴	۳۴۲	۲۳/۵	۳۵	۱۱/۶۳
۷	۸/۱۴	۳۴۲	۲۳/۵	۳۵	۱۱/۶۴
۸	۸/۱۴	۳۴۲	۲۳/۵	۳۵	۱۱/۶۶

جدول ۴. تعیین حد کمینه تحمل pH برای ماهی گورخری *D. rerio*

تیمار	pH اولیه	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی متر)	دما (سانتی گراد)	مدت زمان (دقیقه)	حد تحمل کمینه pH
۱	۷/۹۴	۳۴۸	۲۵/۱	۵۳	۲/۶۴
۲	۷/۹۶	۳۴۴	۲۵/۷	۵۴	۲/۵۶
۳	۷/۸۹	۳۳۸	۲۵/۶	۵۲	۲/۶۶
۴	۷/۹۶	۳۴۱	۲۵/۶	۵۳	۲/۶۹
۵	۸/۰۴	۳۴۹	۲۳/۹	۵۳	۲/۶۸
۶	۸/۰۴	۳۴۹	۲۳/۹	۵۴	۲/۶۲
۷	۸/۰۴	۳۴۹	۲۳/۹	۵۴	۲/۵۹
۸	۸/۰۴	۳۴۹	۲۳/۹	۵۵	۲/۵۱

### بحث

در بررسی‌های متعدد حد مجاز غیر آسیب‌رسان و غیرکشنده آمونیاک برای ماهیان مختلف در دامنه ۰/۰۰۵ الی ۰/۲ میلی گرم بر لیتر عنوان شده است (Handy and Poxton, 1993; Ruffier *et al.*, 1981). همان‌طور که از نتایج مطالعه حاضر برمی‌آید در غلظت ۰/۱۳۸ میلی گرم بر لیتر آمونیاک طی ۹۶ ساعت هیچ مرگ‌ومیری رخ نداده است و در غلظت ۰/۲۷۶ میلی گرم بر لیتر در ۹۶ ساعت فقط یک تلفات رخ داده است که مبین این مطلب است که میزان تحمل ماهی گورخری نسبت به مسمومیت با آمونیاک (در مطالعه فعلی) در محدوده ذکر شده قرار دارد.

از جمله تغییرات بیوشیمیایی در ماهیانی که در معرض غلظت بیش از حد مجاز آمونیاک قرار گرفته‌اند افزایش pH خون است که باعث اختلال در واکنش‌های آنزیمی غشاء سلول‌های پوششی می‌شود و به دلیل حساسیت مغز به این تغییرات می‌تواند عامل ایجاد علائم عصبی شود. آمونیاک باعث ایجاد استرس در ماهی می‌شود که شاخص آن افزایش آدرنالین، نورآدرنالین و کورتیکواستروئیدهای پلازما است. به همین دلیل افزایش آمونیاک می‌تواند باعث کاهش فعالیت سیستم ایمنی، کاهش تولید اینترفرون و کاهش تمایل ماهی به غذا شود که خود عاملی برای مستعد شدن ماهی نسبت به بیماری‌های مختلف است (Jeney *et al.*, 1992). در مسمومیت مزمن با آمونیاک (مقادیر کمتر از حد کشنده) معمولاً میزان رشد و درصد بقا ماهیان کاهش می‌یابد و ماهیان نسبت به عوامل عفونی حساس‌تر می‌شوند. این حالت معمولاً با ضایعات آبششی، کبدی و کلیوی همراه است (Soderberg, 1985). به‌طور کلی علت مرگ ماهیان در مسمومیت با آمونیاک به‌علت کاهش ورود اکسیژن به بدن

ماهی در اثر آسیب‌های آبششی، کاهش قابلیت حمل اکسیژن توسط خون، برهم خوردن تعادل اسمزی در اثر آسیب‌های کلیوی و آبششی و همچنین اختلال در متابولیسم سلول‌های مغزی است (Colt and Tchobanoglous, 1979).

نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان LC<sub>50</sub>-96h آمونیاک برای ماهی گورخری ۰/۴۷۱ میلی‌گرم بر لیتر است که در مقایسه با سایر گونه‌ها از جمله کپور معمولی که به نوبه خود گونه مقاومی نسبت به مسمومیت‌های آمونیاکی محسوب می‌شود (۰/۹۹ میلی‌گرم بر لیتر) به مراتب کمتر است (Naji et al., 2009). میزان LC<sub>50</sub>-48h آمونیاک ماهی گورخری که برابر ۰/۶۳۴ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد در قیاس با LC<sub>50</sub>-48h آمونیاک گزارش شده برای بچه ماهیان تیلاپیا نیل (۰/۴۰ میلی‌گرم بر لیتر)، (Benli and Köksal, 2005) نیز اختلاف زیادی دارد. اما این غلظت‌ها در مقایسه با ماهیان حساس‌تر نسبت به آمونیاک مانند قزل‌آلای رنگین‌کمان چهارماهه (۹/۵ تا ۱۴/۵ سانتی‌متر طول و ۱۰ تا ۳۲/۶ گرم وزن) با LC<sub>50</sub>-96h آمونیاک برابر با ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر (Maria et al., 2014) اختلاف کمتری دارد. البته باید در نظر داشت که از نظر جثه، ماهیان گورخری به مراتب کوچک‌تر هستند و در نتیجه در غلظت‌های کمتری از آمونیاک دچار مسمومیت می‌شوند. از طرفی دیگر در مقایسه با لارو ماهی تیلاپیای نیل (با وزن تقریبی ۰/۵۶ گرم) میزان LC<sub>50</sub>-48h در حدود ۱/۰۰۹ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شده است که به مراتب از غلظت مشابه برای گونه مورد آزمایش بیشتر است (Benli and Köksal, 2005). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اگرچه ماهی گورخری جزو خانواده کپورماهیان محسوب می‌شود که اکثراً در مقابل غلظت‌های زیاد آمونیاک مقاوم‌اند اما به دلیل جثه کوچک‌تر، نسبت به مسمومیت‌های آمونیاکی حساس‌ترند. این اصل به‌خوبی در مطالعات پیشین به اثبات رسیده است (Gomułka et al., 2011). برای مثال، Russo و Thurston (۱۹۸۳) در مطالعه‌ای روی ماهی قزل‌آلا به این نتیجه رسیدند که افزایش سن و بالطبع جثه ماهی از مراحل لاروی به بچه ماهی سبب کاهش حساسیت نسبت به مسمومیت آمونیاکی می‌شود. در مطالعه مشابهی به تأثیر سن بر مسمومیت حاد آمونیاکی پرداخته شد. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که لاروهای یک‌روزه گربه‌ماهی روگامی (*Ictalurus punctatus*) نسبت به لاروهای دو روزه در مقادیر کمتری از آمونیاک دچار تلفات می‌شوند (Bader and Grizzle, 1992). بنابراین، با توجه به نگهداری گله‌ای این ماهیان در محیط پرورشی و آکواریوم‌ها که با افزایش غلظت آمونیاک دفعی همراه است می‌بایست دقت کافی در خصوص به عمل آید چراکه در عمل مقادیر کمتر از میزان کشنده سبب کاهش و یا حتی توقف تغذیه می‌شوند (Rodrigues et al., 2007).

با توجه به اینکه مکانیسم‌هایی برای متابولیسم ترکیبات آمونیاکی در آبزیان وجود دارد که عملکرد آن در گونه‌های مختلف میزان حساسیت و یا مقاومت آن گونه را نسبت به مسمومیت آمونیاکی تعیین می‌نماید. یکی از این مکانیسم‌ها فعالیت آنزیم glutamine synthetase است (Wicks and Randall, 2002). این آنزیم سبب کاتالیز ترکیبات آمونیاکی به گلوتامین می‌شود که از جمله ترکیبات غیرسمی برای آبزیان محسوب می‌شود. بنابراین شدت عملکرد این مکانیسم می‌تواند به‌عنوان یکی از دلایل احتمالی افزایش مقاومت برخی گونه‌ها نسبت به آمونیاک باشد. این توانایی در گونه‌های مختلف یکسان نیست و این موضوع می‌تواند به‌عنوان یکی از دلایل تفاوت گونه‌ای در حساسیت به آمونیاک محسوب شود (Gomułka et al., 2011). کبد و مغز در تنظیم تبدیل فوق نقش حیاتی ایفا می‌کنند و عضلات نیز به‌عنوان جایگاه ذخیره‌ای موقت گلوتامین تولید شده نقش مؤثری در افزایش توان ماهی برای متابولیسم آمونیاک بر عهده دارد (Wicks and Randall, 2002).

pH در تنظیم فرآیندهای حیاتی اولیه مانند تبادل گازهای تنفسی، تنظیم اسمزی و دفع آمونیاک دخیل است. عدم تنظیم و تغییرات pH باعث کاهش نرخ رشد، اختلال در تولیدمثل و تلفات می‌شود. یکی از آسیب‌های جدی طی اسیدی شدن آب، کاهش pH خون و در پی آن کاهش قابلیت حمل اکسیژن می‌باشد (Westfall, 1945). همچنین قلیایی شدن آب سبب افزایش pH خون ماهی که باعث اختلال در واکنش‌های آنزیمی غشا سلول‌های پوششی و افزایش غلظت آمونیاک غیر یونیزه در محیط داخلی بدن می‌شود و به دلیل حساسیت مغز به این تغییرات می‌تواند عامل ایجاد علائم عصبی شود (Jeney et al., 1992). طبق نتایج به‌دست‌آمده، محدوده pH قابل تحمل برای ماهی گورخری ۲/۵۹ الی ۱۱/۶۰ است. درحالی‌که این مقدار برای قزل‌آلا رنگین‌کمان ۳/۸ الی ۱۰/۴ و برای قزل‌آلای قهوه‌ای ۳/۳ الی ۱۰/۷ گزارش شده است (Wiebe, 1931; Alabaster and Lloyd, 1980). آستانه تحمل pH قلیایی برای ماهی شش‌آبی (*L. macrochirus*) نیز ۱۰/۵ گزارش شده است (Trama, 1954). معمولاً در شرایط طبیعی و یا استخرهای پرورشی، با افزایش آمونیاک تا حد آسیب‌رسان، pH کمتر از حدی است که

بتواند آسیب جدی به ماهی بزند و معمولاً به حد بحرانی خود نمی‌رسد اما تغییرات pH می‌تواند باعث افزایش استرس و تغییر تعادل اسیدی، عدم توانایی دفع یون بیکربنات یا جذب اکسیژن شود که به نوبه خود برای آبزیان کشنده محسوب می‌شود (Mokhayer, 2010).

به نظر می‌رسد با تغییر pH از محدوده قابل تحمل، خونریزی و آسیب اپیتلیوم آبشش‌ها به سرعت رخ داده و در نهایت منجر به تلفات می‌شود. محدوده قابل تحمل pH برای آبزیان و بخصوص ماهیان به عواملی مانند میزان اکسیژن محلول، درجه حرارت آب، غلظت و نسبت آنیون و کاتیون‌های آب بستگی دارد (Mckee, 1963). بنابراین با تغییر هر یک از این عوامل، محدوده تحمل pH برای یک گونه تغییر خواهد کرد. احتمالاً یکی از دلایل تفاوت در محدوده قابل تحمل pH بین گونه‌های مختلف نیز تا حدودی به همین عوامل برمی‌گردد.

به‌طور کلی، نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر نشان داد که ماهی گورخری در مقایسه با برخی از ماهیان آب شیرین از جمله کپورماهیان و قزل‌آلا حساسیت بیشتری نسبت به افزایش ترکیبات آمونیاکی در آب دارد. بنابراین توجه بیشتر به کنترل آمونیاک در محیط‌های پرورشی و مخازن نگهداری این ماهی پیشنهاد می‌گردد. علاوه بر این مشخص گردید که تحمل این گونه نسبت به نوسانات pH به مراتب بیشتر از سایر گونه‌های کپور ماهیان است. اگرچه همان‌طور که پیش از این مطرح شد، تأثیر عوامل مورد آزمایش در این تحقیق تحت تأثیر سایر پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب قرار دارد.

## منابع

- Alabaster, J.S., Lloyd, R. 1980. Water quality criteria for freshwater fish. European Inland Fisheries Advisory Commission Report (FAO). Buttersworth, London-Boston. 297 p.
- Bader, J.A., Grizzle, J.M. 1992. Effects of ammonia on growth and survival of recently hatched channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*. 4(1):17-23.
- Banihashemi, A., Khara, H., Pazhand, H., Rahanandeh, M. 1392. Histopathological effects of ammonia in gills, liver and kidney fingerlings Persian sturgeon. *Comparative of Pathobiology*. 10(3): 983-992. (in Persian)
- Benli, A.C.K., Köksal, G. 2005. The acute toxicity of ammonia on tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae and fingerlings. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 29(2): 339-344.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S. 2012. Pond aquaculture water quality management. Springer-Verlag New York. 700 p.
- Colt, J., Tchobanoglous, G. 1979. chronic exposure of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to ammonia: effect of growth and survival. *Aquaculture*. 15: 353-372.
- Gomułka, P., Żarski, D., Kucharczyk, D., Kupren, K., Krejszeff, S., Targońska, K. 2011. Acute ammonia toxicity during early ontogeny of chub, *Leuciscus cephalus* (Cyprinidae). *Aquatic Living Resources*. 24(2): 211-217.
- Handy, R.D., Poxton, M.G. 1993. Nitrogen pollution in mariculture: toxicity and excretion of nitrogenous compounds by marine fish. *Fish Biology and Fisheries*. 3(3): 205-241.
- Jeney, Z.S., Nemcsok, J., Jeney, G., Olah, J. 1992. Effect of ammonia on adrenalin and noradrenalin in levels in different organs. *Aquaculture*. 10(4): 139-148.
- Keturah, A., Stephen, M. 1990. Effects of Cold Temperature on Toxicity of Ammonia to Bluegill and Fathead Minnows. Center for Aquatic Ecology. Contract Report. 68-01-5832.
- Maria, M., Stanislaus, S., Mathieu, W., Patrick, S. 2014. Ammonia tolerance of *Litopenaeus vannamei* larvae. *Aquaculture Research*. 45: 470-475.
- McKee, J.E., Wolf, H.W. 1963. Water quality criteria (second edition). State Water Quality Control Board, Sacramento. CA. Pub. No. 3-A.
- Mokhayer, B. 2010. Diseases of Cultured Fishes. University of Tehran. 638 p. (In Persian).
- Naji, T., Khara, H., Rostami, M., Nasiri, A. 2009. Effect of ammonia toxicity on common carp liver. *Environmental Science and Technology*. 11(1): 132-148. (in Persian)
- Riehl, R., Baensch, A. 1991. *Aquarien Atlas*. Band. 1. Melle: Mergus, Verlag für Natur-und Heimtierkunde, Germany. 992 p.
- Robins, C.R., Bailey, R.M., Bond, C.E., Brooker, J.R., Lachner, E.A., Lea, R.N., Scott, W.B. 1991. World fishes important to North Americans. Exclusive of species from the continental waters of the United States and Canada American Fisheries Society. 243 p.
- Rodrigues, R.V., Schwarz, M.H., Delbos, B.C. 2007. Acute toxicity and sublethal effects of ammonia and nitrite for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*. 271(1): 553-557.
- Ruffier, P.J., Boyle, W.C., Kleinschmidt, J.K. 1981. Short-term acute bioassays to evaluate ammonia toxicity and effluent standards. *Journal of Water Pollution Control Federation*. 53(3): 367-377.

- Smart, G.R. 1981. Aspects of water quality producing stress in intensive fish culture. In: Pickering, A.D. (Ed), Stress and fish, Academic press, London. pp. 276-293.
- Soderberg, R.W. 1985. Histopathology of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, exposed to diurnally fluctuating un-ionized ammonia levels in static-water ponds. Journal of Fish Diseases. 8(1): 57-64.
- Spence, R., Gerlach, G., Lawrence, C., Smith, C. 2008. The behavior and ecology of the Zebrafish, *Danio rerio*. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society. 83(1): 13-34.
- Thurston, R.V., Russo, R.C. 1983. Acute toxicity of ammonia to rainbow trout. Transactions of the American Fisheries Society. 112(5): 696-704.
- Trama, F.B. 1954. The PH Tolerance of the Common Bluegill (*Lepomis Macrochirus* Rafinesque). Academy of Natural Sciences. 13 p.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1976. Quality criteria for water. Office of Water Planning and Standards. Washington, D.C. EPA-440/9-76-023.
- USEPA. Quality criteria for water .1986. Office of Water Regulations and Standards. Washington, D.C. EPA/440/5-86-001.
- Wang, Y., Walsh, P.J. 2000. High ammonia tolerance in fishes of the family Batrachoididae (Toadfish and Midshipmen). Aquatic Toxicology. 50(3): 205-219.
- Westfall, B.A. 1945. Coagulation anoxia in fishes. Ecology. 26: 283-287.
- Wiebe, A.H. 1931. Note on the exposure of several species of pond fishes to sudden changes in pH. Transactions of the American Microscopical Society. 50: 380-383.
- Wicks, B.J., Randall, D.J. 2002. The effect of sub-lethal ammonia exposure on fed and unfed rainbow trout: the role of glutamine in regulation of ammonia. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 132: 275-285.