

بررسی اثر سمیت آمونیاک بر بافت کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

طاهره ناجی^۱ (عهده دار مکاتبات)

tnaji2002@yahoo.com

حسین خارا^۲

مینا رستمی^۳

الناز نصیری پرمان^۴

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۲/۱۴

تاریخ پذیرش: ۸۶/۴/۷

آمونیاک ماده ای سمی و خطرناک برای ماهی است که در آب به دو شکل یونیزه (NH_4^+) که غیر سمی و شکل مولکولی (NH_3) که برای ماهی سمی است، وجود دارد.

در این پژوهش اثر سمیت حاد آمونیاک بر گونه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. ماهیان مورد استفاده در این آزمایش ماهیان انگشت قد ۱۰ تا ۲۰ گرمی بودند که ابتدا میزان LC_{50} آمونیاک در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به دست آمد که به ترتیب ۲۳/۴، ۲۰/۵، ۱۴/۱۶، ۲۵/۲۵ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل که معادل ۰/۹۹، ۱/۴۵، ۱/۸۵، ۲/۲۰ میلی گرم در لیتر آمونیاک مولکولی (NH_3) می باشد، محاسبه گردید. (میانگین نوبت اول و دوم)

سپس بافت کبد ماهی کپور معمولی در مجاورت با غلظت های مختلف آمونیاک که به ترتیب ۱۴، ۲۰، ۲۵ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل که معادل ۰/۳۱، ۰/۸۸، ۱/۷۳، ۲/۵۱ میلی گرم در لیتر آمونیاک مولکولی (NH_3) بودند قرار داده شد و از نظر ضایعات میکروسکوپی و هیستوپاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که در کبد پس از قرار گیری در مجاورت با آمونیاک پدیده هایی نظیر ادم داخل سلولی هیپاتوسیت ها و نکروز هیپاتوسیت ها و در غلظت های بالاتر پرخونی، نکروز کانونی مزمن، نکروز بافتی، نفوذ

۱- استادیار، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۲- استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی

۳- استادیار، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

۴- دانشجو، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی

سلول های آماسی، آنمی، ترومبوز عروق و حضور ملانین و صفرا تا حد نسبتاً زیاد در غلظت های بسیار بالاتر حضور ملانین و صفرا در حد بسیار زیاد به همراه خونریزی مشاهده شد.

واژه های کلیدی: ماهی کپور معمولی، آمونیاک، آسیب شناسی بافتی کبد، LC₅₀

مقدمه

آلاینده های آب وجود نیتريت، نیترات و آمونیاک دلالت بر وجود آلاینده های شیمیایی معدنی در داخل منابع آبی دارد. مواد نیتروژن دار به طرق مختلف نظیر تماس منابع آب با فاضلاب و یا تخلیه آب های شستشوی زمین های کشاورزی در رودخانه و از همه مهم تر اکسیداسیون مواد آلی نیتروژن دار نظیر پروتئین ها که به کمک باکترهای خاص انجام می پذیرد، تولید می شود. افزایش آمونیاک آب یکی از مشکلات عمده در آب زری پروری است. این افزایش خصوصاً در سیستم های تکثیر ماهی و میگو، سیستم های فوق متراکم پرورش ماهی یا گردش مجدد آب، آکواریوم ها و در هنگام انتقال ماهی همواره مطرح بوده است (۱).

معمولاً آمونیاک حاصل پس از مدتی به نیتريت اکسیده می شود و نیتريت حاصل نیز به نیترات تبدیل می شود. وجود آمونیاک در درجه اول و نیتريت در درجه دوم نشان دهنده آلودگی جدید آب است، در حالی که وجود نیترات نشانه آلودگی کهنه آب است.

آمونیاک در آب به دو شکل موجود است، شکل یونی که NH_4^+ است، به شکل یون بوده و برای ماهی خطرناک نمی باشد و شکل مولکولی که NH_3 بوده و به راحتی از طریق پدیده انتشار از آبشش ماهی جذب شده و از طریق خون خود را به کلیه اندام ها می رساند و بسیار کشنده است.

بین یون آمونیوم و آمونیاک معادله ای برقرار است به طوری که درجه حرارت و pH نقش اصلی را در معادله ایفا می کنند. در pH بیش از ۷ تعادل به سمت افزایش آمونیاک مولکولی پیش می رود و در pH کمتر از ۷ یون آمونیوم غالب می شود (۲).

در این پژوهش با توجه به این که ماهیان کپور معمولی اغلب در هنگام نقل و انتقال از جایی به جای دیگر

امروزه یکی از مهم ترین نگرانی های بشر مسئله افزایش مواد آلاینده در محیط زیست به خصوص آب ها می باشد که به صورت فاضلاب، نشت نفت، پساب های مواد آلی و معدنی کارخانجات، مواد شیمیایی گوناگون اعم از فلزات و شبه فلزات بوده و می باشد که موجب آلودگی آب های جهان به اشکال مختلف می شوند. این مواد سمی به طرق مختلف وارد آب شده و آن را آلوده می کنند، این در حالی است که منابع آب محدود ولی رشد جمعیت به طور تصاعدی در حال افزایش است و همین منابع محدود به وسیله آلوده کننده های مختلف فیزیکی شیمیایی و بیولوژیک آلوده می گردد.

گرچه عوامل آلوده کننده فیزیکی و میکروبی را می توان با صرف هزینه و بکار گرفتن تکنیک های ساده از میان برداشت ولی برطرف ساختن آلودگی های شیمیایی در غالب موارد وقت گیر مشکل پرهزینه و گاه غیرممکن است. یک آلوده کننده به عنوان عاملی تعریف می شود که تغییرات غیر قابل قبول و پیش بینی نشده ای را در محیط اطراف ایجاد نموده و باعث اختلال در روند عادی گردد.

احتمالاً اثرات ایجاد شده اثری مستقیم یا غیر مستقیم بر حیات انسان، موجودات زنده، اجتماعات حیوانی و این گونه موارد دارد. اثرات آلودگی بر محیطی که انسان زندگی می کند دامنه تخریب بسیار محسوس و چشمگیری دارد و می تواند از نابود شدن خطوط ساحلی که تفریحگاه انسان به شمار می رود تا غیر قابل شرب شدن آب و خطرات بدنی بسیار شدید ادامه یابد.

یکی از مهم ترین آلاینده های محیط زیست ترکیبات نیتروژنی می باشد که از جمله مهم ترین و خطرناک ترین آن ها آمونیاک است. به طور کلی در تقسیم بندی

غلظت ۷۰ درصد کاملاً شسته شدند تا محیط عاری از هر گونه آلودگی و بیماری و برای ماهیان مناسب باشد. سپس آکواریوم ها با آبی که میزان سختی آن ۱۲۰ میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم بود پر شدند. میزان سختی آب آکواریوم ها با روش تیتراسیون EDTA^۱ محاسبه گردید که معادل همان سختی آب شهر تهران بود. همچنین میزان اکسیژن آکواریوم ها از طریق پمپ های هواده کاملاً کنترل می گردید. ماهی های صید شده به گروه های ۹ تایی تقسیم گردیده، آکواریوم شماره یک به عنوان شاهد در نظر گرفته شد (غلظت آمونیاک برابر صفر) و بقیه آکواریوم هادر معرض دوز های مختلف آمونیاک به ترتیب غلظت های ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۳، ۲۵، ۳۰ میلی گرم آمونیاک به ازای هر لیتر آب قرار گرفتند. مقدار غلظتی که ماهیان در تماس با آن قرار گرفتند به عنوان نمونه پس از چند سری آزمایش به دست آمد. به نحوی که ابتدا ماهیان تحت تاثیر غلظت کم آمونیاک (۸) تا زیاد (۳۰) قرار گرفتند و سپس با توجه به تلفات صد درصد ماهیان در ۳۰ میلی گرم در لیتر آمونیاک و ۸ میلی گرم در لیتر به عنوان غلظتی که هیچ تلفاتی در این غلظت مشاهده نشد انتخاب گردید. در هر ۲۴ ساعت، آکواریوم ها مورد بررسی قرار گرفته و میزان مرگ و میر ثبت می گردید. این کار به مدت ۹۶ ساعت (۴ روز) و هر روز راس ساعت ۹ صبح انجام گرفت. در تمام مدت آزمایش درجه حرارت pH و میزان اکسیژن بررسی شده و در صورت تغییر، آزمایش مجدداً تکرار می گردید. در طی مدت آزمایش هیچ گونه تغذیه ای در مورد آکواریوم ها انجام نمی شد و ماهیان مرده در طول این بررسی بلافاصله از آب خارج و وزن و طول آن ها اندازه گیری می شد. لازم به ذکر است که آمونیاک مورد استفاده در طی این تحقیق به صورت محلول بوده است و حتماً باید برای رسیدن به غلظت های مورد نیاز با دقت کامل میزان حجم محلولی که باید به هر آکواریوم اضافه کنیم را به دست می آوریم تا به غلظت های دلخواه برسیم.

پس از ۴ روز آب آکواریوم ها تخلیه شده، و پس از شستن کامل آن ها خشک کردن و آبگیری، مجدداً و با ترتیب گفته شده برای تکرار آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. پس از

می توانند در معرض مسمومیت با آمونیاک قرار گیرند و یا کوددهی بیش از حد در استخرهای مزارع و یا وارد شدن فاضلاب های شهری و صنعتی در آب ها می تواند باعث افزایش آمونیاک آب شود، لذا با توجه به اهمیت نقش آمونیاک در آلودگی آب به اشکال مختلف و امکان ورود این ماده به منابع آبی به طرق مختلف، تحقیق حاضر در زمینه تعیین شدت کشنده بودن آمونیاک و تاثیرات حاد آن بر روی ماهیان کپور معمولی و همچنین تاثیر این ماده سمی بر روی بافت کبد ماهی کپور معمولی صورت گرفت که علت انتخاب این بافت بر این مبنای بود که کبد در متابولیسم و دفع آمونیاک نقش اصلی را ایفا می کند.

هدف از این تحقیق، مشخص نمودن حداکثر غلظت مجاز آمونیاک است که به طرق مختلف وارد استخرها می شود تا جایی که اعداد به دست آمده در این تحقیق قابل به کارگیری در مزارع پرورش ماهی باشد

روش بررسی

این بررسی در تابستان ۱۳۸۵ در منطقه تمیسیان در جنوب دماوند صورت گرفت. برای انجام کار از ۹ آکواریوم که هر کدام به گنجایش ۴۰ لیتر بودند در هر کدام ۱۰ عدد ماهی کپور معمولی ریخته شد، استفاده گردید. در طول مدت آزمایش دمای آب آکواریوم ها در حد مناسبی یعنی ۲۰ درجه سانتی گراد ثابت نگه داشته شد.

پس از نصب و راه اندازی آکواریوم ها ماهیان کپور معمولی با وزن $3/32 \pm 15$ گرم و سن ۲ ماه از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی کپور معمولی واقع در آمل به کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان آکواریومی واقع در تمیسیان دماوند انتقال پیدا کردند. پس از انتقال به مدت ۱۲ روز در آب سالم نگه داری شدند تا با شرایط جدید سازگار شوند. در این مدت ماهیان با غذای دستی تغذیه شدند و آب آکواریوم ها تعویض می شد. ۲ روز قبل از شروع آزمایش غذا دهی قطع گردید. در طول زمان سازگاری مرگ و میری مشاهده نشد. قبل از راه اندازی، آکواریوم ها به وسیله پرمنگنات پتاسیم و آب نمک

(نمودارهای ۱، ۲، ۳، ۴) برای هر دوره زمانی به دست آمد (جدول ۳). نتایج کار بافت شناسی کبد به شرح زیر می باشد:

نتایج بافت شناسی کبد ماهیان شاهد (شکل ۱) و مقایسه آن با بافت کبد ماهیانی که تحت تاثیر غلظت های ۱۴۴، ۲۰۰، ۲۵۰ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل قرار داشتند (شکل های ۲، ۳، ۴، ۵، ۶) نشان دهنده ضایعات هیستوپاتولوژیک در کبد بود به طوری که در غلظت ۰/۳۱ میلی گرم در لیتر آمونیاک مولکولی پدیده های ادم داخل سلولی هیپاتوسیت ها و نکروز در آن ها مشاهده شدو در غلظت ۰/۸۸ میلی گرم در لیتر آمونیاک مولکولی علاوه بر دو مورد ذکر شده در غلظت ۰/۳۱ میلی گرم در لیتر، پرخونی، نکروز بافتی، ترومبوز عروق و حضور ملانین و صفرا مشاهده شد.

در غلظت ۱/۷۳ میلی گرم در لیتر آمونیاک مولکولی علاوه بر موارد ذکر شده در غلظت ۰/۸۸ میلی گرم در لیتر، نکروز کانونی مزمن، نفوذ سلول های آماسی و آنمی به دلیل وجود هموسیدرین مشاهده شد. در غلظت ۲/۵۱ میلی گرم در لیتر آمونیاک مولکولی ادم داخل سلولی هیپاتوسیت ها، پرخونی، نکروز هیپاتوسیت ها، نکروز کانونی مزمن، نکروز بافتی (انهدام بافتی)، نفوذ سلول های آماسی، آنمی به دلیل وجود هموسیدرین، ترومبوز عروق، حضور ملانین و صفراو خونریزی مشاهده شد (شکل های ۴، ۵، ۶). همچنین در تصاویر حاصل از کبد ماهیان آلوده سیروز کبدی و ضخیم شدن مجاری صفراوی در هیچکدام از موارد دیده نشد.

از جمله تغییرات رفتاری ماهیان کپور معمولی مسموم شده این بود که سرعت تنفس به تدریج بیشتر شده و حالت غیر منظم پیدا کرده و حالت تشنجی به دنبال داشت. ماهی ها نسبت به تحریکات خارجی به شدت واکنش نشان داده و سعی می کردند از سطح آب بیرون بپرند. انقباضات و اسپاسم های عضلانی اتفاق افتاده و نهایتاً ماهی به پهلو افتاده و دهان و سرپوش های آبششی بدلیل اسپاسم شدید باز می ماندند. معمولاً ماهی ها یک حالت گذرا از بهبودی را دنبال آن نشان می دادند که مدت زیادی به طول نمی انجامید و به دنبال آن

تکرار آزمایش و ثبت نتایج دور دوم و با توجه به غلظت آمونیاک مصرفی و درصد مرگ و میر و یا درصد ماهیان زنده نمودار تعیین LC_{50} رسم گردید، بدین ترتیب که از عدد ۵۰ بر روی محور عمودی خطی به موازات محور افقی رسم گردید تا نمودار را قطع کند، از این نقطه بر محور X ها عمود کرده و غلظت آمونیاکی که باعث مرگ و میر نیمی از جمعیت شده محاسبه گردید که همان LC_{50} است (۳).

این آزمایش ها برای تعیین سمیت حاد سموم بر ماهیان در کوتاه مدت (۴ روز یا ۹۶ ساعت) انجام می گیرد و طبق روش متداول O.E.C.D صورت می پذیرد. در این روش آزمایش ها به صورت استاتیک (ثابت) انجام می شود. بدین معنی که محلول آزمایش در طی آزمایش تغییر نمی کند و کاملاً ثابت است و میزان مرگ و میر ماهی در طی ۴ روز به صورت هر ۲۴ ساعت یک بار (۹۶، ۷۲، ۴۸، ۲۴ ساعت) ثبت و رکورد گیری می گردد.

استفاده از آب قابل شرب کلر زدایی شده، ترجیحاً با سختی بین ۵۰ تا ۲۰۰ میلی گرم در لیتر بر حسب کربنات کلسیم، و نگه داری اکسیژن محلول در سراسر آزمایش حداقل به میزان ۶۰٪ و حداکثر ۸۰٪ اشباعی هوا، نوردهی به مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت، تنظیم درجه حرارت مناسب ماهیان (۲۰ درجه سانتی گراد) و اندازه گیری روزانه pH، از جمله مواردی بود که در طول انجام آزمایش اعمال شد. پس از اضافه نمودن محلول آمونیاک، در زمان های ۲۴، ۷۲ و ۹۶ ساعت بافت کبد ماهیان مورد آزمایش خارج گردید و در ظروف حاوی فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. سپس نمونه های بافتی در آزمایشگاه پس از طی مراحل پاساژ بافت، آماده برش گیری و رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین شد و نهایتاً از لام های تهیه شده توسط میکروسکوپ دوربین دار عکسبرداری گردید.

نتایج

پس از انجام آزمایش تعیین LC_{50} تعداد ماهیان مرده در هر غلظت شمارش و در جدولی ثبت گردید (جدول ۱ و ۲) بر این اساس میزان LC_{50} با استفاده از نمودارهای تعیین LC_{50}

یکسری حرکات تشنجی شدید اتفاق افتاده که نهایتاً منجر به مرگ می گردید. پوست ماهی رنگ پریده بوده و توسط مقادیر زیادی مخاط پوشیده می شد. گاهی خون ریزی های روی پوست مشاهده گردید.

جدول ۱- نتایج مربوط به تعیین LC_{50} نوبت اول

(اعداد درون جدول تعداد ماهیان مرده را نشان می دهد).

۳۰	۲۵	۲۳	۲۰	۱۷	۱۴	۱۱	۸	غلظت آمونیاک کل
								mg/L
								زمان بر حسب ساعت
۱۰	۹	۴	۳	۲	۱	۰	۰	۲۴
-	۱	۴	۲	۲	۱	۰	۰	۴۸
-	-	۲	۲	۲	۲	۱	۰	۷۲
-	-	-	۱	۲	۲	۲	۱	۹۶

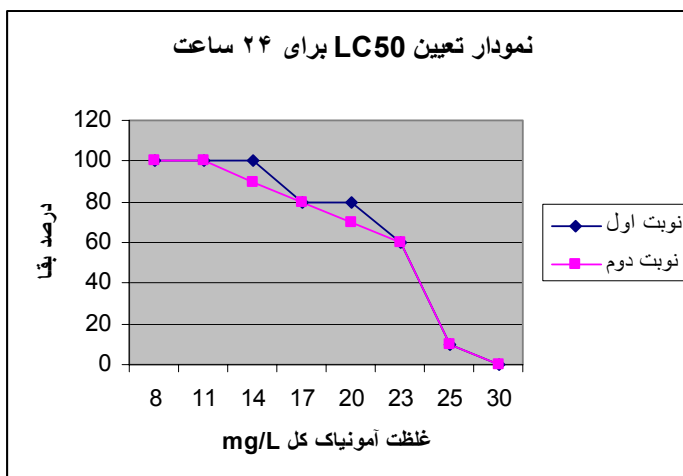
جدول ۲- نتایج مربوط به تعیین LC_{50} نوبت دوم

(اعداد درون جدول تعداد ماهیان مرده را نشان می دهد).

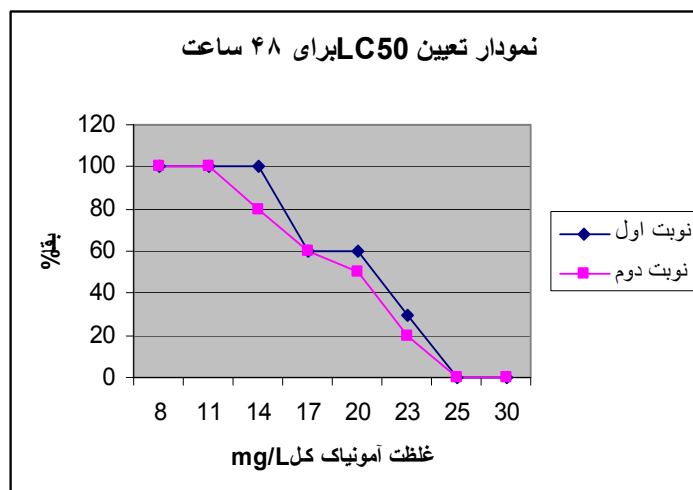
۳۰	۲۵	۲۳	۲۰	۱۷	۱۴	۱۱	۸	غلظت آمونیاک کل
								mg/L
								زمان بر حسب ساعت
۱۰	۹	۴	۳	۲	۱	۰	۰	۲۴
-	۱	۴	۲	۲	۱	۰	۰	۴۸
-	-	۲	۲	۲	۲	۱	۰	۷۲
-	-	-	۱	۲	۲	۲	۱	۹۶

نمودارهای تعیین LC₅₀ در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت طبق روش رسم منحنی های دوز پاسخ:

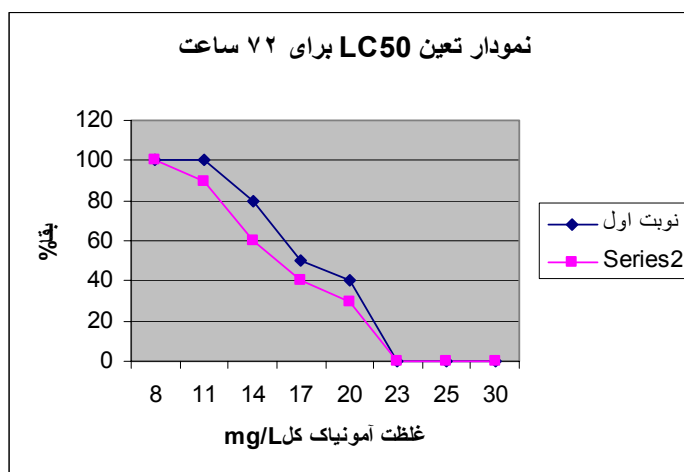
نمودارهای تعیین LC₅₀ در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶



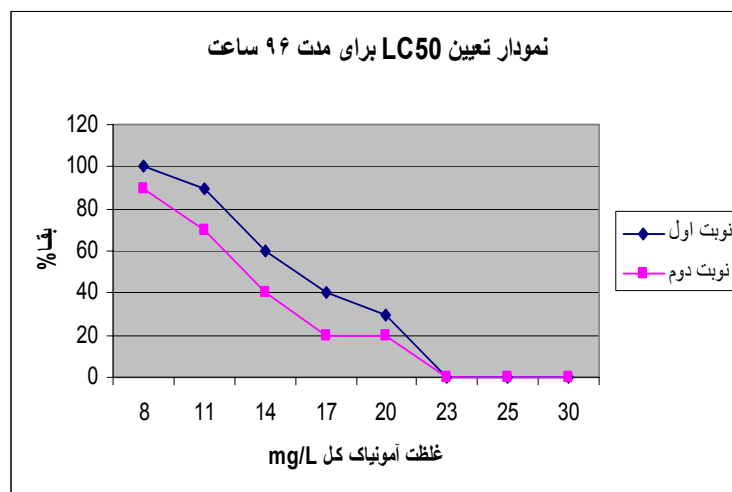
نمودار ۱ - میزان LC₅₀ در غلظت های مختلف آمونیاک در مدت ۲۴ ساعت



نمودار ۲ - میزان LC₅₀ در غلظت های مختلف آمونیاک در مدت زمان ۴۸ ساعت



نمودار ۳ - میزان LC₅₀ در غلظت های مختلف آمونیاک در مدت زمان ۷۲ ساعت



نمودار ۴ - میزان LC₅₀ در غلظت های مختلف آمونیاک در مدت زمان ۹۶ ساعت

لازم به ذکر است که با توجه به آزمایش ها انجام

شده، نمودار های تعیین LC₅₀ با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS و روش تحلیل آماری Probit Analysis رسم گردید و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

همچنین حداکثر غلظت مجاز (MATC)^۱ با توجه به مقدار LC₅₀ ۸، میلی گرم در لیتر تعیین شد. حداکثر غلظت مجاز سم غلظتی است که در طول مدت آزمایش هیچ اثر سوئی بر ماهی مورد آزمایش نگذارد و سلامتی ماهیان را به خطر نیندازد. مقدار (NOEC)^۲ و (LOEC)^۳ در این تحقیق با توجه به مقدار LC₅₀ به دست آمده به ترتیب ۵ و ۱۱ میلی گرم در لیتر است.

جدول ۳ - میزان LC₅₀

زمان ساعت	مقدار LC ₅₀ (ppm) آمونیاک مولکولی
۲۴	۲۳/۴۰
۴۸	۲۰/۵۰
۷۲	۱۶/۲۵
۹۶	۱۴/۲۴

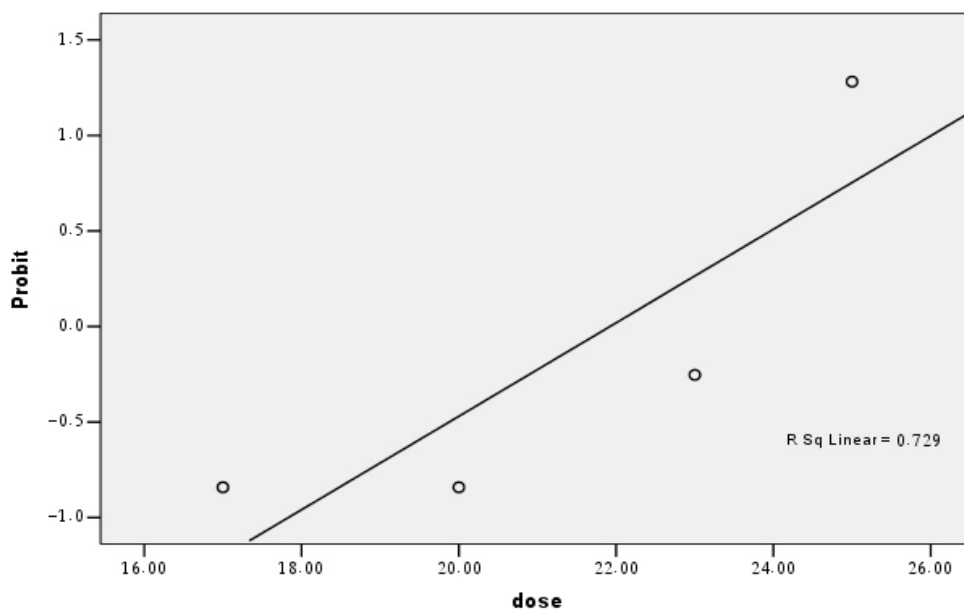
زمان ساعت	مقدار LC ₅₀ (ppm) آمونیاک مولکولی
۲۴	۲/۲۰
۴۸	۱/۸۵
۷۲	۱/۴۵
۹۶	۰/۹۹

1-Maximum Allowable Toxicant Concentration

2- No Observed Effect Concentration

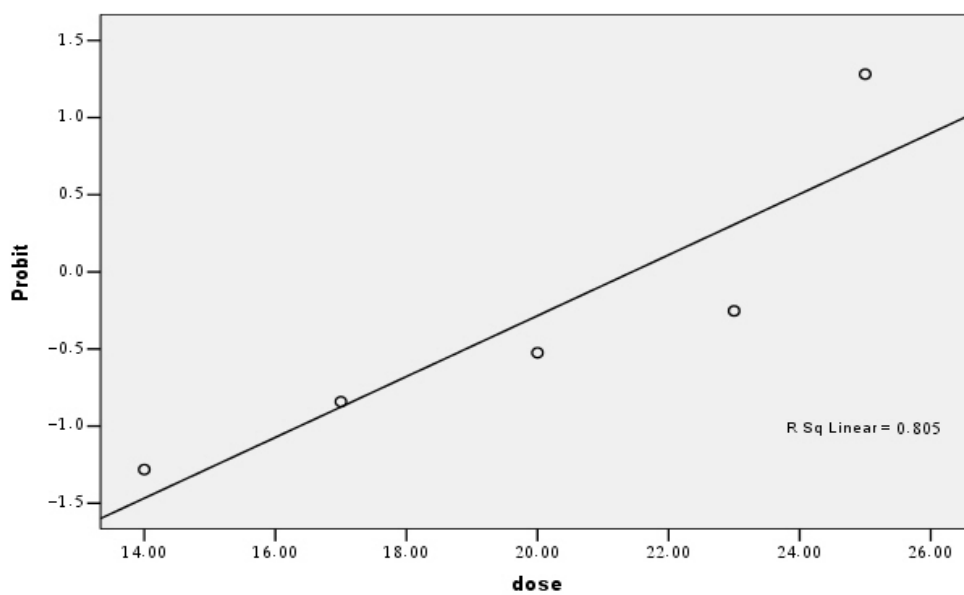
3- Lowest Observed Effect Concentration

Probit Transformed Responses



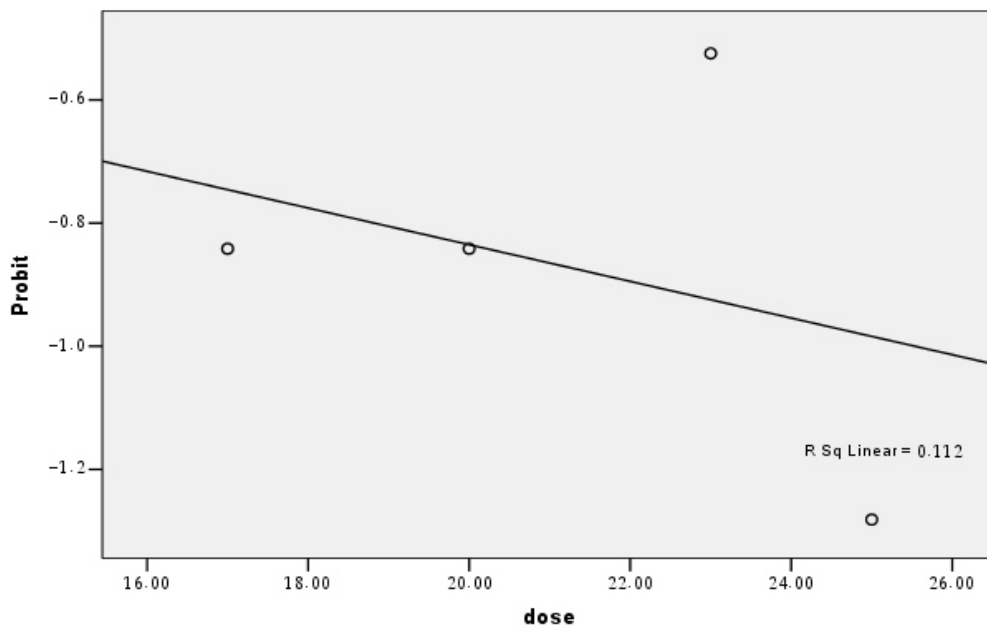
نمودار پرو بیت ۲۴ ساعت (نوبت اول)

Probit Transformed Responses



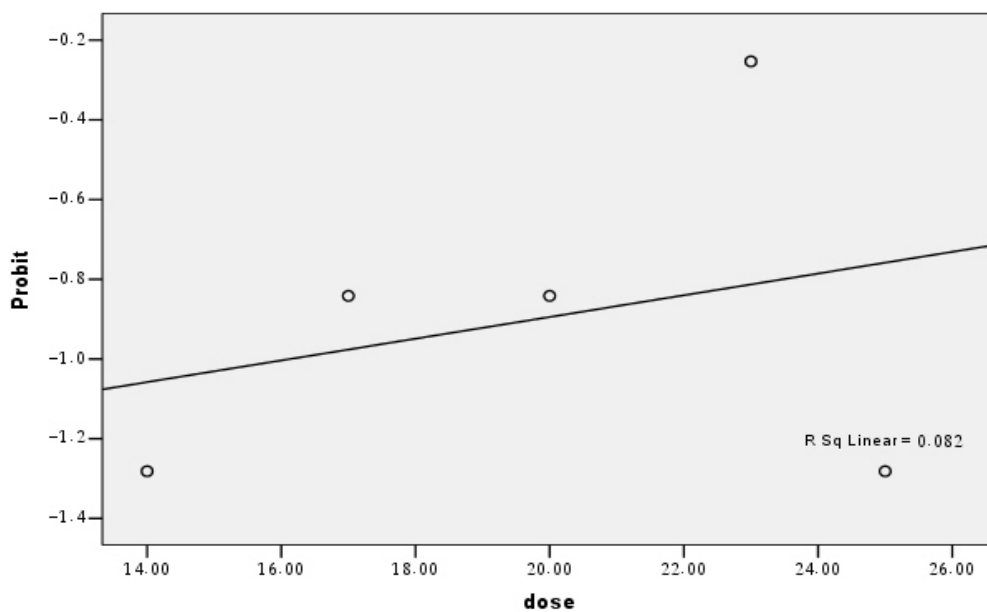
نمودار پرو بیت ۲۴ ساعت (نوبت دوم)

Probit Transformed Responses



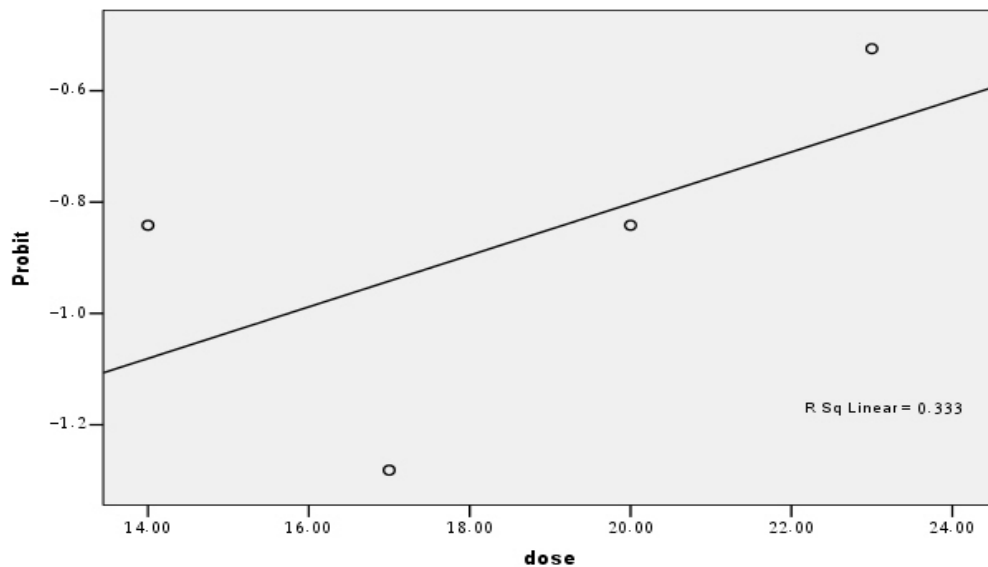
نمودار پرو بیت ۴۸ ساعت (نوبت اول)

Probit Transformed Responses



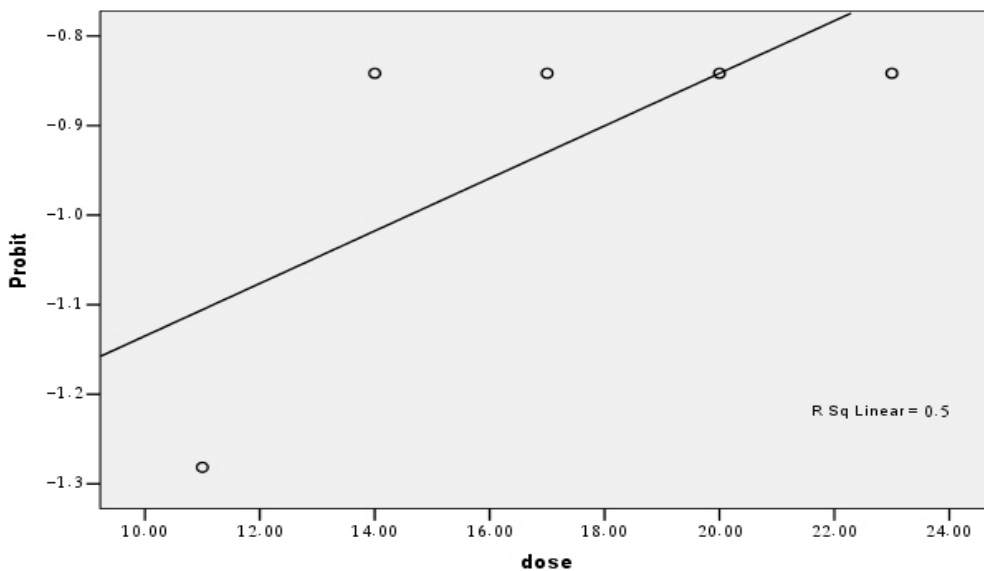
نمودار پرو بیت ۴۸ ساعت (نوبت دوم)

Probit Transformed Responses



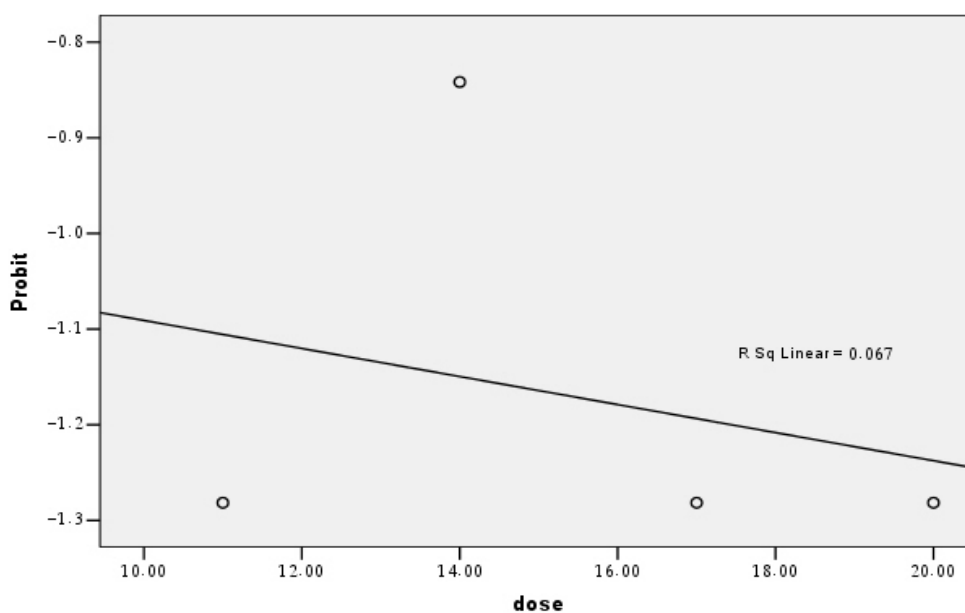
نمودار پرو بیت ۷۲ ساعت (نوبت اول)

Probit Transformed Responses



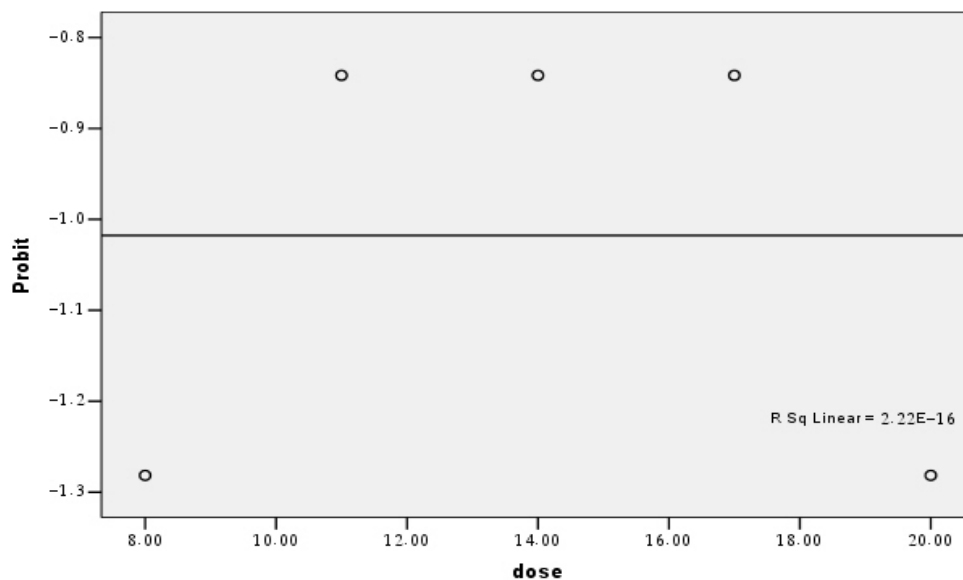
نمودار پرو بیت ۷۲ ساعت (نوبت دوم)

Probit Transformed Responses

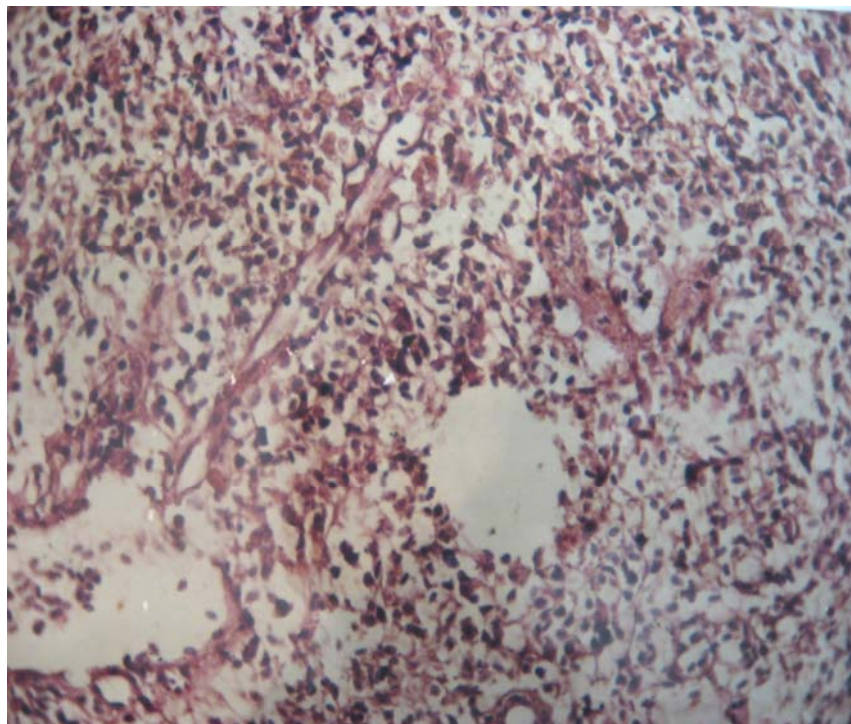


نمودار پرو بیت ۹۶ ساعت (نوبت اول)

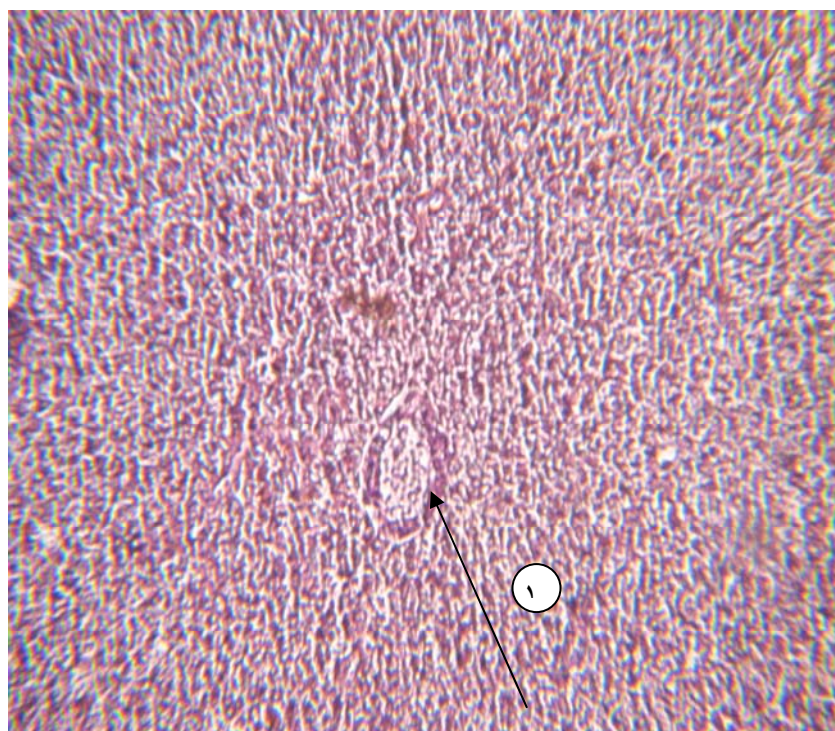
Probit Transformed Responses



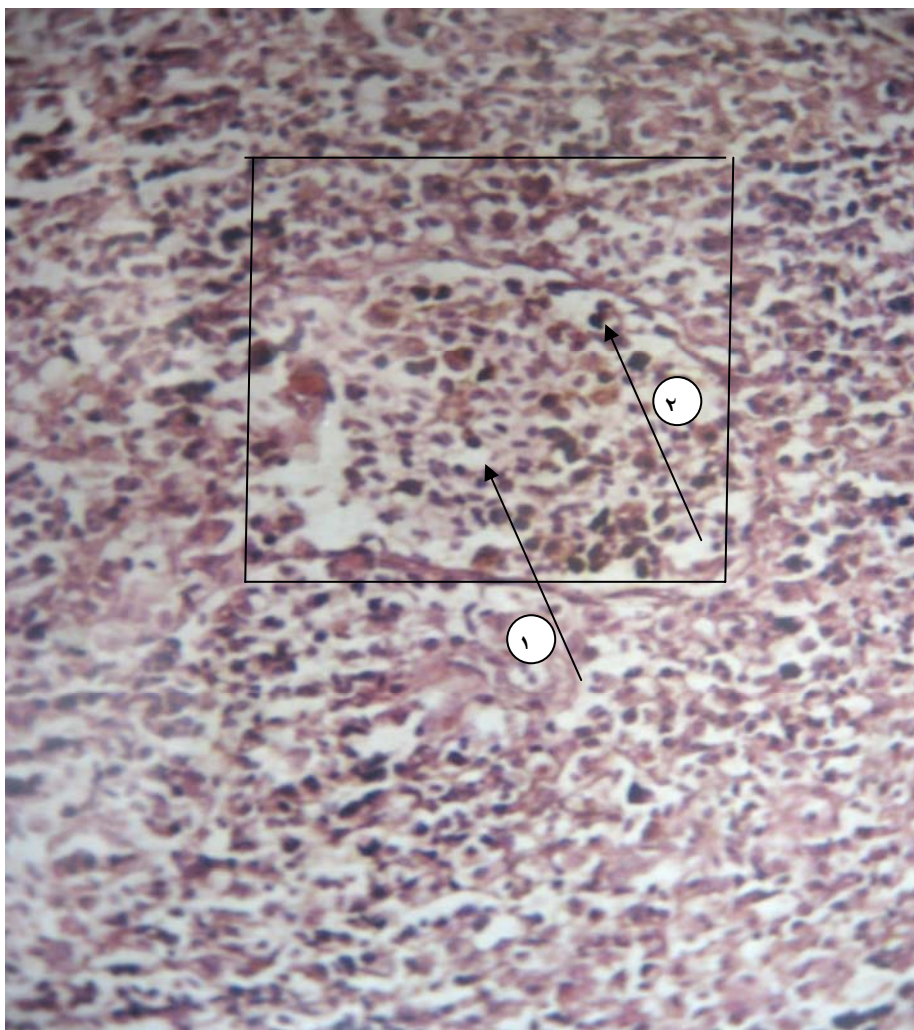
نمودار پرو بیت ۹۶ ساعت (نوبت دوم)



شکل ۱- بافت کبد در ماهیان کپور معمولی گروه شاهد (هماتوکسیلین، انوزین بزرگنمایی $\times 10$)



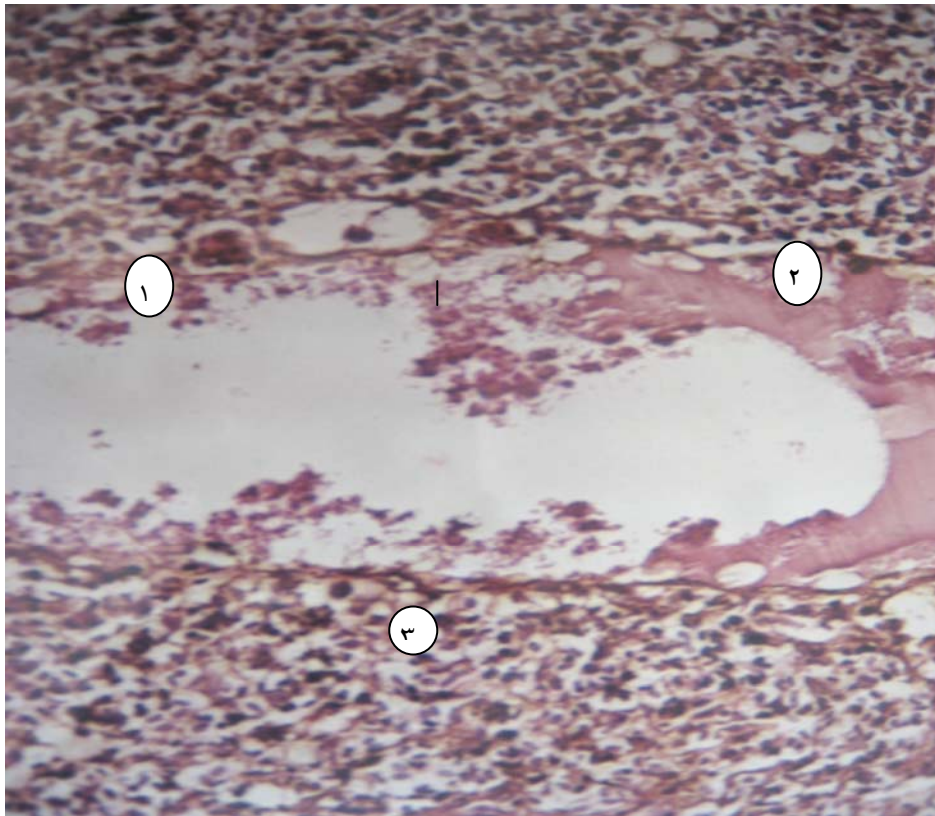
شکل ۲- بافت کبد در ماهیان کپور مورد آزمایش باغلظت ۸ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل (هماتوکسیلین-انوزین بزرگنمایی $\times 25$)



شکل ۳- بافت کبد در ماهیان کپورمورد آزمایش با غلظت ۱۴ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل
(هماتوکسیلین، ائوزین بزرگنمایی ۴۰×)

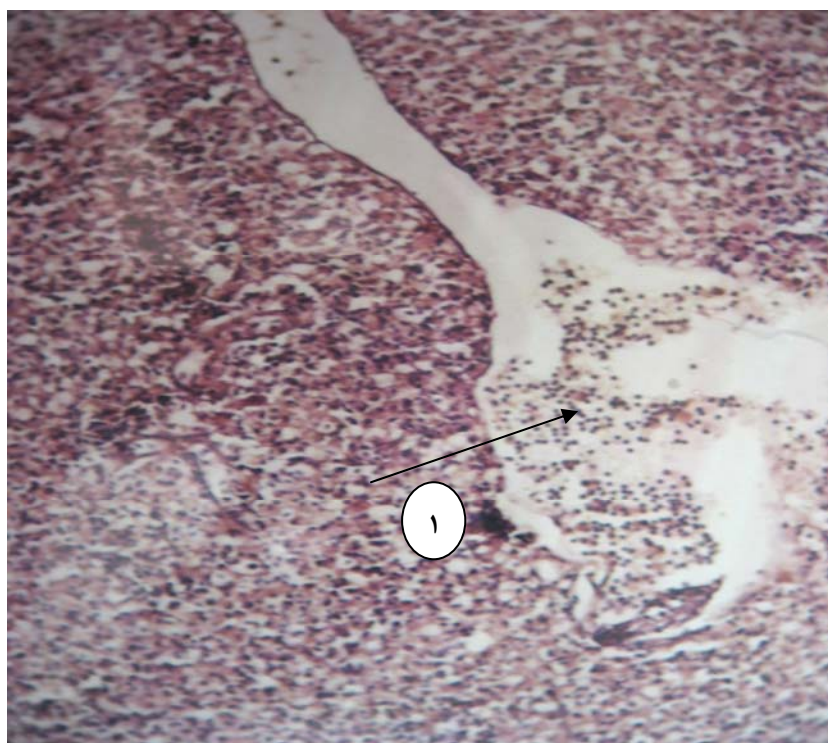
۱- ورید مرکزی (پرخونی و خونریزی شدید در داخل ورید مرکزی)

۲- حضور ملانین و صفرا در داخل ورید مرکزی



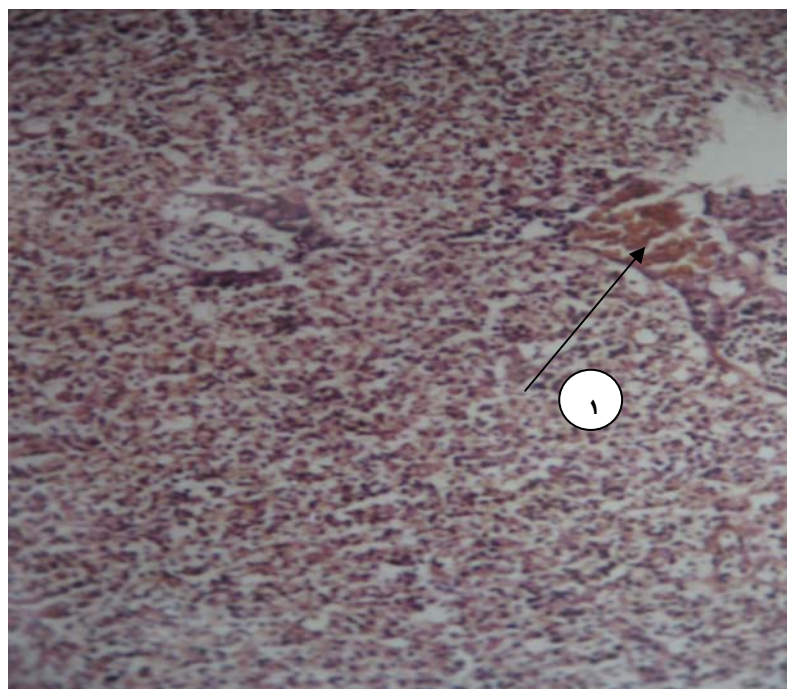
شکل ۴- بافت کبد در ماهیان کپور مورد آزمایش با غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل (هماتوکسیلین، ائوزین بزرگنمایی ۴۰×)

- ۱- سلول های کاریولیز شده
- ۲- سلول های پیکنوزه شده
- ۳- ملانوماکروفاژ



شکل ۵- بافت کبد در ماهیان کپور مورد آزمایش با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل (هماتوکسیلین-ئوزین ۴۰×)

۱- پرخونی و خون ریزی



شکل ۶- بافت کبد در ماهیان کپور مورد آزمایش با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل (هماتوکسیلین-ئوزین بزرگنمایی ۲۵×)

۱- رسوب هموسیدرین

تفسیر نتایج

یکی از مشکلات بنیادی، به دست آوردن غلظتی از آمونیاک است که برای آب زی خطرناک و زیانبار نباشد و همچنین ایجاد محیطی است که با وجود این سم در آب کمترین آسیب را به ماهیان وارد کند. تحقیقاتی که تا این زمان صورت گرفته غالباً به مطالعات در مورد تاثیر آمونیاک در مرگ و میر و تشدید خطر ابتلای ماهی به بیماری‌های باکتریایی در اثر حضور آمونیاک سمی در آب مربوط می‌شود و تنها موارد اندکی پژوهش راجع به تغییرات بافتی در حضور آمونیاک انجام شده است. ماهیان جوان حساسیت بالاتری نسبت به آمونیاک دارند، به همین دلیل در این تحقیق از ماهیان انگشت قد استفاده گردید.

در این پژوهش میزان LC_{50} برای مدت زمان ۲۴ ساعت ۲۳/۴ میلی گرم در لیتر که معادل ۲/۲۰ میلی گرم در لیتر آمونیاک مولکولی می‌باشد محاسبه گردید و در زمان‌های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب ۲۰/۵، ۱۶/۲۵ و ۱۴/۲۵ میلی گرم در لیتر آمونیاک کل که معادل ۱/۸۵، ۱/۴۵ و ۰/۹۹ میلی گرم در لیتر آمونیاک مولکولی می‌باشد به دست آمد. در صورتی که در تحقیقی که در زمینه تعیین میزان LC_{50} در ۹۶ ساعت به دست آمد میزان آمونیاک مولکولی ۰/۹۳ میلی گرم در لیتر محاسبه شد (۵).

در این پژوهش میزان LC_{50} ماهیان انگشت قد در دمای ثابت و در pH های مختلف اندازه گیری شد و حاصل نتایج بیانگر آن بود که میزان حساسیت ماهیان کپور معمولی انگشت قد نسبت به آمونیاک مولکولی با افزایش pH کاهش یافت. بدین معنی که با افزایش pH علی‌رغم این که میزان آمونیاک مولکولی در آب بیشتر می‌شود اما میزان مقاومت ماهیان نسبت به این سم افزایش می‌یابد (۵).

بافت کبد برای بررسی پاتولوژی بسیار مناسب است زیرا ضایعات پاتولوژیک ناشی از مسمومیت با آمونیاک در ماهی‌های مختلف غالباً مختص به این بافت بوده است. (کبدر و متابولیس و دفع آمونیاک نقش اصلی را ایفا می‌کند).

همچنین در تحقیقی که با قرار دادن ماهی کپور معمولی در معرض میزان ۱/۷۸ میلی گرم آمونیاک مولکولی انجام گرفت، کاهش شدید گلبول‌های سفید خون، کاهش معنی دار لنفوسیت‌ها و اتوزینوفیلی خفیف مشاهده گردید (۵).

در بررسی تجربی بیماری کلومناریس (Columnaris) دیده شده است که با افزایش آمونیاک آب تلفات نیز بیشتر می‌شود. یعنی وجود آمونیاک می‌تواند بیماری کلومناریس را تشدید کند. این حالت ممکن است به دلیل کاهش ایمنی ماهی و ضایعات آبششی ناشی از مسمومیت با آمونیاک باشد (۶).

همچنین در تحقیقی با قرار دادن ماهی کپور معمولی در معرض غلظت‌های کشنده آمونیاک تغییرات آنزیم‌های کبدی مورد بررسی قرار گرفت و افزایش معنی‌داری در آنزیم‌های AST و ALT مشاهده شد (۶).

از جمله تغییرات بیوشیمیایی ایجاد شده در ماهیان افزایش pH خون ماهی بود که باعث اختلال در واکنش‌های آنزیمی غشا سلول‌های پوششی می‌شود که به دلیل حساسیت مغز به این تغییرات می‌تواند عامل ایجاد علائم عصبی باشد. همچنین آمونیاک باعث ایجاد استرس در ماهی می‌شود که سبب افزایش آدرنالین، نور آدرنالین و کورتیکواستروئیدها می‌شود. به همین دلیل افزایش آمونیاک می‌تواند باعث کاهش ایمنی، کاهش تولید اینترفرون و کاهش تمایل ماهی به غذا شود که خود عاملی برای مستعد شدن ماهی به بیماری‌های مختلف است (۶).

تماس مزمن ماهی به آمونیاک، در بافت پوششی آبشش‌ها از دید سلولی صورت می‌گیرد. در آبشش‌های ماهیانی که در معرض ۲۰۰ میکروگرم در لیتر آمونیاک مولکولی قرار گرفته بودند تغییرات دژنراتیو در آبشش‌ها دیده شده است (۷).

در مسمومیت مزمن با آمونیاک (مقدار پایین‌تر از حد کشنده) معمولاً میزان رشد و درصد بقای ماهیان کاهش می‌یابد و ماهی‌ها نسبت به عوامل عفونی حساس‌تر می‌شوند. این حالات معمولاً با ضایعات آبششی، کبدی و کلیوی همراه است (۷).

کلیوی نیز به دلیل ضایعات گلومرول ها و لوله های کلیوی می باشد.

- ۲- کاهش قابلیت حمل اکسیژن توسط خون
 - ۳- کاهش ورود اکسیژن به بدن ماهی در اثر آسیب های آبششی
 - ۴- اختلال در متابولیسم سلول های مغزی (اختلالات عصبی)
- این آسیب ها در اثر اختلال در خواص الکتروشیمیایی غشا سلول های عصبی و تاثیر آمونیاک بر نروترنسیمیترها و فعالیت های بیوشیمیایی مغز است (۱۰)
- با توجه به این که آمونیاک در کبد ماهی تبدیل به اوره می شود، افزایش اوره خون در مسمومیت با آمونیاک قابل پیش بینی است (۱۰).

توانایی ماهی در حذف آمونیاک و تبدیل آن به اوره در گونه های مختلف یکسان نیست. این موضوع می تواند به عنوان یکی از علل تفاوت گونه ای در حساسیت به آمونیاک باشد. احتمالاً یکی از دلایل این که کپور معمولی می تواند مقادیر بالای آمونیاک را تحمل کند، توانایی آن در تبدیل آمونیاک به اوره می باشد. با توجه به این که اندازه گیری آمونیاک خون مانند دیگر گازهای خونی احتیاج به دستگاه مخصوص دارد و امکان خطا در آن زیاد می باشد، می توان با اندازه گیری اوره به طور غیر مستقیم مسمومیت با آمونیاک را تشخیص داد.

سپاس گذاری

با سپاس فراوان از جناب آقای مهندس جاذبی زاده که در انجام این تحقیق کمک زیادی نمودند.

منابع

1. Wright, P.A. & 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., vol. 11. No. 4: pp. 329-353.

از جمله تغییرات رفتاری که در اثر مواجه شدن ماهیان با این سم رخ داد این بود که سرعت تنفس به تدریج بیشتر شده و حالت غیر منظم پیدا کرده و به دنبال آن ماهی دچار تشنج گردید. ماهی ها نسبت به تحریکات خارجی به شدت واکنش نشان داده و سعی می کردند از سطح آب بیرون بپرند. انقباضات و اسپاسم های عضلانی اتفاق افتاده و نهایتاً ماهی به پهلو افتاده و دهان و سرپوش های آبششی به دلیل اسپاسم شدید باز می ماندند. معمولاً ماهی ها یک حالت گذرا از بهبودی را به دنبال آن نشان می دادند که مدت زیادی به طول نمی انجامید و یک سری حرکات تشنجی شدید اتفاق می افتاد و نهایتاً منجر به مرگ می گردید. پوست ماهی رنگ پریده بوده و توسط مقادیر زیادی مخاط پوشیده می شد. گاهی خونریزی های روی پوست دیده می شد (۸).

حداکثر مقدار قابل قبول آمونیاک مولکولی برای کپور ماهیان ۰/۰۵ و آزاد ماهیان ۰/۱۲۵ میلی گرم در لیتر ذکر شده است (۸).

در ماهی آزاد اقیانوس اطلس و قزل آلاهی رنگین کمان LC₅₀ ۰/۸-۰/۵ میلی گرم در لیتر بوده است (۸).

با توجه به تحقیقات انجام شده در زمینه تعیین LC₅₀ با قرار دادن ماهی کپور معمولی در معرض غلظت های کشنده آمونیاک، افزایش فعالیت آنزیم های سرمی به وضوح دیده شده است که نسبت به گروه شاهد دارای تفاوت معنی داری بوده است (۸ و ۹).

حساسیت کمتر کپور معمولی به آمونیاک احتمالاً به دلیل وجود آنزیم گلوتامین سنتتاز است که در مغز کپور به میزان زیادی وجود دارد (۹).

به طور کلی در مورد علت مرگ ماهی ها در مسمومیت حاد با آمونیاک تاکنون ۴ دلیل ارائه شده است:

- ۱- برهم خوردن تعادل اسمزی بدن ماهی در اثر آسیب های کلیوی و آبششی. یون آمونیوم در رقابت با سدیم جذب آن را کاهش می دهد. از طرفی نفوذ پذیری آبشش ها به آب افزایش می یابد. آسیب های

- carp.1:effect of ammonia on adrenalin and and noradrenalin in levels in different organs. Aquaculture. vol.10. No.4.pp139-148.
7. Soderberg,G.R.W.(1985) Histopathology of rainbow trout,salmo gairdneri.pp.95-99.
 8. Svobodova,Z.&Vykusova,B.(1991) Diagnostic,prevention and therapy of fish diseasesw and intoxications.Manual of international training course of fresh water diseases and intoxication.pp.167-203.
 9. Evans,D.H.(1993) The physiology of fishes.CRC press Incpp.pp.379-425.
 10. Colt,J&Tchobanoglous,G.(1979) Chronic exposure of channel catfish,Ictalurus punctatus,to ammonia :effect of growth and survival.Aquaculture.15.pp.353-372.
 2. Broderius, S.J., Drummond, R.A., Fiandt, J.T., & Russom, C.L.(in press) Toxicity of ammonia to smallmouth bass, *Micropterus dolomieu*, as related to pH. Environ. Toxicol. Chem.. vol.9.No.4:pp228-234
 3. Alabaster, J.S. & Herbert, D.W.M. (1954) Influence of carbon dioxide on the toxicity of ammonia. Nature (Lond.),vol17.No.4,(pp.44-26)
 4. Abbas,H. (2006) Acute Toxicity of Ammonia to Common carp Fingerlings (*Ciprinus carpio*) at Different PH Levels. Water Res., vol.13(No.2): pp.2215-2219.
 5. Wlasow,T.&Dobrowska,H.&Ziomek,E ,(1990) Haematology of carp in acute intoxication with ammonia .pol.Arch.Hydrobiol.vol .37. No.3. pp.419-428.
 6. Jeney,Z.S.&Nemesok,J.&Jeney,G.&Ol ah,J.(1992) Acute effect of sublethal ammonia concentrations on common