

Utjecaj koncentracije neioniziranog amonijaka iz vode na pastrvski mlađ na ribogojilištu Knin

B. Kulišić

Izvod

Ispitivao sam proizvodnju amonijaka kod pastrvskog mlađa na Ribogojilištu Knin po kilogramu pojedene hrane. Dobiveni rezultati pokazali su velike oscilacije u proizvodnji amonijaka u tijeku dana i po satu, što je u skladu s podacima iz literature. Koncentracije neioniziranog amonijaka koje su u fizikalno-kemijskim uvjetima vode izvora Krke kojom se opskrbljuje Ribogojilište izazivale usporenje rasta i poremećaje središnjega živčanog sustava, daleko su ispod dosada preporučivanih koncentracija, kao sigurnosnih za pastrve. Dobiveni su rezultati u suglasnosti s navodima iz literature o otkrićima u posljednje vrijeme, koja također dovode u pitanje vjerodostojnost dosada preporučivanih, za pastrve sigurnih koncentracija neioniziranog amonijaka.

UVOD

Fijan (1982) navodi da u akvakulturi, kao i u svim drugim granama stočarstva, za uspjeh pri uzgoju riba treba osigurati uvjete za visoki postotak preživljenja, za normalan rast i postizanje dobre tržne kvalitete. Intenziviranjem proizvodnje u ribogojstvu nastaju uvjeti koji pogoduju i širenju bolesti. Gust nasad ribe te intenzivna hranidba utječu na sastav vode, pogoršavajući higijenske prilike u uzgojnoj jedinici.

Klontz (1978) navodi da ribe u ribogojilištu biološki mijenjaju vodu u kojoj žive, pa nastaju ove najvažnije promjene: 1. povećanje koncentracije dušičnih spojeva (amonijak, nitrati, nitriti), 2. povećanje koncentracije CO₂ i fosfata, 3. povećanje količine čestica (suspendiranih i istaloživih), 4. smanjenje koncentracije kisika te 5. povećanje biološke potrošnje kisika. Sve te promjene pogoršavaju higijenske prilike u prostoru za držanje ribe.

Od navedenih bioloških promjena kvalitete vode za higijenu, rast ribe i kapacitet nosivosti bazena najvažnije su smanjenje koncentracije kisika i povećanje koncentracije amonijaka.

Prema Coltu i Armstrongu (1979), subletalne koncentracije metaboličkih proizvoda razgradnje dušika u organizmu mogu smanjiti rast, oštetiti škrge i potaknuti razvoj nekih bolesti u riba. Ribe pretežni dio tih proizvoda metabolizma izlučuju u obliku amonijaka. U vodi

otopljeni plinoviti amonijak ponaša se kao slaba lužina. Za ribe je otrovan neionizirani (NH₃) oblik amonijaka, koji one izlučuju kroz škrge u vodu. Prielaz NH₃ u netoksični NH₄⁺ u vodi ovisi o temperaturi, pH i slanosti (salinitetu) vode. Izlučeni amonijak ostaje to više u toksičnom obliku što su viši pH i temperatura.

Piper i sur. (1982) smatraju da je pri intenzivnom uzgoju potrebno svakodnevno mjeriti amonijak, ali daju i približni proračun empirijskim putem. Za svaki tip hrane i ribnjak definiraju izračunavanje faktora amonijaka, a iz toga proračunavaju ukupnu koncentraciju amonijaka, iz čega, za odgovarajući pH i temperaturu, može biti izračunata koncentracija neioniziranog amonijaka (NH₃-N).

Za praksu je predloženo nekoliko donjih granica dopustive koncentracije neioniziranog amonijaka, no u novije vrijeme dovedeno je u pitanje značenje tih graničnih vrijednosti. Tako Soderberg (1985) utvrđuje oštećenja škrge dužičaste pastrve i kada najveća prosječna dnevna koncentracija neioniziranog amonijaka ne prelazi granične vrijednosti.

Dnevno izlučivanje NH₃ može varirati, a najvažniji uzrok varijacija jest količina i kvaliteta pojedene hrane (Rychly, 1980). Prema tome, nakupljanje amonijaka u vodi nekog bazena ovisi o opterećenju ribom, o dnevnom obroku i o postotku bjelančevina u hrani. Ima više procjena o dnevnom izlučivanju amonijaka s obzirom na pohranjenu hranu. Prema Meadeu (1985), raspon podataka u literaturi varira od 20 do 78,5 g NH₃/dan/kg hrane. Prema istom autoru, koncentracije amonijaka prihvaćene kao sigurne najviše su sumnjive i najvarljivije u uzgoju riba, i to zbog triju razloga: 1. zajednički prihvaćena dopustiva koncentracija amonijaka, osnovana na hiperplaziji škržnog epitela, prema najnovijim nalazima, suprotna je s objavljenim empirijskim podacima, 2. postoje velike varijacije u količini ekskrecije amonijaka, dnevni i po satu, s obzirom na različitu hranu, režim prehrane i različite metode za predviđanje koncentracije amonijaka osnovanih na kvaliteti hrane i načinu prehrane. Teorijski predviđene količine ekskretornog amonijaka za neki neproučeni uzgojni sustav ne moraju biti ni blizu stvarnih vrijednosti i 3. podaci osnovani na studijama akutnih i kroničnih učinaka amonijaka upozoravaju na činjenicu da djelovanje svih metabolita ne može biti pretkazano samo na osnovi koncentracije neioniziranog amonijaka. Mnogi uzgajali smatraju da je oštećenje škrge pokazatelj kroničnog trovanja amonijakom. Znatna hiperplazija škržnog epitela bila je izražena kod pacifičkog lososa nakon izlaganja samo 0,005 mg/l NH₃-N kroz šest tjedana (B u-

Dr. Božidar Kulišić, PZ »Orlić-Markovac«, Pastrvsko ribogojilište, Knin. Referirano na Savjetovanju o selekciji, introdukciji i novim saznanjima o hranidbi pastrva, održanom od 24. do 26. maja 1989. u Peruću.

rows, 1964), a ponovno proračunavanje tih vrijednosti, zasnovano na podacima Emersona i sur. (1975), pokazuje da je aktualna koncentracija manja od 0,003 mg/l $\text{NH}_3\text{-H}$ (citirano prema Meade, 1985). Za salmonidne ribnjake je kao kriterij preporučeno maksimum od 0,01 mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$ (Ueade, 1985). Isti autor navodi da aktualna koncentracija u jednome uzgojnom sustavu nije takva i u drugom, gdje su kemizam vode ili koncentracija drugih metabolita različiti. Maksimalno prihvatljiva sigurna koncentracija neioniziranog amonijaka i njezin utjecaj na uzgojne sustave nisu poznati, a metode pretkazivanja amonijaka daju širok raspon rezultata. Model ekskrecije amonijaka na osnovi kojeg je količina izlučenog amonijaka u odnosu s potrošnjom dušika, masom tijela i temperaturom, razradio je Paulson (1980). Maksimum ekskrecije u dužičaste pastrve nastupa šest sati nakon obroka (Kaushik, 1980, citirano prema Marie, 1982). Povećanje koncentracije amonijaka u vanjskom mediju smanjuje izlučivanje amonijaka dužičaste pastrve (Olson i Fromm, 1971, citirano prema Colt i Armstrong, 1979).

MATERIJAL I METODE

Za pokus sam se koristio jednomjesečnim dužičastim pastrvama — *Salmo gairdneri* Richardson (Vuković i Ivanović, 1971), proizvedenim u pastrvskom ribogojilištu u Kninu. Sva je riba bila iz mrijesta od istog dana. Početna pojedinačna dužina riba bila je 3,2 cm, a najveća je razlika iznosila 0,33 cm. Pokusom je bilo obuhvaćeno 158 238 riba koje su bile raspoređene u tri skupine s različitim gustoćama nasada. Mlad u skupini III. smješten je u najgušćem, a onaj u skupini I. u najrjeđem nasadu. Naime, druga je skupina brojčano smanjena 30% od treće, a prva jednako toliko od druge. Za svaku skupinu postavio sam po dva ponavljanja. Broj riba u svakom bazenu prve skupine bilo je po 17 702, druge 25 289, a treće 36 128.

Ribu za pokus smjestio sam u bazene zgrade mrestilišta u Kninu koji imaju dimenzije $700 \times 100 \times 80$ cm ili $5,6 \text{ m}^3$. Za provođenje pokusa zapreminu vode u bazenima podesio sam na $2,4 \text{ m}^3$, a ulaz vode na 2 l/s, odnosno na 72 izmjene vode u 24 sata.

Za sve vrijeme ribu sam hranio švedskom hranom Ewos, koja je sadržavala 52% bjelanjčevina, 17,5% masnoća i 12% ugljikohidrata. Kalorijska vrijednost te hrane ispitana je u Centru za peradarstvo Veterinarskog fakulteta u Zagrebu i iznosila je 4 821 Kcal/kg.

Ukupnu koncentraciju amonijaka (Am-N) određivao sam standardnom elektrokolorimetrijskom metodom (Đukanić, — urednik, 1961). Prije početka rada kolorimetar (»Iskra«, Kranj) baždario sam referentnom otopinom amonijeva klorida. Otopio sam 3,8214 g NH_4Cl do 1 000 ml destilirane vode. Jedan mililitar otopine sadržavao je 1 mg NH_4^+ . Na osnovi toga pravio sam različite koncentracije amonijaka i za njihove vrijednosti očitavao pripadajuće ekstinkcije na kolorimetru. U koordinatnom sustavu sve sam baždarene vrijednosti koncentracija ukupnog amonijaka unio na ordinatu, a za njih pokazanu ekstinkciju na apscisu. Spajajući vrijednosti, dobio sam niz točaka. Kroz ishodište koordinatnog sustava i kroz zajedničke

dodirne točke povukao sam pravac. S pravca sam očitavao odgovarajuće koncentracije ukupnog amonijaka za pokazanu ekstinkciju u uzimanih uzoraka vode.

Koncentraciju amonijaka određivao sam svakoga dana prije hranjenja i šest sati nakon hranjenja.

Iz ukupnog amonijaka koncentraciju $\text{NH}_3\text{-N}$ određivao sam ovom jednadžbom (Piper i sur. 1982):

$$\text{ppm NH}_3\text{-N} = \frac{\text{ppm Am-N} \times \% \text{NH}_3\text{-N}}{100} \quad (1)$$

Pripadajuće vrijednosti postotka $\text{NH}_3\text{-N}$ od Am-N pri određenim vrijednostima pH i $T^\circ\text{C}$ odredio sam po istim autorima (tablica 1).

Tablica 1. Postotak neioniziranog od ukupnog amonijaka otopljenog u vodi ovisno o pH i temperaturi —izvod iz originalne tablice (Piper i sur. 1982)

pH	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
7,0	0,159	0,172	0,186	0,201	0,217
7,1	0,200	0,216	0,234	0,253	0,273
7,2	0,252	0,272	0,294	0,318	0,344
7,3	0,316	0,342	0,370	0,400	0,433
7,4	0,398	0,431	0,466	0,504	0,544
7,5	0,501	0,542	0,586	0,633	0,684
7,6	0,629	0,681	0,736	0,796	0,859
7,7	0,791	0,856	0,925	1,00	1,08
7,8	0,994	1,07	1,16	1,26	1,36
7,9	1,25	1,35	1,46	1,58	1,70

Vrijednosti pH mjerio sam digitalnim baterijskim pH-metrom (»Volta«, Zagreb) koji sam prije svakog mjerenja baždario referentnim puferskim otopinama pH % 4 i pH = 7.

Temperaturu sam mjerio dva puta svaki dan živinim termometrom.

Sve potrebne kemikalije nabavio sam od »Jugohospitalije« iz Zagreba. Kemikalije su vagane i otopine pripravljane u biokemijskom laboratoriju Opće bolnice u Kninu. Sva ispitivanja proveo sam u laboratoriju ribogojilišta, a povremeno sam ih ponavljao u bolničkom laboratoriju radi provjere rezultata.

Faktor amonijaka određivao sam jednadžbom po Piperu i sur. (1982) i ona u SI-sustavu glasi:

$$F_a = \frac{\text{ppm Am-N} \times \text{l/min}}{\text{kg hrane/dan}} \quad (2)$$

Jednadžba za pretkazivanje ukupnog amonijaka po Piperu i sur. (1982) u SI-sustavu glasi ovako:

$$\text{ppm Am-N} = \frac{\text{kg hrane/dan} \times F_a}{\text{l/min}} \quad (3)$$

Colt i Armstrong (1979) predlažu pretkazivanje ukupnog amonijaka uzimanjem u obzir količine bjelanjčevina u hrani i njihove iskorištenosti:

$$\text{Am-N} = (1 - \text{FP}) \times 1000 \times \frac{\% \text{ bjelančevina u hrani}}{6,25} \quad (4)$$

gdje je FP = faktor konverzije bjelančevina (0,65—0,80).

Iz jednadžbi (2), (3) i (4) $\text{NH}_3\text{-N}$ valja izračunati pomoću jednadžbe (1).

REZULTATI

Dobivene vrijednosti za pH vode varirale su između 7,5 i 7,7 prosječno 7,66. Postotak $\text{NH}_3\text{-N}$ obračunavao sam na osnovi pH-vrijednosti 7,7 iz tablice 1.

Redovita su mjerenja pokazala da koncentracija amonijaka izrazito oscilira i po danima i unutar istog dana. Raspon vrijednosti u tijeku pokusa iznosio je od 0 preko 0,0462 mg/l, kao najmanje vrijednosti, do 0,462 mg/l Am-N. Odnos utvrđenih prisutnih koncentracija bio je, dakle, u rasponu 1 : 10.

Prosječna dnevna proizvodnja Am-N bila je oko 23,5 g po svakom kilogramu hrane u dnevnom obroku. Taj prosjek izračunao sam na osnovi izmjerene proizvodnje amonijaka po litri protoka kod najmanje i najveće količine pohranjene hrane:

$$0,0000462 \text{ g Am-N} \times 172.800 \text{ l/dan} = 7,98 \text{ g}$$

$$7,98 : 0,39 = 20,46 \text{ i}$$

$$0,000462 \text{ g Am-N} \times 172.800 \text{ l/dan} = 79,8 \text{ g}$$

$$79,8 : 3,01 = 26,5$$

Očekivani raspon dnevne proizvodnje amonijaka na osnovi raspona količina pohranjene hrane izračunao sam kao umnožak prosječne dnevne proizvodnje amonijaka po kilogramu hrane i količine potrošene hrane (tablica 2).

Tablica 2. Očekivani rasponi proizvodnje Am-N u tijeku pokusa u pokusnim skupinama

Skupina	Razdoblje	Dnevni obrok kg	Očekivana dnevna proizvodnja amonijaka u g
I.	0—30	0,39—0,84	9,16—19,74
	31—60	0,72—1,29	16,92—30,31
	61—90	0,92—1,44	21,62—33,84
	91—120	1,54—2,47	36,19—58,04
II.	0—30	0,54—1,21	12,69—28,43
	31—60	1,12—1,96	26,32—46,06
	61—90	1,51—2,46	35,48—57,81
III.	0—30	0,68—1,39	15,89—23,66
	31—60	1,21—1,96	28,43—46,06
	61—81	2,16—3,01	50,76—70,73

Nakon svakog uzorkovanja tablica je prehrane korigirana na osnovi stvarno postignutog rasta.

Budući da je u III. skupini 81. dana pokusa bilo pogoršano higijensko stanje (količina raspoloživog kisika bila je na granici fiziološkog minimuma, a koncentracija amonijaka uvjetovala je usporenje rasta i znakove bolesti SŽS), pokus je za tu skupinu bio prekinut.

Iz tablice 2. proizlazi da bi pri konstantnoj ekskreciji u tijeku 24 sata u vodi na izlazu iz bazena koncentracija Am-N trebala varirati između 0,053 mg/l (9,16 : 172.800 l) i 0,409 mg/l (70,73 : 172.800 l). Stvarno utvrđenje koncentracije približne su ovim vrijednostima.

Proračun proizvodnje amonijaka na osnovi faktora konverzije bjelančevina dao je vrijednosti u rasponu između 16,64 i 29,12 g Am-N/dan/kg hrane.

Faktor amonijaka izračunavao sam prema jednadžbi (2) iz tablice 2. Njegova je vrijednost 16,3 po kilogramu pojedene hrane.

Pri ustanovljenom Fa za određenu kvalitetu hrane primjenjivana je jednadžba (3) za proračun Am-N.

Ustanovio sam da je koncentracija kisika u vodi u mnogim danima utjecala na izlučivanje amonijaka u pokusnih riba. No usto vjerovatno je bilo i drugih utjecaja, jer sam i pri sličnim koncentracijama kisika utvrđivao razlike u intenzitetu izlučivanja amonijaka. U tablici 3. prikazujem podatke za dan kada su utvrđene ekstremne razlike u koncentraciji kisika i amonijaka.

Tablica 3. Primjer utjecaja koncentracije kisika na ekskreciju amonijaka ($\text{NH}_3\text{-N}$)

	Koncentracija 11,84	Koncentracija 5,12	Skupina
Proizvodnja	0,000 277	0,00	I.
$\text{NH}_3\text{-N}$	0,000 370	0,00	II.
	0,000 416	0,00	III.

Pri koncentraciji $\text{NH}_3\text{-N}$ od 0,003 mg/l riba je počela rasti usporeno, a pri koncentraciji od 0,004 mg/l zapazio sam bočno lijevanje riba na dnu, a kada su se digle, plivale su nekontrolirano. Ti su znakovi karakteristični za djelovanje amonijaka na središnji živčani sustav.

DISKUSIJA

Rezultati pokazuju da je za ocjenu higijenskog stanja u prostoru s pastrvama važno praćenje amonijaka.

Koncentracija neioniziranog amonijaka u izlaznoj vodi ekstremno je varirala u toku dana, što je u skladu s podacima iz literature (Meade, 1985). Bilo je i oscilacija vezanih uz promjene koncentracije kisika. Naime, pri koncentracijama kisika blizu donjega fiziološkog minimuma nije bilo moguće utvrditi amonijak u izlaznoj vodi. Stoga smatram da povremena mjerenja toga parametra nisu dovoljan i pouzdan način utvrđivanja higijenskog stanja u bazenima. Budući da ukupna ekskrecija amonijaka u riba ovisi o količini resorbiranih bjelančevina, mnogi su autori nastojali uspostaviti korelaciju između tih vrijednosti.

Subletalne koncentracije $\text{NH}_3\text{-N}$ djeluju i na rast riba (Colt i Armstrong, 1979), što se može prihvatiti kao bar djelomično objašnjenje za sve izraženije usporenje individualnog rasta pastrva u tijeku porasta biomase u pokusu. Doust i Ferguson (1984) upozorili su na neurološke disfunkcije u pastrva izloženih velikim koncentracijama amonijaka. Razine ekskrecije i po-

sljedične koncentracije $\text{NH}_3\text{-N}$ u vodi koje su u pokusu uzrokovale usporenje rasta i simptome poremećaja u radu središnjeg živčanog sustava potkrepljuju Soderbergove (1985), navode koji dovode u pitanje valjanost prije postavljenih donjih graničnih vrijednosti za $\text{NH}_3\text{-N}$ ako one ne uzimaju u obzir i kratkotrajnu izloženost velikim koncentracijama koje nastaju zbog cikličnosti ekskrecije.

Rezultati u pokusu pokazali su da je razina koncentracije $\text{NH}_3\text{-N}$ koja je utjecala na rast riba bila 533,3% manja no što to propisuju kriteriji AGENCIJE ZA ZAŠTITU OKOLINE (SAD) za najvišu dopuštenu koncentraciju amonijaka za vodene životinje, a od kasnije preporučenih maksimuma za salmonide za 333,3% (Meade, 1985).

Kompleksnost pitanja subletalnih djelovanja $\text{NH}_3\text{-N}$ i variranja njegovih koncentracija zbog različitosti sastava pojedinih voda i upotrijebljenih hrana za ribu, razlike u intenzitetu ekskrecije u tijeku dana zahtijevaju daljnja istraživanja u nas, posebno zbog specifičnosti naših kraških voda s velikom tvrdoćom.

SAŽETAK

Prikazan je način laboratorijskog ispitivanja ukupnog amonijaka i iz toga određivanje neioniziranog amonijaka koji je toksičan za ribe. Koncentracija neioniziranog amonijaka od samo 0,003 mg/l u uvjetima koji vladaju u ovoj vodi izazivala je usporenje rasta, a koncentracija od 0,004 mg/l poremećaje središnjeg živčanog sustava. Te su koncentracije daleko ispod kriterija AGENCIJE ZA ZAŠTITU OKOLINE (SAD) koji propisuju najveću dopuštenu koncentraciju amonijaka za salmonide. Ekskrecija amonijaka uglavnom ovisi o količini pojedene hrane, ali je podložna velikim oscilacijama u tijeku dana i po satu, a također ovisi i o koncentraciji kisika.

Summary

THE INFLUENCE OF NONIONIZED AMMONIA CONCENTRATION ON RAINBOW TROUT FINGERLINGS KNIN FISH FARM

The method of laboratory testings of total ammonia has been shown in this paper so that nonionized ammonia which is toxic to the fish, can be determined. The concentration of only 0,003 mg/l of nonionized ammonia in this water slowed the growth, while the con-

centration of 0,004 mg/l resulted in central nervous system disorders. The concentrations are well below the limit of USA Environment Protection Agency for salmonids. The excretion of ammonia mainly depends on the quantity of consumed food but it is subject to large oscillations in the course of the day and hour and it also depends on concentration of oxygen.

LITERATURA

- Colt, E. J., Armstrong, A. D. (1979): Nitrogen Toxicity to Fish, crustaceans and molluscs. Dept. of Civil Engineering, Univ. of California, Davis, California. 1—30.
- Doust, Y. P., Ferguson, W. H. (1984): The pathology of chronic ammonia toxicity in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases* 7, 199—205.
- Dukanović, V. (urednik — 1961): Standardne metode za fizičko-hemijsko i bakteriološko ispitivanje voda. Grafičko preduzeće Slobodan Jović — Beograd.
- Fijan, N. (1982): Bolesti i neprijatelji riba. U: Slatkovodno ribarstvo. Urednik: Habeković, D. 439—513. Ribozajednica i Jumena, Zagreb.
- Klontz, W. G. (1978): Factors affecting the productivity of an aquaculture facility: a commentary. Idaho Water Resources, Research Institute University of Idaho, Moscow. Manuscript, 5—27.
- Marie, D. (1982): Mesure de l'azote ammoniacal en pisciculture. *La pisciculture française*, 70, 13—18.
- Meade, W. J. (1985): Allowable ammonia for fish culture. *Prog. Fish-Cult.* 47, 135—145.
- Paulson, J. L. (1980): Models of ammonia excretion for brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37, 1421—1425.
- Piper, G. R., Mc Elvain, B. I., Orme, E. L., Mc Craren, P. H., Fowler, G. L. and Leonard, R. J. (1982): Fish hatchery management. Second printing. United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, D. C. 1—517.
- Uychly, J. (1980): Nitrogen balance in trout. II Nitrogen excretion and retention after feeding diets with varying protein and carbohydrate. *Aquaculture*, 20—: 343—350.
- Soderberg, W. R. (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, 57—64.
- Vuković, T., Ivanović, B. (1971): Slatkovodne ribe Jugoslavije. Zemaljski muzej BiH, Sarajevo.
- Kulišić, B. (1988): Higijenske norme za proizvodnju mlada dužičaste pastrve (*Salmo gairdneri* Richardson) u Kninu. Doktorska disertacija, Zagreb.

Primljeno 14. 7. 1989.