

DEPARTAMENTO BIOLOGIA ANIMAL ECOLOGIA Y GENETICA.
UNIDAD FISILOGIA ANIMAL

EL AMONIACO EN LOS PECES. II. ASPECTOS TOXICOS

Moyano, F.J. y Cardenete, G.

RESUMEN

Se hace una revisión de la información existente sobre los efectos tóxicos del amoníaco en peces, distinguiendo entre toxicidad crónica y agua. Se describen las distintas alteraciones apreciables, así como los factores ambientales y nutricionales que influyen en la variación de los niveles de amoníaco en el medio. Por último, se enumeran algunos métodos de medida de la concentración de dicho compuesto en agua y su utilidad para el piscicultor.

SUMMARY

A review of much of the existing information about toxic effects of ammonia in fish is done, making distinction between acute and chronic toxicity. The different noticeable damages in fish, thus environmental and nutritional factors influencing ammonia levels in water are described. Lastly, some methods of measure of ammonia concentration are enumerated, even as their utility for fish culturists.

INTRODUCCION

La actividad metabólica de los organismos acuáticos puede, bajo condiciones de cultivo intensivo, producir cambios importantes en la calidad del agua, ya sea por disminución de alguno de sus componentes, como el oxígeno, como por el incremento de sustancias fundamentalmente de desecho; ej. los compuestos nitrogenados.

De entre estos compuestos, el amoníaco ha sido identificado desde hace mucho tiempo (1, 2) como un tóxico importante en los cultivos piscícolas, ya que afecta al rendimiento de las explotaciones reduciendo el crecimiento, dañando órganos y facilitando la aparición de enfermedades.

Si a todo lo anterior se añade el que factores como aportes inadecuados de agua, bajas temperaturas o normativas de control ambiental, han forzado a algunas explotaciones piscícolas a tratar y reciclar sus efluentes, se puede comprobar que el control de los niveles de amoníaco en agua es imprescindible, así como el conocimiento de los efectos que dicho compuesto puede ejercer, a distintas concentraciones, sobre los animales en cultivo.

Para eliminar confusiones, en adelante el término amonio ionizado se empleará para el NH_4^+ , y el término amonio no ionizado para el NH_3 ; la suma de ambos constituye el amonio total.

TOXICIDAD DEL AMONIO

Los estudios sobre toxicidad en cualquier sustancia se pueden hacer bajo dos puntos de vista; o bien se pretende establecer el nivel letal del tóxico, su DLO1 ó DL50, (estudios sobre toxicidad aguda), o bien sus efectos crónicos a concentraciones bajas pero constantes. Este mismo patrón puede seguirse con el amonio, aunque es en los estudios sobre los efectos a largo plazo de las concentraciones subletales, donde pueden obtenerse conclusiones de aplicación más práctica. Estos efectos pueden agruparse en dos tipos fundamentales: alteraciones del crecimiento y daños tisulares o hematológicos.

Alteraciones del crecimiento.-

Burkhalter y Kaya (3) encuentran notables retrasos en el crecimiento de truchas arcoiris sometidas a concentraciones de 0.06 ppm de NH_3 a lo largo de 42 días. En el pez gato *Ictalurus punctatus*, Colt y Tchobanoglous (4) encuentran crecimiento 0 a la concentración de 1.2 ppm. La disminución del crecimiento parece deberse a varias causas:

- Reducción de la capacidad de captación de oxígeno por daños del epitelio branquial.

- Desviación de parte del metabolismo hacia rutas implicadas en la detoxificación del organismo (5,6).

- Pérdida de iones por incremento del flujo de orina. Este efecto diurético observado por Lloyd y Orr (7), puede determinar alteraciones en la relación peso seco/peso fresco de hasta un 70% con relación a animales sanos.

- Inhibición de la absorción de Na^+ (8).

- Daños en diversos tejidos (riñón fundamentalmente).

Sin embargo, parece que existe un fenómeno de "habitación" al tóxico, de manera que los retrasos iniciales en el crecimiento pueden ser compensados a largo plazo, como ha sido confirmado por Thurston et al. (9,10) en trucha arcoiris y piscarda cabezón (*Pimephales pomelas*), en ensayos de más de un año de duración. En tales casos no se apreciaron efectos negativos ni siquiera sobre la producción de huevos o la viabilidad de los mismos.

Daños tisulares.-

El primer síntoma apreciable en los peces expuestos a concentraciones letales o

subletales de amonio son las alteraciones respiratorias, fácilmente detectables por un aumento en la frecuencia de ventilación. Tales alteraciones vienen determinadas por lesiones en el epitelio branquial. Así, Burrows (2) detectó una hiperplasia progresiva en las branquias de alevines de salmón coho (*Oncorhynchus tshawytscha*) tras una exposición de 6 semanas a 0.002 ppm de NH₃. Otros autores (11, 12, 9) detectan hipertrofia de las laminillas, hiperplasia de la membrana basal del epitelio, necrosis y fusiones parciales de las láminas branquiales. La reducción en la captación de oxígeno determina problemas en ambientes poco aireados y predisposición a las infecciones bacterianas. En este sentido, Flagg y Hinck (13) encontraron que *I. punctatus* expuestos a concentraciones de 0.02-0.04 ppm NH₃ aumentaban su susceptibilidad frente a *Aeromonas hydrophyla*.

Las lesiones en otros órganos también pueden ser importantes. Thurston et al. (9), observan alteraciones en el tejido renal de trucha, por degeneración del epitelio tubular, aparición de gotas hialinas y oclusión de los túbulos. Reichenbach-Klinke (14) notifica alteraciones de diversa índole en hígado y sangre de distintas especies comunes en cultivo, a concentraciones de 0.27 ppm.

Otras lesiones menos características son descritas por Thurston et al. (10) en el piscardo cabezón; se trata de tumoraciones hiperplásicas del tejido conectivo de la meninge primitiva, que aparecen al someter a los animales a concentraciones superiores a 0.2 ppm de NH₃. Tales tumoraciones son visibles externamente y en ocasiones acaban por cubrir por completo el cerebro. No obstante, tales peces pueden desarrollarse y reproducirse con relativa normalidad.

Por último, pueden producirse daños visibles en las aletas dorsales y pectorales, como notifican Colt y Tchobanoglous (4) al someter a *I. punctatus* a concentraciones de 0.6 ppm NH₃, terminando por quedar sólo los radios al elevar la concentración a 1.2 ppm.

Toxicidad aguda

El período de tiempo empleado comúnmente como referencia en los estudios para determinar la DL₅₀ del amonio en peces es de 96 horas ya que, según una revisión de Sprague (15) sobre un total de 375 estudios referidos a la toxicidad aguda de distintos compuestos en peces, sólo en 42 casos (11.2% del total) el umbral de toxicidad se alcanzó después de este período.

El procedimiento experimental usual consiste en mantener a los peces en tanques donde las concentraciones requeridas de amonio se obtienen mediante un aporte continuo de solución de sales de amonio a concentración variable. De esta forma Colt y Tchobanoglous (16) establecen para *I. punctatus*, en el intervalo 22-30° C, los niveles de 2.4-3.8 ppm NH₃. Ball (17), encuentra que, a pesar de que la sensibilidad ante el amonio es mayor en *S. gairdneri* que en otras especies, su DL₅₀ es muy similar a la de otras especies supuestamente más resistentes como *Abramis brama*, *Perca fluviatilis*, *Rutilus rutilus* o *Scardinius erythrophthalmus*, situándose en torno a 0.5 ppm NH₃.

Sin embargo, estudios posteriores revelan que dentro de una misma especie, como la trucha arcoiris, la sensibilidad varía mucho con los estadios del desarrollo (18, 3). Estos autores coinciden en que los huevos y embriones son bastante resistentes a concentraciones de hasta 3.58 ppm NH₃, y que la resistencia disminuye

tras la resorción del saco vitelino, volviendo a aumentar en los juveniles de 1-2 g, para disminuir paulatinamente en los ejemplares adultos. No obstante, los valores dados por los distintos autores difieren en gran medida.

Otro tipo de estudios trata de realizar un enfoque más acorde con las situaciones que, en cuanto a la contaminación por productos amoniacales puede darse en la naturaleza. Tal es el caso de las bruscas elevaciones de la concentración de amonio en agua, debidas a efluentes o vertidos de cualquier tipo que, en cualquier caso, lo que determinan es una exposición fluctuante de los peces que habitan un curso fluvial a este agente tóxico. En este sentido, Thurston et al. (19) establecen experimentalmente fluctuaciones de la concentración de amonio en períodos cortos, con intervalos de 6h/6H, 12h/12h y 6h/18 h, encontrando que:

-Los peces soportan mejor una exposición continuada y fija de amonio durante 96 h que fluctuaciones de un valor medio similar.

-Los peces son capaces de sobrevivir a breves exposiciones a concentraciones tóxicas sin aparentes efectos a largo plazo, siempre y cuando tales exposiciones sean seguidas de largos períodos a concentraciones subtóxicas.

-Peces sometidos a pulsos periódicos de amonio a concentraciones subtóxicas resisten mejor una posterior exposición a concentraciones tóxicas; se trataría pues de un efecto de "aclimatación".

-Los peces grandes (mayores de 2 kg), son más vulnerables a las concentraciones tóxicas de amonio que los pequeños (20-300 g). Aunque estos estudios se realizaron con trucha arcoiris, los resultados descritos parecen poderse extrapolar a otras especies.

Las concentraciones de amonio en los efluentes industriales antes mencionados pueden alcanzar valores muy elevados. Así, Tarazona et al. (20), estudian la elevada mortalidad producida en el río Umia (Pontevedra, España) por una descarga de desechos orgánicos que origina concentraciones de 2.3 ó 0.9 ppm NH₃, según la distancia al punto de vertido. Sometiendo experimentalmente a *Carassius auratus* a las mismas concentraciones descritas, comprueban que la mortalidad sobreviene a las 24 ó 96 h.

De las experiencias anteriores se deduce la importancia de conocer los niveles tóxicos de NH₃ para las distintas especies que viven en aguas libres o son objeto de cultivo, así como los factores que pueden afectar a las concentraciones de dicho compuesto en las aguas.

FACTORES QUE AFECTAN A LA CONCENTRACION DE AMONIO EN EL AGUA

En principio, según Wuhrmann y Woker (21), sólo el amonio no ionizado resulta tóxico para los peces, mientras que el ionizado tiene escasa o nula toxicidad. Esto se explicaría por la mucho mayor permeabilidad del epitelio branquial a la difusión del NH₃ que a la del NH₄⁺, el cual es excretado a través de un transportador/intercambiador de iones Na⁺ (22).

El equilibrio acuoso del amonio depende en gran medida del pH de la solución (Tabla I) y en menor grado, de la temperatura y fuerza iónica del medio, desplazándose el equilibrio al NH₃. Dentro del rango de pH compatible con la vida de la mayoría de los peces de agua dulce, un incremento de una unidad en el pH aumentaría

Tabla I.- Porcentaje de NH₃ en una solución acuosa amoniacal a distintas temperaturas y pH (según Emerson et al. (38).

Temp (C)	pH							
	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0	9,5
0	0,0083	0,0261	0,0826	0,261	0,820	2,55	7,64	20,7
1	0,0090	0,0284	0,0898	0,284	0,891	2,77	8,25	22,1
2	0,0098	0,0309	0,0977	0,308	0,968	3,00	8,90	23,6
3	0,0106	0,0336	0,106	0,335	1,05	3,25	9,60	25,1
4	0,00115	0,0364	0,115	0,363	1,14	3,52	10,3	26,7
5	0,00125	0,0395	0,125	0,395	1,23	3,80	1,1	28,3
6	0,0136	0,0429	0,135	0,427	1,34	4,11	11,9	30,0
7	0,0147	0,0464	0,147	0,462	1,45	4,44	12,8	31,7
8	0,0159	0,0503	0,159	0,501	1,57	4,79	13,7	33,5
9	0,0172	0,0544	0,172	0,542	1,69	5,16	14,7	35,3
10	0,0186	0,0589	0,186	0,86	1,83	5,56	15,7	37,1
11	0,0201	0,0637	0,201	0,633	1,97	5,99	16,8	38,9
12	0,0218	0,0688	0,217	0,684	2,13	6,44	17,8	40,8
13	0,0235	0,0743	0,235	9,738	2,30	6,92	19,0	42,6
14	0,0254	0,0802	0,253	0,796	2,41	7,43	20,2	44,5
15	0,0274	0,0865	0,273	0,859	2,67	7,97	21,5	46,4
16	0,0318	0,101	0,317	0,996	3,08	9,14	24,1	50,2
17	0,0318	0,101	0,317	0,996	3,08	9,14	24,1	50,2
18	0,0343	0,108	0,342	1,07	3,31	9,78	25,5	52,0
19	0,0369	0,117	0,368	1,15	3,56	10,5	27,0	53,9
20	0,397	0,125	0,396	1,24	3,82	11,2	28,4	55,7
21	0,0427	0,135	0,421	1,33	4,10	11,9	29,9	57,5
22	0,0459	0,145	0,491	1,54	4,70	13,5	33,0	60,9
23	0,0493	0,156	0,491	1,54	4,70	13,5	33,0	60,9
24	0,0530	0,167	0,527	1,65	5,03	14,4	34,6	62,6
25	0,0569	0,180	0,566	1,77	5,38	15,3	36,3	64,3
26	0,0610	0,193	0,607	1,89	5,75	16,2	37,9	65,9
27	0,0654	0,207	0,651	2,03	6,15	17,2	39,6	67,4
28	0,0701	0,221	0,697	2,17	6,56	18,2	41,2	68,9
29	0,0752	0,237	0,747	2,32	7,00	19,2	42,9	70,4
30	0,805	0,254	0,799	2,48	7,46	20,3	44,6	71,8

la concentración amonio no ionizado en 10 veces. Los aumentos de temperatura también favorecen la formación de NH₃; la fuerza iónica, por su parte, influye ligeramente en la formación de amonio ionizado.

De todo lo anterior se deduce que una misma cantidad de amonio total en agua, será 10 veces más tóxica a pH 8.5 que a 7.5. Teniendo en cuenta esto, los criterios establecidos para la calidad de las aguas tanto en Europa (23) como en los EE. UU. (24), se expresan en términos de amonio no ionizado y dentro del rango de pH 6.5-9.0, considerado normal para la vida acuática.

No obstante, algunos estudios (25, 26, 27), indican que el pH desempeña un papel más significativo en la toxicidad del amonio que el de simplemente establecer la proporción $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ en solución; al parecer, la máxima toxicidad de la forma NH_3 corresponde, dentro del rango antes reseñado, al pH 6.5, y la mínima se sitúa a niveles de pH 8.0-8.5. Además el NH_4^+ puede ejercer un efecto tóxico que es inapreciable cuando las concentraciones de amonio total se sitúan por debajo de 20-50 ppm, pero se hace progresivamente mayor a altas concentraciones de amonio. De cualquier forma, la toxicidad del amonio no ionizado parece ser de 300 a 400 veces mayor que la del NH_4^+ mol a mol.

Por último, hay que decir que también existe una relación inversa entre las concentraciones de oxígeno y la toxicidad del amonio (28), aunque no está demostrado si se debe a una influencia directa del oxígeno en el equilibrio del amonio en agua o a un agravamiento de las alteraciones respiratorias ya mencionadas.

IMPORTANCIA DEL CONTROL DE LOS NIVELES DE AMONIO EN PISCICULTURA

No sólo los factores ambientales pueden determinar los niveles de amonio en el agua de una explotación piscícola. El piscicultor puede influir muy directamente en la producción de este compuesto a través del tipo y cantidad de alimentación que proporcione a sus animales. Teniendo en cuenta que las mayorías de las dietas piscícolas son altas en proteínas (35-50%), precisamente debido a los requerimientos de estos animales, es preciso controlar, tanto la producción de amonio por los propios peces en caso de restricción de flujo (ej. estiaje), como la descomposición del alimento no ingerido que da lugar a compuestos amoniacales. En este sentido, es importante conocer, tanto los ritmos de excreción, cuyo máximo parece situarse en torno a las 6 horas desde la última ingesta en trucha arcoiris (29), como la calidad proteica de la dieta y su relación proteína/energía.

De hecho, García et al. (30) han demostrado la posibilidad de emplear la excreción de amonio como índice de la proporción de proteína empleada para biosíntesis o como fuente de energía, lo que es en definitiva un indicador de su calidad. Otros autores (31) han relacionado la excreción de amonio con el crecimiento de los animales, de manera que una elevada excreción se corresponde con una baja eficiencia alimentaria; esto presentaría gran utilidad como medio de selección de variedades. Por otra parte, también la tasa de alimentación presenta una relación directa con los niveles de excreción de amonio (32, 33).

Conociendo todo esto, el piscicultor está en condiciones de modificar los tipos de dieta y su administración de acuerdo con el caudal de agua y las condiciones ambientales, de forma que los niveles de amonio permanezcan siempre dentro de los valores normales. Este control debe realizarse de forma periódica, lo que se ve facilitado por los modernos métodos de medición de amonio, tales como los electrodos (34, 35) o el analizador de inyección (36), que han desplazado al antiguo y engorroso método de la reacción del indofenol (37).

Por último, y también desde un punto de vista práctico, es aconsejable un examen histológico de los peces si se sospecha una elevación de la concentración de amonio a niveles subletales. Como se ha visto, la observación de daños en las aletas, las laminillas branquiales o el tejido renal, pueden ser indicativos de dicha alteración, lo que permitirá al piscicultor adoptar medidas correctivas con suficiente antelación.

REFERENCIAS

- (1) BROCKWAY, D.R. (1950) *Prog. Fish Cult.*, 12:127-129
- (2) BURROWS, R.E. (1964) *Bureau of Sport Fisheries and Wildlife Research Report*, 66, 12 pp.
- (3) BURKHALTER, D.E. y KAYA, C.M. (1977). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 106 (5): 470-475.
- (4) COLT, J. y TCHOBANOGLIOUS, G. (1978) *Aquaculture*, 15: 353-372.
- (5) GOLDSTEIN, L.C. y FORSTER, R.P. (1965). *Comp. Biochem, Physiol*, 14:567-576.
- (6) OLSON, K.R. y FROMM, P.O. (1971). *Comp. Biochem. Physiol*, 40 A:999-1007.
- (7) LLOYD, R. y ORR, L.D. (1969). *Water Res.*, 3:335-344.
- (8) MAETZ, J. (1972). Nitrogen metabolism and the environment. Campbell & Goldstein Eds. Academic Press. N. Yor.. pp 105-154.
- (9) THURSTON, R.V.; RUSSO, R.C.; LUEDTKE, R.J.; SMITH, C.E.; MEYN; E.L.; CHAKOUMAKOS, C.; WANG, K.C. y BROWN, C.J. (1984) *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 113:56-73.
- (10) THURSTON, R.V.; RUSSO, R.C.; MEYN, E.L. y ZAJDEL, R.K. (1986) *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 115:196-207.
- (11) SMITH, C.E. y PIPER, P.G. (1975). The pathology of fishes. Ribelin & Migaki Eds. Univ. Wisconsin Press. Wisconsin. pp 497-517.
- (12) SMART, G. (1976) *J. Fish Biol.*, 8:471-475.
- (13) FLAGG, R.M. y HINCK, L.V. (1979) *Proc. Annual Conf. South Assoc. Fish and Wildlife Agen.*, 32:415-419.
- (14) REICHENBACH-KLINKE, H.H. (1967). *Archiv. für Fischereiwissenschaft*, 17:122-132.
- (15) SPRAGUE, J.B. (1969) *Water Res.*, 3: 793-821.
- (16) COLT, J. y TCHOBANOGLIOUS, G. (1976) *Aquaculture*, 8:209-224.
- (17) BALL, I.R. (1967) *Water Res.*, 1:767-775.
- (18) RICE, S.D. y STOKES, R.M. (1975). *Nat. Oceanic Atmos. Fish. Bull.*, 73 (1): 207-211
- (19) THURSTON, R.V.; CHAKOUMAKOS, C. y RUSSO, R.C. (1981) *Water Res*, 15: 911-917.
- (20) FORSTER, R.P. y GOLDSTEIN, L.; (1969). "Formation of excretory products", en Hoar, D.J. y Randall, W.S., *Fish Physiology*. Vol 1. Academic Press. N. York. pp 313-350.
- (21) WUHRMANN, K. y WOKER, H. (1948) *Schweiz Z. Hydrol.*, 11: 210-244.
- (22) FORSTER, R.P. y GOLDSTEIN, L.; "Formation of excretory products", en Hoar, D.J. y Randall, W.S., *Fish Physiology*. Vol 1. Academic Press. N. York. 1969. pp 313-350.
- (23) EIFAC (European Inland Fisheries Advisory Commission) (1973) *Water Res.*, 7: 1011-1022.
- (24) USEPA (United States Environmental Protection Agency) *Quality criteria for water*. Office of Water and Hazardous Materials. Washington D.C. 256 pp.
- (25) TABATA, K. (1962) *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 34: 67-74.
- (26) TOMASSO, J.R.; GOUDIE, C.A.; SIMCO, B.A. y DAVIS, K.B. (1980) *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 109: 229-234
- (27) THURSTON, R.V.; RUSSO, R.C. y VINOGRADOV, G.A. (1981) *Env. Sci. Technol.*, 15: 837-840.
- (28) THURSTON, R.V.; PHILLIPS, G.R. y RUSSO, R.C. (1981) *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38:983-988.

- (29) BRETT, J.R. y ZALA, C.A. (1975) *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 32: 2479-2486
- (30) GARCIA, M.; ZAMORA, S. y LOPEZ, M.A. (1981) *Comp. Biochem. Physiol.*, B68: 457-460.
- (31) MING, G. (1985). *Aquaculture*, 46: 27-35.
- (32) ELLIOT, J.M. (1976). *J. Anim. Ecol.*, 45: 923-946.
- (33) PAULSON, L.J. (1980). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37: 1421-1425.
- (34) GARSIDE, C.; HULL, G. y MURRAY, S. (1978). *Limnol. Oceanogr.*, 23: 1073-1076.
- (35) ARNOLD, M.A. (1983). *Analytica Chim. Acta*, 154: 33-39.
- (36) VAN SON, M.; SCHOTHORST, R.C. y DENBUEF, G. (1985). *Analytica Chim. Acta*, 153: 271-275.
- (37) CHANEY, A.L. y MARBACH, E.P. (1962). *Clin. Chem.*, 8:130-132.
- (38) EMERSON, K.; RUSSO, R.C.; LUND, R.E. y THURSTON, R.V. (1975). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 32: 2379-2383.