

تاثیر سطوح مختلف کلسیم جیره غذایی بر میزان یون‌های کل بدن و آب محیط پرورش در بچه ماهیان پرورشی قزل‌آلای رنگین‌کمان

سیدحامد کلانتریان^۱، غلامرضا رفیعی^۲، مهرداد فرهنگی^۳ و باقر مجازی‌امیری^۴

تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۸

خلاصه

در این پژوهش، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، تاثیر درصدهای مختلف کلسیم معدنی در جیره غذایی، بر میزان یون‌های کل بدن و آب محیط پرورش بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه قرار گرفت. جیره‌ای با مقدار کلسیم ۰/۹۵ درصد به عنوان جیره پایه ساخته شد و با اضافه کردن کربنات کلسیم (CaCO_3) به آن، سایر جیره‌ها با درصدهای کلسیم (۱/۲۱ درصد، ۱/۴۱ درصد و ۱/۶۱ درصد) به دست آمد. در شروع آزمایش، تعداد ۲۵ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به هر واحد آزمایش (میانگین وزن اولیه $12/18 \pm 0/04$) وارد و مدت هشت هفته با غذاهای تیمار تغذیه شدند. غذایی، دو نوبت در روز در ساعات ۹ صبح و ۵ بعد از ظهر تا حد سیری کامل انجام شد. داده‌های به دست آمده نشان داد تغییرات مقدار کلسیم معدنی در جیره غذایی تاثیر معنی‌داری بر تغییرات میانگین عناصر کلسیم، فسفر، پتاسیم، منیزیم، روی، مس و آهن در محتوای کل بدن دارد ($p < 0/05$). در مورد عنصر منگنز اختلاف معنی‌داری در محتوای کل بدن در تیمارهای مختلف مشاهده نشد. تغییرات عناصر کلسیم، منیزیم، پتاسیم، سدیم و کلر در آب محیط پرورش نیز متفاوت بود به طوری که مقدار کلسیم، سدیم و کلر در آب نسبت به شروع آزمایش کاهش و مقدار پتاسیم افزایش معنی‌داری یافت ($p < 0/05$). اما تغییرات منیزیم در آب از ابتدا تا انتهای آزمایش معنی‌دار نبود. نتایج به دست آمده در این آزمایش نشان داد که تغییر مقدار کلسیم در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر میزان یون‌های کل بدن ماهی و نیز بر غلظت عناصر موجود در آب محیط پرورش تاثیرگذار بوده و می‌تواند در مقدار جذب این عناصر تاثیر مثبت و یا منفی داشته باشد.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، کلسیم، پروفیل یونی، محتوای بدن، عناصر آب

مقدمه

خود را از آب جذب نمایند. عناصر کلسیم، منیزیم، سدیم، پتاسیم، آهن، روی، مس، استرانسیم و سلنیم در صورت وجود در آب مستقیماً توسط ماهی جذب می‌شوند (۶ و ۱۵). تخم ماهیان قادر به جذب اغلب مواد معدنی مورد نیاز خود از آب می‌باشد. کلسیم توسط تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از محیط آب جذب می‌شود و از مهمترین مواد معدنی در مراحل تکامل نهایی تخم می‌باشد و با روند رشد جنین، افزایش می‌یابد (۱۲).

مواد معدنی نقش مهمی را در فرآیندهای زیستی موجودات دارند و تمام موجودات از جمله ماهیان به این عناصر غیر آلی نیازمند می‌باشند. مواد معدنی در شکل‌گیری اسکلت، نگهداری سیستم بدن، تنظیم اسید-باز و همچنین ترکیبات مهم بیولوژیکی مانند هورمون‌ها و آنزیم‌ها نقش مهمی را بر عهده دارند (۱۰ و ۲۲). تعیین میزان مواد معدنی مورد نیاز ماهیان بسیار مشکل و پیچیده است. زیرا ماهیان قادرند که عمده یون‌های مورد نیاز

^۱ کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج E-mail: hamedkalantarian@yahoo.com (نویسنده مسئول)

^۲ دانشیار گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

^۳ استادیار گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

^۴ استاد گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

برای ماهیان آب شیرین بین ۰/۶۵-۰/۳ درصد (۱۵) و تا حدود ۱ درصد در جیره (۱۸) باشد. با توجه به اینکه اطلاعات دقیقی در مورد مقدار دقیق درصد کلسیم (معدنی و آلی) مورد نیاز در جیره ماهی قزل آلا رنگین کمان وجود ندارد و این نکته که تغییر درصد کلسیم جیره بر جذب و ذخیره‌سازی سایر مواد معدنی در بدن ماهی و انتقال آنها به بدن مصرف کنندگان بعدی (نقش تغذیه‌ای) تأثیرگذار است و با توجه به اینکه قزل آلا رنگین کمان یکی از ماهیان اقتصادی و پرورشی مهم دنیا و کشور می‌باشد، نیاز است داده‌هایی در مورد مقدار درصد کلسیم معدنی در جیره آن و تأثیر کلسیم جیره بر محتویات بدن ماهیان و خصوصاً عناصر آب محیط پرورش به دست آید. لذا در این پژوهش سعی شد تأثیر میزان کلسیم معدنی جیره در دامنه وسیعتری بر مقادیر یون‌های بدن ماهی و همچنین آب محیط پرورش مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار

شرایط محیطی و ماهیان مورد آزمایش

بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان مورد نیاز از یکی از کارگاه‌های منطقه دوهراز تنکابن - مازندران تهیه و به محل کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران - کرج منتقل شدند. پس از سازگاری اولیه، تعداد ۳۰ قطعه ماهی به طور کاملاً تصادفی در هر مخزن (واحد آزمایش) ریخته شدند و به مدت ۱۰ روز برای سازگاری با شرایط محیط آزمایش با غذای پایه به مقدار ۵ درصد وزن بیوماس، غذادهی شدند. پس از گذراندن دوره سازگاری اولیه، تعداد ۲۵ قطعه ماهی با میانگین وزن انفرادی $12/18 \pm 0/435$ گرم توسط ترازوی به دقت $0/001$ گرم، توزین و در هر واحد آزمایشی اصلی با حجم آبی ۲۰۰ لیتر ریخته شدند. آب مورد استفاده ترکیبی از آب شهری و آب چاه بود. برای حذف کلر آب از دو مخزن ۱۰۰۰ و ۲۵۰ لیتری ذخیره که توسط دو سنگ هوا

کلسیم در فرآیند سفت شدن تخم‌ها، تشکیل باله‌ها و سایر مراحل تکامل جنینی تأثیر به سزایی دارد (۳) و گاهی از طریق رقابت با سایر فلزات سنگین می‌تواند باعث کاهش اثرات سمی آنها شود (۵). تغییر در مقدار عنصر کلسیم در مراحل مختلف رشد تخم ماهی قزل آلا رنگین کمان تفاوت معنی‌داری بین آب ورودی و خروجی دارد (۱). غلظت‌های مختلف عنصر معدنی کلسیم آب محیط تفریخ بر میزان تفریخ و تبادل یونی قزل آلا رنگین کمان^۱ در سازگان مدار بسته تأثیر موثری دارد (۲). در تخم قزل آلا رنگین کمان، جذب یون‌های سدیم، آهن و روی قبل از زمان خروج لارو از تخم به اثبات رسیده است و جذب کلسیم، سدیم، پتاسیم، آهن و روی از آب پس از جذب کیسه زرده اتفاق می‌افتد. برخی از مواد معدنی در طول زمان از طریق جذب از آب محیط زندگی در بافت‌های بدن تجمع یافته و به تدریج با افزایش غلظت خود، اثرات سمی و کشنده بر حیات موجود می‌گذارند (۱۵). به طور کلی یون‌های ایجاد کننده سختی در حد زیادی می‌توانند باعث مسمومیت در آزاد ماهیان شوند که با توجه به گونه ماهی و حتی بین جمعیت‌های مختلف یک گونه متفاوت است (۲۰). درباره تأثیر کلسیم جیره غذایی بر محتوای مواد معدنی اجزای مختلف لاشه، پژوهش‌های مختلفی انجام شده است (۱۴ و ۲۳) و نتایج حاصل از آنها حاکی از تأثیر متفاوت کلسیم بر ترکیبات شیمیایی و بیوشیمیایی لاشه در هر گونه می‌باشد. به نظر می‌رسد نیازمندی کلسیم برای ماهیان باله‌دار تحت تأثیر شیمی آب، تفاوت بین گونه‌ای و سطح فسفر جیره قرار داشته باشد (۱۶). گرچه، استثنائاتی در مورد ماهیان عادت داده شده با آب شیرین و شور در مورد توانایی جذب فعال کلسیم از محیط زیست خود از طریق آبشش و اپیتلیوم روده وجود دارد (۱۱).

با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش‌های مختلف، به نظر می‌رسد مقدار کلسیم مورد نیاز در جیره غذایی

جدول ۲ ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی را نشان می‌دهد. تعداد دفعات غذادهی ۲ بار در روز و در ساعات ۹ صبح و ۵ بعد از ظهر، در حد اشتها و تا زمان سیر شدن کامل ماهیان ادامه داشت.

نمونه‌گیری و اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی بدن ماهی

در ابتدای آزمایش تعداد ۵ قطعه ماهی هم وزن از هر تیمار صید و جهت انجام آزمایش‌های آنالیز محتویات کل بدن و عناصر لاشه در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در انتهای آزمایش نیز تعداد ۳ قطعه ماهی از هر واحد آزمایشی صید و جهت انجام آزمایش‌های تجزیه شیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند.

تعیین میزان عناصر جیره و لاشه

تعیین میزان عناصر اجزای جیره و لاشه توسط دستگاه Atomic absorption مدل Shimadzu AA-670 صورت گرفت. ابتدا یک گرم نمونه را در بشر ۱۰۰ سی‌سی ریخته و ۲۰ سی‌سی اسید نیتریک غلیظ به آن اضافه شد. پس از یک شب، پنج میلی‌لیتر اسید پرکلریدریک ۷۰ درصد به آن اضافه گردید. بشر روی اجاق قرار داده شد تا به تدریج هضم صورت گرفته و اسید بخار شود. پس از سرد شدن، ۳-۴ قطره اسید کلریدریک غلیظ اضافه و برای ۱۰ الی ۱۵ دقیقه به حال خود گذاشته شد. سپس سه میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال اضافه شد. این محلول داخل بالن ۱۰۰ سی‌سی صاف شده و با افزودن آب مقطر در پشت کاغذ صافی و بشر، آنها نیز به خوبی شستشو شدند. بالن با آب مقطر به حجم ۱۰۰ سی‌سی رسانیده و در نهایت محلول برای اندازه‌گیری با دستگاه جذب اتمی آماده گردید (۱۹).

و یک پمپ چرخشی هوادهی می‌شدند پس از ۲ روز استفاده شد. تهویه مرکزی واحدهای آزمایش توسط یک سیستم هواده مرکزی و یک سنگ هوا برای هر مخزن صورت گرفت. چرخش آب در هر واحد توسط یک پمپ در کف هر مخزن که توسط شلنگ به سمت بالا هدایت شده و پس از عبور از یک فیلتر استوانه‌ای از جنس پشم شیشه، تعبیه شده در یک مخزن استوانه‌ای پلاستیکی به ظرفیت ۴ لیتر به صورت ریزشی از ارتفاع ۳۰ سانتی‌متری به داخل مخازن باز می‌گشت، تامین گردید. مقادیر غذای اضافی و مدفوع جمع شده در فیلترها هر دو روز یک بار جمع‌آوری و فیلترها تعویض شد. این تحقیق در ماه‌های بهمن ۱۳۸۹ تا فروردین ۱۳۹۰ انجام گرفت. دمای محیط توسط یک دستگاه بخاری گازسوز دارای ترموستات، در حد ثابت (۱۶ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد) نگه داشته شد و روشنایی نیز به صورت طبیعی تامین گردید. مقادیر پی‌اچ و دما به صورت روزانه و اکسیژن محلول و هدایت الکتریکی ۲ بار در هفته اندازه‌گیری شدند. نرخ تعویض آب به میزان ۲۰ درصد و هر ۲ تا ۳ روز یک بار صورت گرفت.

آماده‌سازی غذا و غذادهی

جیره‌های آزمایشی با انتخاب اجزای مورد نیاز (جدول ۱) ساخته شد. این جیره دارای ۰/۹۵۱ درصد کلسیم کل بود که به عنوان جیره پایه (اول) در نظر گرفته شد. سایر جیره‌های آزمایشی با اضافه کردن کربنات کلسیم (CaCO_3) به جیره پایه ساخته شد که این مقدار جایگزین α -سلولز موجود در جیره گردید. مقادیر پروتئین خام، چربی خام، خاکستر و ماده خشک و همچنین برخی عناصر از قبیل کلسیم و فسفر و ... مواد اولیه قبل و بعد از ساخت جیره‌ها اندازه‌گیری و جیره پایه (تیمارهای آزمایش) براساس این اطلاعات فرموله و ساخته شد.

جدول ۱: اجزای تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی و درصد استفاده هر یک

اجزای جیره	جیره اول	جیره دوم	جیره سوم	جیره چهارم
پودر ماهی	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵
پودر گوشت	۲	۲	۲	۲
روغن ماهی	۸	۸	۸	۸
آرد گندم	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲
سبوس گندم	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴
کنجاله سویا	۲۳	۲۳	۲۳	۲۳
کنجاله پنبه دانه	۹/۳۳	۹/۳۳	۹/۳۳	۹/۳۳
آرد جو	۱/۶۶	۱/۶۶	۱/۶۶	۱/۶۶
آرد ذرت	۲	۲	۲	۲
مکمل ویتامینه	۱	۱	۱	۱
α -سلولز	۲	۱/۴	۰/۹	۰/۴
کربنات کلسیم	--	۰/۶	۱/۱	۱/۶
مجموع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

هر لیتر مکمل ویتامینه حاوی ۷۰۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۷۰۰۰۰ واحد ویتامین D₃، ۷۰۰۰ واحد ویتامین E، میلی گرم ویتامین B₂، ۱/۷۵۰ میلی گرم ویتامین B₆، ۸/۷۵ میلی گرم ویتامین B₁₂، ۷۰۰۰ واحد نیاسین، ۸۷۵ میلی گرم ویتامین B₁، ۸۷۵

جدول ۲: میانگین ترکیب بیوشیمیایی و شیمیایی کل جیره پایه بر حسب ماده خشک

Fe(ppm)	Cu(ppm)	Zn(ppm)	Mn(ppm)	%Mg	%P	%K	%Ca	%Ash***	%EE*	%CP*
۴۲۵/۰۰	۱۲/۷۵۰	۷۵/۸۹	۷۰/۰۵	۰/۲۷۰	۱/۰۰۶	۰/۹۲۷	۰/۹۵۱	۶/۴۱	۱۱/۴۴	۳۸/۳۴

CP*: پروتئین خام، EE*: چربی خام، Ash***: خاکستر

اندازه‌گیری غلظت عناصر در آب

تعیین میزان کلسیم و منیزیم

برای اندازه‌گیری مجموع یون‌های کلسیم و منیزیم در آب واحدهای آزمایش از روش تیتراسیون استفاده شد. برای این منظور ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه آب مورد آزمایش درون ظروف یک بار مصرف شفاف ریخته شد. سپس ۱۰ قطره محلول تامپون (۶/۷۵ گرم NH₄Cl را با ۵۸ میلی‌لیتر NH₃ به حجم ۱۰۰ رسانده شد) و سه قطره محلول آریوکروم به آنها اضافه گردید. رنگ محلول

ارغوانی خواهد شد. سپس عمل تیتراسیون با محلول EDTA با نرمالیت ۰/۰۲ تا جایی صورت گرفت که رنگ محلول از ارغوانی به آبی تغییر یافته و ثابت شود. با یادداشت حجم EDTA مصرفی و استفاده از فرمول زیر، مقدار مجموع عناصر کلسیم و منیزیم آب به دست آمد (۴).

$$Ca+Mg = \frac{B \times N \times 100}{V}$$

B: حجم EDTA مصرفی

n: نرمالیت EDTA

v: حجم نمونه اولیه آب

تعیین میزان پتاسیم و سدیم

برای تعیین میزان سدیم و پتاسیم نمونه‌های آب از دستگاه فلم فتومتر Flame photometer استفاده شد. روش کار بدین صورت بود که ابتدا دستگاه با محلول‌های استاندارد مربوط به هر عنصر، کالیبره شده و سپس با قرار دادن نمونه‌ها در محل مخصوص، دستگاه اعداد مربوطه را نشان داد. با رسم نمودار و جایگزینی اعداد به دست آمده، میزان پتاسیم و سدیم نمونه‌های آب مورد آزمایش اندازه‌گیری و تعیین شدند (۴).

روش‌های آماری مورد استفاده

کلیه داده‌های درصدی به صورت $\sqrt{x}$ arcsin تبدیل شدند. داده‌های به دست آمده از متغیرهای آزمایش، با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One way-ANOVA) مقایسه و به منظور بررسی سطح اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan's new multiple range test) در سطح اعتماد ۹۵٪ استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 و رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel 2007 انجام شد.

نتایج

تغییرات عناصر محتوای کل بدن

تجزیه شیمیایی ترکیبات بدن ماهیان در ابتدای آزمایش و تیمارهای مختلف کلسیم در انتهای آزمایش بر اساس درصد ماده خشک (خطای معیار میانگین) در جدول ۳ نشان داده شده است. داده‌های به دست آمده نشان داند که تغییرات میانگین میزان عناصر کلسیم، فسفر، منیزیم، آهن، روی و مس محتوای کل بدن در شروع آزمایش و در بین تیمارهای مختلف معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). اما میانگین میزان پتاسیم و منگنز محتوای کل بدن در شروع آزمایش و در بین تیمارهای مختلف تغییرات معنی‌داری را نشان ندادند (جدول ۳). افزایش میانگین میزان کلسیم

برای محاسبه میزان کلسیم و منیزیم آب، ابتدا با روش تیتراسیون مقدار عنصر کلسیم محاسبه و سپس با کسر از مجموع کلسیم و منیزیم به روش ذکر شده، مقدار منیزیم نمونه به دست آمد. برای این کار و محاسبه مقدار کلسیم، ابتدا به ۱۰ میلی‌لیتر آب مورد آزمایش، ۱۰ میلی‌لیتر سود نرمال و چند ذره پودر Murexid اضافه شد. رنگ محلول قرمز متمایل به ارغوانی است. سپس با EDTA دارای نرمالیت ۰/۰۲، عمل تیتراسیون تا زمان تغییر رنگ محلول به ارغوانی متمایل به بنفش ادامه یافت. با یادداشت حجم EDTA مصرفی و رابطه زیر مقدار کلسیم نمونه به دست آمد (۴).

$$Ca = \frac{C \times n \times 100}{v}$$

C: حجم EDTA مصرفی

n: نرمالیت EDTA

v: حجم نمونه اولیه آب

تعیین میزان کلر

برای اندازه‌گیری عنصر کلر در نمونه‌های آب، از روش تیتراسیون به شرح زیر استفاده شد. به ۱۰ میلی‌لیتر از آب نمونه، سه قطره محلول کرومات پتاسیم که زرد رنگ می‌باشد اضافه شد. سپس این محلول با محلول نیترات نقره ($AgNO_3$) با نرمالیت ۰/۰۱، تیترا شد. با یادداشت حجم نیترات نقره مصرف شده در زمان تغییر رنگ محلول از زرد به قرمز و رابطه زیر مقدار کلر نمونه آب به دست آمد (۴).

$$Cl = \frac{A \times n \times 100}{v}$$

A: حجم نیترات نقره مصرفی

n: نرمالیت نیترات نقره

v: حجم نمونه اولیه آب

لازم به ذکر است که میزان عناصر مذکور بر حسب میلی‌اکی والان در لیتر محاسبه و سپس با تبدیل واحد به میلی‌گرم در لیتر ثبت شدند (۴).

لاشه در تیمارهای سوم و چهارم نسبت به شروع آزمایش معنی‌دار می‌باشد ($p < 0/05$). بیشترین میزان منیزیم در تیمار چهارم و کمترین آن در تیمار سوم مشاهده شد. بین تیمارهای مختلف، تغییرات میانگین میزان منگنز در تیمارهای اول و سوم نسبت به تیمار چهارم دارای اختلاف معنی‌دار است ($p < 0/05$). مقادیر میانگین روی در لاشه تنها در تیمار سوم نسبت به شروع آزمایش کاهش یافت و این در حالی است که در تیمارهای دیگر این مقدار افزایش یافته است. میانگین میزان مس در لاشه

در تیمارهای اول، دوم و سوم در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش کاهش یافت در حالی که این میزان در تیمار چهارم نسبت به شروع آزمایش افزایش یافته است. میانگین میزان آهن در لاشه در تیمارهای اول، دوم و سوم در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0/05$). میانگین میزان آهن در لاشه در تیمارهای اول، دوم و سوم در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش کاهش یافته در حالی که این میزان در تیمار چهارم نسبت به شروع آزمایش افزایش یافته است. به طور چشمگیری افزایش یافته است ($p < 0/05$).

جدول ۳: تجزیه شیمیایی ترکیبات بدن ماهیان در ابتدای آزمایش و تیمارهای مختلف کلسیم در انتهای آزمایش بر اساس درصد

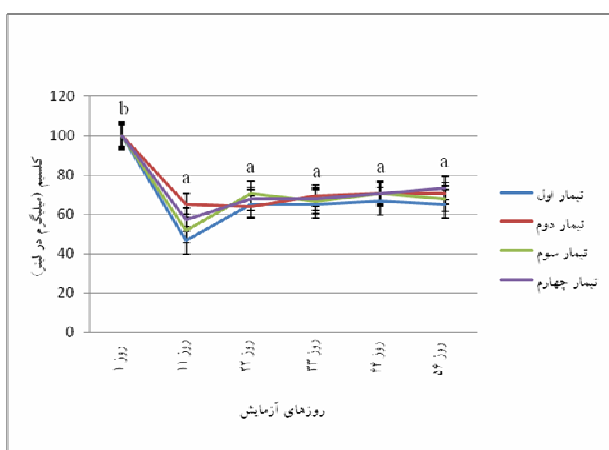
ماده خشک (خطای معیار $\pm$ میانگین)*

ترکیب %	ابتدای آزمایش	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	P
کلسیم	$2/06 \pm 0/04^a$	$2/48 \pm 0/15^{ab}$	$2/46 \pm 0/13^{ab}$	$2/52 \pm 0/06^b$	$3/21 \pm 0/31^c$	0/008
فسفر	$1/16 \pm 0/01^a$	$1/84 \pm 0/01^c$	$1/88 \pm 0/01^d$	$1/82 \pm 0/00^b$	$1/82 \pm 0/00^b$	0/000
پتاسیم	$0/81 \pm 0/01^a$	$0/80 \pm 0/02^a$	$0/81 \pm 0/01^a$	$0/81 \pm 0/02^a$	$0/81 \pm 0/01^a$	0/998
منیزیم	$0/16 \pm 0/01^a$	$0/19 \pm 0/01^c$	$0/19 \pm 0/00^c$	$0/19 \pm 0/00^b$	$0/20 \pm 0/20^d$	0/000
منگنز (ppm)	$20/55 \pm 1/30^{ab}$	$18/10 \pm 1/27^a$	$21/85 \pm 1/34^{ab}$	$18/15 \pm 0/64^a$	$24/20 \pm 1/70^b$	0/074
روی (ppm)	$114/95 \pm 0/73^b$	$134/30 \pm 0/71^d$	$116/05 \pm 1/48^b$	$105/90 \pm 0/14^a$	$124/25 \pm 0/07^c$	0/000
مس (ppm)	$28/30 \pm 0/99^{bc}$	$24/85 \pm 1/48^a$	$26/10 \pm 0/85^{ab}$	$27/05 \pm 0/49^{ab}$	$29/75 \pm 0/07^c$	0/018
آهن (ppm)	$259/30 \pm 2/57^c$	$232/90 \pm 7/92^b$	$229/40 \pm 0/85^b$	$189/85 \pm 4/60^a$	$592/95 \pm 5/87^d$	0/000

* حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در آزمون دانکن می‌باشد.

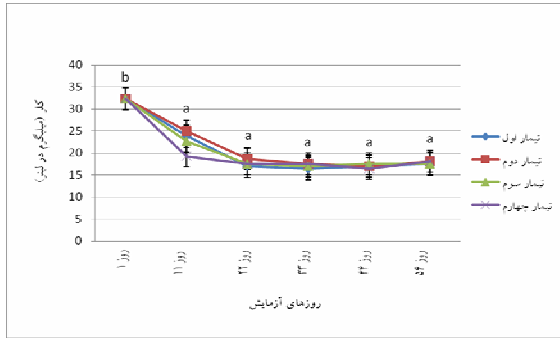
تغییرات مقدار عناصر معدنی در آب

تغییرات مقادیر عناصر معدنی در آب محیط پرورش در نمودارهای ۱ الی ۵ ارائه شده است. مقدار کلسیم، سدیم و کلر در آب در کلیه تیمارها نسبت به شروع آزمایش کاهش (نمودار ۱، ۴ و ۵) و مقدار پتاسیم (نمودار ۲) افزایش معنی‌داری یافت ($p < 0/05$). تغییرات منیزیم در آب از ابتدا تا انتهای آزمایش جز روز بیست و سوم، بین تیمار دوم و سوم ($p < 0/05$)، معنی‌دار نبود (نمودار ۳).



نمودار ۱: تغییرات مقادیر کلسیم آب طی دوره آزمایش در

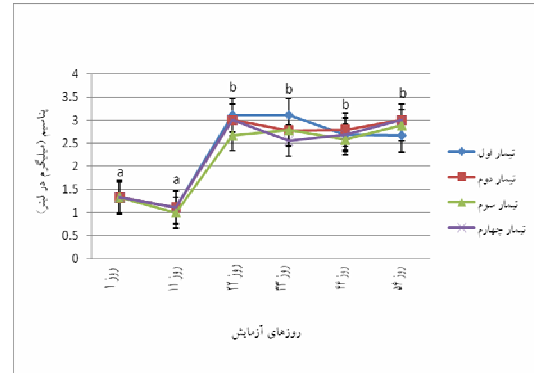
تیمارهای مختلف کلسیم (خطای معیار $\pm$ میانگین، $p < 0/05$)



نمودار ۵: تغییرات مقادیر کلر آب طی دوره آزمایش در تیمارهای مختلف کلسیم (خطای معیار $\pm$ میانگین، $p < 0.05$).

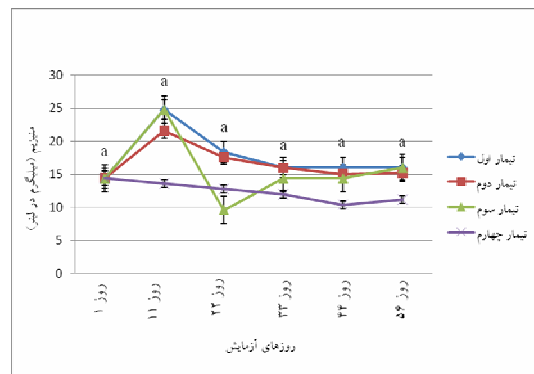
بحث

در این تحقیق تاثیر تغییرات یون کلسیم معدنی جیره غذایی قزل آلاي رنگين کمان بر تغییرات میزان یون‌های محتوای بدن و آب محیط پرورش در بچه ماهیان ماهی قزل آلاي رنگين کمان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پژوهش حاضر با نتایج حاصل از بررسی تاثیر کلسیم جیره بر میزان کلسیم محتوای بدن در ماهی Atlantic cod (*Gadus morhua*) (۱۴) و بچه ماهیان قزل آلاي رنگين کمان همخوانی دارد، به طوری که افزایش در کلسیم جیره باعث افزایش در کلسیم کل لاشه می‌شود (۸). بیان شده است که افزایش در میزان کلسیم جیره کپور معمولی بدون افزایش میزان فسفر در جیره، باعث کاهش در میزان کلسیم و فسفر کل بدن نمی‌گردد، اما باعث کاهش میزان منیزیم و منگنز لاشه می‌شود (۱۷). تحت تاثیر افزایش مقدار کلسیم در جیره، تغییری در مقدار پتاسیم در محتوای کل بدن ماهی قزل آلاي رنگين کمان مشاهده نشد. به نظر می‌رسد به دلیل ثابت بودن مقدار پتاسیم در جیره‌های آزمایشی و همچنین ثبات تقریبی مقدار کلسیم آب پس از گذشت زمان و همچنین قابلیت جذب پتاسیم مورد نیاز از طریق غذای مصرفی (۱۵) تغییری در مقدار پتاسیم کل بدن بوجود نیامده است. در ماهی Atlantic cod (*Gadus morhua*) مشخص شده است که افزایش مقدار کلسیم جیره، تاثیری بر میزان فسفر لاشه ندارد و افزایش مکمل کلسیم در جیره بدون استفاده از مکمل حاوی فسفر باعث کاهش مقدار فسفر در لاشه نشده است

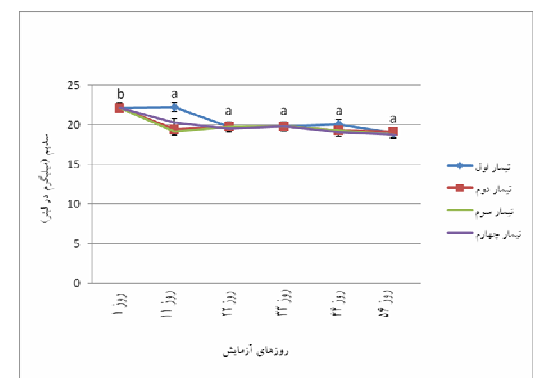


نمودار ۲: تغییرات مقادیر پتاسیم آب طی دوره آزمایش در تیمارهای مختلف کلسیم (خطای معیار $\pm$ میانگین، $p < 0.05$).

در انتهای آزمایش بین تیمارهای مختلف کلسیم، اختلاف معنی‌داری در میانگین میزان کلسیم، پتاسیم، سدیم و کلر آب محیط پرورش در تمامی موارد مشاهده نشد.



نمودار ۳: تغییرات مقادیر منیزیم آب طی دوره آزمایش در تیمارهای مختلف کلسیم (خطای معیار $\pm$ میانگین).



نمودار ۴: تغییرات مقادیر سدیم آب طی دوره آزمایش در تیمارهای مختلف کلسیم (خطای معیار $\pm$ میانگین، $p < 0.05$).

(۱۴). این نتایج در مورد ماهی قزل آلا رنگین کمان نیز به اثبات رسیده است (۸). در مواردی گزارش‌هایی مبنی بر ممانعت از جذب فسفر در زمان حضور کلسیم در جیره وجود دارد که می‌تواند پاسخگوی عدم تغییر در محتوای فسفر بدن در زمان افزایش میزان کلسیم در جیره غذایی باشد (۹، ۱۱ و ۱۷). در مورد ماهیان انگشت قد *Scorpion (Sebastiscus marmoratus)* نیز تغییر در میزان کلسیم جیره تأثیری بر تغییرات فسفر کل بدن و ستون مهره‌ها نداشت (۱۳). این مورد در ماهی هامور (*Epinephelus coioides*) نیز به اثبات رسیده است (۲۳). افزایش میزان کلسیم جیره می‌تواند باعث افزایش منیزیم در محتوای بدن شود اما این افزایش در زمان زیاد بودن کلسیم در جیره اتفاق می‌افتد در ماهی Atlantic cod (*Gadus morhua*) گزارش شده است که افزایش در کلسیم جیره باعث کاهش منیزیم در ستون مهره‌ها و محتوای کل بدن شده است (۱۴). تأثیر منفی میزان بالای کلسیم بر منیزیم استخوان‌ها نیز در ماهی *Scorpion (Sebastiscus marmoratus)* گزارش شده است (۱۳). در برخی از موارد کلسیم موجود در جیره را مانع از جذب برخی عناصر مانند منیزیم دانسته‌اند (۱۳). در پژوهش حاضر، با افزایش کلسیم جیره از ۰/۹۵ درصد تا ۱/۴۱ درصد، منیزیم لاشه کاهش یافت. در ماهی Atlantic salmon پرورش یافته در آب شیرین، میزان منیزیم در پلاسما و در بافت‌های آهکی، با افزایش مقدار کلسیم کاهش یافته است (۲۱). در ماهیان مختلف عنوان شده است که کلسیم موجود در جیره مانع از جذب منگنز خواهد شد، به طوری که این کاهش در میزان منگنز لاشه را می‌توان در مقادیر منگنز استخوان‌ها در ماهیان مختلف مشاهده نمود (۹، ۱۱ و ۱۷). در مورد ماهی Atlantic cod (*Gadus morhua*) نیز تأثیر منفی افزایش کلسیم جیره بر مقدار منگنز ستون مهره‌ها گزارش شده است (۱۴). در زمان وجود نسبت مناسب بین کلسیم و فسفر تأثیری از تغییرات میزان منگنز در فلس، ستون مهره‌ها و سرپوش آبششی ماهی هامور (*Epinephelus coioides*) مشاهده

نگردید (۲۳) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. کاهش در میزان روی تحت تأثیر افزایش کلسیم در جیره در بسیاری از مطالعات به اثبات رسیده است به طوری که در ماهی *Scorpion (Sebastiscus marmoratus)* تأثیر منفی میزان بالای کلسیم جیره بر میزان عنصر روی لاشه مشاهده شده است (۱۳). همچنین تأثیر ممانعتی کلسیم جیره بر جذب روی (۹، ۱۱ و ۱۷) نیز گزارش شده است. این مطلب به اثبات رسیده می‌تواند با نتایج حاصل از پژوهش حاضر نیز همخوانی داشته باشد. اما در زمان افزایش بیشتر کلسیم در جیره می‌توان افزایش در جذب روی در بدن را مشاهده نمود. تأثیر منفی افزایش کلسیم جیره بر جذب روی در ماهیان نیز توسط Glover و همکاران (۱۰) نیز به اثبات رسیده است. به نظر می‌رسد افزایش کلسیم باعث افزایش جذب مس شود. البته تأثیر منفی افزایش کلسیم جیره بر میزان مس در محتوای کل بدن ماهی Atlantic cod (*Gadus morhua*) (۱۴) و *Scorpion (Sebastiscus marmoratus)* (۱۳) گزارش شده است که بیشتر تحت تأثیر مقدار فسفر جیره قرار دارد. تأثیر مقادیر درصد کلسیم جیره بر مقدار آهن در لاشه قزل آلا رنگین کمان، به نظر می‌رسد تأثیر مثبت افزایش عنصر کلسیم بر مقدار جذب آهن بیان شود. اما در مورد ماهی *Scorpion (Sebastiscus marmoratus)* تأثیر منفی میزان بالای کلسیم جیره بر آهن استخوان‌ها گزارش شده است (۱۳) که این مورد با توجه به محیط زندگی این ماهی در آب شور قابل توجیه است (شوری و جذب آهن از غذا). از نتایج به دست آمده از این پژوهش و در مقایسه با سایر نتایج ارائه شده توسط سایر پژوهشگران می‌توان این گونه نتیجه‌گیری کرد که با توجه به نوع گونه و شیمی آب و همچنین محیط زیست ماهی، برهمکنش بین عناصر مخصوصاً کلسیم و فسفر و نسبت کلسیم به فسفر در جیره می‌تواند بر جذب سایر یون‌ها در بدن گونه آبرزی تأثیرگذارتر باشد.

نتایج حاصل از بررسی تأثیر درصد کلسیم جیره بر مقدار عناصر کلسیم، منیزیم، کالر، سدیم و پتاسیم آب

نشان دادند که مقدار کلسیم آب در ابتدا در بالاترین حد خود تحت تاثیر منبع آبی است اما با سپری شدن زمان، مقدار کلسیم در آب کاهش و سپس با افزایش نسبی در حد ثابتی تا پایان آزمایش در کلیه تیمارها حفظ شده است. مکانیسمی که برای جذب کلسیم از طریق سلول‌های پوششی آبششی بیان شده است با ورود غیر فعال کلسیم به داخل سلول از طریق کانال کلسیم موجود در غشاء راسی شروع و باعث انتقال کلسیم به سیتوپلاسم می‌گردد. پس از آن انتقال کلسیم به داخل خون از میان غشاء قاعده‌ای- جانبی از طریق Ca^{2+} -ATPase و یا انتقال دهنده $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ صورت می‌گیرد (۷). به نظر می‌رسد قابلیت جذب عنصر کلسیم از آب محیط پرورش توسط ماهی دلیل کاهش نسبی اولیه باشد و سپس افزایش آن نیز به دلیل وجود کلسیم در جیره است. در نهایت ماهی با قدرت حفظ تعادل اسمزی خود توانسته این مقدار را در حد نسبتاً ثابتی نگه دارد. کلسیم به طور عمده از کلیه‌ها و یا آبشش‌ها دفع شده و مدفوع نیز شامل کلسیم خارجی می‌باشد (۱۵). تغییرات پتاسیم آب تحت تاثیر کلسیم جیره نشان می‌دهد که مقدار پتاسیم آب در ابتدای آزمایش در حدی است که ماهی با جذب پتاسیم از آب، مقدار آن را در آب کاهش می‌دهد اما در پایان روز بیست و دوم به نظر می‌رسد به دلیل وجود مقدار پتاسیم ثابت موجود در جیره مقدار پتاسیم در آب افزایش قابل ملاحظه یافت. این افزایش در حد ثبات نسبی تا پایان آزمایش بدون اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف کلسیم و روزهای مختلف آزمایش باقی می‌ماند. ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با توجه به قابلیت جذب منیزیم هم از آب و هم از غذا (۱۵) پس از مدتی توانسته است مقدار آن را در محیط به حد تعادل برساند. به نظر می‌رسد کلسیم جیره در تیمارهای سوم و چهارم، باعث افزایش منیزیم در آب شود. تغییر در میزان کلسیم جیره تاثیر معنی‌داری بر میزان سدیم و کلر آب نداشته اما نسبت به شروع آزمایش کاهش معنی‌داری مشاهده می‌شود. به نظر می‌رسد با توجه به تنظیمات اسمزی و قابلیت جذب و

دفع از محیط این مقادیر به ثبات نسبی در پایان آزمایش رسیده باشند. شاید ناکافی بودن میزان سدیم و کلر موجود در جیره باعث جذب بیشتر آن از محیط آب شده باشد.

به طور کلی به نظر می‌رسد تاثیر مثبت افزایش کلسیم در جیره بر عناصر کلسیم، آهن و فسفر و تاثیر منفی و ممانعتی از جذب عناصر منگنز و منیزیم و فلزات سنگینی مانند روی و مس بایستی مد نظر قرار گرفته و در ارائه جیره‌های مناسب به این موارد توجه خاصی صورت گیرد. با توجه به بحث اینکه مقدار عناصر موجود در ماهی پس از مصرف آن توسط انسان ممکن است در بروز برخی عوارض تاثیر داشته باشد، که در این رابطه عناصری مانند مس، روی و حتی آهن می‌تواند مورد توجه قرار گیرند. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان با تنظیم کلسیم در جیره از بروز برخی مشکلات با استفاده از این تاثیر ممانعتی کلسیم جیره جلوگیری نمود. با توجه به اطلاعات بسیار اندک در مورد تاثیر کلسیم جیره در ترشح و جذب سایر یون‌ها در آب محیط پرورش، قضاوت در مورد تاثیر یون کلسیم بر تغییر سایر یون‌ها در آب مشکل است، لذا آزمایشات و پژوهش‌های گسترده‌تر و در دامنه‌های وسیع‌تری مورد نیاز است تا ارایه نظر قطعی در این مورد صورت گیرد.

پیشنهاد می‌گردد که تاثیر سایر عناصر جیره و در دامنه‌های وسیع‌تر بر رشد، محتوای یونی بدن و کیفیت آب محیط پرورش بررسی شود تا با در نظر گرفتن تاثیر کلیه عناصر و شناسایی و شناخت عملکرد متقابل بین آنها بر رشد قزل‌آلا، بتوان جیره بالانس شده و تامین کننده کلیه نیازهای ماهی ساخت که علاوه بر رشد مناسب، شرایط کیفی آب را در حد مناسب نگهدارد. پیشنهاد می‌شود تاثیر تغییرات کلسیم جیره و آب محیط پرورش بر سایر عناصر در آب محیط پرورش و بیماری‌زایی برخی باکتری‌های و شاید تاثیر کنترل‌کنندگی کلسیم بر رشد و تراکم برخی باکتری‌ها با توجه به نیازهای یونی باکتری‌ها در محیط‌های پرورشی بررسی شود تا به روش‌های نوینی در این زمینه دست یافت.

منابع

- Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 42: 181–184.
- 12- Hayes F.R., Darcy D.A. and Sullivan C.M. (1946). Change in the inorganic constituents of developing salmon eggs. . Biology And Chemistry, 163: 621-631.
- 13- Hossain M.A. and Furuichi M. (2000). Essentiality of dietary calcium supplement in fingerling scorpion fish (*Sebastiscus marmoratus*). Aquaculture, 189: 155–163.
- 14- Kousoulaki K., Fjelldal P.G., Aksnes A. and Albrektsen S. (2010). Growth and tissue mineralisation of Atlantic cod (*Gadus Morhua*) fed soluble P and Ca salts in the diet. Aquaculture, 309: 181–192.
- 15- Lall S.P. (2002). The minerals, Fish Nutrition, 3rd ed. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 259–308.
- 16- Lall, S.P., Lewis-McCrea, L.M. (2007). Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish - an overview. Aquaculture, 267: 3–19.
- 17- Nakamura Y. (1982). Effects of dietary phosphorus and calcium contents on the absorption of phosphorus in the digestive tract of carp. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 48: 409–413.
- 18- NRC (National Research Council). (1993). Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- 19- Petterson D.C., Harris D.J., Rayner J.C., Blakeney A.B. and Choct M. (1999). Methods of the analysis of premium livestock grains. Australian Journal of Agricultural Research, 50: 775-787.
- 20- Stekoll M.S., Smoker W.W., Wang I.A. and Failor B.J. (2003). Salmon as a bioassay model of effects of total dissolved solids. Final Report of the University of Alaska School of Fisheries and Ocean Sciences for the Alaska Science and Technology Foundation, Anchorage, AK.
- 21- Vielma J. and Lall S.P. (1998). Phosphorus utilisation by Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater is not influenced by higher dietary calcium intake. Aquaculture, 160: 117–128.
- 22- Watanabe T., Kiron V. and Satoh S. (1997). Trace minerals in fish nutrition. Aquaculture, 151: 185-207.
- 23- Ye Ch., Liu Y.J., Tian L.X., Mai K.S., Du Z.Y., Yang H.J. and Niu J. (2006). Effect of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, mineral content and body composition of juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. Aquaculture, 255: 263–271.
- ۱- رضایی‌توابع کامران (۱۳۸۴). بررسی تبادل مواد معدنی بین تخم ماهی قزل‌الای رنگین کمان و آب محیط تفریخ. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات. دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران. شماره ۱۱۲۸، صفحه ۵۷.
- ۲- سرخیل مهرداد (۱۳۸۶). بررسی اثرات غلظت‌های مختلف عناصر معدنی کلسیم و سدیم آب محیط تفریخ بر میزان تفریخ و تبادل یونی تخم ماهی قزل‌الای رنگین کمان در یک سازگان مدار بسته. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات. دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران. شماره ۱۳۱۶، صفحات ۴۳ و ۵۶.
- ۳- مهدوی محمد (۱۳۷۸). هیدرولوژی کاربردی. انتشارات دانشگاه تهران. صفحه ۴۰۱.
- 4- American Public Health Association (APHA) (1998). Standard methods for examination of water and waste water, APHA, Washington, DC. P: 1192.
- 5- Barrot K.J. and McDonald D.J. (2001). Change in ion content and transport during development of embryonic rainbow trout. Fish Biology, 59: 1323-35.
- 6- Cowey C.B. (1992). Nutrition: estimating requirements of rainbow Trout. Aquaculture, 100: 177-189.
- 7- Flik G., Klaren P.H.M., Schoenmakers T.J.M., Bijvelds M.J.C., Verboost P.M and Bonga S.E.W. (1996). Cellular calcium transport in fish: unique and universal mechanisms. Physiological Zoology, 69: 403–417.
- 8- Fontagné S., Silva N., Bazin D., Ramos A., Aguirre P., Surget A. and et al. (2009). Effects of dietary phosphorus and calcium level on growth and skeletal development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. Aquaculture, 297: 141–150.
- 9- Gatlin D.M. and Phillips H.F. (1989). Dietary calcium, phytate and zinc interactions in channel catfish. Aquaculture, 79: 256–266.
- 10- Glover Ch.N., Bury N.R. and Hogstrand Ch. (2004). Intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout: evidence for apical pathways associated with potassium efflux and modified by calcium. Biochimica et Biophysica Acta, 1663: 214–221.
- 11- Hardy R.W. and Shearer K.D. (1985). Effect of dietary calcium phosphate and zinc supplementation on whole body zinc concentration of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Canadian