تعیین اثرات غلظت‌های مختلف سدیم آب محیط انکوباسیون بر محتویات یونی تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان *(Oncorhynchus mykiss)*

مهرداد سرخیل[1*]، غلامرضا رفیعی[2]، باقر مجازی امیری[3]، مهرداد فرهنگی[4]

۱- دانشجوی دکتری رشته شیلات- تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، پست الکترونیکی: mehrdadsarkheil@gmail.com

۲- استاد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، پست الکترونیکی: rezarafiee@yahoo.com

۳- استاد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، پست الکترونیکی: bmamiri@ut.ac.ir

۴- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، پست الکترونیکی: medfarhangi@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۱ ** نویسنده مسوول* *تاریخ پذیرش: ۹۳/۱/۲۳*

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۳، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

در این تحقیق در قالب یک طرح کاملا تصادفی، اثرات چهار غلظت مختلف سدیم (۲، ۱۴، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) در آب محیط انکوباسیون تخم، بر مقدار جذب و تجمع عناصر معدنی سدیم، کلسیم، منیزیم، مس، روی و آهن در تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت. واحد آزمایش، سازگان مداربسته‌ای (چرخش آب) با ظرفیت ۴۵ لیتر آب بود که جهت انکوباسیون تخم‌ها، مورد استفاده قرار گرفت. غلظت‌های مختلف عناصر معدنی (۹ عنصر) با اضافه کردن نمک‌های معدنی آنالیتیک به آب مقطر تهیه گردید. در هر یک از تراف‌های واحدهای آزمایش، ۲۲/۵ گرم تخم تازه لقاح یافته قزل آلای رنگین‌کمان ریخته شد. دمای آب در طول مدت آزمایش بین ۱۰-۷/۵ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. میزان عناصر سدیم، کلسیم، منیزیم، مس، روی و آهن در بافت تخم و محیط آب در شروع آزمایش و انتهای آزمایش (مرحله تفریخ تخم) اندازه‌گیری گردیدند. بر اساس نتایج به‌دست آمده یون‌های سدیم و منیزیم در تمامی تیمارها بجز تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر توسط تخم از محیط آب جذب گردیده بودند، درحالی‌که یون‌های کلسیم و آهن توسط تخم از محیط آب جذب نگردیده بودند. عنصر مس در تیمارهای ۲ و ۱۴ میلی‌گرم در لیتر توسط تخم از محیط آب جذب گردیده بود و با افزایش مقدار سدیم آب به ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر جذب مس توسط تخم متوقف شده بود. مقدار جذب روی در تمامی تیمارها یکسان بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P>0/05$). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که میزان جذب و تجمع عناصر سدیم، منیزیم و مس در تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان تحت تاثیر غلظت سدیم محیط آب و بافت تخم است.

کلمات کلیدی: *تخم، قزل آلای رنگین‌کمان، سدیم، محتویات یونی.*

۱. مقدمه

یکی از مراحل مهم در پرورش ماهی، تکثیر مصنوعی است که به معنای انجام فرآیندهایی شامل تخم‌گیری، اسپرم‌گیری، لقاح مصنوعی، انکوباسیون تخم‌ها و تولید نوزاد ماهی تحت کنترل انسان، بر روی مولدین (نرو ماده) است (نظری، ۱۳۷۵). دوره انکوباسیون تخم یکی از مراحل اساسی در چرخه پرورش ماهی است، به‌طوری که فراهم نمودن مناسب‌ترین شرایط زیستی و کنترل رشد و نمو جنین در مرحله انکوباسیون تخم و تولید لارو ماهی با کیفیت مناسب تا حدودی بر موفقیت مرحله پرورش تاثیرگذار است (Depeche and Billard, 1994). بررسی و درک شرایط بوم‌شناختی مورد نیاز برای تکامل جنین ماهی و فراهم نمودن مناسب‌ترین شرایط، مهم‌ترین گام در جهت افزایش میزان تفریخ تخم است (نظری، ۱۳۷۵). از آنجائی‌که شرایط محیطی آب در دوره انکوباسیون تخم بر میزان تفریخ تخم و بازماندگی لارو بعد از تفریخ تاثیرگذار است (Poxton, 1991)، تامین آب با کیفیت مناسب برای تخم ماهی در این دوره بسیار مهم و ضروری است. مشخص شده است که ترکیب یونی محیط آب برای رشد و تکامل جنین ماهیان اهمیت به‌سزایی دارد (Vandervelden et al., 1991) و تخم ماهی نیاز خود به عناصر معدنی را می‌تواند از ذخایر داخلی و یا از آب محیط اطراف خود تامین نماید (Lee and Hu, 1983). مطالعات مختلف نشان داده است که در طول تکامل جنین، عناصر معدنی توسط تخم از محیط آب جذب می‌شوند، به‌طوری‌که جذب یون‌ها ممکن است از طریق شیب الکتروشیمیایی یون‌ها بین مایع پری ویتلین و محیط آب (Peterson and Martin-Robichaud, 1986) و یا به‌وسیله تبادل یونی مستقیما از طریق آنزیم‌های تبادلگر (Shephard, 1987) و یا مجموع این عوامل صورت گیرد. جذب یون سدیم از محیط آب توسط تخم‌های ماهی آزاد اقیانوس اطلس[1] (Hayes et al., 1946) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (Barrett et al., 2001) گزارش شده است. یون سدیم عامل اصلی تنظیم گرادیان یونی و اسمزی غشاء پلاسمایی تخم است و جذب برخی از یون‌ها به غلظت یون سدیم در بافت تخم و آب محیط اطراف تخم بستگی دارد (Alderdic, 1988). اگرچه فلزاتی مانند مس، آهن و روی برای فعالیت‌های فیزیولوژیکی ضروری هستند، اما در غلظت‌های بالا می‌توانند برای موجودات آبزی سمی باشند و غلظت‌های زیر حد کشندگی آنها نیز منجر به بروز تغییراتی در عملکرد طبیعی اندام‌ها می‌گردد (Wepener et al., 2001). مطالعات نشان داده است که یون سدیم با فلزاتی مانند مس برای مکان اتصال رقابت می‌کند که ممکن است منجر به کاهش جذب فلزات گردد (Niyogi and Wood, 2003).

عنصر سدیم یکی از یون‌های غالب در محیط‌های آبی است (Mackareth et al., 1978) و مشخص شده است که این عنصر توسط تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان از محیط آب جذب می‌گردد (Barrett et al., 2001)، اما مطالعات چندانی در زمینه اثرات غلظت‌های مختلف این عنصر در محیط آب انکوباسیون تخم این گونه بر جذب و تجمع سایر عناصر معدنی صورت نگرفته است. با توجه به نقش عناصر معدنی پرنیاز و کم‌نیاز در تکامل جنین ماهیان و اهمیت مرحله انکوباسیون تخم در موفقیت تکثیر مصنوعی و تولید بچه ماهی (Depeche and Billard, 1994) و همچنین سمیت برخی از این عناصر مانند آهن، مس و روی در اثر جذب بیش از حد در طول تکامل جنین، در این تحقیق سعی گردید اثر چهار غلظت مختلف سدیم (۲، ۱۴، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) آب محیط انکوباسیون بر میزان تجمع عناصر پرنیاز کلسیم و منیزیم و همچنین عناصر کم نیاز آهن، مس و روی در تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گیرد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. طرح آزمایش

این مطالعه در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام گردید. در این مطالعه از چهار غلظت متفاوت سدیم در قالب چهار تیمار و سه تکرار در یک طرح کاملا تصادفی استفاده شد. غلظت سدیم آب در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب ۲، ۱۴، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود.

۲-۲. تهیه محلول انکوباسیون تخم

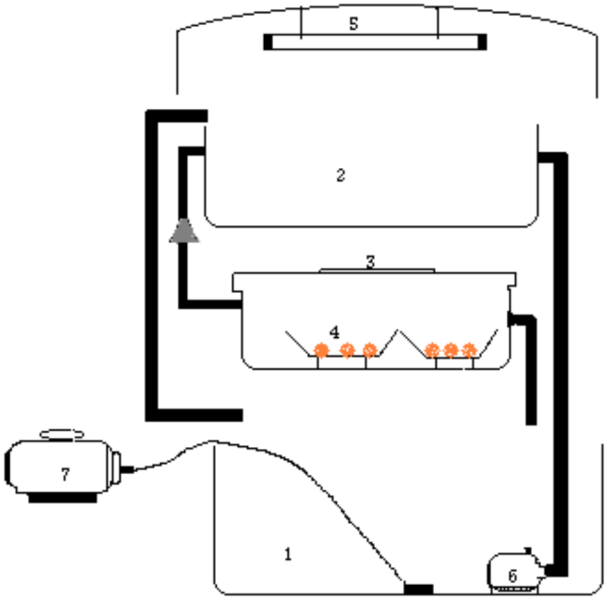
به‌منظور تهیه محلول انکوباسیون تخم (محیط تفریخ تخم) در تیمارهای مختلف، در ابتدا آب کارگاه تکثیر و پرورش ماهی

[1] *Salmo salar*

جهت کاهش بار مواد معلق و حذف کلر آزاد آب به‌ترتیب از فیلتر پلی پروپیلن ۵ میکرونی و فیلتر زغال فعال عبور داده شد. سپس آب فیلتر شده جهت حذف املاح معدنی و تهیه آب مقطر با هدایت الکتریکی (EC) کمتر از ۲ میکروزیمنس بر سانتی‌متر از دستگاه دیونایزر مدل L.7.4 شامل دو ستون حاوی رزین‌های کاتیونی و دو ستون حاوی رزین‌های آنیونی عبور داده شد و سپس مقدار عناصر معدنی کلسیم، سدیم، پتاسیم، منیزیم، فسفر، آهن، مس، روی و منگنز در ترکیب آب مقطر با استفاده از دستگاه ICP مدل GBC Integra XL در دانشکده منابع طبیعی- دانشگاه تهران اندازه‌گیری شد. سپس با افزودن نمک‌های آنالتیک (Merck) شامل NaCl، $CaCl_2$، KCl، $(MgCO_3)_4.Mg(OH)_2.5H_2O$، $FeCl_3.6H_2O$، $ZnCl_2$، $Na_2HPO_4.12H_2O$، $CuSO_4.5H_2O$ و $MnCl_2.4H_2O$ به آب مقطر تهیه شده، تیمارها و غلظت مناسب عناصر معدنی برای انکوباسیون تخم‌ها در سازگان مدار بسته (چرخش آب) فراهم شد (استاندارد سایر عناصر بجز تیمارها، بر اساس میانگین میزان عناصر معدنی در تعدادی از رودخانه‌های ایران ارائه شده توسط وزارت نیرو تعیین شد)، سپس غلظت عناصر معدنی در محلول‌های تهیه شده با استفاده از دستگاه ICP اندازه‌گیری گردید (جدول ۱) و پس از تائید صحت غلظت عناصر مورد نظر، محلول‌های تهیه شده به واحدهای آزمایش انتقال داده شدند. واحد آزمایش شامل یک سازگان مداربسته (چرخش آب) با ظرفیت ۴۵ لیتر آب بود (شکل ۱). حداکثر میزان آب ورودی به تراف تخم، ۲ لیتر در دقیقه تنظیم شد. در طول دوره انکوباسیون تخم‌ها، تعویض آب صورت نگرفت و فقط آب تبخیر شده با آب مقطر دوبار تقطیر جبران گردید. جهت ضدعفونی کردن آب در حال چرخش از لامپ اشعه ماوراء بنفش (UV) ۲۰ وات با طول موج ۲۴۶ نانومتر استفاده گردید.

۲-۳. انکوباسیون تخم

عمل لقاح تخم با استفاده از تخمک‌های ۳ ماهی مولد ماده با وزن متوسط ۱/۴۸ کیلوگرم و مایع منی ۳ ماهی مولد نر با میانگین وزنی ۱/۱۷ کیلوگرم به‌روش خشک صورت گرفت. تخم‌های لقاح یافته با یکدیگر مخلوط و همگن گردیدند و پیش از انتقال تخم‌ها به سینی‌های تراف، نمونه‌برداری از تخم‌ها (۱۰۰ عدد) در سه تکرار جهت اندازه‌گیری مقدار عناصر سدیم، کلسیم، منیزیم، مس، روی و آهن در تخم‌های تازه لقاح یافته صورت گرفت. سپس در هر یک از تراف‌های واحد آزمایش، ۲۲/۵ گرم (۲۷۰ عدد) تخم تازه لقاح یافته توزیع شد.



شکل ۱: شکل شماتیک سازگان مداربسته (واحد آزمایش) جهت انکوباسیون تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان.۱- مخزن آب. ۲- مخزن آب. ۳ - تراف پلاستیکی. ۴- سینی پلاستیکی. ۵- لامپ اشعه ماوراء بنفش (UV) ۲۰ وات. ۶- پمپ آب مدل RS-4000 ۷- هواده سیفونی ۸۵ وات

۲-۴. اندازه‌گیری مقدار عناصر معدنی تخم و عوامل فیزیکی و شیمیایی آب

هم‌زمان با شروع تفریخ تخم‌ها در روز سی و یکم بعد از لقاح (۳۰۰ درجه- روز) نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری مقدار عناصر سدیم، کلسیم، منیزیم، مس، روی و آهن صورت گرفت. جهت بررسی محتویات معدنی تخم، تخم‌های نمونه برداری شده به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. جهت هضم شیمیایی تخم‌ها از محلول اسید نیتریک[1] به نسبت ۱ به ۶ استفاده گردید. پس از قرار دادن نمونه‌ها به مدت حداقل ۳ ساعت در دمای اتاق جهت انجام عمل هضم مقدماتی، نمونه‌ها به‌مدت ۵ ساعت در دمای حداکثر ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه هیتر دایجست مدل FOSS Digestor Tecator 2006 قرار داده شدند.

[1] Nitric acid 65% extra pure

جدول ۱: غلظت عناصر معدنی (انحراف معیار ± میانگین) در تیمارهای مختلف سدیم آب محیط انکوباسیون تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان

	غلظت عناصر معدنی آب (میلی گرم در لیتر)								
تیمارها	سدیم	کلسیم	پتاسیم	منیزیم	فسفر	آهن	مس	روی	منگنز
۱	۰/۰۶۵±۲/۰۳	۵۴/۵۵±۱/۱۹	۱/۹۴±۰/۰۵	۹/۱۱±۰/۲۲	۱/۴۵±۰/۰۱۵	۰/۰۵۵±۰/۰۰۰۸	۰/۰۳۴±۰/۰۰۰۶	۰/۰۲۶±۰/۰۰۰۲	۰/۰۱۴±۰/۰۰۰۳
۲	۰/۱۸±۱۴/۱۸	۵۴/۶۵±۰/۸۳	۱/۹۱±۰/۰۵	۹/۱۲±۰/۲۶	۱/۴۴±۰/۰۱۳	۰/۰۵۴±۰/۰۰۱۴	۰/۰۳۳±۰/۰۰۰۹	۰/۰۲۶±۰/۰۰۰۴	۰/۰۱۵±۰/۰۰۰۲
۳	۰/۱۶±۵۰/۹۵	۵۴/۵۱±۰/۶۰	۱/۹۲±۰/۰۳	۹/۱۹±۰/۱۵	۱/۴۶±۰/۰۱۰	۰/۰۵۳±۰/۰۰۱۳	۰/۰۳۴±۰/۰۰۰۸	۰/۰۲۴±۰/۰۰۰۳	۰/۰۱۵±۰/۰۰۰۳
۴	۰/۵۸±۹۹/۴۱	۵۴/۶۲±۱/۱۴	۱/۹۳±۰/۰۵	۹/۲۳±۰/۱۳	۱/۵۴±۰/۰۲۵	۰/۰۵۴±۰/۰۰۱۸	۰/۰۳۲±۰/۰۰۰۶	۰/۰۲۵±۰/۰۰۰۵	۰/۰۱۴±۰/۰۰۰۳

محلول شفاف حاصل از هضم شیمیایی به بالن‌های حجم‌سنجی ۵۰ میلی‌لیتر منتقل و با آب مقطر دوبار تقطیر به حجم رسانده شد (Moopam, 1983). به‌منظور اندازه‌گیری میزان عناصر سدیم، کلسیم، منیزیم، مس، روی و آهن در نمونه‌های محلول حاصل از هضم شیمیایی از دستگاه ICP مدل GBC Integra XL استفاده گردید.

هم‌زمان با نمونه‌برداری از تخم‌ها، یک لیتر آب از هر یک از واحدهای آزمایش نمونه‌گیری گردید و میزان عناصر سدیم، کلسیم، منیزیم، مس، روی و آهن با استفاده از دستگاه ICP اندازه‌گیری شد. در طول مدت آزمایش pH و درجه حرارت با استفاده از دستگاه pH متر و هدایت‌سنج دیجیتالی مدل PC300 اندازه‌گیری گردید، به‌طوری‌که تغییرات این عوامل، بین تیمارهای مختلف به‌ترتیب بین ۷/۲۳–۷/۱۰ و ۱۰–۷/۵ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. میزان اکسیژن محلول به‌وسیله دستگاه اکسیژن‌متر دیجیتالی مدل DO300 اندازه‌گیری گردید که مقدار آن در تیمارهای مختلف بین ۱۱/۴۲–۱۰/۳۹ میلی‌گرم در لیتر در نوسان بود. سنجش میزان آمونیاک آب در طول دوره آزمایش با استفاده از دستگاه فتومتر مدل Palintest 8000 انجام شد، به‌طوری‌که مقدار آن در بین تیمارهای مختلف بین ۰/۸۱–۰/۰۷ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود.

۲-۵. تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این مطالعه داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌اند. به‌منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogrov-smirnove استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌های متغیرهای مورد بررسی در بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه[1] استفاده شد. جهت تعیین اختلاف میانگین‌ها در بین تیمارها از آزمون دانکن در سطح اعتماد ۹۵ درصد استفاده به عمل آمد. برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های شروع و انتهای آزمایش در هر یک از تیمارها به‌صورت مقایسه درون گروهی از آزمون T نمونه‌های جفتی[2] در سطح اعتماد ۹۵ درصد استفاده گردید. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد.

۳. نتایج

۳-۱. تغییرات مقدار عناصر معدنی تخم

تغییرات مقدار عناصر معدنی تخم در شروع و انتهای دوره آزمایش در جدول ۲ نشان شده است. بر طبق نتایج این جدول، اگرچه میانگین میزان سدیم تخم در انتهای آزمایش (مرحله تفریخ تخم) در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش (تخم تازه لقاح یافته) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵)، اما میانگین میزان سدیم تخم در تیمار ۱ در مقایسه با شروع آزمایش تغییر معنی‌داری نیافت (P>۰/۰۵).

جدول ۲: مقادیر عناصر معدنی تخم (میلی‌گرم/گرم وزن خشک) در شروع آزمایش (تخم تازه لقاح یافته) و تیمارهای مختلف سدیم آب محیط انکوباسیون تخم در انتهای آزمایش (مرحله تفریخ تخم) (انحراف معیار ± میانگین، P<۰/۰۵).

عنصر معدنی	شروع آزمایش	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
سدیم	۰/۷۴±۰.۲۱۰ ^{a}	۰/۸۴±۰/۰۶۴ ^{a}	۱/۰۴ ±۰/۰۵۱ ^{b}	۱/۰۶±/۰۷۹ ^{b}	۱/۲۲±۰/۰۸۷ ^{c}
کلسیم	۱/۸۰±۰/۰۷۷ ^{a}	۱/۷۷±۰/۰۱۶ ^{a}	۱/۹۲±۰/۰۱۲ ^{a}	۱/۸۸±۰/۰۶۲ ^{a}	۱/۸۴±۰/۰۷۵ ^{a}
منیزیم	۱/۳۹±۰/۰۱۵ ^{a}	۱/۴۴±۰/۰۳۴ ^{ab}	۱/۴۷±۰/۰۴۱ ^{bc}	۱/۴۵±۰/۰۱ ^{bc}	۱/۵۱±۰/۰۳۷ ^{c}
مس	۰/۰۱۰±۰/۰۰۳ ^{a}	۰/۱۱±۰/۰۰۱ ^{c}	۰/۰۶۵±۰/۰۱۴ ^{b}	۰/۰۱۶±۰/۰۰۱ ^{a}	۰/۰۱۵±۰/۰۰۱ ^{a}
روی	۰/۰۶۵±۰/۰۰۱ ^{a}	۰/۰۸۵±۰/۰۰۶ ^{b}	۰/۰۸۵±۰/۰۰۱ ^{b}	۰/۰۸۹±۰/۰۰۹ ^{b}	۰/۰۹۰±۰/۰۰۵ ^{b}
آهن	۰/۰۶۱±۰/۰۰۴ ^{a}	۰/۱۱±۰/۰۳۰ ^{a}	۰/۰۸۶±۰/۰۰۷ ^{a}	۰/۰۵۱±۰/۰۰۲ ^{a}	۰/۰۵۴±۰/۰۰۵ ^{a}

حروف یکسان در بالای اعداد در یک ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها است (P>۰/۰۵).

در بین تیمارهای سدیم، بیشترین و کمترین میزان سدیم تخم به‌ترتیب در تیمارهای ۴ و ۱ مشاهده گردید. میانگین میزان کلسیم تخم در انتهای آزمایش در مقایسه با این مقدار در شروع آزمایش به‌طور معنی‌داری تغییر نیافت (P>۰/۰۵). میانگین میزان منیزیم تخم

[1] One-way ANOVA

[2] Paired-Sample t-test

در انتهای آزمایش در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵)، درحالی‌که میانگین میزان منیزیم تخم در تیمار ۱ در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش به‌طور معنی‌داری تغییر نیافت (P>۰/۰۵). اگرچه در بین تیمارها، میانگین میزان منیزیم تخم در تیمار ۴ نسبت به تیمار ۱ به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۵)، اما با تیمارهای ۲ و ۳ تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵).

میانگین میزان مس تخم در مرحله تفریخ در تیمارهای ۱ و ۲ در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵)، اما میانگین میزان مس تخم در تیمارهای ۳ و ۴ نسبت به این مقدار در شروع آزمایش به‌طور معنی‌داری تغییر نکرد (P>۰/۰۵). در بین تیمارها، بیشترین میزان مس تخم در تیمار ۱ و کمترین میزان در تیمارهای ۳ و ۴ مشاهده گردید. میانگین مقدار روی تخم در انتهای آزمایش در تمامی تیمارها در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵)، در صورتی‌که میانگین میزان روی تخم در انتهای آزمایش در بین تیمارها یکسان بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری در میانگین میزان آهن تخم در انتهای آزمایش در تیمارهای مختلف در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).

۳-۲. *تغییرات مقدار عناصر معدنی آب محیط انکوباسیون تخم*

تغییرات مقدار عناصر معدنی آب محیط انکوباسیون تخم در شروع و انتهای آزمایش در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳: مقادیر عناصر معدنی آب (میلی‌گرم/ لیتر) در شروع و انتهای آزمایش در تیمارهای مختلف سدیم آب محیط انکوباسیون تخم (انحراف معیار ± میانگین، P<۰/۰۵)

عنصر معدنی	زمان	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
سدیم	شروع آزمایش	۲/۰۳±۰/۰۶۵^{a}	۱۴/۱۸±۰/۱۸^{a}	۵۰/۹۵±۰/۱۶^{a}	۹۹/۴۱±۰/۵۸^{a}
	انتهای آزمایش	۱/۳۶±۰/۱۲^{b}	۱۱/۳۰±۰/۲۴^{b}	۴۳/۰۵±۱/۴۲^{b}	۷۹/۰۸±۱/۴۳^{b}
کلسیم	شروع آزمایش	۵۴/۵۵±۱/۱۹^{a}	۵۴/۶۵±۰/۸۳^{a}	۴۹/۷۲±۰/۶۴^{b}	۵۴/۶۲±۱/۱۴^{a}
	انتهای آزمایش	۵۴/۸۳±۱/۲^{a}	۴۹/۷۲±۰/۶۴^{b}	۵۱/۴۵±۰/۹^{b}	۵۲/۰۵±۱/۲۳^{a}
منیزیم	شروع آزمایش	۹/۱۱±۰/۲۲^{a}	۹/۱۲±۰/۲۶^{a}	۹/۱۹±۰/۱۵^{a}	۹/۲۳±۰/۱۳^{a}
	انتهای آزمایش	۸/۸۳±۰/۱۷^{b}	۸/۴۲±۰/۴۹^{b}	۸/۶۲±۰/۰۸۸^{b}	۸/۴۱±۰/۱۲^{b}
مس	شروع آزمایش	۰/۰۳۴±۰/۰۰۶^{a}	۰/۰۳۳±۰/۰۰۹^{a}	۰/۰۳۴±۰/۰۰۸^{a}	۰/۰۳۲±۰/۰۰۶^{a}
	انتهای آزمایش	۰/۰۱۷±۰/۰۰۲۸^{b}	۰/۰۱۲±۰/۰۰۴۶^{b}	۰/۰۲۶±۰/۰۰۹۳^{a}	۰/۰۲۶±۰/۰۰۶۳^{a}
روی	شروع آزمایش	۰/۰۲۶±۰/۰۰۲^{a}	۰/۰۲۶±۰/۰۰۴^{a}	۰/۰۲۴±۰/۰۰۳^{a}	۰/۰۲۵±۰/۰۰۵^{a}
	انتهای آزمایش	۰/۰۱۲±۰/۰۰۵^{b}	۰/۰۱۶±۰/۰۰۲۳^{b}	۰/۰۱۳±۰/۰۰۱۳^{b}	۰/۰۱۴±۰/۰۰۷^{b}
آهن	شروع آزمایش	۰/۰۵۵±۰/۰۰۸^{a}	۰/۰۵۴±۰/۰۰۱۴^{a}	۰/۰۵۴±۰/۰۰۱۳^{a}	۰/۰۵۴±۰/۰۰۱۸^{a}
	انتهای آزمایش	۰/۰۲۶±۰/۰۰۵۵^{b}	۰/۰۴۲±۰/۰۰۸^{a}	۰/۰۴۱±۰/۰۲۸^{a}	۰/۰۳۰±۰/۰۲۷^{a}

حروف یکسان در بالای اعداد در شروع و انتهای آزمایش در هر یک ار تیمارها نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها است.

تغییرات میانگین میزان سدیم آب در شروع و انتهای آزمایش در تیمارهای مختلف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میانگین میزان سدیم آب در انتهای آزمایش در مقایسه با شروع آزمایش در تمامی تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). تغییرات میانگین میزان کلسیم آب در شروع و انتهای آزمایش در تیمارهای ۲ و ۳ کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) را نشان داد، درحالی‌که میانگین میزان کلسیم آب در انتهای آزمایش در مقایسه با ابتدای آزمایش در تیمارهای ۱ و ۴ تغییر معنی‌داری نیافت (P>۰/۰۵).

میانگین میزان منیزیم آب در انتهای آزمایش در مقایسه با شروع آزمایش در تمامی تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). میانگین میزان مس آب در انتهای آزمایش در تیمارهای ۱ و ۲ در مقایسه با این مقدار در شروع آزمایش به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵)، اما اختلاف معنی‌داری در میانگین میزان مس آب در شروع آزمایش و انتهای آزمایش در تیمارهای ۳ و ۴ مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). میانگین مقدار روی آب در انتهای آزمایش در تمامی تیمارها در مقایسه با این مقدار در شروع آزمایش به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). به‌علاوه اگرچه اختلاف معنی‌داری در میانگین میزان آهن آب در شروع آزمایش و انتهای آزمایش در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ مشاهده نگردید (P>۰/۰۵)، اما میانگین تغییرات میزان آهن آب در شروع و انتهای آزمایش در تیمار ۱، کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق مشخص گردید که مقدار سدیم تخم در مرحله تفریخ در تیمارهای ۲، ۳ و ۴، در مقایسه با تخم تازه لقاح یافته به‌طور معنی‌داری به‌ترتیب به میزان ۴۰/۸۹، ۴۳/۹۱ و ۶۴/۶۴ درصد افزایش یافته است (جدول ۲) و همچنین مقدار سدیم آب در طول دوره انکوباسیون در این تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است (جدول ۳) که می‌تواند نشانگر جذب سدیم توسط تخم از محیط آب باشد، به‌طوری‌که با افزایش غلظت سدیم آب در تیمارها میزان جذب این یون توسط تخم نیز بیشتر گردیده است. ارتباط خطی بین جذب سدیم توسط تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان و مقدار سدیم آب نشان دهنده این است که یون سدیم می‌تواند از طریق انتشار به‌وسیله عبور از کوریون وارد مایع پری ویتلین گردد (Barrett et al., 2001).

مقدار کلسیم تخم در تیمارهای مختلف سدیم آب در مرحله تفریخ تخم در مقایسه با این مقدار در تخم های تازه لقاح یافته یکسان بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید که نشان‌دهنده عدم جذب کلسیم توسط تخم از آب محیط انکوباسیون است و غلظت‌های مختلف سدیم آب تاثیر معنی‌داری بر جذب کلسیم توسط تخم نداشته است. مشخص شده است که بعضی از گونه‌های ماهیان در مراحل جنینی از ذخایر کلسیم موجود در کیسه زرده خود استفاده می‌کنند و اگر مقدار کلسیم موجود در کیسه زرده برای برطرف کردن نیازهای جنین در حال تکامل کافی نباشد، یون کلسیم می‌تواند از محیط آب جذب شود (Hwang et al., 1994). بنابراین عدم جذب یون کلسیم می‌تواند به‌دلیل بالا بودن مقدار کلسیم (۱/۸۰ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در تخم‌های تازه لقاح یافته باشد. کاهش کلسیم آب در انتهای آزمایش در مقایسه با شروع آزمایش در تیمارهای ۲ و ۳ می‌تواند ناشی از جذب جزئی کلسیم توسط تخم‌ها و یا ته نشین شدن یون کلسیم در طول دوره انکوباسیون تخم‌ها باشد.

مقدار منیزیم تخم در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ در مقایسه با تخم‌های تازه لقاح یافته به‌طور معنی‌داری به‌ترتیب به میزان ۵/۷۵، ۴/۳۱ و ۸/۶۲ درصد افزایش یافت، همچنین مقدار منیزیم آب در تمامی تیمارها در طول دوره انکوباسیون تخم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که نشان دهنده جذب منیزیم از محیط آب است. کاهش مقدار منیزیم آب در تیمار ۱ می‌تواند به‌دلیل جذب جزئی منیزیم توسط تخم باشد. در واقع افزایش مقدار سدیم آب تفریخگاه در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ باعث جذب یون منیزیم توسط تخم از محیط آب گردیده است. به‌نظر می‌رسد که جذب یون‌های سدیم و منیزیم وابسته به یکدیگر باشند، به‌طوری‌که در این تحقیق عدم جذب سدیم در تیمار ۱ (غلظت سدیم آب ۲ میلی-گرم در لیتر) مانع از جذب یون منیزیم توسط تخم گردیده است. مطالعات نشان داده است که کمبود منیزیم در ماهیان همراه با ایجاد اختلال در تعادل سایر یون‌ها مانند کلسیم، سدیم و پتاسیم می‌گردد (Dabrowska et al., 1991). مشخص شده است که در ماهی *Oreochromiss mossambicus* کاهش جذب منیزیم از طریق جیره غذایی باعث کاهش انتقال سدیم از طریق آبشش‌ها می‌شود (Vandervelden et al., 1992b)، همچنین در ماهی کپور معمولی[1] مشخص شده است که کمبود منیزیم همراه با کاهش در فعالیت آنزیم Na-K-ATPase در آبشش‌ها است (Vandervelden et al., 1992a). Mc Williams (1993) بیان کرد که افزایش مقدار سدیم در تخم ماهی آزاد اقیانوس اطلس همراه با ظهور سلول‌های غنی از میتوکندری در سطح جنین و کیسه زرده است. در واقع افزایش انتقال دهنده‌های یون سدیم در سطح جنین و کسیه زرده در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ می‌تواند موجب افزایش جذب یون سدیم و متعاقبا افزایش جذب یون منیزیم گردیده باشد.

عنصر مس در تیمارهای ۱ و ۲ توسط تخم از آب تفریخگاه جذب گردید، به‌طوری‌که مقدار مس تخم در مرحله تفریخ در مقایسه با این مقدار در تخم تازه لقاح یافته به‌طور معنی‌داری به‌ترتیب در حدود ده و شش برابر افزایش یافت، همچنین مقدار مس آب در طول دوره انکوباسیون در این تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. مقدار مس تخم در تیمارهای ۳ و۴ در مقایسه با تخم تازه لقاح یافته تغییر معنی‌داری نکرد و همچنین تغییر معنی‌داری در مقدار مس آب در این تیمارها در طول دوره انکوباسیون مشاهده نگردید که نشان دهنده عدم جذب مس از محیط آب است. در واقع افزایش غلظت سدیم آب و جذب بیشتر یون سدیم توسط تخم در این تیمارها، مانع از جذب مس توسط تخم شده است. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که ممکن است یون‌های سدیم و مس دارای مسیرهای یکسان جذب از محیط آب مانند کانال‌های یونی باشند (Handy et al., 2002)، به‌طوری‌که مشخص شده است که تقریبا ۵۰ درصد انتقال عنصر مس می‌تواند از طریق مسدود شدن کانال سدیم و افزایش مقدار سدیم محیط خارجی کاهش یابد (Bury and Wood, 1999). در ماهی قزل آلای رنگین‌کمان حداقل قسمتی از یون‌های سدیم و مس از طریق کانال‌های یکسانی وارد سلول‌های آبششی می‌شوند و افزایش مقدار سدیم آب می‌تواند مانع از جذب مس از طریق آبشش‌ها گردد (Grosell and Wood, 2002). کاهش جذب یون سدیم توسط تخم در تیمارهای ۱ و ۲ می‌تواند به‌دلیل رقابت یون‌های سدیم و مس در مسیرهای جذب و افزایش جذب عنصر مس باشد. اگرچه عنصر مس برای فرآیندهای متابولیکی ضروری است، اما همچنین می‌تواند برای ماهیان سمی باشد. مشخص شده است که این عنصر، هموستازی یون سدیم را در ماهیان آب شیرین به‌وسیله ممانعت از جذب سدیم از طریق آبشش‌ها تحت تاثیر قرار می‌دهد. مکانیسم سمیت مس در ماهیان شامل کاهش در تبادلگرهای سدیم (ممانعت رقابتی) و همچنین کاهش در

[1] *Cyprinus carpio*

ظرفیت جذب سدیم (ممانعت غیر رقابتی) است (Lauren and Mc Donald, 1987).

مقدار عنصر روی در تخم در مرحله تفریخ در مقایسه با این مقدار در تخم لقاح یافته در تمامی تیمارها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت؛ همچنین کاهش مقدار روی آب در طول دوره انکوباسیون تخم به‌طور معنی‌داری مشاهده گردید که نشان‌دهنده جذب روی توسط تخم از محیط آب است. در مطالعه دیگری نیز مشخص گردید که عنصر روی توسط تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان در مراحل اولیه تکامل جنین از محیط آب جذب می‌گردد (رضایی توابع، ۱۳۸۴). اگرچه عنصر روی توسط تخم در تمامی تیمارها جذب گردید، اما میزان تجمع روی در تخم در غلظت‌های متفاوت سدیم آب یکسان بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید که می‌تواند به‌دلیل متفاوت بودن مسیرهای جذب عناصر سدیم و روی و عدم تاثیر میزان سدیم آب بر جذب عنصر روی باشد. مطالعات نشان داده است که به‌دلیل شباهت فیزیکو-شیمیایی بین عنصر روی و سایر کاتیون‌های دوظرفیتی مانند کلسیم و کادمیوم، جذب عنصر روی تحت تاثیر این عناصر باشد (Hill and Marrone, 1970).

در این تحقیق مشخص گردید که در تمامی تیمارها عنصر آهن توسط تخم از آب محیط انکوباسیون جذب نگردیده است و غلظت‌های مختلف سدیم آب تاثیر معنی‌داری بر تجمع آهن در تخم نداشته اند، به‌طوری‌که میزان عنصر آهن در تخم در مرحله تفریخ در مقایسه با این مقدار در تخم تازه لقاح یافته در تمامی تیمارها یکسان بوده و اختلاف معنی‌داری قابل مشاهده نیست و همچنین مقدار آهن آب در طول دوره انکوباسیون تخم‌ها در تمامی تیمارها به جز تیمار ۱ به‌طور معنی‌داری تغییر نیافت. در مطالعه صورت گرفته در مورد جذب عنصر آهن توسط تخم‌های چشم زده و لاروهای دارای کیسه زرده و تازه به تغذیه افتاده ماهی قزل آلای قهوه‌ای[1] در آب حاوی ۰/۳۵ و ۳۵ میلی‌گرم در لیتر کلرور آهن مشخص گردید که آهن آب برای تخم‌های چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه زرده غیر قابل دسترس است که نشان‌دهنده این است که جنین در حال تکامل، آهن مورد نیاز خود را از زرده به‌دست می‌آورد، اما لاروهای تازه به تغذیه افتاده، آهن را فقط در غلظت‌های بالا جذب می کنند (Anderson, 1997). عدم جذب آهن از محیط آب احتمالا به‌دلیل بالا بودن مقدار آهن در تخم تازه لقاح یافته (۰/۰۶۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) و عدم نیاز تخم به آهن برای برطرف کردن نیازهای جنین بوده است.

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق می‌توان بیان کرد که جذب و تجمع عناصر معدنی سدیم، منیزیم و مس در تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان تحت تاثیر غلظت سدیم محیط آب و بافت تخم است، به‌طوری‌که با افزایش غلظت سدیم محیط انکوباسیون تخم، میزان تجمع عناصر معدنی پرنیاز سدیم و منیزیم افزایش می‌یابد، در حالی‌که جذب و تجمع عنصر کم نیاز مس در تخم این گونه متوقف گردیده است. بنابراین به‌نظر می‌رسد که به‌کارگیری غلظت مناسب یون سدیم در آب مورد استفاده برای انکوباسیون تخم ماهی قزل آلای رنگین‌کمان می‌تواند برای رشد و تکامل جنین این گونه مفید باشد و همچنین به‌نظر می‌رسد که شناسایی غلظت مناسب عناصر معدنی مورد نیاز تخم می‌تواند در طراحی یک سازگان مداربسته جهت انکوباسیون تخم‌های این گونه مفید واقع گردد، با توجه به اینکه کنترل و اعمال مدیریت بر عوامل فیزیکی و شیمیایی آب در تفریخگاه‌های سنتی سخت و دشوار است. بنابراین برای نیل به این هدف نیاز است که اثر غلظت‌های سایر عناصر معدنی نیز بر رشد و تکامل جنین ماهی قزل آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گیرد.

۵. سپاسگزاری

از همکاری اساتید محترم گروه شیلات و محیط زیست دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران و کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های شیلات و آب و خاک دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

رضایی توابع، ک.، ۱۳۸۴. بررسی تبادل مواد معدنی بین تخم ماهی قزل آلا رنگین‌کمان و آب محیط تفریخ. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات،دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران.

نظری، ر. م.، ۱۳۷۵. زیست شناسی و تکثیر ماهی کپور نقره ای. معاونت تکثیر و پرور ش آبزیان، اداره کل آموزش و ترویج، ۹۳ صفحه.

[1] *Salmo trutta*

elements. Federation Proceeding, 29: 1471– 1484.

Hwang, P.P.; Tsai, Y.N.; Tung, Y.C., 1994. Calcium balance in embryos and larvae of the freshwater adapted teleost, *Oreochromis mossambicus*. Journal of Fish Physiology and Biochemistry, 13: 325-333.

Lauren, D.J.; Mc Donald, D.G., 1987. Acclimation to copper by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 44:99-104.

Lee, C.S.; Hu, F., 1983. Influence of Ca and Mg ions on the egg survival of grey mullet, *Mugil cephalus* L. Journal of Fish Biology, 22: 13-20.

Mackareth, F.J.H.; Heron, J.; Talling, J.F., 1978. Water analysis: Some revised methods for limnologist. Freshwater Biological Association Sci. Pul. No. 36, Freshwater Biological Association, U.K. 119 p.

McWilliams, P.G., 1993. Environmental induction of Na^+ transporter affinity in Atlantic salmon embryos. Journal of Fish Biology, 42: 119-130.

Moopam, M., 1983. Manual of Oceanographic Observation and Pollution Analysis. Regional Organization for the protection of Marine Enviroment (ROPME).

Niyogi, S.; Wood, C.M., 2003. Effect of chronic waterborne and dietary metal exposures on gill metal-binding: implications for the Biotic Ligand Model. Human and Ecological Risk Assessment, 9: 813-846.

Peterson, R.H.; Martin-Robichaud, D.J., 1986. Perivitelline and vitelline potentials in teleost eggs as influenced by ambient ionic strength, natal salinity, and electrode electrolyte and the influence of these potentials on cadmium dynamics within the egg. Canadian Journal of Fisheries and aquatic Sciences, 43: 1445-1450.

Poxton, M.G., 1991. Incubation of salmon eggs and rearing of alevins. Aquaculture Engineering, 10: 30-35.

Shephard, K.L., 1987. Ion-exchange phenomena regulate

Alderdice, D.F., 1988. Osmotic and ionic regulation in teleost eggs and larvae. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds), Fish Physiology. Academic Press, Sandiego. 163-251 p.

Andersen, O., 1997. Accumulation of waterborne iron and expression of ferritin and transferrin in early developmental stages of brown trout (*Salmo trutta*). Fish Physiology and Biochemistry, 16: 223–23.

Barrett, K.J.; Mc Donald, D.G.; Donnell, M.J., 2001. Changes in ion content and transport during development of embryonic rainbow trout. Journal of Fish Biology, 59: 1323-1335.

Bury, N.R.; Wood, C.M., 1999. Mechanism of branchial apical silver uptake by rainbow trout is via the proton-coupled Na channel. American Journal of Physiology, 277: 1385–1391.

Dabrowska, H.; Meyer-Burgborff, K.H.; Gunther, K.D., 1991. Magnesium status in freshwater fish, common carp (*Cyprinus carpio*, L.) and the dietary protein–magnesium interaction. Fish Physiology and Biochemistry, 9: 165–172.

Depeche, J.; Billard, R., 1994. Embryonic in fish a review. Society France Ichthyology, Paris. 123 p.

Grosell, M.; Wood, C.M., 2002. Copper uptake across rainbow trout gills: mechanisms of apical entry. The Journal of Experimental Biology, 205: 179 – 188.

Handy, R.D.; Eddy, F.B.; Bainesa, H., 2002. Sodium-dependent copper uptake across epithelia: a review of rationale with experimental evidence from gill and intestine. Biochimica et Biophysica Acta, 1566: 104-115.

Hayes, F.R.; Darcy, D.A.; Sullivan, C.M., 1946. Changes in the inorganic constituents of developing salmon eggs. The Journal of Biological Chemistry, 163: 621-631.

Hill, C.H.; Matrone, G., 1970. Chemical parameters in the study of in vivo and in vitro interactions of transition

experimental Zoology, 264: 237–244.

Vandervelden, J.A.; Flik, G.; Wendelaar Bonga, S.E., 1992b. Prolactin cell activity and ion regulation in tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters): effects of a low magnesium diet. Journal of Fish Biology, 40: 875-885.

Wepener, V.; Vuren, J.H.J.V.; Preez, H.H.D., 2001. Uptake and distribution of a copper, iron and zinc mixture in gill, liver and plasma of a freshwater teleost, Tilapia sparrmanii. Water SA Journal, 27: 99-108.

the environment of embryos in the eggs of freshwater fish. Comparative Biochemistry and Physiology, 88A: 659-662.

Van der velden, J.A.; Spaning, F.A.; Bongu, S.E., 1991. Early stages of carp (*Cyprinus carpio*) depend on ambient for their development. Journal of Experimental Biology, 191: 37-58.

Vandervelden, J.A.; Flik, G.; Spanings, F.A.T.; Verburg, T.G.; Kolar, Z.I.; Wendelaar Bonga, A.S.E., 1992a. Physiological effects of low-magnesium feeding in the common carp, *Cyprinus carpio*. Journal of