

## تاثیر غلظت‌های مختلف کلسیم آب محیط انکوباسیون بر میزان تفریح و محتویات یونی (کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز) تخم ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در یک سازگان مدار بسته

مهرداد سرخیل\*<sup>۱</sup>، غلامرضا رفیعی<sup>۱</sup>، باقر مجازی امیری<sup>۱</sup>، مهرداد فرهنگی<sup>۱</sup>

گروه، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۱۳

شناسه دیجیتال (DOI): [10.22113/jmst.2017.47006](https://doi.org/10.22113/jmst.2017.47006)

### چکیده

در این تحقیق اثرات چهار غلظت مختلف کلسیم (۸، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) آب محیط تفریح تخم، بر درصد چشم زدگی، درصد تفریح و جذب عناصر کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز توسط تخم ماهی قزل آلائی رنگین کمان در یک سازگان مدار بسته مورد بررسی قرار گرفت. جهت انکوباسیون تخمها از ۱۲ واحد آزمایشی (سازگان مدار بسته) با ظرفیت ۴۵ لیتر استفاده شد. غلظت‌های مختلف عناصر معدنی (کلسیم، سدیم، پتاسیم، منیزیم، فسفر، آهن، مس، روی، منگنز) با اضافه کردن نمک‌های معدنی آزمایشگاهی (Merck) به آب مقطر تهیه گردید. ۲۱ گرم تخم تازه لقاح یافته در هر یک از ترفاه‌های واحدهای آزمایش ریخته شد. دمای آب و اکسیژن محلول در طول مدت آزمایش در بین تیمارها به ترتیب بین ۷/۵-۹ درجه سانتی گراد و ۹/۸۰-۱۱/۱۱ میلی گرم در لیتر متغیر بود. اختلاف معنی داری در میانگین درصد چشم زدگی تخمها در بین تیمارهای مختلف وجود نداشت ( $P > 0/05$ ). میانگین درصد تفریح تخم در بین تیمارهای مختلف معنی داری بود ( $P < 0/05$ ). درصد تفریح تخم در تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود. وزن تر تخم در تیمار ۲۵ میلی گرم در لیتر در مرحله تفریح در مقایسه با تخم تازه لقاح یافته در شروع آزمایش و سایر تیمارها در مرحله تفریح بطور معنی داری بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). یون کلسیم توسط تخم از آب تفریحگاه جذب نگردید. دفع یون پتاسیم از تخم در تیمارهای ۸ و ۲۵ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید. عنصر مس در تمامی تیمارها توسط تخم از محیط آب جذب گردید و مقدار این عنصر در تیمار ۸ میلی گرم در لیتر در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). عنصر منگنز در تیمارهای ۸ و ۲۵ میلی گرم در لیتر از محیط آب جذب گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان غلظت کلسیم ۵۰ میلی گرم در لیتر آب مناسب ترین غلظت کلسیم جهت تفریح تخم ماهی قزل آلائی رنگین کمان می باشد و پیشنهاد می شود که این غلظت جهت استاندارد سازی منابع آبی و در کاربری آب برای انکوباسیون تخم قزل آلائی رنگین کمان مد نظر قرار گیرد.

**واژه های کلیدی:** قزل آلائی رنگین کمان، کلسیم، تفریح تخم، محتویات یونی، سازگان مدار بسته.

\* نویسنده مسئول. پست الکترونیک: mehrdadsarkheil@gmail.com

## ۱. مقدمه

دوره انکوباسیون تخم، یکی از مراحل اساسی در چرخه تولید ماهی می باشد (Depeche and Billard, 1994). از آنجایی که کیفیت و کمیت آب در دوره انکوباسیون بر میزان تفریح تخم و بازماندگی لارو بعد از تفریح تاثیر گذار است (Poxton, 1991)، تامین آب با کیفیت و کمیت مناسب برای تکامل تخم و لارو ماهی در این دوره بسیار مهم و ضروری می باشد. مشخص شده است که ترکیب یونی محیط آب برای رشد و تکامل جنین ماهیان اهمیت دارد (Vandervelden et al., 1991). عناصر کلسیم، منیزیم، سدیم و پتاسیم از مهمترین کاتیونهای محیط های آبی بوده و از بین این عناصر، کلسیم و سدیم از فراوانترین یونها در محیط های آبی می باشند (Mackareth et al., 1978). یون کلسیم به علت تاثیر بر نفوذپذیری غشاهای بیولوژیکی، از انتشار یونها به خارج از بافتها و به محیط آب جلوگیری نموده و برای تبادل یونی ماهیان آب شیرین بسیار مهم می باشد (Bigvel et al., 1998). مطالعات نشان داده است که در ماهی تیلاپیا (*Corydora schwartzi*) با افزایش مقدار کلسیم آب به ۵۰۰ میکرو مول در لیتر در یک محیط اسیدی، مقدار دفع یون پتاسیم به میزان ۵۰ درصد کاهش می یابد (Matsuo and Val, 2002). پتاسیم از یونهای تک ظرفیتی است که در تنظیم پتانسیل غشاء پلاسمایی و فشار اسمزی تخم نقش بسزایی دارد (Hagiwara and Jeffe, 1979). همچنین یون کلسیم از طریق رقابت با کاتیون های فلزی برای اتصال به کانال های کلسیم در غشاء راسی<sup>۱</sup> از تجمع و سمیت فلزات جلوگیری می کند (Lucu and Obersnel, 1996). مشخص شده است که در محیط های آبی، عنصر منگنز در مقایسه با سایر فلزات کمیاب بشدت سمی بوده و سمیت آن تحت تاثیر سختی آب می باشد (Stubblefield et al., 1996). همچنین در مطالعه

دیگری مشخص شد که با قرار گرفتن ماهی تیلاپیا نیلوتیکوس (*Oreochromis niloticus*) به مدت چهار روز در آب حاوی ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کلسیم، مقدار جذب و انتقال عنصر مس از آبششها به خون کاهش می یابد (Abdel-Tawwab, 2007)، اما برخی مطالعات نشان داده است که در ماهی قزل آلی رنگین کمان، یون کلسیم اثر چندانی بر مکانهای جذب مس ندارد (Zia and Donald, 1994). مس یک عنصر کمینه ضروری برای رشد طبیعی و تولید مثل موجودات بوده و دارای نقش مهمی در فیزیولوژی سلول می باشد (Hubbard, 2005)، اما همچنین می تواند برای ماهیان در غلظتهای ۱۰۰۰-۱۰ میکرومول در لیتر سمی باشد (Spear and Pierce, 1979).

غلظت های پایین کلسیم آب می تواند فرآیند سخت شدن<sup>۲</sup> تخمها را دچار آسیب نماید و باعث افزایش تلفات تخمها گردد (Yamagami et al., 1992). تاثیر آبهای فاقد کلسیم بر میزان جذب آب توسط تخمهای گونه های مختلف متفاوت می باشد، بطوریکه تخمهای لابستر (*Cyclopterus lumpus*) در محیط فاقد کلسیم نرم باقی می ماند و جذب آب صورت نمی گیرد، اما کوریون تخمهای ماهی کاد (*Gadus morhua*) در آب فاقد کلسیم متورم شده و قطر آنها به ۱/۲۷ میلی متر می رسد (Lonning and Kjorsvik, 1984). میزان بقاء و تفریح تخمهای گونه های مختلف در غلظت های مختلف کلسیم متفاوت می باشد. در مطالعه ای میزان مرگ و میر تخمهای قزل آلی قهوه ای (*Salmo trutta*) در آب حاوی ۱ میلی گرم در لیتر کلرید کلسیم، ۹۰-۱۰۰ درصد گزارش گردید، در حالیکه میزان مرگ و میر در آب حاوی ۱۰ میلی گرم در لیتر کلرید کلسیم، به ۲۳-۱۰ درصد کاهش یافت (Brown and Lynom, 1981). با توجه به موارد ذکر شده در رابطه با نقش و اهمیت یون کلسیم در محیط های آبی، در این پژوهش سعی

<sup>۲</sup> hardening process<sup>۱</sup> apical membrane Ca<sup>2+</sup> channel

به منظور تهیه محلول انکوباسیون تخم (محیط تفریخ تخم) در تیمارهای مختلف، در ابتدا آب مقطر با هدایت الکتریکی (EC) کمتر از ۲ میکروزیمنس بر سانتی متر تهیه شد و 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 اندازه گیری شد. تیمارها و غلظت مناسب عناصر معدنی برای انکوباسیون تخمها در سازگان مدار بسته با افزودن نمکهای آزمایشگاهی (Merck) شامل  $\text{NaHCO}_3$ ،  $\text{KCl}$ ،  $\text{CaCl}_2$ ،  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  و  $\text{ZnCl}_2$  به آب مقطر تهیه شده فراهم گردید، سپس غلظت عناصر مورد نظر در محلولهای تهیه شده با استفاده از دستگاه ICP اندازه گیری گردید. (جدول ۱).

گردید که اثرات چهار غلظت مختلف کلسیم (۸، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) آب محیط انکوباسیون بر درصد چشم زدگی، درصد تفریخ، وزن تر، درصد رطوبت و میزان تغییرات غلظت عناصر کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز تخم ماهی قزل آلی رنگین کمان در یک سازگان مدار بسته (چرخش آب) مورد بررسی قرار گیرد.

## ۲. مواد و روشها

### طرح آزمایش

برای رسیدن به اهداف تحقیق، از یک طرح کاملا تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار استفاده شد. غلظت کلسیم آب در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب ۸، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر بود.

### تهیه محلول انکوباسیون تخم

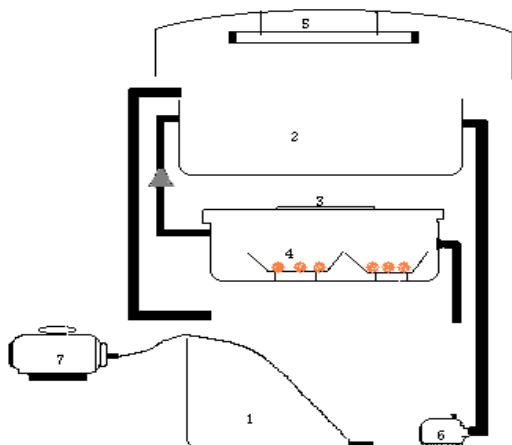
جدول ۱- غلظت عناصر معدنی (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) در تیمارهای مختلف آزمایش

غلظت عناصر معدنی آب (میلی گرم در لیتر)									تیمارها
منگنز	روی	مس	آهن	فسفر	منیزیم	پتاسیم	سدیم	کلسیم	
$0.14 \pm 0.004$	$0.21 \pm 0.01$	$0.15 \pm 0.005$	$0.05 \pm 0.01$					$8/1 \pm 0.16$	۱
.	.	.		$1/4 \pm 0.04$	$9/2 \pm 0.04$	$1/4 \pm 0.01$	$15/3 \pm 0.58$	$2 \pm 0.40$	
$0.15 \pm 0.005$	$0.21 \pm 0.02$	$0.15 \pm 0.004$	$0.05 \pm 0.007$					۲۵	۲
.	.	.	.	$1/4 \pm 0.03$	$9/2 \pm 0.05$	$1/4 \pm 0.025$	$15/2 \pm 0.33$	$3 \pm 0.41$	
$0.14 \pm 0.004$	$0.22 \pm 0.02$	$0.14 \pm 0.007$	$0.05 \pm 0.007$					۵۰	۳
.	.	.	.	$1/4 \pm 0.03$	$9/2 \pm 0.05$	$1/4 \pm 0.015$	$15/3 \pm 0.58$		
$0.14 \pm 0.005$	$0.21 \pm 0.01$	$0.15 \pm 0.006$	$0.05 \pm 0.01$					$9 \pm 1.23$	۴
.	.	.		$1/4 \pm 0.07$	$9/2 \pm 0.05$	$1/4 \pm 0.025$	$15/2 \pm 0.24$	۹۹	

### واحد آزمایش و یا سازگان تفریخ تخم

واحد آزمایش شامل یک سازگان مدار بسته (چرخش آب) با ظرفیت ۴۵ لیتر آب بود. حداکثر میزان آب در حال چرخش ورودی به ترف تخم، ۲ لیتر در دقیقه

بود. در طول دوره انکوباسیون تخمها تعویض آب صورت نگرفت و فقط آب تبخیر شده با آب مقطر دوبار تقطیر جبران گردید. ضد عفونی آب در حال چرخش بوسیله لامپ اشعه ماوراء بنفش (UV) ۲۰ وات با طول موج ۲۴۶ نانومتر صورت پذیرفت.



شکل ۱- شکل شماتیک سازگان مدار بسته (واحد آزمایش) جهت انکوباسیون تخم ماهی قزل آلی رنگین کمان. ۱- مخزن آب. ۲- مخزن آب. ۳- ترف پلاستیکی. ۴- سینی پلاستیکی. ۵- لامپ اشعه ماوراء بنفش (UV) ۲۰ وات. ۶- پمپ آب مدل RS-4000 ۷- هواده سیفونی ۸۵ وات.

### لقاح تخم

عمل لقاح با استفاده از تخمکهای ۲ ماهی مولد ماده با وزن متوسط ۱/۶۵ کیلوگرم و دو ماهی مولد نر با میانگین وزنی ۱/۵۶ کیلوگرم در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی دانشکده منابع طبیعی- دانشگاه تهران صورت گرفت. تخمهای لقاح یافته با یکدیگر مخلوط و همگن گردیدند و پیش از انتقال تخمها به سینی های ترف، نمونه برداری از تخمها (۱۰۰ عدد) با سه تکرار جهت تعیین وزن تر، درصد رطوبت و مقدار عناصر کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز تخم تازه لقاح یافته صورت گرفت. سپس ۲۱ گرم تخم تازه لقاح یافته (۲۷۰ عدد) در هر یک از واحدهای آزمایش ریخته شد.

### تعیین درصد چشم زدگی و تفریخ تخم

چشم زدگی تخمها در روز بیست و دوم (۱۹۷/۷ روز- درجه) بعد از لقاح آغاز شد و با استفاده از رابطه ذیل درصد چشم زدگی تعیین گردید:  $100 \times (\text{تعداد کل تخمها} / \text{تعداد تخمهای چشم زده}) = \text{درصد چشم زدگی}$

تفریخ تخمها در تیمارها در روز سی و پنجم بعد از لقاح (۳۲۹ روز- درجه) آغاز گردید. پس از کامل شدن تفریخ تخمها، با شمارش تعداد لاروهای خارج شده از تخم با استفاده از رابطه ذیل (Geertz Hansen and Rasmussen, 1994) درصد تفریخ تعیین گردید:

$100 \times (\text{تعداد کل تخمها} / \text{تعداد تخمهای مرده}) =$

$\text{تعداد کل تخمها} = \text{درصد تفریخ تخم}$

تیمارهای مختلف بین ۹/۸۰-۱۱/۱۱ میلی گرم در لیتر در نوسان بود. سنجش میزان آمونیاک آب در طول دوره آزمایش با استفاده از دستگاه فتومتر مدل Palintest 8000 انجام شد، بطوریکه مقدار آن در بین تیمارهای مختلف بین ۱/۷۴-۰/۰۴ میلی گرم در لیتر متغییر بود.

### تجزیه و تحلیل داده ها

داده های درصدی با استفاده از رابطه  $\text{Arcsin} \sqrt{p}$  تبدیل شدند. برای مقایسه میانگین های متغیرهای مورد بررسی در بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) استفاده شد. برای تعیین اختلاف میانگین ها در بین تیمارها از آزمون دانکن در سطح اعتماد ۹۵ درصد استفاده بعمل آمد. جهت بررسی وجود اختلاف معنی دار بین داده های شروع و انتهای آزمایش در هر یک از تیمارها بصورت مقایسه درون گروهی از آزمون T نمونه های جفتی (Paired-Sample T Test) در سطح اعتماد ۹۵ درصد استفاده گردید. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد.

### ۳. نتایج

#### درصد چشم زدگی و تفریح تخم

اختلاف معنی داری در میانگین درصد چشم زدگی تخم در بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ). تغییرات میانگین درصد تفریح تخم در تیمارهای مختلف معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). میانگین درصد تفریح تخم در تیمار ۳ در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود، درحالیکه درصد تفریح تخم در بین سایر تیمارها یکسان و اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (جدول ۲).

#### وزن تر و درصد رطوبت تخم

نتایج بدست آمده از اندازه گیری وزن تر و درصد رطوبت تخم در شروع آزمایش (تخم تازه لقاح یافته) و تیمارهای مختلف در انتهای آزمایش (مرحله تفریح تخم) در جدول ۳ ارائه شده است. طبق داده های این

#### تعیین درصد رطوبت و مقدار عناصر معدنی

##### (کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز) تخم

همزمان با شروع تفریح تخمها، نمونه برداری جهت اندازه گیری وزن تر، درصد رطوبت و مقدار عناصر کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز تخمها صورت گرفت. درصد رطوبت تخمها با استفاده از رابطه ارائه شده توسط Barrett et al., 2001 تعیین شد.

جهت بررسی محتویات معدنی تخم، تخم های نمونه برداری شده بمدت ۴۸ ساعت در دستگاه آون مدل UNB400 در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد خشک شدند. جهت هضم شیمیایی تخمها از محلول اسید نیتریک غلیظ به نسبت ۱ به ۶ استفاده گردید. پس از قرار دادن نمونه ها به مدت حداقل ۳ ساعت در دمای اتاق جهت انجام عمل هضم مقدماتی، نمونه ها بمدت ۵ ساعت در دمای حداکثر ۱۴۰ درجه سانتی گراد در دستگاه هیتر دایجست مدل Foss Digester Teecator 2006 قرار داده شدند. محلول شفاف حاصل از هضم شیمیایی به بالن های حجم سنجی ۵۰ میلی لیتر منتقل و با آب مقطر دوبار تقطیر به حجم رسانده شد (Moopan, 1983). جهت اندازه گیری مقدار عناصر کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز در نمونه های محلول حاصل از هضم شیمیایی از دستگاه ICP مدل GBC Integra XL استفاده گردید.

#### اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب

همزمان با نمونه برداری از تخمها، یک لیتر آب از هر یک از واحدهای آزمایش نمونه برداری گردید و میزان عناصر کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز با استفاده از دستگاه ICP اندازه گیری گردید. در طول مدت آزمایش pH و درجه حرارت با استفاده از دستگاه pH متر و هدایت سنج دیجیتالی مدل PC300 اندازه گیری گردید، بطوریکه تغییرات این فاکتورها در بین تیمارهای مختلف به ترتیب بین ۷/۴۵-۷/۱۱ و ۹-۷/۵ درجه سانتی گراد ثبت گردید. میزان اکسیژن محلول بوسیله دستگاه اکسیژن متر دیجیتالی مدل DO300 اندازه گیری گردید که مقدار آن در

تیمارهای ۱، ۳ و ۴ در مقایسه با این مقدار در شروع آزمایش تغییر نکرد. اختلاف معنی داری در مقادیر درصد رطوبت تخم در شروع آزمایش و تیمارهای مختلف مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ).

جدول، تغییرات میانگین وزن تر تخم در شروع آزمایش و تیمارهای مختلف معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). میانگین وزن تر تخم در تیمار ۲ در مقایسه با این مقدار در شروع آزمایش بطور معنی داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ )، اما میانگین وزن تر تخم در

جدول ۲- درصد چشم زدگی و تفریح تخم (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) در تیمارهای مختلف کلسیم

شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
درصد چشم زدگی تخم	۹۱/۱ $\pm$ ۸/۴۷ <sup>a*</sup>	۸۴/۴ $\pm$ ۷/۷۹ <sup>a</sup>	۹۸/۸ $\pm$ ۰/۴ <sup>a</sup>	۹۱/۵ $\pm$ ۷/۰۷ <sup>a</sup>
درصد تفریح تخم	۷۲/۱ $\pm$ ۸/۲۰ <sup>b</sup>	۶۸/۱ $\pm$ ۲/۵۵ <sup>b</sup>	۹۵/۰ $\pm$ ۰/۹۸ <sup>a</sup>	۸۱/۷ $\pm$ ۴/۱۷ <sup>b</sup>

\* حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین میانگین تیمارها می باشد.

جدول ۳- وزن تر و درصد رطوبت (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) تخم در شروع آزمایش و تیمارهای کلسیم در انتهای آزمایش (n=15).

شاخص	شروع آزمایش	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
وزن تر (میلی گرم)	۶۶/۹ $\pm$ ۱/۲۶ <sup>b*</sup>	۷۹/۹ $\pm$ ۱/۶۴ <sup>ab</sup>	۸۹/۱ $\pm$ ۵/۱۱ <sup>a</sup>	۶۵/۰ $\pm$ ۳/۷۶ <sup>b</sup>	۶۸/۶ $\pm$ ۲/۸۹ <sup>b</sup>
درصد رطوبت	۶۶/۰ $\pm$ ۰/۶۸ <sup>a</sup>	۶۵/۴ $\pm$ ۰/۵۳ <sup>a</sup>	۶۸/۴ $\pm$ ۳/۱۴ <sup>a</sup>	۶۴/۶ $\pm$ ۱/۳۱ <sup>a</sup>	۶۶/۸ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>a</sup>

\* حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین میانگین تیمارها می باشد.

میانگین میزان مس تخم در مرحله تفریح در تمامی تیمارها نسبت به این میزان در شروع آزمایش بطور معنی داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). در بین تیمارها، میانگین میزان مس تخم در مرحله تفریح در تیمار ۱ در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). میانگین میزان منگنز تخم در مرحله تفریح در تیمارهای ۱ و ۲ نسبت به این میزان در شروع آزمایش بطور معنی داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ )، اما میانگین این مقدار در تیمارهای ۳ و ۴ در مقایسه با شروع آزمایش بطور معنی داری تغییر نکرد ( $P > 0.05$ ).

**تغییرات مقدار عناصر معدنی (کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز) تخم و آب محیط انکوباسیون**  
تغییرات مقدار عناصر کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز تخم و آب محیط انکوباسیون در شروع و انتهای آزمایش به ترتیب در جداول ۴ و ۵ نشان شده است. طبق نتایج جدول ۴، میانگین مقدار کلسیم تخم در انتهای آزمایش (مرحله تفریح) در تمامی تیمارها در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش (تخم تازه لقاح یافته) بطور معنی داری تغییر نکرد ( $P > 0.05$ ). میانگین میزان پتاسیم تخم در مرحله تفریح در تیمارهای ۱ و ۲ در مقایسه با این میزان در شروع آزمایش بطور معنی داری کاهش یافت ( $P < 0.05$ ).

در شروع آزمایش بطور معنی داری کاهش یافت ( $P < 0/05$ )، اما اختلاف معنی داری در میانگین میزان مس آب در شروع آزمایش و انتهای آزمایش در تیمارهای ۳، ۲ و ۴ مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ). در تمامی تیمارها، میانگین میزان منگنز آب در انتهای آزمایش در مقایسه با ابتدای آزمایش بطور معنی داری کاهش یافت ( $P < 0/05$ ).

بر اساس نتایج جدول ۵، میانگین میزان کلسیم آب در انتهای آزمایش در مقایسه با این مقدار در شروع آزمایش در تمامی تیمارها بطور معنی داری کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). اختلاف معنی داری در میانگین میزان پتاسیم آب در ابتدای آزمایش در مقایسه با این میزان در انتهای آزمایش در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ). میانگین مقدار مس آب در تیمار ۱ در انتهای آزمایش در مقایسه با این مقدار

جدول ۴- مقادیر عناصر کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) تخم بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک در شروع آزمایش و تیمارهای مختلف کلسیم آب در انتهای آزمایش

تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	شروع آزمایش	عنصر معدنی
a	a	a	a	a*	کلسیم
۱/۶۲±۰/۱۶	۱/۷۱±۰/۰۹	۱/۵۶±۰/۰۳	۱/۵۹±۰/۲۶	۱/۵۴±۰/۰۱	
ab	ab	bc	bc	a	پتاسیم
۴/۹۷±۰/۱۷	۴/۸۹±۰/۳۷	۴/۲۸±۰/۱۴	۴/۱۹±۰/۱۵	۵/۰۵±۰/۰۱	
b	b	۰/۰۰۲ <sup>b</sup>	۰/۰۰۴ <sup>c</sup>	a	مس
۰/۰۱۹±۰/۰۰۱	۰/۰۲۰±۰/۰۰۲	۰/۰۱۴±	۰/۰۲۷±	۰/۰۰۶۳±۰/۰۰۰۲	
۰/۰۰۲۷± ۰/۰۰۰۳ <sup>a</sup>	۰/۰۰۲۵±۰/۰۰۰۱ a	۰/۰۰۸۷±۰/۰۰۱۱ b	۰/۰۰۶۵± ۰/۰۰۱۲ <sup>b</sup>	۰/۰۰۳۵±۰/۰۰۰۳ a	منگنز

\* حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین میانگین تیمارها می باشد.

جدول ۵- مقادیر عناصر کلسیم، پتاسیم، مس و منگنز (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) آب محیط انکوباسیون بر حسب میلی گرم بر لیتر در شروع و انتهای آزمایش در تیمارهای مختلف کلسیم آب

عنصر معدنی	زمان	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
کلسیم	شروع آزمایش	$8/1 \pm 0/16$ <sup>a*</sup>	$25/2 \pm 0/40$ <sup>a</sup>	$1/41$ <sup>a</sup> $50/3 \pm$	$1/23$ <sup>a</sup> $99/9 \pm$
	انتهای آزمایش	$0/04$ <sup>b</sup> $7/4 \pm$	$1/03$ <sup>b</sup> $20/1 \pm$	$1/21$ <sup>b</sup> $43/0 \pm$	$4/4$ <sup>b</sup> $85/8 \pm$
پتاسیم	شروع آزمایش	$0/01$ <sup>a</sup> $1/4 \pm$	$0/02$ <sup>a</sup> $1/4 \pm$	$0/01$ <sup>a</sup> $1/4 \pm$	$0/02$ <sup>a</sup> $1/4 \pm$
	انتهای آزمایش	$0/04$ <sup>a</sup> $1/5 \pm$	$0/02$ <sup>a</sup> $1/5 \pm$	$0/02$ <sup>a</sup> $1/4 \pm$	$0/01$ <sup>a</sup> $1/4 \pm$
مس	شروع آزمایش	$0/015 \pm 0/0005$ <sup>a</sup>	$0/015 \pm 0/0004$ <sup>a</sup>	$0/014 \pm 0/0007$ <sup>a</sup>	$0/014 \pm 0/0007$ <sup>a</sup>
	انتهای آزمایش	$0/004 \pm 0/0004$ <sup>b</sup>	$0/009 \pm 0/0009$ <sup>a</sup>	$0/006 \pm 0/0008$ <sup>a</sup>	$0/009 \pm 0/0005$ <sup>a</sup>
منگنز	شروع آزمایش	$0/014 \pm 0/0004$ <sup>a</sup>	$0/015 \pm 0/0005$ <sup>a</sup>	$0/014 \pm 0/0004$ <sup>a</sup>	$0/014 \pm 0/0005$ <sup>a</sup>
	انتهای آزمایش	$0/0022$ $\pm 0/0003$ <sup>b</sup>	$0/0042 \pm 0/0004$ <sup>b</sup>	$0/005 \pm 0/0001$ <sup>b</sup>	$0/0028$ $\pm 0/0007$ <sup>b</sup>

\* حروف انگلیسی متفاوت در شروع و انتهای آزمایش در هر یک از تیمارها نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین میانگین تیمارها می باشد.

#### ۴. بحث و نتیجه گیری

این تحقیق نیز نشان داد که درصد تفریح تخم در تیمارهای مختلف کلسیم متفاوت می باشد، بطوریکه بیشترین درصد تفریح تخم در تیمار ۳ (غلظت کلسیم ۵۰ میلی گرم در لیتر) مشاهده گردید و درصد تفریح تخم در سایر تیمارها در مقایسه با این تیمار بطور معنی داری کمتر بود (جدول ۲). مشخص شده است که افزایش نفوذپذیری تخم در غلظت های پایین کلسیم آب می تواند منجر به اختلال در فرآیند تنظیم اسمزی و مرگ جنین در حال تکامل شود (Abernathy, 2004). نتایج مطالعات دیگر نشان داده است که بازماندگی تخمهای ماهی قزل آلائی رنگین کمان در آب حاوی ۳۴-۴۹ میلی گرم در لیتر کلسیم

درصد چشم زدگی تخم در تیمارهای مختلف کلسیم یکسان بود و اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (جدول ۲)، در واقع می توان بیان کرد که درصد لقاح تقریباً در تمامی تیمارها یکسان بوده و تلفات تخمها در طول دوره انکوباسیون نمی تواند ناشی از عدم لقاح تخمها باشد، در صورتیکه علت تلفات تخمها می تواند غلظت های متفاوت یون کلسیم در تیمارهای مختلف باشد. در مطالعه ای مشخص شد که میزان بقاء و تفریح تخمهای ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) در آب حاوی ۶۳-۳۴ میلی گرم در لیتر کلسیم افزایش می یابد (Ketola et al., 1988). نتایج



افزایش می یابد، اما با افزایش بیشتر غلظت کلسیم میزان بازماندگی تخم و لاروهای حاصل از تفریخ تخم کاهش می یابد (Ketola et al., 1988). در صورت در نظر نگرفتن اثر غلظت سایر یونها بر عملکرد یون کلسیم محیط انکوباسیون تخم، نتایج بدست آمده در این تحقیق نیز بر کاهش درصد تفریخ تخم با افزایش غلظت کلسیم آب از یک حد معینی تاکید دارد.

بیشترین مقدار وزن تر تخم در تیمار ۲ (غلظت کلسیم ۲۵ میلی گرم در لیتر) مشاهده گردید، همچنین درصد رطوبت تخم در این تیمار در مقایسه با تخم تازه لقاح یافته و سایر تیمارها بیشتر بود، اگرچه از نظر آماری اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ) (جدول ۳). در واقع می توان این موضوع را به جذب بیشتر آب توسط تخمها در این تیمار نسبت داد. وزن تر و درصد رطوبت تخم در تیمارهای ۳ و ۴ در مقایسه با این مقادیر در تیمار ۲ کمتر بود که نشان دهنده این نکته است که با افزایش غلظت کلسیم آب در این تیمارها جذب آب توسط تخم کاهش یافته است. مشخص شده است که سختی آب اثر مستقیمی بر جذب آب و بادکردگی تخم تازه لقاح یافته دارد (Spade and Bristow, 1999). اختلاف فشار اسمزی بین مایع پری ویتلین و آب خارج سلولی باعث جذب آب و باد کردن بیشتر تخم می شود (Abernathy, 2004). در مطالعه ای مشخص شد که با کاهش سختی آب، جذب آب و بادکردگی و در نتیجه پارگی پیش رس تخم ماهی باس راه راه (*Morene saxatilis*) افزایش می یابد (Spade and Bristow, 1999). در یک نتیجه گیری کلی می توان بیان کرد که افزایش تلفات تخمها در تیمارهای ۱ و ۲ بدلیل جذب بیش از حد آب توسط تخمها می باشد.

مقدار پتاسیم تخم در مرحله تفریخ در تیمارهای ۱ و ۲ در مقایسه با این مقدار در تخم تازه لقاح یافته بطور معنی داری به ترتیب به میزان ۱۷/۰۲ و ۱۵/۲۴ درصد کاهش یافت (جدول ۴). همچنین مقدار پتاسیم آب تفریخگاه در انتهای آزمایش در مقایسه با شروع آزمایش افزایش یافت، اگرچه از نظر آماری اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۵)، که می تواند نشان دهنده دفع یون پتاسیم از تخم در طول دوره انکوباسیون به محیط آب باشد. مطالعات نشان داده است که مقدار پتاسیم تخم در طول تکامل جنین ماهی آزاد اقیانوس اطلس ثابت باقی می ماند اما کمی قبل از مرحله شروع تفریخ تخم، دفع یون پتاسیم به محیط آب رخ می دهد و لاروهای در حال تکامل علی رغم نیاز به پتاسیم قادر به جذب این یون از محیط آب نمی باشند (Hayes et al., 1946). مقدار پتاسیم تخم در مرحله تفریخ در تیمارهای ۳ و ۴ در مقایسه با این مقدار در تخم تازه لقاح یافته بطور معنی داری تغییر نکرد، همچنین مقدار پتاسیم آب در این تیمارها در طول دوره انکوباسیون دارای تغییرات معنی داری نبود. با توجه به این نکته که یون کلسیم باعث جمع شدن مولکولهای غشاء و کاهش نفوذپذیری غشاء سلولی می شود (Maetz, 1979)، لذا می توان بیان کرد که غلظت کلسیم ۵۰ و ۱۰۰

بعضی از گونه های ماهیان در مراحل جنینی از ذخایر کلسیم موجود در کیسه زرده خود استفاده می کنند و اگر مقدار کلسیم موجود در کیسه زرده برای برطرف کردن نیازهای جنین در حال تکامل کافی نباشد یون کلسیم می تواند از محیط آب جذب شود

بعضی از گونه های ماهیان در مراحل جنینی از ذخایر کلسیم موجود در کیسه زرده خود استفاده می کنند و اگر مقدار کلسیم موجود در کیسه زرده برای برطرف کردن نیازهای جنین در حال تکامل کافی نباشد یون کلسیم می تواند از محیط آب جذب شود

بعضی از گونه های ماهیان در مراحل جنینی از ذخایر کلسیم موجود در کیسه زرده خود استفاده می کنند و اگر مقدار کلسیم موجود در کیسه زرده برای برطرف کردن نیازهای جنین در حال تکامل کافی نباشد یون کلسیم می تواند از محیط آب جذب شود

در مقایسه با این مقدار در تخم تازه لقاح یافته بطور معنی داری تغییر نکرد. در واقع افزایش غلظت کلسیم آب در تیمارهای ۳ و ۴ مانع از جذب منگنز توسط تخم از محیط آب شده است که احتمالاً ناشی از کاهش نفوذپذیری غشاء سلولی در اثر افزایش غلظت کلسیم آب در این تیمارها می باشد. کاهش درصد تفریخ تخم در تیمارهای ۱ و ۲ می تواند بدلیل جذب بیشتر منگنز توسط تخم و سمیت این عنصر باشد. مشخص شده است که سمیت منگنز در ماهی قزل آلابی قهوه ای با افزایش سختی آب کاهش می یابد، بطوریکه در سختی ۳۰ میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم، کاهش بقاء این گونه قابل توجه می باشد اما در سختی های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم، میزان رشد جنین افزایش می یابد (Stubblefield et al., 1996). در ماهی قزل آلابی (*Salvelinus fontinalis*) با افزایش مقدار کلسیم آب از ۰/۰۵ به ۱ میلی مول، غلظت کشنده منگنز ( $LC_{50}$ ) از ۴/۹ به ۵/۸ میلی مول افزایش یافت که نشان دهنده رقابت بین یونهای کلسیم و منگنز برای مکانهای اتصال در اپیتلیوم آبششی می باشد (Gonzalez et al., 1990).

با توجه به افزایش درصد تفریخ تخم، عدم جذب آب و ترکیبگی پیش رس تخم و عدم دفع یون پتاسیم و کاهش جذب و تجمع عناصر مس و منگنز در تخم در غلظت کلسیم ۵۰ میلی گرم در لیتر، این غلظت کلسیم جهت انکوباسیون تخم ماهی قزل آلابی رنگین کمان در یک سازگان مداربسته پیشنهاد می شود. طراحی چنین سازگانی جهت کنترل فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب تاثیر گذار بر تخم ماهی قزل آلابی رنگین کمان در طول دوره انکوباسیون می تواند مفید باشد، با توجه به اینکه کنترل و اعمال مدیریت بر این فاکتورها در تفریخگاههای سنتی سخت و دشوار می باشد. برای نیل به این هدف نیاز است که اثر غلظت های سایر عناصر معدنی نیز بر رشد و تکامل جنین ماهی قزل آلابی رنگین کمان مورد بررسی قرار گیرد.

میلی گرم در لیتر به ترتیب در تیمارهای ۳ و ۴ مانع از دفع یون پتاسیم از تخم به محیط آب شده است. در این تحقیق عنصر مس در تمامی تیمارها توسط تخم از آب تفریخگاه جذب گردید، بطوریکه مقدار مس تخم در مرحله تفریخ در مقایسه با این مقدار تخم تازه لقاح یافته به طور معنی داری افزایش یافت (جدول ۴). همچنین مقدار مس آب در طول دوره انکوباسیون تخمها کاهش یافت، اگرچه این کاهش در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۵). بیشترین میزان تجمع مس در تخم در تیمار ۱ (غلظت کلسیم ۸ میلی گرم در لیتر) مشاهده گردید که می تواند یکی از دلایل افزایش تلفات تخمها در این تیمار باشد. با افزایش غلظت کلسیم به ۲۵ میلی گرم در لیتر در تیمار ۲، مقدار تجمع مس بطور معنی داری به میزان ۴۹/۴۵ درصد کاهش یافت، اما افزایش بیشتر غلظت کلسیم در تیمارهای ۳ و ۴ تاثیر معنی داری بر کاهش تجمع مس در تخمها نداشت. کاهش جذب مس توسط تخمها در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ می تواند بدلیل کاهش نفوذپذیری غشاء تخم در اثر افزایش یون کلسیم در این تیمارها باشد. در مطالعه ای مشخص شد که با سازگاری ماهی آمازونی (*Colossoma macropomum*) به آب حاوی ۱۰۰ میکرو مول در لیتر کلسیم، میزان تجمع مس در مقایسه با ماهیان قرار گرفته در آب با غلظت کلسیم ۱۰ میکرو مول در لیتر، به میزان ۷۷ درصد کاهش می یابد، اما افزایش غلظت کلسیم به ۴۰۰-۲۰۰ میکرو مول در لیتر تاثیری بر تجمع مس ندارد (Matsuo et al., 2005).

عنصر منگنز توسط تخم در تیمارهای ۱ و ۲ از آب تفریخگاه جذب گردید، بطوریکه مقدار منگنز تخم در مرحله تفریخ در مقایسه با این مقدار در تخم تازه لقاح یافته بطور معنی داری به ترتیب در حدود ۲ و ۲/۵ مرتبه افزایش یافت (جدول ۴)، همچنین مقدار منگنز آب در این تیمارها در طول دوره انکوباسیون تخم بطور معنی داری کاهش یافت (جدول ۵). مقدار منگنز تخم در مرحله تفریخ تخم در تیمارهای ۳ و ۴

Hubbard, M. 2005. Integrated sub-lethal biomarker responses to aqueous copper exposure in the mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Philosophy Doctor. Faculty of Science, University of Johannesburg. Pp: 306.

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

Ketola, G. H., Longacre, D., Greulich, A., Pletcherplace, L., Lashomb, R. 1988. High calcium concentration in water increases mortality of salmon and trout eggs. Prog. Fish-Cult. 50: 129-135.

Lonning, S., Kjorsvik, E. 1984. The hardening process of the egg chorion of the cod, *Gadus morhua* L., and lumpsucker, *Cyclopterus lumpus* L. J. Fish Biol. 24: 505-522.

Lucu, C. and Obersnel, V. 1996. Cadmium influx across isolated *Carcinus* gill epithelium: interaction of lanthanum and calcium with cadmium influxes. J. Comp. Physiol. B. 166: 184-189.

Mackareth, F. J. H., Heron, J., Talling, J. F. 1978. Water analysis: some revised methods for limnologist. Freshwater Biological Association Sci. Pul. 36. Freshwater Biological Association. U.K. Pp:119.

Maetz, J. 1974. Aspect of adaption to hypo-osmotic and hyper-osmotic environment. In: Malins, D. C., Sargent, J. R (eds). Biochemichal and Biophysical Perspectives in Marine Biology.1. Academic Press, London. Pp: 1-165.

Matsuo, A. Y., Val, A. L. 2002. Low pH and calcium effects on net Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> fluxes in two cat fish species from the Amazon River (*Corydoras*:Callichthyidae). Braz. J. Med. Biol. Res. 35: 361-367.

Matsuo, A., Y. O., Wood, C. M., Val, A. L. 2005. Effects of copper and cadmium on ion transport and gill metal binding in the Amazonian teleost tambaqui (*Colossoma macropomum*) in extremely soft water. Aquat. Toxicol. 74: 351-364.

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

## تقدیر و تشکر

از همکاری اساتید محترم گروه شیلات و محیط زیست دانشکده منابع طبیعی - دانشگاه تهران و آقایان مهندس عاشوری و نظرزاده در انجام این پژوهش، سپاسگزاری می گردد.

## منابع

Abdel-Tawwab, M., Mousa, M. A.A., Ahmad, M. H., Sakr, S. F.M. 2007. The use of calcium pre-exposure as a protective agent against environmental copper toxicity for juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquacult. 264 : 236-246.

Abernathy, M. A. 2004. Effect of water hardness on the survival of rainbow sharkminnow (*Epalzeorhynchus frenatum*) eggs and larvae. Thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. University of Florida. Pp : 63.

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

Bigveld, M. J. C., Van Der Velden, J. A., Kolar, Z., Flik, G. 1998. Magnesium transport in freshwater teleost. J. Exp. Biol. 201: 1981-1990.

Brown, D. J. A., Lynam, S. 1981. The effect of sodium and calcium concentration on the hatching of eggs and the survival of the yolk sac fry of brown trout, *salmo trutta* L. at low pH. J. Fish Biol. 19: 205-211.

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

Geertz Hansen, P. and Rasmussen, G. 1994. Influence of ochre and acidification on the survival and hatching of brown trout eggs (*Salmo trutta*). In: Muller, R. and Lloyd, R. (eds). Chronic effects of pollutants on freshwater fish. FAO-Fishing New Books, Cambridge, Pp: 317.

Hagiwara, S., Jeffe, L. 1979. Electrical properties of egg cell membrane. J. Biophys. 8: 385-416.

Hayes, F. R., Darcy, D. A., Sullivan, C. M. 1946. Changes in the inorganic constituents of developing salmon eggs. J. Biol. Chem. 163: 621-631.

developing brown trout (*salmo trutta*). Environ. Toxicol. Chem. 16(10): 8.

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

Yamagami, K., Hamazaki, T. S., Yasumasu, S., Masuda, K., Iuchi, I. 1992. Molecular and cellular basis of formation, hardening and breakdown of the egg envelope in fish. Int. Rev. Cytol. 136: 51-92.

Zia, S., Mc Donald, D. G. 1994. Role of the gills and gill chloride cells in metal uptake in the freshwater-adapted rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Can. J. Fish Aquat. Sci. 51: 2482-2492.

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

Spade, S., Bristow, B. 1999. Effects of increasing water hardness on egg diameter and hatch rates of striped bass eggs. N. Am. J. Aquacult. 61: 263-265.

Spear, P. A. and Pierce, R. C. 1979. Copper in the aquatic environment: chemistry, distribution, and toxicology. National Research Council of Canada, Environmental Secretariat Publication. No.16454, Ottawa, Ontario. Pp: 227.

Stubblefield, W. A., Brinkman, S. F., Davies, P. H., Garrison, T. D., Hockett, J. R., McIntyre, M. W. 1996. Effects of water hardness on the toxicity of manganese to

---

## Effect of different concentrations of calcium of ambient water on hatching rate and ions content (Ca, K, Cu and Mn) of rainbow trout egg in a water recirculating system

---

M. Sarkheil<sup>1\*</sup>, G.R. Rafiee<sup>1</sup>, B. Mojazi Amiri<sup>1</sup>, M. farhangi<sup>1</sup>

Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Tehran University.

### Abstract

In this study, effects of four concentrations of waterborne calcium (8, 25, 50, 100 mg/l) on eyed egg percentage, hatching percentage and ions (Ca, K, Cu and Mn) uptake of rainbow trout eggs in a water recirculating system were determined. Twelve experimental units, with the capacity of holding 45 liter of water were used and 21g egg introduced in each one. Different concentrations of ions (Ca,Na,K,Mg,P,Fe,Cu,Zn,Mn) in treatments were prepared by adding analytical salts (Merck) into double-de-ionized distilled water. Dissolved oxygen and water temperature variations during incubation were 9.80-11.11mg/l and 7.5-9 °C respectively. The eyed egg percentage was not significantly ( $P>0.05$ ) different among treatments. The hatching percentage of eggs were significantly ( $P<0.05$ ) different among treatments. This rate in [Ca] 50 mg/l- treatment was higher than other treatments. In [Ca] 25 mg/l-treatment, wet mass of eggs in hatching phase was significantly ( $P<0.05$ ) higher than other treatments as well as fertilized eggs. In all treatments, Ca was not absorbed by eggs from the waterborne. Loss of K from eggs occurred in [Ca] 8 and 28 mg/l treatments. Eggs could absorb Cu and the highest Cu content in whole egg recorded in [Ca] 8 mg/l treatment. Mn uptake by eggs from waterborne were only recorded in treatment with [Ca] 8 and 25 mg/l treatments. The results of this study indicated that waterborne calcium with the rate of 50 mg/l could be appropriate concentration for incubation of rainbow trout eggs.

**Keyword:** Rainbow trout, Calcium, Hatch, Ions content, Water recirculating system.

---

\* Corresponding author, Email: mehrdadsarkheil@gmail.com