

## تأثیر جیره غذایی حاوی مس و روی بر فاکتورهای سرمی مرتبط با متابولیسم استخوان در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

کبری محمدی سرپیری<sup>۱\*</sup>، نصراله محبوبی صوفیانی<sup>۲</sup>، عیسی ابراهیمی درچه<sup>۲</sup>، یزدان کیوانی<sup>۲</sup>، پدram ملک پوری<sup>۳</sup>

۱. دانش آموخته کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.

ایران

۲. دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان. اصفهان، ایران

۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران

\* نویسنده مسئول: f.sarpiri@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۶

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۲/۹

### چکیده

در این آزمایش، تأثیر افزایش مقادیر مس و روی در جیره غذایی بر پارامترهای سرمی مرتبط با متابولیسم استخوان در ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت. ماهیان با میانگین وزنی  $56/56 \pm 22/43$  گرم در ۵ گروه (شامل ۱۲ ماهی) به مدت ۸ هفته با استفاده از جیره های غذایی متفاوت به میزان ۳ درصد وزن بدن در روز تغذیه شدند. جیره های غذایی حاوی مس (۱:۱ Cu و ۳:۲ Cu میلی گرم بر کیلوگرم غذا) و روی (۷/۵ Zn و ۱۵ Zn میلی گرم بر کیلوگرم غذا) و یک گروه به عنوان شاهد (بدون افزودن مس و روی) در نظر گرفته شد. در پایان دوره، تعداد ۸ قطعه ماهی از هر مخزن به طور تصادفی صید شد و از محل ساقه دم خونگیری بعمل آمد. سپس پارامترهای سرمی مرتبط با متابولیسم استخوان نظیر کلسیم کل، فسفر معدنی، منیزیم، آلکالین فسفاتاز و ویتامین D3 مورد اندازه گیری قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان می دهد که کلسیم سرم تنها در تیمار Cu، نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری داشته است ( $P < 0/05$ ). در تیمارهای Zn و Cu، میزان فسفر سرم نسبت به شاهد کاهش معنی داری یافت ( $P < 0/05$ ). اگرچه میزان منیزیم و ویتامین D3 سرم در برخی تیمارها افزایش یافته است اما بطور کلی این تغییرات نسبت به تیمار شاهد معنی دار نبود ( $P > 0/05$ ). کاهش معنی دار ( $P < 0/05$ ) فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم در تمامی تیمارها نسبت به گروه شاهد نیز مشاهده شد. به طور کلی، افزایش مقادیر روی و مس در جیره غذایی در غلظت های مورد مطالعه با تغییر پارامترهای سرمی مرتبط با متابولیسم استخوان همراه بوده است که می تواند تا حدی سبب برهم زدن فعالیت متابولیسی استخوان در ماهی کپور معمولی شود.

کلمات کلیدی: متابولیسم استخوان، مس، روی، عناصر کمیاب، *Cyprinus carpio*

### مقدمه

موجودات از جمله ماهیان مورد نیاز هستند. با وجود اینکه ماهی می تواند این عناصر را از محیط خود جذب کند، اما جیره غذایی به عنوان منبع اصلی بسیاری از عناصر برای ماهی در نظر گرفته می شود

نقش عناصر کمیاب در مسیرهای بیوشیمیایی و فرآیندهای فیزیولوژیک در بسیاری از حیوانات مورد بررسی قرار گرفته است. عناصر کمیاب به میزان کم و به عنوان جزء ضروری برای فرآیندهای حیاتی همه

فسفر از روده و بازجذب این عناصر از کلیه شوند. این متابولیت‌ها سبب تحریک استئوبلاست‌ها و ترشح استئوکلسین نیز می‌شوند (Lall و Lewis، ۲۰۰۷). از جمله مطالعاتی که در زمینه عناصر معدنی و تأثیر آن بر متابولیسم استخوان صورت گرفته می‌توان به مطالعه ملک پوری و همکاران اشاره نمود که تأثیر کوتاه مدت کادمیم موجود در آب بر پارامترهای سرمی مرتبط با متابولیسم استخوان در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه کادمیم اضافه شده به آب سبب تغییر پارامترهای سرمی وابسته به متابولیسم استخوان مانند کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز در کپور معمولی شد. تیمارهای مختلف کادمیم طی ۱۴ روز سبب افزایش غلظت آلکالین فسفاتاز و فسفر معدنی سرم شدند در حالیکه غلظت کلسیم سرم کاهش یافت. در این مطالعه، همزمان نقش محافظت کنندگی روی نیز بر این پارامترها مطالعه شد و در تیمار ترکیبی روی و کادمیم، افزایش معنی دار غلظت آلکالین فسفاتاز و کلسیم سرمی و کاهش فسفر معدنی سرم نسبت به تیمار کادمیم مشاهده شد (Malekpouri و همکاران، ۲۰۱۱). شیمبر و همکاران در سال ۲۰۱۴، عملکرد رشد و کانی زایی استخوان در تیلاپای نیل بزرگ (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با مقادیر مختلف فسفر در دسترس را بررسی نمودند. مکمل ۶/۱۲ و ۸/۹۱ گرم فسفر در دسترس بر کیلوگرم جیره غذایی، میزان خاکستر کل لاشه را به طور معنی داری افزایش داد. میزان منیزیم استخوان در ماهیانی که با فسفر کمتری تغذیه شده بودند در مقایسه با سایر تیمارها کمتر بود (Schamber و همکاران، ۲۰۱۴). اینیا و همکاران در سال ۲۰۰۸، تغییر در پارامترهای بیوشیمیایی سرم را در ماهی تیلاپای نیل (*O.*

Watanabe، ۱۹۹۷). مس به‌عنوان یک عنصر ضروری کمیاب برای تمامی موجودات از جمله ماهی ضروری است (Watanabe، ۱۹۹۷؛ Lorentzen، ۱۹۹۸؛ Shao و همکاران، ۲۰۱۰). این عنصر در ساختار آنزیم‌های آنتی اکسیدانت حضور دارد (Lorentzen، ۱۹۹۸). عنصر روی نیز در فعالیت‌های فیزیولوژیک بدن، رشد و نمو موجودات زنده نقش دارد (Lall، ۲۰۰۲؛ Eide، ۲۰۰۶؛ Maret و Kręzel، ۲۰۰۷). نقش موثر روی در رشد و معدنی شدن بافت استخوان نیز اثبات شده است (Yamaguchi، ۱۹۹۸).

استخوان‌سازی و تغییر در ترکیب استخوان در نتیجه تغییر در عناصر پر مصرف و محتوای عناصر کمیاب موجود در رژیم غذایی است. در میان عناصر پرمصرف، فسفر، کلسیم و منیزیم در فرآیند ساخت استخوان در ماهی موثر هستند. علاوه بر این، بسیاری از عناصر کمیاب مانند روی، منگنز و مس برای رشد و تکامل استخوان در ماهی ضروری هستند (Lall، ۲۰۰۲؛ Lall و Lewis، ۲۰۰۷).

مقادیر سرمی کلسیم و فسفر نشان دهنده میزان تخریب یا تشکیل استخوان است (هدایتی، ۱۳۷۰). تشکیل استخوان نیاز به سنتز استئویدها و مقادیر لازم کلسیم و فسفات برای تشکیل هیدروکسی آپاتیت دارد که برای پیشبرد این فرایند آلکالین فسفاتاز ضروری است (قوجق و همکاران، ۱۳۷۱). آلکالین فسفاتاز نیز یک آنزیم غشایی است و شاخص خوبی برای توسعه استخوان محسوب می‌شود (Bahr و Wilkinson، ۱۹۶۷). علاوه بر این، تأثیر ویتامین D و متابولیت‌های آن بر تنظیم کلسیم، فسفر و تشکیل استخوان در حیوانات خشکزی کاملاً مشخص شده است. برخی از متابولیت‌های این ویتامین می‌توانند سبب تحریک جذب کلسیم و

مغذی از جمله عناصر کمیاب بر فرایند استخوان سازی در ماهی کپور معمولی، به نظر می‌رسد بررسی تأثیر جیره‌های حاوی مقادیر مختلف مس و روی بر پارامترهای سرمی مرتبط با متابولیسم استخوان (کلسیم کل، فسفر معدنی، منیزیم، آنزیم آلکالین فسفاتاز و ویتامین D3) در ماهی کپور معمولی ضروری باشد.

### مواد و روش‌ها

#### تهیه ماهی

تعداد ۶۰ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی  $22/43 \pm 56/56$  گرم از یکی از کارگاه‌های پرورش ماهی گرمابی خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. ابتدا ماهیان ضد عفونی و سپس به مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند.

#### تهیه جیره غذایی

آنالیز تقریبی جیره پایه در جدول ۱ ارائه شده است. پنج جیره غذایی حاوی دو سطح مس (۱ و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره)، دو سطح روی (۷/۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره)، براساس پیشنهاد (NRC، ۱۹۹۳) و یک گروه به عنوان شاهد (بدون افزودن مس و روی) تهیه شد. در این آزمایش، نمک سولفات مس (Scharlau -  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ، Barcelona, Spain) و کلراید روی (Scharlau Barcelona, Spain -  $ZnCl_2$  Anhydrous) مورد استفاده قرار گرفت. نسبت یونی مورد نیاز از هر یک از عناصر محاسبه و سپس به جیره پایه اضافه شد. جیره‌های غذایی به صورت پلت تهیه، در مقابل هوا خشک و تا پایان آزمایش در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

*niloticus*) متعاقب تأثیر بلند مدت فلزات مختلف از جمله مس و روی بررسی نمودند. پس از پایان دوره آزمایشی تمامی فلزات مذکور بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم شامل پروتئین کل، تری‌گلیسیرید، کلسترول، گلوکز مؤثر بود. مس باعث کاهش میزان سدیم و افزایش پتاسیم در سرم شد. روی باعث تغییر در میزان کلسترول سرمی شد (Oner و همکاران، ۲۰۰۸). گروزل و همکاران در سال ۲۰۰۴، نشان دادند که در وزغ-ماهی مکزیکی (*Opsanus beta*) میزان منیزیم و اوره پلاسما حتی در غلظت‌های پایین مس، بسیار تحت تأثیر این عنصر قرار گرفت (Grosell و همکاران، ۲۰۰۴).

اگرچه عناصر کمیاب ضروری می‌توانند نقش موثری در فعالیت‌های بدنی از خود نشان دهند اما توجه به این نکته حائز اهمیت است که همواره افزایش مقادیر این عناصر -چه در محیط زیست و چه در غذا- سبب بروز تغییرات ناخواسته و حتی در مواردی سبب ایجاد عوارض نامطلوب در موجودات می‌شود (Malekpouri و همکاران، ۲۰۱۱). امروزه، با افزایش آگاهی از ارزش غذایی و در نظر گرفتن الزامات بهداشتی، تهیه جیره‌های غذایی با کیفیت بالا که سبب افزایش راندمان تولید و کاهش بروز بیماری‌های تغذیه‌ای شود مطلوب است (Beattie و Avenell، ۱۹۹۲). کپور معمولی یکی از گونه‌های با ارزش برای آبی پروری گرمابی است. تغییر در متابولیسم بافت استخوان می‌تواند اثر قابل توجهی بر رشد ماهی داشته باشد و بالطبع ماهی دارای بدشکلی‌های استخوانی (ماهیان ناقص) تولید می‌شود که ارزش بازاری چندانی نخواهند داشت (Malekpouri و همکاران، ۲۰۱۱). با توجه به مطالعات انگشت شمار در خصوص تأثیر فاکتورهای

جدول ۱- آنالیز تقریبی جیره پایه (برحسب درصد از غذای تر)

رطوبت	خاکستر	پروتئین	چربی	فیبر و کربوهیدرات
۰/۸۲۳۵ ± ۷/۳۹۱۱	۱/۰۱۴۳ ± ۱۳/۵۹	۵/۱۷۶۳ ± ۴۳/۳۵۱۱	۰/۷۵۱۲ ± ۷/۱۱۴۲	۲۸/۵۵۳۶

۶۵ درصد و اسید هیدروکلریک ۳۷ درصد) نمونه‌ها هضم شدند. مقادیر مس و روی در نمونه غذا با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Perkin Elmer- A Analyst 700, USA) قرائت و برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک غذا محاسبه شد (جدول ۲).

**اندازه‌گیری مقادیر مس و روی موجود در جیره**  
به منظور تعیین مقدار عناصر روی و مس در جیره غذایی، یک گرم از هر یک از جیره‌های آزمایشی در آون (۱۰۰°C) خشک گردید، سپس با استفاده از ۱۵ میلی‌لیتر اسید (نسبت ۱ به ۳ از اسید نیتریک

جدول ۲: اندازه‌گیری مس و روی در جیره‌های غذایی به روش جذب اتمی

نوع جیره غذایی	نوع و میزان مکمل (mg/kg diet)	مس (mg/kg dry weight)	روی (mg/kg dry weight)
شاهد	۰	۰/۰۰۴ ± ۱۸/۲۳۳	۰/۰۰۵ ± ۶۸/۸۹۸
۱Zn	(Zn)۷/۵	۰/۰۰۱ ± ۱۹/۷۲۴	۰/۰۰۵ ± ۹۶/۰۹۴
۲Zn	(Zn)۱۵	۰/۰۰۳ ± ۱۷/۹۱۰	۰/۰۰۶ ± ۱۲۰/۲۸۸
۱Cu	(Cu)۱	۰/۰۰۷ ± ۲۵/۱۸۵	۰/۰۰۹ ± ۶۹/۳۶۰
۲Cu	(Cu)۳	۰/۰۰۶ ± ۳۸/۱۵۰	۰/۰۱۵ ± ۷۳/۰۳۴

\* اعداد برحسب میانگین ± انحراف معیار سه نمونه تصادفی گزارش شده‌است.

**تیمار بندی**

بیومس در دو نوبت صبح و بعدازظهر مورد تغذیه قرار گرفتند. طی دوره آزمایشی، پارامترهای کیفی آب به صورت روزانه و هفتگی به منظور کنترل شرایط، اندازه‌گیری شدند (APHA, ۱۹۹۸). دامنه تغییرات پارامترهای کیفی آب طی دوره در جدول ۳ ارائه شده‌است.

پس از بیومتری، ماهیان به ۵ گروه حاوی ۱۲ عدد تقسیم و در مخازن پلی اتیلنی ۳۰۰ لیتری توزیع گردیدند. ماهیان به مدت ۸ هفته با استفاده از جیره‌های حاوی مس و روی مورد تغذیه قرار گرفتند. در طول دوره، ماهیان روزانه به میزان ۳ درصد

جدول ۳: دامنه تغییرات پارامترهای کیفی آب

۱/۵-۰/۴	آمونیاک (میلی گرم بر لیتر)	۲۲-۱۸	دما (درجه سانتی گراد)
۳۱۳-۲۵۹	EC (میکرو زیمنس بر سانتی متر)	۷/۳-۶	اکسیژن محلول (میلی گرم بر لیتر)
۹/۶-۷/۴	نیترات (میلی گرم بر لیتر)	۸/۴-۷/۸۷	pH
۱/۹-۰/۳	نیتريت (میکروگرم بر لیتر)		
۱۵۰-۲۲	جامدات معلق (میلی گرم بر لیتر)	۵۲۰-۴۸۰	سختی کل (میلی گرم بر لیتر کربنات کلسیم)

گرفت. سطح اطمینان ۹۵ درصد برای ارزیابی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین داده‌ها در نظر گرفته شد.

### نتایج

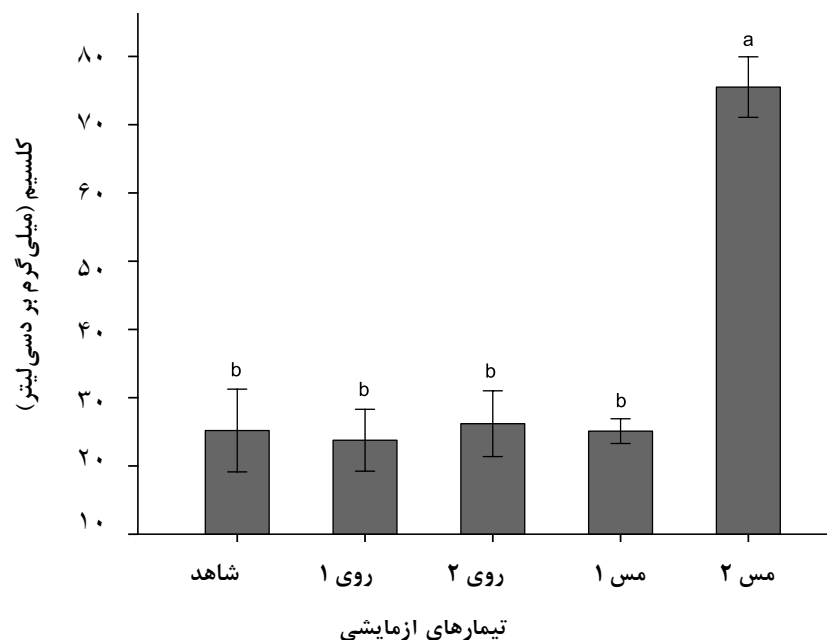
همانطور که از شکل ۱ بر می آید، افزودن مقادیر مختلف روی به جیره غذایی سبب ایجاد تغییر معنی دار در غلظت کلسیم سرم نشده است. اگرچه مقدار کلسیم سرم ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی Cu<sub>1</sub> تغییر معنی داری نسبت به گروه شاهد از خود نشان نداده است اما تیمار Cu<sub>2</sub>، سبب افزایش کلسیم سرم (به میزان  $4/43 \pm 75/51$  میلی گرم بر دسی لیتر) شده است.

### نمونه برداری

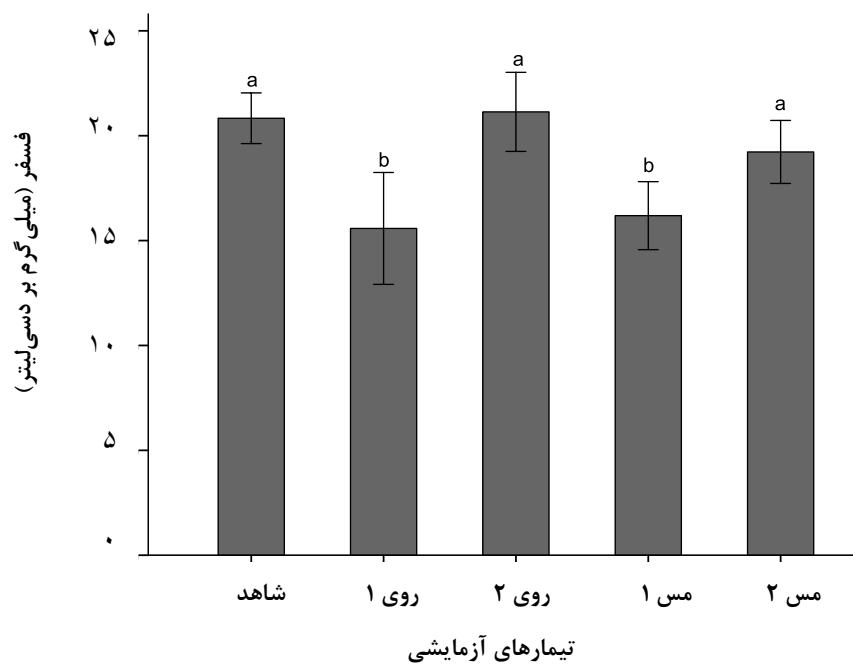
در پایان دوره آزمایشی، ۸ قطعه ماهی از هر تیمار به صورت تصادفی انتخاب گردید و خون گیری از ناحیه ساقه دمی به عمل آمد. به منظور جداسازی سرم، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ RPM سانتریفیوژ گردید. سپس پارامترهای سرمی مرتبط با متابولیسم استخوان نظیر کلسیم کل، فسفر معدنی، منیزیم، آلکالین فسفاتاز توسط کیت‌های بیوشیمیایی مربوطه و دستگاه اسپکتوفتومتر (Jenway 6400, UK) و ویتامین D<sub>3</sub> با استفاده از روش الیزا (Stat Fax 303 Plus) مورد اندازه گیری قرار گرفتند.

### محاسبات و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار ۱۸ SPSS و آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA صورت



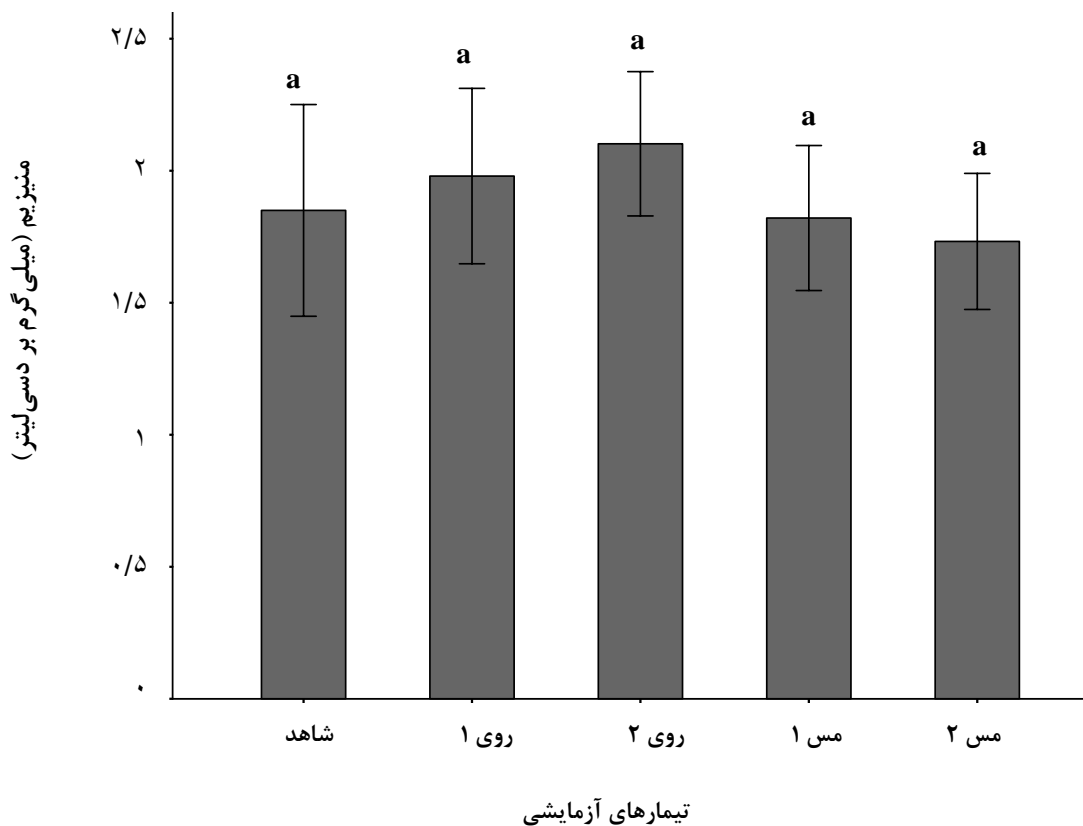
شکل ۱- غلظت کلسیم سرمی در ماهی کپور معمولی پس از ۸ هفته تغذیه با جیره حاوی مقادیر مختلف مس و روی. تمامی میانگین‌ها با در نظر گرفتن ۸ نمونه از هر تیمار محاسبه شده‌است. حروف مشابه بیانگر نبود اختلاف معنی دار است ( $P > 0.05$ ).



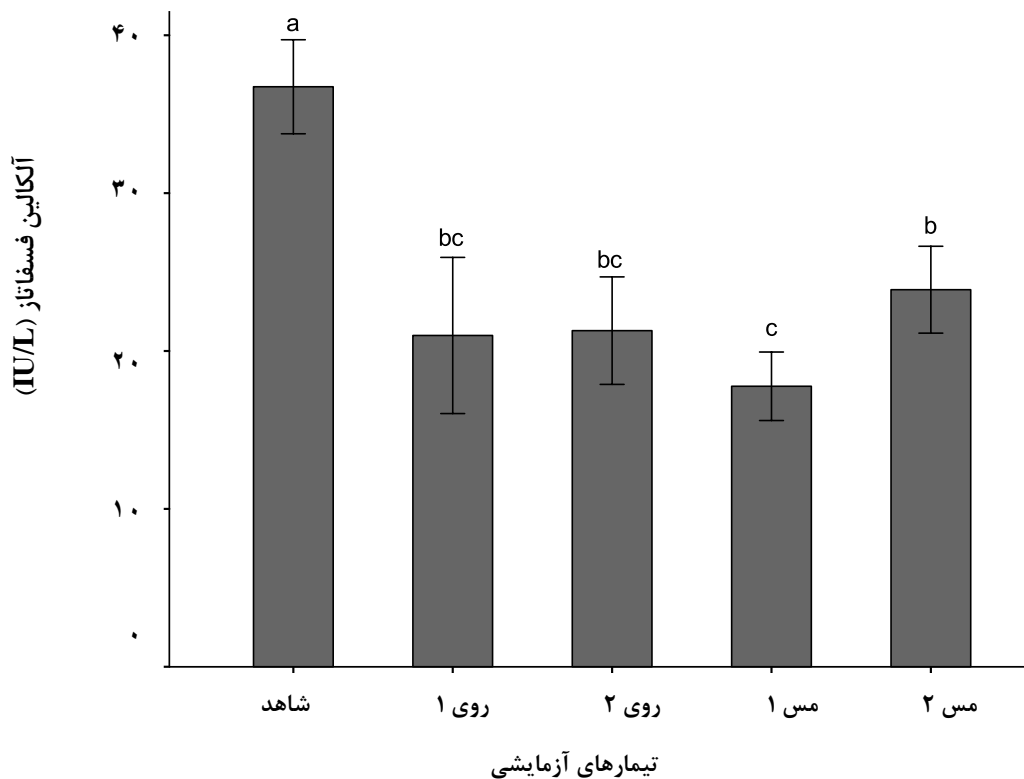
شکل ۲- غلظت فسفر معدنی سرم در ماهی کپور معمولی پس از ۸ هفته تغذیه با جیره حاوی مقادیر مختلف مس و روی. تمامی میانگین‌ها با در نظر گرفتن ۸ نمونه از هر تیمار محاسبه شده‌است. حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

در این مطالعه، افزودن مقادیر مختلف مس و روی به جیره غذایی سبب تغییر معنی داری در میزان منیزیم سرم نسبت به تیمار شاهد نشد ( $P > 0.05$ ). محدوده تغییرات منیزیم سرم بین  $0.25 \pm 1.73$  و  $0.27 \pm 2.1$  میلی‌گرم بر دسی لیتر اندازه‌گیری شد (شکل ۳).

مقدار فسفر سرم در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی  $Zn1$  و  $Zn2$  به ترتیب  $2.66 \pm 15.57$  و  $1.62 \pm 16.18$  میلی‌گرم بر دسی لیتر به دست آمد. میزان فسفر در تیمار  $Zn1$  نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی داری ( $P < 0.05$ ) نشان داد. علاوه بر این، در اثر تیمار  $Cu1$ ، کاهش معنی دار ( $0.05 < P <$  میزان فسفر سرم نیز مشاهده می‌شود. این در حالی است که میزان فسفر سرم در تیمارهای  $Cu2$  و  $Zn2$ ، تغییر معنی داری نسبت به تیمار شاهد نداشته است ( $P > 0.05$ ) (شکل ۲).



شکل ۳- غلظت منیزیم سرم در ماهی کپور معمولی پس از ۸ هفته تغذیه با جیره‌های مقادیر مختلف مس و روی تفاوت معنی داری نداشته‌است. تمامی میانگین‌ها با در نظر گرفتن ۸ نمونه از هر تیمار محاسبه شده‌است. حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار است ( $P < 0.05$ ).



شکل ۴- تغییر در فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرمی در ماهی کپور معمولی پس از ۸ هفته تغذیه با جیره حاوی مقادیر مختلف مس و روی. تمامی میانگین‌ها با در نظر گرفتن ۸ نمونه از هر تیمار محاسبه شده است. حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

تغذیه شده با جیره پایه گردید هرچند این تغییرات معنی دار نبوده است. با افزایش میزان مس در تیمار  $Cu_2$  نسبت به تیمار  $Cu_1$ ، میزان این ویتامین در سرم ماهی کپور معمولی افزایش یافته است. تیمار  $Zn_2$  نسبت به تیمار  $Zn_1$ ، با کاهش غلظت این ویتامین از مقدار  $1/51 \pm 13/75$  به  $2/54 \pm 12/75$  نانوگرم بر میلی لیتر همراه بوده است (شکل ۵).

#### بحث

تأثیر عوامل تغذیه‌ای و برخی عناصر بر متابولیسم استخوان در انسان و حیوانات گزارش شده است (Lewis و Lall، ۱۹۹۲؛ Avenell و Beattie،

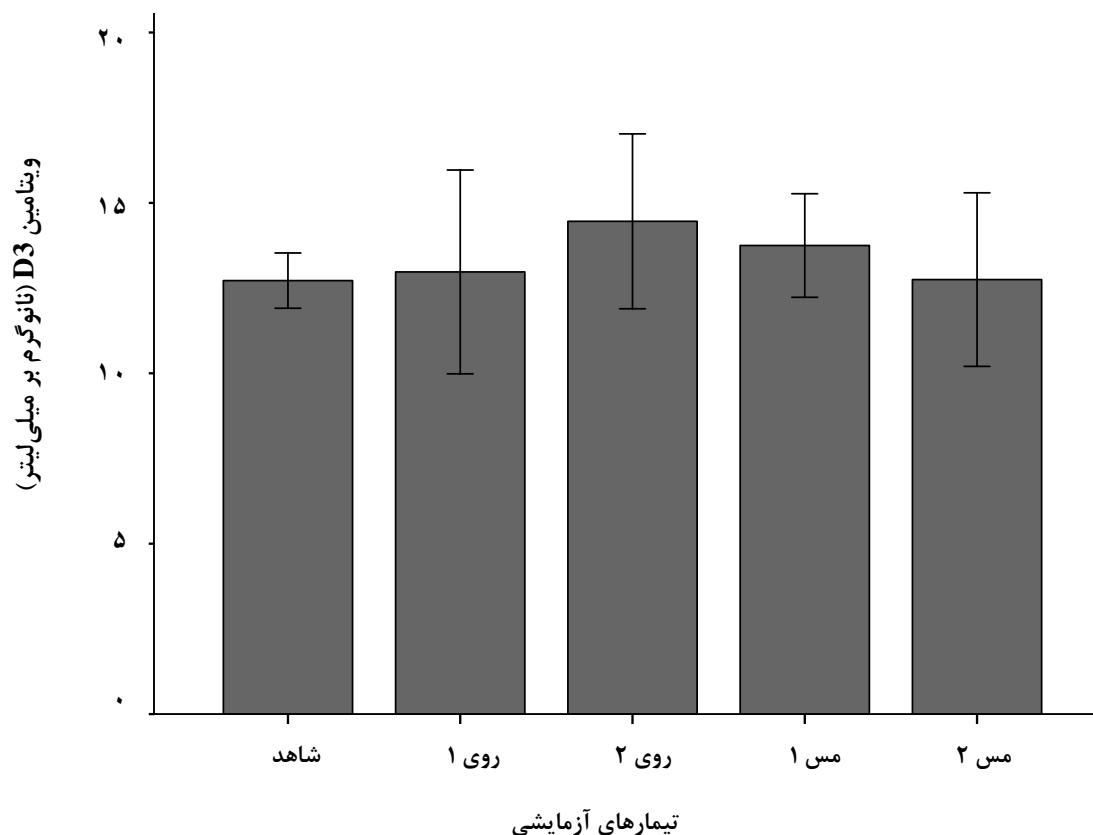
فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در تمامی تیمارها نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی داری ( $P < 0.05$ ) از خود نشان داده است. افزایش غلظت مس جیره در تیمار  $Cu_2$  نسبت به تیمار  $Cu_1$  سبب افزایش معنی دار (از  $2/17 \pm 17/76$  به  $2/75 \pm 23/83$ ) فعالیت این آنزیم شده است ( $P < 0.05$ ). این در حالی است که با افزایش غلظت روی جیره در تیمار  $Zn_2$  نسبت به تیمار  $Zn_1$ ، افزایش معنی دار فعالیت این آنزیم در سرم مشاهده نشد (شکل ۴).

نتایج حاصل از این آزمایش مشخص نمود که افزودن مقادیر مختلف مس و روی به جیره غذایی سبب افزایش غلظت ویتامین  $D_3$  سرم نسبت به ماهیان



همکاران، ۱۹۸۲) و گروزل و همکاران (۲۰۰۴) در تحقیقات خود در خصوص تغییر غلظت مس در آب (Grosell و همکاران، ۲۰۰۴) در وزغ ماهی مکزیک (*O. beta*) تفاوت معنی داری را در غلظت کلسیم (Garcia-Santos و همکاران، ۲۰۰۶؛ Öner و همکاران، ۲۰۰۸). برنتسن و همکاران (۲۰۰۳) عدم تغییر در میزان کلسیم سرم ماهی پار آزاد اطلس (*Salmo salar*) تغذیه شده با کادمیم، در مقایسه با گروه شاهد را نیز گزارش کرد (Berntssen و همکاران، ۲۰۰۳).

(۲۰۰۷). برخلاف یافته های تحقیق حاضر، ناکز و همکاران (۱۹۸۲) در تحقیقات خود روی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف مس و روی (Knox و همکاران، ۱۹۹۱) در سرم گزارش نکردند. گاتلین و همکاران (۱۹۹۱) در ماهی شوریده قرمز (*Sciaenops ocellatus*) تغذیه شده با حداقل روی، افزایش کلسیم را گزارش کرد (Gatlin و همکاران، ۱۹۹۱). گزارش های متعددی نیز در خصوص کاهش غلظت کلسیم پلاسما در اثر وجود عناصر سرب، کادمیم و مس در آب موجود است (Fernandes و Cerqueira).



شکل ۵- غلظت ویتامین D3، در ماهی کپور معمولی پس از ۸ هفته تغذیه با جیره حاوی مقادیر مختلف مس و روی تفاوت معنی داری نداشته است. تمامی میانگین ها با در نظر گرفتن ۸ نمونه از هر تیمار محاسبه شده است.

شده با جیره‌ی فاقد روی نیز مشاهده شد. کاهش مشاهده شده در فعالیت این آنزیم در مطالعه حاضر احتمالاً به علت اختلال در سیستم انتقال غشایی بوده است.

(Bernet و همکاران، ۲۰۰۱). تغییرات ویتامین D3 احتمالاً به دلیل کاهش کلسی تونین است که سبب کاهش بازجذب کلسیم از کلیه و افزایش میزان آن در سرم شده است.

در مجموع بر اساس نتایج مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد افزایش مقادیر مس و روی به جیره غذایی در محدوده مورد مطالعه سبب تغییر پارامترهای سرمی مرتبط با متابولیسم استخوان و برهم زدن فعالیت متابولیکی استخوان در ماهی کپور معمولی می‌شود. جهت بررسی دقیق‌تر انجام مطالعات بافت شناسی و اندازه‌گیری میزان کلسی تونین توصیه می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد و با حمایت مالی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام گرفت. بدین وسیله از کلیه افرادی که در اجرا و تکمیل این تحقیق ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

### منابع

امیر رسولی، هوشنگ و قوجق، دردی، ۱۳۷۱. شیمی بالینی، تألیف مارشال، ویلیام، انتشارات فردا، صفحات ۳۹۳-۳۹۵.

هدایتی، محمد حسن. ۱۳۷۰. بیماری‌های هورمونی و متابولیکی استخوان، تألیف راندولف هاریسون، انتشارات دانش پژوه، صفحات ۶۱۷-۵۸۵.

APHA, A. 1998. Standard Methods for

در مطالعه حاضر، تیمارهای مختلف مس و روی سبب تغییر مقدار فسفر سرم در برخی تیمارها گردید. این در حالیکه غلظت فسفر در سرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) در تیمارهای مختلف روی و مس جیره، تغییری نکرد (Knox و همکاران، ۱۹۸۲). براساس نتایج مطالعه حاضر، مقدار منیزیم سرم در اثر تیمارهای مس کاهش یافت هرچند این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود. این تغییر- هرچند مختصر- می‌تواند ناشی از افزایش دفع کلیوی این عنصر باشد. بر خلاف نتایج مطالعه حاضر، غلظت منیزیم سرم در ماهی شوریده قرمز (*S. ocellatus*) تغذیه شده با مقادیر اندک روی، افزایش یافته است (Gatlin و همکاران، ۱۹۹۲). در مطالعه‌ی گروزل و همکاران (۲۰۰۴)، با افزایش غلظت مس میزان منیزیم پلاسما نیز افزایش یافت که ناشی از افزایش جذب آبششی و روده‌ای و کاهش دفع کلیوی منیزیم بود (Grosell و همکاران، ۲۰۰۴). با این حال در مطالعه حاضر، در اثر تیمارهای روی مقدار منیزیم سرم افزایش یافت (هر چند این افزایش نسبت به شاهد معنی دار نبود). به‌طور کلی، تغییرات بوجود آمده در غلظت سرمی منیزیم در اثر تیمار روی احتمالاً به دلیل تأثیر این عنصر بر عملکرد کلیه و ایجاد اختلال در بازجذب منیزیم است که منجر به افزایش غلظت منیزیم سرم شده است.

فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم ماهی تیلاپپای نیل (*O. niloticus*) با افزایش غلظت مس موجود در آب کاهش یافت (Oner و همکاران، ۲۰۰۸). کاهش معنی دار فعالیت این آنزیم در پلاسمای ماهیان امور (Liang و همکاران، ۲۰۱۲)، گربه ماهی کانالی (Gatlin و Wilson، ۱۹۸۳) و تیلاپپای نیل (Do Carmo E Sa، ۲۰۰۴) تغذیه

- 1763: 711–722.
- Garcia-Santos, S., Fontainhas-Fernandes, A. and Wilson, J.M. 2006. Cadmium tolerance in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following acute exposure: Assessment of some ionoregulatory parameters. *Environmental toxicology* 21(1): 33-46.
- Gatlin, D. M. and Wilson, R. P. 1983. Dietary zinc requirement of fingerling channel catfish. *Journal of nutrition* 113: 630–635.
- Gatlin, D.M., O'Connell, J.P. and Scarpa, J. 1991. Dietary zinc requirement of the red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 92: 259-265.
- Grosell, M., McDonald, M. D., Wood, C.M. and Walsh, P. J. 2004. Effects of prolonged copper exposure in the marine gulf toadfish (*Opsanus beta*): I. Hydromineral balance and plasma nitrogenous waste products. *Aquatic toxicology* 68(3): 249-262.
- Knox, D., Cowey, C. B. and Adron, J. W. 1982. Effects of dietary copper and copper: zinc ratio on rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 27: 111-119.
- Lall, S. P. and Lewis-McCrea, L. M. .2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish - An overview. *Aquaculture* 267: 3–19.
- Lall, S. P. and Milley, J. E. 2008. Trace mineral requirement of fish and crustaceans. In: Trace Elements in Animal Production the Examination of Water and Wastewater, 20<sup>th</sup> edition.
- Bahr, M., Wilkinson, J. H. 1967. Urea as a selective inhibitor of human tissue alkaline phosphatase. *Clinica Chimica Acta* 17: 367–376.
- Beattie, J. H. and Avenell, A. 1992. Trace element nutrition and bone metabolism. *Nutrition research reviews* 5: 167–188.
- Bernet, D., Schmidt, H., Wahli, T. and Burkhardt-Holm, P. 2001. Effluent from a sewage treatment works causes changes in serum chemistry of brown trout (*Salmo trutta* L.). *Ecotoxicology and environmental safety*, 48: 140–147.
- Berntssen, M. H. G., Waagbø, R., Toften, H. and Lundebye, A.K. 2003. Effects of dietary cadmium on calcium homeostasis, Ca mobilization and bone deformities in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Aquaculture Nutrition*, 9: 175–183.
- Cerqueira, C. C. C. and Fernandes, M. N. 2002. Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameters responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 52:83–91.
- Do Carmo, E Sa´ M., 2004. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles diets. *Aquaculture*, 238: 385–401.
- Eide, D. J., 2006. Zinc transporters and the cellular trafficking of zinc. *Biochimica et biophysica Acta*,

- .1993. Nutrient Requirements of Fish. *National Academic Press, Washington DC*. pp. 114.
- Oner, M., Atli, G. and Canli, M. 2008. Changes in serum biochemical parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27(2): 360–366.
- Schamber, C. R., Boscolo, W. R., Natali, M. R. M., Michelato, M., Furuya, V. R. B. and Furuya, W. M. 2014. Growth performance and bone mineralization of large Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of available phosphorus. *Aquaculture International* 22: 1711-1721.
- Shao, X., Liu, W., Xu, W., Lu, K., Xia, W. and Jiang, Y. 2010. Effects of dietary copper sources and levels on performance, copper status, plasma antioxidant activities and relative copper bioavailability in *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture* 308: 60–65.
- Watanabe, T., Kiron, V. and Satoh, S. .1997. Trace mineral in fish nutrition. *Aquaculture* 151: 185-207.
- Yamaguchi M. 1998. Role of zinc in bone formation and bone resorption. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 11: 119–135.
- Systems (eds. By P. Schlegel, S. Durosay and A.W. Jongbloed), pp. 203–214. Wageningen, Academic Press,
- Lall, S. P. 2002. The Minerals. In: Fish Nutrition (eds. by J. E. Halver and R. W. Hardy), pp. 259-308. Academic Press, San Diego.
- Liang, J. J., Yang, H.J., Liu, Y.J., Tian, L.X. and Liang, G.Y. 2012. Dietary zinc requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) based on growth and mineralization. *Aquaculture Nutrition* 18: 380–387.
- Lorentzen, M., Maage, A. and Julshamn, K., 1998. Supplementing copper to a fish meal based diet fed to Atlantic salmon parr affects liver copper and selenium concentrations. *Aquaculture Nutrition*,4: 67-72.
- Malekpouri, P., Moshtaghi, A.A., Kazemian, M. and Soltani, M. 2011. Protective effect of zinc on related parameters to bone metabolism in common carp fish (*Cyprinus carpio* L.) intoxicated with cadmium. *Fish Physiology and Biochemistry* 37(1): 187-196.
- Maret, W. and Krężel, A., 2007. Cellular zinc and redox buffering capacity of metallothionein/thionein in health and disease. *Molecular Medicine* 13(7-8): 371-375.
- NRC (National Research Council)

## Effect of diet-born copper and zinc on serum parameters related to bone metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*)

Kobra Mohammadi Sarpiri\*<sup>1</sup>, Nasrollah Mahboobi Soofiani <sup>2</sup>, Eisa Ebrahimi <sup>2</sup>, Yazdan Keivany <sup>2</sup>, Pedram Malekpouri <sup>3</sup>

1. MSc in Fisheries Science, Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, 84156-83111, Iran.
2. Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan. 84156-83111, Iran.
3. Young Researchers and Elites Club, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

\*Corresponding author: f.sarpiri@gmail.com

Received:29/04/2015

Accepted:26/01/2016

### Abstract

In this study, the effects of different amounts of dietary copper and zinc on serum parameters related to bone metabolism in common carp was determined. Fish weighting  $56.56 \pm 22.43$  g were divided into 5 groups (12 individual/group), were fed at a rate of 3% of body weight for 8 weeks. The Diet contained copper (1 and 3 mg/kg diet) and zinc (7.5 and 15 mg/kg diet) and a control dietary group with no addition of copper and zinc. At the end of the experiment, 8 fish were chosen randomly from each tank and blood samples were taken from the caudal peduncle. Then, serum parameters related to bone metabolism, including calcium, inorganic phosphorus, magnesium, vitamin D3 and alkaline phosphatase were measured. The result showed a significant increase ( $P < 0.05$ ) in serum calcium concentration following Cu2 treatment in comparison with control treatment. Serum phosphorus were reduced significantly in Zn1 and Cu1 treatments as compared with control. Although the amounts of serum magnesium and vitamin D3 were elevated in some treatments, the overall changes did not show significant differences ( $P > 0.05$ ). Significant reductions ( $P < 0.05$ ) in the activity of alkaline phosphatase were observed in all treatments compared with control group. Generally, increase in the levels of the copper and zinc in diet, by changing serum parameters related to bone metabolism can affect bone formation to some extent in common carp.

**Keywords:** Bone metabolism, Copper, Zinc, Trace elements, *Cyprinus carpio*