13 (2) 267-276, Summer 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effect of different levels of inorganic supplement in hydroponic system on hemato-immunological responses, intestine bacterial flora and morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Ebrahim Mottaghi [1], Gholamreza Rafiei [*1], Alireza Mirvaghefi [1], Eisa Ebrahimi [2], Bagher Majazi Amiri [1]

[1] *Department of Fisheries, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran*
[2] *Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran*

Key Words
Intestinal Microflora
Lysozyme activity
Hemoglobin
Mucus-Secreting cells
Aquaponic

Abstract

Introduction: The aim of the present study is to investigate the effect of different levels of inorganic supplements in hydroponic system with the re-use of water on some parameters related to Nile tilapia health status.

Materials & Methods: To address that, 180 fish weighing 30±3.8 g was divided into 9 experimental units (3 for each treatment). Three different treatments were applied, including 0, 25 and 75% of nutrient requirement for hydroponic system and these levels were added to the diet of fish. Following 70 days of dietary administration, blood samples were withdrawn for caudal vein of 5 fish. Intestine sample was also taken in order to determine the bacterial microflora and histological changes.

Result: Obtained results showed significant changed in hematological and immunological parameters in dietary treatment as compared with control ($P<0.05$). Total number of bacteria in intestine was significantly ($P<0.05$) elevated in treatment 3 as compared with other treatments. The applied diets had significant impacts on histological indices, including villi height and diameter, total number of leucocyte and mucus-secreting cells ($P<0.05$).

Conclusion: Generally, epithelium development of intestine besides the improvement of hematological parameters and stimulation of immunity system could perhaps indicate the better health status of Nile tilapia following dietary manipulation by inorganic supplementation.

* Corresponding Author's email: ghrafiee@ut.ac.ir
Received: 1 May 2020; Reviewed: 14 June 2020; Revised: 28 July 2020; Accepted: 8 September 2020
(DOI): 10.22034/aej.2021.139159

مقاله پژوهشی

تاثیر افزایش مواد معدنی در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، فلور باکتریایی و مورفولوژی روده ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)

ابراهیم متقی[۱]، غلامرضا رفیعی[۱]، علیرضا میرواقفی[۱]، عیسی ابراهیمی[۲]، باقر مجازی‌امیری[۱]*

[۱] گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

[۲] گروه شیلات، دانشکده مهندسی منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

کلمات کلیدی

میکروفلور روده
جیره غذایی
مواد معدنی
ماهی تیلاپیای نیل
کیفیت آب

چکیده

مقدمه: هدف از این مطالعه، بررسی اثر افزایش مواد معدنی جیره بر شاخص‌های رشد و تغییر فلور باکتریایی روده و سلامتی ماهی تیلاپیای (*Oreochromis* sp.) در یک سازگان مدار بسته بود.

مواد و روش‌ها: به این منظور ۱۸۰ قطعه ماهی تیلاپیا با متوسط وزن ۳/۸±۳۰ گرم به ۹ واحد آزمایشی معرفی گردید (۳ واحد آزمایشی برای هر تیمار). تیمارهای آزمایش شامل سطوح مختلف ۰، ۲۵ و ۷۵ درصد غلظت مواد مغذی در جیره غذایی با توجه به براورد نیاز گیاه در یک دوره پرورش در سیستم هیدروپونیک معمولی طراحی گردید. پس از طی ۷۰روز، از ساقه دمی ۵ ماهی از هر تیمار خونگیری به‌عمل آمد و بافت روده جهت بررسی فلور باکتریایی و بافت شناسی نیز نمونه‌برداری گردید.

نتایج: نتایج به‌دست آمده حاکی از تغییر معنی‌دار ($P<0/05$) تعداد کل باکتری‌های روده تنها در تیمارحاوی ۷۵ درصد مواد معدنی در مقایسه با سایر تیمارها بود ($P<0/05$). نتایج نشان داد که جیره‌های حاوی مواد معدنی تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌های بافت‌شناسی روده نظیر طول و قطر پرز، تعداد سلول‌های لوکوسیت و تعداد سلول‌های جامی دارد.

نتیجه‌گیری و بحث: به‌طورکلی، رشد و توسعه اپیتلیوم روده، احتمالاً با فزایش مواد معدنی در جیره تیلاپیا، شرایط زیستی بهتری را برای این ماهی ایجاد می‌کند.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: ghrafiee@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۲ اردیبهشت ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۲۵ خرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۷ مرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۸ شهریور ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.139159

مقدمه

تولید در یک بوم‌سازگان آبی تابعی از ورود مواد مغذی از خارج از بوم‌سازگان، مواد بیوژن موجود در خودسازگان و شرایط فیزیکی حاکم بر محیط است. لذا، فرایندی پیچیده از حضور مواد مغذی، فتوسنتز کنندگان، پروتوزوئرها و موجودات مختلف، زیست‌توده‌هایی در حال تعادل و مواد آلی موجود در یک بوم‌سازگان آبی را می‌سازند. دراین ارتباط نقش موادمعدنی‌محلول به‌عنوان محیط‌زیست موجودات در هر بوم‌سازگان نقش زیادی را در حضور موجودات مختلف و در نهایت در زیست‌توده یا بیوماس موجودت مختلف دارد. از سوی دیگر، غلظت و نسبت مواد معدنی محلول و نیز حضور برخی از مواد آلی محلول مانند ویتامین‌ها است که بر حضور فتوسنتزکنندگان به‌عنوان تولیدکنندگان‌اولیه اثرگذار است و با حضور این مواد فتوسنتزکنندگان کارایی لازم را برای ساخت مواد آلی از مواد معدنی محلول در حضور نور پیدا می‌کنند. در عین حال مطالعات اخیر نشان می‌دهد که بیوسفر یا پوسته زیستی زمین به شدت تحت تاثیر چرخه نیتروژن و فسفر و در یک روند افزایشی قرار دارد. برعکس بحث فوق، افزایش بیش از حد این مواد منجر به عدم تعادل بوم‌سازگان‌های مختلف، به‌خصوص آبی شده است‌وخوراکوری‌بوم‌سازگان‌ها به‌عنوان یکی ازعواقب غیرقابل پیش‌بینی و گاهی غیرقابل جبران درنتیجه نابودی برخی موجودات آبزی‌در اکوسیستم‌های‌مختلف‌شده است(Steffen و همکاران ۲۰۱۵). با آگاهی از چگونگی چرخه مواد در اکوسیستم‌های مصنوعی و حتی طبیعی،امکان ایجادتعادل‌زیستی‌فراهم‌می‌شودومدیریت‌بوم‌سازگان‌ها به سمتی سوق داده می‌شود که با کاهش مواد دفعی و افزایش بازده بیش‌تر در تولید همراه باشد. این مهم در آبزی‌پروری کاربردی شده است و منجر به افزایش علاقه تولیدکنندگان به سیستم‌های پرورشی مدار بسته به‌خصوص سازگان‌های توام ماهی و گیاه یا آکوپونیک شده است (Love و همکاران، ۲۰۱۴). در حال حاضر سیستم کشت توام به‌عنوان یک نوآوری در بخش‌های مختلف آبزی‌پروری مطرح است (Pulvenis، ۲۰۱۶؛ Sonneveld، ۲۰۰۹).اکواپونیک یک‌مفهوم‌هماهنگ کشت است که ترکیبی از ماهی، گیاهان قابل‌کشت‌درآب و باکتری‌های نیتروفیکانت و هتروتروف را در یک محیط سازش یافته در کنار هم قرار می‌دهد. شکل‌معمول و ساده آن وجود یک بخش‌هیدروپونیک با جریانی از آب در یک سیستم مداربسته آبزی‌پروری است (Delaide، ۲۰۱۵). در این سیستم پرورشی، هدف طراحی سیستمی است با ویژگی حضور توام‌گیاه و ماهی،و استفاده از موادد‌فعی است‌که پیوسته توسط ماهی تولید می‌شود و می‌تواند به‌عنوان موادمغذی برای گیاه و تولید بیومس گیاهی به‌کار رود. در این شرایط تعویض آب و انباشتگی رسوبات در سیستم کاهش می‌یابد. این کاهش قابل ملاحظه برای محیط زیست مفید خواهد بود و از جنبه دیگر سبب افزایش تولید ماهی و گیاه نیز می‌شود (Akocy، ۲۰۱۲؛ Rafiee و Saad، ۲۰۰۵). معمولاً یک سیستم مداربسته آبزی‌پروری از مخازن پرورش ماهی، فیلتر مکانیکی، بیوفیلتر (برای تبدیل آتروتروفیک آمونیاک به نیترات) و بخش رسوب‌گیر تشکیل شده است که با استفاده از یک پمپ، آب به‌طور دایم در سیستم و در بخش‌های مختلف در حال چرخش است. اکسیژن توسط هواده تامین می‌شود و دما نیز قابل کنترل است. در این سیستم نیترات تمایل به انباشته شدن در آب دارد. نیترات از جمله مهم‌ترین ترکیبات سمی برای ماهی است که باعث می‌شود سیستم به تعویض آب نیازمند شود. این مسئله سبب معرفی سیستم هیدروپونیک با چرخش مداوم آب گردیده است (Rakocy و همکاران، ۱۹۹۲). با این‌حال رسیدن به شرایط مطلوب رشد ماهی در چنین سیستمی هنوز به‌وضوح مشخص نشده و نیاز به مطالعه بیش‌تر دارد (Yildiz و همکاران، ۲۰۱۷). چیزی که در این سیستم‌ها به‌عنوان یک مشکل اساسی مطرح است، عدم توانایی در ایجاد یک محیط مناسب برای عملکرد بهینه‌ماهی برای رشد، حضور باکتری‌های‌مفید و یا لااقل غیربیماری‌زا و تامین نیازهای گیاه به موادمغذی در طول دوره پرورش برای رسیدن به حداکثر رشد و حذف متابولیت‌های ماهی است. در این ارتباط نقش گیاه در حذف متابولیت‌ها دارای اهمیت زیادی است و باید مواد مغذی مختلف (یون‌ها) در غلظتی باشند یا تولید شوند که هم سلامتی گیاه تضمین شود و هم رشد مطلوبی را در دوره پرورش نشان دهد. گیاه برای رشد بهینه به مکمل‌های معدنی کم مصرف و پر مصرف، مانند پتاسیم، فسفر، کلسیم، منیزیم، سولفور، آهن، مس، روی، منگنز و مولیبدن در غلظت و به نسبت ویژه‌ای در آب نیاز دارد (Resh، ۲۰۱۲؛ Rafiee و Saad، ۲۰۰۵). تا به امروز توازن و میزان موادمغذی مورد نیاز به‌استثنای‌نیتروژن، فسفر و پتاسیم (Wongkiew و همکاران، ۲۰۱۷)، در این سیستم‌ها ایجاد نشده است و پژوهشی نیز مبنی بر افزایش مواد معدنی در آب از طریق افزایش این مواد در جیره غذایی صورت نگرفته است و به‌نظر می‌رسد از این طریق بتوان نیازهای‌گیاه را تحت‌تاثیرعملکردهای‌زیستی و بعد از ورود این‌مواد از طریق غذا به بدن ماهی تامین کرد. طراحی، شکل‌دهی و فرمول‌بندی بهتر این سیستم‌ها از این طریق می‌تواند به‌عنوان یک نوآوری در فرایندهای‌زیستی‌مطرح‌باشدوموضوعی‌است‌که بسیاری‌از پژوهشگران نیاز به فرمول‌بندی‌های‌نوین را در این‌ارتباط مطرح‌کرده‌اند (Delaide، ۲۰۱۵). با توجه به این‌که علم اکوپونیک یک زمینه تحقیقاتی جدید است و به‌نظر می‌رسد اثرات زیست محیطی کم‌تری نسبت به‌روش‌های کشاورزی معمول ایجاد می‌نماید.نیاز است پژوهش‌های‌بنیادین زیادی درارتباط‌با ایجاد تعادل‌های‌زیستی دراین سیستم‌های‌پرورشی صورت پذیرد تاکمبود اطلاعات‌در این زمینه جهت افزایش‌کارایی‌سیستم‌های پرورشی برای به‌کارگیری‌درطراحی‌رفع شود.به‌عبارت‌دیگر پیاده‌سازی

این سیستم به‌طور عملی و مقایسه آن با سیستم‌های مدار بسته تولید ماهی و هیدروپونیک می‌تواند اطلاعات مفیدی را در این زمینه در اختیار تولیدکنندگان آبزیان و محصولات گلخانه‌ای قرار دهد (Francis و همکاران، ۲۰۰۳). لازم به ذکر است که گزارش‌های کمی در مورد عملکرد تولید ماهی و پاسخ‌های بیوشیمیایی- فیزیولوژیک آبزیان در انواع سیستم‌های اکوپونیک ارایه شده است (Lennard، ۲۰۰۶). تاکنون تاثیر افزایش مواد معدنی برای ایجاد حداکثر تعادل مواد معدنی در ارتباط با افزایش کارایی سیستم پرورش در ارتباط با عملکرد گیاه و عملکرد فیزیولوژیک ماهی مورد ارزیابی قرار نگرفته است. در این ارتباط لازم است پیش‌بینی شود که چه موقع هدایت الکتریکی آب به حد بهینه و مورد نیاز ماهی می‌رسد و چگونه می‌توان با افزایش هدایت الکتریکی آب، شرایط بهتری را برای رشد گیاه یا فتوسنتز کننده و جذب بیش‌تر ترکیبات نیتروژن‌دار ایجاد کرد. این کار چندان ساده نیست، زیرا ممکن است تاثیرات منفی بر پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در ماهی هدف داشته باشد. لذا لازم است در ابتدا این اثرات با ارزیابی شاخص‌های خونی، ایمنی و بافت‌شناسی روده مورد بررسی قرار گیرند تا استانداردهای مصرف این مواد تعیین شود. لذا، نیاز است غذایی که به‌طور اختصاصی برای کشت توام ماهی و گیاه تولید می‌شود و یا موادمغذی که در سیستم پرورشی به طریقی افزایش می‌یابد برای ماهی و عملکرد باکتری‌های اتوتروف و یا هتروترف مضر نباشد. لذا، بررسی اثر این مواد بر فرایندهای فیزیولوژیک و کیفیت تولید آبزی با دیدگاه حفظ بهداشت محیطی و انسانی نیز بایستی مد نظر باشد. بنابراین، در پژوهش حاضر سعی شد اثر افزایش مواد معدنی در جیره غذایی و تاثیر آن‌ها بر رشد ماهی، فلور باکتری‌هایی روده و بافت روده در یک سیستم پرورشی مدار بسته مورد مطالعه قرار گیرد. امکان افزایش این مواد در آب و در حد نیازهای گیاهان خشکی‌زی نیز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش: جهت انجام این آزمایش، ابتدا یک سیستم آکواپونیک با مشخصاتی که در ادامه ذکر شده است،طراحی و در گلخانه صنعتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان مستقر گردید. گلخانه دارای ابعاد ۱۰ متر عرض، ۲۰ متر طول و ۵ متر ارتفاع بود. برای چیدمان سیستم اکوپونیک مساحتی حدود ۸۰ مترمربع و حجم آب حدود ۳ مترمکعب درنظر گرفته‌شد. تعداد ۹ سیستم اکوپونیک هریک به‌عنوان یک واحد آزمایش درنظر گرفته شد. هر سیستم شامل دو بخش هیدروپونیک و بخش آبزی‌پروری بود که با لوله پلی‌اتیلن جهت انتقال آب به‌هم متصل و به‌صورت مداربسته جریان آب از بخش پرورش به بخش هیدروپونیک منتقل و مجدداً به بخش آبزی‌پروری بازگردانده می‌شد.بخش آبزی‌پروری از یک مخزن ۳۰۰ لیتری از جنس پلی‌اتیلن با حجم آبگیری ۲۵۰ لیتر، تشکیل شد. بخش هیدروپونیک شامل یک تراف به طول ۲ متر، عرض ۰/۴ متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر با حجم آبگیری تقریبی ۱۰۰ لیتر بود ولی استقرار گیاهان در این بخش صورت نگرفت. دمای هوای گلخانه با استفاده از بخاری ترموستات‌دار دمنده که انرژی تامین‌کننده آن گاز شهری بود در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد در طول مدت آزمایش به‌صورت ثابت تنظیم گردید. در هر واحد آبزی‌پروری یا آزمایش، تعداد ۲۰ قطعه ماهی تیلاپیا (*Oreochromis* sp.) با متوسط وزنی ۳/۸±۳۰ گرم و در مجموع ۱۸۰ قطعه معرفی گردید. هر مخزن پرورش ماهی با ۴۰ گرم غذا دو بار در روز غذادهی شد که این مقدار معادل ۵۰ گرم به‌ازای هر مترمربع از سطح زیر کشت (بخش هیدروپونیک) درنظر گرفته شد. این مقدار غذا در طول دوره آزمایش ثابت بود و مقدار مواد مغذی لازم جهت اجزا مختلف سیستم را در طول آزمایش تامین نمود. مقدار غذای مصرفی در شروع آزمایش برابر ۶/۷ درصد وزنی و در پایان آزمایش (۷۰روز) به حدود ۱/۴ درصد کاهش یافت. با توجه به هدف آزمایش، غذا با استفاده از اقلام غذایی حاوی موادمغذی جهت تامین نیاز گیاه تنظیم گردید و برای در اختیار دادن مواد مغذی بیش‌تر به گیاه در سطوح مختلف ۰، ۲۵ و ۷۵ درصد از غلظت پیشنهادی هوگلند و کوپر استفاده شد. بنابراین تیمارهای آزمایش را جیره‌های غذایی حاوی موادمعدنی با غلظت متفاوت تشکیل دادند و شامل: تیمار شاهد(۱)، جیره حاوی ۲۵ درصد مواد معدنی به‌عنوان جیره کمینه مواد معدنی (۲) و جیره حاوی ۷۵ درصد مواد معدنی به‌عنوان جیره بیشینه موادمعدنی درنظر گرفته‌شد (۳) تشکیل دادند و برای رشد جلبک در سیستم هیدرو پونیک در نظر گرفته شد (رفیعی، ۱۳۹۰). مواد معدنی مورد استفاده به‌صورت ترکیبات نمکی عناصر به غذا اضافه گردید که در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: انواع نمک های معدنی افزوده شده به جیره های غذایی و مقدار مورد استفاده در آنها

ترکیب شیمیایی (میلی‌گرم/کیلوگرم)	جیره ۱ (۰٪)	جیره ۲ (۲۵٪)	جیره ۳ (۷۵٪)
کلرید کلسیم	۰	۹/۱۸	۲۷/۵۶
سولفات آهن	۰	۱/۷۴	۵/۲۳
پتاسیم دی هیدروژن فسفات	۰	۱۱/۵۶	۳۴/۶۸
نیترات پتاسیم	۰	۸/۹۶	۲۶/۸۹
سولفات منیزیوم	۰	۱۱/۴۱	۳۴/۲۳
سولفات مس	۰	۰/۰۱۲	۰/۰۳۵
سولفات روی	۰	۰/۰۲۶	۰/۰۸
نیترات سدیم	۰	۷/۵۳	۲۲/۶
کلرید منیزیوم	۰	۱۰/۴۵	۳۱/۳۷
کلرید منگنز	۰	۰/۰۰۴	۰/۰۱۱

برای تهیه جیره پایه با توجه به استفاده از اقلام غذایی دارای مواد مغذی بیش‌تر، از مواد غذایی آورده شده در جدول ۲ استفاده گردید. خوراک فرموله شده همان جیره پایه است که به‌عنوان تیمار شاهد درنظر گرفته شد و مواد معدنی به آن اضافه نشد (جدول ۲) .

مواد معدنی این جیره از طریق مواد معدنی موجود در اقلام غذایی منتخب و به‌صورت ترکیب مواد آلی تامین شد که ترکیب آن‌ها در جدول ۳ ارایه شده است.

جدول ۲: ترکیب بیوشیمیایی جیره پایه ساخته شده در این پژوهش

اقلام غذایی	میزان استفاده (٪)	پروتئین (٪)	انرژی (کیلوکالری/کیلوگرم)	خاکستر (٪)	چربی (٪)	کربوهیدرات (٪)	فیبر (٪)
پودر ماهی	۲۷	۱۵/۹۳	۹۳۴	۵/۹۱	۱/۸۳	۳/۳۲	۰/۲۱
سویا	۱۳	۵/۸۲	۴۵۵	۰/۸۲	۰/۷۲	۵/۶۳	۰/۸۶
ذرت	۱۵	۱/۰۲	۴۴۴	۰/۲	۰/۵۲	۱۰/۲۵	۰/۲۸
گندم	۱۵	۲/۰۲	۵۴۰	۰/۲۸	۰/۲۵	۱۲/۴۳	۰/۴۳
رش برنج	۱۵	۲/۱۶	۵۴۴	۲/۳۲	۲/۰۹	۹/۴	۲/۱۸
پودر میگو	۳	۱/۴	۱۲۸	۱/۰۸	۰/۱۳	۱/۳۸	۰/۵۱
مخمر	۲	۰/۸۵	۷۰	۰/۱۳	۰/۰۲	۰/۹۹	۰/۰۶
ملاس	۳	۰/۱۸	۸۳	۰/۳۷	۰/۰۲	۲/۴۱	۰/۱۹
نمک	۲	۰	۰	۱/۸	۰	۰/۲	۰
روغن	۳	۰	۹۰	۰/۰۶	۲/۸۵	۰/۰۹	۰/۰۴
پودر یونجه	۱	۰/۳۷	۴۱	۰/۲۱	۰/۰۵	۱/۳۷	۰/۷
متیونین	۰/۵	۰/۴۹	۱۹	۰/۰۰۴	۰	۰/۰۰۶	۰
لیزین	۰/۵	۰/۴۹	۱۸	۰/۰۰۴	۰	۰/۰۰۶	۰
جمع کل	۱۰۰	۳۰/۷	۳۳۶۵	۱۳/۲۱	۸/۵	۴۷/۵۲	۵/۵

علاه براین، کمبود مواد معدنی با توجه به مقدار نیاز مکمل معدنی که پس از یک ماه استفاده از جیره به‌مقدار ۴۰ گرم در روز با هدف تجمع در سیستم تا رسیدن به غلظت پیشنهادی فرمول کوپر و هوگلند آورده شده است. بنابراین جیره اول به‌عنوان جیره‌پایه یا شاهد با پروفیل مواد معدنی ذکر شده در جدول ۳ بود. برای تهیه تیمارهای دوم و سوم طبق کمبود مواد معدنی تا رسیدن به نیاز گیاه (محلول هوگلند) البته پس از مصرف یک ماه از جیره، مکمل معدنی توسط ماهی، به جیره پایه اضافه شد، به این صورت که به تیمارهای دوم و سوم به‌ترتیب ۲۵ و ۷۵ درصد مواد معدنی مورد نیاز به جیره اضافه شد.

جدول۳: سطوح مختلف مواد معدنی مصرفی در جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش

مواد مغذی	مقدار ماده مغذی (میلی‌گرم/لیتر)			جیره یک (۰ ٪)		جیره دو (۲۵ ٪)		جیره سه (۷۵ ٪)	
	جیره	هیدروپونیک*	جیره و آب	کمبود	اضافه	کمبود	اضافه	اضافه	کمبود
نیتروژن (٪)	۴/۹۲	۲۳۰	۱۶۸	۶۲	۰	۴۶/۵	۱۵/۵	۴۶/۵	۱۵/۵
پتاسیم (٪)	۱/۱۳	۲۵۰	۴۷	۲۰۳	۰	۱۵۲/۲۵	۵۰/۷۵	۱۵۲/۲۵	۵۰/۷۵
کلسیم (٪)	۲/۸۴	۲۰۰	۱۶۶/۱	۳۳/۹	۰	۲۵/۴۲۵	۸/۴۷۵	۲۵/۴۲۵	۸/۴۷۵
فسفر (٪)	۱/۶۲	۵۰	۳۰	۲۰	۰	۱۵	۵	۱۵	۵
گوگرد (٪)	۰/۴۹	۱۰۰	۲۰/۲	۷۹/۸	۰	۵۹/۸۵	۱۹/۹۵	۵۹/۸۵	۱۹/۹۵
منیزیوم (٪)	۰/۵	۵۰	۴۲/۶	۷/۴	۰	۵/۵۵	۱/۸۵	۵/۵۵	۱/۸۵
منگنز (میلی‌گرم/کیلوگرم)	۲۱/۹۵	۰/۵	۰/۰۹	۰/۴	۰	۰/۳	۰/۱	۰/۳	۰/۱
روی (میلی‌گرم/کیلوگرم)	۷۹/۱۸	۰/۰۵	۰/۰۲۶	۰/۰۲۴	۰	۰/۰۱۸	۰/۰۰۶	۰/۰۱۸	۰/۰۰۶
مس (میلی‌گرم/کیلوگرم)	۱۳/۰۸	۰/۰۵	۰/۰۳۸	۰/۰۱۲	۰	۰/۰۰۹	۰/۰۰۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۳
آهن (میلی‌گرم/کیلوگرم)	۳۴۶/۴۱	۴	۱/۹۱	۲/۰۱	۰	۱/۵۰۷۵	۰/۵۰۲۵	۱/۵۰۷۵	۰/۵۰۲۵

* مقدار مواد مغذی (معدنی) لازم برای کشت گیاه در سیستم آبکشت یا هیدروپونیک براساس فرمول کوپر و هوگلند

ارزیابی فلور روده در ماهی: برای آگاهی از جمعیت باکتری‌ها در روده، از هر تیمار ۳ قطعه ماهی برداشت و با یک ضربه فیزیکی به سر کشته و سپس سطح بدن ماهی با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی و با آب اتوکلاو شده شستشو شد. سپس در شرایط کاملاً استریل شکم ماهی باز و نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، به اندازه یک گرم از قسمت انتهای بافت روده توزین و درون یک هاون چینی استریل هموژن و از آن رقت‌های متوالی ۱۰-۱ تا ۱۰-۶ تهیه گردید (Karim، ۲۰۰۸). یک میلی‌لیتر از هر رقت را با سمپلر در محیط کشت نوترینت آگار به‌صورت سطحی کشت داده و به‌مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور در دمای آب محیط پرورش (۲۶ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. به‌منظور شمارش باکتریایی آب محیط پرورش یک میلی‌لیتر از آب محیط پرورش ماهی برای رقیق‌سازی مورد استفاده قرار گرفت و سایر مراحل مشابه به‌روش قبل انجام گرفت. پلت‌هایی که دارای ۳۰۰-۳۰ کلونی بودند شمارش شدند و تعداد کلونی‌ها در عکس ضریب رقت ضرب و تعداد تقریبی باکتری‌های موجود در یک گرم بافت روده ماهی (Colony Forming Unit یا CFU /g) و در یک میلی‌لیتر آب (CFU /ml) محاسبه گردید (Karim، ۲۰۰۸).

بافت‌شناسی روده: برای بررسی تغییرات بافتی، پس از برش محوطه شکمی، روده ۳ قطعه ماهی از هر تیمار خارج و قطعه‌هایی به طول یک سانتی‌متر از قسمت انتهای آن جدا گردید. برای تثبیت بافت، نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد بافر قرار داده شدند. پس از مدت زمان ۲۴ ساعت، فرمالین نمونه‌ها تعویض گردید. بعد از طی‌شدن دوره تثبیت، نمونه‌ها به‌اندازه نیم‌سانتی‌متر برش داده و در قالب‌های مخصوص قرارداده شدند و در دستگاه پاساژ بافت جهت آب‌گیری، شفاف کردن، آغشتگی با پارافین قرار گرفت. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری و با دستگاه میکروتوم برش‌های ۷ میکرونی داده شد. پس از برش، نمونه در حمام آب گرم قرار داده شد تا چروک‌ها صاف گردد و سپس روی لام قرار گرفت و در آون ۶۰ درجه قرار داده شد تا پارافین مازاد ذوب گردد. سپس با روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی صورت گرفت (Noga، ۱۹۹۵).

کیفیت آب: کیفیت آب به‌صورت دایمی در سیستم مداربسته آکواپونیک با اضافه شدن روزانه ۵۰ گرم غذا به‌ازای هر مترمربع سطح بستر هیدروپونیک ارزیابی شد. دما در حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد و pH در محدوده ۸-۷ که مناسب برای گیاه، باکتری‌های نیتروفیکات و ماهی است تنظیم گردید. دما، اکسیژن محلول، هدایت الکتریکی، میزان جامدات محلول در آب (TDS)، pH، مجموع نیتروژن آمونیاکی (TAN)، نیترات، نیتریت و آمونیوم سه بار در هفته اندازه‌گیری گردید. سختی کل، مجموع جامدات کل، غیرمحلول، هر هفته اندازه‌گیری شد. نمونه‌برداری و اندازه‌گیری از خروجی بخش هیدروپونیک که در واقع ورودی بخش پرورش ماهی است در صبح و قبل از غذادهی و تمیز نمودن پمپ‌ها انجام شد. دما، EC و TDS با دستگاه Jenwey مدل ۳۰۱۰، اکسیژن با دستگاه اکسیژن‌متر WTW مدل Oxi325i، مجموع نیتروژن آمونیاکی را به‌روش کجلدال، نیترات، نیتریت با دستگاه اسپکتروفتومتر Jenwey با استفاده از روش‌های استاندارد و آمونیوم با دستگاه یون آنالایزر Jenwey مدل ۳۰۱۰ اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف موردبررسی قرار گرفت. سپس جهت تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به متغیرهای مورد بررسی از تجزیه واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) و در ادامه برای تعیین سطح اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون چندمتغیره دانکن استفاده شد. تمامی تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۹ نرم‌افزار SPSS انجام پذیرفت. تفاوت‌های آماری نیز در سطح ۰/۰۵ گزارش شده است.

نتایج

تاثیر تیمارهای آزمایشی برمیکرو فلور و بافت روده: میزان کل باکتری‌های موجود در روده ماهیان در تیمارهای مختلف در جدول ۴ آورده شده است. با توجه به داده‌های این جدول افزودن مکمل‌های حاوی مواد معدنی به جیره غذایی مجموع باکتری‌های موجود در روده را به‌طور کاملاً معنی‌داری ($p<0/05$) در سطح ۷۵ درصد فرمول هوگلند یا جیره ۳ کاهش داد. در مورد استفاده از سطح کمینه مواد معدنی در جیره از این آزمایش مشخص گردید که این سطح تغییرات معنی‌داری در جمعیت باکتری‌های روده نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۳ ندارد.

جدول ۴: میانگین (انحراف معیار± میانگین) تعداد کل باکتری‌های روده در تیمارهای مختلف

تیمار	غلظت مواد مغذی در فرمول هوگلند (٪)	Total count (CFU/g)
۱	۰	$۴/۱۱\times۴\pm۱۰^{۵}/۴\times۱۰^{۳a}$
۲	۲۵	$۳/۷۵\times۳\pm۱۰^{۵}/۷\times۱۰^{۳a}$
۳	۷۵	$۱/۷۶\times۶\pm۱۰^{۶}/۸\times۱۰^{۳b}$

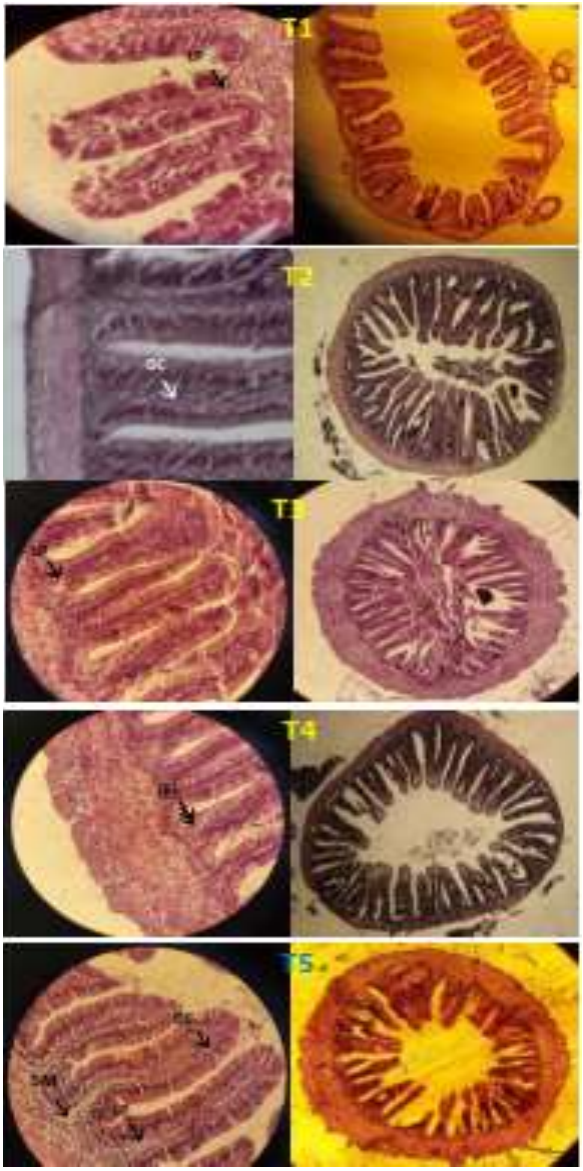
حروف غیرمشترک در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است ($p<0/05$).

بررسی بافت‌شناسی روده در تیمارهای موردمطالعه، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار($p<0/05$)بین میانگین طول پرز روده در جیره ۲ و ۳ درمقایسه با تیمار شاهد است. قطر پرز، قطر لایه عضلانی، تعداد سلول‌های جامی و لوکوسیت‌ها در جیره ۳ نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۵).

جدول ۵: مقایسه اثر تیمارهای مختلف در ویژگی‌های بافتی روده، تعداد سلول‌های جامی و سلول‌های لوکوسیت روده تیلاپیا (انحراف معیار± میانگین)

جیره	طول پرز (میکرون)	قطرپرز (میکرون)	قطر لایه عضلانی (میکرون)	تعداد سلول‌های جامی (در هر ۱۰۰ میکرون)	تعداد سلول‌های لوکوسیت (در هر ۱۰۰ میکرون)
۱	۸۶±۵۲۰^{a}	۵±۱۷۴/۵^{a}	۴۶/±۳ ۵/۱^{a}	۲/۰±۶/۲^{a}	۵/۰±۷/۷^{a}
۲	۶۱±۶۰۲ ^{c}	۹±۱۸۴/۱^{a}	۵۹/۴±۱/۵^{b}	۳/۰±۲/۵^{b}	۶/۰±۳/۹^{a}
۳	۳۷±۵۴۲^{b}	۶±۲۱۴^{b}	۸۳/۳±۲/۹^{c}	۴/۰±۱/۲^{c}	۸/۰±۴/۹^{b}

حروف غیرمشترک در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).



شکل۱: تصویر مقطع عرضی ناحیه انتهایی روده در تیمارهای مورد آزمایش (T1 تا T5). لول‌های جامی (goblet cells)(GC)، لامینا پروپریا (LP) و سلول‌های لوکوسیت بین اپیتلیومی (intraepithelial leucocyte)(IEL
(رنگ‌آمیزی H&E، ×۴۰۰)

نتایج حاصل از بررسی بافت‌شناسی شکل ۱ نشان داد که در جیره یک (شاهد) بافت فاقد هیچ‌گونه التهاب و طول و قطر پرزها طبیعی است. در جیره ۲ طول پرزها افزایش یافته و چسبندگی بین پرزها به‌صورت پراکنده نسبت به جیره شاهد مشاهده گردید درحالی که التهاب در لامینا پروپریا و هم‌چنین افزایش تعداد سلول‌های جامی شکل و ترشح موکوس مشاهده نشد. در جیره ۳ بلند شدن طول پرزها در مقایسه با شاهد، چسبندگی نسبتاً شدید رأس پرزها به یکدیگر و نفوذ سلول‌های لوکوسیت در لامینا پروپریا مشاهده گردید. افزایش ضخامت لایه عضلانی در مقایسه با شاهد قابل توجه بود. افزایش تعداد سلول‌های جامی شکل و ترشح موکوس نیز مشاهده شد. قطر پرز و لایه عضلانی نیز توسعه یافت.

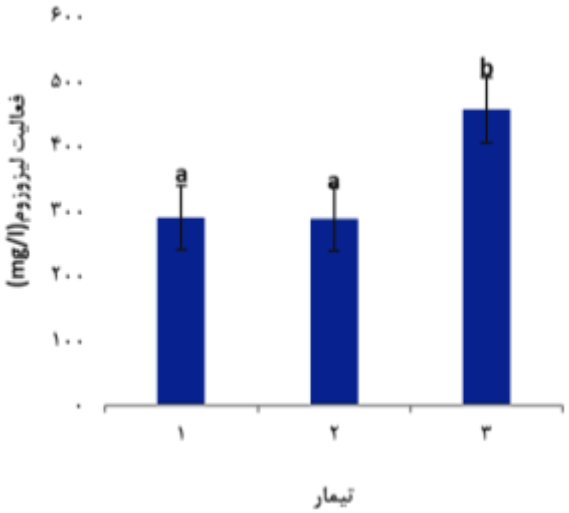
تاثیر تیمارهای آزمایشی بر کیفیت آب: نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشان می‌دهد مواد معدنی اضافه شده به جیره تاثیر معنی‌داری بر pH آب ندارد، درحالی‌که در تیمار ۳ با ۷۵ درصد مکمل مواد معدنی بیش‌ترین هدایت الکتریکی را در بین تیمارها ایجاد نمود و نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). سختی کل، قلیائیت کل و مجموع جامدات محلول در تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کم‌ترین مقدار را داشت (P<۰/۰۵). سختی کل در تیمار ۳ بیش‌ترین مقدار و دارای اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها بود (P<۰/۰۵). تیمار ۳ بیش‌ترین مقدار قلیائیت را داشت و افزایش معنی‌دار در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به تیمار شاهد در جامدات محلول آب نیز به‌دست آمد. مجموع جامدات غیر محلول در تیمار ۳ کم‌ترین مقدار بود و بیش‌ترین مقدار دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) در تیمارهای ۱ و ۲ مشاهده شد (جدول ۶).

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر سیستم ایمنی: فعالیت کمپلمان سرم در تیمار ۳ اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) با گروه شاهد نشان داد (شکل ۲). نتایج مربوط به تاثیر استفاده از سطوح مختلف مواد معدنی در جیره‌های مختلف بر فعالیت باکتری‌کشی سرم خون ماهی در شکل ۲ ارائه شده است. نتایج به‌دست آمده حاکی از کاهش فعالیت باکتری‌کشی سرم ماهی تیلاپیا در اثر مصرف تیمار آزمایشی ۳ در مقایسه با شاهد است (P<۰/۰۵).

جدول ۶: میانگین (انحراف معیار± میانگین) خصوصیات فیزیکوشیمایی آب در طول آزمایش

تیمار	دما (درجه سانتی‌گراد)	pH	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس/ثانیه)	اکسیژن محلول (میلی‌گرم/لیتر)	سختی کل (میلی‌گرم/لیتر CaCO3)	قلیائیت (میلی‌گرم/لیتر)	TDS (میلی‌گرم/لیتر)	TSS (میلی‌گرم/لیتر)
۱	۲۵/۹	۸/۰۵	۵۹±۱۲۳۲ ^{a}	۵/۹	۲۷۳/۳ ± ۷/۱ ^{a}	۶±۲۱۲/۱ ^{a}	۱۱±۶۱۶/۷ ^{a}	۲±۳۴۸/۷ ^{b}
۲	۲۶/۱	۷/۸۸	۳۳±۱۴۶۹ ^{ab}	۵/۹	۳۲۱/۳ ± ۲/ ۶^{ab}	۶±۲۴۰/۱ ^{b}	۳±۷۴۴/۷ ^{b}	۹±۳۶۲/۵ ^{b}
۳	۲۶	۷/۹۶	۶۹±۱۷۳۴ ^{b}	۵/۲	۳۴۴ ± ۲/۳ ^{b}	۲۶۴ ۲±/۳ ^{c}	۲±۸۹۰/۷ ^{c}	۲±۲۲۵/۳ ^{a}

حروف غیرمشترک در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (p<۰/۰۵).



شکل ۲:نمودار فعالیت سرمی لیزوزیم تحت تاثیر جیره‌های مختلف

حروف غیرمشترک در بالای اعداد در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (p<۰/۰۵).

بحث

در این مطالعه تغییرات معنی‌داری در میزان فعالیت باکتری‌کشی سرم خون که از شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی محسوب می‌شود در ماهی تیلاپیا به‌دنبال استفاده از سطوح مختلف مواد معدنی در جیره مشاهده گردید. در جیره ۳ (سطح ۷۵ درصد) سطح فعالیت باکتری‌کشی سرم افزایش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که افزایش مواد معدنی در جیره سبب افزایش میزان فعالیت باکتری‌کشی در سرم می‌شود که در سطح ۷۵ درصد بیش‌ترین افزایش را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌دار نشان می‌دهد. حضور باکتری‌ها در روده ممکن است موجب مهار یا ایجاد یک پاسخ ایمنی گردد. مکانیسم‌های دفاعی غیراختصاصی شامل عمل فاگوسیتوز است که ماکروفاژها در این مکانیسم دفاعی مهم‌ترین نقش را دارند. حضور باکتری‌های اسیدلاکتیکی سبب فعال‌سازی ماکروفاژها و در واقع نتیجه بروز پاسخ ایمنی غیراختصاصی در میزبان می‌شود. فعالیت ماکروفاژها موجب افزایش آنزیم‌های آزاد شده توسط آن‌ها می‌شود که یکی از این آنزیم‌های لیزوزیم و باکتری‌کش موجود در سرم خون است، بنابراین می‌توان چنین توجیه نمود که باکتری‌های موجود در آب سبب تحریک پاسخ ایمنی گردیده و موجب افزایش کارایی این سیستم شده است (Bouizgarne، ۲۰۱۳).

Moriarty (۱۹۹۸) با کنترل بیماری میگوهای پرورشی با استفاده از باسیلوس نشان داد که این باکتری‌ها با افزایش پاسخ ایمنی در میگو توانایی جایگزینی ترکیبات ضدپاتوژن مانند آنتی‌بیوتیک‌ها را دارند. Moriarty (۲۰۰۳) در پژوهشی دیگر، با کنترل بیماری پرسنیا راکری در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان با استفاده از دو باکتری باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لشنی‌فرمیس، ثابت نمود که این دو باکتری سبب افزایش مقاومت ماهی در برابر پرسنیوزیس می‌شوند. نتایج بررسی وی نشان داد که گروه‌های استفاده کننده از باکتری‌های باسیلوس بعد از گذشت ۴۲ روز به‌طور معنی‌داری ماندگاری بهتری در مقایسه با شاهد داشته‌اند. Yildiz و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند وجود باکتری به‌ازای ۱۰۷ سلول در تماس با لوله گوارش سبب تحریک ایمنی سلولی می‌شود، اما بر ایمنی هومورال (آنتی‌بادی‌های سرم خون) تاثیری ندارد. در تحقیق مذکور اضافه نمودن پروبیوتیک به جیره بعد از دو هفته افزایش قابل توجهی در تعداد اریتروسیت‌ها، ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها و افزایش فعالیت لیزوزیم مشاهده شد. در این مورد پروبیوتیک‌ها مثل واکسن‌های دهانی عمل می‌کنند (Hood و همکاران، ۱۹۸۸). علاوه بر افزایش پاسخ ایمنی غیراختصاصی مانند فعالیت لیزوزومی ثابت شده، باسیلوس‌ها ترکیباتی تولید می‌کنند که مانع رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌شوند که در بین این گونه ترکیبات، باکتریوسین‌ها بیش‌ترین اهمیت را دارند (Ali و همکاران، ۲۰۰۰؛ Gildberg و همکاران، ۱۹۹۷). این مواد از جنس پروتئین بوده و توسط برخی از سویه‌های باکتری‌ها ازجمله باسیلوس‌ها ترشح می‌شوند. در مطالعه حاضر، نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت ترکیبات باکتری‌کش در سرم خون ماهی، حاکی از این مطلب است که در بچه‌ماهیانی با میانگین وزنی بالاتر که میکروفلور طبیعی روده آن‌ها شکل گرفته، باسیلوس‌های اضافه شده در جیره توانسته‌اند در روده استقرار یافته و سطح ایمنی بدن را بالا ببرند. بنابراین می‌توان جهت بهبود سلامتی در ماهیان در حین دوره پرورش از جمعیت باکترهای مفید آب و با استفاده از ترکیبات معدنی ویژه به‌عنوان جایگزین عوامل ضدپاتوژنی

(آنتی‌بیوتیک‌ها) استفاده نمود و علاوه بر کاهش اثرات سوء زیست محیطی این ترکیبات، سیستم ایمنی ماهی را تقویت نمود. در این تحقیق ثابت شد که مواد معدنی مختلف اثر معنی‌داری بر جمعیت باکتری‌های آب محیط پرورش و روده ماهی نسبت به گروه شاهد دارد و با افزایش مواد معدنی در جیره و میزان غذادهی، تعداد باکتری‌ها در آب محیط پرورش افزایش یافت. مواد معدنی آزاد شده به‌عنوان منبع غذایی به سرعت توسط باکتری‌ها مصرف می‌شوند و جمعیت آن‌ها را افزایش می‌دهند. تجزیه مواد دفعی مقدار قابل توجهی از مواد مغذی را به‌عنوان یک ماده اولیه برای رشد باکتری‌ها مورد استفاده در کاتابولیسم آمونیاک فراهم می‌کند. این امر به نوبه خود سبب بهبود کیفیت آب نیز می‌شود. تحقیق حاضر هم‌چنین نشان داد که تعداد باکتری‌های موجود در روده ماهیان پرورش یافته در جیره‌های حاوی مواد معدنی با شاهد تفاوت معنی‌داری دارد (P<۰/۰۵). افزایش باکتری در آب سیستم می‌تواند به‌عنوان یک منبع ورود به بدن ماهی باشد (Anand و همکاران، ۲۰۱۳). تغذیه ماهیان از جیره‌های حاوی مواد معدنی باعث افزایش تعداد باکتری‌های روده می‌گردد. در جیره ۳ که ۷۵ درصد مواد معدنی مورد نیاز هیدروپونیک را دارا بود، بیش‌ترین میزان باکتری (۱/۷۶×۱۰^{۶}) در روده ماهیان را نشان داد. Ringo و همکاران (۱۹۹۴) گزارش نمودند که نوع جیره غذایی نیز بر میکروفلور روده ماهیان آب شیرین و شور پرورشی تاثیر دارد. میزان حضور باکتری‌ها در روده ماهی بازتابی از محل زندگی ماهی و نوع غذای مصرفی آن است. با توجه به نتایج حاصل از افزایش تعداد باکتری در محیط پرورش، تعداد باکتری‌ها در روده نیز افزایش پیدا می‌کنند. De schryver (۲۰۰۸) بر وجود همکاری نزدیک بین میکروبیوتای روده میزبان و میکروبیوتای محیط زندگی موجودات آبزی تاکید کردند. Del'Duca و همکاران (۲۰۱۵) نیز در تحقیقات خود به شباهت زیاد بین جمعیت باکتری‌های موجود در لوله گوارش، آب و رسوبات استخر در تیلاپیای پرورشی اشاره کردند. افزایش جمعیت میکروبی در سیستم به‌دلیل رقابت بر سر غذا و فضا در آب و لوله گوارش مانع ازدیاد پاتوژن‌ها می‌شود (Crab و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به تصاویر میکروسکوپی ارایه شده در شکل ۱، طول و قطر پرزهای بافت روده ماهیان تیمار ۲ و تعداد سلول‌های جامی و سلول‌های لوکوسیت در جیره ۳ با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). افزایش سلول‌های جامی باعث افزایش تولید موکوس در روده ماهی می‌شود و تولید موکوس یک مکانیسم مهم برای جلوگیری از ورود پاتوژن‌ها از طریق روده است (Ellis، ۲۰۰۱). علاوه بر این، مخاط روده دارای اثرات ضد باکتریایی، محافظت در برابر مواد سمی و هم‌چنین به انتقال مواد غذایی از لومن به سلول‌های اپیتلیالی روده کمک می‌کند (Simirnov و همکاران، ۲۰۰۵). با توجه به این‌که در جیره بیشینه مواد مغذی (تیمار ۳) افزایش فلور باکتریایی آب و روده نتیجه شده است و باکتریی‌های مفیدی ازجمله باسیلوس‌ها در کشت میکروبی مشاهده شده، می‌توان احتمال داد فلور باکتریایی دستگاه گوارش به سمت این میکروارگانیزم‌های مفید پیش رود (Rivera و همکاران، ۲۰۱۴؛ Crab و همکاران، ۲۰۰۹). بنابراین تاثیر حضور این باکتری‌ها بر بافت روده را می‌توان با یافته‌های مرتبط با این میکروارگانیزم‌های مفید مقایسه کرد. Abid و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که استفاده از باکتری *Padiococcus acidilacyici* به‌عنوان پروبیوتیک در جیره غذای ماهی سالمون باعث افزایش تعداد سلول‌های جامی، سلول‌های التهابی (لوکوسیت‌ها) و افزایش طول پرز، بهبود عملکرد جذب مواد غذایی و رشد می‌شود. Gisber و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که استفاده از مکمل پروبیوتیکی *Bacillus cereus* در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین کمان انگشت‌قد باعث افزایش سطح نفوذ لوکوسیت‌ها در لامینا پروپریا از مخاط روده و هم‌چنین افزایش تعداد سلول‌های جامی و طول پرزهای روده می‌شود. Merrifield و همکاران (۲۰۱۰) اثبات کردند که استفاده از مکمل پروبیوتیک Bactocell (یک پروبیوتیک تجاری) حاوی باکتری *Padiococcus acidilacyici* در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث تغییراتی در مرفولوژی روده می‌گردد.Al Abdulhadi (۲۰۰۵) و Jordanoska و همکاران (۲۰۰۶)عنوان کردند که نوع تغذیه نیز روی بافت روده وکبد تاثیر دارد و در صورت هر گونه تغییرات بافتی در روده ماهی سلامت ماهی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. به‌طورکلی، نتایج نشان می‌دهد که مواد معدنی مورد استفاده تاثیر منفی بر مورفولوژی روده می‌گذارد که شامل افزایش ضخامت لایه عضلانی و قطر روده و هم‌چنین تعداد سلول‌های جامی و ترشح کننده موکوس است. با وجود سطوح مختلف مواد معدنی مغذی در جیره که از ترکیبات نمکی این عناصر تامین می‌گردد، میزان نمک موجود در غذا و هم‌چنین مقدار آن‌ها به‌صورت محلول در آب سیستم با توجه به افزایش سطح آن‌ها در جیره افزایش یافته و در سیستم تجمع پیدا می‌کنند این تجمع و تماس مستقیم نمک جیره با دستگاه گوارش سبب تغییر در مورفولوژی روده می‌گردد. در تیمار ۳ به‌دلیل تجمع بیش‌تر مواد معدنی و هم‌چنین وجود نمک بیش‌تر در جیره تغییرات مورفولوژی مشاهده گردیده که نشان می‌دهد این افزایش ترکیبات نمکی سبب تغییر بیش‌تری نسبت به سایر تیمارها بر مورفولوژی روده داشته است. آبشش و لوله گوارش اندام‌هایی هستند که در تماس با محیط خارج و نقش کلیدی در تنظیم اسمزی بدن دارند (Waldvogel و همکاران، ۲۰۱۴). جذب فعال یون‌ها از آب خورده شده توسط دستگاه گوارش و دفع نمک از طریق آبشش‌ها صورت می‌گیرد (Lictal و همکاران، ۲۰۱۴). براساس این مطالعه، افزایش نمک مورفولوژی روده را تغییر می‌دهد. این تغییر شامل افزایش ضخامت لایه عضلانی

و قطر روده که به‌دلیل التهاب در ناحیه لامینا پروپریا است و افزایش تعداد سلول‌های مترشحه موکوس و لوکوسیت‌ها را به همراه دارد. این یافته‌ها مشابه نتایج به‌دست آمده توسط Tron-Ngol و همکاران (۲۰۱۶) است که گزارش کردند شرایط کمبود اکسیژن سبب تغییرات مورفولوژیکی در قسمت قدامی روده می‌شود درحالی‌که تاثیر یون‌های زیاد بر قسمت خلفی روده مشاهده می‌گردد ولی از نظر شباهت تغییر مورفولوژیکی کمبود اکسیژن و افزایش یون‌های نمکی مشابه عمل می‌نماید. تغییرات مورفولوژیکی با افزایش یون‌ها با فعالیت قسمت انتهایی روده در تنظیم یونی (مانند جذب یون‌ها از آب) ارتباط دارد و افزایش تعداد سلول‌های جامی شکل در این ناحیه نیز به‌دلیل وظیفه احتمالی این سلول‌ها در تنظیم یونی در آب‌های شور دارند (Rodriguez و همکاران، ۲۰۰۵). این تحقیقات با نتایج Li و همکاران (۲۰۱۴) که نشان داد ناحیه خلفی روده نسبت به قسمت میانی و ابتدایی پاسخ بیش‌تری نسبت به افزایش یون‌های موجود در آب می‌دهد هم‌راستا است. متوسط دمای آب ۲۶ درجه سانتی‌گراد در یک بازه بین ۲۵/۹ تا ۲۶/۱ بوده است. این دما مناسب برای تیلاپیا است، اما اغلب گرم‌تر از دمای مناسب مورد نیاز برای گیاه است (Resh، ۲۰۱۲). با توجه به انجام این آزمایش در فضای گلخانه و مجهز بودن گلخانه به وسایل کنترل کننده دما و هم‌چنین وجود بخاری در هر واحد آبزی‌پروری دما تحت شرایط فصل بوده و تغییرات شبانه‌روزی قرار گرفته با وجود عایق‌بندی گلخانه ولی در شب دما هدر رفته و کاهش دما در هنگام شب و حداکثر دما در اواسط روز ثبت گردیده است. با سرد شدن هوا در طول آزمایش دمای آب کاهش یافت. pH در طول آزمایش ابتدا افزایش یافت به این صورت که در شروع آزمایش با استفاده از آب شهر با pH حدود ۷/۸ به ۸/۵ در هفته پنجم رسید با ادامه آزمایش به میانگین ۷/۹ کاهش یافت. در بین تیمارها تغییرات pH اختلاف معنی‌داری مشخص نشد،درحالی‌که هفته پنجم به‌طور معنی‌داری pH در تمامی تیمارها افزایش یافته و در هفته دهم کاهش یافته است. در طول آزمایش با اضافه‌شدن روزانه غذا به مخزن پرورش ماهی آمونیاک دفع شده توسط ماهی به آمونیوم تبدیل شده که باعث می‌گردد pH افزایش یابد، به تدریج با شکل‌گیری جمعیت باکتری‌های نیتروفیکانت از هفته پنجم طی فرآیند نیتروفیکاسیون آمونیوم به نیتریت و نیترات تبدیل می‌گردد که سبب آزادشدن یون H^+ می‌شود(Schreier، ۲۰۱۰). این پدیده اسیدی شدن آب را باعث می‌شود و اصلی‌ترین دلیل کاهش قلیائیت محسوب می‌شود. باتوجه به این‌که درطول آزمایش جایگزینی آب وجود نداشت و فقط آب جهت جبران تبخیر اضافه شد، و این میزان در مقایسه با حجم کل آب مقدار قابل توجهی نبود. بنابراین، سبب تغییرات قابل‌توجه در pH نشد و این شرایط برای همه واحدهای آزمایش مشابه بود. در طول آزمایش EC با یک روند صعودی در تمامی تیمارها افزایش یافت و از شروع آزمایش که ۵۶۰ اندازه‌گیری شد به میانگین‌حدود ۱۶۳۰ میکروزیمنس برسانتی‌متردر بین تیمارها اندازه‌گیری شد. براساس نتایج به‌دست آمده و افزایش EC، مواد مغذی کم مصرف و پر مصرف افزایش یافت که نشان‌دهنده تجمع مواد غذایی در آب در طول آزمایش است که با ورود غذا و دفع توسط ماهی ایجاد می‌شود. نتایج نشان می‌دهد در بین مواد مغذی نیترات و کلسیم سریع‌تر و بیش‌تر تجمع می‌یابند و سبب افزایش EC می‌شوند. به‌دلیل عدم‌جایگزینی آب در طول‌آزمایش هیچ‌ماده مغذی از سیستم گردشی خارج نشده، بنابراین کاهش EC به‌دلیل تعویض و جایگزینی آب که سبب رقیق شدن آن می‌شود وجود ندارد. بیش‌ترین میزان EC در تیمار سوم مشاهده شدکه این افزایش با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت.درجیره ۳ کم‌ترین مقدار جامدات غیرمحلول و بیش‌ترین مقدار جامدات محلول در آب اندازه‌گیری شد که نشان می‌دهد در اثر فعالیت باکتری‌ها و افزایش توان تجزیه زیستی، جامدات غیرمحلول در آب تجزیه و به‌صورت معدنی در آب حل شده‌اند و سبب افزایش جامدات غیرمحلول شده است (Rafiee و Saad، ۲۰۰۶). این نتایج نشان داد که می‌توان با به‌کارگیری مواد معدنی در جیره غذایی ماهی و با دفع این مواد از طریق مدفوع میزان غلظت مواد معدنی را درآب افزایش داد و شرایط مناسبی را برای رشد گیاهان خشکی‌زی فراهم آورد. بحث در مورد این‌که افزایش EC آب در حدی بوده است که پیش‌بینی شده و در مقایسه با سیستم‌های پرورشی دیگر چگونه بوده است آورده شود. رفرنس‌دهی تکمیل و از یک فرمت تبعیت کند رنگ قرمز دو رفرنس جدید است. رنگ آبی انجام اصلاحات است. خواهشمند است وقت بگذارید و اصلاحات را انجام دهید.

رشد و توسعه اپیتلیوم روده درکنار بهبود شاخص‌های‌ایمنی که با افزایش گویچه‌های سفید و فعالیت‌های باکتری‌کشی در سرم خون مشخص شده، نشان می‌دهد که ماهی تیلاپیا با افزایش مواد معدنی جیره شرایط زیستی بهتری را تجربه می‌نماید. مطالعات بافت‌شناسی روده نشان می‌دهد با افزایش مواد معدنی در جیره، ساختار روده را تغییر می‌دهد. این تغییرات مشابه ماهیان‌سازش یافته‌در آب‌شور است. تعدادسلول‌های گلابی‌شکل و لکوسیت‌ها افزایش‌می‌یابد تابتواند ماهی شرایط اسمزی بهتری را داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه خود را از کلیه اعضای هیئت‌علمی و کارشناسان‌دانشکده منابع‌طبیعی دانشگاه تهران و دانشگاه صنعتی اصفهان اعلام می‌دارد.

منابع

۱. **رفیعی، غ.ر.، ۱۳۸۶.** راهنمای آبکشت. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۶۰ صفحه.

2. **Ali, A., 2000.** Probiotics in the fish farming. Evaluation of a bacterial mixture. PhD thesis Swedish University of Agriculture Sciences. Umea, Sweden.
3. **Bouizgarne, B., 2013.** Bacteria for plant growth promotion and disease management. In Bacteria in Agrobiology: Disease Management; Maheshwari, D.K., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany. pp: 15-47.
4. **Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. and Bruns, D.E., 2012.** Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 6th ed. Elsevier Health Sciences Press, United States of America. 952 p.
5. **Courtois, L.A. and Meyerhoff, R.D., 1975.** Effects of copper exposure on water balance. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 14, No. 2, pp: 221-224.
6. **Delaide, B.; Goddek, S.; Mankasingh, U.; Ragnarsdottir, K.V.; Jijakli, H. and Thorarinsdottir, R., 2015**, Challenges of sustainable and commercial aquaponics. Sustain. Vol. 7, pp: 4199-4224.
7. **Dick, P. and Dixon, D., 1985.** Changes in circulating blood cell levels of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, following acute and chronic exposure to copper. Journal of Fish Biology. Vol. 26, No. 4, pp: 475-481.
8. **Francis, C.; Lieblein, G.; Gliessman, S.; Breland, T.A.; Creamer, N.; Harwood, R.; Salomonsson, L.; Helenius, J.; Rickerl, D.; Salvador, R.; Wiedenhoeft, M.; Simmons, S.; Allen, P.; Altieri, M.; Flora, C. and Poincelot, R., 2003.** Agroecology: The Ecology of Food Systems. J. Sustain. Agric. Vol. 22, pp: 99-118.
9. **Gildberg, A.; Mikkelsen, H.; Sandaker, E. and Ringo, E., 1997.** Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlatic cod (*Gadus morhua*). Hydrobiologia. Vol. 352, pp: 279-285.
10. **Heath, A.G., 1995.** Water pollution and fish physiology. CRC press, Washington. 384 p.
11. **Hood, S.K. and Zottola, A., 1988.** Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. Journal of Food Science. Vol. 53, pp: 1514-1516.
12. **Hu, Z.; Lee, J.W.; Chandran, K.; Kim, S.; Brotto, A.C. and Khanal, S.K., 2015.** Effect of plant species on nitrogen recovery in aquaponics. Bioresource Technol. Vol. 188, pp: 92-98.
13. **Karim, M.; Jeong, S.Y.; Yoon, S.J.; Cho, S.J.; Kim, Y.H.; Kim, M.J.; Ryu, E.Y. and Lee, S.J., 2008.** Aerobic denitrification of *Pseudomonas putida* AD-21 at different C/N ratios. Journal of Bioscience and Bioengineering. Vol. 106, pp: 498-502.
14. **Kori-Siakpere, O. and Ubogu, E.O., 2008.** Sublethal haematological effects of zinc on the freshwater fish, *Heteroclarias* sp.(Osteichthyes: Clariidae). African Journal of Biotechnology. Vol. 7, No. 12, pp: 2068-2073.
15. **Lennard, W.A. and Leonard, B.V., 2006.** A comparison of three different hydroponic subsystems (gravel bed, floating and nutrient film technique) in an Aquaponic test system. Aquac. Int. Vol. 14, No. 6, pp: 539-550.
16. **Lie, O.; Evansen, O.; Sorensen, A. and Froysadal, E., 1989.** Study of lysozyme in some fish species. Dis. Aquat.Org. Vol. 6, pp: 1-5.
17. **Love, D.C.; Fry, J.P.; Genello, L.; Hill, E.S.; Frederick, J.A.; Li, X. and Semmens, K., 2014.** An international survey of aquaponics practitioners. PLoS One. Vol. 9, No. 7, e102662.
18. **McKim, J.; Christensen, G. and Hunt, E.P., 1970.** Changes in the blood of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) after short term and long-term exposure to copper. Journal of the Fisheries Board of Canada. Vol. 27, No. 10, pp: 1883-1889.
19. **Moriarty, D.J.W., 1998.** Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture. Vol. 164, pp: 351-358.
20. **Moyner, K.; Roed, K.H.; Sevatdal, S. and Heum, M., 1993.** Changes hn non-specific immune parameters in Atlantic Salmon, *Salmo salar* L, induced by Aeromonas salmonicida infaction. Fish. Sellfish Immunol. Vol. 3, pp: 253-265
21. **Noga, E., 1995.** Fish disease: Diagnosis and treatment2nd ed,. Watsworth Publishing, Co., USA. 519 p.
22. **Ololade, I. and Ogini, O., 2009.** Behavioural and hematological effects of zinc on African catfish, *Clarias gariepinus*. International Journal of Fisheries and Aquaculture. Vol. 1, No. 2, pp: 22-27.
23. **Pulvenis, J.F., 2016.** Fisheries and Aquaculture topics. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). Topics Fact Sheets. Fisheries and Aquaculture Department.; Rome,
24. **Rafiee, Gh.R. and Saad, Ch.R., 2006.** The effect of natural zeolite (Clinoptilolite) on Aquaponics production of red tilapia (*Oreochromis* sp.) and Lettuce (*Lactuca sativa* var. longifolia), and improvement of water quality. Iranian Journal of Agricultural Sciences and Technology. Vol. 8, No. 4, pp: 313-322.
25. **Rafiee, Gh.R. and Saad, Ch.R., 2005.** Nutrient cycle and sludge production during different stages of red tilapia (*Oreochromis* sp.) growth in a recirculating aquaculture system. Aquaculture. Vol. 244, No. 1-4, pp: 109-118.
26. **Rakocy, J.E.; Losordo, T.M. and Masser, M.P., 1992.** Recirculating Aquaculture Tank Production Systems: Integrating Fish and Plant Culture. SRAC Publication, Southern region aquaculture center, Pub. No: 454, USA. 12.
27. **Rakocy, J.E., 2012.** Aquaponics-Integrating Fish and Plant Culture. In; Wiley-Blackwell. pp: 344-386.
28. **Resh, H.M., 2012.** Hydroponic food production*:* a definitive guidebook for the advanced home gardener and the commercial hydroponic grower; Boca Raton, FL: CRC Press: Boca Raton, FL,
29. **Ruiz, G., Jeison, D. and Chamy, R., 2003.** Nitrification with high nitrite accumulation forthe treatment of wastewater with high ammonia concentration. Water Research, 37: 1371–1377.
30. **Sampath, K.; James, R. and Ali, KA. (1998). ,** Effects of copper and zinc on blood parameters and prediction of their recovery in *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae). Indian Journal of Fisheries, 45 (2): 129-139.
31. **Singh, D.; Nath, K.; Trivedi, S. and Sharma, Y., 2008.** Impact of copper on haematological profile of freshwater fish, *Channa punctatus*. Journal of Environmental Biology. Vol. 29, No. 2, pp: 253.
32. **Soivio, A. and Nikinmaa, M., 1981.** Swelling of erythrocytes in relation to the oxygen affinity of the blood of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. In: Pickering, AD. (ed). Stress and fish. Academic Press. pp: 103-119.
33. **Sonneveld, C. and Voogt, W., 2009.** Plant Nutrition of Greenhouse Crops; Springer Netherlands.
34. **Svobodova, Z.; Vykusova, B.; Machova, J.; Müller, R. and Lloyd, R., 1994.** Sublethal chronic effects of pollutants on freshwater fish. In: Muller R. and Lloyd R. Lugano. pp: 39-52.
35. **Steffen, W.; Richardson, K.; Rockström, J.; Cornell, S.E.; Fetzer, I.; Bennett, E.M.; Biggs, R.; Carpenter, S.R.; De Vries, W.; De Wit, C.A.; Folke, C.; Gerten, D.; Heinke, J.; Mace, G.M.; Persson, L.M.; Ramanathan, V.; Reyers, B. and Sörlin, S., 2015**, Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. Science. Vol. 80, pp: 347.
36. **Timmons, M.B. and Ebeling, J.M., 2013.** Recirculating Aquaculture; 3rd ed.; Ithaca Publishing Company LLC: Ithaca, NY.
37. **Tukmechi, A.; Morshedi, A. and Delirezh, N., 2007.** Changes in Intestinal Microflora and Humoral Immune Response Following Probiotic Administration in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Animal and Veterinary Advancess. Vol. 6, No. 10, pp: 1183-1189.
38. **Wongkiew, S.; Hu, Z.; Chandran, K.; Lee, J.W. and Khana, S.K., 2017.** Nitrogen transformations in aquaponic systems: A review. Aquacultural Engineering. Vol. 76, pp: 9-19.
39. **Yildiz, H.Y.; Robaina, L.; Pirhonen, J.; Mente, E.; Domnguez, D. and Parisi, G., 2017.** Fish welfare in aquaponic systems: Its relation to water quality with an emphasis on feed and faeces-A review. Water (Switzerland). Vol. 9, pp: 1-17.