

تأثیر غنی سازی جیره با جلبک پادینا (*Padina astraulis Hauck*) بر شاخص‌های ایمنی سرم خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانو اکسید روی

سپیده غنی^۱، سعید مداح^۲، سید علی اکبر هدایتی^{*}، فرحناز کاکاوند^۱، عاطفه ایری^۱، حبیب الله سنجولی^۱، روح‌اله شیخ ویسی^۱

*Hedayati@gau.ac.ir

۱-دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲-دانشکده محیط زیست، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷

چکیده

استفاده از محرک‌های ایمنی نظیر جلبک‌ها در بالا بردن ایمنی نقش اساسی دارد. از سویی، وجود نانوذرات بر وضعیت فیزیولوژیک ماهیان اثرگذار بوده و باعث کاهش عملکرد ایمنی ماهیان می‌شود. از اینرو، هدف از این تحقیق بررسی تأثیر غنی سازی جیره با جلبک پادینا (*Padina astraulis Hauck*) بر شاخص‌های ایمنی سرم خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانو اکسید روی بود. تعداد ۲۵۰ بچه‌ماهی کپور معمولی به مدت ۴۲ روز در چهار گروه، جیره فاقد جلبک (تیمار ۱، شاهد)، غذای حاوی درصد‌های مختلف جلبک در جیره شامل ۰/۵ درصد جلبک (تیمار ۲)، غذای حاوی ۱ درصد جلبک (تیمار ۳) و غذای حاوی ۲ درصد جلبک (تیمار ۴) تقسیم شدند. سپس به آب مخازن هر کدام از گروه‌ها، ۵۰ درصد غلظت کشنده نانو اکسید روی (۱/۵ میلی گرم بر لیتر) به مدت چهارده روز اضافه شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان پروتئین کل، ایمونوگلوبولین، آلبومین سرم خون تأثیر معنی‌داری داشت ($P < 0/05$)، ولی بر شاخص گلوکز سرم خون تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). همچنین تیمارهای آزمایشی بر میزان آسپارات ترانس‌آمیناز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آلانین ترانس‌آمیناز (ALT) سرم خون ماهی تأثیر معنی‌داری داشت ($P < 0/05$)؛ میزان این شاخص‌ها در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین میزان این شاخص‌ها در تیمار در معرض نانو اکسید روی و در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک نیز افزایش معنی‌داری یافت. با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که بنظر می‌رسد جلبک پادینا تا حدی توانسته اثر کاهشی نانو اکسید روی را بر شاخص پروتئین کل و ایمونوگلوبولین سرم خون را بهبود ببخشد که نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه است.

واژگان کلیدی: آبی، بهبود مقاومت، نانو ذرات فلزی، جلبک

*نویسنده مسئول

مقدمه

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از رده ماهیان استخوانی و متعلق به خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) است و در تمام حوضه‌های آبریز ایران پراکنش دارد (ستاری، ۱۳۸۲) و یکی از مهم‌ترین ماهیان پرورشی و تجاری در دنیا و ایران محسوب می‌گردد. جلبک‌های دریایی، ۸۵ درصد از کل تولید جهانی گیاهان آبی را تشکیل می‌دهند و به عنوان یکی از بزرگترین تولیدکنندگان دریا محسوب می‌شوند (Fleurence *et al.*, 2012). همچنین آن‌ها غنی از مواد معدنی، پروتئین، ویتامین، فیبرهای خوراکی و نیز دارای پلی‌ساکاریدهایی با عملکرد مختلف و ضروری برای تغذیه انسان می‌باشند. بنابراین، جلبک‌های دریایی به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا به عنوان یکی از سبزیجات ضروری و چاشنی مهم در بسیاری از جهان شناخته شده‌اند. جلبک پادینا یک جلبک پرسلولی است که در آب‌های غنی از مواد مغذی ضروری رشد می‌کند. این جلبک با داشتن رشد نسبتاً سریع قابلیت تولید روغن را دارد. میزان روغن در آن ۲۵٪-۷۵٪ وزن خشک می‌باشد (Choi *et al.*, 2015).

توسعه سریع نانو و نانو تکنولوژی در سال‌های اخیر افق جدیدی به روی بسیاری از صنایع و بخش‌های مختلف گشوده که سرچشمه انقلاب صنعتی جدید گردیده است. در سال‌های اخیر نانو تکنولوژی تبدیل به یکی از مهم‌ترین و مهیج‌ترین حوزه‌های رو به پیشرفت در فیزیک، شیمی، علوم مهندسی و زیست‌شناسی شده است. ذرات نانو به دلیل خصوصیت‌های غیر معمول نوری، شیمیایی، فوتوالکتروشیمیایی و الکتریکی، مورد توجه دانشمندان هستند (Gong *et al.*, 2007). روی در طبیعت بندرت به صورت یون‌های آزاد وجود دارد و اغلب در ترکیب با سایر عناصر معدنی یافت می‌شود. نانو اکسید روی ترکیبی غیرآلی با فرمول ZnO می‌باشد و معمولاً به صورت پودری سفیدرنگ است که ظرفیت کاتالیزوری بالا و خاصیت ضد میکروبی دارد (Stoimenov *et al.*, 2002). نانوذرات روی به دلیل ویژگی‌های ضد میکروبی در طیف وسیعی از محصولات از جمله لوازم آرایشی و بهداشتی، ضد آفتاب‌ها، رنگ‌ها، فیلترهای UV و حسگرهای زیستی استفاده می‌شوند. همزمان با افزایش تولید و استفاده از نانوذرات

روی در محصولات تجاری، امکان رهایش آن‌ها به محیط زیست و از جمله به بومسازگان‌های آبی افزایش می‌یابد، بطوریکه میزان ورود این نانوذرات را به محیط آبی ۳۷۰۰ تن در سال برآورد کرده‌اند (Zhao *et al.*, 2013). از آن جا که نانوذرات مصنوعی تولید بشر هستند و در فرآیند تکامل وجود نداشته‌اند، در حال حاضر، نگرانی زیادی پیرامون آلودگی موجودات زنده با آن‌ها وجود دارد. اگرچه روی از نظر تغذیه‌ای جزو عناصر مغذی و ضروری برای زندگی جانوران و از جمله آبزیان محسوب می‌شود (Houng-Yung *et al.*, 2014). اما غلظت‌های بالای آن در محیط زیست یا خوراک موجودات آبی باعث ایجاد مسمومیت می‌شود (Zheng *et al.*, 2014). Mustafa و همکاران (۱۹۹۴) با افزایش سطح اسپیرولینا در جیره غذایی مشاهده کردند که میزان پروتئین کل دارای افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بود. فروردین و همکاران (۱۳۹۶) در بررسی اثرات گالاکتوالیگوساکارید بر ماهی قرمز به این نتیجه رسیدند که جیره حاوی گالاکتوالیگوساکارید سبب افزایش معنی‌دار پروتئین کل می‌شود. Yousefi Babadi و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر نانو ذره اکسید آهن بر بافت و آنزیم کبدی پرداختند، نتایج آن‌ها نشان داد که غلظت بالایی از نانو ذرات اکسید آهن می‌تواند اثرات نامطلوبی بر کبد داشته و باعث صدمه به بافت کبدی و افزایش سطح آنزیم‌های کبدی شود. طاعتی و همکاران (۱۳۹۴) تحقیقی را به منظور تعیین عملکرد رشد و برخی از پارامترهای خونی و ایمنی بچه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف افزودنی گیاهی (کارواکرول، آنتول و لیمونن) انجام دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که افزودنی گیاهی در سطح ۲ گرم در کیلوگرم می‌تواند در افزایش عملکرد رشد و نیز بهبود برخی از شاخص‌های خونی و ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی بچه ماهیان کپور پرورشی مؤثر باشد. وضعیت نامساعد کیفیت آب و وجود آلاینده‌هایی همچون نانو ذرات روی در آب باعث پاسخ تنش در ماهیان می‌شود که کلیه عوامل تنش‌زا بر وضعیت فیزیولوژیک و سلامت ماهیان اثرگذار بوده و موجب کاهش عملکرد ایمنی ماهیان می‌شود. با توجه به اینکه تاکنون پژوهشی در زمینه کاهش سمیت نانو ذرات روی بر سیستم ایمنی

ریخته شد. به منظور تهیه سرم، نمونه‌های خون گرفته شده درون سانتریفیوژ یخچال دار با دور $3000 \times g$ به مدت ۷ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس نمونه‌های سرم در میکروتیوب‌های استریل ۱/۵ سی‌سی ریخته و تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- نگهداری شدند. جهت اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون شامل آنزیم‌های کبدی (آلانین ترانس‌آمیناز (ALT)، میزان آسپاراتات ترانس‌آمیناز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP))، گلوکز، پروتئین کل، ایمونوگلوبولین، آلبومین از کیت‌های تجاری پارس آزمون استفاده شد (سهلی، ۱۳۹۷). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون چند دامنه دانکن انجام شد. برای مقایسه قبل و بعد استفاده در هریک از گروه‌ها از آزمون تی مستقل استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان گردید.

نتایج

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان پروتئین کل سرم خون تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0/05$) بطوریکه میزان پروتئین کل سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا با افزایش غلظت جلبک، میزان این شاخص نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان این شاخص در تیمار در معرض نانو اکسید روی نسبت به گروه شاهد کاهش یافت، ولی معنی‌دار نبود. در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک، میزان این شاخص نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۱).

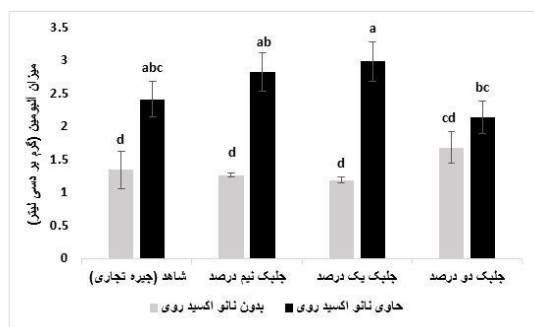
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان ایمونوگلوبولین سرم خون تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0/05$) بطوریکه میزان ایمونوگلوبولین سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا با افزایش غلظت جلبک، میزان این شاخص نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان این شاخص در تیمار در معرض نانو اکسید روی نسبت به گروه شاهد

ماهی کپور معمولی با استفاده از مکمل‌های غذایی صورت نگرفته است، این تحقیق با هدف غنی‌سازی جیره با جلبک پادینا بر شاخص‌های ایمنی سرم خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانو اکسید روی صورت پذیرفت.

مواد و روش

این تحقیق به مدت ۶۳ روز (یک هفته برای آداپته شدن، ۴۲ روز تغذیه با جلبک پادینا، ۱۴ روز در معرض نانو اکسید روی) در محل مرکز تحقیقات آبی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. ابتدا تعداد ۲۵۰ بچه ماهی کپور معمولی با محدوده وزنی حدود ۲۰ گرم از مراکز تکثیر و پرورش بخش خصوصی تهیه شدند. بعد از ضدعفونی و آماده‌سازی آکواریوم‌ها، آگیری آنها صورت گرفت. سپس به آکواریوم‌های آزمایشگاه منتقل شدند. برای سازگار شدن با محیط آزمایش به مدت یک هفته در داخل تانک‌های پرورشی نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی آب اندازه‌گیری شد که شامل دمای آب 21 ± 1 درجه سانتی‌گراد، پی اچ (pH) $7/9 - 6/7$ ، غلظت اکسیژن محلول: $9 - 7$ میلی گرم در لیتر و سختی آب: ۲۱۰ میلی گرم کربنات کلسیم در لیتر بود. بعد از گذشت یک هفته از دوره سازگاری، ماهیان در ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار شامل: غذای فاقد جلبک (تیمار ۱، شاهد)، غذای حاوی درصد‌های مختلف جلبک در جیره شامل ۰/۵ درصد جلبک (تیمار ۲)، غذای حاوی ۱ درصد جلبک (تیمار ۳) و غذای حاوی ۲ درصد جلبک (تیمار ۴) توزیع و به مدت ۴۲ روز به میزان ۳ درصد وزن بدن مورد تغذیه قرار گرفتند. بعد از گذشت ۴۲ روز، بچه ماهیان در مجاورت ۵۰ درصد غلظت کشته نانو اکسید روی به مدت ۱۴ روز قرار گرفتند (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲) که در مجموع ۸ تیمار با ۳ تکرار (۲۴ تیمار \times تکرار) طراحی شد. در پایان آزمایش و بعد از طی دوره ۶۳ روز، ۳ ماهی از هر تکرار جهت بررسی شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی سرم برداشته و از ساقه دمی ماهی‌ها خونگیری انجام شد. خون درون لوله‌های غیرهپارینه

سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا، تاثیر معنی‌داری نداشت، ولی در تیمار در معرض نانو اکسید روی و در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۳).



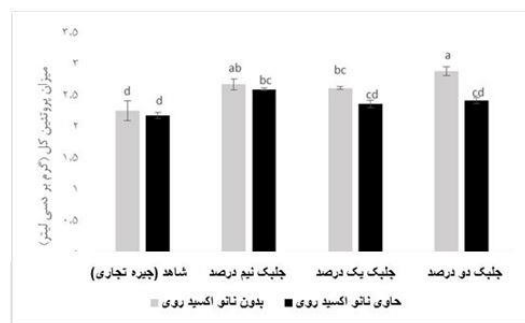
شکل ۳: میزان آلبومین سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

Figure 3: Serum albumin levels of common carp in different experimental treatments. Different English letters indicate a significant difference at the 5% level between the experimental treatments.

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان گلوکز سرم خون ماهی تاثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$) بطوریکه بیش‌ترین میزان گلوکز سرم خون ماهی در تیمار ترکیب نانو اکسید روی و جلبک دو درصد و کمترین میزان گلوکز سرم خون ماهی در تیمار جلبک یک درصد بود (شکل ۴). بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان ALT سرم خون ماهی تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) بطوریکه میزان ALT سرم خون ماهی در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا با افزایش غلظت جلبک، میزان این شاخص نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان ALT سرم خون ماهی در تیمار در معرض نانو اکسید روی و در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک نیز افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۵).

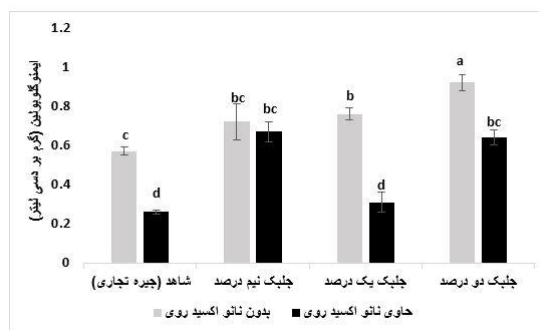
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان AST سرم خون ماهی تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) بطوریکه میزان

کاهش معنی‌داری یافت. در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک (جلبک نیم و دو درصد)، میزان این شاخص به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد سم خورده افزایش یافت (شکل ۲).



شکل ۱: میزان پروتئین کل سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

Figure 1: Total protein levels of common carp blood serum in different experimental treatments. Different English letters indicate a significant difference at the 5% level between the experimental treatments.

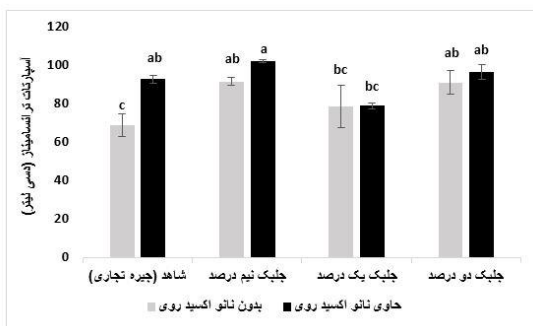


شکل ۲: میزان ایمونوگلوبولین سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

Figure 2: Serum immunoglobulin levels of common carp in different experimental treatments. Different English letters indicate a significant difference at the 5% level between the experimental treatments.

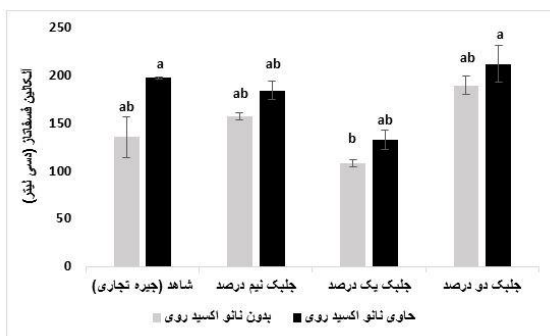
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان آلبومین سرم خون تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) بطوریکه میزان آلبومین

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان ALP سرم خون ماهی تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) بطوریکه میزان ALP سرم خون ماهی در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا با افزایش غلظت جلبک، میزان این شاخص نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان ALP سرم خون ماهی در تیمار در معرض نانو اکسید روی و در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک نیز افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۷).



شکل ۶: میزان AST سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

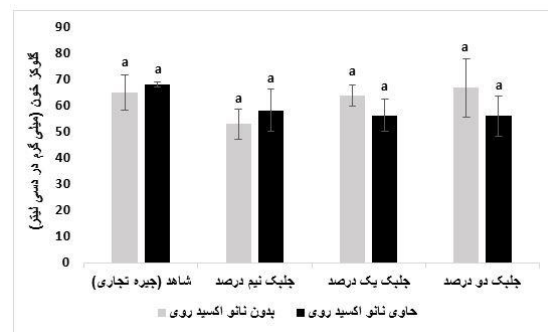
Figure 6: Serum AST levels of common carp in different experimental treatments. Different English letters showed a significant difference at the 5% level between the experimental treatments.



شکل ۷: میزان ALP سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

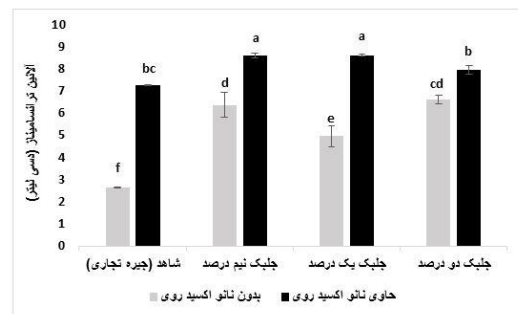
Figure 7: Serum ALP levels of common carp in different experimental treatments. Different English letters showed a significant difference at the 5% level between the experimental treatments.

AST سرم خون ماهی در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا با افزایش غلظت جلبک، میزان این شاخص نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان AST سرم خون ماهی در تیمار در معرض نانو اکسید روی و در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک نیز افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۶).



شکل ۴: میزان گلوکز سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

Figure 4: Serum glucose levels of common carp in different experimental treatments. The same English letters indicate no significant difference at the 5% level between the experimental treatments.



شکل ۵: میزان ALT سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

Figure 5: Serum ALT levels of common carp in different experimental treatments. Different English letters indicate a significant difference at the 5% level between the experimental treatments.

بحث

هر گونه تغییر در سطح آلبومین، گلوبولین و پروتئین کل پلاسما می‌تواند به عنوان یک شاخص بالینی در پایش سلامت سیستم ایمنی، کبد و کلیه مورد استفاده قرار گیرد. عوامل متعددی بر میزان این پارامترها تأثیرگذار هستند و آنها را دست‌خوش تغییرات می‌کنند که از جمله این عوامل می‌توان تغذیه ماهی را نام برد (John, 2007). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان پروتئین کل، ایمونوگلوبولین، آلبومین سرم خون تأثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، ولی بر شاخص گلوکز سرم خون تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). میزان پروتئین کل سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا و در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک پادینا به طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان این شاخص در تیمار در معرض نانو اکسید روی نسبت به گروه شاهد کاهش یافت، ولی معنی‌دار نبود. بنظر می‌رسد جلبک توانسته اثر کاهشی نانو اکسید روی را بهبود ببخشد و به حد شاهد و بیش‌تر از گروه شاهد برساند. پروتئین کل پلاسما شامل پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین است. تصور می‌شود که افزایش میزان آلبومین، گلوبولین و پروتئین سرم بیشتر در ارتباط با تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی میزبان باشد. پروتئین خون از اساسی‌ترین اجزاء متابولیسم در آبزیان است و غلظت کل پروتئین موجود در پلاسمای خون به عنوان یک شاخص بالینی در سنجش میزان سلامتی، استرس و وضعیت بدنی ارگان‌های آبی بکار برده می‌شود و سنجش مقدار پروتئین خون می‌تواند آسیب‌های سلولی را پیش‌بینی کند (Riche, 2007). مطابق نتایج تحقیق حاضر، Mustafa و همکاران (۱۹۹۴) مشاهده کردند که با افزایش سطح اسپیرولینا در جیره غذایی میزان پروتئین کل دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بود. فروردین و همکاران (۱۳۹۶) در بررسی اثرات گالاکتوالیگوساکارید بر روی ماهی قرمز به این نتیجه رسیدند که جیره حاوی گالاکتوالیگوساکارید باعث افزایش معنی‌دار پروتئین کل می‌شود که مطابق نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. در تحقیق حاضر میزان ایمونوگلوبولین سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا به طور معنی‌داری افزایش

یافت. میزان این شاخص در تیمار در معرض نانو اکسید روی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت. در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک (جلبک نیم و دو درصد)، میزان این شاخص به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت که با توجه به نتایج بنظر می‌رسد جلبک پادینا تا حدودی توانسته اثر کاهشی نانو اکسید روی را بهبود ببخشد و به حد شاهد برساند. ایمونوگلوبولین‌ها جزء آنتی بادی‌های طبیعی بوده و به صورت کاملاً تنظیم شده در غیاب محرک آنتی ژنتیک خارجی تولید و در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند. به همین دلیل به عنوان یکی از بخش‌های مهم سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهی مد نظر قرار می‌گیرند (Hoseinifar et al., 2014). طی تحقیقی Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۴) به این نتیجه رسیدند که استفاده از گالاکتوالیگوساکارید و زایلوالیگوساکارید در جیره ماهی سفید باعث بهبود ایمونوگلوبولین کل و شاخص‌های ایمنی می‌شود. میزان آلبومین سرم خون در تحقیق حاضر در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا، تأثیر معنی‌داری نداشت ولی در تیمار در معرض نانو اکسید روی و در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک افزایش معنی‌داری یافت. آلبومین نقش مهمی در ثبات فشار اسمزی به منظور توزیع مناسب مایعات بدن داشته و به عنوان حامل پلاسما و لیگاندهای غیر اختصاصی (به همراه تعدادی جایگاه‌های اتصال) عمل می‌نماید. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان گلوکز سرم خون ماهی تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$).

آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخص فعالیت کبدی محسوب می‌شوند و تغییر در میزان فعالیت و ترشح آن‌ها می‌تواند متاثر از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، تراکم، شرایط پرورشی، نوع جیره مصرفی، سن، جنس و وضعیت سلامت ماهیان باشد (محمودی و همکاران، ۱۳۸۷). نتایج این تحقیق نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان آسپاراتات ترانس‌آمیناز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آلانین ترانس‌آمیناز (ALT) سرم خون ماهی تأثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، میزان این شاخص‌ها در اثر تیمارهای تغذیه شده با جلبک پادینا به طور

بالایی از نانو ذرات اکسید آهن می‌تواند اثرات نامطلوبی بر روی کبد داشته و باعث صدمه به بافت کبدی و افزایش سطح آنزیم‌های کبدی شود (Yousefi Babadi *et al.*, 2013). بررسی‌های بیشتر نشان می‌دهد که نانوذرات اکسید آهن در غلظت‌های بالای ۱۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنی‌داری در غلظت آنزیم ALT در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شوند. این آنزیم برای کبد اختصاصی بوده و آسیب سلول‌های کبدی باعث افزایش آزاد شدن این آنزیم می‌گردد. از اینرو، ممکن است دلیل افزایش این آنزیم تأثیر تخریبی نانوذرات اکسید آهن بر سلول‌های کبدی باشد.

آمینوترانسفرازها معرفی برای سلامت سلول‌های کبدی به شمار می‌روند و در مراحل اولیه تخریب کبد، آنزیم‌های سیتوپلاسمی هیاتوسیت‌ها احتمالاً از سلول‌ها به داخل جریان خون نشت می‌کنند و نفوذپذیری غشاء افزایش می‌یابد. احتمالاً در اثر از دست دادن سلول‌های کبدی، این آنزیم‌ها در خون آزاد می‌شوند. بنابراین، افزایش این آنزیم‌ها نشان‌هایی از آسیب سلول‌های کبدی است که با نتایج آنزیمی بافت کبد در این مطالعه مطابقت دارد (Christ-Crain *et al.*, 2004). با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که بنظر می‌رسد جلبک پادینا تا حدی توانسته اثر کاهشی نانو اکسید روی را بر شاخص پروتئین کل و ایمونوگلوبولین سرم خون را بهبود ببخشد که نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت گرفت. از همه بزرگواری که بنحوی در این پژوهش مساعدت نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

رادگهر، ن. ۱۳۹۰. تفسیر بیوشیمی بالینی. انتشارات ایل آرمان. چاپ اول. صفحات ۷۴۰.
ستاری، م.، شاهسونی، د. و شفیعی، ش. ۱۳۸۲. ماهی‌شناسی ۲. نشر حق‌شناس. ۵۹۷ صفحه.

معنی‌داری افزایش یافت. میزان این شاخص‌ها در تیمار در معرض نانو اکسید روی و در تیمارهای ترکیب نانو اکسید روی و جلبک نیز افزایش معنی‌داری یافت. از آنجایی که کبد اندامی است که متابولیسم اولیه مواد غیر زیستی را انجام می‌دهد و با تغییر در ساختار مورفولوژیک این مواد، در برخی موارد، سم زدایی می‌نماید، تأثیر آلاینده‌گی فلزات به صورت افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک کبدی بروز می‌کند. به همین دلیل در ارزیابی آسیب کبد، سنجش سطوح آنزیم‌هایی نظیر ALT، AST و ALP به طور وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرد. وقوع نکروز یا آسیب غشاء سلول باعث رهاشدن این آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود (Park *et al.*, 2010).

ALT به طور عمده در کبد وجود دارد و برای کبد اختصاصی‌تر از AST است. در جریان آسیب حاد، آنزیم‌های ALT و AST حساس‌ترین مارکرهای سرمی هستند. هرگاه غشاء سلول صدمه ببیند هر دو آنزیم به مقادیر فزاینده‌ای در خون آزاد می‌شوند (رادگهر، ۱۳۹۰). افزایش سطح AST در سرم، آسیب کبد نظیر هیاتیت‌های ویروسی، انفارکتوس قلبی و صدمات عضلانی را نشان می‌دهد. ALT که تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند، برای کبد اختصاصی‌تر بوده و پارامتر مناسب‌تری برای تشخیص آسیب کبد می‌باشد. سطوح افزایش یافته آنزیم‌های سرمی حاکی از نشت سلولی بوده و نشانگر آسیب ساختار و اختلال عملکرد غشاهای سلولی در کبد می‌باشد (Drotman and Lawhan, 1987). ALT و AST جزء سرمی آنزیم‌های غیرعملکردی پلاسما هستند که به طور طبیعی در سلول‌های برخی از اندام‌ها از جمله کبد قرار گرفته‌اند. یکی از دلایل افزایش سطح سرمی این آنزیم‌ها ممکن است تغییر در نفوذپذیری غشای پلاسمایی سلول‌های کبدی یا صدمات سلولی حاصل از قرارگرفتن در معرض نانوذرات باشد. بنابراین، پایش نشت آنزیم‌های کبدی به داخل خون، ابزار بسیار مفیدی در مطالعات آسیب کبدی با نانوذرات می‌باشد (Park *et al.*, 2010). اثر نانو ذره اکسید آهن بر بافت و آنزیم کبدی نشان داد که غلظت

- liver function correlate with the improvement of lipid profile after restoration of euthyroidism inpatients with subclinical hypothyroidism. *Experimental and Clinical Sciences: International Online Journal for Advances in Science*, 3:1-9. DOI: 10.17877/DE290R-14916.
- Drotman R. and Lawhan G., 1987.** Serum enzymes are indications of chemical induced liver damage. *Drug and Chemical Toxicology*, 1: 163-171. DOI: 10.3109/01480547809034433.
- Fleurence, J., Moran ais, M., Dumay, J., Decottingnies, P., Turpin, V., Munier, M., GarciaBueno, N. and Jaouen, P., 2012.** What are the prospects for using seaweed in human nutrition and for marine animals raised through aquaculture? *Trends Food Science and Technology*, 27: 57-61. Doi: 10.1016/j.tifs.2012.03.004.
- Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W. and Yang, X., 2007.** Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@ Ag nanoparticles. *Nanotechnology*, 18(28): 285604. Doi: /10.1088/0957-4484/18/28/285604.
- Hoseinifar, S.H., Sharifian, M., Vesaghi, M.J., Khalili, M. and Esteban, M.Á., 2014.** The effects of dietary xylooligosaccharide on mucosal parameters, intestinal microbiota and morphology and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fry. *Fish & shellfish immunology*, 39(2): 231-236. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.05.009.
- سهلی، م.، ۱۳۹۷. اثرات سطوح مختلف سدیم آلزینات با وزن مولکولی پایین بر عملکرد رشد، شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی سرم و بیان ژن‌های مربوط به ایمنی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۷۷ صفحه.
- طاعتی، ر و نوعی تعادلی، ح. ۱۳۹۴. تعیین عملکرد رشد و برخی از پارامترهای خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف کارواکرول، آنتول و لیمونن. گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش، ایران. مجله علمی- پژوهشی زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۴۲-۳۵: (۲۵)۶.
- فروردین، ش.، کلنگی میاندره، ح.، شعبانی، ع.، حسینی فر، ح. و رمضان‌پور، س. ۱۳۹۶. اثرات جیره حاوی گالاکتوالیگوساکارید بر بیان ژن درگیر در اشتها (گرلین) و برخی پارامترهای ایمنی سرم و رشد ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*)، نشریه فناوری‌های نوین در توسعه آبی‌پروری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر. ۲۸-۱۳: (۲)۱۱.
- محمودی، ن.، عابدیان کناری، ع. و سلطانی، م. ۱۳۸۷. تاثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر شاخص‌های رشد، بقا و آنزیم‌های کبدی ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspicus*. مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۴): ۱۳۲-۱۲۳.
- هدایتی، ع.، جهانبخشی، ع. و قادری رمازی، ف. ۱۳۹۲. سم‌شناسی آبزیان، جلد اول، چاپ اول، ص ۷۶-۷۰.
- Choi, Y.H., Lee, B.J. and Nam, T.J., 2015.** Effect of dietary inclusion of *Pyropia yezoensis* extract on biochemical and immune responses of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 435: 347-353. Doi:10.1016/j.aquaculture.2014.10.010.
- Christ-Crain M., Meier Cpuder J., Staub J., Huber P. and Keller, U., 2004.** Changes in

- Houng-Yung, C., Yu-Chun, C., Li-Chi, H. and Meng-Hsien, C., 2014.** Dietary zinc requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture*, 432: 360-364. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.05.020.
- John, P.J., 2007.** Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to Metasystox and Sevin. *Fish Physiology Biochemistry*, 33: 15-20. DOI: 10.1111/jwas.12373.
- Mustafa, M.G., Takeda, T., Umino, T., Wakamatsu, S. and Nakagawa, H., 1994.** Effects of Ascophyllum and Spirulina meal as feed additives on growth performance and feed utilization of red Sea bream, *Pagrus major*. *Journal of the Faculty of Applied Biological Sciences*, 33: 125-132. Doi: 10.15027/24679.
- Park, E.J., Bae, E., Yi, J., Kim, Y., Choi, K. and Lee, S.H., 2010.** Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30(2): 162-168. DOI: 10.1016/j.etap.2010.05.004.
- Riche, M., 2007.** Analysis of refractometry for determining total plasma protein in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) at various salinities. *Aquaculture*, 264: 279-284. Doi:10.1016/j.aquaculture.2006.12.018.
- Stoimenov, P.K., Klinger, R.L., Marchin, G.L., and Klabunde, K.J., 2002.** Metal oxide nanoparticles a bactericidal agents. *Langmuir*, 18: 6679-6686. Doi: 10.1021/la0202374.
- Yousefi Babadi, V., Najafi, L., Najafi, A., Gholami, H. and Beigi, M.E., 2013.** Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 23(4): 13226-13229.
- Zhao, L., Hernandez-Viezcas, J.A., Peralta-Videa, J.R., Bandyopadhyay, S., Peng, B., Munoz, B., Keller, A.A. and Gardea-Torresdey, J.L., 2013.** ZnO nanoparticle fate in soil and zinc bioaccumulation in corn plants (*Zea mays*) influenced by alginate. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 15(1): 260-266. DOI: 10.1039/C2EM30610.
- Zheng, J.L., Luo, Z., Zhu, Q.L., Hu, W., Zhuo, M.Q., Pan, Y.X., Song, Y.F. and Chen, Q.L., 2014.** Different effect of dietborne and waterborne Zn exposure on lipid deposition and metabolism in juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Aquatic Toxicology*, 159: 90-98. DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.12.003.

Effect of dietary enrichment of *Padina* algae (*Padina astraulis* Hauck) on serum immune indices of Common carp *Cyprinus carpio* in exposure to zinc oxide nanoparticle

Ghani S.¹; Maddah S.², Hedayati S.A.A.^{1*}; Kakavand F.¹; Iri A.¹, Sanchooli H.¹;
Sheikh Veisi R.¹

*Hedayati@gau.ac.ir

1-Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

1-Faculty of Environment, Tehran University, Tehran, Iran.

Abstract

The use of immune stimulants such as algae has a key role in enhancing of immunity. On the other hand, the presence of nanoparticles affects the physiological status of fish and reduces their immune function. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of enrichment of diet with algae on carp serum immune parameters in exposure to zinc oxide. 250 common carp were divided in four groups for 42 days, algae-free (treatment 1, control), food containing 0.5% algae (treatment 2), food containing 1% algae (treatment 3) and food containing 2% algae (treatment 4), then 50% of acute concentration of zinc oxide nanoparticles (1.5 mg/l) was added to each of the groups over a period of fourteen days. The results of this study showed that in general, experimental treatments had a significant effect on serum protein, immunoglobulin and serum albumin levels ($P < 0.05$), but there was no significant effect on serum glucose ($P > 0.05$). Also, experimental treatments had a significant effect on ASA, ALP and ALT levels ($P < 0.05$). The significantly increased rate of these indices was due to treatments fed with algae. Also, these indices increased significantly in treatment of zinc oxide and also in zinc with algae group. Experimental treatments did not had a significant effect on blood glucose level ($P > 0.05$). It can be concluded that *Padina* algae may partially improve the reducing effect of nano-oxide on serum total protein and immunoglobulin levels, which requires further research in this regard.

Keywords: Algae, Aquatic, Resistance Improvement, Metal Nanoparticles

*Corresponding author