اثرات جیره غذایی غنی شده با نانوذرات سلنیوم بر عملکرد تولید مثلی مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

عیسی فلاحت ناصرآباد[1]، سعید ضیائی نژاد*[1]، علیرضا قائدی[2]، مصیب سیدی[1]، سید حسین مرادیان[2]

*Zbsaeed@yahoo.com

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران
۲- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۸

چکیده

در این پژوهش تأثیر نانوذرات سلنیوم بر عملکرد تولید مثلی مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)* مورد بررسی گرفت. پس از سازگاری، ماهیان به چهار تیمار در سه تکرار تقسیم شدند. تیمارها با جیره حاوی صفر(شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم در هر کیلوگرم جیره به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند و عملیات تکثیر مصنوعی در پایان این دوره انجام گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که بیشترین درصد لقاح در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم سلنیوم با ۹۹/۳۰ درصد بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت (p<۰/۰۵) . شایان ذکر است که روند افزایشی درصد لقاح همراه با افزایش غلظت نانوذرات سلنیوم مشاهده شد. بیشترین هماوری مطلق در مولدین تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم سلنیوم بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار تغذیه شده با یک میلی‌گرم سلنیوم داشت (p<۰/۰۵)، ولی با دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). بیشترین درصد تفریخ (۹۶/۷۶ درصد) در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانو ذرات سلنیوم بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (p<۰/۰۵). نتایج بازماندگی نیز نشان داد که بیشترین بازماندگی در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم بود (۹۲/۷۹) که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان نداد(p>۰/۰۵). همچنین در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم روند افزایشی در میزان بازماندگی همراه با افزایش غلظت نانوذرات سلنیوم مشاهده شد. به طور کلی، افزودن نانوذرات سلنیوم به جیره موجب بهبود کمیت و کیفیت تخمک و عملکرد تولید مثل (درصد لقاح، چشم‌زدگی و تفریخ تخم) در مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان گردید و بر اساس نتایج این تحقیق تیمار ۲ میلی‌گرم نانو ذرات سلنیوم بهترین عملکرد را جهت بهبود شرایط تولید مثلی ماهی قزل آلای رنگین کمان را از خود نشان داد.

لغات کلیدی: نانوذرات سلنیوم، هماوری، لقاح تخم، نرخ تفریخ، قزل‌آلای رنگین‌کمان

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]

مقدمه

گسترش صنعت آبزی‌پروری بدون وجود غذای کنسانتره مناسب که تامین کننده تمامی نیازهای گونه پرورشی بوده و رشد بهینه را موجب شود، ممکن نخواهد بود. تغذیه با جیره غذایی مناسب همواره با رشد سریع و کاهش هزینه تولید همراه است که از مسائل جذاب برای پرورش دهندگان می‌باشند. ترکیبات ریز مغذی نقش مهمی در ساختار جیره‌های غذایی ایفاء می‌کنند. یکی از این ترکیبات مهم سلنیوم می‌باشد که به عنوان یک عنصر ترکیبی در آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) در فعال سازی این آنزیم نقش مهمی دارد (Lin and shiau, 2005) و موجب تقویت سیستم آنتی اکسیدانتی سلول‌ها می‌گردد. این آنزیم با تجزیه پراکسیدهای هیدروژن در سلول‌های مختلف موجب افزایش مقاومت در برابر آسیب‌های اکسیداتیو خواهد شد. در سال‌های اخیر جهت بهبود عملکرد و رسیدن به پتانسیل ژنتیکی در گله‌های اصلاح شده به افزودنی‌های غذایی توجه زیادی شده است. سلنیوم یک عنصر ریز مغذی مهم و آنتی اکسیدان قوی است که وجود آن در رژیم‌های غذایی ماهی کمک می‌کند تا بدن ماهی در حفظ سلول‌ها و اجزای سلولی از آسیب اکسیداتیو از طریق فعال سازی سلنوآنزیم‌ها و سلنوپروتئین جلوگیری کند (Zuberbuehler *et al.*, 2006; Khan, *et al.*, 2016). در محیط طبیعی، ماهیان معمولاً سلنیوم مورد نیاز خود را از منابع موجود در اطراف خود که با مقدار مناسب سلنیوم غنی هستند، بدست می‌آورد. هر گونه اختلال در میزان سلنیوم دریافتی موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌شود که به موجب آن ماهیان قادر به مبارزه با شرایط استرس‌زا نیستند و نمی‌توانند خود را از آسیب اکسیداتیو محافظت کنند (Khan, *et al.*, 2016). بنابراین، با توجه به این عوامل، مکمل مقدار مناسب سلنیوم در رژیم‌های غذایی برای تولید هورمون متعادل و متابولیسم، سنتز و تنظیم سلنو پروتئین‌ها، بهبود وضعیت دفاع آنتی اکسیدانی و مهمتر از همه، کیفیت گوشت ماهی و تولید مثل مهم بنظر می‌رسد (Khan *et al.*, 2016; Pappas and Zoidis, 2012). سلنیوم یک ریز مغذی ضروری برای ماهیان می‌باشد (Lin and Shiau, 2005) و برای فرآیندهای طبیعی موجودات ضروری است و بر رشد، تکامل و عملکردهای ایمنی اثر می‌گذارد. همچنین سلنیوم یک تقویت کننده تغذیه‌ای قوی برای سیستم ایمنی و آنتی اکسیدانی است که موجب افزایش فعالیت فنول اکسیداز، انفجار تنفسی، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST)، فعالیت بیگانه خواری و مقاومت در برابر عوامل بیماری زا می‌گردد (Chiu *et al.*, 2010). سلنیوم مورد نیاز ماهی قزل آلای رنگین کمان بر اساس رشد بهینه و حداکثر فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسما ۰/۳۸-۰/۱۵ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم جیره تعیین شده است (Hilton *et al.*, 1980). در سال‌های اخیر نانوذره سلنیوم توجه گسترده‌ای را با توجه به دسترسی زیستی بالا و سمیت کمتر نسبت به سایر ترکیبات سلنیوم بخود جلب کرده است (Zhang *et al.*, 2010; Rezvanfar *et al.*, 2013). تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تاثیرات استفاده از نانو ذرات سلنیوم بر فاکتورهای تولید مثلی ماهی قزل آلای رنگین کمان به منظور سنجش کیفیت و کمیت تخمک استحصالی صورت نگرفته است، لذا پژوهش حاضر برای اولین بار این موضوع را مورد بررسی قرار داد.

هدف از انجام این پژوهش پاسخ دادن به سوالاتی از قبیل اینکه آیا نانو ذرات سلنیوم در بازدهی تکثیر ماهی قزل آلای رنگین کمان موثر است؟ آیا افزودن نانوذرات سلنیوم به جیره موجب بهبود عملکرد رشد در قزل آلای رنگین کمان می‌شود؟ آیا مصرف جیره غذایی غنی شده با نانو ذرات سلنیوم باعث افزایش کیفیت تخمک ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌شود؟

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج اجرا شد. تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی مولد ماده از بین گله مولدین مرکز انتخاب شدند. جهت انتخاب مولدین سلامت ظاهری ماهی مد نظر قرار گرفت. ماهیان انتخاب شده به طور تصادفی در ۱۲ استخر (با ابعاد ۳۰*۳*۱ متر) توزیع شدند. پس از

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]

سازگاری، ماهیان بر اساس جیره به ۴ گروه آزمایشی (با ۳ تکرار) تقسیم شدند که هر تیمار شامل ۳۰ قطعه مولد ماده بود. تیمارها شامل جیره‌های غذایی حاوی ۴ سطح نانوسلنیوم شامل ۰ (شاهد)، ۰/۵ ، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بودند که بر اساس روش Ashouri و همکاران (۲۰۱۵) آماده سازی شدند.

غذای تجاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (EXB2، کیمیاگران تغذیه، شهرکرد، ایران) به عنوان جیره پایه مورد استفاده قرار گرفت. در هر تیمار، مقدار محاسبه شده نانوذرات سلنیوم برای دستیابی به دوزهای مورد نظر، پس از اضافه نمودن آب دو بار تقطیر به حجم ۲۵۰ میلی لیتر رسانده شد (Ashouri *et al.*, 2015) و پس به صورت جداگانه روی غذاها اسپری گردید. جیره گروه شاهد بدون اضافه کردن نانوذرات سلنیوم آماده شد. به منظور یکسان سازی شرایط، در تیمار شاهد مقدار مساوی آب مقطر (فاقد نانوذرات سلنیوم) روی غذا اسپری شد. غذاهای آماده شده به مدت ۳ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس برای محافظت از غذاها و جلوگیری از جدا شدن نانوذرات و ورود آن‌ها به محیط آب، غذاهای آماده شده به روش فوق، توسط لایه‌ای از ژلاتین گاوی پوشانده شدند (جوهری و حسینی، ۱۳۹۳)، بدین منظور ابتدا محلول۱۰ درصد ژلاتین گاوی در آب مقطر تهیه شد و سپس بر هر یک از انواع غذاها به میزان ۵۰ میلی لیتر از محلول ژلاتین به صورت یکنواخت اسپری گردید. در پایان غذاها به مدت ۳ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. به منظور جلوگیری از فساد و در دسترس بودن مواد افزودنی، فرایند آماده سازی غذا در هر هفته انجام شد. پس از دوره سازگاری (۷ روز)، مولدین به صورت روزانه، در دو نوبت و به میزان ۱ درصد وزن بدن تغذیه شدند. مولدین هر تیمار با جیره خاص به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. بعد از این مدت عملیات زیست سنجی ماهیان تیمارهای مختلف انجام گرفت. تخم‌کشی تا حد ممکن بلافاصله بعد از اوولاسیون انجام گرفت. برای این منظور مولدین با فشار اندکی به ناحیه شکمی معاینه گردیدند. پس از تخم‌کشی، تخم‌های حاصل از مولدین ماده تیمارهای مختلف با اسپرم نرهای معمولی آمیزش داده شدند.

برای سنجش میزان لقاح از روش بررسی تقسیم کلیواژ دوم در نیم روز (۱۲ ساعت) استفاده شد. بدین صورت که ۱۰ تخم در محلول متانول : اسید استیک : آب (۱:۱:۱) فیکس شدند، و سپس در زیر استریو میکروسکوپ بررسی شدند. بعد از گذشت ۵ دقیقه تخم‌های لقاح یافته به راحتی از طریق حضور یک کمربند عصبی واضح از تخم‌های لقاح نیافته تشخیص داده می‌شدند (عبدالحی، ۱۳۹۵). درصد لقاح از طریق محاسبه درصد تخم‌های لقاح یافته در یک نمونه تخمین زده شد و برحسب رابطه زیر محاسبه گردید.

تعداد کل تخم‌ها / ۱۰۰×تعداد تخم‌های لقاح یافته= درصد لقاح

طول کل و دور شکم بر حسب سانتی‌متر با دقت ۱± میلی‌متر، وزن کل تخمک‌های استحصالی از هر مولد به وسیله‌ی ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱± گرم، وزن بدن با ترازوی دیجیتال با دقت ۱± گرم و قطر تخمک به وسیله‌ی میکرومتر چشمی اندازه‌گیری شد.

جهت تعیین هماوری مطلق از روش وزنی استفاده گردید. به این صورت که کل تخمک‌های خارج شده از محوطه‌ی شکمی توزین شد (طهماسبی و همکاران، ۱۳۹۶). سپس هماوری مطلق و نسبی از روابط ذیل محاسبه شد:

تعداد تخمک‌ها = هماوری مطلق

وزن کل بدن (گرم)/تعداد تخمک استحصالی = هماوری نسبی

پس از چشم زدگی تخم‌ها، تخم‌های پاره شده و قارچ زده از تخم‌های سالم جدا گردید و درصد چشم زدگی تخم‌ها نیز از رابطه ذیل محاسبه شد:

درصد چشم زدگی تخم‌های لقاح یافته= تعداد تخم‌های لقاح یافته/ ۱۰۰×تعداد تخم‌های چشم زده

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]

درصد تفریخ نیز از رابطه ذیل بدست آمد (Billard and Gillet, 1981):

درصد تفریخ= (تعداد تخم چشم زده/تعداد لارو) × ۱۰۰

اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار 19SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پس از بررسی وضعیت نرمال بودن داده ها توسط آزمون کولموگروف- اسمیرنوف، داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد (p<۰/۰۵) استفاده شد. به منظور نرمال سازی داده‌های درصدی نیز از Arcsin استفاده شد.

نتایج

نتایج مربوط به زیست سنجی مولدین

در خصوص شاخص‌های وزن کل، طول کل و دور شکم اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد (p > ۰/۰۵) (جدول ۱).

جدول ۱: فاکتورهای ریخت شناختی مولدین ماده (میانگین ± انحراف معیار)

Table 1: Morphometric factors of female breeders (Means± SD).

فاکتورهای مورد سنجش	تیمار شاهد	تیمار ۰/۵ درصد سلنیوم	تیمار ۱ درصد سلنیوم	تیمار ۲ درصد سلنیوم
وزن (گرم)	۳۹۱۸/۴۶ ± ۶۷۹/۵۶ a	۴۱۵۸/۰۰ ± ۷۹۳/۴۴ a	۳۶۵۷/۲۸ ± ۴۸۵/۳۵ a	۳۹۶۸/۷۶ ± ۱۰۸۰/۱۲a
طول کل (سانتی‌متر)	۶۴/۹۲ ± ۲۴/۶۷ a	۶۴/۱۰ ± ۵/۰۰ a	۶۳/۳۶ ± ۲/۸۴ a	۶۸/۶۳ ± ۷/۴۱ a
دورشکم (سانتی‌متر)	۴۰/۳۵ ± ۲/۸۷ a	۳۸/۸۰ ± ۳/۶۵ a	۳۷/۲۷ ± ۳/۲۶ a	۳۷/۵۰ ± ۳/۸۲ a

حروف مشترک در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) می باشد.

نتایج حاصل از تکثیر مصنوعی مولدین

بیشترین قطر تخم مربوط به ماهیان تغذیه شده با نیم درصد نانوذرات سلنیوم بود و در سایر گروه‌ها شامل گروه شاهد، تیمار ۲ درصد سلنیوم و تیمار ۱ درصد سلنیوم قطر تخم‌ها تقریباً یکسان بود. هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در اندازه قطر تخم میان تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲: نتایج تکثیر مصنوعی مولدین ماده (میانگین ± انحراف معیار)

Table 2: Results of artificial propagation of female breeders (Means± SD)

تیمار	تعداد در گرم تخمک	وزن تخم (گرم)	قطر تخمک (میلی‌متر)
تیمار شاهد	۱۱/۷۵ ±۱/۱۱a	۰/۰۸۶ ±۰/۰۰۸b	۵/۳۹ ±۰/۲۲۸a
تیمار ۰/۵ درصد سلنیوم	۱۱/۱۸ ±۰/۶۴a	۰/۰۹۰ ±۰/۰۰۵b	۵/۵۸±۰/۳۳۷b
تیمار ۱ درصد سلنیوم	۱۱/۱۵ ±۰/۷۸a	۰/۰۹۰ ±۰/۰۰۶b	۵/۴۰ ±۰/۳۱۵a
تیمار ۲ درصد سلنیوم	۱۳/۰۰ ±۱/۸۹b	۰/۰۷۹ ±۰/۰۱۲a	۵/۳۹±۰/۴۰۷a

حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) می باشد.

نتایج هماوری مولدین

بر اساس نتایج این تحقیق (جدول ۳)، بیشترین هماوری مطلق به مولدین تغذیه شده با ۲ درصد سلنیوم بود که اختلاف معنی‌داری را با تیمار تغذیه شده با یک درصد سلنیوم داشت (p<۰/۰۵)، ولی با دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (p>۰/۰۵). بیشترین هماوری نسبی نیز مربوط به ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد سلنیوم و کمترین هماوری نسبی نیز مربوط به مولدین تغذیه شده با ۱ درصد سلنیوم بود. با این وجود اختلاف معنی‌داری در هماوری نسبی میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد (p>۰/۰۵). همچنین اختلاف معنی‌داری در میانگین وزن تخم استحصالی میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد (p >۰/۰۵).

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]

جدول۳: هماوری مولدین در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

Table 3: Fecundity of female breeders in different treatments (Means± SD).

تیمار	وزن کل تخم استحصالی (گرم)	هماوری مطلق	هماوری نسبی
تیمار شاهد	۴۲۶/۱۵±۱۰۰/۳[a]	۵۰۰۷/۳۲±۱۱۷۸/۵[ab]	۱۳۰۹/۰۳±۳۸۴/۰[a]
تیمار ۰/۵ درصد سلنیوم	۴۵۰/۰۰±۸۱/۸[a]	۵۰۳۲/۷۶±۹۱۴/۷[ab]	۱۲۴۶/۸۰±۳۰۲/۰[a]
تیمار ۱ درصد سلنیوم	۳۹۸/۶۴±۸۰/۱[a]	۴۴۴۵/۲۷±۸۹۳/۵[a]	۱۲۲۵/۲۹±۲۵۴/۰[a]
تیمار ۲ درصد سلنیوم	۴۳۵/۰۰±۹۲/۴[a]	۵۶۵۴/۸۳±۱۲۰۱/۵[b]	۱۴۵۹/۲۵±۲۷۰/۱[a]

حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) می باشد.

نتایج مربوط به کیفیت لقاح، چشم زدگی و تفریخ

جنین‌ها در روز نهم به مرحله ارگان زایی و در هجدهمین روز به مرحله چشم زدگی رسیدند و تخم گشایی آن‌ها در روز سی و دوم کامل شده و تغذیه فعال آن‌ها از ۵۰ روزگی آغاز شد. نتایج این بررسی با مقایسه تیمارهای مختلف نشان داد که درصد لقاح در ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد سلنیوم با ۹۹/۳۰ درصد بیشترین بود و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت (p<۰/۰۵) ولی اختلاف معنی‌داری با تیمارهای تغذیه شده با نیم و یک درصد سلنیوم را نشان نداد (p>۰/۰۵). همچنین اختلاف معنی‌داری میان تیمار شاهد با تیمارهای تغذیه شده با نیم و یک میلی‌گرم سلنیوم مشاهده نشد. شایان ذکر است، روند افزایشی در درصد لقاح همراه با افزایش غلظت نانوذرات سلنیوم مشاهده شد. بیشترین درصد چشم زدگی تخم نیز مربوط به تیمار ۲ میلی‌گرم سلنیوم بود که ۹۹/۴۰ درصد بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (p<۰/۰۵). اما اختلاف معنی‌داری را میان تیمارهای شاهد، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم نشان نداد (p>۰/۰۵). نکته دیگر در مورد نتایج چشم زدگی، روند افزایشی این شاخص همراه با افزایش سلنیوم جیره است (جدول ۴).

جدول٤: درصد لقاح، چشم زدگی و تفریخ در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

Table 4: Percentage of fertilization, eyed eggs rate and hatching in different treatments (Means± SD).

تیمار	لقاح (درصد)	چشم زدگی (درصد)	تفریخ(درصد)	بازماندگی لاروها (درصد)
تیمار شاهد	۸۵/۵۵ ± ۱۱/۰۵[a]	۹۱/۸۶ ± ۳/۷۶[a]	۹۰/۸۶ ± ۲/۹۱[a]	۸۵/۶۸±۱۱/۶۷[a]
تیمار ۰/۵ درصد سلنیوم	۹۲/۴۴ ± ۳/۳۳[ab]	۹۲/۰۲ ± ۵/۱۲[a]	۹۱/۷۸ ± ۲/۲۷[a]	۸۷/۴۸±۸/۲۱[a]
تیمار ۱ درصد سلنیوم	۹۳/۳۴ ± ۱۱/۹۴[ab]	۹۴/۷۹ ± ۴/۹۳[a]	۹۳/۶۲ ± ۳/۸۷[a]	۹۰/۵۱ ± ۳/۵۰[a]
تیمار ۲ درصد سلنیوم	۹۹/۳۰ ± ۱/۴۵[b]	۹۹/۴۰ ± ۰/۶۴[b]	۹۶/۷۶ ±۳ /۵۷[b]	۹۲/۷۹ ± ۳/۴۲[a]

حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشد.

بیشترین درصد تفریخ در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی گرم نانو ذرات سلنیوم بود (۹۶/۷۶) که درصد بدست آمد اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (p<۰/۰۵). ولی اختلاف معنی‌داری را میان تیمارهای شاهد، ۰/۵ و ۱ درصد نشان نداد (p >۰/۰۵).

نتایج بازماندگی نیز نشان داد که بیشترین میزان بازماندگی در ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد نانوذرات سلنیوم بود (۹۲/۷۹)، که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان نداد (p>۰/۰۵). همچنین در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم روند افزایشی در میزان بازماندگی همراه با افزایش غلظت نانوذرات سلنیوم مشاهده شد.

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]

زیست سنجی لاروها

هیچگونه اختلاف معنی‌داری در زیست سنجی لاروها مشاهده نگردید. ولی با توجه به جدول ۵ وزن تفریخ، وزن شروع تغذیه و طول شروع تغذیه با افزایش مقدار سلنیوم موجود در غذا، سیر صعودی را نشان می‌دهند که می‌توان با اضافه کردن مقدار مشخصی نانو سلنیوم به غذای ماهیان رشد آنها را بیشتر نمود.

جدول ۵: طول و وزن لاروها در تیمارهای مختلف(میانگین ± انحراف معیار)

Table 5: Larvae length and weight in different treatments (Means± SD).

تیمار	وزن تفریخ (گرم)	وزن شروع تغذیه (گرم)	طول شروع تغذیه (میلی متر)
تیمار شاهد	۰/۰۹۷ ± ۰/۰۰۶۵[a]	۰/۱۳۲ ± ۰/۰۱۳۵[a]	۲۲/۹۲ ± ۱/۸۰[a]
تیمار ۰/۵ درصد سلنیوم	۰/۰۹۷ ± ۰/۰۰۱۴[a]	۰/۱۳۲ ± ۰/۰۱۰۶[a]	۲۳/۰۰ ± ۱/۷۶[a]
تیمار ۱ درصد سلنیوم	۰/۰۹۷ ± ۰/۰۰۴۶[a]	۰/۱۳۶ ± ۰/۰۱۹۰[a]	۲۳/۰۰ ± ۱/۰۰[a]
تیمار ۲ درصد سلنیوم	۰/۱۰۴ ± ۰/۰۱۳[a]	۰/۱۳۸ ± ۰/۰۱۳۹[a]	۲۳/۱۰ ± ۱/۴۴[a]

بحث و نتیجه‌گیری

سلنیوم جزء کلیدی تعدادی از سلنو پروتئین‌های کاربردی است و در عملکردهای طبیعی بدن دخالت دارد (Rayman, 2000). مرور کلی پژوهش‌های انجام شده در ارتباط با سلنیوم و نقش آن در رشد و سلامت ماهی اثرات مثبت این ماده را نشان داده است. اما کمبود یا مقادیر اضافی آن باعث ایجاد مشکلات شدید در ماهی می‌شود (Khan *et al*., 2017). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیشترین هماوری مربوط به مولدین تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم سلنیوم بود. همچنین بیشترین درصد تفریخ در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانو ذرات سلنیوم بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($p<۰/۰۵$). نتایج همچنین نشان داد با افزایش میزان سلنیوم در جیره درصد لقاح تخم نیز افزایش می‌یابد که بیشترین درصد لقاح در تیمار تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم سلنیوم بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت ($p<۰/۰۵$). اثرات مثبت سلنیوم در سایر پژوهش‌ها نیز به اثبات رسیده است. کریم‌زاده و همکاران (۱۳۹۰) اثر متقابل سلنیوم و چربی جیره بر ترکیب اسید چرب بافت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را ارزیابی نمودند. در این تحقیق افزایش سلنیوم جیره باعث فعالیت بیشتر آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز شده و در جیره‌های پرچرب (۳۰ درصد چربی) وجود سلنیوم به عنوان عامل بازدارنده اکسیداسیون باعث بهبود کیفیت اسیدهای چرب غیراشباع عضله گردید. محسنی و ستوده (۱۳۹۱) تأثیر سطوح مختلف سلنیوم جیره غذایی بر روند رشد و استرس اکسیداتیو را در بچه فیل‌ماهی پرورشی (*Huso huso*) بررسی کردند و نتیجه گرفتند که سطوح مناسب سلنیوم موجب کاهش استرس و بهبود پاسخ‌های ایمنی در ماهی می‌شود. برعکس جذب بالای این مواد موجب تحریک استرس و کاهش پاسخ‌های ایمنی می‌گردد. توکمه‌چی و شهرکی (۱۳۹۱) اثرات تغذیه‌ای مخمر غنی‌شده با سلنیوم را بر رشد و مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند. افزودن مخمر غنی‌شده با سلنیوم به طور معنی‌داری شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را در مقایسه با گروه شاهد بهبود بخشید. ماهیانی که بیشترین مقدار مخمر غنی‌شده را دریافت کردند بالاترین میزان مقاومت را در برابر استرس‌های محیطی و آلودگی با باکتری *Yersinia ruckeri* از خود نشان دادند. در تحقیقی مشابه غضنفرپور و همکاران (۱۳۹۳) بیان کردند که نانو ذرات سلنیوم باعث بهبود پارامترهای اسپرمی موش می‌شود. همچنین احمدوند و همکاران (۱۳۹۴) اثر سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم در مقایسه با سلنیوم آلی را بر عملکرد رشد بچه ماهیان کپور معمولی بررسی کردند و بیان کردند که در سطوح یکسان، اثر استفاده از سلنیوم به فرم نانوذره بیشتر از فرم آلی آن بود. Ashouri و همکاران (۲۰۱۵) اثرات سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم را در کپور معمولی ارزیابی کردند. در ماهیان تغذیه شده با ۱

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]

میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم جیره عملکرد رشد شامل وزن نهایی و افزایش وزن بهبود یافت. این مطالعه اضافه کردن ۱ میلی‌گرم‌گرم نانوسلنیوم در کیلوگرم جیره را جهت بهبود رشد و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کپور معمولی توصیه می‌کند. Rider و همکاران (۲۰۰۹) نقش جیره‌های تکمیل شده بامقادیر بالای سلنیوم را بر رشد و سلامت قزل‌آلای رنگ‌ین کمان در شرایط طبیعی و بعد از استرس مزمن تعیین کردند. در شرایط طبیعی فعالیت آنزیم‌های GSH-PX و تیو ردوکسین ردوکتاز (Trx-R) در کبد نشان داد که نیازمندی به سلنیوم از طریق جیره پایه تأمین می‌شود. قبل از استرس مقادیر بالای سلنیوم وضعیت اکسیداتیو، توانایی ایمنی یا سایر پارامترهای خون‌شناسی و رشد را تحت تأثیر قرار نداد. ۷ روز استرس فیزیکی مزمن سلنیوم کل بدن را کاهش داد و فعالیت GSH-Px را افزایش داد که نشان دهنده افزایش مصرف سلنیوم می‌باشد. بنابراین، تکمیل جیره‌های تجاری با سلنیوم طی استرس ضروری بنظر می‌رسد. همچنین ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوسلنیوم به طور معنی‌داری پروتیین کل و محتوای گلوبولین بالاتر و سطح آلبومین پایین‌تری را نشان دادند. Zhou و همکاران (۲۰۰۹) اثرات نانوذرات سلنیوم و سلنومتیونین را بر ماهی کاراس (*Carassius auratus*) مقایسه کردند. این پژوهشگران نشان دادند که منابع مختلف سلنیوم اضافه شده به جیره می‌تواند وزن نهایی، میزان افزایش نسبی وزن، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و غلظت سلنیوم ماهیچه را در این گونه بهبود بخشد. بنابراین، بنظر می‌رسد نانو ذرات سلنیوم نسبت به سلنومتیونین آلی در افزایش محتوای سلنیوم ماهیچه مؤثرتر باشد. تاثیرات مثبت نانو ذرات سلنیوم بر شاخص‌های ارزیابی تخم مانند هماوری، درصد تفریخ و درصد لقاح تخم را می‌توان به نقش سلنیوم در دفاع آنتی‌اکسیدانی و ایمنی دانست. با توجه به اینکه عمل تخم ریزی و لقاح همواره با استرس همراه است و سلنیوم نقش اساسی در کاهش استرس دارد می‌تواند افزایش هماوری و افزایش درصد لقاح در تیمار ۲ میلی‌گرم را به نانوذرات سلنیوم نسبت داد که احتمالاً از طریق افزایش غلظت اسید آراشیدونیک در تخم و دوکوزاهگزانوئیک تاثیر گذار بوده است. Pappas و Zoidis (۲۰۱۲) نشان دادند که با افزودن سلنیوم آلی به جیره پایه حاوی PUFA (مانند روغن سویا و ماهی) غلظت اسید دوکوزاهگزانوئیک افزایش می‌یابد. آنها گزارش کردند که غلظت اسید آراشیدونیک در تخم مرغ‌های بدست آمده از مرغ‌هایی که تیمارهای جیره‌های سلنیومی را دریافت کرده بودند، در مقایسه با مرغ‌هایی که فقط جیره پایه حاوی روغن سویا مصرف کرده بودند، کاهش یافت. این نتایج نشان می‌دهند ممکن است که اثرات متقابلی میان PUFA و سلنیوم وجود داشته باشد و احتمالاً این اثر از طریق گلوتاتیون پراکسیداز اعمال می‌شود. گلوتاتیون پراکسیداز نقش مهمی را در تنظیم بیوسنتز پروستاگلاندین‌ها از پیش سازهای آنها نظیر اسید آراشیدونیک ایفاء می‌کند. با وجود اینکه نقش گلوتاتیون پراکسیداز در متابولیسم ایکوزانوئیدها به روشنی مشخص نشده است. اما گمان می‌رود که سلنیوم جیره نقش مهمی در تنظیم متابولیسم اسید آراشیدونیک داشته باشد (Cao *et al.*, 2002). مکانیسم چنین مسئله‌ای کاملاً شناخته شده نیست. هرچند ممکن است فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز وابسته به سلنیوم موجود در تخم افزایش و میزان اکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها را در زرده سازی کاهش دهد و موجب حفظ خصوصیات کیفی آن شود.

عدم تاثیرگذاری نانو ذرات سلنیوم بر قطر تخم، میانگین وزن کل تخم و بازماندگی تخم احتمالاً به دلیل عوامل مختلفی مانند دوز مصرفی یا روند تاثیرگذاری نانو ذرات به اندازه‌ای بوده است که عواملی چون دوز مصرفی، نحوه دریافت و مدت زمان استفاده از مواد افزودنی و حتی شرایط فیزیولوژیک، جنس و سن حیوان نیز می‌تواند بر نتایج تاثیرگذار باشد. استفاده از دوز یا دوره درمان نامناسب باعث بروز اثرات معکوس آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود. با توجه به نقش سلنیوم بر باروری، خصوصا در موجوداتی که در مراحل پایانی اسپرماتوژنز یا اووژنز به سر می‌برند، باید این عنصر در جیره‌های غذایی آنها گنجانده شود. به طور کلی، بر اساس این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که افزودن نانوذرات سلنیوم به جیره مولدین ماده قزل آلای

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]

رنگین کمان می‌تواند سبب بهبود عملکرد شاخص‌های تولیدمثلی شود.

منابع

احمدوند، ش.، کرامت امیرکلایی، ع.، اورجی، ح. و احمدوند، ش.، ۱۳۹۴. بررسی اثرات نانوذرات سلنیوم (Nano-Se) در مقایسه با سلنیوم آلی (Selemax) بر عملکرد شاخص‌های رشد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). *فصلنامه علمی-پژوهشی محیط زیست جانوری*، ۷ (۲): ۱۹۶-۱۸۹.

توکمه‌چی، ا. و شهرکی، ر.، ۱۳۹۱. اثرات تغذیه‌ای ساکارومایسس سرویزیا غنی شده با سلنیوم بر رشد و مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به استرس‌های محیطی و باکتری یرسینیا روکری. *فصلنامه علمی - پژوهشی محیط زیست جانوری*، ۴ (۴): ۴۹.

جوهری, س. ع. و حسینی، س.، ۱۳۹۳. سمیت تغذیه‌ای کلوئید نانوذرات نقره در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله علمی شیلات ایران*. ۲۳ (۱) :۲۳-۳۰، Doi: 10.22092/ISFJ.2017.110159

طهماسبی، ا.، میرواقفی، ع. و حسینی، س. و.، ۱۳۹۶. بررسی عملکرد نوکلئوتید جیره بر شاخص های تولیدمثلی و پارامترهای خون شناسی در ماهی قزل آلای رنگین کمان مولد(*Oncorhynchus mykiss*) . *شیلات*، ۷۰(۲) : ۲۱۰-۲۰۴، Doi: 10.22059/jfisheries.2018.226601.971

عبدالحی، ح.ع.، ۱۳۹۵. بهبود ژنتیکی مولدین ماهی قزل آلای رنگین کمان وبرنامه ریزی زیرساختهای ژنتیک و اصلاح نژاد. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، طرح تحقیقاتی به شماره: ۹۰۰۲۰-۱۲-۱۲-۲

غضنفرپور، ح.، طالبی، ا.، قاسمی، ف. و حقیقت جهرمی، م.، ۱۳۹۳. تأثیر آنتی اکسیدانی نانو ذرات سلنیوم بر پارامترهای اسپرمی بیضه ی موش‌های جوان و مسن. *مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا*. سال چهارم. شماره ۱ : ۱۱۱-۱۱۹.

کریم‌زاده، ج.، کرامت امیرکلایی، ع.، عابدیان کناری، ع. و کریم‌زاده، ق.، ۱۳۹۰. اثر متقابل سلنیوم و چربی جیره بر ترکیب اسید چرب بافت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۰ (۴): ۱۱۶-۱۰۷. Doi: 10.22092/ISFJ.2017.110028

محسنی، م. و ستوده، ا.م.، ۱۳۹۱. اثر سطوح مختلف سلنیوم جیره غذایی بر روند رشد و استرس اکسیداتیو بچه فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) تغذیه شده با سطوح بالای مس. *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۱ (۴): ۱۱۴-۱۰۵. Doi: 10.22092/ISFJ.2017.110092

Ashouri, S., Keyvanshokooh, S., Salati, A.P., Johari, S.A. and Pasha-Zanoosi, H., 2015. Effects of different levels of dietary selenium nanoparticles on growth performance, muscle composition, blood biochemical profiles and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 446: 25-29. Doi:10.1016/j.aquaculture.2015.04.021

Billard, R. and Gillet, C., 1981. Ageing of eggs and temperature potentialization of micropolluant effects of the aquatic medium on trout gametes. *Cah. Lab. Montereau*, 12: 35-42.

Cao, Y. Z., Weaver, J. A., Reddy, C. C. and Sordillo, L. M., 2002. Selenium deficiency alters the formation of eicosanoids and signal transduction in rat lymphocytes. *Prostaglandins Other Lipid Mediate*. 70: 131–143. Doi:10.1016/S0090-6980(02)00018-7

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]

Chiu, S.T., Hsieh, S.L., Yeh, S.P., Jian, S.J., Cheng, W. and Liu, C.H., 2010. The increase of immunity and disease resistance of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* by feeding with selenium enriched-diet. *Fish and shellfish immunology*, 29:623-629. Doi:10.1016/j.fsi.2010.06.012

Hilton, J.W., Hodson, P.V. and Slinger, S.J., 1980. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Nutrition*, 110:2527 –2535. Doi:10.1093/jn/110.12.2527

Khan, K.U., Zuberi, A., Nazir, S., Fernandes, J.B.K., Jamil, Z. and Sarwar, H., 2016. Effects of dietary selenium nanoparticles on physiological and biochemical aspects of juvenile *Tor putitora*. *Turkish Journal of Zoology*, 40:704–712. Doi:10.3906/zoo-1510-5

Khan, K.U., Amina, Z., João, B.K.F., Imdad, U. and Huda, S., 2017. An overview of the ongoing insights in selenium research and its role in fish nutrition and fish health. *Fish Physiology and Biochemestry*, 43(6):1689-1705. Doi: 10.1007/s10695-017-0402-z.

Lin, Y.H. and Shiau, S.Y., 2005. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture*, 250: 356-363. Doi:10.1016/j.aquaculture.2005.03.022

Pappas, A.C. and Zoidis, E., 2012. The role of selenium in chicken. physiology: new insights. In: Kapur I, Mehra A (eds) chickens: physiology, diseases, and farming practices. *Nova Science Publishers*, New York. ISBN-13: 9781620810279, p 167.

Rayman, M.P., 2000. The importance of selenium to human health. *Lancet*. 356(15):233–234. Doi:10.1016/S0140-6736(00)02490-9

Rezvanfar, M., Rezvanfar, M., Shahverdi, A., Ahmadi, A., Baeeri, M., Mohammadirad, A. and Abdollahi, M., 2013. Protection of cisplatininduced spermatotoxicity, DNA damage and chromatin abnormality by selenium nano-particles. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 266:356–365. Doi: 10.1016/j.taap.2012.11.025

Rider, S.A., Davies, S.J., Jha, A.N., Fisher, A.A., Knight, J. and Sweetman, J.W., 2009. Supra-nutritional dietary intake of selenite and selenium yeast in normal and stressed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): implications on selenium status and health responses. *Aquaculture*, 295: 282-291. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.07.003

Zhang, Y., Wang, J. and Zhang, L., 2010. Creation of highly stable selenium nanoparticles capped with hyperbranched polysaccharide in water. *Langmuir*, 26:17617–17623. Doi:10.1021/la1033959

Zhou, X., Wang, Y., Gu, Q. and Li, W., 2009. Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture*,

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]

291: 78-81. Doi:10.1016/j.aquaculture.2009.03.007

Zuberbuehler, C.A., Messikommera, R.E., Arnold, M.M., Forrer, R.S. and Wenk, C., 2006. Effects of selenium depletion and selenium repletion by choice feeding on selenium status of young and old laying hens. *Physiology and Behavior*. 87:430–440. Doi: 10.1016/j.physbeh.2005.11.007

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]

Effects of enriched food with selenium nanoparticles on breeding efficiency of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Falahat Naser-Abad E.[1]; Ziaei-nejad S.[1*]; Ghaedi A.[2]; Seyyedi M.[1]; Moradian S.H.[2]

*zbsaeed@yahoo.com

1-Departmet of Fisheries, Natural Resourses Faculty, Behbahan Khatam al-anbia University of Technology, Behbahan, Iran

2- Shahid Motahary Cold Water Fishes Genetic and Breeding Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization(AREEO), Yasoj, Iran

Abstract:

This research investigated the influence of selenium nanoparticles (SeNPs) on the reproductive performance of female rainbow trout (*mykiss Oncorhynchus*) broodstocks. A total of 120 female broodstock were selected from breeders of the Shahid Motahary Coldwater Fishes Genetic and Breeding Research Center. After adaptation, fish were divided into four treatments in three replicates. Fish were fed diets containing 0 (control) 0.5, 1 and 2 mg SeNPs per kg of diet for 60 days. Eggs quality parameters such as fecundity, fertilization rate, eyed egg rate, hatching, etc. were evaluated. The highest fertilization rate was observed in fish fed with 2 mg selenium (99.30%), which had a significant difference with control groups ($p<0.05$) but did not show any significant difference ($p>0.05$) with fish fed 0.5 mg and 1 mg SeNPs. Broodstocks fed with 2 mg SeNPs had the highest absolute fecundity, which had a significant difference with groups fed 1 mg SeNPs ($p<0.05$), but did not show significant difference with other two treatments ($p>0.05$).) The highest and the lowest relative fecundity were seen in group fed 2 mg SeNPs and 1 mg SeNPs, respectively. However, there was no significant difference in relative fecundity between treatments ($p>0.05$). The highest egg diameter was in fish fed 0.5 mg SeNPs. Egg diameter in the control group, fish fed 2 and 1 mg SeNPs, were 5.39, 5.39 and 5.40 mm, respectively). There was no significant difference for egg diameters among gruops ($p> 0.05$). The highest and the lowest mean total egg weight were in group fed 0.5 mg SeNPs and 1 mg SeNPs, respectively, and no significant differences were observed between treatments ($P >0.05$). The highest percentage of hatching was observed in groups fed 2 mg SeNPs, which had a significant difference with other treatments ($p <0.05$). The highest survival rate was observed in groups fed 2 mg SeNPs too, which showed no significant difference with other treatments ($p >0.05$). Increase in the survival rate associated with an increase in the concentration of SeNPs. In general, inclusion of SeNPs in diet, improve the quality and quantity of eggs and reproductive function (fertilization, eyed rate and hatching) in rainbow trout breeders.

Keywords: Selenium nanoparticles, Reproduction, Fecundity, Fertilization rate, Hatching rate, *Rainbow trout*

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.6.4.5]