

اثرات جیره غذایی غنی شده با نانوذرات سلنیوم بر عملکرد تولید مثلی مولدین (*Oncorhynchus mykiss*)

عیسی فلاحت ناصرآباد^۱، سعید ضیائی نژاد^{*}^۱، علیرضا قائدی^۲، مصیب سیدی^۱، سید حسین مرادیان^۲

*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 پذیرش: مهر ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۷

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 میلی گرم 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 میلی گرم سلنیوم با ۹۹/۳۰ درصد بود که اختلاف معنی داری با تیمار شاهد داشت ($p < 0.05$). 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 میلی گرم سلنیوم بود که اختلاف معنی داری با تیمار تغذیه شده با یک میلی گرم سلنیوم داشت ($p < 0.05$ ، ولی با دو تیمار دیگر اختلاف معنی داری نداشت ($p > 0.05$). بیشترین درصد تفريخ (۹۶/۷۶ درصد) در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی گرم نانوذرات سلنیوم بود که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). نتایج بازماندگی نیز نشان داد که بیشترین بازماندگی در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی گرم نانوذرات سلنیوم بود (۹۲/۷۹) که اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها نشان نداد ($p > 0.05$). 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، چشم زدگی و تفريخ تخم) در مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان گردید و بر اساس نتایج اين تحقیق تیمار ۲ میلی گرم نانوذرات 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 تفريخ، قزل آلای رنگین کمان

*توپیسنده مسئول

مقدمه

می باشد (Lin and Shiau, 2005) و برای فرآیندهای طبیعی موجودات ضروری است و بر رشد، تکامل و عملکردهای ایمنی اثر می گذارد. همچنین سلنیوم یک تقویت کننده تغذیه‌ای قوی برای سیستم ایمنی و آنتی اکسیدانی است که موجب افزایش فعالیت فنول اکسیداز، (GPx)، انفجار تنفسی، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GST)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST)، فعالیت بیگانه خواری و مقاومت در برابر عوامل بیماری زا می گردد (Chiu *et al.*, 2010). سلنیوم مورد نیاز ماهی قزل آلای رنگین کمان بر اساس رشد بهینه و حداکثر فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای 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.*, 2010). تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تاثیرات استفاده از نانوذرات 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 نانوذرات 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 می شود؟ آیا مصرف جیره غذایی غنی شده با نانوذرات سلنیوم باعث افزایش کیفیت تخمک ماهی قزل آلای رنگین کمان می شود؟

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردادی 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 استخراج (با ابعاد ۳۰*۳۰*۱ متر) توزیع شدند. پس از

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 دهنده‌گان می باشند. ترکیبات ریز مغذی نقش مهمی در ساختار جیره‌های غذایی ایفاء می کنند. یکی از این ترکیبات مهم سلنیوم می باشد که به عنوان یک عنصر ترکیبی در آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) در فعال Lin and shiau, 2005) و موجب تقویت سیستم آنتی اکسیدانی سلول‌ها می گردد. این آنزیم با تجزیه پراکسیدهای هیدروژن در سلول‌های 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 می کند تا بدن ماهی در حفظ سلول‌ها و اجزای سلولی از آسیب اکسیداتیو از طریق فعال سازی سلنوآنژیم‌ها و 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 می آورد. هر گونه اختلال در میزان سلنیوم دریافتی موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می شود که به موجب آن ماهیان قادر به مبارزه با شرایط استرس زا نیستند و نمی توانند 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 Khan *et al.*, Pappas and Zoidis, 2012) بمنظور می رسد (al., 2016;. سلنیوم یک ریز مغذی ضروری برای ماهیان

ماده تیمارهای مختلف با اسپرم نرهای معمولی آمیزش داده شدند.

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

$$\text{تعداد کل تخم‌ها} / 100 = \text{تعداد تخم‌های لقاد یافته} / \text{درصد لقاد}$$

طول کل و دور شکم بر حسب سانتی‌متر با دقت ± 1 میلی‌متر، وزن کل تخمک‌های استحصالی از هر مولد به وسیله‌ی ترازوی دیجیتال با دقت ± 0.01 گرم، وزن بدن با ترازوی دیجیتال با دقت ± 1 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 (طهماسی و همکاران، ۱۳۹۶). سپس هماوری مطلق و نسبی از روابط ذیل محاسبه شد:

$$\text{تعداد تخمک‌ها} = \text{هماوری مطلق}$$

$$\text{وزن کل بدن (گرم)} / \text{تعداد تخمک استحصالی} = \text{هماوری نسبی}$$

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:

$$\text{درصد چشم زدگی تخم‌های لقاد یافته} = \text{تعداد تخم‌های لقاد یافته} / 100 \times \text{تعداد تخم‌های چشم زده}$$

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)، ۱، ۰/۵ 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 ۰.۲۵ میلی‌لیتر 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 م قطر (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 محلول ۱۰ درصد ژلاتین گاوی در آب مقدار تهیه شد و سپس بر هر یک از انواع غذاها به میزان ۵۰ میلی‌لیتر 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)، مولдин به صورت روزانه، در دو نوبت و به میزان ۱ درصد وزن بدن تغذیه شدند. مولдин 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 بلافصله بعد از اوولاسیون انجام گرفت. برای این منظور مولдин با فشار اندکی به ناحیه شکمی معاینه گردیدند. پس از تخمکشی، تخم‌های حاصل از مولдин

مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) استفاده شد. به منظور نرمال سازی داده‌های درصدی نیز از Arcsin استفاده شد.

درصد تفريخ نيز از رابطه ذيل بدست آمد (Billard and Gillet, 1981)

$$\text{درصد تفريخ} = (\text{تعداد تخم چشم زده} / \text{تعداد لارو}) \times 100$$

نتایج

نتایج مربوط به زیست سنجه مولدین در خصوص شاخص‌های وزن کل، طول کل و دور شکم اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$) (جدول ۱).

اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار 19SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پس از بررسی وضعیت نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف- اسمیرنوف، داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه شده و برای

جدول ۱: فاكتورهای ریخت شناختی مولدین ماده (میانگین \pm انحراف معیار)

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

فاكتورهای مورد سنجش	تیمار شاهد	تیمار ۱ درصد سلنیوم	تیمار ۲ درصد سلنیوم	تیمار ۳ درصد سلنیوم
وزن (گرم)	$3918/46 \pm 679/56^a$	$4158/00 \pm 793/44^a$	$3657/28 \pm 485/35^a$	$3968/76 \pm 108/012^a$
طول کل (سانتی‌متر)	$64/92 \pm 24/67^a$	$64/10 \pm 5/00^a$	$63/36 \pm 2/84^a$	$68/63 \pm 7/41^a$
دورشکم (سانتی‌متر)	$40/35 \pm 2/87^a$	$38/80 \pm 3/65^a$	$37/27 \pm 3/26^a$	$37/50 \pm 3/82^a$

حروف مشترک در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار ($p > 0.05$) می‌باشد.

قطر تخمهای تقریباً یکسان بود. هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در اندازه قطر تخم میان تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (جدول ۲).

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

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

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

تیمار	تعداد در گرم تخمه	وزن تخم (گرم)	قطر تخم (میلی‌متر)
تیمار شاهد	$11/75 \pm 1/11^a$	$0/086 \pm 0/008^b$	$5/39 \pm 0/228^a$
تیمار ۱ درصد سلنیوم	$11/18 \pm 0/64^a$	$0/090 \pm 0/005^b$	$5/58 \pm 0/337^b$
تیمار ۱ درصد سلنیوم	$11/15 \pm 0/78^a$	$0/090 \pm 0/006^b$	$5/40 \pm 0/315^a$
تیمار ۲ درصد سلنیوم	$12/00 \pm 1/89^b$	$0/079 \pm 0/012^a$	$5/39 \pm 0/407^a$

حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار ($p > 0.05$) می‌باشد.

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 ($p > 0.05$). همچنین اختلاف معنی‌داری در میانگین وزن تخم استحصالی میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$).

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 ($p < 0.05$ ، ولی با دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$). بیشترین هماوری نسبی نیز مربوط به ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد سلنیوم

جدول ۳: 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)	همواری مطلق	همواری نسبی
تیمار شاهد	۴۲۶/۱۵±۱۰/۷ ^a	۵۰۰/۷/۳۲±۱۱/۸/۵ ^{ab}	۱۳۰/۹/۰/۳±۳۸/۴/۰ ^a
تیمار ۰/۵ درصد سلنیوم	۴۵۰/۰/۰±۸/۱/۸ ^a	۵۰/۳۲/۷۶±۹۱/۴/۷ ^{ab}	۱۲۴/۶/۸۰±۳۰/۲/۰ ^a
تیمار ۱ درصد سلنیوم	۳۹۸/۶۴±۸/۰/۱ ^a	۴۴۴/۵/۲۷±۸۹/۳/۵ ^a	۱۲۲/۵/۲۹±۲۵/۴/۰ ^a
تیمار ۲ درصد سلنیوم	۴۳۵/۰/۰±۹/۲/۴ ^a	۵۶۵/۴/۸۳±۱۲/۰/۵ ^b	۱۴۵/۹/۲۵±۲۷/۰/۱ ^a

حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار ($P > 0.05$) می باشد.

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 ۹۹/۴ درصد بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). اما اختلاف معنی‌داری را میان تیمارهای شاهد، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم نشان نداد ($p > 0.05$). نکته دیگر در مورد نتایج چشم زدگی، روند افزایشی این شاخص همراه با افزایش سلنیوم جیره است (جدول ۴).

نتایج مربوط به کیفیت لقاح، چشم زدگی و تفریخ جنبین‌ها 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 ($p < 0.05$) ولی اختلاف معنی‌داری با تیمارهای تغذیه شده با نیم و یک درصد سلنیوم را نشان نداد ($p > 0.05$). همچنان اختلاف معنی‌داری میان تیمار شاهد با تیمارهای تغذیه شده با نیم

جدول ۴: 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	۸۵/۵۸±۱۱/۶۷ ^a	۹۰/۸۶±۲/۹۱ ^a	۹۱/۸۶±۳/۷۶ ^a	۸۵/۵۵±۱۱/۰۵ ^a
تیمار ۰/۵ درصد سلنیوم	۸۷/۴۸±۸/۲۱ ^a	۹۱/۷۸±۲/۲۷ ^a	۹۲/۰۲±۵/۱۲ ^a	۹۲/۴۴±۳/۳۳ ^{ab}
تیمار ۱ درصد سلنیوم	۹۰/۵۱±۳/۵۰ ^a	۹۳/۶۲±۳/۸۷ ^a	۹۴/۷۹±۴/۹۳ ^a	۹۳/۳۴±۱۱/۹۴ ^{ab}
تیمار ۲ درصد سلنیوم	۹۲/۷۹±۳/۴۲ ^a	۹۶/۷۶±۳/۵۷ ^b	۹۹/۴۰±۰/۶۴ ^b	۹۹/۳۰±۱/۴۵ ^b

حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار ($p > 0.05$) می باشد.

سلنیوم بود (۹۲/۷۹)، که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان نداد ($p > 0.05$). همچنان در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم روند افزایشی در میزان بازماندگی همراه با افزایش غلظت نانوذرات سلنیوم مشاهده شد.

بیشترین درصد تفریخ در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانو ذرات سلنیوم بود (۹۶/۷۶) که درصد بدست آمد اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). ولی اختلاف معنی‌داری را میان تیمارهای شاهد، ۰/۵ و ۱ درصد نشان نداد ($p > 0.05$).

نتایج بازماندگی نیز نشان داد که بیشترین میزان بازماندگی در ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد نانوذرات

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.

زیست سنجی لاروها
هیچگونه اختلاف معنی‌داری در زیست سنجی لاروها مشاهده نگردید. ولی با توجه به جدول ۵ وزن تفريخ، وزن شروع تغذیه و طول شروع تغذیه با افزایش مقدار سلنیوم

جدول ۵: طول و وزن لاروها در تیمارهای مختلف (میانگین \pm انحراف معیار)Table 5: Larvae length and weight in different treatments (Means \pm SD).

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

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. بر عکس 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 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

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 مولдин تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم سلنیوم بود. همچنین بیشترین درصد تفريخ در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). 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 ($p < 0.05$). 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 غیراشبع عضله گردید.

Zoidis و Pappas (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 بیوسنتر پروستاگلاندین‌ها از پیش سازهای آنها نظیر اسید آراشیدونیک ایفاء می‌کند. با وجود اینکه نقش گلوتاتیون پراکسیداز در متabolیسم ایکوزانوئیدها به روشی مشخص نشده است. اما گمان می‌رود که سلنیوم جیره نقش مهمی در تنظیم متabolیسم اسید آراشیدونیک داشته باشد (Cao et al., 2002). مکانیسم چنین مسئله‌های 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 نانوذرات سلنیوم بر قطر تخم، میانگین وزن کل تخم و بازماندگی تخم احتمالاً به دلیل عوامل مختلفی مانند دوز مصرفی یا روند تاثیرگذاری نانوذرات 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، خصوصاً در موجوداتی که در مراحل پایانی اسپرماتوژنر یا اووژنر 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 مولدهای قزل‌آلای

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 روکسین 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 خون‌شناختی 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 طی استرس ضروری بنظر می‌رسد. همچنین ماهیان تعذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوسلنیوم به طور معنی‌داری پروتئین 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 نانوذرات سلنیوم نسبت به سلنومتیونین آلی در افزایش محتوای سلنیوم ماهیچه مؤثرتر باشد. تاثیرات مثبت نانوذرات سلنیوم بر شاخص‌های ارزیابی تخم مانند هماوری، درصد تفریخ و درصد لفاح تخم را می‌توان به نقش سلنیوم در دفاع آنتی‌اکسیدانی و ایمنی دانست. با توجه به اینکه عمل تخم ریزی و لفاح هماوره با استرس همراه است و سلنیوم نقش اساسی در کاهش استرس دارد می‌تواند افزایش هماوری و افزایش درصد لفاح در تیمار ۲ میلی‌گرم را به نانوذرات سلنیوم نسبت داد که احتمالاً از طریق افزایش غلظت اسید آراشیدونیک در تخم و

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*). *Majlis 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. *Majlis علمی شیلات ایران*، ۲۱ (۴): ۱۱۴-۱۰۵. Doi: 10.22092/ISFJ.2017.110092

Ashouri, S., Keyvanshokoh, 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

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*). *Faslnameh علمی-پژوهشی محیط زیست* جانوری، ۷ (۲): ۱۸۹-۱۹۶.
- توكمه‌چی، ا. و شهرکی، رو.، ۱۳۹۱. اثرات تعذیه‌ای ساکارومایسین سرویزیا غنی شده با سلنیوم بر رشد و مقاومت ماهی قزلآلای رنگین کمان به استرس‌های محیطی و باکتری یرسینیا روکری. *Faslnameh علمی-پژوهشی محیط زیست* جانوری، ۴ (۴): ۴۹.
- جوهری، س. ع. و حسینی، س.، ۱۳۹۳. سمیت تعذیه‌ای کلورید نانوذرات نقره در ماهی قزلآلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *Majlis 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 شاخص‌های تولیدمثلی و پارامترهای خون شناسی در ماهی قزلآلای رنگین کمان مولد (*Oncorhynchus mykiss*). *Majlis علمی شیلات ایران*. ۲۰ (۲): ۲۱۰-۲۰۴. Doi: 10.22059/jfisheries.2018.226601.971
- عبدالحی، ح.ع.، ۱۳۹۵. بهبود ژنتیکی مولدهای قزلآلای رنگین کمان و برنامه ریزی زیرساختهای ژنتیک و اصلاح نژاد. *Majlis تحقیقات علوم شیلات* ۲۰-۹۰۰-۱۲-۱۲-۲- کشور، طرح تحقیقاتی به شماره: ۱۱۲-۱۲-۹۰۰-۲۰
- غضنفرپور، ح.، طالبی، ا.، قاسمی، ف. و حقیقت جهرمی، م.، ۱۳۹۳. تأثیر آنتی اکسیدانی نانوذرات سلنیوم بر پارامترهای اسپرمی بیضه‌ی موشهای جوان و مسن. *Majlis دانشگاه علوم پزشکی فسا*. سال چهارم. شماره ۱: ۱۱۱-۱۱۹.

- 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 Biochemistry*, 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 nanoparticles. *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*,

- 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

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

Falahat Naser-Abad E.¹; Ziae-nejad S.^{1*}; Ghaedi A.²; Seyyedi M.¹; Moradian S.H.²

*zbsaeed@yahoo.com

1-Departmet of Fisheries, Natural Resources 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 grups ($p>0.05$). 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