

اثرات جیره غذایی غنی شده با نانوذرات سلنیوم بر عملکرد تولید مثلی مولدین ماده قزل آلائی رنگین کمان (*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 دریافت: مرداد ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۸

چکیده

در این پژوهش تأثیر نانوذرات سلنیوم بر عملکرد تولید مثلی مولدین ماده قزل آلائی 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 همآوری 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 تفریخ (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، چشمزدگی و تفریخ تخم) در مولدین ماده قزل آلائی رنگین کمان گردید و بر اساس نتایج این تحقیق تیمار ۲ میلی گرم نانوذرات سلنیوم بهترین عملکرد را جهت بهبود شرایط تولید مثلی ماهی قزل آلائی رنگین کمان را از خود نشان داد.

لغات کلیدی: نانوذرات سلنیوم، همآوری، لقاح تخم، نرخ تفریخ، قزل آلائی رنگین کمان

*نویسنده مسئول

مقدمه

گسترش صنعت آبی پروری 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 می باشند. ترکیبات ریز مغذی نقش مهمی در ساختار جیره های غذایی ایفاء می کنند. یکی از این ترکیبات مهم سلنیوم می باشد که به عنوان یک عنصر ترکیبی در آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) در فعال سازی این آنزیم نقش مهمی دارد (Lin and shiau, 2005) و موجب تقویت سیستم آنتی اکسیدانتی سلول ها می گردد. این آنزیم با تجزیه پراکسیدهای هیدروژن در سلول های مختلف موجب افزایش مقاومت در برابر آسیب های اکسیداتیو خواهد شد. در سال های اخیر جهت بهبود عملکرد و رسیدن به پتانسیل ژنتیکی در گله های اصلاح شده به افزودنی های غذایی توجه زیادی شده است. سلنیوم یک عنصر ریز مغذی مهم و آنتی اکسیدان قوی است که وجود آن در رژیم های غذایی ماهی کمک می کند تا بدن ماهی در حفظ سلول ها و اجزای سلولی از آسیب اکسیداتیو از طریق فعال سازی سلنوآنزیم ها و سلنو پروتئین 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 می آورد. هر گونه اختلال در میزان سلنیوم دریافتی موجب کاهش فعالیت آنزیم های 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 رژیم های غذایی برای تولید هورمون متعادل و متابولیسم، سنتز و تنظیم سلنو پروتئین ها، بهبود وضعیت دفاع آنتی اکسیدانی و مهمتر از همه، کیفیت گوشت ماهی و تولید مثل مهم بنظر می رسد (Khan et Pappas and Zoidis, 2012; al., 2016). سلنیوم یک ریز مغذی ضروری برای ماهیان

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 تغذیه ای قوی برای سیستم ایمنی و آنتی اکسیدانی است که موجب افزایش فعالیت فنول اکسیداز، انفجار تنفسی، فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز (GPx)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و گلوکاتایون اس-ترانسفراز (GST)، فعالیت بیگانه خواری و مقاومت در برابر عوامل بیماری زا می گردد (Chiu et al., 2010). سلنیوم مورد نیاز ماهی قزل آلی رنگین کمان بر اساس رشد بهینه و حداکثر فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز پلاسما ۰/۱۵-۰/۳۸ میلی گرم سلنیوم در کیلوگرم جیره تعیین شده است (Hilton et al., 1980). در سال های اخیر نانوذره سلنیوم توجه گسترده ای 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 مطالعاتی در زمینه تاثیرات استفاده از نانو ذرات سلنیوم بر فاکتورهای تولید مثلی ماهی قزل آلی 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 آلی رنگین کمان موثر است؟ آیا افزودن نانوذرات سلنیوم به جیره موجب بهبود عملکرد رشد در قزل آلی رنگین کمان می شود؟ آیا مصرف جیره غذایی غنی شده با نانو ذرات سلنیوم باعث افزایش کیفیت تخمک ماهی قزل آلی رنگین کمان می شود؟

مواد و روش ها

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

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 محلول ۱۰ 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 کمر بند 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 ± 1 میلی‌متر، وزن کل تخمک‌های استحصالی از هر مولد به وسیله‌ی ترازوی دیجیتال با دقت ± 0.1 گرم، وزن بدن با ترازوی دیجیتال با دقت ± 1 گرم و قطر تخمک به وسیله‌ی میکرومتر چشمی اندازه‌گیری شد. جهت تعیین همآوری مطلق از روش وزنی استفاده گردید. به این صورت که کل تخمک‌های خارج شده از محوطه‌ی شکمی توزین شد (طهماسبی و همکاران، ۱۳۹۶). سپس همآوری مطلق و نسبی از روابط ذیل محاسبه شد:

تعداد تخمک‌ها = همآوری مطلق

وزن کل بدن (گرم) / تعداد تخمک استحصالی = همآوری 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

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

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

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.

نتایج

نتایج مربوط به زیست سنجی مولدین

در خصوص شاخص‌های وزن کل، طول کل و دور شکم اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$) (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: فاکتورهای ریخت شناختی مولدین ماده (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

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

فاکتورهای مورد سنجش	تیمار شاهد	تیمار ۰/۵ درصد سلیوم	تیمار ۱ درصد سلیوم	تیمار ۲ درصد سلیوم
وزن (گرم)	۳۹۱۸/۴۶ $\pm$ ۶۷۹/۵۶ ^a	۴۱۵۸/۰۰ $\pm$ ۷۹۳/۴۴ ^a	۳۶۵۷/۲۸ $\pm$ ۴۸۵/۳۵ ^a	۳۹۶۸/۷۶ $\pm$ ۱۰۸۰/۱۳ ^a
طول کل (سانتی‌متر)	۶۴/۹۲ $\pm$ ۲۴/۶۷ ^a	۶۴/۱۰ $\pm$ ۵/۰۰ ^a	۶۳/۳۶ $\pm$ ۲/۸۴ ^a	۶۸/۶۳ $\pm$ ۷/۴۱ ^a
دور شکم (سانتی‌متر)	۴۰/۳۵ $\pm$ ۲/۸۷ ^a	۳۸/۸۰ $\pm$ ۳/۶۵ ^a	۳۷/۲۷ $\pm$ ۳/۲۶ ^a	۳۷/۵۰ $\pm$ ۳/۸۲ ^a

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

نتایج حاصل از تکثیر مصنوعی مولدین

بیشترین قطر تخم مربوط به ماهیان تغذیه شده با نیم درصد نانوذرات سلیوم بود و در سایر گروه‌ها شامل گروه شاهد، تیمار ۲ درصد سلیوم و تیمار ۱ درصد سلیوم

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 $\pm$ انحراف معیار)

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

تیمار	تعداد در گرم تخمک	وزن تخم (گرم)	قطر تخمک (میلی‌متر)
تیمار شاهد	۱۱/۷۵ $\pm$ ۱/۱۱ ^a	۰/۰۸۶ $\pm$ ۰/۰۰۸ ^b	۵/۳۹ $\pm$ ۰/۲۲۸ ^a
تیمار ۰/۵ درصد سلیوم	۱۱/۱۸ $\pm$ ۰/۶۴ ^a	۰/۰۹۰ $\pm$ ۰/۰۰۵ ^b	۵/۵۸ $\pm$ ۰/۳۳۷ ^b
تیمار ۱ درصد سلیوم	۱۱/۱۵ $\pm$ ۰/۷۸ ^a	۰/۰۹۰ $\pm$ ۰/۰۰۶ ^b	۵/۴۰ $\pm$ ۰/۳۱۵ ^a
تیمار ۲ درصد سلیوم	۱۳/۰۰ $\pm$ ۱/۸۹ ^b	۰/۰۷۹ $\pm$ ۰/۰۱۳ ^a	۵/۳۹ $\pm$ ۰/۴۰۷ ^a

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

نتایج همآوری مولدین

بر اساس نتایج این تحقیق (جدول ۳)، بیشترین همآوری مطلق به مولدین تغذیه شده با ۲ درصد سلیوم بود که اختلاف معنی‌داری را با تیمار تغذیه شده با یک درصد سلیوم داشت ($p < 0.05$)، ولی با دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$). بیشترین همآوری نسبی نیز مربوط به ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد سلیوم

و کمترین همآوری نسبی نیز مربوط به مولدین تغذیه شده با ۱ درصد سلیوم بود. با این وجود اختلاف معنی‌داری در همآوری نسبی میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$). همچنین اختلاف معنی‌داری در میانگین وزن تخم استحصالی میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۳: هماوری مولدین در تیمارهای مختلف (میانگین $\pm$ انحراف معیار)Table 3: Fecundity of female breeders in different treatments (Means $\pm$ SD).

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

حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) 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 سلیوم 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 سلیوم را نشان نداد ($P > 0.05$). همچنین اختلاف معنی‌داری میان تیمار شاهد با تیمارهای تغذیه شده با نیم

و یک میلی‌گرم سلیوم مشاهده نشد. شایان ذکر است، روند افزایشی در درصد لقاح همراه با افزایش غلظت نانوذرات سلیوم مشاهده شد. بیشترین درصد چشم زدگی تخم نیز مربوط به تیمار ۲ میلی‌گرم سلیوم بود که ۹۹/۴۰ 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 سلیوم جیره است (جدول ۴).

جدول ۴: درصد لقاح، چشم زدگی و تفریخ در تیمارهای مختلف (میانگین $\pm$ انحراف معیار)Table 4: Percentage of fertilization, eyed eggs rate and hatching in different treatments (Means $\pm$ SD).

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

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

بیشترین درصد تفریخ در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی گرم نانو ذرات سلیوم 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

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

زیست سنجی لاروها

هیچگونه اختلاف معنی داری در زیست سنجی لاروها مشاهده نگردید. ولی با توجه به جدول ۵ وزن تفریخ، وزن شروع تغذیه و طول شروع تغذیه با افزایش مقدار سلیوم

موجود در غذا، سیر صعودی را نشان می دهند که می توان با اضافه کردن مقدار مشخصی نانو سلیوم به غذای ماهیان رشد آنها را بیشتر نمود.

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 تفریخ (گرم)	وزن شروع تغذیه (گرم)	طول شروع تغذیه (میلی متر)
تیمار شاهد	0.097 ± 0.0065^a	0.132 ± 0.0135^a	22.92 ± 1.80^a
تیمار ۵ درصد سلیوم	0.097 ± 0.0014^a	0.132 ± 0.0106^a	23.00 ± 1.76^a
تیمار ۱ درصد سلیوم	0.097 ± 0.0046^a	0.136 ± 0.0190^a	23.00 ± 1.00^a
تیمار ۲ درصد سلیوم	0.104 ± 0.013^a	0.138 ± 0.0139^a	23.10 ± 1.44^a

بحث و نتیجه گیری

سلیوم جزء کلیدی تعدادی از سلنو پروتئین های کاربردی است و در عملکردهای طبیعی بدن دخالت دارد (Rayman, 2000). مرور کلی پژوهش های انجام شده در ارتباط با سلیوم 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 می شود (Khan et al., 2017). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیشترین همآوری مربوط به مولدین تغذیه شده با ۲ میلی گرم سلیوم بود. همچنین بیشترین درصد تفریخ در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی گرم نانو ذرات سلیوم بود که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). نتایج همچنین نشان داد با افزایش میزان سلیوم در جیره درصد لقاح تخم نیز افزایش می یابد که بیشترین درصد لقاح در تیمار تغذیه شده با ۲ میلی گرم سلیوم بود که اختلاف معنی داری با تیمار شاهد داشت ($p < 0.05$). اثرات مثبت سلیوم در سایر پژوهش ها نیز به اثبات رسیده است. کریم زاده و همکاران (۱۳۹۰) اثر متقابل سلیوم و چربی جیره بر ترکیب اسید چرب بافت ماهی قزل آلا رنگین کمان را ارزیابی نمودند. در این تحقیق افزایش سلیوم جیره باعث فعالیت بیشتر آنزیم گلوکوتانیون پراکسیداز شده و در جیره های پرچرب (۳۰ درصد چربی) وجود سلیوم به عنوان عامل بازدارنده اکسیداسیون باعث بهبود کیفیت اسیدهای چرب غیراشباع عضله گردید.

محسنی و ستوده (۱۳۹۱) تأثیر سطوح مختلف سلیوم جیره غذایی بر روند رشد و استرس اکسیداتیو را در بچه فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) بررسی کردند و نتیجه گرفتند که سطوح مناسب سلیوم موجب کاهش استرس و بهبود پاسخ های ایمنی در ماهی می شود. برعکس جذب بالای این مواد موجب تحریک استرس و کاهش پاسخ های ایمنی می گردد. توکمه چی و شهرکی (۱۳۹۱) اثرات تغذیه ای مخمر غنی شده با سلیوم را بر رشد و مقاومت ماهی قزل آلا رنگین کمان مورد بررسی قرار دادند. افزودن مخمر غنی شده با سلیوم به طور معنی داری شاخص های رشد ماهی قزل آلا رنگین کمان را در مقایسه با گروه شاهد بهبود بخشید. ماهیانی که بیشترین مقدار مخمر غنی شده را دریافت کردند بالاترین میزان مقاومت را در برابر استرس های محیطی و آلودگی با باکتری *Yersinia ruckeri* از خود نشان دادند. در تحقیقی مشابه غضنفرپور و همکاران (۱۳۹۳) بیان کردند که نانو ذرات سلیوم باعث بهبود پارامترهای اسپرمی موش می شود. همچنین احمدوند و همکاران (۱۳۹۴) اثر سطوح مختلف نانوذرات سلیوم در مقایسه با سلیوم آلی را بر عملکرد رشد بچه ماهیان کپور معمولی بررسی کردند و بیان کردند که در سطوح یکسان، اثر استفاده از سلیوم به فرم نانوذره بیشتر از فرم آلی آن بود. Ashouri و همکاران (۲۰۱۵) اثرات سطوح مختلف نانوذرات سلیوم را در کپور معمولی ارزیابی کردند. در ماهیان تغذیه شده با ۱

میلی گرم سلیوم در کیلوگرم جیره عملکرد رشد شامل وزن نهایی و افزایش وزن بهبود یافت. این مطالعه اضافه کردن ۱ میلی گرم گرم نانوسلیوم در کیلوگرم جیره را جهت بهبود رشد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی کپور معمولی توصیه می کند. Rider و همکاران (۲۰۰۹) نقش جیره های تکمیل شده با مقادیر بالای سلیوم را بر رشد و سلامت قزل آلا ی رنگین کمان در شرایط طبیعی و بعد از استرس مزمن تعیین کردند. در شرایط طبیعی فعالیت آنزیم های GSH-PX و تیو ردوکسین ردوکتاز (Trx-R) در کبد نشان داد که نیازمندی به سلیوم از طریق جیره پایه تأمین می شود. قبل از استرس مقادیر بالای سلیوم وضعیت اکسیداتیو، توانایی ایمنی یا سایر پارامترهای خون شناسی و رشد را تحت تأثیر قرار نداد. ۷ روز استرس فیزیکی مزمن سلیوم کل بدن را کاهش داد و فعالیت GSH-Px را افزایش داد که نشان دهنده افزایش مصرف سلیوم می باشد. بنابراین، تکمیل جیره های تجاری با سلیوم طی استرس ضروری بنظر می رسد. همچنین ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی گرم نانوسلیوم به طور معنی داری پروتئین کل و محتوای گلوبولین بالاتر و سطح آلبومین پایین تری را نشان دادند. Zhou و همکاران (۲۰۰۹) اثرات نانوذرات سلیوم و سلنومیونین را بر ماهی کاراس (*Carassius auratus*) مقایسه کردند. این پژوهشگران نشان دادند که منابع مختلف سلیوم اضافه شده به جیره می تواند وزن نهایی، میزان افزایش نسبی وزن، فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز و غلظت سلیوم ماهیچه را در این گونه بهبود بخشد. بنابراین، بنظر می رسد نانو ذرات سلیوم نسبت به سلنومیونین آلی در افزایش محتوای سلیوم ماهیچه مؤثرتر باشد. تأثیرات مثبت نانو ذرات سلیوم بر شاخص های ارزیابی تخم مانند همآوری، درصد تفریح و درصد لقاح تخم را می توان به نقش سلیوم در دفاع آنتی اکسیدانی و ایمنی دانست. با توجه به اینکه عمل تخم ریزی و لقاح همواره با استرس همراه است و سلیوم نقش اساسی در کاهش استرس دارد می تواند افزایش همآوری و افزایش درصد لقاح در تیمار ۲ میلی گرم را به نانوذرات سلیوم نسبت داد که احتمالاً از طریق افزایش غلظت اسید آراشیدونیک در تخم و

دوکوزاهگزانوئیک تأثیر گذار بوده است. Zoidis و Pappas (۲۰۱۲) نشان دادند که با افزودن سلیوم آلی به جیره پایه حاوی PUFA (مانند روغن سویا و ماهی) غلظت اسید دوکوزاهگزانوئیک افزایش می یابد. آنها گزارش کردند که غلظت اسید آراشیدونیک در تخم مرغ های بدست آمده از مرغ هایی که تیمارهای جیره های سلیومی را دریافت کرده بودند، در مقایسه با مرغ هایی که فقط جیره پایه حاوی روغن سویا مصرف کرده بودند، کاهش یافت. این نتایج نشان می دهند ممکن است که اثرات متقابل میان PUFA و سلیوم وجود داشته باشد و احتمالاً این اثر از طریق گلوکوتاتیون پراکسیداز اعمال می شود. گلوکوتاتیون پراکسیداز نقش مهمی را در تنظیم بیوسنتز پروستاگلاندین ها از پیش سازهای آنها نظیر اسید آراشیدونیک ایفاء می کند. با وجود اینکه نقش گلوکوتاتیون پراکسیداز در متابولیسم ایکوزانوئیدها به روشنی مشخص نشده است. اما گمان می رود که سلیوم جیره نقش مهمی در تنظیم متابولیسم اسید آراشیدونیک داشته باشد (Cao et al., 2002). مکانیسم چنین مسئله ای کاملاً شناخته شده نیست. هرچند ممکن است فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز وابسته به سلیوم موجود در تخم افزایش و میزان اکسیداسیون چربی ها و پروتئین ها را در زرده سازی کاهش دهد و موجب حفظ خصوصیات کیفی آن شود. عدم تأثیرگذاری نانو ذرات سلیوم بر قطر تخم، میانگین وزن کل تخم و بازماندگی تخم احتمالاً به دلیل عوامل مختلفی مانند دوز مصرفی یا روند تأثیرگذاری نانو ذرات به اندازه ای 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 می تواند بر نتایج تأثیرگذار باشد. استفاده از دوز یا دوره درمان نامناسب باعث بروز اثرات معکوس آنتی اکسیدان ها می شود. با توجه به نقش سلیوم بر باروری، خصوصاً در موجوداتی که در مراحل پایانی اسپرماتوژنز یا اووژنز به سر می برند، باید این عنصر در جیره های غذایی آنها گنجانده شود. به طور کلی، بر اساس این یافته ها می توان نتیجه گرفت که افزودن نانوذرات سلیوم به جیره مولدین ماده قزل آلا ی

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): ۱۸۹-۱۹۶.
- 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 کلئوئید 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 شاخص‌های تولیدمثلی و پارامترهای خون شناسی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مولد (*Oncorhynchus mykiss*). شیلات، ۷۰ (۲): ۲۱۰-۲۰۴. Doi: 10.22059/jfisheries.2018.226601.971
- عبدالحی، ح. ع.، ۱۳۹۵. بهبود ژنتیکی مولدین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و برنامه ریزی زیرساخت‌های ژنتیک و اصلاح نژاد. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، طرح تحقیقاتی به شماره: ۲۰۲۰-۹۰۰۱۲-۱۲-۲
- 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 رنگین‌کمان (*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., 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 micropollutant 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

- 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., Baeri, 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; Ziaei-nejad S.^{1*}; Ghaedi A.²; Seyyedi M.¹; Moradian S.H.²

*zbsaeed@yahoo.com

1-Department 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 groups ($p > 0.05$). 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