

مقاله علمی - پژوهشی:

اثر دو شکل معدنی و نانو ذره سلنیوم بر پارامترهای بیوشیمیایی عضله، سرم، دفاع آنتی‌اکسیدانی پس از مواجهه با کلرید جیوه در ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*)

فرحناز کیان ارثی^{۱*}، علیرضا صفاهیه^۲، نگین سلامات^۲، امیر پرویز سلاطی^۳، حسین هوشمند^۱

*Farahnaz.kianersi@gmail.com

۱- پژوهشکده آبی پروری جنوب کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، اهواز، ایران

۲- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

۳- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: تیر ۱۴۰۰

چکیده

جیوه با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و از بین بردن منابع آنتی‌اکسیدان باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. مهم‌ترین کاربرد سلنیوم، نقش آن در ساختمان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل گلوکوتایون پراکسیداز است و عملکرد آن حذف رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر آنتی‌اکسیداتی نانو ذرات سلنیوم و سلنیت سدیم بر پارامترهای بیوشیمیایی و دفاع آنتی‌اکسیدانی در ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) در مواجهه با کلرید جیوه می‌باشد. در این مطالعه تعداد ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی ۲۵±۳ گرم در پنج تیمار و با جیره‌گذاری سلنیت سدیم و نانوذره سلنیوم با دو غلظت ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۶ هفته تغذیه شدند، سپس به مدت دوهفته در معرض کلریدجیوه با دوز تحت‌کشنده قرار گرفتند. در پایان از همه تیمارها نمونه‌های خون و کبد برداشت و فعالیت آنزیم‌های کبدی و آنتی‌اکسیدانی مورد سنجش قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که فرم نانوذره سلنیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوکوتایون پراکسیداز و کاتالاز، کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید، آسپارات‌آمینوترانسفراز و آلکانین فسفاتاز شد ($p < 0/05$). در طول دوره در معرض گذاری، فرم نانو ذره سلنیوم در بالا بردن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوکوتایون پراکسیداز و کاتالاز اثر بخش‌تر از شکل معدنی سلنیوم بود. کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در کبد ماهیان تغذیه شده با نانوذره سلنیوم نشان‌دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپید و کاهش استرس اکسیداتیو بود. فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارات‌آمینوترانسفراز و آلکانین فسفاتاز تحت تأثیر فلز جیوه در گروه‌های تغذیه شده با سلنیت سدیم نسبت به گروه‌های تغذیه شده با نانوذره افزایش بیشتری داشت ($p < 0/05$) و بالارفتن سطح این آنزیم‌ها در خون نشانه آسیب کبدی است. به طور کلی، افزودن نانوذره سلنیوم در جیره غذایی پایه اثر بخشی بهتری از نظر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهی شانک‌زرد باله متعاقب مواجهه با کلریدجیوه داشت.

لغات کلیدی: ماهی شانک زرد باله، سلنیت سدیم، نانوذره سلنیوم، جیوه

*نویسنده مسئول

مقدمه

امروزه دانش شناخت اثرات منفی ناشی از جیوه در اقیانوس‌ها و دریاها و تاثیر آن بر سلامتی انسان بیشتر شده است و در این راستا و در جهت حفظ سلامتی انسان، به بررسی مداوم کیفیت ماهیان مصرفی می‌پردازند. میزان تجمع جیوه در ماهیان دریایی بسیار متغیر است و به غلظت جیوه و خصوصیات فیزیولوژیک و محیط‌زیستی گونه‌های مختلف ماهی ارتباط دارد. قرار گرفتن در معرض جیوه باعث بروز اثرات ترانژنیک، عصبی و تولید مثلی می‌شود و این اثرات در نهایت باعث آسیب به سلول‌ها، بافت‌ها، پروتئین‌ها و ژن‌ها می‌گردند و در نهایت در زنده ماندن، رشد و رفتار ماهی‌های دریایی موثر هستند (Zheng *et al.*, 2019). سمیت جیوه بر تولید مثل، جنین ماهی و تولیدات شیلاتی و کیفیت ماهیان پرورش یافته اثر دارد و انسان‌ها از طریق مصرف غذاهای دریایی آلوده به جیوه در معرض جیوه قرار می‌گیرند (Zaza *et al.*, 2015). از سوی دیگر، خوردن ماهی فواید زیادی دارد و مواد مغذی موجود در ماهی برای رشد و نمو مغز جنین و جلوگیری از بیماری‌های قلبی عروقی توصیه می‌شود (Jeevanaraj *et al.*, 2016; Anual *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2018). جیوه به عنوان یک فلز سنگین در محیط زیست به اشکال فلزی (Hg^0) و معدنی (Hg^{++} , Hg^+) و آلی (متیل جیوه) یافت می‌شود که در محیط‌های دریایی جیوه بیشتر به شکل معدنی و آلی حضور دارد که با توجه به افزایش فعالیت‌ها و دخالت‌های انسانی میزان جیوه بیشتر شده است (Selin, 2009; Gonzalez-Raymat *et al.*, 2017).

برخلاف جیوه که هیچ نقش بیولوژیک مفیدی در بدن موجودات زنده ندارد، سلنیوم نوعی ریزمغذی و آنتی‌اکسیدان ضروری برای بدن است که با جیوه حالت آنتاگونیسم¹ دارد و اثرات متقابل این دو عنصر در بدن موجودات زنده به عنوان یکی از نمونه‌های مؤثر از همکنشی بین فلزات سنگین و ریز مغذی‌ها شناخته می‌شود (Lall, 2000). سنجش میزان جیوه در محیط زیست، یا منابع غذایی بدون ملاحظه آثار حفاظتی سلنیوم،

انعکاس صحیحی را از مخاطرات آن نشان نمی‌دهد و مطالعاتی بر همکنشی بین این دو فلز صورت گرفته است (Belzile *et al.*, 2006; Burk and Hill, 2009). سلنیوم یک عنصر کمیاب ضروری برای رشد ماهی و بسیاری از جانوران است و برای عملکردهای طبیعی بدن و متابولیسم حیوانات لازم است (Gatlin and Wilson, 2014; Zhou *et al.*, 2009; Le *et al.*, 2014). اهمیت رژیم‌های غذایی حاوی سلنیوم در تغذیه حیوانات آبی مورد توجه قرار گرفته است و تعدادی از تحقیقات به این موضوع پرداخته‌اند (Khan *et al.*, 2016).

افزودن مقدار بهینه سلنیوم علاوه بر افزایش رشد، به عنوان یک حفاظت‌کننده در مقابل فلزات سنگین شناخته شده است و می‌تواند از طریق سنتز گلوکاتیون پراکسیداز و تنظیم فعل و انفعال اسید تیوباربتیوریک، غشاء سلول را از آسیب اکسیداتیو محافظت کند (Rotruck *et al.*, 1973). سلنیوم، صرف نظر از شکل آن (سلنیت، سلنومتیونین، نانو سلنیوم)، می‌تواند سمیت را در کبد، کلیه، طحال، مغز یا قلب حیوانات کاهش دهد. تعدادی از مطالعات زیست محیطی و آزمایشگاهی منتشره، استفاده از سلنیوم معدنی را در کاهش سمیت فلزات سمی موثر دانسته‌اند (Zwolak, 2020).

در این مطالعه با توجه به آلودگی شدید خلیج فارس به‌خصوص در مناطق ساحلی و خوریات مجاور و نیز جاری شدن فاضلاب‌های سمی و استفاده برخی واحدهای صنعتی از جیوه به عنوان کاتالیزور، می‌توان گفت خطرات زیادی از لحاظ آلودگی جیوه وجود دارد. مطالعات متعدد نیز نشان داده است که مقدار جیوه در آب، رسوب و بافت‌های مختلف آبزیان در منطقه بالاتر از استانداردهای موجود بوده است (عسکری ساری و همکاران، ۱۳۹۴؛ بابادی و همکاران، ۱۳۹۴). ماهی شانک زردباله (A. *latus*) یکی از گونه‌های تجاری و با ارزش اقتصادی بالا در خلیج فارس و دریای عمان می‌باشد و توجه خاصی به تکثیر و پرورش این ماهی دریایی در قفس‌های دریایی و استخرهای خاکی ساحلی جنوب کشور شده است. لذا، در این تحقیق به دلیل نبود اطلاعات کافی در مورد اثرات آنتاگونیستی سلنیوم و جیوه بر ماهیان دریایی و گونه

¹ Antagonism

ذره سلنیوم تغذیه شدند. نانو ذرات سلنیوم استفاده شده دارای غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر بود و از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان (مشهد، ایران) خریداری شد. این نانو ذرات ساخت کشور اسپانیا و اندازه ذرات آن ۴۵-۳۰ نانومتر با درصد خلوص ۹۹/۹۵ درصد بود. سلنیوم معدنی (سلنیت سدیم، Na_2SeO_3) مورد استفاده از شرکت شیمیایی سیگما تهیه گردید. برای آماده سازی جیره‌ها، ابتدا جیره پایه آسیاب و سپس مکمل سلنیوم به جیره غذایی آسیاب شده اضافه شد و به مدت ۴۵ دقیقه مخلوط گردید. به مخلوط حاصل آب افزوده شد تا به شکل خمیری درآید. در نهایت خمیر حاصل به وسیله چرخ گوشت پلت شد و برای خشک کردن به مدت ۲۴ ساعت در معرض جریان هوا قرار گرفت. پس از اتمام مرحله ساخت، جیره‌های غذایی آزمایشی تا زمان مصرف در دمای ۲۰ - نگهداری شدند (Sabzi et al., 2017). تانک‌ها در یک فضای سرپوشیده که مجهز به سامانه هواده و تخلیه آب مرکزی، شیرهای تنظیم آب و هوا بود قرار گرفتند. میانگین pH آب ۷/۸۸، دما ۳۳/۱ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۵/۷ اندازه‌گیری شد. غذادهی بر حسب مشاهدات و رفتار تغذیه‌ای ماهی تا حد سیری در دو وعده انجام گرفت. تعویض آب روزانه و بعد از غذادهی انجام و مدفوع باقی مانده غذا هر روز از مخازن پرورشی سیفون شد.

بررسی شاخص‌های رشد

در ابتدا و انتهای دوره، بچه‌ماهیان زیست‌سنجی شدند و طول و وزن آنها اندازه‌گیری و ثبت شد. به منظور کاهش استرس بچه ماهیان هنگام زیست‌سنجی، ۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی غذادهی قطع گردید. شاخص‌های رشد و تغذیه براساس روابط ذیل محاسبه شدند (Naderi et al., 2017).

وزن اولیه بدن (گرم) / [وزن ابتدایی بدن (گرم) - وزن نهایی بدن (گرم)] $\times 100 =$ درصد افزایش وزن بدن
تعداد روزهای پرورش / [(وزن ابتدایی Ln - وزن نهایی Ln)] $\times 100 =$ شاخص رشد ویژه
افزایش وزن بدن (گرم) / غذای مصرف شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

شانک زردباله (*A. latus*)، به بررسی اثر سلنیت سدیم و نانو ذره سلنیوم بر پارامترهای بیوشیمیایی عضله، سرم، دفاع آنتی‌اکسیدانی و در مواجهه با کلرید جیوه پرداخته شد.

مواد و روش کار

در ابتدا تعداد ۳۰۰ قطعه (در هر تانک ۲۰ ماهی) بچه ماهی شانک زرد باله از واحد تکثیر و پرورش درنا مهر قشم با میانگین وزنی 25 ± 3 گرم تهیه شدند و در مخازن ۳۰۰ لیتری ضدعفونی شده حاوی آب دریا به مدت یک هفته سازگاری داده شدند. طی دوره آزمایش، بچه ماهیان در پنج گروه و با سه تکرار تیمار بندی شدند. توزیع ماهیان به گونه‌ای انجام شد که از لحاظ توده زنده اختلاف معنی‌داری در شروع آزمایش بین مخازن وجود نداشته باشد.

ماهیان شانک زرد باله با دو شکل معدنی و نانو ذره سلنیوم به مدت شش هفته تغذیه شدند و سپس به مدت دو هفته در معرض کلرید جیوه با غلظت تحت کشنده ($80 \mu\text{g/l}$) قرار گرفتند جیره پایه حاوی مقادیر پروتئین خام (۴۴-۴۶) درصد، چربی خام (۱۶-۱۴) درصد، فیبر خام (۲-۳) درصد، خاکستر (۸-۱۲) درصد، فسفر کل (۱/۲-۲/۴) درصد و رطوبت (۶-۸) درصد بود. سطح بهینه سلنیوم برای انواع ماهیان ۰/۲۱-۱/۱۸ میلی‌گرم در کیلوگرم رژیم غذایی گزارش شده است (Fracalossi et al., 2013) و در این مطالعه غلظت سلنیوم در جیره‌های غذایی در نهایت به ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم رسید. یک گروه، جیره غذایی پایه بدون افزودن سلنیوم اضافی را دریافت کردند (گروه شاهد)، دو گروه با جیره غذایی سلنیت سدیم به میزان ۱ mg/kg و ۱/۵ و دو گروه باقیمانده با جیره غذایی حاوی ۱ mg/kg و ۱/۵ نانو

نمونه‌گیری خون و کبد

خون‌گیری از ماهیان ۲۴ ساعت پس از در معرض گذاری با کلرید جیوه (روز یک) و در روز هفتم و چهاردهم پس از در معرض گذاری انجام شد. جهت خون‌گیری تعداد ۵ قطعه ماهی از هر تیمار به صورت تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی ماهیان با ۲- فنوکسی اتانول ۲٪ (Sigma, USA)، خون‌گیری از ورید ساقه دمی با استفاده از سرنگ ۳ میلی لیتری صورت گرفت. پس از خون‌گیری خون به یک لوله استریل انتقال داده شد و نمونه‌ها برای جدا سازی سرم با دور ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند (Acerete *et al.*, 2004). پس از جدا سازی، سرم نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی (سنجش آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینو ترانسفراز) خون در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای سنجش فعالیت‌های آنتی اکسیدانی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و محتوای مالون دی‌آلدئید) در ابتدا بافت کبد ۵ ماهی هم‌وزنیزه گردید. جهت همگن کردن، ۱ گرم از نمونه‌های کبد از هر تکرار به‌وسیله ترازو، وزن (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) و در یک فالکن ریخته شد و سپس بافر فسفات ۲۰ میلی مولار و EDTA یک میلی مولار به آن اضافه گردید (Fontagne *et al.*, 2008). عمل همگن‌سازی با دستگاه هم‌زنایزر مدل IKA (T18, IKA, USA) و در مجاورت یخ انجام شد. جهت جداسازی فاز مایع از باقی مانده‌ها، از سانتریفیوژ مدل K240R با دور ۷۴۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. بعد از عمل سانتریفیوژ، مایع رویی به‌وسیله سمپلر جدا گردید. برای اندازه‌گیری CAT از روش Goth (۱۹۹۱) استفاده شد. براساس این روش بافر فسفات با سرم مخلوط و به مدت یک دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس فعالیت آنزیم با کاهش جذب نوری محلول در طول موج ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. میزان ۰/۰۵ کاهش در جذب نوری محلول به عنوان یک واحد فعالیت آنزیم بیان شد. سنجش سوپر اکسید دیسموتاز براساس روش McCord و Fridovich (۱۹۶۹) انجام گرفت. در این روش پس از مخلوط کردن بافر Tris-HCl ۱۵۰ میلی مولار با پلاسما، پیرو گالول به

آن اضافه می‌گردد و پس از آن اکسیداسیون پیروگالول در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت می‌شود. هر واحد فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به صورت مقدار آنزیم مورد نیاز برای ممانعت از اکسیداسیون پیروگالول تا ۵۰ درصد در یک دقیقه تعیین می‌گردد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم GPX با استفاده از کیت رنسل (Randox., Ireland) انجام شد. به منظور سنجش غلظت مالون دی‌آلدئید با استفاده از Thiobarbituric acid به صورت اسپکتروفتومتریک برطبق روش استاندارد (Buege and Aust, 1978) اندازه‌گیری شد. اساس روش واکنش مالون دی‌آلدئید با تیوباریوتیک اسید و استفاده از اسیدتری کلرواستیک و اسید هیدروکلریک می‌باشد و برای حل شدن آن با تیوباریوتیک اسید نیاز به مقداری حرارت است. نمونه مورد نظر با معرف مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری حرارت داده شد. پس از آن سانتریفیوژ نمونه سرد شد و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰rpm انجام گرفت و پس از آن لایه رویی برداشته شد و نهایتاً جذب نوری در ۵۳۵ نانومتر در مقابل نمونه استاندارد انجام گرفت.

تعیین محتوای سلنیوم و ترکیب بیوشیمیایی عضله

محتوای سلنیوم بافت ماهیچه ماهیان در آزمایشگاه تخصصی شیمی تجزیه (شرکت نوین شیمی، تهران) به روش Elia و همکاران (۲۰۱۱) و با استفاده از دستگاه جذب اتمی کوره گرافیتی (مدل Younglin AAS 8020، کره) تعیین شد. روش انجام کار و دستگاه‌های مورد استفاده برای آنالیز ترکیب بیوشیمیایی عضله در جدول ۱ ارائه شده است.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگرواف-اسمیرنوف بررسی شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و جهت اندازه‌گیری اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ی Duncan با سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۴) انجام شد.

جدول ۱: روش انجام کار و دستگاه های مورد استفاده برای آنالیز ترکیب بیوشیمیایی عضله (AOAC., 2005)

Table 1: Methods of experiment and devices used to analyze the biochemical composition of sea bream muscle

دستگاه	روش کار	آنالیز شیمیایی
آون مدل Shimifan LO.141 ساخت ایران	قرار دادن نمونه در دمای ۱۵۴ درجه سانتی گراد برای ۲۴ ساعت و توزین بعد از خشک شدن	رطوبت
کوره مدل Shimifan F.47 ساخت ایران	سوزاندن نمونه در دمای ۴۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت و توزین بعد از خنک شدن	خاکستر
دستگاه کلدال مدل Bakhshi V40 ساخت ایران	نمونه مورد نظر به وسیله اسید سولفوریک هضم و ازت موجود به صورت سولفات آمونیوم تبدیل می گردد. سپس ازت موجود در سولفات آمونیوم را به صورت آمونیاک آزاد و با اسیدبوریک به بورات آمونیوم تبدیل و با استفاده از اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال آن تیتر می شود و آنگاه با محاسبه اسید مصرفی مقدار ازت به دست می آید. میزان پروتئین از حاصل ضرب مقدار ازت در عدد ۶/۲۵ به دست آمد.	پروتئین
اجاق سوکسله ساخت شرکت Bakhshi ساخت ایران	استفاده از روش سوکسله و حل کردن چربی در اتر، پس از استخراج چربی با حلال میزان چربی بر اساس اختلاف وزنی نمونه قبل و بعد از استخراج محاسبه گردید.	چربی

نتایج

ماهی شانک زرد باله شده است. نتایج حاصل از افزودن سلنیوم معدنی در مطالعه اخیر در هر دو غلظت ۱ و ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم موجب کاهش رشد ماهی شد. ماهیان شانک زرد باله پس از شش هفته تغذیه به مدت دو هفته در معرض کلرید جیوه با دوز تحت کشنده ($80 \mu\text{g/l}$) قرار گرفتند. نتایج مربوط به تغییرات سطح فعالیت آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز و محتوای مالون دی آلدئید در کبد ماهیان شانک تحت تیمارهای مختلف را در روزهای یک، هفت و چهارده پس از در معرض گذاری با کلرید جیوه در شکل ۱ نشان داده شده است.

در بین تیمارهای مورد بررسی در میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در طول مدت در معرض گذاری اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p < 0.05$). به طور کلی، میزان کاتالاز در همه تیمارها در هفته اول و دوم پس از در معرض گذاری روندی افزایشی داشت و مقادیر کاتالاز در تیمار تغذیه شده با نانو ذره سلنیوم با غلظت ۱/۵ میلی گرم در کیلوگرم با اختلاف معنی دار از سایر تیمارها بالاتر بود ($p < 0.05$). میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در تیمار نانو ذره با غلظت ۱/۵ میلی گرم در کیلوگرم در هفته اول و دوم پس از در معرض گذاری به طور معنی دار از سایر تیمارها بالاتر بود ($p < 0.05$).

۴۵

عملکرد رشد ماهی شانک زرد باله تغذیه شده با دو فرم معدنی و نانو ذره سلنیوم در جدول ۲ ارائه شده است. پس از شش هفته تغذیه ماهیان با جیره پایه (تیمار شاهد) میانگین وزنی آنها به ۵۰/۲ گرم رسید و در حدود ۹۶ درصد افزایش وزن نشان داد. میانگین وزن ماهیان در تیمارهایی که به ترتیب ۱ و ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم سلنیت سدیم دریافت کرده بودند، پس از اتمام دوره آزمایش به ۴۸/۶ و ۴۰/۵ گرم رسید که به ترتیب حدود ۹۰ و ۶۷ درصد رشد اولیه بالغ می شد و میزان رشد به طور معنی داری از گروه شاهد کمتر بود ($p < 0.05$). برخلاف دو گروه اول میانگین وزنی دو گروهی که مقادیر ۱ و ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم نانو ذره سلنیوم دریافت کرده بودند، افزایش معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد. میانگین وزنی این دو گروه به ترتیب ۵۳/۸۵ و ۵۵/۴ گرم بود که به ترتیب ۱۲۱ و ۱۱۵ درصد افزایش نشان داد. همچنین بالاترین میزان SGR و درصد افزایش وزن بدن در تیمار تغذیه شده با نانو ذره حاوی ۱ و ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم برابر با ۱/۷۷ و ۱/۷۱ محاسبه شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن نانو ذره سلنیوم تا سطح ۱/۵ میلی گرم در کیلوگرم غذا سبب افزایش وزن بدن، شاخص رشد ویژه و درصد افزایش وزن

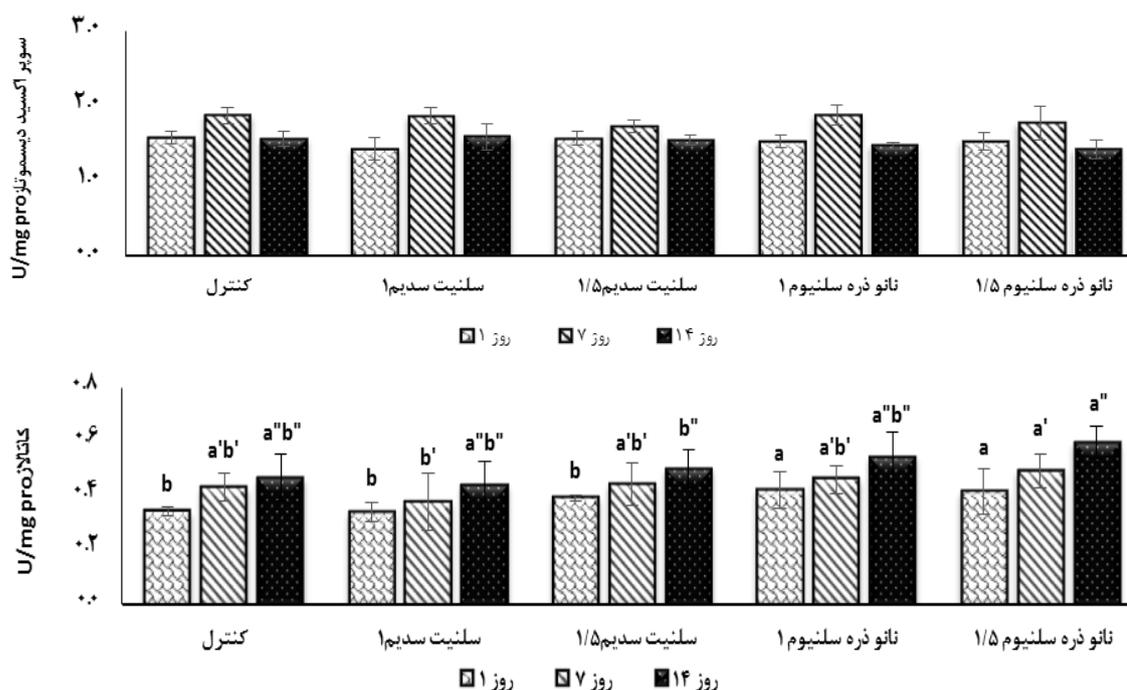
سدیم با غلظت ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم (Nmol/mg)
 سدیم در روز هفتم (۳/۹۵±۰/۲۰ U/mg pro) و کمترین
 میزان آن مربوط به تیمار کنترل (۱/۹۵±۰/۲۵ pro
 U/mg) بود. بیشترین مقدار محتوای مالون دی
 آلدئید در کبد ماهیان شانک زرد باله در تیمار سلنیت
 سدیم با غلظت ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم (Nmol/mg)
 در هفته اول بعد از در معرض گذاری
 بود. مقادیر محتوای MDA در تیمارهای تغذیه شده با
 سلنیت سدیم در روز اول با اختلاف معنی دار از سایر
 تیمارها بالاتر بود (p<۰/۰۵).

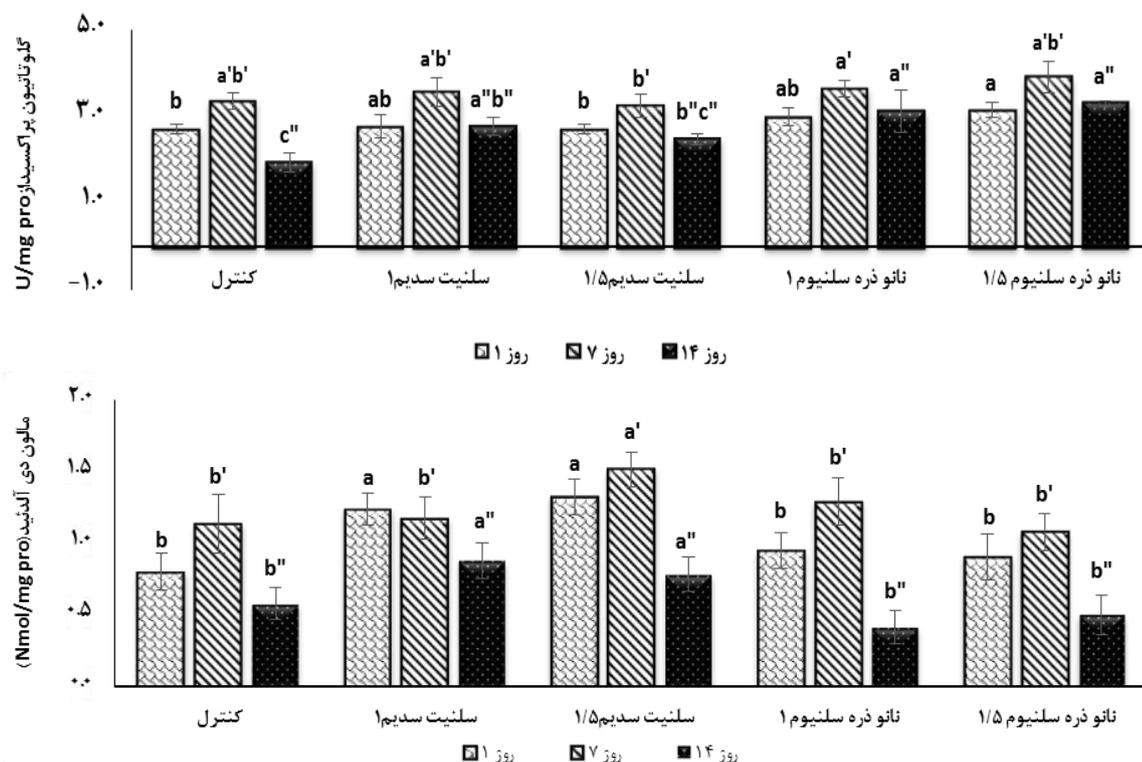
بیشترین میزان فعالیت این آنزیم مربوط به تیمار نانوذره
 سلنیوم در روز هفتم (۳/۹۵±۰/۲۰ U/mg pro) و کمترین
 میزان آن مربوط به تیمار کنترل (۱/۹۵±۰/۲۵ pro
 U/mg) بود. بیشترین مقدار محتوای مالون دی
 آلدئید در کبد ماهیان شانک زرد باله در تیمار سلنیت
 سدیم با غلظت ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم (Nmol/mg)
 در هفته اول بعد از در معرض گذاری
 بود. مقادیر محتوای MDA در تیمارهای تغذیه شده با
 سلنیت سدیم در روز اول با اختلاف معنی دار از سایر
 تیمارها بالاتر بود (p<۰/۰۵).

جدول ۲: مقادیر سلنیوم، پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت در عضله ماهیان شانک زرد باله تغذیه شده با سطوح مختلف سلنیت سدیم و نانو ذره سلنیوم

Table 2: The amounts of selenium, protein, fat, ash and moisture in the muscle of the yellowfin porgy (*Acanthopagrus latus*) fed with different levels of sodium selenite and selenium nanoparticles

پارامترها	کنترل	سلنیت سدیم (۱mg/kg)	سلنیت سدیم (۱/۵ mg/kg)	نانو ذره سلنیوم (۱mg/kg)	نانو ذره سلنیوم (۱/۵ mg/kg)
سلنیوم (mg/kg)	۰/۴۱±۰/۰۳c	۰/۵۲±۰/۰۲b	۰/۵۴±۰/۰۳b	۱/۰۱±۰/۰۲a	۰/۹۵±۰/۰۲a
پروتئین (%)	۲۰/۱۴±۰/۱۶	۲۰/۱۶±۰/۲۲	۲۰/۳۹±۰/۲۹	۲۰/۴۵±۰/۲۵	۲۰/۴۷±۰/۲۱
چربی (%)	۱/۶۴±۰/۲۰	۲/۱۶±۰/۲۲	۱/۹۲±۰/۲۱	۲/۱۶±۰/۱۵	۲/۱۴±۰/۱۲
خاکستر (%)	۱/۳۸±۰/۰۷	۱/۴۲±۰/۰۵	۱/۴۹±۰/۰۷	۱/۵۴±۰/۰۷	۱/۵۲±۰/۱۰
رطوبت (%)	۷۵/۵۳±۰/۲۲	۷۵/۶۷±۰/۳۱	۷۵/۲۸±۰/۱۸	۷۴/۴۵±۰/۲۵	۷۵/۲۴±۰/۱۲



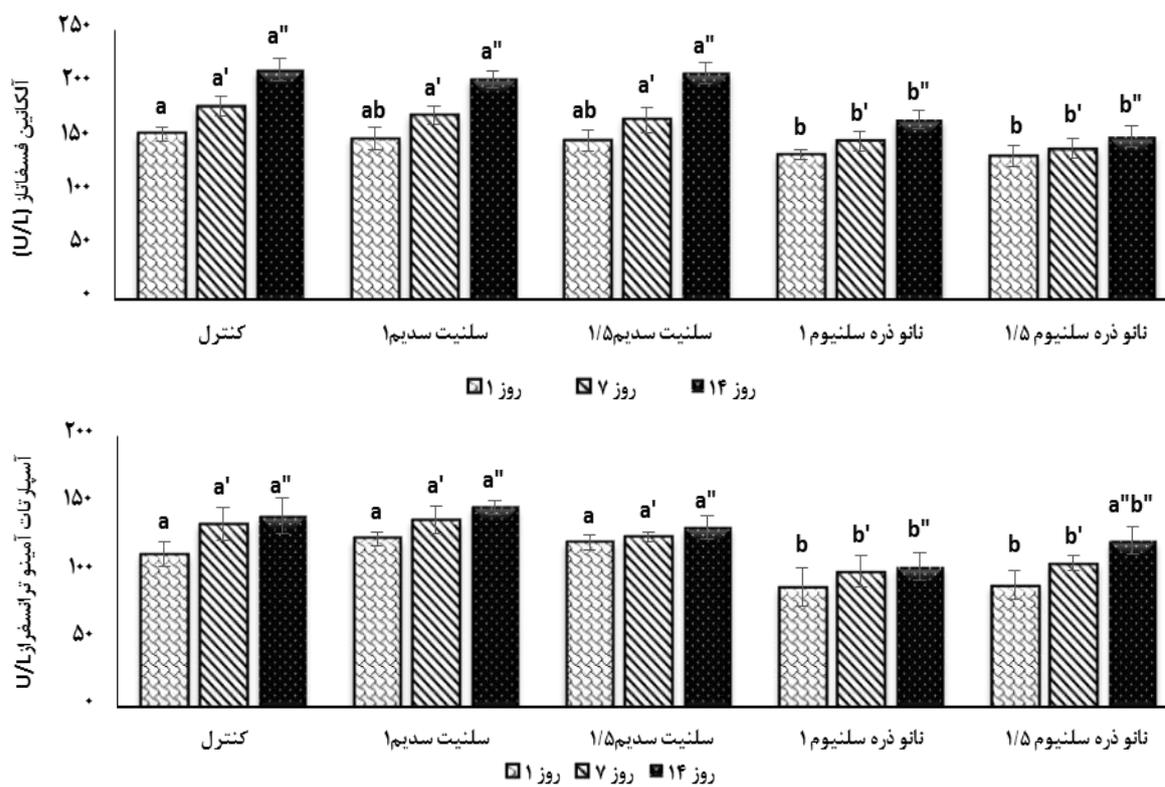


شکل ۱: فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتاتیون پراکسیداز و محتوای مالون دی آلدئید در کبد در روزهای یک، هفت و چهارده پس از مواجهه با کلرید جیوه. حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار گروه‌های آزمایشی در تیمارهای مختلف می‌باشد. حروف کوچک بدون علامت نشان دهنده روز یک، علامت ' روز هفت و علامت '' روز چهاردهم نمونه برداری می‌باشد.

Figure 1: Activity of SOD, CAT, GPX and MDA on days 1, 7 and 14 after exposure to mercury. Different lowercase letters indicate significant differences between experimental groups in different treatments. Unsigned small letters indicate day 1, sign 'day 7 and sign '' on the 14 day of sampling.

بود ($p < 0.05$) و بیشترین میزان سلیوم در بافت عضله، در تیمار نانو ذره سلیوم اندازه‌گیری شد (جدول ۲). محتوای ترکیب بیوشیمیایی تقریبی بافت ماهیچه (رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر) در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار نداشت ($p > 0.05$). دامنه تغییرات رطوبت عضله ۷۴/۲۸-۷۵/۶۷ درصد، میزان پروتئین ۲۰/۴۷-۲۰/۱۴ درصد، چربی عضله ۱/۶۴-۲/۱۶ درصد و خاکستر ۱/۳۸-۱/۵۴ درصد بود (جدول ۲).

به طور کلی، روند تغییرات فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز، آلکانین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز در طول دوره در معرض گذاری افزایشی بود و بیشترین میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (۲۳/۱۲ U/L)، آلکانین فسفاتاز ۲۱۴/۷۱ U/L و آسپارات آمینوترانسفراز ۱۴۷/۸۱ U/L در روز چهاردهم بود (شکل ۲). مقادیر سلیوم اندازه‌گیری شده در هر دو تیمار نانو ذره و سلیوم سدیم با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری



شکل ۲: فعالیت آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز، آلکانین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز در سرم در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ پس از مواجهه با جیوه. حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار گروه های آزمایشی در تیمارهای مختلف می باشد. حروف کوچک بدون علامت نشان دهنده روز یک، علامت 'روز هفت و علامت 'روز چهاردهم نمونه برداری می باشد.

Figure 2: Activity of ALT, ALP and AST on days 1, 7 and 14 after exposure to mercury. Different lowercase letters indicate significant differences between experimental groups in different treatments. Unsigned small letters indicate day 1, sign 'day 7 and sign '' on the 14 day of sampling.

بحث

سلنیوم یک عنصر کمیاب و ضروری است که بر رشد و عملکرد فیزیولوژیک ارگانیسم های مختلف (Poletini *et al.*, 2015) از جمله ماهی تاثیرگذار می باشد و تعداد زیادی از مطالعات نقش محافظتی سلنیوم را در برابر سمیت فلزات، در سطح حیوانات و نیز در سلول ها گزارش کرده اند (Khan *et al.*, 2016).

زمانی که ماهیان دریایی در معرض جیوه قرار می گیرند، جیوه در بافت کبد تجمع می یابد و متعاقباً منجر به کاهش عملکرد کبد سوخت و ساز بدن، تغییر رفتار و در نهایت، مرگ می شود (O'Bryhim *et al.*, 2017). در مقابل این وضعیت، آنزیم های آنتی اکسیدانی بدن نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز فعال می گردند (Linhua *et al.*,

2009). آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز از آنزیم های کلیدی در سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در رابطه با تبدیل رادیکال های آزاد به H_2O_2 آب و اکسیژن می باشند. این آنزیم ها به عنوان اولین سد دفاعی در مقابله با سمیت استرس اکسیداتیو در سطح سلولی می باشند (Fang *et al.*, 2002).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز در کبد پس از در معرض گذاری ماهیان شانک زرد باله با کلرید جیوه افزایش داشت که این افزایش می تواند در اثر تولید بیش از حد گونه های فعال اکسیژن متعاقب مواجهه با کلرید جیوه باشد که در نهایت سبب افزایش تولید این آنزیم ها برای مقابله با استرس اکسیداتیو ایجاد شده باشد.

تیلایپا (Neamat-Allah *et al.*, 2019) گردیده است که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. سلنیوم، به عنوان یکی از اجزاء سلنوپروتئین‌ها، سبب عملکرد بهتر متابولیک در جلوگیری از آسیب اکسیداتیو به بافت‌های بدن می‌شود. فراهمی زیستی سلنیوم در اشکال مختلف آن متفاوت است (Finley, 2006) و فرم جدید نانوذره سلنیوم سبب بهبود فراهمی زیستی سلنیوم می‌شود (Zhang *et al.*, 2008; Zhou and Wang, 2011). استفاده از نانوذره سلنیوم به دلیل فراهمی زیستی بالا و سمیت کمتر بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Shi *et al.*, 2010; Hu *et al.*, 2012; Rezvanfar *et al.*, 2013). ذرات نانومتری از ویژگی‌های جدیدی مانند فعالیت سطح بالا، سطح ویژه خاص، بازده کاتالیزوری بالا برخوردارند (Wang *et al.*, 2007) و دارای ویژگی‌های بالقوه وابسته به اندازه در مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشند و ذرات با اندازه کوچکتر اثر بخشی بیشتری دارند (Huang *et al.*, 2003).

کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در کبد در هر دو تیمار نانوذره سلنیوم نشان‌دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپید و کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد. نتایج سایر مطالعات در ماهی کپور تغذیه شده با سلنیوم با مطالعه حاضر مشابهت داشت (Ashouri *et al.*, 2015; Safarei *et al.*, 2016). نتایج حاصل از مطالعه Durigon و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که افزودن سلنیت سدیم بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید در ماهی تیلایپا (*O. niloticus* L.) اثرگذار بوده و این نشانگر اثرات آنتی‌اکسیدانی سلنیم است.

در این مطالعه افزودن شکل معدنی سلنیوم به جیره ماهی شانک زرد باله سبب افزایش تجمع سلنیوم در بافت ماهیچه شد. افزودن سلنیت سدیم به جیره پایه فاقد سلنیوم ماهی طلائی (*Carassius auratus gibelio*) سبب افزایش غلظت سلنیوم در بافت ماهیچه نسبت به گروه شاهد شده است (Wang *et al.*, 2007). همچنین در باس راه راه هیبریدی افزودن سلنیوم صرف نظر از منشأ آلی یا معدنی باعث تجمع بیشتر سلنیوم در بافت عضله شده است (Cotter *et al.*, 2008) که با نتایج

بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای تغذیه شده با نانو ذره سلنیوم مشاهده شد. میزان فعالیت کاتالاز و آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در تیمار تغذیه شده با نانو ذره سلنیوم با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بیشتر از سایر تیمارها بود و عملکرد بهتری را در مواجهه با جیوه نشان داد. افزایش در فعالیت کاتالاز در ماهیان شانک زرد باله می‌تواند نشانگر پاسخ این آنزیم در برابر افزایش رادیکال‌های آزاد و کاهش روند فعالیت این آنزیم نشان‌دهنده مهار شدن این آنزیم با رادیکال‌های آزاد و شکست سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی باشد.

نتایج مشابهی در افزایش فعالیت‌های کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز در ماهیان تغذیه شده با نانوذرات سلنیوم مشاهده شده است که از جمله می‌توان به مطالعات Dawood و همکاران (۲۰۲۰) بر ماهی تیلایپا نیل (*Oreochromis niloticus*)، مطالعه Saleh و همکاران (۲۰۱۵) بر ماهی سی بریم (*Sparus aurata*) و مطالعه Mansour و همکاران (۲۰۱۷) بر میس ماهی قهوه‌ای (*Argyrosomus regius*) اشاره کرد. علاوه بر آن، نانو سلنیوم فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز، توانایی آنتی‌اکسیدانی و استقامت در مقابل استرس‌های اکسیداتیو را در گونه‌های ماهی مانند *yellowtail kingfish* در مطالعه Le و همکاران (۲۰۱۴) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مطالعات Ashouri (۲۰۱۵) و Saffari و همکاران (۲۰۱۶) تقویت کرده است. همچنین در مطالعه Pacini و همکاران (۲۰۱۳) مکمل نمودن جیره با سلنیوم سبب تقویت فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز و مانع از پراکسیداسیون لیپیدها در دو بافت کبد و کلیه ماهیان خاویباری (*Acipenser baeri*) شده و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در کبد القا شده است. علاوه بر آن، در مطالعه Khan و همکاران (۲۰۱۶) مکمل غذایی نانو سلنیوم را مسبب افزایش فعالیت GSH-Px در بافت‌های کبدی و عضلانی در ماهی نوجوان ماهسیر (*Tor putitora*) دانسته‌اند. استفاده از فرم نانو ذره در رژیم غذایی ماهی فراهمی زیستی بیشتر، موجب سمیت کمتر و بهبود سیستم ایمنی و دفاع آنتی‌اکسیدانی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Kohshahi *et al.*, 2019) و ماهی

مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت. افزودن سلنیت سدیم به جیره غذایی ماهی باله زرد (*Seriola lalandi*) سبب افزایش غلظت سلنیوم در بافت عضله نشده است که با مطالعه حاضر مطابقت ندارد (Le et al., 2014). به‌جز وابستگی به گونه، جذب منابع مختلف سلنیوم می‌تواند بر اساس تفاوت در سایر مواد تشکیل‌دهنده خوراک در رژیم غذایی پایه فرموله شده، متفاوت باشد. تعامل بین مواد معدنی و سایر مواد غذایی در رژیم غذایی ماهی ممکن است جذب سلنیت را کاهش دهد. میزان تجمع سلنیوم در بافت ماهیچه در تیمارهای نانو ذره در ماهی شانک زرد باله در این مطالعه نسبت به تیمار کنترل و تیمارهای سلنیت سدیم با اختلاف معنی‌دار بیشتر بود. مطالعه Saffari و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان داد که در مقایسه بین شکل معدنی و نانو ذره، میزان تجمع سلنیوم در تیمارهای نانو ذره بیشتر از شکل معدنی آن بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. میزان غلظت سلنیوم در عضله ماهی باله زرد (*S. lalandi*) تغذیه شده با جیره حاوی سلنیوم در شرایط آزمایشگاهی ۰/۶۷-۰/۳۴ میلی‌گرم در گیلوگرم بود و بالاتر از ماهیان پرورش یافته در محیط طبیعی بود (Le et al., 2013). افزایش غلظت سلنیوم در بافت ماهیچه در مطالعات (Gatlin and Wilson, 1984) بر گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) و همکاران (۲۰۱۱) بر ماهی طلایی (*C. auratus gibelio*) که با جیره غذایی حاوی سلنیوم افزوده تغذیه شده بودند نیز مشاهده شد که با نتایج مطالعه اخیر مطابقت داشت. Zhou و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند، به‌نظر می‌رسد که نانوذرات سلنیوم در افزایش میزان سلنیوم در بافت عضله نسبت به سایر اشکال سلنیوم مؤثرتر می‌باشد. همچنین به‌نظر می‌رسد، نانوذرات سلنیوم در افزایش میزان سلنیوم در بافت عضله نسبت به سایر اشکال سلنیوم مؤثرتر می‌باشد.

عوامل استرس‌زای محیطی از جمله، وجود فلزات سنگین در محیط باعث تغییر پارامترهای بیوشیمیایی از جمله آنزیم‌ها در بدن جانوران می‌شوند. آسیب بافت و تغییر پروفایل آنزیمی در کبد در اثر غلظت تحت کشنده فلزات سنگین در ماهیان مختلف گزارش شده است (Gabriel et

al., 2012). پس از در معرض‌گذاری ماهیان با کلرید جیوه فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز تحت تاثیر فلز جیوه در گروه‌های تغذیه شده با سلنیت سدیم نسبت به گروه‌های تغذیه شده با نانو ذره افزایش بیشتری داشت و مقادیر آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در تیمار نانو ذره با اختلاف معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$). می‌توان افزایش آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز در سرم را ناشی از فشار متابولیک به بافت در جهت انتقال مواد تولیدی در کبد و از سوی، افزایش آنزیم‌های کبدی سرم را نشان‌دهنده نقص در عملکرد کبد عنوان کردند (Obomanu et al., 2009; Yu et al., 2010; Kashkooli et al., 2011). افزایش میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز در شرایط قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین به واکنش تطبیقی جهت کاهش سمیت فلزات نسبت داده شده است. افزایش میزان آنزیم تحت تاثیر کادمیوم در کبد ماهی (*Oreochromis mossambicus*)، ماهی سفیدک سیستانی، کپور معمولی و تیلاپیا نیز گزارش شده است (خندان بارانی و میری، ۱۳۹۶). آنزیم‌های ترانس‌آمیناز نقش مهمی در تولید واسطه‌های چرخه کربس دارند که آلاینده‌ها با اثر بر ساختار و عملکرد آنزیم‌های این چرخه و کاهش آنها، منجر به افزایش میزان آنزیم‌های ترانس‌آمیناز برای برطرف شدن نقص ایجاد شده می‌شوند (Health, 1995). به‌طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت این آنزیم‌ها به علت وجود کلرید جیوه در بافت‌های مختلف ماهی شانک زرد باله تغییر می‌کند و با تغییر سطوح طبیعی، این آنزیم‌ها در نهایت سلامت ماهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. همچنین استفاده از سلنیوم به شکل نانو ذره باعث کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در خون می‌شود، ولی فرم معدنی سلنیوم اثر مثبتی بر کاهش میزان رهاسازی آنزیم‌های کبدی نداشته است.

مجموعه‌ای از شرایط تغذیه‌ای از جمله ترکیب جیره غذایی، مقدار غذادهی و درصد غذادهی روزانه بر ترکیبات بیوشیمیایی لاشه مؤثر می‌باشد. ترکیبات بیوشیمیایی در ماهیان بستگی به فاکتورهای درونی و بیرونی دارد

عضله نشان داد که افزودن سلنیت سدیم و نانو ذره، اختلاف معنی‌داری در این ترکیبات ایجاد نکرده است.

منابع

بابادی، ص. صفاهیه، ع. نبوی، س.م.ب.، غانمی، ک. رونق، م.ت.، ۱۳۹۴. نحوه توزیع جیوه در بافت های مختلف ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) خور موسی، خلیج فارس. مجله منابع طبیعی ایران، ۶۸ (۸): ۲۷-۳۹.

خندان بارانی، ه. و میری، م.، ۱۳۹۶. تغییرات سطوح آنزیم‌های متابولیک تحت تاثیر فلزهای سنگین روی و کادمیوم در ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*). مجله بوم‌شناسی آبیان، ۶ (۴): ۳۱-۵۹.

عسکری ساری، ا.، جواهری، م.، محجوب، ث. و ولایت زاده، م.، ۱۳۹۴. میزان فلزات سنگین (جیوه، کادمیوم، سرب) در عضله ماهی شوریده در بنادر صیادی آبادان و بندرعباس. مجله علمی شیلات، ۲۱ (۳): ۹۹-۱۰۶.

Abdel-Tawwab, M., Mousa, M.A. and Abbass, F.E., 2007. Growth performance and physiological response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.) fed organic selenium prior to the exposure to environmental copper toxicity. *Aquaculture*, 272(1-4): 335-345. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.09.004.

Acerete, L., Balasch, J.C., Espinosa, E., Josa, A. and Tort, L., 2004. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture*, 237(1-4): 167-178. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.03.018.

(Arshad et al., 2008; Ticto, 2012). در مطالعه حاضر رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر ماهیچه ماهیان بین تیمار شاهد با تیمارهای نانو ذره و سلنیت سدیم اختلاف معنی‌دار نشان نداد. براین اساس می‌توان بیان نمود که ترکیبات بیوشیمیایی ماهیچه تحت‌تأثیر افزودن سلنیوم به جیره غذایی نبود. در تحقیق Liu و همکاران (۲۰۱۰) بر ماهی سوکلا (*Rachycentron canadum*)، افزایش میزان سلنیوم جیره سبب بهبود میزان پروتئین و چربی لاشه گردید که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی نداشت. همچنین استفاده از اشکال مختلف سلنیوم آلی و معدنی مانند سلنومتیونین (Lin and Shiau, 2005; Wang and Han et al., 2011)، مخمر سلنیوم (Abdel-Tawwab et al., 1997)، سلنوپلکس (Lovell, 2007)، سلنیت سدیم (Hao et al., 2014) و نانو ذره سلنیوم (Ashouri et al., 2015; Safarei et al., 2016) به طور گسترده در گونه‌های مختلف ماهی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. افزودن سلنیوم در جیره غذایی ماهی باس راه راه (*Morone saxatilis*) باعث افزایش غلظت سلنیوم در بافت ماهیچه‌ها و بالا رفتن کیفیت آن برای مصرف‌کننده شده است (Cotter et al., 2008).

استفاده از ذرات نانو در تغذیه با توجه به ویژگی‌های جدید، از جمله سازگاری شیمیایی بالاتر، فعالیت زیستی، ایمنی در مقایسه با سایر انواع سلنیوم بسیار مورد توجه قابل گرفته است (Dawood et al., 2020; Al-Deriny et al., 2020). به طور کلی، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از نانو سلنیوم باعث عملکرد بهتر در افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز بود و سبب کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید گردید. علاوه‌برآن، نانو ذره سبب افزایش بیشتر در محتوای سلنیوم گوشت در مقایسه با سلنیت سدیم شده است. تجمع بیشتر سلنیوم علاوه بر کمک به حفظ سیستم آنتی‌اکسیدانی، برای تغذیه انسان نیز حائز اهمیت است (Cotter et al., 2008) و افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی می‌تواند گوشت ماهی را به یک ماده غذایی با کاربرد بهتر تبدیل کند. همچنین بررسی ترکیبات بیوشیمیایی بافت

- Al-Deriny, S.H., Dawood, M.A., Elbially, Z.I., El-Tras, W.F. and Mohamed, R.A., 2020.** Selenium Nanoparticles and Spirulina Alleviate Growth Performance, Hemato-Biochemical, Immune-Related Genes, and Heat Shock Protein in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biological Trace Element Research*, 198(2). DOI: 10.1007/s12011-020-02096-w.
- Anual, Z.F., Maher, W., Krikowa, F., Hakim, L., Ahmad, N.I. and Foster, S., 2018.** Mercury and risk assessment from consumption of crustaceans, cephalopods and fish from West Peninsular Malaysia. *Microchemical Journal*, 140: 214-221. DOI: 10.1016/j.microc.2018.04.024.
- Arshad, A., Jimmy, A., Nurulamin, S.M., Japarsidik, B. and Harah, Z.M., 2008.** Length-weight and length-length relationships of five fish species collected from seagrass beds of the Sungai Pulai estuary, Peninsular Malaysia. *Journal of Applied Ichthyology*, 24(3): 328-329. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2007.01026.x.
- 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.
- Belzile, N., Chen, Y.W., Gunn, J.M., Tong, J., Alarie, Y., Delonchamp, T. and Lang, C.Y., 2006.** The effect of selenium on mercury assimilation by freshwater organisms. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 63(1): 1-10. DOI: 10.1139/f05-202.
- Buege, J.A. and Aust, S.D., 1978.** Microsomal lipid peroxidation methods enzymol, 52: 302-310. Find this article online. DOI: 10.1016/S0076-6879(78)52032-6.
- Burk, R.F. and Hill, K.E., 2009.** Selenoprotein P—expression, functions, and roles in mammals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1790(11): 1441-1447. DOI: 10.1016/j.bbagen.2009.03.026.
- Cotter, P.A., Craig, S.R. and McLean, E., 2008.** Hyper accumulation of selenium in hybrid striped bass: a functional food for aquaculture. *Aquaculture Nutrition*, 14(3): 215-222. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2007.00520.x.
- Dawood, M.A., Zommara, M., Eweedah, N.M. and Helal, A.I., 2020.** The evaluation of growth performance, blood health, oxidative status and immune-related gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed dietary nanoselenium spheres produced by lactic acid bacteria. *Aquaculture*, 515: 734571. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734571
- Durigon, E.G., Kunz, D.F., Peixoto, N.C., Uczay, J. and Lazzari, R., 2018.** Diet selenium improves the antioxidant defense system of juveniles Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Brazilian*

- Journal of Biology*, 79: 527-532. DOI: 10.1590/1519-6984.187760.
- Elia, A.C., Prearo, M., Pacini, N., Dörr, A.J.M. and Abete, M.C., 2011.** Effects of selenium diets on growth, accumulation and antioxidant response in juvenile carp. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(2): 166-173. DOI:10.1016/j.ecoenv.2010.04.006.
- Fang, Y.Z., Yang, S. and Wu, G., 2002.** Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), pp.872-879. DOI.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4.
- Finley, J.W., 2006.** Bioavailability of selenium from foods. *Nutrition Reviews*, 64(3): 146-151. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2006.tb00198.x.
- Fontagné, S., Lataillade, E., Breque, J. and Kaushik, S., 2008.** Lipid peroxidative stress and antioxidant defence status during ontogeny of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *British Journal of Nutrition*, 100(1): 102-111. DOI.org/10.1017/S0007114507876215
- Fracalossi, D.M., Cyrino, J.E.P. and Eurico, P., 2013.** Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira (375 p.). Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática/AQUABIO, Florianópolis, Santa Catarina, BR.
- Gabriel, U.U., Akinrotimi, O.A. and Ariweriokuma, V.S., 2012.** Changes in metabolic enzymes activities in selected organs and tissue of *Clarias gariepinus* exposed to cypermethrin. *Journal of Chemical Engineering*, 1(1): 25-30.
- Gatlin III, D.M. and Wilson, R.P., 1984.** Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. *The Journal of Nutrition*, 114(3): 627-633. DOI: 10.1093/jn/116.6.1061.
- Gonzalez-Raymat, H., Liu, G., Liriano, C., Li, Y., Yin, Y., Shi, J., Jiang, G. and Cai, Y., 2017.** Elemental mercury: Its unique properties affect its behavior and fate in the environment. *Environmental Pollution*, 229: 69-86. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.04.101.
- Goth, L., 1991.** A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*, 196(2-3): 143-151. DOI: 10.1016/0009-8981(91)90067-M.
- Han, D., Xie, S., Liu, M., Xiao, X., Liu, H., Zhu, X. and Yang, Y. 2011.** The effects of dietary selenium on growth performances, oxidative stress and tissue selenium concentration of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition*, 17(3): e741-e749. DOI: org/10.1111/j.1365-2095.2010.00841.x.
- Hao, X., Ling, Q. and Hong, F., 2014.** Effects of dietary selenium on the pathological changes and oxidative stress in loach (*Paramisgurnus dabryanus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 40(5): 1313-1323. DOI: 10.1007/s10695-014-9926-7.
- Health, A.G., 1995.** Water pollution and fish physiology, vol. 2. CRC Lewis publishers, Boca Raton, 340p.

- Hu, C.H., Li, Y.L., Xiong, L., Zhang, H.M., Song, J. and Xia, M.S., 2012.** Comparative effects of nano elemental selenium and sodium selenite on selenium retention in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 177(3-4): 204-210. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2012.08.010.
- Huang, B., Zhang, J., Hou, J. and Chen, C., 2003.** Free radical scavenging efficiency of Nano-Se in vitro. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(7): 805-813. DOI: 10.1016/s0891-5849(03)00428-3.
- Jeevanaraj, P., Hashim, Z., Elias, S.M. and Aris, A.Z., 2016.** Mercury accumulation in marine fish most favoured by Malaysian women, the predictors and the potential health risk. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(23): 23714-23729. DOI: 10.1007/s11356-016-7402-x
- Kashkooli, O.B., Dorcheh, E.E., Mahboobi-Soofiani, N. and Samie, A., 2011.** Long-term effects of propolis on serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(3): 315-318. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2010.10.014
- 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(5): 704-712. DOI: 10.3906/zoo-1510-5
- Kohshahi, A.J., Sourinejad, I., Sarkheil, M. and Johari, S.A., 2019.** Dietary cosupplementation with curcumin and different selenium sources (nanoparticulate, organic, and inorganic selenium): influence on growth performance, body composition, immune responses, and glutathione peroxidase activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 45(2): 793-804. DOI: 10.1007/s10695-018-0585-y.
- Lall, S.P., 2000.** Nutrition and health of fish. *Avances en nutrición acuícola*: 13-23.
- Le, K. and Fotedar, R., 2013.** Dietary selenium requirement of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). *Agricultural Sciences*, 4(6A), pp.68-75. DOI:10.4236/as.2013.46A011
- Le, K.T. and Fotedar, R., 2014.** Bioavailability of selenium from different dietary sources in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). *Aquaculture*, 420, pp.57-62. DOI:org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.034
- Le, K.T., Dao, T.T., Fotedar, R. and Partridge, G.J., 2014.** Effects of variation in dietary contents of selenium and vitamin E on growth and physiological and haematological responses of yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*. *Aquaculture International*, 22(2): 435-446. DOI: 10.1007/s10499-013-9651-8.
- Lin, Y.H. and Shiau, S.Y., 2005.** Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture*, 250(1-2): 356-363. DOI:10.1016/j.aquaculture.2005.03.022

- Linhua, H.A.O., Zhenyu, W.A.N.G. and Baoshan, X.I.N.G., 2009.** Effect of sub-acute exposure to TiO₂ nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Environmental Sciences*, 21(10), pp.1459-1466. DOI:org/10.1016/S1001-0742(08)62440-7
- Liu, K., Wang, X.J., Ai, Q., Mai, K. and Zhang, W., 2010.** Dietary selenium requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L. *Aquaculture Research*, 41(10): e594-e601. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2010.02562.x
- Liu, Y., Buchanan, S., Anderson, H.A., Xiao, Z., Persky, V. and Turyk, M.E., 2018.** Association of methylmercury intake from seafood consumption and blood mercury level among the Asian and Non-Asian populations in the United States. *Environmental Research*, 160: 212-222. DOI: 10.1016/j.envres.2017.09.031.
- Mansour, A.T.E., Goda, A.A., Omar, E.A., Khalil, H.S. and Esteban, M.Á., 2017.** Dietary supplementation of organic selenium improves growth, survival, antioxidant and immune status of meagre, *Argyrosomus regius*, juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, 68: 516-524. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.07.060
- McCord, J.M. and Fridovich, I., 1969.** Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, 244(22): 6049-6055. Doi.org/10.1016/S0021-9258(18)63504-5
- Naderi, M., Keyvanshokoh, S., Salati, A.P. and Ghaedi, A., 2017.** Proteomic analysis of liver tissue from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under high rearing density after administration of dietary vitamin E and selenium nanoparticles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 22: 10-19. DOI: 10.1016/j.cbd.2017.02.001
- Neamat-Allah, A.N., Mahmoud, E.A. and Abd El Hakim, Y., 2019.** Efficacy of dietary Nano-selenium on growth, immune response, antioxidant, transcriptomic profile and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* against *Streptococcus iniae* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 94, pp.280-287. DOI.org/10.1016/j.fsi.2019.09.019
- Obomanu, F.G., Gabriel, U.U., Edori, O.S. and Emetonjor, J.N., 2009.** Biomarker enzymes in muscle tissue and organs of *Clarias gariepinus* after intramuscular injection with aqueous extracts of *Lepidagathis alopecuroides* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(12): 995-1001. DOI: 10.5897/JMPR.9000309.
- O'Bryhim, J.R., Adams, D.H., Spaet, J.L., Mills, G. and Lance, S.L., 2017.** Relationships of mercury concentrations across tissue types, muscle regions and fins for two shark species. *Environmental Pollution*, 223: 323-333. Doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.029
- Polettini, A.E., Fortaner, S., Farina, M., Groppi, F., Manenti, S., Libralato, G. and Sabbioni, E., 2015.** Uptake from

- water, internal distribution and bioaccumulation of selenium in *Scenedesmus obliquus*, *Unio mancus* and *Rattus norvegicus*: part A. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 94(1): 84-89. DOI: 10.1007/s00128-014-1407-2.
- Rezvanfar, M.A., Rezvanfar, M.A., Shahverdi, A.R., Ahmadi, A., Baeri, M., Mohammadirad, A. and Abdollahi, M., 2013.** Protection of cisplatin-induced spermatotoxicity, DNA damage and chromatin abnormality by selenium nanoparticles. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 266(3): 356-365. DOI: 10.1016/j.taap.2012.11.025.
- Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G. and Hoekstra, W., 1973.** Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179(4073): 588-590. DOI:10.1126/science.179.4073.588
- Sabzi, E., Mohammadiazarm, H. and Salati, A.P., 2017.** Effect of dietary L-carnitine and lipid levels on growth performance, blood biochemical parameters and antioxidant status in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 480: 89–93. DOI:10.1016/j.aquaculture.2017.08.013
- Saffari, S., Keyvanshokoh, S., Zakeri, M., Johari, S. and Pasha-Zanoosi, H., 2016.** Effects of different dietary selenium sources (sodium selenite, selenomethionine and nanoselenium) on growth performance, muscle composition, blood enzymes and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition*, 23(3): 611-617. DOI: 10.1111/anu.12428
- Saleh, R., Betancor, M.B., Roo, J., Benítez-Dorta, V., Zamorano, M.J., Bell, J.G. and Izquierdo, M., 2015.** Effect of krill phospholipids versus soybean lecithin in microdiets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae on molecular markers of antioxidative metabolism and bone development. *Aquaculture Nutrition*, 21(4): 474-488. DOI:10.1111/anu.12177
- Selin, N.E., 2009.** Global biogeochemical cycling of mercury: a review. *Annual Review of Environment and Resources*, 34: 43-63. DOI:10.1146/annurev.environ.051308.084314
- Shi, L.G., Yang, R.J., Yue, W.B., Xun, W.J., Zhang, C.X., Ren, Y.S., Shi, L. and Lei, F.L., 2010.** Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. *Animal Reproduction Science*, 118(2-4): 248-254. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2009.10.003
- Ticto, P., 2012.** Relationships between body size, weight, condition and fecundity of the threatened fish *Puntius ticto* (Hamilton, 1822) in the Ganges River, Northwestern Bangladesh. *Sains Malaysiana*, 41(7): 803-814.
- Wang, C. and Lovell, R.T., 1997.** Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium

- selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 152(1-4), pp.223-234. DOI.org/10.1016/S0044-8486(96)01523-2
- Wang, Y., Han, J., Li, W. and Xu, Z., 2007.** Effect of different selenium source on growth performances, glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Animal Feed Science and Technology*, 134(3-4): 243-251. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2006.12.007
- Yu, J.H., Han, J.J. and Park, S.W., 2010.** Haematological and biochemical alterations in Korean catfish, *Silurus asotus*, experimentally infected with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Research*, 41(2): 295-302. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02331.x
- Zaza, S., de Balogh, K., Palmery, M., Pastorelli, A.A. and Stacchini, P., 2015.** Human exposure in Italy to lead, cadmium and mercury through fish and seafood product consumption from Eastern Central Atlantic Fishing Area. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40: 148-153. DOI:10.1016/j.jfca.2015.01.007
- Zhang, J., Wang, X. and Xu, T., 2008.** Elemental selenium at nano size (Nano-Se) as a potential chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with se-methylselenocysteine in mice. *Toxicological Sciences*, 101(1): 22-31. DOI:10.1093/toxsci/kfm221
- Zheng, N., Wang, S., Dong, W., Hua, X., Li, Y., Song, X., Chu, Q., Hou, S. and Li, Y., 2019.** The toxicological effects of mercury exposure in marine fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 102(5): 714-720. DOI: 10.1007/s00128-019-02593-2
- 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(1-2): 78-81. DOI: 10.1016/j.aquaculture.03.007
- Zwolak, I., 2020.** The role of selenium in arsenic and cadmium toxicity: an updated review of scientific literature. *Biological Trace Element Research*, 193(1): 44-63. DOI:10.1007/s12011-019-01691-w.

Effect of sodium selenite and selenium nanoparticles on biochemical parameters of muscle, serum, antioxidant defense and exposure to mercury chloride in *Acanthopagrus latus*

Kianersi F.^{1*}; Safahieh A.R.²; Salamat N.²; Salati A.P.³; Houshmand H.¹

*Farahnaz.kianersi@gmail.com

1-The Institute of Aquaculture of the South of the country, The Institute of Fisheries Research of the country, The organization of research, Education and promotion of agriculture, Ahvaz, Khuzestan, Iran.

2-Department of Marine Biology, Faculty of Marine and Ocean Sciences, Khorramshahr University of Science and Technology, Khorramshahr, Khuzestan, Iran.

3-Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Khuzestan, Iran.

Abstract

Mercury causes oxidative stress in the body by producing oxygen free radicals and destroying antioxidant sources. The most important application of selenium is its role in the construction of antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase, the function of which is to eliminate free radicals and reactive oxygen species. The aim of this study was to investigate the antioxidant effect of selenium nanoparticles and sodium selenite on biochemical parameters and antioxidant defense in *Acanthopagrus latus* in the presence of mercury chloride. A total number of 300 fish (25±3 g) were randomly distributed in five groups according to diet: control, nanoSe and sodium selenite (1 and 1.5 mg/kg). Fish were fed with experimental diets for six weeks. They were then exposed to a sublethal dose of HgCl₂ for two weeks. At the end of the feeding period and after exposure, blood and liver samples were taken from all treatments and the activity of liver enzymes and antioxidants were measured. After six weeks of feeding the results showed that the form of selenium nanoparticles improved growth performance, increased the activity of antioxidant enzymes GPX and CAT and reduced the content of MDA, AST and ALT (p<0.05). The results showed that the form of selenium nanoparticles was more effective than the inorganic form of selenium during the period of exposure in increasing the activity of the antioxidant enzymes GPX and CAT. Decreased MDA content in the liver of fish fed selenium nanoparticles indicated a reduction in lipid peroxidation and a reduction in oxidative stress. The activity of ALT, AST and ALP enzymes increased more in the groups fed with selenium sodium than in the groups fed with nanoparticles (p<0.05). This study showed that the addition of selenium nanoparticles to the basic diet was more effective in terms of growth and antioxidant indices in yellowfin porgy (*A. latus*) after exposure to mercury chloride.

Keywords: Yellowfin porgy, Selenium nanoparticles, Sodium Selenite, Mercury

*Corresponding author