

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری

عنوان:

بررسی اثرات نانوذرات سلنیوم و آهن بر
میزان رشد، بازماندگی و ارتقاء عملکرد سیستم ایمنی
فیل ماهیان (*Huso huso*) پرورشی

مجری:

فروزان باقرزاده لاکانی

شماره ثبت

۶۴۹۴۲

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری

عنوان طرح/پروژه: بررسی اثرات نانوذرات سلنیوم و آهن بر میزان رشد، بازماندگی و ارتقاء عملکرد سیستم ایمنی
فیل ماهیان (*Huso huso*) پرورشی

کد مصوب: ۹۹۱۱۴۸-۹۸۰۰۱-۹۸-۰۱۱-۱۲-۳۲-۱۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: فروزان باقرزاده لاکانی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه‌ها و طرح‌های ملی و مشترک دارد): -

نام و نام خانوادگی مجری: فروزان باقرزاده لاکانی

نام و نام خانوادگی همکار(ان): علیرضا شناورماسوله، محمود محسنی، سهیل بازاری مقدم، ایوب یوسفی جوردهی،

مهدی معصوم زاده، جلیل جلیل پور رودکلی، مهدی علیزاده رودپشتی، ذبیح اله پزند، هوشنگ یگانه راسته

کناری، مجید پورصفرطبالوندانی، اسمعیل فرزانه بازقلعه، سجاد قاسمیان، مینا یکتای احمد گورابی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -

محل اجرا: استان گیلان

تاریخ شروع: ۱۳۹۹/۱۲/۰۱

مدت اجرا: ۲ سال

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۲

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، متحنی‌ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: بررسی اثرات نانوذرات سلنیوم و آهن بر میزان رشد،
بازماندگی و ارتقاء عملکرد سیستم ایمنی فیل ماهیان (*Huso huso*)
پرورشی

کد مصوب: ۹۹۱۱۴۸-۹۸۰۰۱-۰۱۱-۱۲-۳۲-۱۲

شماره ثبت (فروست): ۶۴۹۴۲ تاریخ: ۱۴۰۲/۱۲/۱

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم فروزان باقرزاده لاکانی دارای
مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته تکثیر و پرورش آبزیان
است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان در

تاریخ ۱۴۰۲/۱۱/۱۵ مورد ارزیابی و با رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد پژوهشکده مرکز ایستگاه

با سمت عضو هیئت علمی در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان

خاویاری مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده		۱
۱- مقدمه		۳
۱-۱- اهمیت پرورش ماهیان خاویاری		۳
۱-۱-۱- اهمیت پرورش فیل ماهی		۳
۲-۱- فناوری نانو		۴
۳-۱- اهمیت سلنیوم		۵
۴-۱- اهمیت آهن		۵
۶-۱- فرضیات تحقیق		۸
۷-۱- اهداف تحقیق		۸
۲- مرور منابع		۹
۱-۲- مروری بر مطالعات انجام شده در داخل کشور		۹
۲-۲- مروری بر مطالعات انجام شده در خارج کشور		۱۱
۳- مواد و روش ها		۱۴
۱-۳- نانوذرات مورد استفاده		۱۴
۱-۱-۳- نانوذرات سلنیوم		۱۴
۲-۱-۳- نانوذرات آهن		۱۵
۲-۳- ماهی و شرایط آزمایش		۱۶
۱-۲-۳- افزودن نانوذرات سلنیوم و آهن به جیره غذایی		۱۷
۲-۲-۳- پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب		۱۹
۳-۳- نمونه برداری ها و بررسی آزمایشگاهی		۱۹
۱-۳-۳- شاخص های رشد		۱۹
۲-۳-۳- تعیین مقاومت در برابر استرس کمبود اکسیژن		۲۰
۳-۳-۳- مطالعات خون شناسی و سرم شناسی		۲۱
۱-۳-۳-۳- مطالعات خون شناسی		۲۱
۲-۳-۳-۳- ارزیابی شاخص های بیوشیمیایی		۲۵
۴-۳-۳- شاخص های ایمنی		۲۵
۱-۴-۳-۳- اندازه گیری ایمنوگلوبولین M (IgM)		۲۵

- ۳-۳-۴-۲- اندازه گیری فعالیت لیزوزیم ۲۶
- ۳-۳-۴-۳- اندازه گیری فعالیت کمپلمان (ACH50) ۲۶
- ۳-۳-۵- اندازه گیری آنزیم های آنتی اکسیدان ۲۶
- ۳-۳-۶- اندازه گیری میزان تجمع سلنیوم و آهن در بافت های کبد و عضله ۲۶
- ۳-۳-۷- شمارش تعداد باکتری های روده ۲۷
- ۳-۳-۷-۱- روش آماده سازی محیط های کشت ۲۷
- ۳-۳-۷-۲- روش آماده سازی رقت های محلول روده ۲۸
- ۳-۳-۷-۳- روش انجام کشت اولیه ۲۸
- ۳-۳-۷-۴- کشت باکتریایی ۲۹
- ۳-۳-۸- مطالعات بافت شناسی کبد و روده ۲۹
- ۳-۳-۹- روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها ۳۰
- ۴- نتایج ۳۱
- ۴-۱- نتایج شاخص های رشد ۳۱
- ۴-۲- نتایج مطالعات خون شناسی و سرم شناسی ۳۲
- ۴-۲-۱- نتایج مطالعات خون شناسی ۳۲
- ۴-۲-۲- نتایج ارزیابی شاخص های بیوشیمیایی ۳۵
- ۴-۲-۲-۱- آنزیم های کبدی ۳۵
- ۴-۲-۲-۲- میزان پروتئین کل ۳۸
- ۴-۲-۲-۳- میزان گلوکز ۳۹
- ۴-۲-۲-۴- میزان کورتیزول ۴۰
- ۴-۳- شاخص های ایمنی ۴۱
- ۴-۴- آنزیم های آنتی اکسیدان ۴۳
- ۴-۵- تعیین مقاومت در برابر استرس ناشی از کمبود اکسیژن ۴۵
- ۴-۶- میزان تجمع سلنیوم و آهن در بافت های کبد و عضله ۴۸
- ۴-۶-۱- میزان تجمع سلنیوم ۴۸
- ۴-۶-۲- میزان تجمع آهن ۵۰
- ۴-۷- نتایج مطالعات باکتری شناسی ۵۲
- ۴-۷-۱- شمارش کلی باکتری های روده ۵۲

۵۳	۴-۷-۲- شمارش کلی باکتری‌های اسید لاکتیک روده
۵۴	۴-۸-۱- نتایج مطالعات بافت شناسی
۵۴	۴-۸-۱- نتایج مطالعات بافت شناسی کبد
۵۹	۴-۸-۲- نتایج مطالعات بافت شناسی روده
۶۴	۵- بحث
۶۴	۵-۱- شاخص‌های رشد
۶۶	۵-۲- مطالعات خون شناسی و سرم شناسی
۷۱	۵-۴- آنزیم‌های آتی اکسیدان
۷۳	۵-۵- تعیین مقاومت در برابر استرس کمبود اکسیژن
۷۶	۵-۶- میزان تجمع سلنیوم و آهن در بافت کبد و عضله
۷۷	۵-۷- مطالعات باکتری شناسی
۷۸	۵-۸- مطالعات بافت شناسی
۷۸	۵-۸-۱- مطالعات بافت شناسی کبد
۸۰	۵-۸-۲- مطالعات بافت شناسی روده
۸۱	۶- نتیجه‌گیری کلی
۸۳	منابع
۹۱	چکیده انگلیسی

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم (Se-NPs) و نانوذرات آهن (Fe-NPs) بر میزان رشد، بازماندگی و شاخص های سیستم ایمنی فیل ماهیان (*Huso huso*) پرورشی انجام شد. ۱۳۵ عدد فیل ماهی پرورشی (با میانگین وزنی $276/4 \pm 32/3$ گرم و میانگین طول کل $40/0 \pm 2/0$ سانتیمتر) به طور تصادفی در ۲۷ مخزن فایبر گلاس در ۹ تیمار و ۳ تکرار (۵ ماهی در هر تکرار) توزیع شدند. تیمارها شامل تیمار ۱: شاهد (بدون افزودن نانوذرات)، تیمار ۲: ۱ mg/kg Se-NPs، تیمار ۳: ۲ mg/kg Se-NPs، تیمار ۴: ۱۰۰ mg/kg Fe-NPs، تیمار ۵: ۱۰۰ mg/kg Fe-NPs + ۱ mg/kg Se-NPs، تیمار ۶: ۲ mg/kg Se-NPs + ۱۰۰ mg/kg Fe-NPs، تیمار ۷: ۲۰۰ mg/kg Fe-NPs، تیمار ۸: ۲۰۰ mg/kg Fe-NPs + ۱ mg/kg Se-NPs، تیمار ۹: ۲۰۰ mg/kg Fe-NPs + ۲ mg/kg Se-NPs بود. قبل از شروع آزمایش ماهیان به مدت یک هفته با شرایط مخازن سازگار شدند. میزان غذایی در طول دوره پرورشی بر اساس وزن و درجه حرارت آب ۲-۳٪ زیتوده بوده و روزانه در سه نوبت (ساعات ۸، ۱۵ و ۲۱) و به مدت ۸ هفته انجام شد. جهت بررسی روند رشد ماهیان، زیست سنجی وزن و طول ماهیان هر دو هفته یکبار انجام شد. در پایان دوره پرورش، شاخص های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی، آسیب شناسی بافت های روده و کبد، شمارش باکتری های روده، تجمع سلنیوم و آهن در بافت های کبد و عضله و عملکرد سیستم آنتی اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی عملکرد سیستم ایمنی، مقاومت فیل ماهیان پرورشی در مقابل استرس ناشی از کاهش اکسیژن آب نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه در پایان دوره پرورش نشان داد که تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد به صورت معنی داری شاخص های رشد بهتری داشته اند و درصد بازماندگی کلیه تیمارها نیز ۱۰۰٪ بود. در میزان وزن نهایی، طول کل نهایی ماهیان و شاخص های FCR، FI، BWI، WG و SGR بین تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشت ($P < 0/05$) و در CF و PER اختلاف معنی دار وجود نداشت ($P > 0/05$). تیمار ۸ (۱ mg/kg Se-NPs + ۲۰۰ mg/kg Fe-NPs) بیشترین میزان وزن نهایی، طول کل نهایی، FI، WG را داشته و بیشترین میزان BWI، SGR، PER و کمترین FCR در تیمار ۵ (۱ mg/kg Se-NPs + ۱۰۰ mg/kg Fe-NPs) مشاهده شد. اختلاف معنی داری در تعداد گلبول قرمز و سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH، MCHC، تعداد لنفوسیت، مونوسیت و نوتروفیل بین تیمارها مشاهده گردید ($P < 0/05$) اما در تعداد ائوزینوفیل بین تیمارها اختلاف معنی دار وجود نداشت ($P > 0/05$). در میزان RBC، هموگلوبین، هماتوکریت و MCH هرچند افزایش در بین تیمارها در مقایسه با شاهد مشاهده شد، اما تفاوت معنی داری وجود نداشت ($P > 0/05$). در شاخص های خونی، MCV در تیمار ۲ و ۳ و در MCHC نیز تنها تیمار ۶ با شاهد دارای اختلاف معنی دار بود ($P < 0/05$). WBC در تیمارهای ۵ تا ۹ در مقایسه با شاهد افزایش معنی دار نشان داد ($P < 0/05$). درصد لنفوسیت نیز فقط در تیمارهای ۲، ۳، ۴ و ۵ نسبت به شاهد افزایش معنی دار داشت ($P < 0/05$). در تعداد مونوسیت تفاوت معنی داری بین شاهد و تیمارها مشاهده نگردید ($P > 0/05$). در درصد نوتروفیل به جز تیمار ۶ و ۷ بقیه تیمارها نسبت به شاهد کاهش معنی دار نشان دادند ($P < 0/05$). اختلاف معنی داری بین تیمارها در آنزیم های کبدی (ALT، AST، ALP، LDH)، آنزیم های آنتی اکسیدان (SOD، GPX، CAT) و MDA

شاخص‌های ایمنی (IgM، ACH50 و لیزوزیم)، پروتئین کل، گلوکز و کورتیزول مشاهده گردید ($P < 0.05$). پس از انجام آزمایش تعیین مقاومت در برابر استرس ناشی از کاهش اکسیژن آب نیز اختلاف معنی داری در میزان گلوکز، کورتیزول و MO2 بین تیمارها مشاهده گردید ($P < 0.05$). در میزان تجمع سلنیوم و آهن در بافت کبد و عضله و نیز میزان شمارش کل باکتری‌های روده فیل ماهیان بر روی محیط کشت، TSA بین تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشت ($P < 0.05$). شمارش باکترهای اسید لاکتیک روده ماهیان روی محیط کشت MRS نشان داد که این باکتری‌ها فقط در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ مشاهده گردید و در سایر تیمارها مشاهده نگردید. عارضه‌های مشاهده شده در بافت کبد شامل دژنراسیون واکوئلی، نکروز، التهاب، هپاتوسیت‌های نامنظم و خونریزی بودند. عارضه‌های مشاهده شده در بافت روده شامل دژنراسیون پرزها، نفوذ سلول‌های التهابی در لایه زیر مخاطی، نفوذ سلول‌های التهابی در لایه عضلانی، پرخونی (زیر لایه سروزی) و نکروز در لایه عضلانی بود. با توجه به جمع بندی نتایج، تیمار ۵ (1 mg/kg Se-NPs + 100 mg/kg Fe-NPs) بهترین نتیجه را از نظر شاخص‌های رشد، مجموع شاخص‌های فیزیولوژیک و مقاومت در برابر استرس کمبود اکسیژن نشان داد بنابراین، استفاده تلفیقی از نانوذره سلنیوم به میزان 1 mg/kg با 100 mg/kg نانوذرات آهن نسبت به جیره شاهد، و نیز استفاده جداگانه هر کدام از این نانوذرات و نیز سایر سطوح ترکیبی این دو نانوذره، تأثیر بهتری بر سلامت فیلماهی پرورشی دارد و به کاربردن این سطوح در جیره غذایی این ماهی توصیه می‌گردد. با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد استفاده از نانو ذرات آهن و سلنیوم به عنوان یک مکمل ایمنی در فیل ماهیان پرورشی می‌تواند مطرح و قابل ترویج باشد.

کلمات کلیدی: فناوری نانو، ماهی خاویاری، شاخص‌های خونی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، بافت شناسی، باکتری‌های روده، کاهش اکسیژن آب