مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

شاخص‌های خون‌شناسی ماهی پرت

(*Cichlasoma synspilum* ♀ × *Cichlasoma citrinellum* ♂)
تغذیه‌شده با مکمل غذایی آستاگزانتین و نمک صفراوی در مواجهه با نانوذرات نقره

امین مخلص آبادی فراهانی*، سالار درافشان، فاطمه پیکان حیرتی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۷/۰۱/۲۸
اصلاح: ۹۷/۰۲/۱۳
پذیرش: ۹۸/۰۲/۱۳

کلمات کلیدی:
آستاگزانتین
خون‌شناسی
ماهی پرت
نانوذرات نقره
نمک صفراوی

چکیده

هدف از این مطالعه بهبود شاخص‌های خون‌شناسی ماهی پرت خونی (*Cichlasoma synspilum* ♀ × *Cichlasoma citrinellum* ♂) در مواجه با تنش نانوذرات نقره بود. تعداد ۲۰۰ قطعه ماهی پرت (Parrot Fish) (میانگین وزنی۶/۲± ۲۵/۵ گرم) در سه تیمار، شاهد (جیره پایه)، جیره غنی شده با آستاگزانتین و جیره غنی شده با آستاگزانتین و نمک صفراوی با سه تکرار به مدت ۹۰ روز تغذیه شدند و سپس به مدت پنج روز در معرض ۲۵۰ µg/L نانوذرات نقره محلول در آب قرار گرفتند. خون‌گیری در زمان قبل و بعد از تنش نانونقره صورت گرفت. در پایان دوره تغذیه، هیچ‌یک از شاخص‌های خون‌شناسی به جز تعداد گلبول‌های سفید که در اثر تغذیه با جیره‌های حاوی آستاگزانتین به‌تنهایی یا در تلفیق با نمک صفراوی، به‌طور معناداری افزایش‌یافته بود ($P<0.05$)، تحت تأثیر تیمارهای تغذیه‌ای قرار نگرفتند ($P>0.05$). پس از تنش نانوذرات نقره میزان هماتوکریت و هموگلوبین در همه تیمارها و تعداد گلبول‌های سفید تنها در تیمار شاهد در مقایسه با قبل از تنش به طور معناداری کاهش یافت ($P<0.05$). نتایج نشان داد استفاده از آستاگزانتین و نمک صفراوی می‌تواند اثرات مخرب نانوذرات نقره محلول در آب را تعدیل نماید.

مقدمــه

فناوری نانو در معنای ساده استفاده از مواد و ساختارهایی در مقیاس نانو (حداقل با قطر ۱ تا ۱۰۰ نانومتر) است. توانایی دست‌کاری ماده در چنین مقیاس اتمی و مولکولی کوچکی، سبب کاربرد وسیع این علم در شیمی، زیست‌شناسی، فیزیک، داروسازی و علوم مهندسی‌شده است (Masciangioli and Zhang, 2003). افزایش تولیدات و محصولات نانو به‌ناچار منجر به افزایش فاضلاب نانو مواد می‌شود. در نهایت این نانوذرات وارد واکنش با موجودات زنده و عوامل غیرزنده می‌شوند، اما اثرات مضر و تخریب‌کننده آن‌ها کاملاً شناخته‌نشده است و این عدم شناخت کافی منجر به ایجاد نگرانی برای سلامت انسان و محیط‌زیست شده است (Scown *et al.*, 2010). از نانو محصولات تولیدشده امروزی می‌توان به دی‌اکسید تیتانیوم، نقره، آهن، اکسید روی و همچنین نانولوله‌های کربنی و گرافن اشاره کرد. نانوذرات نقره به دلیل خاصیت ضد میکروبی کاربردهای گسترده‌ای داشته و در تولید محصولاتی همچون باندهای بهداشتی، پودر ماشین لباس‌شویی، فیلتر تصفیه آب، پارچه،

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Aminarcher@yahoo.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.12.5]

حسگرها، داروسازی از نانوذرات نقره استفاده شده است (Razmara *et al.*, 2014). مطالعات مختلف نشان داد که نانوذرات نقره می‌تواند منجر به افزایش پراکسیدایون چربی (Arora *et al.*, 2008) ایجاد اکسیژن واکنش‌پذیر، کاهش عمل کرد میتوکندریایی (Carlson *et al.*, 2008)، مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول و تنش اکسیداتیو شود (Hussain *et al.*, 2008). سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی می‌تواند با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، از طریق اتصال به فلزات سنگین و تغییر در شکل زیستی آن در دفع فلزات سنگین اضافی از سلول‌ها عمل نماید (Xu et *al.*, 2003). از این‌رو تغییر ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام سلولی می‌تواند در ایجاد تعادل و خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد و حفاظت از سلول مؤثر باشد. امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتتیک نظیر ویتامین‌ها و کاروتنوئیدها مثل آستاگزانتین در افزایش کارایی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول و پیشگیری از تأثیرات سمی آلاینده‌های زیستی محیطی به امری رایج تبدیل‌شده است (Banaee *et al.*, 2015). کاروتنوئیدها، آنتی‌اکسیدان‌های زیستی قویی هستند که با جذب انرژی تحریکی اکسیژن منفرد، باعث تخریب مولکول خود می‌شوند اما از تخریب مولکولی سایر بافت‌ها‌جلوگیری می‌کنند (Beutner *et al.*, 2001). همچنین کاروتنوئیدها از ایجاد واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد که با تخریب اسیدهای چرب غیراشباع شروع می‌شود و در نهایت باعث تخریب غشاهای لیپیدی می‌گردند، جلوگیری می‌نماید. آستاگزانتین کاروتنوئیدی است که در حفاظت از فسفولیپیدهای غشایی و لیپیدهای دیگر در برابر اکسیداسیون مؤثر است. طی مطالعات انجام‌شده، توان آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین حدود ۵۵۰ برابر ویتامین E و ۱۰ برابر بتاکاروتن است. به همین دلیل آن را سوپر ویتامین E می‌نامند (Naguib, 2000). آستاگزانتین یک مکمل غذایی با پایه چربی و وزن مولکولی ۵۹۶/۸ دالتون و فرمول مولکولی C40H52O، در آب غیر محلول و چربی‌دوست است (Jyonouchi *et al.*, 1995). حیوانات توانایی تولید آستاگزانتین را ندارند و این نیاز خود را از طریق جیره تأمین می‌کنند. میزان جذب کارتنوئید در میان آبزیان متفاوت است و بستگی به نوع گونه، طول دوره تغذیه، غلظت کارتنوئید، وزن و سن ماهی مورد مطالعه، دارد؛ به‌عنوان‌مثال قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن متوسط ۴۰۰ گرم تنها ٪۴ از کارتنوئید موجود در جیره را جذب می‌کند (Torrissen *et al.*, 1990). با توجه به قیمت بالای آستاگزانتین اگر بتوان میزان جذب آن را افزایش داد، علاوه بر میزان افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی در بدن ماهی، هزینه‌های تأمین جیره نیز کاهش می‌یابد. نمک صفراوی می‌تواند فرآیند امولسیون شدگی چربی‌ها را تسهیل نماید و میزان جذب ترکیبات با پایه چربی را در روده کوچک افزایش دهد (Erdman, 1988). چربی‌ها ابتدا در روده کوچک به شکل آزاد به کمک انتقال‌دهنده‌های لیپوپروتئینی جذب خون می‌شوند. در این مرحله آستاگزانتین موجود در جیره غذایی، آزاد و وارد سیستم گوارش می‌شود. نمک صفراوی می‌تواند این فرآیند را افزایش دهد و تسریع نماید (Zhou *et al.*, 2002). یکی از این نمک‌های صفراوی، ترکیب Sodium Taurocholate با فرمول شیمیایی $C_{26}H_{44}NNaO_7S$ است که به هضم و جذب چربی‌ها کمک می‌کند و منجر به جذب بیشتر و سریع‌تر آستاگزانتین می‌شود. خون شاخص مفیدی در تعیین سلامتی یک موجود است. شاخص‌های خون‌شناسی در تشخیص وضعیت عملکردی جانورانی که در تماس با مواد سمی بوده‌اند، بسیار مهم است. به دلیل اینکه سیستم گردش خون و محیط خارجی با یکدیگر در ارتباط هستند، شاخص‌های خون‌شناسی برای تشخیص اثرات مواد تنش‌زا و سمی استفاده می‌شود. فاکتورهای سلولی در خون (تعداد گلبول‌های قرمز و سفید) شاخص‌های مفیدی در واکنش‌های حاصل از تنش خارجی هستند که در نهایت سبب تغییرات مورفولوژیکی و توزیع سلولی در خون می‌شوند (Srivastava *et al.*, 1995). در مطالعات Rehulka (۲۰۰۰) تأثیر مقایسه استفاده از جیره حاوی آستاگزانتین و جلبک هماتوکوکوس مورد بررسی قرار گرفت. فاکتورهای مربوط به رشد در جیره حاوی جلبک هماتوکوکوس در مقایسه با آستاگزانتین، به‌صورت معناداری بیشتر بود. تیمار شاهد در مقایسه با دو تیمار دیگر، بدترین علائم را در شاخص‌های خون‌شناسی نشان داد. این تیمار بالاترین میزان گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، سوپراکسید دیسموتاز، کاتلاز و گلوتاتیون پر اکسیداز را داشت و میزان این فاکتورها با افزایش میزان آستاگزانتین و جلبک هماتوکوکوس در جیره کاهش‌یافته بود. در مطالعه Davis (۲۰۱۰) گزارش شده است مواد تنش آور محیطی می‌تواند سبب ایجاد پاسخ‌هایی در پروفیل گلبول‌های سفید شود. تاکنون اطلاعات اندکی در مورد اثر مکمل آستاگزانتین و نمک صفراوی و نانوذرات بر روی خون ماهی گزارش‌شده است. از جمله آن می‌توان به مطالعات انجام‌شده بر تیلاپیا موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) اشاره کرد. نانوذرات نقره سبب ایجاد تغییرات معنادار در تعداد گلبول سفید و قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.12.5]

خون تیلاپیـا شـد (Karthikeyeni *et al.*, 2013). ایـن مطالعـه بـر پـرت خـونی (Blood parrot) کـه از دگرآمیـزی دو گونـه (*Cichlasoma citrinellum* ♂ *Cichlasoma synspilum* ♀) تولید می‌شود، انجام شـد. ایـن مـاهی در سـال ۱۹۸۰، بـرای اولین بار در کشور تایلند تولید و سپس در سال‌های بعد، تولید آن به کشورهای ژاپن و چین راه یافت (Yang *et al.*, 2012). با توجه به این که امروز استفاده از نانوذرات نقره در فلیترهای آکواریوم مرسوم شده است و این نـانوذرات مـی‌توانـد اثـرات مضـر برای آبزیان داشته باشد، به نظر می‌رسد استفاده از مکمل‌های غذای که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند می‌تواند باعث جلـوگیری از این اثرات مضر شوند. هدف از این مطالعه بررسی شـاخص‌هـای خـون‌شناسـی مـاهی پـرت تغذیـه‌شـده بـا مکمـل غـذایی آستاگزانتین و نمک صفراوی به عنوان یک مکمل غذایی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در مواجهه با نانوذرات نقره بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه، ۲۰۰ قطعه ماهی پرت از سالن تکثیر و پرورش معتبری واقع در اصفهان با میـانگین وزنـی ۶/۲± ۲۵/۵ گرم و میانگین طولی ۰/۴۳± ۶/۳۴ سانتی‌متر تهیه و به مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند. برای این آزمـایش، سه تیمار با سه تکرار و هر تکرار شامل ۲۲ قطعه ماهی شامل تیمار شاهد، تیمار تغذیه‌شده با ۴ گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین و تیمار تغذیه‌شده با ۴ گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین و ۱۲۰۰ میلی‌گـرم بـر کیلـوگرم نمـک صـفراوی بـر مبنـای نتـایج Yang و همکاران (۲۰۱۲) تنظیم شد. ماهیان تحت آزمایش به مدت ۹۰ روز با جیره‌های تعیین‌شده روزانه ۳ بار (۸ صبح، ۱۲ ظهر و ۴ بعدازظهر) به میزان ۲ درصد وزنی تغذیه شدند (جدول ۱). میزان پروتئین خام جیره ۳۷/۷ درصد، چربی خـام ۲۷/۰۳ درصـد، رطوبت ۳/۸۳ درصد و فیبر خام ۳/۳۶ درصد و میزان انرژی جیره ۲۰/۳ کیلوژول بر هرکیلوگرم جیره بود. ترکیبـات جیـره بـر اساس استاندارد NRC توسط نرم‌افزار محاسبه و در جدول ۱ گزارش‌شده است (NRC, 2011).

در این آزمایش از نانوذرات نقره ساخت شرکت Nanocid Colloid ایران استفاده شد (جدول ۲). در ابتدا به دلیل مشخص

جدول ۱. ترکیبات مورد استفاده در تهیه جیره مورد آزمایش (٪ از جیره)

تیمارهای آزمایش / اجزائ جیره	شاهد	آستاگزانتین	آستاگزانتین- نمک صفراوی
پودر ماهی	۲۱/۱۶	۲۱/۱۶	۲۱/۱۶
سویا	۲۱/۱۶	۲۱/۱۶	۲۱/۱۶
کلزا	۱۵/۸۷	۱۵/۸۷	۱۵/۸۷
ذرت	۲۴/۹۳	۲۴/۹۳	۲۴/۹۳
جو	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲
روغن آفتاب‌گردان	۰/۵	۰/۵	۰/۵
آستاگزانتین[۱]	۰	۰/۴	۰/۴
نمک صفراوی[۲]	۰	۰	۰/۱۲
نمک خوراکی	۰/۵۲	۰/۱۲	۰
مکمل معدنی[۳]	۲/۳۸	۲/۳۸	۲/۳۸
مکمل ویتامینی[۴]	۲/۳۸	۲/۳۸	۲/۳۸
مجموع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

[۱] شرکت BASF آلمان، خلوص ۱۲٪

[۲] شرکت FULKA آمریکا

[۳] مکمل معدنی ساخت شرکت خوراک دام و آبزیان مازندران، ایران (آهـن ۲۱/۶۲ درصـد، روی ۳۶/۰۵ درصـد، سـلنیوم ۰/۰۷ درصـد، کبالـت ۰/۳۶درصد، مس ۲۱/۶۳ درصد، منگنز ۱۸/۰۲ درصد، ید ۲/۱۶ درصد، کولین کلراید ۰/۰۴ درصد).

[۴] مکمل ویتامینی ساخت شرکت ارس بازار، ایران محتوای ویتامین‌های A ۱۵/۲۴درصد، D_3 ۳/۰۴ درصد، K_3 ۰/۶۰درصـد، E ۳/۰۴ درصـد، B_1 ۶/۰۹ درصد، B_2 ۰/۹۱ درصد، B_6 ۰/۹۱ درصد، C ۳۰/۴۸ درصد، کلسیم پنتوتنات ۹/۱۴ درصد، متیونین ۱۸/۲۹ درصد، سیستئین ۹/۱۴ درصد).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.12.5]

نبودن میزان LC_{50} نانوذرات نقره، ماهی پرت در معرض غلظت‌های µg/L ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ از نانوذرات نقره قرار گرفتند تا بیشترین غلظتی که باعث کاهش زنده‌مانی نمی‌شود، مشخص شود (Govindasamy and Rahuman, 2012). بدین منظور پنج قطعه ماهی پرت برای هر غلظت در نظر گرفته شد. ماهی‌ها پس از گذراندن دوره تطابق در معرض دُزهای ذکرشده قرار گرفتند. ماهی‌های مواجه شده با غلظت‌های µg/L ۱۰۰۰و ۵۰۰ نانوذرات نقره کمتر از ۲۴ ساعت تلف شدند و ماهی‌های مواجهه شده با غلظت ۲۵۰µg/L تا ۵ روز پس از معرض‌گذاری زنده ماندند. سپس هر یک از تیمارهایی که با جیره‌های ذکرشده تغذیه‌شده بودند، در دو تکرار، هر تکرار ۱۵ قطعه ماهی در معرض نانوذرات نقره با غلظت ۲۵۰µg/L برای مدت ۵ روز قرار گرفتند. تانک‌های آزمایش ۲۴ ساعت قبل از اضافه کردن ماهی به دُز مورد نظر رسیدند؛ سپس شسته شده و مجدداً قبل از اضافه کردن ماهی به دُز مورد نظر رسیدند تا میزان کاهش دُز ذرات مورد نظر که در اثر چسبیدن به سنگ هوا و شیشه تانک ایجاد می‌شود، به حداقل برسد. تعویض آب به مقدار ۹۰ درصد و تنظیم دُز مورد نظر هر ۴۸ ساعت یک‌بار انجام شد (Razmara *et al.*, 2014).

این مطالعه در سالن آکواریوم دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. در این آزمایش از آکواریوم‌هایی به ابعاد ۳۵×۴۰×۱۰۰ سانتی‌متر برای نگهداری ماهی استفاده شد. آب سیستم پرورشی مورد استفاده از لوله‌کشی شهری تأمین و پس از کلرزدایی (به‌واسطه نگهداری آب به مدت دو روز) در آکواریوم‌ها، توزیع شد. آکواریوم‌ها دارای هوادهی مداوم بودند. در طول دوره آزمایش، میانگین دمای آب ۱/۵±۲۶ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۵ ± ۵/۸ میلی‌گرم بر لیتر، میزان pH ۰/۷±۸/۱، هدایت الکتریکی ۴۲±۴۸۲/۲ میکرو زیمنس، آمونیم ۰/۴±۱/۳۷میلی‌گرم بر لیتر و فسفات کل ۰/۰۰۲±۰/۰۹ قسمت در میلیون بود.

نمونه‌گیری

به منظور ارزیابی شاخص‌های خون‌شناسی، خون‌گیری از ماهیان در دو مرحله، پس از پایان دوره ۹۰ روزه تغذیه با جیره‌های آزمایشی به عنوان تیمار قبل از تنش و ۵ روز پس از اعمال تنش نانوذرات نقره انجام شد. به این منظور، در هر مرحله ۵ قطعه ماهی از هر تکرار به طور تصادفی صید و پس از بیهوشی با ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گل میخک، خون‌گیری از ورید ساقه دمی با استفاده از سرنگ هپارینه ۲/۵ میلی‌لیتری انجام شد. در ادامه، شاخص‌های خون‌شناسی به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت.

شاخص‌های خون‌شناسی

شمارش تعداد گلبول‌های سفید (هزار در میلی‌متر مکعب) و قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب) پس از رقیق‌سازی نمونه خون

جدول ۲. برخی از مشخصات اندازه‌گیری شده کلوئید نانوذرات نقره (Razmara *et al.*, 2014)

پارامتر	روش سنجش	فرا سنجه	توضیحات
غلظت mg/L	ICP-AES[1]	۲۰۰۰	با غلظت اعلام‌شده از کارخانه تولیدی اختلاف معناداری داشته است
شکل	TEM	کروی	-
اندازه ذرات (قطر هیدرودینامیکی) (nm)	Zetasizer	۱۶۳/۵ الی ۳/۹	۵۴/۱٪ از ذرات قطر دینامیکی کمتر از ۱۰۰nm دارند
میانگین قطر هیدرودینامیکی (nm)	Zetasizer	۵۴/۸	-
قطر بیشینه (nm)	TEM[2]	۱۲۹	۶۵/۱۴٪ از ذرات بین ۱nm-۱۳ دارند
خلوص	EDX[3]		تنها عنصر نقره کلوئید نانوذرات نقره وجود داشت

[1] Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy
[2] Transmission electron microscopy
[3] Energy-dispersive X-ray

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.12.5]

با استفاده از محلول دیس[1] (برای تهیه محلول دایس ابتدا ۰/۱ گرم برلیانت کریزل آبـی بـا ۳/۸ گـرم سـدیم سـیترات و ۰/۲۰ میلی‌لیتر فرمالین ۳۷٪ مخلوط شد و سپس ترکیب حاصل با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسـید) و بـا اسـتفاده از پیپـت ملانـژور سـفید یـا قرمـز و لام هماتوسـیتومتر بـه صـورت دسـتی صـورت گرفـت. بـرای تعیـین میـزان هماتوکریـت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد. ابتدا بیش از دو سوم لوله هماتوکریت از خون منعقد نشده پرشد، سپس لولـه‌هـای هماتوکریـت درون دستگاه سانتریفیوژ میکروهماتوکریت قرار گرفت و پس از سـپری شـدن ۳ دقیقـه بـا دور گـردش (rpm)۱۳۰۰۰ مقـدار هماتوکریت به‌وسـیله صـفحه مـدرج مخصـوص خوانـده شـد. بـرای تعیـین مقـدار هموگلـوبین از روش اسـتاندارد سـیانومت هموگلوبین[2] استفاده شد (Houston, 1990).

اندازه‌گیری فاکتورهای ثانویه خونی

برای اندازه‌گیری شاخص‌های MCV[3] ($nm^3\ cell^{-1}$)، MCH[4] ($\mu g\ cell^{-1}$) و MCHC[5] ($g\ Hb\ cell^{-1}$) از رابطه زیـر اسـتفاده شـد (Dorafshan *et al*., 2008):

$$MCV\ (nm^3\ cell^{-1}) = Hct\ (\%) \times 10 / RBC\ (10^6 mm^3)$$

$$MCH\ (\mu g\ cell^{-1}) = Hb / RBC\ (10^6 mm^3)$$

$$MCHC\ (g\ Hb\ cell^{-1}) = Hb\ (g/dl) / Hct \times 100$$

تحلیل آماری

برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogorov- Smiranov و آنـالیز داده‌هـا بـا اسـتفاده از نـرم‌افزارهـای SPSS 19 و Excel 2013 انجام شد. این آزمایش در طرح کـاملاً تصـادفی انجـام و بـا اسـتفاده از آنـالیز واریـانس یـک‌طرفـه (One Way ANOVA) وجود اختلاف معنادار بین تیمارها در سطح $P<0.05$ تحلیل شد. برای مقایسه میانگین تیمارهای مختلف پـیش یـا پس از تنش از آزمون Duncan در سطح معناداری ۰/۰۵ درصد استفاده شد. برای مقایسه میانگین هـر شـاخص در هـر تیمـار پیش از تنش و پس از تنش از آزمون آماری *t*-student در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0.05$) استفاده شد.

نتایـج

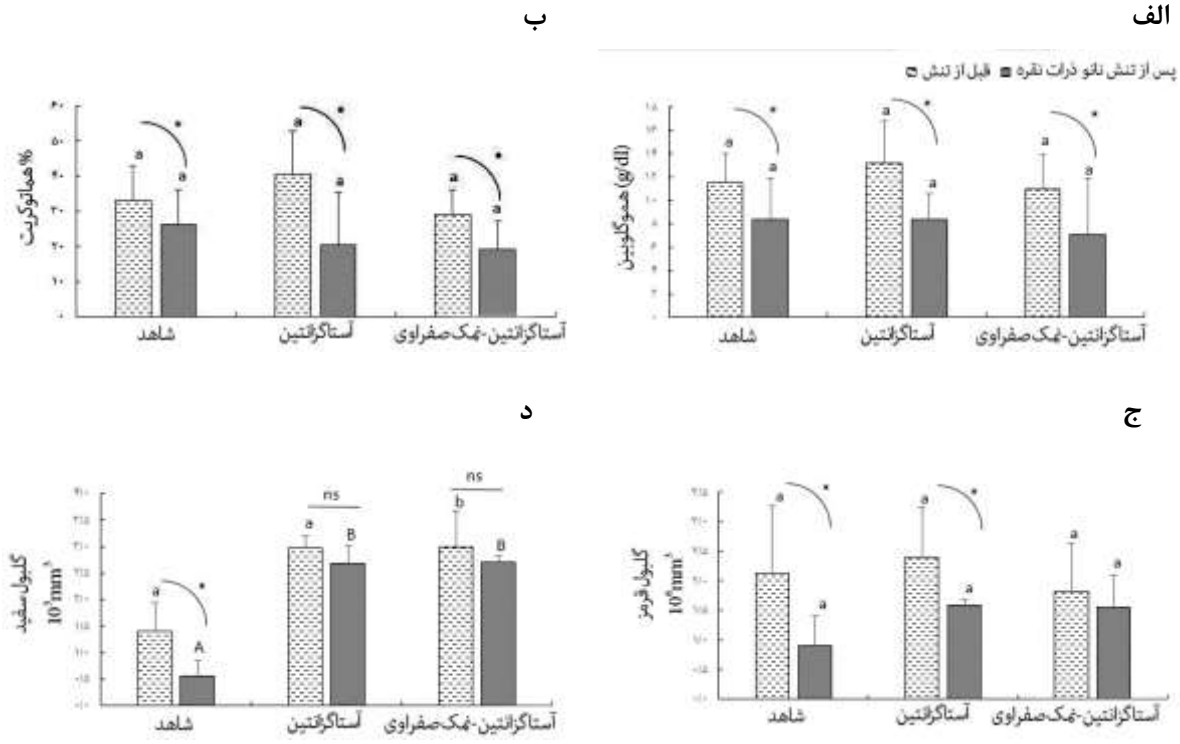
نتایج فراسنجه‌های خون‌شناسی نشان داد که استفاده از مکمل غذای آستاگزانتین به تنهایی یا در تلفیق با نمـک صـفراوی بـه مدت ۹۰ روز هیچ تأثیر معناداری بر شاخص‌های هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز نداشت (شکل۱- الـف، ب و ج؛ $P>0.05$) اگرچه باعث افزایش تعداد گلبول‌های سفید شد (شکل۱- د؛ $P<0.05$). پس از تنش نانوذرات نقره به مـدت ۵ روز شاخص‌های هماتوکریت و هموگلوبین در همه تیمارها و تعداد گلبول سفید تنها در تیمار شـاهد در مقایسـه بـا زمـان قبـل از تنش به صورت معناداری کاهش یافت (شکل۱- الف، ب و د؛ $P<0.05$) درحالی‌که کاهش تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهـای آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی مشاهده نشد (شکل۱- د؛ $P>0.05$). تعداد گلبول‌های قرمـز در تیمارهـای شـاهد و آستاگزانتین پس از تنش نانوذرات نقره به صورت معناداری کاهش پیدا کرد (شکل۱- ج؛ $P<0.05$) ولی ایـن کـاهش در تیمـار آستاگزانتین- نمک صفراوی مشاهده نشد (شکل۱- ج؛ $P>0.05$).

با توجه به نتایج حاصل می‌توان دریافت تغذیه با مکمل غذایی آستاگزانتین و نمک صفراوی به مدت ۹۰ روز تأثیر معناداری بـر شاخص‌های ثانویه خون ازجمله MCHC، MCH وMCV نداشته است (جدول ۳؛ $P>0.05$). ولی میزان شـاخصMCV پـس از

[1] Dace
[2] Cyanmethemoglobin
[3] Mean Cell Volume
[4] Mean Cell Hemoglobin
[5] Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.12.5]

تنش نانوذرات نقره در مقایسه با قبل از تنش در تمام تیمارها به صورت معناداری افزایش پیدا کرد (جدول ۳؛ $P<0.05$)؛ درحالی‌که میزان شاخص‌های MCH و MCHC تغییرات معناداری در مقایسه با قبل از تنش در هیچ‌یک از تیمارها نشان نداد (جدول ۳؛ $P>0.05$).



شکل ۱. شاخص‌های خون‌شناسی ماهی پرت تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف آزمایشی پیش و پس از قرار گرفتن در معرض تنش نانوذرات نقره محلول در آب با غلظت ۲۵۰µg/L به مدت ۵ روز. الف: هموگلوبین ب: هماتوکریت ج: گلبول قرمز د: گلبول سفید. حروف کوچک نشان‌دهنده تفاوت معنادار در بین تیمارها پیش از تنش و حروف بزرگ نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین تیمارهای مختلف آزمایشی پس از تنش نانوذرات نقره می‌باشد علامت (*) نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین زمان پیش از تنش و پس از تنش نانوذرات نقره در یک تیمار مشخص است.

جدول ۳. شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی ماهی پرت تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف آزمایشی پیش و پس از قرار گرفتن در معرض تنش نانوذرات نقره محلول در آب با غلظت ۲۵۰µg/L به مدت ۵ روز. میانگین± خطای استاندارد

تیمارهای مورد آزمایش	زمان انجام آزمایش	MCH ($\mu g\ cell^{-1}$)	MCV ($nm^3\ cell^{-1}$)	MCHC ($g\ Hb\ cell^{-1}$)
شاهد	پیش از تنش	۸۵/۹۰±۸/۲۲	۲۵۴/۴۵±۲۶/۹۴	۳۵/۲۸±۳/۰۷
	پس از تنش	۹۰/۲۶±۱۶/۶۵	*۴۶۱/۴۱±۲۷/۷۹	۳۸/۳۲±۱۲/۶۲
آستاگزانتین	پیش از تنش	۷۵/۳۰±۷/۵۹	۲۳۳/۱۴±۲۲/۴۴	۳۳/۶۰±۷/۴۶
	پس از تنش	۷۸/۲۴±۱۶/۰۷	*۳۸۳/۸۲±۹/۰۹	۴۷/۰۳±۱۳/۵۳
آستاگزانتین- نمک صفراوی	پیش از تنش	۸۲/۷۶±۶/۴۲	۱۹۹/۱۷±۸/۸۷	۳۹/۲۱±۱۰/۸۲
	پس از تنش	۸۹/۹۳±۴/۲۵	*۲۳۴/۰۹±۱۱/۱۴	۳۰/۷۷±۲/۶۲

علامت * نشان‌دهنده تفاوت معناداری در یک تیمار، مقایسه دو تیمار در زمان قبل و پس از تنش نانوذرات نقره است.

بحث

در مطالعه حاضر تعداد گلبول سفید در تیمارهای تغذیه‌شده با آستاگزانتین و نمک صفراوی به مدت ۹۰ روز به طور معناداری

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.12.5]

افزایش پیداکرده‌اند. ولی این مکمل‌ها، اثر معناداری بر دیگر شاخص‌های خـون‌شناسـی همچـون هماتوکریـت و هموگلـوبین و تعداد گلبول‌های قرمز نداشته‌اند. به نظر می‌رسد آستاگزانتین شاخص‌های ایمنی ماهی پرت را (با افـزایش تعـداد گلبـول‌هـای سفید) تقویت می‌کند، علاوه بر این آستاگزانتین به دلیل ویژگی آنتی‌اکسیدانی، رادیکال‌هـای آزاد را از بـین مـی‌بـرد. افـزایش رادیکال‌های آزاد در بدن موجب تخریب گلبول‌های سفید می‌شود (Hill and Johnson, 2012) به‌عبارت‌دیگر می‌توان گفـت بـا افزودن آستاگزانتین می‌توان از تخریب گلبول‌های سفید جلوگیری کرد. همان‌طور در تحقیـق حاضـر کمتـرین تعـداد گلبـول سفید در تیمار شـاهد مشـاهده شـد. نتـایج حاصـل از ایـن پـژوهش بـا نتـایج Torrissen و همکـاران (۱۹۹۰) کـه از مکمـل آستاگزانتین در جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) استفاده کرده‌انـد، مطابقـت دارد (Torrissen *et al.*,1990). با توجه به نتایج حاصل از شاخص‌های ثانویه می‌توان دریافت که مکمل آستاگزانتین و نمـک صـفراوی هـیچ تـأثیر معناداری بر شاخص‌های MCV، MCH و MCHC ندارد. تاکنون مطالعات کمی در رابطه با اثرات آستاگزانتین بر شاخص‌هـای ثانویه خون‌شناسی ماهی صورت گرفته است از این میان می‌توان به مطالعه Adhami و همکاران (۲۰۱۷) اشاره کرد. نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از مکمل آستاگزانتین، هویج و لبو تـأثیر معنـاداری بـر شـاخص‌هـای ثانویـه خـون مـاهی قـزل‌آلای رنگین‌کمان نداشته است (Adhami *et al.*, 2017).

در مطالعه حاضر تنش نانوذرات نقره باعث کاهش معنادار میزان شاخص هماتوکریـت و هموگلـوبین در همـه تیمارهـای مـورد آزمایش و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای شاهد و آستاگزانتین شده است. کاهش تعداد گلبول‌های قرمز معمولاً بـه دلیل تجمع ترکیبات آب‌گریز در غشاء و تخریب آن‌هـا توسـط تـنش اکسـیداتیو (عـدم توانـایی تبـدیل مـت هموگلـوبین بـه هموگلوبین توسط سیستم‌های آنزیمی) می‌باشد. همچنین آسیب‌های ساختاری به بافت‌های خون‌سـاز از قبیـل کلیـه، طحـال می‌تواند دلیل دیگری برای کاهش تعداد گلبول‌های قرمز باشد (Houston, 1990). کاهش تعـداد گلبـول قرمـز، هماتوکریـت و هموگلوبین در ماهی فلاندر (*Pleuronectes fleus*) پس از در معرض‌گذاری با غلظت‌های ۵، ۵۰، ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر دلتـا-آمینولولینیک اسیددی هیدرات۶ به مدت ۴ و ۹ هفته (Houston *et al.*, 1990) و در ماهی تیلاپیـا (*Oreochromis niloticus*) پس از ۱، ۳ و ۵ هفته در معرض‌گذاری با غلظت ۵/۵ میکروگرم بر لیتر کادمیوم گزارش‌شده است (Al-Attar *et al.*, 2005). بـا این‌وجود، بررسی اثر نانوذرات نقره و نیترات نقره بر گربه‌ماهی رنگین‌کمان (*Pangasius hypophthalmus*) نشان داد که میزان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز پس از ده روز مواجه منجر به بروز تفاوت معنادار در شـاخص‌هـای مـورد بررسـی نمی‌شود (Razmara *et al.*, 2014). در مطالعه حاضر تعداد گلبول‌های سـفید در تیمـار شـاهد پـس از تـنش نـانونقره کـاهش معناداری پیداکرده است ولی این کاهش در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی مشاهده نشد. گلبـول سـفید نقش مهمی در ایمنی غیراختصاصی ایفا می‌کند و تعداد آن‌ها شاخصی از میزان سلامتی در ماهیان است، به نظر می‌رسـد کـه پاسخ فیزیولوژیک افزایش یا کاهش تعداد گلبول‌های سفید در مواجه با آلاینـده‌هـا، متـأثر از دوره در معـرض‌گـذاری و شـدت (غلظت) آلاینده باشد. در درازمدت ممکن است به دلیل تأثیر نامطلوب آلاینده‌ها بر بافت‌های تأمین‌کننده گلبول سفید خـون، تعداد آن‌ها کاهش یابد. اغلب گزارش‌ها بیانگر کاهش تعداد گلبـول‌هـای سـفید در معـرض آلـودگی بـا فلـزات سـنگین نظیـر کادمیوم، به دلیل تخریب بافت خون‌ساز ماهی هستند ازجمله می‌توان به گزارش موجـود در خصـوص قـزل‌آلای رنگـین‌کمـان اشاره کرد (Thuvander *et al.*, 1989). با توجه به نتایج به نظر می‌رسد تنش نانوذرات نقـره باعـث کـاهش تعـداد گلبـول‌هـای سفید می‌شود درحالی‌که استفاده از جیره حاوی آستاگزانتین می‌تواند از این کاهش تعداد گلبول‌های سفید جلوگیری کند.

در مطالعه حاضر میزان شاخص MCV در تمام تیمارها پس از قرارگیری در معرض تنش نـانوذرات نقـره بـه‌صـورت معنـاداری افزایش پیدا کرد ولی این افزایش در تیمار شاهد شدیدتر بود. درحالی‌که تنش نـانوذرات بـر شـاخص MCHC و MCH اثـرات معناداری نداشت. شاید دلیل این تغییر، نیاز ماهی به اکسیژن بیشتر تحت تنش مواجه با نانونقره در آب باشد. به نظر می‌رسـد برای جبران کاهش تعداد گلبول‌های قرمز خون، نسبت به افزایش اندازه و محتوای هموگلوبین ذره‌ای آن‌ها اقدام نموده است تا به این طریق ظرفیت حمل اکسیژن هر یاخته گلبول افزایش‌یافته و به‌طور موقت به‌عنـوان پاسـخ سازشـی اولیـه مطـرح شـود

[6] Delta-Aminolevulinic Acid Dehydrate

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.12.5]

(Karthikeyeni *et al.*, 2013). با این وجود به نظر می‌رسد پاسخ شاخص ثانویه خون‌شناسی به عوامل تنش‌زای محیطی متأثر از عوامل مختلفی همچون نوع گونه، شرایط زیستی، مدت‌زمان در معرض قرارگیری، نوع و غلظت آلاینده باشد. در خصوص تأثیر عوامل تنش‌زا از جمله آلاینده‌های محیطی بر شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی ماهیان اطلاعات متناقضی منتشر شده است. به‌عنوان‌مثال مواجه تیلاپیای موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) با نانوذرات اکسید آهن پس از ۹۶ ساعت سبب افزایش MCV و MCH شد (Karthikeyeni *et al.*, 2013). Razmara و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی اثرات نانوذرات نقره بر گربه‌ماهی رنگین‌کمان بیان کردند که پس از ده روز تفاوت معناداری در شاخص‌های ثانویه خون مشاهده نمی‌شود؛ با این وجود کاهش شاخص‌های ثانویه خون در تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) پس از مواجه با کادمیوم مشاهده شد (Berg *et al.*, 2006).

با توجه به مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که جیره حاوی آستاگزانتین و نمک صفراوی تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های خون‌شناسی به غیر از تعداد گلبول سفید ندارد و این مکمل می‌تواند باعث افزایش گلبول سفید شود و پس از تنش نانوذرات نقره نیز تعداد گلبول‌های سفید در تیمار شاهد کاهش معنی‌داری یافت درحالی‌که این کاهش در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی مشاهده نشد. وقتی ترکیبات موجود در خون مثل گلوکز، چربی در اثر تنش کاهش می‌یابند، فشار اسمزی خون کاهش‌یافته و مقدار زیادی آب از خون خارج می‌گردد و در نتیجه خون رقیق‌تر می‌شود. کاهش فشار اسمزی خون هم‌چنین باعث جذب مقداری از آب توسط گلبول قرمز می‌شود، این امر باعث افزایش حجم متوسط گلبولی (MCV) می‌گردد. بنابراین به نظر می‌رسد دلیل کاهش تعداد گلبول قرمز و افزایش MVC پس از تنش نانوذرات نقره در همه تیمارها این باشد که ماهی برای جبران کاهش تعداد گلبول‌های قرمز حجم آن‌ها را افزایش داده است. پیشنهاد می‌شود در صنعت آبزی‌پروری برای بهبود شاخص‌های ایمنی از جمله تعداد گلبول‌های سفید از جیره حاوی آستاگزانتین استفاده شود و برای درک بهتر عملکرد نمک صفراوی در مطالعات آتی یک تیمار مجزا با جیره حاوی نمک صفروای مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

Adhami, B., Jafari, S., Janikhalili, K. 2017. Effect of natural (carrot and beetroot) and artificial pigments (astaxanthin) on growth, blood indices, and color changes in skin, tissue and blood in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science and Technology. 5(4): 1-11. (in Persian)

Al-Attar, A.M. 2005. Biochemical effects of short-term cadmium exposure on the freshwater fish, *Oreochromis niloticus*. International Journal of Biological Science. 5: 260-265.

Arora, S., Jain, J., Rajwade, J., Paknikar, K. 2008. Cellular responses induced by silver nanoparticles: *in vitro* studies. Toxicology Letters. 179(2): 93-100.

Banaee, M., Mohammadipour, S., Madhani, S. 2015. Effects of sublethal concentrations of permethrin on bioaccumulation of cadmium in zebra cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*). Toxicological & Environmental Chemistry. 97(5): 200-207. (in Persian)

Berg, S., Trollfors, B., Persson, E., Backhaus, E., Larsson, P., Ek, E., Claesson, B.E., Jonsson, L., Radberg, G., Johansson, S. 2006. Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolated from blood and cerebrospinal fluid related to vaccine serotypes and to clinical characteristics. Scandinavian Journal of Infectious Diseases. 38(2): 427-432.

Beutner, S., Bloedorn, B., Frixel, S., Hernandez Blanco, I., Hoffmann, T., Martin, H.D., Mayer, B., Noack, P., Ruck, C., Schmidt, M. 2001. Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of *β*-carotene in antioxidant functions. Journal of the Science of Food and Agriculture. 81(4): 559-568.

Carlson, C., Hussain, S., Schrand, A.M., Braydich, K., Hess, K.L., Jones, R.L., Schlager, J. 2008. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size dependent generation of reactive oxygen species. American Chemical Society. 112(43): 13608-13619.

Davis, M.W. 2010. Fish stress and mortality can be predicted using reflex impairment. Fish and Fisheries. 11(5): 1-11.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.12.5]

Dorafshan, S., Kalbassi, M.R., Pourkazemi, M., Amiri, B.M., Karimi, S.S. 2008. Effects of triploidy on the Caspian salmon *Salmo trutta caspius* haematology. Fish Physiology and Biochemistry. 34(3): 195-200.

Erdman, J. 1988. The physiologic chemistry of carotenes in man. Clinical Nutrition. 2(7): 101-05.

Govindasamy, R., Rahuman, A.A. 2012. Histopathological studies and oxidative stress of synthesized silver nanoparticles in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Journal of Environmental Sciences. 24(5): 1091-1098.

Hill, G.E., Johnson, J.D. 2012. The vitamin A–redox hypothesis: a biochemical basis for honest signaling via carotenoid pigmentation. The American Naturalist. 180(2): 127-150.

Hussain, S.M., Schrand, A.M., Braydich-Stolle, L., Hess, K.L., Jones, R.L., Schlager, J. 2008. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. The Journal of Physical Chemistry. 112(5): 13608-13619.

Houston, A. 1990. Blood and circulation. Methods for Fish Biology. 1st edition. Methods for Fish Biology. 488 p.

Jyonouchi, H., Sun, S., Tomita, Y., Gross, M.D. 1995. Astaxanthin, a carotenoid without vitamin A activity, augments antibody responses in cultures including T-helper cell clones and suboptimal doses of antigen. The Journal of Nutrition. 125(2): 2483-2492.

Karthikeyeni, S., Siva Vijayakumar, T., Vasanth, S., Arul Ganesh, M.M., Subramanian, P. 2013. Biosynthesis of iron oxide nanoparticles and its haematological effects on fresh water fish *Oreochromis mossambicus*. Journal of Academia and Industrial Research. 10(1): 645-649.

Masciangioli, T., Zhang, W. 2003. Environmental technologies at the nanoscale. Fisheries Science. 37(2): 102-108.

Naguib, Y.M. 2000. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2(3): 48-52.

NRC. 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies Press, Washington 5: 17-22.

Razmara, P., Peykan, H.F., Dorafshan, S. 2014. Effect of silver nanoparticles on some hematological indices of rainbow catfish (*Pangasius hypophthalmus*). Journal of Cell and Tissue. 5(3): 263-272. (in Persian)

Rehulka, J. 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. 190(4): 27-47.

Scown, T.M., Santos, E.M., Johnston, B.D., Gaiser, B., Baalousha, M., Mitov, S., Lead, J.R., Stone, V., Fernandes, T.F., Jepson, M. 2010. Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. Toxicological Sciences. 115(1): 521-534.

Srivastava, S., Singh, N., Srivastava, A.K., Sinha, R. 1995. Acute toxicity of malachite green and its effects on certain blood parameters of a catfish, *Heteropneustes fossilis*. Aquatic Toxicology. 31(2): 241-247.

Thuvander, A. 1989. Cadmium exposure of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson: effects on immune functions. Journal of Fish Biology. 35: 521-529.

Torrissen, O., Hardy, R., Shearer, K., Scott, T., Stone, F. 1990. Effects of dietary canthaxanthin level and lipid level on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 4(88): 351-362.

Xu, J., Maki, D., Stapleton, S.R. 2003. Mediation of cadmium-induced oxidative damage and glucose phosphate dehydrogenase expression through glutathione depletion. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology. 17(2): 67-75.

Yang, H., Mu, X., Luo, D., Hu, Y., Song, H., Liu, C., Luo, J. 2012. Sodium taurocholate, a novel effective feed-additive for promoting absorption and pigmentation of astaxanthin in blood parrot (*Cichlasoma synspilum*♀ × *Cichlasoma citrinellum*♂). Aquaculture. 350(1): 42-45.

Zhou, L., Zhou, G., Chen, B. 2002. Effects of bile salt on intestinal absorption of carotenoids in goats. Journal of Nanjing Agricultural University. 2(25): 61-64.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.12.5]