

اثرات پیش تیمار ملاس چغندر بر شاخص‌های ایمنی سرم خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانوذره آهن

روح ا. شیخ ویسی^۱، سید علی اکبر هدایتی*^۱، علی جعفر نوده^۲، حبیب الله سنچولی^۲، سپیده غنی^۲،
طاهره باقری^۳

^۱گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
^۲گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
^۳مرکز تحقیقات آب‌های دور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، چابهار، ایران.

*نویسنده مسئول: hedayati@gau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۸/۶/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۷

چکیده

این تحقیق با هدف اثر محافظتی پیش تیمار ملاس بر شاخص‌های ایمنی سرم ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانوذرات آهن به اجرا درآمد. تعداد ۲۵۰ بچه‌ماهی کپور معمولی در قالب ۴ تیمار شامل جیره فاقد ملاس (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد ملاس (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد ملاس (تیمار ۳) و جیره حاوی ۲ درصد ملاس (تیمار ۴) طراحی شد. پس از گذشت ۴۲ روز، از هر تکرار ۳ نمونه ماهی خون گرفته شد و به صورت "بدون نانو ذره" در نتایج ارائه گردید. بچه ماهیان به مدت ۱۴ روز در مجاورت ۵۰ درصد غلظت کشنده نانوذرات آهن (LC₅₀ 96h) قرار گرفتند. بعد از گذشت ۱۴ روز، از هر تکرار، ۳ نمونه ماهی خون گرفته شد و به صورت "با نانو ذره" در نتایج ارائه گردید. نمونه‌های خون گرفته شد و سپس جهت اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون شامل آنزیم‌های کبدی (ALT, AST, ALP)، گلوکز، پروتئین کل، ایمونوگلوبولین و آلبومین جدا شد. در مجموع تیمارهای آزمایشی حاوی ملاس بر شاخص‌های ایمنی سرم تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). میزان پروتئین کل، ایمونوگلوبولین، آلبومین و گلوکز سرم خون با افزایش غلظت ملاس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، در تیمار در معرض نانو آهن و در تیمارهای ترکیب نانو آهن و ملاس نیز میزان این شاخص‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان AST و ALP سرم خون ماهی در اثر تیمارهای تغذیه شده با ملاس با افزایش غلظت ملاس، به‌طور معنی‌داری کاهش یافته ولی در تیمار در معرض نانو آهن این شاخص به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در تیمارهای ترکیب نانو آهن و ملاس میزان این شاخص کاهش یافته ولی نسبت به گروه ملاس هم تیمار خود، افزایش معنی‌داری داشته است، یعنی ملاس به تنهایی منجر به کاهش این شاخص شده ولی در ترکیب با نانو آهن نتوانسته اثر افزایشی نانو آهن را خنثی یا بهبود ببخشد. در تیمارهای ترکیب نانو آهن و ملاس میزان شاخص‌های ALP و AST کاهش معنی‌داری داشته است، یعنی ملاس در ترکیب با نانو آهن نتوانسته اثر افزایشی نانو آهن را بهبود ببخشد ولی در بقیه‌ی شاخص‌ها ملاس نتوانست اثر افزایشی نانو آهن را خنثی کند.

واژگان کلیدی: بچه ماهی کپور، آهن، چغندر، شاخص‌های ایمنی خون.

مقدمه

ملاس چغندر قند به‌عنوان یک منبع غنی از ساکارز است (Soder et al., 2010). بتائین یکی از ترکیبات چغندر است که به‌عنوان یک محصول جانبی در طی تولید قند حاصل می‌شود، بتائین در سوخت و ساز چربی از طریق نقش آن در سنتز فسفاتیدیل کولین و در اکسیداسیون اسیدهای چرب کاربرد دارد (Diane et al., 2003). بیگی (۱۳۹۷) تاثیر سطوح مختلف ملاس چغندر بر برخی شاخص‌های ایمنی موکوس، رشد و بقا در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) را بررسی نمود و بیان داشت که ملاس باعث بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی می‌گردد.

در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی بر روی ترکیبات و مکمل‌های غذایی که در بالا بردن ایمنی موجودات و کارایی تغذیه نقش دارند، صورت گرفته است. از جمله ترکیباتی که به‌عنوان مکمل غذایی مطرح می‌باشند می‌توان به پروبیوتیک‌ها، نوکلئوتیدها و همچنین ملاس اشاره کرد. ملاس چغندر قند، یک شیرین کننده است که به‌عنوان یک محصول جانبی از فرآیند ساخت قند تشکیل می‌شود. ملاس انواع مختلفی دارد که نوع black strap معمول‌ترین شکل ملاس است و شامل بسیاری از ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد.

جدول ۱ - ترکیبات اصلی ملاس چغندر.

۱. قندها	گلوکز و ساکاروز
۲. آمینواسیدها	بتائین، پیروگلوتامیک اسید، گلوتامین، آسپاراژین، ایزولوسین، تیروزین، آلانین، لوسین، والین، سرین، لیزین، گلیسین، آرژنین، فنیل آلانین، ترئونین
۳. اسیدهای آلی	اسید لاکتیک، اسید استیک، فرمیک اسید، اسید مالیک، اسید سیتریک
۴. مواد معدنی	پتاسیم، سدیم، فسفر، کلسیم

است منجر به تأثیرات سمی و پاسخ‌های التهابی در مغز و تخریب سیستم عصبی مرکزی شود (Chang *et al.*, 2012).

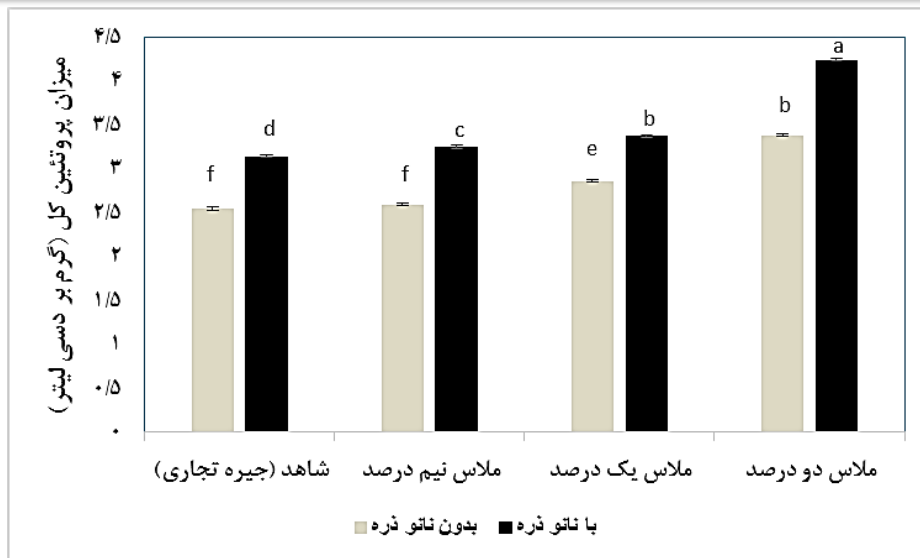
Behara و همکاران (۲۰۱۳) طی تحقیقی از نانو آهن به‌عنوان ماده افزودنی به غذای ماهی کپور هندی *Labeo rohita* استفاده نمودند و پارامترهای ایمنی و خونی این ماهی را مورد بررسی قرار دادند. هدایتی و همکاران (۱۳۹۲) به بررسی اثرات سمیت کشنده نانو اکسید روی، نانو اکسید مس (CuO NPs) و نانو دی‌اکسید تیتانیوم و بررسی اثرات سمیت تحت کشنده آن‌ها بر فاکتورهای خون و بافت آبشش ماهی قرمز، کپور معمولی و کلمه خزری (*Rutilus caspius*) پرداختند. با توجه به این‌که تاکنون پژوهشی در زمینه کاهش سمیت نانو ذرات آهن بر سیستم ایمنی ماهی کپور معمولی با استفاده از مکمل‌های غذایی صورت نگرفته است، این تحقیق با هدف اثر محافظتی پیش تیمار ملاس بر شاخص‌های ایمنی سرم ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوذرات آهن صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به مدت ۶۳ روز (یک هفته برای سازگار شدن، ۴۲ روز تغذیه با ملاس، ۱۴ روز در معرض نانو ذرات آهن) در محل مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. ابتدا تعداد ۲۵۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی 25 ± 0.62 گرم از مرکز تکثیر و پرورش بخش خصوصی تهیه گردید. بعد از ضدعفونی و آماده‌سازی آکواریوم‌ها، آبگیری آن‌ها صورت گرفت. سپس بچه ماهیان به ۱۲ عدد آکواریوم با حجم آبی ۶۰ لیتر منتقل شدند. بچه ماهیان برای سازگار شدن با محیط آزمایش به مدت یک هفته در داخل آکواریوم‌های آزمایشگاه نگهداری شدند. در طول دوره‌ی آزمایش

ترکیبات اصلی ملاس چغندر در جدول ۱ آورده شده است (بیگی، ۱۳۹۷).

توسعه سریع نانو تکنولوژی در سال‌های اخیر افق جدیدی به روی بسیاری از صنایع و بخش‌های مختلف گشوده که سرچشمه انقلاب صنعتی جدید گردیده است. در سال‌های اخیر نانو تکنولوژی تبدیل به یکی از مهم‌ترین و مهیج‌ترین حوزه‌های رو به پیشرفت در فیزیک، شیمی، علوم مهندسی و زیست-شناسی شده است. ذرات نانو به خاطر خصوصیت‌های غیرمعمول نوری، شیمیایی، فوتوالکتروشیمیایی و الکتریکی، مورد توجه دانشمندان هستند (Gong *et al.*, 2007). با توجه به نوظهور بودن فناوری نانو هنوز از خطرات احتمالی این ذرات برای محیط زیست ارزیابی دقیقی صورت نگرفته است. از آن‌جا که نانوذرات مصنوعی تولید بشر هستند و در فرآیند تکامل وجود نداشته‌اند، در حال حاضر، نگرانی زیادی پیرامون آلودگی موجودات زنده به‌خصوص آبزیان با آن‌ها وجود دارد. نانو ذرات می‌توانند از جداره رگ-های خونی و همچنین جفت عبور کنند در نتیجه، به‌راحتی می‌توانند با ملکول‌های مستقر بر روی سطح یا داخل سلول‌ها تعامل داشته باشند. این مسئله باعث می‌شود سلامتی موجودات زنده زیادی تحت تأثیر قرار گیرد. ویژگی‌های نانو ذرات مانند انحلال‌پذیری، تحرک بسیار زیاد در بدن انسان و توانایی نفوذ به غشا سلولی سبب شده مقیاس نانو بیش از مقیاس‌های دیگر مورد توجه قرار گیرد. با توجه به خصوصیات منحصر به‌فرد فیزیکوشیمیایی نانوذرات ممکن است نوع سمیت آن‌ها با موادی که از نظر ساختمان شیمیایی با آن‌ها یکسان اما اندازه متفاوت دارند، فرق داشته باشد. حتی امکان دارد که نانوذره‌ها سمیت بیشتری در مقایسه با ذرات بزرگتر ایجاد کنند. نانوذرات اکسید فلزی می‌توانند وارد رگ‌ها و بافت‌های مغز شوند و از این طریق می‌توانند قابلیت دسترسی زیستی را افزایش دهند. این مسئله ممکن



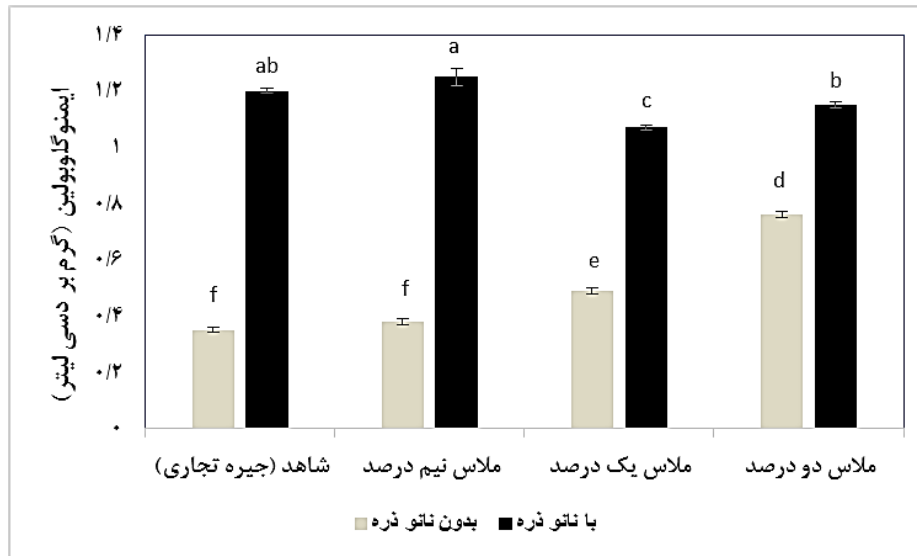
شکل ۱ - میزان پروتئین کل سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

درون سانتریفیوژ یخچال‌دار با دور $g \times 3000$ به مدت ۷ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس سرم جدا شده و جهت اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون شامل آنزیم‌های کبدی (ALP، AST و ALT)، گلوکز، پروتئین کل، ایمونوگلوبولین، آلبومین به آزمایشگاه منتقل شد. فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون اندازه‌گیری شد (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد. نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان گردید.

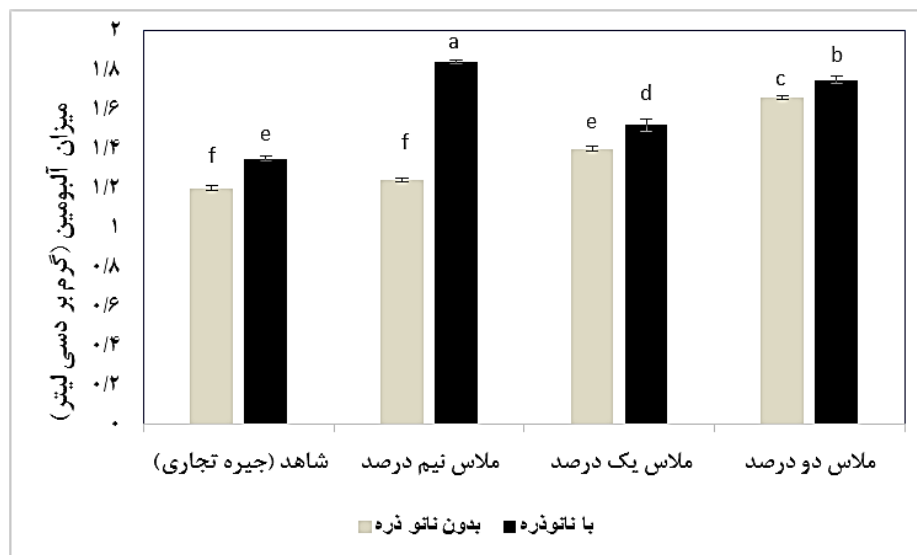
نتایج

نتایج نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان پروتئین کل سرم خون تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان پروتئین کل سرم خون در تیمار ملاس دو درصد حاوی نانو ذره آهن و کم‌ترین میزان این شاخص در تیمار شاهد بدون نانو ذره آهن بود (شکل ۱). در مجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان ایمونوگلوبولین سرم خون تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، به نحوی‌که بیش‌ترین میزان ایمونوگلوبولین سرم خون در تیمار ملاس نیم درصد حاوی نانو ذره آهن و کم‌ترین میزان

فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب اندازه‌گیری شد که متوسط این فاکتورها برای دمای آب 21 ± 1 درجه سانتی‌گراد، پی‌اچ (pH) $6.7-7.9$ ، غلظت اکسیژن محلول: $7-9$ میلی‌گرم در لیتر و سختی آب 210 میلی‌گرم کربنات کلسیم در لیتر بود. بعد از گذشت یک هفته آدپتاسیون، آزمایش در قالب ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار شامل جیره فاقد ملاس (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد ملاس (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد ملاس (تیمار ۳) و جیره حاوی ۲ درصد ملاس (تیمار ۴) انجام شد (بیگی، ۱۳۹۷). ماهی‌ها روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن و دو بار در روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. بعد از گذشت ۴۲ روز، از هر تکرار ۳ نمونه ماهی خون و موکوس گرفته شد و به‌صورت "بدون نانو ذره" در نتایج ارائه گردید. LC_{50} 96h بر طبق منابع موجود نانو آهن، بچه ماهیان در مجاورت ۵۰ درصد غلظت کشنده نانو ذرات آهن به مدت ۱۴ روز قرار گرفتند (Hedayati et al., 2013). بعد از گذشت ۱۴ روز، از هر تکرار، ۳ نمونه ماهی خون و موکوس گرفته شد و به‌صورت "با نانو ذره" در نتایج ارائه گردید. ۸ تیمار شامل: تیمار ۱ = شاهد، تیمار ۲ = ۰/۵ درصد ملاس، تیمار ۳ = ۱ درصد ملاس، تیمار ۴ = ۲ درصد ملاس، تیمار ۵ = شاهد با ۵۰ درصد آهن، تیمار ۶ = ۰/۵ درصد ملاس با ۵۰ درصد آهن، تیمار ۷ = ۱ درصد ملاس با ۵۰ درصد آهن، تیمار ۸ = ۲ درصد ملاس با ۵۰ درصد آهن. به‌منظور تهیه سرم، نمونه‌های خون گرفته شده



شکل ۲ - میزان ایمونوگلوبولین سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.



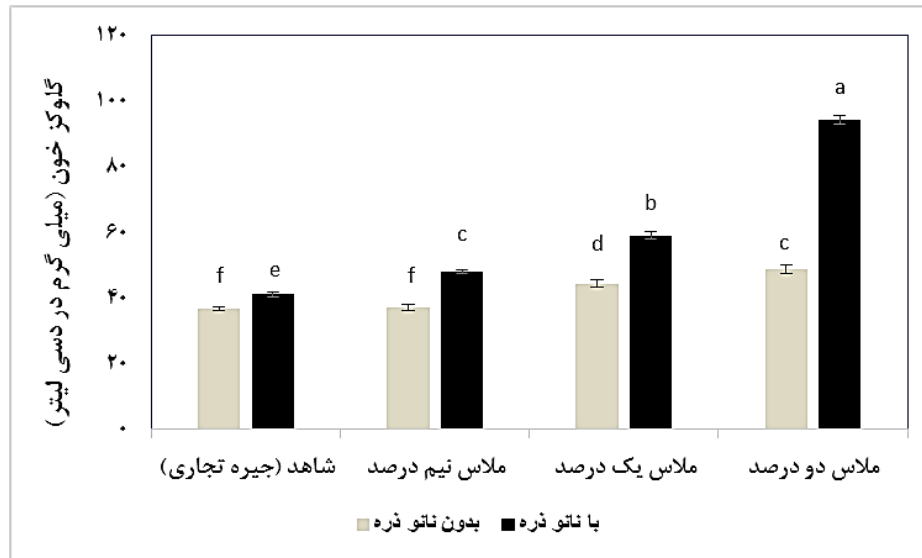
شکل ۳ - میزان آلبومین سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

این شاخص در تیمار شاهد بدون ناتو ذره آهن بود (شکل ۲).
 این شاخص در تیمار شاهد بدون ناتو ذره آهن بود (شکل ۴).

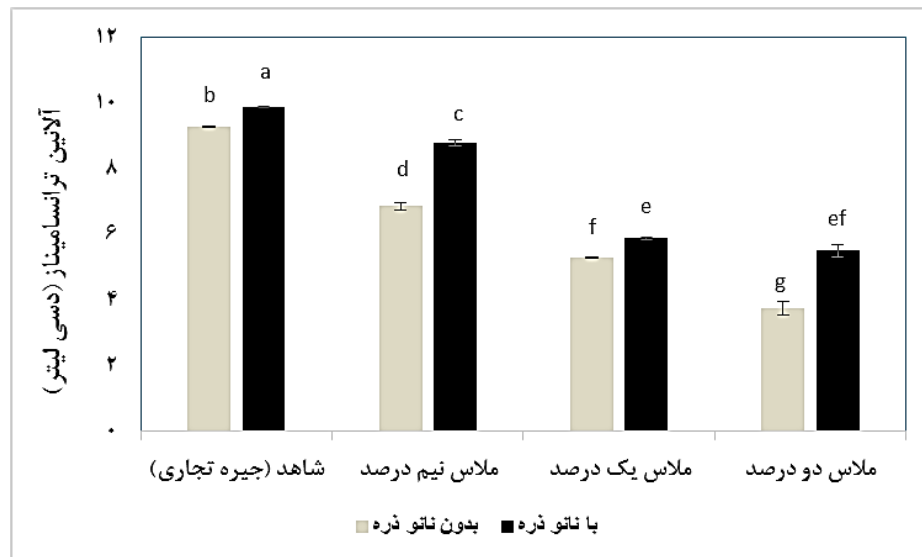
بر اساس نتایج تیمارهای آزمایشی بر میزان آلانین ترانس‌آمیناز (ALT) سرم خون ماهی نیز تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، به طوری که بیشترین میزان آلانین ترانس‌آمیناز (ALT) سرم خون ماهی در تیمار شاهد حاوی ناتو ذره آهن و کمترین میزان این شاخص در تیمار ملاس دو درصد بدون ناتو ذره آهن بود (شکل ۵). همچنین تیمارهای آزمایشی بر میزان

این شاخص در تیمار شاهد بدون ناتو ذره آهن بود (شکل ۲).

همچنین تیمارهای آزمایشی بر میزان آلبومین سرم خون نیز تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، بیشترین میزان آلبومین سرم خون در تیمار ملاس نیم درصد حاوی ناتو ذره آهن و کمترین میزان این شاخص در تیمار شاهد بدون ناتو ذره آهن بود (شکل ۳). به علاوه تیمارهای آزمایشی بر میزان گلوکز سرم خون ماهی نیز تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، به طوری که بیشترین میزان گلوکز سرم خون در تیمار



شکل ۴ - میزان گلوکز سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.



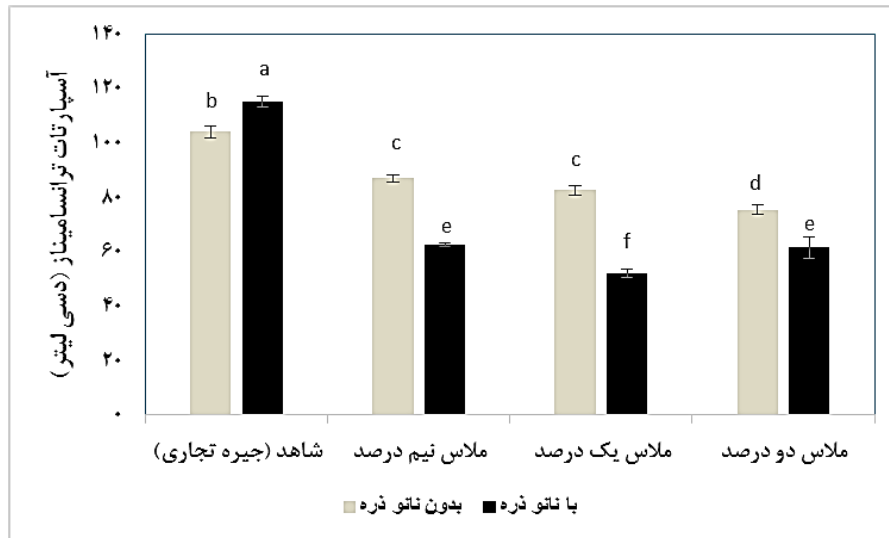
شکل ۵ - میزان آلانین ترانس آمیناز (ALT) سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

شاخص در تیمار ملاس دو درصد حاوی نانو ذره آهن بود (شکل ۷).

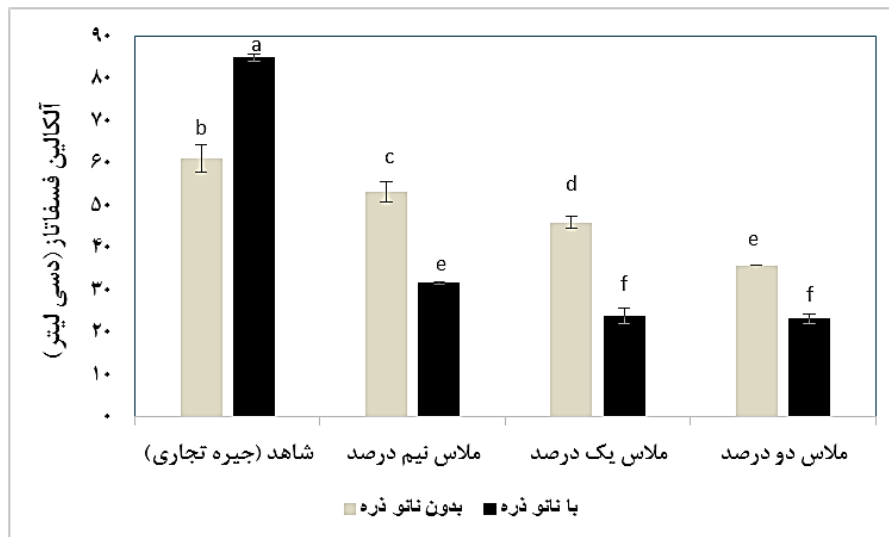
بحث

افزایش سطح پروتئین‌های سرم به‌عنوان شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت دفاع ایمنی ماهی مطرح می‌باشد (Riche, 2007). در مطالعه حاضر تیمارهای آزمایشی بر میزان پروتئین کل، ایمونوگلوبولین، آلبومین و گلوکز سرم خون تاثیر معنی داری داشت، به طوری که میزان این شاخص‌ها در

آسپاراتات ترانس آمیناز (AST) سرم خون ماهی نیز تاثیر معنی داری داشت ($P < 0.05$), به طوری که بیشترین میزان آسپاراتات ترانس آمیناز سرم خون ماهی در تیمار شاهد حاوی نانو ذره آهن و کمترین میزان این شاخص در تیمار ملاس یک درصد حاوی نانو ذره آهن بود (شکل ۶). تیمارهای آزمایشی بر میزان آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم خون ماهی نیز تاثیر معنی داری داشت ($P < 0.05$), به طوری که بیشترین میزان آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم خون ماهی در تیمار شاهد حاوی نانو ذره آهن و کمترین میزان این



شکل ۶ - میزان آسپارات ترانس‌آمیناز (AST) سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی داری در سطح ۰.۰۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.



شکل ۷ - میزان آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی داری در سطح ۰.۰۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

1996). آل‌بومین نقش مهمی در ثبات فشار اسمزی به‌منظور توزیع مناسب مایعات بدن داشته و به‌عنوان حامل پلازما و لیگاندهای غیراختصاصی (به همراه تعدادی جایگاه‌های اتصال) عمل می‌نماید. پروتئین خون از اساسی‌ترین اجزاء متابولیسم در آبزیان است. غلظت کل پروتئین موجود در پلاسمای خون به عنوان یک شاخص بالینی در سنجش میزان سلامتی، استرس و وضعیت بدنی ارگان‌های آبزی به کار برده می‌شود. سنجش مقدار پروتئین خون می‌تواند آسیب‌های سلولی را پیش‌بینی کند (Riche, 2007). محمودی و همکاران (۱۳۸۷) در مطالعه بر روی بچه ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با نوکلئوتید

اثر تیمارهای تغذیه شده با ملاس با افزایش غلظت ملاس، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در تیمار در معرض نانو آهن و در تیمارهای ترکیب نانو آهن و ملاس نیز میزان این شاخص‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. گلوکز خون پارامتر بسیار متغیری است که شدیداً تحت تاثیر استرس‌های محیطی و دست-کاری مانند تغییرات فصل، وضعیت تغذیه‌ای و بلوغ جنسی قرار دارد، پروتئین کل پلازما شامل پروتئین-های آل‌بومین و گلوبولین است، تصور می‌شود که افزایش میزان آل‌بومین، گلوبولین و پروتئین سرم بیشتر در ارتباط با تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی میزبان باشد (Wiegertjes *et al.*,

آنزیم‌هایی نظیر ALT، AST و ALP به‌طور وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرد. وقوع نکروز یا آسیب غشای سلول باعث رها شدن این آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود. افزایش سطح AST در سرم، آسیب کبد نظیر هپاتیت‌های ویروسی، انفارکتوس قلبی و صدمات عضلانی را نشان می‌دهد. ALT که تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند، برای کبد اختصاصی‌تر بوده و پارامتر مناسب‌تری برای تشخیص آسیب کبد می‌باشد. سطوح افزایش یافته آنزیم‌های سرمی حاکی از نشت سلولی بوده و نشانگر آسیب ساختار و اختلال عملکرد غشاهای سلولی در کبد می‌باشد (Drotman and Lawhan, 1987). ALT و AST جزء سرمی آنزیم‌های غیر عملکردی پلاسما هستند که به‌طور طبیعی در سلول‌های برخی از اندام‌ها از جمله کبد قرار گرفته‌اند. یکی از دلایل افزایش سطح سرمی این آنزیم‌ها ممکن است تغییر در نفوذپذیری غشای پلاسمایی سلول‌های کبدی یا صدمات سلولی حاصل از قرار گرفتن در معرض نانوذرات باشد. بنابراین پایش نشت آنزیم‌های کبدی به داخل خون، ابزار بسیار مفیدی در مطالعات آسیب کبدی با نانوذرات می‌باشد (Park et al., 2010). در سایر مطالعات، اثر نانو ذره اکسید آهن بر بافت و آنزیم کبدی نشان داد که غلظت بالای آن از نانو ذرات اکسید آهن می‌تواند اثرات نامطلوبی بر روی کبد داشته و باعث صدمه به بافت کبدی و افزایش سطح آنزیم‌های کبدی شود (Yousefi Babadi et al., 2013).

بررسی‌های بیشتر نشان می‌دهد که نانوذرات اکسید آهن در غلظت‌های بالای ۱۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنی‌داری در غلظت آنزیم ALT در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شوند (Yousefi Babadi et al., 2013). این آنزیم برای کبد اختصاصی بوده و آسیب سلول‌های کبدی باعث افزایش آزاد شدن این آنزیم می‌گردد. از این‌رو ممکن است دلیل افزایش این آنزیم تأثیر تخریبی نانوذرات اکسید آهن بر سلول‌های کبدی باشد. آمینوترانسفرازها شاخصی برای سلامت سلول‌های کبدی به‌شمار می‌روند و در مراحل اولیه تخریب کبد، آنزیم‌های سیتوپلاسمی هپاتوسیت‌ها احتمالاً از سلول‌ها به داخل جریان خون نشت می‌کنند و

اپتیمون در مقادیر پروتئین کل خون و آلبومین در مقایسه با تیمار شاهد افزایش مشاهده کردند. Jha و همکاران (۲۰۰۷) نیز افزایش معنی‌داری را در مقادیر پروتئین خون در ماهی *Catla catla* تغذیه شده با نوکلئوتید گزارش کردند.

آنزیم‌های کبدی به‌عنوان شاخص فعالیت کبدی محسوب می‌شوند و تغییر در میزان فعالیت و ترشح آن‌ها می‌تواند متأثر از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، تراکم، شرایط پرورشی، نوع جیره مصرفی، سن، جنس و وضعیت سلامت ماهیان باشد (Racicot et al., 1975). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر میزان AST و ALP سرم خون ماهی تأثیر معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که میزان این شاخص‌ها در اثر تیمارهای تغذیه شده با ملاس با افزایش غلظت ملاس، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ولی در تیمار در معرض نانو آهن این شاخص به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در تیمارهای ترکیب نانو آهن و ملاس میزان این شاخص نسبت به گروه شاهد و نسبت به گروه هم نوع خود، کاهش معنی‌داری داشته است، یعنی ملاس در ترکیب با نانو آهن توانسته اثر افزایشی نانو آهن را بهبود ببخشد. در مورد شاخص ALT نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر میزان ALT سرم خون ماهی تأثیر معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که میزان ALT سرم خون ماهی‌ها در اثر تیمارهای تغذیه شده با ملاس با افزایش غلظت ملاس، به‌طور معنی‌داری کاهش ولی در تیمار در معرض نانو آهن این شاخص به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در تیمارهای ترکیب نانو آهن و ملاس میزان این شاخص نسبت به گروه شاهد کاهش یافت، ولی نسبت به گروه ملاس هم نوع خود، افزایش معنی‌داری داشته است یعنی ملاس به تنهایی منجر به کاهش این شاخص شده ولی در ترکیب با نانو آهن نتوانسته اثر افزایشی نانو آهن را خنثی یا بهبود ببخشد. از آنجایی که کبد اندامی است که متابولیسم اولیه مواد غیر زیستی را انجام می‌دهد و با تغییر در ساختار مورفولوژیک این مواد، در برخی موارد، سم‌زدایی می‌نماید، تأثیر آلاینده‌گی فلزات به صورت افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک کبدی بروز می‌کند. به‌همین دلیل در ارزیابی آسیب کبد، سنجش سطوح

- trutta caspicus*. مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۴): ۱۳۲-۱۳۳.
- هدایتی ع.، جهانبخشی ع.، قادری رمازی ف. ۱۳۹۲. سم شناسی آبزیان، جلد اول، چاپ اول، ص ۷۰-۷۶.
- Chang Ya., Xia L., Zhang M., Zhang J., Xing G. 2012. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials* 5(12), 2850-2871.
- Christ-Crain M., Meier Cpuder J., Staub J., Huber P., Keller U. 2004. Changes in liver function correlate with the improvement of lipid profile after restoration of euthyroidism inpatients with subclinical hypothyroidism. *Experimental and Clinical Sciences: International Online Journal for Advances in Science* 3, 1-9.
- Diane W.C., Ignacio F.F., Erkki V., Norman C.S., Thomas J.C. 2003. Betaine improves growth, but does not induce whole body or hepatic palmitate oxidation in swine (*Susscrofa domestica*). *Comparative Biochemistry and Physiology A* 137, 131-140.
- Drotman R., Lawhan G. 1978. Serum enzymes are indications of chemical induced liver damage. *Drug and Chemical Toxicology* 1, 163-171.
- Gong P., Li H., He X., Wang K., Hu J., Tan W., Yang X. 2007. Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@ Ag nanoparticles. *Nanotechnology* 18(28), 285604.
- Jha A.K., Pal A.K., Sahu N.P., Kumar S., Mukherjee S.C. 2007. Haemato-immunological responses to dietary yeast RNA, ω-3 fatty acid and β-carotene in (*Catla catla*) juveniles. *Fish and Shellfish Immunology* 23, 917-927.
- Park E.J., Bae E., Yi J., Kim Y., Choi K., Lee S.H. 2010. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 30(2), 162-168.
- Racicot J. G., Gaudet M., Leray C. 1975. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salrno gairdneri Rich.*) with emphasis on their diagnostic use: study of CC1, toxicity and a case of *Aeromonas* infection. *Journal of Fish Biology* 7, 825-835.
- Riche M. 2007. Analysis of refractometry for determining total plasma protein in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) at various salinities.

نفوذپذیری غشاء افزایش می‌یابد. احتمالاً در اثر از دست دادن سلول‌های کبدی، این آنزیم‌ها در خون آزاد می‌شوند. بنابراین، افزایش این آنزیم‌ها نشان‌هایی از آسیب سلول‌های کبدی است که با نتایج آنزیمی بافت کبد در این مطالعه مطابقت دارد (Christ-Crain et al., 2004). به‌طور کل تفاوت در نتایج مطالعات پژوهشگران به عوامل مختلفی بستگی دارد، چرا که پارامترهای سرمی تحت تاثیر تعداد زیادی از عوامل درونی و بیرونی مانند گونه و نژاد، درجه حرارت آب، چرخه تولیدمثلی، نرخ متابولیک، سن، استرس، دوره‌های نوری، وضعیت تغذیه و روش استفاده در تعیین آن‌ها، قرار دارند. به‌طور کلی اتفاق نظر محققین بر این است که فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف با هم تفاوت داشته، ارتباط و وابستگی زیادی با شرایط محیطی، تغذیه‌ای و سن دارد (Ross and Ross, 1999). همچنین محیط زیست ماهیان و شرایط حاکم بر آن نظیر درجه حرارت، مواد غذایی و آلودگی‌ها بر مقادیر متابولیت‌ها و سلول‌های خونی تاثیر می‌گذارد (Bullis, 1993). نتیجه‌گیری کلی این پژوهش نشان داد که ملاس و نانواهن و ترکیب ملاس و نانواهن تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌های سرم خون داشتند به طوری که در تیمارهای ترکیب نانو آهن و ملاس میزان شاخص‌های ALP و AST نسبت به گروه شاهد و نسبت به گروه هم نوع خود، کاهش معنی‌داری داشته است یعنی ملاس مخصوصاً ملاس یک و دو درصد در ترکیب با نانو آهن توانسته اثر افزایشی نانو آهن را بهبود ببخشد ولی در بقیه‌ی شاخص‌ها ملاس نتوانست اثر افزایشی نانو آهن را خنثی کند.

منابع

- بیگی م. ۱۳۹۷. تاثیر سطوح مختلف ملاس چغندر (beet molasses) بر برخی شاخص‌های ایمنی موکوس، رشد و بقا در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۶۰ صفحه.
- محمودی ن.، عابدیان کناری ع. و سلطانی م. ۱۳۸۷. تاثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر شاخص‌های رشد، بقا و آنزیم‌های کبدی ماهی آزاد دریای خزر *Salmo*

- Aquaculture* 264, 279-284.
- Ross L.G., Ross B. 1999. Anesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 2nd edn. *Blackwell Science, Oxford, UK*. 22, 57 p.
- Soder K.J., Hoffman K., Brito A.F. 2010. Effect of molasses, corn meal, or a combination of molasses plus corn meal on ruminal fermentation of orchardgrass pasture during continuous culture fermentation. *Professional Animal Scientist* 26, 167-174.
- Wiegertjes G.F., Stet R.J.M., Parmentier H.K., Van Muiswinkel W.B. 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish; a comparable approach. *Development Comparative Immunology* 20, 365-371.
- Yousefi Babadi V., Najafi L., Najafi A., Gholami H., Beigi M.E. 2013. Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences* 23(4), 13226-13229.

Effect of beet molasses pre-treatment on serum immunity indices of common carp (*Cyprinus carpio*) in exposure to iron nanoparticles

Ruhollah Sheikh Veisi¹, Aliakbar Hedayati*¹, Ali Jaffer Nodeh², Habibollah Sanchuli², Sepideh Ghani², Tahereh Bagheri³

¹Department of Aquatics Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

²Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

³Agricultural Research Education and Extension Organization, Iranian Fisheries Science Research Institute, Offshore Research Center, Chabahar, Iran.

*Corresponding author: hedayati@gau.ac.ir

Received: 2019/5/7

Accepted: 2019/10/6

Abstract

This study aimed to investigate the protective effect of molasses pre-treatment on serum immunity indices of *Cyprinus carpio* exposed to iron nanoparticles. A total of 250 fish with an average weight of 25 ± 0.62 were divided into four treatments, including without molasses (treatment 1), diet containing 0.5% molasses (treatment 2), diet containing 1% molasses (treatment 3) and diet containing 2% molasses (treatment 4). After 42 days, three fish were taken from each replicate and presented as "no nanoparticles" in the results. Then fish were exposed to 50% of the lethal concentration of iron nanoparticles (96h LC50) for 14 days. After 14 days, three blood samples were taken from each replicate and presented as "nanoparticles" in the results. Blood samples were taken and serum was isolated to measure serum biochemical parameters, including hepatic enzymes (ALT, AST, ALP), glucose, total protein, immunoglobulin, albumin. The molasses treatments had a significant effect on serum immune parameters ($P < 0.05$). With increasing molasses concentration, levels of the serum total protein, immunoglobulin, albumin and glucose were significantly increased. In the treatment of nano iron and nano-iron with molasses, the amount of these indices significantly increased. AST and ALP levels significantly decreased by molasses-fed treatments, but significantly increased in nano-iron treatment in this treatment. In the treatment of nano-iron with molasses, the amount of this index decreased, but it increased significantly in comparison to the molasses group, which means that the molasses alone reduced the index, but in combination with nano-iron, it did not increase the effect of nano-iron, neutralize or even improve it. In the combination of nano-iron and molasses, the amount of ALP and AST indices significantly decreased, that means molasses in combination with nano-iron could improve the nano-iron supplementation, but in the remaining indices, molasses could not neutralize increase effect of nano-iron.

Keywords: Common carp fry, Iron, Beetroot, Blood immune indices..