Archive of SID

مقایسه اثر ذرات ارگوسان و نانو ذرات ارگوسان تهیه شده با روش‌های پرتوهای گاما و امواج اولتراسونیک بر شاخص‌های رشد و استرس قزل‌آلای رنگین‌کمان

محمدعلی نعمت اللهی*[1]، محمد ایزدی[1]، فرهود ضیائی[2]، علیرضا میرواقفی[1]، مرضیه حیدریه[2]، صدرا محمودی[1]

[1]گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

[2]پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران.

*نویسنده مسئول: malahi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۸/۸/۲۹

چکیده

این مطالعه به‌منظور ارزیابی و مقایسه تاثیر ذرات ارگوسان (آلژینیک اسید) و نانو ذرات ارگوسان تهیه شده به روش‌های گاما و التراسونیک در جیره، در سطح ۵ گرم در کیلوگرم جیره صورت گرفت. در این تحقیق شاخص‌های رشد، بقاء و پاسخ به استرس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در ۸ هفته بررسی گردید. ابتدا ذرات محرک ایمنی ارگوسان به دو روش گاما و التراسونیک به نانو ذرات آلژینیک اسید تبدیل شد. نانو ذرات آلژینیک اسید تولید شده به روش اولترا قطری حدود ۷۰ نانو متر و نانو ذرات تولید شده با روش پرتوهای گاما قطری حدود ۲۰ نانو متر داشتند. آزمایش با ماهیان به وزن متوسط ۹±۱۲۵ گرم درون مخازن ۳۰۰ لیتری با تراکم ذخیره‌سازی ۴۰ قطعه ماهی در هر مخزن در ۴ تیمار و سه تکرار انجام شد. غذادهی در حد سیری طی دوره پرورش و ۲ بار در روز انجام شد. نتایج تفاوت معنی‌داری را در شاخص‌های رشد مورد بررسی شامل وزن نهایی، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی نشان داد ($P<۰/۰۵$). از نظر میزان بقاء اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). با انجام تست استرس در انتهای دوره مشخص گردید مقدار کورتیزول به‌طور معنی‌داری نسبت به قبل از استرس افزایش یافت. اما کمترین پاسخ استرس مربوط به تیمارهای گاما و اولترا بود و به‌صورت معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بودند ($P<۰/۰۵$). درخصوص مقادیر گلوکز، اختلاف معنی‌داری در قبل و پس از استرس مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). نتایج نشان داد که اضافه کردن نانو محرک آلژینیک اسید تولید شده با روش پرتوهای گاما به جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان، اثرات معنی‌داری بر پارامترهای رشد و پاسخ به استرس داشته و به‌نظر می‌رسد در شرایط پرورشی و در محدوده وزنی ذکر شده، نانو محرک آلژینیک اسید می‌تواند برای این ماهیان مفید باشد.

واژگان کلیدی: نانو ذرات آلژینیک اسید (ارگوسان)، پرتوهای گاما، امواج التراسونیک، رشد.

مقدمه

ماهی‌ها در شرایطِ اسارت و یا در طبیعت در معرض عوامل استرس‌زای زیستی مختلف قرار دارند. آلاینده‌های محیطیِ و بیماری‌ها از جمله این عوامل محسوب می‌شوند. ماهی همچنین از لحاظ فیزیولوژیک نیز می‌تواند دچار شرایط استرس شود. به عنوان مثال در زمان تراکم بالا و زمانی که در معرضِ یک شکارچی قرار می‌گیرد. همانند دیگر مهره‌داران، ماهیانی که دچار استرس می‌شوند، یک پاسخ استرسی عمومی نشان می‌دهند که با افزایش در هورمون‌های استرسی و به دنبال آن تغییرات در سطوحِ فیزیولوژیک، فردی و جمعیتی اختصاص می‌یابد (Barton, 1997). چنین پاسخ استرسی عمومی در سطح سلولی نیز اتفاق می‌افتد که پاسخ استرسی سلولی نامیده می‌شود (Hightower, 1991). شرایط استرس‌زا موجب بروز یک سلسله وقایع به هم پیوسته می‌شود که با تاثیر بر سیستم‌هایِ عصبی و آنزیمی و اختلال در اعمال فیزیولوژیک، زمینه‌ی بروز بیماری در ماهی را فراهم می‌آورد (Soltani, 2007). کورتیزول و گلوکز شاخص‌های مناسب فیزیولوژیک جهت بررسی رخداد استرس در ماهیان می‌باشند و هنگام استرس مقدارشان افزایش می‌یابد (Schreck *et al*., 2001).

تنظیم کننده‌ها و تحریک‌کننده‌های ایمنی می‌توانند نقش مهمی در آبزی‌پروری داشته باشند. استفاده از آن‌ها سبب بهبود و افزایش پاسخ ایمنی غیراختصاصی علیه بسیاری از عوامل

www.SID.ir

Archive of SID

استرسی و بیماری‌زا می‌گردد. آکواوک ارگوسان (AquaVac ergosan) یک تنظیم کننده و تحریک کننده دستگاه ایمنی است که از جلبک‌های دریایی مشتق شده است. مواد فعال آن شامل آلژینیک اسید و پلی ساکاریدها است. ارگوسان یک محصول کاملاً طبیعی بوده و به‌عنوان یک افزودنی خوراکی پذیرفته شده است. آلژین‌های موجود در ارگوسان جذب فعال و انتقال اکسیژن را از غشاء سلول تحریک می‌کنند و در نتیجه متابولیسم سلول در سطح بالاتری انجام می‌شود؛ بنابراین سلول‌ها نقش مؤثرتر و توانایی بهتری خواهند داشت (Peddie *et al.*, 2002).

به‌عنوان یک اصل کلی کاربرد پلیمرهای قابل تجزیه دارای سه مشکل اساسی می‌باشند که شامل عملکرد، فرآوری و هزینه آن می‌باشد. مهمترین مشکل پلیمرها در محافظت مواد غذایی شامل ترد و شکننده بودن این مواد در جابجایی‌های مواد غذایی، مقاومت کم در مقابل گرما، نفوذپذیری بالا نسبت به گاز و بخار و مقاومتِ پایین نسبت به فرایندهای فرآوری مواد غذایی می‌باشد. اما با کاربرد فناوری نانو در این پلی‌مرها این مشکلات مرتفع گردیده است (Van hasselt *et al.*,2009).

در ابتدا واژه نانوتکنولوژی به تکنولوژی اطلاق می‌گردید که به سمت کنترل و مهندسی مواد در مقیاس نانومتر گرایش داشته است. اما در حالِ حاضر این واژه به دستکاری اتم به اتم مواد اطلاق می‌گردد. علم نانو به فرایندهایی اطلاق می‌گردد که منجر به تولید اطلاعات مهمی در مقیاس‌هایِ بسیار کوچک مثل نانو ($1nm=10^{-9}m$) می‌شود و نباید بیش از ۱۰۰ نانومتر حداقل در یک جهت باشد (Bao *et al.*, 2008) بسیاریِ از ترکیبات داروئی و پپتیدی که در سیستم ایمنی ماهیان به عنوان تقویت کننده سیستم ایمنی عمل می‌کنند در تیمار خوراکی در طول دستگاه گوارش تحت تأثیر عوامل مختلف تجزیه می‌شود و تأثیرات خود را از دست می‌دهد (Li *et al.*, 2008). این موضوع به‌خصوص در ماهیان گوشت‌خوار دو چندان می‌شود. چرا که دستگاه گوارش ماهیانِ گوشت‌خوار از نظر سیستم آنزیمی هیدرولیز کننده ترکیبات پروتئینی، بسیار قوی‌تر از ماهیانِ گیاه‌خوار می‌باشند؛ بنابراین استفاده از روشی برای فائق آمدن بر این مشکلات ضروری به نظر می‌رسد. از طرف دیگر نه تنها با استفاده از این نوع نانو ذرات می‌توان بر این مشکلات فائق آمد بلکه این نانوذرات دارای ویژگی‌های زیست محیطیِ مناسب، ضد باکتریایی و دیگر خواص می‌باشند که می‌تواند آثار مفید استفاده از این نانو ذرات را دوچندان کند. همچنین، امروزه در سیستم‌های آبزی‌پروری متراکم و فوق متراکم نقش استفاده از ترکیبات تقویت‌کننده سیستم ایمنی، اشتها آورها و دیگر ترکیبات افزودنی از طریق جیره غذایی بسیار مهم است که بسیاری از این ترکیبات در طی ساخت و نگهداری جیره، آب محیط پرورش آبزی و در طول عبور از لوله گوارش از بین می‌رود. اما مواد در مقیاس نانو، دارای نسبت سطح به حجم بیشتری است و به‌دلیل افزایش سطح تماس، بروز واکنش‌های شیمیائی در زمان کمتری به‌وقوع پیوسته و علاوه بر بالا رفتن احتمال جذب، موجبات کاهشِ تاثیر عوامل تجزیه‌ای را برای ماده فراهم می‌کند (Resnik *et al.*, 2007). بررسی نقش این ماده در چند مطالعه‌ی دیگر نشان دادند که استفاده از ارگوسان باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن نسبت به گروه شاهد شده است (Peddie *et al.*, 2005, Jeremy *et al.*, 2005). علت بهبود ضریب تبدیل غذایی توسط ارگوسان را چنین بیان می‌کنند که جلبک‌ها، انتقال فعال اکسیژن از غشای سلول‌ها را تحریک کرده، در نتیجه متابولیسم سلول‌ها در سطح بالاتری انجام می‌گیرد. ارگوسان باعث تقویت ایمنی شده و از این طریق، مقاومت به بیماری را در ماهی‌ها افزایش داده و در نتیجه باعث بهبود مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی می‌گردد (Peddie *et al.*, 2002; Peddie *et al.*, 2005; Bagni *et al.*, 2005; Jeremy *et al.*, 2005). نتایج تحقیق دیگری در ماهی آزاد نشان داد که ارگوسان درصد بقا، بازده غذایی و رشد را افزایش داده است. به‌نظر می‌رسد علت کاهش مرگ ناشی از افزودن ارگوسان افزایش عملکرد ژن‌های ایمنی مانند IL-8 سلول‌های β وهمچنین TNF-α در قزل‌آلا است (Wardle and Peddie, 2005; Peddie *et al.*, 2002). همچنین مطالعه دیگری نشان داد که تغذیه با ارگوسان باعث کاهش مرگ و میر، بعداز نقل و انتقال بچه ماهیان قزل‌آلا می‌شود (Jeremy *et al.*,

www.SID.ir

Archive of SID

2005). در تحقیقی گزارش شده که ارگوسان باعث افزایش سلول‌های β در لوکوسیت‌های گردش خون محیطی می‌شود (Bagni *et al*., 2005) و بدنبال آن کاهش مرگ‌ومیر ناشی از این سندرم می‌شود (ANON, 2006). در مطالعه‌ای دیگر که روی میگو پا سفید (*Litopenaeus vannamei*)، نتایج نشانداد که میگوها تغذیه شده با ارگوسان رشد بیشتری در مقایسه با گروه شاهد داشته است (Montero *et al*., 2006). تحقیقی که در ایران روی فیل ماهی صورت گرفت نشان داد که اضافه کردن ۶ گرم در کیلوگرم،ارگوسان در جیره‌ی غذایی می‌تواند باعث افزایش معنی دار رشد شود (Jalali *et al*., 2009).

بنابراین این مطالعه با هدف ارزیابی و مقایسه تاثیر ذرات ارگوسان (آلژینیک اسید) و نانو ذرات آلژینیک اسید تهیه شده به روش‌های گاما و اولتراسونیک در جیره، و اثر آنها بر رشد، بقاء و پاسخ به استرس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۷۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (با وزن متوسط ۷±۱۰۰گرم و طول ۱/۱±۱۸ سانتی‌متر) تهیه و جهت انجام سازگاری در تانک‌های ۳۰۰ لیتری ذخیره گردید. پس از سه هفته، از بین ماهیان سازگار شده تعداد ۴۰ قطعه ماهی با وزن متوسط ۹±۱۲۵ گرم در هر مخزن توزیع گردید. مخازن با یک ورودی و خروجی کاملاً مجزا آب و هواده مرکزی با یک انشعاب به ازای هر مخزن توزیع گردیدند. آب مورد نیاز طی آزمایش از سیستم لوله کشی سالن آبزیان پژوهشکده اتمی تامین گردید. آب مورد استفاده آب چاه و با خصوصیات فیزیکوشیمیایی pH: ۷/۶، دما: ۰/۵±۱۶ درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول ۰/۵±۸ میلی‌گرم در لیتر بود. آزمایش در یک طرح تصادفی در ۴ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. این تیمارها عبارت بودند از (الف) گروه شاهد، تغذیه بدون استفاده از ارگوسان، (ب) تیمار ذرات ارگوسان به مقدار gr/kg ۵، (ج) تیمار نانو ذرات ارگوسان تولید شده با استفاده از پرتوهای گاما به مقدار gr/kg ۵ و (د) تیمار نانو ذرات ارگوسان تولید شده با استفاده از امواج التراسونیک به مقدار gr/kg ۵.

به‌طور کلی در این مطالعه ابتدا ذرات ارگوسان از شرکت داروگستر با برچسپ تجاری Aqu Vac Ergosan تهیه گردید. حدود ۱ درصد ترکیبات موجود در ارگوسان شامل آلژنیک اسید می‌باشد. پس از آماده‌سازی مقدماتی که شامل ترسیب و تخلیص آلژینیک اسید بود، سپس با دو روش Ultra-sonic و Gamma Ray به نانوذرات ارگوسان تبدیل شد. نمونه‌های تولید شده با اضافه شدن به جیره غذایی به روش خوراکی به‌مدت ۵۶ روز (Jalali *et al*., 2009) مورد استفاده و آزمایش قرار گرفتند. تهیه غذا از شرکت غذای آبزیان بهپرور صورت گرفت و ذرات ارگوسان و نانو ذرات ارگوسان تهیه شده به انضمام محاسبه ۱۰ درصد هدر رفت در حین عمل آوری غذا با ترازوی دیجیتال توزین و پس از آماده‌سازی مقدماتی به غذا اضافه گردید. آنالیز تقریبی جیره غذایی پایه نشان داد که جیره غذایی پایه شامل ۴۳-۴۰ درصد پروتئین خام، ۱۳-۱۱ درصد چربی خام، ۲/۵ درصد فیبر و حداکثر ۰/۸ درصد فسفر قابل جذب و ۱۰ درصد رطوبت است. نحوه و میزان مصرف ارگوسان به‌صورت ۱۵ روز خوراک معمولی، ۱۵ روز خوراکی حاوی ۰/۵ درصد ارگوسان و نانو ذرات ارگوسان، ۱۰روزخوراک معمولی و ۱۵روز خوراکی حاوی ۰/۵ درصد ارگوسان بود.

آزمون استرس در هفته هشتم جهت بررسی تاثیر و مقایسه نانوذرات تهیه شده بر پاسخ‌های استرس، روی ۴ گروه آزمایشی انجام شد. مجموع عوامل استرس‌زا در این مدت با الهام از روش‌های بکارگرفته شده در تحقیقات سایر محققین انجام شد (Sadler *et al*., 2000). در ابتدا ماهیان توسط تور به مدت ۳۰ ثانیه بیرون آب بودند و سپس در تراکم ۳۰۰ گرم بر لیتر به‌مدت نیم ساعت در سبدهای پلاستیکی قرار داده شدند و در آخر با برداشتن سبدهای پلاستیکی تراکم ماهیان به شرایط نرمال رسید.

براساس طرح آزمایش‌های ارائه شده در انتهای آزمایش (روز ۵۶) و همچنین قبل از آزمایش، به‌طور تصادفی از هر تیمار ۹ قطعه ماهی (۳ قطعه ماهی از هر واحد آزمایشی) صید و با محلول پودر گل میخک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیهوش گردیدند. پس از خون‌گیری از ساقه دمی، خون بدست آمده به درون اپندورف ۲ میلی‌لیتری ریخته شد و با دستگاه میکروسانتریفیوژ با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه به

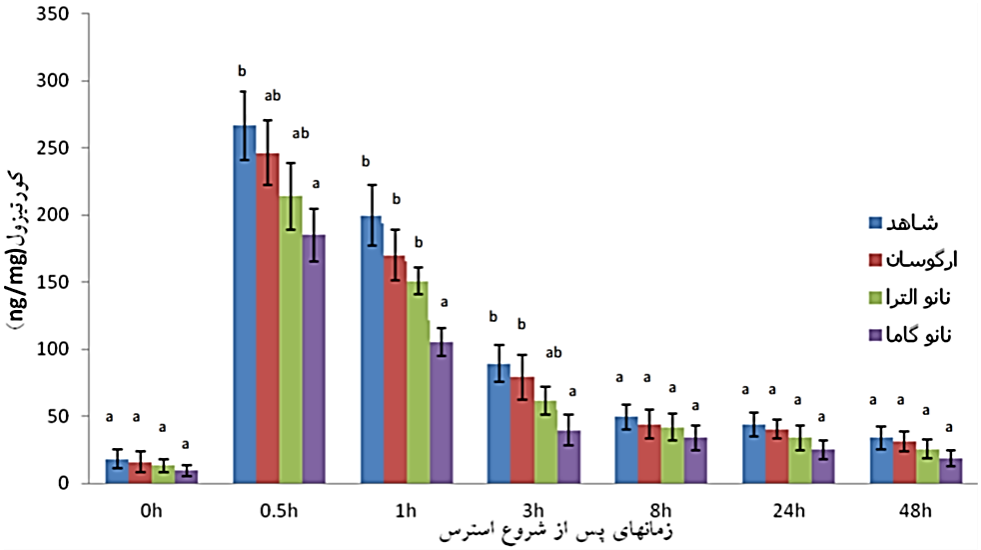
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ - نتایج شاخص‌های رشد قزل‌آلای تغذیه شده با آلژینیک اسید در تیمارهای مختلف دریک دوره ۵۶ روزه.

شاخص رشد/ تیمار	جیره پایه	ارگوسان	نانو التر	نانو گاما
متوسط وزن اولیه (گرم)	۱۲۸±۱۰	۱۲۷±۱۱	۱۲۹±۹	۱۲۸±۱۰
متوسط وزن ثانویه (گرم)	۲۱۸±۳۲^{c}	۲۱۸±۳۸^{c}	۲۲۴±۳۰^{b}	۲۲۹/۶۶±۳۹^{a}
افزایش وزن بدن (گرم)	۹۰±۱/۷۳^{c}	۹۱±۰/۵۷^{c}	۹۵±۱^{b}	۱۰۱/۶۶±۲/۳^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۳۴±۰/۰۵^{a}	۱/۲۷±۰/۰۵^{b}	۱/۲۵±۰/۰۵^{c}	۱/۱۹±۰/۰۵^{d}

میانگین ± SE سه تکرار، داده‌هایی در سطرها که فاقد حرف لاتین مشترک هستند دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P<۰/۰۵$).



شکل ۱ - تغییرات کورتیزول پس از اعمال استرس.

مدت ۱۵ دقیقه، پلاسما تهیه گردید. پلاسمای به‌دست آمده نیز تا انجام مراحل آزمایش‌های بیوشیمیایی در فریزر ۷۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. در زمان‌های شروع استرس (زمان ۰)، ۰/۵، ۱، ۳، ۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از استرس در هر مقطع از ۵ قطعه ماهی خون‌گیری شد. با جداسازی سرم خون، میزان کورتیزول و گلوکز سرم اندازه گیری گردید.

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی (Completely Randomized Design) برنامه ریزی و اجرا گردید. کلیه داده‌های در هر مرحله در نرم‌افزار (۲۰۱۰) Excel ثبت گردید. سایر داده‌ها پس از کنترل به وسیله Kolmogronov-Smirnov، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و تست Tukey به‌عنوان POST HOC، جهت مقایسه میانگین داده‌ها در سطح ۵٪ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل کلیه داده ها و عملیات مربوطه به وسیله نرم‌افزار SPSS انجام پذیرفت (SPSS 16.0, Chicago, IL).

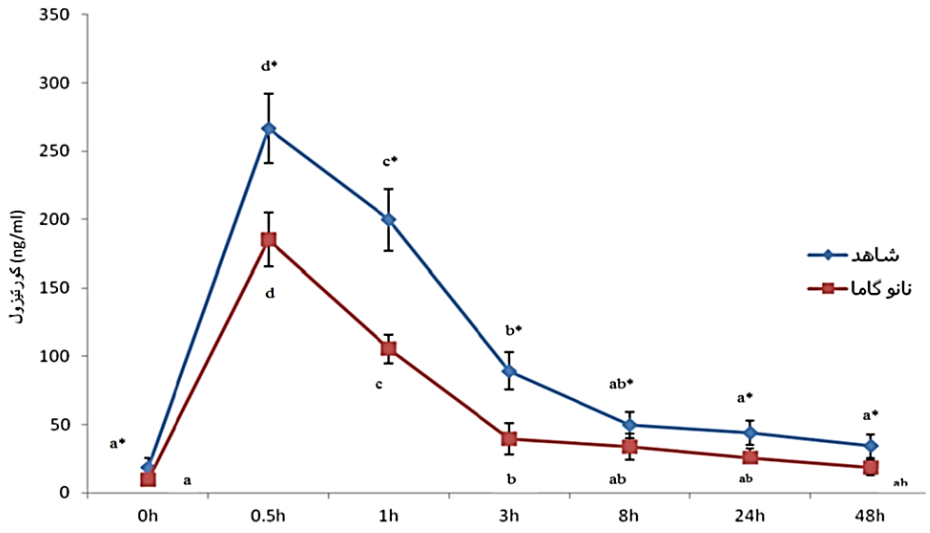
نتایج

جدول ۱ نتایج رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با مکمل محرک ایمنی ذرات ارگوسان و نانو ذرات ارگوسان گاما و الترا در جیره را طی دوره ۵۶ روزه نشان می‌دهد. پس از ۵۶ روز دوره پرورش، انجام بیومتری و کسب اطلاعات و بررسی شاخص‌های رشد و بازماندگی، حداکثر متوسط وزن ثانویه و افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، در تیمارهای ۳ و ۴ (جیره حاوی نانو ذرات آلژینیک اسید گاما و الترا) به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها (شاهد و ذرات ارگوسان) نشان داد ($P<۰/۰۵$). حداکثر افزایش وزن و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۴ مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت. تلفات در هیچ یک از تیمارها مشاهده نشد.

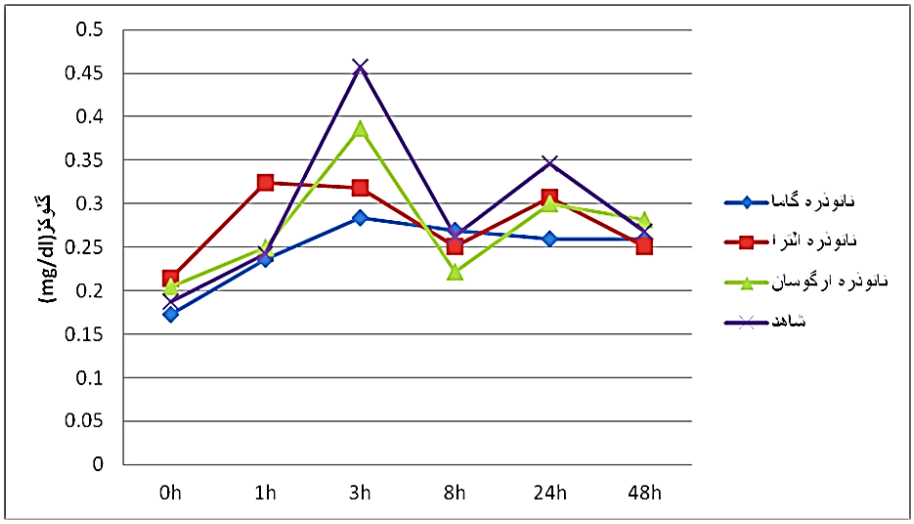
تغییرات شاخص‌های استرسی در تیمارهای مختلف در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. میزان کورتیزول پلاسما در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشت($P<۰/۰۵$). بیشترین میزان

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲ - تغییرات کورتیزول پس از اعمال استرس در دو تیمار شاهد و نانوگاما.



شکل ۳ - روند تغییرات گلوکز پس از اعمال استرس.

کورتیزول در گروه شاهد مشاهده شد و کمترین میزان کورتیزول در تیمار چهار (نانو گاما) مشاهده شد. همچنین میزان کورتیزول نیم ساعت بعد از زمان شروع استرس به حداکثر میزان خود و با گذشت ۴۸ ساعت به حداقل میزان خود پس از استرس رسید. بیشترین تغییرات میزان کورتیزول پلاسما در ماهیان نیم ساعت پس از انجام استرس در تیمار شاهد مشاهده شد. کمترین میزان کورتیزول در این زمان و زمانهای دیگر به‌ترتیب در تیمارهای گاما، الترا سونیک و ارگوسان مشاهده شد که تنها تیمار گاما در نیم، یک و سه ساعت پس از استرس با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). تیمارهای التراسونیک و ارگوسان نیز در زمان‌های مختلف پس از استرس نتایج بینابین شاهد و تیمار گاما را نشان دادند.

میزان گلوکز ماهیان که در شکل ۳ آمده است، نشان می‌دهد که گلوکوز در تیمارهای مختلف تغییر معنی داری نکرده است($P>۰/۰۵$). میزان گلوکز در تیمارهای مختلف بسیار نزدیک به هم بود و تنها میزان آن در تیمار شاهد اندکی بیشتر از سایر تیمارها بود.

بحث

در این تحقیق، کاربرد ارگوسان در جیره غذایی قزل-آلای رنگین‌کمان در سه شکل، ذره ارگوسان (تیمار ۲)، نانوذره ارگوسان الترا (تیمار ۳)، نانو ذره گاما (تیمار ۴) در سطح ۰/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق در هفته هشتم

www.SID.ir

Archive of SID

نشان داد که افزودن نانو ذرات محرک ارگوسان (آلژینیک اسید) الترا و گاما به جیره در سطح ۰/۵ درصد به ترکیب غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان منجر به افزایش معنی‌داری در وزن نهایی بدن و درصد افزایش وزن بدن در مقایسه با گروه شاهد و ذرات ارگوسان می‌شود. کاهش ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای ۲ و ۳ و ۴ نسبت به گروه شاهد معنی-دار بود. همچنین بین تیمارهای ۲، ۳ و ۴ نیز معنی-دار بود. به‌طوری‌که تیمارهای ۴ و ۳ و ۲ و ۱ به‌ترتیب کمترین ضریب تبدیل غذایی را داشتند. در هیچ یک از تیمارها تلفات مشاهده نشد. مطالعات گوناگون بر گونه‌های مختلف نشان دهنده‌ی اثرات مثبت آلژینات جیره در رشد ماهیان است. Jermy و همکاران (۲۰۰۵) علت بهبود ضریب تبدیل غذایی توسط ارگوسان را چنین بیان کرده اند که ارگوسان انتقال فعال اکسیژن را از غشای سلولی تحریک می‌کند که در نتیجه متابولیسم سلول‌ها در سطح بالاتری انجام می‌پذیرد. نتایج تحقیقات فوق در ارتباط با افزایش رشد با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. این فرضیه مطرح است که اثر افزایش رشد متاثر از محرک‌های ایمنی در نتیجه بهبود جذب در مراحل ابتدایی رشد، بلع غذایی سریع‌تر که تراوش مواد غذایی به آب را کاهش می‌داد و یا احتمالاً به خاطر نقش آن در متابولیسم است (Nüssler and Thompson, 1992). گزارش شده است که میگوهای ببری در تغذیه با غذای مکمل حاوی پپتیدوگلیکان ضریب تبدیل غذایی بهتری را نسبت به آن‌هایی که با غذای معمولی تغذیه شدند، داشته‌اند (Boonyaratpalin *et al*., 1995). آثار مدت زمان تغذیه با جیره غذایی حاوی بتا β گلوکان حاصل از مخمر و آلژنیک اسید (ارگوسان) در ماهی باس نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در فاکتورهای رشد، بقا و ضریب تبدیل غذایی بین گروه تیمار و شاهد در دوره کوتاه‌مدت (۱۵ روز جیره حاوی ۵ درصد بتاگلوکان) بود است. ولی در بررسی بلندمدت (۲۴۰ روز پس از پایان ۴ سیکل تغذیه از ارگوسان) اگرچه ضریب رشد ویژه اختلافات زیادی در طی دوره آزمایش نشان داد، ولی این اختلاف، همانند سایر فاکتورها معنی‌دار نبود (Bagni *et al*., 2005). در دو ماهی آزاد اطلس و *Dentex dentex* نیز استفاده از ارگوسان در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد بیشترین رشد را نشان داده است. بنابراین مواد محرک ایمنی طی فصول سرد که دمای آب پایین بوده و ماهی تغذیه نمی‌کند، می‌تواند اثر مثبتی داشته باشد (Bagni *et al*., 2005).

یکی از مکانیسم‌های ممکن در ارتباط با اثرات سودمند ارگوسان جیره بر پاسخ‌های فیزیولوژی ماهی نظیر کارایی رشد احتمالاً به اثرات منع کنندگی ارگوسان از رهاسازی کورتیزل ناشی از استرس برمی-گردد (Montero *et al*., 2005). در رابطه با با نتایج به‌دست آمده میتوان این فرضیه را مطرح کرد که آلژینات‌های موجود در ارگوسان باعث افزایش فعالیت سوخت و ساز سلولی و تنفس سلولی و در نتیجه منع کننده آزاد سازی کورتیزول ناشی از استرس می‌گردد، همچنین کمک به تعادل یونی نیز می‌تواند به‌عنوان یک فرضیه مطرح گردد. برای اثبات این فرضیه باید مطالعات دیگری در راستای بررسی بافت درگیر از جمله کلیه و آبشش صورت گیرد. استرس باعث افزایش فعالیت‌های متابولیک و در نتیجه مصرف انرژی گردیده که این انرژی می‌توانست صرف دیگر فعالیت‌های حیاتی گردد. تحقیقات نشان داده است که ۲۵ درصد از انرژی مورد نیاز جهت انجام فعالیت-های حیاتی صرف واکنش و پاسخ نسبت به استرس-های ملایم می‌گردد و مسلماً هرچه استرس شدیدتر شود، انرژی مصرفی نیز افزایش می‌یابد (Montero *et al*., 2005).

استرس بهم خوردن هموستازی بدن تحت تاثیر محرک خارجی تعریف شده است و اولین مرحله پاسخ جانور به استرس تغییر در سیستم غدد درون-ریز می‌باشد (Mcleay and Wedemayer, 1981; Van Der Kraak and Pankhurst, 1997). در پاسخ به استرس، آلاینده‌ها و نیز شرایط اکولوژیک و فیزیولوژیک، تغییرات زیادی در ترکیبات خون ماهی همچون نوسان‌هایی در سطوح هورمون‌های پروتئین‌ها، قند، کلسترول و دیگر ترکیبات پایه‌ای رخ می‌دهد (Bahmani *et al*., 2001). واضح است که محیط زندگی ماهی‌ها و شرایط پرورش و زندگی آن-ها، محتویات متابولیتی در خون آن‌ها را تحت تاثیر خود قرار می‌دهد (Bullis, 1993).

مجموع تغییرات فیزیولوژیک که در زمان مواجهه ماهی با تغییرات فیزیکی، شیمیایی و زیست‌شناختی

www.SID.ir

Archive of SID

به‌عنوان واکنش به وقوع می‌پیوندد و ماهی در جهت جبران آن و سازش تلاش می‌کند، به‌طور متداول به عنوان واکنش در برابر استرس نامیده می‌شود. فاکتورهای مختلفی مانند رژیم غذایی، نوع گونه، سن، جنس و روش نگهداری نقش مهمی در روند و شدت بروز پاسخ‌های فیزیولوژیک به‌وسیله ماهیان در زمان بروز استرس دارند (Barton and Iwama, 1991).

تحت شرایط استرس، ACTH (Adrenocorticotropic Hormone) مترشحه از هیپوتالاموس به قسمت قدامی کلیه وارد و با تحریک سلول‌های بین کلیوی سبب ترشح کورتیزول می‌شود (Schreck *et al*., 2001). همچنین، کاتکولامین با تاثیر بر کبد سبب القائ گلیکونئوژنز می‌شود، که این امر منجر به متابولیزه شدن گلوکز گشته و در نتیجه میزان گلوکز سرم افزایش می‌یابد (Rottland and Tort, 1997). اگر چه کورتیزول از جمله هورمون‌هایی است که به‌نظر می‌رسد نقش مهمی در رشد ماهیان ایفا می‌نماید، اما افزایش بیش از حد طبیعی آن منجر به کاهش رشد می‌گردد. به‌طوری که بررسی‌های بر روی گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان می‌دهد که ارتباط مستقیمی بین کورتیزول و تغییرات ایجاد شده به‌وسیله استرس بر رشد وجود دارد (Barton *et al*., 1985; Davis *et al*.,1987). همچنین بررسی‌های صورت گرفته نشان می‌دهد از جمله مهمترین اثرات استرس روی رشد ماهیان کاهش مصرف غذا و در نتیجه کاهش رشد در آن‌ها است که این مساله در مورد استرس‌های حاد نظیر دستکاری و نگهداری در اسارت به اثبات رسیده است (McCormick *et al*., 1998). کورتیزول با القای تأثیرات منفی برروی هورمون‌های آنابولیک، جلوگیری از سنتز پروتئین‌ها و کاتابولیسم آن‌ها باعث کاهش رشد در ماهیان می‌باشد (Carey and McCormick, 1998).

میزان سطوح هورمون کورتیزول در حالت طبیعی در آزاد ماهیان طبق گزارش Pottinger و Carrick (۲۰۰۱) برابر ng/ml ۱۰-۱ می‌باشد. در گزارش‌هایی این میزان قبل از شروع استرس ng/ml ۳۰-۱۰ نیز گزارش شده است. در تحقیق حاضر میزان میانگین کورتیزول در ماهیان قبل ۱۸-۸ ng/ml می‌باشد. علی‌رغم تراکم بالای ماهیان در این تحقیق، نشان دهنده شرایط مطلوب برای ماهیان مورد آزمایش است.

به نظر می‌رسد که جذب نانو ذرات آلژینیک اسید از سطح مخاط دستگاه گوارش با مکانیسم پینوسیت باعث افزایش جذب و در نتیجه باعث افزایش کارایی نانوذرات محرک ایمنی آلژینیک اسید می‌شود. تاکنون تحقیقی در زمینه استفاده از نانو محرک در آبزی پروری ارائه نشده و نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند به عنوان یک مطالعه مبنایی مورد استفاده قرار گیرد. در نهایت با توجه به موضوعات بحث شده و همچنین نتایج می‌توان به این نتیجه رسید که استفاده از اشکال محرک ایمنی ارگوسان (ذره، نانو الترا و گاما) در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در انتهای دوره باعث افزایش رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش توانایی ماهی در برابر استرس گردید و بهترین شکل بکارگیری ارگوسان به‌صورت نانو گاما است.

منابع

Affonso E., Polez V., Correa C., Mazon A., Araujo M., Moraes G., Rantin F. 2002. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 133, 375-382.

Bogé G., Roche H. 1996. Cytotoxicity of phenolic compounds on *Dicentrarchus labrax* erythrocytes. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 57, 171-178.

Anon, 2006, clinical study: Reducation of mortality caused by rainbow trout fry syndrome (RTFS) www.thefishsite.com/ 22feb.

Bagni M., Romano N., Finoia M.G., Abelli L., Scapigliati G., Tiscar P.G. 2005: Short-and long- term effects of a dietary yeast beta-glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass. *Fish and Shellfish Immunology*, 18, 311-325.

Barton B.A. 1997. Stress in finfish: Past, present, and future a historical perspective. In: G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter, C.B. Schreck (eds.), Fish stress and health in aquaculture, Cambridge University Press, Cambridge. pp. 1-34.

Boonyaratpalin, M., Supamataya K., Toride Y. 1995. Effect of peptidoglucan (PG) on

www.SID.ir

Archive of SID

growth, survival, immune responses and tolerance to stress in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, In: Shariff. M., Subasighe, R.P., 2nd, Diseases in Asian aquaculture Symposium; Phuket; Thailand pp. 469-477.

Hightower L.E. 1991. Heat shock, stress proteins, chaperones and proteotoxicity. *Cell* 66, 191-197.

Jalali M.A, Ahmadifar E., Sudagar M., AzariTakami Gh. 2009. Growth efficiency, body composition, survival and haematological changes in great sturgeon (*Huso huso Linnaeus, 1758*) juveniles fed diets supplemented with different levels of Ergosan. *Aquaculture Research* 40, 804-809

Jerem F., Robin W., Chris G., Loredana L. 2005. The use of immuno-modulators against disease and stress in trout. *Aquaclture Vaccines* 12, 243-249.

Li B., Wang X., Chen R., Huangfu W. 2008. Antibacterial activity of chitosan solution against Xanthomonas pathogenic bacteria isolated from Euphorbia pulcherrima. *Carbohydrate Polymers* 72, 287-292.

Montero R.A., Mcintosh D., Sanchez R., Felores I. 2005. Immunostimulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following dietary administration of Ergosan. *Journal of Invertebrate Pathology* 91, 188-194.

Nüssler A.K., Thompson A.W. 1992. Immunomodulatory agents in the laboratory and clinic. *Journal of Parasitology* 105: 5-23.

Peddie S., Zou J., Secombes C.J. 2002: Immuno stimu lation in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following intraperitoneal administration of Ergosan. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 86, 101-113.

Peddie S., Wardle,R. 2005. AquaVac Ergosan enhances growth and survival in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tschawytscha*). (Schering- Plough Animal Health Corporation, Aquaculture Business Unit).

Pottinger T.G., Carrick T.R. 2001. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. *Hormones and Behavior* 40, 419-427.

Rottland J., Tort L. 1997. Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red oorgy previously subjected to crowding stress. *Journal of Fish Biology* 51, 21- 28

Sadler J., Wells R.N.G., Pankhurst P.M., Pankhurst N.W., 2000. Blood oxygen transport, rheology and haematological

responses to confinement stress in diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 184, 349-361.

Schreck C.B., Contreras-Sanchez W., Fitzpatrick M.S. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality and progeny. *Aquaculture* 197, 3-24.

Soltani M. 2007. Fish and shellfish Immunology. University of Tehran Press, 264 p. (In Persian).

Van Hasselt P.M, Janssens G.E.P.J., Slot T.K., van der Ham T.C. Minderhoud M., Talelli L.M., Akkermans C.J.F., Rijcken C.F., van Nostrum F. 2009. The influence of bile acids on the oral bioavailability of vitamin K encapsulated in polymeric micelles, *Journal of Controlled Release* 133, 161-168.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparison between of effect of Ergosan particles and nano-particles as produced by using Gamma rays and ultrasonic waves on the growth and stress parameters indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Mohammad Ali Nematollahi[*1], Mohammad Izadi[1], Farhood Ziaie[2], Alireza Mirvaghefi[1], Marzieh Heidarieh[2], Sadra Mahmoodi[1]

[1]Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
[2]Nuclear Sciences and Technology Research Institute, Karaj, Iran.
*Corresponding author: malahi@ut.ac.ir
Received: 2019/6/3 Accepted: 2019/11/20

Abstract

This study was conducted to evaluate and compare the effect of Ergosan particle (Alginic acid) and Alginic acid nanoparticles produced by gamma radiation and ultrasonic wave method in the diet, with the dose of 5 mg/kg. In this research, growth, survival and response to stress were studied in rainbow trout for a period of 8 weeks. The Ergosan immunity-stimulating particles were converted to Alginic acid nanoparticles (Ergosan) by gamma radiation and ultrasonic waves methods. Alginic acid nanoparticles produced by ultrasonic waves had diameter of 70 nm and those produced by gamma radiation had a diameter of 20 nm. The fish with an average weight of 125±9 gr were kept in 300-liter tanks with a storage density of 40 fish in each tank in 4 treatment and 3 replication. The fish were fed ad libitum twice a day. The results showed significant differences in indices under consideration including growth, final weight, weight gain and FCR (P<0.05). There was not any significant difference between treatments in survival rate (P>0.05). The stress test at the end of the treatment period showed that the mean cortisol levels significantly increases, but gamma and ultra-treatments had the lowest response to stress which was significantly lower than control groups (P<0.05). There was no significant difference in glucose levels before and after stress (P>0.05). The results showed that adding nano stimulating Alginic acid produced by gamma radiation to rainbow trout diet, has significant effects on growth and response to stress. It appears that in cultural conditions and weight range mentioned in this study, nano stimulating Alginic acid could be useful for the fish.

Keywords: Alginic acid (Ergosan) nanoparticles, Gamma radiation, Ultrasonic waves, Growth.

www.SID.ir