

آیا تغذیه با جیره حاوی آستاگزانتین می‌تواند منجر به بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی پرت (*Cichlasoma synspilum* ♀ × *Cichlasoma citrinellum* ♂) در مواجهه با نانو ذرات نقره محلول در آب شود؟



امین مخلص آبادی فراهانی، سالار درافشان*، فاطمه پیکان حیرتی و عیسی ابراهیمی

ایران، اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۲۵

چکیده

هدف از این مطالعه بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما خون ماهی پرت در مواجهه با تنش نانو ذرات نقره محلول در آب با استفاده از جیره غنی‌شده با آستاگزانتین به‌تنهایی یا توأم بانمک صفراوی بود. ۲۰۰ قطعه ماهی پرت در سه تیمار، شامل تیمارهای شاهد، آستاگزانتین، آستاگزانتین-نمک صفراوی به مدت ۹۰ روز تغذیه شدند. ماهیان سپس به مدت پنج روز در معرض $250 \mu\text{g/L}$ نانو ذرات نقره محلول در آب قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پس از تغذیه با جیره حاوی آستاگزانتین به‌تنهایی، سطح تمام آنزیم‌های اکسیداتیو پلاسما در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی کاهش یافت ($P < 0.05$). تنش نانو ذرات نقره منجر به افزایش سطح آنزیم‌های اکسیداتیو پلاسما در ماهیان گروه شاهد شد اما چنین افزایشی در ماهیان تغذیه‌شده با آستاگزانتین مشاهده نشد ($P > 0.05$). پس از دوره تغذیه ۹۰ روزه، سطوح آنزیم‌های کبدی آسپارات ترانس آمیناز و آلانین ترانس آمیناز در تیمار آستاگزانتین-نمک صفراوی پایین‌تر از سطوح این آنزیم‌ها در ماهیان سایر گروه‌های آزمایشی بود ($P < 0.05$). پس از تنش نانو ذرات نقره سطح دو آنزیم مذکور در تیمارهای شاهد و آستاگزانتین، به‌طور محسوسی کاهش یافت. با این وجود تغییر محسوسی در تیمار آستاگزانتین-نمک صفراوی مشاهده نشد ($P > 0.05$). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از آستاگزانتین به‌تنهایی یا در تلفیق بانمک صفراوی می‌تواند باعث بهبود شاخص‌های اکسیداتیو و بیوشیمیایی پلاسما خون ماهی پرت در مواجهه با نانو ذرات نقره شود، اثرات تقویت‌کننده نمک صفراوی بر اثر بخشی آستاگزانتین در برخی شاخص‌ها مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: ماهی پرت، آستاگزانتین، تنش اکسیداتیو، نانو ذرات نقره

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۳۳۹۱۳۵۸۰، پست الکترونیکی: sdorafshan@cc.iut.ac.ir

مقدمه

به‌صورت تقریبی در نظر گرفته می‌شود و مطالعات تجربی و دقیقی کمتر صورت گرفته است که این میزان در حدود ۲ الی ۷۲ درصد می‌باشد و این نشان‌دهنده یک مشکل عمده و جدی در صنعت ماهیان زینتی می‌باشد، با این وجود تحقیقات بسیار کمی در این رابطه صورت گرفته است. از جمله تنش‌هایی ماهیان زینتی در معرض آن قرار می‌گیرند، کیفیت پایین آب و وجود فلزات سنگین از جمله نانو ذرات

ماهیان زینتی حیوانات خانگی محبوبی هستند که دارای بیش از ۴۵۰۰ گونه آب شیرین و ۱۴۵۰ گونه آب‌شور می‌باشد. تجارت ماهیان زینتی برای خیلی از کشورها مهم می‌باشد (۳۱). یکی از ماهیان محبوب زینتی ماهی پرت خونی است که از دگرآمیزی دو گونه (*Cichlasoma citrinellum* و *Cichlasoma synspilum*) تولید می‌شود (۳۵). میزان تلفات ماهیان زینتی اغلب

نقره در منابع آبی می‌باشد (۳۱).

نانو ذرات نقره، ذرات کوچکی با قطر کوچک‌تر از ۱۰۰ نانومتر هستند. نانو ذرات به دلیل اندازه کوچک، دارای سطح وسیع و اتم‌های فوق متراکم هستند. یک نانو نقره با ابعاد ۹ نانومتری در حدود ۲۴۰۰۰ اتم نقره دارد. نانو مواد نقره از پرکاربردترین نانو مواد در پروژه‌های نانوفناوری هستند و یک پنجم محصولات تولیدی را به خود اختصاص می‌دهند. آنها به دلیل داشتن خواص ضد میکروبی قوی، در محصولاتی مانند جوراب، باندها، فیلتر هوا، قوطی ذخیره غذا، وسایل آرایشی، ظروف آشپزخانه، اسباب‌بازی و صفحه‌کلید کامپیوترها کاربرد دارند. نانو ذرات نقره برای از بین بردن باکتری‌ها در دمای پایین استفاده می‌شود که در اصطلاح به آن لباس‌شویی نانو نقره (Nano Silver Washing Machine) گفته می‌شود (۱۷). با افزایش تولید محصولات نانو، خطر آزاد شدن نانو ذرات نقره به سیستم فاضلاب و سرانجام ورود به رودخانه، نهر و دریاچه به یک نگرانی تبدیل شد. نتایج مدل‌سازی‌ها نشان داد که بیشتر از ۱۵ درصد نقره به‌صورت یون نقره یا نانو ذرات نقره از پلاستیک‌های ضد میکروب و منسوجات وارد آب‌ها می‌شود. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که نانو ذرات نقره به‌راحتی از جوراب‌های حاوی آنها در طی فرایند شستشو آزاد می‌شود. اگر این مواد به‌درستی مدیریت نشوند، سبب اختلال در عملکرد تصفیه فاضلاب و تجمع حجم وسیع در پساب حاصله می‌شوند (۱۷). نانو ذرات نسبت سطح به حجم بالایی دارند که در همین راستا باعث می‌شود سرعت واکنش‌پذیری بالایی با غشاء سلولی داشته باشند و تولید رادیکال‌های آزاد کنند. مشکل مهمی که موجودات تکامل یافته با مولکول اکسیژن دارند، ناشی از ROS است. اختلال در روند اکسیداسیون ممکن است از طریق تولید پراکسیدها و رادیکال‌های آزاد آسیب اکسیداتیو ایجاد کند که طی آن به تمام اجزاء سلول از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA آسیب وارد می‌شود. به‌عبارت‌دیگر عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش اکسیدان‌ها را

استرس اکسیداتیو می‌نامند. این پدیده ممکن است به صدمه دیدن بیومولکول‌ها منجر شود و در نتیجه ادامه حیات موجود زنده را به خطر اندازد. مکانیسم دفاع آنتی‌اکسیدانی در ماهی شامل سیستم آنزیمی و آنتی‌اکسیدان‌ها با وزن مولکولی پایین مشابه پستانداران است. اگرچه سیستم ایزوفرم‌های خاص آنزیم‌ها در گونه‌های مختلف ماهی به‌خوبی مشخص نشده‌اند (۱۸). سیستم‌های دفاعی که به جلوگیری از شکل‌گیری اکسی‌رادیکال‌ها گرایش دارند شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، و مالوندی‌آلدئید می‌باشد. گلوکاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به‌صورت حیاتی در سم-زدایی رادیکال‌ها به مولکول‌های واکنش‌ناپذیر اهمیت دارند. در اکوسیستم‌های آبی، اکسیژن محلول و دما متغیرهای محیطی هستند که بر فرآیندهای اکسیدی تأثیر می‌گذارند. این متغیرها باید با دقت در بررسی‌های آزمایشگاهی با استرس اکسیدی کنترل شوند. 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 تبدیل شده است (۱۰). کاروتنوئیدها، آنتی‌اکسیدان‌های زیستی قوی هستند که انرژی تحریکی اکسیژن منفرد را جذب می‌کند و باعث تخریب مولکول کاروتنوئید می‌گردند، و به این طریق از تخریب مولکول‌های زیستی در دیگر بافت‌ها جلوگیری می‌کند (۱۳). 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 کاروتنوئید است که در حفاظت از فسفولیپیدهای غشایی و لیپیدهای دیگر در برابر اکسیداسیون مؤثر است. آستاگزانتین یک مکمل غذایی با پایه چربی و وزن مولکولی ۵۹۶/۸ دالتون و فرمول مولکولی $C_{40}H_{52}O$ ، در آب غیرمحلول و چربی‌دوست

است (۳۰). حیوانات توانایی تولید آستاگزانتین را ندارند و این نیاز خود را از طریق جیره تأمین می‌کنند. میزان جذب کارتنوئیدها در میان آبزیان متفاوت است و بستگی به نوع گونه، طول دوره تغذیه، غلظت کارتنوئید، وزن و سن ماهی مورد مطالعه دارد، به‌عنوان مثال قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن متوسط ۴۰۰ گرم تنها ۴ درصد از کارتنوئید موجود در جیره را جذب کرده است (۲۲). باتوجه 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 صفاوری می‌تواند فرآیند امولسیون‌شدگی چربی‌ها را تسهیل نماید و میزان جذب ترکیبات با پایه چربی را در روده کوچک افزایش دهد (۱۹). چربی‌ها ابتدا در روده کوچک به شکل آزاد به کمک انتقال‌دهنده‌های لیپوپروتئینی جذب خون می‌شوند. دراین مرحله آستاگزانتین موجود در جیره غذایی، آزاد و وارد سیستم گوارش می‌شود (۱۱). نمک صفاوری می‌تواند این فرآیند را افزایش و تسریع نماید (۲۸). یکی از این نمک‌های صفاوری، ترکیب Sodium Taurocholate با فرمول شیمیایی $C_{26}H_{44}NNaO_7S$ است که به هضم و جذب چربی‌ها کمک می‌کند طی آن فرآیند جذب آستاگزانتین را بیشتر و سریع‌تر می‌شود (۳۵).

هدف از این مطالعه بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی پرت در مواجهه با تنش نانو ذرات نقره محلول در آب با استفاده از جیره غنی‌شده با آستاگزانتین و آستاگزانتین-نمک صفاوری به‌عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدانی مرسوم در پرورش آبزیان بود. از این‌رو در این فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما خون ماهی‌های تغذیه‌شده با آستاگزانتین و آستاگزانتین-نمک صفاوری قبل و بعد از قرارگرفتن در معرض تنش نانو نقره، مورد بررسی قرارگرفت.

مواد و روشها

۲۰۰ قطعه ماهی پرت با میانگین وزنی $25/5 \pm 6/2$ گرم و میانگین طولی $6/34 \pm 0/43$ سانتی‌متر به مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند. برای این آزمایش، سه تیمار شامل تیمار شاهد، تیمار تغذیه‌شده با ۴ گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین و تیمار تغذیه‌شده با ۴ گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نمک صفاوری بر مبنای نتایج یانگ و همکاران در سال ۲۰۱۲ مورد استفاده قرارگرفتند (۳۵). ماهیان تحت آزمایش به مدت ۹۰ روز با جیره‌های تعیین‌شده روزانه ۳ بار (۸ و ۱۲ و ۱۶) به میزان ۲ درصد وزنی تغذیه شدند. ترکیبات جیره پایه برحسب درصد شامل پودر ماهی ۲۱/۱۶، سویا ۲۱/۱۶، کلزا ۱۵/۸۷، ذرت ۲۴/۹۳، جو ۱۱/۱۲، روغن آفتاب‌گردان ۰/۵، مکمل‌های معدنی (مکمل معدنی ساخت شرکت خوراک دام و آبزیان مازندران، ایران) آهن ۲۱/۶۲ درصد، روی ۳۶/۰۵ درصد، سلنیوم ۰/۰۷ درصد، کبالت ۰/۳۶ درصد، مس ۲۱/۶۳ درصد، منگنز ۱۸/۰۲ درصد، ید ۲/۱۶ درصد، کولین کلراید ۰/۰۴ درصد) و مکمل‌های ویتامینی (مکمل ویتامینی ساخت شرکت ارس بازار، ایران) محتوای ویتامین‌های A ۱۵/۲۴ درصد، D₃ ۳/۰۴ درصد، K₃ ۰/۶۰ درصد، E ۳/۰۴ درصد، B₁ ۶/۰۹ درصد، B₂ ۰/۹۱ درصد، B₆ ۰/۹۱ درصد، C ۳۰/۴۸ درصد، کلسیم پنتوتنات ۹/۱۴ درصد، متیونین ۱۸/۲۹ درصد، سیستین ۹/۱۴ درصد). هرکدام ۲/۳۸ درصد بود و از آستاگزانتین ساخت شرکت BASF آلمان و نمک صفاوری ساخت شرکت Fulka آمریکا استفاده شد. میزان پروتئین خام جیره ۳۷/۴۷ درصد، چربی خام ۳۷/۰۳ درصد، رطوبت ۳/۸۳ درصد و فیبر خام ۳/۳۶ درصد و میزان انرژی جیره ۲۰/۰۳ کیلوژول بر هر گرم جیره بود (۲۹).

در این آزمایش از نانو ذرات نقره ساخت شرکت Nanocid Colloid ایران استفاده شد و مشخصات آن به این شرح بود میزان غلظت 2000 mg/L ، اندازه ذرات (قطر هیدرودینامیکی) $163/5 \text{ nm}$ الی $3/9$ ، میانگین قطر هیدرودینامیکی $54/8 \text{ nm}$ ، خلوص ۱۰۰ درصد و قطر بیشینه 129 nm بود (۴). در ابتدا به دلیل مشخص نبودن

استفاده شد (۲۰). اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) از روشیتربورن و همکاران (۱۹۷۵) (۳۳) و برای آنزیم مالون دی آلدئید (MDA) از روش ورتینگتون (۱۹۹۳) استفاده شد (۳۴).

آنزیم‌های کبدی پلاسما: سنجش اسپاراتات ترانس آمیناز (AST) اسپاراتات ترانس آمیناز موجود در پلاسما بر پایه رنگ انجام شد. اساس این روش تبدیل استارات به گلوتامات در نهایت به مالات است. قرائت و اندازه‌گیری نمونه‌ها با کمک دستگاه اتوانالایزر (TechniconRA-1000, USA) و در طول موج ۳۴۰ نانومتر انجام شد. برای سنجش آلانین ترانس آمیناز (ALT) میزان آلانین ترانس آمیناز موجود در پلاسما از روش رنگ‌سنجی و با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون بود. قرائت نمونه‌ها با کمک دستگاه اتوانالایزر و در طول موج ۳۴۰ نانومتر انجام گردید. برای سنجش آلکانین فسفاتاز (ALP) نیز از روش رنگ-سنجی براساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به فسفات استفاده شد. این آزمون با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون انجام شد و نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اتوانالایزر با طول ۴۵۰ نانومتر قرائت شد (۲۷).

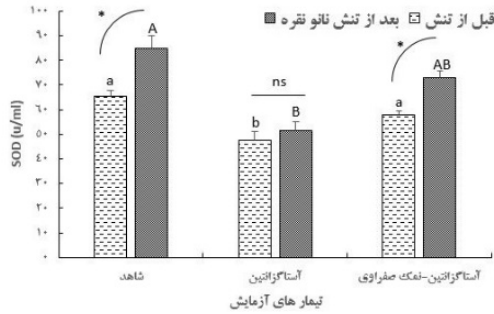
پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین پلاسما: برای سنجش میزان کل پروتئین‌های موجود در پلاسما از روش بردفورد (۱۹۷۶) استفاده شد (۱۵). در این روش، میزان پلاسما آلبومین گاوی به‌عنوان محلول استاندارد در نظر گرفته شد و غلظت پروتئین در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد محاسبه شد. برای اندازه‌گیری میزان آلبومین پلاسما از روش کومار و همکاران در سال ۲۰۰۵ استفاده شد (۲۵)، این روش شامل واکنش آلبومین با برموزول گرین در شرایط اسیدی و تشکیل کمپلکس سبز مایل به آبی است که شدت رنگ آن متناسب با غلظت آلبومین موجود در نمونه است. آلبومین پلاسما با استفاده از دستگاه اتوانالایزر (TechniconRA-1000, USA) و در طول موج ۶۲۰ نانومتر

میزان LC_{50} نانو ذرات نقره، ماهی پرت در معرض غلظت‌های 1000 ، 500 و 250 از نانو ذرات نقره قرار گرفتند تا بیشترین غلظتی که باعث کاهش زنده‌مانی نمی‌شود، مشخص شود (۲۱). بدین منظور ده قطعه ماهی پرت برای هر غلظت در نظر گرفته شد. ماهی‌ها پس از گذراندن دوره تطابق در معرض دُزهای ذکرشده قرار گرفتند. ماهی‌های مواجهه شده با غلظت‌های 1000 و 500 نانو ذرات نقره کمتر از ۲۴ ساعت تلف شدند و ماهی‌های مواجهه شده با غلظت 250 تا ده روز پس از معرض‌گذاری زنده ماندند. سپس هریک از تیمارهایی که با جیره‌های ذکرشده تغذیه‌شده بودند، در معرض نانو ذرات نقره با غلظت 250 برای مدت ۵ روز قرار گرفتند. تانک‌های آزمایش ۲۴ ساعت قبل از اضافه کردن ماهی به دُز موردنظر رسیدند، سپس شسته شده و مجدداً قبل از اضافه کردن ماهی به دُز موردنظر رسیدند تا میزان کاهش دُز ذرات موردنظر که در اثر چسبیدن به سنگ هوا و شیشه تانک ایجاد می‌شود، به حداقل برسد. تعویض آب به مقدار ۶۰ درصد و تنظیم دُز موردنظر هر ۴۸ ساعت یکبار انجام شد (۴). نمونه‌برداری از ۵ قطعه از ماهی از هر تیمار به‌صورت تصادفی بعد از تغذیه با جیره‌های موردنظر و بعد از قرارگرفتن در معرض تنش نانو ذرات نقره با بی‌هوش نمودن ماهیان توسط پودر گل میخک (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، از ساقه دمی به میزان نزدیک به یک میلی‌لیتر با استفاده از سرنگ هیپارینه شده انجام گرفت و پس برای استحصال پلاسما، در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و فوراً به یخچال منتقل گردید. در طول دوره آزمایش، میانگین دمای آب ۲۶ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول $5/8$ میلی‌گرم بر لیتر، میزان $pH = 8/1$ ، هدایت الکتریکی $482/2$ میکروزیمنس، آمونیاک $1/37$ میلی‌گرم بر لیتر و فسفات کل $0/09$ قسمت در میلیون بود.

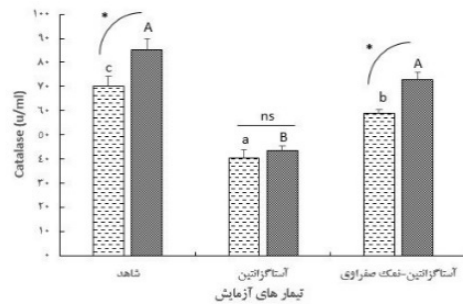
سنجش آنزیم‌های اکسیداتیو پلاسما: به‌منظور سنجش کاتالاز (CAT) از روش توصیف شده توسط Goth (1991)

به‌تنهایی منجر به کاهش اثرپذیری آنها از تنش نانو ذرات نقره در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی بر مبنای تغییرات سطوح آنزیم‌های اکسیداتیو پلاسما شده بود.

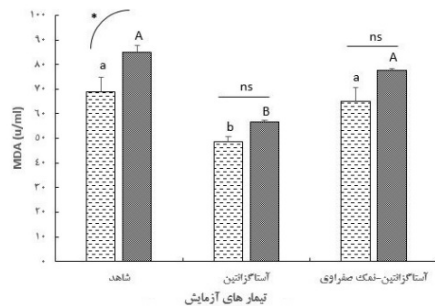
الف



ب



ج



شکل ۱- آنزیم‌های اکسیداتیو پلاسما ماهی پرت تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف آزمایشی پیش و پس از تنش نانو ذرات نقره محلول در آب (۲۵۰ μg/L به مدت ۵ روز، الف) سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) ب: کاتالاز (CAT) ج: مالون دی آلدئید (MDA). حروف کوچک نشان‌دهنده تفاوت معنادار در بین تیمارها پیش از تنش و حروف بزرگ نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین تیمارهای مختلف آزمایشی پس از تنش

اندازه‌گیری شد و مقدار آلبومین پلاسما (گرم بر دسی لیتر) محاسبه شد. میزان گلوبولین پلاسما از تفاضل میزان آلبومین از پروتئین کل برای هر نمونه مصاحبه شد (۲۷).

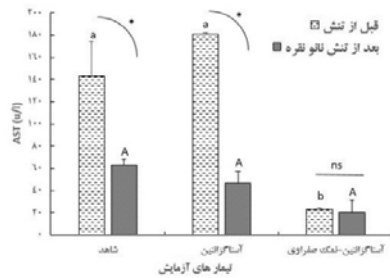
تحلیل آماری: برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kalmogorov- Smiranov و آنالیز داده‌ها با استفاده نرم‌افزارهای SPSS 19 و Excell 2013 انجام شد. این آزمایش در طرح کاملاً تصادفی انجام و با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) وجود اختلاف معنادار بودن بین تیمارها در سطح $P < 0.05$ تحلیل شد. برای مقایسه میانگین تیمارهای مختلف پیش یا پس از تنش با استفاده از آزمون Duncan در سطح معناداری ۰/۰۵ درصد استفاده شد. برای مقایسه میانگین هر شاخص در هر تیمار پیش و پس از تنش از آزمون *t*-student مستقل در سطح $P < 0.05$ استفاده شد.

نتایج

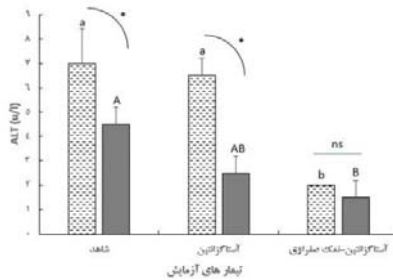
آنزیم‌های اکسیداتیو پلاسما: استفاده از آستاگزانتین به‌تنهایی در جیره غذایی به مدت ۹۰ روز باعث کاهش سطح تمام آنزیم‌های اکسیداتیو موردبررسی در مقایسه با تیمار شاهد شد (شکل ۱) ($P < 0.05$). درحالی‌که استفاده از آستاگزانتین به‌صورت توأم بانمک صفراوی تنها باعث کاهش معنادار سطح آنزیم کاتالاز (CAT) در مقایسه با تیمار شاهد شد و بر روی سایر آنزیم‌های دفاع‌آنتی‌اکسیدانی بی‌تأثیر بود (شکل ۲-ب). ($P < 0.05$) آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و مالون دی آلدئید (MDA) در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معناداری را نشان ندادند (شکل ۱-الف، ج)، ($P < 0.05$). پس از تنش نانو ذرات نقره سطح تمامی آنزیم‌های اکسیداتیو در تیمار شاهد و آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسیداز دیسموتاز در تیمار آستاگزانتین-نمک صفراوی به‌صورت معناداری افزایش یافت (شکل ۱)، ($P < 0.05$) ولی این افزایش در تیمار آستاگزانتین مشاهده نشد (شکل ۲) ($P < 0.05$). به‌طور مشخص می‌توان بیان نمود که تغذیه ماهیان با آستاگزانتین

در تیمار شاهد پس از تنش نانو ذرات نقره کاهش معناداری نداشت ($P < 0.05$) ولی در تیمار آستاگزانتین به صورت معناداری کاهش پیدا کرد (شکل ۲-و)، ($P < 0.05$).

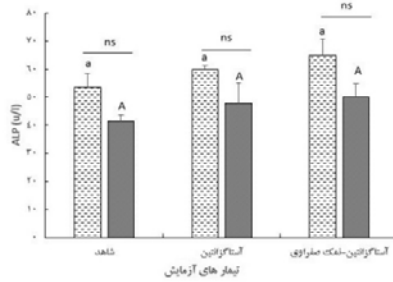
الف



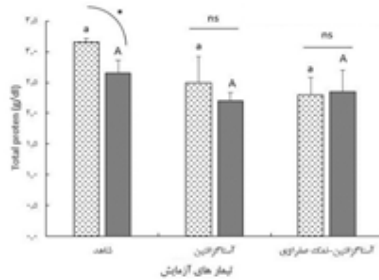
ب



ج



د



ه

نانو ذرات نقره است. (Duncan; $P < 0.05$) (*) نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین زمان پیش و پس از تنش نانو ذرات نقره در یک تیمار مشخص است ($t. test, P < 0.05$)

شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما: در پایان دوره ۹۰ روزه

تغذیه با جیره‌های مورد آزمایش، سطح آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، پروتئین کل و گلوبولین در تیمار شاهد تفاوت معناداری با تیمار آستاگزانتین نداشت (شکل ۲-الف، ب، ج)، ($P < 0.05$) همچنین تفاوت

معناداری بین ماهیان تیمار شاهد و تغذیه شده با جیره

حاوی آستاگزانتین-نمک صفرای، در آنزیم آلکالین

فسفاتاز (ALP)، پروتئین کل و گلوبولین مشاهده نشد

(شکل ۲-ج)، ($P < 0.05$) با این وجود سطح آنزیم‌های

آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز

(ALT) در تیمار آستاگزانتین-نمک صفرای به صورت

معناداری کمتر از دو تیمار دیگر بود (شکل ۲-الف، ب)

($P < 0.05$). پس از مواجه با نانو ذرات نقره به مدت ۵ روز،

سطح آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین

آمینوترانسفراز (ALT) در تیمارهای شاهد و آستاگزانتین

نسبت به زمان قبل از تنش به صورت معناداری کاهش

یافت ($P < 0.05$) ولی این کاهش در تیمار آستاگزانتین-

نمک صفرای مشاهده نشد (شکل ۲-ب، ج). هیچ

تفاوت معناداری در میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز در

تیمارهای متفاوت در زمان پیش از تنش در مقایسه با

پس‌از آن مشاهده نشد (شکل ۲-ب، ج)، ($P < 0.05$)

همچنین میزان پروتئین کل و گلوبولین پلاسما در تیمار

شاهد پس از تنش نانو ذرات نقره به صورت معناداری

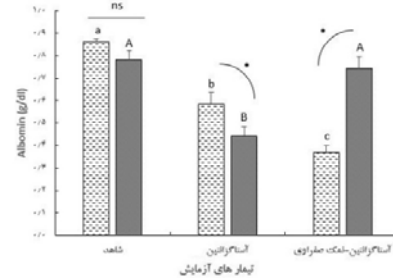
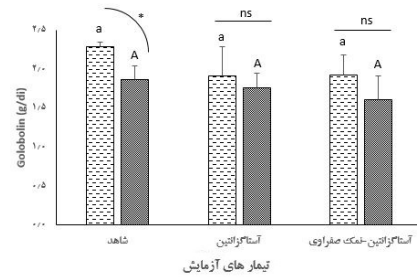
کاهش یافت ($P < 0.05$)، ولی این کاهش در تیمارهای

آستاگزانتین و آستاگزانتین-نمک صفرای مشاهده نشد

(شکل ۲-د، ه) ($P < 0.05$). علی‌رغم این، میزان آلبومین

E، کاهش یافت اما کاهش آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز فقط در شانک زرد باله گزارش شد که می‌تواند بیانگر اثر متفاوت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های متفاوت باشد (۱۶). در مطالعه حاضر پس از تغذیه با جیره‌های مورد آزمایش میزان شاخص مالون دی‌آلدئید (MDA) در تیمار آستاگزانتین-نمک صفراوی برخلاف انتظار در مقایسه با تیمار آستاگزانتین به صورت معناداری بیشتر بود ولی با تیمار شاهد تفاوت معناداری نداشت. افزایش آنزیم‌های اکسیداتیو در تیمار آستاگزانتین-نمک صفراوی می‌تواند به دلیل افزایش جذب چربی باشد (۳۵). مطالعه بی‌ادرمین در سال ۲۰۰۵ نشان داد افزودن روغن ماهی به جیره به مدت ۳۰ روز باعث افزایش سطح سوپراکسید دیسموتاز و پس از ۶۰ روز باعث افزایش سطح میزان آنزیم مالون دی‌آلدئید می‌شود (۱۴). این مطالعه نشان داد که برای افزایش سطح آنزیم مالون دی‌آلدئید به مدت‌زمان بیشتری نیاز است. میزان آنزیم‌های اکسیداتیو در همه تیمارها پس از مواجه با نانو ذرات نقره به صورت معناداری افزایش پیدا کرد ولی این افزایش در تیمار آستاگزانتین مشاهده نشد که به‌خوبی نشان می‌دهد افزودن آستاگزانتین با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث کاهش اثرات نانو نقره در میزان آنزیم‌های اکسیداتیو شده است ولی در تیمار آستاگزانتین-نمک صفراوی شاید با افزایش جذب چربی جیره منجر به افزایش سطح آنزیم‌های اکسیداتیو پلاسما شده است، باین‌وجود نتیجه‌گیری قطعی در این خصوص نیازمند گنجاندن یک تیمار منحصراً تغذیه شده بانمک صفراوی و ارزیابی میزان چربی کبد و لاشه و سطوح چربی، کلسترول و تری‌گلیسیرید پلاسما است.

در این مطالعه پس از مواجه با نانو ذرات نقره سطح تمام آنزیم‌های اکسیداتیو موردبررسی در تیمار شاهد افزایش یافت که دلیل آن می‌تواند خاصیت اکسیدکنندگی نانو ذرات نقره باشد. در پژوهشی که توسط آتیا (۲۰۱۴) بر روی موش انجام شد، مشاهده شد که میزان سوپر اکسید دیسموتاز به صورت معناداری در تیمارهایی که تحت تنش



شکل ۲- شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما ماهی پرت تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف آزمایشی پیش و پس از تنش نانو ذرات نقره محلول در آب $250 \mu\text{g/L}$ به مدت ۵ روز. الف: آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) ب: آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، ج: آلکالین فسفاتاز (ALP)، د: پروتئین کل هـ: گلوبولین و: آلبومین. حروف کوچک نشان‌دهنده تفاوت معنادار در بین تیمارها پیش از تنش و حروف بزرگ نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین تیمارهای مختلف آزمایشی پس از تنش نانو ذرات نقره است (Duncan; $P < 0.05$) علامت (*) نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین زمان پیش و پس از تنش نانو ذرات نقره در یک تیمار مشخص است (t test, $P < 0.05$)

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد میزان آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی آستاگزانتین به مدت ۹۰ روز در مقایسه با تیمار شاهد به صورت معناداری کمتر بود. آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله آستاگزانتین از واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد که با تخریب اسیدهای چرب غیراشباع شروع می‌شود و در نهایت باعث تخریب غشاهای لیپیدی می‌شوند، جلوگیری می‌کند (۲۴). در بررسی اثر ویتامین E در دفاع آنتی‌اکسیدانی، کفشک ماهی (*Scophthalmus maximus*) و شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) مشاهده شد میزان آنزیم کاتالاز در هر دو گونه با افزایش سطح ویتامین

آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در تیمارهای شاهد و آستاگزانتین پس از مواجهه با نانو ذرات نقره کاهش داشته است. نقره از طریق تولید رادیکال‌های آزاد سبب تخریب سلول‌های کبدی و افزایش میزان آلانین آمینوترانسفراز در خون می‌شود (۵). باتوجه به اینکه حضور باکتری‌های مضر در کبد می‌تواند باعث افزایش آنزیم‌های کبدی شود به نظر می‌رسد استفاده از نقره، اثرات مضر بر آنزیم‌های کبدی نداشته و باعث بهبود آنزیم آلکالین فسفاتاز کبدی می‌شود که می‌تواند به دلیل خواص ضد باکتریایی نانو ذرات نقره باشد و باعث افزایش اثربخشی، کاهش عوارض جانبی و مقدار سمیت آن شود (۱۰). مطالعه فغانی و همکاران (۱۳۹۲) بر روی اثر فلزات سنگین بر تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) نشان داد که میزان آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز در تیمارهای تحت تأثیر فلزات سنگین به‌صورت معنی‌داری کاهش یافته است (۶). مطالعه مهرپاک و همکاران (۱۳۹۴) نشان داد که استفاده از کیتوزان به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان در جیره کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تأثیر معناداری بر میزان آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز نداشته است (۷). درحالی‌که نتایج مطالعه حاجی رحیمی و همکاران (۱۳۹۴) نشان داد که استفاده نانو ذرات اکسید آهن و روی بر بافت کبد، عضله و آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیر مخربی دارد (۲).

هرگونه تغییر در مقادیر این شاخص‌ها می‌تواند به‌عنوان یک شاخص بالینی در بررسی سلامت سیستم ایمنی، کلیه و کبد جانوران محسوب می‌شود (۲۳). محتوای پروتئین پلاسما در آبزیان، به‌عنوان شاخص تنش ایجادشده در اثر عوامل خارجی در نظر گرفته می‌شود (۳۲) و اگر عاملی بتواند از کاهش پروتئین پلاسما جلوگیری کند، می‌توان گفت میزان تنش را کاهش داده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تنش نانو ذرات نقره در تیمار شاهد باعث

نانو نقره بودن افزایش یافت (۹). در مطالعه حاضر پس از تنش نانو ذرات نقره میزان آنزیم‌های اکسیداتیو در تیمار آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی در مقایسه با زمان قبل از تنش اختلاف معنی‌داری نداشت. در مطالعه حامدی و همکاران (۱۳۹۵) مشاهده شد نانو ذرات اکسید روی تأثیر مخربی بر ویژگی‌های هیستوپاتولوژی کبد و شاخص‌های بیوشیمیایی کبد موش دارد (۳).

آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز در میتوکندری حیوانات آبی حضور داشته و سطح آن‌ها شاخص مهمی برای تشخیص آسیب‌های کبدی ماهی است (۲۷). باتوجه به مطالعات پیشین انتظار می‌رفت جیره حاوی آستاگزانتین باعث بهبود عملکرد کبد در نتیجه کاهش سطح آنزیم‌های کبدی شود ولی نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پس از ۹۰ روز تغذیه با جیره‌های مورد آزمایش، فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در تیمارهای شاهد و آستاگزانتین تفاوت معناداری باهم نداشتند. در مطالعه لیو و هارد در (۲۰۱۲) از ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین در جیره گربه‌ماهی روگامی (*Ictalurus punctatus*) استفاده شد و باعث کاهش معنادار آنزیم‌های کبدی شد (۲۶). بااین‌وجود در مطالعه که توسط اکبری و ربانی نژاد (۱۳۹۵) بر روی ماهی پلال (*Rastrelliger kanagurta*) مشخص شد که استفاده از مکمل آستاگزانتین باعث کاهش معنادار آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز می‌شود ولی تأثیر معناداری بر شاخص آلکالین فسفاتاز نداشت (۱).

همچنین دلیل دیگر کاهش سطح آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز پس از تغذیه با جیره‌های مورد آزمایش در تیمار آستاگزانتین- نمک صفراوی می‌تواند این باشد که آسیب سلول‌های کیسه صفرا باعث کاهش ترشح نمک‌های صفراوی و افزایش آنزیم‌های کبدی می‌شود (۱۲) و استفاده از نمک صفراوی در جیره باعث کمک به فعالیت‌های کبد و در نتیجه کاهش آنزیم‌های کبدی می‌شود. در مطالعه حاضر میزان آنزیم

قابل استنتاج است. به نظر می‌رسد استفاده از آستاگزانتین در جیره ماهی پرت می‌تواند تا حدود زیادی شاخص‌های سلامتی ماهی را در دوره‌های پیش و پس از تنش بهبود دهد، اگرچه میزان بهبود یا نحوه پاسخ‌دهی شاخص‌ها با استفاده از نمک صفراوی به همراه آستاگزانتین در برخی شاخص‌ها بهبود یافته است، اما این بهبود در تمامی شاخص‌های مورد بررسی دیده نمی‌شود و لذا برای درک بهتر عملکرد نمک صفراوی پیشنهاد می‌شود در مطالعات آبی تغذیه ماهیان با جیره حاوی نمک صفراوی به تنهایی مدنظر قرار گرفته و همچنین متابولیت‌های مرتبط با متابولیسم چربی‌ها در لاشه و پلاسما مورد توجه قرار گیرد. در پایان برای پژوهش‌های آبی و جهت درک بهتر و دقیق‌تر مکانیسم اثر رنگدانه و نمک صفراوی، سنجش شاخص (ROS) Reactive Oxygen species و نیز وجود تیمارهای کنترل منفی و ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی نمک صفراوی به تنهایی پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

هزینه‌های انجام این تحقیق از محل پژوهانه شماره ۵۰۲/۹۱/۵۳۹۴۹ پرداختی از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان به دکتر سالار درافشان و نیز حمایت مالی ستاد فناوری نانو ریاست جمهوری در قالب پایان‌نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد رشته تکثیر و پرورش آبزیان تأمین شده است.

کاهش شاخص‌های پروتئین و گلبولین پلاسما شده است ولی در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین-نمک صفراوی تفاوت معناداری در مشاهده نشد که نشان‌دهنده مقاومت این تیمارها در مقابل تنش نانو ذرات نقره است. میزان شاخص آلبومین در تمام تیمارها پیش از تنش در مقایسه با پس از تنش با نانو ذرات نقره تفاوت معناداری نداشت. کاهش معنادار پروتئین پلاسما خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در معرض سمیت حاد فلزات سنگین توسط سانچو و همکاران (۱۹۹۷) گزارش شد (۳۰). از مطالعه حاضر نتیجه می‌شود که با توجه به کاهش سطح آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) پس از تنش نانو ذرات نقره در تیمار آستاگزانتین در مقایسه با تیمار شاهد به نظر می‌رسد تنش نانو ذرات نقره باعث افزایش ROS می‌شود و آستاگزانتین توانسته توان آنتی‌اکسیدانی پلاسما خون و احتمالاً کبد را افزایش دهد و باعث کاهش میزان پراکسیداسیون چربی و حفظ چربی‌ها و پروتئین‌های پلاسما خون شود و این دلیلی است برای پایدار بودن سطح پروتئین کل پلاسما پس از دوره تنش نانو ذرات نقره در تیمار آستاگزانتین و در نتیجه دو عامل فوق به نظر می‌رسد آسیب‌های وارده به بافت‌های مختلف از جمله کبد در اثر استفاده از آستاگزانتین در جیره کاهش پیدا کرده و این امر با توجه به کمتر بودن سطح آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در تیمار آستاگزانتین در زمان پس از تنش نانو ذرات نقره در مقایسه با تیمار شاهد

منابع

- ۱- اکبری، پ.، و ربانی نژاد، ف.، ۱۳۹۵. اثر مکمل غذایی آستاگزانتین بر پاسخ استرس تراکم و عملکرد ماهی طلالت (*Rastrelliger kanagurta*). نشریه شیلات، دوره ۲۸، شماره ۳، صفحات ۲۹۳-۳۰۶.
- ۲- حاجی رحیمی، ک.، فرخی، ف.، قاسم‌زاده، ر.، و توکمه چی، الف.، ۱۳۹۴. بررسی تأثیر نانو ذرات اکسید آهن و روی بر بافت کبد و عضله در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله پژوهش‌های جانوری، دوره ۳، شماره ۲۱، صفحات ۲۸۳-۲۹۱.
- ۳- حامدی، م.، دهکری، ر.، حیدر نژاد، م.، و دهکری، م.، ۱۳۹۵. اثر نانو ذرات اکسید روی بر فاکتور التهابی $TGF-\beta$ ، میزان بیوشیمیایی LDH سرمی و تغییرات بافتی در کبد موش، مجله پژوهش‌های جانوری، دوره ۲۹، شماره ۳۷، صفحات ۱-۴۵.
- ۴- رزم‌آرا، پ.، درافشان، س.، پیکان حیرتی، ف.، طالبی، م.، و رنجبر، م.، ۱۳۹۲. اثر نانو ذرات نقره کلوئیدی و نیترات نقره محلول در آب بر تغییرات بافتی آبشش گربه‌ماهی رنگین‌کمان *Pangasianodon hypophthalmus*. مجله بوم‌شناسی آبزیان، دوره ۳، صفحات ۱۰-۱۸.

- ۷- قوتی، ن.، و محمدی، و.، ۱۳۹۰. مقایسه و بررسی تغییرات سختی و قلبی با مسمومیت فلز سنگین روی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، اکوبیولوژی تالاب، دوره ۸، شماره ۲، صفحات ۲۱-۲۸.
- ۸- مهرپاک، م.، نعمت دوست، ب.، و بنایی، ب.، ۱۳۹۴. تأثیر حفاظتی ویتامین C و کیتوزان بر شاخص‌های زیستی تنش اکسیداتیو در آبشش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در معرض کلراید کادمیوم، مجله علمی شیلات ایران، دوره ۲۴، شماره ۵، صفحات ۳۱-۳۴.
- ۹- Attia, A., 2014. Evaluation of the testicular alterations induced by silver nanoparticles in male mice: biochemical, histological and ultrastructural studies. *Research Journal of Pharmaceutical* 4, PP: 1558-1589.
- 10- Banaee, M., and Mohammadipour, S., Madhani, S., 2015. Effects of sublethal concentrations of permethrin on bioaccumulation of cadmium in zebra cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*). *Toxicological and Environmental Chemistry* 97(2), PP: 200-207.
- 11- Barbosa, M., Morais, R., and Choubert, G., 1999. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 176 (3), PP: 331-341.
- 12- Barry, M., Flynn, D. M., Letsky, E. A., and Risdon, R. A., 1974. Long term chelation therapy in thalassaemia major effect on liver iron concentration, liver histology and clinical progress. *British Medical Journal* 2, PP: 16-20.
- 13- Beutner, S., B., Bloedorn, S., Frixel, I., Hernandez Blanco, T., Hoffmann, H. D., Martin, B., Mayer, P., Noack, C., and Ruck, 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 (6), PP: 559-568.
- 14- Biederman, J., 2005. Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) *Evidence. Biological Psychiatry* 57(11), PP: 1215-1220.
- 15- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Analytical Biochemistry* 72 (1-2), PP: 248-254.
- ۵- سیچانی، س.، و زرمی، ن.، ۱۳۹۱. مقایسه تأثیر آنتی‌اکسیدانی اسپند و نانو ذرات نقره بر میزان فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز در موش‌های نر، نشر علمی پژوهشی فیض، دوره ۶، شماره ۷، صفحات ۷۰۳-۷۱۴.
- ۶- فغانی، ط.، سلطانی، م.، و شمسایی، م.، ۱۳۹۲. مطالعه تأثیر آستاگزانتین طبیعی (*Haematococcus pluvialis*) بر شاخص‌های رشد، ترکیب آنالیز لاشه و کبد فیل‌ماهی جوان (*Huso huso* Linnaeus, 1758)، زیست‌شناسی دریا، شماره ۵، صفحات ۶۹-۷۷.
- 16- Callan, C. K., Laidley, C. W., Kling, L. J., Breen, N. E., and Rhyne, A. L., 2014. The effects of dietary HUFA level on flame angelfish (*Centropyge loriculus*) spawning, egg quality and early larval characteristics. *Aquaculture Research* 45(7), PP: 1176-1186.
- 17- Choi, J. E., Kim, S., Ahn, J. H., Oun, P., Kang, Y. S., Park, K., and Yi, J., 2010. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. *Aquatic Toxicology* 100(2), PP: 151-159.
- 18- Di Giulio, R. T., and Meyer, J. N., 2008. Reactive oxygen species and oxidative stress. In Giulio and D.E. Hinton. *The Toxicology of Fishes* 32(2), PP: 273-324.
- 19- Erdman, J., 1988. The physiologic chemistry of carotenes in man. *Clinical Nutrition* 7(3), PP: 101-106.
- 20- Goth, L., 1991. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica* 196 (3), PP: 143-151.
- 21- Govindasamy, R., and Rahuman, A., 2012. Histopathological studies and oxidative stress of synthesized silver nanoparticles in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Environmental Sciences* 24 (6), PP: 1091-1098.
- 22- Hardy, R., Torrissen, O., and Scott, T., 1990. Absorption and distribution of labeled canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 87(4), PP: 331-340.
- 23- John, G., Collette, B., Facey, D., and Bowen, W., 2009. The diversity of fishes Ecology and Evolution. *Journal of Nutrition Cancer* 23, PP: 135-148.
- 24- Jyonouchi, H., Zhang, L., Gross, M., and Tomita, Y., 1994. Immunomodulating actions

- of carotenoid enhancement of in vivo and in vitro antibody production to dependent antigens. *Journal of Nutrition Cancer* 21(1), PP: 47-58.
- 25-Kumar, A., Garcia, A., Meseda, C., He, Y., Weiss, C., Weir, A., and Merchlinsky, M., 2005. Identification and preliminary characterization of vaccinia virus (*Dryvax*) antigens recognized by vaccinia immune globulin. *Virology* 343 (1), PP:128-140.
- 26-Liu, Y., Hard, Y. F., 2012. Aggregation of stabilized TiO₂ nanoparticle suspensions in the presence of inorganic ions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31 (8), PP: 1693-1698.
- 27-Moss, M. L., Sklair-Tavron, L., and Nudelman, R., 2008. Drug insight: tumor necrosis factor-converting enzyme as a pharmaceutical target for rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 4 (6), PP:300- 315.
- 28-Naguib, Y. M., 2000. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (4), PP: 1150-1154.
- 29-National Research Council, 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. The National Academies Press, Washington, DC, 186 p.
- 30-Sancho, E., Ferrando, M., and Andreu, E., 1997. Sublethal effects of an organophosphate insecticide on the European eel, *Anguilla anguilla*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 36 (1), PP:57-65.
- 31-Saxby, A., Adams, L., Snellgrove, D., and Wilson, R. W., 2010. The effect of group size on the behavior and welfare of four fish species commonly kept in home aquaria. *Applied Animal Behavior Science* 125(3), PP: 195-205.
- 32-Singh, R. K., and Sharma, B., 1998. Carbofuran induced biochemical changes in *Clarias batrachus*. *Management Science* 53 (4), PP: 285-290.
- 33-Witerbourn, C., Hawkins, R. E., Brian, M., and Correll, R. W., 1975. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *Laboratory and Clinical Medicine* 85, PP: 337-341.
- 34-Worthington, E., 1993. Superoxide Dismutase. *Biochemical. Freehold*, PP: 368-369.
- 35-Yang, H., Mu, X., Luo, D., Song, H., Liu, C., and Luo, J., 2012. Bile salts, a novel effective feed additive for promoting absorption and pigmentation of astaxanthin in blood parrot (*Cichlasoma synspilum*♀× *Cichlasoma citrinellum*♂). *Aquaculture* 350 (1), PP: 42-45.

Can feeding on diet enriched with astaxanthin improve physiological responses of parrot fish (*Cichlasoma synspilum* ♀ × *Cichlasoma citrinellum* ♂) after exposure to water-born silver nanoparticle?

Mokhlesabady Farahany A., Dorafshan S., Paykan Heyrati F. and Ebrahimi E.

Dept. of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

The aim of this study was improving antioxidant defense system and monitoring some plasma biochemical parameters of parrot fish fed on diet enriched with astaxanthin alone or in combination with bile salt after exposure to water-born silver nanoparticles (AgNPs). 200 parrot fish were randomly distributed in three different treatments as control, astaxanthin and astaxanthin-bile salt. The fish were fed for 90 days and then subjected to AgNPs 250 µg/L for five days and some plasma biochemical parameters were measured before and after AgNPs stress. The results showed that feeding fish with diet enriched with astaxanthin could cause significant reduction in the plasma levels of all studied oxidative enzymes in comparison to the other groups ($P < 0.05$). AgNPs caused significant elevation in the levels of plasma oxidative enzymes in the control while such elevations were not visible in fish fed on astaxanthin ($P > 0.05$). At the end of feeding trail, day 90th, plasma levels of hepatic enzymes, aspartat transaminase and alanin transaminase were significantly lower in the astaxanthin - bile salt group ($P < 0.05$); after AgNPs stress, the levels of the mentioned enzymes were significantly reduced in groups of control and astaxanthin, while such reductions were not observed in the group fed on astaxanthin-bile salt diet ($P > 0.05$). The results of this study showed that astaxanthin alone or in combination with bile salt could improve some plasma oxidative and biochemical parameters of parrot fish when the fish were subjected to AgNPs. The positive effect of bile salt on astaxanthin function was observed on some parameters.

Key words: Parrot fish, Astaxanthin, Oxidative stress, Silver nanoparticles.