فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال پنجم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۶

تاثیر سطوح مختلف نانوسلنیوم جیره بر شاخص‌های رشد، کیفیت گناد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای سمینال ماهی کاراس طلایی نر (*Carassius auratus gibelio*)

جواد سیدی[۱]، محمد رضا کلباسی[۲]*

تاریخ دریافت: آبان ۹۵ تاریخ پذیرش: دی ۹۵

چکیده

تولیدمثل آبزیان اهمیت ویژه‌ای در موفقیت آبزی‌پروری دارد و از عوامل موثر بر آن کیفیت گامت‌های نر و ماده است. عناصر معدنی یکی از مهم‌ترین عوامل در کیفیت گامت ماهی هستند. سلنیوم عنصری ضروری در عملکرد طبیعی سیستم ایمنی و مراحل تولید مثل است. در این مطالعه تاثیر استفاده از سطوح مختلف نانوسلنیوم بر شاخص‌های رشد و تغییرات شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسمای سمینال اسپرم شامل مالون دی‌آلدهید (MDA) و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و توسعه گنادی مولدین نر ماهی کاراس طلایی ارزیابی شد. به این منظور، تعداد ۲۰۰ قطعه ماهی طلایی نر بالغ (متوسط وزن ۰/۷۴±۶۷/۲۸ گرم) در دوره ۸ هفته‌ای با سطوح متفاوت نانوسلنیوم شامل صفر (شاهد)، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم مورد تغذیه قرار گرفتند. سپس شاخص‌های رشد اندازه‌گیری و با تزریق هورمون HCG به صورت مصنوعی اسپرم‌گیری شد. از بافت گناد نیز برای انجام مطالعات بافت‌شناسی نمونه‌برداری شد. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت نانوسلنیوم میزان رشد افزایش و ضریب تبدیل غذایی کاهش پیدا کرد. میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و میزان مالون دی‌آلدهید پلاسمای سمینال در تیمارهای حاوی نانوسلنیوم، بیشتر از تیمار شاهد بود. نتایج مطالعه توسعه گنادی موید افزایش معنی‌دار مقادیر اسپرماتوزوآ بالغ در گروه‌های تحت تیمار نسبت به گروه شاهد بود. بنابراین نانوسلنیوم در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم موجب بهبود شاخص‌های رشد، توسعه گنادی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی پلاسمای سمینال در ماهی کاراس طلایی شده است.

واژگان کلیدی: *نانوسلنیوم، شاخص آنتی‌اکسیدانی، ماهی طلایی.*

۱- کارشناس ارشد شیلات، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
۲- استاد گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
* نویسنده مسئول: kalbassi_m@modares.ac.ir

مقدمه

کنترل تولیدمثل یک موضوع کلیدی در آبزی‌پروری است و عوامل متعددی در این امر دخالت دارد. یکی از عوامل محدود کننده در موفقیت تکثیر ماهیان، کیفیت گامت نر و ماده است. کیفیت گامت در حیات وحش و یا در شرایط اسارت، تحت کنترل عوامل متغیر زیادی قرار دارد. مطالعات زیادی در خصوص تاثیر عوامل مختلف بر روی تخمک و اسپرم انجام شده است (Kjorsvik et al., 1990; Billard et al., 1995). اگر چه مطالعات زیادی انجام شده است اما اثرات نسبی هر یک از عوامل در کیفیت گامت به خوبی بررسی نشده است و می‌تواند بسیار متغیر باشد (Julien et al., 2010).

عناصر کم‌مصرف همانند مس، روی، منگنز، کبالت، آهن و سلنیوم نقش حیاتی در سیستم ایمنی، تولیدمثل و متابولیسم طبیعی برای رشد دارند. این عناصر در ساختار آنزیم‌های کلیدی سیستم ایمنی و تولیدمثل نقش کوفاکتوری دارند. همچنین در متابولیسم انرژی و سنتز هورمون‌ها نیز نقش دارند. سلنیوم یکی از عناصر شیمیایی غیرفلزی و کمیاب است که بیشتر به صورت ترکیب با پروتئین‌ها یافت می‌شود. مصرف مقدار زیاد آن سمی بوده، ولی در مقادیر کم برای فعالیت سلول‌ها لازم است. بیشتر سلنیوم مورد نیاز بدن از مواد غذایی تامین می‌شود. مکمل سلنیوم به دو شکل معدنی و آلی وجود دارد. سلنیت سدیم متداول ترین شکل معدنی آن است که در تغذیه دام و طیور مورد استفاده قرار می‌گیرد. زیست فراهمی (Bioavailability) سلنیوم به فرم آن بستگی دارد به طوری که امروزه فرم آلی سلنیوم مانند مخمر سلنیوم در آمریکا مورد استفاده قرار می‌گیرد (Federal Register, 2002). اخیرا فرم نانوی عنصر سلنیوم به خاطر اثرگذاری بیشتر و سمیت کمتر بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Xu et al., 2003). غلظت و منبع سلنیوم در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی موثر است (Juniper et al., 2009). میزان سمیت نانوذرات سلنیوم نسبت به سلنیت در موش کمتر است (Zhang et al., 2005). گزارش شده است که فرم نانو و آلی سلنیوم نسبت به منبع معدنی سلنیوم، عملکرد موثرتری بر فعالیت شاخص‌های خونی و برخی شاخص‌های ایمنی ماهی کپور معمولی دارد (صفاری و همکاران، ۱۳۹۴).

مهم‌ترین کاربرد شناخته شده سلنیوم، نقش آن در ساختمان آنزیم گلوتاتیون

پراکسیداز (GPx[1]) است. میزان سلنیوم ارتباط مستقیمی با افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز دارد. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز می‌تواند در بهبود شرایط تکامل اسپرم در بیضه موثر باشد و در افزایش زنده‌مانی اسپرم، یکپارچگی ظاهری و تحرک رو به جلو اسپرم نقش داشته باشد (Foresta et al., 2002). از محصولات فرآیندهای اکسیداتیوی می‌توان به تولید مالون دی‌آلدهید (MDA[2]) اشاره کرد که میزان آن ارتباط مستقیمی با صدمات وارده به سلول‌ها توسط رادیکال‌های آزاد یا ROS[3]ها دارد. مالون دی‌آلدهید در اثر پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه، تولید می‌شود و به عنوان معیاری از پراکسیداسیون چربی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. هرچه میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) بیشتر باشد میزان مالون دی‌آلدهید به دلیل خنثی‌سازی فعالیت‌های اکسیداتیوی کاهش پیدا خواهد کرد. مطالعات نشان داده است که افزایش سطح اکسیداتیوی مایع سمینال از طریق مکانیسم‌های مختلف از جمله پراکسیداسیون لیپیدی غشای اسپرم، اختلال در متابولیسم اسپرماتوزوئید و کاهش توانایی بارورسازی آن سهم عمده‌ای در نقص عملکرد اسپرم دارد (Boitani and Puglisi, 2008). یکی از روش‌های ارزیابی اثر سلنیوم، بررسی وضعیت تکامل اسپرم و تخمک در بیضه و تخمدان به روش بافت‌شناسی است. اگرچه تاثیر مثبت فرم آلی سلنیوم بر کیفیت گامت ماهی طلایی گزارش شده است (خاکشور، ۱۳۹۴)، اما تاکنون گزارشی از تاثیر نانوسلنیوم در بهبود شاخص‌های کیفی اسپرم ماهیان انجام نشده است. بر همین اساس در این مطالعه، با استفاده از ماهی کاراس طلایی (*Carassius auratus gibelio*) که در مطالعات تولیدمثلی و کنترل هورمونی به دلیل تکثیر و پرورش راحت در شرایط اسارت به عنوان یک مدل استفاده می‌شود (Bjerselius et al., 1999)، ارزیابی تاثیر سطوح متفاوت نانوسلنیوم جیره (صفر، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسمای سمینال، رشد و توسعه گنادی مولدین در ماهی کاراس طلایی نر انجام شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۰۰ قطعه ماهی پیش مولد نر کاراس طلایی (*Carassius auratus gibelio*)

1- Glutathione Peroxidase
2- Malondialdehyde
3- Reactive Oxygen Species

با وزن ۰/۷۴±۶۷/۲۸ گرم و طول ۰/۲۳±۱۷ سانتی‌متر از مرکز پرورش ماهیان گرمابی در بندر گز واقع در استان گلستان تهیه و با رعایت شرایط انتقال (مسافت، تامین اکسیژن و تراکم مناسب) به سالن تحقیقاتی آبزیان دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس (نور) منتقل شد. برای سازگاری با شرایط آزمایشگاهی، ماهی‌ها به مخزن ۱۰۰۰ لیتری حاوی آب کلرزدایی شده و هوادهی شده منتقل شدند و بعد از سپری کردن دوره سازگاری ۱۵ روزه، به ۱۲ وان ۳۰۰ لیتری منتقل شدند (۱۲ قطعه در هر وان). بعد از انجام دوره سازگاری، به مدت ۸ هفته به وسیله غذای تجاری بیومار فرانسه مورد تغذیه قرار گرفتند.

در طول دوره سازگاری و نگه‌داری، شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب به صورت روزانه کنترل می‌شد تا ثابت بماند (جدول ۱). طی این مدت و تا ۴۸ ساعت قبل از تیماربندی و شروع آزمایش‌ها تغذیه با جیره تجاری کپور (بیومار، فرانسه؛ محتوی ۳۰ درصد پروتئین، ۴۱ درصد عصاره بدون نیتروژن، ۸ درصد چربی، ۵ درصد سلولز، ۶ درصد خاکستر و ۱ درصد فسفر کل) روزی دو بار به میزان ۳ درصد وزن انجام شد. دوره نوری روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در نظر گرفته شد. ۴۸ ساعت قبل از شروع نمونه‌برداری، غذادهی قطع شد. بعد از فراهم کردن شرایط مصنوعی تولیدمثل مولدین، تشخیص جنسیت و جداسازی مولدین از یکدیگر انجام شد. شناسایی ماهی‌های نر به این صورت بود که روی آبشش ماهی و همین طور لبه باله‌های سینه‌ای یکسری برجستگی‌های جوش مانند و سفید رنگ وجود داشت. این ویژگی به راحتی در فصل تولیدمثل قابل رؤیت بود.

ساخت جیره غذایی

برای آماده‌سازی جیره آزمایشی، جیره پایه (غذای تجاری) بعد از آسیاب شدن با مقادیر مورد نظر نانوسلنیوم مخلوط شد (جدول ۲) و به اندازه ۲۰ درصد وزن، به آن آب افزوده شد. سپس به وسیله چرخ‌گوشت (TA 32X، امگا، ایتالیا) مجددا به صورت پلت (۲-۳mm) درآمد. پلت‌ها در خشک‌کن (مانی‌دژ، ایران) به مدت ۱۲ ساعت خشک شدند و تا زمان مصرف در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Abedian Kenari et al., 2011). ماهیان به مدت ۸ هفته با جیره‌های ساخته‌شده مورد تغذیه قرار گرفتند. به طور کلی طرح این آزمایش و تیماربندی در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱: شرایط فیزیکی و شیمیایی آب پرورش مولدین نر ماهی کاراس طلایی

اسیدیته	دما (سانتی‌گراد)	شوری (ppt)	اکسیژن (میلی‌گرم در لیتر)	تعویض آب
۷/۵ -۸/۵	۱۸ -۲۰	۰/۴	۷/۵ -۸/۵	روزی یک‌بار به میزان ۲۵٪

جدول ۲: تیمارهای آزمایشی

تیمار	میزان نانوسلنیوم افزوده شده به جیره (mg/Kg)
اول (شاهد)	۰ (جیره پایه)
دوم	۰/۱
سوم	۰/۵
چهارم	۱

زیست‌سنجی و شاخص‌های رشد

زیست‌سنجی ماهیان در ابتدا و انتهای دوره انجام شد و شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن (WG)، ضریب رشد ویژه (SGR) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) با استفاده از رابطه‌های ۱ تا ۳ محاسبه شد (Fynn-Aikins et al., 1992).

رابطه ۱:

$$WG = W_2 - W_1$$

WG: شاخص افزایش وزن (گرم)؛ W_1: وزن اولیه (گرم)؛ W_2: وزن ثانویه (گرم).

رابطه ۲:

$$SGR = [(\ln W_2 - \ln W_1) / t] \times 100$$

SGR: ضریب رشد ویژه (درصد)؛ t: زمان (روز).

رابطه ۳:

$$FCR = F / (W_2 - W_1)$$

FCR: ضریب تبدیل غذایی؛ F: میزان غذای مصرف شده (گرم).

شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی

به منظور رسیدگی همزمان مولدین، هورمون گنادوتروپین کوریون انسانی HCG به ۶ مولد نر هر کدام IU/g ۱۰-۵ به صورت داخل صفاقی تزریق شد. ۱۲ تا ۱۶ ساعت پس از تزریق، ماهی‌ها در دمای ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد، برای اسپرم‌کشی آماده شدند (Kusuda et al., 2004).

برای ارزیابی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسمای سمینال شامل آنزیم گلوتاتیون

پراکسیداز و میزان مالون دی‌آلدهید (پس از جمع‌آوری) به وسیله لوله مویئنه در ۱۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ (Mikro 220، Hettich، آلمان) شد. پس از آن اسپرم‌ها از مایع سمینال جدا شد و آنزیم‌های آن اندازه‌گیری شد (لرستانی و همکاران ۱۳۸۵؛ Vladi et al., 2002).

اندازه‌گیری آنزیم

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در پلاسما با استفاده از کیت (ZellBio GmbH، آلمان) توسط دستگاه الایزا ریدر (ELX 800، BioTek، آمریکا) در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم مالون دی‌آلدهید در پلاسما نیز با استفاده از کیت (ZellBio GmbH، آلمان) توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۵۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد.

بافت‌شناسی

ابتدا ۶ ماهی از هر تیمار تلف و گناد آن‌ها خارج شد. نمونه‌های بافت گناد در محلول بوئن (حاوی ٪۷۵ اسید پیکریک اشباع، ٪۲۰ فرمالین و ٪۵ اسید استیک) تثبیت شد. پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت محلول بوئن تخلیه و مراحل بعدی عملیات بافت‌شناسی (آب‌گیری، شفاف‌سازی، نفوذ پارافین، قالب‌گیری) انجام شد و برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و با روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی شد. لام‌های بافت‌شناسی با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین (Olypmus، ژاپن) مورد مطالعه و عکس‌برداری قرار گرفت (حیدری و همکاران، ۱۳۹۳) و توسعه گنادی و وضعیت گامت مولدین بر اساس روش Genten و همکاران (۲۰۰۹) بررسی شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و آنالیز واریانس یک‌طرفه و دوطرفه و پس‌آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0.05$) استفاده شد.

نتایج

نتایج به دست آمده از بررسی شاخص‌های رشد در دوره ۸ هفته‌ای تیمار ماهیان کاراس طلایی با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف نانوسلنیوم نشان داد که در میزان افزایش رشد (WG) همه تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود داشت و ضریب تبدیل غذایی (FCR) تیمار شاهد با سایر تیمارها متفاوت بود (جدول ۳).

جدول ۳: شاخص‌های رشد مولدین ماهی کاراس طلایی نر پس از ۶۰ روز تیمار با جیره حاوی نانوسلنیوم (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص‌های رشد / غلظت نانوسلنیوم (mg/Kg)	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	افزایش وزن (گرم)	ضریب تبدیل غذایی	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)
۰/۰ (شاهد)	۶۹/۴۶±۰/۲۱	۸۰/۶۳±۲/۴۴	۱۰/۱۷±۱/۹ ^{b}	۳/۲۱±۰/۰۲ ^{a}	۰/۲۴۱±۰/۴۶ ^{d}
۰/۱	۶۸/۱۴±۱/۴۸	۸۱/۱۶±۱/۲۷	۱۳/۰۲±۱/۸ ^{c}	۲/۰۱±۰/۲۱ ^{b}	۰/۲۹۱±۰/۰۴ ^{c}
۰/۵	۶۸/۷۷±۱/۶۷	۸۶/۸۶±۰/۷۶	۱۸/۰۹±۱/۳ ^{a}	۲/۱۱±۰/۱۹ ^{b}	۰/۳۸۹±۰/۰۳ ^{a}
۱/۰	۶۶/۸۷±۰/۷۴	۸۳/۲۲±۲/۱۵	۱۶/۳۵±۲/۸ ^{b}	۱/۹۹±۰/۴۵ ^{b}	۰/۳۶۴±۰/۶۶ ^{b}

حروف انگلیسی غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).
نرخ بازماندگی در همه تیمارها ۱۰۰ درصد بود.

اگرچه، تیمارهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوسلنیوم از نظر عددی در مقایسه باهم اختلاف کمی داشتند. میزان SGR در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوسلنیوم بیشترین مقدار را داشت ($P< ۰/۰۵$).

میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و مالون دی‌آلدهید در پلاسمای سمینال اسپرم

نتایج بررسی آماری تاثیر تغذیه با سطوح متفاوت نانوسلنیوم جیره بر میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و میزآن مالون دی‌آلدهید پلاسمای سمینال مولدین ماهی کاراس طلایی نشان داد تفاوت معنی‌داری بین میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و همچنین میزان مالون دی‌آلدهید در پلاسمای سمینال مولدین نر وجود داشت (جدول ۴). با افزایش نانوسلنیوم میزان GPx افزایش پیدا کرد و بیشترین میزان این آنزیم در ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. در رابطه با MDA روند مشخصی وجود نداشت و بیشترین میزان این آنزیم در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم و کمترین آن در تیمار شاهد بود.

مطالعه توسعه گنادی و وضعیت رسیدگی اسپرم مولدین

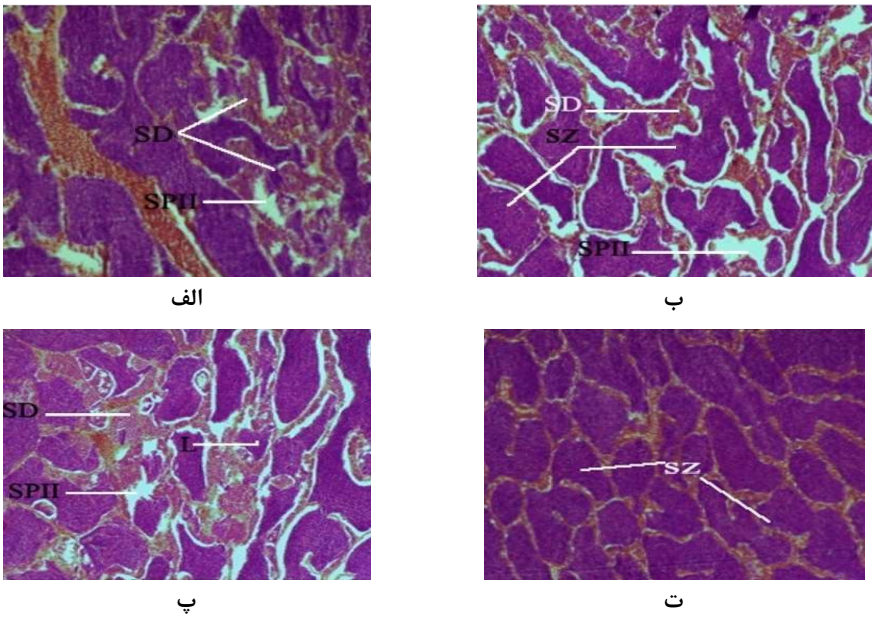
نتایج مطالعه توسعه گنادی و وضعیت گامت مولدین در شکل ۱ ارائه شده است که طبق شکل بیضه همه ماهیان در مرحله بالغ است. در بیضه ماهی تیمار شاهد علاوه بر اسپرماتوزوآ، توسعه مراحل اسپرماتوژنز (اسپرماتوسیت

ثانویه و اسپرماتید) نیز در لوبول‌ها قابل‌مشاهده است. اما در بیضه مولدین تحت تیمار با نانوسلنیوم با افزایش غلظت میزان اسپرماتوزآ افزایش پیدا کرد و بهترین وضعیت در تیمار ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده شد.

جدول ۴: میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای سمینال سمن مولدین نر ماهی کاراس طلایی تیمار شده با جیره حاوی نانوسلنیوم

شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی / غلظت نانوسلنیوم (mg/Kg)	گلوتاتیون پراکسیداز (µmol/L)	مالون دی‌آلدهید (µmol/L)
۰/۰ (شاهد)	۱۳ c	۴/۵ d
۰/۱	۱۶ b	۵/۷ a
۰/۵	۱۶ b	۵/۱ c
۱/۰	۲۱ a	۵/۳ b

حروف انگلیسی غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P<0.05$)



الف ب

پ ت

شکل ۱: بخش‌هایی از گناد ماهیان کاراس طلایی نر. الف) تیمار شاهد. ب) تیمار با ۰/۱mg/Kg نانوسلنیوم.

پ) تیمار با ۰/۵mg/Kg نانوسلنیوم. در شکل‌های ب و پ لوبول‌های بیضه ماهی دارای اسپرماتوزوآ، اسپرماتید و اسپرماتوسیت است. ت) تیمار با ۱mg/Kg نانوسلنیوم؛ لوبول‌های بیضه ماهی تنها سرشار از اسپرم‌های رسیده است. SZ: اسپرماتوزوآ؛ SD: اسپرماتید؛ SPII: اسپرماتوسیت ثانویه؛ L: لوبول. رنگ آمیزی هماتوکسلین - ائوزین (بزرگنمایی ×۱۰۰).

بحث

مطالعات گذشته نشان داده است که ترکیبات سلنیوم می‌تواند نقش مثبتی در رشد بعضی از گونه‌های ماهیان داشته باشد. در این خصوص، اثر رژیم غذایی ترکیب شده با سلنیوم در گربه‌ماهی کانالی نشان داد که سلنیوم می‌تواند رشد را تحت تاثیر قرار دهد، به طوری که وزن نهایی در گروهی که با جیره حاوی سلنیوم تغذیه شده بودند نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (Gatlin and Wilson, 1984). احمدوند و همکاران (۱۳۹۴) در مطالعه‌ای اثر نانوسلنیوم و سلنیوم آلی را بر روی ماهی کپور معمولی بررسی کرده، بیان کردند که غلظت ۱/۵mg/Kg نانوسلنیوم بهترین رشد را به همراه داشته، فرم نانوسلنیوم تاثیر بهتری نسبت به سلنیوم آلی داشت. در مطالعه‌ای دیگر اثر غلظت‌های مختلف نانوسلنیوم بر رشد ماهی قزل‌آلا بررسی شد و بهترین میزان شاخص‌های رشد در بالاترین غلظت (۰/۱mg/Kg نانوسلنیوم) به دست آمد (شبرنگ هره‌دشت و میرواقفی، ۱۳۹۱).

نتایج مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد مولدینی که با جیره حاوی نانوسلنیوم تغذیه شده‌اند با گروه شاهد تفاوت معناداری در شاخص‌های رشد و آنتی‌اکسیدانی داشتند و با افزایش غلظت نانوسلنیوم میزان رشد افزایش یافت به طوری که بهترین میزان رشد در تیمار ۱mg/Kg نانوسلنیوم و کمترین میزان رشد در تیمار شاهد مشاهده شد.

مطالعات زیادی در رابطه با اثر سلنیوم بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز که میزان آن رابطه مستقیمی با میزان سلنیوم دارد، در خون و بافت ماهیان انجام شده است. اما در رابطه با اثر این عنصر بر روی افزایش آنزیم GPx در پلاسمای سمینال اسپرم که نقش محافظتی از اسپرم دارد مطالعه دقیقی در ماهیان انجام نشده است. اگرچه، در پستانداران مطالعاتی صورت گرفته است که از جمله آن می‌توان به مطالعه Shi و همکاران (۲۰۱۰) بر روی سمن بز اشاره کرد که نتایج آن نشان می‌دهد افزایش نانوسلنیوم جیره موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم GPx در

سمن بز نسبت به تیمار شاهد شده است. در مطالعه خاکشور (۱۳۹۴) نیز مشاهده شد که میزان GPx در تیمار با سلنیوم بیشتر از تیمار شاهد بود که این امر می‌تواند بیانگر این باشد که سلنیوم می‌تواند اسپرم را از آسیب احتمالی رادیکال‌های آزاد محافظت کند. در مطالعه‌ای دیگر نیز ثابت شده است که افزایش سلنیوم با افزایش GPx رابطه مستقیم دارد (Foresta et al., 2002). بنابراین، می‌توان اظهار کرد که میزان شاخص آنزیم GPx در تولیدمثل مهم‌تر از دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها است و ارزیابی این شاخص در سمن می‌تواند اطلاعات مناسبی را از وضعیت کیفیت اسپرم در این‌گونه ارائه کند.

در این مطالعه نتیجه تاثیر نانوسلنیوم بر گلوتاتیون پراکسیداز و مالون‌دی آلدهید معنی‌دار بود به طوری که مقدار این دو آنزیم در تیمارهای حاوی نانوسلنیوم از نظر عددی از تیمار شاهد بیشتر بود. نتایج نشان داد با افزایش میزان نانوسلنیوم در جیره، مقدار آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نیز افزایش یافت که با مطالعات گذشته در سایر موجودات مطابقت داشت. اما در مورد مالون دی‌آلدهید شرایط کمی متفاوت بود و میزان این آنزیم در تیمارهای حاوی نانوسلنیوم نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت که دلیل آن می‌تواند غلظت نانوسلنیوم در جیره باشد و این نتیجه با نتایج سایر مطالعات مطابقت ندارد.

با توجه به اثر مثبت سلنیوم و آنتی‌اکسیدان‌ها بر تکامل اسپرم در بیضه و تولیدمثل، در مطالعه‌ای که اثر تجویز غلظت‌های مختلف سلنیوم بر روی موش‌های مسن و جوان انجام شد، پس از بررسی‌های بافت‌شناسی (بررسی مقاطع بافتی بیضه و وضعیت تکامل گامت) و آنالیز اسپرم (مورفولوژی طبیعی و میزان درصد زنده ماندن اسپرم‌ها) نتایج نشان داد که به دنبال تجویز ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم کیفیت برخی از پارامترهای اسپرمی موش افزایش یافت (Mohammadi et al., 2009). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد مولدینی که با نانوسلنیوم تغذیه شده بودند اسپرم آن‌ها در اندام تولیدمثلی (بیضه) در مرحله بالاتری از نظر رسیدگی جنسی قرار داشتند و اسپرم بالغ بیشتری در گنادها قابل‌مشاهده بود. در تیمار شاهد اسپرماتوزوآی بالغ به میزان کمتری در لوله‌های لوبول دیده شد و همراه آن‌ها تعداد زیادی از اسپرماتوسیت‌های ثانویه و اسپرماتید نیز قابل‌مشاهده بود. اما در مولدینی که تحت تیمار سلنیوم قرار گرفتند، لوبول‌ها به طور کامل از اسپرماتوزوآی بالغ پر بود، اسپرم‌های

نابالغ نیز (اسپرماتوسیت، اسپرماتید) در لوبول دیده نمی‌شد. این امر نشان می‌دهد که گامت در مرحله بالاتر یا بهتری از رسیدگی جنسی نسبت به تیمار شاهد قرار داشت.

می‌توان چنین عنوان کرد که افزودن نانوسلنیوم در جیره مولدین نر ماهی کاراس طلایی می‌تواند شاخص‌های رشد، آنتی‌اکسیدانی و توسعه گنادی را در این ماهی تحت تاثیر قرار دهد. همچنین فرم نانو عنصر سلنیوم می‌تواند با خواص آنتی‌اکسیدانی سلامت سلول‌های اسپرم را بالا ببرد و باعث افزایش کارایی اسپرم در امر لقاح شود. مقایسه نتایج به دست آمده با مطالعات انجام شده در گذشته نشان می‌دهد که فرم نانو عنصر سلنیوم تاثیر بسیار خوبی در رشد اسپرماتوزوئیدها داشت به طوری که در غلظت ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم بیشترین میزان اسپرم‌های بالغ وجود داشت. با استناد به این مطالعه می‌توان بیان کرد که استفاده از نانوسلنیوم در جیره غذایی مولدین می‌تواند در بهبود امر تکثیر ماهیان موثر باشد.

منابع

احمدوند ش.، امیرکلایی ع.، اورجی ح. و احمدوند ش. ۱۳۹۴. بررسی اثرات نانوذرات سلنیوم (Nano-Se) در مقایسه با سلنیوم آلی (Selemax) بر عملکرد شاخص‌های رشد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله محیط زیست جانوری، ۷(۲): ۱۹۶-۱۸۹.

حیدری ب.، اقدامی ب. و نظرحقیقی ف. ۱۳۹۳. مطالعه اثرات هیستوپاتولوژیک آلاینده‌های آلی (نفتالن و بوتاکلر) بر گناد نر و ماده ماهی حوض (*Carassius auratus*). مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۲(۱): ۱۳-۲۴.

خاکشور ع. ۱۳۹۴. ارزیابی تاثیر سطوح متفاوت سلنیوم آلی جیره بر شاخص‌های کیفی گامت‌های نر و ماده و کیفیت تکثیر ماهی طلایی (*Carassius auratus gibelio*). پایان نامه کارشناسی ارشد . دانشگاه تربیت مدرس.

شبرنگ هره‌دشت م . و میرواقفی ع. ۱۳۹۱. کاربرد فناوری‌های نانو در شیلات. ماهنامه فناوری نانو، ۱۱(۶): ۱۵-۱۳.

صفاری ص.، کیوان شکوه س.، ذاکری م.، جوهری س.ع. و پاشا زانوسی ح. ۱۳۹۴. تاثیر منابع مختلف سلنیوم (آلی، معدنی و نانو) برشاخص‌های خونی و برخی فاکتورهای ایمنی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). همایش چالش‌های امنیت و سلامت در کشاورزی و آبزی‌پروری. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، اهواز، ۱۱۲۹-SSAAP.

لرستانی ر.، کلباسی م. و غفله مرمضی ج. ۱۳۹۲. تعیین شرایط بهینه یونی و اسمزی جهت فعالیت اسپرماتوزوآی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*). مجله اقیانوس‌شناسی، ۱۰(۳): ۷۹-۶۹.

Abedian Kenari A., Sotoudeh E. and Rezaei M.H. 2011. Dietary soybean phosphatidyl choline effects growth performance and lipolytic enzyme activity in Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) alevin. Aquaculture Research, 42(1): 655–663.

Billard R., Cosson J., Crim L.W. and Suquet M. 1995. Sperm physiology and quality. P: 53–76. In: Bromage N.R. and Roberts R.J. (Eds.). Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Cambridge University Press, UK.

Bjerselius R., Olsen K.H. and Zheng W. 1995. Endocrine, gonadal and behavioral responses of male crucian carp (*Carassius carassius*) to the hormonal pheromone 17,20-dihydroxy-4-pregnen-3-one. Chemical Senses, 20(2): 221–230.

Boitani C. and Puglisi R. 2008. Selenium, a key element in spermatogenesis and male fertility.

P: 65–73. In: Cheng C.Y. (Ed.). Advances in Experimental Medicine and Biology, Vol. 636: Molecular Mechanisms in Spermatogenesis. Springer, USA.

Federal Register. 2002. Food additive permitted in feed and drinking water: Selenium yeast. Federal Register, 67(137): 46850–46851.

Foresta C., Flohe L., Garolla A., Roveri A., Ursini F. and Maiorino M. 2002. Male fertility is linked to the selenoprotein phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. Biology of Reproduction, 67(3): 967–971.

Fynn-Aikins K., Hung S.S., Liu W. and Li H. 1992. Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile white sturgeon fed different levels of D-glucose. Aquaculture, 105: 61–72.

Gatlin D.M. 3rd and Wilson R.P. 1984. Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. Journal of Nutrition, 114(3): 627–633.

Genten F., Terwinghe E. and Danguy A. 2009. Atlas of Fish Histology. Science Publishers, USA. 224P.

Julien B. and Labbe C. 2010. Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology, 165(3): 535–548.

Juniper D.T., Phipps R.H., Ramos-Morales E. and Bertin G. 2009. Effects of dietary supplementation with selenium enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in lambs. Animal Feed Science and Technology, 149: 228–239.

Kjorsvik E., Mangor-Jensen A. and Homefjord I. 1990. Egg quality in marine fishes. Advances in Marine Biology, 26: 71–113.

Kusuda S., Teranishi T., Koide N., Nagai T., Arai K. and Yamaha E. 2004. Pluripotency of cryo-preserved blastomeres of the goldfish. Journal of Experimental Zoology A, 301(2): 131–138.

Mohammadi S., Movahedin M. and Mowla S.J. 2009. The effect of selenium on changes in sperm antioxidant capacity in old and adult rats. Scientific Journal of Kurdistan.;14(1): 84–91.

Shi L.G., Yang R.J., Yue W.B., Xun W.J., Zhang C.X., Ren Y.S. and Lei F.L. 2010. Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. Animal Reproduction Science, 118(2): 248–254.

Vladi T.V., Afzelius B.A. and Bronnikov G.E. 2002. Sperm quality as reflected through morphology in salmon alternative life histories. Biology of Reproduction, 66: 98–105.

Xu B.H., Xu Z.R. and Xia M.S. 2003. Effect of nano red elemental selenium on gpx activity of broiler

chick kidney cells in vitro. Wuhan University Journal of Natural Sciences, 8: 1167–1172.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 5, No. 2, Summer 2017

Effects of different levels of diet nano selenium (Nano-Se) on growth and gonad quality indices and seminal plasma antioxidants in male goldfish (*Carassius auratus gibelio*)

Javad Seiedi[1], Mohammad Reza Kalbassi[2]*

Received: October 2016 Accepted: December 2016

Abstract

Successful reproduction is one of the most important issues in aquaculture. In this regard, gamete quality is a limiting factor. Selenium, improves the reproduction and immunity in all animals. In the present study, the effects of diets containing different level of Nano-Se on growth indices, gonad histology and activity of two seminal plasma antioxidants, malondialdehyde (MDA) and glutathione peroxidase (GPx), were assessed. Male goldfish (67/28±0/74g, n=200) were fed with 0 (control), 0.1, 0.5 and 1 mg of Nano-Se per Kg of a commercial food for 8 weeks. The developmental stages of the gonadal were evaluated using a common histological method. HCG hormone injection was done to artificially obtain the sperm. The higher Nano-Se concentrations increased and decreased the growth and FCR, respectively. The activity of GPx and MDA in seminal plasma increased in the fishes fed the diets containing Nano-Se, and also the histological observations of the gonads illustrated an increase in spermatozoa count. Hence, 0.5 and 1 mg/Kg Nano-Se improve the growth and gonad indices, and increase the activity of the antioxidant seminal plasma enzymes in goldfish.

Key words: *Nano Selenium, Antioxidant Indices, Goldfish.*

1- M.Sc. in Fisheries, Department of Aquaculture, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
2- Professor in Department of Aquaculture, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
*Corresponding Author: kalbassi_m@modares.ac.ir