

خنثی نمودن اثرات بیوشیمیایی نانوذره آهن در ماهی کپور معمولی (Cyprinus carpio) با استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس (Lactobacillus)

سید علی اکبر هدایتی^{۱*}، روح ا. شیخ ویسی^۱، سعید شربتی^۱، طاهره باقری^۲، مهنا محمدی موحد^۱، نیلوفر نیک دهقان^۱، حبیب ا. سنچولی^۱، احمد رضا جبله^۱

Hedayati@gau.ac.ir

۱- دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات شیلات ایران، مرکز تحقیقات آبهای دور

چکیده

وجود آلاینده های نوظهور نانوذرات در بدنه های آبی باعث پاسخ استرس در آبزیان و بخصوص ماهی ها می شود که نهایتا بر وضعیت فیزیولوژیک ماهیان اثرگذار بوده و باعث کاهش عملکرد ایمنی در آنها می شود. از این رو استفاده از محرک های ایمنی نظیر پروبیوتیک ها بسیار ضروری به نظر می رسد. تعداد ۲۵۰ بچه ماهی کپور معمولی به مدت ۴۲ روز در سه دسته ماهیان بدون پروبیوتیک و ماهیان دارای پروبیوتیک سطح A (۱۰^۶) و ماهیان دارای پروبیوتیک سطح B (۱۰^۷) تقسیم شدند. سپس به هر کدام از گروهها ۵۰ درصد غلظت کشنده نانو آهن به مدت ده روز اضافه شد. سپس پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون با استفاده از دستگاه الیزا، دستگاه سیسمکس و کیت های تجاری اندازه گیری شد. پروبیوتیک به تنهایی اثر معنی داری بر گلوکز، بیلی روبین دایرکت و بیلی روبین کل نداشت ($P \geq 0.05$)، ولی بر پروتئین تاثیر معنی داری داشت و منجر به کاهش این شاخص گردید. تیمار تحت کشنده نانو آهن باعث افزایش پروتئین و کاهش بیلی روبین دایرکت و بیلی روبین کل گردید ($P < 0.05$)، ولی بر گلوکز تاثیری معنی داری نداشت. همچنین استفاده ترکیبی پروبیوتیک و نانو آهن باعث کاهش شدید بیلی روبین دایرکت و بیلی روبین کل و باعث افزایش پروتئین گردید ($P < 0.05$)، ولی بر شاخص گلوکز تاثیر معنی داری نداشت ($P \geq 0.05$). بطور کلی ترکیب پروبیوتیک و نانو آهن منجر به تعدیل پروتئین گردید و اثرات افزایشی نانو آهن بر این شاخص را کاهش داد. ولی در مورد سه شاخص گلوکز، بیلی روبین کل و دایرکت، پروبیوتیک اثر معنی داری نداشت.

واژگان کلیدی: بهبود مقاومت، آبی، نانو ذرات فلزی، پروبیوتیک

تاریخ دریافت مقاله : ۹۶/۰۹/۲۲

تاریخ پذیرش مقاله : ۹۷/۰۴/۰۹

۱. مقدمه

در سال‌های اخیر نانوتکنولوژی تبدیل به یکی از مهم‌ترین و مهیج‌ترین حوزه‌های رو به پیشرفت در فیزیک، شیمی، علوم مهندسی و زیست‌شناسی شده است. ذرات نانو به خاطر خصوصیت‌های غیر معمول نوری، شیمیایی، فوتوالکتروشیمیایی و الکتریکی، مورد توجه دانشمندان هستند [۱]. با توجه به نو ظهور 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 به خصوص آبزیان با آن‌ها وجود دارد. نانو ذرات می‌توانند از جداره رگ‌های خونی و همچنین جفت عبور کنند در نتیجه، به راحتی می‌توانند با ملکول‌های مستقر بر روی سطح یا داخل سلول‌ها تعامل داشته باشند. این مسئله باعث می‌شود سلامتی موجودات زنده زیادی تحت تاثیر قرار گیرد. استفاده از محصولات حاوی نانوقره می‌تواند موجب رهایش و ورود غلظت‌های بالای آن به منابع آبی شود. به طور کلی غلظت‌های نانوقره در پساب تصفیه-خانه‌ها $0.02 \mu\text{g/L}$ و در آب سطحی $0.094 \mu\text{g/L}$ تخمین زده شده است [۲].

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی به طور عمده در تشخیص وضعیت فیزیولوژی ماهی و تعیین حالت عمومی سلامت ماهی استفاده می‌شود. تغییرات بیوشیمیایی بافت‌های مختلف بدن، بازگوکننده تغییرات در متابولیسم و فرآیندهای بیوشیمیایی موجودات زنده است که عوامل بسیار مختلفی از جمله تماس ماهی با ترکیبات سمی می‌تواند در بروز آنها موثر باشد. از آنجایی که ویژگی‌های بیوشیمیایی خون به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های وضعیت فیزیولوژیکی ماهی قلمداد می‌شود، ورود آلاینده‌ها در پیکره موجود زنده می‌تواند موجب تغییر قابل توجه و معنی‌داری در پروفایل بیوشیمیایی خون شود که در واقع بازتابی از ایجاد تغییرات در پروسه متابولیسم طبیعی بدن ماهی است که در نتیجه متابولیسم آلاینده طی فرایند سم‌زدایی حاصل می‌شود [۳].

کپور ماهیان گروهی از بارزش ترین ماهیان آب شیرین از لحاظ اقتصادی می‌باشند و فراوانی بسیار زیادی در آب‌های شیرین دارند. این ماهیان به صورت گسترده در سرتاسر نقاط دنیا، مورد تکثیر و پرورش قرار می‌گیرند.

احتمالاً ماهی کپور معمولی اولین گونه‌ای از ماهیان است که از زادگاهش به سایر نقاط دنیا معرفی شده است [۴]. در سالهای اخیر تحقیقات فراوانی روی ترکیبات و مکمل‌های غذایی که در بالا بردن ایمنی موجود و کارایی تغذیه نقش دارند صورت گرفته است. افزودن پروبیوتیک‌ها به غذای ماهی باعث افزایش فعالیت گوارشی، رشد و درنهایت سبب بهبود وضعیت ایمنی می‌گردد. از خواص پروبیوتیک‌ها می‌توان به تحریک و ارتقاء سیستم ایمنی بدن، افزایش کارایی غذایی که این امر از طریق تولید ویتامین‌ها، افزایش قابلیت جذب مواد معدنی و عناصر کمیاب و نیز تولید شاخص‌های گوارشی انجام می‌گیرد اشاره کرد. از جمله این اثرات شامل ایجاد تعادل میکروبی در روده میزبان، ساختن ترکیبات مفید از جمله ویتامین‌ها و برخی شاخص‌ها، تحریک و افزایش کارایی سیستم ایمنی و در نهایت افزایش بقای موجود می‌شوند. عوامل مختلفی می‌توانند بر کارایی تکثیر و پرورش ماهیان تاثیرگذار باشند. از جمله ترکیباتی که به عنوان مکمل غذایی و جایگزین برای ترکیبات ضد میکروبی مطرح می‌باشند می‌توان به پروبیوتیک‌ها، نوکلئوتیدها، پری‌بیوتیک‌ها اشاره کرد. در طول سال‌های گذشته استفاده از مکمل‌های غذایی (پروبیوتیک و سایر افزودنی‌ها) که در بالا بردن ایمنی مصرف کنندگان نقش اساسی داشته‌اند افزایش یافته است، به طوری که اثرات مثبت و فراوان این مواد در انواع جانداران ثابت شده است (چند رفرنس ایمنی). لاکتوباسیلوسها و بیفیدوباکتریومها بیشترین میکروارگانیسم‌هایی هستند که به عنوان پروبیوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرند. اثرات مفید گونه‌های مختلف این میکروارگانیسم‌ها در مطالعات مختلفی بررسی شده است؛ اما خواص آنها از گونه‌ای به گونه دیگر، متفاوت می‌باشد [۵].

لذا با توجه به جنبه‌های روز افزون کاربرد نانوذرات و ورود آن به اکوسیستم‌های آبی به عنوان آلاینده نوظهور، در تحقیق حاضر به بررسی جنبه‌های بیوشیمیایی اثرات نانو آهن بر ماهی کپور معمولی پرداخته شد و این فرضیه که احتمال کاهش اثرات نانوذرات با مکمل پروبیوتیک وجود دارد نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

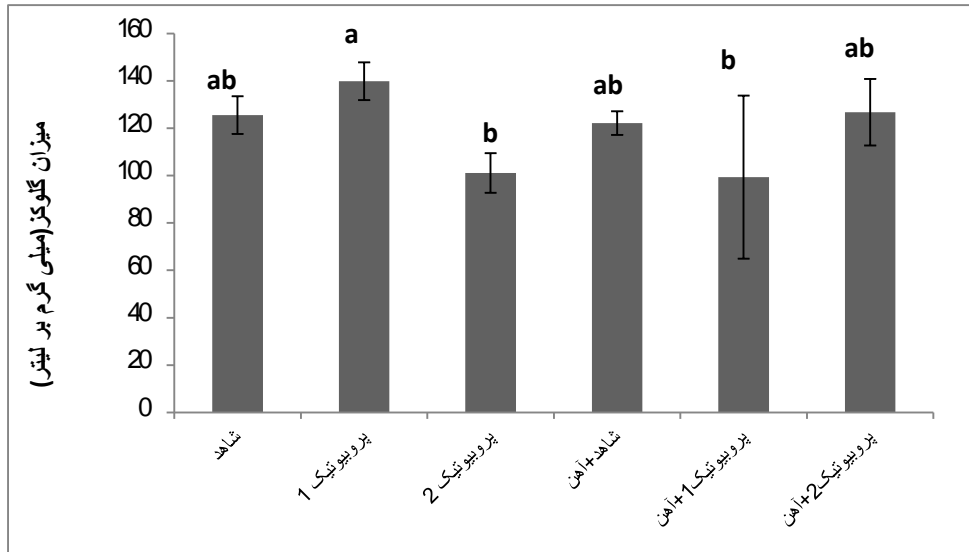
اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی و نیز تهیه بافت کبد، ابتدا ماهیان به صورت تصادفی با ساچوک برداشته و در داخل تشتت پلاستیکی ۵ لیتری دارای ۲۲۰ ppm محلول یوژینول قرار گرفته و سپس از ماهیان نمونه خون برای بدست آوردن پارامترهای بیوشیمیایی گرفته شد. پس از بیهوشی، آب اضافی از سطح بدن ماهی‌ها به وسیله حوله نرم خشک شد. سپس از قسمت پایین باله مخرجی خون گیری صورت گرفت. برای تهیه سرم به منظور اندازه گیری شاخص های کبدی، ۲ تا ۳ سی سی خون را به داخل ویال های بدون انعقاد ریخته و در داخل سانتریفیوژ، ۴۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد تا سرم خون تهیه شود. سپس سرم خون در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد در یخچال برای انتقال به آزمایشگاه قرار داده شد [۶]. پارامترهای بیوشیمیایی با استفاده از دستگاه الیزا و دستگاه اسپکس ساخت کشور ژاپن و کیت های مخصوص خریداری شده از شرکت Man اندازه گیری شد. سطوح شاخص های بیلی روبین و گلوکز سرم خون با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون) مورد سنجش قرار گرفت. همچنین میزان پروتئین کل با استفاده روش Biuret، و با استفاده از کیت تجاری ELITech ساخت کشور فرانسه انجام گردید. برای انجام محاسبات، آنالیزهای آماری (آزمون تحلیل واریانس تک متغیره Univariate Analysis of Variance در سطح معنی داری ۵ درصد $P < 0.05$) و ترسیم نمودارها از نرم افزارهای Excel 2003 و SPSS V.20 استفاده شد.

۳. نتایج

۳-۱. میزان گلوکز سرم خون ماهی کپور معمولی
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص گلوکز خون تاثیر معنی داری داشت ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که پروبیوتیک، نانو آهن به تنهایی و ترکیب پروبیوتیک و آهن تاثیر قابل توجهی بر شاخص گلوکز نداشت (شکل ۱).

این تحقیق به مدت ۶۰ روز در محل مرکز تحقیقات آبی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. ابتدا تعداد ۲۵۰ بچه ماهی کپور معمولی با محدوده وزنی حدود ۲۰ گرم از مراکز تکثیر و پرورش بخش خصوصی تهیه گردید. بعد از ضدعفونی و آماده سازی آکواریوم‌ها، آگیری آن‌ها صورت گرفت. سپس به آکواریوم های آزمایشگاه منتقل شدند. برای سازگار شدن با محیط آزمایش به مدت یک هفته در داخل تانک های پرورشی نگهداری شدند. در طول دوره ی آزمایش فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی آب اندازه گیری شد که شامل دمای آب 21 ± 1 درجه سانتی گراد، پی اچ (pH) $7/9 - 6/7$ ، غلظت اکسیژن محلول: ۷-۹ میلی گرم در لیتر و سختی آب: ۲۱۰ میلی گرم کربنات کلسیم در لیتر بود. بعد از گذشت یک هفته از دوره سازگاری، ماهیان در سه دسته ماهیان بدون پروبیوتیک و ماهیان دارای پروبیوتیک سطح A (10^6) و ماهیان دارای پروبیوتیک سطح B (10^7) در شش گروه مختلف تقسیم شدند [۵]. گروه ها شامل تیمار ۱ شاهد، تیمار ۲ پروبیوتیک 10^6 ، تیمار ۳ پروبیوتیک 10^7 ، تیمار ۴ آهن تحت کشنده، تیمار ۵ آهن و پروبیوتیک 10^6 و تیمار ۶ آهن و پروبیوتیک 10^7 بودند اضافه کردن پروبیوتیک لاکتوباسیلوس به غذا با روش اسپری کردن به میزان $1g/kg$ صورت گرفت، به این صورت که ابتدا میزان ۲ گرم پودر ژلاتین را به آب اضافه کرده و پس از حل شدن پودر در آب مقادیر مورد نیاز پروبیوتیک را که از قبل توزین و آماده شده بود، به محلول آب و پودر ژله اضافه شد.

در نهایت پس از حل شدن پروبیوتیک، محلول آماده شده بر غذای تجاری اسپری شد. بعد از گذشت ۴۲ روز به هر کدام از گروهها ۵۰ درصد غلظت کشنده نانو آهن به مدت ده روز اضافه شد که در مجموع ۶ تیمار با ۳ تکرار (۱۸ تیمار × تکرار) طراحی شد. همچنین لازم به یادآوری است روزانه ۷۰ درصد حجم تانک‌ها تعویض آب صورت گرفت بطوریکه غلظت سم در هر یک از تیمارها حفظ شد. روزانه ۲/۵ درصد وزن بدن غذادهی صورت گرفت. جهت

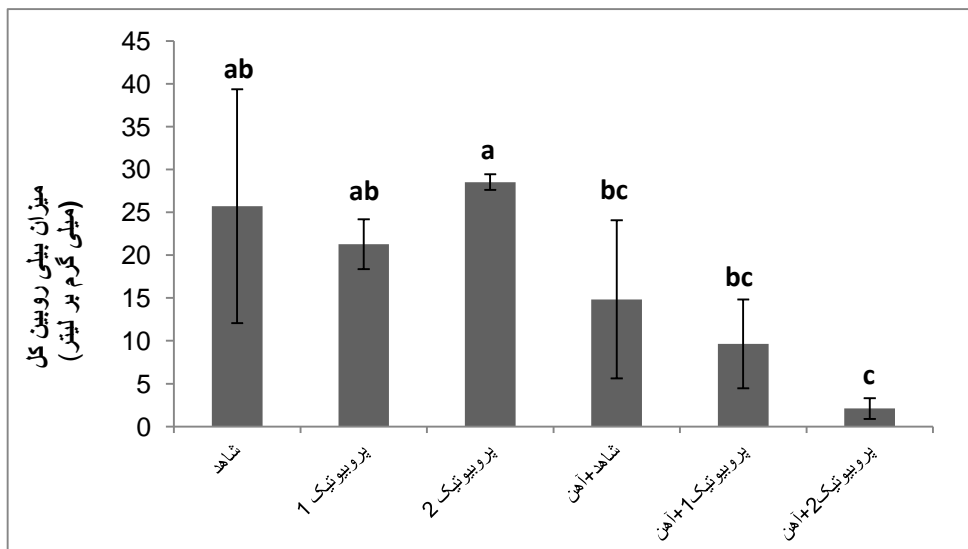


شکل (۱) میزان گلوکز سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. پروبیوتیک ۱ در سطح ۱۰^۶ و پروبیوتیک ۲ در سطح ۱۰^۷ می باشد. تیمار شاهد+آهن تیمار تحت کشنده آهن می باشد. حروف لاتین متفاوت بیانگر معنی داری در سطوح مورد بررسی است.

۳-۲. میزان بیلی روبین سرم کل خون ماهی کپور معمولی

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص بیلی روبین خون تاثیر معنی داری داشت ($P < 0.05$)، که پروبیوتیک به

تنهایی اثر معنی داری بر مقدار شاخص بیلی روبین دایرکت نداشت. اما نانوآهن مقدار این شاخص را به شدت کاهش داد. همچنین استفاده ترکیبی پروبیوتیک نوع ۲ و نانوآهن اثر مضاعف کاهش بر شاخص بیلی روبین دایرکت خون داشت (شکل ۲).



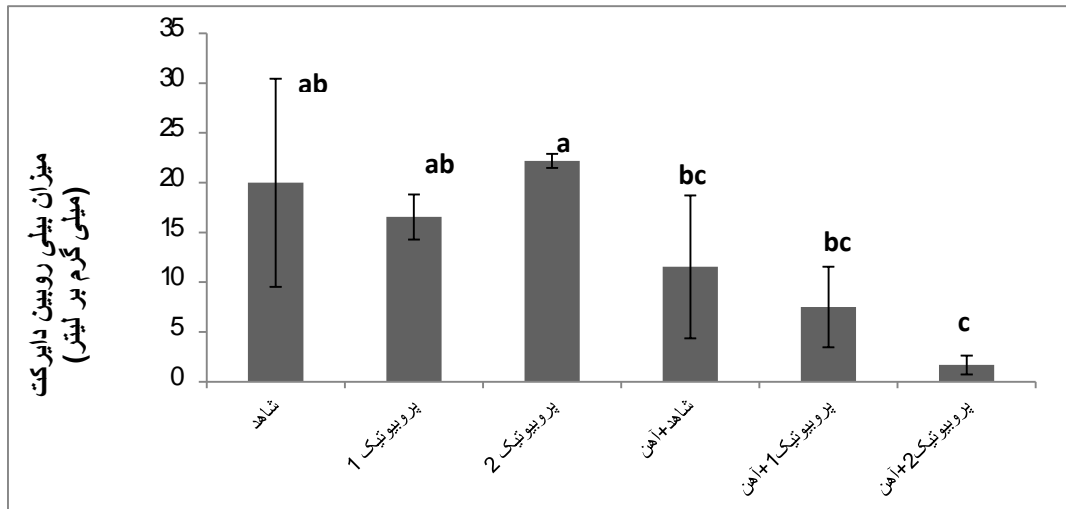
شکل (۲) میزان بیلی روبین سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. پروبیوتیک ۱ در سطح ۱۰^۶ و پروبیوتیک ۲ در سطح ۱۰^۷ می باشد. تیمار شاهد+آهن تیمار تحت کشنده آهن می باشد. حروف لاتین متفاوت بیانگر معنی داری در سطوح مورد بررسی است.

۳-۳. میزان بیلی روبین دایرکت سرم خون ماهی کپور معمولی

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص بیلی روبین دایرکت خون تاثیر معنی داری داشت ($P < 0.05$). پروبیوتیک به

نانوآهن اثر مضاعف کاهش بر شاخص بیلی روبین دایرکت خون داشت (شکل ۳).

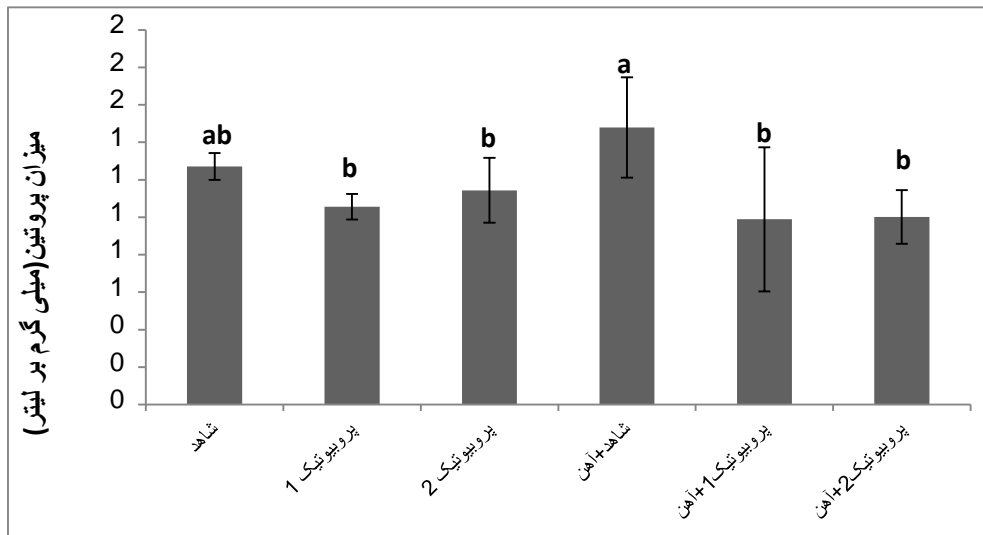
تنهایی اثر معنی داری بر مقدار شاخص بیلی روبین دایرکت نداشت اما نانوآهن مقدار این شاخص را به شدت کاهش داد. همچنین استفاده ترکیبی پروبیوتیک و



شکل (۳) میزان بیلی روبین دایرکت سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. پروبیوتیک ۱ در سطح ۱۰^۶ و پروبیوتیک ۲ در سطح ۱۰^۷ می باشد. تیمار شاهد+آهن تیمار تحت کشنده آهن می باشد. حروف لاتین متفاوت بیانگر معنی داری در سطوح مورد بررسی است.

پروبیوتیک مقدار پروتئین را کاهش داده، ولی نانوآهن مقدار این شاخص را افزایش داد. همچنین ترکیب پروبیوتیک و نانوآهن باعث کاهش و تعدیل شدن مقدار شاخص پروتئین شد (شکل ۴).

۳-۴. میزان پروتئین سرم خون ماهی کپور معمولی بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص پروتئین بیلی روبین خون تاثیر معنی داری داشت ($P < 0.05$).



شکل (۴) میزان پروتئین سرم خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. پروبیوتیک ۱ در سطح ۱۰^۶ و پروبیوتیک ۲ در سطح ۱۰^۷ می باشد. تیمار شاهد+آهن تیمار تحت کشنده آهن می باشد. حروف لاتین متفاوت بیانگر معنی داری در سطوح مورد بررسی است.

۴. بحث و نتیجه گیری

از جمله فاکتورهای بیوشیمیایی مهم، گلوکز، بیلی روبین و پروتئین هستند که از سنجش آن‌ها به‌عنوان یک شاخص آزمایشگاهی استاندارد جهت بررسی اختلالات کبدی در موجودات استفاده می‌شود. این شاخص‌ها، اساساً داخل سلولی هستند و در بسیاری از اندام‌های مختلف دیگر ماهی نیز یافت می‌شوند. بیلی‌روبین یکی از پیگمان‌های زردرنگ صفراوی است که از شکست و تجزیه طبیعی هموگلوبین حاصل می‌شود. گلبولهای قرمز پس از طی عمر ۱۲۰ روزه خود در طحال، توسط ماکروفاژهای طحالی تخریب می‌شوند. هموگلوبین موجود در گلبولهای قرمز پس از تخریب اریتروسیتها آزاد و به یک هم اسید آمینه تجزیه می‌شوند. بیلی روبین از شاخصهای تعیین استرس می باشد. با توجه به اینکه، در حالت طبیعی مقادیر این شاخص‌ها در داخل سلول بیشتر از خارج سلول است، بنابراین افزایش مقادیر جزئی آن‌ها در محیط خارج سلول اعم از مایع بین سلولی و پلاسما به‌عنوان یک اندیکاتور حساس، بیانگر وقوع آسیب سلولی در مواجهه با انواع آلاینده‌های وارد شده به بدن در ارزیابی نحوه عملکرد سلول های کبدی به عنوان تست های موجود زنده خواهد بود. بنابراین این شاخص ها اهمیت بالینی دارند و استاندارد از آن ها استفاده می شود [۷].

ویژگی‌های نانو ذرات مانند انحلال پذیری، 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 به فرد فیزیکیوشیمیایی 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 نانو ذره‌ها 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 است منجر به تأثیرات سمی و پاسخ‌های التهابی در مغز و تخریب سیستم عصبی مرکزی شود [۸].

شاخص‌های بیوشیمیایی در ماهی نشانگر خوبی از استرس شدید است و اطلاعاتی از اختلال عملکرد اندامها را ارائه میدهد. سموم باعث اختلال در حالت فیزیولوژیکی ماهیان میشوند و روی سطح شاخص‌ها تاثیر می‌گذارند و موجب

تخریب اندام‌های سلولی میشوند، که ممکن است افزایش یا مهار در تولید شاخصها را باعث شوند. سطح شاخصهای بافت، به میزان آزاد شدن این شاخصها از سلولهای آسیب دیده، که به نوبه خود به میزان آسیبی که در حد آسیبهای سلولی اتفاق افتاده است، وابسته می باشد [۷]. پارامترهای بیوشیمیایی میتوانند اطلاعات قابل دسترسی را برای بررسی سلامتی و شرایط ماهی فراهم کنند. امروزه با پیشرفت آنالیز فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون، درک بهتری از وضعیت فیزیولوژیک و سلامتی آبزیان به دست آمده است. ولی برخلاف حیوانات خشکی زی، به دلیل متغیر بودن این پارامترها و تنوع بالای گونه های آبزیان، اثرات فیزیولوژیک فاکتورهای بیوشیمیایی خون در آبزیان چندان شناخته شده نمی باشد [۹]. گلوکز یکی از منابع انرژی مهم استفاده شده توسط ماهی است که برای مقابله با استرس فیزیولوژیکی استفاده می شود و بنابراین میزان گلوکز خون بعنوان شاخص پاسخ به استرس استفاده می شود [۷].

نتایج حاضر نشان داد که پروبیوتیک به تنهایی اثر معنی داری بر شاخص های گلوکز و بیلی روبین کل و دایرکت نداشت اما نانواهن باعث کاهش مقدار این شاخص ها و همچنین استفاده ترکیبی پروبیوتیک و نانواهن باعث اثر مضاعف کاهش این شاخص ها گردید که نشان دهنده کاهش اثرات استرسی ایجاد شده توسط نانو آهن می باشد. در ارتباط با گلوکز هم پروبیوتیک و آهن به تنهایی و ترکیب آنها تاثیر قابل توجهی بر این شاخص نداشت. مطالعات محققین نشان داده است که تفاوت های زیادی بین گلوکز و بیلی روبین خون گونه های مختلف ماهیان و حتی بین افراد یک گونه وجود دارد [۱۰]. مرشدی و همکاران [۱۱] در بررسی اثر پروبیوتیک بر ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) نشان دادند که سطوح مختلف پروبیوتیک بر میزان گلوکز بی تأثیر بوده است. که همسو نتایج تحقیق حاضر است. در مطالعه ای دیگر ولی پور و همکاران [۱۲] نشان دادند که میزان گلوکز در بچه ماهیان سفید تغذیه شده با پروبیوتیک افزایش داشت که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد.

میزان پروتئین به عنوان شاخص مهمی از وضعیت سلامت ماهیان استخوانی و نیز به عنوان شاخصی از وضعیت تغذیه ای در نظر گرفته می شود [۷]. در بررسی حاضر

- [4] R. Billard, J. Cosson, G. Perchee, O. Linhart, "Biology of sperm and artificial reproduction in carp", *Aquaculture*, 129(1), 95-112, 1995.
- [5] P.V. Kirjavainen, H.S. El-Nezami, S.J. Salminen, J.T. Ahokas, F.A. Wright, "The effect of orally administered viable probiotic and dairy lactobacilli on mouse lymphocyte proliferation", *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 26: 131-135, 1999.
- [6] W.A. Goddard, D.W. Brenner, S.E. Lyshevski, G.J. Iafate, "Handbook of nanoscience, engineering, and technology", Boca Raton: CRC. 321 p, 2003.
- [7] M. Banaee, A. Sureda, F. Zohiery, B.N. Hagi, D.S. Garanzini, "Alterations in biochemical parameters of the freshwater fish, *Alburnus mossulensis*, exposed to sub-lethal concentrations of Fenpropathrin", *International Journal of Aquatic Biology*, 2(2): 58-68, 2014.
- [8] Ya. Chang, L. Xia, M. Zhang, J. Zhang, G. Xing, "The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles", *Materials*, 5(12): 2850-2871, 2012.
- [9] T.W. Campbell, "Clinical chemistry of fish and amphibians", *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams and Wilkins, Pennsylvania. 499-517, 2004.
- [10] I. Navarro, J. Gutiérrez, J. "Fasting and starvation". *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 393-434, 1995.
- [11] V. Morshedi, M. Nafisi Bahabadi, M. Azodi, M. Modaresi, S. Cheraghi, "Effects of dietary probiotic (*Lactobacillus plantarum*) on body composition, serum biochemical parameters and liver enzymes of Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Journal of Marine Science and Technology*, 14(2): 1-14, 2015.
- [12] A.R. Valipour, N. Hamedi, H. Abdollahpour, "The effect of probiotic (*Pedococcus acidilactici*) supplementation on blood parameters of fingerlings kutum (*Rutilus kutum*). *Aquaculture Europe*", *Journal of Marine Science and Technology*, 14(2): 1-14, 2013.
- [13] C.K. Misra, B.K. Das, S.C. Mukherjee, P. Pattnaik, "Effect of multiple injections of b-glucan on non-specific immune response and disease resistance in *Labeo rohita* fingerlings", *Fish and Shellfish Immunology* 2: 305-319, 2006.
- [14] S.K. Nayak, "Probiotics and immunity: a fish perspective", *Fish and Shellfish Immunology* 29: 2-14, 2010.
- [15] M. Yousefian, M. Sheikholeslami, M. Amiri, A.A. Hedayadifard, H. Dehpour, M. Fazli, S.V. Ghiaci, S.H. Najafpour, "Serum biochemical parameters of male and female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Haraz River, Iran", *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2: 512-518, 2010.

نتایج نشان داد پروبیوتیک به تنهایی مقدار پروتئین سرم خون را کاهش ولی تیمار تحت کشنده نانواهن مقدار این شاخص را افزایش داد. در حالیکه استفاده ترکیبی پروبیوتیک و نانواهن منجر به کاهش و تعدیل شدن شاخص پروتئین گردید. برخی مطالعات پیشین نشان دادند که میزان پروتئین در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف محرکهای ایمنی از جمله پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد بالاتر است [۱۳-۱۴]. ولی پور و همکاران [۱۵] مشاهده کردند که میزان پروتئین خون در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک افزایش یافت. که مخالف نتایج تحقیق حاضر است. دلیل تفاوت در این نتایج می تواند به علت تفاوت در نوع گونه پرورشی، نوع پروبیوتیک مصرفی و میزان مورد استفاده آن در جیره باشد. بر اساس مطالعات محققین عوامل محیطی (فصل، شوری، درجه حرارت، تراکم)، عوامل فیزیولوژیکی (گونه ماهی، سن، جنس، وضعیت تغذیه ای)، زمان نمونه برداری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش های اندازه گیری می توانند بر فعالیت پارامترهای بیوشیمیایی خون تاثیر گذار باشند و تفاوت در نتایج تحقیقات صورت گرفته را سبب شود [۱۶].

نتیجه گیری کلی این تحقیق نشان داد که پروبیوتیک در روش خوراکی، ایمنی غیراختصاصی را در ماهی کپور معمولی تا حدودی تحریک نموده و در مواجهه با استرس نانواهن منجر به بهبود برخی شاخص های بیوشیمیایی مانند پروتئین گردد و اثرات افزایشی نانواهن بر این شاخص ها را کاهش دهد، ولی در مورد سه شاخص گلوکز، بیلی روبین کل و دایرکت، پروبیوتیک نتوانست تاثیر معنی داری بگذارد که نیازمند تحقیق بیشتر است.

۵. منابع

- [1] P. Gong, H. Li, X. He, K. Wang, J. Hu, W. Tan, X. Yang, "Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄ Ag nanoparticles", *Nanotechnology*, 18(28): 285604, 2007.
- [2] T. Benn, B. Cavanagh, K. Hristovski, J. D. Posner, P. Westerhoff, "The release of nanosilver from consumer products used in the home", *Journal of environmental quality*, 39(6), 1875-1882, 2010.
- [3] C.C. Edsall, "A blood chemistry profile for lake trout", *Journal of Aquatic Animal Health*, 11(1): 81-86, 1999.

mossambicus)", Aquaculture Research 28: 453-459, 1997.

[16] M.C.J. Verdegem, A.D. Hilbrands, J.H. Boon, "Influence of salinity and dietary composition on blood parameter values of hybrid red tilapia (*Oreochromis niloticus* & *Oreochromis*