بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد هشتم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۸
۱-۱۰
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2020.15086.1438

تغییرات خون‌شناسی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانونقره پس از تغذیه با مکمل‌های غذایی

هانیه ملاحی[۱]، *سید علی‌اکبر هدایتی[۲]، سید حسین حسینی‌فر[۲]، علی جافر نوده[۳] و طاهره باقری[۴]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه بوم‌شناسی آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

[۲]دانشیار گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

[۳]دانش‌آموخته دکتری تخصصی گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

[۴]استادیار مرکز تحقیقات آب‌های دور، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۲۸

چکیده

به‌دلیل نوظهور بودن فناوری نانو و عدم آگاهی کافی از خطرات احتمالی این ذرات از یک‌سو و اثرات مفید پروبیوتیک‌ها بر آبزیان از سوی دیگر، سبب شد که پژوهش حاضر به بررسی اثرات آلاینده نانونقره بر شاخص‌های فیزیولوژیک ماهی کپور تغذیه شده با پروبیوتیک (باکتری باکتوسل) و پریبیوتیک (قارچ دکمه‌ای) و سین‌بیوتیک انجام شود. کل دوره انجام آزمایش ٦٠ روز بود. در مجموع، ماهیان تحت ٤ تیمار شاهد، پروبیوتیک، پریبیوتیک و سین‌بیوتیک آزمایشی به‌مدت ٦ هفته و با ۳-٤ درصد وزن بدن تغذیه شدند، سپس به‌مدت ١٤ روز با غلظت ppm ۱ از نانوذرات نقره مواجهه داده شدند. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که میزان M.C.H، M.C.H.C، MCV و هموگلوبین خون اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که پروبیوتیک منجر به کاهش شاخص‌های مذکور گردید. هموگلوبین در تیمارهای پروبیوتیک و سین‌بیوتیک افزایش و در تیمار پریبیوتیک کاهش را نشان داد، که این افزایش هم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت (P<۰/۰۵). میزان لنفوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها در تیمار شامل پروبیوتیک افزایش یافته و در تیمار حاوی سین‌بیوتیک بالاترین میزان نوتروفیل مشاهده گردید. هم‌چنین در ارتباط با مونوسیت‌ها نتایج نشان داد در تیماری که پریبیوتیک حضور دارد مونوسیت‌ها بالاترین میزان را دارند. مکمل‌های غذایی مورد استفاده در این مطالعه قادر هستند تا حد زیادی در بهبود عملکرد و مقاومت ماهی کپور معمولی در مواجهه با آلودگی نانوذرات نقره نقش ایفا کنند.

واژه‌های کلیدی: بهبود مقاومت، پروبیوتیک، ماهی کپور، نانوذرات نقره

* مسئول مکاتبه: hedayati@gau.ac.ir

مقدمه

نانوذرات نقره به‌طور عمده، به‌دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه‌ای که از خود نشان می‌دهند در مصارف الکترونیکی، نوری، دارویی و بهداشتی و کاتالیتیکی کاربرد فراوان دارند. اثر ضدباکتریایی نانونقره به اثبات رسیده، تاکنون بیش از ٦٥٠ نوع باکتری شناخته‌شده را از بین برده و امروزه در صنایع مختلف کاربرد فراون دارد (گنگ و همکاران، ۲۰۰۷). نقره در ابعاد بزرگ‌تر، فلزی با خاصیت واکنش‌دهی کم می‌باشد، ولی زمانی که به ابعاد کوچک در محدوده اندازه بین ۱۰۰-۱ نانومتر تبدیل می‌شود خاصیت میکروب‌کشی آن بیش از ۹۹ درصد افزایش می‌یابد (باریولر و همکاران، ۱۹۹۹). نقره در ابعاد نانو بر متابولیسم، تنفس و تولیدمثل میکروارگانیسم اثر می‌گذارد.

با توجه به‌نوظهور بودن فناوری نانو هنوز از خطرات احتمالی این ذرات برای محیط زیست ارزیابی دقیقی صورت نگرفته است. نانوذرات به‌طور طبیعی از ابتدا در کره زمین وجود داشته‌اند و موجودات زنده در طی تکامل، با نانوذرات طبیعی سازگار شده‌اند؛ با این‌حال، از آن‌جا که نانوذرات مصنوعی تولید بشر هستند و در فرآیند تکامل وجود نداشته‌اند، در حال حاضر، نگرانی زیادی پیرامون آلودگی موجودات زنده با آن‌ها وجود دارد در حالی‌که عنوان شده آسیب به محیط‌زیست و تهدید بهداشت انسانی ناشی از استفاده از نانوذرات بسیار کم‌تر از سایر مواد با اثرات مشابه است.

فرضیه‌های مطرح‌شده نسبت به آسیب‌های احتمالی حاصل از فناوری نانو به طرز تهدیدآمیزی باعث کندی روند رشد و توسعه فناوری نانو خواهد شد، مگر آن‌که اطلاعات صحیح، بی‌طرفانه و قانونمند درباره خطرها و چگونگی پرهیز از آن‌ها منتشر شود (آیلون و همکاران، ۲۰۰۹؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰) به‌منظور برآورده کردن این نیازها، علم سم‌شناسی نانومواد، نقش بسیار مهم در توسعه و گسترش نانو فناوری پایدار و ایمن خواهد داشت. اگرچه هم‌اکنون اطلاعات کمی در ارتباط با اثر سم‌شناسی زیست‌محیطی و اثر سم‌شناسی انسانی نانومواد در دسترس است، با این‌وجود با توجه به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانومواد پیش‌بینی می‌شود که این مواد با اجزای زیستی برهم‌کنش داشته باشد و اثرات زیادی بر رفتار و خصوصیات ماکرومولکول، سلول و بدن موجود زنده به‌جای بگذارد (رول، ۲۰۰٦). با توجه به این‌که آلودگی‌های ناشی از ذرات نانو در حال افزایش است و مقصد نهایی تمامی این آلودگی‌ها اکوسیستم‌های آبی می‌باشد بنابراین خطر انتقال این آلودگی‌های به زنجیره غذایی و در نهایت انسان رو به افزایش است بنابراین استفاده از ترکیباتی در جیره غذایی که سبب افزایش مقاومت آبزیان به آلاینده‌ها متواند این روند تأثیرپذیری موجودات نسبت به آلاینده‌ها را کاهش دهد. در سال‌های اخیر استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزینی برای روش‌های درمانی گذشته مطرح گردیده است که به‌نظر می‌رسید می‌تواند بسیاری از مشکلات را مرتفع سازد. استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل غذایی برای حیوانات پرورشی به دهه ۱۹۷۰ برمی‌گردد (فولر، ۱۹۸۹). تاکنون مطالعاتی در زمینه کاربرد پروبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری انجام شده است و ارگانیزم‌های مختلفی از جمله باکتری‌های گرم مثبت و منفی، مخمرها، میکروآلگ‌ها به‌عنوان پروبیوتیک در آبزی‌پروری بررسی شده و اثرات بسیار سودمند آن‌ها در افزایش ایمنی، بهبود رشد، مقاومت در برابر بیماری‌های گونه‌های مختلف ماهی و میگو به اثبات رسیده است (ایریانتو و اوستین، ۲۰۰۲). به همین دلیل پژوهشگران ایده‌های جدیدتری در این باب اعم از به‌کارگیری پربیوتیک‌ها (اجزاء

غذایی غیرقابل هضم که سبب افزایش رشد و تعداد باکتری‌های مفید روده‌ای می‌شوند) و سین‌بیوتیک‌ها (ترکیب پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها) ارائه کردند.

هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر نانوذرات نقره روی شاخص‌های خون‌شناسی و سلولی ماهی کپور معمولی بابهبود مقاومت ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوذرات نقره با استفاده از محرک‌های ایمنی غذایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌مدت ٦٠ روز در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید فضلی گروه تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت گرفت. ۲۰۰ عدد بچه‌ماهی کپور از یکی از مراکز موجود استان گلستان تأمین و به محل آزمایش انتقال داده شدند. پس از یک دوره آداپتاسیون، بچه‌ماهیان زیست‌سنجی‌شده و با میانگین وزنی ۱۷ گرم به تعداد ۱۵ عدد در ۱۲ تانک فایبرگلاس یک مترمکعب نگهداری شدند.

غذای مورد نیاز هر تانک با توجه به نتایج به‌دست آمده از زیست‌سنجی هر تانک پرورشی محاسبه و تنظیم گردید. بچه‌ماهیان روزانه در ۳ وعده غذادهی شدند (ساعت ۸ صبح، ۱۲ ظهر و ٤ بعدازظهر)، تحت ٤ تیمار شاهد، پروبیوتیک، پریبیوتیک و سین‌بیوتیک آزمایشی به‌مدت ٦ هفته و با ۳-٤ درصد وزن بدن تغذیه شدند

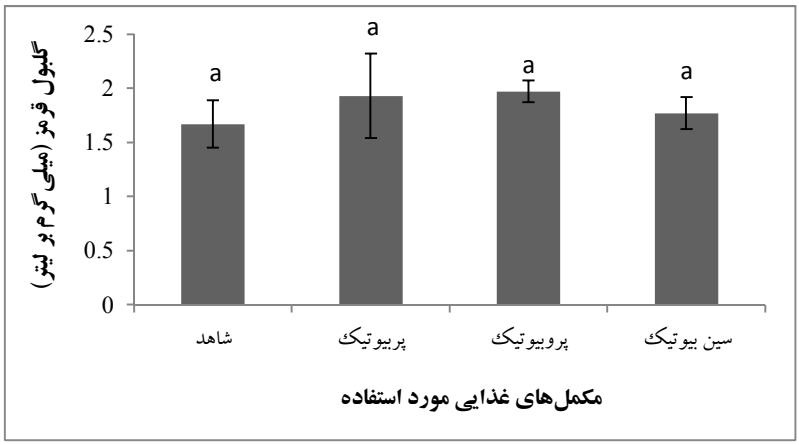
در طول دوره آزمایش (۸ هفته) روزانه بچه‌ماهی‌ها از نظر وضعیت ظاهری به‌صورت چشمی بررسی شدند. مشاهده مستقیم بچه‌ماهی‌ها در تانک‌ها جهت نظارت بر حرکات، نحوه شنا، رفتارهای تغذیه‌ای، اشتها، تحرک بیش‌ازحد یا کم‌تحرکی انجام شد. بعد از پایان دوره ٦ هفته‌ای غذادهی با پروبیوتیک و پریبیوتیک و سین‌بیوتیک، سم‌دهی ماهیان آغاز شد. طی دوره دوهفته‌ای با توجه به مقدار آب در تانک‌ها ۵۰ درصد از LC50 براساس مطالعات پیشین انجام (فابرگا و همکاران، ۲۰۱۱) سم اضافه شد. نانوذره نقره به‌صورت محلول کلوئیدی ٤۰۰۰ پی‌پی‌ام از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان، مشهد خریداری شد.

قبل از خونگیری تغذیه ماهیان به‌مدت ٢٤ ساعت قطع شد. به‌منظور بررسی شاخص‌های خونی در انتهای دوره آزمایش از هر تکرار تعداد ۳ عدد بچه‌ماهی کپور (در مجموع ٣٦ نمونه) به ظاهر سالم به‌صورت تصادفی انتخاب و در داخل محلول پودر گل میخک (غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر لیتر آب) قرار داده شد و پس از بیهوشی با استفاده از سرنگ ۲ml هپارینه و از طریق رگ ساقه دمی واقع در پشت باله مخرجی خونگیری به عمل آمد. مقدار ۲ سی‌سی خون جهت اندازه‌گیری شاخص‌های خونی به ظروف حاوی ماده ضدانعقاد هپارین و ۲ سی‌سی خون دیگر به ظروف فاقد ماده ضدانعقاد هپارین جهت اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی سرم منتقل و به‌مدت یک ساعت در یخچال نگهداری شد تا خون کاملاً منعقد گردد. پس از تشکیل لخته، به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و پس از جدا شدن سرم، نمونه‌های سرم با استفاده از سمپلر به تیوپ‌های جداگانه که از قبل علامت‌گذاری‌شده بود انتقال یافت و در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد سپس برای اندازه‌گیری آنزیم‌های سرمی (ALP، ALT و AST) مورد استفاده قرار گرفت.

اطلاعات حاصل از آنالیزهای خون‌شناسی و رشد با استفاده از نرم‌افزار Spss 20 و با انجام آزمون ANOVA یک‌طرفه و پس آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد ($P<۰/۰۵$) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همه نتایج به‌دست آمده به‌وسیله میانگین ± انحراف معیار محاسبه شدند.

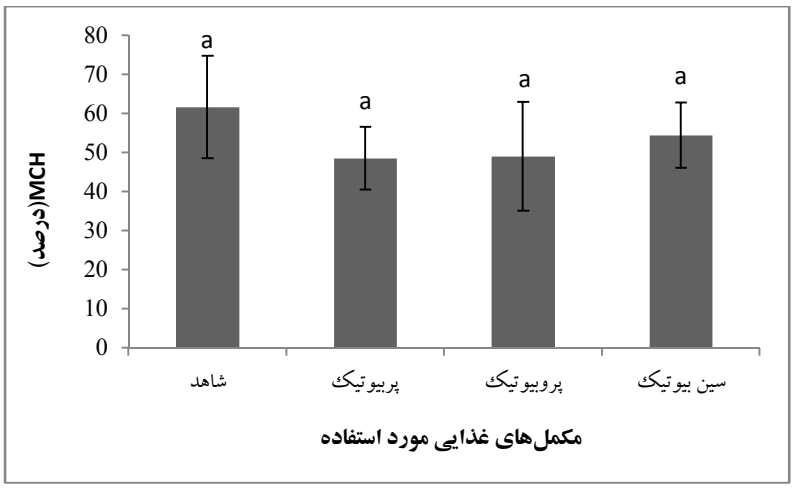
نتایج

بررسی نتایج شاخص گلبول قرمز ماهی کپور معمولی نشان داد که مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره اثر معنی‌داری بر شاخص گلبول قرمز خون نداشته است (P>۰/۰۵). اما در بررسی عددی مشخص شد که تیمار شاهد با میزان ۱/٦۷ گرم/ دسی‌لیتر کم‌ترین و تیمار پروبیوتیک باکتری با میزان ۱/۹۷ میلی‌گرم بر لیتر بیش‌ترین گلبول قرمز خون را داشته است (شکل ۱).



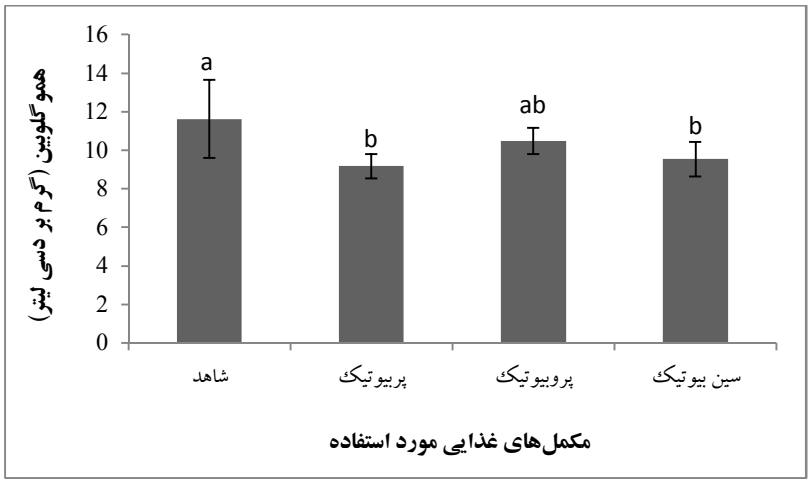
شکل ۱- روند تغییرات گلبول قرمز ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف قارچ، باکتری و ترکیب آن در مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره.

بررسی نتایج شاخص MCHMCHC ماهی کپور معمولی نشان داد که مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره اثر معنی‌داری بر MCHMCHC داشته است (P<۰/۰۵) که تیمار پریبیوتیک با میزان ۲٦/۲۵ درصد کم‌ترین و تیمار شاهد با میزان ۳۷/۲۵ درصد بیش‌ترین مقدار را داشته است. در مجموع مکمل‌های غذایی اثر مثبتی بر MCHMCHC ماهی کپور داشته و موجب افزایش MCHMCHC در مواجهه با نانونقره شده است (شکل ۲).

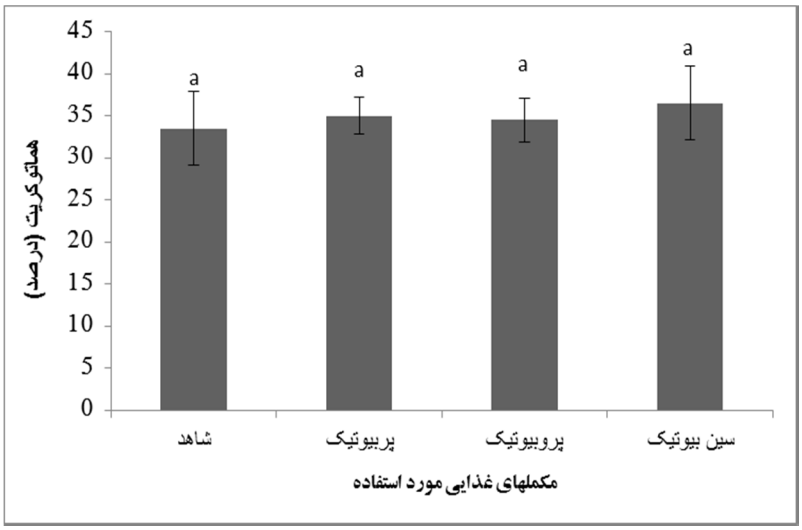


شکل ۲- روند تغییرات MCHMCHC ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف قارچ، باکتری و ترکیب آن در مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره.

بررسی نتایج شاخص هموگلوبین ماهی کپور معمولی نشان داد که مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره اثر معنی‌داری بر شاخص هموگلوبین خون داشته است ($P<0/05$) به‌صورتی‌که تیمار پریبیوتیک با میزان ۹/۱۷ گرم بر دسی‌لیتر کم‌ترین و تیمار شاهد با میزان ۱۱/٦۲ گرم بر دسی‌لیتر بیش‌ترین هموگلوبین را داشته است. در مجموع مکمل‌های غذایی اثر مثبتی بر هموگلوبین ماهی کپور داشته و موجب افزایش تعداد هموگلوبین در مواجهه با نانونقره شده است (شکل ۳).

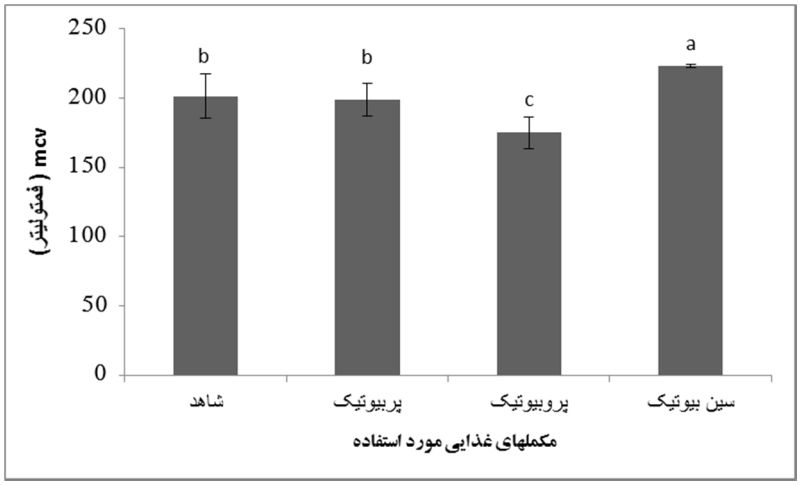


شکل ۳- روند تغییرات هموگلوبین ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف قارچ، باکتری و ترکیب آن در مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره.



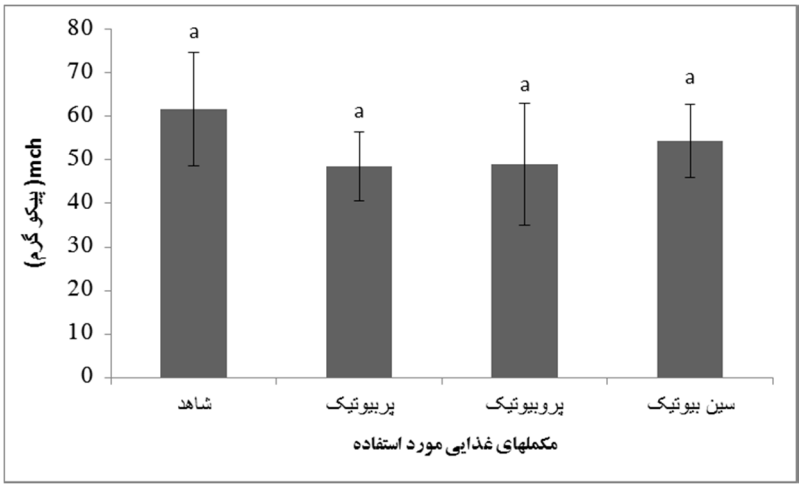
شکل ٤- روند تغییرات هماتوکریت ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف قارچ، باکتری و ترکیب آن در مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره.

بررسی نتایج شاخص هماتوکریت ماهی کپور معمولی نشان داد که مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره اثر معنی‌داری بر شاخص هماتوکریت خون نداشته است ($P>0/05$)، اما در بررسی عددی مشخص شد که تیمار شاهد با میزان ۳۳/۵ درصد کم‌ترین و تیمار سین‌بیوتیک با میزان ۳٦/۵ درصد بیش‌ترین هماتوکریت خون را داشته است (شکل ٤).



شکل ٥- روند تغییرات MCV ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف قارچ، باکتری و ترکیب آن در مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره.

بررسی نتایج شاخص MCV ماهی کپور معمولی نشان داد که مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره اثر معنی‌داری بر شاخص MCV خون داشته است ($P<0/05$) که تیمار پروبیوتیک باکتری با میزان ۱۷٤/۹٦ فمتولیتر کم‌ترین و تیمار سین‌بیوتیک با میزان ۲۲۳/۳٤ فمتولیتر بیش‌ترین مقدار را داشته است. در مجموع مکمل‌های غذایی اثر مثبتی بر MCV ماهی کپور داشته و موجب افزایش MCV در مواجهه با نانونقره شده است (شکل ٥).



شکل ٦- روند تغییرات MCH ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف قارچ، باکتری و ترکیب آن در مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره.

بررسی نتایج شاخص MCH ماهی کپور معمولی نشان داد که مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره اثر معنی‌داری بر شاخص MCH خون نداشته است ($P>0/05$). اما در بررسی عددی مشخص شد که تیمار پریبیوتیک با میزان ٤۸/٤۹ پیکوگرم کم‌ترین و تیمار شاهد با میزان ٦۱/٦ پیکوگرم بیش‌ترین MCH خون را داشته است (شکل ٦).

شکل ۷- روند تغییرات گلبول سفید ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف قارچ، باکتری و ترکیب آن در مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره.

بررسی نتایج شاخص گلبول سفید ماهی کپور معمولی نشان داد که مواجهه تحت کشنده با نانوذرات نقره اثر معنی‌داری بر شاخص گلبول سفید خون داشته است ($P<۰/۰۵$) که تیمار شاهد با میزان ۷/٤ میلی‌مترمکعب کم‌ترین و تیمار سین‌بیوتیک با میزان ۱۱/۳ میلی‌مترمکعب بیش‌ترین گلبول سفید را داشته است. در مجموع مکمل‌های غذایی اثر مثبتی بر سیستم ایمنی ماهی کپور داشته و موجب افزایش تعداد گلبول‌های سفید در مواجهه با نانونقره شده است (شکل ۷).

بحث و نتیجه‌گیری

تاکنون مطالعات بسیاری در زمینه کاربرد پروبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری انجام شده است و ارگانیزم‌های مختلفی از جمله باکتری‌های گرم مثبت و منفی، مخمرها، میکروآلگ‌ها به‌عنوان پروبیوتیک در آبزی‌پروری بررسی شده و اثرات بسیار سودمند آن‌ها در افزایش ایمنی، بهبود رشد، مقاومت در برابر بیماری‌های گونه‌های مختلف ماهی و میگو به اثبات رسیده است (ایریانتو و اوستین، ۲۰۰۲). وجود ابهاماتی در زمینه کاربرد پروبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری سبب شد که محققین ایده‌های جدیدتری در این باب اعم از به‌کارگیری پربیوتیک‌ها (اجزاء غذایی غیرقابل‌هضم که سبب افزایش رشد و تعداد باکتری‌های مفید روده‌ای می‌شوند) و سین‌بیوتیک‌ها (ترکیب پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها) ارائه کنند که مطالعات محدودی در این زمینه انجام شده و بسیاری از مکانیسم‌های اثرگذاری هنوز مشخص نیست. شاخص‌های خونی در ماهیان به عوامل مختلفی مانند گونه، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی، رژیم غذایی (کمیت و کیفیت غذا، مواد تشکیل‌دهنده جیره، منابع پروتئینی، ویتامین‌ها و محرک‌های رشد) بستگی دارد (لیم و همکاران، ۲۰۰۰). البته مطالعات کمی در مورد شاخص‌های خونی در ماهیان در واکنش به محرک‌های رشد (پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی) در دسترس می‌باشد (رینگو و همکاران، ۲۰۱۰). در مطالعه حاضر، تعدادو هم‌چنین میزان MCH و MCHC هموگلوبین خون اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P<۰/۰۵$).

به‌طوری‌که پروبیوتیک منجر به کاهش شاخص‌های مذکور گردیده است. هم‌چنین هموگلوبین در حضور پروبیوتیک و سین‌بیوتیک افزایش یافت که این افزایش هم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت (P<۰/۰۵). بررسی نتایج حاصل از مقایسه شاخص هموگلوبین در تیمارهای مورد مطالعه نشان داد که مکمل‌های غذایی دارای اثر معنی‌داری بر سیستم ایمنی ماهی کپور می‌باشند T به‌طوری‌که تیمار شاهد دارای بیش‌ترین میزان هموگلوبین در مقایسه با سایر تیمارها بود و در تیمار پریبیوتیک کم‌ترین میزان هموگلوبین مشاهده شد. از آن‌جایی‌که وظیفه هموگلوبین انتقال اکسیژن به بافت‌های بدن و انتقال دی‌اکسیدکربن از سلول‌ها به بافت تنفسی می‌باشد، مشاهد شد که تیمارهای غذایی مواجهه داده شده نسبت به تیمار شاهد نتوانسته‌اند در راستای اکسیژن‌رسانی خون عملکرد مناسبی داشته باشند. بنابراین تیمار قارچ مورد بررسی حداقل هموگلوبین را آزاد کرده است. البته انجام مطالعات بیش‌تری در این زمینه پیشنهاد می‌گردد. هم‌چنین شاخص MCV در تیمار غذایی دارای سین‌بیوتیک بیش‌ترین مقدار را نشان داد. در مجموع، مکمل‌های غذایی به‌کار گرفته شده در طول دوره مطالعه، اثر مثبت و قابل‌توجهی را بر تعداد گلبول‌های سفید داشته‌اند. نتایج مطالعه حاضر در ارتباط با اثرات سمیت نانونقره بر شاخص هماتوکریت نشان داد که اثرات سمیت حاد در ماهی ایجاد نمی‌کند و می‌توان گفت که مکمل‌های غذایی تا حدود زیادی منجر به افزایش هماتوکریت خون در این ماهی شده است.

نتایج مطالعه‌های پیشین در خصوص بررسی اثرات پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید بر شاخص‌های خونی ماهی ازون‌برون (اکرمی و همکاران، ۲۰۱۳) نیز بیانگر اثر معنی‌دار بر شاخص‌های خونی و افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید بود که مطابق با نتایج مطالعه حاضر است. ماهان و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که غلظت هموگلوبین خون جوجه‌های گوشتی با افزایش سطوح مختلف پروبیوتیک کاهش یافت که علت آن به‌خاطر رقابت پروبیوتیک با بدن برای تحصیل اسید فولیک غذا ذکر شده است، به این صورت که اسید فولیک غذا کم‌تر در دسترس بدن قرار می‌گیرد و به ایجاد علائم کم‌خونی منجر می‌شود. شاخص‌های لوکوسیتی خون شامل گلبول‌های سفید از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها یکی از بخش‌های سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند که نوسان در تعداد آن‌ها می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل استرس مطرح باشد (فرگوسن و همکاران، ۲۰۱۰). فراوانی گلبول‌های سفید خون شاخص سلامت ماهی محسوب می‌گردد، زیرا آمادگی بدن در برابر دفاع سلولی را نمایان می‌سازد. اما افزایش شدید گلبول‌ها نیز بیانگر التهاب بالینی بوده و هجوم انگل‌ها و باکتری‌ها را نشان می‌دهد (سواری و همکاران، ۲۰۱۳).

بر اساس نتایج حاصله، به‌کارگیری تیمارهای غذایی مختلف در مقاوم‌سازی ماهی کپور در تقابل با سمیت نانوذرات نقره دارای اثرات مثبتی بوده است و موجب بهبود سیستم ایمنی ماهی با افزایش تعداد گلبول‌های سفید گردیده است. هم‌چنین آنزیم‌های کبدی را جهت مقابله با نانوذرات نقره فعال‌تر نموده و در نهایت باعث افزایش میزان پروتئین در لاشه ماهی شده است. اثر مکمل‌های عذایی در جیره ماهی سبب افزایش میزان M.C.H، M.C.H.C، MCV، هموگلوبین تعداد گلبول‌های سفید، قرمز و هم‌چنین آنزیم‌های

کبدی شده. در بین سه تیمار پروبیوتیک، پربیوتیک و سین‌بیوتیک، تیمار سین‌بیوتیک به نسبت سایر تیمارها سطح مقاومت به آلودگی نانونقره را در ماهی کپور معمولی بالاتر برده و اثرگذاری بیش‌تری را در طول دوره مواجهه نشان داده است. در کل می‌توان بیان کرد که مکمل‌های غذایی به‌دلیل رشد گزینشی باکتری‌های بومی روده (باکتری‌های مفید روده‌ای مثل بیفیدوباکترها و لاکتوباسیلوس‌ها) از طریق جیره سبب بهبود مقاومت ماهی در مواجهه با الودگی نانوذرات شده است. با توجه به جنبه‌های مؤثر مکمل‌های غذایی در بهبود ایمنی ماهیان، استفاده از این مکمل‌ها جهت ترویج پرورش ماهی در آب‌های ساحلی و هم‌چنین ترویج بازسازی ذخایر ماهیان با ارزش شمال کشور با کمک این مکمل‌ها جهت افزایش راندمان بازسازی ذخایر پیشنهاد می‌گردد.

منابع

1. Akrami, R., Iri, Y., and Khoshbavar Rostami, H. 2013. Effect of dietary supplementation offructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. Fish & Shellfish Immunology. 35: 1235-1239.
2. Buentello, J.A., Neill, W.H., and Gatlin III, D.M. 2010. Effects of dietary prebiotics on the growth, feed efficiency and non specific immunity of juvenile red drum Sciaenopsocellatus fed soybean based diets. Aquaculture Research, 41: 411-418.
3. Burruiow, G., GatlinIII, D.M., and Hume, M. 1999. Effects of the Prebiotics GroBiotic® A and Inulin on the Intestinal Microbiota of Red Drum, *Sciaenopsocellatus*. J. World Aquacul. Soc. 40: 440-443.
4. Ferguson, R.M.W., Merrifield, D.L., Harper, G.M., Rawling, M.D., Mustafa, S., Picchietti, S., Blacazar, J.L., and Davies, S.J. 2010. The effect of Pediococcus acidilactici on the gut microbiota and immune status of ongrowing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. App. Microbiol. 109: 3. 851-862.
5. Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol.
6. Ibrahem, M.D., Fathi, M., Mesalhy, S., and Abd El-Aty, A.M. 2010. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish & Shellfish.
7. Zhong, X., Wang, Y., Gu, Q., and Li, W. 2010. Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Aquaculture, 291: 1. 78-81.
8. Savari, N., Hoseinifar, S.H., Merrifield, D.L., Barati, M., and Abadi, Z.H. 2013. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilusrutilus*) fry. Fish & Shellfish Immunology. 32: 316-321.
9. Ringo, E., Olsen, R.E., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G., and Bakke, A.M. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. Aquaculture Nutrition. 16: 117-136.
10. Revell, P.A. 2006. The biological effects of nanoparticles. Nanotechnology Perceptions. 2: 283-298.

11. Mohan, B.R., Kadirvel, S.K., Natarajan, R., and Bhaskaran, M. 2009. Effect of probiotic supplementation on growth nitrogen utilization and serum cholestrol in broilers. - British Poultry Science. 37: 395-401.
12. Lim, C., Klesius, P.H., Li, M.H., and Robinson, E.H. 2000. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictaluruspunctatus*) to Edwardsiellaictaluri challenge. Aquaculture. 185: 313-327.
13. Ailon, Q., Xu, H., and Mai, K. 2009. Effects of dietary supplementation of Bacillus subtilis and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthyscrocea*. Aquaculture. 317: 155-161.
14. Genc, M.A., Aktas, M., Genc, E., and Yilmaz, E. 2007. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeussemisulcatus* (de Haan 1844). Aquaculture Nutrition 13: 156-161.