



## تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید منیزیم بر رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) در مواجهه با سم گلايفوزیت (Glyphosate)

شیرین افسردیر<sup>۱</sup>، حدیثه کشیری<sup>۱</sup>، حسین آدینه<sup>۲\*</sup>، سهراب بوذرپور<sup>۳</sup>، سیدعلی اکبر هدایتی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۲</sup> گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

<sup>۳</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

### چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر دوزهای مختلف نانوذرات اکسید منیزیم (نانو منیزیم) بر عملکرد رشد و تغذیه، آنزیم‌های گوارشی، برخی پارامترهای ایمنی غیر اختصاصی در کپور معمولی انگشت‌قد (*C. carpio*) بود. نانومینیزیم به میزان ۰ (شاهد)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره پایه اضافه شد. چهار گروه از ماهیان با میانگین وزن  $41 \pm 12/9$  گرم به مدت ۶۰ روز با تراکم ... در آکواریوم با حجم آبیگری ... با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. در انتهای دوره تیمار، نتایج نشان داد که ماهیان تغذیه شده با ۲۵ میلی‌گرم نانومینیزیم بر کیلوگرم غذا افزایش معنی‌داری در وزن نهایی و افزایش وزن، میانگین رشد روزانه و نرخ رشد ویژه داشتند. ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با ۲۵ میلی‌گرم نانومینیزیم در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. فعالیت آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز و پروتئاز) روده به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح نانوذرات اکسید منیزیم رژیم غذایی قرار گرفتند. پایان دوره آزمایش، ماهیان به مدت ۱۴ روز تحت استرس مزمن علف‌کش گلايفوزیت قرار گرفتند. قبل و بعد از استرس، بیشترین فعالیت لیپوزیم و کمترین میزان هورمون کورتیزول در رژیم ۲۵ میلی‌گرم نانومینیزیم در کیلوگرم غذا به‌دست آمد. آنزیم‌های کبدی (قبل و بعد از استرس) به‌طور معنی‌داری در تیمار شاهد در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش یافت. براساس نتایج مطالعه حاضر، افزودن ۲۵ میلی‌گرم نانو اکسید منیزیم در کیلوگرم غذا باعث بهبود رشد، ترشح آنزیم‌های گوارشی و ایمنی غیر اختصاصی ماهی کپور معمولی و خنثی نمودن اثرات نامطلوب سم گلايفوزیت می‌شود.

### واژه‌های کلیدی:

*C. carpio*، نانوذرات اکسید منیزیم، عملکرد ماهی، گلايفوزیت، فاکتورهای خونی

### نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

### تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۸/۱۰/۰۶

پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۰

### نویسنده مسئول مکاتبه:

حسین آدینه، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

ایمیل: [adineh.h@gonbad.ac.ir](mailto:adineh.h@gonbad.ac.ir)

### ۱ | مقدمه

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) متعلق به خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) به‌عنوان یکی از گونه‌های مهم پرورشی تقریباً در همه جای جهان پرورش داده می‌شود (Tokur et al., 2006). این گونه در حوضه‌های دریای خزر و تمام حوضه‌های آبریز ایران پراکنش دارد و به‌دلیل مقاومت زیاد در مقابل نوسانات محیطی و استفاده از محدوده وسیعی از مواد غذایی قابل‌دسترسی (Salehi, 2003)، همچنین رشد مطلوب و مناسب باعث شده تا به‌عنوان یکی از گونه‌های مهم اقتصادی گرمابی در کشور محسوب شود. از آنجائیکه ورود سموم کشاورزی همچون سم گلايفوزیت به مزارع پرورش باعث تخریب

در سراسر جهان آب‌های شیرین رودخانه‌ها به‌دلیل عبور از مناطق کشاورزی دچار آلودگی با آفت‌کش‌ها می‌شوند (Bereswill et al., 2013). یکی از سموم رایج و پر مصرف کشاورزی که به‌صورت غیر انتخابی و سیستمیک برای کنترل علف‌های هرز در مزارع کشاورزی، فضاهای سبز و حاشیه‌های استخرها و اکوسیستم‌های آبی استفاده می‌شود، سم گلايفوزیت (Glyphosate) با نام تجاری راندپ (Roundup) است. این سم دارای حلالیت بسیار بالایی در اکوسیستم آبی دارد (Do Carmo Langiano and Martinez, 2008) که در صورت مصرف بیش از حد می‌تواند برای حیات وحش و آبزیان خطرناک باشد.

بررسی عملکرد تولید و ترشحات آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف نانو ذرات منیزیم و میزان تغییرات فاکتورهای خونی در مواجهه با سم علف‌کش گلایفوزیت بود.

## ۲ | مواد و روش‌ها

ماهی کپور معمولی از شرکت آبری رشد نوازنده واقع در شهرستان ساری تهیه و به آزمایشگاه شیلات دانشگاه گنبد کاووس انتقال داده شد. ماهیان برای ۲ هفته دوره آدپتاسیون در مخزن فایبرگلاس مستطیل با حجم آگیری ۳۰۰ لیتر نگهداری شدند. براساس طرح آزمایش تعداد ۱۲ عدد آکواریوم شستشو و ضد عفونی و به‌طور کاملاً تصادفی شماره-گذاری شد. هر آکواریوم به‌میزان ۴۰ لیتر آگیری و تعداد ۱۵ قطعه ماهی با میانگین وزن  $12/9 \pm 0/41$  گرم و طول  $9/4 \pm 0/09$  سانتی‌متر ذخیره‌سازی شد. میانگین دما، اکسیژن محلول و پی‌اچ آب محیط پرورش به ترتیب  $23/6 \pm 0/43$  درجه سانتی‌گراد،  $6/8 \pm 0/4$  میلی‌گرم در لیتر و  $7/8 \pm 0/3$  بود.

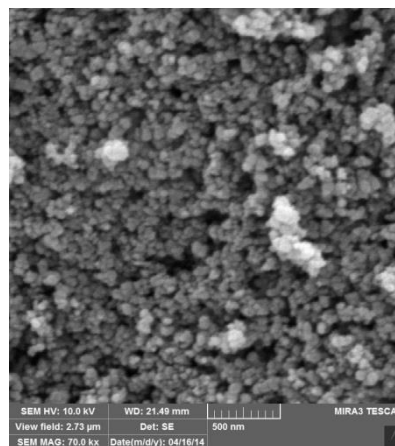
نانوذرات اکسید منیزیم (Nano-MgO) با اندازه ۲۰ نانومتر از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه شد. غذای پایه با مقادیر پروتئین (۳۸-۳۵)، چربی (۸-۴)، فیبر (۷-۴)، خاکستر (۱۱-۷)، رطوبت (۱۱-۵)، فسفر (۱/۵-۱) برحسب درصد تهیه و مقادیر ۰ (شاهد)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم نانو ذره منیزیم در کیلوگرم غذا اضافه گردید. پودر غذایی با آب مقطر مخلوط و خمیر تهیه شد. غذای خمیری به‌صورت رشته و در دمای اتاق خشک گردید. غذا متناسب با سایز دهان ماهی به اندازه حدود ۳ میلی‌متر خرد گردید و برای استفاده در طول دوره آزمایش به‌طور مجزا در داخل پلاستیک‌های زیبدار دارای کد قرار داده و سپس در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد یخچال نگهداری شد. ماهیان به مدت ۶۰ روز با سطوح مختلف نانوذره منیزیم به‌میزان ۳ درصد وزن بدن روزانه با ۳ وعده در ساعات ۸، ۱۴ و ۲۰ تغذیه شدند.

اندام‌های بدن (Szarek *et al.*, 2000)، تغییر فاکتورهای بیوشیمیایی و آنزیمی خون ماهی (Jofré *et al.*, 2013)، تضعیف سیستم ایمنی و جهش‌های ژنتیکی (Williams *et al.*, 2000) می‌گردد بنابراین استفاده از افزودنی‌های غذایی همچون منیزیم در راستای مقاوم‌سازی آبزیان یکی از راه‌های قابل قبول می‌باشد.

عنصر منیزیم چهارمین کاتیون فراوان در موجودات زنده و دومین کاتیون مهم داخل سلولی محسوب می‌شود که برای فعالیت بیش از ۳۰۰ آنزیم حیاتی کاربرد دارد و وجود آنها برای واکنش‌های آنزیمی و متابولیک بدن ضروری است (de Lourdes Lima *et al.*, 1998; Slutsky *et al.*, 2010). این واکنش‌های آنزیمی در ساخت پروتئین‌ها، عملکرد سیستم عصبی مانند نقل و انتقال یون‌های پتاسیم و کلسیم به داخل و خارج سلول جهت هدایت پیام عصبی، انقباض عضلانی و همچنین تولید انرژی و تنفس سلولی کاربرد دارد (Kucuk *et al.*, 2008). ترکیبات مختلف منیزیم شامل سیترات منیزیم، کلرید منیزیم، گلوکونات منیزیم است که به دلیل نفوذپذیری بسیار کم این ترکیبات (Slutsky *et al.*, 2010) باعث شده تا استفاده از نانوذرات اهمیت پیدا کند.

از جمله نانوذرات پرمصرف می‌توان به نانو ذره اکسید منیزیم اشاره کرد که به‌عنوان ضد قارچ، ضد میکروب و حذف‌کننده بیولوژیکی آنتی-بیوتیک در صنایع غذایی و علوم پزشکی و علوم زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد، علاوه بر این نانوذرات اکسید منیزیم قابلیت جذب آلایندگی‌های بسیاری را دارند (Vaidhyanathan *et al.*, 2000) که استفاده از آن از سال ۲۰۱۳ تا ۲۰۱۸ در حدود ۸/۷ درصد افزایش یافته است (Devaraja *et al.*, 2014). قابلیت دسترسی آسان، قیمت پایین، غیرسمی، پایداری و زیست‌سازگار، قابلیت استفاده مجدد، ظرفیت جذب و واکنش‌پذیری بالا از خصوصیات بارز نانوذرات اکسید منیزیم می‌باشد (Tajbakhsh *et al.*, 2014).

نانوذره اکسید منیزیم به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اکسیدهای معدنی در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) نانو ذره اکسید منیزیم مورد استفاده در مطالعه حاضر (ارائه شده توسط شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان)

آمیلز و پروتئاز براساس روش ورتینگتون (Worthington, 1993) و لیپاز براساس روش لیجیما و همکاران (Iijima et al., 1998) اندازه-گیری شد.

پایان دوره آزمایش برای سنجش برخی از فاکتورهای ایمنی ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذره منیزیم، از ورید ساقه دمی عمل خون‌گیری انجام شد. برای جداسازی سرم، لوله های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد به مدت یک ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه نگهداری و پس از ته نشین شدن لخته، با سرعت ۳۰۰۰ دور در ثانیه به مدت ۷ دقیقه درون سانتریفیوژ یخچال‌دار جهت جداسازی سرم خون قرار گرفت. در نهایت سرم از لخته جدا و به تیوب‌های جدید منتقل و تا زمان شروع آزمایشات مربوط به بررسی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

گلوکز سرم خون با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد (Borges et al., 2004). برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه شده توسط الیس (ELLIS, 1990) استفاده شد. بدین منظور از لیزوزیم سفیده تخم مرغ ( $1 \text{ mg/Lysozyme.mL}^{-1}$ ) به منظور ترسیم منحنی به عنوان استاندارد استفاده شد. مقدار ۲۵ میکرولیتر از پلاسما به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل الیزا افزوده شد. سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus Lysodeikticus*) در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر در ۰/۵ مولار بافر فسفات با پی‌اچ ۶/۲ اضافه شد. با استفاده از دستگاه الیزاریدر مارک Bio-Tek آمریکا جذب نوری اولیه در طول موج ۵۳۰ nm قرائت و پس از یک ساعت نگهداری در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت لیزوزیم براساس کاهش جذب (۰/۰۱ در دقیقه) تعیین شد. برای سنجش آنزیم‌های کبدی در سرم خون ماهی کپور معمولی از کیت تشخیص کمی شرکت پارس آزمون با روش فتومتریک براساس روش پیشنهادی DGKC (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) برای آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)، روش پیشنهادی IFCC (فدراسیون بین المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی) برای آنزیم آلانین آمینو-ترانسفراز (ALT) و آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) انجام شد (Moss et al., 1999).

برای به دست آوردن غلظت مؤثر سم گلایفوزیت توسط برنامه پروبیت، ماهی کپور معمولی در برابر مقادیر ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفت. غلظت نیمه‌کشنده در زمان ۹۶ ساعت به میزان ۰/۴۸۹ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. ماهی-های بعد از ۶۰ روز تغذیه با سطوح مختلف نانوذره منیزیم برای سنجش مقاومت به مدت ۱۴ روز تحت استرس مزمن سم گلایفوزیت قرار گرفتند، بدین منظور ۲۰٪ غلظت میانه کشنده سم گلایفوزیت طی ۹۶ ساعت (20%LC50 96 h) که برابر ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بود نیز به هر تکرار اضافه شد. تعویض آب هر یک روز در میان به میزان ۵۰ درصد از هر آکواریوم انجام شد. برای جبران ۵۰ درصد آب خروجی از هر آکواریوم، ۲۰ لیتر آب حاوی سم گلایفوزیت به مقدار ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر آماده و به هر یک از آکواریوم‌ها به طور مجزا اضافه شد.

برای زیست‌سنجی، غذاهای ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع گردید. وزن کل توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم و طول کل به وسیله خط‌کش مدرج با دقت ۱ میلی‌متر محاسبه گردید. معیارهای رشد و تغذیه شامل؛ افزایش وزن (رابطه ۱)، نرخ رشد ویژه (رابطه ۲)، فاکتور وضعیت یا ضریب چاقی (رابطه ۳)، ضریب تبدیل غذایی (رابطه ۴)، کارایی تبدیل غذا (رابطه ۵) و نسبت کارایی پروتئین (رابطه ۶) بر اساس فرمول‌های ذیل محاسبه شد:

$$\text{افزایش وزن} \quad \text{BW} = \text{wt}_2 - \text{wt}_1$$

$$\text{Wt}_1: \text{وزن اولیه (گرم)}; \text{Wt}_2: \text{وزن نهایی ماهی (گرم)}$$

$$\text{نرخ رشد ویژه وزن} \quad \text{SGR, (\% day}^{-1}\text{)} = [\text{LnWt}_2 - \text{LnWt}_1 / t_2 - t_1] \times 100$$

$$\text{LnWt}_2: \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی (گرم)}; \text{LnWt}_1: \text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی (گرم)}; t_2 - t_1: \text{دوره آزمایش (روز)}$$

$$\text{فاکتور وضعیت یا ضریب چاقی} \quad \text{CF} = [\text{W (g) / L}^3(\text{cm})] \times 100$$

$$\text{W(g): وزن نهایی ماهی (گرم)}; \text{L}^3(\text{cm}): \text{توان سوم طول کل ماهی (سانتی‌متر)}$$

$$\text{FCR} = \text{food intake(g)/living weight gain(g)} \quad \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

$$\text{Living weight gain: غذای خورده شده (گرم)}; \text{Food intake: وزن به دست آمده (گرم)}$$

$$\text{FCE} = [\text{Living weight gain(g)/food intake(g)}] \times 100 \quad \text{کارایی تبدیل غذا}$$

$$\text{Living weight gain: غذای خورده شده (گرم)}; \text{Food intake: وزن به دست آمده (گرم)}$$

$$\text{PER} = (\text{W}_1 - \text{W}_2) \text{ g/g protein intake} \quad \text{نسبت کارایی پروتئین}$$

$$\text{Wt}_1: \text{وزن اولیه (گرم)}; \text{Wt}_2: \text{وزن نهایی ماهی (گرم)}; \text{protein intake: پروتئین خورده شده (گرم)}$$

پایان دوره آزمایش و بعد از بیومتری و به طور تصادفی ماهی از هر تکرار صید گردید. محوطه شکمی ماهی با الکل ضد عفونی سپس کل روده از بدن جدا و توسط سرم فیزیولوژی شست‌وشو داده شد. نمونه‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم و سپس به نسبت وزنی-حجمی (۱ به ۹) محلول بافر هموزن شد (Cahu et al., 1999). جهت تهیه عصاره آنزیمی ابتدا بافر ساخته شد که بدین منظور ۱۰۰ میلی‌مولار Tris-Hcl، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۰/۱ درصد Triton در پی‌اچ ۷/۸ با هموزن شدند (Rungruangsak et al., 2002). نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد که در نهایت مایع رویی به دست آمده به عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش جدا گردید. فعالیت آنزیم آمیلز به روش دستی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی و فعالیت آنزیم لیپاز به روش آنزیمی، کالری متری با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام شد. طبق دستورالعمل شرکت سازنده،

نهایی  $11/87 \pm 33/7$  گرم در تیمار ۲۵ رسید که تفاوت معنی‌داری افزایشی نسبت به تیمار شاهد داشت ( $p < 0/05$ ). وزن اولیه و نهایی بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت ( $p > 0/05$ ). وزن به‌دست آمده و میانگین رشد روزانه بین تیمار ۲۵ و تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ). نرخ رشدویژه بین تیمار ۲۵ و شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ( $p < 0/05$ ) به‌طوری‌که بیشترین و کمترین مقدار آن به‌ترتیب برابر  $1/5 \pm 0/10$  و  $1/3 \pm 0/13$  بود. ضریب‌تبدیل غذایی بین تیمارهای مصرف‌کننده سطوح مختلف نانوذره منیزیم اختلاف آماری معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ) به‌طوری‌که کمترین مقدار آن در تیمار ۲۵ ( $1/8 \pm 0/17$ ) و بیشترین مقدار این معیار در تیمار شاهد ( $2/29 \pm 0/29$ ) به‌دست آمد. کاهش ضریب‌تبدیل غذایی در تیمار ۲۵ نشان از افزایش کارایی تبدیل غذایی در این تیمار است. در این تحقیق کارایی تبدیل غذایی تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمار ۲۵ و شاهد داشت ( $p < 0/05$ ).

آنالیز داده‌های حاصل از فاکتورهای رشد و آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور بعد از ۶۰ روز تغذیه با نانوذره منیزیم با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آنالیز داده‌های بدست آمده از آنزیم‌های کبدی تحت تاثیر دو عامل (دوز مکمل و زمان استرس) با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) انجام شد. آزمون مقایسه میانگین تیمارها به وسیله آزمون دامنه دانکن صورت گرفت. کلیه آنالیزهای آماری در سطح معنی‌دار  $p < 0/05$  انجام شد و میانگین داده‌ها به همراه خطای معیار ( $mean \pm SD$ ) آورده شده است. کلیه آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel-2010 انجام شد.

### ۳ | نتایج

مقادیر به‌دست آمده از رشد و تغذیه ماهی کپور تغذیه‌شده با سطوح مختلف نانوذره منیزیم به‌مدت ۶۰ روز در جدول ۱ آورده شده است. پایان دوره تحقیق، ماهی از وزن اولیه  $13/00 \pm 0/38$  گرم به وزن

جدول ۱- رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذرات منیزیم به‌مدت ۶۰ روز

وزن اولیه (گرم)	طول اولیه (سانتیمتر)	وزن نهایی (گرم)	طول نهایی (سانتی‌متر)	وزن به‌دست آمده (گرم)	میانگین رشد روزانه (درصد)	نرخ رشدویژه	ضریب چاقی	ضریب تبدیل غذایی	کارایی تبدیل غذا	کارایی تبدیل پروتئین
$12/9 \pm 0/50$	$9/5 \pm 0/08$	$29/0 \pm 1/58^c$	$11/5 \pm 0/18$	$16/1 \pm 1/83^c$	$2/0 \pm 0/29^c$	$1/3 \pm 0/13^c$	$1/8 \pm 0/19$	$2/4 \pm 0/29^a$	$41/4 \pm 4/71^c$	$0/46 \pm 0/05^b$
$13/0 \pm 0/38$	$9/4 \pm 0/10$	$33/7 \pm 1/87^a$	$11/9 \pm 0/22$	$20/7 \pm 1/88^a$	$2/6 \pm 0/25^a$	$1/5 \pm 0/10^a$	$1/9 \pm 0/21$	$1/8 \pm 0/17^c$	$53/2 \pm 4/82^a$	$0/59 \pm 0/05^{ab}$
$13/1 \pm 0/36$	$9/5 \pm 0/10$	$31/7 \pm 1/91^b$	$11/8 \pm 0/19$	$18/6 \pm 2/10^b$	$2/3 \pm 0/31^b$	$1/4 \pm 0/12^b$	$1/9 \pm 0/19$	$2/1 \pm 0/23^b$	$47/6 \pm 5/38^b$	$0/53 \pm 0/06^a$
$12/8 \pm 0/41$	$9/3 \pm 0/09$	$32/1 \pm 1/51^b$	$11/9 \pm 0/20$	$19/3 \pm 1/64^b$	$2/5 \pm 0/26^{ab}$	$1/5 \pm 0/10^{ab}$	$1/8 \pm 0/18$	$2/0 \pm 0/16^{bc}$	$49/5 \pm 4/21^b$	$0/55 \pm 0/04^{ab}$

\* در هر ردیف عدم تشابه حروف لاتین نشان از اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

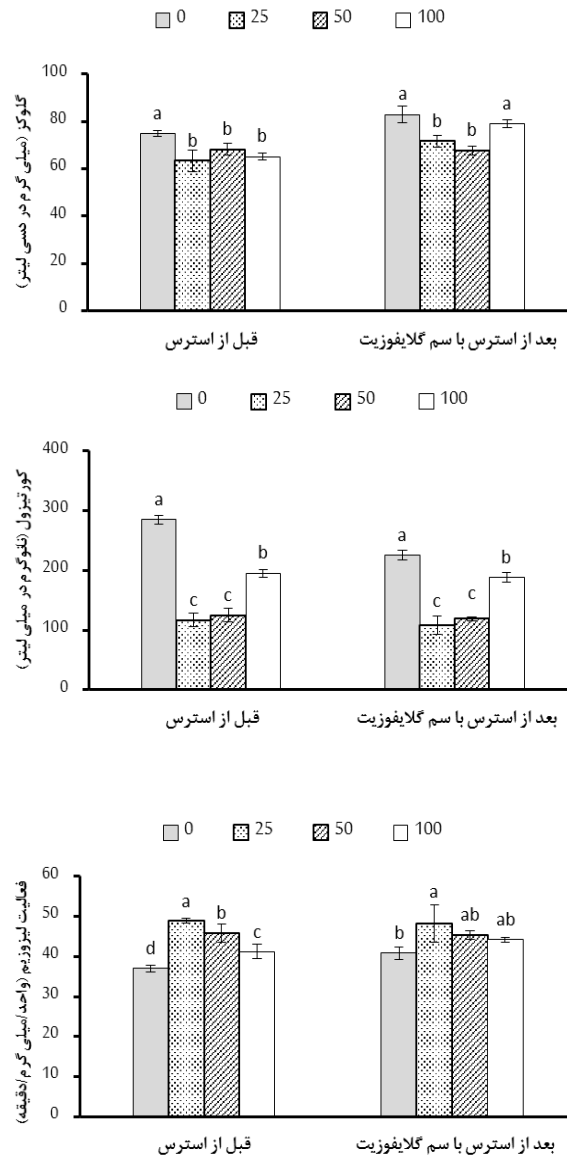
کمترین مقدار این آنزیم در تیمار شاهد بدون افزودن نانوذره منیزیم به‌دست آمد. آنزیم آمیلاز در تیمار شاهد با دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار آماری داشت ( $p < 0/05$ ) به‌طوری‌که بیشترین و کمترین مقدار این آنزیم به‌ترتیب در تیمارهای ۲۵ ( $6/1 \pm 0/15$ ) واحد میلی‌گرم پروتئین و شاهد ( $4/2 \pm 0/2$ ) واحد میلی‌گرم پروتئین به‌دست آمد.

مقادیر به‌دست آمده از فاکتورهای آنزیمی روده همچون پروتئاز، لیپاز و آمیلاز در جدول ۲ نشان داده شده است. مقدار آنزیم پروتئاز در تیمار ۲۵ به‌طور معنی‌دار نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش داشت ( $p < 0/05$ ). بیشترین مقدار آنزیم پروتئاز در تیمار ۲۵ برابر  $9/5 \pm 0/24$  واحد میلی‌گرم پروتئین و کمترین مقدار این آنزیم در تیمار شاهد برابر  $7/4 \pm 0/43$  واحد میلی‌گرم پروتئین به‌دست آمد. بیشترین مقدار لیپاز در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم نانوذره منیزیم و

جدول ۲: مقادیر آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی تحت تغذیه با سطوح مختلف نانوذره منیزیم به‌مدت ۶۰ روز آزمایش

پروتئاز	لیپاز	آمیلاز
(واحد میلی‌گرم پروتئین)	(واحد میلی‌گرم پروتئین)	(واحد میلی‌گرم پروتئین)
$7/4 \pm 0/43^c$	$0/62 \pm 0/03^c$	$4/2 \pm 0/2^c$
$9/5 \pm 0/24^a$	$0/92 \pm 0/05^a$	$6/1 \pm 0/15^a$
$8/3 \pm 0/44^b$	$0/89 \pm 0/04^a$	$5/7 \pm 0/32^{ab}$
$8/1 \pm 0/23^{bc}$	$0/75 \pm 0/02^b$	$5/3 \pm 0/33^b$

\* حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان از اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0/05$ ).



شکل ۲- تغییرات برخی فاکتورهای خونی ماهی کپور تغذیه شده با نانوذرات منیزیم (قبل و بعد از استرس با سم گلایفوزیت)

در شکل ۲ ارزیابی میزان مقاومت ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف نانو ذرات منیزیم (قبل از استرس) و مواجهه آن در برابر ۲۰ درصد از مقدار نیمه‌کشنده سم گلایفوزیت به مدت ۱۴ روز (بعد از استرس) نشان داده شده است. قبل و بعد از استرس میزان گلوکز در تیمار شاهد افزایش معنی‌دار آماری نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی داشت ( $p < 0.05$ ). مقدار کورتیزول تیمار شاهد در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار افزایشی داشت ( $p < 0.05$ ). کمترین مقدار این معیار در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم نانو ذره منیزیم در کیلوگرم غذای پایه به دست آمد. فعالیت لیزوزیم قبل و بعد از استرس در تیمار ۲۵ به بیشترین حد خود در بین تیمارهای آزمایشی رسید. کمترین مقدار این معیار در تیمار شاهد به دست آمد.

آنالیز آنزیم‌های کبدی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذره منیزیم در دو مرحله قبل و بعد از مواجهه مزمن با سم گلایفوزیت در جدول ۳ آورده شده است. قبل و بعد از استرس با سم گلایفوزیت، آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) بین تیمارهای مختلف غذایی تفاوت آماری معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان این آنزیم در تیمار شاهد و تیمارهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم نانو ذره منیزیم در کیلوگرم غذای پایه به دست آمد. آنزیم آلانین فسفاتاز (ALP) بین تیمارهای تغذیه‌ای اختلاف معنی‌دار آماری در زمان‌های قبل و بعد از استرس داشتند ( $p < 0.05$ ). تیمار شاهد در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی از مقادیر بیشتری برخوردار بود ( $p < 0.05$ ). دوز مکمل و زمان استرس به طور مجزا و همچنین اثر متقابل این دو عامل بر میزان ترشح آنزیم ALP اثر معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان آنزیم اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در تیمار شاهد مشاهده شد به طوری که دوز مکمل غذایی و زمان بروز استرس با سم گلایفوزیت به طور مجزا و همچنین اثر متقابل این دو عامل با یکدیگر باعث اختلاف معنی‌دار بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی شد ( $p < 0.05$ ).

در شکل ۲ ارزیابی میزان مقاومت ماهی کپور تغذیه شده با سطوح مختلف نانو ذرات منیزیم (قبل از استرس) و مواجهه آن در برابر ۲۰ درصد از مقدار نیمه‌کشنده سم گلایفوزیت به مدت ۱۴ روز (بعد از استرس) نشان داده شده است. قبل و بعد از استرس میزان گلوکز در تیمار شاهد افزایش معنی‌دار آماری نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی داشت ( $p < 0.05$ ). مقدار کورتیزول تیمار شاهد در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار افزایشی داشت ( $p < 0.05$ ). کمترین مقدار این معیار در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم نانو ذره منیزیم در کیلوگرم غذای پایه به دست آمد. فعالیت لیزوزیم قبل و بعد از استرس در تیمار ۲۵ به بیشترین حد خود در بین تیمارهای آزمایشی رسید. کمترین مقدار این معیار در تیمار شاهد به دست آمد.

آنالیز آنزیم‌های کبدی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذره منیزیم در دو مرحله قبل و بعد از مواجهه مزمن با سم گلایفوزیت در جدول ۳ آورده شده است. قبل و بعد از استرس با سم گلایفوزیت، آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) بین تیمارهای مختلف

جدول ۳- تغییرات آنزیم‌های کبدی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذره منیزیم تحت استرس مزمن با سم گلایفوزیت

AST	ALP	ALT		
۶۴۸/۸۰ ± ۴/۰۴ <sup>a</sup>	۱۳۶/۴ ± ۴/۰۸ <sup>a</sup>	۳۴/۵ ± ۰/۹۹ <sup>a</sup>	۰ (شاهد)	قبل از استرس
۴۸۶/۰۶ ± ۳/۴۷ <sup>d</sup>	۹۸/۷ ± ۳/۱۸ <sup>c</sup>	۲۰/۸ ± ۰/۸۸ <sup>d</sup>	۲۵	
۵۹۲/۵۵ ± ۳/۷۹ <sup>c</sup>	۱۰۶/۱ ± ۵/۵۳ <sup>c</sup>	۲۹/۱ ± ۰/۹۰ <sup>c</sup>	۵۰	
۶۱۷/۶۹ ± ۲/۴۰ <sup>b</sup>	۱۲۶/۷ ± ۳/۹۱ <sup>b</sup>	۳۱/۷ ± ۰/۵۰ <sup>b</sup>	۱۰۰	
۷۳۰/۰ ± ۱۴/۵۵ <sup>a</sup>	۲۳۵/۱ ± ۵/۴۷ <sup>a</sup>	۳۸/۰ ± ۱/۱۹ <sup>a</sup>	۰ (شاهد)	بعد از استرس
۴۵۴/۷ ± ۱۲/۶۴ <sup>c</sup>	۱۲۵/۱ ± ۵/۲۸ <sup>c</sup>	۳۵/۱ ± ۱/۷۱ <sup>b</sup>	۲۵	
۴۸۲/۱ ± ۴/۴۰ <sup>b</sup>	۱۴۳/۳ ± ۴/۶۳ <sup>b</sup>	۲۴/۰ ± ۱/۴۰ <sup>d</sup>	۵۰	
۴۹۷/۸ ± ۱۱/۵۰ <sup>b</sup>	۱۳۶/۷ ± ۳/۰۰ <sup>b</sup>	۲۸/۱ ± ۱/۱۱ <sup>c</sup>	۱۰۰	
۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۶		دوز مکمل
۰/۰۲۷	۰/۰۰۰	۰/۲۲۲		زمان استرس
۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰		اثر متقابل
S	S	S		

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان از اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0.05$ ).  
Significant (S) نشان اختلاف معنی‌دار آماری و اثر متقابل دو عامل دوز مکمل و زمان استرس است.

#### ۴ | بحث و نتیجه‌گیری

منیزیم عنصری ضروری برای بدن است که قادر به بهبود چگالی معدنی استخوان بوده و نقش کلیدی در تحریک سلول‌های استخوان‌ساز برای رشد، گسترش و بازسازی استخوان‌ها را ایفا می‌کند (Wu et al., 2014). در این پژوهش بیشترین مقدار عملکرد رشد (وزن نهایی، وزن به‌دست آمده، میانگین رشد روزانه) در تیمارهای مصرف‌کننده نانوذره منیزیم به مقدار ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌دست آمد که در این بین بالاترین و کمترین مقدار رشد به ترتیب در تیمارهای ۲۵ و ۱۰۰ (شاهد) مشاهده شد. منیزیم به‌عنوان یک مکمل غذایی به شکل MgO و MgOH قابل استفاده است. این مواد در آب حل نمی‌شود اما به‌آسانی در شیرهای دستگاه گوارش حل شده و در دسترس قرار می‌گیرند (Movahedi and Pourahmad, 2018).

تاکنون تحقیق در ارتباط با به‌کارگیری نانوذره منیزیم در جیره غذایی آبزیان (ماهی کپور) انجام نشده است بنابراین در این تحقیق استفاده خوراکی از دیگر نانوذرات در جیره آبزیان مورد بحث قرار می‌گیرد. به‌کارگیری سطوح ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم نانوذره آهن به شکل یون آزاد و ۶۰ میلی‌گرم سولفات آهن به هر کیلوگرم از غذای پایه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به مدت ۸ هفته نشان داد که استفاده از سطح ۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم غذای خشک سبب افزایش عملکرد رشد و تغذیه بچه‌ماهی قزل‌آلای پرورشی شد (Ghobadi et al., 2017). مطالعه اثرات تجویز خوراکی نانوذرات نقره بر برخی بافت‌های حیاتی ماهی زبرا (*Danio rerio*) نشان داد که استفاده از این نانوذرات در آبی‌پروری و تغذیه ماهیان با این نانوذرات به‌عنوان یک ماده ضد میکروبی و نیز رهایش آنها به محیط زیست توصیه نمی‌شود (Yazdanparast et al., 2017). اثر مصرف خوراکی نانوذرات بر شاخص‌های رشد و بازماندگی قزل‌آلای رنگین کمان بیانگر این مسئله است که عدم مصرف چنین ترکیب نانوتکنولوژیکی در جیره غذایی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مطلوب است (Mohammadi et al., 2014).

در همین ارتباط گزارش شده که به‌کارگیری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در جیره غذایی ماهی کپور معمولی تا حدی توانست اثرات نامطلوب ناشی از نانو ذرات آهن را خنثی نماید و تأثیر هم‌افزایی مثبت بر رشد و ترکیبات لاشه این ماهی داشته است (Sheikh Veisi et al., 2019). برخلاف گزارشات ذکر شده، در تحقیق حاضر به‌کارگیری نانو ذره منیزیم توانست بر فاکتورهای رشد و تغذیه و همچنین ترشحات آنزیمی روده اثرات مثبت معنی‌داری داشته باشد و از آنجائیکه عنصر منیزیم برای بعضی از گونه‌های جلبکی به‌عنوان ماده تشکیل‌دهنده کلروفیل حیاتی بوده و به‌عنوان یکی از عناصر مغذی نقش مهم و اساسی در رشد و نمو جلبک دارد (Fallahi and Salavatian, 2006) بنابراین به‌نظر می‌رسد رهایش آن از سیستم پرورش ماهی به محیط زیست مشکلات چندانی را بوجود نیآورد چراکه این ماده از لحاظ زیست محیطی تجزیه‌پذیر است.

فعالیت آنزیم‌های گوارشی شاخص مناسبی برای سنجش ظرفیت گوارشی و وضعیت تغذیه‌ای در آبزیان است (Yúfera and Darias, 2007). یکی از کاربردهای استفاده از اکسیدمنیزیم کمک به‌عمل هضم در دستگاه گوارش در جهت رفع مشکلات گوارشی در موجودات زنده است (Tang and Lv, 2014). همچنین گزارش شده است که منیزیم می‌تواند به‌عنوان یک عنصر ضروری در بدن در فرایندهای مختلف جمله متابولیسم لیپیدها نقش اساسی داشته باشد (Olatunji and Soladoye, 2007). این تحقیق نشان داد که استفاده از سطوح مختلف نانوذره منیزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی باعث افزایش مقادیر آنزیم‌های پروتئاز، لیپاز و آمیلاز روده می‌گردد که در این بین بهترین دوز به‌کارگیری نانوذره منیزیم ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم غذای پایه در مقایسه با تیمار شاهد بود. ارزیابی تجویز خوراکی ترکیب حفاظت‌کننده سیلیمارین به‌میزان ۰ و ۱ گرم در کیلوگرم غذا به‌منظور مقابله با اثرات سمی نانوذره اکسید نیکل به‌میزان ۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در هر

طولانی مدت از این نانوذرات ممکن است باعث آسیب‌های سلولی گردد بنابراین در این مطالعه استفاده از سطوح مختلف نانو اکسید منیزیم بر سلامت ماهی کپور مورد آزمایش قرار گرفت. در تحقیق حاضر بیشترین میزان این آنزیم‌ها در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمارهای مصرف-کننده نانوذره منیزیم به دست آمد که نشان از عملکرد خوب کبد است. یکی از اندام‌های مهم در بدن که در فرآیند سم‌زدایی از ارگان‌ها شرکت می‌کند نیز کبد است. وجود داروها، فلزات سنگین، سموم و علف‌کش‌ها در محیط آب باعث آسیب به این اندام و تغییرات در ترشحات آنزیم‌های کبدی می‌گردد. در زمان مواجهه مزمین ماهیان در برابر سم گلائیفوزیت، ماهیان تغذیه شده با نانو ذرات منیزیم در مقایسه با تیمار شاهد دارای ترشحات آنزیم کبدی کمتری بود که می‌توان به خاصیت جذب آلاینده-ها از محیط توسط نانوذرات منیزیم نسبت داد. در همین راستا، بررسی تغییرات بافت عضله و آنزیم‌های کبدی ماهی کپور معمولی (C. *carpio*) تغذیه شده با نانوذرات اکسید آهن و روی به‌طور مجزا به-میزان ۰ (شاهد)، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در هر گرم غذا به مدت ۶۰ روز نشان داد که استفاده از این نانوذرات می‌تواند باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های کبدی شود (Sahraei et al., 2017). برخی از مطالعات نشان از این است که استرس ناشی از غلظت‌های پایین علف‌کش گلائیفوزیت به مقدار ۰/۴۲ میلی‌گرم در لیتر برای ماهی آب شیرین (*Catla Catla*) می‌تواند باعث تغییرات شدید در فاکتورهای خونی شود (Jerald Felix et al., 2016). به‌طور کلی نتایج به دست آمده نشان داد که استفاده از ۲۵ میلی‌گرم نانو اکسید منیزیم در جیره غذایی باعث افزایش رشد، بهره‌وری تغذیه و ترشح آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی می‌گردد. همچنین تغییرات خونی ماهی کپور در برابر استرس مزمین سم گلائیفوزیت نشان از اثربخش بودن افزودن نانو اکسید منیزیم در جیره غذایی بود.

#### پست الکترونیک نویسندگان

شیرین افسردیر: afsardir.shirin@yahoo.com  
 حدیثه کشیری: hadiskashiri@gmail.com  
 حسین آدینه: adineh.h@gonbad.ac.ir  
 سهراب بوذرپور: so.boozarpour@gmail.com  
 سیدعلی اکبر هدایتی: hedayati@gau.ac.ir

#### REFERENCES

- Alishahi M., Ranjbar M.M., Ghorbanpour M., Peyghan R., Mesbah M., Razi jalali M. 2010. Effects of dietary Aloe vera on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). International Journal of Veterinary Research, 4: 189-195. (In Persian).
- Barton B.A. 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and comparative biology, 42(3): 517-525.
- Bereswill R., Strelake M., Schulz R. 2013. Current-use pesticides in stream water and suspended particles following runoff: exposure, effects and mitigation

کیلوگرم غذا با تأکید بر رشد و فعالیت‌های آنزیم‌های گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به مدت ۶۰ روز انجام شد. یافته‌ها نشان داد که حضور همزمان سیلیمارین و نانوذره در جیره غذایی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی گردید (Nazdar et al., 2016).

گلوکز و کورتیزول دو فاکتور شاخص در تشخیص وجود یا عدم وجود استرس در محیط پرورش می‌باشد. در صورتی که شرایط فیزیولوژیکی ماهی به دلیل نامساعد بودن شرایط زیستی و تغذیه‌ای دچار تداخل شود، هورمون‌های کورتیکول آمین، آدرنالین و نورآدرنالین توسط سلول‌های کرومافین به خون ترشح می‌شوند که این هورمون‌ها به همراه کورتیزول مترشحه از بخش قدامی کلیه سبب می‌شوند که ماهی با انجام واکنش‌های بیوشیمیایی گلیکوژنولیز، گلیکوژن بافت را به گلوکز تبدیل کرده و وارد جریان خون کنند تا انرژی مورد نیاز سلول‌ها طی فرآیند استرس فراهم شود (Barton, 2000). در مطالعه حاضر، ماهی کپور تغذیه شده با ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم نانوذره در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی در مواجهه با استرس مزمین سم گلائیفوزیت وضعیت سلامت در سطح بالایی داشت. از آنجائیکه قبل و بعد از استرس بیشترین میزان گلوکز و کورتیزول در تیمار شاهد به دست آمد بنابراین می‌توان اظهار داشت که نانوذره منیزیم علاوه بر تحریک رشد و ترشح آنزیم‌های گوارشی می‌تواند به‌عنوان یک محرک ضد استرس معرفی گردد. نانوذره اکسید منیزیم به تنهایی و یا به‌صورت ترکیب با دیگر مواد به‌عنوان یک عامل مؤثر ضد باکتریایی باعث افزایش ایمنی مواد غذایی (Shi et al., 2010) و به دلیل داشتن نیتروژن اکسید باعث کاهش تخریب سلولی موجودات زنده گردد (Wang et al., 2007). در این آزمایش قبل و بعد از استرس، فعالیت لیزوزیم بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار آماری داشت به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در تیمار ۲۵ گرم در کیلوگرم غذا و کمترین آن در تیمار شاهد به دست آمد. یکی از مهم‌ترین فاکتور سرمی خون مرتبط با ایمنی غیراختصاصی ماهی نیز بررسی فعالیت لیزوزیم است که در درک بهتر وضعیت ایمنی می‌تواند به‌ما کمک شایانی نماید. افزایش لیزوزیم در بدن نشان از عملکرد مناسب سیستم ایمنی ماهی است (Alishahi et al., 2010). به‌طور کلی پاسخ‌های ایمونولوژیکی میگوی بزرگ آب‌شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) به حشره‌کش ارگانوفسفره تری‌کلروفون به میزان ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر نشان داد که با افزایش میزان غلظت حشره‌کش در محیط پرورش باعث به‌وجود آمدن اختلال و نقص در عملکرد سیستم ایمنی گردید (Chang et al., 2013). درحالی‌که در مطالعه حاضر با افزودن مکمل نانو ذره منیزیم در جیره غذایی تقویت سیستم ایمنی در برابر استرس ناشی از وجود سم گلائیفوزیت صورت گرفت. کبد یکی از اندام‌های مهم در فرآیند گوارش است که تحت تأثیر تغذیه قرار می‌گیرد بنابراین برای ارزیابی نحوه عملکرد سلول‌های کبدی می‌توان آنزیم‌های کبدی مانند آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) را به‌عنوان تست‌های استاندارد مورد سنجش قرار داد (Giannini et al., 2005; Pratt and Kapla, 2005). یکی از نکات قابل توجه در به‌کارگیری از نانوذرات این است در صورت استفاده بیش از حد از این مواد و یا استفاده

- requirements. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32: 1254-1263.
- Borges A., Scotti L.V., Siqueira D.R., Jurinitz D.F., Wassermann G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 30: 21-25.
- Cahu C.L., Zambonino-Infante J.L., Quazuguel P., Le Gall M.M. 1999. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Aquaculture*, 171:109- 119.
- Chang C.C., Rahmawaty A., Chang Z.W. 2013. Molecular and immunological responses of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to the organophosphorus insecticide, trichlorfon. *Aquatic toxicology*, 130: 18-26.
- de Lourdes Lima M., Cruz T., Pousada J.C., Rodrigues L.E., Barbosa K., Canguçu V. 1998. The effect of magnesium supplementation in increasing doses on the control of type 2 diabetes. *Diabetes care*, 21(5): 682-686.
- Devaraja P.B., Avadhani D.N., Prashantha S.C., Nagabhushana H., Sharma S.C., Nagabhushana B.M., Nagaswarupa H.P. 2014. Synthesis, structural and luminescence studies of magnesium oxide nanopowder. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 118: 847-851.
- Do Carmo Langiano V., Martinez C.B. 2008. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 147(2): 222-231.
- Ellis A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen J.S., Fletcher T.C., Anderson D.P., Robertson B.S., Van Muiswinkel W.B. (eds.). *Techniques in Fish Immunology*. SOS. Fair Haven, N.J, USA. pp:101-103.
- Fallahi M., Salavatian S.M. 2006. Study on effect of different concentrations of magnesium on growth and biomass of *Chlorella vulgaris*. *Pajouhesh & Sazandegi*, 72: 9-13. (In Persian).
- Ghobadi S., Rajabi H., Hosseinifard M., Palangi L. 2017. Survey on Effects of Different Levels of Nano Iron on Growth and Nutrition Performance in Rainbow Trout. *Breeding and Aquaculture Sciences Journal*, 1(1): 67-82. (In Persian).
- Giannini E.G., Testa R., Savarino V. 2005. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Canadian Medical Association Journal*, 172 (3): 367-379.
- Iijima N., Tanaka, S., Ota Y. 1998. Purification and characterization of bile salt activated Lipase from the hepatopancreas of red sea bream (*Pagrus major*). *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 59-69.
- Jerald Felix F., Saradhamani N., ManishKumar B., Charles Maria Prabhu F. 2016. Toxic effects of herbicide Glyphosate Hijck® (41%) on serum biochemical parameters of freshwater fish, *Catla Catla* (HAM). *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 5(7): 1928-1937.
- Jofré D.M., Germanó García M.J., Salcedo R.E., Morales M., Alvarez M., Enriz R.D. 2013. Fish toxicity of commercial herbicides formulated with glyphosate. *Environmental and Analytical Toxicology*, 4(1):199-201.
- Kucuk O., Kahraman A., Kurt I., Yildiz N., Onmaz A.C. 2008. A combination of zinc and pyridoxine supplementation to the diet of laying hens improves performance and egg quality. *Biological Trace Element Research*, 126:165-175.
- Mohammadi M., Shamsai Mehrjan M., Abbasi Ghadiklaie H., Afsar A., Soltani A., Rezaei D. 2014. The effect of oral administration of nano zeolite on growth and survival indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture Development*, 8(2): 55-65. (In Persian).
- Moss D.M., Rudis M., Henderson S.O. 1999. Cross-sensitivity and the anticonvulsant hypersensitivity syndrome1. *The Journal of emergency medicine*, 17(3): 503-506.
- Movahedi N., Pourahmad A. 2018. Fabrication, Characterization and Antibacterial Properties of MgO Nanoparticles in Zeolite Matrix. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 12 (2): 116- 124. (In Persian).
- Nazdar N., Imani A., Noori F., Sarvi Moghanlou K. 2016. Digestive enzymes activity and growth indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets supplemented with silymarin and Nickle Oxide nanoparticles. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 25(2): 51-67. (In Persian).
- Olatunji L.A., Soladoye A.O. 2007. Increased magnesium intake prevents hyperlipidemia and insulin resistance and reduces lipid peroxidation in fructose-fed rats. *Pathophysiology*, 14(1): 11-15.
- Pratt D.S., Kapla M.M. 2005. Evaluation of liver function. In: Braunwald E, Kasper AS, Fauci AL (Eds.). *Harrison's principles of internal medicine*. 21<sup>st</sup> edition. New York: McGraw Hill, USA. pp: 1813-1817.
- Rungruangsak-Torrissen K., Rustad A., Sunde J., Eiane S.A., Jensen H.B., Opstvedt J., Nygard E., Samuelsen T.A., Mundheim H., Luzzana U. 2002. In vitro digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 644-654.
- Sahraei H., Hedayati S.A.A., Marivani L., Rezaei K. 2017. Investigating changes in Common Carp *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 muscle and liver enzymes Fed with iron and zinc oxide nanoparticles. *Journal of Applied Ichthyological Research*, 5(2): 79-96. (In Persian).
- Salehi H. 2003. Market perspective on cultured carp products in Iran. *Asia Pacific Conference on Aquaculture*. Bangkok, Thailand. 45p.
- Sheikh Veisi R., Hedayati S.A., Bagheri T., Nodeh A.J. 2019. Study on Growth Performance and Carcass Composition of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Exposed to Silver Oxide Nanoparticles and *Lactobacillus casei* Probiotic. *Animal Physiology and Development*, 12(3): 59- 66. (In Persian).
- Shi L.E., Xing L., Hou B., Ge H., Guo X., Tang Z. 2010. Inorganic nano metal oxides used as antimicroorganism agents for pathogen control. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial*, 15(361): 25-8.

## نحوه استناد به این مقاله:

افسردير ش.، كشيرو ح.، آدينه ح.، بوذرپور س.، هدايتي س.ع.ا. تأثير سطوح مختلف نانوذرات اكسيد منيزيم بر رشد، فعاليت آنزيمهاي گوارشي و فاكتورهاي ايمني ماهي كپور معمولي *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 در مواجهه با سم گلايفوزيت (Glyphosate). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۳۹۹، ۸۲-۷۳: ۸(۳).

Afsardir Sh., Kashiri H., Adineh H., Boozarpour S., Hedayati S.A.A. Effect of different levels dietary magnesium nanoparticles on growth, digestive enzymes activity, and immunological parameters of common carp *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 exposed to glyphosate. Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2020, 8(3): 73-82.

- Slutsky I., Abumaria N., Wu L.J., Huang C., Zhang L., Li B., Zhao X., Govindarajan A., Zhao M-G., Zhuo M., Tonegawa S., Liu G. 2010. Enhancement of learning and memory by elevating brain magnesium. *Neuron*, 65(2): 165-177.
- Szarek J., Siwicki A., Andrzejewska A., Terech-Majewska E., Banaszkiwicz T. 2000. Effects of the herbicide Roundup TM on the ultra-structural pattern of hepatocytes in carp (*Cyprinus carpio*). *Marine Environmental Research*, 50(1): 263-66.
- Tajbakhsh M., Farhang M., Hosseini A.A. 2014. MgO nanoparticles as an efficient and reusable catalyst for aza-Michael reaction. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 11(3): 665-672. (In Persian).
- Tang Z.X., Lv B.F. 2014. MgO Nanoparticles as antibacterial agent: preparation and activity. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 31(3):591-601.
- Tokur B., Ozkutuk S., Atici E., Ozyurt G., Ozyurt C.E. 2006. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18°C). *Food Chemistry*, 99: 335-341.
- Vaidhyanathan B., Agrawal D.K., Shrouf T.R., Fang Y. 2000. MATERIALS IETTERS. *Materials Letters*, 42: 207-211.
- Wang B., Peng L., Zhu L., Ren P. 2007. Protective effect of total flavonoids from *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid on human umbilical vein endothelial cell damage induced by hydrogen peroxide. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60(1): 36-40.
- Williams G.M., Kroes R., Munro I.C. 2000. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Round-up and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 31(2):117-65.
- Worthington C.C. 1993. *Worthington Enzyme Manual. Enzymes and related Biochemicals* Worthington Chemical. New Jersey, USA. 730p.
- Wu Z., Tang T., Guo H., Tang S., Niu Y., Zhang J., Wenjing Z., Rui M., Jiaca S., Changsheng L., Wei, J. 2014. In vitro degradability, bioactivity and cell responses to mesoporous magnesium silicate for the induction of bone regeneration. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 120:38-46.
- Yazdanparast T., sharifpour I., Soltani M. 2017. Effects of nano-silver particles on some vital tissues of Zebra fish (*Danio rerio*) fed via oral administration. *Journal of Veterinary Research*, 72(1): 23-32. (In Persian).
- Yúfera M., Darias M.J. 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture*, 268:53-63.

## Effect of different levels dietary magnesium nanoparticles on growth, digestive enzymes activity, and immunological parameters of common carp *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 exposed to glyphosate

Afsardir Sh<sup>1</sup>., Kashiri H<sup>1</sup>., Adineh H<sup>\*2</sup>., Boozarpour S<sup>3</sup>., Hedayati S.A.A.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Dept. of Aquatic Ecology, Faculty of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

<sup>2</sup> Dept. of Fisheries, Faculty of Agriculture science and natural resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran

<sup>3</sup> Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran

### Type:

Original Research Paper

### Paper History:

Received: 27-12-2019

Accepted: 30-01- 2020

### Corresponding author:

Adineh H. Dept. of Fisheries, Faculty of Agriculture science and natural resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran

Email: adineh.h@gonbad.ac.ir

### Abstract

This study aimed to evaluate the effects of different dosages of magnesium-oxide nanoparticles (nano-Mg) on the growth performance, digestive enzyme activities, and some innate immune parameters in common carp fingerling (*C. carpio*). Nano-Mg was added to the experimental basal diets at the rates of 0 (control), 25, 50, and 100 mg/kg. Four groups of fish with an average weight of  $12.96 \pm 0.41$  g were fed with the experimental diets for 60 days. Fish that were fed diet supplemented contain 25 mg nano-Mg/kg displayed improvement in growth performance, including final weight and weight gain, average daily gain, and specific growth rate. The feed conversion ratio was significantly lowered in fish fed with 25 mg of nano-Mg compared to the control group. Intestinal digestive enzyme activities (amylase, lipase, and protease) were significantly affected by dietary magnesium-oxide nanoparticles. At the end of the experiment, fish were exposed to chronic glyphosate herbicide for 14 days. Before and after the stress, the highest lysozyme activity and lowest cortisol level were obtained in 25 mg nano-Mg/kg diet. Liver enzymes (before and after stress) were significantly increased in the control compared to the other experimental groups. According to the result of the present study, the addition of 25 mg nano-magnesium per kg feed improves growth, digestive enzyme secretion, and innate immunity of common carp and counteracts the adverse impacts of glyphosate herbicide.

**Keywords:** *C. carpio*, Magnesium-oxide nanoparticles, Fish performance, Glyphosate, Blood factors