مجله تحقیقات منابع طبیعی تجدیدشونده، سال چهاردهم، شماره۱، بهار و تابستان ۱۴۰۲(پیاپی سی‌ونه)، ص ۱۳-۱، نوع مقاله : علمی پژوهشی/۱

تاثیر نانوذره اکسیدروی در جیره غذایی بر خصوصیات لکوسیتی قزل‌آلای رنگین‌کمان *(Oncorhynchus mykiss)*

هومن رجبی‌اسلامی[1*]

۱) دانشیار گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. *رایانامه نویسنده مسئول مکاتبات: rajabi.h@srbiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۹

چکیده

تاثیر نانو ذرات اکسید روی به‌عنوان مکمل معدنی در جیره غذایی بر تغییرات گلبول‌های سفید خون قزل‌آلای رنگین‌کمان در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۹۰۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (۵/۴۱±۱۷/۲۲ گرم) به صورت تصادفی در ۱۸ تانک (شش گروه آزمایشی هر یک با سه تکرار) توزیع گردیدند. جیره غذایی پایه بدون افزودن مکمل روی تهیه و برای تغذیه ماهیان در گروه شاهد منفی استفاده شد. سایر جیره‌های آزمایشی با افزودن ۱۰، ۳۰، ۵۰ و ۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذره اکسیدروی و ۷۰ میلی‌گرم سولفات‌روی (شاهد مثبت) به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی پایه تهیه شدند. ماهیان پس از دو هفته سازگاری برای ۸ هفته توسط جیره‌های غذایی مربوط به هر یک از گروه‌های آزمایشی مورد تغذیه قرار گرفتند. نمونه‌های خونی در انتهای دوره آزمایشی به منظور بررسی تعداد گلبول‌های سفید خونی و شمارش افتراقی آنها از ماهیان گرفته شد. نتایج نشان داد نانواکسید روی تاثیر معنی‌دار بر تعداد گلبول‌های سفید خونی دارد، به طوری که بیشترین تعداد این گروه از سلول‌های خونی سفید با ۲۲۰۰۰±۱۷۸۰۰۰ عدد در میلی‌مترمکعب در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۵۰ میلی‌گرم مکمل نانوذره اکسیدروی در هر کیلوگرم جیره غذایی ثبت گردید که به شکل معنی‌داری بیش از تعداد آنها در ماهیان تغذیه شده با جیره پایه بود ($p<0/05$). همچنین ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۵۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی در هر کیلوگرم جیره غذایی با ۰/۱۳±۷۲/۲۱ درصد دارای بالاترین درصد لنفوسیت‌ها بودند، درحالی‌که کمترین درصد نوتروفیل نیز در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۵۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی در هر کیلوگرم جیره غذایی ثبت گردید. با این وجود تعداد حقیقی نوتروفیل خون ماهیان در این گروه آزمایشی ۴/۵ برابر بیش از تعداد آنها در گروه شاهد بود. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد روی به شکل اکسید نانو تاثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های مرتبط با گلبول‌های سفید خون قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته و موجب افزایش تعداد لکوسیت‌ها، درصد لنفوسیت‌ها و کاهش نسبت نوتروفیل‌ها گردیده که بیانگر قابلیت بالاتر ایمنی خونی آنها است.

واژه‌های کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، گلبول سفید خونی، نانواکسید روی.

مقدمه

قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) یکی از گونه‌های بومی آمریکای شمالی است که نقش مهمی در تامین نیازهای پروتئینی بشر ایفا می‌نماید (FAO, 2022). سیستم‌های متراکم و فوق متراکم مختلفی برای پرورش و نگهداری مولدین این ماهی طراحی شده تا قادر به پاسخگویی نیازهای رو به رشد صنعت آبزی‌پروری باشند (Welker *et al*., 2019). البته موفقیت در تمام این سیستم‌ها نیازمند تغذیه مطلوب ماهی به‌منظور رشد مناسب، حفظ سلامت و افزایش مقاومت در برابر عوامل ناخواسته محیطی نظیر انواع استرس‌ها و بیماری‌ها می‌باشد (Amar *et al*., 2004; Mehrabi *et al*., 2020).

رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان مانند سایر آزادماهیان پدیده بسیار پیچیده‌ای است که نمی‌توان آن را تنها تحت تاثیر یک عامل خاص بررسی نمود (Cleveland et al., 2020). با این وجود، کمیت و کیفیت غذای مصرفی از مهمترین عواملی هستند که در کنار روش غذادهی بر رشد حداکثری ماهیان

سردآبی نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان نقش دارند (Karimi *et al*., 2021; Palmegiano *et al*., 2000). روی (Zn) یکی از عناصر معدنی کم مقدار ضروری در جیره‌های غذایی تمام جانوران است که در بسیاری از فرآیندهای سوخت‌وساز آنها نقش مهمی دارد. این عنصر فلزی که میزان جذب آن از طریق غذا به مراتب بیشتر از آب ورودی به بدن است (NRC, 2011)، همراه با مس به‌عنوان عامل کمکی در فعالیت بسیاری از آنزیم‌های بدن نظیر کربونیک انیدراز، آلکالین فسفاتاز و سوپراکسید دیسموتاز ایفای نقش می‌کند (NRC, 2011). روی علاوه بر این در بسیاری از فرآیندهای سلولی نظیر تکثیر سلولی، ترشحات هورمونی، ایمنی و مقاومت برابر رادیکال‌های آزاد اهمیت دارد (Fountoulaki *et al*., 2010; Antony Jesu Prabhu *et al*., 2016; Ibrahim *et al*., 2022). عنصر روی همچنین یکی از اجزای مهم سلول‌های خونی است که میزان تجمع آن در گلبول‌های سفید خونی بیش از سایر سلول‌های بدن است (Vikbladh, 1950). البته عوامل مختلفی در میزان جذب روی توسط قزل‌آلای رنگین‌کمان نقش دارند که از آن جمله می‌توان به غلظت کلسیم و فسفر موجود در جیره غذایی، مقدار اسید فیتیک، منبع پروتئین و البته شکل ساختمانی روی نیز اشاره نمود (Satoh *et al*., 1987; Sartipi Yarahmadi *et al*., 2022; Satoh *et al*., 1993).

روی معمولا در جیره غذایی آبزیان به‌صورت سولفات روی اضافه می‌شود (Moazenzadeh *et al*., 2018). با این وجود تحقیقات مختلفی در زمینه استفاده از روی به شکل اکسیدروی و یا ساختار آلی در آبزیان مختلف انجام شده که در مواردی اثرات بهتری را نیز به همراه داشته است (Kazemi *et al*., 2020; Shi *et al*., 2021; Mohseni *et al*., 2021; Mohammady *et al*., 2021). امروزه استفاده از فن‌آوری نانو به‌عنوان یک حوزه کلیدی و تاثیرگذار صنعت آبزی‌پروری یاد می‌شود (Mohammady *et al*., 2021; Nasr-Eldahan *et al*., 2021). پیش‌بینی می‌شود بازار استفاده از نانوفن‌آوری در صنعت غذایی طی سال‌های ۲۰۱۹ تا ۲۰۲۳ بیش از ۲٤ درصد افزایش یافته و به بیش از ۱۱۲/٤۸ میلیارد دلار برسد (Technavio, 2019). امروزه ذرات نانوفن‌آوری به علم شناخت و کنترل ذرات در مقیاس نانو با ابعادی بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر اطلاق می‌شود که منجر به ایجاد ویژگی‌های جدیدی در آنها می‌شود (Ogunfowora *et al*., 2021). نانوفن‌آوری قابلیت‌های زیادی را در صنعت آبزی‌پروری به‌وجود آورده است که از آن جمله می‌توان به کاهش هزینه‌ها، افزایش کارآیی و کاهش تاثیرات زیست‌محیطی ناشی از فعالیت‌های آبزی‌پروری اشاره نمود تا بتوان از این طریق نقش بهتری در تغذیه بیش از هفت میلیارد انسان ایفا نمود (He *et al*., 2019). پژوهش حاضر بر این اساس به بررسی اثرات سطوح مختلف نانوذره اکسیدروی (ZnO) بر تعداد گلبول‌های سفید خون و ترکیب تقریبی لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخته است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی جیره غذایی

نانو ذره روی (ZnO) مورد استفاده در این پژوهش از شرکت فن‌آور سپهر پارمیس، تهران، ایران تهیه گردید که ویژگی‌های آن در جدول (۱) ارایه شده است. ذرات نانو روی به شکل حامل آزاد[1] با اندازه‌ای بین ٤۰ تا ٦۰ نانومتر بوده که قطر متوسطی برابر ٤۹ نانومتر داشتند.

جدول ۱. خصوصیات نانوذره اکسید روی خنثی مورد استفاده در این پژوهش

نوع	اندازه	سطح ویژه	میزان خلوص	شکل ظاهری	چگالی
یون آزاد	٦۰-٤۰ نانومتر	۹۰ گرم بر مترمربع	۹۹ درصد	پودر سفید	۰/٦٥ گرم بر مترمکعب

ترکیب جیره پایه به‌عنوان غذای مصرفی در تیمار شاهد منفی در جدول (۲) ارایه شده است. سایر جیره‌های آزمایشی با افزودن ۱۰، ۳۰، ٥۰ و ۷۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی و ۷۰ میلی‌گرم سولفات‌روی (شاهد مثبت) به هر کیلوگرم جیره غذایی پایه تهیه شدند. اجزای غذایی مورد استفاده در این پژوهش از شرکت به‌پرور، کرج، ایران تهیه و تا زمان آماده‌سازی در جای خنک و به دور از نور خورشید نگهداری شدند. همچنین اجزای مایع جیره غذایی به‌منظور محافظت از تغییرات احتمالی در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

1 Free carrier

اجزای مورد استفاده در هر یک از جیره‌های غذایی پس از توزین دقیق ابتدا به خوبی با یکدیگر مخلوط و سپس با افزودن مقدار کمی آب توسط همزن برقی به شکل خمیر درآمدند. خمیر به‌دست آمده در ادامه چرخ شده و به پلت‌هایی با اندازه ۲ میلی‌متر (متناسب با اندازه دهان بچه ماهیان) تبدیل شدند. غذای مورد استفاده در هر یک از جیره‌های غذایی برای مقابله با تغییرات احتمالی در ترکیب شیمیایی طی فواصل دو هفته‌ای تهیه و تا زمان استفاده در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان روی تیمارهای آزمایشی در حقیقت برابر با حاصل‌جمع روی موجود در تمام اجزای مورد استفاده برای هر یک از جیره‌های غذایی همراه با نانوذره یا سولفات روی اضافه شده به هر گروه آزمایشی بود.

جدول ۲. ترکیب جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌عنوان غذای پایه بر اساس پیشنهاد Hidalgo و همکاران (۲۰۰۲)

ماده غذایی	درصد
آرد ماهی	٤٨/٠٠
گلوتن ذرت	١٠/٠٠
آرد سویا	٢٠/٠٠
آرد گندم	١٣/٩٠
روغن ماهی	٦/٠٠
هم‌بند (آلژینات سدیم)	١/٠٠
مکمل ویتامینه	١/٠٠
مکمل معدنی	٠/١٠

[a] مکمل معدنی (میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا): سولفات‌آهن، ٦/٤٩؛ سولفات‌منگنز ٢٠٧، ٢٠؛ سولفات‌مس، ٣٦/٣؛ ید ٠، ٨٤؛ حمل‌کننده، ٤/٥٥

[b] مکمل ویتامینه (میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا به استثنای موارد ذکر شده): دی‌کلسیم‌پنتوتنات ٢٦، ٨٤٠؛ پیریدوکسین (pyridoxine HCl)، ٧٧٠٠؛ ریبوفلاوین ٢/١٣؛ نیاسینامید، ٥٥؛ فولیک‌اسید، ٢٢٠٠؛ تیامین،٨٨٠٠؛ بیوتین، ٨٨؛ ویتامین B_{12}، ٥/٥ واحد بین‌المللی؛ ویتامین آی، ٨٨ واحد بین‌المللی؛ ویتامین D_3، ١١٠ واحد بین‌المللی؛ ویتامین آ، ١٦٥٠٠٠٠ واحد بین‌المللی.

تعداد ۹۰۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در این تحقیق از نژاد فرانسوی (Aqualand, France) با وزن متوسط ۱۷/۵±۲۲/٤۱ گرم از یک کارگاه محلی تکثیر و پرورش قزل‌آلا واقع در جاده هراز، استان مازندران تهیه و به یک مزرعه محلی در شهرستان رباط کریم، استان تهران منتقل شدند. ماهیان برای مدت ۲ روز در یک حوضچه کانالی با شرایط کارگاه سازگار شده و سپس به گروه‌های آزمایشی انتقال یافتند. تغذیه ماهیان در این دوره زمانی با جیره غذایی پایه صورت پذیرفت و آب کارگاه از یک چاه با دمای ۱۷/۳±۰/٦ درجه سانتی‌گراد تامین گردید.

این آزمایش در هجده تانک با حجم آب‌گیری ۸ مترمکعب انجام پذیرفت که به شکل کاملا تصادفی با سه تکرار به شش گروه آزمایشی اختصاص یافتند. دبی آب ورودی هر تانک برابر با یک لیتر در ثانیه تعیین گردید. سپس تعداد ۵۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به روش کاملا تصادفی به هر یک از تکرارهای آزمایشی توزیع و برای دو هفته دیگر با شرایط تانک‌ها سازگار شدند. لازم به ذکر است که هیچ گونه تلفات و یا علایم ظاهری ناشی از بیماری طی سازگاری ماهیان با شرایط کارگاهی مشاهده نگردید. ماهیان در هر یک از فضاهای آزمایشی برای مدت هشت هفته با مقدار مشابهی (٤ درصد وزن بدن) از جیره‌های غذایی مربوط به هر یک از گروه‌های آزمایشی تغذیه شده و فراسنجه‌های خونی مرتبط با گلبول‌های سفید ماهیان در انتهای مدت زمان آزمایشی بررسی گردید. ماهیان برای تعیین میزان غذای مصرفی هر دو هفته یک‌بار برای مدت یک شبانه‌روز قطع غذا شده و وزن آنها پس از بیهوشی مورد ارزیابی قرار گرفت.

تعیین فراسنجه‌های خونی

تعداد ۵ عدد از ماهیان هر یک از گروه‌های آزمایشی در انتهای دوره مطالعاتی و پس از یک شبانه‌روز توقف تغذیه با کمک ۲۵۰ قسمت در میلیون پودر گل میخک بی‌هوش شدند.

خون‌گیری از ماهیان با قطع ساقه دمی انجام گرفت و خون به‌دست آمده از تمام نمونه‌ها به لوله‌های اپندرف حاوی هپارین انتقال یافت. نمونه‌های خونی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و به سرعت به آزمایشگاه خون‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، شهریار انتقال یافت.

تعداد گلبول‌های سفید در هر یک از گروه‌های آزمایشی پس از تهیه رقت ۱:۲۰ توسط محلول رقیق‌کننده مارکانو (Marcano's fluid) و استفاده از ملانوژ مخصوص گلبول‌های سفید انجام گرفت. یک قطره از خون رقیق شده در ادامه روی لام نئوبار قرار گرفت و تعداد گلبول‌های سفید آن زیر میکروسکوپ نوری شمارش شد (Blaxhall & Daisley, 1973).

شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نیز با کمک رنگ‌آمیزی گیمسا از گسترش خونی ماهیان روی لام‌های تمیز انجام گرفت. یک قطره خون از هر ماهی نمونه‌گیری شده برای این منظور روی یک لام تمیز ریخته شد و از نمونه خونی گسترش تهیه گردید. گسترش خونی پس از خشک شدن با رنگ‌آمیزی گیمسا (Giemsa Stain) تثبت شد و برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید مورد استفاده قرار گرفت. هر لام دو مرتبه و در هر مرتبه تا حد رسیدن به یک صد گلبول سفید بازبینی و درصد هر یک از لکوسیت‌ها شامل تعداد نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و منوسیت‌ها یادداشت گردید (Blaxhall & Daisley, 1973). لازم به ذکر است تعداد بازوفیل‌ها و ائوزینوفیل‌های ماهیان در تمام لام‌های شمارشی بسیار کم بود و بر این اساس نتایج مربوط به آنها با توجه به عدم وجود اختلاف معنی‌دار در تعداد این سلول‌ها علی‌رغم انجام شمارش هر یک ارایه نشد.

آنالیز لاشه

ماهیانی که برای خون‌گیری انتخاب شده بودند در ادامه برای تعیین ترکیب تقریبی بدن مورد استفاده قرار گرفتند. فیله ماهیان به این منظور از بدن آنها جدا و برای بررسی میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر طبق روش AOAC (2002) مورد استفاده قرار گرفتند. میزان رطوبت فیله با قرار دادن نمونه در خشک‌کن با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت و تا زمانی تعیین شد که وزن نمونه‌ها ثابت شود. سطح پروتئین فیله‌ها به کمک یک سیستم خودکار کلدال (FP-528, Leco Instruments, St. Joseph, MI, USA) بعد از شصت دقیقه هضم اسیدی تعیین شد. چربی خام نیز با استفاده از حلال اتر و استخراج چربی نمونه‌ها برای چهار ساعت در یک سیستم سوکسله (Supelco, 64826 Soxhlet Extraction Apparatus, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) به‌دست آمد. میزان خاکستر نیز با قرار دادن نمونه‌ها در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد تا زمانی تعیین شد که درون ظرف نمونه تنها یک پودر سفید رنگ باقی بماند.

تجزیه و تحلیل آماری

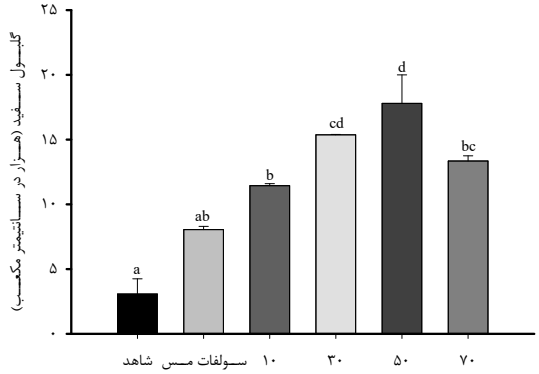
تمام متغیرهای مطالعاتی در این پژوهش شامل تعداد گلبول‌های سفید خون همراه با نسبت لنفوسیت‌ها، منوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در هر یک از گروه‌های آزمایشی به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد حاصل از پنج بار تکرار محاسبه گردیدند. اختلاف میان گروه‌های آزمایشی با کمک آنالیز واریانس یک طرفه[1] مشخص و محل اختلافات با کمک آزمون Tukey's HSD تعیین شدند. سطح معنی‌داری در تمام آزمون‌ها برابر ۵ درصد در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه شانزده انجام گرفت و نمودارها نیز با کمک نرم‌افزار SigmaPlot رسم شدند.

نتایج

گلبول‌های سفید خون

نتایج حاصل از شمارش گلبول‌های سفید خون نشان داد بیشترین تعداد گلبول‌های سفید با ۲۲۰۰۰±۱۷۸۰۰۰ عدد در میلی‌مترمکعب در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۵۰ میلی‌گرم مکمل نانوذره اکسیدروی در هر کیلوگرم جیره غذایی وجود دارد (شکل ۱) که به شکل معنی‌داری بیش از تعداد ثبت شده در ماهیانی بود که با جیره حاوی ۷۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم سولفات مس تغذیه نموده بودند ($p<۰/۰۵$). همچنین تعداد گلبول‌های سفید ماهیان در گروه شاهد به شکل معنی‌داری کمتر از ماهیان در سایر گروه‌های آزمایشی حاوی نانوذره اکسید روی بود ($p<۰/۰۵$). این در حالی بود که اختلاف معنی‌داری میان گروه‌های آزمایشی ۳۰ و ۷۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی در هر کیلوگرم غذا به‌دست نیامد ($p>۰/۰۵$).

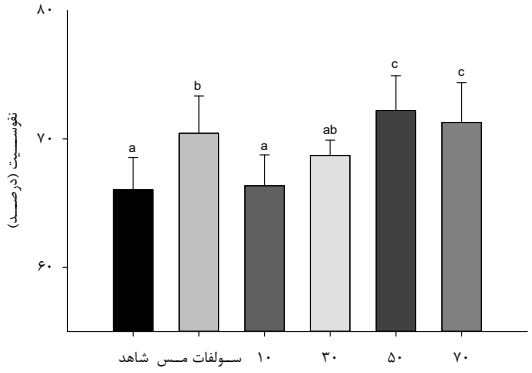
1 One way-ANOVA



شکل ۱. تعداد گلبول سفید (WBC) خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در گروه‌های آزمایشی حاوی مقادیر مختلف روی
حروف مشابه روی هر یک از ستون‌ها بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است (p<۰/۰۵)

لنفوسیت‌ها

بررسی تعداد لنفوسیت‌ها از میان گلبول‌های سفید خونی نشان داد تفاوت معنی‌داری در تعداد این سلول خونی بین ماهیان در گروه‌های مختلف آزمایشی پژوهش حاضر وجود دارد (شکل ۲). ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۵۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی در هر کیلوگرم جیره غذایی با ۷۲/۰±۲۱/۱۳ درصد دارای بالاترین نسبت لنفوسیت‌ها بودند، هر چند اختلاف معنی‌دار بین تعداد لنفوسیت‌های ماهیان در این گروه آزمایشی با ماهیان تغذیه نموده با ۷۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی به‌دست نیامد (p>۰/۰۵). کمترین تعداد لنفوسیت نیز به‌ترتیب در گروه‌های آزمایشی ۵۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی در هر کیلوگرم غذا و شاهد به‌دست آمد که البته این دو گروه آزمایشی فاقد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر بودند (p>۰/۰۵). همچنین تعداد لنفوسیت‌های ماهیان تغذیه نموده با سولفات مس به شکل معنی‌داری بیش از ماهیان تغذیه در گروه شاهد و کمتر از لنفوسیت ماهیان تغذیه نموده با ۵۰ و ۷۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی بود (p<۰/۰۵).

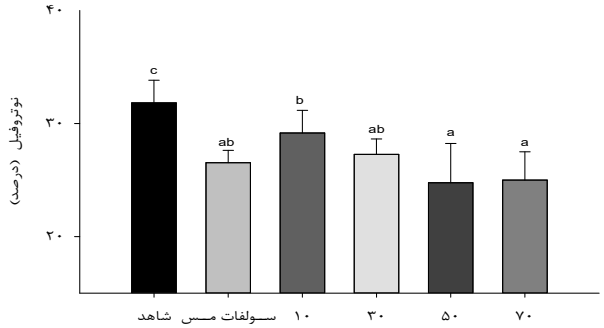


شکل ۲. درصد لنفوسیت‌های خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در گروه‌های آزمایشی حاوی مقادیر مختلف روی
حروف مشابه روی هر یک از ستون‌ها بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین گروهاهای آزمایشی است (p<۰/۰۵)

نوتروفیل‌ها

ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی شاهد دارای بالاترین نسبت نوتروفیل در مقایسه با سایر جیره‌های غذایی بودند (شکل ۳). کمترین نسبت نوتروفیل نسبت به سایر گلبول‌های سفید خونی نیز در ماهیان تغذیه نموده با گروه‌های آزمایشی ۵۰ و ۷۰ نانوذره اکسیدروی در هر کیلوگرم جیره غذایی به‌دست آمد که به شکل معنی‌داری کمتر از ماهیان تغذیه نموده با گروه‌های آزمایشی ۱۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی در هر کیلوگرم جیره غذایی و شاهد بود (p<۰/۰۵). با این وجود اختلاف معنی‌داری در نسبت گلبول‌های سفید خونی

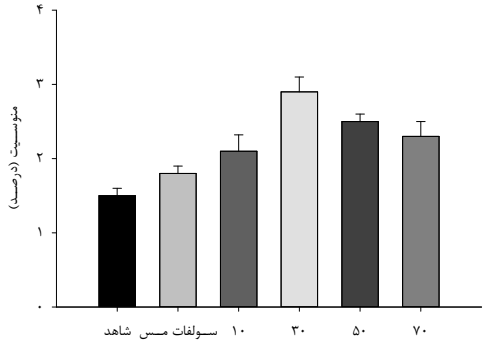
این ماهیان با ماهیان تغذیه نموده با سولفات مس و ۳۰ میلی‌گرم نانوذره اکسید روی در هر کیلوگرم جیره غذایی ثبت نشد (p>۰/۰۵).



شکل ۳. درصد نوتروفیل خون بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در گروه‌های آزمایشی حاوی مقادیر مختلف روی
حروف مشابه روی هر یک از ستون‌ها بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است (p<۰/۰۵)

مونوسیت‌ها

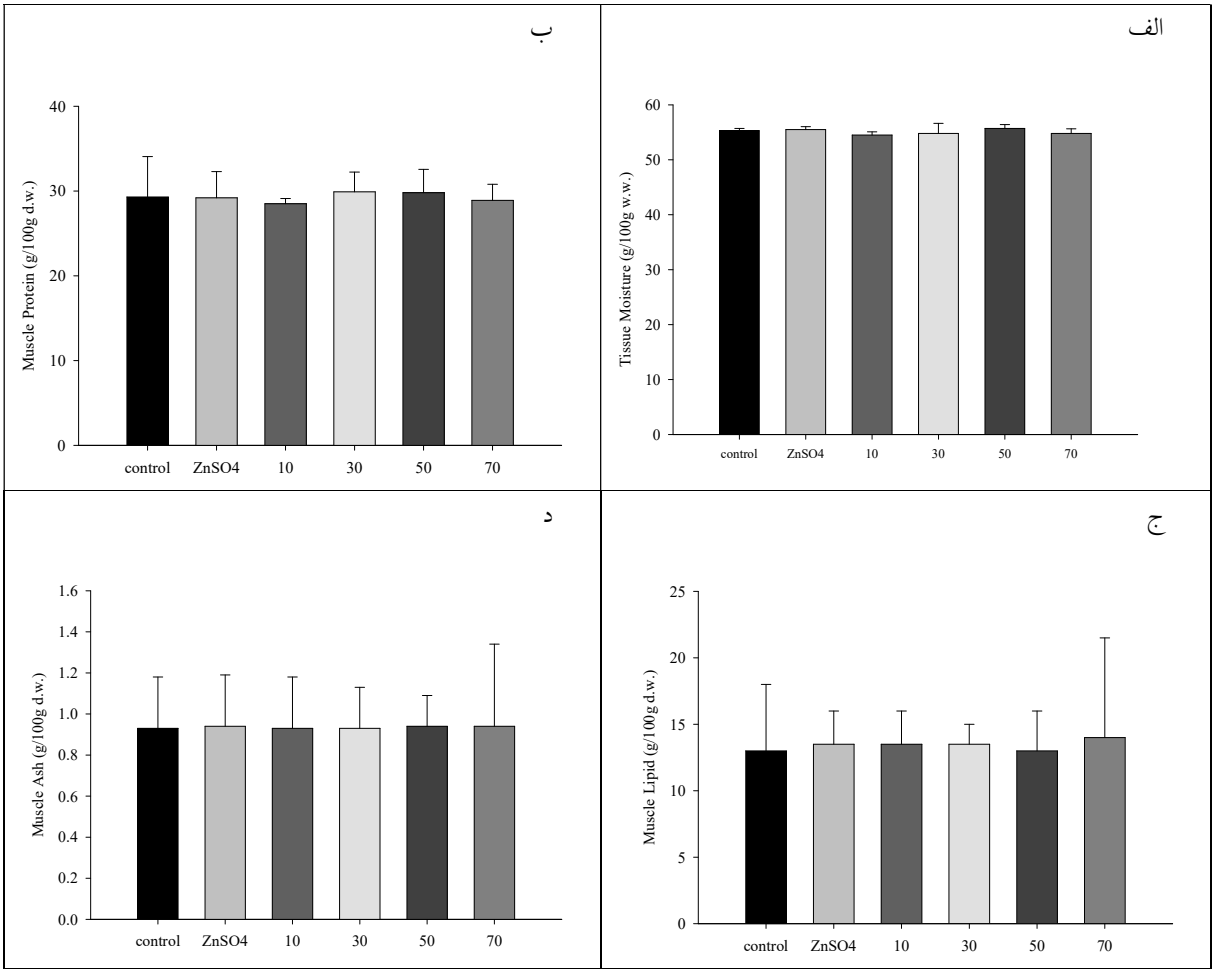
نتایج حاصل از تغییرات مونوسیت‌ها در میان گروه‌های آزمایشی در شکل (٤) ارایه شده است. این یافته‌ها نشان داد اختلاف معنی‌داری در تعداد مونوسیت‌های ماهیان تغذیه نموده با جیره‌های غذایی حاوی مقادیر مختلف نانوذره اکسید روی و سولفات مس نسبت به گروه‌های آزمایشی شاهد وجود ندارد (p>۰/۰۵).



شکل ۴. درصد مونوسیت در خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در گروه‌های آزمایشی حاوی مقادیر مختلف روی
حروف مشابه روی هر یک از ستون‌ها بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است (p<۰/۰۵)

آنالیز لاشه

یافته‌های پژوهش حاضر اختلاف معنی‌دار در ترکیب تقریبی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از هشت هفته تغذیه با مقادیر مختلف نانوذره اکسیدروی و سولفات‌مس نسبت به گروه‌های آزمایشی نشان نداد (p>۰/۰۵؛ شکل ۵). میزان پروتئین فیله ماهیان در تیمارهای مختلف آزمایشی در محدوده بین ۲۰/۹۱±۲۹/۰ تا ۲/۸۳±۳۰/۱۸ گرم در هر صد گرم وزن تر قرار داشت، درحالی‌که میزان چربی بافت تیمارهای مختلف بین ۵/۷۲±۱۲/۸۱ تا ۳۳/۲٦±١٤/٨ گرم در هر صد گرم ثبت گردید.



شکل ۵. میزان رطوبت (الف)، پروتیئن (ب)، چربی (ج) و خاکستر (د) قزل‌آلای رنگین‌کمان در گروه‌های آزمایشی حاوی مقادیر مختلف روی
عدم وجود حروف مشابه روی هر یک از ستون‌ها بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است ($p>0.05$)

بحث و نتیجه‌گیری

نیاز به عناصر فلزی و نحوه جذب آنها در اندام هدف توسط آبزیان از جمله مباحث تغذیه‌ای است که مورد توجه کارشناسان آبزی‌پروری قرار دارد (Shaw & Handy, 2011; Lall & Kaushik, 2021; Bury *et al*., 2003). بررسی‌ها نشان می‌دهد روی به اشکال مختلفی همچون سولفات‌روی، اکسیدروی و البته کیلیت‌روی در جیره‌های غذایی آبزیان استفاده می‌گردد که البته هر یک دارای فواید مختص به خود نیز بوده‌اند (Hardy *et al*., 1987; Paripatananont & Lovell, 1995; Maage *et al*., 2001). پیشرفت‌های فن‌آوری طی سالیان اخیر منجر به ساخت ذراتی در مقیاس نانو شده که دارای خصوصیات متفاوتی در مقایسه با نمونه‌های مشابه با ابعاد بزرگ‌تر هستند (Ogunfowora *et al*., 2021).

تغییرات گلبول‌های سفید یکی از شاخص مهم سلامت موجودات زنده می‌باشد. آزمایش‌های خون‌شناسی مبتنی بر شمارش گلبول‌های سفید بر این اساس برای تشخیص بیماری‌ها و تعیین وضعیت عمومی ماهیان به‌کار می‌رود (Raa, 2019; Gordeev *et al*., 2017; Fazio *et al*., 2013). گلبول‌های سفید به‌طور کلی مسئول محافظت بدن در مقابل عفونت‌های مختلف هستند که این نقش را از طریق ایجاد پاسخ‌های ذاتی و یا انطباقی انجام می‌دهند (Al-Shura, 2020; Actor, 2014). بنابراین تعداد مطلق گلبول‌های سفید می‌تواند به‌عنوان یک ابزار تشخیصی مهم برای سلامت ماهی استفاده شود (Chen *et al*., 2021)، هر چند که تعداد آن تحت تاثیر عواملی نظیر سن، جنسیت، شرایط پرورشی و استرس‌های محیطی قرار دارد (Fazio *et al*., 2013). افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید خون ماهیان در گروه آزمایشی

تغذیه نموده با جیره غذایی حاوی ۵۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی در کیلوگرم جیره غذایی در مقایسه با گروه شاهد بیانگر تاثیر روی در مقیاس نانو بر میزان این فراسنجه خونی بود. روی از جمله عناصری است که در فعالیت انفجاری لمفوسیت‌ها نقش دارد (Rink & Kirchner, 2000). علاوه بر این سطوح مختلف روی یک پاسخ سیتوکینی را در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون فعال می‌کند که منجر به تقویت فعالیت فراسنجه‌ای IL-1، IL-6، TNF-α و IFN-γ می‌گردد (Scuderi, 1990). این فعالیت‌ها که احتمالا به‌دلیل افزایش میزان رونویسی از فراسنجه‌های سیتوکینی است (Wellinghausen *et al*., 1997) می‌تواند در نهایت به کارکرد بهتر گلبول‌های سفید خونی و افزایش تعداد آنها منجر شود. با این وجود و علی‌رغم افزایش عددی تعداد گلبول‌های سفید ماهیان تغذیه نموده با سولفات مس، اختلاف معنی‌داری در تعداد آنها با تعداد گلبل‌های سفید ماهیان در گروه شاهد ثبت نشد. این شرایط بیانگر آن بود که روی اگرچه بر سنتز گلبول‌های سفید قزل‌آلای رنگین‌کمان نقش دارد، استفاده از آن به شکل نانوذره با توجه به ویژگی‌های ساختاری می‌تواند تاثیر به مراتب بیشتری در سنتز این گروه از سلول‌های خونی داشته باشد. شایان ذکر است تعداد گلبول‌های سفید در تمام گروه‌های آزمایشی در محدوده طبیعی اعلام شده در پژوهش‌های گذشته بود (Miller Iii *et al*., 1983; Morro *et al*., 2020; Nabi *et al*., 2022) که بیانگر عدم تاثیر سمی اکسیدروی در مقیاس نانو بر قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد روی بر سنتز لنفوسیت‌ها تاثیر دارد، به‌طوری‌که میزان ۵۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی در هر کیلوگرم جیره غذایی بیشترین تاثیر را بر تعداد این گروه از لکوسیت‌ها نسبت به گلبول‌های سفید خونی داشت. تاثیر افزایشی روی بر تکثیر لنفوسیت‌ها می‌تواند به‌دلیل ظرفیت این عنصر در افزایش فراسنجه IL-4 باشد که به نوبه خود تکثیر لنفوسیت‌های B را سبب می‌شود (Malavé *et al*., 1990; Prasad, 2008). کمبود روی همچنین می‌تواند ایمنی اکتسابی را با جلوگیری از رشد و برخی کارکردهای سلول‌های لنفوسیت T بگیرد (Shankar & Prasad, 1998). گرچه در پژوهش حاضر تعداد تفکیکی لنفوسیت‌های B و T شمارش نشدند، اما افزایش تعداد کلی لنفوسیت‌ها در تیمار سولفات‌مس و همچنین تیمار حاوی مقادیر بالاتر از ۳۰ میلی‌گرم نانوذره اکسیدروی احتمالا بیانگر تاثیر این عنصر بر سنتز بالاتر سلول‌های لنفوسیتی است که به شکل اختصاصی در سنتز آنتی‌بادی برای شناسایی عوامل عفونی بدن نقش دارند (Scapigliati, 2013).

Melanie و Nasim (۲۰۰۹) بیان نمودند روی عنصر اساسی برای توسعه و کارکرد سلول‌های دخیل در ایمنی غیراختصاصی با واسطه سلولی نظیر نوتروفیل‌ها است. این در حالی است که درصد نوتروفیل‌ها ماهیان تغذیه نموده با سطوح و اشکال مختلف روی در پژوهش حاضر به شکل معنی‌داری کمتر از میزان این سلول خونی در ماهیان تغذیه نموده با غذای پایه بود. با این وجود تعیین تعداد نوتروفیل‌ها در هر سانتی‌مترمکعب از خون ماهیان نشان داد تعداد این سلول خونی دست‌کم بین ۲/۱۸ تا ٤/۵۰ برابر نسبت به تعداد آنها در خون ماهیان تغذیه نموده با جیره غذایی پایه افزایش داشته است. اضافه می‌گردد درصد نوتروفیل‌ها در ماهیان تغذیه نموده با گروه شاهد نیز در محدوده طبیعی اعلام شده برای قزل‌آلای رنگین‌کمان قرار داشت (Nabi *et al*., 2022).

تحقیقات نشان می‌دهد که ساختمان شیمیایی عناصر بر میزان جذب و نحوه کارآیی آنها در آبزیان اثرگذار است (Lin *et al*., 2013). Hardy و همکاران (۱۹۸۷) برای مثال نشان دادند میزان جذب روی در قزل‌آلای رنگین‌کمان با شکل ساختمانی سولفات و سولفات EDTA به مراتب کمتر از کیلیت روی خواهد بود. Apines و همکاران (۲۰۰۱) هیچ تاثیر معنی‌دار روی به شکل سولفات‌روی، سولفات‌متیونین روی یا روی‌کیلیت شده با آمینواسیدها در تغذیه قزل‌آلای رنگین‌کمان را گزارش نکردند. این پژوهش به‌عنوان اولین پژوهش در زمینه استفاده از نانوذره اکسیدروی در تعداد گلبول‌های سفید خونی نشان داد روی به شکل نانو قادر به افزایش معنی‌دار متغیرهای خونی مطالعاتی شامل تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها و البته لنفوسیت‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقایسه با سولفات روی می‌باشد ($p<۰/۰۵$). چنین اختلافی در یافته‌های پژوهش حاضر با مطالعات گذشته می‌تواند به ساختمان شیمیایی روی و یا خصوصیات فیزیکی آن در ارتباط باشد. مصرف ترکیبات در اندازه نانو می‌تواند به تغییرات اساسی در ساختار و خواص

این عناصر منجر شود، به‌طوری‌که تا به امروز صدها تولیدات جدید برای اهداف مختلف در زمینه فن‌آوری نانو ساخته شده است (Griffitt *et al*., 2009). بنابراین اندازه کوچک‌تر ذرات نانو اکسیدروی (٤٠ تا ٦٠ نانومتر) در این پژوهش به‌عنوان یکی از عوامل اثرگذار بر خصوصیات فیزیکی و قدرت واکنشی روی بوده و ممکن است منجر با ارتقای قابلیت جذب این عنصر از سلول‌های اپیتلیالی روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان و بهبود کارآیی آن شده باشد. با این وجود اظهارنظر دقیق در این مورد نیازمند بررسی‌های بیشتر در این زمینه است.

شرایط فیزیولوژیکی از اهمیت بسیاری در پرورش ماهیان برخوردار است، به‌طوری‌که موفقیت در زمینه آبزی‌پروری مستلزم شناخت از شرایط داخلی آبزیان پرورشی برای حفظ و بهبود وضعیت آنها خواهد بود (Feist *et al*., 2004). یافته‌های پژوهش حاضر در مجموع نشان داد روی به شکل اکسیدنانو تاثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های مرتبط با گلبول‌های سفید خون قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته و موجب افزایش تعداد لکوسیت‌ها، درصد لنفوسیت‌ها و کاهش نسبت نوتروفیل‌ها گردیده که بیانگر قابلیت بالاتر ایمنی خونی آنها است.

تشکر و قدردانی

نویسنده بر خود لازم می‌داند که از زحمات کارکنان مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران سپاسگزاری نماید. همچنین از آقای مهندس غلامحسین خلیل‌نژاد به‌دلیل کمک‌های بی‌دریغ در تهیه بچه ماهیان و طراحی آزمایش میدانی، مهندس شهناز پورحسینی در آماده‌سازی نمونه‌های خونی و رضا عصاره در تحلیل اطلاعات تشکر می‌گردد.

منابع

Actor, J.K. (2014) A functional overview of the immune system and immune components. In: J.K. Actor (Ed.) Introductory Immunology, Academic Press, pp. 1-15. Retreived from https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420030-2.00001-9/

Al-Shura, A.N. (2020) 6- Leukocytes. In: A. N. Al-Shura (Ed.) Advanced hematology in integrated cardiovascular Chinese medicine, Academic Press, pp. 35-39. Retreived from https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817572-9.00006-9/

Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S. and Watanabe, T. (2004) Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. Fish and Shellfish Immunology, 16(4): 527-537. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.fsi.2003.09.004/

Antony Jesu Prabhu, P., Schrama, J.W. and Kaushik, S.J. (2016) Mineral requirements of fish: a systematic review. Reviews in Aquaculture, 8(2): 172-219. Retreived from https://doi.org/10.1111/raq.12090/

Apines, M.J., Satoh, S., Kiron, V., Watanabe, T., Nasu, N. and Fujita, S. (2001) Bioavailability of amino acids chelated and glass embedded zinc to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fingerlings. Aquaculture Nutrition, 7(4): 221-228. Retreived from https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2001.00178.x/

Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W. (1973) Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology, 5(6): 771-781. Retreived from https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x/

Bury, N.R., Walker, P.A. and Glover, C.N. (2003) Nutritive metal uptake in teleost fish. Journal of Experimental Biology, 206(1): 11-23. Retreived from https://doi.org/10.1242/jeb.00068/

Chen, H., Liu, H., Li, R., Lin, X., Luo, H., Ji, S., Hu, W. and Luo, D. (2021) Blood cell identification and hematological analysis during natural sex reversal in rice field eel (*Monopterus albus*). Aquaculture, 538: 736543. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736543/

Cleveland, B.M., Gao, G. and Leeds, T.D. (2020) Transcriptomic response to selective breeding for fast growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Marine Biotechnology, 22(4): 539-550. Retreived from https://doi.org/10.1007/s10126-020-09974-3/

FAO. (2022) *Oncorhynchus mykiss*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Cowx, I. G.. Fisheries and Aquaculture Division [online]. Rome. [Cited Thursday, July 7th 2022].

Fazio, F., Marafioti, S., Torre, A., Sanfilippo, M., Panzera, M. and Faggio, C. (2013) Haematological and serum protein profiles of Mugil cephalus: effect of two different habitats. Ichthyological Research, 60(1): 36-42. Retreived from https://doi.org/10.1007/s10228-012-0303-1/

Feist, G., Van Eenennaam, J.P., Doroshov, S.I., Schreck, C.B., Schneider, R.P. and Fitzpatrick, M.S. (2004) Early identification of sex in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*, using plasma steroid levels. Aquaculture, 232(1): 581-590. Retreived from https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00486-1/

quantitative and qualitative semen attributes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 515: 734529. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734529/

Lall, S.P. and Kaushik, S.J. (2021) Nutrition and metabolism of minerals in fish. Animals, 11(09): 2711. Retreived from https://doi.org/10.3390/ani11092711/

Lin, S., Lin, X., Yang, Y., Li, F. and Luo, L. (2013) Comparison of chelated zinc and zinc sulfate as zinc sources for growth and immune response of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture, 406-407: 79-84. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.04.026/

Maage, A., Julshamn, K. and Berge, G.E. (2001) Zinc gluconate and zinc sulphate as dietary zinc sources for Atlantic Salmon. Aquaculture Nutrition, 7(3): 183-187. Retreived from https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2001.00170.x/

Malavé, I., Rodriguez, J., Araujo, Z. and Rojas, I. (1990) Effect of zinc on the proliferation response of human lymphocytes: mechanism of its mitogenic action. Immunopharmacology, 20(1): 1-10. Retreived from https://doi.org/10.1016/0162-3109(90)90002-V/

Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Rahimi-Mianji, G. and Paknejad, H. (2020) Immunity and growth improvement of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary nettle (*Urtica dioica*) against experimental challenge with *Saprolegnia parasitica*. Fish & Shellfish Immunology, 104: 74-82. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.050/

Miller Iii, W.R., Hendricks, A.C. and Cairns Jr, J. (1983) Normal ranges for diagnostically important hematological and blood chemistry characteristics of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 40(4): 420-425. Retreived from https://doi.org/10.1139/f83-060/

Moazenzadeh, K., Rajabi Islami, H., Zamini, A. and Soltani, M. (2018) Effects of dietary zinc level on performance, zinc status, tissue composition and enzyme activities of juvenile Siberian sturgeon, *Acipenser baerii* (Brandt 1869). Aquaculture Nutrition, 24(4): 1330-1339. Retreived from https://doi.org/10.1111/anu.12670/

Mohammady, E.Y., Soaudy, M.R., Abdel-Rahman, A., Abdel-Tawwab, M. and Hassaan, M.S. (2021) Comparative effects of dietary zinc forms on performance, immunity, and oxidative stress-related gene expression in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 532: 736006. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736006/

Fountoulaki, E., Morgane, H., Rigos, G., Antigoni, V., Mente, E., Sweetman, J. and Nengas, I. (2010) Evaluation of zinc supplementation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juvenile diets. Aquaculture Research, 41(9): e208-e216. Retreived from https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02503.x/

Gordeev, I.I., Mikryakov, D.V., Balabanova, L.V. and Mikryakov, V.R. (2017) Composition of leucocytes in peripheral blood of Patagonian toothfish *(Dissostichus eleginoides*, Smitt, 1898) (Nototheniidae). Polar Research, 36(1): 1374126. Retreived from https://doi.org/10.1080/17518369.2017.1374126/

Griffitt, R.J., Hyndman, K., Denslow, N.D. and Barber, D.S. (2009) Comparison of molecular and histological changes in zebrafish gills exposed to metallic nanoparticles. Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology, 107(2): 404-415. Retreived from https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn256/

Hardy, R.W., Sullivan, C.V. and Koziol, A.M. (1987) Absorption, body distribution, and excretion of dietary zinc by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Fish Physiology and Biochemistry, 3(3): 133-143. Retreived from https://doi.org/10.1007/BF02180415/

He, X., Deng, H. and Hwang, H.-m. (2019) The current application of nanotechnology in food and agriculture. Journal of Food and Drug Analysis, 27(1): 1-21. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.002/

Hidalgo, M.C., Expósito, A., Palma, J.M. and Higuera, M.d.l. (2002) Oxidative stress generated by dietary Zn-deficiency: Studies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 34(2): 183-193. Retreived from https://doi.org/10.1016/S1357-2725(01)00105-4/

Ibrahim, M.S., El-Gendi, G.M.I., Ahmed, A.I., El-Haroun, E.R. and Hassaan, M.S. (2022) Nano zinc versus bulk zinc form as dietary supplied: Effects on growth, intestinal enzymes and topography, and hemato-biochemical and oxidative stress biomarker in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758). Biological Trace Element Research, 200(3): 1347-1360. Retreived from https://doi.org/10.1007/s12011-021-02724-z/

Karimi, A., Ebrahimi, M.h., Zamanpoor, M., Hafezeieh, M. and Solhjoo, A. (2021) Survey on feed quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in fish farms of Fars Province. Iranian Scientific Fisheries Journal, 30(2): 1-9. Retreived from https://isfj.areeo.ac.ir/article_124715.html/

Kazemi, E., Sourinejad, I., Ghaedi, A., Johari, S.A. and Ghasemi, Z. (2020) Effect of different dietary zinc sources (mineral, nanoparticulate, and organic) on

Rink, L. and Kirchner, H. (2000) Zinc-altered immune function and cytokine production. The Journal of Nutrition, 130(5): 1407S-1411S. Retreived from https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1407S/

Sartipi Yarahmadi, S., Silva, M.S., Holme, M.-H., Morken, T., Remø, S., Araujo, P., Lock, E.-J., Waagbø, R. and Antony Jesu Prabhu, P. (2022) Impact of dietary zinc and seawater transfer on zinc status, availability, endogenous loss and osmoregulatory responses in Atlantic salmon smolt fed low fish meal feeds. Aquaculture, 549: 737804. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737804/

Satoh, S., Porn-Ngam, N., Takeuchi, T. and Watanabe, T. (1993) Effect of various types of phosphates on zinc availability to rainbow trout. Nippon Suisan Gakkaishi, 59(8): 1395-1400. Retreived from https://doi.org/10.2331/suisan.59.1395/

Satoh, S., Takeuchi, T. and Watanabe, T. (1987) Availability to rainbow trout of zinc in white fish meal and of various zinc compounds. *Nippon Suisan Gakkaishi*, *53*(4), 595-599. Retreived from https://doi.org/10.2331/suisan.53.595/

Scapigliati, G. (2013) Functional aspects of fish lymphocytes. Developmental and Comparative Immunology, 41(2): 200-208. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.dci.2013.05.012/

Scuderi, P. (1990) Differential effects of copper and zinc on human peripheral blood monocyte cytokine secretion. Cellular Immunology, 126(2): 391-405. Retreived from https://doi.org/10.1016/0008-8749(90)90330-T/

Shankar, A.H. and Prasad, A.S. (1998) Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. American Journal of Clinical Nutrition, 68(2): 447s-463s. Retreived from https://doi.org/10.1093/ajcn/68.2.447S/

Shaw, B.J. and Handy, R.D. (2011) Physiological effects of nanoparticles on fish: A comparison of nanometals versus metal ions. Environment International, 37(6): 1083-1097. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.03.009/

Shi, B., Xu, F., Zhou, Q., Regan, M.K., Betancor, M.B., Tocher, D.R., Sun, M., Meng, F., Jiao, L. and Jin, M. (2021) Dietary organic zinc promotes growth, immune response and antioxidant capacity by modulating zinc signaling in juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vaninamei*). Aquaculture Reports, 19: 100638. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100638/

Technavio. (2019) Global food nanotechnology market 2019-2023: Growing applications in nutraceuticals to boost the market. Toronto, Canada: Technavio. Retrieved from https://www.technavio.com/report/global-food-nanotechnology-market-industry-analysis&utm_source=pressrelease&utm_medium

Mohseni, M., Hamidoghli, A. and Bai, S.C. (2021) Organic and inorganic dietary zinc in beluga sturgeon (*Huso huso*): Effects on growth, hematology, tissue concertation and oxidative capacity. Aquaculture, 539: 736672. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736672/

Morro, B., Doherty, M.K., Balseiro, P., Handeland, S.O., MacKenzie, S., Sveier, H. and Albalat, A. (2020) Plasma proteome profiling of freshwater and seawater life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). PLOS ONE, 15(1): e0227003. Retreived from https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227003/

Nabi, N., Ahmed, I. and Wani, G.B. (2022) Hematological and serum biochemical reference intervals of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* cultured in Himalayan aquaculture: Morphology, morphometrics and quantification of peripheral blood cells. Saudi Journal of Biological Sciences, 29(4): 2942-2957. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.01.019/

Nasr-Eldahan, S., Nabil-Adam, A., Shreadah, M.A., Maher, A.M. and El-Sayed Ali, T. (2021) A review article on nanotechnology in aquaculture sustainability as a novel tool in fish disease control. Aquaculture International, 29(4): 1459-1480. Retreived from https://doi.org/10.1007/s10499-021-00677-7/

NRC. (2011) Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press.

Ogunfowora, L.A., Iwuozor, K.O., Ighalo, J.O. and Igwegbe, C.A. (2021) Trends in the treatment of aquaculture effluents using nanotechnology. Cleaner Materials, 2: 100024. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.clema.2021.100024/

Palmegiano, G.B., Boccignone, M., Forneris, G., Salvo, F., Ziino, M., Signorino, D., Sicuro, B., Gasco, L. and Zoccarato, I. (2000) Effect of feeding level on nutritional quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) flesh. Journal of Agromedicine, 6(4): 69-81. Retreived from https://doi.org/10.1300/J096v06n04_08/

Paripatananont, T. and Lovell, R.T. (1995) Chelated zinc reduces the dietary zinc requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 133(1): 73-82. Retreived from https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00404-C/

Prasad, A.S. (2008) Zinc in human health: effect of zinc on immune cells. Molecular medicine, 14(5-6): 353-357. Retreived from https://doi.org/10.2119/2008-00033.Prasad/

Raa, J. (2019) The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. Avances en Nutrición Acuicola, 0(0). Retreived from https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/264/

pass, flow-through raceway system. Aquaculture Reports, 14: 100194. Retreived from https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100194/

Wellinghausen, N., Martin, M. and Rink, L. (1997) Zinc inhibits interleukin-1-dependent T cell stimulation. European Journal of Immunology, 27(10): 2529-2535. Retreived from https://doi.org/10.1002/eji.1830271010/

=bw&utm_campaign=t12_wk24&utm _content=IRTNTR30663 (Accessed 16 January 2022).

Vikbladh, I. (1950) Studies on zinc in blood. I. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 2(2): 143-148. Retreived from https://doi.org/10.3109/00365515009051850/

Welker, T.L., Overturf, K. and Abernathy, J. (2019) Effect of aeration and oxygenation on growth and survival of rainbow trout in a commercial serial-

Effect of dietary zinc oxide nanoparticle on leukocyte properties of rainbow trout (*Oncorhynchum mykiss*)

Houman Rajabi Islami[1*]

1) Associate Professor, Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[*]Corresponding Author Email Address: rajabi.h@srbiau.ac.ir

Date of Submission: 2023/02/16 Date of Acceptance: 2023/05/30

Abstract

The effect of zinc oxide nanoparticles as a mineral supplement in the diet on the white blood cells of rainbow trout was investigated in this research. Nine hundred specimens of rainbow trout fry (17.22±5.41 g) were randomly distributed in 18 experimental tanks (six treatments each with three replications). The basal diet was prepared without zinc supplementation and used for the negative control group. Other experimental diets were prepared by adding 10, 30, 50, and 70 mg/kg of zinc nanoparticles and 70 mg of zinc sulfate (positive control) to each kg of the basic diet. After two weeks of adaptation, the fish were fed for 8 weeks with the diets corresponding to each experimental treatment. Blood samples were taken from the fish at the end of the experiment to check the number of white blood cells and their differential count. The results showed that nano zinc oxide has a significant effect on the leukocyte count with the highest number of 178,000±22,000 No. mm^{-3} in the fish fed diet supplemented with 50 mg kg^{-1} Nano ZnO, which was significantly more than their number in fish fed with the basic diet ($p<0.05$). Furthermore, fish fed the diet supplemented with 50 mg kg^{-1} Nano ZnO had the highest lymphocyte percentage of 72.21±0.13%, while the lowest percentage of neutrophils was also found in fish fed the diet supplemented with 50 mg kg^{-1} Nano ZnO. However, the actual number of neutrophils in the fish blood in this treatment was 4.5 folds more than those in the negative control group. The findings of the present study showed that zinc in the form of nano oxide has a significant effect on the parameters related to the white blood cells of rainbow trout and has increased the number of leukocytes, the percentage of lymphocytes, and decreased the proportion of neutrophils, which indicate their higher cell-mediated immunity capability.

Keywords: Nano zinc oxide, Rainbow trout, White blood cell.