تغــذیه آبزیــان
سال پنجم، شماره اول،
بهار و تابستان ۱۳۹۸

تأثیر سطوح مختلف مکمل‌های آنتی اکسیدانی ریزپوشانی شده بر عملکرد رشد و تغذیه، ترکیبات بدن و برخی شاخص های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

حسین آدینه[1*]، محمد هرسیج[1]، مهدی اسدی[1]، احسان احمدی‌فر[2]
۱- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، گلستان
۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۲۶

چکیده
این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر سطوح مختلف مکمل آنتی اکسیدانی ریزپوشانی شده (نانوسلنیوم، ویتامین E و C) بر عملکرد رشد، ترکیبات بدن و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام شد. ماهی‌ها با میانگین وزن ۰/۳۶± ۹/۰۷ گرم در ۱۲ مخزن توزیع و به ۴ گروه آزمایشی تقسیم شدند: تیمار ۱ (نانوسلنیوم: ۰/۱، E: ۳۰ و C: ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، تیمار ۲ (نانوسلنیوم: ۰/۲، E: ۶۰ و C: ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، تیمار ۳ (نانوسلنیوم: ۰/۳، E: ۹۰ و C: ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و غذای تجاری به‌عنوان شاهد استفاده شد. نتایج نشان داد افزودن مکمل‌های آنتی اکسیدانی ریزپوشانی شده به رژیم‌های غذایی ماهی منجر به افزایش رشد نهایی، نسبت کارایی پروتئین و چربی شد، در حالی که ضریب تبدیل غذا تفاوت معنی دار آماری نشان نداد. ترکیبات بدن مانند پروتئین و چربی نیز بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>0/05$). فعالیت لیزوزیم و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم در ماهیان تغذیه شده با مکمل غذایی به‌طور معنی‌دار در مقایسه با شاهد افزایش یافت ($p<0/05$). آنزیم آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز افزایش معنی‌داری در تیمار ۳ داشت، در حالی که آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در ماهی تغذیه شده با مکمل‌های آنتی اکسیدانی نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد ($p<0/05$). نتایج حاضر حاکی از اثرات مفید نانوذرات سلنیوم، ویتامین E و C ریزپوشانی شده بر روند رشد و پاسخ ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بود.

واژگان کلیدی: ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، مکمل‌های ریزپوشانی شده، عملکرد رشد و پارامترهای خونی

*نویسنده مسئول: adineh.h@gmail.com

مقدمه

با توجه به اهمیت استفاده از مواد افزودنی در رژیم غذایی آبزیان، تحقیقات با هدف ارزیابی اثرات مصرف مکمل‌های آنتی اکسیدانی بر رشد و سلامت ماهی‌ها در حال افزایش است (Gasco et al. 2018). عناصر ریز مصرف مانند سلنیوم در سوخت و ساز بدن و در ساختمان کاتالیزورها، آنزیم‌ها و هورمون‌ها شرکت می‌کنند و نقش مهمی در سلامت، رشد و باروری حیوانات دارند. سلنیوم به عنوان یک عنصر ضروری از طریق ترکیب با پروتئین به صورت سلنوپروتئین در فرآیند رشد و تغذیه شرکت می‌کند (Wang et al. 2018). کمبود این عنصر بر بسیاری از فرآیندهای سوخت و سازی اثر داشته و منجر به اختلال در سوخت و ساز بدن و در نتیجه، کاهش عملکرد رشد و تغذیه خواهد شد. راه حل رفع کمبود سلنیوم، استفاده و ذخیره این عنصر در بدن از طریق غنی‌سازی مواد غذایی است. رژیم‌های حاوی سلنیوم از طریق کنترل سنتز دیدیناز[1] باعث تنظیم رشد ماهی می‌شوند (Wang et al. 2018). مطالعات بسیاری وجود دارد که ارتباط بین سلنیوم و ویتامین E را در سلامتی حیوان نشان می‌دهد. ویتامین E از ترکیباتی باعنوان آلفاتوکوفورها[2] به‌عنوان یک ماده غذایی ضروری شناخته شده است که نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مانند رشد، تکامل، تولیدمثل، پاسخ ایمنی، استرس اکسیدانی و کیفیت گوشت دارد (Zhao et al. 2018). این ویتامین یک ترکیب آلی هتروسیلیک[3] مشتق از هسته کرومان[4] است. وظیفه برجسته ویتامین E شامل جلوگیری از تحلیل ماهیچه، ساخت پروستاگلاندین‌ها و بهبود پاسخ ایمنی است (Liu et al. 1995). در صورت کمبود این ویتامین دیستروفی ماهیچه‌ای شامل نکروز عضلات سفید، آب آوردگی عضله و بافت‌ها و کم‌خونی (آنمی) رخ می‌دهد. این ویتامین به صورت محلول در چربی غشاهای سلولی و اندامک‌های درون سلـولی بوده و اولین خط دفـاعی بـدن در برابر آسیب‌های وارده به سلول در اثر پراکسیده شدن فسفولیپیدهای غشای سلولی است.

اسید آسکوربیـــک (ویتامین C) به عنـــوان یکی از ضروری‌ترین مواد مغذی است که به عنوان کوفاکتور در واکنش حداقل ۸ آنزیم، از جمله در ساختن کلاژن استفاده می شود (Mc-Dowell, 1989). در ماهیان، این ویتامین در فرآیند بیوشیمیایی ساختن کلاژن (یکی از اجزای اصلی غشاء بافت پیوندی) برای بافت‌های پیوندی شامل غضروف، استخوان و پوست و همچنین تقویت دستگاه ایمنی نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کند (Dabrowski, 2001). ماهیان استخوانی به‌علت کمبود گلونولاکتون اکسیداز که به‌عنوان آنزیم پایانی در ساختن اسید آسکوربیک نقش دارد، همچون دیگر مهره‌داران، قادر به ساختن اسید آسکوربیک نیستند و باید این ماده به غذای آنها اضافه شود. بنابراین، کمبود ویتامین C در جیره غذایی می‌تواند منجر به کاهش رشد، کاهش پاسخ‌های ایمنی، تغییر شکل ستون مهره، تأخیر در بهبود زخم، تضعیف عملکرد دستگاه تولیدمثل، حرکات غیرطبیعی باله، آبشش و چشم‌ها و افزایش پارگی مویرگی شود (Xie and Niu, 2006). میزان نیاز و تأثیرات این ویتامین‌ها بر سلامتی، در گونه‌های مختلف آبزیان متفاوت است و محققان در تحقیقات مختلف، مقادیر متفاوتی برای آن پیشنهاد کرده‌اند (Azad et al. 2007; Lim et al. 2002) که ممکن است تحت تأثیر گونه ماهی، اندازه و فرمول جیره غذایی و روش پرورش قرار گیرد (Ai et al. 2004).

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از مهمترین گونه‌های آزاد ماهیان است که به‌طور طبیعی در آب‌های ساحلی بین جنوب آلاسکا تا جنوب کالیفرنیا زندگی می‌کند. این گونه با ارزش اقتصادی بالا برای پرورش در جهان است و بخش بزرگی از میزان تولید آبزیان را به خود اختصاص می‌دهد. در مزارع پرورش ماهی، بروز بیماری‌های عفونی و باکتریایی، یکی از دلایل عمده کاهش میزان تولید است. از این رو، برای موفقیت در تولید، استفاده از روش‌هایی به‌منظور تقویت فرآیند رشد و ایمنی طبیعی جاندار ضروری به نظر می‌رسد. ویتامین‌ها یکی از اقلام غذایی هستند که از نظر کمی جزء ناچیز، اما از نظر کیفی جزء ضروری و مهم جیره غذایی آبزیان تلقی می‌شوند. بنابراین، هدف این مطالعه، بررسی وضعیت رشد، تغذیه، اجزای ترکیبی تشکیل دهنده لاشه و برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

1 - Deiodinase

۲ - α-tocopherol, α-Toc

۳ - Heterocyclic

۴ - Chromano

تغذیه شده با سطوح مختلف مخلوط نانوسلنیوم، ویتامین E و C ریزپوشانی شده بود.

مواد و روش‌ها

ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزن ۰/۳۶ ± ۹/۰۷ گرم و طول ۰/۱۴ ± ۸/۹ سانتی‌متر از زرین‌گل علی‌آباد استان گلستان تهیه و به آزمایشگاه مهندسی آبزیان دانشگاه گنبد کاووس انتقال یافت. ماهیان به‌مدت ۵ روز دوره سازگاری را در مخازن بتونی ۴۰۰ لیتری سپری کردند. ۲۴۰ ماهی به طور تصادفی در ۱۲ مخزن پلاستیکی با حجم آبگیری ۵۰ لیتر توزیع شدند.

ماهیان در تیمارهای آزمایشی با سطوح مختلف مکمل نانوسلنیوم، ویتامین E و C به‌مدت ۴۵ روز تغذیه شدند. بر اساس مطالعات صورت گرفته، توصیه شده است که سلنیوم به‌میزان ۰/۱۵ تا ۰/۴۰ (Hillton et al. 1980)، ویتامین E ۱۰۰ (Watanabe et al. 1981) و ویتامین C ۳۰۰ (Verlhac et al. 1998) میلی‌گرم در هر کیلوگرم به جیره‌غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان افزوده شود. میزان مصرف مکمل‌ها در تیمارهای مختلف آزمایشی این پژوهش در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱ مقادیر افزودن مکمل‌های آنتی اکسیدانی (بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم غذای پـایه) در جیــره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان.

تیمار/مکمل	نانوسلنیوم[۱]	ویتامین E[۲]	ویتامین C[۳]
شاهد	-	-	-
تیمار ۱	۰/۱	۳۰	۱۰۰
تیمار ۲	۰/۲	۶۰	۲۰۰
تیمار ۳	۰/۳	۹۰	۳۰۰

۱: سطوح مختلف نانوسلنیوم محلول در آب که توانایی نفوذ پذیری بالا به درون سلول را دارند، به فرم محلول کلوئیدی قرمز رنگ، دارای خلوص ۹۹٪، با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم نانوسلنیوم در لیتر آب و اندازه ذرات سلنیوم ۴۰۰ نانومتر بود از شرکت کیمیاگران فردوس مشهد، ایران تهیه شد. ۲: ویتامین E (α-Tocopherol acetate; T3001: oil or semi-solid, ~1360 IU/g, semisynthetic) از شرکت سیگما تهیه شد. ۳: ویتامین C از داروخانه دامپزشکی با نام تجاری (Chemifarma® S.P.A) و مشخصه Via Don E. Servadei, 16-47122 ساخت کشور ایتالیا تهیه شد.

برای انجام فرآیند ریزپوشانی، مواد دیواره‌ای به میزان ۳۰ گرم مالتودکسترین و ۱۰ گرم صمغ عربی با ۶۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای ۸۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد مخلوط و سپس به‌مدت سه دقیقه توسط هوموژنایزر با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه به‌طور کامل همگن شدند. مواد دیواره‌ای به مدت یک شب در بن‌ماری با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای هیدراته شدن نگهداری شدند. سپس، مخلوط نانوسلنیوم، ویتامین‌های E و C به نسبت ۳:۱ با مواد دیواره‌ای به مدت ۳۰ دقیقه برای هر تیمار به صورت مجزا (تیمار ۱، ۲ و ۳) مخلوط شد. برای تیمار شاهد فقط از مواد دیواره بدون مکمل آنتی اکسیدانی استفاده شد (تیمار شاهد). برای خشک کردن انجمادی مکمل‌های ریزپوشانی شده از دستگاه فریز درایر به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد (دسترنج و همکاران، ۱۳۹۳). ماده جامد متخلخل به‌دست آمده برای هر یک از تیمارها در هاون چینی به صورت مجزا خورد شد.

غذای تجاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از شرکت فرادانه (FFT1 و FFT2) به عنوان غذای پایه با ۴۴-۴۰٪ پروتئین خام، ۱۶-۱۲٪ چربی خام، ۴-۲٪ فیبر خام، ۱۱-۷٪ خاکستر، ۱۱-۵٪ رطوبت و ۱/۵-۱٪ فسفر تهیه شد. غذا توسط دستگاه آسیاب و سپس، دوزهای مختلف مکمل‌های مذکور به جیره غذایی افزوده و به حالت خمیری درآورده شد. خمیر تهیه شده از هر تیمار به طور مجزا به‌صورت رشته‌ای درآورده و پس از خشک شدن در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد آون به صورت پلت‌هایی با قطر ۳ میلی‌متر شکل داده شد. جیره‌های غذایی در کیسه‌های زیپ‌دار پلاستیکی بسته‌بندی شماره‌گذاری شده و در دمای یخچال نگهداری

شد. مقدار غذای مصرفی حدود ۳٪ وزن بدن در ۴ نوبت (ساعات ۶، ۱۱، ۱۶ و ۲۱) برای ماهی‌ها استفاده شد.
در پایان دوره آزمایش ماهیان به‌مدت ۲۴ ساعت قطع غذادهی شدند و سپس در محلول ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک بیهوشی ماهیان انجام شد. برای اندازه‌گیری وزن از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و اندازه‌گیری طول با دقت ۱ میلی‌متر از خط‌کش استفاده شد. شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی، ضریب تبدیل غذایی و کارایی تبدیل غذا بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد:

افزایش وزن (WG, g) = میانگین وزن نهایی (گرم)- میانگین وزن اولیه (گرم)
میانگین رشد روزانه (ADG, ٪) = [(وزن نهایی- وزن اولیه)\ مدت‌زمان پرورش] × ۱۰۰
ضریب رشد ویژه (SGR, ٪/day) = [(ln وزن نهایی (گرم)- ln وزن اولیه (گرم)] \ مدت‌زمان پرورش (روز) × ۱۰۰
ضریب چاقی (CF) = [وزن نهایی (گرم) \ توان سوم طول کل ماهی (سانتی‌متر)] × ۱۰۰
ضریب تبدیل غذایی (FCR) = [مقدار غذای مصرف شده (گرم) \ (وزن نهایی (گرم)- وزن اولیه (گرم)]
کارایی تبدیل غذا (FCE, ٪) = [وزن به دست آمده \ مقدار غذای مصرف شده (گرم)] × ۱۰۰
نسبت کارایی پروتئین (PER) = [وزن به دست آمده (گرم) \ مقدار مصرف پروتئین (گرم)]
نسبت کارایی چربی (LER) = [وزن به دست آمده (گرم) \ مقدار مصرف چربی (گرم)]
شاخص کبدی (HSI, %) = [وزن کبد (گرم) \ وزن بدن (گرم)] × ۱۰۰
شاخص احشایی (VSI, %) = [وزن احشاء (گرم) \ وزن بدن (گرم)] × ۱۰۰

برای سنجش شاخص‌های خونی از سیاهرگ ساقه دمی ماهیان خونگیری شد. برای جداسازی سرم، نمونه خون (۳ ماهی از هر تکرار) در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارائه شده توسط Ellis (۱۹۹۰) استفاده شد. به این منظور از لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ (۱ mg/Lysozyme/mL) برای ترسیم منحنی به‌عنوان استاندارد استفاده شد. مقدار ۲۵ میکرولیتر از پلاسما و سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی *Micrococcus lysodeikticus* اضافه شد. با استفاده از دستگاه الایزاریدر جذب نوری اولیه در طول موج نانومتر ۵۳۰ اندازه‌گیری و پس از یک ساعت نگهداری در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. برای سنجش آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز ابتدا در حضور هیدروژن پراکساید (H_2O_2) فرآیند اتواکسیداسیون پیروگالول بررسی شد. در طی این فرآیند از سطح آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز موجود در سرم کاسته شد. سپس سنجش با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر انجام شد (Marklund and Marklund, 1974).

آنزیم‌های کبدی در سرم خون ماهی قزل‌آلا با کیت تشخیص کمی شرکت پارس آزمون به روش فتومتریک بر اساس 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 آمینوترانسفراز (ALT) و آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) انجام شد (Moss and Henderson, 1999).
بعد از ۴۵ روز دوره آزمایش، تعداد ۵ ماهی از هر تکرار به صورت تصادفی برای تعیین میزان تقریبی ترکیبات بیوشیمیایی لاشه به روش آنالیز استاندارد جزء به جزء استفاده شد (AOAC, 1995). میزان پروتئین خام با ضرب محتوای نیتروژن نمونه در ضریب ۶/۲۵ و به روش کلدال اندازه‌گیری شد. میزان چربی با استفاده از روش سوکسله از طریق استخراج چربی توسط اتر اندازه‌گیری شد. ماده خشک لاشه به طور وزنی بعد از انجماد خشک برای مدت ۲۴ ساعت و خاکستر با استفاده از سوزاندن نمونه‌ها در کوره با حرارت ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. میزان فیبر خام از طریق هضم اسیدی و هضم قلیایی محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ توسط نرم‌افزار SPSS-16 استفاده شد. رسم نمودارها در Excel 2010 انجام شد.

نتایج

ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دامنه وزن اولیه ۰/۳۶ ± ۹/۰۷ تا ۰/۴۳ ± ۹/۵۶ گرم و دامنه طول اولیه ۰/۱۴ ± ۸/۹۰ تا ۰/۲۰ ± ۹/۱۳ سانتی‌متر در بین تیمارهای مختلف آزمایشی توزیع و به‌مدت ۴۵ روز با سطوح مختلف آنتی اکسیدان تغذیه شدند که به‌طور کلی عملکرد رشد و تغذیه آنها در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری در پایان دوره آزمایش نشان داد که وزن نهایی بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری دارد، به طوری که بیشترین آن در تیمار ۳ برابر ۳/۶۷ ± ۵۶/۴۰ گرم و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد برابر ۴/۱۵ ± ۴۹/۵۶ گرم به دست آمد (p<۰/۰۵). وزن نهایی بین تیمارهای ۱ و ۲ آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). در همین راستا، افزایش وزن (گرم) و رشد روزانه (٪) بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). نرخ رشد ویژه بین تیمارهای مصرف کننده مکمل‌های آنتی اکسیدانی و تیمار شاهد تفاوت آماری نداشت (p>۰/۰۵). بیشترین مقدار به‌دست آمده نرخ رشد ویژه در تیمار ۳ (۰/۱۷ ± ۴/۰۳ درصد در روز) و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (۰/۱۸ ± ۳/۷۲ درصد در روز) به ثبت رسید. آنالیز آماری ضریب چاقی یا فاکتور وضعیت نشان از عدم اختلاف بین تیمارها بود اما بیشترین آن در تیمار ۲ به میزان ۰/۰۸ ± ۱/۱۳ و کمترین آن در تیمار ۳ به‌میزان ۰/۰۳ ± ۱/۰۸ بود. مقایسه میانگین معیارهایی مانند وزن لاشه، شاخص کبدی و شاخص امعاء و احشاء نشان داد که هیچ اختلاف آماری بین تیمار شاهد و تیمارهای مصرف‌کننده سطوح مختلف مکمل‌های ض آنتی اکسیدانی وجود ندارد (p>۰/۰۵). مهمترین معیار تغذیه‌ای که همان ضریب تبدیل غذایی است، بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. دامنه این معیار بین ۰/۱۳ ± ۱/۰۲ تا ۰/۱۱± ۱/۱۲ بود (جدول ۲). کارایی تبدیل غذا بین شاهد و دیگر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵)، اما بیشترین مقدار عددی این معیار در تیمار ۲ (۱۵/۴۷ ± ۹۹/۱۴) به‌دست آمد. بررسی آماری نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی نشان داد که تنها اختلاف معنی‌دار بین تیمار شاهد و تیمار ۳ وجود دارد (p<۰/۰۵). بیشترین مقادیر به‌دست آمده از این دو معیار در تیمار ۳ آزمایشی به ترتیب برابر ۰/۰۸± ۱/۰۴ و ۰/۲۷± ۳/۴۹ بود.

سنجش تقریبی درصد ترکیبات لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با مخلوط مکمل آنتی اکسیدانی (نانو سلنیوم، ویتامین E و C) میکروانکپسوله در جدول ۳ ارائه شده است. مقدار پروتئین بین تیمارها تفاوت معنی‌دار آماری نداشت (p>۰/۰۵)، اما مقدار آن در تیمارهای آزمایشی مصرف کرده از مکمل آنتی اکسیدانی نسبت به شاهد بیشتر بود. مقدار چربی خام بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). مقادیر به‌دست آمده از معیارهایی چون ماده خشک، الیاف خام و خاکستر بین تیمارهای مختلف تفاوت آماری نداشت (p>۰/۰۵).

نتایج سنجش فعالیت لیزوزیم و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم خون در شکل ۱ نشان داده شده است. فعالیت لیزوزیم بین تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری داشت (p<۰/۰۵). بیشترین و کمترین مقدار این شاخص به ترتیب در تیمارهای ۲ (۱/۹۱ ± ۳۳/۱۹ واحد/میلی‌لیتر /دقیقه) و شاهد (۱/۵۰ ± ۲۲/۹۱ واحد/میلی‌لیتر/دقیقه) به دست آمد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بین تیمارهای مختلف تفاوت داشت، به طوری که بیشترین مقدار این آنزیم در تیمار ۲ برابر ۳ ± ۵۸/۱۶ واحد در میلی‌لیتر و کمترین در تیمار شاهد برابر ۱/۴۷ ± ۴۸/۷۲ واحد در میلی‌لیتر بود.

جدول ۲ مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف آنتی اکسیدانی به مدت ۴۵ روز.

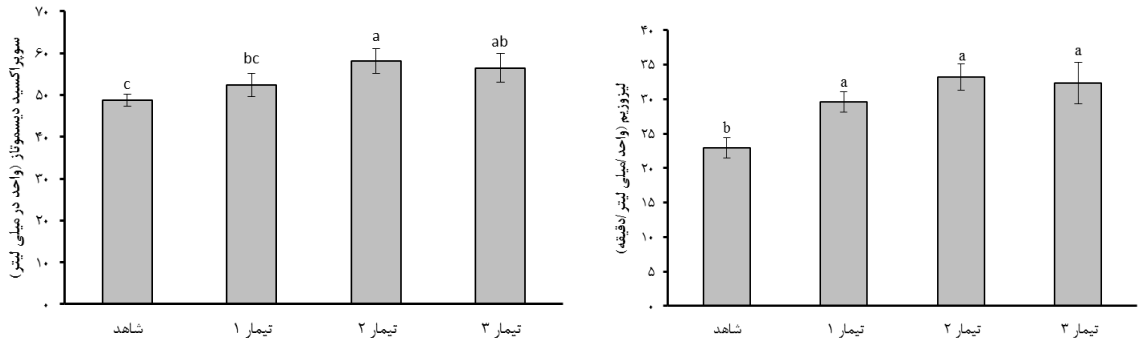
معیارهای رشد و تغذیه	تیمارها			
	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن اولیه (گرم)	۹/۰۷ ± ۰/۳۶	۹/۲۲ ± ۰/۳۹	۹/۵۶ ± ۰/۴۳	۹/۱۷ ± ۰/۲۹
وزن نهایی (گرم)	۴۹/۵۶ ± ۴/۱۵ [b]	۵۳/۴۴ ± ۴/۰۲ [ab]	۵۴/۶۷ ± ۵/۸۷ [ab]	۵۶/۴۰ ± ۳/۶۷ [a]
طول اولیه (سانتی‌متر)	۸/۹۵ ± ۰/۱۸	۸/۹۰ ± ۰/۱۴	۹/۱۳ ± ۰/۲۰	۹/۰۹ ± ۰/۱۱
طول نهایی (سانتی‌متر)	۱۶/۳۵ ± ۰/۶۱	۱۶/۹۵ ± ۰/۷۱	۱۶/۹۲ ± ۰/۹۶	۱۷/۳۰ ± ۰/۴۲
افزایش وزن (گرم)	۳۹/۴۹ ± ۴/۱۵ [b]	۴۴/۲۲ ± ۴/۰۲ [ab]	۴۵/۱۱ ± ۵/۸۷ [ab]	۴۷/۲۳ ± ۳/۷۵ [a]
رشد روزانه (٪)	۹/۶۷ ± ۱/۰۱ [b]	۱۰/۵۶ ± ۰/۹۷ [ab]	۱۰/۴۸ ± ۱/۳۲ [ab]	۱۱/۴۴ ± ۰/۸۹ [a]
نرخ رشد ویژه (٪/day)	۳/۷۲ ± ۰/۱۸	۳/۹۰ ± ۰/۱۴	۳/۸۶ ± ۰/۲۵	۴/۰۳ ± ۰/۱۷
ضریب چاقی	۱/۱۱ ± ۰/۰۵	۱/۰۹ ± ۰/۰۷	۱/۱۳ ± ۰/۰۸	۱/۰۸ ± ۰/۰۳
وزن لاشه	۴۱/۶۴ ± ۳/۹۵	۴۵/۹۶ ± ۲/۸۵	۴۶/۷۲ ± ۵/۳۱	۴۸/۲۸ ± ۳/۸۳
شاخص کبدی (٪)	۱/۴۷ ± ۰/۱۴	۱/۵۴ ± ۰/۱۴	۱/۴۱ ± ۰/۲۲	۱/۴۷ ± ۰/۱۶
شاخص احشائی (٪)	۷/۹۵ ± ۱/۵۵	۷/۵۱ ± ۰/۵۴	۷/۹۷ ± ۰/۹۹	۸/۱۴ ± ۱/۴۲
ضریب تبدیل غذایی	۱/۱۲ ± ۰/۱۱	۱/۱۰ ± ۰/۱۰	۱/۰۲ ± ۰/۱۳	۱/۰۷ ± ۰/۸
کارایی تبدیل غذا	۸۹/۳۳ ± ۸/۹۶	۹۱/۰۳ ± ۸/۴۵	۹۹/۱۴ ± ۱۵/۴۷	۹۳/۵۸ ± ۷/۳۶
نسبت کارایی پروتئین	۰/۸۷ ± ۰/۰۹ [b]	۰/۹۸ ± ۰/۰۸ [ab]	۱/۰۰ ± ۰/۱۳ [ab]	۱/۰۴ ± ۰/۰۸ [a]
نسبت کارایی چربی	۲/۹۲ ± ۰/۳۲ [b]	۳/۲۷ ± ۰/۲۹ [ab]	۳/۳۴ ± ۰/۴۰ [ab]	۳/۴۹ ± ۰/۲۷ [a]

وجود حروف غیرمشابه لاتین در هر ردیف نشان از اختلاف آماری بین تیمارهاست ($p<0/05$).

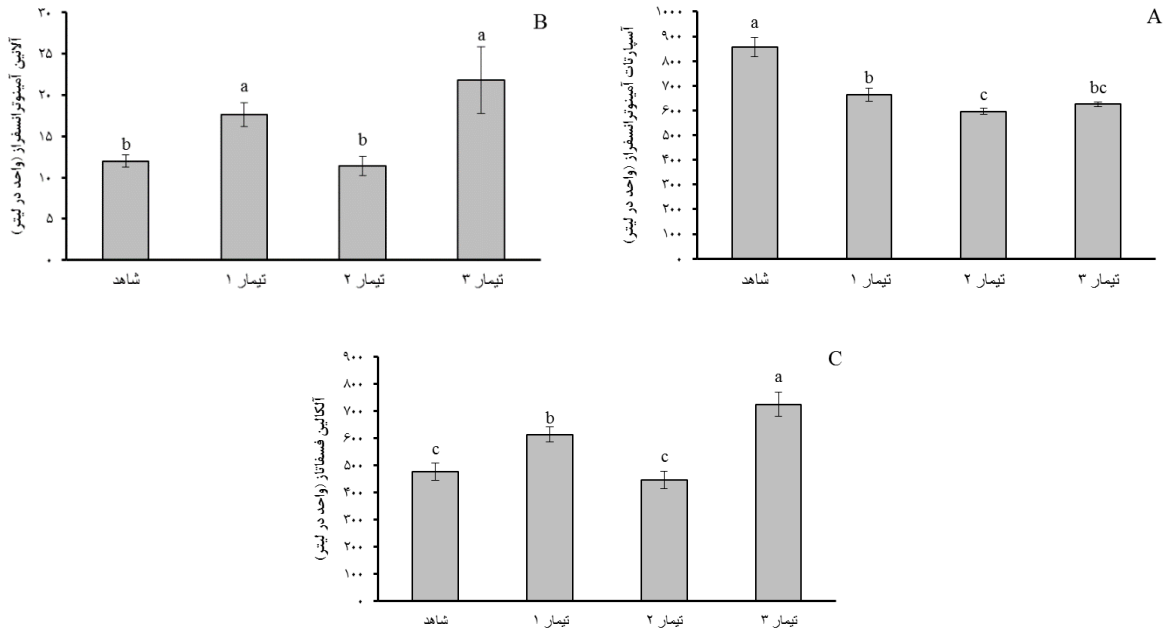
جدول ۳ ترکیبات بیوشیمیایی بدن ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با مکمل آنتی اکسیدانی (نانو سلنیوم، ویتامین های E و C) ریزکپسول دار.

ترکیبات بدن (٪)	تیمارها			
	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
ماده خشک	۲۴/۹۷ ± ۱/۵۴	۲۴/۱۳ ± ۰/۸۵	۲۴/۲۱ ± ۱/۳۶	۲۴/۳۸ ± ۱/۳۴
پروتئین خام	۶۴/۵۷ ± ۱/۱۱	۶۵/۳۱ ± ۰/۹۴	۶۵/۶۰ ± ۲/۰۲	۶۵/۰۹ ± ۰/۷۴
چربی خام	۲۳/۴۴ ± ۰/۴۱	۲۲/۸۶ ± ۱/۰۰	۲۲/۶۳ ± ۰/۹۰	۲۲/۶۸ ± ۰/۵۲
الیاف خام	۰/۵۹ ± ۰/۰۲	۰/۷۸ ± ۰/۲۴	۰/۶۱ ± ۰/۰۲	۰/۷۵ ± ۰/۱۴
خاکستر	۱۰/۹۴ ± ۰/۶۵	۱۰/۴۹ ± ۰/۴۱	۱۰/۱۹ ± ۱/۰۴	۱۰/۶۱ ± ۰/۶۰

وجود حروف غیر مشابه لاتین در هر ردیف نشان از اختلاف آماری بین تیمارهاست ($p<0/05$).



شکل ۱ سنجش فعالیت لیزوزیم و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم خون (میانگین ± انحراف معیار) ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با مکمل‌های آنتی اکسیدانی. وجود حروف غیر مشابه لاتین در هر ردیف نشان از اختلاف آماری بین تیمارهاست (p<۰/۰۵).



شکل ۲ آنالیز آنزیم‌های کبدی (میانگین ± انحراف معیار) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل‌های آنتی اکسیدانی در جیره غذایی. وجود حروف غیر مشابه لاتین در هر ردیف نشان از اختلاف آماری بین تیمارهاست (p<۰/۰۵).

نتایج میانگین‌های به دست آمده از سنجش آنزیم‌های کبدی سرم خون ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل آنتی‌اکسیدانی در شکل ۲ آورده شده است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که میزان آنزیم AST بین شاهد با دیگر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت (p<۰/۰۵). کمترین و بیشترین مقدار این آنزیم در تیمار ۲ و شاهد به‌ترتیب برابر ۱۳/۰۷ ± ۵۹۵/۸۹ و ۳۹/۹۰ ± ۸۵۶/۴۷ واحد در لیتر به‌دست آمد. مقدار آنزیم ALT بین تیمار شاهد و تیمار ۲ تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری مقادیر ALP نشان داد که شاهد با تیمار ۲ تفاوت معنی‌دار ندارد، اما با تیمارهای ۱ و ۳ اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد.

بحث و نتیجه‌گیری

موجودات زنده سیستم‌های محافظت‌کننده‌ای در مقابل واکنش رادیکال‌های آزاد دارند که در این راستا می‌توان به آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی صناعی مانند نانوسلنیوم، ویتامین‌های E و C اشاره کرد. سلنیوم عنصری مهم و کاربردی برای رشد ماهی است که از طریق محافظت ترکیبات زیستی به‌خصوص DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها در برابر رادیکال‌های آزاد ناشی ازسوخت و ساز طبیعی عمل می‌کند (Rider et al. 2009; NRC, 2011). در این مطالعه، وزن نهایی و افزایش وزن بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری داشت، به طوری که میزان این شاخص‌ها در ماهیان تغذیه شده با سطوح بالای آنتی اکسیدان‌ها به طور معنی‌داری بیش از شاهد بود. بیشترین و کمترین مقدار رشد نهایی به ترتیب در تیمارهای ۳ (۳/۶۷ ± ۵۶/۴۰ گرم) و شاهد (۴/۱۵ ± ۴۹/۵۶ گرم) به ثبت رسید. همسو با پژوهش حاضر، استفاده از سطوح مختلف نانوسلنیوم به‌میزان صفر (شاهد)، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم بر شاخص‌های رشد ماهی کاراس طلایی نر (*Carassius auratus gibelio*) نشان داد که با افزایش غلظت نانوسلنیوم میزان رشد افزایش و ضریب تبدیل غذایی کاهش پیدا می‌کند (سیدی و کلباسی، ۱۳۹۶). بر اساس گزارش احمدوند و همکاران (۱۳۹۴)، به‌کارگیری غلظت ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوسلنیوم در جیره ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) باعث افزایش عملکرد رشد شد. در واقع، عملکرد بهتر نانوسلنیوم ممکن است به‌علت اندازه ریز آن، نواحی سطحی بزرگ‌تر، افزایش نفوذپذیری مخاط، بهبود جذب روده‌ای و رسوبات بافتی باشد (Liao et al. 2010). به کارگیری سلنیوم و مس به میزان کافی (به‌ترتیب ۱۱ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) نسبت به مقادیر کم و زیاد این افزودنی‌ها در جیره غذایی فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) باعث افزایش وزن، شاخص رشد ویژه، ضریب چاقی و بهبود ضریب تبدیل غذایی شد (محسنی و ستوده، ۱۳۹۱). همچنین، Safarpour Amlashi و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که با افزایش مقدار سلنیوم از ۱/۲۶ به ۲۰/۲۶ میکروگرم در گرم غذا در فیل‌ماهی جوان، میزان رشد و طول نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد، کارایی تغذیه و نرخ رشد ویژه افزایش می یابد، در حالی که افزایش مقدار مخلوط مکمل های آنتی اکسیدانی بر روی رشد اثرات مثبت اعمال می کند، اما بر کارایی تغذیه مانند ضریب تبدیل غذایی اثر معنی‌دار ندارد. بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانوسلنیوم بر رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که بهترین میزان عملکرد رشد در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم نانوسلنیوم در کیلوگرم غذا به‌دست می‌آید (شبرنگ هرده‌دشت و میرواقفی، ۱۳۹۱).

ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان فیزیولوژیک از طریق غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند. این ویتامین با تأثیر بر بهبود دستگاه ایمنی از طریق تأثیر مستقیم بر روی سلول‌های ایمنی و تأثیر غیرمستقیم بر پارامترهای آندوکرین (درون ریز) و سوخت وسازی سبب تقویت دستگاه ایمنی و افزایش عملکرد رشد و تغذیه می‌شود (Mashaly et al. 2004). گزارش شده است که بکارگیری اسید چرب غیر اشباع EPA و DHA ترکیب یافته با ویتامین E باعث بهبود عملکرد رشد و ایمنی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) شد (Sotoudeh et al. 2016). ارزیابی تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از نانوسلنیوم و ویتامین E به صورت مجزا و ترکیبی به مدت ۶۰ روز نشان داد که مکمل ویتامین E در جیره غذایی به طور قابل توجهی عملکرد رشد و وضعیت سلامتی این گونه را بهبود می‌بخشد (Naderi et al. 2017). در همین راستا گزارش شده که تکمیل جیره پایه با ویتامین E می‌تواند موجب بهبود عملکرد رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان شود که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (Trenzado et al. 2007).

اسید آسکوربیک به‌عنوان آنتی اکسیدانی مهم برای حفاظت لیپیدهای پلاسما و غشای سلولی عمل می‌کند و می‌تواند اکسیدان‌های خارج سلولی ناشی از فعالیت بیگانه خواری را خنثی و از آسیب‌های بافتی پیشگیری کند (Hughes, 1999). مطالعات نشان می‌دهند که اکثر ماهیان استخوانی به دلیل عدم وجود آنزیمی تحت عنوان ال-گلونولاکتون اکسیداز قادر به ساختن ویتامین C از ال-گلوکز نیستند، لذا ضروری است که مقدار مورد نیاز این ویتامین از راه تغذیه خارجی تامین شود. علاوه بر این، مکمل آنتی اکسیدانی ویتامین C و E می‌تواند به صورت برهمکنش عمل کند (Vélez-Alavez et al. 2014)، به طوری که عملکرد اصلی ویتامین C بازیابی ویتامین E در هنگام حضور هر دو ویتامین است (Torres et al. 2002). تأثیر ویتامین C به میزان صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذای پایه بر شاخص‌های خونی و

رشد بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در دو سطح تراکم ۴۰۰ و ۸۰۰ قطعه در مترمربع بررسی شد. نتایج نشان داد که سطح ویتامین C جیره غذایی اثر معنی‌داری بر روی شاخص‌های رشد و همچنین، میزان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز داشته است (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۱).

ترکیبات و اجزای اصلی تشکیل دهنده گوشت ماهی شامل رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر است و میزان این ترکیبات، به عوامل متعددی مانند نوع و ترکیب جیره غذایی، شرایط نگهداری و گونه ماهی بستگی دارد (Safarpour Amlashi et al. 2011). نانوسلنیوم در ذرات نانو با قطر ۲۰ و ۶۰ نانومتر و شکل بی‌قاعده قرمز رنگ بر اساس فناوری نانو از عنصر معدنی سلنیوم ساخته شده است که سمیت کمتر و تأثیر بیوشیمیایی بیشتری نسبت به سلنیوم دارد. Baidya و Shivananda (۲۰۱۵) کارایی رشد و ترکیبات بیوشیمیایی ماهی روهو (*Labeo rohita*) تغذیه شده با مکمل سلنیوم ارگانیک به میزان صفر، ۱، ۲ و ۳ گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ هفته را ارزیابی کردند. بر اساس نتایج، تفاوت معنی‌دار آماری در شاخص-های رشد و همچنین ترکیبات بیوشیمیایی بدن وجود نداشت. همچنین، در مطالعه‌ای افزودن ویتامین E به جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تأثیری بر افزایش رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی و ترکیبات لاشه ماهیان نداشت (فضایی و همکاران، ۱۳۹۱)، در حالی که در تحقیقی دیگر به‌کارگیری مجزای ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E در جیره غذایی باعث بهبود وضعیت ایمنی بچه ماهیان قزل‌آلا در برابر استرس ناشی از تراکم پرورش شد (فضایی و همکاران، ۱۳۹۵). در این دو گزارش، با وجود متفاوت بودن مدل آزمایش، به‌طور کلی مکمل سلنیوم در جیره غذایی ماهی روهو و ویتامین E در جیره قزل‌آلای رنگین-کمان بر ترکیبات لاشه اثر مثبت معنی‌دار نداشت که با نتایج مطالعه حاضر همسو بود. در تحقیقی، میزان پروتئین لاشه در بچه کپورماهیان تغذیه شده با ویتامین E در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روند افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان داد که البته معنی‌دار نبود. افزایش مقدار پروتئین لاشه نشان دهنده راندمان مناسب تغذیه و همچنین، بالا بودن بازده پروتئین، ابقای پروتئین و جذب اسیدهای آمینه است (Genc et al. 2007) که اثبات علمی آن نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی به‌طور عمده در تشخیص وضعیت فیزیولوژیک و تعیین سلامت عمومی ماهی استفاده می‌شود که در این تحقیق می‌توان به وضعیت ایمنی (فعالیت لیزوزیم و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز) و ترشح آنزیم‌های کبدی (AST، ALT و ALP) اشاره کرد. فعالیت لیزوزیم یکی از شاخص‌های مهم ایمنی غیراختصاصی در مهره‌داران محسوب می‌شود که از گرانول‌های گلبول‌های سفید ترشح می‌شود (Sheikhzadeh, 2013). همچنین، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شاخصی برای اندازه‌گیری شرایط عملکردی دستگاه آنتی اکسیدانی بدن است (Chen et al. 2015) که نقش مهمی در عملکرد دستگاه ایمنی بدن دارد (Lu et al. 2016). در مطالعه حاضر، بیشترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و فعالیت لیزوزیم در تیمارهای مصرف‌کننده مکمل آنتی اکسیدانی مشاهده شد و کمترین مقدار این شاخص‌ها در تیمار شاهد به‌دست آمد. در این راستا گزارش شده است که استفاده از ویتامین E و سلنیوم، عصاره‌های مرزنجوش (*Origanum* spp.) و زنیان (*Trachyspermum ammi*) به میزان ۱٪ جیره غذایی ماهی قزل‌آلای انگشت‌قد باعث بهبود وضعیت رشد و فعالیت لیزوزیم می‌شود (Ali et al. 2018). مطالعه اثر مکمل‌های ویتامین E سلنیوم و C بر فعالیت دفاع آنتی اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مواجهه با غلظت تحت حاد دیازینون نشان از افزایش دفاع آنتی اکسیدانی و کاهش آسیب‌های اکسایشی بود (علی و همکاران، ۱۳۹۳). سنجش آنزیم‌های کبدی به‌عنوان شاخص آزمایشگاهی استاندارد، برای بررسی اختلالات کبدی در موجودات استفاده می‌شود (Parma et al. 2007). افزایش تراوش‌پذیری سلول‌های کبدی آسیب دیده موجب ترشح این آنزیم‌ها به داخل خون می‌شود (Suárez et al. 2015). در مطالعه حاضر، در تیمارهای تغذیه شده با آنتی اکسیدان، فعالیت آنزیم AST به‌طور معنی‌دار کمتر از شاهد بود. همچنین، مقادیر ALT و ALP در گروه شاهد با تیمار ۲ تفاوت معنی‌دار نداشت. بنابراین، سطوح متوسط این مکمل‌ها بر وضعیت سلامت ماهی قزل آلای رنگین کمان اثرات مثبت دارد. Liu و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی هشت سطح استفاده از سلنیوم در جیره غذایی ماهی آمور

(*Ctenopharyngodon idellus*) بر عملکرد رشد و فعالیت سرمی گزارش دادند که با افزایش مقدار سلنیوم در جیره غذایی، مقادیر AST و ALT سرم خون کاهش می‌یابد. استفاده از مقادیر مختلف ۱۳ (جیره پایه)، ۵۲، ۷۹، ۱۶۸ و ۳۲۶ میلی‌گرم ویتامین E در یک کیلوگرم غذای ماهی (*Channa argus* × *Channa maculata*) باعث بهبود کارایی رشد و ایمنی غیراختصاصی شد، به طوری که مقدار AST و ALT با افزایش مقادیر این ویتامین کاهش یافت (Zhao et al. 2018).

نتیجه‌گیری کلی

در سال‌های اخیر استفاده از مکمل‌های آنتی اکسیدانی به عنوان یک محافظت‌کننده مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است. به‌طور کلی نتایج نشان داد که افزودن نانوسلنیوم، ویتامین E و C میکروانکپسوله در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش رشد و تقویت ایمنی شد.

منابع

احمدوند، ش.، کرامت امیرکلایی، ع.، اورجی، ح.، احمدوند، ش. ۱۳۹۴. بررسی اثرات نانوذرات سلنیوم (Nano-Se) در مقایسه با سلنیوم آلی (Selemax) بر عملکرد شاخص های رشد کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*). فصلنامه محیط زیست جانوری ۷: ۱۹۶-۱۸۹.

دسترنج، ع.، خزایی، م.، کاظمی، م.، فلاح، س.، عادلی، ب. ۱۳۹۳. ارزیابی روش‌های اصلاحی برآورد رسوب معلق (مطالعه موردی: حوزه آبخیز بشار). مجله پژوهش‌های فرسایش محیطی ۴: ۵۷-۴۷.

رحیمی، م.، سوداگر، م.، اورجی، ح.، حسینی، س. ع.، تقی‌زاده، و. ۱۳۹۱. تاثیر ویتامین C بر پارامترهای خونی، رشد و پاسخ به استرس دمایی در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله تحقیقات دامپزشکی ۶۷: ۳۸۶-۳۷۳.

سیدی، ج.، کلباسی، م.ر. ۱۳۹۶. تاثیر سطوح مختلف نانوسلنیوم جیره بر شاخص‌های رشد، کیفیت گناد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای سیمنال ماهی کاراس طلایی نر (*Carassius auratus gibelio*). مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان ۵: ۸۱-۶۷.

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

علی، م.، میرواقفی، ع.ر.، پورباقر، ه.، اسدی جمنانی، ف. ۱۳۹۳. مطالعه اثر مکمل های ویتامین E سلنیوم و C بر فعالیت دفاع آنتی اکسیدانی و شاخص پراکسیداسیون لیپید قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با غلظت تحت حاد دیازینون. نشریه پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی ۲: ۹۲-۷۵.

فضایی، ز.، سجادی، م.م.، سوری نژاد، ا. ۱۳۹۵. اثر تغذیه با جیره های حاوی ویتامین‌های C و E بر غلبه بر استرس ناشی از تراکم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله تغذیه آبزیان ۲: ۵۹-۴۹.

فضایی، ز.، سجادی، م.م.، سوری نژاد، ا.، اسعدی، ر. ۱۳۹۱. اثر پرورش در تراکم‌های مختلف و افزودن ویتامین E به جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، بقاء و ترکیبات لاشه بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بوم شناسی آبزیان ۲ :۵۵-۴۴.

محسنی، م.، ستوده، ا.م. ۱۳۹۱. اثر سطوح مختلف سلنیوم جیره غذایی بر روند رشد و استرس اکسیداتیو بچه فیل‌ماهی پرورشی (*Huso huso*) تغذیه شده با سطوح بالای مس. مجله علمی شیلات ایران ۲۱: ۱۱۴-۱۰۵.

Ai, Q.H., Mai, K.S., Zhang, C.X., Xu, W., Duan, Q.Y., Tan, B.P., Liufu, Z.G. 2004. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese Seabass *(Lateolabrax japonicas).* Aquaculture 242: 489-500.

Ali, M., Soltanian, S., Akbary, P., Gholamhosseini, A. 2018. Growth performance and lysozyme activity of rainbow trout fingerlings fed with vitamin E and selenium, marjoram (*Origanum* spp.), and ajwain (*Trachyspermum ammi*) extracts. Journal of Applied Animal Research 46: 650-660.

AOAC., 1995. Official methods of analysis of Official Analytical Chemists International. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, 1230 p.

Azad, I.S., Dayal, J.S., Poornia, M., Ali, S.A. 2007. Supra dietary level of vitamins C and

E enhance antibody production and immune memory in juvenile milkfish, *Chanos chanos* to formalin-killed *Vibrio vulnificus*. Fish and Shellfish Immunology 23: 154-163.

Chen, Y.J., Yuan, R.M., Liu, Y.J., Yang, H.J., Liang, G.Y., Tian, L.X. 2015. Dietary vitamin C requirement and its effects on tissue antioxidant capacity of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. Aquaculture 435: 431-436.

Dabrowski, K. 2001. Ascorbic acid in aquatic organisms Status and Perspectives. CRC Press, Florida, US. 280 p.

Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel, publication. W.B. (eds.). Techniques in Fish Immunology. Fair Haven, NJ, USA: SOS, 303p.

Gasco, L., Gai, F., Maricchiolo, G., Genovese, L., Ragonese, S., Bottari, T., Caruso, G. 2018. Supplementation of vitamins, minerals, enzymes and antioxidants in fish feeds. In: Feeds for the Aquaculture Sector, Springer Briefs in Molecular Science. Springer, Cham, 103.

Genc, M.A., Aktas, M., Genc, E., Yilmaz, E. 2007. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus*. Aquaculture Nutrition 13: 156-161.

Hillton J.W., Hodson P.V., Slinger S.J. 1980. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). The Journal of Nutrition 110: 2527-2535.

Hughes, D.A. 1999. Effects of dietary antioxidants on the immune function of middleaged adults. Proceedings of the Nutrition Society 58: 79-84.

Liao, C.D., Hung, W.L., Jank, K.C., Yeh, A.I., Ho, C.T., Hwang, L.S. 2010. Nano sub-microsized lignin glycosides from sesame meal exhibit higher transport and absorption efficiency in Caco-2 cell monolayer. Food Chemistry 119: 896-902.

Lim, L.C., Dhert, P., Chew, W.Y., Dermaux, V., Nelis, H. Sorgeloos, P. 2002. Enhancement of stress resistance of the guppy (*Poecilia reticulate*) through feeding with vitamin C supplement. Journal of the World Aquaculture Society 33: 32-40.

Liu, L.W., Liang, X.F., Li, J., Fang, J.G., Yuan, X.C., Li, J., Alam, M.S. 2018. Effects of dietary selenium on growth performance and oxidative stress in juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idellus*. Aquaculture Nutrition 24: 1296-1303.

Liu, Q., Lanari, M.C. Schaefer, D.M. 1995. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. Journal of Animal Science 73: 3131-3140.

Lu, Y., Liang, X.P., Jin, M., Sun, P., Ma, H.N., Yuan, Y., Zhou, Q.C. 2016. Effects of dietary vitamin E on the growth performance, antioxidant status and innate immune response in juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Aquaculture 464: 609-617.

Marklund, S., Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxyde anion radical in the auto oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxyde dismutase. European Journal of Biochemistry 47: 469-474.

Mashaly, M.M., Hendricks, G.L., Kalama, M.A., Gehad, A.E., Abbas, A.O., Patterson, P.H. 2004. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. Poultry Science 83: 889- 894.

Mc-Dowell, L.R., 1989. Vitamins in Animal Nutrition. Academic Press, San Diego, 486 p.

Moss, D.W., Henderson, A.R. 1999. Clinical enzymology. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Eds.), Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3ed. W.B Saunders Company, Philadelphia, 617-721.

Naderi, M., Keyvanshokooh, S., Salati, A.P., Ghaedi, A. 2017. Combined or individual effects of dietary vitamin E and selenium nanoparticles on humoral immune status and serum parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under high stocking density. Aquaculture 474: 40-47.

NRC, 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academy Press, Washington, 392p.

Parma, M.J., Loteste. A., Campana, M., Bacchetta, C. 2007. Changes of hematological parameters in *Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae) exposed to sublethal concentration of cypermethrin. Journal of Environmental Biology 28: 147-149.

Rider, S., Davies, S., Jha, A., Fisher, A., Knight, J., Sweetman, J. 2009. Supra-nutritional dietary intake of selenite and selenium yeast in normal and stressed

rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Implications on selenium status and health responses. Aquaculture 295: 282-291.

Safarpour Amlashi, A., Falahatkar, B., Sattari, M., Tolouei Gilani, M.H. 2011. Effect of dietary vitamin E on growth, muscle composition, hematological and immunological parameters of sub-yearling beluga *Huso huso*. Fish and Shellfish Immunology 30: 807-814.

Sheikhzadeh, N. 2013. Influence of dietary vegetable crops on Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immune system and growth performance, Acta Scientiae Veterinariae 41: 1109.

Sotoudeh, E., Abedian Kenari, A., Khodabandeh, S., Khajeh, K. 2016. Combination effects of dietary EPA and DHA plus alpha-tocopherol: effects on performance and physiological status of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) fry. Aquaculture Nutrition 22: 1101-1115.

Suárez, M.D., Trenzado, C.E., García-Gallego, M., Furné, M., García-Mesa, S., Domezain, A., Sanz, A. 2015. Interaction of dietary energy levels and culture density on growth performance and metabolic and oxidative status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquacultural Engineering 67: 59-66.

Torres, M., Márquez, M., Sutil de Naranjo, R., de Yépez, C., Leal de García, M., Muñoz, M., Gómez, M.E. 2002. Aspectos farmacológicos relevantes de las vitaminas antioxidantes (E, A and C). Archivos Venezolanos de Farmacología and Terapéutica 21: 22-27.

Trenzado, C.E., de la Higuera, M., Morales, A.E. 2007. Influence of dietary vitamins E and C and HUFA on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance under crowding conditions. Aquaculture 263: 249-258.

Vélez-Alavez, M., Méndez-Rodriguez, L.C., De Anda Montañez, J.A., Mejía, C.H., Galván-Magaña, F., Zenteno-Savín, T. 2014. Vitamins C and E concentrations in muscle of elasmobranch and teleost fishes. Comparative Biochemistry and Physiology 170A: 26-30.

Verlhac V., Obach A., Gabaudan J., Schüep W., Hole R. 1998. Immunomodulation by dietary vitamin C and Glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology 8: 409-424.

Wang, L., Zhang, X., Wu, L., Liu, Q., Zhang, D., Yin, J. 2018. Expression of selenoprotein genes in muscle is crucial for the growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets supplemented with selenium yeast. Aquaculture 492: 82-90.

Watanabe, T., Takeuchi, T., Wada, M. 1981. Dietary lipid levels and a-tocopherol requirement of carp. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 47: 1585-1590.

Xie, Z., Niu, C. 2006. Dietary ascorbic acid requirement of juvenile ayu *(Plecoglossus altivelis)*. Aquaculture Nutrition 12: 151-156.

Zhao, H., Ma, H.J., Gao, S.N., Chen, X.R., Chen, Y.J., Zhao, P.F., Lin, S.M. 2018. Evaluation of dietary vitamin E supplementation on growth performance and antioxidant status in hybrid snakehead (*Channa argus* × *Channa maculata*). Aquaculture Nutrition 24: 625-632.

Effects of different levels of microencapsulated antioxidant supplementation on growth and feed performances, body composition and some blood indices in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*

Hossein Adineh*[1], Mohammad Harsij[1], Mehdi Asadi[1], Ehsan Ahmadifar[2]
1- Department of Fisheries, Faculty of Agriculture Sciences and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Golestan, Iran
2- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Sistan & Baluchistan, Iran

Received 23 April 2019; accepted 17 August 2019

Abstract
This study aimed to evaluate the effects of different levels of microencapsulated antioxidant supplementation (Nano-selenium, Vitamins E and C) on growth performance, body composition and some blood biochemical indices in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish with an average weight of 9.07 ± 0.36 g were distributed into 12 tanks and divided into four experimental groups: treatment 1 (N-Se; 0.1, E; 30 and C; 100 mg/kg), treatment 2 (N-Se; 0.2, E; 60 and C; 200 mg/kg), treatment 3 (N-Se; 0.3, E; 90 and C; 300 mg/kg) and commercial diet as control. The results exhibited that the fish fed with diets containing additional microencapsulated antioxidant supplementation induced higher final growth, weight gain, the protein and lipid efficiency ratios, while had no different in feed conversion ratio. The body composition such as protein and lipid did not exhibit significant differences between the treatments. The serum lysozyme activity and superoxide dismutase enzyme were significantly elevated in fish fed with supplemented diet compared to the control. The alanine aminotransferase and alkaline phosphatase significantly increased in the three treatments whereas aspartate aminotransferase reduced in fish fed with antioxidant supplementation compared to the control. The present results indicated the beneficent effects of microencapsulated Nano Se and vitamins E and C on growth rate and immune response in rainbow trout.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, Microencapsulated supplementation, Growth performance, Blood indices

Corresponding author: adineh.h@gmail.com