



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 7, No. 1, 2021, pages: 43-56



The effects of a mixture of nano selenium, vitamin C and E on growth indices, liver enzymes and nonspecific immune response in juvenile *Huso huso*

Tooraj Sohrabi¹, MirHamed Sayed Hassani*¹, Ali Hossein Pour Zelti¹, Hossein Adineh²

1- International Caspian Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Guilan, Iran

2- Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Golestan, Iran

Received 31 October 2020

Accepted 01 March 2021

KEYWORDS

Huso huso

Nanoselenium

Vitamin C and E

Growth indices

Immune system

Liver enzymes

ABSTRACT

In this study, the effects of mixture of dietary nano-selenium, vitamin C and E on growth indices, liver enzymes and nonspecific immune response of juvenile *Huso huso* were investigated. One hundred and twenty individuals juvenile *Huso huso* with average weight of 77.77 ± 2.3 g were fed with four diets including treatment A (T_A by adding 0.1, 30 and 100 mg/kg), treatment B (T_B by 0.2, 60 and 200 mg/kg), treatment C (T_C by 0.3, 90 and 300 mg/kg) and control group (without adding nano-selenium, vitamin C and E) for 10 weeks. At the end of the rearing period, blood samples were taken from fish to evaluate liver enzymes and immune system indices. No significant differences were observed in growth indices, feed conversion ratio and protein efficiency ratio ($p > 0.05$). The lowest activities of ALT and AST were found in T_A and T_B ($p > 0.05$). However, IgM and ACH₅₀ levels were significantly higher in T_B and T_A than in control group, respectively ($p < 0.05$). The results of this study indicated that the addition of a mixture of nano-selenium, vitamin C and E in T_A and T_B enhanced nonspecific immune system in juvenile *Huso huso*.

*Corresponding author: mirhamedhassani@yahoo.com



"مقاله پژوهشی"

تأثیر مخلوطی از نانو سلنیوم، ویتامین‌های C و E جیره بر شاخص‌های رشد، آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های دستگاه ایمنی غیر اختصاصی فیل ماهی (*Huso huso*) جوان

تورج سهرابی^۱، میر حامد سید حسنی^{۱*}، علی حسین پور زلتی^۱، حسین آدینه^۲

۱- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، گیلان

۲- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، گلستان

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۱۰

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۱۱

کلمات کلیدی

چکیده

در این تحقیق تأثیر مخلوطی از ریزمغذی‌های نانوسلنیوم، ویتامین‌های C و E جیره بر شاخص‌های رشد، آنزیم‌های کبدی و دستگاه ایمنی غیر اختصاصی فیل ماهی (*Huso huso*) جوان بررسی شد. به این منظور، تعداد ۱۲۰ عدد بچه فیل ماهی با میانگین وزن $2/3 \pm 77/77$ گرم به مدت ۱۰ هفته با چهار جیره شامل تیمار A (به ترتیب حاوی ۰/۱، ۳۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوسلنیوم، ویتامین‌های C و E)، تیمار B (حاوی ۰/۲، ۶۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و تیمار C (حاوی ۰/۳، ۹۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و جیره شاهد (فاقد مکمل‌های مذکور) تغذیه شدند. در پایان دوره پرورش برای بررسی آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های دستگاه ایمنی از ماهیان نمونه خون تهیه شد. اختلاف معنی‌داری در رشد، ضریب تبدیل غذایی و نسبت بازده پروتئین ماهیان مشاهده نشد ($p > 0/05$). کمترین فعالیت ALT و AST در ماهیان تغذیه‌شده با تیمارهای A و B بود ($p > 0/05$). مقادیر ایمونوگلوبولین IgM و کمپلمان ACH50 به ترتیب در تیمارهای B و A به‌طور معنی‌داری از جیره شاهد بیشتر بود ($p < 0/05$). نتایج نشان داد که افزودن مخلوطی از ریزمغذی‌های نانوسلنیوم، ویتامین‌های C و E در سطوح ۰/۱، ۳۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و همچنین، ۰/۲، ۶۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (تیمارهای A و B) موجب بهبود شاخص‌های دستگاه ایمنی غیر اختصاصی در فیل ماهی جوان می‌شود.

مقدمه

در سال ۱۳۹۷، بیش از ۱۱۶ مزرعه در بیش از ۲۱ استان کشور با ظرفیت تولید ۶۳۳۲ تن گوشت و بیش از ۹۵ تن خاویار در حال فعالیت بوده‌اند (عبدالحی و کرمی‌راد، ۱۳۹۷). در این مزارع گونه‌های اصلی پرورشی فیلماهی و تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) بودند که عمدتاً در حوضچه‌های بتونی در تراکم بالا پرورش می‌یافتند (Kalbassi et al. 2012). تراکم به دلیل اثرگذاری بر واکنش‌های فیزیولوژیک و رفتاری ماهیان بر شاخص‌های رشد، وضعیت تغذیه و عملکرد دستگاه ایمنی آنها تأثیرگذار است و موجب کاهش تولید در واحد سطح می‌شود (Montero et al. 1999; Ellis et al. 2002; North et al. 2016; Yarahmadi et al. 2006). بنابراین، در کنار مدیریت قوی و بهینه سازی آب مصرفی (حسین‌پور و همکاران، ۱۳۹۹) و شرایط مناسب پرورش، غذادهی با جیره‌های مناسب همراه با ترکیبات ارزان و دارای ریز مغذی‌های کارآمد برای تولید تجاری و بهینه تاسماهیان ضروری است (Hung and Lutes, 1987). در حال حاضر، متخصصان تغذیه در بسیاری از نقاط جهان، برای افزایش تولید و کاهش اثرات عوامل استرس‌زای محیطی بر ماهیان پرورشی اقدام به الحاق بعضی مواد معدنی و ویتامین و یا عناصر فلزی خاص (Adenieh et al. 2020) به جیره غذایی می‌کنند. در این میان، شبه فلز سلنیوم و ویتامین‌های C و E از اهمیت خاصی برخوردار هستند (Küçükbay et al. 2009)

سلنیوم یک عنصر ریزمغذی ضروری در انسان، حیوان و ماهی محسوب می‌شود. این فلز جزء اصلی ساختمان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بوده و نقش حفاظت از سلول و غشاء در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد را از طریق تشکیل سلنوپروتئین‌ها مانند گلوتاتیون پراکسیداز و تیوردوکسین ردوکتاز (Miezeliene et al. 2011) بازی می‌کند. این ماده نقش مهمی در فرآیندهای دستگاه ایمنی و غدد درون‌ریز دارد (Khan et al. 2017). از آنجا که در جیره‌های غذایی مبتنی بر پودر ماهی و پروتئین‌های گیاهی و جانوری پرورشی، سلنیوم به حد کافی وجود ندارد (Rider et al. 2009; NRC, 2012)، اضافه‌کردن سلنیوم در

اشکال مختلف به جیره غذایی ماهیان مختلف توصیه می‌شود (Lorentzo et al. 1994; Wang and Lovell, 1997). نانوذر سلنیوم فرم جدیدی از سلنیوم است که به دلیل دسترسی زیستی بالاتر و سمیت نسبتاً کمتر در مقایسه با دیگر اشکال سلنیوم، توجه محققان را به خود جلب کرده است (Wang et al. 2013). تأثیرات مثبت سلنیوم در افزایش رشد و فعالیت دستگاه ایمنی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Ashouri et al. 2015)، رنگین‌کمان (*Carassius auratus gibelio*) (Han et al. 2011)، دورگه باس طلائی (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) (Jaramilo et al. 2009)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Kucukbay et al. 2009) و ماهی دم‌زرد (*Seriola lalandi*) (Le et al. 2014) گزارش شده است. ویتامین C (اسید اسکوربیک) یک ضد اکسایش محلول در آب است که توان مهار رادیکال‌های آزاد دخیل در هیدروکسیله کردن پرولین و لیزین را دارد (Dabrowski, 2001) و برای تولید کلاژن و ساخت ماتریکس استخوان مورد نیاز است (Dabrowski et al. 2004). بر پایه مطالعات Trichet (۲۰۱۰) شاخص‌های پاسخ ایمنی توسط سطوح ویتامین C بسیار بالاتر از نیازهای فیزیولوژیک بدن تحریک می‌شود و موجود را در برابر افزایش استرس حفاظت می‌کند. مطالعات Khara و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که افزایش ویتامین C در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش تحریک پاسخ‌های ایمنی، فعالیت سلول‌های بیگانه خوار (ماکروفاژ)، تکثیر سلولی، فعالیت کمپلمان، لایزوزیم، فعالیت بیگانه‌خواری گلبول‌های سفید و تولید سایتوکینین و آنتی‌بادی می‌شود. اگرچه گزارش‌هایی در دست است که بعضی از گونه‌های ماهیان خاویاری مانند تاسماهی سبیری قادر به تولید اسید اسکوربیک از طریق L-gulono-1,4-lactone هستند (Moreau et al. 1996)، اما مطالعات Falahatkar و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که توانایی تولید این ویتامین در ماهیان خاویاری، در شرایط پرورش مصنوعی کافی نیست و به‌خصوص باید در مراحل اولیه زندگی به جیره غذایی اضافه شود.

دارای ۴۴-۳۶٪ پروتئین، ۱/۵٪ فیبر خام، ۱۶-۱۲٪ چربی خام، ۱۰-۷٪ خاکستر، ۱۱-۶٪ رطوبت و ۱/۵-۱٪ فسفر استفاده شد. یک قسمت از جیره یاد شده به عنوان جیره شاهد در نظر گرفته شد و به آن مکمل اضافه نشد. قسمت شاهد و سه قسمت دیگر توسط دستگاه آسیاب (Damico, Tehran, Iran) آسیاب شدند. نانوسلنیوم، ویتامین‌های C و E در دوزهای ۰/۱، ۳۰، ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم (تیمار A)، ۰/۲، ۶۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم (تیمار B) و ۰/۳، ۹۰ و ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم (تیمار C) به ترتیب در ۵ میلی لیتر روغن آفتابگردان، ۱۰۰ و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر جداگانه حل شد. سه محلول حاصل در یک بشر یک لیتری ریخته، و به سه دسته غذایی آسیاب شده افزاشده شد (آدینه و همکاران، ۱۳۹۸). خمیر غذایی تهیه شده از هر تیمار از چرخ گوشت صنعتی (Pars Esfahan, GM32, Esfahan, Iran) با قطر صفحه ۳ میلی متر عبور و به صورت رشته‌های بیرون آمد. پلت‌های خارج شده از چرخ گوشت روی سینی‌های توری گسترده و با یک فن با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک (Hardy and Barrows, 2002)، بسته‌بندی، شماره‌گذاری و در فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف، نگهداری شد.

تغذیه و پرورش ماهیان

تعداد ۱۲۰ عدد بچه فیل ماهی با متوسط وزن $2/3 \pm$ گرم در بخش آبی‌پروری موسسه تحقیقات تاسماهیان دریای خزر (رشت، گیلان) در مخازن فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری با مشخصات قطر ۱۰۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۵۱ سانتی‌متر پرورش یافتند. دبی آب ورودی به هر مخزن پرورش (مخلوطی از آب چاه و آب رودخانه سفیدرود) $4/75$ لیتر در دقیقه بود. ماهیان با جیره‌های آزمایشی به میزان ۲٪ وزن بدن در ساعات ۸، ۱۵ و ۲۱ به مدت ۱۰ هفته تغذیه شدند. دوره نوری شامل ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی بود. میانگین دما، اکسیژن و pH در طی دوره پرورش به ترتیب $0/53 \pm 24/90$ درجه سانتی‌گراد، $0/21 \pm 6/90$ میلی‌گرم در لیتر و $7/92 \pm 0/09$ بود. برای ارزیابی میزان رشد و تعیین زی‌توده هر مخزن، زیست‌سنجی در فواصل ۱۵ روزه انجام شد (Luo et al. 2010). در پایان

ویتامین E یک ترکیب ضداکسایش فیزیولوژیک قوی است که از طریق غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد موجب جلوگیری از اکسایش اسیدهای چرب می‌شود و علاوه بر نقش‌های ضداکسایشی و ضد پراکسیده شدن سلولی (Hamre, Zhou et al. 2011)، نقش مهمی در سلامت و رشد ماهیان (Zhou et al. 2013) از طریق بهبود پاسخ‌های ایمنی بدن (Trushenski and Kohler, 2008) دارد. سطوح مناسب ویتامین E در جیره غذایی آبزیان موجب بهبود کیفیت لاشه (Zanon et al. 2018)، ترکیب اسیدهای چرب آلی (Chen et al. 2018) و ایمنی (Lu et al. 2016) می‌شود، اما در کنار تأثیرات مثبت نانوسلنیوم، ویتامین‌های C و E بر شاخص‌های رشد و دستگاه ایمنی بدن ماهیان، گزارش‌های متعددی از اثرات هم‌افزایی و فرآیندهای این عناصر در دست است. مطالعات انجام‌شده در قزل‌آلای رنگین‌کمان در باره تغذیه این گونه با ترکیبی از نانوسلنیوم و ویتامین C (Naderi et al. 2001)، نانوسلنیوم و ویتامین E (Ortuno et al. 2001) و اثرات ترکیبی نانوسلنیوم، ویتامین‌های C و E در گونه تیلاپیای نیل (*Tilapia niloticus*) (Dawood et al. 2020) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (Harsij et al. 2020) حاکی از افزایش رشد و ارتقای شاخص‌های ایمنی بود. در صورتی که اطلاعاتی در مورد اثرات هم‌افزایی نانوسلنیوم، ویتامین‌های C و E بر شاخص‌های رشد، آنزیم‌های کبدی و دستگاه ایمنی فیل‌ماهی در دست نیست. هدف از این پژوهش بررسی سطوح مختلف مخلوط ریزمغذی‌های نانوسلنیوم، ویتامین‌های C و E بر شاخص‌های رشد، آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های دستگاه ایمنی غیراختصاصی فیل‌ماهی جوان بود.

مواد و روش‌ها

تهیه جیره آزمایشی حاوی ریزمغذی ضداکسایشی

نانوسلنیوم با خلوص ۹۹/۹۹٪، اندازه ذره ۵۰-۳۰ نانومتر از شرکت پیشگامان نانو مواد، خراسان، ایران، ویتامین E (آلفا توکوفرول) با خلوص ۹۹٪ از شرکت (Laid, England) و ویتامین C (اسکوربات پلی‌فسفات) از شرکت امید پارسا (دموند، ایران) تهیه شد. برای تغذیه ماهیان از جیره تجاری ماهیان خاویاری شرکت فرادانه (GFS1) به عنوان غذای پایه

دوره تغذیه ماهیان با جیره‌های آزمایشی، با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری آغشته به هپارین از ۳۰٪ جمعیت ماهیان (۳ عدد ماهی از هر مخزن) نمونه خون تهیه شد. به منظور تهیه پلاسما نمونه‌های خون با دور ۳۰۰۰ g و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Labfuge 200, Frankfort, Germany) (کازمی و همکاران، ۱۳۸۹) و سپس به آزمایشگاه منتقل شدند.

روش‌های آزمایشگاهی

برای ارزیابی میزان کلی ایمونوگلوبولین سرم از روش رسوب با سولفات روی استفاده شد. ابتدا بافر ۰/۷ میلی‌مول سولفات روی تهیه، و pH آن به ۵/۸ رسانده شد. سپس، در ریزلوله‌های استریل ۱۲/۵ میکرولیتر از سرم‌های زمان‌های صفر، ۳۰ و ۶۰ به صورت جداگانه ریخته شد و ۸۵۰ میکرولیتر از سولفات روی به هر ریزلوله اضافه و به خوبی مخلوط شدند. بعد از ۲ ساعت قرار گرفتن در دمای اتاق، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول بالا در پلیت ۹۶ خانه‌ای الیزا ریخته و در طول موج ۵۹۰ نانومتر جذب نوری قرائت شد. برای تهیه نمودار استاندارد، میزان کلی ایمونوگلوبولین نمونه‌های سرم با حجم مساوی (هر نمونه ۲۰ میکرولیتر) با هم مخلوط، و پس از تهیه رقت‌های دو برابر مطابق روش ذکر شده و به صورت همزمان بررسی شدند. میزان ایمونوگلوبولین در نمونه اولیه ۲۵ میلی-گرم در هر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد (Affonso et al., 2004).

فعالیت فرعی کمپلمان با پروتکل Yano (۱۹۹۲) و بر اساس روش همولیز گلبول قرمز خرگوش (RaRBC) به شرح زیر انجام شد. نمونه‌های رقیق شده سرم خون ماهی در رقت‌های ۰/۱ تا ۰/۲۵ میلی‌لیتر تهیه و در لوله‌های آزمایشگاهی توزیع و توسط محلول بافر باربیتورات حاوی EGTA به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسیدند. در مرحله بعد ۰/۱ میلی‌لیتر گلبول قرمز خرگوش به هر لوله آزمایش اضافه شد. بعد از گرمخانه‌گذاری به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد، ۳/۱ میکرومول کلرید سدیم ۰/۹٪ به آن‌ها اضافه شد. بعد از این مرحله نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ در دور ۸۳۶ g به مدت ۵ دقیقه در چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا RaRBC تجزیه‌نشده حذف شود. غلظت نوری محلول رویی

(سوپرناتانت) حاصل در طول موج ۴۱۴ نانومتر اندازه‌گیری شد و در ادامه، حجم ۵۰ درصدی گلبول قرمز حل‌نشده برای تعیین فعالیت کمپلمان نمونه بر اساس فرمول زیر استفاده شد:

$$ACH_{50} (u\%) = 1/k \times (\text{عکس سرم رقیق شده}) \times 0.5$$

فعالیت لایزوزیم با روش کدورت‌سنجی بر اساس روش Ellis (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شد. به این منظور غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر سفیده تخم مرغ برای تخلیه استاندارد در نظر گرفته شد. ۲۵ میکرولیتر نمونه سرم ماهی در تکرارهای سه‌تایی در پلت‌های ۹۶ سوراخه ریخته، و ۱۷۵ میکرولیتر سوسپانسیون *Micrococcus luteus* در غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بافر فسفات ۰/۵ مولار در pH ۶/۲ به آن‌ها اضافه شد. در گروه شاهد منفی، بافر فسفات نمکی جایگزین سرم شد. کاهش مقدار OD در طول موج ۳۵۰ نانومتر بعد از یک ساعت و پهنج دقیقه در ۲۲ درجه سانتی‌گراد ثبت شد. یک واحد فعالیت آنزیم لایزوزیم، بر مبنای کاهش جذب ۰/۰۰۱ در دقیقه تعریف شد.

آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و با روش فتومتریک توسط اسپکتروفتومتر (IRMA, Tokyo, Japan) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری غلظت ALT سرم خون ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از سرم خون ماهی با ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف شماره یک (۱۰۰ میکرومول در لیتر TRIS در pH ۷/۵، ۵۰۰ میکرومول در لیتر ال-آلانین و ۱۲۰۰ و احد در لیتر لاکتات دی‌هیدروژناز) مخلوط، و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. به این محلول، ۲۵۰ میکرولیتر معرف شماره ۲ (۱۵ میکرومول در لیتر Oxoglutarate، ۰/۱۸ میکرومول در لیتر NADH) اضافه شد و مراحل جذب نوری در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ دقیقه در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۴۰ نانومتر، قطر کووت یک سانتی‌متر و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرائت شد. مقدار اختلافات جذب نوری پس از دقیق ۱، ۲ و ۳ جمع و بر عدد ۳ تقسیم و میانگین به دست آمده بر اساس پروتکل ارائه شده توسط شرکت مذکور در ضریب جذب (۱۹۸۵) ضرب و بر اساس جدول ضرایب خطا، غلظت ALT محاسبه شد (Thomas, 1998).

محاسبات آماری شاخص‌های رشد، غذا، شاخص هپاتوسوماتیک و شاخص احشایی بر اساس روابط زیر محاسبه شد (فلاح‌تکار، ۱۳۹۴):

$$\begin{aligned} \text{شاخص‌های رشد} & \text{ با انجام زیست‌سنجی‌های یک‌ماهه و با توجه به اطلاعات به دست آمده از طول و وزن ماهیان و تشکیل بانک اطلاعاتی،} \\ \text{شاخص وضعیت (CF)} & = 100 \times \{\text{وزن ماهی بر حسب گرم} / (\text{طول کل بر حسب سانتی‌متر})^3\} \\ \text{افزایش وزن (WG)} & (\text{g}) = \text{وزن نهایی (g)} - \text{وزن اولیه (g)} \\ \text{افزایش وزن بدن (BWI)} & (\%) = ((\text{افزایش وزن (g)} / \text{وزن ابتدایی (g)}) \times 100) \\ \text{ضریب رشد ویژه (SGR)} & (\% \text{ در روز}) = 100 \times [(\text{لگاریتم وزن نهایی} - \text{لگاریتم وزن اولیه}) / \text{تعداد روز (زمان)}] \\ \text{نرخ تبدیل غذایی (FCR)} & = \text{غذای خشک مصرفی شده (g)} / \text{افزایش وزن (g)} \\ \text{نرخ کارایی پروتئین (PER)} & = \text{وزن تر اضافه شده (افزایش بیوماس) (g)} / \text{مقدار پروتئین مصرفی (g)} \\ \text{شاخص کبدی (HSI)} & (\%) = 100 \times (\text{وزن کبد (g)} / \text{وزن بدن (g)}) \\ \text{شاخص احشایی (VSI)} & (\%) = 100 \times \{(\text{وزن امعاء و احشاء (g)} / \text{وزن بدن (g)})\} \end{aligned}$$

نتایج

مقادیر برخی از فراسنجه‌های کیفی آب (دما، اکسیژن محلول، pH و آمونیاک کل) در جدول ۱ نشان داده شده است. فراسنجه‌های فیزیوشیمیایی آب در طول دوره پرورش در تیمارهای مطالعه حاضر روند نسبتاً ثابتی را برای هر یک از شاخص‌ها نشان داد. دمای آب، اکسیژن محلول، pH و آمونیاک کل به ترتیب در محدوده‌های $17/85 \pm 0/45$ درجه سانتی‌گراد، $7/22 \pm 0/36$ میلی‌گرم در لیتر، $6/8 \pm 0/3$ و $0/4 \pm 0/16$ میلی‌گرم در لیتر ثبت شد.

سنجش آماری

داده‌های کسب شده در نرم‌افزار Excel ثبت و پردازش شد. سپس، نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون شاپیروولیک (Shapiro-Wilk Test) سنجش شد. از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) برای مقایسه آماری تیمارها و از روش دانکن برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارهای مختلف آزمایشی استفاده شد. در آزمون‌های آماری سطح معنی‌داری $0/05 < p$ در نظر گرفته شد.

جدول ۱ شرایط فیزیوشیمیایی آب مخازن پرورش در طی دوره تغذیه ماهیان با جیره‌های فرموله شده (میانگین \pm انحراف معیار).

فراسنجه‌ها	۲۵ روز اول	۲۵ روز دوم	۲۰ روز سوم	میانگین کل
دما (سانتی‌گراد)	$17/1 \pm 0/4$	$17/2 \pm 0/5$	$18/3 \pm 0/46$	$17/85 \pm 0/45$
اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	$7/5 \pm 0/51$	$7/1 \pm 0/2$	$7/14 \pm 0/4$	$7/22 \pm 0/36$
pH	$7/1 \pm 0/1$	$6/96 \pm 0/5$	$6/857 \pm 0/3$	$6/8 \pm 0/3$
آمونیاک کل (میلی‌گرم در لیتر)	$0/38 \pm 0/21$	$0/42 \pm 0/15$	$0/43 \pm 0/22$	$0/4 \pm 0/16$

شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی

شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد و جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ آورده شده است. وزن نهایی بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. به طوری که بیشترین و کمترین وزن

نهایی به ترتیب به ماهیان تیمارهای A و C ($13/93 \pm 338/45$ و $4/17 \pm 357/95$ گرم) تعلق داشت ($p > 0/05$). شاخص ضریب چاقی ماهیان تیمارهای مختلف فاقد اختلاف معنی‌دار آماری بود ($p > 0/05$). بیشترین درصد افزایش وزن بدن در تیمار A ($33/86 \pm 375/37$ ٪)، بالاتر از گروه شاهد

نداشتند، به طوری که کمترین مقدار آن در تیمار A به دست آمد ($p > 0.05$). مطلوب ترین نسبت بازده پروتئین در تیمار A و کمترین آن در تیمارهای B و C مشاهده شد، هر چند که اختلاف معنی داری در ماهیان مشاهده نشد ($p > 0.05$).

بود ($29/86 \pm 339/85$) ($p > 0.05$). مقادیر عددی نرخ رشد ویژه در تیمارهای مختلف به هم نزدیک و فاقد اختلاف معنی دار آماری (۲/۱ تا ۲/۰۲٪ در روز) بود ($p > 0.05$). ضریب تبدیل غذایی در بین ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل های ضد اکسایشی و شاهد تفاوت معنی دار آماری

جدول ۲ عملکرد رشد فیله ماهی (*Huso huso*) تغذیه شده با مخلوطی از ریزمغذی های نانو سلنیوم، ویتامین های C و E (n=3). میانگین \pm انحراف معیار).

شاخص ها / جیره	A	B	C	شاهد
وزن اولیه (گرم)	75/38 \pm 2/41	77/35 \pm 1/06	80/29 \pm 1/32	78/45 \pm 2/7
وزن نهایی (گرم)	357/95 \pm 13/93	337/25 \pm 15/62	338/45 \pm 4/17	344/5 \pm 19/23
طول اولیه (سانتی متر)	28/48 \pm 1/31	28/42 \pm 0/57	28/39 \pm 0/13	30 \pm 2/56
طول نهایی (سانتی متر)	42/65 \pm 0/91	42/14 \pm 0/48	41/8 \pm 0/00	41/69 \pm 0/15
ضریب چاقی	0/46 \pm 0/01	0/45 \pm 0/03	0/46 \pm 0/00	0/47 \pm 0/02
درصد افزایش وزن (درصد در طول دوره)	375/37 \pm 33/86	335/9 \pm 14/2	321/66 \pm 12/17	339/85 \pm 29/86
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	2/19 \pm 0/1	2/07 \pm 0/04	2/02 \pm 0/04	2/08 \pm 0/12
رشد روزانه (گرم در روز)	3/97 \pm 0/23	3/66 \pm 0/12	3/63 \pm 0/07	3/74 \pm 0/3
مقدار غذای مصرفی به ازای هر ماهی (گرم)	1897/99	1991/53	1965/65	1974/18
ضریب تبدیل غذا	0/67 \pm 0/06	0/76 \pm 0/01	0/76 \pm 0/01	0/74 \pm 0/04
نسبت بازده پروتئین	3/72 \pm 0/36	3/26 \pm 0/06	3/28 \pm 0/07	3/36 \pm 0/19

شدند ($p > 0.05$). مقدار کمپلمان در تیمارها، در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت به طوری که میزان کمپلمان در تیمار A ($138/7 \pm 2/38$ u%) به طور معنی دار بیش از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). اطلاعات مربوط به آنزیم های کبدی در جدول ۳ آورده شده است. اگرچه تفاوت معنی داری در آنزیم های ALT و AST در ماهیان تغذیه شده با تیمارهای مختلف غذایی مشاهده نشد ($p > 0.05$)، اما بیشترین و کمترین میزان آنزیم های ALT و AST به ترتیب در پلاسماي خون تیمارهای C و A مشاهده شد.

پاسخ های ایمنی غیر اختصاصی

میزان آلکالین فسفاتاز سرم ماهیان در تیمارهای مختلف اختلاف معنی دار آماری نداشت، هر چند که با افزایش میزان نانو سلنیوم، ویتامین های C و E این شاخص افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در تیمار B مشاهده شد ($p > 0.05$). لایزوزیم در گروه شاهد اختلاف معنی داری با ماهیان تیمارها نداشت، هر چند که مقدار آن در تیمار B، از U/mL/min $36/75 \pm 4/7$ به U/mL/min $37/5 \pm 5/5$ افزایش یافت ($p > 0.05$). اما تیمارهای B و C به ترتیب باعث افزایش معنی دار ایمونوگلوبولین M (IgM) به میزان mL/dL $48 \pm 5/35$ و mL/dL $48 \pm 7/25$ در مقایسه با گروه شاهد

جدول ۳ شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی فیل‌ماهی (*Huso huso*) تغذیه‌شده با مخلوطی از ریزمغذی‌های سلنیوم، ویتامین‌های C و E (میانگین \pm انحراف معیار، n=۳).

شاخص‌ها/ جیره	A	B	C	شاهد
آلکالین فسفاتاز (U/L)	۲۱۷/۵ \pm ۳۵/۹۵	۲۸۶/۷۵ \pm ۷۲/۶۲	۲۵۸/۵ \pm ۷۸/۸۲	۲۱۹ \pm ۲۶/۰۱
ایمونوگلوبولین (mL/dL)	۴۶/۵ \pm ۱/۹۱ ^{ab}	۴۸ \pm ۵/۳۵ ^a	۴۸ \pm ۷/۲۵ ^a	۳۱ \pm ۱۷/۲۲ ^b
ACH ₅₀ کمپلمان (u/%)	۱۳۸/۵ \pm ۲/۳۸ ^a	۱۳۵/۲۵ \pm ۲/۲۱ ^{ab}	۱۳۵ \pm ۲/۹۴ ^{ab}	۱۳۳/۵ \pm ۲/۳۸ ^b
لایزوزیم (un/ml/min)	۳۵ \pm ۰/۸۱	۳۷/۵ \pm ۵/۳۵	۳۲/۲۵ \pm ۰/۹۵	۳۶/۷۵ \pm ۴/۲۷
AST (U/L)	۱۴۹ \pm ۱۵/۰۵	۱۶۹/۲۵ \pm ۱۸/۷	۲۷۰/۷۵ \pm ۱۶۸/۹۸	۲۳۸ \pm ۸۲/۷۹
ALT (U/L)	۱۰ \pm ۰/۸۱	۹/۵ \pm ۱/۲۹	۱۱/۷۵ \pm ۲/۳	۱۲/۲۵ \pm ۱/۷

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری است ($p < 0/05$).

بحث

ریزمغذی‌ها دلالت داشت که احتمالاً عوامل زیر در این امر دخیل هستند.

سلنیوم به‌عنوان یک جزء مهم آنزیم دی‌یدیناز، به‌طور غیرمستقیم در ترشح هورمون رشد از غده هیپوفیز در همه مهره‌داران از جمله ماهی نقش دارد (Muller et al. 1999). Cotter و همکاران (۲۰۰۸) افزایش فعالیت هورمون‌های تیروئیدی را در دورگه باس مخطط تغذیه‌شده با جیره حاوی سلنیوم را ثبت و بر این نکته اذعان داشتند که این عامل موجب رشد بهتر و بازده خوراک در ماهی می‌شود. از سوی دیگر، ویتامین‌های E و C از طریق ممانعت از اکسید شدن اسیدهای چرب غیراشباع در بافت و افزایش سوخت و ساز، موجب رشد آبزیان (Taveekijakarn et al. 1996)، بازده خوراک و ضریب رشد ویژه می‌شوند (Wassef et al. 2001). در کنار آن، نانوذرات سلنیوم موجب تسریع در ساخت سلنوپروتئین‌ها در سلول‌های پوششی روده و بهبود هضم مغذی (Wang et al. 2013) و پیش‌برنده تولید آنزیم‌های گوارشی و افزایش فعالیت آنها می‌شوند (Shenkin, 2006) که در نتیجه، قابلیت هضم مواد مغذی افزایش، و منجر به افزایش رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی در آبری می‌شود. اگرچه در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی و شاخص‌های رشد مشاهده نشد، اما بهبود نسبی و نه معنی‌دار آن احتمالاً حمایت‌کننده فرضیه بهبود هضم مواد مغذی است. عدم رشد معنی‌دار ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی ریزمغذی‌های ترکیبی را می‌توان به عواملی چون اندازه ماهی، شرایط محیط پرورش، درجه

در مطالعه حاضر ماهیان تغذیه‌شده با مخلوطی از ریزمغذی‌های نانوسلنیوم، ویتامین‌های C و E شاخص‌های رشد بهتری نسبت به ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد داشتند. بیشترین وزن نهایی، درصد افزایش وزن و نسبت بازده پروتئین متعلق به ماهیان تغذیه‌شده با جیره A (۰/۱، ۳۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به دست آمد، هر چند که شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار آماری نبود، در صورتی که مطالعات Khan و همکاران (۲۰۱۷، ۲۰۱۶) در مورد تأثیر نانوسلنیوم و ویتامین C بر روی شاخص‌های رشد گونه *Tor putitora* حاکی از شاخص‌های رشد بهتر و معنی‌دار ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی نانوسلنیوم و ویتامین C در سطوح ۰/۶۸ و ۳۰۰ میلی‌گرم در مقایسه با ماهیان تغذیه‌شده با مکمل‌های انفرادی سلنیوم و ویتامین C و گروه شاهد بود. این نتایج هماهنگ با مطالعات پیشین در مورد اثر هم‌افزایی سلنیوم و ویتامین‌های دیگر مانند ویتامین E بر بهبود شاخص‌های رشد و فیزیولوژیک ماهیان است (Gatlin et al. 1986; Fonseca et al. 2013). محمدی دوست و همکاران (۱۳۹۹) در ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*)، Harsij و همکاران (۲۰۲۰) در قزل‌آلای رنگین‌کمان و Adineh و همکاران (۲۰۲۰) ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) تغذیه‌شده با سطوح ترکیبی نانوسلنیوم، ویتامین‌های C و E بر افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد در مقایسه با جیره‌های فاقد این

حرارت آب و طریقه اضافه کردن این ریزمغذی‌ها به جیره نسبت داد (Khan et al. 2017).

دستگاه دفاعی ماهیان شامل دو بخش دستگاه دفاعی ذاتی و دستگاه دفاعی اکتسابی است که از طریق سازگاری و انطباق با محیط اطراف و عوامل بیماری‌زای مربوطه فعال می‌شود. مکانیسم‌های دفاعی ذاتی شامل موانع پوششی از جمله پوست، آبشش، روده و مخاط، لکتین، لایزوزیم، پروتئین C واکنش‌پذیر، اینترفرون، دستگاه مکمل و واکنش‌های التهابی است که اثر پیشگیری بر شیوع بیماری در ماهی دارد. در این میان، اجزای معمول هومورال (فعالیت کمپلمان‌ها، لایزوزیم، Ig کل، پروتئین‌های فاز حاد، سیتوکینین‌ها)، گلوبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها از اهمیت خاصی برخوردارند و معیار و نشانگری برای پویایی و یا اختلال در عملکرد دستگاه ایمنی بدن ماهی به‌شمار می‌آیند. ایمونوگلوبولین‌ها دسته‌ای از مولکول‌های زیستی هستند که در دستگاه ایمنی فعال بوده و به‌طور اختصاصی علیه پادگن‌ها (آنتی‌ژن‌ها) ترشح می‌شوند (Van Musiswinkel et al. 2006). در آزمایش حاضر افزودن مخلوطی از نانو سلنیوم، ویتامین‌های C و E در تیمارهای B و C موجب افزایش معنی‌دار IgM در مقایسه با گروه شاهد شد. بر اساس گزارش‌های منتشر شده، مکمل نانو سلنیوم می‌تواند عملکرد رشد و دستگاه دفاعی ضد اکسایشی کپور را بهبود بخشد (Ashouri et al. 2015; Safari et al. 2016). ویتامین E و سلنیوم عناصر ریزمغذی مهمی هستند که به صورت هم‌افزایی (Gatlin et al. 2013; Fonseca et al. 1986) عمل کرده و بر بسیاری از فرایندهای دستگاه ایمنی (El-Shenawy et al. 2015) و محافظت در برابر استرس اکسیداتیو (Bernabucci et al. 2002) تأثیر مثبت دارند و در مطالعه حاضر خود را با افزایش و تحریک تولید IgM سرم خون نشان دادند. این نتایج، همسو با مطالعات محمدی‌دوست و همکاران (۱۳۹۹) در ماهی سی‌باس آسیایی است که میزان ایمونوگلوبولین کل ماهی تغذیه شده با تیمار دریافت‌کننده مکمل (نانو سلنیوم، ویتامین‌های C و E) بالاتر از گروه شاهد بود.

در این مطالعه، میزان کمپلمان در تیمار A به طور معنی‌دار بالاتر از گروه شاهد بود. کمپلمان نقش اصلی را در ایمنی ذاتی

بدن بازی می‌کند و نقش تسهیل‌کننده فرآیند کموتاکسیس و از بین‌برنده عوامل بیماری‌زا را دارد (Holland and Lambris, 2002). همچنین، با دستگاه ایمنی اکتسابی مرتبط است، زیرا فعال‌سازی آن باعث تقویت تکثیر سلول‌های B می‌شود (Morgan et al. 2005). به نظر می‌رسد که علاوه بر نقش در محافظت در برابر استرس اکسیداتیو نانو سلنیوم (Yu et al. 2005)، ویتامین‌های C و E جیره موجب تحریک پاسخ ایمنی مانند افزایش فعالیت‌های ماکروفاژ، تکثیر سلولی و فعالیت کمپلمان شده‌اند (Khara et al. 2016).

میزان لایزوزیم، AST و ALT در ماهیان تغذیه‌شده با تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار آماری نبود، اما میزان ALT و AST در تیمار C بیش از گروه شاهد بود. ALT و AST آنزیم‌های مهمی در ارزیابی وضعیت کبد هستند و افزایش آنها در پلاسما ماهی ممکن است آسیب کبد یا عملکرد آن را نشان دهد (Coz-Rakovac et al. 2005). سطوح بالای سلنیوم جیره می‌تواند در کبد و آبشش ماهیان انباشته شود و موجب تغییرات آسیب‌شناختی در کبد، شامل احتقان سلول‌های آسینار، سینوزئیدهای کبدی و واکوئل‌های مربوطه شود (Khalil et al. 2019) که احتمال دارد با افزایش تراوش AST و ALT خود را نشان دهد (Mansour et al. 2017). نتایج مطالعات Harsij و همکاران (۲۰۲۰) در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مشابه نانو سلنیوم، ویتامین‌های C و E بر این نکته اذعان داشت که کمترین فعالیت AST سرم در ماهیان تغذیه شده با جیره ۰/۳، ۹۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به وقوع می‌پیوندد که نشانگر حداقل آسیب به عملکرد طبیعی کبد و آسیب سلول‌های قرمز خون در این گروه است که همسو با نتایج مطالعه حاضر و گونه فیلماهی نیست. برای اثبات این امر، باید مطالعات بافت‌شناسی در کبد فیلماهیان انجام شود.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن مخلوطی از ریزمغذی‌های نانو سلنیوم، ویتامین‌های C و E به ترتیب در

گیاهی و جانوری بجای پودر ماهی بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و شاخص‌های سوماتیک بدنی فیلماهی (*Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران ۳۰: ۱۳۴-۱۱۹. عبدالجی، ح.، کرمی راد، ن. ۱۳۹۷. توسعه پرورش ماهیان خاویاری در ایران. دو فصلنامه ترویجی ماهیان خاویاری ۱: ۳۲-۴۴.

فلاح‌تکار، ب.، ۱۳۹۴. تغذیه و جیره‌نویسی آبزیان. انتشارات موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، ۳۳۴ ص.

کاظمی، ر.، پوردهقانی، م.، یوسفی، آ.، یارمحمدی، م.، نصری تاجن، م. ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان، ۱۹۴ ص.

محمدی‌دوست، م.، آهنگرزاده، م.، هوشمند، ح.، حکمت پور، ف.، خسروی، م.، محمدیان، ت.، محسنی‌نژاد، ل. ۱۳۹۹. تاثیر ویتامین‌های E و C و سلنیوم به عنوان محرک دستگاه ایمنی بر فاکتورهای رشد و ایمنی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*). تغذیه آبزیان ۶: ۶۳-۷۴.

Adineh, H., Naderi, M., Nazer, A., Yousefi, M., Ahmadifar, E. 2020. Interactive effects of stocking density and dietary supplementation with Nano selenium and garlic extract on growth, feed utilization, digestive enzymes, stress responses, and antioxidant capacity of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. Journal of the World Aquaculture Society 52: 789-804.

Affonso, C.M., da Silva, L.C., Lima, F.G., Soares, S. 2004. MW and MVar management on supply and demand side for meeting voltage stability margin criteria. IEEE Transactions on Power Systems 19: 1538-1545.

Ashouri, S., Keyvanshokoh, S., Salati, A.P., Johari, S.A., Pasha-Zanoosi, H. 2015. Effects of different levels of dietary selenium nanoparticles on growth performance, muscle composition, blood biochemical profiles and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture 446: 25-29.

سطوح ۰/۱، ۳۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و ۰/۲، ۶۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد نداشته، ولی موجب بهبود شاخص‌های دستگاه ایمنی در فیلماهی جوان شده و بر این اساس توصیه می‌شود که نسبت‌های بالا در فرمول جیره تجاری ماهیان خاویاری به عنوان مکمل غذایی لحاظ شود.

منابع

آدینه، ح.، هرسیج، م.، اسدی، م.، احمدی‌فر. ۱۳۹۸. تأثیر سطوح مختلف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی ریزپوشانی شده بر عملکرد رشد و تغذیه، ترکیبات بدن و برخی شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*). تغذیه آبزیان ۹: ۹-۱۰۹. ۹۷.

سید حسنی، م.ر.، سجادی، م.م.، فلاح‌تکار، ب.، یوسفی، آ.، حلاجیان، ع.، حسین پور، ع.، محسنی، م.، قربانی، ر. ۱۴۰۰. ارزیابی تاثیر جایگزینی تلفیقی از پروتئین‌های

Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., Nardone, A. 2002. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. Journal of Dairy Science 85: 2173-2179.

Chen, Y., Liu, W., Wang, X., Li, E., Qiao, F., Qin, J. G., Chen, L. 2018. Effect of dietary lipid source and vitamin E on growth, non-specific immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* challenge of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. Aquaculture Research 49: 2023-2032.

Cotter, P.A., Craig, S.R., McLean, E. 2008. Hyper-accumulation of selenium in hybrid striped bass: a functional food for aquaculture. Aquaculture Nutrition 14: 215-222.

Coz-Rakovac, R., Strunjak-Perovic, I., Hacmanjek, M., Lipej, Z., Sostaric, B. 2005. Blood chemistry and histological properties of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the North

- Adriatic Sea. Veterinary Research Communications 29: 677-687.
- Dabrowski, K., Ciereszko, A. 2001. Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. Aquaculture Research 32: 623-638.
- Dabrowski, A., Hubicki, Z., Podkościelny, P., Robens, E. 2004. Selective removal of the heavy metal ions from waters and industrial wastewaters by ion-exchange method. Chemosphere 56: 91-106.
- Dawood, M.A., Zommara, M., Eweedah, N.M., Helal, A.I., Aboel-Darag, M.A. 2020. The potential role of nano-selenium and vitamin C on the performances of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Environmental Science and Pollution Research 27: 9843-9852.
- Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stoka, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S. Van Muiswisal, W.B. (Eds). Techniques In Fish Immunology. SOS Publications, 101-103.
- Ellis, J., Neumann J.D., Hepburn, P.R., Elzen, P.J. 2002. Longevity and reproductive success of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) fed different natural diets. Journal of Economic Entomology 95: 902-907.
- El-Shenawy, N.S., AL-Harbi, M.S., Hamza, R.Z. 2015. Effect of vitamin E and selenium separately and in combination on biochemical, immunological and histological changes induced by sodium azide in male mice. Experimental and Toxicologic Pathology 67: 65-76.
- Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbassi, M.R., Pourkazemi, M. 2006. Effects of dietary vitamin C supplementation on performance, tissue chemical composition and alkaline phosphatase activity in great sturgeon (*Huso huso*). Journal of Applied Ichthyology 22: 283-286.
- Fonseca, S.B.D., Silva, J.H.V.D., Beltrão Filho, E.M., Mendes, P.D.P., Fernandes, J.B.K., Amancio, A.L.L., Silva, F.R.P.D. 2013. Influence of levels and forms of selenium associated with levels of vitamins C and E on the performance, yield and composition of tilapia fillet. Food Science and Technology 33: 109-115.
- Gatlin III, D.M., Poe, W.E., Wilson, R.P., Ainsworth, A.J., Bowser, P.R. 1986. Effects of stocking density and vitamin C status on vitamin E-adequate and vitamin E-deficient fingerling channel catfish. Aquaculture 56: 187-195.
- Hamre, K. 2011. Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. Aquaculture Nutrition 17: 98-115.
- Han, D., Xie, S., Liu, M., Xiao, X., Liu, H., Zhu, X., Yang, Y. 2011. The effects of dietary selenium on growth performances, oxidative stress and tissue selenium concentration of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). Aquaculture Nutrition 17: 741-749.
- Hardy, R.W., Barrows, F.T. 2002. Diet formulation and manufacture. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds). Fish Nutrition. Academic Press, London, 505-600.
- Harsij, M., Kanani, H.G., Adineh, H. 2020. Effects of antioxidant supplementation (nano-selenium, vitamin C and E) on growth performance, blood biochemistry, immune status and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under sub-lethal ammonia exposure. Aquaculture 521: 734-742.
- Holland, M.C.H., Lambris, J.D. 2002. The complement system in teleosts. Fish & Shellfish Immunology 12: 399-420.
- Hung, S.S., Lutes, P.B. 1987. Optimum feeding rate of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*): at 20 °C. Aquaculture 65: 307-317.

- Jaramillo Jr, F., Peng, L.I., Gatlin III, D.M. 2009. Selenium nutrition of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) bioavailability, toxicity and interaction with vitamin E. *Aquaculture Nutrition* 15: 160-165.
- Kalbassi, M.R., Abdollahzadeh, E.A., Salari-Joo, H. 2013. A review on aquaculture development in Iran. *Journal of Ecopersica* 1: 159-178.
- Khalil, H.S., Mansour, A.T., Goda, A.M.A., Omar, E.A. 2019. Effect of selenium yeast supplementation on growth performance, feed utilization, lipid profile, liver and intestine histological changes, and economic benefit in meagre, *Argyrosomus regius*, fingerlings. *Aquaculture* 501: 135-143.
- Khan, K.U., Zuberi, A., Nazir, S., Fernandes, J.B.K., Jamil, Z., Sarwar, H. 2016. Effects of dietary selenium nanoparticles on physiological and biochemical aspects of juvenile *Tor putitora*. *Turkish Journal of Zoology* 40: 704-712.
- Khan, K.U., Zuberi, A., Fernandes, J.B.K., Ullah, I., Sarwar, H. 2017. An overview of the ongoing insights in selenium research and its role in fish nutrition and fish health. *Fish Physiology and Biochemistry* 43: 1689-1705.
- Khara, H., Sayyadborani, M., Sayyad Borani, M. 2016. Effects of α -Tocopherol (vitamin E) and ascorbic acid (vitamin c) and their combination on growth, survival and some haematological and immunological parameters of Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* juveniles. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 16: 385-393.
- Küçükbay, F. Z., Yazlak, H., Karaca, I., Sahin, N., Tuzcu, M., Cakmak, M.N., Sahin, K. 2009. The effects of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding conditions. *Aquaculture Nutrition* 15: 569-576.
- Le, K. T., & Fotedar, R. 2014. Bioavailability of selenium from different dietary sources in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). *Aquaculture* 420: 57-62.
- Lorentzen, M., Maage, A., Julshamn, K. 1994. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 121: 359-367.
- 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.
- Luo, L., Xue, M., Wu, X.F., Cai, X.F., Cao, H.N., Liang, Y.M. 2006. Partially or totally replacement of fish meal by solvent extracted cottonseed meal in diets for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition* 12: 418-424.
- Mansour, A.T.E., Goda, A.A., Omar, E.A., Khalil, H.S., Esteban, M.Á. 2017. Dietary supplementation of organic selenium improves growth, survival, antioxidant and immune status of meagre, *Argyrosomus regius*, juveniles. *Fish & Shellfish Immunology* 68: 516-524.
- Montero, D., Marrero, M., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Vergara, J.M., Tort, L. 1999. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture* 171: 269-278.
- Morgan, B.P., Marchbank, K.J., Longhi, M.P., Harris, C.L., Gallimore, A.M. 2005. Complement: central to innate immunity and bridging to adaptive responses. *Immunology Letter* 97: 171-179.
- Muller, E.E., Locatelli, V., Cocchi, D. 1999. Neuroendocrine control of growth hormone secretion. *Physiological Reviews* 79: 511-607.

- North, B.P., Turnbull, J.F., Ellis, T., Porter, M.J., Migaud, H., Bron, J., Bromage, N.R. 2006. The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 255: 466-479.
- NRC (National Research Council). 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. The National Academy Press, Washington, D.C., 329 p.
- Miezeliene, A., Alencikiene, G., Gruzauskas, R., Barstys, T. 2011. The effect of dietary selenium supplementation on meat quality of broiler chickens. *Biotechnology, Agronomy, Société et Environment/Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 15: 61-69.
- Moreau, R., Dabrowski, K. 1996. The primary localization of ascorbate and its synthesis in the kidneys of acipenserid (Chondrostei) and teleost (Teleostei) fishes. *Journal of Comparative Physiology* 166B: 178-183.
- Ortuño, J., Cuesta, A., Esteban, M.A., Meseguer, J. 2001. Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 79: 167-180.
- Rider, S.A., Davies, S.J., Jha, A.N., Fisher, A.A., Knight, J., Sweetman, J.W. 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.
- Saffari, S., Keyvanshokoh, S., Zakeri, M., Johari, S.A., Pasha-Zanoosi, H.J.A.N. 2017. Effects of different dietary selenium sources (sodium selenite, selenomethionine and nanoselenium) on growth performance, muscle composition, blood enzymes and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition* 23: 611-617.
- Shenkin, A. 2006. Micronutrients in health and disease. *Postgraduate Medical Journal* 82: 559-567.
- Taveekijakarn, P., Miyazaki, T., Matsumoto, M., Aral, S. 1996. Histopathological and haematological changes in amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus* (Jordan & McGregor), fed a vitamin-D-free diet. *Journal of Fish Diseases* 19: 289-294.
- Thomas, I. 1998. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate amino transferase (AST). In: Thomas, I (Ed.). *Clinical Laboratory Diagnostic*. Frankfurt TH-Books Verlagsgesellschaft, 55-65.
- Trichet, V.V. 2010. Nutrition and immunity: an update. *Aquaculture Research* 41: 356-372.
- Trushenski, J.T., Kohler, C.C. 2008. Influence of vitamin E source and dietary supplementation level on production performance of sunshine bass, *Morone chrysops*♀ × *Morone saxatilis*♂, fillet tocopherol content, and immunocompetency during stress and bacterial challenge. *Journal of the World Aquaculture Society* 39: 454-466.
- Van Muiswinkel, W.B., Vervoorn-Van Der Wal, B. 2006. *The Immune System of Fish*. CAB International 1: 678-801
- Wang, C., Lovell, R.T. 1997. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 152: 223-234.
- Wang, Y., Yan, X., Fu, L. 2013. Effect of selenium nanoparticles with different sizes in primary cultured intestinal epithelial cells of crucian carp, *Carassius auratus gibelio*. *International Journal of Nanomedicine* 8: 4007-4013.
- Wassef, E. A., El-Sayed, A.F.M., Kandeel, K. M., Sakr, E.M. 2005. Evaluation of *Pterocladia* (Rhodophyta) and *Ulva* (Chlorophyta) meals as additives to

- gilthead seabream *Sparus aurata* diets. Egyptian Journal of Aquatic Research 31: 321-332.
- Yarahmadi, P., Miandare, H.K., Fayaz, S., Caipang, C.M.A. 2016. Increased stocking density causes changes in expression of selected stress-and immune-related genes, humoral innate immune parameters and stress responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish & Shellfish Immunology 48: 43-53.
- Yeh, S.P., Chang, C.A., Chang, C.Y., Liu, C.H., Cheng, W. 2008. Dietary sodium alginate administration affects fingerling growth and resistance to *Streptococcus* sp. and iridovirus, and juvenile non-specific immune responses of the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. Fish & Shellfish Immunology 25: 19-27.
- Yu, H.J., Liu, J.Q., Böck, A., Li, J., Luo, G.M., Shen, J.C. 2005. Engineering glutathione transferase to a novel glutathione peroxidase mimic with high catalytic efficiency: incorporation of selenocysteine into a glutathione-binding scaffold using an auxotrophic expression system. Journal of Biological Chemistry 280: 11930-11935.
- Zanon, R.B., Silva, T.S.D.C., Cerozi, B.D.S., Cyrino, J.E.P. 2018. Effects of graded levels of dietary vitamin E on striped surubim, *Pseudoplatystoma reticulatum*. Aquaculture Research 49: 1423-1429.
- Zhou, Q.C., Wang, L.G., Wang, H.L., Wang, T., Elmada, C.Z., Xie, F.J. 2013. Dietary vitamin E could improve growth performance, lipid peroxidation and non-specific immune responses for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture Nutrition 19: 421-429.