شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۴، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰
صفحات ۶۱۱-۵۹۷

تاثیر افزودنی منابع مختلف آنتی‌اکسیدانی (ویتامین E، کوآنزیم Q_{10} و فرم‌های سلنیوم) جیره غذایی بر عملکرد رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محمدصادق آراملی[۱]، کوروش سروی مغانلو[۲*]، احمد ایمانی[۲]

۱. دانشجوی دکتری گروه شیلات و آبزیان دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه ایران
۲. دانشیار گروه شیلات و آبزیان دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۰۶/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۱

چکیده

در مطالعه حاضر تاثیر سطوح مختلف چند مکمل آنتی‌اکسیدانی جیره غذایی روی شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی سرم خون در بچه ماهیان انگشت قد قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور ۹ جیره آزمایشی (× ۳ تکرار) با سه نوع ترکیب آنتی‌اکسیدانی شامل ویتامین E در سطوح ۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا؛ کوآنزیم Q_{10} درسطوح ۰، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا و منابع سلنیوم (معدنی، آلی و نانو) در سطوح ۰، ۳/ و ۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم غذا ساخته شد. در ادامه ماهیان با تراکم ۲۵ قطعه برای هر تکرار به صورت تصادفی توزیع و به مدت ۵۶ روز مورد تغذیه جیره‌های آزمایشی قرار گرفتند. بر اساس نتایج بدست آمده، افزایش نسبی در شاخص‌های رشد ماهیان تغذیه شده با تیمار شامل ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم + ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E مشاهده گردید. بالاترین مقدار گلوکز در تیمار مکمل شده با سطح ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم + ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E بدست آمد. از لحاظ کلسترول و تری گلیسرید، گروه‌های تغذیه شده به ترتیب با تیمار شامل ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم معدنی + ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین E + ۲۰ میلی گرم کوآنزیم Q_{10} و تیمار شامل ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم + ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E بیشترین مقدار را نشان دادند. به طور مشابه، بالاترین مقادیر شاخص‌های کلسترولی HDL و VLDL در تیمار مکمل شده با ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم در ترکیب با ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E مشاهده گردید. در مقابل تیمار شاهد بالاترین مقدار LDL را نشان داد. نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار مکمل شده با نانوسلنیوم در سطح ۰/۵ میلی‌گرم و ویتامین E در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم می‌تواند در بهبود شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی سرم خون ماهیان انگشت قد قزل‌آلای رنگین‌کمان موثر باشد.

واژگان کلیدی: بیوشیمیایی سرم، رشد، سلنیوم، کوآنزیم Q_{10}، قزل آلای رنگین‌کمان، ویتامین E

* نویسنده مسئول: کوروش سروی مغانلو
Email: k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 74, No. 4, Winter 2021
pp. 597-611

Effects of different sources of dietary - antioxidants (vitamin E, co-enzyme Q_{10} and selenium forms) on growth performance and biochemical indices in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fingerlings

Mohammad Sadegh Aramli[1], Kouroush Sarvi Moghanlou[2*], Ahmad Imani[3]

1. Ph.D. Student, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Urmia, Urmia, Iran
2,3. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Urmia, Urmia, Iran

Received: 23-Aug-2021 **Accepted: 13-Oct-2021**

Abstract

In the present study, the effects of different levels of dietary antioxidant supplements on growth performance and biochemical indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings were investigated. For this aim, nine experimental diets were formulated and supplemented with different combinations of three antioxidants including vitamin E (VE) at levels of 0, 100 and 150 mg kg^{-1} diet), coenzyme Q10 (CoQ10) at levels of 0, 10 and 20 mg kg^{-1} diet and selenium forms (mineral, organic and nano-selenium (Nano-Se)) at levels of 0, 0.3 and 0.5 mg kg^{-1} diet. The fish were randomly divided into these diets with stocking density of 25 per replicate and fed for 56 days. Based on the results, a relative increase was observed in the growth indices of fish fed with the treatment containing 0.5 mg Nano-Se + 100 mg VE. The highest of glucose content was obtained in supplemented treatment with 0.5 mg Nano-Se + 100 mg VE. For cholesterol and triglyceride, the highest values were reported in fish fed with treatments containing 0.5 mg mineral Se + 150 mg VE + 20 mg CoQ10 and 0.5 mg Nano-Se + 100 mg VE, respectively. Similarly, the highest values of HDL and VLDL indices were observed fish fed with 0.5 mg Nano-Se + 100 mg VE. In contrast, the control treatment showed the highest LDL value. The results of this study revealed that supplemented diet with Nano-Se at level of 0.5 mg and VE at level of 100 mg can be effective in improving the growth and blood biochemical indices of rainbow trout.

Keywords: Blood biochemical, Selenium, Biometrics, Coenzyme Q_{10}, Rainbow trout, Vitamin E.

Corresponding author: Kouroush Sarvi Moghanlou Email: k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

۱. مقدمه

در علم تغذیه، افزودن آنتی‌اکسیدان به مواد غذایی از موثرترین شیوه‌های کاهش سرعت اکسیداسیون لیپیدها می‌باشد. این شیوه به طور گسترده‌ای برای افزایش میزان ماندگاری مواد غذایی و بهبود پایداری چربی‌ها و غذاهای لیپیدی و به تبع آن جلوگیری از افت خصوصیات حسی و ارزش تغذیه‌ای آنها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bragadottir, 2001). یکی از اجزای مهم جیره غذایی ماهیان ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌باشد که می‌تواند در افزایش کارایی جیره غذایی موثر باشد (Darabi Tabar and Hedayati, 2017). از طرفی مقادیر ناکافی آنتی‌اکسیدان‌ها در جیره ممکن است باعث کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی و افزایش حساسیت به تنش اکسیداتیو ماهی شود، از اینرو افزودن سطوح و منابع مناسب آن‌ها به جیره‌های غذایی آبزیان توصیه می‌شود (Mohebii *et al.*, 2012).

آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که قابلیت آهسته کردن یا جلوگیری از اکسید شدن سایر مولکول‌ها را دارا هستند و از طرفی با اکسیداسیون خود، سایر واکنش‌های اکسیداتیو را مهار می‌کنند (Devasagayam *et al.*, 2004). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را می‌توان در دو گروه با منشا داخلی (آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون رودکتاز (GR)) و با منشا خارجی تقسیم نمود (Bunaciu *et al.*, 2012). آنتی‌اکسیدان‌های خارجی معمولا از طریق جیره غذایی (ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها و برخی مواد معدنی مانند سلنیوم) تامین می‌شوند.

ویتامینE یک ویتامین محلول در چربی و یک آنتی‌اکسیدان اصلی محسوب می‌شود. فرم آلفاتوکوفرول اصلی‌ترین شکل آن و دارای بیشترین پایداری است که در جیره غذایی جانوران کاربرد فراوانی دارد (Dandapat *et al.*, 2000). از مهمترین نقش‌های این ویتامین جلوگیری از فرآیند پراکسیداسیون لیپید است که با استقرار در غشاء سلولی، این ساختار مهم را در برابر رادیکال‌های آزاد پراکسیل (ROO^-) حاصل از اکسیداسیون چربیها محافظت می‌کند (Di Giulio and Meyer, 2008). از آنجا که ماهیان توانایی کمی در ساخت ویتامین دارند یا اینکه اصلا قادر به ساخت آنها نیستند، بنابراین وجود مقادیر لازم و کافی ویتامین‌ها در جیره غذایی ماهیان ضروری است (Sawanboonchun, 2009).

تا اواسط دهه ۱۹۵۰ سلنیوم به عنوان یک عنصر سمی تلقی می‌شد، ولی اهمیت تغذیه‌ای سلنیوم توسط شوارتز و فولتز در سال ۱۹۵۷ با مضمون اینکه سلنیوم یک ماده غذایی ضروری برای حیوانات آزمایشگاهی بود، تغییر یافت (Cerri *et al.*, 2009). سلنیوم یک کوفاکتور برای آنزیم‌ها و پروتئین‌ها می‌باشد و اهمیتی حیاتی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی (مشارکت در ساختمان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز)، هورمون‌های تیروئیدی و عملکرد انسولین، تنظیم رشد سلولی و حفظ باروری دارد (Cerri *et al.*, 2009). سلنیوم دارای اشکال مختلف آلی و معدنی است، مهمترین اشکال معدنی سلنیوم شامل سلنات سدیم، سلنیت سدیم، سلنید سدیم و کلرید سلنیوم می‌باشد.

کوآنزیم کیو-۱۰ (Q_{10}) با نام شیمیایی ۲ و ۳- دی متوکسی ۵- متیل بنزوکوئینون است که به نام‌های Co-Q_{10} و ویتامین Q_{10} نیز شناخته شده و فرمول بسته آن $C_{59}H_{90}O_4$ می‌باشد (Goudarzi *et al.*, 2014). کوآنزیم کیو-۱۰ در تولید ATP در سلول نقش دارد و در زنجیره انتقال الکترون باعث انتقال الکترونها از مولکولهای احیاءکننده به پذیرنده‌های الکترون در میتوکندری میشود. کوآنزیم کیو-۱۰ همچنین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد رادیکال آزاد می‌باشد و در نتیجه از اکسیداسیون فسفولیپیدهای غشاء، پروتئین غشاء میتوکندری و ذرات لیپوپروتئین با چگالی کم محافظت می‌کند (Ernster and Dallner, 1995).

بطور کلی مکانیسم سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول زنده شامل سه سطح اصلی دفاعی است. سطح اول دفاعی

مسئول پیشگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد است. از مهمترین آنزیمها در این مرحله می توان به آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و پروتئین‌های کلاته کننده فلزات اشاره کرد. سلنیوم به عنوان بخشی از آنزیم آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز به خط اول دفاع آنتی اکسیدان تعلق دارد. در واقع سلینوم در پیوند با پروتئین بعنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و بدن را در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند (Birben *et al.*, 2012). سطح دوم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی (ویتامینE بعنوان اصلی‌ترین ترکیب در سد دوم) و محلول در آب (ویتامین C) می‌باشد. این آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیبات قوی شکننده زنجیر هستند که از تشکیل زنجیر رادیکال آزاد و تکثیر آنها جلوگیری می‌کنند (Denli *et al.*, 2009). سطح سوم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌هایی اختصاصی (مانند پروتئازها و لیپازها) هستند که سبب ترمیم مولکولهای آسیب دیده می‌شود (Birben *et al.*, 2012). کوآنزیم Q_{10} نیز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان از طریق چندین مکانیسم عمل می کند که این مکانیسم‌ها اساسا در دو دسته قرار می گیرند: ۱) واکنش مستقیم با رادیکال‌های آزاد و ۲) بازسازی دوباره شکل فعال ویتامین E به وسیله احیا (کاهش دادن) رادیکال‌های ویتامین E (Quinzii and Hirano, 2010).

در سال‌های اخیر استفاده از منابع آنتی اکسیدانی به صورت منفرد در جیره غذایی ماهیان مورد مطالعه قرار گرفته است برای مثال Sayad Burani و همکاران (۲۰۱۵)، تاثیر سطوح مختلف ویتامین E را بر پارامترهای ایمنی بچه ماهی آزاد دریای خزر[1] مورد بررسی قرار دادند که بهترین نتیجه برای سطح ۳۰ میلی‌گرم ویتامینE بدست آمد. Nazari, و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که افزودن سلنیوم آلی تا ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا در رژیم غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت مناسبی از عوامل رشد، شاخص های خونی و پاسخ‌های ایمنی را به همراه خواهد داشت و احتمالا می‌تواند بعنوان یک محرک رشد عمل نماید. مطالعه Kermat Amirkolaei و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که مکمل سازی جیره با سلنیوم آلی باعث افزایش فعالیت پروکسیدگلوتاتیون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شده و مناسب ترین سطح آن را ۰/۱۵ میلی‌گرم تعیین کردند. در مارماهی‌ژاپنی[2] فعالیت‌های لیزوزیم و سوپراکسید دسموتاز در گروه‌های تغذیه شده با مقدار ۴۲۸ میلی‌گرم ویتامین E و نیز مقدار هموگلوبین و گلبول‌های سفید در گروه‌های تغذیه شده با ۲۱۲ میلی‌گرم ویتامین E به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بود (Shahkar *et al.*, 2018).

در ارتباط با کوآنزیم Q_{10} و با توجه به عملکرد گسترده آن در سیستم فیزیولوژیک بدن برخی مطالعات با رویکردهای مختلف روی پستانداران و طیور انجام گرفته است. به عنوان مثال نتایج مطالعه تاثیر Q_{10} بر روی جوجه‌های گوشتی مبتلا به سندرم فشار خون نشان داد که استفاده از این ماده در خوراک نقش پیشگیرانه در برابر سندرم داشته و از طرفی باعث محافظت ساختار و غشای سلول علیه اکسیداسیون و مقاومت موجود در برابر تنش‌های متابولیک می‌شود (Fathi, 2014). در مطالعه El-Laithy و همکاران (۲۰۱۸)، تاثیر کوآنزیم Q_{10} به تنهایی یا در ترکیب با ویتامین C روی آسیب‌های مغزی القا شده توسط لیپو پلی‌ساکارید در موش‌های رت[3] مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که ترکیب این دو ماده می‌تواند به عنوان آنتی اکسیدان در حفاظت بافت مغزی موثر باشد.

از طرفی امروزه استفاده از انواع مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی و اثرت متقابل آنها در جیره غذایی ماهیان به منظور ارتقای شاخص‌های رشد و بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک رو به فزونی نهاده است (Khara *et al.*, 2016؛ Naderi *et al.*, 2017؛ Khan *et al.*, 2017 ؛ Liu *et al.*, 2019؛ Harsij *et al.*, 2020). آنچه تحقیق حاضر را حائز اهمیت می‌سازد، نبود اطلاعات کافی و یکپارچه در مورد استفاده همزمان از چندین مکمل آنتی‌اکسیدانی در

[1] *Salmo trutta caspius*
[2] *Anguilla japonica*
[3] Rat

سطوح مختلف برای بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک بچه ماهیان می‌باشد. بنابراین در این تحقیق تاثیر همزمان افزودن منابع و سطوح مختلف آنتی‌اکسیدان‌ها شامل ویتامین E، کوآنزیم Q_{10} (به عنوان یک ماده جدید در بحث آبزی پروری) و نیز اشکال مختلف سلنیومی (معدنی، آلی و نانوسلنیوم) به جیره غذایی روی شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی سرم خون ماهیان انگشت قد قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه ماهی و شرایط انجام آزمایش

این تحقیق به مدت ۸ هفته در سالن آبزی پروری دانشکده منابع طبیعی دانشگاه ارومیه بطول انجامید. برای این منظور تعداد ۶۷۵ بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۰/۳۳±۸/۳۵ گرم از یک مرکز خصوصی پرورش ماهی تهیه شد. ماهی‌ها به مدت یک هفته در تانک‌های فایبرگلاس ۱۰۰۰ لیتری جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. پس از این دوره ماهیان بصورت تصادفی داخل ۲۷ تانک (۹ تیمار آزمایشی × ۳ تکرار) فایبرگلاس ۱۲۰ لیتری با تراکم ۲۵ قطعه توزیع شدند. غذادهی ماهیان تا حد سیری اشباع و روزانه در سه نوبت انجام می‌گرفت. هر تانک پس از غذادهی (حدود ۳ ساعت) و در سه نوبت سیفون و توسط آب تمیز تانک ذخیره به مقدار ۵۰ درصد جایگزین میشد. در طول دوره آزمایش میانگین دمای آب ۰/۵±۱۴/۵ درجه سانتی‌گراد، pH آب ۰/۳±۷/۲ و اکسیژن محلول۰/۷±۸/۵ میلی‌گرم در لیتر بود.

۲.۲. تهیه و ساخت جیره‌های آزمایشی

ترکیب اجزای جیره پایه در جدول ۱ نشان داده شده است. پودر ماهی (کیلکا) و روغن ماهی شرکت هارپا[1] (تالش، گیلان) به ترتیب به عنوان منابع پروتیئن و چربی مورد استفاده قرار گرفتند. برای تامین منبع کربوهیدرات جیره از آرد ذرت استفاده گردید. پیش مخلوط‌های[2] شرکت جهانبین مکمل[3] (چهارمحال و بختاری، شهرکرد) جهت تامین مواد ویتامینی و عناصر معدنی مورد نیاز جیره استفاده شدند.

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و تجزیه بیو شیمیایی خوراک پایه

اجزای خوراک	درصد	ترکیب بیوشیمیایی تقریبی خوراک	درصد
پودر ماهی	۵۳/۰۳	رطوبت	۸/۵
روغن ماهی	۱۰/۵۴	پروتئین	۵۰
آرد ذرت	۱۸	چربی	۱۶/۳
پودر سویا	۱۰/۷۳	کربوهیدارت	۱۴/۷
گلوتن ذرت	۱/۴	خاکستر	۱۰/۵
مکمل ویتامینه	۱		
مکمل معدنی	۱		
ویتامین C	۰/۱		
آنتی اکسیدان	۰/۵		
کولین کلراید	۰/۷		

[1] www.harpa-Co.ir
[2] Premix
[3] http://jahanbinco.com/

بایندر	۳

مقدار ویتامین E و سلنیوم در جیره پایه به ترتیب ۱۰۰ و ۰/۲ میلی‌گرم تعیین گردید.

در ادامه کولین کلراید، کنجالیه سویا و آنتی‌اکسیدان از شرکت بهدانه[1] (مازندران، بابلسر) خریداری گردید. برای تهیه تیمارهای آزمایشی، سطوح ۰ (کنترل)، ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک کوآنزیم Q_{10}؛ سطوح ۰ (کنترل)، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک ویتامین E و سطوح ۰ (کنترل)، ۰/۳ و ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک منابع مختلف سلنیوم (معدنی، آلی و نانو) به جیره‌ها اضافه گردید (جدول ۲).

جدول ۲- سطح مواد در تیمارهای آزمایشی

	فاکتورها (میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک)			
شماره تیمار	فرم سلنیوم	سطوح سلنیوم	سطوح ویتامینE	سطوح کوآنزیمQ_{10}
۱	معدنی	۰	۰	۰
۲	معدنی	۰/۳	۱۰۰	۱۰
۳	معدنی	۰/۵	۱۵۰	۲۰
۴	آلی	۰	۱۰۰	۲۰
۵	آلی	۰/۳	۱۵۰	۰
۶	آلی	۰/۵	۰	۱۰
۷	نانوسلنیوم	۰	۱۵۰	۱۰
۸	نانوسلنیوم	۰/۳	۰	۲۰
۹	نانوسلنیوم	۰/۵	۱۰۰	۰

جهت ساخت جیره همگن ابتدا اقلام خشک پس از آسیاب شدن و عبور از الک ۵۰۰ میکرونی با یکدیگر ترکیب شده، سپس هریک از مواد اولیه پس از توزین با ترازوی دیجیتال جهت ساخت جیره‌های آزمایشی مورد نظر با هم مخلوط شدند. مخلوط همگن تهیه شده پس از عبور از چرخ گوشت مخصوص ساخت غذای آبزیان بر روی توری‌های مخصوص قرار گرفته و به مدت ۱۲ ساعت درون خشک کن با دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از خشک و سرد شدن جیره‌ها به کیسه‌های نایلونی مخصوص منتقل شده و درب آنها بسته شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Huang *et al*, 2008).

۳.۲. نمونه برداری و زیست سنجی ماهیان

در پایان دوره آزمایش، غذادهی ماهیان به مدت دو روز قطع شد. ماهیان مورد نیاز از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب و در محلول ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک بیهوش شدند. در ادامه با استفاده از داده‌های مربوط به طول و وزن و نیز مقدار غذادهی، شاخص‌های رشد از جمله نرخ رشد ویژه (SGR)، افزایش وزن (WG)، شاخص چاقی (CF)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و درصد بازماندگی (SR) بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Hamza *et al.*, 2008).

$$\text{نرخ رشد ویژه} = \frac{\text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی} - \text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه}}{\text{روز}} \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

[1] http://www.behdaneshomal.ir/

طول دوره پرورش (روز)

(۲) افزایش وزن = میانگین وزن نهایی (گرم) − میانگین وزن اولیه (گرم)

(۳) ضریب تبدیل غذایی = افزایش وزن (گرم) / مقدار غذای خشک داده شده (گرم)

(۴) ضریب چاقی = وزن نهایی / توان سوم طول نهایی ×۱۰۰

(۵) درصد بازماندگی = تعداد ماهیان باقی مانده در انتهای آزمایش / تعداد ماهیان ابتدای آزمایش ×۱۰۰

۴.۲. شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون

برای این منظور در پایان دوره آزمایش با استفاده از سرنگ (حجم ۲ سی‌سی) از ساقه دمی ماهیان تیمارهای آزمایشی خونگیری به عمل آمد. نمونه‌های خون ۱ ساعت پس از لخته شدن سانتریفیوژ شده (۵۰۰۰ دور در ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) و سرم از خون تفکیک شد. نمونه‌های سرم به ویالهایی که مشخصات تیمار مدنظر روی آن نوشته شده بود انتقال و تا زمان انجام سنجش‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (زادمجید و وزیری، ۱۳۹۵). اندازه گیری پروتئین تام، گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، لیپوپروتیئن کم چگال (LDL)، لیپوپروتیئن پر چگال (HDL) و لیپوپروتیئن بسیار کم چگال (VLDL) با استفاده از دستگاه اتوآنالیزور تکنیکون (مدلRA1000 ، ساخت آمریکا) و با استفاده از کیت تجاری ساخت شرکت زیست شیمی (تهران، ایران) انجام گردید.

۵.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

پژوهش حاضر با هدف تعیین بهترین ترکیب عوامل آنتی اکسیدانی و سطوح آنها در قالب یک طرح فاکتوریل مختلط یا جزئی (Fractional factorial) انجام گرفت. در ادامه جهت تعیین دقیق عوامل موثر و بهینه ترکیب آنها از آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها و همچنین همگنی واریانس‌ها به ترتیب با استفاده از آزمون‌های کولموگروف- اسمیرنوف و لون بررسی و برای مقایسه میانگین تیمارهای مختلف از آزمون توکی استفاده شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار و سطح معنی دار بودن آزمون‌ها ۰/۰۵در نظر گرفته شد. انجام آنالیزهای آماری با نسخه ۲۳ نرم افزار SPSS و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel صورت گرفت.

۳. نتایج

۳.۱. شاخص‌های زیست سنجی

نتایج شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با منابع مختلف آنتی‌اکسیدانی خوراک در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس آنالیز آماری داده‌های بدست آمده اختلاف معنی داری در شاخص‌های رشد مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). بالاترین وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن و همچنین نرخ رشد ویژه در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۹ (شامل ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم + ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E) و پایین ترین در تیمار ۳ (شامل ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم معدنی + ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین E + ۲۰ میلی‌گرم Q_{10}) مشاهده گردید. از لحاظ ضریب تبدیل غذایی، بالاترین مقدار برای ماهیان تغذیه شده با تیمار ۳ (شامل ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم معدنی + ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین E + ۲۰ میلی‌گرم Q_{10}) و کمترین مقدار در تیمارهای ۴ (شامل ۱۰۰میلی‌گرم ویتامینE + ۲۰ میلی‌گرم Q_{10}) و ۹ (شامل ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم + ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E) بدست آمد. از طرفی تیمار شاهد و تیمار ۲ (شامل ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم معدنی + ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E + ۱۰ میلی‌گرم Q_{10}) به ترتیب بالاترین و پایین ترین مقدار ضریب چاقی را نشان دادند.

جدول ۳- نتایج (میانگین±انحراف معیار) زیست سنجی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با منابع مختلف آنتی اکسیدانی به مدت ۵۶ روز.

تیمارها	شاخص‌های زیست سنجی						
	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	افزایش وزن بدن	نرخ رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی	ضریب چاقی	درصد بقاء
۱	۸/۱±۰/۰	۲۸/۸۴±۱/۵۸	۲۰/۷۴±۱/۵۸	۰/۹۸±۰/۰۴	۱/۱۶±۰/۱۲	۱/۱۵±۰/۱۱	۱۰۰
۲	۸/۴۵±۰/۶۳	۲۸/۸۳±۰/۰۹۱	۲۰/۳۸±۰/۷۲	۰/۹۴±۰/۰۶	۱/۱۹±۰/۰۵۶	۰/۹۳±۰/۰۱	۱۰۰
۳	۸/۶۵±۰/۰۷	۲۷/۱۵±۲/۲۵	۱۸/۳۷±۲/۱۳	۰/۸۸±۰/۰۷	۱/۳۱±۰/۱۶	۱/۰۷±۰/۳۶	۱۰۰
۴	۸/۱۵±۰/۲۱	۲۹/۷۱±۰/۶۴	۲۱/۵۶±۰/۸۵	۰/۹۹±۰/۰۳	۱/۱۲±۰/۰۶	۱/۰۳±۰/۰۶	۱۰۰
۵	۸/۷±۰/۲۸	۲۹/۷۳±۱/۰۳	۲۱/۰۳±۰/۷۵	۰/۹۵±۰/۰	۱/۱۸±۰/۰	۰/۹۹±۰/۰۳	۱۰۰
۶	۸/۵±۰/۰	۲۸/۹۵±۰/۵۳	۲۰/۴۵±۰/۵۳	۰/۹۵±۰/۰۱	۱/۱۷±۰/۰۱	۱/۰۷±۰/۱۱	۱۰۰
۷	۸/۱±۰/۱۴	۲۹/۱۴±۰/۱۹	۲۱/۴۴±۰/۶۲	۰/۹۸±۰/۰۰	۱/۱۷±۰/۰۰	۱/۱۱±۰/۱۳	۱۰۰
۸	۸/۴±۰/۵۶	۲۹/۱۴±۰/۶	۲۰/۷۴±۱/۱۶	۰/۹۶±۰/۰۷	۱/۱۸±۰/۰۴	۰/۹۸±۰/۰۰	۱۰۰
۹	۸/۱±۰/۱۴	۳۰/۱۸±۰/۲۵	۲۲/۰۸±۰/۱۱	۱/۰۱±۰/۰۰	۱/۱۲±۰/۰۰	۱/۰۳±۰/۰۹	۱۰۰
P_{value}	**۰/۳۹**	**۰/۳۲**	**۰/۱۹**	**۰/۲۶**	**۰/۴۴**	**۰/۸۷**	–

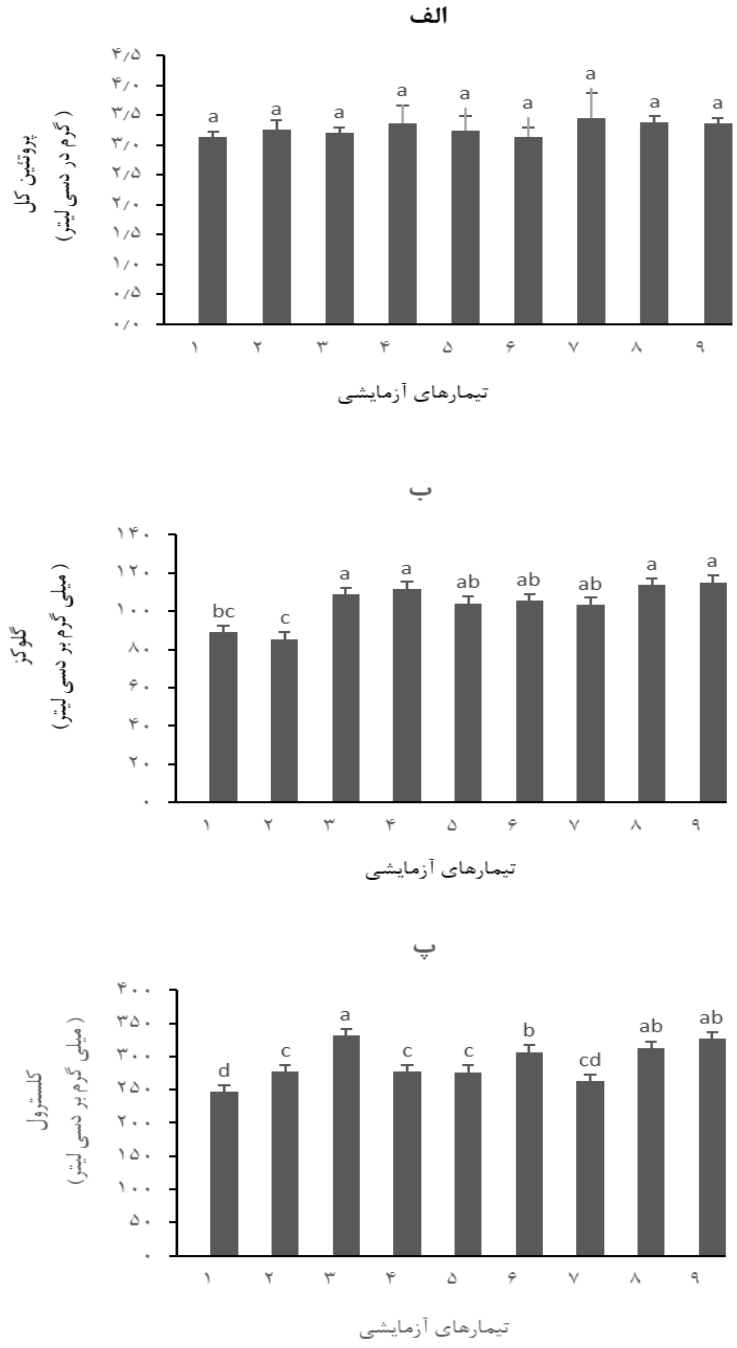
۲.۳. شاخص‌های بیوشیمیایی خون

نتایج شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با منابع مختلف آنتی‌اکسیدانی خوراک در شکل ۱ (الف - چ) نشان داده شده است. بر اساس آنالیز آماری داده‌ها به استثنای پروتئین تام (نمودار الف) اختلاف معنی داری در گلوکز و متابولیت‌های خون ماهیان تغذیه شده با منابع مختلف آنتی‌اکسیدانی مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). بالاترین مقدار گلوگز خون (نمودار ب) در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۹ (شامل ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم + ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامینE) مشاهده شد که دارای اختلاف معنی داری با تیمار شاهد بودند ($P<۰/۰۵$). از لحاظ کلسترول (نمودار پ) و تری گلیسرید (نمودار ت)، گروه‌های تغذیه شده به ترتیب با تیمار ۳ (شامل ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم معدنی + ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین E + ۲۰ میلی‌گرم کوآنزیم Q_{10}) و تیمار ۹ (شامل ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم + ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E) بیشترین مقدار را نشان دادند. بالاترین مقدارVLDL (نمودار چ) در تیمار ۹ (شامل ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم + ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامینE) بدست آمد که دارای اختلاف معنی داری با سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P<۰/۰۵$). در ارتباط با HDL نیز تیمار ۹ (شامل ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم + ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E) و تیمار ۷ (شامل ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین E + ۱۰ میلی‌گرم کوآنزیم Q_{10}) بالاترین مقادیر را ثبت نمودند (نمودار ج)، در مقابل LDL در تیمار شاهد مقدار بالاتری را نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی نشان داد (نمودار ث).

۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

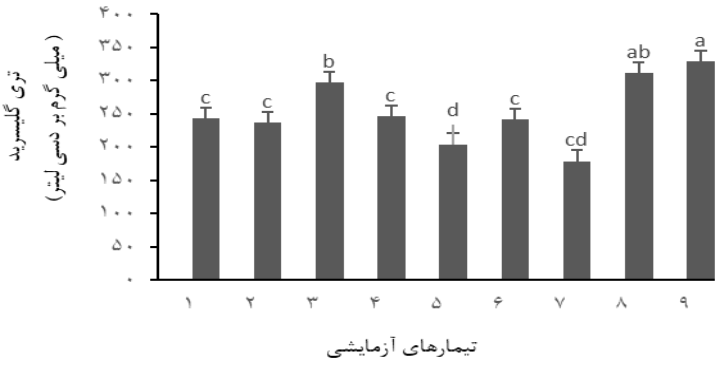
در مطالعه حاضر نانوسلنیوم در سطح ۰/۵ میلی‌گرم و فرم آلی سلنیوم در سطح ۰/۳ میلی‌گرم در مقایسه با فرم معدنی باعث بهبود عملکرد رشد گردیدند. مطالعات مختلف تاثیر قابلیت زیستی انواع فرم‌های سلنیوم را در آبزیان مورد بررسی قرار داده است برای مثال در مطالعه‌ای تاثیر منابع سلنیوم (معدنی و آلی) روی ماهی سیم دریایی[1]مورد بررسی قرار گرفت، بر اساس نتایج گزارش شده سلنیوم در فرم آلی و تا مقدار ۰/۲ میلی گرم منجر به تاثیرات معنی‌داری در رشد ماهی تحت تنش‌های حاد یا مزمن می‌شود (Mechlaoui *et al.*, 2019).

[1] *Sparus aurata*

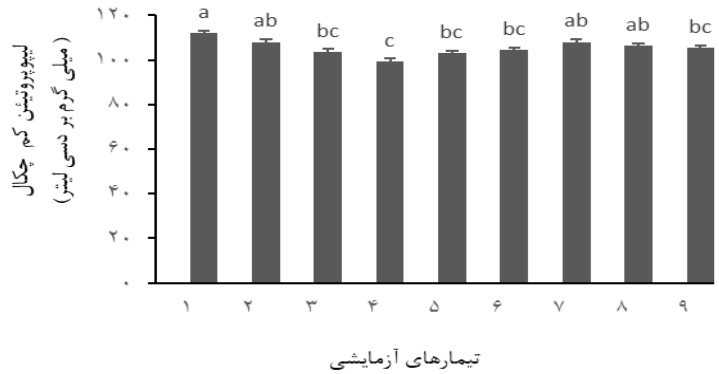


شکل ۱- نمودارهای میانگین (میانگین ± انحراف معیار) شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون شامل:
الف: پروتیئن کل، ب: گلوکز، پ: کلسترول، ت: تری گلیسرید، ث: لیپوپروتئین کم چگال (LDL)، ج: لیپوپروتیئن پر چگال (HDL) و چ: لیپوپروتیئن با چگالی خیلی کم (VLDL) بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با منابع مختلف آنتی اکسیدانی به مدت ۵۶ روز. نمودارهای با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ اند.

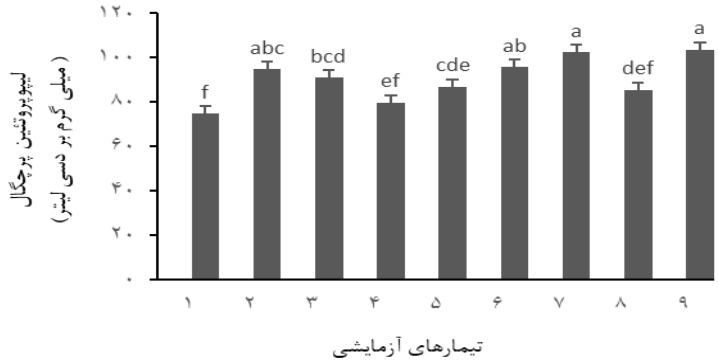
ت



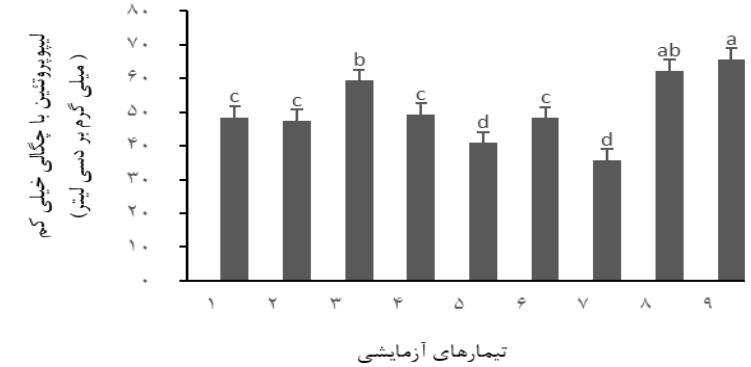
ث



ج



چ



ادامه شکل ۱

در مطالعه Ahmadvand و همکاران (۲۰۱۵) بهترین عملکرد رشد در کپورهای معمولی تغذیه شده با سطح ۱/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم در جیره بدست آمد که در سطوح یکسان اثر استفاده از نانوذره سلنیوم بیشتر از شکل آلی آن بود. نتایج مطالعات Ashouri و همکاران (۲۰۱۵) و Saffari و همکاران (۲۰۱۶) در ماهی کپور معمولی نشان داد که نانوسلنیوم در مقایسه با سایر منابع سلنیوم (سلنیت سدیم و سلنومتیونین) به عنوان عامل موثرتری در رشد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی عمل می کند. به طور کلی، دسترسی زیستی سلنیوم با اشکال مختلف آن در ارتباط بوده و مطالعات نشان داده است که زیست فراهمی فرم آلی آن بیشتر از فرم معدنی می‌باشد (Rider *et al.*, 2009، Jang *et al.*, 2010 ،Mechlaoui *et al.*, 2019). از طرفی در سالهای اخیر توجه محققان بطور گسترده به نانو ذرات سلنیوم جلب شده است، زیرا دارای ویژگی‌هایی چون زیست فراهمی بالا و سمیت کمتر نسبت به دیگر ترکیبات سلنیوم می‌باشد و از طرف دیگر خواص منحصر به فرد نانو ذرات را دارد که از آن جمله می توان نسبت سطح به حجم بالا، افزایش فعالیت سطحی، ضریب بالای کاتالیزوری و میزان جذب بیشتر اشاره نمود (Hosnedlova *et al.*, 2018).

امروزه بیشتر مطالعات اثرات متقابل انواع آنتی‌اکسیدان‌ها را در خوراک ماهیان مورد بررسی قرار داده است. بعنوان مثال نتیجه مکمل‌سازی جیره غذایی تیلاپیا با نانوسلنیوم و ویتامین E توسط Dawood و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که عملکرد رشد ماهیان در تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم نانوسلنیوم و ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E به طور معنی داری بالاتر است. Naderi و همکاران (۲۰۱۷)، اثرات خوراک‌های غنی شده با ویتامین E و نانوسلنیوم بر پاسخ‌های تنش تراکم ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین‌کمان را مورد آزمایش قرار دادند و بهترین رشد تحت تراکم‌های بالا در خوراک غذایی حاوی ویتامین E یا خوراک حاوی ترکیب ویتامین E و نانوسلنیوم بدست آمد. در مطالعه توسط Harsij و همکاران (۲۰۲۰)، تاثیرات آنتی‌اکسیدان‌های نانوسلنیوم، ویتامین‌های E و C در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تنش آمونیاک مورد بررسی قرار گرفت؛ نتایج نشان داد که مکمل‌سازی خوراک با ترکیب ۰/۲ میلی‌گرم نانوسلنیوم، ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و ۶۰ میلی‌گرم ویتامین E می‌تواند به طور معنی‌داری باعث افزایش رشد، توانایی اکسیدانی و پاسخ‌های ایمنی ماهیان شود. در مطالعه حاضر و بعنوان یک رویکرد جدید ترکیب چندین منبع آنتی‌اکسیدانی (فرم سلنیوم، ویتامین E و کوآنزیم Q_{10}) در سطوح مختلف در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد افزودن فرم نانوسلنیوم در سطح ۰/۵ میلی‌گرم همراه با ویتامینE در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم به خوراک می تواند باعث بهبود در شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گردد. به نظر می رسد که بهبود عملکرد رشد در تیمارهای آزمایشی مکمل شده با آنتی‌اکسیدان بدلیل اثرات مفید آنها روی رشد ماهی در محیط پرتنش آنها باشد. در مهره داران از جمله ماهیان، سلنیوم بعنوان یک جز مهم آنزیم دیودیناز[1] به طور غیر مستقیم در ترشح هورمون رشد از غده هیپوفیز نقش دارد (Muller *et al.*, 1999). از طرفی ویتامین E با جلوگیری از فساد اکسیداتیو اسیدهای چرب غیراشباع خوراک و بافت بدن جانوران آبزی باعث تقویت متابولیسم بدن و در نتیجه افزایش رشد می‌شود (Wassef *et al.*, 2001).

اندازه گیری شاخص‌های بیوشیمیایی به طور عمده در تشخیص وضعیت فیزیولوژیک و تعیین سلامت عمومی ماهی استفاده میشود که در این تحقیق برخی پارامترها شامل پروتئین کل، گلوکز و فراسنجه‌های لیپیدی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش غلظت گلوکز خون نسبت به تیمار شاهد می‌گردد در حالی که اختلاف معنی داری از نظر غلظت پروتئین کل بین تیمارها مشاهده نشد. نتایج مشابهی در قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط Naderi و همکاران (۲۰۱۷) و همچنین در تیلاپیا توسط Dawood و همکاران (۲۰۲۰)

[1] Deiodinase

بدست آمد. مکانسیم دقیق افزایش گلوگز به واسطه مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهیان مشخص نیست. با این حال مطالعات انسانی نشان داده است که اثرات سودمند ویتامین E بر غلظت انسولین پلاسما با تغییرات کاهشی در نسبت گلوتاتیون اکسید شده به گلوتاتیون احیا شده ارتباط دارد که سبب بهبود فعالیت سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس شده و میزان ترشح انسولین را کاهش می‌دهد. بنابراین می توان فرض کرد که مکمل‌های آنتی اکسیدانی با افزایش گلوتاتیون احیا شده، شرایط فیزیکی غشا پلاسمایی (به عنوان انتقال دهنده گلوکز با واسطه انسولین) را بهبود می‌بخشند (Paolisso *et al.*, 1995).

در مطالعه حاضر بالاترین میزان LDL در تیمار شاهد مشاهده شد که اختلاف معنی داری با تیمارهای دریافت‌کننده مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی داشت. در مقابل میزان HDL در تیمارهای حاوی مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود. مطالعه‌ای روی موش‌ها نشان داده است که کمبود سلنیوم خوراک موجب افزایش کلسترول خون شده و استفاده از سطوح مناسب آن سبب کاهش غلظت LDL و افزایش HDL در سرم خون می‌شود (Tanaka *et al.*, 2001). هر چند مکانیسم دقیق اثر آنتی‌اکسیدان‌ها در ارتباط با لیپیدها در ماهیان مشخص نیست، ولی یک احتمال این است که آنتی‌اکسیدان‌ها (برای مثال سلنیوم) با افزایش میزان گلوتاتیون پراکسیداز و HDL پلاسما، موجب کاهش تشکیل اجسام پلاکتی و کاهش اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌شوند (Dhingra and Bansal, 2006). از طرفی کاهش سلنیوم سبب تولید LDL اکسید می‌گردد که به سرعت گلوتاتیون را از بین برده و این عمل تحت تاثیر افزایش گاماگلوتامیل سیستئین سنتتاز که آنزیم سنتزکننده گلوتاتیون را محدود میکند، رخ می‌دهد. نهایتاً LDL اکسید شده منجر به افزایش هیدرولیز هیدروپراکسیدها و تولید آلدئیدها و در نتیجه سبب صدمه به لیپیدها می‌گردد. به طور کلی در سیستم آنتی‌اکسیدانی مناسب، LDL منجر به افزایش گاماگلوتامیل سیستئین سنتتاز[1] شده و در نتیجه میزان غلظت گلوتاتیون افزایش یافته و سبب فعال سازی فرآیند گلوتاتیون اکسیداز می‌شود (Shen and Sevanian, 2001). مشخص شده است که غلظت سلنیوم و ویتامین E خون ارتباط مستقیم با بیان گیرنده‌های LDL دارد به طوری که تغذیه موشها با خوراک‌های حاوی سطح پایین سلنیوم موجب کاهش فعالیت گیرنده‌های LDL وmRNA آن می‌شود که در نهایت موجب افزایش کلسترول پلاسمای خون و افزایش LDL می‌شود (Dhingra and Bansal, 2006). نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که سطح تری گلیسرید سرم خون ماهیان تغذیه شده با تیمارهای شامل نانوسلنیوم در ترکیب با ویتامین E و کوآنزیم Q_{10} به طور معنی داری بالاتر از سایر گروه‌های آزمایشی است. نتایج مشابهی در قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط Harsij و همکاران (۲۰۲۰) بدست آمد. افزایش سطح تری‌گلیسرید خون ماهیان تغذیه شده با خوراک مکمل شده با آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند به نقش‌های احتمالی آنها در تامین انرژی مورد نیاز در زمان تنش اشاره داشته باشد (Harsij *et al.*, 2020).

۵. نتیجه گیری نهایی

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر مبتنی بر داده‌های مربوط به زیست سنجی و برخی شاخص‌های بیوشیمایی خون به نظر می‌رسد مکمل آنتی‌اکسیدانی شامل سطح ۰/۵ میلی‌گرم فرم نانوسلنیوم در ترکیب با سطح ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E در خوراک می‌تواند در عملکرد رشد ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان موثر واقع شود. به هر حال مکانیسم عمل دقیق این آنتی‌اکسیدان‌ها در ماهیان مشخص نیست و پیشنهاد می شود تحقیقات بیشتری برای روشن شدن مکانیسم اثر توام آنتی‌اکسیدان‌ها صورت گیرد.

[1] Gamma-Glutamylcysteine

References ۶. منابع

Ahmadvand, S., Keramat Amirkolaie, A., Ouraji, H., Ahmadvand, S., 2015. Evaluation of the effects of selenium (Nano-Se) nanoparticles in comparison with organic selenium (Selemax) on the performance of growth indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Animal Environment* 7(2), 189–196. In Persian.

Ashouri, S., Keyvanshokooh, 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.

Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O., 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ Journal* 5(1), 9–19.

Bragadottir, M., 2001. Endogenous antioxidants in fish. Master of Science in food science. Department of Food Science University of Iceland. p .1- 50.

Bunaciu, A., Aboul-Enein, A.H.Y., Fleschin, S., 2012. FTIR spectrophotometric methods used for antioxidant activity assay in medicinal plants. *Applied Spectroscopy Reviews* 47, 245–255.

Cerri, R.L.A., Rutigliano, H.M., Lima, F.S., Araujo, D.B., Santos, J.E.P., 2009. Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality in high-producing dairy cow. *Theriogenology* 71, 1127–1137.

Dandapat, J., Chainy, G.B., Rao, K.J., 2000. Dietary Vitamin-E modulates antioxidant defense system in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 127, 101–105.

Darabi Tabar, F., Hedayati, A.k., 2017. Antioxidant Effects of ascorbic acid (vitamin C) and probiotics, to improve the strength and safety of fish under laboratory and training conditions. *Journal of Biosafety* 10 (1), 13-27. In Persian

Dawood, M.A.O., Zommara, M., Eweedah, N.M., Helal, A.I., 2020. Synergistic effects of selenium nanoparticles and vitamin E on growth, immune-related gene expression and regulation of antioxidant status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biological Trace Element Research* 195, 624–635.

Denli, M., Blandon, J.C., Guynot, M.E., Salado, S., Perez, J.F., 2009. Effects of dietary AflaDetox on performance, serum biochemistry, histopathological changes, and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B1. *Poultry Science* 88, 1444–1451.

Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Boloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S., Lele, R.D., 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *The Journal of the Association of Physicians of India* 52, 794–804.

Dhingra, S., Bansal, M.P., 2006. Attenuation of LDL receptor gene expression by selenium deficiency during hypercholesterolemia. *Molecular and Cellular Biochemistry* 282, 75–82.

Di Giulio, R.T., Meyer, J.N., 2008. Reactive oxygen species and oxidative stress. In Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. (Eds.), the Toxicology of Fishes. CRC Press, Boca Raton, FL. P: 273–324.

El- Laithy, N.A., Mahdy, E.M.E., Youness, E.R., Shafee, N., Mowafy, M.S.S., Masoud, M.M., 2018. Effect of Co Enzyme Q_{10} Alone or in Combination with Vitamin C on Lipopolysaccharide-Induced Brain Injury in Rats. *Biomedical and Pharmacology Journal* 11 (3), 1215–1226.

Ernster, L., Dallner, G., 1995. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimica et Biophysica Acta* 1271 (1), 195–204.

Fathi, M., 2014. Effects of Coenzyme Q_{10} Supplementation on Growth Performance, some Hematological Parameters, Plasma Enzymes Activities in Broilers with Pulmonary Hypertension Syndrome (PHS). *Iranian Journal of Applied Animal Science* 5,147–153.

Goudarzi, Z., Hashemiravan, M., Sohrabvandi, S., 2014. Production of functional of orange juice with adding coenzyme Q10. *Paramedical Sciences* 5, 42–51.

Hamza, N., Mhetli, M., Ben Khemis, I., Cahu, C., Kestemont, P., 2008. Effect of dietary phospholipd levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture* 275, 274–282.

Harsij, M., Gholipour Kanani, H., 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, 734942.

Hosnedlova, B., Kepinska, M., Skalickova, S., Fernandez, C., Ruttkay-Nedecky, B., Peng, Q., 2018. Nano-selenium and its nanomedicine applications: a critical review. *International Journal of Nanomedicine* 13, 2107–2128.

Huang, S.S.Y., Fu, C.H.L., Higgs, D.A., Blfry, S.K., Schulte, P.M., Brauner, C.J., 2008. Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring Chinook salmon par, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture* 274, 109–117.

Jang, Y.D., Choi, H.B., Durosoy, S., Schlegel, P., Choie, B.R., d Kim, Y.Y., 2010. Comparison of bioavailability of organic selenium sources in finishing pigs. Asian-Australas. *Journal of Animal Science* 23, 931–936.

Keramat Amirkolaie, A., Karimzadeh, J., Kenari, A.A., 2014. The effects of organic selenium on performance and oxidative level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) fed a high-fat diet. *Journal of Animal and Feed Sciences* 23, 90–96

Khan, K.U., Zuberi, A., Nazir, S., Ullah, I., Jamil, Z., Sarwar, H., 2017. Synergistic effects of dietary nano selenium and vitamin C on growth, feeding, and physiological parameters of mahseer fish (*Tor putitora*). *Aquaculture Reports* 5, 70–75.

Khara, H., Sayyad Borani, 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.

Liu, H.P., Wen, B., Chen, Z.Z., Gao, J.Z., Liu, Y., Zhang, Y.C., Wang, Z.X., Peng, Y., 2019. Effects of dietary vitamin C and vitamin E on the growth, antioxidant defence and digestive enzyme activities of juvenile discus fish (*Symphysodon haraldi*). *Aquaculture Nutrition* 25(1), 176–183.

Mechlaoui, M., Dominguez, D., Robaina, L., Geraert, P. -A., Kaushik, S., Saleh, R., Briens, M., Montero, D., Izquierdo, M., 2019. Effects of different dietary selenium sources on growth performance, liver and muscle composition, antioxidant status, stress response and expression of related genes in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 507, 251 –259.

Mohebii, A., Nematollahi, A., Ebrahimi Dorcheh, E., Goodarzian Asad, F., 2012. Influence of dietary garlic (*Allium sativum*) on the antioxidative status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 43(8), 1184–1193.

Muller, E.E., Locatelli, V., Cocchi, D., 1999. Neuroendocrine control of growth hormone secretion. Physiological Reviews 79 (2), 511–607.

Naderi, M., Keyvanshokooh, S., Salati, A.P., Ghaedi, A., 2017. Effects of dietary vitamin E and selenium nanoparticles supplementation on acute stress responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) previously subjected to chronic stress. *Aquaculture* 473, 215–222.

Nazari, k., Shamsaei Mehrjan, M., Elia, N., Sharifpour, I., Kamali, A., 2017. Effects of organic and mineral selenium supplementation on growth performance, hematological and immunological properties of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss). Iranian Scientific fisheries Journal* 26 (13), 129-138. In Persian.

Paolisso, G., Gambardella, A., Giugliano, D. Galzerano, D., Amato, L., Volpe, C., Balbi, V., Varricchio, M., D'Onofrio, F., 1995. Chronic intake of pharmacological doses of vitamin E might be useful in the therapy of elderly patients with coronary heart disease. The *American Journal of Clinical Nutrition* 61, 848–52.

Quinzii, C.M., Hirano, M., 2010. Coenzyme Q and mitochondrial disease. *Developmental Disabilities Research Reviews* 16(2), 183–191.

Rider, S.A., Davies, S.J., Jha, A.N., Clough, R., Sweetman, J.W., 2009. Bioavailability of cosupplemented organic and inorganic zinc and selenium sources in a white fishmeal based rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94(1), 99–110.

Saffari, S., Keyvanshokooh, S., Zakeri, M., Johari, S., Pasha-Zanoosi, H., 2016. 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.

Sawanboonchun, J., 2009. Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.) broodstock nutrition: The role of Arachidonic Acid and Astaxanthin as determinants of egg quality. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland. M.Sc. thesis.196 p.

Sayad Burani, M., Khara, H., Sayad Burani, M., Fakharzadeh, S., 2015. The effect of vitamin C and E supplement in diet on the growth and immunological parameters of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*). *Iranian Journal of Fisheries sciences*, 23 (4) :85-95. In Persian.

Shahkar, E., Hamidoghli, A., Yun, H., Kim, D.J., Bai, SC., 2018. Effects of dietary vitamin E on hematology, tissue α-tocopherol concentration and non-specific immune responses of Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture* 484, 51–57.

Shen, L., Sevanian, A., 2001. Ox-LDL induces macrophage gamma-GCS-HS protein expression: a role for ox-LDL-associated lipid hydroproxide in GSH synthesis. *The Journal of Lipid Research* 42, 813–23.

Tanaka,Y. Sakurai, E., Lizuka,Y., 2001. Effect of selenium on serum, hepatic and lipoprotein lipids concentration in rats fed on a high-cholesterol diet. *Yakugaku Zasshi* 121, 93-96.

Wassef, E.A., El Masry, M.H., Mikhail, F.R., 2001. Growth enhancement and muscle structure of striped mullet, *Mugil cephalus* L., fingerlings by feeding algal meal-based diets. *Aquaculture Research* 32, 315–322.

Zadmajid, M., and Vaziry, A., 2016. Immune response and changes in serum biochemical and enzymes of goldfish broodstock (*Carassius auratus gibelio*) injected with human chorionic gonadotropin (hCG). *Fisheries Sciences and Technology* 5 (2), In Persian.