مجله علوم وفنون دریایی، فصل نامه ی علمی پژوهشی

دوره ۲۲، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، صفحات ۳۷ تا ۴۹

مقاله پژوهشی

Available Online: http://jmst.kmsu.ac.ir

اثرات سینرژیسمی مکمل غذایی نانوذرات سلنیوم و منیزیم بر رشد و آنزیم‌های گوارشی ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*)

حامد دیلمی پور[۱]، سید محمد موسوی[۱و۲*]، محمد ذاکری [۱]، پریتا کوچنین [۱]، سعید کیوان شکوه [۱]

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.
۲. قطب بهداشت و بیماری‌های ماهیان گرمابی، اهواز، ایران.

نویسنده مسئول، پست الکترونیک: seied1356@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۱۷ تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۶/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۵

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22113/jmst.2020.151646.2208

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر نانوذرات سلنیوم، منیزیم و ترکیب آنها بر رشد و آنزیم‌های گوارشی ماهی سی‌باس آسیایی با میانگین وزنی ۱/۱۶±۳۲/۷۸ گرم به مدت ۴۲ روز انجام گرفت. پس از سازگاری با شرایط آزمایشی، ۹۶ ماهی به صورت کاملا تصادفی در ۱۲ تانک استوانه‌ای فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری به تعداد مساوی توزیع شدند. ۴ تیمار شامل تیمار کنترل، تیمار ۴ mg/kg نانوسلنیوم، تیمار ۵۰۰ mg/kg نانومنیزیم و تیمار ترکیبی ۴ mg/kg نانوسلنیوم و ۵۰۰ mg/kg نانومنیزیم، مورد بررسی قرار گرفتند. ماهیان روزانه در حد سیری و تا حد ۳٪ وزن بدن، در دو وعده تغذیه شدند. نمونه‌های مورد نیاز جهت سنجش شاخص‌های رشد و آنزیم‌های گوارشی در انتهای دوره جمع‌آوری شدند. نتایج حاصل نشان داد که در ماهیان تغذیه شده با تیمار ترکیبی، بالاترین میزان افزایش وزن بدن به میزان ۲۶/۵۸ ±۱۳۱/۳۳ درصد و نرخ رشد ویژه، به میزان ۰/۲۸ ±۲/۰۸ درصد به روز، را نشان داد که با تیمار کنترل (به ترتیب ۲۱/۲۶ ±۶۵/۰۱ و ۰/۳۲ ±۱/۲۳)، دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<0/05). نتایج این مطالعه نشان داد که آنزیم‌های گوارشی آلکالین فسفاتاز، لیپاز، تریپسین و کیموتریپسین بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار نانوسلنیوم (۶۱۱/۰۶±۸۲/۰۰ U/mg protein)، و بیشترین میزان آنزیم‌های لیپاز (۰/۸۶±۰/۰۳ U/mg protein)، تریپسین (۰/۰۵۴±۰/۰۰۱ U/mg protein) و کیموتریپسین (۰/۲۱۴±۰/۰۰۴ U/mg protein) در تیمار نانومنیزیم مشاهده گردید (P<۰/۰۵)، درصورتی‌که آنزیم آمیلاز بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن نانوذرات سلنیوم و منیزیم به جیره غذایی ماهی سی‌باس آسیایی دارای اثرات مثبت بر رشد و آنزیم‌های گوارشی بوده و با توجه به نتایج حاصله پیشنهاد داد که می‌توان از مکمل نانوذارت منیزیم (۵۰۰mg/kg) به تنهایی و یا به صورت ترکیبی با نانوذارت سلنیوم (۴ mg/kg نانوسلنیوم و ۵۰۰ mg/kg نانومنیزیم) در جیره غذایی ماهی سی‌باس آسیایی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: نانوذرات، سلنیوم، منیزیم، سی‌باس آسیایی، آنزیم‌های گوارشی

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons. org/licenses/ by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

۱. مقدمه

در یک مزرعه پرورش آبزیان بیش از ۵۰٪ هزینه‌های جاری مربوط به غذا و تغذیه می‌باشد. کیفیت و کمیت جیره از موضوعاتی است که می‌تواند بر سرعت رشد و بهره‌وری بیشتر تاثیر بسزایی داشته باشد و ترکیب مقادیر مناسب از اقلام غذایی در یک جیره متعادل شده این روند را بهبود می‌بخشد (Afshar Mazandaran, 2002; Hosseinzadeh Sahhafi and Nafari Yazdi, 2014; Arshadi et al., 2016).

ماهی سی‌باس آسیایی یا باس دریایی (*Lates calcarifer*) که در استرالیا باراموندی شناخته می‌شود، از راسته سوف ماهی شکلان و یکی از اعضاء بزرگ خانواده Centropomida است. این ماهی قادر به تحمل محدوده شوری بالایی بوده و پراکنش آن از غرب اقیانوس هند تا اقیانوس آرام از خلیج‌فارس تا چین، تایوان، پاپوا گینه نو و شمال استرالیا گزارش شده است. باراموندی در دسته ماهیان کاتادروموس(فرو رو) تقسیم‌بندی می‌شود که در فصل تولیدمثل، محل زندگی خود در آب‌های شیرین و لب‌شور را ترک گفته و به آب‌های شور دریایی مهاجرت می‌نماید (Rimmer, 1995; Rimmer and Russell, 1998; Rimmer, 2003; Morshedi et al., 2015; Ghavam Pour, 2018).

سلنیوم یک عنصر کمیاب و در عین حال یک ریزمغذی ضروری برای انسان و حیوانات می‌باشد و نقش مهمی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، تنظیم متابولیسم هورمون‌های تیروئیدی و رشد سلولی ایفا می‌کند (Eisler, 2000). همچنین سلنیوم نقش مهمی در رشد، باروری و سیستم ایمنی موجودات پرورشی دارد. سلنیوم را می‌توان در مواد غذایی و ترکیبات آلی به صورت طبیعی یافت. پودر ماهی و محصولات دریایی نیز یکی از بهترین منابع دارای سلنیوم می‌باشند. با این‌حال برخی از گونه‌ها مانند تن ماهیان از لحاظ دسترسی زیستی به سلنیوم ضعیف می‌باشند. منیزیم یک کوفاکتور ضروری برای بسیاری از واکنش‌های آنزیمی است و شامل انتقال گروه‌های فسفات (فسفوکیناز)، هیدرولیز فسفات و گروه‌های پری فسفات (فسفوکیناز و پیرو فسفاتاز) است. همچنین اسیدهای چرب اشباع شده با استیل کوآنزیم A (تیوکیناز) را فعال می‌کند و سنتز اسید آمینه را فعال می‌کند. عملکرد آنزیمی منیزیم به خوبی مشخص شده است. منیزیم همچنین در متابولیسم بافت اسکلتی، تنظیم اسمزی و انتقال عصبی عضلانی ضروری است (Houston, 1985). نانومنیزیم با وجود ذرات کوچکتر می‌تواند ضمن جذب بیشتر و راحت‌تر از دیواره روده، اثرات مثبت منیزیم را تشدید و اثرات منفی منیزیم را کاهش دهد (Zhang et al., 2016) با پیشرفت علم نانوتکنولوژی، نانوسلنیوم، به‌طور وسیعی مورد توجه قرار گرفته است، زیرا ذرات نانومتر، خصوصیات جدیدی را نظیر فعالیت بالای سطحی، ضریب کاتالیستی بالا، قابلیت جذب قوی و سمیت پایینی را نشان می‌دهند (Wang et al., 2007; Zhang et al., 2008). بر اساس تحقیقات صورت گرفته، گزارش شده است که نانوسلنیوم دارای کارایی قابل مقایسه‌ای با سلنیوم و سلنیوم–متیل سلنوسیستئین در تنظیم ساز و کار سلنوآنزیم‌ها است، اما به طور چشمگیری با کاهش مسمومیت همراه است (Zhang et al., 2008).

با توجه به نقش سلنیوم و منیزیم در سیستم دفاع آنتی-اکسیدانی و کارکرد آن در رشد، باروری و سیستم ایمنی، تراکم استخوانی و کاهش میزان مرگ و میر، هضم و جذب ماده غذایی و متابولیسم پروتئین و کربوهیدرات در موجودات پرورشی در تحقیق حاضر تلاش گردید امکان استفاده از نانوسلنیوم و نانومنیزیم در ماهی سی‌باس آسیایی مورد بررسی قرار گیرد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات دو ماده نانومنیزیم و نانوسلنیوم به صورت جداگانه و ترکیبی بر رشد و آنزیم‌های گوارشی ماهی سی-باس آسیایی بوده است.

۲. مواد و روش‌ها

مراحل عملی این پروژه از آبان تا آذرماه سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه خیس دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به مدت ۴۲ روز (۶ هفته) انجام شد. به منظور انجام این تحقیق از ۱۲ تانک۳۰۰ لیتری پلی‌اتیلنی مدور با حجم آب حدود ۲۵۰ لیتر در هر تانک جهت تیماربندی ماهیان سی‌باس آسیایی استفاده شد. به منظور تامین آب سیستم پرورشی از آب شهری استفاده گردید که به منظور حذف کلر آن در تانک‌های ۱۰۰۰ لیتری ذخیره‌سازی شده و به مدت ۲۴ ساعت هوادهی شدید شده و برای آبگیری سیستم پرورشی مورد استفاده قرار گرفت. درصد تعویض آب به صورت یک روز درمیان و به میزان ۲۰ درصد بوده و شرایط فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، سنجش اکسیژن محلول، پی‌اچ و

شوری با استفاده از دستگاه مولتی‌متر (مدلHatch,HQ40d، ساخت آلمان) روزانه یکبار ثبت گردید. میانگین دمای آب و میزان pH آب در طول دوره آزمایش در مخازن پرورشی به ترتیب معادل ۲۷/۵ درجه سانتی‌گراد و ۷/۱۹ ثبت گردید. میزان شوری آب مخازن پرورشی معادل ۲ واحد شوری (ppt) اندازه‌گیری شد. اکسیژن محلول طی دوره آزمایش با هوادهی مداوم، ۷/۸ میلی‌گرم در لیتر بود. تعداد ۴۰۰ قطعه ماهی سی‌باس آسیایی به مخازن پرورشی منتقل شدند. این ماهیان به مدت چهار هفته با جیره غذایی پایه تغذیه و با سیستم پرورشی سازگار شدند. پس از اتمام دوره سازگاری، ۹۶ قطعه از ماهیان با ظاهر سالم (عدم بدشکلی و خوردگی باله) و با میانگین وزنی ۰/۱۶±۳۲/۷۸ گرم جهت شروع دوره آزمایش انتخاب شدند. توزیع ماهیان به نحوی انجام شد که اختلاف معنی‌داری از لحاظ زی‌توده بین تیمارها وجود نداشت. این آزمایش به صورت طرحی کاملا تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار، در مدت ۶ هفته انجام گرفت. تقسیم‌بندی تیمارها به صورت: تیمار کنترل (بدون اضافه نمودن نانوذرات به جیره پایه)، تیمار نانوسلنیوم (۴ میلی‌گرم نانوسلنیوم در جیره پایه)، تیمار نانومنیزیم (۵۰۰ میلی‌گرم نانومنیزیم در جیره پایه) و تیمار ترکیبی (۴ میلی‌گرم نانوسلنیوم و ۵۰۰ میلی‌گرم نانومنیزیم در جیره پایه) انجام گرفت (Cai et al., 2012; Zhang et al., 2016; Liang et al., 2012; Lin and Shaiu, 2005).

جدول ۱- آنالیز جیره غذایی مورد استفاده در طول دوره برای ماهیان جوان سی‌باس آسیایی و مقادیر نانومنیزیم و نانوسلنیوم مورد استفاده در تیمارهای تغذیه‌ای مختلف (کلیه مقادیر ذکر شده بر اساس میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره می‌باشد که بر اساس آنالیز بیوشیمیایی و سنجش مقادیر مواد معدنی در جیره صورت گرفته است).

Table 1. The dietary analysis used during the experimental period for Asian Sea bass juveniles and the amounts of nano magnesium and nano selenium used in different nutritional treatments. All of these values based on milligrams per kilogram of diet, based on biochemical analysis and measurement of mineral values in the diet

parameter	Experimental treatments			
	Control	Nano Se	Nano Mg	Nano Se+Nano Mg
Nano magnesium	207.3	235.7	685.3	740.8
Nano selenium	0.65	4.44	0.73	4.36
Protein	508.9	509.7	511.3	506.2
Lipid	122.3	124.1	119.8	125.4
Ash	113.8	109.9	114.3	107.7
Moisture	71.6	68.4	70.1	67.8

*** All data recorded on average from 3 replications.**

نانوذرات سلنیوم استفاده شده دارای غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (1000 ppm) بوده و از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان (مشهد، ایران) و ساخت کشور اسپانیا و با درصد خلوص ۹۹/۹۵ درصد و نانوذرات منیزیم استفاده شده از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان (مشهد، ایران) و ساخت کشور آمریکا و با درصد خلوص ۹۹ درصد، تهیه شد.

غذای استفاده شده در این آزمایش با توجه به سن و اندازه ماهیان سی‌باس آسیایی از شرکت فرادانه خریداری شد. که ابتدا آسیاب و سپس مقادیر لازم از نانو ذرات منیزیم (حالت پودری) و سلنیوم (محلول) جهت ساخت جیره‌های مورد نظر، به خوبی با آب مقطر مخلوط گردیده و سپس به غذای پایه اضافه شد و سپس غذای خمیری حاصل چرخ شده و سپس تا حصول حدود ۱۰ درصد رطوبت، در دمای اتاق خشک شد. غذای ساخته شده تا زمان مصرف درون کیسه‌های پلاستیکی و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

نگهداری شد (جدول ۱). در طول دوره پرورش، غذادهی به طور ثابت و به میزان سیری و تا ۳ درصد وزن بدن، در هر تانک انجام شد. این میزان غذا به صورت دو وعده در ساعات ۱۰ و ۱۷ در اختیار ماهیان قرار می‌گرفت. پس از غذادهی، باقی‌مانده غذاها از تانک‌ها خارج و محاسبه شد. غذادهی به مدت ۴۰ روز صورت گرفت و سپس در پایان دوره آزمایش نسبت به نمونه‌برداری از ماهی‌ها و زیست-سنجی ماهیان اقدام شد و نتایج ثبت گردید.

یک روز قبل از نمونه‌برداری غذادهی قطع شد. سطح آب تانک‌ها پایین آورده شد و ماهی‌های هر تانک جداگانه صید شد و مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. با استفاده از داده‌های حاصل از زیست‌سنجی در پایان دوره آزمایش، شاخص‌های افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و بازماندگی، جهت سنجش کیفیت رشد و عملکرد نانوذرات سلنیوم و منیزیم اضافه شده به جیره غذایی مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفتند (Biswas, 1993; Asadi et al., 2016).

جهت سنجش میزان سلنیوم و منیزیم تجمع یافته در بافت کبد، در پایان دوره از هر تکرار یک نمونه کبد جداسازی شد و سریعا به فریزر ۸۰ – درجه سانتی‌گراد منتقل شد. در مجموع ۱۲ عدد از بافت کبد جهت سنجش میزان سلنیوم و منیزیم به آزمایشگاه مهر تهران منتقل شدند. این نمونه‌ها در ابتدا جهت سنجش میزان سلنیوم و منیزیم هضم اسیدی شدند که برای این منظور حداکثر ۱ گرم از بافت کبد برداشته شد و با ۸ میلی‌لیتر نیتریک اسید ۶۵ درصد و ۱/۵ میلی‌لیتر هیدروژن پراکسید ۳۰ درصد مخلوط شدند. پس از این مرحله، جهت هضم و یکنواخت شدن نمونه‌ها از سیستم ماکرویو استفاده شد. در نهایت نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی و آب دو بار تقطیر در ارلن فیلتر شدند و به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسیدند و جهت اندازه‌گیری سلنیوم و منیزیم از دستگاه جذب اتمی کوره گرافیتی (مدل Younglin AAS 8020 ساخت کشور کره) استفاده شد (Elia et al., 2011).

پس از اندازه‌گیری طول و وزن، جهت بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی ابتدا لوله گوارش ماهی‌ها به طور کامل از مری تا مخرج جدا گردید. محتویات غذای باقیمانده در روده پس از شکافتن روده خارج شده و چند بار با سرم فیزیولوژی شست‌وشو داده شد (Lemieux et al., 1999). سپس نمونه‌های روده داخل میکروتیوپ‌های ۲ میلی‌لیتری قرار داده شد و در داخل یخ به آزمایشگاه انتقال یافته و در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

نمونه‌های روده که در فریزر ۸۰- قرار داده شده بود، پس از خارج کردن از میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری توسط ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین گردید و قبل از آب شدن کامل یخ آن به داخل لوله‌های آزمایش شیشه‌ای انتقال یافت. سپس به نسبت ۱ به ۹ (w/v) محلول بافر هموژن روی نمونه ریخته شد. برای ساخت بافر هموژن، Tris-HCl ۵۰ میلی‌مولار، KCL ۵۰ میلی‌مولار و CaCl ۲۰ میلی‌مولار ترکیب شدند و pH نیز روی ۷/۸ تنظیم شد. برای ساخت بافر Tris-HCl ، EDTA ۰/۱ میلی-مولار و تریتون x-100 ۰/۱ درصد مورد استفاده قرار گرفت (Mohammadi Azarm et al., 2012). سپس نمونه‌ها توسط هموژنایزر دستی مدل IKA®T18 basic ساخت کشور آمریکا هموژن شد. همه مراحل روی یخ انجام شد و ظروف حاوی نمونه در تمام مدت در میان یخ قرار داده شد (Rungruangsak-Torrissen et al., 2006). نمونه‌های هموژن شده در داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد. در ادامه هموژن حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار (K System centurion ساخت کشور انگلیس) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور g × ۶۲۰۰ سانتریفوژ شدند. سپس مایع رویی (Supernatant) حاصله در ویال‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری تقسیم شدند و در نهایت از سوپرناتانت به دست آمده برای سنجش آنزیمی استفاده شد. نتایج به دست آمده برای فعالیت‌های آنزیمی بر اساس میزان فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول سوبسترا که در دقیقه به ازای میلی‌گرم وزن تر بافت و میلی‌گرم پروتئین آزاد می-شود (U/mg protein/min)، بیان گردید.

جهت سنجش غلظت پروتئین نمونه‌ها کیت تشخیص کمی پروتئین کل شرکت پارس آزمون، با روش فتومتریک طبق روش بیوره (Biuret)، استفاده قرار گرفت. در این روش پروتئین در محیط قلیایی با یون‌های مس تشکیل یک کمپلکس لاجوردی رنگ می-دهد. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار پروتئین در نمونه می-باشد(Thomas,1998)

فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش فتومتریک آنزیمی-کالریمتری با استفاده از کیت تشخیص کمی α– AMYLASE شرکت پارس آزمون سنجیده شد (Henkel et al., 1984). جهت سنجش آنزیم آلکالین فسفاتاز، کیت تشخیص کمی آلکالین فسفاتاز شرکت پارس آزمون مورد استفاده قرار گرفت. در این روش سوبسترای P-Nitrophenylphosphate توسط آنزیم آلکالین فسفاتاز به فسفات و پارانیتروفنول شکسته می‌شود که یک واکنش رنگ‌زا می‌باشد (Fischbach and Zawta, 1992). فعالیت آنزیم لیپاز با استفاده از کیت تولیدی شرکت پارس آزمون سنجش گردید (Graca et al., 2005). برای سنجش فعالیت آنزیم تریپسین از روش Worthington et al. (1991) استفاده گردید. برای سنجش آنزیم کیموتریپسین، از روش Hummel (۱۹۵۹) استفاده گردید.

هر تانک به صورت یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و نتایج به صورت میانگین±خطای معیار گزارش شد. در این تحقیق کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار spss نسخه ۲۰ استفاده شد و رسم نمودارها نیز در نرم افزار Microsoft Office Excel 2013 انجام گرفت. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA)، برای مقایسه میانگین‌ها از پس آزمون دانکن برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها استفاده شد. سطح خطای معیار در این تحقیق، کوچک‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

اثر سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم و منیزیم بر شاخص‌های رشد در پایان دوره در جدول ۲ ارائه گردیده است. در آغاز دوره، بین چهار تیمار آزمایش از لحاظ میانگین وزن اولیه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P>0/05). با توجه به نتایج بدست آمده از سنجش شاخص‌های رشد در پایان دوره، در ماهیان تغذیه شده با تیمار ترکیبی نانوذرات سلنیوم و نانوذرات منیزیم، بالاترین میزان افزایش وزن بدن به میزان ۲۶/۵۸ ±۱۳۱/۳۳ درصد و نرخ رشد ویژه، به میزان ۰/۲۸ ±۲/۰۸ درصد به روز، را نشان داد که با تیمار کنترل، دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<0/05). علاوه بر این، میانگین وزن نهایی در تیمارهای نانوسلنیوم، نانومنیزیم و تیمار ترکیب نانوسلنیوم و نانومنیزیم، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشته، اما دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار کنترل بودند (P<0/05). در شاخص‌های رشد مورد بررسی، بیشترین مقادیر در تیمار ترکیبی نانوسلنیوم و نانومنیزیم مشاهده گردید، هرچند با دو تیمار دارای مکمل دیگر، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>0/05).

نتایج مربوط به اندازه‌گیری سلنیوم و منیزیم کبدی در جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین میزان تجمع سلنیوم در کبد مربوط به گروه نانوذرات سلنیوم (به میزان ۰/۱۰ ±۲/۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) بود که اختلاف معنی‌داری را با تیمار نانومنیزیم و کنترل داشت (P<0/05). بیشترین میزان تجمع منیزیم در کبد مربوط به گروه ترکیبی نانوذرات سلنیوم و منیزیم (به میزان ۷/۰۰ ±۱۴۷/۰۰ میلی-گرم در کیلوگرم) بود که اختلاف معنی‌داری را با سه تیمار دیگر نشان داد (P<0/05).

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۴، در این تحقیق کمترین مقدار آلکالین فسفاتاز (۱۷/۷۰ ±۱۴۵/۲۴ U/mg protein) در تیمار ترکیبی مشاهده شد و با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). بیشترین مقدار لیپاز (۰/۰۳ ±۰/۸۶ U/mg protein) در تیمار نانومنیزیم مشاهده شد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). حداکثر مقدار آنزیم تریپسین (U/mg protein ۰/۰۰۱ ±۰/۰۵۴) در تیمار نانومنیزیم و حداقل آن (۰/۰۰۲ ±۰/۰۴۴ U/mg protein) در تیمار نانوسلنیوم مشاهده شد. (p<۰/۰۵). بیشترین میزان آنزیم کیموتریپسین (U/mg protein ۰/۰۰۴ ±۰/۲۱۴)، در تیمار نانومنیزیم و کمترین مقدار آن (۰/۰۲۴ ±۰/۱۶۸ U/mg protein) در تیمار شاهد مشاهده شد (p<۰/۰۵). همچنین مقدار آنزیم آمیلاز در بین چهار تیمار آزمایشی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (p>۰/۰۵).

جدول ۲: شاخص‌های رشد ماهیان جوان سی‌باس آسیایی تغذیه شده با نانو ذرات سلنیوم و نانوذرات منیزیم در پایان دوره ۴۲ روزه (میانگین±خطای معیار، n = 3).

Table 2- Growth parameters of Asian Sea bass juveniles fed with diets supplemented with selenium and magnesium nanoparticles (Mean±SE, n = 3).

Growth parameter	Experimental treatments			
	Control	Nano Se	Nano Mg	Nano Se+Nano Mg
Initial weight (g)	33.02±2.35	34.33±1.21	31.94±3.56	31.83±0.41
Final weight (g)	54.22±4.41^{b}	75.02±2.40^{a}	64.36±3.92^{ab}	73.69±9.32^{a}
Weight gain (%)	65.01±21.26^{b}	118.77±13.01^{a}	103.91±32.91^{ab}	131.33±26.58^{a}
SGR (%/day)	1.23±0.32^{b}	1.95±0.14^{a}	1.75±0.42^{ab}	2.08±0.28^{a}
Survival rate (%)	74.07±27.96	88.88±19.24	77.77±19.24	85.18±6.41

*** Different letters in each row indicate a significant difference between the experimental groups (Mean ± S.E) (p<0.05).**

جدول ۳: اندازه‌گیری میزان تجمع سلنیوم و منیزیم کبدی ماهیان جوان سی‌باس آسیایی در انتهای دوره آزمایش بر اساس میلی‌گرم در کیلوگرم

Table 3- Measuring the accumulation of selenium and magnesium in the liver of young Asian seabass at the end of the experimental period based on mg/kg

Mineral	Experimental treatments			
	Control	Nano Se	Nano Mg	Nano Se+Nano Mg
Magnesium	110.00±2.00^{c}	108.00±8.00^{c}	126.00±6.00^{b}	147.00±7.00^{a}
Selenium	0.57±0.13^{b}	2.12±0.10^{a}	0.62±0.07^{b}	1.99±0.20^{a}

*** Different letters in each row indicate a significant difference between the experimental groups (Mean ± S.E) (p<0.05).**

جدول ٤- آنزیم‌های گوارشی ماهیان جوان سی‌باس آسیایی تغذیه شده با نانوذرات منیزیم و سلنیوم در پایان دوره ٤٢ روزه آزمایش(میانگین±خطای معیار، n = 3).

Table 4– Gastric enzymes activity levels of Asian Sea bass juveniles fed with diets supplemented with selenium and magnesium nanoparticles (Mean±SE, n = 3).

Growth parameter	Experimental treatments			
	Control	Nano Se	Nano Mg	Nano Se+Nano Mg
ALP (U/mg protein)	507.45±112.16^{a}	611.06±82.00^{a}	498.52±79.59^{a}	145.24±17.70^{b}
Amylase (U/mg protein)	4.20±1.57	1.91±0.43	2.35±0.04	2.48±0.04
Lipase (U/mg protein)	0.53±0.01^{b}	0.53±0.04^{b}	0.86±0.03^{a}	0.47±0.11^{b}
Trypsin (U/mg protein)	0.050±0.002^{ab}	0.044±0.002^{b}	0.054±0.001^{a}	0.047±0.002^{ab}
Chymotrypsin (U/mg protein)	0.168±0.024^{b}	0.197±0.004^{ab}	0.214±0.004^{a}	0.181±0.008^{ab}

*** Different letters in each row indicate a significant difference between the experimental groups (Mean ± S.E) (p<0.05).**

٤. نتیجه‌گیری

رشد ماهی ممکن است به وسیله بسیاری از عوامل زیست محیطی و فیزیولوژیک کاهش یا افزایش یابد. بنابراین توانایی ماهی برای رشد می‌تواند از طریق چندین عامل گوارشی مانند سوء هاضمه، جذب ناچیز مواد مغذی، تبدیل غذا و کارآمدی آن تحت تاثیر قرار گیرد که وابسته به کیفیت غذاست و می‌تواند رشد را تقویت کند و این امر وابسته به کارآمدی آنزیم‌های گوارشی است (Nya and Austin, 2011). ظرفیت گوارشی و فعالیت‌های آنزیمی از عوامل مهم تأثیرگذار در نرخ رشد بوده و می‌توانند نقش محدودکننده‌ای داشته باشند (Movahedian et al., 2016).

در تحقیق حاضر طبق جدول ۲، در تیمارهای تغذیه شده با تیمار ترکیبی نانوذرات سلنیوم و نانوذرات منیزیم، بالاترین میزان افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه را نشان داد که با تیمار کنترل، دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). علاوه بر این، میانگین وزن نهایی در تیمارهای نانوسلنیوم، نانومنیزیم و تیمار ترکیب نانوسلنیوم و نانومنیزیم، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشته، اما دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار کنترل بودند ($p<۰/۰۵$). در شاخص‌های رشد مورد بررسی، بیشترین مقادیر در تیمار ترکیبی نانوسلنیوم و نانومنیزیم مشاهده گردید، هرچند با دو تیمار دارای مکمل دیگر، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p<۰/۰۵$). وزن بدن و نرخ رشد ویژه، نمایانگر وضعیت تغذیه‌ای ماهی هستند (Hosseinzadeh Sahhafi and Nafari Yazdi, 2014). با توجه به بالا بودن این شاخص‌ها در گروه نانوذرات سلنیوم و گروه نانوذرات منیزیم و سلنیوم می‌توان گفت که این تیمارها از شرایط رشد بهتری نسبت به تیمار کنترل برخوردار بوده‌اند. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج برخی از مطالعات دیگر همخوانی دارد. Jaramillo et al. (2009) با افزودن ۱ میلی‌گرم سلنو دی ال متیونین به جیره غذایی ماهی hybrid striped bass، بالاترین افزایش وزن را در مقایسه با دیگر تیمارها بدست آوردند. Liu et al. (2010) با افزودن ۱ میلی‌گرم سلنیوم به ازای هر کیلوگرم در جیره ماهی cobia، بالاترین میزان نرخ رشد ویژه را در مقایسه با سایر تیمارها و گروه کنترل بدست آوردند. Han et al. (2011) با افزودن ۲/۵ میلی‌گرم سلنیوم به ازای هر کیلوگرم در جیره ماهی کپور گیبل، بالاترین میزان افزایش وزن را در مقایسه با سایر تیمارها و گروه کنترل بدست آوردند. Ashouri et al. (2015) با افزودن ۱ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم به جیره غذایی ماهی کپور معمولی، بالاترین میانگین وزن نهایی و درصد افزایش وزن را بدست آوردند. Ilham and Fotedar (2016) با افزون ۲ میلی‌گرم سلنیوم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی سی‌باس آسیایی جوان حاوی ۲۵ میلی‌گرم پودر لوپین بالاترین میزان وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و افزایش وزن را بدست آوردند. Ilham et al. (2016) بالاترین میزان وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و افزایش وزن را در ماهیان سی‌باس آسیایی جوان تغذیه شده با جیره‌های فاقد پودر سویا و ۲ میلی‌گرم سلنیوم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی بدست آوردند. Nazari et al. (2017) بالاترین میانگین وزن اکتسابی و نرخ رشد روزانه را در ماهیان قزل-آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۰/۴۵گرم سلنیوم آلی بر کیلوگرم بدست آوردند. Seiedi and Kalbassi (2017) بالاترین میزان وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه را در ماهیان کاراس طلایی تغذیه شده با جیره های حاوی ۰/۵میلی‌گرم نانوسلنیوم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی بدست آوردند. که با نتایج این تحقیق در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های نانوسلنیوم به تنهایی و نانوسلنیوم و نانومنیزیم، همخوانی دارد.

با توجه به خصوصیات نانوذارت سلنیوم (فعالیت بالای سطحی، ضریب کاتالیستی بالا، قابلیت جذب قوی و سمیت پایینی) (Wang et al., 2007; Zhang et al., 2008) و از طرفی کارایی قابل مقایسه با سلنیوم و سلنیوم–متیل سلنوسیستئین در تنظیم ساز و کار سلنوآنزیم ها (Zhang et al., 2008) ، افزایش رشد در تیمارهای دارای مکمل نانوسلنیوم و نانومنیزیم، کاملا توجیه پذیر است.

Phromkunthong et al. (1997)، بالاترین میانگین وزن نهایی و افزایش وزن را در ماهیان سی‌باس آسیایی تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم منیزیم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی بدست آوردند. El-Mowafi and Maage (1998) بالاترین میانگین افزایش وزن و وزن نهایی ماهی آزاد اقیانوس اطلس را در گروه تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم منیزیم به ازای هر کیلوگرم جیره مشاهده کردند. Ye et al. (2010) بیشترین میزان افزایش وزن و وزن نهایی ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) را در تیمارهای تغذیه شده با ۴۰۰ میلی‌گرم منیزیم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی بدست آورند.

Han et al. (۲۰۱۱) در ماهیان کپور کاراس طلایی، بالاترین میانگین افزایش وزن و وزن نهایی را در گروه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم منیزیم به ازای هر کیلوگرم بدست آوردند. Wang et al. (2011) بالاترین میانگین افزایش وزن، وزن نهایی و نرخ رشد ویژه را در کپورهای علفخوار تغذیه شده با جیره‌های ۶۰۰ میلی‌گرم منیزیم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی بدست آوردند. Liang et al. (2012) بالاترین میانگین افزایش وزن، وزن نهایی و نرخ رشد ویژه کپور علفخوار در تیمارهای تغذیه شده با جیره های حاوی ۷۷۹ میلی گرم منیزیم به ازای کیلوگرم جیره غذایی مشاهده کردند. Lin et al. (2013) بیشترین میزان افزایش وزن تیلاپیای هیبرید نگهداری شده در آب شیرین و شور را به ترتیب با تغذیه از جیره‌های حاوی ۰/۱۵ و ۰/۳ گرم منیزیم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی بدست آوردند.

منیزیم یک کوفاکتور ضروری برای بسیاری از واکنش‌های آنزیمی است و شامل انتقال گروه‌های فسفات (فسفوکیناز)، هیدرولیز فسفات و گروه‌های پری فسفات (فسفوکیناز و پیرو فسفاتاز) است. همچنین اسیدهای چرب اشباع شده با استیل کوآنزیم A (تیوکیناز) را فعال می‌کند و سنتز اسید آمینه را فعال می‌کند. عملکرد آنزیمی منیزیم به خوبی مشخص شده است. منیزیم همچنین در متابولیسم بافت اسکلتی، تنظیم اسمزی و انتقال عصبی عضلانی ضروری است (Houston, 1985). تفاوت در میزان موثر منیزیم در تحقیقات اشاره شده، می‌تواند به شرایط انجام آزمایش، نوع منیزیم بکار رفته و خصوصا گونه مورد مطالعه باشد (Zhang et al., 2016). با بررسی دقیق‌تر مشخص می‌گردد که سطح بکار رفته نانومنیزیم در تحقیق حاضر بسیار پایین‌تر از سطوح منیزیم مورد استفاده در تحقیقات اشاره شده سایر محققین می‌باشد. در واقع نانومنیزیم با وجود ذارات کوچکتر می‌تواند ضمن جذب بیشتر و راحت تر از دیواره روده، اثرات مثبت منیزیم را تشدید و اثرات منفی منیزیم را کاهش دهد (Zhang et al., 2016). همچنین ذرات نانومتر، خصوصیاتی جدیدی را نظیر فعالیت بالای سطحی، ضریب کاتالیستی بالا، قابلیت جذب قوی و سمیت پایینی را نشان می‌دهند (Wang et al., 2007; Zhang et al., 2008).

نتایج مربوط به اندازه‌گیری سلنیوم و منیزیم کبدی در جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین میزان تجمع سلنیوم در کبد مربوط به گروه نانوذرات سلنیوم و ترکیبی سلنیوم و منیزیم بود که اختلاف معنی‌داری را با دو تیمار دیگر نشان دادند. بیشترین میزان تجمع منیزیم در کبد مربوط به گروه نانو ذرات سلنیوم و منیزیم بود که اختلاف معنی‌داری را با تیمار کنترل و تیمار نانوسلنیوم نشان داد. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج برخی از مطالعات دیگر همخوانی دارد. Liu et al. (2010) با افزودن ۱ میلی‌گرم سلنیوم به ازای هر کیلوگرم در جیره ماهی کوبیا، بیشترین میزان تجمع سلنیوم در کبد را در مقایسه با سایر تیمارها و گروه کنترل بدست آوردند. Ashouri et al. (2015)، بالاترین میزان تجمع سلنیوم در کبد را با افزودن ۲ میلی‌گرم نانو ذره سلنیوم به جیره غذایی ماهی کپور معمولی بدست آوردند. Lorentzen et al. (1994) بیان کردند که بیشترین غلظت سلنیوم در کبد و کلیه یافت می‌شوند، زیرا اندام-های اصلی متابولیسم سلنیوم هستند. کبد و کلیه احتمالا انتقال زیستی ترکیبات خارجی و حذف آنها را بر عهده دارند، در حالی که دیگر بافت ها، به عنوان مثال عضله، می‌تواند به عنوان محل‌های تجمع عمل کنند (Ciardullo et al., 2010). بنابراین بالا بودن میزان سلنیوم در کبد می‌تواند به دلیل متابولیسم آن در این اندام باشد.

Lin et al. (2013) با افزایش غلظت منیزیم در جیره غذایی تیلاپیای هیبرید نگهداری شده در آب شیرین، روند افزایشی در میزان تجمع منیزیم کل بدن بدست آوردند، اما این روند در ارتباط با ماهیان نگهداری شده در آب شور وجود نداشت. Zhang et al.(2016) با افزایش غلظت منیزیم در جیره غذایی سی باس ژاپنی، روند افزایشی در میزان تجمع منیزیم کل بدن بدست آوردند. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان تجمع منیزیم در کبد ارتباط نزدیکی با میزان منیزیم جیره غذایی دارد. منیزیم نقش تنظیم-کنندگی در فرآیندهای پروکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی دارد (Ozmen et al., 2004). بالا بودن میزان منیزیم کبدی در تیمار مصرف کننده نانوذرات سلنیوم و منیزیم از یک طرف می‌تواند دلیل بالا بودن میزان سلنیوم کبدی باشد و از طرف دیگر نقشی که منیزیم در آنزیم‌های دخیل در فرآیند متابولیسم سلنیوم دارد، باشد.

آگاهی از الگوی آنزیم‌های گوارشی می‌تواند به درک توانایی یک گونه در استفاده از مواد غذایی مختلف کمک کند (Hofer and Kock, 1989). رفتار آنزیم‌های گوارشی در ماهیان استخوانی مشابه سایر مهره‌داران می‌باشد (Fernandez et al., 2001). بنابراین ارزیابی فعالیت آنزیم‌های گوارشی در گونه‌های

پرورشی، می‌تواند در انتخاب اجزاء جیره غذایی مفید واقع شود (Lan and Pan, 1999). در این بین، تعیین فعالیت‌های آنزیمی ویژه (پروتئازها، کربوهیدرازها و لیپاز) می‌تواند اطلاعات مهمی درخصوص توانایی هضم و راندمان هر گونه پرورشی در خصوص ترکیبات غذایی مختلف فراهم نماید (Caruso et al., 2009). توانایی یک ماهی برای هضم و جذب مواد غذایی به حضور و کیفیت آنزیم‌های گوارشی بستگی دارد (Seenappa and Devaraj, 1995). عوامل متعددی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی تاثیرگذار هستند که از جمله می‌توان به سن (Kuzmina, 1996)، نوع تغذیه (Jonase et al., 1983)، ترکیب غذا (Deguara et al., 2003)، فصل و دمای سازگاری گونه مورد نظر (Lunstedt et al., 2004) اشاره نمود. علاوه بر آن میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی با توجه به نوع رژیم غذایی (از پلانکتون‌خواری تا شکارچی و بنتوزخواری) تغییر می‌کند (Kuzmina, 1996).

در انتهای دوره آزمایش بیشترین و کمترین مقدار فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز، به ترتیب در تیمار نانوسلنیوم و ترکیب نانوسلنیوم و نانومنیزیم مشاهده شد. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم‌های لیپاز، تریپسین و کیموتریپسین در تیمار نانومنیزیم بدست آمد. همچنین مقدار فعالیت آنزیم آمیلاز در بین چهار تیمار آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی به فراسنجه‌های مختلفی همچون ویژگی‌های ذاتی آنزیم، میزان تولید و ترشح آن وابسته است (Yan et al., 1996). Adkins and Ewan (1984) اثر سلنیوم را بر آنزیم‌های گوارشی پانکراس خوک مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که مکمل سلنیوم بر فعالیت تریپسین، کیموتریپسین، (آلفا)–آمیلاز یا لیپاز در بافت پانکراس تاثیرگذار نیست. عوامل مختلفی نظیر نوع نانو ذره و اندازه آن، گونه پرورشی، مدت زمان آزمایش و همچنین مرحله زیستی مورد استفاده می‌تواند در تفاوت نتایج این مطالعه با پژوهش‌های یاد شده موثر باشد، که مستلزم مطالعات مقایسه‌ای بیشتری می‌باشد.

در این مطالعه اثرات افزودن نانوذرات سلنیوم، منیزیم و ترکیب آن‌ها بر شاخص‌های رشد، میزان تجمع کبدی و آنزیم‌های گوارشی بررسی شد. به‌طورکلی استفاده از نانوذرات سلنیوم و منیزیم و ترکیب آن‌ها باعث بهبود شاخص‌های رشد گردید. استفاده از نانوذرات سلنیوم و منیزیم در جیره غذایی اثرات مثبت روی آنزیم‌های گوارشی ماهیان داشت.

۵. تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بدینوسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، به علت حمایت مالی و معنوی از این پروژه اعلام می‌دارند.

References

Adkins, R.S., Ewan, R.C. 1984. Effect of Supplemental Selenium on Pancreatic Function and Nutrient Digestibility in the Pig. *Journal of animal Science, 58*(2), pp. 351-355. doi: 10.2527/jas1984.582351x.

Afshar Mazandaran, N. 2002. *Practical guidance of nutrition and nutrients and medications in aquatic animals in Iran.* Noorbakhsh Publication, 216 p. (In Persian).

Arshadi, A., Yavari, V., Oujifard, A., Mousavi, S.M. 2016. Effect of Different Levels of Dietary Nucleotide on Growth and Haemolymph Biochemical Parameters of *FemaleLitopenaeus vannamei* (Boone, 1931) during Maturation and Eyestalk Ablation, *Journal of Marine Science and Technology, 15*(2), pp. 115-129. Doi: 10.22113/jmst.2016.33390. (In Persian).

Asadi, T., Zanguee, N., Mousavi, S.M., Yavari, V. 2016. Effects of ginger extract on some hematological and serological parameters and growth performance in *Barbus sharpeyi*. *Journal of Marine Science and Technology, 15*(1), pp. 100-110. https://doi.org/10.22113/jmst.2016.9570. (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*, pp. 25-29. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.04.021

Biswas, S.P. 1993. *Manual of methods in fish biology*. South Asian Publishers, New Delhi, 157P.

Cai, S.J., Wu, C.X., Gong, L.M., Song, T., Wu, H., Zhang, L.Y. 2012. Effects of nano-selenium on performance, meat quality, immune function, oxidation resistance, and tissue selenium content in broilers. *Poultry Science, 91*, pp. 2532–2539. doi: 10.3382/ps.2012-02160.

Caruso, G., Denaro, M.G., Genoves, L. 2009. Digestive enzyme in some teleost species of interest for Mediterranean Aquaculture. *The Open Fish Science Journal. 2*, pp. 74-86. doi: 10.2174/1874401X00902010074.

Ciardullo, S., Aureli, F., Raggi, A., Cubadda, F. 2010. Arsenic speciation in freshwater fish: Focus on extraction and mass balance. *Talanta. 81* (1-2), pp. 213–221. doi: 10.1016/j.talanta.2009.11.060.

Deguara, S., Jauncey, K., Agius, C. 2003. Enzyme activities and pH variation in the digestive tract of gilthead seabream. *Journal of Fish Biology, 62*, pp. 1033-1043. https://doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00094.x

Eisler, R. 2000. *Handbook of chemical risk assessment: health hazards to humans, plants, and animals.* Vol. 3. Boca Raton, FL: CRC Press, Boca Raton, FL.

Elia, A.C., Prearo, M., Pacini, N., Dorr, A.J.M., Abete, M.C. 2011. Effects of selenium diets on growth, accumulation and antioxidant response in juvenile carp. *Ecotoxicology and environmental safety, 74*(2), pp. 166-173. 10.1016/j.ecoenv.2010.04.006.

EL-movafi, A.F.A., Maage, A. 1998. Magnesium requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr in seawater-treated fresh water. *Aquaculture Nutrition, 4*, pp. 31-38. doi: 10.1046/j.1365-2095.1998.00100.x.

Fernandez, I., Moyano, F.J., Diaz, M., Martinez, T. 2001. Characterization of α-amylase activity in five species of Mediterranean sparid fish (Sparidae, Teleostei). *Journal of Experimental Marin Biology and Ecology. 262*, pp. 1-12. doi: 10.1016/S0022-0981(01)00228-3.

Fischbach, F., Zawta, B. 1992. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. *Kiln Lab, 38*, pp. 555-561

Ghavam Pour, A. 2018. *Introduction in Sea Bass aquaculture, classification and history*, Iranian Fisheries Research Center, 42 p. (In Persian).

Graca, L., Chen, T.C., Le Moine, A. 2005. Dominant tolerance: activation thresholds for peripheral generation of regulatory T cells. *Trends Immunol, 26*, pp. 130-135. doi: 10.1016/j.it.2004.12.007.

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* (3), pp. e741–e749. https://doi.org/10.1111/j.13652095.2010.00841.x

Henkel, E, Morich S, Henkel, R. 1984. 2-Chloro-4-nitrophenyl-B-D-maltohepataoside: A New substrate for the Determination of a-Amylase in Serum and Urine. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 22*(7). pp. 489-496. doi: 10.1515/cclm.1984.22.7.489.

Hofer, R., Kock, G. 1989. Method of quantitative determination of digestive enzyme in fish larvea. *Poiskie Archiwum Hydrobio. 36*, pp. 439-441.

Hosseinzadeh Sahhafi, H., Nafari Yazdi, M. 2014. Growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with respect to nutritional factors in north Iran (Haraz River). *Iranian Journal of Fisheries Sciences, 13*(3), pp. 509-521. doi: 20.1001.1.15622916.2014.13.3.1.5.

Houston, A.H. 1985. *Magnesium* 4, pp. 106.

Hummel, B.C.W. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37,* pp. 1393-1399.

Ilham, I., Siddik, M.A., Fotedar, R. 2016. Effects of Organic Selenium Supplementation on Growth, Accumulation, Haematology and Histopathology of Juvenile Barramundi *(Lates calcarifer*) Fed High Soybean Meal Diets. *Biological Trace Element Research. 174*(2), pp. 436-447. doi: 10.1007/s12011-016-0708-1.

Ilham, I., Fotedar, R. 2016. Growth, enzymatic glutathione peroxidase activity and biochemical status of juvenile barramundi *(Lates calcarifer)* fed dietary fermented soybean meal and organic selenium. *Fish Physiology and Biochemistry. 43*(3), pp. 775-790. doi: 10.1007/s10695-016-0331-2.

Jaramillo, F. Jr., Peng, Li., Gatlin, D.M. 2009. Selenium nutrition of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) bioavailability, toxicity and interaction with vitamin E. *Aquaculture Nutrition, 15*(2), pp. 160-165. https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00579.x

Jonase, E., Ragyanszki, M., Olah, J., Boros, L. 1983. Proteolytic digestive enzymes of carnivorus (*Silurus glanis*), Herbivorus (*Hypophthalmictys molitrix*) and the omnivore (*Cyprinus carpio*) fishes. *Aquaculture. 30,* pp.145-154.

Kuzmina, V.V. 1996. Influence of age on some digestive enzymes activity in some freshwater teleosts. *Aquaculture. 148*(1), pp. 25-37. doi:
https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01370-1.

Lan, C.C., Pan, B.S. 1999. *In vitro* digestibility simulating the proteolysis of feed protein in the midgut gland of grass shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture. 109,* pp. 59-70.

Lemieux, H., Blier, P.U., Dutil, J.D. 1999. Do digestive enzymes set physiological limitation growth rate and food conversion efficiency in Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Fish Physiology and Biochemistry, 20,* pp. 293-303. doi: https://doi.org/10.1023/A:1007791019523.

Liang, J.J., Tian, L.X., Liu, Y.J., Yang, H.J., Liang G.Y. 2012. Dietary magnesium requirement and effects on growth and tissue magnesium content of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition, 18,* pp. 56-64. doi: https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00876.x.

Lin, Y.H., Shiau, S.Y. 2005. dietary selenium requirement of juvenile grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture, 250*(1), pp. 356-363.

Lin, Y.H., Ku, Ch.Y., Shiau, Sh.Y. 2013. Estimation of dietary magnesium requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*, reared in freshwater and seawater. *Aquaculture, 380-384*(4), pp. 47-51. doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.11.034.

Liu, K., Wang, X.J., Ai, Q., Mai, K., Zhang, W. 2010. Dietary selenium requirement for juvenile cobia (*Rachycetron canadum*). *Aquaculture Research. 41*(10), pp. 594-601. doi: 10.1111/j.1365-2109.2010.02562.x.

Lorentzen, M., Maage, A., Julshamn, K. 1994. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture, 121* (4), pp. 359–367. doi: https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90270-4.

Lunstedt, L.M., Melo, J.F.B., Moraes, G. 2004. Digestive enzymes and metabolical profle of *Pseudoplastisoma coruscans* (Teleostei: Siluriforms) in respons to diet composition. *Comparative Biochemistry and Physiology, 137,* pp. 331-339. doi: 10.1016/j.cbpc.2003.12.003.

Mohammadi Azarm, H., Abedian Kenari, A.M., Hedayat, M. 2012. Effect of dietary phospholipid sources and levels on growth performance, enzymes activity, cholecystokinin and lipoprotein Fractions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry. *Aquaculture Research, 44,* pp. 634-644. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.03068.x.

Morshedi, V., Nafisi Bahabadi, M., Azodi, M., Modaresi, M., Cheraghi, S. 2015. Effects of dietary probiotic (*Lactobacillus plantarum*) on body composition, serum biochemical parameters and liver enzymes of Asian sea bass (*Lates calcarifer*, Bloch 1790). *Journal of Marine Science and Technology, 14*(2), pp. 1-14. doi: 20.1001.1.20088965.1397.17.2.4.5. (In Persian).

Movahedian, R., Zakeri, M., Kochanian, P., Mousavi, S.M., Taghavi Moghadam, A. 2016. Gastric enzymes activity under different levels of methionine and lysine supplementation in diets of juveniles of *Sparidentex hasta*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences, 25*(2), pp. 93-97. doi: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8. (In Persian).

Nazari, K., Shamsaei Mehrjan, M., Eila, N., Sharif Pour, E., Kamali, A. 2017. Effects of organic and inorganic selenium on growth, hematological and immunological parameters of *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. *Iranian Journal of Fisheries Sciences, 26*(3), pp. 129-138. doi: 10.22092/ISFJ.2017.113528. (In Persian).

Nya, E.J., Austin, B. 2011. Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Aeromonas hydriphila* after the dietary application of garlic. *Fish and Shellfish Immunology, 30*(3), pp. 845-850. doi: 10.1016/j.fsi.2011.01.008.

Ozmen, I., Bayir, A., Cengiz, M., Sirkecioglu, A.N., Atamanalp. M. 2004. Effects of water reuse system on antioxidant enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792). *Vet. Med. Czech., 49* (10), pp. 373-378. doi: 10.17221/5726-VETMED.

Phromkunthong, W., Boonyaratpalin, V., Starch, V. 1997. Different concentrations of ascorbyl-2-monophosphate-magnesium as dietary sources of vitamin C for seabass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture. 151,* pp. 225–243.

Rimmer, M.A. 1995. *Barramundi Farming – An Introduction.* Queensland Department of Primary Industries Information Series, QI95020. 26 pp. Queensland Department of Primary Industries, Brisbane, Australia.

Rimmer, M.A. 2003. *Barramundi.* In: J.S. Lucas & P.C. Southgate (eds), Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants, pp. 364-381. Blackwell Publishing, Oxford, England. pp. 364–381.

Rimmer, M.A., Russell, D.J. 1998. *Aspects of the Biology and Culture of Lates calcarifer*. In: S.S. De Silva (ed.). Tropical Mariculture, Academic Press, London England. pp. 449–476.

Rungruangsak-Torrissen, K., Moss, R., Andersen, L., Berg, A., Waagbo, R. 2006. Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *Fish Physiology and Biochemistry, 32*, pp. 7-23. doi: 10.1007/s10695-005-0630-5.

Seenappa, D., Devaraj, K.V. 1995. Effect of different level of protein, fat and carbohydrate on growth, feed utilization and body carcass composition of fingerlings in *Catla catla*. *Aquaculture. 129*, pp. 243-249. doi: https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00273-Q.

Seiedi, J., Kalbassi, M.R. 2017. Effects of different levels of diet nano selenium (Nano-Se) on growth and gonad quality indices and seminal plasma antioxidants in male goldfish (*Carassius auratus gibelio*). *Aquatic Physiology and Biotechnology, 5(*2*),* pp. 68-80. doi: 10.22124/japb.2017.2406. (In Persian).

Thomas, L. 1998. *Clinical Laboratory Diagnostics.*1st ed. Frankfurt: TH-bookverlagsgesellschaft: 192-202.

Wang, H.L., Zhang, J.S., Yu, H.Q. 2007. Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: Comparison with selenomethionine in mice. *Free Radic. Biol. Med. 42,* pp. 1524–1533. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.013.

Wang, F.B., Lu, O.L., Lin, S.M., Li, Y., Chen, S., Wang, Y.G., Wen, H., Hu, C.J. 2011. Dietary magnesium requirements of juvenile grass

carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture Nutrition. 7,* pp. 691–700. doi: 10.1111/j.1365-2095.2010.00829.x.

Worthington, C.C. 1991. *Enzyme manual related Biochemical.* 3th Edition. Freehold, New jersey, pp. 212-215.

Yan, T., Teo, L.H., Sin, Y.M. 1996. Effects of metals on α-amylase activity in the digestive gland of the green mussel, *Perna viridis* L. *Bulletin of environmental contamination and toxicology, 56*(4), pp. 677- 682. doi: 0.1007/s001289900099.

Ye, C.X., Tian, L.X., Mai, K.S., Yang, H.J., Niu, J., Liu, Y.J. 2010. Dietary magnesium did not affect calcium and phosphorus content in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition, 4,* pp. 378-384. https://doi.org/10.1111/j.1365-2095. 2009. 00 675.x.

Zhang, J.S., Wang, X.F., Xu, T.W. 2008. Elemental selenium at nano size (nano-Se) as a potential chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: Comparison with Se-methylselenocysteine in mice. *Toxicol. Sci. 101,* pp. 22–31. doi: 10.1093/toxsci/kfm221.

Zhang, C.X., Huang, F., Li, J., Wang, L., Song, K., Mai, K.S. 2016. Interactive effects of dietary magnesium and vitamin E on growth performance, Body composition, blood parameters and antioxidant status in Japanese seabass (*Lateolabrax japanicus*). *Aquaculture Nutrition, 22,* pp. 708-722. https://doi.org/10.1111/anu.12393 .

Journal of Marine Science and Technology

Summer 2023, Vol. 22, No.2, pp. 37-49.

Available Online: ***http://jmst.kmsu.ac.ir***

Original Article

Synergistic effects of nutritional supplementation of selenium and magnesium nanoparticles on growth and gastric enzymes of Asian sea bass (*Lates calcarifer*)

Hamed Deilamy Pour [1], Seyed Mohammad Mousavi [1,2*], Mohammad Zakeri [1], Saeed Keyvanshokouh [1], Preeta Kochanian [1]

1. Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.
2. Excellence Center of Warm Water Fish Health and Diseases, Ahvaz, Iran.

[*] **Corresponding Author E-mail:** seied1356@yahoo.com

Received: 9 October 2018 **Revise Date:** 14 September 2020 **Accepted:** 15 September 202

DOI: 10.22113/jmst.2020.151646.2208

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of selenium, magnesium nanoparticles and their composition on growth and digestive enzymes of Asian seabass with a mean weight of 32.78±1.16 g for 42 days. After adaptation to the experimental conditions, 96 fish were randomly distributed in 12 fiberglass cylinder 300-liter tanks in equal numbers. Four treatments including control treatment, 4mg / kg nanoselenium, 500mg / kg nanomagnasium and combination of 4mg/ kg nanoselenium with 500mg / kg nanomagnasium were investigated. The fish were fed daily in satiation and up to 3% of body weight in two time a day. Samples needed to measure growth indices and digestive enzymes were collected at the end of the period. The results showed that in the fish fed the combined treatment, the highest body weight gain was 131.33±26.58 and the specific growth rate was 2.08±0.28 and there was a significant difference between the control treatment (65.01±21.26 and 1.23±0.32, respectively) (P <0.05). The results of this study showed that digestive enzymes of alkaline phosphatase, lipase, trypsin and chymotrypsin were significantly different between experimental treatments (P <0.05), so that the highest activity of alkaline phosphatase in nanoselenium treatment (611.06±82.00U/mg protein), the highest amount of lipase (0.86±0.03 U/mg protein), trypsin (0.054 ± 0.001 U/mg protein), and chymotrypsin (0.214±0.004U/mg protein) was seen in nanomagnesium treatment (P <0.05), whereas the amylase enzyme showed no significant difference between the experimental treatments (P> 0.05). The results of this study showed that the addition of selenium and magnesium nanoparticles to the diet of Asian Sea bass had positive effects on growth performance and digestive enzymes and suggested that magnesium nanoparticle supplementation (500 mg/kg) could be used alone or in combination with selenium nanoparticles (4 mg/kg nano-selenium and 500 mg / kg nano-magnesium) in the diet of Asian Sea bass.

Key words: Nanoparticles, Selenium, Magnesium, Asian Sea Bass, Digestive Enzymes

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons. org/licenses/ by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.