تاثیر سلنیوم آلی و معدنی در جیره غذایی بر برخی پارامترهای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

کاوس نظری[۱*] و سید پژمان حسینی شکرابی[۲]

۱) استادیار، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. *رایانامه نویسنده مسئول: kks.nazari@gmail.com

۲) استادیار گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۲۳

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر سلنیوم آلی و معدنی در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بر میزان تغییرات مالون دی‌آلدهید (MDA) و برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد شامل آسپارتات ترانس آمیناز (AST) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) انجام شد. برای این منظور ۸۱۰ عدد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۲/۲±۵۰/۶ گرم در قالب طرح تصادفی با جیره‌های مکمل شده با ۰ (شاهد)، ۰/۱۵، ۰/۳۰، ۰/۴۵ و ۰/۶۰ میلی‌گرم سلنیوم آلی (مخمر غنی شده با سلنیوم) و معدنی (سلنیت سدیم) در کیلوگرم خوراک با ۳ تکرار به مدت ۶۰ روز غذادهی شدند. در پایان دوره آزمایش نتایج به‌دست آمده نشان داد که میزان فعالیت آنزیم GPx در ماهیان تغذیه شده با ۰/۶۰ میلی‌گرم سلنیوم آلی در کیلوگرم جیره به حداکثر مقدار برابر ۰/۶۲±۵/۴۹ واحد بین‌المللی در لیتر رسید که دارای اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها بود ($p<0.05$). افزودن منابع مختلف سلنیوم به جیره سبب ایجاد یک روند کاهشی در میزان آنزیم AST گردید، اگرچه افزودن سلنیوم آلی از سطح ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به بالا سبب کاهش معنی‌دار این آنزیم شده و کمترین مقدار آن در تیمار ۰/۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم آلی (۱/۸۴±۴۹/۳۰ واحد بین‌المللی در لیتر) نسبت به سایر تیمارها به‌دست آمد ($p<0.05$). کمترین میزان MDA در تیمار ۰/۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم آلی (۰/۷۶±۱۹/۱۰ میکرومول در لیتر) در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد ($p<۰/۰۵$)، اما سطح MDA در بین ماهیان تغذیه شده با سلنیوم معدنی فقط در تیمار ۰/۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم معدنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و سایر تیمارها فاقد اختلاف معنی‌دار بودند ($p>0.05$). در مجموع با توجه به اهمیت سلنیوم در فعالیت آنزیم GPX و بر اساس نتایج تحقیق حاضر استفاده از سلنیوم آلی به‌خصوص به مقدار ۰/۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک در مقایسه با سلنیت سدیم دارای تاثیرات بیشتری در تقویت توانایی آنتی‌اکسیدانی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان داشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌های کبدی، سلنیوم، قزل‌آلای رنگین‌کمان.

مقدمه

در طول سال‌های اخیر میزان توجه به عنصر کمیاب سلنیوم در تغذیه حیوانات بسیار افزایش یافته است. این عنصر یکی از اجزای تشکیل‌دهنده آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) است که نقش بسیار مهمی در حفاظت از غشای سلولی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارد (Rotruck *et al.*, 1973). فعالیت بالای آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز تحت تاثیر جیره‌های حاوی سلنیوم در گونه‌های مختلفی از ماهیان مثل قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*؛ Hilton *et al.*, 1980)، ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*؛ Bell *et al.*, 1987)، گربه ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*؛ Gatlin & Wilson,1984)، هامور (*Epinephelus malabaricus*؛ Lin &

Shiau, 2005; Lin, 2014) و گیش ماهی دم زرد (*Seriola lalandi*؛ Le & Fotedar, 2014) گزارش شده است.

سلنیوم عنصری ضروری در عملکرد طبیعی سیستم ایمنی، ارتقا پاسخ‌های ایمنی سلولی و افزایش‌دهنده مقاومت در برابر عفونت‌های ویروسی است (Rayman, 2000). از این ماده به عنوان یک کاهنده سمیت فلزات سنگین مثل کادمیوم و جیوه نیز استفاده می‌شود (Southworth *et al*., 2000).

طی مطالعات مختلف مشخص شده که فاصله بین سطح مطلوب و موثر سلنیوم در جیره و سطحی که این عنصر دارای خواص نامطلوبی در جیره می‌گردد، بسیار به هم نزدیک است (Durigon *et al*., 2019). سطح مطلوب این عنصر برای گونه‌های مختلف ماهیان بین ۰/۲۱ تا ۱/۱۸ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی گزارش شده است (Durigon *et al*., 2019). در همین ارتباط Miller و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی تاثیر جیره‌های مکمل‌سازی شده با سلنیوم با منبع سدیم سلنات گزارش دادند که غلظت‌های حاد سلنیوم باعث کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) و گلوتاتیون-ترانسفراز (GSH) کبد در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد، اما در غلظت‌های تحت حاد هیچ‌گونه تاثیری بر میزان فعالیت این آنزیم و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل GPX نداشت.

نوع سلنیوم مورد استفاده نیز برای مکمل‌سازی جیره‌های غذایی بسیار مهم بوده و ارزش زیستی این عنصر به منبع آن در جیره غذایی وابسته است (Kouba *et al*., 2014). این ماده می‌تواند در طبیعت به شکل یک ماده غیرآلی مانند سلنیت و سلنات و یا یک ماده آلی مانند سلنو- متیونین، سلنو- سیستئین و سلنو- سیستین موجود باشد (Kucukbay *et al*., 2009). فرم آلی سلنیوم در مقایسه با فرم غیرآلی آن قابلیت جذب بالاتر و توانایی بیشتری در ارزش زیستی و سلامت ماهیان دارد (Lorentzen *et al*., 1994; Wang & Lovell, 1997; Wang *et al*., 2007). استفاده از مقادیر بالای سلنیوم ممکن است در ذخیره‌سازی مقادیری از ویتامین E به دلیل نقش هر دوی آنها در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی موثر باشد (Lin & Shiau, 2005). Ashouri و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش دادند که مکمل‌سازی جیره‌های غذایی با نانو ذرات سلنیوم در بهبود سیستم ایمنی ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) موثر است. Saffari و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی تاثیر منابع مختلف سلنیوم (آلی، معدنی و نانو) تغییرات معنی‌داری در سطح آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان کپور معمولی گزارش دادند. در مطالعه Lee و همکاران (۲۰۱۶) پس از ۱۰ هفته تغذیه بچه ماهیان تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) با سطوح مختلف سلنو- متیونین گزارش شد که میزان فعالیت آنزیم‌های میلو پراکسیداز (MPO) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در صورت استفاده از ۰/۳۰ میلی‌گرم سلنیوم در هر کیلوگرم جیره غذایی تا ۶/۳۱ میلی‌گرم سلنیوم در هر کیلوگرم جیره غذایی افزایش معنی‌دار داشت، اما میزان فعالیت این دو آنزیم در سطح بالاتر سلنیوم (۱۴/۷ میلی‌گرم سلنیوم در هر کیلوگرم جیره غذایی) به شکل معنی‌داری کاهش یافت.

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان یکی از گونه‌های متداول پرورشی در سرتاسر جهان است که در سال ۲۰۱۶ در حدود ۸۱۴ هزار تن معادل دو درصد از تولیدات آبزیان پرورشی در جهان تولید شد (FAO, 2018). با توجه به اهمیت ماهی قزل‌آلای رنگین به‌عنوان یک گونه با ارزش تجاری بالا و نبود اطلاعات کافی در خصوص تاثیر عناصر مختلف در جیره غذای بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم، مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه نقش سلنیوم آلی و معدنی بر برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۸۱۰ عدد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از خریداری از یکی از مزارع پرورش ماهی واقع در استان مازندران به محل انجام آزمایش واقع در ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خجیر (تهران) توسط کیسه‌های نایلونی دو لایه منتقل شدند. عملیات ضدعفونی یک روز قبل از انتقال بچه ماهیان به مخازن پرورشی با اضافه کردن ۱ میلی‌گرم در لیتر پرمنگنات پتاسیم انجام شد (زارعی، ۱۳۹۱).

بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۲/۲±۵۰/۶ گرم پس از گذراندن یک دوره ۷ روزه جهت

سازگاری با شرایط جدید و جیره پایه به‌صورت تصادفی در ۲۷ مخزن بتنی با ظرفیت ۱۰۰۰ لیتر در ابعاد ۱۰۰×۱۰۰×۱۰۰ سانتی‌مترمربع (یک مترمکعب) در قالب ۸ تیمار آزمایشی و یک گروه شاهد هر کدام با ۳ تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی تقسیم شدند. تراکم بچه ماهیان در هر مخزن بتنی ۳۰ عدد در نظر گرفته شد و حجم آبگیری مخازن ۸۰۰ لیتر بود. آب مورد نیاز در طول دوره پرورش از چشمه‌ای واقع در ۵۰۰ متری محل انجام آزمایش و از طریق دو عدد پمپ آب برقی تعبیه شده در مدخل حوضچه‌ها با دبی ۲۰ لیتر بر ثانیه تامین گردید. نیاز اکسیژنی بچه ماهیان با قرار دادن یک عدد سنگ هوا در هر مخزن برطرف شد که به پمپ هواده متصل بود. آب مخازن هر روز قبل از انجام غذادهی به‌منظور خارج کردن غذاهای مصرف نشده و مدفوع ماهیان از محیط پرورش سیفون می‌شد.

پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره آزمایش به صورت روزانه مورد سنجش قرار می‌گرفت. میانگین دما، pH، اکسیژن محلول و هدایت الکتریکی آب به‌ترتیب برابر با ۱±۱۶ درجه سانتی‌گراد، ۰/۱±۶/۳، ۰/۸±۸/۳ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۰۱±۰/۶۳ میلی‌موس بر ثانیه اندازه‌گیری شد.

برای ساخت غذا، ابتدا اقلام غذایی از شرکت چینه (تهران، ایران) خریداری شدند. سپس، تمامی مواد غذایی آنالیز و برای انجام جیره‌نویسی از طریق نرم‌افزار UFFDA فرموله شدند (Pesti *et al.*, 1992). ترکیب جیره مورد استفاده و آنالیز شیمیایی جیره ساخته شده در جدول ۱ ارایه شده است. جیره مورد نظر بر مبنای ۴۱ درصد پروتئین خام و ۸/۵ درصد چربی خام تنظیم شدند. ترکیبات تهیه شده پس از توزین با یکدیگر مخلوط و توسط چرخ‌گوشت به پلت تبدیل شدند (Lovell, 1998). هر جیره پس از درج مشخصات روی در ظرف پلاستیکی دربدار تا زمان مصرف درون یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

جدول ۱. اجزای جیره‌های آزمایشی و ترکیب تقریبی جیره‌های مورد استفاده در تغذیه بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با سطوح مختلف سلنیوم‌های آلی و معدنی

	سطوح سلنیوم							
ترکیب غذایی (٪)	شاهد	آلی ۱	آلی ۲	آلی ۳	آلی ۴	معدنی ۱	معدنی ۲	معدنی ۳	معدنی ۴
پودر ماهی	۳۴/۹	۳۴/۹	۳۴/۹	۳۴/۹	۳۴/۹	۳۴/۹	۳۴/۹	۳۴/۹	۳۴/۹
کنجاله سویا	۲۰/۵	۲۰/۵	۲۰/۵	۲۰/۵	۲۰/۵	۲۰/۵	۲۰/۵	۲۰/۵	۲۰/۵
گندم	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
روغن کلزا	۹/۹	۹/۹	۹/۹	۹/۹	۹/۹	۹/۹	۹/۹	۹/۹	۹/۹
ذرت	۸	۸	۸	۸	۸	۸	۸	۸	۸
دی کلسیم فسفات	۲/۰۵	۲/۰۵	۲/۰۵	۲/۰۵	۲/۰۵	۲/۰۵	۲/۰۵	۲/۰۵	۲/۰۵
کربوکسی متیل سلولز	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
کربنات کلسیم	۱/۷۷	۱/۷۷	۱/۷۷	۱/۷۷	۱/۷۷	۱/۷۷	۱/۷۷	۱/۷۷	۱/۷۷
مواد معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مخلوط ویتامین	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴
ویتامین C	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸
کولین کلراید	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
ترکیبات تقریبی (درصد در وزن خشک)									
رطوبت						۱۱/۰۶ ± ۰/۷			
پروتئین خام						۴۱/۵ ± ۰/۹			
چربی خام						۸/۵ ± ۰/۵			
کربوهیدرات						۲۱ ± ۱/۸			
خاکستر						۱۳/۲ ± ۱/۳			

***تیمارهای آلی ۱، ۲، ۳ و ۴ و معدنی ۱، ۲، ۳ و ۴ به‌ترتیب حاوی ۰/۱۵، ۰/۳۰، ۰/۴۵ و ۰/۶۰ میلی‌گرم سلنیوم آلی و سلنیوم معدنی در هر کیلوگرم جیره غذایی هستند.**

ترکیبات خوراکی سلنیوم‌های آلی و معدنی مورد استفاده در این آزمایش از شرکت وتاک (شیراز) تهیه شد. تیمارهای آزمایشی این تحقیق شامل ۹ تیمار با ۳ تکرار بود. به‌طوری‌که سلنیوم آلی به‌صورت مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*)

غنی شده با سلنیوم با نام تجاری Sel-plex در چهار سطح ۰/۱۵ (آلی ۱)، ۰/۳۰ (آلی ۲)، ۰/۴۵ (آلی ۳) و ۰/۶۰ (آلی ۴) میلی‌گرم در کیلوگرم و همچنین سلنیوم معدنی به‌صورت سلنیت سدیم نیز در چهار سطح ۰/۱۵ (معدنی ۱)، ۰/۳۰ (معدنی ۲)، ۰/۴۵ (معدنی ۳) و ۰/۶۰ (معدنی ۴) میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره غذایی افزوده شدند. تیمار شاهد فاقد هرگونه ماده افزودنی بود. بچه ماهیان در طول دوره ۶۰ روزه پرورش سه مرتبه در شبانه روز در ساعات ۹ صبح و ۱۸ عصر غذادهی شدند.

در پایان دوره آزمایش، به‌منظور انجام خون‌گیری، تعداد ۵ عدد بچه ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی صید شد و پس از بیهوشی، با قطع ساقه دمی نسبت به خون‌گیری اقدام گردید (Whitmann, 2004). نمونه‌های خون جمع‌آوری‌شده به لوله‌های اپندروف فاقد ماده هپارینه منتقل شدند. اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی با استفاده از خون فاقد ماده ضد انعقاد و با کمک دستگاه آتوآنالایزر مدل Eurolyser, Belgium، طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی از نوع Biochemical شرکت پارس آزمون (کرج) انجام شد. نمونه‌های سرم با کمک دستگاه سانتریفیوژ (eppendorf مدل D۵۴۱۵، ساخت کشور آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه با دور g×۳۵۰ از خون جدا شده و تا زمان شروع آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری پروتئین تام به روش بیوره (Biuret) و سنجش میزان فعالیت آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز (AST) به روش رنگ‌سنجی کینتیک انجام شد (Borges *et al.*, 2004). فعالیت جز چهارم کمپلمان[1] (C4) در سرم خون بر اساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش با روش Amar و همکاران (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شد. سنجش میزان ایمونوگلوبولین g بر اساس روش کدورت‌سنجی (Yamamoto & Yonemasu, 1999) با استفاده از کیت سنجش ایمونوگلوبولین (Biosystems, Spain) در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد (Narayanan,1982).

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم GPX با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت RANDOX ساخت کشور ایرلند انجام شد. به‌طور خلاصه ابتدا ۲۰ میکرولیتر نمونه درون یک لوله آزمایش و مقدار یک میلی‌لیتر معرف R1 (محلول آنزیمی که تمام اجزای واکنش را دارد) و ۴۰ میکرولیتر معرف R2 (محلول آنزیمی که تمام اجزای واکنش را دارد) قرار داده و به مدت ۱ دقیقه درون دستگاه بن ماری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر پس از ۵ دقیقه قرائت گردید. کاهش جذب نوری در محلول بین دومین و چهارمین دقیقه به‌عنوان میزان فعالیت آنزیم بیان شد (گودرزی و همکاران، ۱۳۸۶).

اندازه‌گیری میزان تغییرات سطوح مالون دی‌آلدهید پلاسما با روش کالری‌متری انجام شد. اساس این روش واکنش MDA با تیوبار بیوتیک اسید بوده که نتیجه آن تشکیل کمپلکس رنگی است که بیشترین جذب آن در طول موج ۵۳۵ نانومتر اتفاق می‌افتد. جهت تعیین محتوی MDA ابتدا ۱ میلی‌لیتر مایع رویی جدا شد و سپس ۲ میلی‌لیتر معرف به لوله آزمایش اضافه و به خوبی مخلوط شدند. حرارت‌دهی به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش انجام شد و جذب نوری در طول ۵۳۵ نانومتر قرائت شد. جهت محاسبه فعالیت MDA از فرمول زیر استفاده شد (گودرزی و همکاران، ۱۳۸۶).

رابطه (۱)

((میکرومول در لیتر) ۱۰۰/۰۰۰ × ۱/۵۶) = OD فعالیت MDA

جهت بررسی تفاوت‌های آماری بین پارامترهای مورد سنجش، ابتدا داده‌ها با آزمون کلموگرف‌اسمیرنف بررسی شدند. پس از اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها، برای مقایسه میزان پارامترهای اندازه‌گیری شده بین تیمارهای مختلف از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه[2] و برای جداسازی گروه‌های همگن از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار فیشر (LSD) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

1 Alternative Pathway Total Hemolytic Complement Assay
2 Own Way ANOVA

نتایج

نتایج استفاده از سطوح مختلف سلنیوم‌های آلی و معدنی در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد در جدول ۲ ارایه شده است. افزایش سلنیوم آلی از سطح ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سبب کاهش معنی‌دار آنزیم AST شده و کمترین مقدار این آنزیم در تیمار آلی ۴ نسبت به سایر تیمارها بود ($p<0.05$). بالاترین میزان فعالیت آنزیم GPx در تیمار آلی ۴ ثبت شد و کمترین میزان این آنزیم به‌طور همزمان در گروه شاهد و معدنی ۱ مشاهده شد ($p<0.05$). میزان فعالیت آنزیم GPx در سایر تیمارها فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($p>0.05$).

کمترین میزان MDA در تیمار آلی ۴ در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد، درحالی‌که سطح MDA در ماهیان تغذیه شده با سلنیوم معدنی فقط در تیمار معدنی ۴ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و سایر تیمارها فاقد اختلاف معنی‌دار بودند ($p>0.05$).

جدول ۲. مقایسه تاثیر سلنیوم‌های آلی و معدنی بر برخی از آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان

پارامتر	تیمارهای آزمایشی							
	شاهد	آلی ۱	آلی ۲	آلی ۳	آلی ۴	معدنی ۱	معدنی ۲	معدنی ۳	معدنی ۴
AST (واحد بین‌المللی در لیتر)	۶۱/۱۰±۴/۳۱^{a}	۵۶/۴۰±۳/۴۱^{a}	۵۵/۰۰±۳/۴۹^{a}	۵۲/۵۰±۲/۵۸^{b}	۴۹/۳۰±۱/۸۴^{c}	۵۷±۲/۳۳^{a}	۵۷/۵۰±۳/۰۳^{a}	۵۶/۲۰±۵/۶۱^{a}	۵۴/۹۰±۲/۱۷^{ab}
GPX (واحد بین‌المللی در لیتر)	۲/۷۶±۰/۳۸^{c}	۳/۹۹±۱/۰۲^{b}	۴/۵۲±۰/۹۹^{b}	۴/۶۷±۰/۳۹^{b}	۵/۴۹±۰/۶۲^{a}	۲/۸۱±۰/۴۰^{c}	۳/۹۹±۰/۶۶^{b}	۳/۹۹±۰/۴۸^{b}	۴/۴۴±۰/۷۳^{b}
MDA (میکرومول در لیتر)	۲۳/۸۷±۲/۶۴^{a}	۲۳/۳۵±۱/۷۶^{a}	۲۲/۵۵±۱/۸۳^{ab}	۲۱/۵۵±۱/۵۴^{b}	۱۹/۱۰±۰/۷۶^{c}	۲۳/۳۰±۰/۹۹^{a}	۲۳/۶۷±۱/۹۲^{a}	۲۲/۴۵±۱/۲۴^{a}	۲۰/۲۷±۱/۴۰^{b}

***وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌های آزمایشی است ($p<0.05$).**

***تیمارهای آلی و معدنی ۱، ۲، ۳ و ۴ به‌ترتیب حاوی ۰/۱۵، ۰/۳۰، ۰/۴۵ و ۰/۶۰ میلی‌گرم سلنیوم آلی و معدنی در هر کیلوگرم جیره غذایی بود.**

AST: آسپارتات ترانس آمیناز، GPX: گلوتاتیون پراکسیداز، MDA: مالون دی‌آلدهید

بحث و نتیجه گیری

بسیاری از مطالعه‌ها نشان داده که سلنیوم یکی از ریزمغذی‌های ضروری برای ماهیان است که بر رشد، تکامل و عملکرد ایمنی تاثیر فراوانی دارد (Durigon *et al*., 2019؛ Elia *et al*., 2011؛ Ilham *et al*., 2016؛ Lin, 2014؛ Pacitti *et al*., 2015؛ Zhou *et al*., 2009). این عنصر یک کوفاکتور کمکی برای آنزیم‌ها و پروتئین‌ها است و اهمیتی حیاتی در سیستم ایمنی و دفاع آنتی‌اکسیدانی دارد (Hilton *et al*., 1980).

گلوتاتیون پراکسیداز یکی از اعضای خانواده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که اثر پراکسید هیدروژن را خنثی نموده و تبدیل هیدرو-پراکسایدهای لیپیدی را به الکل‌های غیرسمی کاتالیز می‌کند (Murray *et al*., 1996). سلنیوم بخش جدایی‌ناپذیری از آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز محسوب می‌شود که یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی است و بدن را در مقابل آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند (Wang *et al*., 2007). طبق تحقیقات انجام شده استفاده از سلنیوم باعث افزایش میزان فعالیت GPx می‌گردد (Chiu *et al*., 2010). بر اساس نتایج حاضر با افزایش سلنیوم آلی در جیره غذایی فعالیت GPx روندی صعودی داشت و بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه کرده از ۰/۶۰ میلی‌گرم سلنیوم آلی ثبت شد، درحالی‌که فعالیت این آنزیم با به‌کارگیری سلنیوم معدنی در جیره غذایی در دو تیمار شاهد و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم معدنی کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد نشان داد.

مهم‌ترین اهمیت زیستی سلنیوم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن است که از طریق فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اعمال و شامل نقش حفاظتی آن در برابر پراکسیدهای سمی می‌گردد (Arthur *et al*., 2003). در واقع سلنیوم با افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز می‌تواند موجب تقویت سیستم

آنتی‌اکسیدانی گردد (Hilton *et al.*, 1980). ساختار آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) به نحوی است که نیازمند سلنیوم است (میرواقفی و همکاران، ۱۳۹۲). مقادیر اضافی سلنیوم با گلوتاتیون برای تولید سوپراکسید و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) واکنش می‌دهند (Lin & Spallholz, 1993)، بنابراین مصرف ناکافی سلنیوم در جیره باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز خواهد شد (Dhur *et al.*, 1990).

از آنجایی که یکی از مهم‌ترین وظایف آنزیم GPx تبدیل آنیون سوپراکسید (o_2^-)به آب (H_2O) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) است (Aebi, 1984)، بنابراین کاهش میزان فعالیت GPX در تیمارهای مکمل‌سازی شده با ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم سلنیوم معدنی در کیلوگرم جیره نه تنها به علت کاهش H_2O_2 است، بلکه ممکن است در پاسخ به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی بوده باشد که منجر به افزایش استرس اکسیداتیو شده است. افزایش فعالیت این آنزیم در واقع نوعی پاسخ جبرانی اولیه به استرس اکسیداتیو است (Regoli *et al.*, 2005). میزان فعالیت آنزیم GPx نشان‌دهنده فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی است و هرچه سطح آن بالاتر باشد، سیستم دفاعی در مقابله با عوامل اکسیدکننده پایدارتر است (شریفی و همکاران، ۱۳۹۴).

در تایید این نتایج Biller-Takahashi و همکاران (۲۰۱۵) با به‌کارگیری ۰/۶۰ میلی‌گرم سلنیوم آلی در هر کیلوگرم جیره غذایی بچه ماهیان پاکو (*Piaractus mesopotamicus*) شاهد افزایش میزان فعالیت GPx بودند. Molnár و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقی دیگر گزارش دادند استفاده از ۰/۵۰ میلی‌گرم سلنیوم در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهیان تیلاپیا با میانگین وزنی ۳۳۵ گرم باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز می‌گردد ($p<0.05$)؛ درحالی‌که این محققین نیز بین سایر تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نکردند. در تحقیق مذکور اختلاف معنی‌داری در میزان مالون دی‌آلدهید پلاسمای ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد گزارش شد که همسو با نتایج حاضر بود (Molnár *et al.*, 2012). همچنین استفاده از سلنیوم آلی در جیره غذایی ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*) هیچ‌گونه تاثیر آماری معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم GPx نداشت (Ilham *et al.*, 2016). در مطالعه‌ای دیگر استفاده از ۱/۵، ۳ و ۶ میکروگرم سلنیوم در هر گرم جیره غذایی بچه ماهیان تیلاپیا (*O. niloticus*) افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم GPx در سطوح پایین و متوسط در بافت کبد نشان نداد (Atencio *et al.*, 2009). Zhou و همکاران (۲۰۰۹) نیز اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت GPx در ماهی کاراس (*Carassius carassius*) تحت تاثیر ۲ میلی‌گرم نانو- سلنیوم و سلنیوم آلی (سلنو- متیونین) مشاهده نکردند.

در مطالعات مختلف ثابت شده است که استفاده از سلنیوم آلی در مقایسه با منابع غیرآلی در افزایش فعالیت GPx در گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) (Wang & Lovell, 1997)، کپور معمولی (Jovanovic *et al.*, 1997) و ماهی کاراس (Wang *et al.*, 2007) موثرتر است که این نتایج همسو با نتایج حاضر بود. برای مثال، Cotter و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند که استفاده از ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت باعث افزایش بیشتر فعالیت GPX در ماهی باس راه‌راه هیبرید (*Morone saxatilis* ♀× *Morone chrysops*♂) در مقایسه با سلنیوم مخمری می‌گردد.

مالون دی‌آلدهید یکی از محصولات نهایی فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی است (Giannenas *et al.*, 2012). واکنش رادیکال‌های آزاد با زنجیره اسیدهای چرب غیراشباع فسفولیپیدی منجر به شکستن پیوندهای دوگانه آنها، پراکسیداسیون و تخریب غشاهای لیپیدی می‌گردد (Hu *et al.*, 2000). سطح بالای این آنزیم، میزان صدمه ناشی از پراکسیداسیون چربی در سلول‌های کبدی را منعکس می‌نماید (Yin *et al.*, 2011). در مطالعه حاضر مقدار MDA در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف سلنیوم آلی و معدنی اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد. با این حال سطح این شاخص در تمام تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد در سطح پایین‌تری بودند. کاهش سطح مالون دی‌آلدهید در سرم خون بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تاثیر سطوح مختلف سلنیوم‌های آلی و معدنی در مقایسه با گروه شاهد را می‌توان ناشی از کاهش سطح ترکیبات واکنشگر فعال اکسیژنی و کاهش نرخ پراکسیداسیون

لیپیدی دانست (Türkez *et al.*, 2011). شاخص مالون دی آلدهید نسبت معکوسی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد و بدیهی است که هر چه این عدد کوچک‌تر باشد قدرت آنتی‌اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر می‌گردد که این موضوع در تیمار مکمل‌سازی شده با ۰/۶۰ میلی‌گرم سلنیوم آلی در هر کیلوگرم جیره غذایی مشاهده شد. کاهش فعالیت MDA حاکی از کاهش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در بدن است (Rider *et al.*, 2009). Durigon و همکاران (۲۰۱۹) در تایید نتایج به‌دست آمده با بررسی سطوح مختلف سلنیوم در جیره غذایی ماهیان جوان تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) اختلاف آماری معنی‌داری در میزان فعالیت MDA در بافت کبد مشاهده نکردند. این محققین نیز مشابه با نتایج حاضر شاهد کاهش فعالیت MDA با افزایش میزان سلنیوم در جیره بودند. Kucukbay و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش دادند سطح MDA ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تاثیر منابع مختلف سلنیوم آلی و معدنی کاهش یافته است. در یک مطلعه با بررسی منابع مختلف سلنیوم (سدیم سلنیت و نانوسلنیوم) در غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی و مخمر غنی شده با سلنیوم (منبع سلنیوم آلی) در سه غلظت ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی سیم (*Megalobrama amblycephala*) مشخص شد که ماهیان تغذیه شده با مکمل نانوسلنیوم و سدیم سلنیت بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین کاهش سطح MDA پلاسمای ماهیان در مقایسه با تیمار شاهد شده‌اند (Liu *et al.*, 2017). در تحقیق Molnár و همکاران (۲۰۱۲) استفاده از سطوح مختلف سلنیوم معدنی در جیره غذایی ماهیان تیلاپیای نیل سبب ارتقا سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهیان شد. اما اختلاف معنی‌داری در میزان MDA پلاسما بین تیمارهای آزمایشی گزارش نگردید. در حقیقت عدم وجود اختلاف معنی‌دار MDA در این تحقیق نشان‌دهنده عدم رخداد معنی‌دار اکسیداسیون چربی‌ها و محصولات حاصل از آنها در بین تیمارهای مختلف می‌تواند باشد، درحالی‌که در تحقیق حاضر با توجه به تغییرات سطح MDA پلاسما، اکسیداسیون چربی‌ها در تیمارهای مختلف رخ داده که البته حداقل مقدار شاخص MDA در تیمار ۰/۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم آلی دیده شد که نشان‌دهنده قابلیت بالای این فرم از سلنیوم در بالابردن توان آنتی‌اکسیدانی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان و در نتیجه کاهش نرخ اکسیداسیون لیپیدها بود.

آنزیم AST در بین آنزیم‌های کبدی نقش بسیار مهمی در خنثی‌سازی عوامل سمی و فعالیت‌های متابولیکی دارد. اصولا افزایش این آنزیم یکی از عوامل مهم در بررسی‌های پاراکلینیکی کبد است که سطح کارایی آن را نشان می‌دهد. در عفونت‌هایی که آسیب کبدی را با خود به همراه دارند، مقدار این آنزیم افزایش می‌یابد (Sharifi *et al.*, 2001). در کل نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت بالاتر سلنیوم در اشکال مختلف موجب کاهش میزان این آنزیم می‌شود. افزایش غلظت سلنیوم در ماهی آمور باعث کاهش فعالیت AST شد که این کاهش ناشی از اثرات محافظتی سلنیوم در کاهش پراکسید هیدروژن و آسیب‌های سلولی است (Hao *et al.*, 2014). بررسی منابع مختلف سلنیوم (آلی، معدنی و نانو) نیز در جیره غذایی ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) نشان داد که میزان AST در بالاترین سطح سلنیوم در جیره غذایی پایین‌تر از گروه شاهد بود (صیادی، ۱۳۹۶). Hao و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که فعالیت AST ماهیان لوچ تغذیه شده با ۰/۳۹ و ۰/۵۰ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم جیره کاهش یافته است. Ozardalı و همکاران (۲۰۰۴) نشان داده شد که ماهیانی که در معرض تترا کلراید کربن قرار گرفته بودند پس از تزریق سلنیوم با کاهش فعالیت AST و ALT و در پی آن کاهش زخم‌های کبدی مواجه شدند. نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش سلنیوم‌های آلی و معدنی در جیره سبب بهبود فعالیت کبدی و کاهش فعالیت آنزیم‌ها شده که می‌تواند نشانه سلامتی در ماهیان تغذیه با سلنیوم باشد. همچنین کیانارثی و همکاران (۱۳۹۸) گزارش کردند که کمترین میزان آنزیم‌های کبدی ماهی شانک زرد (*Acanthopagrus latus*) در تیمار تغذیه شده با نانوذره سلنیوم نسبت به فرم معدنی سلنیوم بود.

در مجموع، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از سلنیوم آلی به‌خصوص به مقدار ۰/۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک در مقایسه با منابع معدنی (سلنیت سدیم) دارای

تاثیرات به‌مراتب بیشتری در تقویت فعالیت آنتی‌اکسیدانی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان است. اگرچه انجام تحقیقات تکمیلی در خصوص اثرات منابع مختلف سلنیوم بر سیستم ایمنی، بافت‌شناسی کبد و عملکرد رشد و بقا ضروری به‌نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

پژوهشگران مراتب سپاس و قدردانی خود را نسبت به مسئولان و کارکنان محترم موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و ایستگاه تحقیقاتی خجیر ابراز می‌نمایند.

منابع

زارعی، ا. (۱۳۹۱) خلاصه آزمایشات اصول تغذیه دام. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، ۱۷ صفحه.

شریفی، ا.، نقش، ن. و رزمی، ن. (۱۳۹۴) بررسی تاثیرات آنتی‌اکسیدانی چای سبز (*Camellia Sinesis*) در موش‌های نر مسموم شده با تیو استامید. مجله طب پیشگیری طبری، ۱(۱): ۱۹-۲۸.

صیادی، ف. (۱۳۹۶) تاثیر جیره‌های مختلف حاوی سلنیوم بر عملکرد رشد، فعالیت برخی آنزیم‌های خونی و پاسخ آنتی‌اکسیدانی در ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد رشته تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه زابل، ۸۳ صفحه.

کیان‌ارثی، ف.، صفاهیه، ع.، سلامات، ن.، سلاطی، ا.پ. و هوشمند، ح. (۱۳۹۸) مقایسه اثرات خوراکی سلنیت سدیم و نانو ذره سلنیوم بر عملکرد رشد، آنزیم‌های کبدی و دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۶): ۶۸-۵۷.

گودرزی، م.ت.، نویدی‌عباسپور، ع.ا.، رضایی، م.، بابااحمدی‌رضایی، ح. و انصاری، م. (۱۳۸۶) آسیب اکسیداتیو *DNA* و لیپیدها و ارتباط آن با گلیکاسیون پروتئین در بیماران دیابتی نوع یک. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی همدان، ۱۴(۴): ۳۳-۳۷.

میرواقفی، ع.ر.، علی، م. و اسدی‌جمنانی، ف. (۱۳۹۲) بررسی تاثیر افزودن ویتامین E سلنیوم و C جیره بر پارامترهای شاخص در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792*). مجله ماهی‌شناسی کاربردی، ۲(۴): ۳۳-۴۸.

Aebi, H. (1984) Catalase invitro. Methods Enzymology, 105121-126.

Amar, E.C., Kitron, V., Satoh, S., Okamoto, N. and Watanabe, T. (2000) Effect of dietary β- carotene on immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science, 66(6): 1068-1075.

Arthur, J.R., McKenzie, R.C. and Beckett, G.J. (2003) Selenium in the immune system. Journal of Nutrition, 133(5 Suppl 1): 1457S-1459S.

Ashouri, S., Keyvanshokooh, S., Salati, A.P., Johari, S.A. and 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.

Atencio, L., Moreno, I., Jos, A., Prieto, A.I., Moyano, R., Blanco, A. and Cameán, A.M. (2009). Effects of dietary selenium on the oxidative stress and pathological changes in tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to a microcystin-producing cyanobacterial water bloom. Toxicon, 53(2): 269-282.

Bell, J.G., Cowey, C.B., Adron, J.W. and Pirie, B.J.S. (1987). Some effects of selenium deficiency on enzyme activities and indices of tissue peroxidation in Atlantic salmon parr (*Salmo salar*). Aquaculture, 65(1): 43-54.

Biller-Takahashi, J.D., Takahashi, L.S., Mingatto, F.E. and Urbinati, E.C. (2015) The immune system is limited by oxidative stress: Dietary selenium promotes optimal antioxidative status and greatest immune defense in Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Fish and Shellfish Immunology, 47(1): 360-367.

Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F. (2004) Hematologic and serum biochemical values for Jundia´ (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemical, 30(1): 21-25.

Chiu, S.T., Hsieh, S.L., Yeh, S.P., Jian, S.J., Cheng, W. and Liu, C.H. (2010). The increase of immunity and disease resistance of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* by feeding with selenium enriched-diet. Fish and Shellfish Immunology, 29(4): 623-629.

Cotter, P.A., Craig, S.R. and McLean, E. (2008). Hyper accumulation of selenium in hybrid striped bass: a functional food for aquaculture? Aquaculture Nutrition, 14(3): 215–222.

Dhur, A., Galan, P. and Hercberg, S. (1990) Relationship between selenium, immunity and

The effects of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding conditions. Aquaculture Nutrition, 15(6): 569-576.

Le, K.T. and Fotedar, R. (2014) Bioavailability of selenium from different dietary sources in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). Aquaculture, 420: 57–62.

Lee, S., Walugembe Nambi, R., Won, S., Katya, K. and Bai, S.C. (2016) Dietary selenium requirement and toxicity levels in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 464: 153-158.

Lin, Y. and Spallholz, J.E. (1993) Generation of reactive oxygen species from the reaction of selenium compounds with thiols and mammary tumor cells. Biochemical Pharmacology, 45(2): 429-437.

Lin, Y.H. (2014) Effects of dietary organic and inorganic selenium on the growth, selenium concentration and meat quality of juvenile grouper *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture, 430: 14-119.

Lin, Y.H. and Shiau, S.Y. (2005) Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture, 250(1-2): 356-363.

Liu, G.X., Jiang, G.Z., Lu, K.L., Li, X.F., Zhou, M., Zhang, D.D. and Liu, W.B. (2017) Effects of dietary selenium on the growth, selenium status, antioxidant activities, muscle composition and meat quality of blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. Aquaculture Nutrition, 23(4): 777-787.

Lorentzen, M., Maage, A. and Julshamn, K. (1994) Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 121(4): 359-367.

Lovell, T. (1998) Nutrition and feeding of fish. Kluwer Academic Publishers, Boston, 267p.

Miller, L.L., Wang, F., Palace, V.P. and Hontela, A. (2007) Effects of acute and subchronic exposures to waterborne selenite on the physiological stress response and oxidative stress indicators in juvenile rainbow trout. Aquatic Toxicology, 83(4): 263–271.

Molnár, T., Biró, J., Balogh, K., Mézes, M. and Hancz, C. (2012) Improving the nutritional value of nile tilapia fillet by dietary selenium supplementation. Israeli Journal of Aquaculture, 63(744): 1-6.

Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W. (1996) Harper's biochemistry. 24th edition, Appleton & Lange, Stamford, CT, 868p.

Narayanan, S. (1982) Method-Comparison Studies on immunoglobulins. Clinical Chemistry, 28(7): 1528-1531.

Ozardalı, I., Bitiren, M., Karakilcik, A.Z., Zerin, M., Aksoy, N. and Musa, D. (2004) Effects of selenium on histopathological and enzymatic changes in experimental liver injury of rats. Experimental and Toxicologic Pathology, 56(1-2): 59–64.

Pacitti, D., Lawan, M.M., Sweetman, J., Martin, S.A.M., Feldmann, J. and Secombes, C.J. (2015) Selenium Supplementation in Fish: A Combined resistance against infection. Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology, 96(2): 271-280.

Durigon, E.G., Kunz, D.F., Peixoto, N.C., Uczay, J., Lazzari, R. (2019) Diet selenium improves the antioxidant defense system of juveniles Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Brazilian Journal of Biology, 79(3): 527-532.

Elia, A.C., Prearo, M., Pacini, N., Dörr, A.J.M. and Abete, M.C. (2011) Effects of selenium diets on growth, accumulation and antioxidant response in juvenile carp. Ecotoxicology and Environmental Safety, 74(2): 166-173.

FAO. (2018) The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome, License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Gatlin, D.M. and Wilson, R.P. (1984) Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. Journal of Nutrition, 114(3): 627-633.

Giannenas, I., Triantafillou, E.L., Stavrakakis, S., Margaroni, M., Mavridis, M., Steiner, T. and Karagouni, E. (2012) Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 350: 26-32.

Hao, X., Lin, Q. and Hong, F. (2014) Effects of dietary selenium on the pathologyical changes and oxidative stress in loach (*Paramisgurnus dabaryanus*). Fish Physiology and Biochemistry, 40(5): 1323-1313.

Hilton, J.W., Hodson, P.V. and Slinger, S.J. (1980) The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). The Journal of Nutrition, 110(12): 2527-2535.

Hu, Y.Y., Liu, C.H., Wang, R.P., Liu, C., Liu, P. and Zhu, D.Y. (2000) Protective actions of Salvianolic acid A on hepatocyte injured by peroxidation in vitro. World Journal of Gastroenterology, 6(3): 402-404.

Ilham, I., Fotedar, R. and Munilkumar, M. (2016) Effects of organic selenium supplementation on growth, glutathione peroxidase activity and histopathology in juvenile barramundi (*Lates calcarifer* Bloch 1970) fed high lupin meal-based diets. Aquaculture, 457: 15-23.

Jovanovic, A., Grubor-Lajsic, G., Djukic, N., Gardinovacki, G., Matic, A., Spasic, M. and Pritsos, C.A. (1997) The effect of selenium on antioxidant system in erythrocytes and liver of the carp (*Cyprinus carpio* L.). Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 37(5): 443–448.

Kouba, A., Velsek, J., Star, A., Masojdek, J. and Kozak, P. (2014) Supplementation with sodium selenite and seleniumenriched microalgae biomass show varying effects on blood enzymes activities, antioxidant response, and accumulation in common barbel (*Barbus barbus*). BioMed Research International, 2014: 1-8. doi: 10.1155/2014/408270/

Kucukbay, F.Z., Yazlak, H., Karaca, I., Sahin, N., Tuzcu, M., Cakmak, M.N. and Sahin, K. (2009)

glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Animal Feed Science and Technology, 134(3-4): 243–251.

Whitman, K.A. (2004) Aseptic bacterial examination of finfish. In: Finfish and Shellfish Bacteriology Manual. Blackwell Publishing, Iowa State Press, Iowa, USA, 258p.

Yamamoto, T. and Yonemasu, K. (1999) Multiple molecular forms of serum immunoglobulin M in a patient withWaldenstro¨m's macroglobulinemia. Clinica Chimica Acta, 289(1-2): 173–176.

Yin, G., Cao, L., Xu, P., Jeney, G. and Nakao, M. (2011) Hepatoprotective and antioxidant effects of Hibiscus sabdariffa extract against carbon tetrachloride-induced hepatocyte damage in *Cyprinus carpio*. In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal, 47(1): 10-15.

Zhou, X., Wang, Y., Gu, Q. and Li, W. (2009) Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Aquaculture, 291(1-2): 78–81.

Chemical and Biomolecular Study to Understand Sel-Plex Assimilation and Impact on Selenoproteome Expression in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). PLoS ONE, 10(5): e0127041. Retrieved from https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127041/

Pesti, G.M., Miller, B.R. and Hargrave, J. (1992) User-Friendly Feed Formulation, Done Again (UFFDA). Programed by J. Hargrave, University of Georgia, USA.

Rayman, M.P. (2000) The importance of selenium to human health. The Lancet, 356(9225): 233-241.

Regoli, F., Nigro, M., Benedetti, M., Fattorini, D. and Gorbi, S. (2005) Antioxidant efficiency in early life stages of the Antarctic silverfish, *Pleuragramma antarcticum:* Responsivenes to pro-oxidant conditions of platelet ice and chemical exposure. Aquatic Toxicology, 75(1): 43-72.

Rider, S.A., Davies, S.J., Jha, A.N., Fisher, A.A., Knight, J. and 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(3-4): 282-291.

Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G. and Hoekstra, W. (1973) Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science Journal, 179(4073): 588–590.

Saffari, S., Keyvanshokooh, S., Zakeri, M., Johari, S.A., & Pasha-Zanoosi, H. (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(3): 611-617.

Shariffi, M., Jayawardena, P.A.H.L., Yusoff, F.M. and Subasinghe, R. (2001) Immunological parameters of Javanese carp *Puntiusgonionotus* (Bleeker) exposed to copper and challengedwith *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology, 11(4): 281–291.

Southworth, G.R., Peterson, M.J. and Ryon, M.G. (2000) Long-term increased bioaccumulation of mercury in largemouth bass follows reduction of waterborne selenium. Chemosphere, 41(7): 1101-1105.

Türkez, H., Geyikoglu, F. and Yousef, M.I. (2011) Ameliorative effect of docosahexaenoic acid on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced histological changes, oxidative stress, and DNA damage in rat liver. Toxicology and Industrial Health, 28(8): 687-96.

Wang, C. and 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(1-4): 223–234.

Wang, Y., Han, J., Li, W. and Xu, Z. (2007) Effect of different selenium source on growth performances,

Effect of dietary organic and inorganic selenium on some antioxidant defence system parameters in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)

Kavos Nazari[1*], Seyed Pezhman Hosseini Shekarabi[2]

1) Assistant Professor, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. *Corresponding Author Email Address: kks.nazari@gmail.com
2) Assistant Professor, Fisheries, Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Date of Submission: 05/08/2019 Date of Acceptance: 14/12/2019

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of organic and inorganic selenium in the diet of rainbow trout on changing of malondialdehyde (MDA) and some liver antioxidant enzymes including aspartate transaminase (AST) and glutathione peroxidase (GPX). For this purpose, 810 rainbow trout fry with an average weight of 50.6±2.2 g were randomly fed with supplemented diets: 0 (control), 0.15, 0.30, 0.45, and 0.60 mg of organic (selenium-enriched yeast) and inorganic (sodium selenite) selenium per kg of feed with 3 replicates for 60 days. At the end of the experiment, the results showed that the amount of GPX enzyme activity in fish fed with 0.60 mg of organic selenium per kg diet reached a maximum of 5.49±0.62 IU/L, which was significantly different with other treatments ($p<0.05$). Addition of different sources of selenium to the diet caused a decreasing trend in AST enzyme, although the addition of organic selenium more than 0.45 mg kg was significantly reduced this enzyme and its lowest value was obtained in 0.60 mg kg of organic selenium (49.30±1.84 IU/L) ($p<0.05$). The lowest MDA level was observed in 0.60 mg kg of organic selenium (19.10 ± 0.76 μmol/L) compared to the other treatments ($p <0.05$), but the level of MDA among fish fed with inorganic selenium was only reduced in 0.60 mg kg of inorganic selenium and other treatments showed no significant difference ($p> 0.05$). Overall, considering the importance of selenium in GPX enzyme activity and based on the results, adding of organic selenium, especially at 0.60 mg/kg feed, had a greater effect on enhancing the antioxidant ability of rainbow trout compared to sodium selenite.

Keywords: Antioxidant enzymes, Liver enzymes, Selenium, Rainbow trout.