اثر خوراکی نانولیپوزوم حاوی رنگدانه آستازانتین بر عملکرد رشد و بهره‌وری خوراک بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مژده بشارت[۱]، هومن رجبی‌اسلامی[۲*]، مهدی سلطانی[۳] و سید عبدالمجید موسوی[٤]

۱) دانشجوی دکتری رشته شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲) دانشیار گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. *رایانامه نویسنده مسئول مکاتبات: rajabi.h@srbiau.ac.ir
۳) استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
٤) استادیار گروه علوم دامی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۰۳/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۰۵/۲۰

چکیده

مطالعه حاضر به بررسی تاثیر نانولیپوزوم حاوی آستازانتین (NA) در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخت. تعداد ۳۷۵ قطعه ماهی با میانگین وزن اولیه ۲/۰۰ ± ۳۱/۰۰ گرم در پنج تیمار شامل صفر (گروه شاهد)، ۲۵ (تیمار دوم)، ۵۰ (تیمار سوم)، ۷۵ (تیمار چهارم) و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین (تیمار پنجم) تقسیم شدند. هر تیمار دارای سه تکرار و هر تکرار حاوی ۲۵ قطعه ماهی بود که در ۱۵ تانک ۲۰۰ لیتری به صورت تصادفی ذخیره‌سازی شده و به مدت ۶۰ روز تغذیه گردیدند. به‌منظور اندازه‌گیری وزن برای شاخص‌های مورد بررسی از ترازو با دقت ۰/۱ استفاده شد. نتایج نشان داد بیشترین میزان درصد افزایش وزن نهایی (۱۳/۸۰±۲۲۵/۲۲ گرم) مربوط به تیمار ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین و کمترین آن (۱۲/۸۸±۱۹۴/۵۷ گرم) مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین بود. همچنین بیشترین نرخ رشد روزانه با میزان ۰/۱۰±۲/۵۱ گرم در روز در تیمار ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین به‌دست آمد که به شکل معنی‌داری بیش از مقدار آن در تیمار شاهد بود ($p<0/05$). بالاترین نرخ کارآیی غذایی نیز در تیمار ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین مشاهده شد. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که ۸۳/۶۱ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین بهترین تاثیر را در رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته و برای پرورش این ماهی توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آستازانتین، شاخص‌های رشد، قزل‌آلای رنگین‌کمان، نانولیپوزوم.

مقدمه

امروزه آبزی‌پروری متراکم مبتنی بر تغذیه دستی به‌طور فزاینده‌ای در حال گسترش بوده و ایران نیز از جمله کشورهایی است که طی دهه گذشته بیشترین میزان رشد آبزی‌پروری را در جهان داشته است (Mavraganis *et al.*, 2020). بهبود شناخت ما از احتیاجات غذایی گونه‌های پرورشی و تقویت سیستم ایمنی و ضداکسایشی آنها در برابر استرس ناشی از تراکم بالا در افزایش تولیدات آبزی‌پروری نقش مهمی دارد (Liu *et al.*, 2016). با توجه به اینکه سهم عمده‌ای از هزینه‌های پرورش ماهی مربوط به تامین غذا است، توجه به مسایل تغذیه‌ای باعث جلوگیری از اتلاف غذا و در پی آن کاهش هزینه‌های تولید و افزایش بازده اقتصادی می‌شود (طافی و همکاران، ۱۳۹۲).

کاروتنوئیدها بعد از ملانین رایج‌ترین رنگدانه‌های مسئول ایجاد رنگ و افزایش کیفیت محصولات پروتئینی در حیوانات هستند. گرچه رنگ ماهیان به‌وسیله سیستم‌های عصبی اندوکرینی کنترل می‌شود (Kittilsen *et al.*, 2009). منابع غذایی و رنگدانه‌ها نیز نقش مهمی در تعیین رنگ بدن ایفا می‌کنند. آزادماهیان همانند سایر ماهیان قادر به سنتز کاروتنوئیدها نبوده و برای دستیابی به آنها و سایر رنگدانه‌ها به منابع غذایی وابسته هستند (Bahremand *et al.*, 2012).

این رنگدانه‌های زیستی محلول در چربی گرچه جز مواد مغذی ضروری به حساب نمی‌آیند، اما قادر هستند نقش‌های متعددی را در مهره‌داران و بی‌مهرگان ایفا کنند که از آن جمله می‌توان به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (Kop & Durmaz, 2008) و افزایش مقاومت در برابر استرس (Tizkar *et al.*, 2016) اشاره کرد.

آستازانتین یک ریزمغذی اصلی و مهم در جیره غذایی آبزیانی همچون آزاد ماهیان محسوب می‌شود که عملکردهای زیستی مهمی از جمله ثبات در غشاء سلولی و بهبود سلامتی و ایمنی از طریق حذف رادیکال‌های آزاد، مقاومت در برابر استرس‌های محیطی مانند تغییرات اسمزی، دمایی و کاهش اکسیژن محلول دارد (Cheng *et al.*, 2018). حفاظت از اثرات منفی نور ماورابنفش، تولید ویتامین A و بهبود رفتارهای تولیدمثلی از دیگر قابلیت‌های استفاده از آستازانتین به شمار می‌آیند (Higuera-Ciapara *et al.*, 2006). این رنگدانه همچنین از اکسید شدن اسیدهای چرب غیراشباع جلوگیری می‌کند، به‌طوری‌که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستازانتین به‌ترتیب ۱۰ و ۱۰۰ برابر بیشتر از بتاکاروتن و آلفاتوکوفرول است (Hussein *et al.*, 2006).

روش‌های مختلفی برای حفاظت از آستازانتین در خوراک وجود دارد که نانوکپسولاسیون توسط امولسیون‌ها، لیپوزوم‌ها و نانو ذرات پلیمری یکی از آنها است (Shah & Marz, 2020). کپسوله کردن راهکاری است که طی آن ذرات کوچک جامد و قطرات مایع درون یک پوشش نازک قرار گرفته و در نتیجه انتشار آنها کنترل شده و در برابر تخریب و تجزیه محافظت می‌شوند (Bedie *et al.*, 2008). لیپوزوم‌ها ساختارهایی متشکل از یک یا چند دولایه کروی بسته هستند که از فاز مایع جدا شده‌اند. اساس ساختار لیپوزوم‌ها مشابه غشای سلولی است، به‌طوری‌که گروه‌های آب‌گریز به سمت یکدیگر و گروه‌های آب‌دوست به سمت مواد محبوس شده و محیط مایع اطراف تجمع می‌یابد و چاهک‌های لیپیدی یا لیپوزوم‌ها تشکیل می‌شوند (Shah & Marz, 2020; Mozafari *et al.*, 2008). امروزه استفاده از نانولیپوزوم به شدت مورد توجه قرار گرفته و مزایای متعددی از جمله سطح تماس بیشتر، احتمال افزایش حلالیت، بهبود رهاسازی هدفمند و کنترل شده زمانی، انتقال هدفمند ترکیبات به موضعی خاص و کاهش مقدار مواد مورد نیاز درون نانو–حامل‌ها را دارد (Mozafari *et al.*, 2008).

Alishahi و همکاران (2011) از نانوذرات کیتوزان برای آسکوربیک اسید از طریق دستگاه گوارش و ایجاد سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) استفاده کردند. نتایج مشخص نمود که نانوذرات کیتوزان باعث افزایش عمر مفید و پایداری اسید آسکوربیک در رژیم غذایی ماهی طی ۲۰ روز در دمای محیط نسبت به اسید آسکوربیک بدون نانوذرات می‌شود. با توجه به جنبه نوآوری و جدید بودن این پژوهش می‌توان گفت مطالعه حاضر جز اولین مطالعات در ارتباط با اثر نانولیپوزوم حاوی آستازانتین بر رشد و بهره‌وری خوراک بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان است. پژوهش حاضر بر این اساس و با توجه به بازارپسندی و کوتاه بودن طول دوره پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طراحی گردید تا تاثیر نانولیپوزوم حاوی آستازانتین را بر شاخص‌های رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی نماید.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی آستازانتین با روش فیلم نازک

آستازانتین طبق روش Besharat و همکاران (۲۰۲۱) به کمک ۲۰۰ میلی‌گرم فسفاتیدیل کولین سویا و ۵۰ میلی‌گرم کلسترول در کلروفرم به صورت محلول درآمد تا فیلم نازکی تشکیل شود. سپس محلول به‌دست آمده به‌منظور حذف کلروفرم در دستگاه روتاری (Heidolph, R206D, Germany) با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. فیلم نازک تشکیل شده در ادامه با محلول فسفات بافری ۰/۰۵ مولار (PBS) از طریق چرخش گردابی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه روتاری آبدار شد. سپس محلول به‌دست آمده به‌منظور کسب ابعاد نانومتری به مدت ٤ دقیقه در حمام یخ قرار گرفت و نانولیپوزوم‌ها در ادامه توسط پروپ دستگاه اولتراسونیک با توان ٤۰۰ وات و ۲٤ کیلوهرتز (UP400S, Hielscher, Teltow, Germany) با دوره‌های ۵ ثانیه روشن و ۵ ثانیه خاموش (۱۰۰ ولت، ۲۰ کیلوهرتز) در محلول ایجاد شدند. سپس نمونه‌های لیپوزوم

تولید شده به‌منظور محافظت از نور محیطی به ظروف شیشه‌ای قهوه‌ای پر شده با گاز نیتروژن منتقل شد و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. (Pan *et al.*, 2018). به‌منظور اطمینان از نانولیپوزوم تشکیل شده حاوی آستازانتین نمونه‌ها با میکروسکوپ TEM بررسی و نتیجه آن در ادامه گزارش خواهد شد.

آماده‌سازی غذا و طراحی آزمایش

جیره پایه این آزمایش از کارخانه خوراک آبزیان ساخت شرکت به‌دانه شمال، بابلسر، مازندران حاوی ٤٠ درصد پروتئین، ١٤ درصد چربی، ١٠ درصد خاکستر، ١١/٥ درصد رطوبت و ٣/٥ درصد فیبر تهیه شد. همچنین آستازانتین سنتتیک با خلوص ٩٨ درصد از شرکت DSM (سوئیس) درصد تهیه شد. آستازانتین پوشش داده شده با نانولیپوزوم به مقادیر ٢٥، ٥٠، ٧٥ و ١٠٠ میلی‌گرم به هر کیلوگرم جیره پایه بر پایه پیشنهاد Rahman و همکاران (٢٠١٦) اضافه شد. جیره پایه برای این کار قبل از اضافه کردن نانولیپوزوم آرد شده و پس از توزین به همراه مقادیر مختلف آستازانتین پوشش داده شده با نانولیپوزوم به کمک چرخ‌گوشت به قطر ٢ میلی‌متر مجدد چرخ شد. میزان ١٠٠ میلی‌گرم سلولز به‌عنوان جایگزین آستازانتین به جیره پایه اضافه گردید، درحالی‌که سایر تیمارها مقدار سلولزی برابر سطح جبران آستازانتین را دریافت نمودند. جیره‌های غذایی در ادامه در هوای آزاد در حال جریان به مدت ده ساعت خشک و به پلت‌هایی با اندازه‌های متناسب با اندازه دهان ماهیان تبدیل شدند. غذای آماده شده به صورت هفتگی تهیه و در کیسه‌های پلاستیکی در فریزر با دمای ٢٠- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. اجزای خوراک مصرفی در جدول (١) آمده است.

این مطالعه در یک کارگاه خصوصی در جاده هراز واقع در استان مازندران انجام گرفت. تعداد ٣٧٥ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ٢/٠٠ ± ٣١/٠٠ گرم در پانزده تانک ٢٠٠ لیتری (به طول ٧٩ سانتی‌متر؛ عرض ٥٧ سانتی‌متر و ارتفاع ٥٠ سانتی‌متر) به صورت کاملا تصادفی ذخیره‌سازی شدند، به‌طوری‌که هر تانک حاوی ٢٥ قطعه ماهی بود. منبع آب ورودی آب چاه و دبی آن اندازه‌گیری شد. ماهی‌ها طی دوره سازگاری و پیش از آغاز آزمایش به مدت دو هفته با جیره غذایی پایه غذادهی شدند. تانک‌ها در ادامه به صورت کاملا تصادفی به پنج تیمار آزمایشی با سه تکرار تقسیم شده و جیره‌های آزمایشی حاوی مقادیر مختلف نانولیپوزوم حاوی آستازانتین به‌صورت تصادفی به هر یک از تیمارهای آزمایشی اختصاص داده شد. تغذیه ماهیان طی دوره آزمایش سه بار در روز (ساعت‌های ٩:٠٠، ١٢:٠٠ و ١٧:٠٠) به میزان ٣ درصد از وزن بدن مطابق با دمای آب به‌طور دستی انجام شد. ماهیان برای ٨ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه و در انتهای آزمایش زیست‌سنجی شدند. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب هم نظیر درجه حرارت آب (١٠-١٢ درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول (١١-١٢ میلی‌گرم بر لیتر)، pH (٨/٢-٨) ، سختی کل آب (١٢٠ میلی‌گرم بر لیتر) و میزان ناچیزی از آمونیاک آزاد و نیتریت وجود داشت که هر هفته توسط دستگاه مولتی‌متر قابل حمل مدل TPS100 ساخت کشور استرالیا مورد بررسی قرار گرفت و به صورت هفتگی تا انتهای آزمایش ثبت گردید.

جدول ١. اجزا غذایی آزمایش و منبع تامین آنها

ماده سازنده	میلی گرم در کیلوگرم
روغن ماهی	١٠٠
روغن سویا	٥٨
آرد گندم	٧٩
پودر ماهی	٤٥٠
پودر سویا	٢٠٠
آرد ذرت	٨٠
لسیتین	٥

آنالیز تقریبی	درصد
پروتیین خام	٤٠
خاکستر	١٠
رطوبت	٣/٥
چربی	١٤
کربوهیدرات	٣٢/٥

نمونه‌برداری

وزن ماهیان در انتهای آزمایش به‌منظور بررسی شاخص‌های رشد با کمک یک ترازوی الکترونیکی با دقت ۰/۱ اندازه‌گیری شد. غذادهی به ماهیان در تمامی تیمارهای آزمایشی برای این کار ٢٤ ساعت قبل از نمونه‌گیری قطع شد. کل جمعیت ماهیان هر تانک در پایان دوره پرورش جهت

(Huanga *et al*., 2003)

(Esmaelei & Khara, 2014)

(Huanga *et al*., 2003)

که BW_f در آن برابر وزن نهایی (گرم)، BWi برابر وزن اولیه (گرم)، T برابر زمان (روز)، WG برابر وزن کسب شده (گرم)، FI برابر غذای مصرفی (گرم) که میزان غذای مصرفی روزانه برابر است با تعداد ماهی در میانگین وزنی در میزان غذادهی بر ۱۰۰ و WGR برابر درصد افزایش وزن بدن (درصد)، DGC برابر نرخ رشد روزانه (درصد رشد روزانه) و FE برابر کارایی غذایی بودند.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها برای اطمینان از نرمال بودن ابتدا توسط آزمون Shapiro-wilk بررسی شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک روش آنالیز واریانس یک‌طرفه[1] توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام پذیرفت. معنی‌دار بودن تفاوت میانگین داده‌های آزمایشی از طریق آزمون چنددامنه‌ای دانکن به‌دست آمد. سطح معنی‌داری در تمام بررسی‌ها برابر p<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. مدل رگرسیون درجه دوم برای تعیین میزان بهینه ویتامین E طبق روش Zeitoun و همکاران (۱۹۷٦) به کار برده شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف‌معیار ارایه شدند. همچنین ترسیم نمودارها در فضای نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ انجام گرفت.

اندازه‌گیری شاخص‌های مطالعاتی شامل درصد افزایش وزن، ضریب رشد روزانه و کارآیی غذایی خارج و پس از توزین به تانک‌های مربوطه برگردانده شدند. مقدار درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد روزانه و کارآیی غذایی طبق معادله‌های زیر محاسبه گردیدند:

$$WGR = 100 \times (BW_f - BW_i) / BWi$$

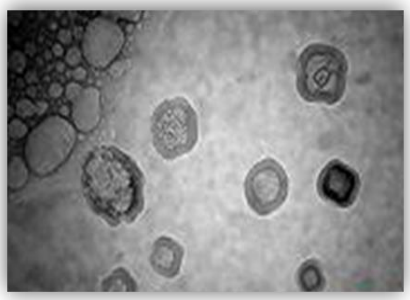
$$DGC = 100 \times \sqrt[3]{BW_f} - \sqrt[3]{BW_i} / T$$

$$FE = WG / FI$$

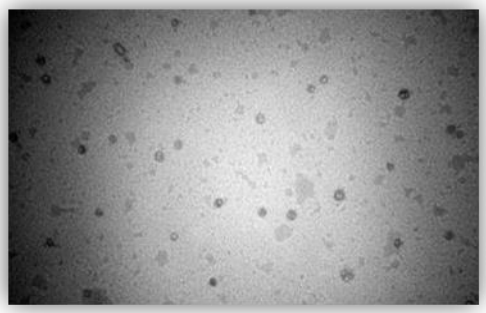
نتایج

شکل میکروسکوپی از نانولیپوزم تشکیل شده حاوی آستازانتین در شکل ۱ و ۲ ارایه شده است. متوسط اندازه ذرات نانولیپوزوم برابر ۱۰۳/٤ نانومتر (شکل ۳) و پتانسیل زتا آنها برابر ۲۷/۵ میلی‌ولت بود. نتایج اندازه‌گیری درصد افزایش وزن ماهیان در شکل (٤) ارایه شد. یافته‌ها نشان داد درصد افزایش وزن ماهیان در تیمار ۷۵ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین به شکل معنی‌داری بیشتر از درصد افزایش وزن ماهیان در تیمار شاهد بود (p<۰/۰۵). با این وجود اختلاف معنی‌داری در درصد افزایش وزن بدن ماهیان در تیمار ۵۰ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین با ماهیان در تیمار ۷۵ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین مشاهده نشد (p>۰/۰۵). همچنین اختلاف معنی‌داری در میزان درصد افزایش وزن ماهیان در تیمارهای حاوی ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین با ماهیان در تیمار شاهد به‌دست نیامد (p>۰/۰۵). همچنین درصد افزایش وزن ماهیان بین تیمارهای ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین فاقد هر گونه اختلاف آماری معنی‌دار بود (p>۰/۰۵). بالاترین درصد افزایش وزن (۱۳/۸۰±۲۲۵/۲۲ درصد) در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۷۵ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی

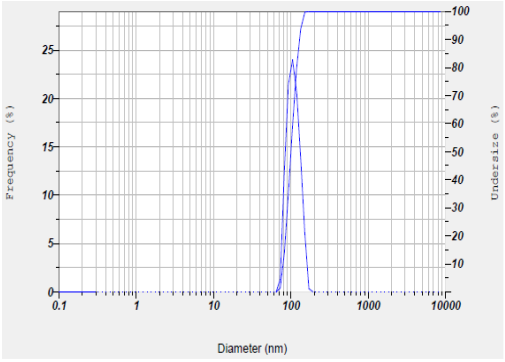
آستازانتین و کمترین درصد افزایش وزن (۱۲/۸۸±۱۹٤/۵۷) در ماهیان تیمار شاهد ثبت گردید.



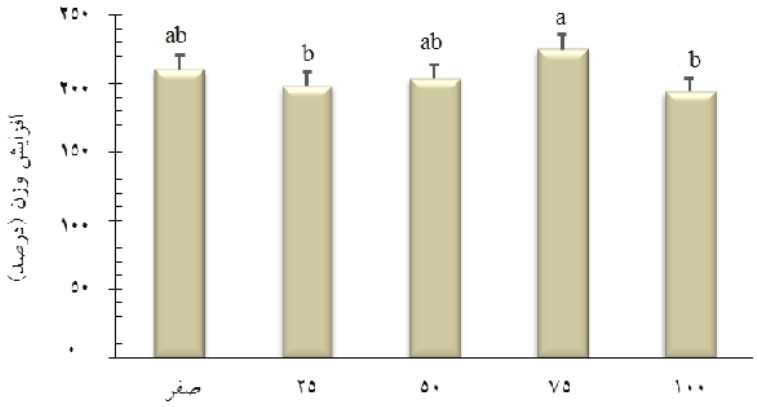
شکل ۱. تصویر ۱۰۰ نانومتری گرفته شده توسط میکروسکوپ TEM



شکل ۲. تصویر ۲۰۰ نانومتری گرفته شده توسط میکروسکوپ TEM

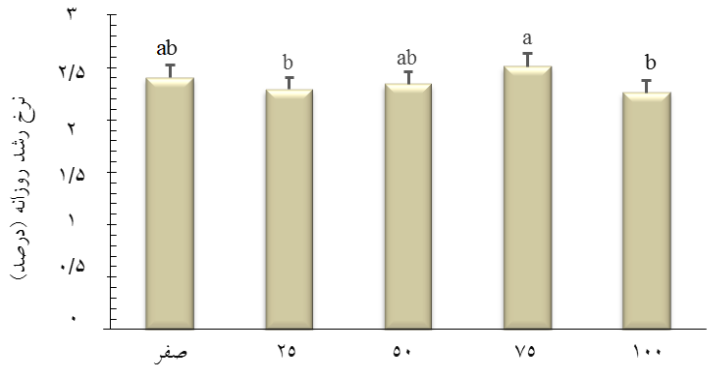


شکل ۳. نمودار سایز نانولیپوزوم تشکیل شده حاوی آستازانتین

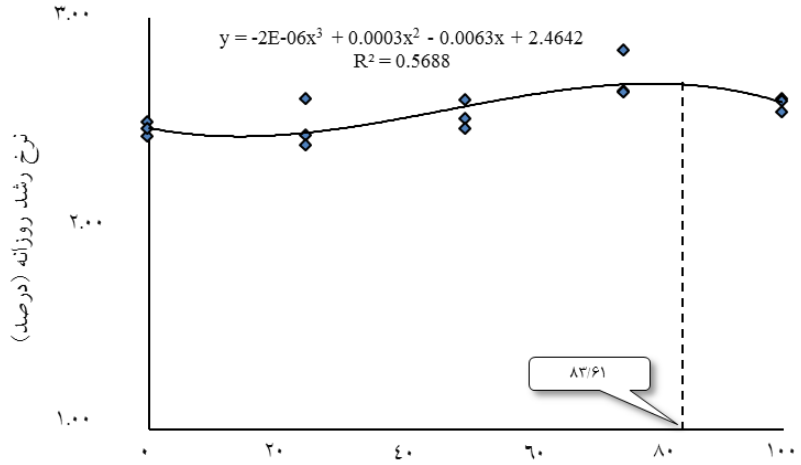


شکل ٤. درصد افزایش وزن قزل‌آلای رنگین‌کمان بین تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایشی (میانگین±انحراف معیار).
حروف متفاوت روی هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است (p<۰/۰۵).

بررسی نرخ رشد روزانه ماهیان نشان داد که میزان این متغیر در تغذیه نموده با جیره غذایی حاوی ۷۵ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین به شکل معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بوده (p<۰/۰۵) و به بالاترین میزان ۰/۱۰±۲/۵۱ درصد رشد روزانه رسید (شکل ۵). با این وجود درصد افزایش ماهیان در تیمار ۵۰ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان نداد (p>۰/۰۵). نرخ رشد روزانه ماهیان در تیمارهای ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین نیز اختلاف معنی‌داری با گروه شاهدنداشت(p<۰/۰۵). سطح بهینه نانولیپوزوم حاوی آستازانتین برپایه رگرسیون چندجمله‌ای درجه سوم بر اساس نرخ رشد روزانه با نرخ رشد روزانه برابر ۸۳/٦۱ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم جیره غذایی محاسبه شد (شکل ٦).

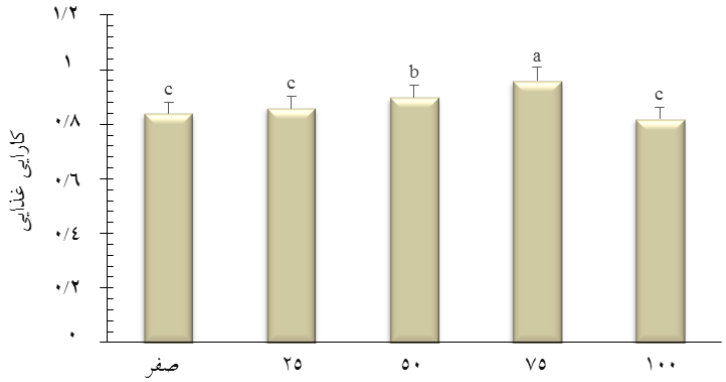


شکل ۵. نرخ رشد روزانه بین تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (میانگین±انحراف معیار).
حروف متفاوت روی هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (p<۰/۰۵).



شکل ٦. سطح بهینه نانولیپوزوم حاوی آستازانتین قزل‌آلای رنگین‌کمان بر اساس رابطه رگرسیون چندجمله‌ای درجه سوم با نرخ رشد روزانه

نتایج اندازه‌گیری نرخ کارآیی غذایی بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمار شاهد و تیمارهای ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین در کیلوگرم جیره غذایی بود (p<۰/۰۵، شکل ۳). این در حالی بود که کارآیی غذایی ماهیان در تیمار ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین به شکل معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود (p>۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری در میزان این کارآیی غذایی بین ماهیان تغذیه نموده با ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین به‌دست آمد (p>۰/۰۵). همچنین کمترین و بیشترین ۰۰/۰۳±۸۲/۰ و ۰/۰۲±۰/۹٦ ثبت گردید (شکل ۷).



شکل ۷. میزان کارآیی غذا بین تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (میانگین±انحراف معیار).
حروف متفاوت روی هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (p<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

آستازانتین یک ماده مغذی ضروری برای اکثر گونه ماهیان و سخت‌پوستان می‌باشد که بدون حضور آن ممکن است سلامتی موجودات آبزی به ویژه ماهیان به خطر بیفتد (Putra *et al.*, 2020). استفاده از مکمل غذایی آستازانتین که به صورت یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل نموده و تا حدود زیادی استرس‌های ناشی از فرآیند اکسیداتیو را خنثی می‌سازد، نقش مهمی در حفظ عملکرد سلولی و سلامتی جانوران ایفا می‌نماید (فقانی و همکاران، ۱۳۹۳). این پژوهش از نانولیپوزوم در جهت افزایش اثربخشی آستازانتین استفاده نمود و به نظر می‌رسد مطالعه حاضر اولین مطالعه در صنعت آبزی‌پروری برای ارزیابی استفاده از نانولیپوزوم حاوی آستازانتین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد.

در این مطالعه به‌منظور ارزیابی اثرات سطوح مختلف آستازانتین پوشش داده شده با نانولیپوزوم بر برخی از فاکتورهای رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. نتایج نشان داد که آستازانتین پوشش داده شده با نانولیپوزوم با دوز ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند درصد افزایش وزن، نرخ رشد روزانه و کارآیی غذایی را در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بهبود دهد. البته همان طور که در نتایج ارایه شده، اثرگذاری ضعیف‌تر در تیمار تغذیه شده با بالاترین میزان نانولیپوزوم حاوی آستازانتین مشاهده شده است. آستازانتین یک ماده شیمیایی است که با اثرگذاری بیش از اندازه بر سلول هدف از طریق جذب شدن، مجموع واکنش‌های بیولوژیکی و فیزیولوژیکی که جانور باید انجام دهد را تحت تاثیر قرار می دهد. (Kalinowski *et al.*, 2019). برآیند این واکنش‌ها در موجود تحت عنوان استرس شناخته شده است که این عامل استرس در جانور می‌تواند در قالب کاهش اشتها خود را نشان دهد و به دنبال آن کاهش رشد مشهود است (Liu *et al.*, 2016). البته جزئیات مکانیسم اثرات مصرف بیش از اندازه آستازانتین در ماهی و تاثیرش بر روی فاکتورهای مختلف از جمله فاکتورهای رشد نیاز به مطالعه دارد و در سطح سلول باید بررسی شود.

کپسوله کردن آستازانتین باعث می‌شود عوامل فعال در کپسول‌های کوچک به دام افتاده و حداکثر کارآیی را در وقت مناسب داشته باشند (Ji *et al.*, 2019). همچنین نانولیپوزوم‌ها منجر به بهبود خواصی نظیر محافظت‌کنندگی از ترکیبات فعال، سیستم رهاسازی کنترل شده و تغییر طعم نامطلوب غذا می‌شوند که در نهایت منجر به استفاده حداکثری توسط موجود آبزی می‌شود (محمدی و همکاران، ۱۳۹۱). عملکرد رشد در گونه‌های مختلف ماهی به انواع مواد مغذی و عملکردهای روده‌ای حیوانات مانند فعالیت گوارشی دستگاه گوارش بستگی دارد (Shah & Marz, 2020). کاروتنوئیدها به اینکه در متابولیسم و فراسنجه‌های رشد نقش مثبتی دارند شناخته شده‌اند (Rossi *et al.*, 2020)، درحالی‌که کپسوله‌سازی آستازانتین یک واسطه موثر در سوخت‌وساز بوده و فواید زیادی از جمله تسریع هضم و جذب رنگدانه، افزایش بهره‌وری مواد غذایی و در نتیجه عملکرد رشد موجودات آبزی دارد (Cheng *et al.*, 2018).

از مطالعاتی که اثرات مثبت جیره‌های مکمل‌سازی شده توسط آستازانتین را بر فراسنجه‌های رشد ماهیان گزارش داده‌اند می‌توان به مطالعه انجام شده توسط محمدی و تکمه‌چی (۱۳۹٤) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، Li و همکاران (۲۰۱٤) در ماهی شوریده زرد بزرگ (*Pseudosciaena crocea*)، Ashouri و همکاران (۲۰۱۵) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، Sharif Rohani و همکاران (۲۰۱۷) در تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*)، El-Basuini و همکاران (۲۰۱۷) در ماهی سیم قرمز (*Pagrus major*)، Longbaf Dezfouli و همکاران (۲۰۱۹) در ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*)، Abdel-Hammed و همکاران (۲۰۱۹) در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) و Zahmatkesh و همکاران (۲۰۲۰) در ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) اشاره کرد. Tizkar و همکاران (۲۰۱٦) گزارش دادند که اضافه کردن آستازانتین به جیره غذایی ماهی حوض (*Carassius auratus*) باعث افزایش مصرف غذا و در نتیجه بهبود رشد می‌شود. آستازانتین یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی قوی است که می‌تواند تولید بیش از

اندازه رادیکال‌های آزاد ناشی از فعالیت‌های مرتبط با سوخت‌وساز مواد غذایی را حذف نموده و از این طریق به بهبود شرایط استفاده از مواد غذایی کمک نماید (Lim *et al*., 2018). علاوه بر این، اثرات مثبت آستازانتین بر افزایش کارآیی هضم و جذب مواد غذایی شناخته شده است (Shah & Marz, 2020). کاهش رشد ماهیان در این آزمایش پس از تغذیه با ۱۰۰ میلی‌گرم نانولیپوزوم حاوی آستازانتین را نیز می‌توان به تاثیر قوی آستازانتین به شکل نانوذره مرتبط دانست که مانع از ایجاد رادیکال‌های طبیعی خواهد شد که برای فعل و انفعالات طبیعی بدن ضروری هستند (Lushchak & Bagnyukova, 2006)، هرچند که اظهارنظر قطعی نیازمند پژوهش‌های بیشتر در این زمینه خواهد بود.

با این حال برخی تحقیقات نتایج متفاوتی در رابطه با تاثیر آستازانتین بر رشد ماهیان داشتند از آن جمله می‌توان به پژوهش Rahman و همکاران (۲۰۱۶) اشاره کرد. تحقیق مذکور بیان نمود افزایش میزان آستازانتین تاثیر به سزایی بر بهبود فاکتورهای رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ندارد. این اختلاف در نتایج کسب شده را می‌توان به عواملی از جمله نژاد و اندازه ماهیان، درصد خلوص آستازانتین، دوره آزمایشی و از همه مهمتر به ساختار نانولیپوزوم استفاده شده در این پژوهش برای انتقال آستازانتین ارتباط داد. نانولیپوزم در واقع ترکیبی با ساختمان مشابه دیواره سلولی است که در ابعاد نانو ساخته شده و قادر است ترکیبات محلول در چربی را به سادگی حمل و در موقعیت مناسب رها نماید (Liu & Park, 2018). نانولیپوزوم علاوه بر این قادر خواهد بود از آستازانتین در مقابل اکسایش احتمالی در زمان آماده‌سازی غذا و نگهداری پیش از مصرف محافظت نماید که در نتیجه موجب اثرگذاری بالاتر آن در مقایسه با زمانی خواهد شد که به صورت رنگدانه معمولی استفاده می‌گردد (Mozafari *et al*., 2008).

در مجموع بر اساس نتایج پژوهش حاضر استفاده از آستازانتین نانو کپسوله شده می‌تواند به شکل معنی‌داری باعث افزایش وزن، میانگین نرخ رشد روزانه و کارآیی غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان شود، به‌طوری‌که ۸۳/۶۱ میلی‌گرم ناولیپوزوم حاوی آستازانتین را می‌توان به‌عنوان مقدار بهینه این ترکیب برای رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان اعلام نمود. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که استفاده از نانولیپوزوم حاوی آستازانتین روشی نوین برای بهبود رشد و کارآیی غذایی در اختیار پرورش‌دهندگان قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد داد.

منابع

بهرمند، م.، محمودی ص. و سلیمانی راد، آ. (۱۳۹۷) بررسی عوامل موثر بر بازده استفاده از رنگدانه‌های کارتنوئیدی در آبزیان، ۲(۲): ۲۸-۱۵.

فقانی، ط.، سلطانی، م.، شمسایی، م. و متین‌فر، ع. (۱۳۹۳) مطالعه تاثیر آستاگزانتین طبیعی (*Haematococcus pluvialis*) بر شاخص‌های رشد، ترکیب آنالیز لاشه و کبد فیل‌ماهی جوان (*Huso huso* Linnaeus, 1758). مجله زیست‌شناسی دریا، ۵(۳): ۶۹-۷۸.

طافی، ع.ا.، مشکینی، س. و تکمه‌چی، ا. (۱۳۹۲) مطالعه تاثیر کیتوزان بر برخی از پاسخهای ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و افزایش مقاومت آن به دنبال رویاروئی تجربی با *آئروموناس هیدروفیلا*. پژوهش‌های جانوری؛ ۲۶(٤): ٤٧٧-٤٦٨.

محمدی، م.، جهادی، م.، احسانی، م.ر. و خسروی‌دارانی، ک. (۱۳۹۱) کاربرد نانوحامل‌های لیپوزومی حاوی آنزیم در تولید و رسیدن پنیر. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۷(٤): ٣٤-٢١.

محمدی، ن. و تکمه‌چی، ا. (۱۳۹٤) تاثیر استفاده توام نانو ذرات آهن و پروبیوتیک *Lactobacillus casei* بر شاخص‌های رشد و تجمع پروبیوتیک در روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۰(۱): ۵۳-٤٧.

Abdel-Hammed, M.S.M., Allam, S.M., Metwally, A.A., El-Deeb, K.A. and Abdel-Aziz, M.F. (2019) A comparative study of Nano-iron and zinc as feed additive on growth performance, feed efficiency and chemical body composition of Nile tilapia fingerlings (*Oreochromis nilotiucs*). Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 23(5): 367-380. DOI: 10.21608/ejabf.2019.105430

Alishahi, A., Mirvaghefi, A., Tehrani, M.R., Farahmand, H., Koshio, S., Dorkoosh, F.A., Elsabee, M. (2011) Chitosan nanoparticle to carry vitamin C through the gastrointestinal tract and induce the non-specific immunity system of

Journal of Natural Products, 69(3): 443–449. DOI: 10.1021/np050354+

Ji, J., Merino, S., Tomás, J.M. and Roher, N. (2019) Nanoliposomes encapsulating immunostimulants modulate the innate immune system and elicit protection in zebrafish larvae. Fish and Shellfish Immonology, 92: 421–429. DOI: 10.1111/anu.12962

Kalinowski, C., Larroquet, L., Véron, V., Robaina, L., Izquierdo, M., Panserat, S., Kaushik, S. and Fontagné-Dicharry, S. (2019) Influence of detary astaxanthin on the hepatic oxidative stress response caused by episodic hyperoxia in rainbow trout. Journal of Antioxidants, 8(12), 626-626. DOI: 10.3390/antiox8120626

Kittilsen, J., Schjolden, I., Beitnes-Johansen, J.C., Shawa, T.G., Pottinger, C., Sørensen, B.O., Braastad, M., Bakken, Ø., and Øverli, T. (2009) Melanin-based skin spots reflect stress responsiveness in salmonid fish. Journal of Hormones and Behavior, 56(3): 292–298. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2009.06.006

Kop, A. and Durmaz, Y. (2008) The effect of synthetic and natural pigments on the colour of the cichlids (*Cichlasoma severum Heckel*). Aquaculture International, 16(2): 117–122. DOI: 10.1007/s10499-007-9130-1

Li, M., Wu, W., Zhou, P., Xie, F., Zhou, Q. and Mai, K. (2014) Comparison effect of dietary astaxanthin and Haematococcus pluvialis on growth performance, antioxidant status and immune response of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. Aquaculture, 434: 227-232. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.08.022

Lim, K.C., Yusoff, F.M., Shariff, M. and Kamarudin, M.S. (2018) Astaxanthin as feed supplement in aquatic animals. Reviews in Aquaculture, 10(3): 738-773. DOI: 10.1111/raq.12200

Liu, F., Shi, H.Z., Guo, Q.S., Yu, Y.B., Wang, A.M., Lv, F. and Shen, W.B. (2016) Effects of astaxanthin and emodin on the growth, stress resistance and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Fish and shellfish immunology, 51: 125-135. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.02.020

Liu, N. and Park, H. (2018) Chitosan-coated nanoliposome as vitamin E carrier. Journal of Microencapsulation, 26(3): 235-42. DOI: 10.1080/02652040802273469

Longbaf Dezfouli, M., Ghaedtaheri, A., Keyvanshokooh, S., Salati, A.P., Mousavi, S.M. and Pasha Zanoosi, H. (2019) Combined or individual effects of dietary magnesium and selenium nanoparticles on growth performance, immunity, blood biochemistry and antioxidant status of Asian seabass (*Lates calcarifer*) reared in freshwater. Aquculture Nutrition, 25(6): 1422-1430. DOI: 10.1111/anu.12962

Lushchak, V.I. and Bagnyukova, T.V. (2006) Effects of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Carbohydrate Polymers, 86(1): 142-146. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.04.028

Ashouri, S., Keyvanshokooh, S., Salati, A.P., Johari, S.A. and Pasha-Zanoosi, H. (2015) Effects of different levels of dietaryselenium nanoparticles on growth performance, muscle composition, blood biochemical profiles and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 446: 25–29. DOI: 10.1016/J.AQUACULTURE.2015.04.021

Bedie, G.K., Turgeon, S.L. and Makhlouf, J. (2008) Formation of native whey protein isolate–low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. Food hydrocolloids, 22(5): 836-844. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2007.03.010

Besharat, M., Rajabi Islami, H., Soltani, M. and Abdolmajid Mousavi, S. (2021) Effect of different levels of nanoliposome-coated astasxanthin on growth performance, body proximate composition, liver enzyme activity and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research. Retrieved from https://doi.org/10.1111/are.15378

Cheng, C.H., Guo, Z.X., Ye, C.X. and Wang, A.L. (2018) Effect of dietary astaxanthin on the growth performance, non-specific immunity, and antioxidant capacity of pufferfish (*Takifugu obscurus*) under high temperature stress. Fish Physiology and Biochemistry, 44(1): 209-218. DOI: 10.1007/s10695-017-0425-5

El-Basuini, M.F., El-Hais, A.M., Dawood, M.A.O., Abou-Zeid, A.E-S., El- Damrawy, S.Z., Khalafalla, M.M.E-S., Koshio, S., Ishikawa, M. and Dossou, S. (2017) Effects of dietary copper nanoparticles and vitamin C supplementations on growth performance, immune response and stress resistance of red sea bream, *Pagrus major*. Aquaculture Nutrition, 23(6): 1329–1340. DOI: 10.1111/anu.12508

Esmaeili, B. and Khara, H. (2014) Growth performance, hematology and immunological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed with diets containing different levels of vitamin E and folic acid. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 13(4): 931-943.

Higuera-Ciapara, I., Felix-Valenzuela, L. and Goycoolea, F. (2006) Astaxanthin: A review of its chemistry and applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46(2): 185–196. DOI: 10.1080/10408690590957188

Huanga, C.H., Changa, R.J., Huang, S.L. and Chen, W. (2003) Dietary vitamin E supplementation affects tissue lipid peroxidation of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Comparative Biochemistry and Physiology, 134(B): 265-270. DOI: 10.1016/s1096-4959(02)00256-7

Hussein, G., Sankawa, U., Goto, H., Matsumoto, K. and Watanabe, H. (2006) Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition.

juvenile Pacú (*Piaractus mesopotamicus*) by supplementation with *Pyropia columbina* and β-carotene. Aquaculture International, 28: 1-16. DOI: 10.1007/s10499-020-00508-1

Shah, B.R. and Mraz, J. (2020) Advances in nanotechnology for sustainable aquaculture and fisheries. Reviews in Aquaculture, 12(2): 925-942. DOI: 10.1111/raq.12356

Sharif Rohani, M., Haghighi, M. and Bazari Moghaddam, S. (2017) Study on nanoparticles of Aloe vera extract on growth performance, survival rate and body composition in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). Iranian Journal of Fisheries Sciences,16(2): 457–468.

Tizkar, B., Soudagar, M., Bahmani, M., Hosseini, S.A., Chamani, M., Seidavi, A. and Ponce-Palafox, J.T. (2016) Effects of dietary astaxanthin and β-carotene on gonadosomatic and hepatosomatic indices, gonad and liver composition in goldfish *Carassius auratus*. Journal of Aquatic Research, 44(2): 363-368. DOI: 10.3856/vol44-issue2-fulltext-17

Zahmatkesh, A., Karimzadeh, K. and Faridnia, M. (2020) Effect of dietary selenium nanoparticles and chitosan oligosaccharide on biochemical parameters of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) under malathion stress. Caspian Journal of Environmental Sciences, 18(1): 59-71. DOI: 10.22124/cjes.2020.3979/

Zeitoun, I.H., Ullrey, D.E., Magee, W.T., Gill, J.L. and Bergen, W.G. (1976) Quantifying nutrient requirements of fish. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 33(1): 167-172. DOI: 10.1139/f76-019

and Molecular Biology, 144(3): 283-289. DOI: 10.1016/j.cbpb.2006.02.014

Mavraganis, T., Constantina, C., Kolygas, M., Vidalis, K. and Nathanailides, C. (2020) Environmental issues of Aquaculture development. Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 24(2): 441-450. DOI: 10.21608/EJABF.2020.85857

Mozafari, M.R., Khosravi-Darani, K., Borazan, G.G., Cui, J., Pardakhty, A. and Yurdugul, S. (2008) Encapsulation of food ingredients using nanoliposome technology. International Journal of Food Properties, 11(4): 833-844. DOI: 10.1080/10942910701648115

Pan, L., Zhang, S., Gu, K. and Zhang, N. (2018) Preparation of astaxanthin-loaded liposomes: characterization, storage stability and antioxidant activity. CyTA-Journal of Food, 16(1): 607-618. DOI: 10.1080/19476337.2018.1437080

Putra, F.D., Qadri, A., El-Rahimi, S. and Othman, N. (2020) Effects of astaxanthin on the skin color of green Swordtail, *Xyphophorus helleri*. E3s Web of conferences, 151: 01065. DOI: 10.1051/e3sconf/202015101065

Rahman, M.M., Khosravi, S., Chang, K.H. and Lee, S.M. (2016) Effects of dietary inclusion of astaxanthin on growth, muscle pigmentation and antioxidant capacity of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Preventive Nutrition and Food Science, 21(3): 281-288. DOI: 10.3746/pnf.2016.21.3.281

Rossi, L.T., Sharpen, A.R., Zimmermann, J.A., Olivero, C.R., Zbrun, M.V., Frizzo, L.S. and Drago, S.R. (2020) Intestinal microbiota modulation in

Effect of nanoliposomes coated with astaxanthin on growth performance indices and feed product efficiency of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Mojdeh Besharat[1], Houman Rajabi Islami[2]*, Mehdi Soltani[3] and Seyed Abdolmajid Mousavi[4]

1) Ph.D. Student, Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2) Associate professor, Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University,Tehran, Iran.*Corresponding Author Email Address:rajabi.h@srbiau.ac.ir
3) Professor, Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
4) Assistant professor, Department of Animal Science, Agriculture Faculty, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

Date of Submission: 2021/05/29 Date of Acceptance: 2021/08/11

Abstract

The present study investigated the effect of nanoliposome-coated astaxanthin (NA) in the diet on growth indices of rainbow trout. A total of 375 fish with an average initial weight of 31.00±2.00 g were divided into five treatments including 0 (control), 25, 50, 75 and 100 mg kg^{-1} NA. Each treatment had three replications and each replication contained 25 pieces of fish that were randomly stored in 15 tanks with capacity of 200 liter and fed with food related to the same treatment for 60 days. The results showed that the highest percentage of weight gain (225.22±13.80) was related to the treatment of 75 mg kg^{-1} NA and the lowest (194.57±12.88) was related to the treatment of 100 mg kg^{-1} NA. Also, the highest daily growth rate (%) with 2.51±0.10 g d^{-1} was from the treatment of 75 mg kg^{-1} NA, which was significantly higher than the amount in the control ($p < 0.05$). The highest rate of food efficiency was from the treatment of 75 mg kg^{-1} NA. The finding of the present study indicated that 83.61 mg NA has the best effect on the growth of rainbow trout and is recommended for culturing of this fish.

Keywords: Astaxanthin, Growth indices, Nanoliposome, Rainbow trout.