



اثر سطوح متفاوت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی جیره بر رشد، کیفیت لاشه و شاخص‌های بیوشیمیایی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

کمیل قلی‌زاده اصلی^۱، مجید رضا خوش‌خلق^۱، بهرام فلاحتکار^{۱*}

^۱گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان
^۲گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۵/۱۲/۲۸

اصلاح: ۹۶/۰۵/۲۴

پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

کلمات کلیدی:

آنالیز لاشه

رشد

شاخص‌های پلاسما

کپور معمولی

نانوذرات آهن

این مطالعه با هدف بررسی افزودن غلظت‌های متفاوت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی به جیره غذایی و تأثیر آن بر رشد، کیفیت لاشه و شاخص‌های بیوشیمیایی خون در بچه ماهی انگشت قد کپور معمولی انجام شد. به این منظور ۱۵۰ عدد ماهی با وزن متوسط اولیه $0.10 \pm 6/14$ گرم به مدت ۸ هفته با جیره‌های حاوی صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و 200 mg/kg نانوذرات آهن صفر ظرفیتی تغذیه شدند. بر طبق نتایج، مقادیر شاخص‌های وزن نهایی، وزن به دست آمده، طول نهایی، نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن، درصد رشد روزانه، کارایی غذا و کارایی پروتئین و چربی در تیمار 150 mg/kg نانوذره آهن اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان دادند ($P < 0.05$). شاخص کبدی در تیمار صفر دارای بیشترین مقدار بود ($P < 0.05$). در آنالیز لاشه، اختلاف بین تیمارها در شاخص‌های رطوبت، خاکستر و پروتئین معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). اما چربی لاشه در تیمار 50 mg/kg بیشترین مقدار را نشان داد ($P < 0.05$). پروتئین پلاسما در تیمار 150 mg/kg و آلکالاین فسفاتاز پلاسما در تیمار 50 mg/kg دارای بیشترین مقدار بودند ($P < 0.05$). اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در مقدار گلوکز پلاسما مشاهده نشد ($P > 0.05$). بر اساس نتایج، افزودن نانوذرات آهن صفر ظرفیتی در غلظت 150 mg/kg که به دلیل افزایش نسبت سطح به حجم دارای اثرگذاری بیشتری در مقایسه با هم نوع خود در مقیاس بزرگ‌تر هستند، در جیره غذایی بچه ماهی کپور معمولی توصیه می‌شود.

مقدمه

با رشد روز افزون جمعیت و ایجاد تغییر در ذائقه مردم به سمت استفاده از محصولات غذایی سالم و با کیفیت، صنعت آبریز پروری به دلیل سود آوری و ارزش غذایی گوشت ماهی نسبت به دیگر پروتئین‌های حیوانی رشد بسیار سریعی داشته است (FAO, 2003) و برآورد می‌شود که تا چند سال آینده، میزان تولیدات حاصل از تکثیر و پرورش مصنوعی آبریزان با صید و بهره‌برداری آن‌ها از منابع طبیعی برابری کند (Falahatkar, 2015). از آنجا که سهم صنعت آبریز پروری در ایجاد امنیت غذایی، تجارت و اشتغال در طول دهه‌های گذشته افزایش یافته است، به همین دلیل برای گسترش این صنعت نیاز به ورود فناوری‌های جدید خواهد بود (Jia et al., 2001). فناوری نانو دارای پتانسیل استفاده در صنعت پرورش آبریزان و غذاهای

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: falahatkar@guilan.ac.ir

دریایی است (Handy et al., 2012). جایگزین کردن فناوری‌های نوین مانند نانو فناوری به جای سیستم‌های سنتی باعث افزایش پیشرفت در صنعت آبی‌پروری می‌شود. همچنین استفاده از نانوفناوری و زیست‌فناوری در صنعت آبی‌پروری، برای جلوگیری از تولید آلودگی در محیط آبی بسیار مؤثر است (Bhattacharya et al., 2015). به طوری که، در طی فرآیند احیا، مصرف ۰/۳۶ گرم بر لیتر از نانوذرات آهن صفر ظرفیتی موجب حذف نیترات در غلظت‌های ۲۵ تا ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از محیط آبی شد (Khoshkalam and Rahnamaei, 2014). در پژوهشی دیگر، استفاده از غلظت ۵ گرم بر لیتر نانوذرات آهن صفر ظرفیتی باعث حذف ۳۷ تا ۹۹ درصدی فلزاتی چون نیکل، کادمیوم، روی، نقره، کروم و سرب از محیط آبی شده است (Geiger et al., 2009).

برای توسعه صنعت آبی‌پروری علاوه بر نیازمندی به نوآوری، توجه به دو نکته تغذیه و مدیریت کیفی آب بیش از بقیه موارد ضرورت دارد. تهیه غذا یکی از مهم‌ترین مسائل در پرورش آبزیان به شمار می‌آید و هزینه غذا به طور معمول ۳۰ تا ۶۰ درصد کل هزینه لازم برای سیستم‌های پرورش آبزیان را شامل می‌شود (Falahatkar, 2015). بنابراین به منظور افزایش بازده تولید تعیین نیازهای غذایی آبزیان ضروری می‌باشد (Hung et al., 1987; Deng, 2000). همچنین توجه به کمیت و کیفیت غذا در کنار طراحی اصولی و کاهش هزینه تولید می‌تواند موجب موفقیت در پرورش آبزیان شود (Falahatkar, 2015). از این رو پرورش موفق آبزیان نیازمند استفاده از خوراک کامل و کارآمد با ترکیب بهینه است که بایستی تمام ترکیبات تغذیه‌ای ضروری مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی را برای سلامتی و رشد سریع ماهی فراهم آورد (Cho et al., 2005; Aprodu et al., 2012). مواد معدنی بسته به نقش زیستی خود می‌توانند در گروه‌های مختلفی همچون عناصر ضروری، غیرضروری و سمی طبقه‌بندی شوند (Mahmoudi, 2003; Stancheva et al., 2013). در این طبقه‌بندی، فلزاتی مثل آهن، روی و مس در گروه عناصر ضروری قرار می‌گیرند چرا که نقش‌های مهمی در سیستم‌های زیستی ایفا می‌کنند (Mendil et al., 2005). اغلب موجودات زنده قادر به سنتز عناصر معدنی نبوده و این نیازمندی بدن را از طریق خوراک تأمین می‌کنند. بنابراین فقیر بودن جیره‌های غذایی از این مواد با مشکلات زیادی همراه بوده و اختلالات مهمی مانند آسیب‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را سبب می‌گردد. آهن یکی از عناصر ضروری در جیره آبزیان می‌باشد که به عنوان مکمل معدنی با مواد مختلف مانند ترکیبات سولفات به جیره ماهی اضافه می‌شود. آهن به عنوان یک ریز مغذی نقش بسیار مهمی در عملکرد اندام‌ها و بافت‌های حیوانات، از جمله ماهیان دارد (Andersen et al., 1997). ماده آهن جزئی از بخش هم مولکول هموگلوبین، سیتوکروم‌ها و پراکسیدازها است (Hardison, 1998). همچنین در روندهای تنفسی شامل اکسیداسیون، احیاء و انتقال الکترون نیز مؤثر است (Coates, 1975; Kawano et al., 2002). برای حفظ مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین و قطر گلبول‌ها، وجود این عنصر ضروری است. آهن جزء ترکیب تمام یاخته‌های بدن می‌باشد و به ویژه در کبد و طحال ذخیره شده و برای ساخت گلبول‌های قرمز، لوکوسیت‌های کبد را به مغز استخوان انتقال می‌دهد. آهن برای سوخت و ساز ویتامین‌های گروه B نیز ضروری است. از دیگر وظایف آهن در بدن می‌توان به افزایش مقاومت ماهی در برابر استرس و عملکرد صحیح آنزیم‌ها اشاره کرد (Ghobadi et al., 2013). کمبود آهن در گونه‌های مختلفی از ماهیان موجب کم‌خونی (Gatlin and Wilson, 1986) و یا کاهش نرخ تفریح می‌شود (Hirao et al., 1955).

اشکال مختلفی از ترکیبات دارای آهن در جیره غذایی آبزیان استفاده می‌شود که متداول‌ترین آن سولفات آهن می‌باشد؛ اما مصرف این ماده در سطوح متفاوت توسط ماهی حوض (Carassius auratus gibelio) (Pan et al., 2009)، ماهی کپور معمولی (Cyprinus Carpio) (Sakamoto and Yone, 1978) و گربه‌ماهی کانالی (Ictalurus punctatus) (Lim et al., 1996) باعث افزایش رشد آن‌ها نسبت به تیمار کنترل نشده است. امروزه با بهره‌گیری از نانوفناوری در صنعت آبی‌پروری اشکال جدید و متنوعی از مواد معدنی به خصوص آهن در مدل‌های متفاوت مانند نانوذرات آهن صفر ظرفیتی (خنثی) و نانوذرات اکسید آهن، در مقیاس‌های مختلف تولید می‌شود. نانوذرات آهن به دلیل ویژگی‌های فیزیوشیمیایی مانند جذب سطحی، اکسیداسیون و احیاء به عنوان حامل‌های دارویی در درمان سلول‌های سرطانی استفاده‌های گسترده‌ای دارند (Prijic et al., 2010) و می‌توانند قابلیت در دسترس بودن آهن را نسبت به دیگر اشکال آن در انسان و موش افزایش دهند؛ علاوه بر آن ماده

آهن با مقدار پروتئین موجود در بافت‌های حیوانی در ارتباط است (Barton and Edwards, 2000). آهن اهمیت و نقش به‌سزایی در رشد باکتری‌ها و میکروارگانیسم‌ها در بدن میزبان به عهده دارد (Tukmechi et al., 2011)، بنابراین می‌تواند رشد و تکثیر پروبیوتیک‌ها را در روده تقویت نماید. به همین منظور در آزمایشی مصرف نانوذرات آهن اکسید شده به مقدار ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم غذا به همراه پروبیوتیک (*Iesac sullicabotcaL*) به میزان ۱۰ CFU در هر گرم غذا، باعث بهبود شاخص‌های رشد و کارایی تغذیه‌ای در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) شده است (Mohammadi and Tukmechi, 2015). در بررسی دیگری که به منظور مقایسه اثرات نانوذرات اکسید آهن و سولفات آهن بر روی ماهی کپور هندی روهو (*Labeo rohita*) انجام شد، مقدار تثبیت ماده آهن در عضله و همچنین میزان گلبول قرمز و سطح هموگلوبین خون ماهی تغذیه شده با نانوذرات اکسید آهن، نسبت به تیمار کنترل بیشتر بود (Behera et al., 2014). همچنین مصرف بیش از اندازه نانو ذرات آهن باعث ایجاد آسیب‌های جدی در هپاتوسیت‌های کبدی مانند لیپیدوز، التهاب و بروز برهم ریختگی نظم لوبول کبدی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود (Hajirahimi et al., 2015)؛ به این دلیل، خطر تغییرات در هماتولوژی، ویژگی‌های بیوشیمیایی پلاسما و اندام‌های داخلی ماهی بر اثر استفاده از نانوذرات معدنی، باید مورد بررسی قرار گیرد (Shaw and Handy, 2011). با انجام پژوهش‌هایی که در زمینه استفاده از آهن در جیره غذایی برخی از گونه‌ها انجام شد، میزان دقیق این ماده برای رشد آن‌ها مشخص گردید. به عنوان مثال، مقدار آهن مورد نیاز به ازای هر کیلوگرم غذا برای ماهی سیم (*Abramis brama*) ۱۵۰ میلی‌گرم می‌باشد (Sakamoto and Yone, 1976). همچنین برای مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) ۱۷۰ میلی‌گرم (Nose and Arai, 1979)، گربه‌ماهی کانالی ۳۰ میلی‌گرم (Gatlin and Wilson, 1986) و ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) ۶۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم آهن در هر کیلوگرم غذا برآورد شده است (Anderson et al., 1996).

در بین ماهیان پرورشی، ماهی کپور معمولی به دلیل مقاومت زیاد در مقابل نوسان‌های محیطی و استفاده از محدوده وسیع مواد غذایی قابل دسترس، در اکثر مناطق دنیا قابل پرورش است (Tokur et al., 2006; Salehi, 2003)، به طوری که این ماهی دارای رتبه سوم در بین گونه‌های پرورشی آبزیان می‌باشد (FAO, 2014). کپور معمولی از تغذیه‌کنندگان فرصت‌طلب می‌باشد که قادر است از هر منبع غذایی قابل دسترس استفاده کرده و آن را مورد مصرف قرار دهد (Sanchez, 1970). برای پرورش مناسب این ماهی، باید سطوح مورد نیاز از درشت مغذی‌ها و ریز مغذی‌های ضروری مشخص شود. از آنجایی که تاکنون مطالعه‌ای درباره تعیین سطح مورد نیاز و میزان اثرگذاری نانوذرات آهن که به دلیل افزایش نسبت سطح به حجم دارای واکنش‌پذیری بیشتر می‌باشند بر روی ماهی کپور معمولی انجام نشده است، بر همین اساس تحقیق حاضر با هدف تعیین اثر سطوح متفاوت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی موجود در جیره غذایی بر رشد، کیفیت لاشه و شاخص‌های بیوشیمیایی در بچه ماهی کپور معمولی انجام شد.

مواد و روش‌ها

ماهی و محیط آزمایش

این آزمایش به مدت ۸ هفته در سالن آکواریوم دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان واقع در شهرستان صومعه‌سرا صورت گرفت. بچه ماهیان انگشت‌قد کپور معمولی به منظور فرآیند سازش‌دهی، در ۱۵ عدد آکواریوم ۱۵۰ لیتری با حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر توزیع شدند (۱۰ عدد ماهی در هر آکواریوم) و بر اساس اشتها، به مدت ۲ هفته از غذای تجاری بچه ماهی کپور معمولی شرکت فرادانه (SFC) در ۴ نوبت تغذیه نمودند. پس از سازگاری ماهیان با شرایط آزمایش و به منظور فرآیند تیمار بندی، ۲۴ ساعت قبل عمل غذادهی قطع گردید و ماهیان با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک بیهوش شدند (Falahatkar et al, 2012). برای سنجش وزنی از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و برای سنجش طولی از خط‌کشی با دقت میلی‌متر استفاده شد. بچه ماهیان کپور معمولی با میانگین وزنی ۰/۱۰ ± ۶/۱۴ گرم و طول متوسط ۰/۱۲ ± ۷/۳۲ سانتی‌متر، به طور تصادفی با تراکم ۱۰ عدد در هر آکواریوم توزیع شدند. میزان دمای آب آکواریوم‌ها به وسیله بخاری برقی در محدوده ۱ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. مقدار متوسط pH آب آکواریوم‌ها ۰/۰۳ ± ۷/۱۲ و مقدار اکسیژن محلول در آب ۰/۱۴ ± ۶/۸۲ میلی‌گرم در لیتر بود. میزان نور تابشی بر هر آکواریوم ۲۱ ± ۷۰۵ لوکس بوده و دوره نوری به صورت ۱۲

ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و به وسیله‌ی لامپ مهتابی تنظیم شد (Javid Rahmdel et al., 2016). همچنین تعویض آب آکواریوم‌ها به طور منظم و با حجم ۷۰ لیتر و به فاصله زمانی ۲۴ ساعته صورت گرفت. برای جلوگیری از شوک دمایی در هنگام سیفون کردن، از آب ذخیره‌ای که دارای دمای یکسان با آب آکواریوم‌ها بود، استفاده شد.

فرآیند پایدار کردن نانوذرات آهن صفر ظرفیتی

نانو آهن مذکور از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان خریداری شد. برای جلوگیری از اکسید شدن نانوذرات آهن صفر ظرفیتی، این ذرات با مواد آنتی‌اکسیدان ترکیب و در مرحله بعد به جیره اضافه شد. در ابتدا مقدار ۲/۵ گرم نانو آهن صفر ظرفیتی در ۴۲۰ میلی‌لیتر اتانول حل شده و مقدار ۰/۸۳ گرم ویتامین C به محلول اضافه شد. ترکیب این مواد زیر گاز آرگون و به دور از گاز اکسیژن در مدت ۳ الی ۴ ساعت بر روی دستگاه شیکر صورت پذیرفت. در مرحله بعد قسمت‌های مختلف سوسپانسیون به وجود آمده به وسیله دستگاه سانتریفیوژ (Hettich, Tuttlingen, Germany) از هم تفکیک شد. نانو آهن رسوب کرده در لوله آزمایش جدا و سه مرتبه توسط اتانول شسته شد. در مرحله آخر نانوذرات آهن صفر ظرفیتی در ظرف پتری‌دیش ریخته و در دستگاه آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شوند (Sreeja et al., 2015). بعد از انجام این مراحل نانوذرات آهن صفر ظرفیتی در معرض اکسیژن اکسید نمی‌شود. استفاده از ویتامین C در آزمایش، به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن در آب بوده (Pardoe et al., 2001) و همچنین افزایش جذب نانوذرات آهن در بدن را به دنبال دارد (Frei and Lawson, 2008).

طراحی آزمایش و ساخت جیره غذایی

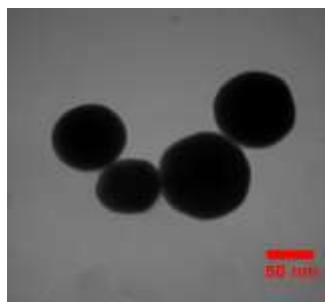
این آزمایش با ۵ تیمار، که هر تیمار دارای سه تکرار بود، انجام شد. در این مطالعه از جیره‌ی غذایی تجاری بچه ماهی کپور معمولی شرکت فرادانه (Shahr-Kord, Iran) استفاده شد (جدول ۱). به ازای هر کیلوگرم غذا مقادیر صفر (Nano Iron₀)، ۵۰ (NI₅₀)، ۱۰۰ (NI₁₀₀)، ۱۵۰ (NI₁₅₀) و ۲۰۰ (NI₂₀₀) میلی‌گرم نانوذرات آهن صفر ظرفیتی (US Research nanomaterials, USA) اضافه شد (شکل ۱ و ۲، جدول ۲). قبل از افزودن نانوذرات آهن به جیره، مقدار آهن کل در جیره تجاری فرادانه که به ازای هر کیلوگرم غذا ۶۳ میلی‌گرم بود، به وسیله دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی (Spectroscopy, Analyst 700, USA) در پارک علم و فناوری شهر رشت اندازه‌گیری شد. بعد از ترکیب کردن ۵ دوز متفاوت از نانوذرات آهن صفر ظرفیتی با وزن مشخصی از جیره پایه تجاری آسیاب شده، مخلوط غذایی با آب ترکیب شد و در داخل میکسر به صورت خمیر درآمد. در مرحله بعد، خمیر به وجود آمده در داخل دستگاه چرخ گوشت خانگی قرار گرفت و از چشمه‌هایی به قطر ۲ میلی‌متر عبور داده شد. برای خشک کردن رشته‌های غذایی از باد مستقیم پنکه استفاده شد. رشته‌های خشک شده به پلت‌هایی برابر با اندازه دهان ماهیان تبدیل کرده و داخل فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در طول آزمایش، مقدار غذای داده شده به بچه ماهی کپور معمولی بر اساس اشتها بوده و عمل غذایی در ۴ نوبت با فاصله زمانی ۴ ساعته در ساعات ۱۰، ۱۴، ۱۸ و ۲۲ صورت گرفت.

جدول ۱. ویژگی‌های جیره تجاری بچه ماهی کپور معمولی شرکت فرادانه (SFC)

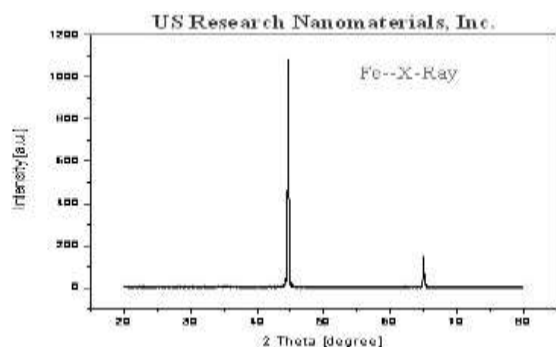
نوع	اندازه	پروتئین (%)	چربی (%)	رطوبت (%)	خاکستر (%)
اکسترود	۲/۳ ± ۰/۲	۴۵/۵	۷	۴/۲۰	۸/۱۸

جدول ۲. ویژگی‌های نانوذرات آهن صفر ظرفیتی استفاده شده در پژوهش حاضر

درصد خلوص	رنگ	مقیاس (nm)	سطح ویژه (m ² /g)	شکل ظاهری	تراکم ذرات (g/cm ³)	چگالی (g/cm ³)
۹۹/۵	سیاه	۳۵-۴۵	۸-۱۴	کروی	۰/۴۵	۷/۹۰



شکل ۱. تصویر نانوذرات آهن صفر ظرفیتی در مقیاس ۵۰ نانومتر توسط میکروسکوپ الکترونی (TEM)



شکل ۲. اندازه‌گیری نانوذرات آهن صفر ظرفیتی توسط دستگاه XRD (اشعه ایکس)

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد

در ابتدا و در طول مدت ۸ هفته مطالعه، هر دو هفته یک بار زیست‌سنجی انجام شد. وزن نهایی ماهیان به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و همچنین طول نهایی آن‌ها با خط‌کشی به دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. سپس شاخص‌های رشد از قبیل وزن نهایی (FW)، طول نهایی (TL)، افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، افزایش وزن روزانه (ADG)، شاخص وضعیت (CF)، نسبت کارایی پروتئین (PER)، نسبت کارایی چربی (LER)، نرخ بازماندگی (SR) و شاخص‌های تغذیه‌ای مانند مقدار غذای مصرفی (FI) و کارایی غذا (FE) از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شد (Falahatkar, 2015). به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های کبدی (HSI) و احشایی (VSI)، از هر تیمار ۹ عدد ماهی با ضربه به سر کشته شده (Granstrom, 2003) و توسط اسکالپل تشریح گردید. کبد و احشاء ماهی‌ها تخلیه، توزین و از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شد (Turchini *et al.*, 2003):

$$\text{WG (g)} = \text{وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)}$$

$$\text{SGR (\%/day)} = \left[\frac{\text{وزن اولیه (گرم)}}{\text{وزن نهایی (گرم)}} - \text{Ln} \right] \times 100 \text{ (طول دوره پرورش (روز))}$$

$$\text{BWI (\%)} = \left[\frac{\text{وزن اولیه (گرم)}}{\text{وزن نهایی (گرم)}} - 1 \right] \times 100$$

$$\text{ADG (\%)} = \left[\frac{\text{وزن اولیه (گرم)}}{\text{وزن نهایی (گرم)}} - 1 \right] \times 100 \text{ (طول دوره پرورش} \times \text{وزن اولیه (گرم))}$$

$$\text{CF} = \left[\frac{\text{طول کل (سانتی‌متر)}}{\text{وزن ماهی (گرم)}} \right] \times 100$$

$$\text{FI (g/fish)} = \text{تعداد ماهی} / \text{کل غذای مصرفی در طول دوره (گرم)}$$

$$\text{FE} = \text{مقدار غذای خورده شده (گرم)} / \text{افزایش وزن بدن (گرم)}$$

$$\text{PER} = \text{پروتئین مصرف شده (گرم)} / \text{وزن تر به دست آمده (گرم)}$$

چربی مصرف شده (گرم) / وزن تر به دست آمده (گرم) = LER

$100 \times \text{وزن بدن (گرم)} / \text{وزن کبد (گرم)} = \text{HSI (\%)}$

$100 \times \text{وزن بدن (گرم)} / \text{وزن احشاء (گرم)} = \text{VSI (\%)}$

$100 \times [\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره} / \text{تعداد ماهیان در انتهای دوره}] = \text{SR (\%)}$

نمونه‌گیری و آنالیز لاشه

بعد از ۸ هفته آزمایش و به منظور تعیین ترکیبات شیمیایی لاشه شامل پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت از ماهیان نمونه‌گیری شد. بدین منظور، عمل غذادهی ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌گیری قطع گردید و از هر تکرار ۳ عدد ماهی (هر تیمار ۹ عدد ماهی) به طور تصادفی انتخاب شد. پس از زیست‌سنجی نهایی و کشتن ماهی‌ها با ضربه به سر، لاشه ماهیان برای سنجش ترکیبات شیمیایی بدن در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. قبل از انجام آنالیز لاشه، تمام ماهی‌های جمع‌آوری شده از هر تکرار به طور کامل (کل بدن) در دستگاه میکسر چرخ شدند. آنالیز شیمیایی لاشه بر اساس روش‌های مندرج در AOAC (2000) صورت گرفت. بر این اساس، برای اندازه‌گیری میزان رطوبت لاشه از دستگاه آون (Lab Oven, Tehran, Iran) در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، میزان خاکستر با سوزاندن مقدار مشخصی از لاشه توسط کوره الکتریکی (Abtin, Tehran, Iran) در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت، میزان پروتئین خام با استفاده از دستگاه کلدال نیمه اتوماتیک (Bakhshi, Tehran, Iran) و میزان چربی خام با استفاده از دستگاه سوکسله (Bakhshi, Tehran, Iran) اندازه‌گیری شدند.

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون

بعد از ۸ هفته آزمایش و به منظور تعیین شاخص‌های بیوشیمیایی خون که شامل پروتئین کل، گلوکز و آلکالاین فسفاتاز پلاسما می‌باشد، از هر تکرار آزمایش ۳ عدد بچه ماهی کپور معمولی پس از بیهوش کردن با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره گل میخک، با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری آغشته به ۱۰ میکرولیتر هپارین، از ناحیه ساقه باله دمی به میزان ۱/۵ میلی‌لیتر خون‌گیری شد. بلافاصله بخش پلاسماي خون به وسیله دستگاه سانترفیوژ (Hettich, Tuttlingen Germany) با سرعت ۱۵۰۰ g جداسازی شد. برای حفظ شاخص‌های بیوشیمیایی، پلاسماي گرفته شده به درون میکروتیوب انتقال داده شد و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. از آنجا که میزان شوری رابطه مستقیم با مقدار پروتئین پلاسما دارد (Campbell, 2015)، اندازه‌گیری پروتئین پلاسما از روش رفراکتومتری و به وسیله دستگاه رفراکتومتر دستی (Atago, Tokyo, Japan) انجام شد. برای اندازه‌گیری میزان سطح گلوکز و آلکالاین فسفاتاز از روش رنگ‌سنجی (Colorimetric) با استفاده از کیت تشخیص پارس آزمون (Tehran, Iran) و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico UV-2100, New Jersey, USA) در طول موج ۵۴۶ نانومتر استفاده شد.

آنالیز آماری

در بررسی آماری داده‌ها، از روش کولموگروف-اسمیرنوف (One-Sample Kolmogorov-Smirnov) برای ارزیابی نرمال بودن داده‌ها و از آزمون Levene برای بررسی همگنی واریانس‌ها استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA One-way) استفاده گردید و اختلاف بین میانگین‌ها به وسیله آزمون چند دامنه‌ای Tukey انجام شد. سطح معنی‌داری در این آنالیز $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SPSS (Version Statistics 16) صورت پذیرفت.

نتایج

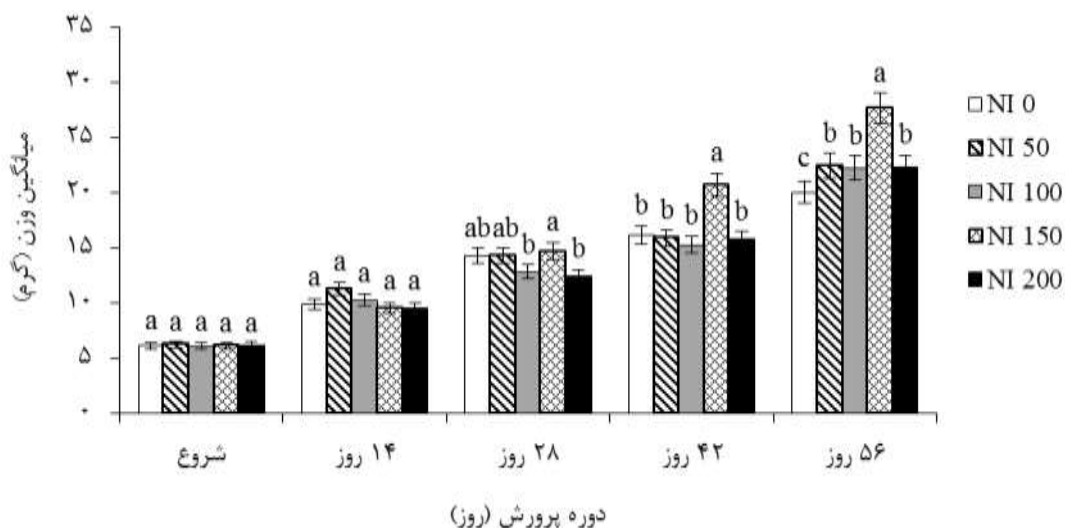
نتایج مربوط به شاخص‌های رشد در جدول ۳ ارائه شده است. روند تغییرات وزنی در طول آزمایش در شکل ۳ ارائه شده است. بعد از گذشت ۸ هفته از شروع آزمایش، اختلاف معنی‌داری در وزن نهایی و افزایش وزن بین تیمار NI_{150} با سایر تیمارها و تیمارهای NI_{50} ، NI_{100} و NI_{200} با تیمار NI_0 مشاهده شد ($P < 0.05$). در شاخص نرخ رشد ویژه اختلاف معنی‌داری بین تیمار NI_{150} با سایر تیمارها و تیمار NI_{100} با تیمار NI_0 مشاهده گردید ($P < 0.05$). در شاخص‌های درصد افزایش وزن بدن و افزایش وزن روزانه تفاوت معنی‌داری بین تیمار NI_{150} با سایر تیمارها وجود داشت ($P < 0.05$). بین تیمارها تفاوت معنی‌داری در شاخص وضعیت مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیشترین و کمترین مقدار غذای مصرفی به ترتیب در تیمارهای NI_{200} و NI_{50} مشاهده شد ($P < 0.05$). در شاخص‌های کارایی غذا، نسبت کارایی پروتئین و چربی میان تیمار NI_{150} با سایر تیمارها اختلافات معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بین تیمار NI_0 با تیمارهای NI_{100} ، NI_{150} و NI_{200} اختلاف معنی‌داری در شاخص کبدی مشاهده شد ($P < 0.05$). بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در شاخص احشایی مشاهده نشد ($P > 0.05$). نرخ بازماندگی در تمام تیمارها ۱۰۰ درصد بود ($P > 0.05$).

جدول ۳. تأثیر سطوح متفاوت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی بر شاخص‌های رشد و تغذیه در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) پس از ۸ هفته آزمایش (میانگین \pm SE).

شاخص‌های رشد	سطوح نانوذرات آهن صفر ظرفیتی (میلی‌گرم / کیلوگرم غذا)				
	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	صفر
وزن اولیه (g)	۶/۱۹ \pm ۰/۰۶	۶/۱۱ \pm ۰/۰۵	۶/۰۸ \pm ۰/۰۴	۶/۲۵ \pm ۰/۰۶	۶/۱۰ \pm ۰/۰۳
وزن نهایی (g)	۲۲/۳۰ \pm ۰/۷۳ ^b	۲۷/۶۳ \pm ۰/۱۸ ^a	۲۲/۲۵ \pm ۰/۳۶ ^b	۲۲/۴۴ \pm ۰/۵۵ ^b	۲۰/۰۳ \pm ۰/۱۰ ^c
افزایش وزن (g)	۱۶/۱۱ \pm ۰/۸۵ ^b	۲۱/۵۱ \pm ۰/۱۷ ^a	۱۶/۱۴ \pm ۰/۴۱ ^b	۱۶/۲۱ \pm ۰/۵۱ ^b	۱۳/۹۳ \pm ۰/۱۴ ^c
طول اولیه (cm)	۷/۴۲ \pm ۰/۰۴	۷/۲۶ \pm ۰/۰۶	۷/۲۶ \pm ۰/۰۳	۷/۳۴ \pm ۰/۰۶	۷/۳۰ \pm ۰/۱۲
طول نهایی (cm)	۱۰/۶۰ \pm ۰/۳۹ ^b	۱۱/۵۷ \pm ۰/۱۵ ^a	۱۰/۴۱ \pm ۰/۱۰ ^b	۱۰/۵۵ \pm ۰/۱۵ ^b	۱۰/۲۸ \pm ۰/۰۸ ^b
نرخ رشد ویژه (%/day)	۲/۲۸ \pm ۰/۰۸ ^{bc}	۲/۶۹ \pm ۰/۰۱ ^a	۲/۳۱ \pm ۰/۰۴ ^b	۲/۲۸ \pm ۰/۰۲ ^{bc}	۲/۱۲ \pm ۰/۰۲ ^c
افزایش وزن بدن (%)	۲۶۰/۶۱ \pm ۱۸/۸۳ ^b	۳۵۲/۰۳ \pm ۴/۶۰ ^a	۲۶۵/۵۵ \pm ۸/۸۴ ^b	۲۶۰/۱۴ \pm ۷/۰۱ ^b	۲۲۸/۴۵ \pm ۳/۸۲ ^b
رشد روزانه (%)	۴/۶۴ \pm ۰/۳۳ ^b	۶/۲۸ \pm ۰/۰۸ ^a	۴/۷۳ \pm ۰/۱۵ ^b	۴/۶۴ \pm ۰/۱۲ ^b	۴/۰۷ \pm ۰/۰۶ ^b
شاخص وضعیت	۱/۸۷ \pm ۰/۱۴	۱/۷۸ \pm ۰/۰۸	۱/۹۶ \pm ۰/۰۲	۱/۹۰ \pm ۰/۰۴	۱/۸۴ \pm ۰/۰۳
غذای مصرفی (g/fish)	۱۰/۹۲ \pm ۰/۰۰ ^b	۱۲۰/۴ \pm ۰/۰۰ ^a	۱۲۰/۴ \pm ۰/۰۰ ^a	۱۲۸/۸ \pm ۰/۰۰ ^a	۱۲۰/۴ \pm ۰/۰۰ ^a
کارایی غذا (%)	۱۴/۷۵ \pm ۰/۷۸ ^b	۱۷/۸۶ \pm ۰/۱۴ ^a	۱۳/۴۰ \pm ۰/۳۴ ^{bc}	۱۲/۵۸ \pm ۰/۳۹ ^c	۱۱/۵۶ \pm ۰/۱۲ ^c
کارایی پروتئین	۰/۳۳ \pm ۰/۰۱ ^b	۰/۴۰ \pm ۰/۰۰ ^a	۰/۳۰ \pm ۰/۰۰ ^{bc}	۰/۲۸ \pm ۰/۰۰ ^c	۰/۲۵ \pm ۰/۰۰ ^c
کارایی چربی	۲/۱۰ \pm ۰/۱۰ ^b	۲/۵۵ \pm ۰/۰۱ ^a	۱/۹۱ \pm ۰/۰۴ ^{bc}	۱/۷۹ \pm ۰/۰۵ ^c	۱/۶۵ \pm ۰/۰۱ ^c
شاخص کبدی* (%)	۰/۱۳ \pm ۰/۰۰ ^b	۰/۱۲ \pm ۰/۰۱ ^b	۰/۱۳ \pm ۰/۰۱ ^b	۰/۱۶ \pm ۰/۰۱ ^{ab}	۰/۲۱ \pm ۰/۰۲ ^a
شاخص احشایی* (%)	۱۱/۲۸ \pm ۰/۴۳	۱۰/۶۹ \pm ۰/۴۰	۱۰/۸۶ \pm ۰/۴۳	۱۱/۰۷ \pm ۰/۲۷	۱۰/۹۶ \pm ۰/۴۱
نرخ بازماندگی (%)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

* تعداد نمونه ماهی $n=9$ برای آنالیز شاخص‌های کبدی و احشایی در هر تیمار. داده‌های دارای اختلاف معنی‌دار با حروف متفاوت مشخص شده‌اند ($P < 0.05$).

نتایج آنالیز لاشه در جدول ۴ ارائه شده است. در آنالیز لاشه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در پروتئین، خاکستر و رطوبت مشاهده نگردید ($P > 0.05$)؛ اما مقدار چربی لاشه در بین تیمارهای NI_{50} و NI_{100} دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$). نتایج شاخص‌های بیوشیمیایی خون در جدول ۵ ارائه شده است. در شاخص‌های بیوشیمیایی، اختلاف پروتئین پلاسما در بین تیمار NI_{150} با تیمارهای NI_{50} و NI_{100} و اختلاف آلکالین فسفاتاز پلاسما بین تیمارهای NI_0 ، NI_{50} و NI_{150} با تیمار NI_{100} معنی‌دار بود ($P < 0.05$)، اما در مقدار گلوکز پلاسما بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).



شکل ۳. روند تغییرات وزن در بچه ماهی کپور معمولی تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی طی ۸ هفته آزمایش (میانگین \pm SE)

جدول ۴. تأثیر سطوح متفاوت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی بر کیفیت لاشه بچه ماهی کپور معمولی بعد از ۸ هفته آزمایش (میانگین \pm SE)

شاخص‌های لاشه (/)	سطوح نانوذرات آهن صفر ظرفیتی (میلی گرم / کیلوگرم غذا)				
	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	صفر
رطوبت	۶۹/۹۳ \pm ۰/۲۵	۶۹/۸۰ \pm ۰/۳۶	۷۰/۷۹ \pm ۰/۱۷	۷۰/۵۷ \pm ۰/۵۷	۷۰/۷۹ \pm ۰/۱۹
پروتئین خام	۱۶/۳۷ \pm ۰/۴۹	۱۸/۶۴ \pm ۰/۶۸	۱۶/۴۸ \pm ۰/۰۸	۱۶/۹۱ \pm ۰/۲۳	۱۷/۶۱ \pm ۰/۹۱
چربی	۹/۷۷ \pm ۰/۲۹ ^{ab}	۹/۸۱ \pm ۰/۱۴ ^{ab}	۹/۰۴ \pm ۰/۲۴ ^b	۱۰/۱۹ \pm ۰/۱۲ ^a	۹/۳۸ \pm ۰/۱۲ ^{ab}
خاکستر	۲/۵۵ \pm ۰/۱۴	۲/۴۱ \pm ۰/۰۰	۲/۵۷ \pm ۰/۰۴	۲/۴۹ \pm ۰/۰۰	۲/۵۲ \pm ۰/۰۹

تعداد نمونه ماهی $n=9$ برای آنالیز لاشه در هر تیمار. داده‌های دارای اختلاف معنی‌دار با حروف متفاوت مشخص شده‌اند ($P < 0.05$).

جدول ۵. تأثیر سطوح متفاوت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون بچه ماهی کپور معمولی بعد از ۸ هفته آزمایش (میانگین \pm SE)

شاخص‌های پلاسما	سطوح نانوذرات آهن صفر ظرفیتی (میلی گرم / کیلوگرم غذا)				
	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	صفر
پروتئین کل (g/dl)	۵۱/۰۰ \pm ۱/۵۰ ^{ab}	۶۰/۰۰ \pm ۱/۰۰ ^a	۴۹/۰۰ \pm ۲/۷۸ ^b	۴۷/۰۰ \pm ۲/۳۶ ^b	۵۰/۰۰ \pm ۱/۰۴ ^{ab}
گلوکز (mg/dl)	۸۸/۶۶ \pm ۱/۵۹	۸۹/۴۲ \pm ۱/۶۴	۸۶/۹۲ \pm ۱/۰۳	۹۲/۵۹ \pm ۴/۳۷	۸۴/۹۸ \pm ۲/۹۱
آلکالاین فسفاتاز (u/l)	۳۳۹/۷۹ \pm ۳۷/۳۶ ^{ab}	۴۳۲/۵۵ \pm ۱۰/۳۱ ^a	۲۶۲/۵۱ \pm ۱۴/۶۹ ^b	۴۷۵/۸۴ \pm ۴۳/۶۴ ^a	۴۴۸/۱۹ \pm ۲۲/۵۱ ^a

تعداد نمونه ماهی $n=9$ برای آنالیز بیوشیمیایی خون در هر تیمار. داده‌های دارای اختلاف معنی‌دار با حروف متفاوت مشخص شده‌اند ($P < 0.05$).

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده، افزودن نانوذرات آهن صفر ظرفیتی به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از جیره غذایی باعث بیشترین افزایش وزن و طول در بچه ماهی انگشت‌قد کپور معمولی شد. کمترین مقادیر شاخص‌های رشد از قبیل نرخ رشد ویژه، افزایش وزن بدن، افزایش وزن روزانه، نسبت کارایی پروتئین و چربی و همچنین کارایی غذا در تیمار NI₀، نشان‌دهنده اثرگذاری ماده آهن در جیره غذایی بچه ماهی کپور معمولی بر کیفیت غذا و شاخص‌های رشد می‌باشد، به طوری که مصرف

آهن در غلظت مناسب توسط ماهیان باعث افزایش رشد در آن‌ها می‌شود (Rigos *et al.*, 2010). در همین راستا، Roeder و Roeder (۱۹۹۶) در یکی از اولین گزارش‌ها به بررسی اثرات سولفات آهن بر روی ارزش غذایی و شاخص ایمنی ماهی‌ها پرداختند و مشخص گردید که سطح آهن در جیره غذایی، رشد شمشیر ماهی (*Xiphophorus helleri*) و ماهی پلاتی (*Xiphophorus maculatus*) را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در تحقیق دیگری که بر روی ماهی کپور هندی ره‌هو انجام شد، استفاده از ۰/۵۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات آهن و ۰/۵۴ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات اکسید آهن در جیره غذایی، باعث افزایش رشد در این ماهی‌ها گردید. علاوه بر آن کیفیت لاشه ماهی تغذیه شده با نانوذرات اکسید آهن افزایش یافت (Behera *et al.*, 2014). همچنین در طی یک بررسی ۶۰ روزه، اثرات نانوذرات آهن بر شاخص‌های زیستی کپورماهیان و ماهیان خاویاری مورد مطالعه قرار گرفت و افزایش نرخ رشد در آن‌ها مشاهده شد (Prochorov *et al.*, 2002). در مطالعه دیگری، با افزودن سطوح مختلف نانوذرات آهن و ۶۰ میلی‌گرم سولفات آهن در هر کیلوگرم غذای پایه، رشد ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که جیره حاوی ۳۰ میلی‌گرم نانواهن بیشترین تأثیر را بر روی رشد و تغذیه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته است. علاوه بر این بیشترین مقادیر افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۶۰ میلی‌گرم سولفات آهن مشاهده شد (Ghobadi *et al.*, 2013). همچنین با آزمایشی که بر روی میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) انجام شد، تأثیر استفاده از نانوذرات اکسید شده آهن بر عملکرد رشد، ترکیبات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک بدن، مورد بررسی قرار گرفت و استفاده از سطح ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم از این نانوذرات در هر کیلوگرم از غذا باعث افزایش میزان رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و درصد بازماندگی گردید (Srinivasan *et al.*, 2016). نتایج این آزمایش‌ها نشان‌دهنده نقش ماده آهن به عنوان یک ریز مغذی مهم در عملکرد اندام‌ها و بافت‌های حیوانات، از جمله آبزیان است (Andersen *et al.*, 1997).

در این مطالعه و آزمایش‌های مشابه می‌توان به توانایی ماده معدنی آهن، در سنتز و ابقاء پروتئین در بدن آبزیانی مانند ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) (Liang *et al.*, 2012)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Kalantarian *et al.*, 2013) و فیل‌ماهی (*Huso huso*) (Mohseni *et al.*, 2014) اشاره کرد. همچنین نقش ریز مغذی‌های ضروری در سوخت و ساز چربی در ماهی و میگو به اثبات رسیده است (Engle *et al.*, 2000). بیشترین مقدار کارایی چربی در تیمار NI₁₅₀، نشان‌دهنده تأثیرگذاری حد مجاز مصرف آهن در سنتز چربی است. در آزمایشی، افزودن ۵۰-۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات آهن در جیره غذایی میگوی بزرگ آب شیرین نقش زیادی در سنتز اسیدهای چرب MUFA و PUFA در بر داشت (Srinivasan *et al.*, 2016). شاخص کبدی در تیمار NI₀ نسبت به سایر تیمارهایی که از نانوذرات آهن استفاده نمودند، بیشتر و دارای اختلاف معنی‌دار بود. همچنین کمترین مقدار شاخص کبدی در تیمار NI₁₅₀ دیده شد. از آنجا که مصرف بیش از اندازه نانوذرات آهن باعث بروز بیماری لیپیدوز کبدی می‌شود (Hajirahimi *et al.*, 2015)، کاهش شاخص کبدی در تیمارهای تغذیه شده با این نانوذرات و بالا بودن این شاخص در تیمار NI₀، نشان‌دهنده این است که مصرف نانوذرات آهن صفر ظرفیتی تا سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره غذایی بچه ماهی کپور معمولی، باعث رهاسازی مواد ذخیره‌ای از کبد به جریان خون شده و کاهش شاخص کبدی را در بر داشته است. شاخص احشایی در هیچ‌کدام از تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری نبود. با توجه به اینکه قسمت اعظمی از جذب ماده آهن در موکوس روده صورت می‌گیرد (Hajirahimi *et al.*, 2015) لذا تأثیر این ماده معدنی بر دستگاه گوارش نیازمند مطالعات بیشتر در آینده است.

بعد از پایان آزمایش، اختلاف معنی‌داری در پروتئین، خاکستر و رطوبت لاشه بین تیمارها مشاهده نشد، اما بیشترین میزان چربی لاشه در تیمار NI₅₀ بود. مواد معدنی در تثبیت پروتئین در بدن موجود زنده نقش مهمی را ایفا می‌کنند (Barton and Edwards, 2000). به طوری که باعث سنتز و ابقاء پروتئین در عضله میگوی بزرگ آب شیرین (Muralisankar *et al.*, 2016) و میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) (Roy *et al.*, 2007) شده‌اند. در آزمایشی که بر روی میگوی بزرگ آب شیرین صورت گرفت، مصرف ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات اکسید آهن به مدت ۹۰ روز باعث حفظ آمینواسیدهای ضروری مانند آرژنین، متیونین، تربیتوفان و لوسین شد و افزایش پروتئین بافت عضله را نسبت به تیمار شاهد در بر داشت (Srinivasan *et al.*, 2016). در مطالعه دیگر، با تغذیه کپور معمولی از نانوذرات سلنیوم در سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم به مدت ۸

هفته، اختلاف معنی داری در شاخص‌های پروتئین و چربی لاشه نسبت به تیمار کنترل مشاهده نگردید (Ashouri et al., 2015). امروزه نقش عناصر ضروری (کمیاب) در سوخت و ساز چربی موجود در ماهی به اثبات رسیده است (Engle et al., 2010; Li et al., 2000)، به طوری که اثرگذاری ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو ذرات آهن اکسید شده بر میگوی بزرگ آب شیرین منجر به افزایش سطح اسید چرب‌های موجود در بافت عضله شد (Srinivasan et al., 2016). مشخص شدن میزان اثرگذاری سطوح متفاوت نانو ذرات آهن صفر ظرفیتی بر کیفیت لاشه بچه ماهی کپور معمولی، نیازمند به آزمایشی با بازه زمانی بیشتری است.

بر اساس نتایج حاصله، بیشترین و کمترین مقدار پروتئین کل پلاسما به ترتیب در تیمارهای NI₁₅₀ و NI₅₀ مشاهده شد. افزایش سطح پروتئین‌های پلاسما به عنوان شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت دفاع ایمنی ماهی مطرح می‌باشد. پروتئین پلاسما شامل آلبومین و گلوبولین است (Kumar et al., 2010) و تصور می‌شود که افزایش میزان پروتئین پلاسما در ارتباط با تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی موجود میزبان باشد (Wiegertjes et al., 1997). استفاده از نانو ذرات آهن می‌تواند موجب اختلال و یا اثرگذاری مناسب بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون آبزیان گردد (Zhu et al., 2009)؛ که این پاسخ‌ها می‌تواند برای ارزیابی سلامت در آبزیان مورد استفاده قرار گیرد (Wang et al., 2009). در همین راستا، قرارگیری کپور هندی رو هو در معرض ۱ و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات آهن اکسید شده به مدت ۹۶ ساعت، موجب کاهش سطح پروتئین پلاسما خون نسبت به گروه شاهد شد (Saravanan et al., 2015). همچنین طبق گزارش Chen و همکاران (۲۰۱۳) افزایش مصرف نانو مس اکسید شده باعث جذب و کاهش پروتئین پلاسما در آبزیان می‌شود. در مطالعه دیگری، مصرف ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو ذرات سلنیوم موجود در جیره غذایی به مدت ۸ هفته توسط ماهی کپور معمولی با وزن متوسط ۱۰ گرم، باعث افزایش پروتئین پلاسما نسبت به تیمار کنترل شد (Ashouri et al., 2015). طبق گزارش Abdel-Tawwab و همکاران (۲۰۰۷) مصرف ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو ذرات سلنیوم توسط گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) باعث افزایش پروتئین پلاسما شد. بر اساس مطالعات انجام شده، پس از ورود نانو ذرات به جریان خون، مولکول‌های زیستی مختلفی بر روی این نانومواد جذب می‌شوند، به طوری که ایمونوگلوبولین‌ها و فیبرینوژن‌ها بیشترین جذب سطحی را بر روی نانو ذرات آهن اکسید شده در پلاسما خون انسان داشته‌اند (Harnisch and Mueller, 2000; Janseh et al., 2012). بر اساس این مطالعات، افزایش پروتئین پلاسما نشان‌دهنده بیشترین اثرگذاری نانو ذرات آهن به مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بر این شاخص بیوشیمیایی خون می‌باشد.

بعد از هشت هفته آزمایش، تفاوت معنی داری در مقدار گلوکز پلاسما مشاهده نشد. افزایش گلوکز پلاسما بیانگر قرارگیری ماهی در شرایط استرس‌زا می‌باشد (Saha and Kaviraj, 2009; Saravanan et al., 2011) و ایجاد تنش فیزیولوژیک و هیپوکسی در بدن آبزیان را به دنبال دارد (Kavitha et al., 2012). فلزات سنگین باعث سنتز گلوکز از پروتئین اضافی موجود در بافت کبد و افزایش آن در سطح پلاسما می‌شوند (Almeida et al., 2001). به عنوان مثال، قرارگیری ماهی کپور معمولی در محیط آبی حاوی فلزات سنگین کادیوم، کروم، نیکل و سرب به مدت ۳۲ روز باعث افزایش سطح گلوکز پلاسما نسبت به تیمار کنترل شد (Vinodhini and Narayanan, 2009). در مطالعه دیگر، قرارگیری کپور هندی رو هو در معرض ۱ و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات آهن اکسید شده به مدت ۹۶ ساعت، سطح گلوکز پلاسما خون را نسبت به تیمار کنترل افزایش داد (Saravanan et al., 2015). همچنین در آزمایشی قرارگیری ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) با وزن متوسط اولیه ۷۱ گرم در معرض ۰/۰۲ و ۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره به مدت ۳ الی ۷ روز، موجب افزایش سطح گلوکز پلاسما نسبت به تیمار کنترل شد (Shalwei et al., 2013). طبق نتایج این مطالعه، افزودن نانو ذرات آهن صفر ظرفیتی تا سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره غذایی بچه ماهی کپور معمولی تنش فیزیولوژیک را به همراه نداشته و موجب افزایش سطح گلوکز پلاسما نمی‌شود.

مقدار آلکالاین فسفاتاز در پلاسمای خون تیمار NI₅₀ دارای بیشترین مقدار بود، در حالی که کمترین مقدار از این شاخص در تیمار NI₁₀₀ دیده شد. آلکالاین فسفاتاز آنزیمی است که به صورت عادی در کبد ترشح شده و با آسیب دیدن این بافت وارد

جریان خون می‌شود (Yousefi Babadi *et al.*, 2012). آلکالاین فسفاتاز یک آنزیم لیزوزیمی می‌باشد که در مراحل اولیه بیماری در بدن ماهی نقش‌های حفاظتی ایفا می‌کند (Iger and Abraham, 1994) و ترشح آن در بدن به دلیل ایجاد شرایط استرس‌زا صورت می‌گیرد (Ross *et al.*, 2000). به طور مثال، استفاده از نانوذرات نقره در سطوح ۳، ۳۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب تنش فیزیولوژیک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد و مقدار آلکالاین فسفاتاز پلاسما را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (Monfared *et al.*, 2015). در مطالعه دیگری، قرارگیری ماهی نیل تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) در معرض ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات روی اکسید شده به مدت ۱۵ روز موجب افزایش سطح آلکالاین فسفاتاز در پلاسما شد (Alkaladi *et al.*, 2015)؛ بر این اساس Hao و همکاران (۲۰۱۳) کبد و آبشش را بافت هدف این نانوذرات معدنی بیان کردند. بر طبق نتایج به دست آمده، نبود اختلاف معنی‌دار در مقدار آلکالاین فسفاتاز پلاسما بین تیمارهای NI₀ و NI₂₀₀، عدم تنش فیزیولوژیک در بدن ماهی تا سطح مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات آهن صفر ظرفیتی را نشان می‌دهد.

بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه، افزایش نسبت سطح به حجم نانوذرات آهن صفر ظرفیتی موجود در جیره غذایی موجب اثرگذاری بیشتر این ذرات بر سوخت‌وساز مواد مغذی و افزایش رشد ماهی می‌شود. بنابراین افزودن دوز ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از این نانوذرات در جیره غذایی بچه ماهی کپور معمولی با توجه به افزایش کارایی غذا، بهبود عملکرد رشد، حفظ کیفیت لاشه و عدم تنش فیزیولوژیک در ماهی توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از ستاد ویژه توسعه فناوری نانو به خاطر تمامی مساعدت‌ها و همچنین ریاست محترم، هیئت علمی گروه شیلات و کارشناسان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان اعلام می‌نماییم.

منابع

- Abdel-Tawwab, M., Mousa, M., Abbass, F. 2007. Growth performance and physiological response of African catfish, (*Clarias gariepinus*) (B.) fed organic selenium prior to the exposure to environmental copper toxicity. *Aquaculture Research*. 272: 335-345.
- Alkaladi, A., El-Deen, N., Afifi, M., Abu Zinadah, O. 2015. Hematological and biochemical investigations on the effect of vitamin E and C on *Oreochromis niloticus* exposed to zinc oxide nanoparticles. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22: 556-563.
- Almeida, J.A., Novelli, E.L. B., Dal-Pai Silva, M., Alves-Junior, R. 2001. Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Environmental Pollution*. 114: 169-175.
- Andersen, F., Lorentzen, M., Waagbo, R., Maage, A. 1997. Bioavailability and interactions with other micronutrients of three dietary iron sources in Atlantic salmon, (*Salmo salar*), smolts. *Aquaculture Nutrition*. 3: 239-346.
- Anderson, F., Maage, A., Julshman, K. 1996. An estimation of dietary requirements of Atlantic salmon, (*Salmo salar*), parr. *Aquaculture Research*. 24: 41-47.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. Horwitz W. 18th edition 2006, Washington, DC, USA. 1018 p.
- Aprodu, I., Vasile, A., Gurau, G., Ionescu, A., Paltenea, E. 2012. Evaluation of nutritional quality of the common carp (*Cyprinus carpio*) enriched in fatty acids. *Food Technology*. 36: 61-73.
- Ashouri, S., Keyvanshokoh, S., Salati, A.P., Johari, S.A., Pasha-Zanoosi, H. 2015. Effects of different levels of dietary selenium nanoparticles on growth performance, muscle composition, blood biochemical profiles and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Research*. 446: 25-29.
- Barton, J.C., Edwards, C.Q. 2000. Hemochromatosis: Genetics, Pathophysiology, Diagnosis and Treatment. Cambridge University Press, New York. 616 p.

- Behera, T., Swain, P., Rangachrulu, P.V., Samanta, M. 2014. Nano-Fe as feed additive improves the hematological and immunological parameters in *Labeo rohita*. Journal of Applied Nanoscience - a Springer Open Journal. 4: 687-694.
- Bhattacharya, S., Preeti, Sh., Gupta, U. 2015. Nanotechnology Research, Innovation, Commercialisation in India: Contemporary Status. ISTIP Policy Bulletin 12. http://www.nistads.res.in/images/bulletin/istip_bulletin12.
- Campbell, T.W. 2015. Exotic Animal Hematology and Cytology. John Wiley and Sons, Pennsylvania, USA. 424 p.
- Chen, L.Q., Kang, B., Ling, J. 2013. Cytotoxicity of cuprous oxide nanoparticles to fish blood cells: hemolysis and internalization. Journal of Nanoscience Research. 15: 1507-1513.
- Cho, S.H., Lee, S.M., Lee, J.H. 2005. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared under optimum salinity and temperature conditions. Aquaculture Nutrition. 11: 235-240.
- Coates, M.L. 1975. Hemoglobin function in the vertebrates: an evolutionary model. Journal of Molecular Evolution. 6: 285-307.
- Deng, K. 2000. Artificial reproduction and early life stages of the green sturgeon (*Acipenser medirostris*). MS theses, University of California, Davis. 63 p.
- Engle, T.E., Spears, J.W., Armstrong, T.A. 2000. Effects of dietary copper source and concentration on carcass characteristics and lipid and cholesterol metabolism in growing and finishing steers. Journal of Animal Science. 78: 1053-1059.
- Falahatkar, B. 2015. Feeding and feed formulation in aquatic organisms. 1st edition. Jihad-e-Agriculture Institute of Technical and Vocational Higher Education, Tehran. 334 p. (in Persian)
- Falahatkar, B., Abdi, H. Mahmoud, N. 2012. The role of dietary nucleotides on the body's energy resources and the growth of common carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 21: 133-146. (in Persian)
- FAO. 2003. Fish Stat-Fishery information, data and statistics unit. FAO, Rome. 57 p.
- FAO. 2014. Fishery and Aquaculture Statistics Yearbook. FAO Publications, Italy. 103 p.
- Frei, B., Lawson, S. 2008. Vitamin C and cancer revisited. Proceedings of the National Academy of Sciences. 105: 11037-11038.
- Gatlin, M., Wilson, R.P. 1986. Characterization of iron deficiency and the dietary iron requirement of fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture Research. 52: 191-198.
- Geiger, C. 2009. Environmental Applications of Nanoscale and Microscale Reactive Metal Particles. Chapter 8. ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC.
- Ghobadi, Sh., Rajabi Islami, H., Hosseinifard, S.M., Palanghi, L. 2013. The effects of different levels of nanoparticle iron (Fe) on growth factors and feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Breeding and Aquaculture Sciences. 1: 82-62. (in Persian)
- Granstrom, D.E. 2003. Agricultural (non biomedical) animal research outside the laboratory: A review of guidelines for institutional animal care and use committees. Institute for Laboratory Animal Research. 44: 206-210.
- Hajirahimi, A., farokhi, F., Tukmechi, A. 2015. Effect of iron oxide nanoparticles on the liver and muscle in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Journal of Biology. 293-306. (in Persian)
- Hardison, R. 1998. Hemoglobins from bacteria to man: evolution of different patterns of gene expression. Journal of Experimental Biology. 201: 1099-1117.
- Harnisch, S., Mueller, R.H. 2000. Adsorption kinetics of plasma proteins on oil-in-Water emulsions for parenteral nutrition. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 49: 41-46.
- Handy, R.D., Cornelis, G., Fernandes, T., Tsyusko, O., Decho, A., Sabo-Attwood, T., Metcalfe, C., Steevens, J.A., Klaine, S.J., Koelmans, A.A., Horne, N. 2012. Ecotoxicity test methods for engineered nanomaterials: practical experiences and recommendations from the bench. Environmental Toxicology and Chemistry. 31: 15-31.
- Hao, L., Chen, L., Hao, J., Zhong, N. 2013. Bioaccumulation and sub-acute toxicity of zinc oxide nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*): a comparative study with its bulk counterparts. Ecotoxicology and Environmental Safety. 9: 52-60.

- Hirao, S., Yamada, J., Kikuchi, R. 1955. Relation between chemical constituents of rainbow trout eggs and the hatching rate. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 21: 240-243.
- Hung, S.S.O., Lutes, B.P., Conte, F.S. 1987. Carcass proximate composition of juvenile white surgeon (*Acipenser transmontanus*). *Journal of Physiology and Biochemistry*. 88: 269-272.
- Iger, Y., Abraham, M. 1994. The process of wound healing in experimentally wounded carp. *Journal of Fish Biology*. 36: 421-437.
- Janseh, M., Stumpf, P., Grafb, C., Ruhl, E., Muller, R.H. 2012. Adsorption Kinetics of plasma proteins on ultrasmall superparamagnetic iron oxide (USPIO) nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 428: 125-133.
- Javid Rahmdel, K., Noverian, H.A., Falahatkar, B., Babakhani, A. 2016. Effect of fish meal replacement with sunflower meal on growth, hematological indices and plasma biochemistry of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Aquatic Physiology and Biotechnology*. 4: 50-67. (in Persian)
- Jia, J., Wijkström, U., Subasinghe, R., Barg, U. 2001. Aquaculture development beyond 2000: global prospects keynote address II. Aquaculture in the Third Millennium (Subasinghe, R.P., Bueno, P.B., Phillips, M.J., Hough, C., Gladdery, S.E., Arthur, J.R. (eds.). 9-12. NACA, Bangkok and FAO, Rome.
- Kalantarian, Sh., Rafiee, Gh., Farhangi, M., Mojazi, B.A. 2013. Effect of different levels of dietary vitamin C and potassium on growth indices biochemical composition and some whole body minerals in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Journal of Aquaculture Research and Development*. 4: 1-8.
- Kavitha, T., Gopalan, A.I., Lee, K.P., Park, S.Y. 2012. Glucose sensing, photocatalytic and antibacterial properties of graphene-ZnO nanoparticles. *Journal of Carbon*. 50: 2994-3000.
- Kawano, T., Pinontoan, R., Hosoya, H., Muto, S. 2002. Monoamine-dependent production of reactive oxygen species catalyzed by pseudoperoxidase activity of human hemoglobin. *Journal of Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 66: 1224-1232.
- Khoshkalam, E., Rahnamaei, R. 2014. Mechanism of nitrate reduction by Iron Nanoparticles in the presence of MnO₂. Iran Nano Safety Congress, Tehran, Iran. (in Persian)
- Kumar, S., Dispenzieri, A., Katzmann, J.A., Larson, D.R., Colby, C.L., Lacy, M.Q., Hayman, S.R., Buadi, F.K., Leung, N., Zeldenhurst, S.R., Ramirez-Alvarado, M., Clark, R.J., Kyle, R.A., Rajkumar, S.V., Gertz, M.A. 2010. Serum immunoglobulin free light chain measurement in AL amyloidosis: prognostic value and correlations with clinical features. *Journal of the American Society of Hematology*. 116: 5126-5129.
- Liang, J.J., Liu, Y.J., Yang, Z.N., Tian, L.X., Yang, H.J., Liang G.Y. 2012. Dietary calcium requirement and effects on growth and tissue calcium of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition*. 18: 544-550.
- Li, W.W., Gong, Y.N., Jin, X.K., He, L., Jiang, H., Ren, F. 2010. The effect of dietary zinc supplementation on the growth hepatopancreas fatty acid composition and gene expression in the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) (*Decapoda, Grapsidae*). *Aquaculture Research*. 41: 828-837.
- Lim, Ch., Sealey, W.M. Klesius, P.H. 1996. Iron methionine and iron sulfate as sources of dietary iron for channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 27: 290-296.
- Mahmoudi, M. 2003. Mineral nutrition in diet. Isfahan Medical Sciences University Press: 21-35. (in Persian)
- Mendil, D., Uluozlu, O.D., Hasdemir, E., Tuzen, M., Sari, H., Suicmez, M. 2005. Determination of trace metal levels in seven fish species in lakes in Tukat, Turkey. *Food Chemistry*. 90: 175-179.
- Mohammadi, N., Tukmechi, A. 2015. The effect of probiotic *Lactobacillus casei* combined use of iron nanoparticles on growth and accumulation of probiotics in the gut rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Research*. 70: 53-47. (in Persian)
- Mohseni, M., Pourkazemi, M., Bai, S.C. 2014. Effects of dietary inorganic copper on growth performance and immune response of juvenile beluga, *Huso huso*. *Aquaculture Nutrition*. 20: 547-556.

- Monfared, A., Bahrami, A.M., Hosseini, E., Soltani, S., Shaddel, M. 2015. Effects of Nano-particles on Histo pathological changes of the fish. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*. 13: 1-5. (in Persian)
- Muralisankar, T., Bhavan, P.S., Radhakrishnan, S., Seenivasan, C., Srinivasan, V. 2016. The effect of copper nanoparticles supplementation on freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 180: 39-49.
- Nose, Y., Arai, S. 1979. Recent advances in studies on mineral nutrition of fish in Japan. In: Pillary, T.V.R., Dill, W.A., (eds.). *Advances in Aquaculture*. Fishing News (Books) Ltd, Farnham. 584-590.
- Pan, L., Xie, S., Zhu, X., Lei, W., Han, D. Yang, Y. 2009. The effect of different dietary iron levels on growth and hepatic iron concentration in juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Journal of Applied Ichthyology*. 25: 428-431.
- Pardoe, H., Chua-anusorn, W., St. Pierre, T.G., Dobson, J. 2001. Structural and magnetic properties of nanoscale iron oxide particles synthesized in the presence of dextran or polyvinyl alcohol. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 225: 41- 46.
- Prijic, S., Scancar, J., Romih, R., Cemazar, M., Bregar, V.B., Znidarsic, A. 2010. Increased cellular uptake of biocompatible superparamagnetic iron oxide nanoparticles into malignant cells by an external magnetic field. *The Journal of Membrane Biology*. 236: 167-179.
- Prochorov, A.M., Pavlov, G.V., Okpattah, G.A.C., Kaetanovich, A.V. 2002. The effect of nano-disperse iron on the biological parameters of fish. 10th Foresight Conference on Molecular Nanotechnology.
- Rigos, G., Samartzis, A., Henry, M., Fountoulaki, E., Cotou, E., Sweetman, J., Davies, S., Nengas, I. 2010. Effects of additive iron on growth, tissue distribution, haematology and immunology of gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Aquaculture International*. 16: 1093-1104.
- Roeder, M., Roeder, R.H. 1966. Effect of Iron on the growth rate of fishes. *Journal of Nutrition*. 90: 86-90.
- Ross, N.W., Firth, K.J., Wang, A., Burka, J.F., Johnson, S.C. 2000. Changes in hydrolytic enzyme activities of the native Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucous due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Diseases of Aquatic Organisms*. 41: 43-51.
- Roy, L.A., Davis, D.A., Saoud, I.P., Henry, R.P. 2007. Effects of varying levels of aqueous potassium and magnesium on survival growth and respiration of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity waters. *Aquaculture Research*. 262: 461-469.
- Saha, S., Kaviraj, A. 2009. Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. *Chemosphere*. 74: 1254-1259.
- Sakamoto, S., Yone, Y. 1976. Requirement of red sea bream for dietary iron. *Fishery Research Laboratory, Kyushu University*. 3: 53-58.
- Sakamoto, S., Yone, Y. 1978. Iron deficiency symptoms of carp. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fisheries*. 44: 1157-1160.
- Salehi, H. 2003. Market perspective on cultured carp products in Iran, *Asia Pacific Conference on Aquaculture*, Bangkok, Thailand; 45 p.
- Sanchez, C.J. 1970. Life history and ecology of carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus, in Elephant Butte Lake, New Mexico. M.S. Thesis, New Mexico State University. Las Cruces. 65p.
- Saravanan, M., Karthika, S., Malarvizhi, A., Ramesh, M. 2011. Ecotoxicological impacts of clofibric acid and diclofenac in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings: hematological, biochemical, ionoregulatory and enzymological responses. *Journal of Hazardous Materials*. 195: 188-194.
- Saravanan, M., Suganya, R., Ramesh, M., Poopal, R.K., Gopalan, N., Ponpandian, N. 2015. Iron oxide nanoparticles induced alterations in haematological, biochemical and ionoregulatory responses of an Indian major carp *Labeo rohita*. *Journal of Nanoparticle Research*. 17: 1-12.
- Shaluei, F., Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., Kolangi, H., Fotovat, M. 2013. Effect of subacute exposure to silver nanoparticle on some hematological and plasma biochemical indices in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Journal of Human and Experimental Toxicology*. 32: 1270-1277.

- Shaw, B.J. Handy, R.D. 2011. Physiological effects of nanoparticles on fish: a comparison of nanometals versus metal ions. *Environment International*. 37: 1083-1097.
- Sreeja, V., Jayaprabha, K.N., Joy, P.A. 2015. Water-dispersible ascorbic-acid-coated magnetite nanoparticles for contrast enhancement in MRI. *Journal of Applied Nanoscience*. 5: 435-441.
- Srinivasan, V., Saravana Bhavan, P., Rajkumar, G., Satgurunathan, T., Muralisankar, T. 2016. Effects of dietary iron oxide nanoparticles on the growth performance, biochemical constituents and physiological stress responses of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post-larvae. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 4: 170-182.
- Stancheva, M., Makedonski., Petrova, E. 2013. Determination of heavy metals (Pb, Cd, as and hg) in black sea grey mullet (*Mugil cephalus*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 19: 30-34.
- Tokur, B., Ozkutuk, S., Atici, E., Ozyurt, G., Ozyurt, C.E. 2006. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio*), during frozen storage (-18 °C). *Journal of Food Chemistry*. 99: 335-341.
- Tukmechi, A., Rahmati, H.R., Manaffar, R., Sheikhzadeh, N. 2011. Dietary administration of betamercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish and Shellfish Immunology*. 30: 923-928.
- Turchini, G.M., Menasti, T., Frqyland, L., Orban, E., Caprino, F., Moretti, V.M., Valffre, F. 2003. Effects of alternative dietary lipid sources on performance, tissue chemical composition, mitochondrial fatty acid oxidation capabilities and sensory characteristics in brown trout (*Salmo trutta*). *Aquaculture Research*. 225: 251-267.
- Vinodhini, R., Narayanan, M. 2009. The impact of toxic heavy metals on the hematological parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. 6: 23-28.
- Wang, Z., Zhao, J., Li, F., Gao, D., Xing, B. 2009. Adsorption and inhibition of acetylcholinesterase by different nanoparticles. *Chemosphere*. 77: 67-73.
- Wiegertjes, G.F., Stet, R.J.M., Parmentier, H.K., Muiswinkle, W.B. 1997. Immunogenetics and disease resistance in fish: a comparative approach. *Developmental and Comparative Immunology*. 20: 365-381.
- Yousefi Babadi, V., Najafi, L., Najafi, A., Gholami, H., Beigi Zarji, M.B., Golzadeh, J., Amraie, E., Shirband, A. 2012. Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 23: 1-4.
- Zhu, H.J., Jia, Y.F., Wu, X., Wang, H. 2009. Removal of arsenic from water by supported nano zero-valent iron on activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*. 172: 1591-1596.