Journal of Aquaculture Sciences 12(23): 136-147 (2024)
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

نشریه علوم آبزی‌پروری
دوره ۱۲، شماره ۲۳: ۱۳۶-۱۴۷ (۱۴۰۳)

اثرات فرم‌های آلی، معدنی و نانوذرات عناصر روی و منگنز بر رشد، تکوین و بازماندگی لارو ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus arabicus*) با استفاده از روش غنی‌سازی غذای زنده

رضا فرشادیان[۱]، فرزانه نوری[۱*]، منصور طرفی موزان زاده[۲]، سید احمد قاسمی[۳]، انریک گیسبرت[۴]

[۱]پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری دانشگاه، ارومیه، ارومیه، ایران.
[۲]پژوهشکده آبزی‌پروری جنوب کشور، اهواز، ایران.
[۳]پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.
[۴]انستیتو ایرتا، واحد آبزی‌پروری، اسپانیا.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۱ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۹**

چکیده

جهت برر سی اثرات غنی سازی غذاهای زنده با منابع مختلف روی (Zn) و منگنز (Mn) بر لارو ماهی شانک زردباله، یک دوره پرور شی به‌مدت ۴۲ روز انجام پذیرفت. چهار منبع مختلف Zn و Mn برای غنی‌سازی روتیفر و آرتمیا استفاده شد: جلبک غنی‌شده با سولفات Zn-Mn، نانوذرات Zn و Mn، فرم آلی (گلیسینات Zn وMn) و فرم معدنی (سولفات Zn و Mn). گروه شاهد بدون غنی‌سازی بود. لاروها در مخازن استوانه‌ای حاوی آب دریا توزیع شدند و با روتیفر و آرتمیا تغذیه شدند. در پایان دوره، مقاومت ماهیان در برابر تنش‌های محیطی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج به‌د ست آمده از برر سی نمونه‌ها در پایان دوره ن شان داد، لاروهایی که با جلبک غنی شده با سولفات-Zn Mn و غذاهای زنده غنی‌شده با Zn-Mn آلی تغذیه شده بودند، وزن مرطوب و طول کل بیشتری داشتند. گروه شاهد، جلبک غنی‌شده با Zn-Mnو غذاهای زنده غنی شده با نانو ذرات Zn-Mn، فعالیت کاتالاز بیشتری دا شتند. همچنین لاروهایی که با غذاهای زنده غنی شده با Zn-Mn تغذیه شدند، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند. میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در گروه شاهد در مقایسه با سایر تیمارها پایین‌تر بود؛ اگرچه این اختلاف با تیمار آلی معنی‌دار نبود. فعالیت آنزیم کیموتریپسین در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود؛ همچنین فعالیت آنزیم تریپسین در گروه شاهد کمتر بود درحالی‌که این شاخص در تیمارهای غنی شده با مواد نانو و معدنی به‌طوری معنی‌دار بی شتر از سایر تیمارها بود. غنی سازی غذای زنده با Zn و Mn از طریق غنی سازی جلبک با منابع آلی می‌تواند منجر به بهبود عملکرد متابولیکی و عملکرد رشد بالاتر، کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و نیز تقویت مکانیسم‌های دفاع سلولی در لاروهای *Acanthopagrus arabicus* شود.

کلید واژگان: شانک زردباله، پرورش لارو، غنی‌سازی غذای زنده، روی، منگنز

*نویسنده مسئول f.noori@urmia.ac.ir

مقدمه

پرورش لارو، یکی از مقاطع حساس در پرورش ماهیان دریایی بوده که عمدتاً به‌علت فقدان قابلیت هضم اسیدی به دلیل نبود معده است. اندازه دهان بسیار کوچک و ریز بودن اندازه بدن لاروهای ماهیان دریایی، سبب کاهش قدرت تحرک برای شکار و نیز، تلفات بالا می‌گردد. ویژگی‌های تغذیه لارو ماهیان به‌طور قابل توجهی با تغذیه ماهیان بزرگتر متفاوت است؛ چرا که نرخ رشد بالاتر لاروها و اندازه کوچک دهان لاروها، تولید جیره با اندازه بسیار ریز در ابعاد میکرومتر را ملزم می‌کند. اندازه ریز ذرات غذا سبب افزایش سطح تماس ذرات و نیز افزایش نسبت سطح به حجم شده که باعث می‌شود ذرات غذا، مدت طولانی‌تری پیش از بلع در آب شناور بمانند که نیز آنها را مستعد شسته‌شدن مواد مغذی و اکسیدشدن می‌کند. از این جهت، جهت تغذیه در ابتدای دوران لاروی از موجودات زنده با اندازه ریز مانند جلبک‌ها، روتیفر و ناپلی آرتمیا، که از پیش با مواد ضروری غنی‌سازی شده‌اند، بهره می‌برند. غذای زنده مانند روتیفر (*Brachionus* spp.) و میگوی آب‌شور (*Artemia* spp.) اخیراً جهت تولید انبوه و تجاری لارو ماهیان باله‌دار دریایی کاربرد یافته‌اند (Hagiwara *et al*., 2001). علی‌رغم اهمیت مواد معدنی به‌عنوان مواد ضروری در رژیم غذایی ماهیان، اطلاعات محدودی در خصوص نیاز لاروهای ماهیان دریایی به مواد معدنی در دسترس است. عملکرد فیزیولوژیکی عناصر کمیاب (مانند منگنز و روی) به‌خوبی شناخته شده است؛ این عناصر به‌عنوان محلول در مایعات بدن، کوفاکتورها در واکنش‌های آنزیمی، واحدهای ساختاری درشت ملکول‌های غیرآنزیمی و غیره حائز اهمیت هستند. هدف کلی این پژوهش، تعیین تأثیر عناصر کمیاب روی و منگنز بر لاروها در مراحل ابتدایی رشد و نمو می‌باشد بنابراین طی این مطالعه، با تأکید بر سهولت دسترسی برای لارو و کاهش آبشویی، این عناصر به سه شکل آلی، معدنی، نانوذرات از طریق غنی‌سازی غذاهای زنده به لاروها عرضه می‌گردد.

شانک زردباله، *Acanthopagrus arabicus* (Iwatsuki, 2013) که قبلاً با نام *Acanthopagrus latus* شناخته می‌شد، یکی از گونه‌های خانواده Sparidae بوده که در امتداد ساحل شرقی اقیانوس هند تا ساحل غربی اقیانوس هند پراکنش دارد، این گونه جزء ماهیان بومی خلیج فارس و دریای عمان به‌حساب می‌آید و ضمن پرطرفدار بودن گوشت آن، قابلیت پرورش و نیز تکثیر در شرایط مصنوعی را دارد و از این جهت حائز اهمیت می‌باشد. توانایی بالای این گونه در تنظیم اسمزی و تطابق‌پذیری آن با شرایط شوری محیطی مختلف (Farshadian *et al*., 2018) سبب گردیده تا به‌عنوان یکی از گونه‌های یوری‌هالین پیشنهادی پرورشی در آب‌های نامتعارف به‌حساب بیاید.

مواد معدنی برای رشد و نمو طبیعی تمام موجودات، از جمله ماهیان، ضروری است. مواد معدنی در فعالیت‌های زیستی، تنظیم تعادل اسید و باز، حفظ اسمولاریته، انتقال پیام‌های عصبی، سنتز هورمون‌ها و آنزیم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند بنابراین بایستی همیشه در حد ضرورت در بدن وجود داشته باشند. در غیر این‌صورت می‌تواند به آسیب‌های بیوشیمیایی، ساختاری و عملکردی منجر شود. سطح این آسیب‌ها به عواملی مانند مدت و درجه محرومیت از مواد معدنی بستگی دارد.

عوامل مختلف مؤثر بر فراهمی زیستی یک ماده، شامل سطح و شکل ماده مغذی، اندازه ذرات، قابلیت هضم جیره، فعل و انفعالات مواد مختلف در ترکیب جیره که ممکن است اثر هم‌افزایی یا متضاد داشته باشند، شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک ماهی، غلظت مواد معدنی موجود در آب و نیز گونه آبزی، حائز اهمیت مطالعه و بررسی هستند.

عنصر روی یک ماده مغذی ضروری برای رشد طبیعی اسکلت در انسان و سایر حیوانات از جمله ماهیان می‌باشد (Calhoun *et al*., 1974; Calhoun *et al*., 1975; Yamaguchi *et al*., 1987; Watanabe *et al*., 1997; Yamaguchi and Fukagawa, 2005). همچنین عنصر روی بر تشکیل و معدنی‌شدن استخوان‌ها تأثیر می‌گذارد (Yamaguchi *et al*., 1987). این فلز مستقیماً آنزیم aminoacyl-tRNA synthetase را در سلول‌های Osteoblastic فعال می‌کند و سنتز پروتئین‌های سلولی را تحریک می‌کند (Yamaguchi, 1998). کمبود روی در رژیم غذایی باعث تأخیر در تشکیل استخوان‌های نابجا می شود (Calhoun *et al*., 1975). بدشکلی‌های اسکلتی از عمده مشکلات در نوزادگاه‌ها و لاروهای ماهیان دریایی پرورشی است. این مشکلات تأثیرات جدی بر بهره‌وری صنعت و کیفیت محصول نهایی و نیز سلامت آبزی داشته و

زیان‌های قابل توجه اقتصادی به‌همراه دارد (Divanach *et al*., 1996).

علائم کمبود منگنز به‌طور تجربی در چندین گونه ماهی تعیین شده است (Watanabe *et al*., 1997; Satoh *et al*., 1983; Satoh *et al*., 1987; Satoh *et al*., 1991; Satoh *et al*., 1989). علاوه بر کاهش رشد، کمبود منگنز باعث بروز ناهنجاری‌های اسکلتی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، کپور و تیلاپیا می‌شود (Ishac and Dollar, 1968; Ogino, 1980). در مطالعاتی که برای تعیین نیازهای منگنز گونه‌های خاص ماهی طراحی شدند، مصرف کم منگنز باعث کاهش غلظت منگنز بدن و/یا مهره‌ها می‌شود که نشانه‌ای از کانی‌سازی ضعیف استخوان است. منگنز یکی از کم‌سمی‌ترین عناصر کمیاب ضروری است؛ اما غلظت بالای مکمل منگنز جیره (۱ گرم در کیلوگرم) باعث تغییر در رفتار تغذیه، کاهش غلظت آهن و افزایش غلظت روی در بدن و ستون فقرات هامور شد (YE *et al*., 2009). با توجه به موارد فوق، این مطالعه به‌منظور بررسی اثرات دو عنصر حیاتی روی و منگنز بر متابولیسم، رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی طی مرحله اولیه زندگی لارو شانک زردباله میباشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر طی بازه زمانی اسفندماه ۱۴۰۰ لغایت خردادماه ۱۴۰۱ در ایستگاه تحقیقاتی آبزیان جنوب کشور- بندر امام خمینی (خوزستان)، انجام گرفت. لاروهای تازه تفریخ شده به‌طور تصادفی به تعداد ۵۰ لارو به‌ازای هر لیتر به مخازن ۳۰۰ لیتری مدور پلی‌اتیلن در پنج تیمار با سه تکرار (آلی O، معدنی I، نانوذرات N، جلبک غنی‌شده A و شاهد C) جهت اعمال تیمارهای آزمایشی منتقل شدند. از روز دوم پس از تخم‌گشایی تا روز ۷ از روتیفرهای *Brachionus rotundiformis* (نوزاد/ بالغ) غنی شده با امولسیون‌های طراحی شده به‌ترتیب به تعداد ۱۰-۵ عدد در میلی‌لیتر تغذیه شده، این مقدار برای بازه زمانی روز ۷ تا ۲۰ به‌ترتیب به تعداد ۱۵-۱۰ عدد در میلی‌لیتر افزایش یافت. از روز ۱۶ پس از تخم‌گشایی تا روز سی‌ام، ناپلی آرتمیا *Artemia urmiana* به تعداد متوسط ۳-۱ عدد در میلی‌لیتر به تانک‌های نگهداری لاروها افزوده و به‌تدریج تا روز بیستم، روتیفر از جیره غذایی حذف شد. لازم به ذکر است، در خصوص تیمار تغذیه شده با جلبک غنی‌شده، از جلبک غنی شده با عناصر روی و منگنز جهت تولید آب سبز و نیز تغذیه روتیفر و ناپلی آرتمیا بهره برده شد. افزودن غذای زنده به تانک‌ها به‌صورت ۲ بار در روز در ساعات ۰۹:۰۰ و ۱۶:۰۰ صورت پذیرفت. تعویض آب به‌صورت کیفی و با توجه به شرایط مخازن پرورشی لارو از روز هفتم شروع شده و با افزایش سن لاروها به‌تدریج افزایش یافت. به‌منظور جمع آوری لاروهای مرده و غذای رسوب کرده، از روز دهم هر دو روز یکبار بستر مخازن سیفون شدند. دوره نوری به‌صورت ۱۰ ساعت تاریکی و ۱۴ ساعت روشنایی از روز چهارم تا انتهای دوره به‌روش مصنوعی و با لامپ‌های فلورسنت اعمال شد (Sarvi *et al*., 2010). پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، شوری، اکسیژن محلول و pH به‌ترتیب ۰/۵±۲۲ درجه سانتی‌گراد، ۱±۴۰ گرم در لیتر، ۸۰-۷۰ درصد اشباع و ۰/۵±۷/۹ ثبت شد.

جهت ساخت امولسیون مطابق روش‌های معتبر (Léger *et al*., 1987; Noori *et al*., 2011) عمل شد و مقدار عناصر هدف آزمایش نیز به مقدار ۰/۱ mg Zn ml^{-1} و ۰/۲۴ mg Mn ml^{-1} (Nguyen *et al*., 2008) محاسبه و به امولسیون افزوده شد (جدول ۱).

شاخص‌های رشد و بقا: به‌دلیل اندازه بسیار ریز لاروها، معرفی لاروها به‌صورت تخمینی انجام شد بنابراین تعداد دقیق لاروهای معرفی شده به هر تانک مشخص نبود. به‌علاوه تلفات در طول دوره قابل جداسازی و تعیین نبود. جهت بررسی طول لاروها تعداد ۳۰ عدد لارو را ابتدا در محلول فنوکسی اتانول بیهوش کرده و سپس طول آنها در زیر میکروسکوپ از نوک آواره تا انتهای نوتوکورد با استفاده از نرم‌افزار Image tools اندازه‌گیری شدند. جهت بررسی رشد لاروها (طول و وزن) در پایان دوره نمونه‌برداری از لاروها صورت گرفته و برای این کار ۲۰ قطعه لاروها در بافر فرمالین ۴٪ فیکس شدند.

آنزیم‌های گوارشی و آنتی اکسیدانتی: جهت بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانتی، ۲۰ قطعه لارو از هر تکرار در یک ویال به مخزن ازت مایع منتقل شد. به‌منظور آماده‌سازی نمونه‌ها جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و لبه برسی بر اساس Gisbert و همکاران (۲۰۱۸)، با توجه به اندازه بسیار ریز لاروها، عصاره تمام بدن از لاروها به‌دست آمد. بدین‌ترتیب، نمونه بافت و

جدول ۱- ترکیب جیره آزمایشی (٪)

	جلبک	نانو ذره	آلی	معدنی
آب مقطر	-	۸۸	۸۸	۸۸
نانوکلروپسیس اوکلاتا	۲۰× ۱۰^{۹}cell/L	-	-	-
نانوذرات منگنز	-	۲۴۰µg	-	-
نانوذرات روی	-	۱۰۰µg	-	-
گلیسینات منگنز	-	-	۲۴۰µg	-
گلیسینات روی	-	-	۱۰۰µg	-
سولفات منگنز	۲۴۰µg	-	-	۲۴۰µg
سولفات روی	۱۰۰µg	-	-	۱۰۰µg
روغن ماهی	-	۱۰	۱۰	۱۰
لسیتین سویا	-	۱	۱	۱
آسکوربیل پالمیتات	-	۱	۱	۱

بافر Tris-HCl- Mannitol pH=۷ به نسبت وزنی ۱:۵ به مدت ۱/۵ دقیقه (۳×″۳۰) به‌خوبی هموژن گردید. سپس مقدار محاسبه شده از $CaCl_2$ به مخلوط افزوده و مجدداً به مدت ۱ دقیقه هموژن گردید.

در نهایت به‌منظور همسان‌سازی کامل و خارج شدن محتویات درون سلولی به‌مدت ۳۰ ثانیه (″۵×۶) سونیکیت شدند. سپس هموژنات به‌دست آمده از هر نمونه در میکروتیوپ‌های ۲ میلی‌لیتر سانتریفیوژ (۹۰۰۰g، ۴°C، ۱۵ دقیقه) شد. از عصاره رونشین جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های پانکراسی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

جهت سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، نمونه‌ها در بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار و pH ۷/۵ به نسبت ۱:۱۰ به‌مدت ۱/۵ دقیقه (۳×″۳۰) هموژن شده و پس از آن به‌مدت ۳۰ ثانیه سونیکیت شدند. سپس هموژنات به‌دست آمده در دور ۱۳۵۰۰ گرم و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و عصاره رونشین جهت سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده گردید.

آنزیم کاتالاز (EC 1.11.1.6) با استفاده از روش Aebi (۱۹۸۴)، از طریق واکنش کینتیک، از بافر فسفات mM ۱۰۰، pH=۶/۵ و پراکسید هیدروژن ۵۰mM به‌عنوان سوبسترا استفاده شد و جذب در ۲۴۰ نانومتر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه قرائت گردید. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (E.C. 1.15.1.1) براساس روش ارائه شده (Kono, 1978) و به روش stop-reaction سنجیده شد.

برای تعیین فعالیت آلفا-آمیلاز، از نشاسته به‌عنوان سوبسترا استفاده گردید. نشاسته تحت تأثیر آنزیم تجزیه شده و تولید مالتوز می‌نماید که از طریق رنگ‌سنجی و تغییر شدت رنگ در معرف دی‌نیتروسالیسیلیک اسید قابل سنجش می‌باشد (Worthington, 1991). فعالیت آنزیم تریپسین و کموتریپسین با استفاده از ماده N-α--benzoyl-DL-arginine-*p*-nitroanilide (BAPNA) ۱ میلی‌مولار و succinyl-Ala2-Pro-*p*-nitroanalide (SAPNA) ۰/۱ میلی‌مولار در محلول بافر Tris-HCl ۰/۰۵مولار حاوی $CaCl_2$. ۰/۰۲ مولار، pH=۸/۵ به‌ترتیب به‌عنوان سوبسترا سنجش شد (Erlanger *et al*., 1961). حضور یون کلسیم و pH بهینه در محلول واکنش منجر به فعال شدن سریع تریپسین و کموتریپسین از فرم‌های غیرفعال زیموژن‌های مربوطه می‌گردد. مقدار جذب توسط اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر به‌ترتیب به‌مدت ۱۰ و ۵ دقیقه و هر دقیقه یکبار قرائت شد. میزان فعالیت برحسب میلی‌گرم پروتئین مطابق معادله زیر محاسبه شد.

$$\text{میلی‌گرم پروتئین/واحد} = \frac{\text{میلی لیتر مخلوط واکنش} \times 1000 \times \Delta Abs. \text{ در طول موج } 410 \text{ nm در دقیقه}}{\text{میلی گرم پروتئین در مخلوط واکنش} \times 8800}$$

۸۸۰۰ میزان ضریب خاموشی p-nitroanalide آزادشده از کروموژن‌های BAPNA و SAPNA می‌باشد.

استرس هیپوکسی: در پایان دوره پرورشی، ۶۰ قطعه از ماهیان هر تیمار به‌صورت کاملاً تصادفی، صید و به‌مدت ۶۰ ثانیه در معرض هوا قرار گرفتند و سپس به محیط حاوی آب تازه منتقل شدند و به‌مدت ۲۴ساعت تحت نظر قرار گرفتند.

جدول ۲- پارامترهای مورد آزمایش بین تیمارها در روز ۴۲ام پس از تخم‌گشایی

تیمار	سن (۴۲ روز)						
	وزن تر (میلی‌گرم)	طول کل (میلی متر)	کاتالاز U mg^{-1} protein	SOD U mg^{-1} protein	آمیلاز U mg^{-1} protein	تریپسین U/mg protein	کیموتریپسین U mg^{-1} protein
شاهد	۲۳۳/۳۳۳^{b}	۱۹/۷۱۳^{b}	۲۲/۹۷^{a}	۷/۶۸۷^{b}	۷/۹۵۸^{c}	۲۳/۷۶^{c}	۳۷/۲۴^{c}
جلبک	۲۸۴/۱۷۵^{a}	۲۳/۷۶۸^{a}	۲۱/۴۱۳^{a}	۱۰/۷۵۴^{a}	۱۰/۰۷۰^{b}	۲۴/۱۷۰^{c}	۴۰/۵۵۳^{b}
نانوذره	۲۴۰/۰۲۰^{b}	۱۹/۷۵۲^{b}	۲۰/۲۷۸^{a}	۱۰/۷۴۸^{a}	۱۱/۲۷۳^{a}	۳۷/۶۸۳^{a}	۵۰/۰۳۰^{a}
آلی	۲۸۴/۵۶۴^{a}	۲۳/۹۱۱^{a}	۱۶/۶۹۵^{b}	۱۰/۱۱۰^{a}	۸/۷۸۲^{c}	۲۶/۰۹۰^{c}	۴۱/۳۰۳^{b}
معدنی	۲۵۱/۲۵۳^{ab}	۲۰/۶۵۶^{ab}	۱۷/۱۸۴^{b}	۱۰/۵۳۲^{a}	۱۱/۱۳۴^{a}	۳۱/۴۱۶^{b}	۵۱/۳۸^{a}
خطای استاندارد	۲۲/۴۶۸	۱/۳۴	۰/۷۶۸	۰/۳۹۸	۰/۳۴۹	۱/۷۳۱	۱/۶۶

*میانگین±خطای استاندارد، n=۳ مخزن

*حروف مختلف در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت‌های معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

تعداد تلفات به‌عنوان شاخص مقاومت در برابر استرس مدنظر قرار گرفت (Hernández-Cruz *et al*., 2015).

نتایج و بحث

تحت شرایط آزمایشی فعلی، نرخ بقا لاروهای *A. arabicus* پس از اعمال استرس هایپوکسی، در تمام تیمارها ۱۰۰ درصد بود. اگرچه نتایج به‌دلیل شرایط مختلف پرورش و نیازهای تغذیه‌ای خاص گونه‌ها به‌طور مستقیم قابل مقایسه نیستند، اما توجه به این نکته ضروری است که Nguyen و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند که نرخ بقای لاروهای شانک قرمز پرورش یافته با جیره آزمایشی غنی‌شده با عناصر روی و منگنز، بعد از چالش قرار گرفتن در معرض هوا، افزایش یافت. در مقابل، Izquierdo و همکاران (۲۰۱۷) ارتباط منفی بین نرخ بقا و غنی‌سازی غذایی با منابع مختلف (آلی، غیرآلی و نانوذرات) از Zn، Mn و Se در طی مرحله از شیر گرفتن (Weaning) لاروهای شانک طلایی (*Sparus aurata*) نشان دادند، نتایجی که به اثرات سمی Zn در غلظت‌های بالا (۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره) نسبت داده شد؛ این نتایج همچنین می‌تواند به‌دنبال بهبود عملکرد متابولیکی، کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش جذب مواد معدنی در بدن لاروها رخ داده باشد.

علاوه بر این، Terova و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که نرخ بقا در لاروهای شانک طلایی بعد از استرس قرار گرفتن در معرض هوا، در لاروهایی که با جیره‌های حاوی نانوذرات Zn و Mn تغذیه شده بودند، نسبت به لاروهایی که با عناصر ریزمغذی غیرآلی تغذیه شده بودند، افزایش یافت. در حالی که لاروهایی که با جیره‌ی بدون غنی‌سازی با عناصر ریزمغذی مذکور و آن‌هایی که با عناصر ریزمغذی آلی تغذیه شده بودند، مقادیر میانی را نشان دادند. براساس مطالعات مذکور، به‌نظر می‌رسد که نانوذرات عناصر ریزمغذی می‌توانند در شرایط استرس‌زا کارآمدتر از سایر منابع باشند و منجر به افزایش نرخ بقا شوند زیرا بهبود عملکرد متابولیکی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی به‌دنبال افزایش عناصر روی و منگنز، سبب تقویت مکانیسم‌های دفاع سلولی و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود.

در مطالعه حاضر، لاروهایی که با فرم آلی Zn-Mn و نانوجلبک‌های غنی شده با Zn-Mn تغذیه شده بودند، وزن مرطوب (WW) و طول کل (TL) بالاتری نسبت به سایر گروه‌های غذایی نشان دادند که این امر ممکن است به‌دلیل بهره‌برداری بهتر لاروهای *A. arabicus* از فرم‌های آلی این عناصر ریز مغذی باشد (جدول ۲). این نتایج ممکن است تأییدی بر این واقعیت محسوب شوند که اضافه کردن عناصر کمیاب از طریق میکروجلبک‌ها می‌تواند موجب تمایل به افزایش زیست‌فراهمی آنها در غذاهای زنده و بهبود کارایی جذب آنها در لاروهای ماهی شود (Wang and Wang, 2018). در این زمینه، Nguyen و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند که غنی‌سازی آرتمیا با (۲۴۰ میلی‌گرم بر لیتر منگنز) اندازه لاروها را از نظر طول در شانک قرمز نسبت به آن‌هایی که با آرتمیای غنی نشده و آرتمیای غنی شده فقط با Zn (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) یا ترکیبی از Zn و Mn تغذیه شده بودند، افزایش داد، آنها عنوان کردند این نتایج احتمالاً بر اثر توانایی بهتر لاروها در شنا و شکار است که به‌دنبال بهبود عملکرد متابولیکی، کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش جذب مواد معدنی در بدن رخ داده است. در لاروهای شانک

طلایی در مرحله از شیر گرفتن، زیست فراهمی ترکیبی Zn و Mn به‌عنوان فرم‌های آلی پپتید–کلات رشد را در مقایسه با فرم‌های غیرآلی (MnSO4 و ZnSO4) بهبود داد (Izquierdo *et al*., 2017). اگرچه، به‌دلیل مراحل مختلف تکامل، داده‌ها به‌طور مستقیم قابل مقایسه با نتایج فعلی نیستند، Prabhu و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که Mn آلی (Mn-glycine، ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقریباً ۲/۶ تا ۴/۵ برابر کارآمدتر نسبت به منبع غیرآلی (MnSO4) برای حفظ وضعیت Mn بود که همچنین منجر به نگهداری بهتر Mn جذب شده و عملکرد کلی رشد در ماهی آزاد آتلانتیک post-smolt شد. علاوه بر این، Terova و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که لاروهای شانک طلایی که با جیره‌های مکمل شده با Mn و Zn در فرم آلی (آمینواسید–کلات) یا نانوذرات تغذیه شده بودند، طول کل بیشتری داشتند و نیز با مقاومت بالاتر در برابر استرس و مینرالیزاسیون استخوان و کاهش ناهنجاری‌های اسکلتی در مقایسه با آن‌هایی که با جیره‌های مکمل شده با منبع غیرآلی عناصر ریز مغذی تغذیه شده بودند، همبستگی داشت؛ چرا که معدنی شدن استخوان‌ها سبب افزایش توانایی لارو در شنا کردن و دریافت غذا می‌شود و به‌علاوه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی از جمله GPx و SOD نشان داد که افزایش روی و منگنز مسبب کاهش آسیب‌های اکسیداتیو با تقویت سیستم‌های دفاع سلولی و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد بوده است. در مقابل، فراهمی زیستی ترکیبی Zn و Mn (Zn ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم؛ Mn ۵۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌عنوان فرم‌های غیرآلی (MnO2 و ZnO)، رشد را در انگشت‌قدهای شانک طلایی در مقایسه با فراهمی زیستی آن عناصر در فرم‌های آلی (آمینواسید–کلات) یا کپسوله‌شده غیرآلی، تقویت کرد (Domínguez *et al*., 2017). در مطالعه دیگری، محققان گزارش دادند که منبع غیرآلی Zn (اکسید Zn، ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کارایی بالاتری نسبت به منبع آلی از نظر عملکرد رشد در انگشت‌قدهای شانک طلایی داشت، مستقل از اینکه Mn با فرم غیرآلی (اکسید Mn) یا کلات آلی مخلوط شده بود (Domínguez *et al*., 2020). علاوه بر این، Shahpar و Johari (۲۰۱۹) گزارش دادند که مکمل‌سازی جیره با Zn آلی، غیرآلی و نانوذرات، رشد را در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) افزایش داد، اما نرخ بقا در ماهی‌هایی که با نانوذرات Zn تغذیه شده بودند، کاهش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که کارایی غذایی عناصر ریزمغذی به گونه ماهی و مرحله رشد و ترکیب جیره بستگی دارد.

در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم‌های گوارشی پانکراس در هنگام تخم‌گشایی، همان‌طور که قبلاً در سایر گونه‌های لاروی ماهی‌های دریایی توصیف شده است، شناسایی شد (Zambonino-Infante *et al*., 2008). در شرایط آزمایشگاهی فعلی در *A. arabicus* ، بیشتر آنزیم‌های گوارشی پانکراس و لبه برسی روده‌ای، به‌جز کیموتریپسین و لیپاز فعال شده با نمک صفراوی، الگوی فعالیت خاصی نشان دادند.

الگوی مشابهی از تکوین آنزیم‌های گوارشی در دنتکس معمولی *Dentex dentex* (Gisbert *et al*., 2009)، صبیتی (Nazemroaya *et al*., 2015) و دم زرد بلند *Seriola rivoliana* (Teles *et al*., 2019) توصیف شده است. یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که نانوذرات Zn-Mn اثرات تحریک‌کننده بیشتری بر فعالیت‌های خاص آنزیم‌های پانکراس مانند α–آمیلاز، لیپاز فعال شده با نمک صفراوی، تریپسین و کیموتریپسین در مقایسه با سایر منابع Zn و Mn در ۴۲ روز پس از تخم‌گشایی (DPH) داشتند. در حالی‌که منبع آلی Zn-Mn تنها فعالیت آمینوپپتیداز N را در ۴۲ روز پس از تخم گشایی افزایش داد، و منبع معدنی Zn و Mn تنها فعالیت‌های ویژه α–آمیلاز و کیموتریپسین را تحریک کرد. این نتایج ممکن است نشان دهد که نانوذرات Zn-Mn توانایی بیشتری در افزایش ظرفیت گوارشی لاروهای *A. arabicus* در مقایسه با سایر منابع دارند. در این زمینه، Asaikkutti و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند که سنتز زیستی نانوذرات Mn3O4 با استفاده از Ananas comosus، ترشح پروتئاز، آمیلاز و لیپاز را در *Macrobrachium rosenbergii* افزایش داد (Asaikkutti *et al*., 2016). علاوه بر این، Akram و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که غنی‌سازی رژیم غذایی با ۶۳–۴۲ میلی‌گرم در کیلوگرم Zn-gluconate به‌طور قابل توجهی رشد، استفاده از خوراک، نگهداری Zn، فعالیت آلکالین فسفاتاز– ALP را در کلیه و طحال در ماهیان جوان *Labeo rohita* افزایش داد؛ که ممکن است به‌دلیل افزایش زیست‌دسترس‌پذیری Zn باشد، زیرا به‌عنوان کوفاکتور برای

این آنزیم عمل می‌کند. در این زمینه، ثابت شده است که پپتیدهای مشتق شده از پروتئین‌های غذایی می‌توانند جذب عناصر کمیاب، زیست‌دسترس‌پذیری و پایداری کمپلکس‌های پپتید–فلز را به هضم گوارشی افزایش دهند که برای جذب روده‌ای حیاتی است (Udechukwu *et al*., 2016). Mohammady و همکاران (۲۰۲۱) گزارش دادند که کیموتریپسین، تریپسین، لیپاز و آمیلاز در روده تیلاپیای نیل که با نانوذرات Zn تغذیه شده بود در مقایسه با آنهایی که با ZnSO4 تغذیه شده بودند افزایش یافت که با محتوای کوله‌سیستوکینین در روده و عملکرد رشد بهتر در این گونه مرتبط بود (Mohammady *et al*., 2021). هورمون کوله‌سیستوکینین از طرفی سبب انقباض کیسه صفرا و آزاد شدن صفرا به درون روده و از طرف دیگر سبب تحریک لوزالمعده و آزاد شدن آنزیم‌های گوارشی می‌گردد که در نهایت می‌تواند باعث تسهیل گوارش و رشد بهتر شود.

کمبودهای زیستی و غیر زیستی در طول تکامل لاروی می‌تواند در فرآیندهای زیستی مختلفی نظیر متابولیسم، تکثیر و تمایز سلولی، دگردیسی و آپوپتوزیس سبب نقصان گردد که می‌تواند سطوح مختلفی از استرس اکسیداتیو را در این مرحله حساس زندگی القا کند (Metcalfe and Alonso-Alvarez, 2010; Prokić *et al*., 2021). همان‌طور که قبلاً توسط Morshedi و همکاران (۲۰۲۳) در لاروهای *Acanthopagarus latus* گزارش شده است.

در مطالعه حاضر، به‌جز فعالیت کاتالاز که در لاروهایی که با غذای زنده غنی‌شده با Zn-Mn آلی و غیر آلی تغذیه شده بودند در ۴۲ روز پس از تخم‌گشایی کاهش یافت، سایر پارامترهای آنتی‌اکسیدانی از جمله مقادیر SOD به‌طور قابل توجهی در لاروهایی که با غذای زنده غنی‌شده با منابع مختلف Zn و Mn تغذیه شده بودند، بالاتر بود (جدول ۲). ترکیب SOD و عناصر فلزی (Cu، Zn، Mn) می‌تواند سبب کاتالیز $O2^-$ به $H2O2$ شود. Mn-SOD عمدتاً در ماتریکس میتوکندری و Cu–Zn SOD در سیتوپلاسم یافت می‌شود (Lebovitz *et al*., 1996). عنصر روی به‌عنوان یک کوفاکتور برای سنتز متالوتیونین که یک پروتئین غنی از سیستئین و خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد است، عمل می‌کند (Lall and Kaushik, 2021)؛ بنابراین، می‌تواند با تعامل با عناصر کمیاب دیگر نظیر Se، Mn و مس (Cu) و همچنین سایر متالوآنزیم‌ها، از آسیب اکسیداتیو به سلول‌ها جلوگیری کند (Musharraf and Khan, 2019). چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که کمبود غذایی Mn به‌طور قابل توجهی فعالیت SOD را در چندین گونه ماهی مانند گربه‌ماهی زرد (*Tachysurus fulvidraco*) (Tan *et al*., 2012)، سوکلا (Liu *et al*., 2013)، کرکر زرد بزرگ (*Larimichthys crocea*) (Zhang *et al*., 2016)، گروپر هیبرید (*Epinephelus lanceolatus* × *Epinephelus fuscoguttatus*) (Liu *et al*., 2018) و گربه‌ماهی زنبورک (*Heteropneustes fossilis*) (Zafar and Khan, 2019) کاهش داده است. علاوه بر این، یون‌های Zn می‌توانند به گروه‌های thiol متصل شده و از اکسیداسیون آنها جلوگیری کنند که نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی مستقیم این عنصر کمیاب است (Olechnowicz *et al*., 2018). در این راستا، Hidalgo و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کرده‌اند که کمبود غذایی Zn باعث القای استرس اکسیداتیو در کبد ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و کاهش فعالیت SOD و کاتالاز شده است. همچنین، فعالیت SOD در لاروهای ماهی کاد آتلانتیک (*Gadus morhua*) زمانی که محتویات Zn در روتیفر به ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رسید، افزایش یافت (Penglase *et al*., 2015). علاوه بر این، Dekani و همکاران (۲۰۱۹) نشان داده‌اند که رژیم غذایی حاوی نانوذرات Zn (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌طور قابل توجهی فعالیت SOD را در مقایسه با مقادیر متناظر منابع آلی (Zn-proteinate) و معدنی (ZnSO4) افزایش داده است. همچنین، Kishawy و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که مکمل غذایی Zn نانوذرات در مقایسه با Zn اکسید معدنی و Zn-Methionine آلی، فعالیت SOD را افزایش داده و محتوای MDA را در عضلات تیلاپیا کاهش داده است. علاوه بر این، مکمل کردن رژیم غذایی با Mn معدنی (MnSO4) فعالیت‌های Mn-SOD، GPx و CAT را در کبد ماهی آزاد کوهو افزایش داده است (Liu *et al*., 2023) و همچنین رشد و فعالیت‌های TAC، GPx، GR، SOD کل و CAT را در مرحله پس از تخمک‌گذاری این گونه افزایش داده است (Yu *et al*., 2024). به‌نظر می‌رسد که فرم‌های نانوذرات عناصر کمیاب برای ماهی‌ها بیشتر زیست‌فراهمی هستند تا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها را به‌ویژه در مراحل اولیه تکامل افزایش دهند؛ هرچند که این موضوع به گونه ماهی و منبع

غذایی (میکروخوراک در مقابل غذای زنده) و شرایط نگهداری بستگی دارد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که غنی‌سازی میکروجلبک‌ها با Zn-Mn یا منابع آلی Zn-Mn تأثیرات مفیدی بر عملکرد رشد در لاروهای *A. arabicus* داشته که با بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل بدن در این گونه همراه بوده است. تغییرات در فعالیت آنزیم‌های گوارشی پانکراس و لبه برسی روده‌ای به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر غذاهای زنده غنی‌شده با منابع مختلف Zn-Mn قرار گرفت، در حالی‌که نانوذرات Zn-Mn تأثیرات تحریک‌کننده بیشتری بر این آنزیم‌ها داشتند که ممکن است به‌دلیل زیست‌فراهمی بالاتر آنها نسبت به سایر منابع آزمایش‌شده باشد. براساس یافته‌های پژوهش حاضر، غنی‌سازی روتیفرها و متاناپلی آرتمیا با غنی‌سازی جلبک‌ها یا منابع آلی Zn-Mn ممکن است منجر به عملکرد رشد بالاتر شود. در نهایت، علاوه بر تأثیرات مثبت منابع مختلف Zn و Mn، یافته‌های این مطالعه نشان داد که غنی‌سازی محیط کشت میکروجلبک‌ها با عناصر کمیاب معدنی ممکن است راهی مؤثر برای انتقال این میکرو مواد مغذی به لاروهای ماهی دریایی باشد.

منابع

Aebi H. 1984. [13] Catalase in vitro. *Methods in enzymology*. Elsevier.

Asaikkutti A., Bhavan P.S., Vimala K., Karthik M., Cheruparambath P. 2016. Dietary supplementation of green synthesized manganese-oxide nanoparticles and its effect on growth performance, muscle composition and digestive enzyme activities of the giant freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 35, 7-17.

Calhoun N.R., Smith Jr J.C., Becker K.L. 1974. The role of zinc in bone metabolism. *Clinical Orthopaedics and Related Research®* 103, 212-234.

Calhoun N.R., Smith Jr J.C., Becker K.L. 1975. The effects of zinc on ectopic bone formation. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 39(5), 698-706.

Divanach P., Boglione C., Menu B., Koumoundouros G., Kentouri M., Cataudella S. 1996. Abnormalities in finfish mariculture: an overview of the problem, causes and solutions. International Workshop on sea bass and sea bream culture: problems and prospects, *European Aquaculture Society*, pp. 45-66.

Domínguez D., Montero D., Robaina L., Hamre K., Terova G., Karalazos V., Izquierdo M. 2020. Effects of graded levels of minerals in a multi-nutrient package on Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed a plant-based diet. *Aquaculture Nutrition* 26(4), 1007-1018.

Domínguez D., Rimoldi S., Robaina L.E., Torrecillas S., Terova G., Zamorano M.J., Karalazos, V., Hamre K., Izquierdo M. 2017. Inorganic, organic, and encapsulated minerals in vegetable meal based diets for *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758). *PeerJ* 5, e3710.

Erlanger B.F., Kokowsky N., Cohen W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 95(2), 271-278.

Farshadian R., Salati A.P., Keyvanshokooh S., Pasha-Zanoosi H. 2018. Physiological responses of Yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) to acute salinity challenge. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 5(51), 313-325.

Gisbert E., Gimenez G., Fernández I., Kotzamanis Y., Estevez A. 2009. Development of digestive enzymes in common dentex (*Dentex dentex*) during early ontogeny. *Aquaculture* 28 (3-4), 381-387.

Hagiwara A., Gallardo W., Assavaaree M., Kotani T., De Araujo A. 2001. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. *Aquaculture* 200(1-2)**,** 111-127.

Hernández-Cruz C.M., Mesa-Rodríguez A., Betancor M., Haroun-Izquierdo A., Izquierdo M., Benítez-Santana T., Torrecillas S., Roo J. 2015. Growth performance and gene expression in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed microdiets with high docosahexaenoic acid and antioxidant levels. *Aquaculture Nutrition* 21(6)**,** 881-891.

Ishac M.M., Dollar A.M. 1968. Studies on manganese uptake in *Tilapia mossambica* and *Salmo gairdnerii*. *Hydrobiologia* 31, 572-584.

Iwatsuki Y. 2013. Review of the *Acanthopagrus latus* complex (Perciformes: *Sparidae*) with descriptions of three new species from the Indo-West Pacific Ocean. *Journal of Fish Biology* 83(1), 64-95.

Izquierdo M.S., Ghrab W., Roo J., Hamre K., Hernández-Cruz C.M., Bernardini G., Terova G., Saleh R. 2017. Organic, inorganic and nanoparticles of Se, Zn and Mn in early weaning diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*; Linnaeus, 1758). *Aquaculture Research* 48(6)**,** 2852-2867.

Kono Y. 1978. Generation of superoxide radical during autoxidation of hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 186(1), 189-195.

Lall S.P., Kaushik S.J. 2021. Nutrition and metabolism of minerals in fish. *Animals*, 11(9)**,** 2711.

Lebovitz R.M., Zhang H., Vogel H., Cartwright Jr, J., Dionne L., Lu N., Huang S., Matzuk M.M. 1996. Neurodegeneration, myocardial injury, and perinatal death in mitochondrial superoxide dismutase-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93(18)**,** 9782-9787.

Leger P., Naessens-Foucquaert E., Sorgeloos P. 1987. International Study on Artemia. XXXV. Techniques to manipulate the fatty acid profile in Artemia nauplii and the effect on its nutritional effectiveness for the marine crustacean *Mysidopsis bahia* (M.). *Artemia research and its applications*, 3, 411-424.

Liu D., Li L., Zhang Q., Yu H. 2023. Effect of Dietary Manganese on the Growth Performance, Lipid Metabolism, and Antioxidant Capacity in the Post-Larval Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Animals* 13(8)**,** 1310.

Liu K., Ai Q., Mai K., Zhang W., Zhang L., Zheng S. 2013. Dietary manganese requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum L*. *Aquaculture Nutrition* 19(4)**,** 461-467.

Liu Y., Wang J., Li B., Qiao H., Liu X., Hao T., Wang X. 2018. Dietary manganese requirement of juvenile hybrid grouper, Epinephelus lanceolatus× E. fuscoguttatus. *Aquaculture Nutrition* 24(1), 215-223.

Metcalfe N.B., Alonso-Alvarez C. 2010. Oxidative stress as a life-history constraint: the role of reactive oxygen species in shaping phenotypes from conception to death. *Functional Ecology* 24(5), 984-996.

Mohammady E.Y., Soaudy M.R., Abdel-Rahman A., Abdel-Tawwab M., Hassaan M.S. 2021. Comparative effects of dietary zinc forms on performance, immunity, and oxidative stress-related gene expression in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 532, 736006.

Musharraf M., Khan M.A. 2019. Dietary zinc requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture* 503, 489-498.

Nazemroaya S., Yazdanparast R., Nematollahi M.A., Farahmand H., Mirzadeh Q. 2015. Ontogenetic development of digestive enzymes in Sobaity sea bream *Sparidentex hasta* larvae under culture condition. *Aquaculture* 448, 545- 551.

Nguyen V.T., Satoh S., Haga Y., Fushimi H., Kotani T. 2008. Effect of zinc and manganese supplementation in Artemia on growth and vertebral deformity in red sea bream (*Pagrus major*) larvae. *Aquaculture* 285(1), 184-192.

Noori F., Takami G., Van Speybroeck M., Van Stappen G., Shiri-Harzevili A.R., Sorgeloos P. 2011. Feeding *Acipenser persicus* and *Huso huso* larvae with *Artemia urmiana* nauplii enriched with highly unsaturated fatty acids and vitamin C: effect on growth, survival and fatty acid profile. *Journal of Applied Ichthyology* 27(2), 781-786.

Ogino C. 1980. Requirements of carp and rainbow trout for essential amino acids. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*.

Olechnowicz J., Tinkov A., Skalny A., Suliburska J. 2018. Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. *The Journal of Physiological Sciences* 68(1), 19-31.

Penglase S., Hamre K., Olsvik P.A., Grøtan E., Nordgreen A. 2015. Rotifers enriched with iodine, copper and manganese had no effect on larval cod (*Gadus morhua*) growth, mineral status or redox system gene mRNA levels. *Aquaculture Research* 46(8),1793-1800.

Prokić M.D., Petrović T.G., Despotović S.G., Vučić T., Gavrić J.P., Radovanović T.B., Gavrilovi B. R. 2021. The effect of short-term fasting on the oxidative status of larvae of crested newt species and their hybrids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 251, 110819.

Sarvi B., Matinfar A., Mahmoudzadeh H., Eskandary G.R. 2010. Replacing rotifers with a microparticle diet from first feeding in yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* (Houttuyn), larvae. *Aquaculture Research* 41(11), 1614-1621.

Satoh S., Izume K., Takeuchi T., Watanabe T. 1989. Mineral nutrition in fish. XXIII. Availability to carp of manganese contained in various types of fish meals. *Japan Fisheries Association* 55(2), 313-319.

Satoh S., Takeuchi T., Narabe Y., Watanabe T. 1983. Effects of deletion of several trace elements from fish meal diets on growth and mineral composition of rainbow trout fingerlings. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 49(12), 1909-1916.

Satoh S., Takeuchi T., Watanabe T. 1987. Availability to carp [*Cyprinus carpio*] of manganese in white fish meal and of various manganese compounds. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries (Japan)* 53(4).

Satoh S., Takeuchi T., Watanabe T. 1991. Availability of manganese and magnesium contained in white fish meal to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57(1), 99-104.

Shahpar Z., Johari S.A. 2019. Effects of dietary organic, inorganic, and nanoparticulate zinc on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* larvae. *Biological Trace Element Research* 190, 535-540.

Suzer C., Aktulun S., Çoban D., Kamacı H.O., Saka Ş., Fırat K., Alpbaz A. 2007. Digestive enzyme activities in larvae of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 148(2), 470-477.

Suzer C., Fırat K., Saka Ş. 2006. Ontogenic development of the digestive enzymes in common pandora, *Pagellus erythrinus L.* larvae. *Aquaculture Research* 37(15), 1565-1571.

Tan X.-Y., Xie P., Luo Z., Lin H.-Z., Zhao Y.-H., Xi W.-Q. 2012. Dietary manganese requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*, and effects on whole body mineral composition and hepatic intermediary metabolism. *Aquaculture* 326**,** 68-73.

Teles A., Salas-Leiva J., Alvarez-González C.A., Tovar-Ramírez D. 2019. Changes in digestive enzyme activities during early ontogeny of *Seriola rivoliana*. *Fish Physiology and Biochemistry* 45, 733-742.

Udechukwu M.C., Collins S.A., Udenigwe C.C. 2016. Prospects of enhancing dietary zinc bioavailability with food-derived zinc-chelating peptides. *Food & Function* 7(10), 4137-4144.

Wang J., Wang W.-X. 2018. Understanding the micro-elemental nutrition in the larval stage of marine fish: A multi-elemental stoichiometry approach. *Aquaculture*, 488, 189-198.

Watanabe T., Kiron V., Satoh S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture* 151(1-4), 185-207.

Worthington C. 1991. Worthigton Enzyme Manual Related Biochemical Freehold. *New Jersey Worthington C.(1991). Worthigton enzyme manual related biochemical freehold. New Jersey. USA*, 34, 212-215.

Yamaguchi M. 1998. Role of zinc in bone formation and bone resorption. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine: The Official Publication of the International Society for Trace Element Research in Humans* 11(2-3), 119-135.

Yamaguchi M., Fukagawa M. 2005. Role of zinc in regulation of protein tyrosine phosphatase activity in osteoblastic MC3T3-E1 cells: zinc modulation of insulin-like growth factor-I's effect. *Calcified Tissue Internationa* 76, 32-38.

Yamaguchi M., Oishi H., Suketa Y. 1987. Stimulatory effect of zinc on bone formation in tissue culture. *Biochemical Pharmacology* 36(22), 4007-4012.

Ye C.X., Tian L.X., Yang H.J., Liang J.J., Niu J., Liu Y.J. 2009. Growth performance and tissue mineral content of juvenile grouper (*Epinephelus coioides*) fed diets supplemented with various levels of manganese. *Aquaculture Nutrition* 15(6), 608-614.

Yu L., Li L., Yu H., Yuan Z., Ma C., Wu X., Kong W. 2024. Effects of dietary manganese supplementation on the growth performance, tissue manganese content and antioxidant capacity of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) post-smolts. *Aquaculture Reports* 34, (a.n.)101924.

Zafar N., Khan, M.A. 2019. Growth, feed utilization ,mineralization and antioxidant response of stinging catfish *Heteropneustes fossilis* fed diets with different levels of Manganese. *Aquaculture* 509, 120-128.

Zambonino-Infante J.-L., Gisbert E., Sarasquete C., Navarro I., Gutierrez J., Cahu C.L. 2008 . Ontogeny and physiology of the digestive system of marine fish larvae. Feeding and digestive functions of fishes. *Science Publishers, Inc.: Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd* 281-348.

Zhang H., Sun R., Xu W., Zhou H., Zhang W., Mai K. 2016. Dietary manganese requirement of juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea* (Richardson, 1846). *Aquaculture* 450, 74-79.

Journal of Aquaculture Sciences Vol. 12, No 23, 136-147
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

The effects of organic, inorganic and nanoparticle forms of zinc and manganese on the growth, development and survival of larvae in the yellowfin tuna (*Acanthopagrus arabicus*) using the live food enrichment method

Reza Farshadian[1], Farzaneh Noori*[1], Mansour Torfi Moazenzade[2], Seyed Ahmad Ghasemi[3], Enric Gisbert[4]

[1]Artemia and Aquaculture Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran.
[2]South Iran Aquaculture Research Institute, Ahvaz, Iran.
[3]Persian Gulf Institute, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.
[4]IRTA, Aquaculture Program, La Ràpita, Spain.

*Corresponding author: f.noori@urmia.ac.ir

Received: 10.Jan.2025 **Accepted: 19.Mar.2025**

Abstract

To investigate the effects of live food enrichments with various sources of zinc (Zn) and manganese (Mn) on yellowfin seabream larvae (*Acanthopagrus arabicus*), a 42-day rearing period was conducted. Four different Zn and Mn sources were used to enrich rotifers and *Artemia*: enriched algae with Zn-Mn sulphate, nanoparticles of Zn-Mn, organic Zn-Mn glycinate, and inorganic Zn-Mn sulphate. The control group was left unenriched. The larvae were distributed in cylindrical tanks containing seawater and fed with enriched rotifers and *Artemia*. At the end of the rearing period, the resistance of fish to environmental stress was evaluated. The results obtained from samples collected at the end of the period revealed that larvae fed with algae enriched with Zn-Mn and live food enriched with organic Zn-Mn demonstrated higher wet weight and total length. The control group, algae enriched with Zn-Mn, and live food enriched with Zn-Mn nanoparticles showed increased catalase activity. Larvae fed enriched live food exhibited higher antioxidant activities compared to the control group. The amylase enzyme activity was lower in the control group than in other treatments, although this difference was insignificant compared to the organic treatment. The chymotrypsin and trypsin enzyme activity in the control group was significantly lower than in other treatments. However, this indicator was significantly higher in treatments fed diets enriched with nano and inorganic Zn-Mn compared to other treatments. The live food enriched with Zn and Mn through algae enrichment using organic sources can lead to improved metabolic performance, enhanced growth rates, reduced oxidative stress, increased antioxidant capacity, and strengthened cellular defense mechanisms in the larvae of *Acanthopagrus arabicus*.

Keywords: Yellowfin seabream, Larval rearing, Live food enrichment, Zinc, Manganese