

بررسی اثرات سینرژیک تغذیه با نانوذرات آهن و مس و مقایسه با اشکال معدنی آن بر عملکرد رشد و شاخص‌های خون شناسی بچه ماهی سفیدک سیستان *Schizothorax zarudnyi* Nikolskii, 1897

علیرضا افشاری^۱، ایمان سوری‌نژاد^{۱*}، احمد قرایی^۲، سید علی جوهری^۳، زهرا قاسمی^۱

*Sourinejad@hormozgan.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل

۳- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۸

چکیده

آهن و مس دو عناصر کم‌نیاز ضروری یا ریزمغذی هستند که در بسیاری از فرایندهای حیاتی بیولوژیک، آنزیم‌های کلیدی و سیستم ایمنی نقش مهمی ایفاء می‌کنند. در مطالعه حاضر، اثرات تغذیه با منابع مختلف مکمل آهن و مس بر عملکرد رشد و برخی شاخص‌های خون شناسی ماهی سفیدک سیستان *Schizothorax zarudnyi* با میانگین وزنی $23/97 \pm 0/45$ گرم بررسی شد. تیمارهای غذایی طی ۶۰ روز تحقیق شامل ماهیان تغذیه‌شده با (۱) جیره شاهد فاقد هرگونه مکمل مس و آهن، (۲) جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل آهن معدنی، (۳) جیره حاوی ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل مس معدنی، (۴) جیره حاوی ۱۵۰ و ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل آهن و مس معدنی، (۵) جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل نانوذره آهن، (۶) جیره حاوی ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل نانوذره مس و (۷) جیره حاوی ۱۵۰ و ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل نانوذره آهن و نانوذره مس بودند. نتایج نشان داد، افزودن آهن و مس به جیره غذایی سبب بهبود شاخص‌های رشد و خون‌شناسی در مقایسه با شاهد می‌گردد و اشکال نانویی آهن و مس بخصوص استفاده توأم آنها مؤثرتر از اشکال معدنی آنها عمل می‌کند بطوریکه ماهیان تیمار هفت، بهترین نتایج را در مقایسه با سایر تیمارها از نظر شاخص‌های عملکرد رشد و تغذیه نشان دادند ($p < 0/05$). همچنین ماهیان تیمار هفت بالاترین مقادیر را در کلیه شاخص‌های خون‌شناسی نشان دادند و شاخص‌های هماتوکریت و هموگلوبین و تعداد کل گلبول قرمز این تیمار با سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان داد. شاخص‌های MCH و MCV تیمار هفت نیز دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد بود ($p < 0/05$). نتایج این تحقیق نشان داد، افزودن همزمان دو نانوذره آهن و مس منجر به بهبود بیشتر شاخص‌های رشد و خون‌شناسی ماهی سفیدک سیستان نسبت به افزودن جداگانه و اشکال معدنی آنها می‌گردد.

لغات کلیدی: ماهی سفیدک سیستان، نانوذرات آهن و مس، عملکرد رشد، خون‌شناسی

*نویسنده مسئول

مقدمه

ماهی سفیدک سیستان *Schizothorax zarudnyi* Nikolskii, 1897 بومی آبهای شرق کشور و با ارزش‌ترین گونه منطقه سیستان محسوب می‌شود. در سال‌های اخیر، بقاء و تولیدمثل این‌گونه تحت تأثیر شرایط نامساعد محیطی، خشک‌سالی، ورود گونه‌های غیربومی و صید بی‌رویه در دریاچه هامون و چاه نیمه‌های سیستان، تحت خطر نابودی قرار گرفته است (افشاری و همکاران، ۱۳۹۵). یکی از مهم‌ترین ارکان موفقیت در هر سیستم پرورش ماهی، تغذیه مطلوب به منظور کسب رشد مناسب، حفظ سلامتی و افزایش مقاومت در برابر عوامل نامناسب محیطی نظیر انواع استرس‌ها و بیماری‌هاست. ازاینرو، جیره‌های غذایی علاوه بر اجزاء اصلی شامل پروتئین‌ها، چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها، به مکمل‌های ویتامینی و معدنی هم نیاز دارند، این مکمل‌ها اگرچه در مقادیر کم موردنیازند ولی حضور آنها در جیره‌های غذایی برای بهبود رشد و سلامت ماهیان ضروری است (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۸). آهن و مس از جمله عناصر کمیاب ضروری یا ریزمغذی‌ها می‌باشند که غالب سیستم‌های زنده برای رشد و توسعه، به آنها نیاز دارند و زیست‌مندان لزوماً باید استراتژی‌هایی را برای محلول کردن و بدست آوردن آنها پیدا نمایند (Watanabe et al., 1997). آهن، جزئی از ترکیب تمام یاخته‌های بدن می‌باشد و نقشی حیاتی در فرایندهای فیزیولوژیک همچون انتقال اکسیژن، تنفس سلولی، فعالیت‌های اکسیداسیون و احیاء، انتقال الکترون، واکنش‌های اکسیداسیون چربی‌ها، متابولیسم ویتامین‌های B، تولید هموگلوبین خون، مقاومت در برابر استرس، عملکرد صحیح آنزیم‌ها و تقویت سیستم ایمنی ایفاء می‌کند (Tacon, 1992). مس نیز یک عنصر کمیاب ضروری برای همه حیوانات از جمله ماهیان می‌باشد که در بسیاری از فرایندهای بیولوژیک شامل سنتز هموگلوبین، تشکیل استخوان، نگهداری میلین در سیستم عصبی، مشارکت در ساختار چندین آنزیم دخیل در واکنش‌های اکسیداسیون و احیاء، محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد، سنتز کلاژن و تولید ملانین نقش دارد

(Halver and Hardy, 2002; Mohseni et al., 2014).

به دلیل غلظت پایین شکل محلول این عناصر در آبهای طبیعی و نیز محدودیت عبور آنها از میان غشای آبشش‌ها، غذاها منبع اصلی این عناصر برای ماهیان می‌باشند (Watanabe et al., 1997). البته این عناصر معدنی، اشکال شیمیایی مختلفی دارند که درجات متفاوتی از زیست‌فراهمی^۱ را نشان می‌دهند. لذا، تنها اشکالی از این عناصر که نشانگر زیست‌فراهمی مناسبی هستند، می‌توانند کیفیت غذای ماهی مورد استفاده در آبی‌پروری تجاری را بهبود بخشند. معمولاً ترکیبات معدنی این عناصر در جیره‌های تجاری و آزمایشی ماهی استفاده می‌شود. در کنار ترکیبات معدنی، استفاده از شکل نانو عناصر معدنی نیز با توجه به اثرات متعدد همچون افزایش رشد و بهبود ایمنی توجه زیادی را بخود جلب نموده است. از آنجایی که آهن و مس از عناصر ضروری مورد نیاز آبزیان می‌باشند، این مطالعه تلاش نموده است تا ضمن مقایسه کارایی افزودن خوراکی اشکال نانو و معدنی این دو عنصر بر برخی شاخص‌های رشد و خون‌شناسی این گونه مستعد بومی، تأثیر استفاده همزمان آنها را نیز مورد مطالعه قرار دهد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهیان و شرایط پرورش

تعداد ۲۱۰ عدد بچه ماهی سفیدک سیستان با میانگین وزنی $23/97 \pm 0/45$ گرم از استخرهای پرورشی مرکز تکثیر ماهیان بومی و گرمابی زهک وابسته به اداره کل آبهای داخلی شیلات استان سیستان و بلوچستان صید شد. سپس بچه ماهیان به حوضچه‌های داخل سالن پرورش منتقل و به منظور سازگاری با شرایط پرورشی، به مدت دو هفته نگهداری و طی این مدت با جیره شاهد تهیه شده به میزان ۳٪ وزن بدن تغذیه شدند. جهت انجام آزمایش تغذیه، کلیه وان‌ها با استفاده از مواد شوینده کاملاً شستشو، ضدعفونی و پس از خشک‌کردن، به میزان ۲۵۰

¹ Bioavailability

لیتر آبیگری شدند. ماهیان در قالب ۷ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار در ۲۱ وان فایبرگلاس به تعداد ۱۰ عدد ماهی در هر وان به طور تصادفی توزیع شدند. در طول مدت آزمایش، جریان ورود و خروج آب و هوادهی مداوم در هر کدام از وان‌ها برقرار بود. شاخص‌های کیفیت آب طی دوره پرورش ماهیان به طور منظم ثبت گردید. در طول دوره میانگین دمای آب 19.6 ± 1 درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول 7.5 ± 0.17 میلی‌گرم در لیتر و pH برابر با 7.8 ± 0.2 ثبت شد. طی دوره ۶۰ روزه آزمایش، غذادهی به صورت روزانه به میزان 3% وزن بدن در دو نوبت، طی ساعات ۸:۰۰ و ۱۶:۰۰ انجام گرفت (Ashouri et al., 2015). غذاهای مصرف نشده، ۳۰ دقیقه پس از هر غذادهی با دقت سیفون و پس از خشک‌کردن در دمای اتاق، توزین شده و نهایتاً از کل مقادیر مصرف شده جیره مربوطه کسر می‌شدند تا مقدار دقیق غذای مصرف شده برای هر جیره بدست آید (Tang et al., 2013).

تیمار بندی و تهیه جیره‌های غذایی

تیمار ۱: ماهیانی که با جیره شاهد فاقد هرگونه مکمل مس و آهن تغذیه شدند.

تیمار ۲: ماهیانی که با جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم آهن معدنی ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) در هر کیلوگرم جیره، بدون هرگونه مکمل مس تغذیه شدند.

تیمار ۳: ماهیانی که با جیره حاوی ۳ میلی‌گرم مس معدنی ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) در هر کیلوگرم جیره، بدون هرگونه مکمل آهن تغذیه شدند.

تیمار ۴: ماهیانی که با جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم آهن معدنی و ۳ میلی‌گرم مس معدنی در هر کیلوگرم جیره تغذیه شدند.

تیمار ۵: ماهیانی که با جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم نانوذره آهن (درجه خلوص ۹۹/۵ درصد و اندازه ۳۵-۴۵ نانومتر) در هر کیلوگرم جیره، بدون هرگونه مکمل مس تغذیه شدند.

تیمار ۶: ماهیانی که با جیره حاوی ۳ میلی‌گرم نانوذره مس (درجه خلوص ۹۹/۹ درصد و اندازه ۴۰ نانومتر) در هر کیلوگرم جیره، بدون هرگونه مکمل آهن تغذیه شدند.

تیمار ۷: ماهیانی که با جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم نانو آهن و ۳ میلی‌گرم نانو مس در هر کیلوگرم جیره تغذیه شدند.

ترکیب جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش بر اساس جدول ۱ می‌باشد. میزان پروتئین متوسط جیره‌ها 32.1 ± 1.11 ، چربی 10.2 ± 0.31 ، رطوبت 9.2 ± 0.21 و خاکستر 11.1 ± 0.91 درصد ماده خشک است. در مرکز تکثیر ماهیان بومی و گرمابی زهک از غذای بچه ماهی کپور معمولی برای تغذیه بچه ماهیان سفیدک سیستم استفاده می‌شود و از آنجایی که میزان نیاز بچه ماهی کپور معمولی به آهن و مس بترتیب به میزان ۱۵۰ و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره می‌باشد (Ogino and Yang, 1980; Wang and Xu, 2006)، لذا بر اساس محاسبه مقادیر این دو عنصر در جیره شاهد (جیره فاقد هرگونه مکمل آهن و مس)، مقادیر مورد نیاز این دو عنصر تا رسیدن به سطوح مذکور (به میزان ۱۵۰ و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره، بترتیب برای دو عنصر آهن و مس) در دو شکل نانو و معدنی به جیره شاهد اضافه گردید (Saffari et al., 2016). به منظور تهیه جیره‌های غذایی، اجزای جیره و مکمل‌های نانو و معدنی بر اساس گروه‌های آزمایشی کاملاً با هم مخلوط شدند و سپس با افزودن آب به شکل خمیر درآمدند. خمیر حاصل جهت افزایش هضم، تحت فشار و بخار در اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه بخارپز شد و پس از سرد شدن، روغن‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی به آن اضافه شد و خمیر به مدت ۱۰ دقیقه دیگر بوسیله دستگاه همزن کاملاً مخلوط و همگن گردید. برای پلت کردن جیره‌ها از چرخ‌گوشت دستی با خروجی یک میلی‌متر استفاده شد. پلت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک شدند و سپس در پلاستیک‌های دربسته، در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند (Ashouri et al., 2015).

جدول ۱: ترکیب جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در تیمارهای مختلف
Table 1: Ingredients of the experimental diets in different treatments

تیمار ۷	تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	اجزای جیره (گرم بر کیلوگرم)
۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	آرد ماهی
۱۶۰	۱۶۰	۱۶۰	۱۶۰	۱۶۰	۱۶۰	۱۶۰	آرد سویا
۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	آرد ذرت
۱۸۰	۱۸۰	۱۸۰	۱۸۰	۱۸۰	۱۸۰	۱۸۰	آرد گندم
۸۰	۸۰	۸۰	۸۰	۸۰	۸۰	۸۰	سبوس برنج
۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	روغن ماهی
۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	روغن سویا
حاوی نانوذرات مس و آهن	حاوی نانوذرات آهن	حاوی نانو ذرات مس	حاوی آهن و مس معدنی	حاوی آهن معدنی	حاوی مس معدنی	فاقد مکمل آهن و مس	پرمیکس
تیمار ۷	تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	اجزای پرمیکس مورد استفاده: در هر کیلوگرم به نسبت ۱ درصد جیره
تیمار ۷	تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	اجزای مکمل معدنی ویتامینی
۵۰۰۰۰	۵۰۰۰۰	۵۰۰۰۰	۵۰۰۰۰	۵۰۰۰۰	۵۰۰۰۰	۵۰۰۰۰	ویتامین A (IU)
۱۰۰۰۰	۱۰۰۰۰	۱۰۰۰۰	۱۰۰۰۰	۱۰۰۰۰	۱۰۰۰۰	۱۰۰۰۰	ویتامین D ₃ (IU)
۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	ویتامین B ₁ (میلی گرم)
۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	ویتامین B ₂ (میلی گرم)
۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	ویتامین B ₆ (میلی گرم)
۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	ویتامین K ₃ (میلی گرم)
۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	نیکوتینامید
۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	کلسیم پانتوتینیت (میلی گرم)
۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	روی (Zn ⁺⁺) (میلی گرم)
۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	منگنز (Mn ⁺⁺) (میلی گرم)
-	-	-	۱۵۰	-	۱۵۰	-	آهن معدنی (FeSO ₄) (میلی گرم)
-	-	-	۳	۳	-	-	مس معدنی (CuSO ₄) (میلی گرم)
۱۵۰	-	۱۵۰	-	-	-	-	نانو آهن (میلی گرم)
۳	۳	-	-	-	-	-	نانو مس (میلی گرم)

محاسبه و بر اساس اشکال هر تیمار (نانو و معدنی) افزوده شد.

زیست‌سنجی

در پایان دوره ۶۰ روزه آزمایش و قبل از نمونه‌برداری نهایی، بچه ماهیان به مدت ۲۴ ساعت بدون غذاهای نگهداری شدند. سپس تعداد کل ماهیان هر تیمار و وزن و طول بدن آنها در هر کدام از وان‌های پرورشی، پس از

تعیین محتوای آهن و مس در جیره‌های تهیه‌شده

ابتدا غلظت آهن و مس در جیره شاهد (تیمار ۱: جیره شاهد فاقد هرگونه مکمل آهن و مس) مطابق روش استاندارد (Basuini et al., 2016) با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی جذب اتمی (nov AA300, Germany) بترتیب به میزان ۰/۳۴ و ۰/۰۶ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک جیره محاسبه شد. سپس مطابق تیمارها، مقدار آهن و مس لازم برای رسیدن به غلظت‌های مورد نظر

بیهوشی با اسانس گل میخک (۱۵۰ ppm) اندازه‌گیری گردید.

محاسبه شاخص‌های رشد

شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، درصد افزایش وزن

(WG%)، نرخ رشد ویژه (SGR)، فاکتور وضعیت (CI)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب کارایی تغذیه (FER)، نرخ بلع غذا (FI) و درصد بازماندگی (SR%) بر اساس روابط ذیل محاسبه گردید (فرهودی و همکاران، ۱۳۹۶):

$$\begin{aligned} \text{درصد افزایش وزن} &= (\text{وزن نهایی} - \text{وزن اولیه}) \times 100 \div \text{وزن اولیه} \\ \text{نرخ رشد ویژه} &= \{ (\text{لگاریتم وزن نهایی}) - (\text{لگاریتم وزن اولیه}) \} \div \text{دوره پرورش} \times 100 \\ \text{فاکتور وضعیت} &= \text{وزن ماهی (گرم)} \div (\text{طول ماهی (سانتیمتر)})^3 \times 100 \\ \text{ضریب تبدیل غذایی} &= \text{میزان غذای مصرفی (گرم)} \div \text{افزایش وزن بدن (گرم)} \\ \text{ضریب کارایی تغذیه} &= \text{وزن زنده کسب‌شده (گرم)} \div \text{غذای خشک مصرف‌شده (گرم)} \\ \text{نرخ بلع غذا} &= (\text{میزان غذای خشک داده شده} - \text{میزان غذای خشک باقیمانده که مصرف نشده}) \div \text{تعداد ماهیان} \\ \text{درصد بازماندگی} &= 100 \times (\text{تعداد نهایی بچه ماهیان} \div \text{تعداد اولیه بچه ماهیان}) \end{aligned}$$

گلبول‌های قرمز^۳ با استفاده از روابط ذیل تعیین شد (فرهودی و همکاران، ۱۳۹۶):

$$\begin{aligned} (\%) \text{ هماتوکریت} &= 10 \times \text{تعداد گلبول‌های قرمز (میلی لیتر در مترمکعب)} \\ \text{MCV} &= 10 \times \text{هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)} / \text{تعداد گلبول‌های قرمز (میلی لیتر بر مترمکعب)} \\ \text{MCH} &= 100 \times \text{هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)} / \text{هماتوکریت (\%)} \\ \text{MCHC} &= \end{aligned}$$

آنالیز آماری

جمع‌آوری و پردازش اطلاعات میدانی و آزمایشگاهی با استفاده از نرم‌افزار Excel و تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. قبل از تجزیه و تحلیل، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از هر مرحله تحقیق و آزمایش‌های مختلف با استفاده از برنامه آماری SPSS، آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA one way بررسی شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری Duncan در سطح اعتماد ۹۵ درصد استفاده شد.

برای محاسبه شاخص احشایی (VSI) و شاخص کبدی (HSI)، احشاء و کبد تعداد ۱۵ ماهی در هر تیمار تخلیه و به‌صورت جداگانه و بر اساس روابط ذیل محاسبه شد:

$$\begin{aligned} \text{شاخص کبدی (\%)} &= \text{وزن کبد (گرم)} \div \text{وزن بدن (گرم)} \times 100 \\ \text{شاخص احشایی (\%)} &= \text{وزن احشاء (گرم)} \div \text{وزن بدن (گرم)} \times 100 \end{aligned}$$

اندازه‌گیری شاخص‌های خون‌شناسی

خون‌گیری از رگ دمی پس از زیست‌سنجی ماهیان، انجام شد. به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های خون‌شناسی از نمونه‌های خون همگن حاوی ماده ضد انعقاد هپارین استفاده گردید. میزان کل اریتروسیت (RBCs) و لوکوسیت (WBCs) به روش دستی و با استفاده از لام نئوبار و محلول رقیق‌کننده نات هریک (فرهودی و همکاران، ۱۳۹۶)، سطح هموگلوبین خون (Hb) به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین (Izquierdo et al., 2016) با استفاده از کیت سنجش شرکت بهار افشان، هماتوکریت با استفاده از میکروهماتوکریت خوان، شاخص‌های گلبولی شامل حجم متوسط گلبولی^۱، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی^۲ و غلظت متوسط هموگلوبین

¹ Mean corpuscular volume

² Mean corpuscular hemoglobin

³ Mean corpuscular hemoglobin concentration

نتایج

شاخص‌های رشد

نتایج عملکرد رشد و شاخص‌های کبدی و احشایی بچه ماهیان سفیدک سیستان که با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند، در جدول ۲ و شکل ۱ نشان داده شده است. به طور کلی، عملکرد رشد و تغذیه و شاخص‌های کبدی و احشایی در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی آهن و مس بهبود یافت بطوریکه وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، فاکتور وضعیت، ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی تغذیه و شاخص‌های کبدی و احشایی در گروه‌های آزمایشی تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی آهن و مس در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری بهتر بود ($p < 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که مکمل‌های آهن و مس در شکل نانو مؤثرتر از شکل معدنی عمل می‌کنند،

چنانکه عملکرد رشد و تغذیه و شاخص‌های کبدی و احشایی در گروه‌های تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی نانوذره آهن و مس (گروه‌های آزمایشی ۵، ۶ و ۷) بهتر از گروه‌های تغذیه شده با جیره حاوی آهن و مس معدنی (گروه‌های آزمایشی ۲، ۳ و ۴) بود ($p < 0.05$). ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی هر دو نوع نانوذره آهن و مس (تیمار ۷) در اغلب شاخص‌های عملکرد رشد، تغذیه و شاخص‌های کبدی و احشایی بهترین نتایج را در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی نشان دادند. همچنین شاخص‌های فاکتور وضعیت، ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی تغذیه در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی آهن و مس معدنی (تیمار ۴) نسبت به ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی آهن معدنی (تیمار ۲) و مس معدنی (تیمار ۳) بهبود یافت.

جدول ۲: میانگین شاخص‌های رشد ماهی سفیدک سیستان در تیمارهای آزمایشی مختلف
Table 2: Mean of growth indices of Sistan's loach in different experimental treatments

شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	تیمار ۶	تیمار ۷
وزن اولیه (گرم)	۲۳/۵۹ ± ۰/۰۹ ^a	۲۳/۶۳ ± ۰/۴۴ ^a	۲۳/۶۱ ± ۰/۷۸ ^a	۲۴/۱۸ ± ۰/۲۱ ^a	۲۴/۱۳ ± ۰/۰۱ ^a	۲۴/۳۳ ± ۰/۳۹ ^a	۲۴/۳۴ ± ۰/۱۵ ^a
درصد افزایش وزن بدن	۸۳/۵۶ ± ۳/۸۷ ^d	۹۹/۳۲ ± ۱/۸۰ ^c	۹۸/۵۹ ± ۴/۵۵ ^c	۱۰۴/۳۹ ± ۴/۳ ^c	۱۱۵/۰۵ ± ۴/۵۹ ^b	۱۱۲/۱۱ ± ۲/۰۳ ^b	۱۳۱/۱۴ ± ۲/۶۶ ^a
نرخ رشد ویژه (/.)	۰/۴۷ ± ۰/۰۲ ^d	۰/۵۴ ± ۰/۰۰۶ ^c	۰/۵۳ ± ۰/۰۲ ^c	۰/۵۵ ± ۰/۰۱ ^c	۰/۵۹ ± ۰/۰۱ ^b	۰/۵۸ ± ۰/۰۰۶ ^b	۰/۶۵ ± ۰/۰۱ ^a
فاکتور وضعیت	۰/۷۷ ± ۰/۱۰ ^b	۰/۸۲ ± ۰/۰۵ ^b	۰/۸۴ ± ۰/۰۵ ^b	۱/۱۵ ± ۰/۰۷ ^a	۱/۲۷ ± ۰/۱۹ ^a	۱/۱۹ ± ۰/۱۵ ^a	۱/۳۲ ± ۰/۲۳ ^a
ضریب تبدیل غذایی	۴/۸ ± ۰/۱۸ ^a	۴/۰۹ ± ۰/۰۷ ^b	۴/۱۲ ± ۰/۱۶ ^b	۳/۸ ± ۰/۱۷ ^c	۳/۵۱ ± ۰/۱۵ ^d	۳/۵۴ ± ۰/۱۱ ^d	۳/۰۹ ± ۰/۰۵ ^e
ضریب کارایی تغذیه	۰/۲۱ ± ۰/۰۰۷ ^e	۰/۲۴ ± ۰/۰۰۹ ^d	۰/۲۴ ± ۰/۰۰۴ ^d	۰/۲۶ ± ۰/۰۱۳ ^c	۰/۲۸ ± ۰/۰۰۹ ^b	۰/۲۸ ± ۰/۰۱۳ ^b	۰/۳۲ ± ۰/۰۰۵ ^a
نرخ بلع غذا	۹۱/۹ ± ۰/۸۲ ^c	۹۳/۱۶ ± ۰/۸۰ ^{bc}	۹۳/۱۴ ± ۲/۶۱ ^{bc}	۹۳/۲۷ ± ۰/۴۱ ^{bc}	۹۴/۶۶ ± ۰/۹۰ ^{ab}	۹۴/۱۱ ± ۰/۱۰ ^{bc}	۹۶/۳۹ ± ۰/۳۷ ^a
شاخص کبدی (/.)	۱/۰۵ ± ۰/۱۴ ^d	۱/۲۹ ± ۰/۰۲ ^c	۱/۲۴ ± ۰/۰۳ ^c	۱/۳۰ ± ۰/۰۳ ^c	۱/۶۱ ± ۰/۰۳ ^b	۱/۶۹ ± ۰/۰۱ ^{ab}	۱/۷۹ ± ۰/۰۹ ^a
شاخص احشایی (/.)	۱۰/۵۷ ± ۱/۳۳ ^c	۱۲/۸۶ ± ۰/۵۳ ^b	۱۳/۲۶ ± ۰/۳۰ ^b	۱۳/۲۱ ± ۱/۲۳ ^b	۱۵/۹۸ ± ۱/۱۴ ^a	۱۵/۶۴ ± ۰/۸۹ ^a	۱۵/۳۳ ± ۰/۴۶ ^a
بازماندگی (/.)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a

حروف غیر همسان نشانه اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$)

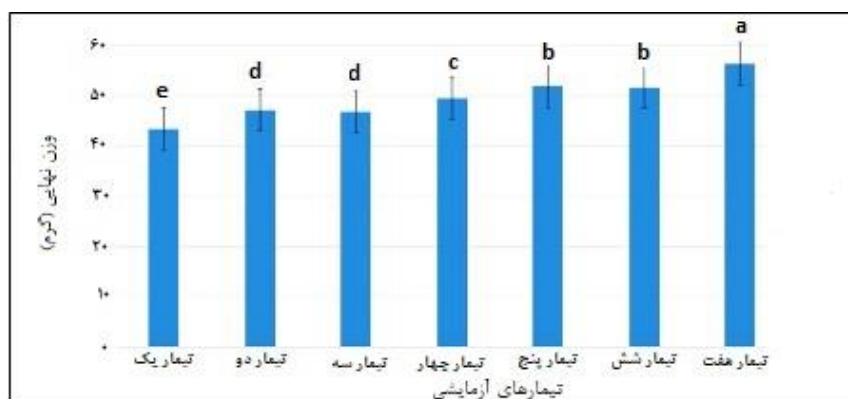
شاخص‌های خون‌شناسی

بر اساس نتایج (جدول ۳ و شکل ۲)، ماهیان تیمار شاهد کمترین مقادیر را در همه شاخص‌های مورد مطالعه نشان

دادند. ماهیان تغذیه شده با جیره محتوی نانوذره آهن و مس (تیمار ۷) نیز بالاترین مقادیر را در همه شاخص‌ها نشان دادند بطوریکه مقادیر بدست‌آمده در این گروه در

داد ($P < 0.05$). نتایج بدست آمده برای دو شاخص MCHC و WBC بین تیمارها معنی دار نبود ($p > 0.05$).

خصوص شاخص های هماتوکریت و هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز نسبت به سایر گروه های آزمایشی و در دو شاخص MCV و MCH با شاهد اختلاف معنی دار نشان



شکل ۱: میانگین وزن نهایی ماهی سفیدک سیستان در تیمارهای آزمایشی مختلف

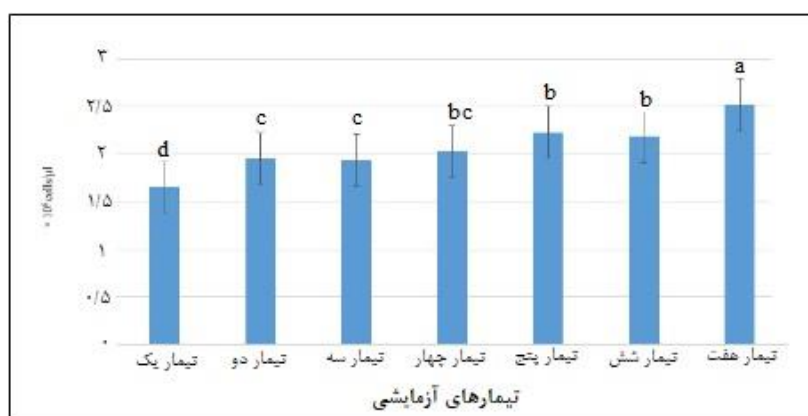
Figure 1: Mean of final weight of Sistan's loach in different experimental treatments

جدول ۳: میانگین شاخص های خون شناسی ماهی سفیدک سیستان در تیمارهای آزمایشی مختلف

Table 3: Mean of hematological indices of Sistan's loach in different experimental treatments

تیمار ۷	تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	
$39/33 \pm 1/53^a$	$33/67 \pm 1/53^b$	$34/00 \pm 2/00^b$	$27/33 \pm 1/15^c$	$25/33 \pm 1/15^c$	$26/00 \pm 2/00^c$	$18/67 \pm 2/08^d$	Hct
$12/84 \pm 0/16^a$	$11/13 \pm 0/05^b$	$11/30 \pm 0/19^b$	$8/67 \pm 0/38^c$	$8/38 \pm 0/48^c$	$8/49 \pm 0/36^c$	$5/67 \pm 0/29^d$	Hb
$155/77 \pm 2/68^a$	$153/86 \pm 12/77^{ab}$	$152/96 \pm 17/03^{ab}$	$136/24 \pm 18/05^{abc}$	$130/41 \pm 5/63^{bc}$	$133/52 \pm 13/15^{abc}$	$112/95 \pm 9/27^{bc}$	MCV
$50/91 \pm 2/35^a$	$50/81 \pm 2/54^a$	$50/80 \pm 4/11^a$	$43/12 \pm 4/28^b$	$43/21 \pm 3/55^b$	$43/56 \pm 2/85^b$	$34/38 \pm 1/90^c$	MCH
$32/67 \pm 0/98^a$	$33/09 \pm 1/44^a$	$33/30 \pm 1/43^a$	$31/81 \pm 2/75^a$	$33/11 \pm 1/63^a$	$32/70 \pm 1/29^a$	$30/57 \pm 3/08^a$	MCHC
$37/37 \pm 3/61^a$	$37/52 \pm 2/37^a$	$37/27 \pm 1/06^a$	$35/22 \pm 1/15^a$	$34/35 \pm 1/69^a$	$35/95 \pm 1/31^a$	$34/12 \pm 0/95^a$	WBC*

* ($10^3 \text{ cells}/\mu\text{l}$)؛ حروف غیر همسان نشانه اختلاف معنی دار است ($p < 0.05$)



شکل ۲: میانگین RBC ماهی سفیدک سیستان در تیمارهای آزمایشی مختلف

Figure 2: Mean of RBC of Sistan's loach in different experimental treatments

بحث

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، کمترین مقادیر شاخص‌های وزن نهایی، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، فاکتور وضعیت، ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی تغذیه، شاخص کبدی و شاخص احشایی در تیمار شاهد مشاهده گردید که این امر نشان‌دهنده اثرگذاری دو عنصر آهن و مس در جیره غذایی ماهی سفیدک سیستان می‌باشد. همچنین بهترین مقادیر بدست‌آمده در خصوص شاخص‌های وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، فاکتور وضعیت، ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی تغذیه نیز مربوط به تیمار حاوی هر دو نوع نانوذره آهن و نانوذره مس به طور همزمان بود.

نتایج مطالعه Tang و همکاران (۲۰۱۳) در خصوص بررسی اثرات جیره محتوی مس بر رشد، آنزیم‌های گوارشی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور غلفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) نشان داد که درصد افزایش وزن و بلع غذا با افزایش سطوح مس تا ۳/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره افزایش می‌یابد. نتایج مشابهی در خصوص اثر مس بر رشد ماهی هامور (Lin et al., 2015; Wang et al., 2008) و میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) (Lee and Shiau, 2002)، فیل ماهی (*Huso huso*) (Mohseni et al., 2014)، آبالون (*Haliotis discus hannai*) (Wang et al., 2009) و سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) (Basuini et al., 2016) نیز بدست آمده است.

در مطالعه Behera و همکاران (۲۰۱۳) در خصوص بررسی اثرات نانو ذرات اکسید آهن و سولفات آهن دو ظرفیتی بر شاخص‌های مختلف رشد و خون‌شناسی ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) مشخص نمود که در ماهیان تغذیه‌شده با جیره محتوی نانو ذرات اکسید آهن و سولفات آهن، وزن نهایی، افزایش وزن، سطوح گلبول‌های قرمز خون و هموگلوبین به‌صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد بالاتر می‌باشد. همچنین نتایج بدست‌آمده در ماهیان تغذیه‌شده با جیره محتوی نانو ذرات اکسید آهن به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) بالاتر از ماهیان تغذیه‌شده با جیره محتوی سولفات آهن بود که مطابق نتایج بدست

آمده در این مطالعه می‌باشد. نتایج مشابهی در خصوص اثر آهن معدنی بر ارزش غذایی و شاخص‌های ایمنی شمشیر ماهی (*Xiphophorus helleri*) و ماهی پلاتی (*Xiphophorus maculatus*) (Roeder and Roeder, 1966) و نانوذره آهن بر رشد ماهی *Clarias* (Akter et al., 2018) و ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Shenawy et al., 2019) نیز بدست آمده است. نتایج بهتر جایگزینی آهن و مس معدنی با اشکال نانویی می‌تواند با زیست‌فراهمی بهتر آنها مرتبط باشد، زیرا مواد در ابعاد نانومتری، ویژگی‌های جدیدی از قبیل فعالیت سطحی بالا، منطقه سطحی ویژه بزرگ‌تر، کارایی کاتالیزوری بالا، مراکز فعال سطحی زیاد و توانایی جذب قوی‌تری را نشان می‌دهند (Safari et al., 2016). لذا، توانایی بیشتری را برای عبور از سدهای بیولوژیک دارد و سلول‌ها با سرعت آنها را جذب می‌کنند (Izquierdo et al., 2016).

Behera و همکاران (۲۰۱۳) نیز افزایش معنی‌دار در تعداد کل گلبول قرمز و هموگلوبین ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) تغذیه‌شده با رژیم‌های غذایی محتوی نانو ذرات آهن را در مقایسه با سایر منابع آهن و رژیم غذایی فاقد آهن گزارش نمودند. نتایج مشابهی در خصوص ماهی تیلاپای نیل (Shenawy et al., 2019) نیز گزارش شده است. از آنجایی که بر اساس مطالعه حاضر، ماهیان تغذیه‌شده با جیره محتوی هر دو نوع نانوذره آهن و مس (تیمار ۷) نتایج بهتری را نسبت به سایر تیمارها از جمله تیمار ۵ و ۶ نشان دادند، می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد همزمان نانو ذرات آهن و مس مؤثرتر از افزودن جداگانه آنها در بهبود شاخص‌های رشد و خون‌شناسی مورد مطالعه عمل می‌نماید. دو پروتئین سرولوپلاسمین و هفستین که به لحاظ ساختاری نیازمند مولکول مس می‌باشند، دارای نقش موثری در متابولیسم آهن نیز هستند. آهن برای رهاسازی از سلول‌ها و بافت‌ها و انتقال به پلاسما نیازمند سرولوپلاسمین است. این پروتئین در ساختار خود محتوی چندین مولکول مس می‌باشد و حضور مس برای سنتز آن در کبد ضروری است. در واقع، کمبود مس، قابلیت ماهی را برای جذب آهن یا آزادسازی آن از بافت‌ها

Evaluation of dietary metallic iron nanoparticles as feed additive for growth and physiology of Bagridae catfish *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 6(3): 371-377.

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

Basuini, M.F.E., El-Hais, A.M., Dawood, M.A.O., Abou-Zied, A.E., El-Damrawy, S.Z., Khalafalla, M.M.E., Koshio, S., Ishikawa, M. and Dossoi, S., 2016. Effect of different levels of dietary copper nanoparticles and copper sulfate on growth performance, blood biochemical profiles, antioxidant status and immune response of red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, 455: 32-40. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.01.007.

Behera, T., Swain, P., Rangacharulu, P.V. and Samanta, M., 2013. Nano-Fe as feed additive improves the hematological and immunological parameters of fish, *Labeo rohita* H. *Applied Nanoscience*, 4: 687-694. DOI: 10.1007/s13204-013-0251-8.

Haver, J.E. and Hardy, R.W., 2002. Fish Nutrition 3 edition. Academic Press, pp. 260-308.

به منظور ساختن هموگلوبین مختل می‌کند (Haver and Hardy, 2002).

در جمع‌بندی، بنابر استناد نتایج مطالعه حاضر می‌توان بیان نمود، افزودن همزمان نانوذره آهن و مس در مقادیر ۱۵۰ و ۳ میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا می‌تواند سبب بهبود شاخص‌های رشد و خون‌شناسی در ماهی سفیدک سیستان نسبت به افزودن مجزای اشکال نانو و معدنی آنها گردد. این نتایج علاوه بر نشان دادن ضرورت تعادل جیره غذایی از نظر رعایت مقادیر مطلوب عناصر کمیابی چون آهن و مس، به اهمیت در نظرگیری ارتباط متقابل آنها در کسب بهترین شاخص‌های رشد و خون تأکید می‌کند.

منابع

- افشاری، ع.، سوری نژاد، ا.، شیبیک، ح. و عرب نژاد، س.، ۱۳۹۵. تاثیر استرس شوری بر میزان رشد، پارامترهای بیوشیمیایی و کورتیزول خون ماهی سفیدک سیستان *Schizothorax zarudnyi* (Nikolskii, 1897). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، ۴(۳): ۴۳-۵۲.
- فروهرودی، آ.، سوری نژاد، ا.، نفیسی بهابادی، م.، سجادی، م.م. و سالار زاده، ع.، ۱۳۹۶. تأثیر جایگزینی نسبی آرد ماهی با جلبک قرمز دریایی *Gracilaria pygmaea* بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم ماهی باس دریایی آسیایی *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). مجله علمی شیلات ایران، ۲۶(۳): ۷۷-۸۹. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.113524
- کاظمی، ا.، سوری نژاد، ا.، قائدی، ع.، جوهری، س.ع. و قاسمی، ز.، ۱۳۹۸. اثر تغذیه با منابع مختلف مکمل روی بر تغییرات آنزیمی و یونی پلاسمای سمینال مولدین قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۴): ۱۹۱-۲۰۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119536
- Akter, N., Alam, J., Jewel, A.S., Haque, A., Khatun, S. and Akter, S., 2018.**

- Izquierdo, M.S., Ghrab, W., Roo, J., Hamre, K., Hernandez-Cruz, C.M., Bernardini, G., Teroza G. and Saleh, R., 2016.** 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. DOI: 10.1111/are.13119.
- Lee, M.H. and Shiau, S.Y., 2002.** Dietary copper requirement of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses. *Fish & Shellfish Immunology*, 13: 259-270. DOI: 10.1006/fsim.2001.0401.
- Lin, Y.H., Shie, Y.Y. and Shiau, S.Y., 2008.** Dietary copper requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture*, 274: 161-165. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.11.006.
- Mohseni, M., Pourkazemi, M. and Baim, S.C., 2014.** Effects of dietary inorganic copper on growth performance and immune response of juvenile beluga, *Huso huso*. *Aquaculture Nutrition*, 20: 547-556. DOI: 10.1111/anu.12107.
- Ogino, C. and Yang, G.Y., 1980.** Requirements of Carp and Rainbow Trout for Dietary Manganese and Copper. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 46(4), 455-458. DOI: 10.2331/suisan.46.455.
- Roeder, M. and Roeder, R.H., 1966.** Effect of iron on the growth rate of fishes. *Journal of Nutrition*, 90(1): 86-90. DOI: 10.1093/jn/90.1.86.
- Safari, S., Keyvanshokoo, S., Zakeri, M., Johari, S.A. and Pasha-Zanoosi, H., 2016.** Effects of different dietary selenium sources (sodium selenite, selenomethionine and nanoselenium) on growth performance, muscle composition, blood enzymes and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition*, 23(3): 611-617. DOI: 10.1111/anu.12428.
- Shenawy, A.M., Gad, D.M. and Yassin, A.S., 2019.** Effect of iron nanoparticles on the development of fish farm feeds. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 60 (1): 102-115. DOI: 10.5455/ajvs.28123.
- Tacon, A.J., 1992.** Nutritional fish pathology Morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish. FAO Fish Technical Paper. No. 330. 75P.
- Tang, Q.Q., Feng, L., Jiang, W.D., Liu, Y., Jiang, J., Li S.H., Kuang, S.Y., Tang, L. and Zhou, X.Q., 2013.** Effects of dietary copper on growth, digestive, and brush border enzyme activities and antioxidant defense of hepatopancreas and intestine for young Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Biological Trace Element Research*, 155: 370-380. DOI: 10.1007/s12011-013-9785-6.
- Watanabe, T., Kiron, V. and Satoh, S., 1997.** Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151(1-4): 185-207. DOI: 10.1016/S0044-8486(96)01503-7.
- Wang, Y. and Xu, Z., 2006.** Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal Feed*

Science and Technology. 127: 283–292.

DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2005.09.003.

Wang, W., Mai, K., Zhang, W., Ai, Q., Yao, C., Li, H. and Liufu, Z., 2009. Effects of dietary copper on survival, growth and immune response of juvenile Abalone, *Haliotis Discus Hannai* Ino. *Aquaculture*, 297: 122-127. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.09.006.

Wang, T., Long, X., Cheng, Y., Liu, Z. and Yan, S., 2015. A comparison effect of copper nanoparticles versus copper sulphate on juvenile *Epinephelus coioides*: growth parameters, digestive enzymes, body composition, and histology as biomarker. *International Journal of Genomics*, Article ID 783021, 10P. DOI: 10.1155/2015/783021.

Synergetic effects of dietary iron and copper nanoparticles and comparison with their mineral forms on growth performance and hematological parameters of Sistan's loach *Schizothorax zarudnyi* Nikolskii, 1897

Afshari A.R.¹; Sourinejad I.^{1*}; Gharaei A.²; Johari S.A.³; Ghasemi Z.¹

1-Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

2- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran.

3- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

Abstract

Iron and copper are two essential trace elements or micronutrients that play important roles in many vital biological processes, key enzymes and the immune system. In this study, the effects of feeding with different sources of iron and copper supplements on growth performance and some blood parameters of *Schizothorax zarudnyi* with an average weight of 23.97 ± 0.45 g were investigated. Within 60 days of study, dietary treatments were included fish fed with: 1) the basal diet without any copper and iron supplement, 2) diet containing 150 mg of mineral iron supplement per kg of diet, 3) diet containing 3 mg of mineral copper supplement per kg of diet, 4) diet containing 150 mg of mineral iron supplement and 3 mg of mineral copper supplement per kg of diet, 5) diet containing 150 mg of iron nanoparticles supplement per kg of diet, 6) diet containing 3 mg of copper nanoparticles supplement per kg of diet, 7) diet containing 150 mg of iron nanoparticles supplement and 3 mg of copper nanoparticles supplement per kg of diet. The results showed that supplementing diet with iron and copper improves the growth and blood parameters compared with the control; and iron and copper nanoparticles especially simultaneous use of them (treatment 7), act more effectively than their mineral forms; as the fish in treatment 7 showed the best growth and feeding results compared with the other treatments. Fish in treatment 7 also showed the highest values in all blood parameters and there were significant differences in hematocrit, hemoglobin and total amount of erythrocyte indices compared with the other treatments. MCV and MCH indices in treatment 7 exhibited significant difference compared with the control ($p < 0.05$). According to the results of this study, simultaneous use of two nanoparticles of iron and copper leads to the improvement of growth and blood indices of Sistan's loach more effectively than their separate supplementation or their mineral forms.

Keywords: Sistan's loach, Iron and copper nanoparticles, Growth performance, Hematology

*Corresponding author