

اثرات سلنیوم روی عملکرد رشد، هماتوکریت و برخی پارامترهای خون شناسی بچه ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

حمید رجبی استرآبادی*^۱، حسین عمادی^۲ و محمد رضا ایمانپور^۳

۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

۲- گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۵/۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۸

چکیده

به منظور بررسی ترکیب آلی و معدنی سلنیوم بر رشد، میزان هماتوکریت و برخی از پارامترهای خون شناسی بچه ماهی قزل آلی (*Oncorhynchus mykiss*)، آزمایشی در طول دوره ۹۰ روزه در مزرعه پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان واقع در ساری انجام گرفت. برای انجام کار، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ سطح سلنوم تیونین (۲، ۴، ۸ میلی گرم) و ۳ سطح سلنیت (۲، ۴، ۸ میلی گرم) هر کدام در سه تکرار روی ماهی قزل آلی رنگین کمان انجام گرفت. در این تحقیق از ۲۱ عدد مخزن مدور فایبرگلاس به حجم ۳۰۰ لیتر استفاده گردید. تعداد ۳۰ عدد ماهی قزل آلی رنگین کمان (با میانگین وزنی $23/15 \pm 2$ گرم) درون مخازن توزیع و ۳ بار در روز (ساعت های ۸:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۶:۰۰) به طور دستی تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش فاکتورهای رشد، هماتوکریت و برخی پارامترهای خون شناسی تعیین گردید. نتایج نشان دادند که ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و درصد بازماندگی با افزایش سطح سلنیوم آلی و معدنی اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0/05$). از سوی دیگر در بررسی میزان رشد وزنی در رابطه با سطوح سلنیوم نتایج نشان داد که افزایش میزان سلنیوم آلی، باعث بهبود وزنی گردیده و میزان آن به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0/05$). همچنین شمار گلبول قرمز به ترتیب در تیمارهای ۴ میلی گرم سلنیوم آلی و ۸ میلی گرم سلنیوم معدنی و شمار گلبول سفید در تیمار ۲ میلی گرم سلنیوم آلی کاهش معنی داری ملاحظه شد ($P < 0/05$). با افزایش سطح سلنیوم آلی و معدنی فاکتورهای هماتوکریت و هموگلوبین اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0/05$). نتایج نشان دادند در کل تیمارها تفاوت معنی داری در شمار افتراقی گلبول های سفید وجود ندارد ($P > 0/05$). این مطالعه نشان داد تفاوت معنی داری در میزان گلبول های قرمز در تیمارهای مختلف ثبت نگردید. افزودن ۸ میلی گرم سلنوم تیونین در جیره با افزایش رشد وزنی به میزان $54 \pm 23/67$ همراه بوده و

همچنین افزودن ۴ میلی گرم سلنیوم آلی و ۸ میلی گرم سلنیوم معدنی باعث کاهش تعداد گلبول قرمز و ۲ میلی گرم سلنیوم آلی باعث کاهش شمار گلبول سفید در بچه ماهی قزل آلاهی رنگین کمان گردید.

واژگان کلیدی

قزل آلاهی رنگین کمان، سلنومتیونین، سلنیت، رشد، هماتوکریت

مقدمه

صید آبریان از دریاها و منابع آبی و آبرزی پروری آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. افزایش درآمد حاصل از پرورش ماهی، مناسب تر بودن ماهی بعنوان یک منبع غذایی در مقایسه با گوشت قرمز و مرغ از نظر بهداشتی و ضریب تبدیل غذا به گوشت، کمتر بودن مواد زائد و غیر قابل مصرف، نیاز به انرژی کمتر بخاطر خونسرد بودن، قابلیت استفاده از تمام ابعاد (طول، عرض و عمق) در پرورش ماهی و همچنین کاهش ذخایر طبیعی ماهیان بر اثر صید بی رویه به رشد صنعت آبرزی پروری شتابی بیش از پیش بخشیده است. مطابق گزارش‌های موجود ۳۵ تا ۶۰ درصد هزینه تولید پرورش ماهیان مربوط به هزینه غذا می باشد (Forester et al., 1999). قزل آلاهی رنگین کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* در صنعت آبرزی پروری ایران عمده گونه ماهی سردآبی پرورشی است. تولید آن سالانه در حال افزایش است. سلنیوم عنصری کم یاب، ضروری برای بشر و حیوانات است. این ماده در تمام قسمت‌های گلوکوتایون پراکسیداز یافت می شود (Rotruck et al., 1973). گلوکوتایون پراکسیداز نقش دفاع سلولی در برابر آسیب اکسیداتیو ساختارهای سیتوپلاسمیک را از راه کاهش کاتالیز هیدروژن پراکسید و لیپید پراکسید دارد (Watanabe et al., 1997). سلنومتیونین، فرم شیمیایی غالب سلنیوم آلی در خوراک جانوران است که دسترسی بالاتری نسبت به سلنیوم غیرآلی (سلنیت) برای ماهی آزاد اقیانوس اطلس (Bell & Cowey, 1989; Lorentzen et al., 1994) و گربه ماهی کانالی (Wang & Lovell, 1997) را دارا می باشد. پودر سلنیوم در آب حل نمی شود و به طور کلی از لحاظ زیستی خنثی است (Zhang et al., 2005). سلنیوم همچنین در ترکیب پروتئین در بافت حیوانات همراه می باشد (Burk & Hill, 1993). پس می توان نتیجه گرفت که گوشت و غذاهای دریایی منبع رژیم غذایی قابل اطمینانی از مواد معدنی هستند (Gibson, 1990). واکنش‌های اکسیداتیو بدتر شونده، در گوشت منجر به از بین رفتن ارزش عناصر غذایی و کیفیت گوشت می شوند. به منظور افزایش پایداری اکسیداتیو گوشت و به منظور بهبود کیفیت آن، آنتی اکسیدان‌هایی مانند سلنیوم به غذای دام‌های اهلی افزوده می شوند (Mahan et al., 1999; Downs et al., 2000; Gatellier et al., 2004). سلنیوم نقش محافظتی را در برابر بیماری‌های اکسیداتیو ناشی از استرس‌های فیزیکی دارد. سلنیوم در بافت‌های پروتئینی سلنیوم دار فعال بعنوان سلنوسیسستین به میزان زیادی وجود دارد (Beckett & Arthur, 2005). در اندام‌های بزرگ تر، سلنیوم نقش بحرانی را برای حفاظت اکسیداتیو و حالات ایمنی بازی می کند، بنابراین سلنیوم برای حفاظت از سلامتی ضروری است (Brown & Arthur, 2001; Rayman, 2000). کارایی اصلی سلنیوم در حمایت از ترکیبات زیستی، DNA، پروتئین و لیپید در برابر حمله رادیکال‌های آزاد تولید شده در طول متابولیسم نرمال است. بنابراین این مطالعه به منظور بررسی کاربرد منابع مختلف سلنیوم شامل سلنومتیونین و سلنیت طراحی شد به عنوان مکمل غذایی در رژیم غذایی برای قزل آلاهی رنگین کمان که در صنعت آبرزی پروری ایران عمده گونه ماهی سردآبی پرورشی است. به علاوه، شاخص‌های رشد و برخی پارامترهای خون‌شناسی در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان مورد تحقیق قرار گرفت.

موارد و روش کار

این تحقیق در مزرعه پرورش ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان واقع در ساری، پایین دست سد شهید رجایی انجام گرفت. آزمایش روی ماهیان قزل‌الای رنگین‌کمان با میانگین وزن ($23/15 \pm 2$ گرم) صورت گرفت. آب مورد نیاز از سد شهید رجایی در بالا دست کارگاه قرار داشت تأمین شد. آزمایش در طول دوره ۹۰ روز با ۳ سطح سلنومتیونین ($2, 4, 8$ میلی‌گرم) و ۳ سطح سلنیت ($2, 4, 8$ میلی‌گرم) روی ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان انجام گرفت. در این تحقیق از ۲۱ عدد مخزن مدور فایبرگلاس هر کدام به حجم ۳۰۰ لیتر استفاده گردید. تعداد ۳۰ عدد ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان (با میانگین وزنی $23/15 \pm 2$ گرم) درون مخازن توزیع و ۳ بار در روز (ساعت‌های ۸:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۶:۰۰) به طور دستی تغذیه شدند. میانگین دمای آب $14 \pm 0/2$ درجه سانتی‌گراد، میانگین پی‌اچ $7/6 \pm 0/4$ و میانگین غلظت اکسیژن محلول در آب $8/3 \pm 0/3$ میلی‌گرم در لیتر بود. ترکیبات اصلی جیره‌های غذایی شامل رطوبت، چربی و پروتئین بر اساس روش استاندارد مورد آنالیز قرار گرفت همچنین میزان انرژی جیره‌ها نیز ($10 \times$ مجموع انرژی حاصل از هر گرم پروتئین + کربوهیدرات + چربی = انرژی قابل هضم) مورد محاسبه قرار گرفت. برای اندازه‌گیری میزان رطوبت جیره غذایی از آن ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، برای اندازه‌گیری پروتئین از روش کلدال و برای اندازه‌گیری میزان چربی از روش سوکسله استفاده گردید (Zhou et al., 2009).

برای تهیه رژیم‌های غذایی برای تیمارهای مختلف ابتدا غلظت مناسبی از روغن نباتی (میزان ۳ تا ۴ درصد وزن غذا) که در مقیاس آزمایشگاهی بررسی و تعیین شده بود، تهیه گردید. سلنیوم با ۳ سطح سلنومتیونین ($2, 4, 8$ میلی‌گرم) و ۳ سطح سلنیت ($2, 4, 8$ میلی‌گرم) به محلول روغن اضافه شده و برای جبران افتی که وجود داشت (هنگام تهیه محلول، باقی ماندن در ته ظرف و اسپری کردن) یک درصد سلنیوم به هر تیمار اضافه شد و سپس با غذا (غذای بچه ماهیان قزل‌الای FFT2 شرکت چینه) مخلوط، بعد از خشک شدن به ماهیان داده شد (Lin & Shian., 2006).

جدول ۱- تجزیه ترکیبی غذایی بچه ماهی قزل‌الای FFT2

مواد	درصد
پروتئین خام	40 ± 1
چربی خام	11 ± 1
خاکستر	$10 \pm 0/5$
فیبر	< 4
رطوبت	۱۱-۱۰
کربوهیدرات	۲۴
فسفر	$1/2 \pm 0/1$
انرژی قابل هضم (Kcal/kg)	3550 ± 100
TVN (mg/100gr)	< 50
اندازه غذا به میلی‌متر	۳/۵
شکل فیزیکی خوراک	دان

جمعاً ۶۳۰ عدد ماهی قرل آلائی رنگین کمان با میانگین وزن ($23/15 \pm 2$ گرم) در ۲۱ مخزن و در هر مخزن ۳۰ بچه ماهی رها گردید. جهت سازگاری با جیره های آزمایشی، نمونه ها به مدت ۷ روز غذادهی شدند. سپس آن ها با ۷ جیره آزمایشی و ۳ تکرار طی ۹۰ روز، ۳ بار در روز (ساعت های ۸:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۶:۰۰) تغذیه شدند. برای آگاهی از کارایی جیره ها بر رشد وزنی بچه ماهیان، هر ۱۲ روز یکبار، اقدام به زیست سنجی گردید. در زیست سنجی کل ماهیان صید و وزن آنها اندازه گیری شد. غذای مورد نیاز روزانه در مقاطع مختلف با توجه به وزن توده زنده آنها در هر زیست سنجی محاسبه و در اختیار ماهی بر مبنای ۳ درصد وزن بدن قرار گرفت و به صورت دستی انجام و غذا در تمام سطح مخزن یکنواخت توزیع گردید (Rider et al., 2009).

در پایان دوره پرورش، پس از ۲۴ ساعت از قطع تغذیه و اطمینان از دفع کامل محتویات لوله گوارشی، به طور تصادفی ۳ عدد ماهی از هر مخزن انتخاب و در محلول گل میخک (با غلظت ۰/۵ سی سی در لیتر) بیهوش شدند. نمونه های خون از سیاهرگ دمی گرفته و به لوله های محتوی sodium EDTA (بعنوان ماده ضد انعقاد) وارد شدند، آن ها فوراً به آزمایشگاه منتقل و مورد سانتریفیوژ قرار گرفتند. سرم ها قبل از آنالیز های خونشناسی به مدت ۱۲ ساعت در فریزر نگهداری شدند. در پایان هر مرحله نمونه برداری مقادیر غذای داده شده مطابق وزن ماهی هر مخزن مدیریت شد و در مرحله آخر نمونه برداری اندازه گیری وزن بچه ماهیان، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و درصد بازماندگی مطابق فرمول های زیر محاسبه شد (Zhou et al., 2009). برای ارزیابی رشد وزنی بچه ماهی ها هر ۱۲ روز یک بار، وزن آنها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری گردید.

$100 \times \text{تعداد روزهای غذا داده شده} / (\text{وزن اولیه Ln} - \text{وزن نهایی Ln})$: ضریب رشد ویژه

وزن اضافه شده / غذای مصرفی : ضریب تبدیل غذایی

$100 \times (\text{تعداد اولیه ماهی} / \text{تعداد نهایی ماهی})$: درصد بازماندگی

پس از همگن کردن خون، با محلول رقیق کننده گلبول قرمز (ریس) رقیق شد. یک قطره خون بین لام سنگی و لام هموستیو ریخته شد. گلبول قرمز را در ۵ خانه از ۲۵ خانه مربوط به شمارش گلبول های قرمز را مورد شمارش قرار گرفت و سپس مجموع گلبول های قرمز شمارش شده در ۵ خانه را در عدد ۱۰/۰۰۰ ضرب شد تا تعداد گلبول قرمز در یک میلی متر مکعب خون محاسبه گردد. برای شمارش گلبول های سفید خون با محلول ریس رقیق گردید سپس یک قطره از محلول را بین لام سنگی و لام هموستیو ریخته شد، گلبول های سفید در ۴ مربع ۱۶ تایی مربوط به گلبول های سفید شمارش شد و مجموع گلبول های سفید شمارش شده در عدد ۵۰ ضرب شد. پس از همگن کردن خون، دو سوم میکروپیپت هماتوکریت از خون پر شد و انتهای آن با خمیر مسدود گردید و با سانتریفیوژ هماتوکریت با دور ۱۰۵۰۰ بار در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سپس با خط کش مخصوص بر حسب درصد هماتوکریت آن ثبت گردید. برای اندازه گیری هموگلوبین ۰/۰۲ سی سی خون را با پیپت سالی کشیده و با ۵ سی سی محلول درابکین رقیق کرده و بمدت ۱۰ دقیقه گذاشته شد تا گلبول های قرمز بوسیله این محلول لیز و هموگلوبین آزاد گردد. سپس با استفاده اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۴۰ نانومتر جذب نوری و استاندارد را در مقابل درابکین خوانده و بر حسب گرم در دسی لیتر قرائت و ثبت گردید. برای شمارش انواع گلبول های سفید، پس از تهیه گسترش از خون با روش گیمسا گستره تهیه شده از خون پس از فیکس کردن با متانل رنگ آمیزی گردید و پس از خشک کردن با عدسی ۱۰۰، صد عدد گلبول سفید به تفکیک، شمارش و بر حسب درصد گزارش شد (طبرستانی، ۱۳۷۸). شاخص های مربوط به گلبول های قرمز خون کمک می کنند به شناسایی دلایل آنمی و شرایطی که تعداد گلبول های قرمز خون کم می باشند. شاخص های

مربوط به گلبول های قرمز خون (MCV یا حجم متوسط گلبول قرمز، MCH یا غلظت متوسط همو گلوبین و MCHC یا درصد متوسط همو گلوبینی در یک گلبول) براساس هموگلوبین، هماتوکریت و شمارش تعداد گلبول قرمز خون مطابق فرمول های زیر محاسبه شد (Walker HK et al., 1990):

حجم متوسط گلبول قرمز (میکرو متر مربع):

{حجم سلول بسته بندیشده/۱۰۰۰ میلی لیتر خون} / {تعداد سلول قرمز خون در میلیون/میلی لیتر}

غلظت متوسط همو گلوبین (پیکوگرم بر سلول) :

{هموگلوبین در خون/۱۰۰۰ میلی لیتر خون} / {تعداد سلول قرمز خون در میلیون/میلی لیتر}

درصد متوسط همو گلوبینی در یک گلبول (گرم بر دسی لیتر):

{هموگلوبین در خون/۱۰۰۰ میلی لیتر خون × ۱۰۰} / {حجم سلول بسته بندیشده/۱۰۰۰ میلی لیتر خون}

داده های بدست آمده به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) توسط آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۹۵ درصد ($\alpha=0/05$) با استفاده از نرم افزار SPSS با یکدیگر مقایسه گردیدند.

نتایج

نتایج حاصل از تغذیه بچه ماهیان با تیمارهای مختلف غذایی بر شاخص های رشد شامل ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و درصد بازماندگی بچه ماهیان قزل آلا مورد تغذیه با سطوح سلنیوم آلی و معدنی در جدول (۲) ارائه شده است. ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی با افزایش سطح سلنیوم آلی و معدنی اختلاف معنی داری نشان نداد ($P > 0/05$). بیشترین ضریب رشد ویژه ($1/26 \pm 0/02$) در تیمار ۸ میلی گرم سلنیت و بیشترین ضریب تبدیل غذایی ($1/65 \pm 0/26$) در تیمار صفر میلی گرم سلنیوم بدست آمده بود. کمترین ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی بدست آمده به ترتیب در تیمار صفر میلی گرم سلنیوم ($1/07 \pm 0/17$) و تیمار ۸ میلی گرم سلنیت ($1/28 \pm 0/01$) می باشد. در بررسی شاخص اضافه وزن در سطوح سلنیوم نشان داد که افزایش سطح سلنیوم آلی، باعث بهبود رشد وزنی گردیده و به طور معنی داری افزایش یافته است ($P < 0/05$). در کل تیمارها بهترین عملکرد رشد مربوط به تیمار ۸ میلی گرم سلنومیتونین ($464 \pm 60/20$) و ضعیف ترین رشد مربوط به تیمار صفر میلی گرم سلنیوم ($390 \pm 36/53$) می باشد. تفاوت معنی داری در میزان مرگ و میر در تیمارهای مختلف مشاهده نشد. در بررسی شاخص های رشد در این مطالعه ضعیف ترین نتایج مربوط به تیمار صفر میلی گرم سلنیوم مشاهده شد.

جدول ۲- فاکتورهای رشد بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان تغذیه شده با سطوح سلنیوم آلی و معدنی در دوره پرورش ۹۰ روز

سلنیوم (میلی گرم)	اضافه وزن (گرم)	ضریب رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی	درصد بازماندگی
۰	$390 \pm 36/53^b$	$1/07 \pm 0/17^b$	$1/65 \pm 0/26^b$	$100/0 \pm 0/0^b$
۸ آلی	$464 \pm 60/20^a$	$1/25 \pm 0/29^b$	$1/25 \pm 0/39^b$	$100/0 \pm 0/0^b$
۴ آلی	$432/33 \pm 42/55^b$	$1/24 \pm 0/11^b$	$1/30 \pm 0/13^b$	$100/0 \pm 0/0^b$
۲ آلی	$413/22 \pm 50/61^b$	$1/10 \pm 0/05^b$	$1/44 \pm 0/12^b$	$100/0 \pm 0/0^b$
۸ معدنی	$440/33 \pm 43/62^b$	$1/26 \pm 0/02^b$	$1/28 \pm 0/01^b$	$100/0 \pm 0/0^b$
۴ معدنی	$419/33 \pm 40/57^b$	$1/09 \pm 0/09^b$	$1/43 \pm 0/22^b$	$100/0 \pm 0/0^b$
۲ معدنی	$404 \pm 33/04^b$	$1/08 \pm 0/18^b$	$1/58 \pm 0/28^b$	$100/0 \pm 0/0^b$

مقادیر شاخص‌های اضافه وزن، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و درصد بازماندگی. میانگین ۳ تکرار با خطای معیار. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده ی تفاوت معنی دار می باشد ($P < 0/05$).

با توجه به داده‌های حاصل از تغذیه بچه ماهیان با تیمارهای مختلف غذایی روی فاکتورهای خونشناسی و نتایج حاصل از آزمون دانکن، به خوبی مشخص شد که شمار گلبول قرمز به ترتیب در تیمارهای ۴ میلی گرم سلنیوم آلی ($1/11 \pm 0/14$) و ۸ میلی گرم سلنیوم معدنی ($1/11 \pm 0/09$) و همچنین شمار گلبول سفید در تیمار ۲ میلی گرم سلنیوم آلی ($12266/67 \pm 6885/73$) کاهش معنی داری وجود داشت ($P < 0/05$). بیشترین شمار گلبول قرمز و شمار گلبول سفید بدست آمده در تیمار صفر میلی گرم سلنیوم به ترتیب ($1/41 \pm 0/06$) و ($27250 \pm 7424/62$) می باشد. مشخص شد که فاکتورهای هماتوکریت و هموگلوبین با افزایش سطح سلنیوم آلی و معدنی اختلاف معنی داری نشان نداد ($P > 0/05$). شمار گلبول قرمز، شمار گلبول سفید، هموگلوبین و هماتوکریت در جدول (۳) گزارش شده است.

جدول ۳- فاکتورهای شمار گلبول قرمز (RBC)، شمار گلبول سفید (WBC)، هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (Hct) بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان تغذیه شده با سطوح سلنیوم آلی و معدنی در دوره پرورش ۹۰ روز

Hct (درصد)	Hb (گرم بر دسی لیتر)	WBC (میکرو لیتر)	RBCs $\times 10^6$ (میکرو لیتر)	سلنیوم (میلی گرم)
$29 \pm 1/41^b$	$8/55 \pm 0/63^b$	$27250 \pm 7424/62^b$	$1/41 \pm 0/06^b$.
$25/33 \pm 2/51^b$	$7/26 \pm 0/8^b$	$18666/67 \pm 2929/73^b$	$1/15 \pm 0/17^b$	۸ آلی
$24/66 \pm 1/52^b$	$7/16 \pm 0/49^b$	$15500 \pm 5634/71^b$	$1/11 \pm 0/14^a$	۴ آلی
$27/66 \pm 2/51^b$	$8/1 \pm 1^b$	$12266/67 \pm 6885/73^a$	$1/23 \pm 0/18^b$	۲ آلی
$24/66 \pm 2/51^b$	$7/03 \pm 0/7^b$	$22000 \pm 10392/30^b$	$1/11 \pm 0/09^a$	۸ معدنی
$26/66 \pm 1/15^b$	$7/66 \pm 0/46^b$	$17900 \pm 655/74^b$	$1/31 \pm 0/07^b$	۴ معدنی
$26/66 \pm 3/05^b$	$7/7 \pm 1/01^b$	$23000 \pm 6062/17^b$	$1/25 \pm 0/15^b$	۲ معدنی

مقادیر شمار گلبول قرمز (RBC)، شمار گلبول سفید (WBC)، هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (Hct). میانگین ۳ تکرار با خطای معیار. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده ی تفاوت معنی دار می باشد ($P < 0/05$). در کل تیمارها تفاوت معنی داری در شمار افتراقی گلبول‌های سفید مشاهده نشد ($P > 0/05$). نتایج حاصل از شمار افتراقی گلبول‌های سفید در جدول (۴) گزارش شده است.

جدول ۴- شمار افتراقی گلبول های سفید بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان تغذیه شده با سطوح سلنیوم آلی و معدنی در دوره پرورش ۹۰ روز

سلنیوم (میلی گرم)	لنفوسیت (درصد)	نوتروفیل بالغ (درصد)	نوتروفیل نا بالغ (درصد)	مونوسیت (درصد)
.	۹۲±۹/۱ ^a	۲/۳۳±۲/۳ ^a	۶±۴/۳۵ ^a	۱/۳۳±۰/۵۷ ^a
۸ آلی	۸۲±۳/۴ ^a	۴±۱ ^a	۵/۳۳±۰/۵۷ ^a	۰/۶۶±۰/۵۷ ^a
۴ آلی	۸۸±۱۳/۸ ^a	۴/۳۳±۴/۰۴ ^a	۴/۶۶±۱/۵۲ ^a	۰/۶۶±۰/۵۷ ^a
۲ آلی	۹۰±۶ ^a	۴/۶۶±۲/۰۸ ^a	۵±۳/۶ ^a	۰/۳۳±۰/۵۷ ^a
۸معدنی	۸۶/۳۳±۱۵/۴ ^a	۴±۰/۰ ^a	۱۳/۳۳±۱۵/۲۷ ^a	۰/۳۳±۰/۵۷ ^a
۴معدنی	۸۲±۳/۴۶ ^a	۴±۱/۷۳ ^a	۱۴±۱۱/۱۳ ^a	۰/۶۶±۰/۵۷ ^a
۲معدنی	۹۹/۶۶±۹/۰۷ ^a	۱/۶±۰/۵۷ ^a	۷/۶۶±۶/۰۲ ^a	۱/۳۳±۰/۵۷ ^a

مقادیر شمار افتراقی گلبول های سفید. میانگین ۳ تکرار با خطای معیار. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشد (P < ۰/۰۵).

تفاوت معنی داری در شاخص های مربوط به گلبول های قرمز خون در تیمارهای مختلف مشاهده نشد (P > ۰/۰۵). نتایج حاصل از شاخص های مربوط به گلبول های قرمز خون در جدول (۵) گزارش شده است.

جدول ۵- فاکتورهای MCH، MCV و MCHC بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان تغذیه شده با سطوح سلنیوم آلی و معدنی در دوره پرورش ۹۰ روز

سلنیوم (میلی گرم)	MCV (میکرو متر مربع)	MCH (پیکوگرم بر سلول)	MCHC (گرم بر دسی لیتر)
.	۲۰۵/۳۷±۱۹/۲۳ ^a	۶۰/۵۸±۲/۷ ^a	۲۹/۴۶±۰/۷۵ ^a
۸ آلی	۲۲۱/۳۱±۱۰/۷ ^a	۶۳/۴۱±۲/۶۳ ^a	۲۸/۶۶±۰/۳۵ ^a
۴ آلی	۲۲۳/۶۹±۱۶/۶۵ ^a	۶۴/۹۵±۴/۴۹ ^a	۲۹/۰۴±۰/۴۸ ^a
۲ آلی	۲۲۵/۱۸±۱۷/۴۳ ^a	۶۵/۷۱±۳/۶۷ ^a	۲۹/۲۲±۰/۹۹ ^a
۸معدنی	۲۲۱/۸۳±۲۷/۴ ^a	۶۳/۲۴±۷/۵ ^a	۲۸/۵۱±۰/۱۱ ^a
۴معدنی	۲۰۳/۶۹±۳/۲۹ ^a	۵۸/۵۲±۰/۲۳ ^a	۲۸/۷۳±۰/۴۷ ^a
۲معدنی	۲۱۲/۶۸±۱۱/۴۳ ^a	۶۱/۳۲±۳/۱۴ ^a	۲۸/۸۳±۰/۵۰ ^a

مقادیر MCH، MCV و MCHC. میانگین ۳ تکرار با خطای معیار. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشد (P < ۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه، سلیوم بر ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی (FCR و SGR) بچه ماهیان (وزن اولیه با میانگین $23/15 \pm 2$ گرم و متوسط وزن پایانی 423 ± 1 گرم) اثر معنی داری نداشت ($P > 0/05$). این نتیجه با نتایج بدست آمده روی ماهی کپور زرد توسط (Zhou et al., 2009) و ماهی قزل آلا رنگین کمان (متوسط وزن ابتدائی $26/3 \pm 2/8$ گرم و متوسط وزن پایانی 117 ± 6 گرم) توسط (Rider et al., 2009) مطابقت داشت در مقابل طبق نتایج بدست آمده میل به افزایش ضریب رشد ویژه (SGR) و کاهش ضریب تبدیل غذایی (FCR) در رژیم غذایی غنی شده با سلیوم نسبت به رژیم شاهد مشاهده شد که به طور ویژه بیشترین ضریب رشد ویژه ($1/26 \pm 0/02$) در تیمار ۸ میلی گرم سلیت و بیشترین ضریب تبدیل غذایی ($1/65 \pm 0/26$) در تیمار صفر میلی گرم سلیوم بدست آمده بود. کمترین ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی بدست آمده به ترتیب در تیمار صفر میلی گرم سلیوم ($1/07 \pm 0/17$) و تیمار ۸ میلی گرم سلیت ($1/28 \pm 0/01$) می باشد (جدول ۲). در زمان بیومتری نهایی درصد، بقاء با شمارش نمونه های هر مخزن سنجیده شد. طی این مطالعه مرگ و میر در تیمارهای مختلف وجود نداشت، نتایج مشابهی روی گربه ماهی کانالی توسط (Wang & Lovello., 1996) و ماهی کپور زرد توسط (Zhua et al., 2009) مشاهده شد. رژیم غذایی مورد نیاز قزل آلا رنگین کمان برای رشد وزنی در این مطالعه ۸ میلی گرم سلنومیتونین ($464 \pm 60/20$) (جدول ۲) در هر کیلوگرم غذا تعیین شد که با نتایج بدست آمده دیگر قابل مقایسه می باشد تیلا پیا $4/6$ میلی گرم سلیوم (Ahmad et al., 2006) گربه ماهی کانالی $0/25$ میلی گرم سلیوم (Gatlin & Wilson., 1984)، قزل آلا رنگین کمان $0/38$ میلی گرم (Hilton et al., 1980)، ماهی هامور $0/77$ میلی گرم (Lin & Shiav, 2005) و کپور زرد $0/5$ میلی گرم سلیوم (Zhou et al., 2009). بطور واضح نشان داده شد که مکمل سلیوم در رژیم غذایی می تواند افزایش وزن را بهبود بخشد. کمبود سلیوم به حد زیادی در کاهش رشد اثر داشت. در صنایع غذایی تجاری حیوانات میل به کاهش میزان مکمل سلیوم به دلیل نگرانی های زیست محیطی و نیز از جنبه اقتصادی وجود دارد. در ماهی قزل آلا امکان دسترسی زیستی به سلیوم آلی بیشتر از سلیوم معدنی است. میزان مجاز سلیوم جیره و همچنین میزان سلیومی که قرار است وارد سیستم پرورشی شود، از طریق تعیین دقیق میزان نیاز ماهی قزل آلا و جا به جا کردن منبع سلیوم می تواند کاهش یابد. در مطالعات انجام شده روی حیوانات، ثابت گردیده است که دسترسی زیستی فرم آلی سلیوم نسبت به فرم معدنی آن بیشتر است (Levander., 1983; Smith & Picciano., 1987) همچنین در مطالعات انسانی هم مشاهده شد (Favier, 1993; Thamsom & Robinson., 1993). بر اساس مطالعه Lorentzen و همکاران (1994) ماهی آزاد اقیانوس اطلس را با فرم های سلیت و سلنومیتونین به میزان ۱ و ۲ میلی گرم در کیلوگرم غذا دهی کرد اما هیچ تفاوتی در اضافه وزن ماهی مشاهده نکرد. در این مطالعه ماهی قزل آلا غذا دهی شده با سلیوم آلی رشد بهتری در مقایسه با سلیوم معدنی نشان داد. یکی از دلایل دسترسی زیستی بیشتر به سلیوم آلی در قزل آلا، تسهیل و کمک در جذب می باشد. یک مطالعه آزمایشگاهی توسط Paripatananont و lovel در سال ۱۹۹۷ روی گربه ماهی کانالی نشان داد که شبکه جذب سلنومیتونین در مقایسه با سلیت در رژیم purified egg – white – based ($90/8$ در برابر $62/8$ درصد) و در رژیم غذایی با دانه سویا ($88/9$ در برابر $69/7$ درصد) مشاهده شد. این نتیجه به طور کامل چرا سلیوم آلی دسترسی زیستی بیشتری دارد را توضیح نمی دهد، اما شبکه جذب سلنومیتونین 140 درصد سلیت می باشد، در حالی که دسترسی زیستی آن 336 درصد سلیت بود (Wang & Lovello, 1996). اتم سلیوم آلی می تواند جذب شده و انتقال پیدا کرده بطور سالم و دست نخورده به بافت هدف و بیشتر در دسترس فرآیند های متابولیک نسبت به سلیوم معدنی باشد (Ashmead, 1992) ظاهراً فاکتور های دیگری در کنار شبکه جذب مسئول دسترسی زیستی بالا تر فرم آلی عناصر کمیاب در مقایسه با فرم معدنی

می باشد. نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر نشان داد که در قزل آلاهی رنگین کمان امکان دسترسی بیشتری به سلیوم آلی نسبت به شکل معدنی می باشد. میزان سلیوم مصرفی ماهی قزل آلا با استفاده از منابع آلی سلیوم به جای منابع معدنی آن، می تواند تا نصف کاهش یابد. این وضعیت برای محیط زیست مناسب تر خواهد بود چون میزان سلیوم کمتری وارد سیستم های پرورشی خواهد شد. آنالیز فاکتورهای خونی میتواند یک رشته اطلاعات حیاتی در مورد بیماری ها و مدیریت آلودگی های انفرادی و یا ارزیابی سلامت ماهی فراهم آورد (Cnaani *et al.*, 1996 ; Pincus, 2004) (Rehvilka *et al.*, 2004). در این مطالعه کاهش مقادیر گلبول سفید در تیمار ۲ میلی گرم سلیوم آلی اختلاف آماری معنی داری وجود داشت ($P > 0.05$). بر اساس مطالعه Lemly در سال ۲۰۰۲ نشان داد مقادیر گلبول سفید در خورشید ماهی در مواجهه با آب های آلوده به سلیوم افزایش می یابد. کاهش مقادیر گلبول سفید در تیمارهای تغذیه شده با سلیوم می تواند در نتیجه افزایش تراکم سلیوم در بافت کلیه باشد (Rider *et al.*, 2008). همچنین در مطالعه ای که روی گونه های خشکی زی صورت گرفته، نشان داد که مقادیر بالای سلیوم در جیره غذایی باعث کاهش مقادیر گلبول سفید شده است (Rampal *et al.*, 2008). Abdel-Tawwab و همکاران (2007) گزارش دادند که در گربه ماهی کانالی آفریقایی افزایش مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت، مقادیر گلبول قرمز، گلوکز، مجموع لیپید و مجموع پروتئین با افزایش سطوح سلیوم آلی به مقدار ۰/۳ و ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن غذا در رژیم غذایی ماهی می تواند بدون تفاوت معنی داری بین آنها باعث بالا بردن سطح سلامت ماهی شود. از طرفی بررسی پارامترهای بیوشیمیایی صورت گرفته بر روی ماهی قزل آلاهی رنگین کمان، هیچ تفاوت معنی داری بر روی کلسیم پلاسما، گلوکز پلاسما، پروتئین پلاسما، هماتوکریت و هموگلوبین در تیمارهای غذادهی شده با سلیوم مشاهده نشد (Hilton & Hodson, 1983). Sopjani و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که سلیت باعث افزایش اریپتوسیس (کاهش گلبول قرمز) می شود، که این اثر در این مطالعه نیز به خوبی مشخص شد، شمار گلبول های قرمز در تیمارهای ۴ میلی گرم سلیوم آلی و ۸ میلی گرم سلیوم معدنی کاهش معنی داری داشت ($P > 0.05$). افزایش در مقادیر فاکتورهای فوق به علت افزایش سلیوم می تواند به علت بالا بردن سلامت و ایمنی بدن باشد (Abdel-Tawwab *et al.*, 2007). سلیوم اضافه شده به رژیم غذایی در این مطالعه اثر معنی داری روی درصد هماتوکریت نداشت اما تمایل به کاهش هماتوکریت با افزایش مقادیر سلیوم بدست آمد ($P < 0.05$). در مطالعه ای Lemly در سال ۲۰۰۲ نشان داد که قرار گرفتن خورشید ماهی در آب های آلوده به سلیوم باعث کاهش هماتوکریت ماهی شد و این کاهش را در ارتباط با اثر سمی زیر حد کشنده سلیوم آلی و معدنی دانست. نتایج مشابهی در ماهی قزل آلا رنگین کمان مشاهده شد (Rider *et al.*, 2009). در این مطالعه هیچ اثر معنی داری روی میزان هموگلوبین و شمار افتراقی گلبول های سفید ماهی قزل آلاهی رنگین کمان مشاهده نشد ($P < 0.05$).

تشکر و قدردانی

بر خود لازم می دانیم از تمامی مسئولین و کارمندان محترم مراکز مختلف (موسسه اکولوژی ماهیان دریای خزر و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی) که در مراحل اجرای کار نویسندگان را یاری نمودند، سپاسگزاری می گردد.

منابع

- طبرستانی، م. ۱۳۷۸. خون شناسی پزشکی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ایران.
- Walker, H.K., Hall, W.D., Hurst, J.W.. 1990. The History, physical, and laboratory examinations. 3rd edition., Clinical Methods. Boston, USA.
- Abdel-Tawwab, M., Mousa, M.A.A., Ahmad, M.H. & Sakr, S.F. 2007. The use of calcium pre-exposure as a protective agent against environmental copper toxicity for juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 264 (1-4): 236–246.
- Ahmad, M.H., El-Marakby, H.I., Seden, M.E.A., Abdel-Tawwab, M. & Abou-El-Atta, M.E., 2006. The use of organic selenium (Sel-Plex[®]) in practical diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.): effect on growth performance, feed utilization, whole-body composition and entropathogenic *Aeromonas Hydrophila*-challenge. In: Contreras, W., Fitzsimmons, K. (Eds.), 7th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 6–8 September 2006. Bocadel Rio, Veracruz, Mexico.
- Ashmead, H.D. 1992. The roles of amino acid chelates in animal nutrition. Noyes Publication. New Jersey.
- Beckett, G.J. & Arthur, J.R. 2005. Selenium and endocrine systems. *J. Endocrinol.* 184: 455–465.
- Bell, J.G. & Cowey, C.B. 1989. Digestibility and bioavailability of dietary selenium from fishmeal, selenite, selenomethionine and selenocystine in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 81: 61–68.
- Brown, K.M. & Arthur, J.R. 2001. Selenium, selenoproteins and human health: a review *Public Health Nutr.*, 4 (2B): 593–599.
- Burk, R.F. & Hill, K.E. 1993. Regulation of selenoproteins. *Annual Review of Nutrition*, 13: 65–81.
- Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M. & Hulata, G. 2004. Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*,
- Downs, K.M., Hess, J.B. & Bilgili, S.F. 2000. Selenium source effect on broiler carcass characteristics, meat quality and drip loss. *Journal of Applied Animal Research*, 18: 61–72.
- Favier, A.E. 1993. Nutritional and clinical factors affecting the bioavailability of trace elements in humans. In: Schlemmer, U. (Ed.), *Bioavailability '93*. Ettlingen, Germany.
- Foster, L.H. & Sumar, S. 1995. Selenium in the environment, food and health. *Nutrition & Food Science*, 5: 17–23.
- Forster, I., Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., Rowshandeli, M. & Parr, J. 1999. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 110C fresh water. *Aquaculture*, 179:109-125.

- Gatellier, P., Mercier, Y. & Renerre, M. 2004. Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Science*, 67: 385–394.
- Gatlin, D.M. & Wilson, R.P. 1984. Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. *Journal of Nutrition*, 114: 627–633.
- Gibson, R.S. 1990. Principles of nutritional assessment. Oxford University Press. New York.
- Hilton, J.W., Hodson, P.V. & Slinger, S.J. 1980. The requirement and toxicity of selenium in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Nutrition*, 110: 2527–2535.
- Hilton, J.W., Hodson, P.V. & Slinger, S.J. 1982. Absorption, distribution, half-life and possible routes of elimination of dietary selenium in juvenile Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology — part C*, 71: 49–55.
- Hodson, P.V. & Hilton, J.W. 1983. The nutritional requirements and toxicity to fish of dietary and waterborne selenium. *Ecol. Bull.*, 35: 335–340.
- Lemly, D.A. 2002. Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: the Belews Lake case example. *Aquat. Toxicol.*, 57: 39–49.
- Levander, O.A. 1983. Considerations in the design of selenium bioavailability studies. *Federation Proceedings*, 1: 1721–1725.
- Lin, Y.H. & Shiau, S.Y. 2005. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture*, 250: 356–363.
- Lin, Y.H. & Shiau, S.Y. 2006. The effects of dietary selenium on the oxidative stress of grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed high copper. *Aquaculture*, 267 (2007): 38–43.
- Lorentzen, M., Maage, A. & Julshamn, K. 1994. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 21: 359–367.
- Mahan, D.C., Clone, T.R. & Richert, B. 1999. Effects of dietary levels of Se-enriched yeast and sodium selenite as Se source fed to growing-finishing pigs on performance, tissue glutathione peroxidase activity, carcass characteristics and loin quality. *Journal of Animal Science*, 77: 2172–2179.
- Paripatananont, T. & Lovell, R.T. 1997. Comparative net absorption of chelated and inorganic trace minerals in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) diets. *J. World Aquac. Soc.*, (in press).
- Pincus, M.R. 1996. Interpreting laboratory results: reference values and decision making, In: Henry, J.B. (Ed.), *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, Nineteenth edition. W.B. Saunders. Philadelphia, USA.
- Poston, H.A., Combs, G.F. & Leibovitz, L. 1976. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical signs. *Journal of Nutrition*, 106: 892–904.

- Rampal, S., Kumar, R., Randhawa, C.S. & Sood, N. 2008. Maturation arrest of neutrophils — a possible reason for the leucopenia in sodium selenite induced sub-chronic selenosis in cow calves. *Environ. Toxicol. Phar.*, 25: 39–42.
- Rayman, M.P. 2000. The importance of selenium to human health. *Lancet*, 356: 233–241.
- Řehulka, J., Minařík, B. & Řehulková, E. 2004. Red blood cell indices of Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in aquaculture. *Aquaculture Research*, 35: 529–546.
- Rider S. A., Simon, J. D. , Awadhesh, J. N., Andrew, A. F. , Knight, J. & Sweetman, J. W. 2009. Supra-nutritional dietary intake of selenite and selenium yeast in normal and stressed Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Implications on selenium status and health responses. *Aquaculture*, 295: 282-291.
- Rotruck, J.T., Pope, A.L. & Ganther, H.E. 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179:585–590.
- Smith, A.M. & Picciano, M.F. 1987. Relative bioavailability of selenocompounds in the lactating rat. *Journal of Nutrition*, 117: 725–731.
- Sopjani, M., Foller, M., Gulbins, E. & Lang, F. 2008. Suicidal death of erythrocytes due to selenium compounds. *Cell Physiol. Biochem.*, 22: 387–394.
- Thomson, C.D. & Robinson, M.F. 1993. Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) in blood components of New Zealand women. *British Journal of Nutrition*, 69:577–588.
- Wang, C. & Lovell, R.T. 1997. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for Channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 152: 223–234.
- Wang, H.L., Zhang, J.S. & Yu, H.Q. 2007. Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: comparison with selenomethionine in mice. *Free Radical Biology & Medicine*, 42: 1524–1533.
- Watanabe, T., Kiron, V. & Satoh, S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151: 185–207.
- Zhang, J.S., Wang, H.L., Yan, X.X. & Zhang, L.D. 2005. Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice. *Life Sciences*, 76: 1099–1109.
- Zhou, X., Wang, Y., Gu, Q. & Li, W. 2009. Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture*, in press