اثرات سلنیوم آلی و معدنی بر عوامل رشد، پارامترهای خونی و ایمنی‌شناسی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

کاوس نظری[۱]، مهدی شمسایی مهرجان[۱*]، نیما ایلا[۱]، عیسی شریف‌پور[۲]، ابوالقاسم کمالی[۱]

*m.shamsae@srbiau.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی (واحد علوم و تحقیقات)، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵/۷۷۵
۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۶

چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر سطوح مختلف سلنیوم آلی و معدنی بر نرخ رشد و بازماندگی، عوامل خونی و آسیب شناسی کبد بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان با جیره‌های آزمایشی حاوی سلنیوم، انجام گرفت. در این آزمایش ۹ جیره شامل سلنیوم آلی و معدنی با مقدار ۰ (شاهد)، ۰/۱۵ (تیمار ۱)، ۰/۳ (تیمار ۲)، ۰/۴۵ (تیمار ۳) و ۰/۶ (تیمار ۴) گرم بر کیلوگرم جیره غذایی ساخته شد و ماهیان به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. میانگین وزن اکتسابی در تیمار ۳ آلی (۱۸/۶±۲۱۴ گرم) نسبت به شاهد (۲۵±۱۵۴/۶ گرم) افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). میانگین نرخ رشد روزانه در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ آلی و تیمار ۲ معدنی (۰/۰۰۵±۰/۰۵) نسبت به شاهد (۰/۰۰۹±۰/۰۳) دارای اختلاف معنی‌دار بودند (P<۰/۰۵). مقدار IgM در تیمار ۱ آلی بالاترین مقدار (۱۱/۶±۵۵/۰۵ میلی گرم بر دسی لیتر) نسبت به شاهد (۶/۶±۴۶/۹ میلی گرم بر دسی لیتر) بود (P<۰/۰۵). فعالیت لیزوزیمی در تیمار ۳ آلی (۲۴/۵±۱۰۶۶/۷ واحد در گرم) نسبت به شاهد (۱۱±۸۳۸/۵ واحد در گرم) افزایش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵). بالاترین مقدار C3 در تیمار ۴ آلی (۲۸/۴±۳۴/۸ میلی گرم بر دسی لیتر) و بیشترین مقدار C4 در تیمار ۴ آلی (۷/۳±۳۱/۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بود (P<۰/۰۵). نتایج نشان دادند که افزودن سلنیوم آلی تا ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا، نسبت مناسبی از عوامل رشد، پاسخ‌های ایمنی و ویژگی‌های پاتولوژیک کبد ماهیان قزل‌آلا را بهمراه خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: سلنیوم، رشد، خون‌شناسی، آسیب شناسی، قزل آلای رنگین کمان

* نویسنده مسئول

مقدمه

امروزه به طور میانگین کمتر از ۱ درصد از انرژی، ۵ درصد از کل پروتئین و ۱۴ درصد از پروتئین حیوانی غذای مردم جهان را محصولات شیلاتی تأمین می‌کنند (هاشمی، ۱۳۷۵). طبیعتاً برای تداوم این رشد نیاز به تعداد بالایی بچه ماهی با کیفیت مناسب است (Cahue *et al.*, 2009). سلنیوم یکی از مواد کم نیاز برای حیوانات بوده که به عنوان کوفاکتور در ساختار آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نقش اساسی را در مهار اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد در سلول‌های بدن ایفاء می‌نماید (Pacitti *et al.*, 2013; Surai, 2000). سلنیوم بجز نقش خود در ارتباط با آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، در سیستم‌های آنزیمی دیگری همچون چرخه تنظیم انرژی، عمل اسپرماتوژنز، سنتز پروستاگلاندین‌ها، متابولیسم اسیدهای چرب ضروری، سنتز پایه پورین و پیریمیدین و سیستم‌های ایمنی حیوانات نقش دارد. ورود سلنیوم به ساختمان همگی این آنزیم‌ها از طریق ایجاد سلنوسیستئین و متیونین بوده و تجمع اشکال معدنی باقیمانده این عنصر می‌تواند در سلول‌های بدن سمی باشد (Misra *et al.*, 2009). از آنجایی که تحقیقات اندکی در زمینه تغذیه با سلنیوم آلی بر ماهیان صورت گرفته است، موجب شده است که استفاده از آن با احتیاط و در سطوح کمتری صورت گیرد. از سویی، مواد کمیاب در غلظت مناسب در جیره علاوه بر فوائد تغذیه‌ای، امکان ارتقاء عوامل ایمنی بر ماهیان پرورشی را فراهم می‌آورد (محمدی و رجبی‌اسلامی، ۱۳۹۵). هدف از بکارگیری این ماده معدنی به عنوان مکمل در فرمول غذایی ماهیان، ارتقاء عوامل ایمنی و افزایش رشد و نهایتاً صرفه اقتصادی است (محسنی و ستوده، ۱۳۹۳).

اداره امور دارو و غذای آمریکا در سال ۱۹۷۴، سلنیوم را به عنوان یک مکمل غذایی به صورت سلنیوم معدنی با فرم ابتدایی سلنیت سدیم پذیرفت و به عنوان افزودنی مجاز برای دام و طیور معرفی نمود (Frenette *et al.*, 1996). Küçükbay و همکارن (۲۰۰۹) نشان دادند که سلنیوم به فرم سلنومتیونین موثرتر از سلنیت سدیم و سبب بهبود شاخص‌های رشد و مقاومت در برابر استرس در بچه ماهیان قزل‌آلا می‌گردد.

این مطالعه با هدف بررسی اثرات سطوح مختلف سلنیوم با دو منبع آلی و معدنی در جیره غذایی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر برخی عوامل رشد، پارامترهای خونی و ایمنی‌شناسی انجام شد.

مواد و روش کار

این آزمایش در ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی واقع در پارک حفاظت شده خجیر انجام پذیرفت. تعداد ۴۰ عدد حوضچه بتونی (۱۰۰×۱۰۰×۱۰۰ سانتی متر) با گنجایش ۱۰۰۰ لیتر آب استفاده شد. مخازن با پرمنگنات پتاسیم به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر ضد عفونی شدند (زارعی، ۱۳۹۱). شایان ذکر است، ورود آب از چشمه به حوضچه‌ها با دو عدد پمپ برقی آب تعبیه شده در مدخل حوضچه‌ها تأمین گردید (دبی ۲۰ لیتر در ثانیه). برای ساخت غذا، ابتدا اقلام غذایی از شرکت چینه (تهران، ایران) خریداری گردیدند. سپس، تمامی مواد غذایی آنالیز و برای انجام جیره نویسی از طریق نرم افزار UFFDA فرموله گردیدند.

محاسبه پارامترهای رشد

رشد نرخ روزانه، ضریب تبدیل، نرخ رشد ویژه، افزایش وزن، شاخص وضعیت و نرخ بقاء ماهیان هر دو هفته یک بار پس از بیهوشی ماهیان با اسانس گل میخک (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بررسی شدند. برای محاسبه پارامترهای رشد از فرمول های ذیل استفاده گردید (Anderson and Silva, 2003):

$$\text{رشد نرخ روزانه } (DGR) = \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}}{\text{طول دوره آزمایش}}$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی } (FCR) = \frac{\text{غذای داده شده}}{\text{وزن اکتسابی}}$$

$$\text{نرخ رشد ویژه } (SGR) = \frac{(lnw2 - lnw1)}{T2 - T1} \times 100$$

$$\text{درصد افزایش وزن } (BWG) = \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه}}{\text{وزن اولیه}} \times 100$$

$$\text{شاخص وضعیت } (CF) = \frac{\text{طول کل}^{3}}{\text{وزن}}$$

$$\text{نرخ بقا } (SR) = \frac{\text{تعداد کل ماهی زنده}}{\text{کل ماهی ها}} \times 100$$

اندازه‌گیری پارامترهای خونی

بیهوشی در ماهیان توسط غوطه وری در اسانس گل میخک (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) انجام شد و خون‌گیری از طریق قطع ساقه دمی انجام شد (Wagner *et al.*, 2002). شاخص‌های ایمنی شامل IgM و فعالیت لیزوزیمی توسط نفلومتری و توربیدومتری بر اساس پراکندگی نور سنجش شدند (Thompson *et al.*, 1994). ارزیابی کمپلمان C3 با استفاده از کیت تجاری و دستگاه اتوآنالایزر بیوشیمیایی محاسبه گردید (Shahsavani *et al.*, 2010). میزان هماتوکریت خون با استفاده از روش میکروهماتوکریت و شمارش گلبول‌های قرمز و سفید با لام نئوبار بررسی شد.

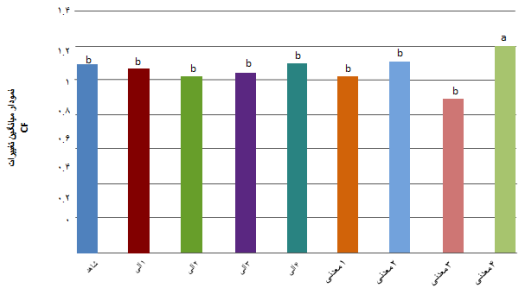
تجزیه و تحلیل داده‌ها

همه آزمایش‌ها با سه تکرار انجام گرفت و اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار گزارش شدند. بعد از تائید نرمال و یکنواختی واریانس، اطلاعات با کمک آنالیـــز واریانس یک طرفه (ANOVA) به کمک نرم افزار SPSS (ورژن ۲۴) انجـــام گردید. مقایسه میانگین‌ها به کمک آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج

پارامترهای رشد

نتایج حاصل از بررسی شاخص وضعیت (شکل۱) نشان می‌دهد که این شاخص در تیمار ۴ معدنی افزایش یافته است، اما اختلاف معنی‌داری در تمامی تیمارها در مقایسه

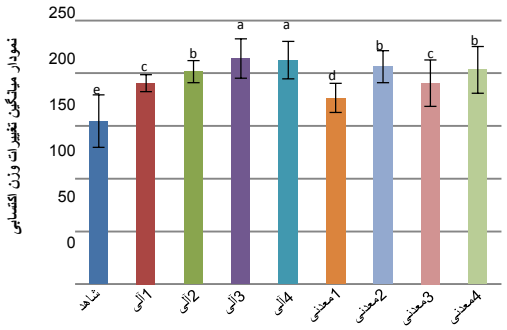


با گروه شاهد دیده نشد (P>۰/۰۵).

شکل ۱: مقایسه میانگین ضریب وضعیت ماهی های قزل آلا در نمونه شاهد و تیمارهای تغذیه شده با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی دار است (میانگین±انحراف معیار).

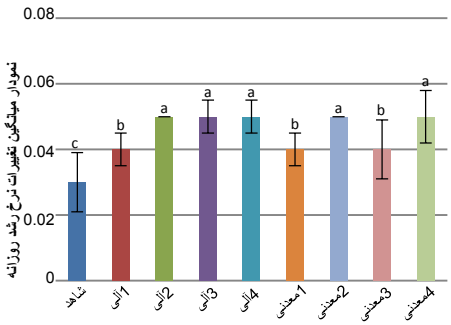
Figure 1: Comparsion of condition factor (CF) in rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).

بیشترین مقدار میانگین وزن اکتسابی در تیمار ۳ آلی (۱۸/۶±۲۱۴ گرم) و کمترین مقدار در نمونه شاهد (۲۵±۱۵۴/۶ گرم) بود که نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد است (P<۰/۰۵). میانگین و انحراف معیار وزن اکتسابی، نرخ رشد روزانه، ضریب تبدیل غذایی، درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در ماهی قزل آلای تغذیه شده با سلنیوم آلی و معدنی در پایان دوره پرورش ۶۰ روزه در شکل‌های ۲ الی ۴ نشان داده شده است. بیشترین مقدار نرخ رشد روزانه در تیمار ۲، ۳ و ۴ آلی و ۲ معدنی (۰/۰۰۵±۰/۰۵) و کمترین مقدار در نمونه شاهد (۰/۰۰۹±۰/۰۳) بود که نشان دهنده اختلاف معنی‌داری با شاهد (P<۰/۰۵) است.



شکل ۲: میانگین وزن اکتسابی در مدت ۶۰ روز آزمایش ماهی قزل آلای تغذیه شده با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار است (میانگین±انحراف معیار).

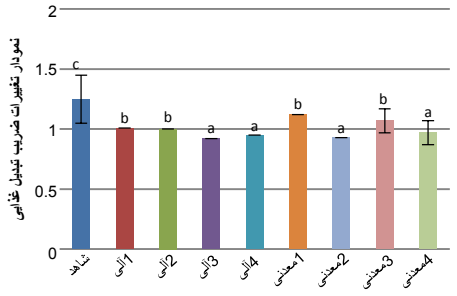
Figure 2: Average weight of rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups



شکل ۳: میانگین نرخ رشد روزانه در مدت ۶۰ روز آزمایش ماهی قزل آلای تغذیه شده با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار است (میانگین±انحراف معیار)

Figure 3: Daily growth ration of rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).

بیشترین ضریب تبدیل غذایی در نمونه شاهد (۱/۲۵±۰/۲) و کمترین مقدار در تیمار ۳ آلی (۰/۹۲±۰) بود که اختلاف معنی‌دار را نشان نمی‌داد (P> ۰/۰۵).

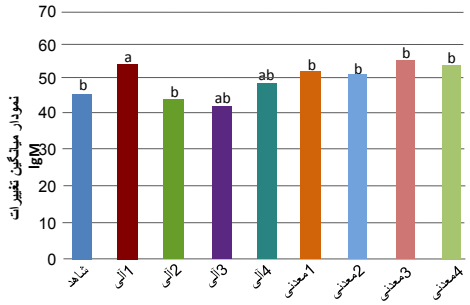


شکل ۴: میانگین ضریب تبدیل غذایی در مدت ۶۰ روز آزمایش ماهی قزل آلای تغذیه شده با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار است (میانگین±انحراف معیار).

Figure 4: FCR value in rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).

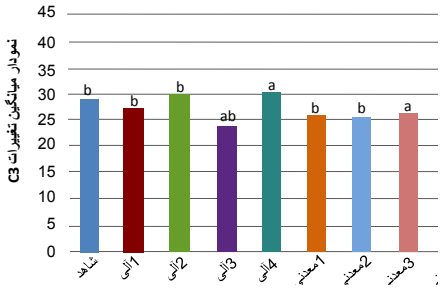
تغییرات شاخص‌های ایمنی

در تیمارهای معدنی ۳ و آلی ۳ و ۴ اختلاف معنی‌دار در تغییرات IgM و کمپلمان C3 وجود دارد ولی در معدنی ۴، ۲، ۱ و آلی ۳، ۲، ۱ و شاهد اختلاف معنی‌دار قابل مشاهده نیست (شکل های ۵ و ۶).



شکل ۵: میانگین تغییرات ایمنوگلوبولین M و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی طی ۶۰ روز تغذیه ماهی قزل آلا با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار است (میانگین±انحراف معیار).

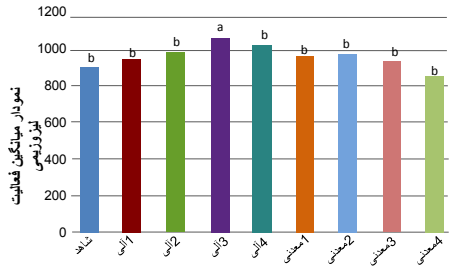
Figure 5: Average of IgM in rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).



شکل ۶: میانگین تغییرات کمپلمان C3 و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی طی ۶۰ روز تغذیه ماهی قزل آلا با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی دار است (میانگین±انحراف معیار).

Figure 6: Average of C3 component in rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).

میزان فعالیت لیزوزیمی در نمونه‌های تیمارهای آلی دارای سیر صعودی بود (شکل ۷)، بطوریکه فعالیت لیزوزیمی در تیمار ۳ آلی برابر ۲۴/۵±۱۰۶۶/۷ بود. بر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری بین ماهیان گروه شاهد و سایر تیمارها در این شاخص مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).

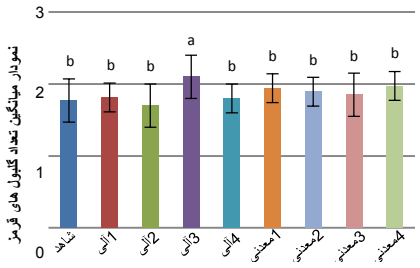


شکل ۷: میانگین تغییرات فعالیت لیزوزیمی و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی طی ۶۰ روز تغذیه ماهی قزل آلا با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی دار است (میانگین±انحراف معیار)

Figure 7: Average of lysosome activity in rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).

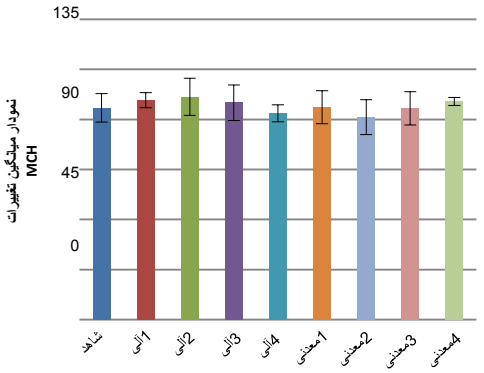
پارامترهای خونی

بیشترین تعدادگلبول قرمز در تیمار آلی ۳ مشاهده شد و در سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). شکل‌های ۸ الی ۱۲ نشان می‌دهند که تغییرات شاخص MCH، MCV و هماتوکریت در بین تیمارهای مورد آزمایش فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (P>۰/۰۵).



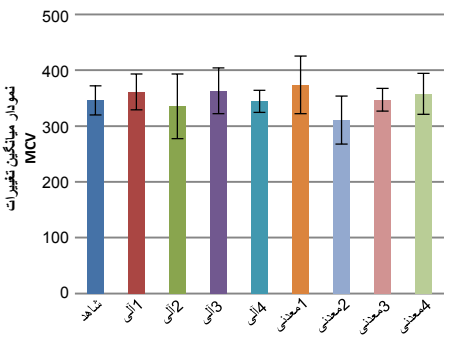
شکل ۸: میانگین تغییرات تعداد گلبول‌های قرمز و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی طی ۶۰ روز تغذیه ماهی قزل آلای با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی دار است (میانگین±انحراف معیار).

Figure 8: Average of RBC count in rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).



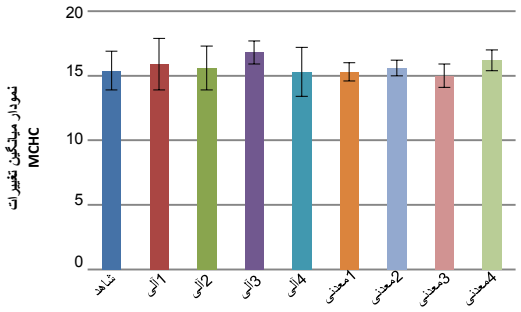
شکل ۹: میانگین تغییرات MCH و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه های شاهد و تیمارهای آزمایشی طی ۶۰ روز در ماهی قزل آلای تغذیه شده با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی دار است (میانگین±انحراف معیار).

Figure 9: Average of MCH value in rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).



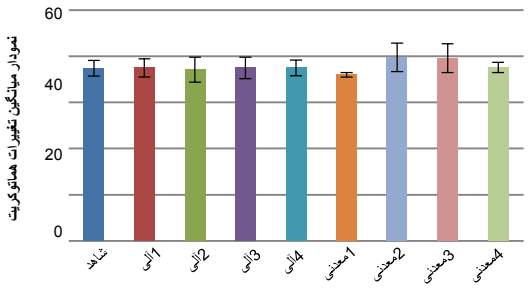
شکل ۱۰: میانگین تغییرات MCV و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی طی ۶۰ روز تغذیه ماهی قزل آلا با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی دار است (میانگین±انحراف معیار)

Figure 10: Average of MCV value in rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).



شکل ۱۱: میانگین تغییرات MCHC و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی طی ۶۰ روز تغذیه ماهی قزل آلا با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی دار است (میانگین±انحراف معیار)

Figure 11: Average of MCHCH value in rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).



شکل ۱۲: میانگین تغییرات هماتوکریت و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی طی ۶۰ روز تغذیه ماهی قزل آلای با سلنیوم آلی و معدنی. حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی دار است (میانگین±انحراف معیار)

Figure 12: Average of hematocrit value in rainbow trout fed with dietary different levels of organic and mineral selenium. Bars with different superscript letters are significantly different between the experimental groups (Mean±S.E) (p<0.05).

بحث

سلنیوم با افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز می‌تواند سبب تقویت سیستم آنتی اکسیدانی بدن شود (Hilton *et al*., 1980). این عنصر در دو شکل آلی و معدنی در غذای آبزیان استفاده می‌شود و از آنجایی که قابلیت استفاده ماهی از منابع آلی سلنیوم نسبت به منابع معدنی بیشتر است (Zhou *et al*., 2009)، شکلی از سلنیوم که امروزه استفاده از آن بیشتر مورد توجه قرار گرفته است، سلنیوم مخمری یا سلنیوم آلی می‌باشد. این عنصر با تقویت سیستم آنتی اکسیدانتی سلول‌ها موجب کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شود. البته باید توجه داشت که مقادیر بالای سلنیوم می‌تواند برای ماهی خطرناک باشد. در مطالعات انجام شده، مشخص شده است که میزان ۱ میلی‌گرم مناسب و مقدار ۱-۱۳ میلی‌گرم سلنیوم در غذا برای ماهی قزل‌آلا سمی می‌باشد و ماهیان برای طولانی مدت نمی‌توانند غلظت بیشتر از ۳ میلی گرم را در غذا تحمل کنند (Hilton *et al*., 1980). پرورش ماهی در سیستم‌های متراکم و استفاده از غذای دستی، زمینه بروز و تشدید تنشهای محیطی و تغذیه‌ای را فراهم می‌کند که این شرایط سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد خواهد شد. بررسی اثر مکمل غذای حاوی ویتامین A توسط Thompson و همکاران (۱۹۹۵) نشان داد، افزایش سطوح ویتامین A در ماهی آزاد اقیانوس اطلس موجب افزایش فعالیت سیستم کمپلمان و فعالیت های لیزوزیمی می‌شود. به عبارت دیگر، سطوح بالای ویتامین A باعث افزایش فعالیت سرم آنتی پروتئاز شده و همچنین میزان فعالیت فاگوسیتوزی و ضد باکتریایی را افزایش می‌دهد. کاهش سطح کمپلمان پلاسما، ماهی‌ها را نسبت به ابتلا به عفونت باکتریایی مستعد می‌نماید (Thompson *et al*., 1994).

سیستم دفاعی بدن توسط آنزیم آنتی اکسیدانتی سوپر اکسید دیسموتاز، رادیکال سوپر اکسید (رادیکال آزاد اصلی تولید شده در سلولهای زنده) را با تشکیل پراکسید هیدروژن خنثی می‌کند. این محصول نیز برای سلول سمی است و باید بسرعت خارج شود Rayman *et al*., (2000). این مرحله مهم در دفاع آنتی اکسیدان بوسیله آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px) و کاتالاز انجام می‌شود. از اینرو، سلنیوم به عنوان یک ترکیبی از آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px)، یک عنصر دفاعی مهم در برابر این نوع آسیبها بشمار می‌آید. این عنصر جزء لاینفک آنزیم GSH-px بوده و نقش مهمی در فعال‌سازی آن ایفاء می‌کند (Lin and Shiau, 2005).

افزایش میزان ایمونوگلوبولین‌ها با افزایش وزن، نشان-دهنده تکامل سلول‌های خونی و اندام‌های خون ساز و در نتیجه افزایش کارایی سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است. بررسی اثر مکمل غذای حاوی ویتامین Aدر ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) موجب افزایش فعالیت عامل مکمل، لیزوزیم، سرم آنتی پروتئاز، فاگوسیتوز و فعالیت‌های ضد باکتریایی می شود . (Thompson *et al*., 1994) روند تولید ایمونوگلوبولین‌ها در ماهی، وقوع مجموعه‌ای از واکنش‌ها بین سلول‌های ارائه دهنده آنتی‌ژن، سلول‌های T کمک کننده فعال شده و اینترلوکین‌هاست که سبب تحریک لنفوسیت B می‌شود. این لنفوسیت‌ها در اثر تحریک، پلاسما سل‌ها را تولید می‌کنند که قادر به تولید ایمونوگلوبولین‌هاست (Stopskopf, 1993).

توجه به نتایج حاضر نشان می‌دهد که روند تغییرات ایمونولوژیک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در نتیجه تغذیه با سلنیوم آلی و معدنی، تغییر چندانی نمی‌کند. نتایج مذکور فوق با نتایج Grinde و همکاران (۱۹۸۹) مطابقت دارد که افزایش در لیزوزیم را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده نمودند. همچنین افزایش تعداد و فعالیت لکوسیت‌ها در خون و در نتیجه افزایش لیزوزیم در خون ماهی، افزایش تعداد و فعالیت ائوزینوفیلیک گرانول سل‌ها در بافت‌های ماهی و در نتیجه افزایش ترشح لیزوزیم در خون و موکوس سطح بدن ماهی مشاهده گردید. تولید لیزوزیم در ماهی به طور عمده در نوتروفیل، مونوسیت و مقدار کمی در ماکروفاژ صورت می‌پذیرد (علیشاهی، ۱۳۸۸).

اختلاف معنی‌داری در عوامل خونی ماهیان تغذیه شده با سنیوم آلی و معدنی نسبت به نمونه شاهد مشاهده نشد. مطالعات مشابه حاکی از افزایش گلبول‌های سفید و به

دنبال آن افزایش میزان پروتئین کل سرم در ماهی قزل-آلای رنگین‌کمان و ماهی *Labeo rohita* می‌باشد Sahu (*et al*., 2007). اندازه‌گیری تغییرات تعداد کل گلبول‌های سفید به درک بهتری از حالات فیزیولوژیک یا آسیب‌شناسی جانور منجر می‌شود (ستاری، ۱۳۸۱). تعداد گلبول‌های سفید خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سالم ۲۸/۸±۱۰۳×۳۳/۷۷ عدد در هر میلی‌لیتر خون بر آورد شده است (توکلی و اخلاقی، ۱۳۸۶) که نسبت به بچه ماهیان تغذیه شده با سلنیوم آلی بمراتب کمتر می‌باشد. احتمالاً این افزایش به دنبال افزایش عملکرد سیستم ایمنی ماهیان می‌باشد.

این مطالعه نشان داد که با افـزایش طـول و وزن نمونه‌های قزل‌آلا، غلظت سلنیوم در بافت عضله و کبد افزایش می‌یابد. همچنین نمونه‌های شاهد با تیمارهای ۱، ۳ و ۴ معدنی تفاوت معنی‌داری نداشتند، اما با تیمار ۳ و ۱ آلی و ۲ معدنی دارای اختلاف معنی‌دار بودند. همچنین مطالعات محسنی و ستوده در سال ۱۳۹۳ بر اثر سطوح مختلف سلنیوم جیره غذایی بر روند رشد و استرس اکسیداتیو بچه فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) تغذیه شده با سطوح بالای مس نشان داد که درصد افزایش وزن، شاخص رشد ویژه و ضریب چاقی ماهیان به طور معنی-داری کمتر از سایر تیمارها بود. این نتایج دلالت بر این نکته دارند که سطوح مناسب مس و سلنیوم اضافه شده به جیره موجب کاهش و بهبود پاسخ‌های ایمنی در ماهی می‌گردد. لذا، افزودن سلنیوم در جیره غذایی ماهی سبب بهبود برخی پارامترهای ایمنی شدند که همسو با نتایج این تحقیق است.

نتایج نشان داد که افزودن سلنیوم آلی تا ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا در رژیم غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت مناسبی از عوامل رشد، پارامترهای خونی و پاسخ‌های ایمنی را بهمراه خواهد داشت و احتمالاً می‌تواند به عنوان یک محرک رشد عمل نماید.

تشکر و قدردانی

پژوهشگران مراتب سپاس و قدردانی خود را نسبت به مسئولان و کارکنان محترم موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و ایستگاه تحقیقاتی خجیر ابراز می‌نمایند.

منابع

توکلی، ه. و اخلاقی، م.، ۱۳۸۶. بررسی میزان تغییرات لیزوزیم، ایمنوگلوبولین ها، گلبول ها و هماتوکریت خون در ماهی قزل آلای رنگین کمان به دنبال عفونت تجربی با آئروموناس هیدروفیلایبیماری زا. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۴ (۲): ۱۵۷-۱۶۲.

زارعی، ا.، ۱۳۹۱. خلاصه آزمایشات اصول تغذیه دام. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، ۱۷ صفحه.

ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی شناسی(۱): تشریح وفیزیولوژی. انتشارات نقش مهر با همکاری دانشگاه گیلان. ۶۵۹ صفحه.

علیشاهی، م.، ۱۳۸۸. مقدمه ای بر ایمنی شناسی آبزیان. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز. ۴۹۹ صفحه.

محسنی، م. و ستوده، ا.م، ۱۳۹۳. اثر سطوح مختلف سلنیوم جیره غذایی بر روند رشد و استرس اکسیداتیو بچه تغذیه شده با سطوح بالای مس (*Huso huso*) فیل ماهی پرورشی. مجله علمی شیلات ایران، ۲۱ (۴): ۱۰۵-۱۱۴.

محمدی، ز و رجبی اسلامی، ه. ۱۳۹۵. تاثیر مکمل معدنی نانوذره اکسید منگنز بر عملکرد رشد و یاخته‌های خونی بچه ماهی انگشت قد قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). مجله علمی شیلات ایران، ۲۵ (۳): ۱۹۹-۲۱۵.

Anderson, T. and Silva, D.S., 2003. Nutrition. In: Lucas, S.J. and Southgate, C.P. (ed) Aquaculture. Blackwell, London, UK.502 P.

Cahue, C.L., Gisbert, E., Villeneuve, L.A.N., Morais, S. and Hamza, P.A., 2009. Influence of dietary phospholipids on early ontogenesis of fish. Aquaculture Research, 40(9):989-999. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02190.x

Frenette, Paul, S. and Wagner, D.D., 1996. Adhesion molecules. The New England Journal of Medicine, 334:1526-1529.

Grinde, B., 1989. Lysozyme from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, as an antibacterial agent against fish pathogens. Journal of Fish Diseases, 12(2):95-104. DOI: 10.1111/j.1365-2761.1989.tb00281.x

Hilton, J.W., Hodson, P.V. and Slinger, S.J., 1980. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). The Journal of Nutrition, 110:2527-2535.

Küçükbay, F. Z., Yazlak, H., Karaca, I., Sahin, N., Tuzcu, M., Cakmak, M.N. and Sahin, K., 2009. The effects of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding conditions. Aquaculture Nutrition, 15(6):569-576. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2008.00624.x

Lin, Y.H. and Shiau, S.Y., 2005. The effects of dietary selenium on the oxidative stress of grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed highcopper. Aquaculture, 267:38-43. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.12.015

Misra, S. and Niyogi, S., 2009. Selenite causes cytotoxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes by inducing oxidative stress. Toxicology In Vitro, 23:1249-1258. DOI: 10.1016/j.tiv.2009.07.031

Pacitti, D., Wanga, T., Pageb, M.M., Martina, S.A.M., Sweetmand, J., Feldmannc, J. and Secombesa, C.J., 2013. Characterization of cytosolic glutathione peroxidase and phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their modulation by in vitro selenium exposure. Aquatic Toxicology, 130-131:97-111. DOI: 10.1016/j.aquatox.2012.12.020

Rayman, M.P., 2000. The use of high selenium yeast ti raise seleniumstatus: how does it measure up? The British Journal of Nutrition, 92:557-573.

Sahu, S., B.K., Das, J. Pradhan, B.C. Mohapatra, B.K. and Sarangi, N., 2007. Effect of *Magnifera indica* kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophyla* in *Labeo rohita* fingerlings. Fish and Shellfish Immunology, 23:109-118. DOI: 10.1016/j.fsi.2006.09.009

Stopskopf, M.K., 1993. Clinical pathology. In: Stopskopf, M.K., (ed) Fish medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA.pp113-131.

Shahsavani, D., Mohri, M. and Gholipour Kanani, H., 2010. Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. Fish Physiology and Biochemistry, 36:39-43. DOI: 10.1007/s10695-008-9277-3

Surai, P.F., 2000. Organic selenium: benefits to animals and humans, a biochemist's view. In: Lyons, T.P. and Jacques, K.A., (ed) Biotechnology in the feed industry, Prooceeding of Alltechs 16th Annual symposium, Nottingham University Press, Nottingham, UK. pp. 205-260.

Thompson, I., Choubert, G., Houlihan, D.F. and Secombes, C.J., 1994. The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of rainbow trout. Aquaculture, 133(2):91-102. DOI: 10.1016/0044-8486(95)00024-V

Wagner, E., Arndt, R. and Hilton, B., 2002. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. Aquaculture, 211(1):353-366. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00878-X

Zhou, Q.C., Mai, K.S., Tan, B.P. and Liu, Y.J., 2005. Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile Cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture Nutrition, 11:175-182. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2005.00335.x

Effects of organic and mineral selenium supplementation on growth performance, heamatological and immunological properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Nazari K.[1]; Shamsaie Mehrjan M.[1*]; Eila N..[1]; Sharifpor I.[2]; Kamali A.[1]

[*]m.shamsaie@srbiau.ac.ir

1-Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O.Box 14515-775,Tehran, Iran.
2-Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

Abstract

The present study was carried out to evaluate the effects of various amounts of organic and mineral selenium supplementation on growth performance (including condition factor (CF), specific growth rate (SGR), and weight gain (WG)), heamatological indices and liver histopathology. Nine dietary treatments were prepared and supplemented with selenium at 0 (control group (T0)), 0.15 (T1), 0.3 (T2), 0.45 (T3) and 0.6 g/kg of fish diet (T4). Fish were fed with formulated diet during 60 days of experiment. The average weight gain of the T3 group that was fed with organic selenium (214±18.6 g) was significantly higher ($P<0.05$) than the control group (154/6±25 g). The average SGR values in T2, T3 and T4 that were fed with organic selenium and the group T2 that was fed with mineral selenium were significantly higher than the control group ($P<0.05$). The concentration of IgM was significantly higher ($P<0.05$) in T1 (55.05±11.6 mg/dL) that was fed with organic selenium as compared to control group (46.9±6.6 mg/dL). Lysozyme activity in T3 (1066.7±24.5 unit/g) that was fed with organic selenium was significantly higher ($P<0.05$) than the control group (838.5±11 unit/g). The highest amounts of C3 (34.8±28.4 mg/dL) and C4 (31.1±7.3 mg/dL) were observed in T4 group that was fed with organic selenium. These results indicated that dietary supplementation of organic selenium up to 0.45 mg/kg of fish diet represented an appropriate ratio of growth factors, immune responses and liver pathological properties in rainbow trout.

Keywords: Selenium, Growth, Heamatology, Pathology, Rainbow trout

[*]Corresponding author