

تاثیر سلیوم بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و برخی از شاخص‌های خونی فیل ماهیان جوان پرورشی (*Huso huso*)

محمدرضا صفا بخش^۱، امیر هوشنگ بحری^{۱*}، محمود محسنی^۲، فلورا محمدی زاده^۱

۱- گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران، صندوق پستی: ۷۹۱۵۹-۱۳۱۱

۲- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۲۶

چکیده

تحقیق حاضر به منظور مقایسه اثر سطوح مختلف سلیوم جیره غذایی بر عملکرد رشد، برخی از شاخص‌های خونی و ترکیب لاشه بچه فیل ماهی (*Husohuso*) به مدت ۱۰ هفته طراحی و اجرا گردید. بدین منظور تعداد ۳۱۵ عدد ماهی با میانگین وزنی $15/66 \pm 0/77$ گرم در ۲۱ مخزن فایبر گلاس ۵۰۰ لیتری (به تعداد ۱۵ عدد در هر مخزن) توزیع شدند. هفت جیره غذایی محتوی سطوح متفاوت سلیوم شامل ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم جیره با مقادیر پروتئین و چربی یکسان فرموله شد. نتایج روند رشد در پایان دوره پرورش حاکی از آن بود که ماهیان تغذیه شده با جیره محتوی ۱۰ تا ۲۰ میلی گرم سلیوم به ازای هر کیلو گرم جیره، بطور معنی‌داری از وزن کسب شده، ضریب چاقی، شاخص کبدی بالاتری نسبت به ماهیان تغذیه شده با سایر تیمارها برخوردار بودند ($P < 0/05$). در ضمن ماهیان تغذیه شده با جیره محتوی ۱۰ تا ۲۰ میلی گرم سلیوم به ازای هر کیلو گرم جیره، بطور معنی‌داری از ضریب تبدیل غذایی پایین‌تری نسبت به ماهیان تغذیه شده با سایر تیمارها برخوردار بوده‌اند ($P < 0/05$). با افزایش میزان سلیوم به میزان ۱۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم جیره، میزان پروتئین و چربی لاشه به طور معنی‌داری کاهش و در مقابل رطوبت لاشه به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$). نتایج مربوط به آنالیزهای خونی نشان داد تیمار تغذیه شده با جیره ۱۰ تا ۲۰ میلی گرم سلیوم به ازای هر کیلو گرم سلیوم دارای تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی، هموگلوبین متوسط سلولی، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز، نسبت به ماهیان تغذیه شده با ۱۶۰ و ۸۰ میلی گرم سلیوم بود ($P < 0/05$). با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان اذعان نمود، افزودن سلیوم در جیره بچه فیل ماهی جوان پرورشی، در سطوح بیشتر از ۱۰ و کمتر از ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم جیره، سبب افزایش روند رشد، بهبود کارایی تغذیه و ترکیب لاشه، بهبود و تقویت بسیاری از شاخص‌های خونی می‌گردد.

کلمات کلیدی: سلیوم، فاکتورهای رشد، شاخص‌های خونی، بچه فیل ماهی (*Huso huso*).

مقدمه

پرورش تاس ماهیان به منظور حفاظت از جمعیت های طبیعی و تامین تقاضای بالای خاویار به یکی از شاخه‌های در حال توسعه آبرزی پروری تبدیل شده است (Balabanova, 2009) و در این بین، فیل ماهی از جمله گونه‌هایی با ارزش شیلاتی می‌باشد که آینده خوبی برای پرورش در ایران دارد که با توجه به سرعت رشد بالا در شرایط پرورشی، قدرت تحمل نوسانات دمایی و استحصال مواد تناسلی در شرایط اسارت، گونه مناسبی برای پرورش به منظور تولید خاویار یا تولید گوشت خواهد بود (Mohseni et al., 2014).

بنابراین به منظور افزایش بازده تولید و فراهم آوردن سوددهی بیشتر، ارزیابی اقتصادی تغذیه و تعیین نیازهای غذایی ماهیان بسیار ضروری خواهد بود (Deng, 2000).

سلنیوم یک عنصر ریز مغذی ضروری برای انسان، حیوانات و ماهیان محسوب می‌شود. این فلز جزء اصلی ساختمان آنزیم گلو تاتیون پراکسیداز بوده و وظیفه این آنزیم محافظت سلول‌ها و غشاءها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد است (Watanabe et al., 1997). علاوه بر این، سلنیوم نقش مهمی در محافظت بدن موجودات در برابر اثرات سمی فلزات سنگین مانند کادمیوم و جیوه دارد. همچنین وجود این عنصر برای رشد بافت عضله ضروری و باعث تقویت سیستم ایمنی و ثبات ژنومی نیز می‌گردد (Miezelienė et al., 2011).

در واقع سلنیوم به عنوان بخشی از آنزیم گلو تاتیون پراکسیداز به عنوان سد دفاعی بدن در برابر عوامل اکسید کننده شناخته شده است که برای کاهش اکسیداسیون موجود در ساختارهای داخل سلولی

ضروری است (Surai, 2002) سلنیوم از پراکسیداسیون اسید آراشیدونیک جلوگیری کرده و از این طریق سلول‌ها و بافت‌ها را از صدمه رادیکال‌های آزاد حفاظت می‌کند (Arthur et al., 2003).

مدیریت قوی، شرایط مناسب پرورش، غذادهی با جیره‌های مناسب حاوی ترکیبات ارزان و در عین حال مؤثر برای تولید تجاری و کارآمد تاس ماهیان ضروری به نظر می‌رسد (Hung & Lutes, 1987). بهبود جیره غذایی فرموله برای افزایش رشد و ارتقاء سلامت ماهیان در حال حاضر مشکل عمده در آبرزی پروری تجاری می‌باشد. محققان معتقد هستند که افزایش کارایی تولید آبریان به ترکیبات سازنده مواد غذایی نظیر پروتئین، چربی، ویتامین‌ها، مواد معدنی، قیمت و میزان دسترسی آنها بستگی دارد (Chebanov & Billard, 2001).

هرچند محققانی از قبیل Nicola De Riu و همکاران (۲۰۰۶) اثرات سطوح مختلف سلنیوم را در تاس ماهی سفید (*Acipenser transmontans*)، همچنین ارشد و همکاران (۲۰۱۱) اثرات سلنومیتوئین را بر روی پارامترهای رشد و زنده فیل مانی ماهی (*Huso huso*) مورد بررسی قرار دادند. اما در خصوص احتیاجات غذایی اغلب گونه‌های تاسماهیان خصوصا گونه‌های بومی ایران از جمله شاخص‌های محرک رشد در مراحل مختلف زندگی، اهمیت مکمل‌های معدنی از جمله سلنیوم در توسعه فرآیندهای فیزیولوژیک رشد و نمو تاسماهیان به منظور پرورش گوشتی، تشکیل گله‌های مولد و استحصال مواد تناسلی اطلاعات اندکی در دسترس می‌باشد (Mohseni et al., 2014). تاکنون مطالعات چندانی درباره مکمل‌سازی جیره فیل ماهی انجام نشده است. لذا این تحقیق به منظور تعیین اثرات

سطوح مختلف سلنیوم مکمل شده به جیره فیل ماهی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به منظور ارزیابی تأثیر جیره‌های حاوی سطوح متفاوت سلنیوم بر فاکتورهای رشد و زنده‌مانی، فاکتورهای هماتولوژی، بیوشیمیایی، ایمنی سرم خون بچه فیل ماهیان در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی واقع در ۲۵ کیلومتری شهر رشت و در مجاورت سد سنگر در جوار رودخانه سفید رود در بهار و تابستان ۱۳۹۵ انجام شد.

۲۱ عدد مخزن فایبرگلاس در ابعاد (قطر ۱۰۵ سانتیمتر، ارتفاع ۵۱ سانتیمتر و حجم آب ۵۰۰ لیتر) مجهز به سیستم هوادهی و تخلیه آب مرکزی برای انجام این آزمایش در نظر گرفته شدند. در ابتدا مخازن به طور کامل شستشو شده و سپس آب مورد استفاده در تمام دوره پرورش به طور یک طرفه وارد مخازن شده و از خروجی مرکزی تخلیه میشد. حجم آب تمامی مخازن با یکدیگر مساوی و برابر با ۳۵۰ لیتر بود. تمام مخازن در یک ردیف و با شرایط یکسان قرار گرفتند. سیستم هوادهی، آبرسانی و سایر شرایط محیطی در تمام مخازن یکسان بود. آب مورد نیاز سیستم پرورش از رودخانه سفیدرود تأمین و وارد حوضچه‌های رسوب گیر شده و سپس با پمپاژ به مخازن فایبرگلاس انتقال می‌یافت. داخل هر وان یک عدد سنگ هوا کار گذاشته شد که توسط شیلنگ مخصوص به دستگاه هواده متصل تا اکسیژن مورد نیاز تامین گردد.

اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما و میزان اکسیژن محلول با استفاده از اکسی متر دیجیتال و pH با استفاده از pH متر دیجیتال (مدل Lovi

bond، استرالیا) به طور روزانه انجام و داده‌ها ثبت شدند. میانگین دما، اکسیژن و pH طی دوره پرورش به ترتیب 22.90 ± 0.53 درجه سانتی‌گراد، 6.90 ± 0.21 میلی گرم در لیتر و 7.92 ± 0.09 بودند.

تیمار بندی و تغذیه

در این تحقیق ماهیان به مدت ۲ هفته با شرایط پرورشی جدید سازگار شدند. ماهیان طی این مدت با جیره پایه (Mohseni et al., 2014) تهیه شده در مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر تغذیه شدند (جدول ۱). پس از دو هفته سازگاری و زیست سنجی تمام جمعیت، تیمار بندی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد (میانگین وزنی اولیه 0.77 ± 0.66 گرم و میانگین طولی اولیه 14.1 ± 0.74 سانتیمتر و فاقد اختلاف معنی دار آماری بود ($P > 0.05$). ماهیان با ۷ جیره غذایی (هر کدام دارای ۳ تکرار) با مقادیر مختلف سلنیوم ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم جیره با مقادیر یکسان پروتئین و چربی به مدت ۱۰ هفته تغذیه شدند.

جیره‌های غذایی با استفاده از مواد اولیه داخلی و براساس فرمولاسیون تغذیه بخش تکثیر و پرورش مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر (جدول ۱) ساخته شد. برای تهیه ترکیبات خشک پس از توزین و مخلوط شدن به مدت ۲۰ دقیقه در هم زن برقی همگن شده و سپس روغن ذرت، روغن ماهی و ملاس به مواد خشک افزوده و با افزودن مقداری آب به خمیر، مخلوط از یک چرخ گوشت بزرگ (چگّا-ایران) عبور داده شد تا غذا به پلت‌های استوانه‌ای به قطر ۳ میلی متر تبدیل گردد. نحوه افزودن سلنیوم به جیره غذایی فیل ماهیان از طریق پری میکس بود. در انتها، پلت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴

جیره‌های آزمایشی براساس ماده خشک در جدول ۲
ارایه شده است.

ساعت خشک شدند. سپس پلت‌ها را در بسته‌های
مناسب و غیر قابل نفوذ بسته بندی و در دمای ۱۵-
درجه سانتی گراد نگهداری شدند. ترکیب تقریبی

جدول ۱- اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره غذایی فیل ماهی بر پایه پیشنهاد (Mohseni et al., 2014)

ترکیب	آرد ماهی (۶۲٪ پروتئین خام)	آرد گندم	دکستروز *	نشاسته ذرت *	روغن ماهی	مخلوط ویتامینی	مخلوط معدنی	آلفا سلولز *	سلنیوم
درصد در ماده خشک	۵	۱۲	۷	۱۱	۱۲	۲	۱	۴	-

۲۰۰۰ میلی گرم؛ مخلوط مواد معدنی (مس آزاد بر
حسب گرم/ کیلوگرم - پیش مخلوط): کربنات کلسیم
(کلسیم ۴۰ درصد)، ۲/۱۵ گرم، اکسید منیزیم (منیزیم
۶۰ درصد)، ۱/۲۴ گرم، سترات فریک ۰/۲ گرم، یدید
پتانسیم (ید ۷۵ درصد) ۰/۴ میلی گرم، سولفات روی
(۳۶ درصد روی) ۰/۴ میلی گرم؛ سولفات منگنز
(۳۳ درصد منگنز) ۰/۳ گرم؛ فسفات دی بازیک
(۲۰ درصد کلسیم، ۱۸ درصد فسفر) ۵ گرم، سولفات
کبالت ۲ میلی گرم؛ کلرید پتاسیم ۰/۹ گرم، کلرید
سدیم ۰/۴ گرم.

شرکت بیوشیمیایی ایالات متحده، کیولند،
(آمریکا).
شرکت روغن ارس. انزلی؛ مرکز چربی ایران
(مخلوط یک به یک روغن ماهی + روغن ذرت)
مخلوط ویتامین (برحسب میلی گرم/ کیلوگرم
جیره): DL آلفا توکوفرول استات DL 60IU؛ کوله
کلسی فرول ۳۰۰۰؛ تیامین ۱۵ میلی گرم؛ ریوفلاوین
۳۰ میلی گرم؛ پیریدوکساین ۱۵ میلی گرم؛ ویتامین B12
۰/۰۵ میلی گرم اسید نیکوتینیک ۱۷۵ میلی گرم؛
اسید فولیک ۵ میلی گرم؛ اسید آسکوربیک ۵۰۰ میلی
گرم؛ اینوزیتول ۱۰۰۰ میلی گرم؛ ویتامین بیوتین ۲/۵
میلی گرم؛ فسفات کلسیم ۵۰ میلی گرم؛ کولین کلراید

جدول ۲- ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی فیل ماهی (براساس ماده خشک)

آنالیز جیره	شاهد	۵	۱۰	۲۰	۴۰	۸۰	۱۶۰
درصد ماده خشک	۹۲/۴۵	۹۱/۸۵	۹۱/۴۸	۹۲/۵۶	۹۱/۴۶	۹۲/۵۹	۹۲/۳۹
درصد پروتئین خام	۴۲/۳۵	۴۱/۷۵	۴۱/۱۲	۴۱/۳۶	۴۲/۱۵	۴۱/۹۵	۴۲/۸۱
درصد چربی خام	۱۳/۷۲	۱۳/۶۲	۱۳/۷۰	۱۳/۷۹	۱۳/۸۴	۱۳/۷۹	۱۴/۰۱
درصد خاکستر	۸/۶۱	۹/۲۵	۹/۳۱	۸/۶۶	۹/۲۱	۹/۴۲	۹/۲۰

نحوه غذا دهی و زیست سنجی

بچه فیل ماهیان به مدت ۱۰ هفته و براساس حداکثر ۲٪ وزن توده زنده در ۳ نوبت (۸ صبح، ۱۴ عصر و ۲۰ شب) تغذیه شدند (Mohseni et al., 2014). جهت تعیین توده زنده هر یک از مخازن، هر دو هفته یکبار ۱۰۰٪ ماهیان هر مخزن با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم (مدل AND ژاپن) توزین شده و با دقت میلی متر طول کل و طول چنگالی اندازه گیری و در فرم های مخصوص ثبت شدند. قبل از انجام هر مرحله زیست سنجی، غذادهی بچه ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع گردید (Hung & Lutes, 1987). به منظور کاهش استرس زیست سنجی، ماهیان توسط محلول ۲۰۰-۳۰۰ ppm پودر گل میخک بیهوش شدند (Misra and Niyogi, 2009).

جهت ارزیابی میزان رشد و تعیین زیتوده هر مخزن پس از هر مرحله زیست سنجی، شاخص های رشد ذیل مورد محاسبه قرار گرفتند (Misra and Niyogi, 2009).

وزن اولیه (گرم) / [وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم)] $\times 100$ = درصد افزایش وزن بدن

[۳ طول ماهی (سانتی متر) / وزن ماهی (گرم)] $\times 100$ = شاخص وضعیت

[وزن بدن (گرم) / وزن کبد (گرم)] $\times 100$ = درصد شاخص کبدی

افزایش وزن کل توده ماهی / مقدار کل غذای خورده شده = ضریب تبدیل غذایی

برای اندازه گیری وزن کبد ماهیان، در پایان دوره ۳ قطعه از هر تیمار از هر مخزن به طور کاملاً تصادفی جدا شد. ماهیان با دوز محلول ۲۰۰-۳۰۰ ppm پودر گل میخک بیهوش شدند. سپس با کمک اسکالپل شکم

ماهیان شکافته و کبد ماهی برداشته و توزین شد و شاخص کبدی از طریق فرمول بالا محاسبه شد (Misra and Niyogi, 2009).

در انتهای دوره آزمایش آنالیز جهت تعیین سطوح پروتئین، چربی، خاکستر، رطوبت در سه تکرار به طور تصادفی انجام گرفت. جهت تعیین رطوبت از دستگاه آون (Memmert, Germany) برای تعیین خاکستر از کوره الکتریکی (Gallenkamp, England)، جهت سنجش میزان پروتئین خام با استفاده از سیستم کجلدال (Bushy, Switzerland) و برای ارزیابی میزان چربی خام پس از استخراج بوسیله اتر از سیستم سوکسله (Bushy, Switzerland) استفاده شد (AOAC, 2005).

بررسی پارامترهای هماتولوژیک

در پایان دوره پرورش، غذادهی به مدت ۲۴ ساعت قطع و خونگیری از ورید ساقه دمی، ۳ عدد ماهی از هر مخزن (۹ عدد از هر تیمار) صورت گرفت. بعد از گرفتن ۱ میلی لیتر خون توسط هیپارینه از ساقه دمی، مقدار نیم میلی لیتر خون هیپارینه به داخل میکروتیوب های اپندروف ریخته و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است در هنگام خونگیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تأثیر بر سطوح شاخص های خونی استفاده نگردید (Torrecillas et al., 2007). اندازه گیری تمامی شاخص های خونی در آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر فدایی در رشت انجام گرفت.

به منظور تعیین شاخص های هماتولوژیک نمونه ها به آزمایشگاه منتقل شدند. تعداد گلبول های قرمز و سفید با استفاده از لام هماسیتومتر ثوبار (Barcellos et al., 2004) میزان هموگلوبین با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از کیت مخصوص، درصد هماتوکریت به

نتایج

نتایج مربوط به اثر سطوح مختلف سلیوم بر رشد و شاخص‌های خونی بچه فیل ماهی در جداول ۳ و ۴ و ۵ و ۶ نشان داده شده است.

وزن نهایی در ماهیان به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح سلیوم جیره بود و با افزایش مقدار سلیوم جیره تا سطح ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم افزایش یافت و پس از آن روند نزولی را نشان داد.

میانگین وزن نهایی، ضریب چاقی، در ماهیان تغذیه شده تیمارهای ۲۰ و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم سلیوم به طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها از میزان بیشتری برخوردار بودند همچنین تیمار ۱۶۰ میلی گرم/کیلوگرم سلیوم کمترین میانگین عددی را به خود اختصاص داد و به لحاظ آماری با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$).

از طرفی ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای ۱۶۰ و ۸۰ میلی گرم/کیلوگرم سلیوم به شکل معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها از میزان بیشتری برخوردار بود و جیره در این دو تیمار عملکرد ضعیف‌تری را از خود نشان داد.

نتایج نشان داد که درصد رطوبت لاشه در تیمارهای ۱۶۰ و ۸۰ میلی گرم/کیلوگرم سلیوم به شکل معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها از میزان بیشتری برخوردار بود و به لحاظ آماری با سایر تیمار اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$).

همچنین کمترین میزان چربی لاشه نیز در تیمار ۱۶۰ میلی گرم/کیلوگرم سلیوم دیده شد که اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها از خود نشان داد ($P < 0.05$). از سوی دیگر بیشترین میزان رطوبت لاشه در تیمار ۱۶۰

روش سانتیفریوژ میکروهماتوکریت (Skov et al., 2011) اندازه‌گیری شدند.

جهت محاسبه اندیس‌های خونی شامل میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH) و میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC) از روابط زیر استفاده گردید (Skov et al., 2011).

$10 \times [\text{تعداد گلبول قرمز (میلیون در } \text{mm}^3 \text{)}] / \text{مقدار}$

هماتوکریت (درصد) = MCV (فمتولتر)

$10 \times [\text{تعداد گلبول قرمز (میلیون در } \text{mm}^3 \text{)}] / \text{مقدار}$

هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر) = $[\text{پیکوگرم در سلول}]$

MCH

$10 \times [\text{تعداد هماتوکریت (درصد)}] / \text{مقدار}$

هموگلوبین (گرم بردسی لیتر) = $[\text{گرم بردسی}]$

MCHC (لیتر)

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم افزار SPSS (Ver 20) و برای رسم نمودارها از برنامه Excel 2007 استفاده گردید. داده‌ها ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن با آزمون (Shapiro-wilk) بررسی شدند. سپس در صورت نرمال بودن توزیع داده‌های مورد بررسی با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ ابتدا اختلاف کلی بین میانگین‌ها مشخص و سپس با آزمون دانکن (Duncan) گروه‌ها از یکدیگر تفکیک گردید.

میلی گرم / کیلو گرم سلیوم دیده شد که اختلاف معنی دار با سایر تیمارها از خود نشان داد ($P < 0/05$).
 نتایج حاصل از شمارش گلبول های سفید به عنوان یکی از شاخص های تعیین کننده در بررسی سطوح فعالیت سیستم ایمنی نشان داد که سلیوم موجب تغییراتی در شمار گلبول های سفید فیل ماهی می گردد.
 آنالیز پارامترهای خونی نشان داد که این ماده به طور معنی داری تعداد گلبول های سفید را در تیمارهای ۱۰ میلی گرم / کیلو گرم سلیوم افزایش داد ($P < 0/05$).
 آنالیز آماری نشان داد که سلیوم به طور معنی داری بر تعداد گلبول های قرمز و هماتوکریت و هموگلوبین در طی مدت ۱۰ هفته در تیمار ۲۰ میلی گرم سلیوم اثر افزایشی داشت ($P < 0/05$).

براساس نتایج حاصله میزان حجم متوسط گلبولی در تیمار ۱۶۰ و ۸۰ و ۴۰ میلی گرم / کیلو گرم سلیوم کاهش معنی داری را نسبت به شاهد و سایر تیمارهای ۲۰ و ۱۰ و ۵ میلی گرم / کیلو گرم سلیوم داشته و بیشترین افزایش میزان حجم متوسط گلبولی در تیمار ۲۰ میلی گرم / کیلو گرم سلیوم مشاهده گردید و بین تیمارهای ۱۰ و ۵ میلی گرم / کیلو گرم سلیوم با شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$).
 همچنین میزان هموگلوبین متوسط سلولی در تیمارهای ۴۰ و ۲۰ میلی گرم / کیلو گرم سلیوم افزایش معنی داری را نسبت به شاهد و سایر تیمارها داشته و بین تیمارهای ۱۰ و ۵ میلی گرم / کیلو گرم سلیوم با شاهد اختلاف معنی دار مشاهده نشد ($P > 0/05$).

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص‌های رشد بچه فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت سلنیوم در دوره پرورش ۷۰ روز

مقدار سلنیوم (میلی گرم/کیلوگرم)	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	طول اولیه (سانتیمتر)	طول نهایی (سانتیمتر)	افزایش وزن (درصد)	ضریب چاقی	ضریب تبدیل غذایی	شاخص کبدی (درصد)
۰	۱۵,۷۳±۰,۲۷	۱۴۳/۰۶±۴/۱۹ ^{cd}	۱۳/۶±۰/۲	۲۸/۵±۰/۱ ^{cd}	۸۰۹/۶۱±۲۷/۱۵ ^{bcd}	۰/۶۱±۰/۰۰۱ ^b	۱/۲۹±۰/۰۶ ^b	۳/۶۳±۰/۱۸ ^a
۵	۱۵,۵۰±۰,۳۱	۱۵۲/۷۰±۳/۷۲ ^{cd}	۱۴/۱±۰/۸	۲۹/۶±۱/۲ ^{ab}	۸۸۶/۳۵±۵۴/۳۸ ^{ab}	۰/۵۸±۰/۰۰۱۴ ^{bc}	۱/۳۱±۰/۰۸ ^b	۲/۹۳±۰/۱۵ ^b
۱۰	۱۵,۹۰±۰,۷۵	۱۵۹/۴۳±۱/۴۸ ^a	۱۳/۵±۱/۸	۲۸/۲±۱/۷ ^a	۹۰۷/۰۹±۸۱/۱۰ ^a	۰/۷۱±۰/۰۰۲ ^a	۱/۲۷±۰/۰۴ ^b	۳/۶۵±۰/۱۱ ^a
۲۰	۱۵,۶۰±۰,۴۱	۱۵۶/۶۶±۶/۱۰ ^a	۱۳/۹±۰/۷	۲۸/۷±۰/۵ ^a	۹۰۴/۵۰±۷۰/۶۲ ^a	۰/۶۶±۰/۰۰۱۶ ^a	۱/۲۷±۰/۰۴ ^b	۳/۵۲±۰/۰۷ ^a
۴۰	۱۵,۵۸±۰,۴۷	۱۴۷/۵۳±۲/۷۵ ^{bc}	۱۴/۴±۰/۲	۲۹/۸±۰/۳ ^{bc}	۸۴۹/۳۷±۶۸/۵۵ ^{abc}	۰/۵۵±۰/۰۰۱۶ ^c	۱/۳۸±۰/۰۲ ^b	۳/۰۷±۰/۱۵ ^b
۸۰	۱۵,۶۰±۰,۴۵	۱۳۸/۷۶±۳/۰۸ ^{de}	۱۴/۵±۱/۳	۳۰/۳±۱/۱ ^{de}	۷۹۰/۴۷±۲۸/۷۹ ^{cd}	۰/۴۹±۰/۰۰۱۸ ^c	۱/۵۰±۰/۰۷ ^a	۲/۹۸±۰/۱۰ ^b
۱۶۰	۱۵,۷۳±۰,۴۵	۱۳۳/۰۳±۳/۰۲ ^e	۱۴/۷±۰/۲	۳۰/۵±۰/۸ ^e	۷۴۶/۸۴±۴۲/۵۵ ^d	۰/۴۶±۰/۰۰۱ ^d	۱/۴۹±۰/۰۶ ^a	۲/۹۱±۰/۱۲ ^b

حروف غیرهمسان در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<0/05).

جدول ۴- فاکتورهای کیفی لاشه بچه فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت سلنیوم در دوره پرورش ۷۰ روز

مقدار سلنیوم (میلی گرم/کیلوگرم)	رطوبت (درصد)	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	خاکستر (درصد)
۰	۷۳/۹۳±۱/۱۰ ^c	۷۱/۶۳±۳/۲۲ ^b	۷/۲۰±۰/۰۱ ^{cd}	۲/۴۵±۰/۰۷ ^c
۵	۷۴/۳۳±۰/۵۱ ^c	۷۷/۹۹±۲/۴۷ ^a	۷/۴۲±۰/۳۳ ^c	۲/۴۴±۰/۱۰ ^c
۱۰	۷۴/۴۰±۰/۷۵ ^c	۸۰/۰۷±۲/۱۳ ^a	۷/۲۷±۰/۰۵ ^c	۲/۶۱±۰/۰۲ ^{bc}
۲۰	۷۴/۰۷±۰/۵۵ ^c	۷۹/۰۰±۱/۱۹ ^a	۷/۷۷±۰/۰۷ ^b	۲/۶۴±۰/۰۲ ^{bc}
۴۰	۷۵/۱۸±۱/۴۴ ^c	۷۷/۹۰±۳/۷۰ ^a	۸/۴۲±۰/۰۹ ^a	۳/۱۳±۰/۱۵ ^{ab}
۸۰	۷۷/۶۳±۰/۷۶ ^b	۷۷/۲۰±۳/۷۶ ^a	۶/۹۲±۰/۱۲ ^d	۳/۶۲±۰/۰۷ ^a
۱۶۰	۷۹/۵۰±۰/۶۵ ^a	۷۵/۸۵±۰/۹۱ ^{ab}	۶/۲۱±۰/۳۰ ^e	۳/۴۸±۰/۲۶ ^a

حروف غیرهمسان در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<0/05).

جدول ۵- متغیرهای خون شناختی (میانگین $\pm$ انحراف معیار) بچه فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت سلنیوم در دوره پرورش ۷۰ روز

مقدار سلنیوم (میلی گرم/کیلوگرم)	تعداد گلبول سفید ($\times 10^3$ میکرولیتر)	تعداد گلبول قرمز ($\times 10^3$ میکرولیتر)	هماتوکریت (درصد)	هموگلوبین (گرم بردسی لیتر)
۰	$19884/33 \pm 8993^b$	$645233/33 \pm 4484/54^c$	$15/65 \pm 0/29^c$	$3/59 \pm 0/09^b$
۵	$30990 \pm 40/22^a$	$662333/33 \pm 2962/73^c$	$16/22 \pm 0/16^c$	$3/70 \pm 0/05^b$
۱۰	$34446/93 \pm 181/98^a$	$667000 \pm 5291/50^a$	$16/73 \pm 0/09^c$	$3/75 \pm 0/06^b$
۲۰	$30817/33 \pm 892/64^a$	$731000 \pm 5291/50^a$	$19/43 \pm 0/54^a$	$4/72 \pm 0/21^a$
۴۰	$21343/53 \pm 681/89^b$	$712000 \pm 7810/25^b$	$17/03 \pm 0/39^b$	$4/51 \pm 0/13^c$
۸۰	$19885/73 \pm 82/73^b$	$617000 \pm 2645/75^d$	$14/40 \pm 0/20^d$	$3/42 \pm 0/08^c$
۱۶۰	$19747/204 \pm 507/29^b$	$590666/66 \pm 7125/85^e$	$13/83 \pm 0/23^d$	$3/15 \pm 0/02^d$

حروف غیرهمسان در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($p < 0/05$).

جدول ۶- شاخص های گلبول قرمز MCHC، MCH، MCV بچه فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت سلنیوم در دوره پرورش ۷۰ روز

مقدار سلنیوم (میلی گرم/کیلوگرم)	MCV (فمتو لیتر)	MCH (پیکوگرم در سلول)	MCHC (گرم بردسی لیتر)
۰	$242/58 \pm 1/80^b$	$55/66 \pm 2/05^b$	$22/94 \pm 0/57^b$
۵	$244/91 \pm 3/09^b$	$55/91 \pm 0/61^b$	$22/84 \pm 0/69^b$
۱۰	$250/88 \pm 1/41^b$	$56/27 \pm 1/62^b$	$22/43 \pm 0/58^b$
۲۰	$265/86 \pm 5/64^a$	$64/56 \pm 2/37^a$	$24/29 \pm 0/38^{ab}$
۴۰	$239/17 \pm 3/04^c$	$63/34 \pm 3/69^a$	$26/84 \pm 2/07^a$
۸۰	$234/36 \pm 2/49^c$	$55/42 \pm 1/79^c$	$23/74 \pm 0/37^c$
۱۶۰	$234/17 \pm 1/16^c$	$53/29 \pm 4/88^c$	$22/76 \pm 0/84^c$

حروف غیرهمسان در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($p < 0/05$).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد با اضافه کردن سلیوم به جیره به میزان ۱۰ تا ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم شاخص‌های رشد خونی به طور معنی‌داری نسبت به گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۱۶۰ و ۸۰ میلی گرم/کیلوگرم افزایش پیدا کرد.

نتایج فوق با مطالعات Nicola De Riu و همکاران (۲۰۱۴) در ماهیان خاویاری سفید (*Acipenser transmontanus*) و ماهیان خاویاری سبز (*Acipenser medirostris*) هم‌خوانی دارد آن‌ها اذعان داشتند که افزایش سلیوم جیره تا حد معینی (زیر ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) در هر دو گروه ماهی منجر به افزایش کارایی غذا و رشد می‌گردد ولی اضافه کردن سلیوم بیش از این مقدار منجر به کاهش روند رشد در گونه‌های مذکور می‌گردد.

شاخص‌های رشد شامل میانگین وزن نهایی، ضریب چاقی، افزایش وزن، شاخص کبدی در تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰ و ۱۰ میلی گرم سلیوم در تحقیق حاضر به طور معنی‌داری از سایر تیمارها بیشتر بوده است. احتمالاً در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰ و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم سلیوم، پروتئین بیشتری صرف رشد شده و در تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۶۰ و ۸۰ میلی گرم/کیلوگرم مقداری از پروتئین در مسیر تولید انرژی رفته و در نتیجه شاخص‌های رشد کاهش یافته است و این موضوع نشانگر آن است که با افزایش سطح سلیوم جیره، آمینواسیدهای اضافه موجود در غذا به طور مستقیم در بدن ذخیره نمی‌شوند و صرف تولید انرژی می‌گردند (Stone et al., 2003).

نتایج پژوهش نشان داد با اضافه کردن سلیوم جیره به میزان ۱۶۰ و ۸۰ میلی گرم/کیلوگرم، میزان کمی رطوبت لاشه در فیل ماهیان مورد بررسی افزایش یافت نتایج فوق با مطالعات Ashouri و همکاران (۲۰۱۵) و همچنین نتایج Arshad و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد.

در ماهیان عضو و بافتی که به طور اختصاصی سلیوم در آن تجمع پیدا می‌کند در تحقیقی روی اردک ماهی (*Esox Lucius*) بالغ بررسی شد. نتایج نشان داد که کبد و کلیه بیشترین میزان غلظت سلیوم را دارا بودند (Muscatello et al., 2006) به نظر می‌رسد سلیوم در روزهای بالا بتواند با عوارض احتمالی بروی کلیه‌ها، موجب دفع کمتر آب از بدن شود لذا ماهیان در زمان مواجه با دوزهای بالاتر سلیوم، متابولیت‌های متیل مانند تری متیل سلیوم در ادرار آنها ظاهر شده و بعنوان نشانگری زیستی از مصرف بیش از اندازه سلیوم مورد استفاده قرار می‌گیرند (Suzuki et al., 2005). از سوی دیگر با توجه به رابطه معکوس مقدار چربی و رطوبت، بالطبع میزان کمی چربی لاشه نیز در تیمارهای فوق‌الذکر کاهش پیدا کرد.

براساس نتایج حاصله، چربی لاشه در تیمار ۱۶۰ میلی گرم/کیلوگرم جیره به شکل معنی‌داری کاهش داشت و احتمالاً می‌توان اینگونه اذعان نمود که سلیوم به عنوان یک منبع چربی سوز قابل بررسی است همچنین کاهش مقادیر چربی لاشه را می‌توان مربوط به فاکتورهای بیوشیمیایی خون دانست. ماهی با انجام واکنش‌های بیوشیمیایی گلوکونئوزنز، گلیکوزن را به گلوکز تبدیل کرده و وارد جریان خون می‌کند (اکرمی و همکاران ۱۳۸۹).

ارزیابی کمی و کیفی یک تغذیه ایده آل و متعادل در ماهیان با سنجش شاخص های خونی صورت می گیرد. شاخص های خونی ماهی به عوامل مختلف از قبیل گونه، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیک و شرایط تغذیه ای (کمیت و کیفیت غذا، ترکیب و بالانس ترکیبات موجود در جیره و مقدار پروتئین و مواد معدنی جیره) بستگی دارد.

در مطالعه حاضر با افزایش مقدار سلنیوم جیره به مقدار ۱۶۰ و ۸۰ میلی گرم / کیلوگرم میزان گلبول های سفید خون کاهش پیدا کرد.

از جمله عوامل مؤثر بر تعداد گلبول های سفید بیماری، التهاب، استرس، دما، وضعیت تغذیه ای، سن و جنس می باشد (Bullis et al., 1993).

تغذیه نامناسب می تواند یکی از عوامل تأثیر گذار بر کاهش تعداد لکوسیت ها باشد (Docan et al., 2012) همچنین در مطالعه ای که روی گونه های خشکی زی نیز صورت گرفته، نشان داد که مقادیر بالای سلنیوم در جیره غذایی باعث کاهش مقادیر گلبول سفید شده است (Rampal et al., 2008).

طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۶۰ تا ۸۰ میلی گرم / کیلوگرم سلنیوم از لحاظ مقادیر گلبول های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، حجم متوسط گلبولی، هموگلوبین متوسط سلولی، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز دارای اختلاف معنی دار نسبت به سایر تیمارها و شاهد بود.

در مطالعه ای Lemly در سال (۲۰۰۲) نشان داد که قرار گرفتن خورشید ماهی در آب های آلوده به مقادیر بالای سلنیوم باعث کاهش هماتوکریت و هموگلوبین خون ماهی شد و این کاهش را در ارتباط با اثر سمی زیر حد کشنده سلنیوم آلی و معدنی دانست.

نقایص تغذیه ای و نامناسب بودن میزان مواد معدنی موجود در جیره ممکن است موجب آنمی شدید در اثر کاهش هماتوکریت و هموگلوبین شود (Cheng et al., 2006).

امروزه مشخص شده است که کاهش هماتوکریت و هموگلوبین با کم خونی همراه بوده و باعث اختلال در ظرفیت تنفسی جاندار می شود چرا که کاهش ظرفیت تنفسی می تواند منجر به استرس متابولیک در ماهیان شده و کاهش تعداد همو بلاست ها در خون ماهی سبب کاهش اریتروپوئیز و تأخیر در جایگزینی گلبول های قرمز در سیستم گردش خون ماهی می شود (Lemly, 2002).

بنابراین اختلاف سطح مصرف سلنیوم مطلوب جهت رشد بهینه در بررسی های مختلف ممکن است به گونه ماهیها، شکل های شیمیایی، عوامل غذایی، تفاوت های فیزیولوژیک، غلظت سلنیوم در آب پرورشی، منبع سلنیوم (آلی، معدنی) و مقدار ویتامین E در جیره غذایی ماهیان نسبت داده شود (Gatlin & Wilson, 1986; Wang & Lovell 1997; Abdel-Tawwab 2007; Ashouri et al., 2015).

با توجه به نتایج مطالعه حاضر میتوان اذعان نمود. افزودن سلنیوم در جیره بچه فیل ماهی جوان پرورشی، در سطوح بیشتر از ۱۰ و کمتر از ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم جیره، از طریق محافظت سلول ها در برابر آسیب های اکسیداتیو و کاهش اکسیداسیون موجود در ساختارهای داخل سلولی سبب افزایش روند رشد، بهبود کارایی تغذیه و ترکیب لاشه، بهبود و تقویت بسیاری از شاخص های خونی و بیوشیمیایی گردد.

leucocytes to hormoneinduced stress. Inland Water Biology, 2(1), 86–88.

8. Barcellos, L.J.G., Kreutz, L.C., Souza, C., Rodrigues, L.B., Fioreze, I., Quevedo, R.M., Cericato, L., Soso, A.B., Fagundes, M., Conrad J., Lacerda, L.A., Terra S., 2004. Hematological changes in jundia, *Rhamdia quelen*, after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects Aquaculture, 237, 229-236.
9. Bullis, R.A, 1993. Clinical pathology of temperate fresh water and estuarine fish. Fish Medicine, 232-239.
10. Chebanov, M., and Billard, R., 2001. The culture of sturgeon in Russia: production of juveniles for stocking and meat for human consumption. Aqua. Living Resource, 14, 375-381.
11. Cheng, A., Chen, C., Chang, C., 2006. Effects of dietary protein and lipids on blood parameters, and superoxide anion production in the grouper, *Epinephelus coioides*. Zoological Studies, 45, 492-502.
12. Deng, K., 2000. Artificial reproduction and early life stages of the green sturgeon (*Acipenser medirostris*). MS thesis. University of California, Davis, 63P.
13. Docan, A., Dediu, L., Cristea, V., 2012. Effect of feeding with different dietary protein level on leukocytes population in juvenile Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*, Brandt. Archiva Zootechnica, 15, 59-67.
14. Gatlin III, D .M. and R.P.Wilson. 1986. Dietary copper requirement of fingerling channel cat fish. Aquaculture, 54, 277-285.
15. 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
16. Hung, S. S. O. and Lutes, P. B., 1987. Optimum feeding rate of hatchery produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) at 20. Aquaculture, 65, 307-317.
17. Lemly, A.D. 2002 Symptoms and implications of selenium toxicity in fish:

سپاسگزاری

بدینوسیله از کلیه همکارانی که طی مراحل اجرایی پروژه از حمایت‌های آنان بهره مند شدیم، صمیمانه تقدیر و تشکر می نمایم.

منابع

۱. اکرمی، ر.، قلیچی، الف.، قرایی، الف. ۱۳۸۹. کاربرد پریوتیک‌ها در آبی‌پروری. مجله شیلات سال چهارم، شماره اول، ۹ صفحه.
2. Abdel-Tawwab, M., M. A.A. Mousa, F. E. Abbass., 2007. Growth performance and physiological response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.) fed organic selenium prior to the exposure to environmental copper toxicity. Aquaculture, 272, 335–345.
3. Arthur, W., Jr., Bennett, W., Jr., Edens, P.L., & Bell, S.T. 2003. Effectiveness of training in organizations: A meta-analysis of design and evaluation features. Journal of Applied Psychology, 88, 234–245.
4. Arshad, G. A. Takami, M. Sadeghi, S. Bai, H. R. Pourali and S. Lee., 2011. Influence of dietary L-selenomethionine exposure on growth and survival of juvenile (*Huso huso*). Journal of Applied Ichthyology, 27, 761–765.
5. Ashouri S., Keyvanshokooha S., Salatia A.P., Joharib S.A., Pasha-Zanoos 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
6. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 2005. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, USA, PP. 152-160.
7. Balabanova L.V., Mikryakov D.V. and Mikryakov V.R. 2009. Response of common carp (*Cyprinus carpio* L.)

- subchronic selenosis in cow calves. *Environ. Toxicol Pharmacol*, 25, 39-42.
26. Skov, P.V., Larsen, B.K., Frisk, M., Jokumsen, A., 2011. Effects of rearing density and water current on the respiratory physiology and hematology in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, at high temperature. *Aquaculture*, 319, 446-452.
 27. Stone, E.A. Allan, G.L., Anderson, A.J., 2003. Carbohydrate utilization by juvenile silver perch, *Bidyanus bidyanus*, the protein- sparing effect of wheat starch based carbohydrates. *Aquaculture Research*, 34, 123-134.
 28. Surai, P.F. Surai, W. Steinberg, W.G. Wakeman, B.K. Speake, N.H.C. Sparks., 2003. Effect of canthaxanthin content of the maternal diet on the antioxidant system of the developing chick Br Poultry Science, 44, 612-619.
 29. Suzuki KT. 2005. Metabolomics of selenium, Metabolites based on speciation studies, 51, 104-107.
 30. Tashjian, D. H., Swee J. Teh, A. Sogomonyan, S. S.O. Hung., 2006. Bioaccumulation and chronic toxicity of dietary l-selenomethionine in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquatic Toxicology*, 79, 401-409.
 31. Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Robaina, L., Real, F. & Sweetman, J. 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish & Shellfish Immunology*, 23, 969-981.
 32. Wang, C. and 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.
 33. Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151, 185-207.
 - the Belews Lake case example. *Aquatic Toxicology*, 57, 39-49.
 18. Miezeliene A., Alencikiene G., Gruzauskas R., Barstys T. 2011 The effect of dietary selenium supplementation on meat quality of broiler chickens, *Biotechnol. Agron. Society and Environment*, 15(S1), 61-69.
 19. Misra S, Niyogi S., 2009. Selenite causes cytotoxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes by inducing oxidative stress. *Toxicology In Vitro*, 23, 1249-1258
 20. Mohseni, M., Pourkazemi, M., Hosseini, M.R., Hassani, S.M.H., Bai, S.C., 2011. Effects of the dietary protein levels and the protein to energy ratio in sub-yearling Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin). *Aquaculture Research*, 44, 378-387.
 21. Mohseni. M. 2012b. Evaluation of toxicity dietary chelated copper in juvenile Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*), based on growth and tissue copper concentration. *Journal of world Aquaculture Society*. 43 (4), 548-559.
 22. Mohseni. M., Pourkazemi. M, Bai, S. C. 2014. Effects of dietary inorganic copper on growth performance and immune responses of juvenile beluga, *Huso huso*. *Aquaculture Nutrition*, 20(5), 547-556.
 23. Muscatello, J.R., Bennett, P.M., Himbeault, K.T., Belknap, A.M., Janz, D.M., 2006. Selenium accumulation in northern pike (*Esox lucius*) exposed to metal mining effluent. *Environmental Science & Technology*, 40, 6506-6512.
 24. Nicola De Riu a3, Jang-Won Lee B, Susie S.Y. Huang B, Giuseppe Monielloa, Silas S.O. 2014. Effect of dietary selenomethionine on growth performance, tissue burden, and histopathology in green and white sturgeon. *Aquatic Toxicology*, 148, 65-73.
 25. Rampal, S., Kumar, R., Randhawa, C.S. & Sood, N. 2008. Maturation arrest of neutrophils-a possible reason for the leucopenia in sodium selenite induced