تاثیر نوکلئوتید جیره غذایی بر تغییرات ساختار روده، رشد و پروفیل اسیدهای چرب میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

امین اوجی فرد[1]؛ عبدالمحمد عابدیان کناری* [2]؛ علی طاهری[3] و انسیه غنی‌زاده کازرونی[4]
aabedian@modares. ac.ir
١-دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر
٢ و ٤- دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس نور، صندوق پستی: ٣٥٦-٤٦٤١٤
٣-دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، صندوق پستی: ٥٦٤٩٩-٩٩٧١٧

تاریخ دریافت: مهر ١٣٩٠ تاریخ پذیرش: دی ١٣٩٠

چکیده

تاثیر نوکلئوتید جیره (٠/٢ درصد) بر رشد، مورفولوژی روده و پروفیل اسیدهای چرب میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) به مدت ٥ هفته در استان بوشهر (دلوار) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش با ٣ تکرار در مخازن پلی‌اتیلنی مدور با ظرفیت ٣٠٠ لیتر انجام گرفت. هر تانک پرورشی بطور تصادفی با ٢٥ عدد میگو با میانگین (انحراف معیار) وزن ٣/٢١±٠/٠٣ گرم پر شد. افزودن نوکلئوتید جیره سبب بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد (شامل، ١٠ درصد افزایش وزن بدن، ٧/٩٧ درصد افزایش ضریب رشد ویژه، ١١/٣٢ درصد افزایش نرخ بازده پروتئین، ٩/٦۴ درصد کاهش ضریب تبدیل غذایی) و میزان اسیدهای چرب ١۴:١n٥، ٢٠:٣n٣ و DHA شد اما اختلاف معنی‌داری در میزان بقاء، طول حدقه‌ای کاراپاس، غذای مصرفی و میزان SFA, MUFA, PUFA, n3/n6 و EPA+DHA بین دو تیمار مشاهده نشد. همچنین طول سلولهای اپی‌تلیال روده در بند اول شکمی در تیمار نوکلئوتید بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود.

لغات کلیدی: نوکلئوتید، اسیدهای چرب، تغذیه، رشد، میگوی سفید غربی

*نویسنده مسئول

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

طی سالهای گذشته بیماری لکه سفید (White Spot Disease) باعث تلفات سنگینی در میگوهای پرورشی سفید هندی در کشور گردید (افشارنسب و همکاران، ۱۳۸۵). در نتیجه به منظور تنوع گونه‌ای و معرفی میگوهایی که مقاومت بیشتری به بیماری لکه سفید داشته باشند، موسسه تحقیقات شیلات ایران تعدادی میگوی مولد سفید غربی را در سال ۱۳۸۳ وارد کشور نمود و زمینه معرفی و پرورش آن از سال ۱۳۸۵ در استان بوشهر فراهم آمد (افشارنسب و همکاران، ۱۳۸۵). ویژگی‌های این گونه از جمله رشد سریع، مقاومت در برابر بعضی بیماریها، تحمل درجه حرارت‌های بین ۱۵ تا ۴۰ درجه سانتیگراد و تحمل شوری‌های مختلف از ۰/۵ تا ۴۵ قسمت در هزار باعث گردیده که در حال حاضر بعنوان اولین گونه از نظر میزان تولید در آسیا شناخته شود (Briggs *et al*., 2004). نوع غذا و ترکیبات غذایی موجب بهبود تغذیه، سلامتی و رشد میگوها شده و شناخت مکانیزم تاثیرات آن ضمن فراهم آوردن اطلاعات لازم درخصوص ارتباط بین غذا و عملکرد فیزیولوژیکی آبزیان، کمک موثری در فرموله کردن جیره‌های غذایی و تهیه یک غذای مناسب می‌باشد.

نوکلئوتیدها از جمله ترکیبات داخل سلولی با وزن ملکولی پایین، از یک بنیان پورین یا پیریمیدین و یک قند ریبوز یا ۲-دی اکسی ریبوز و یک یا تعدادی گروه فسفات تشکیل می‌شوند. بطور کلی نوکلئوتیدها در تمام فرآیندهای سلولی دخالت داشته و نقش مهمی در وظایف ساختاری و تنظیمی بدن دارند. نوکلئوتیدها بعنوان واحد ساختمانی DNA و RNA هستند و نقش تعیین کننده‌ای در ذخیره، انتقال و بیان اطلاعات ژنتیکی دارند (شهبازی و ملک‌نیاالف و ب، ۱۳۸۱). سلولهای مهم دستگاه ایمنی مثل لنفوسیتها، گلبولهای قرمز، سلولهای خونساز، سلولهای موکوسی روده و سلولهای مغز با توجه به متابولیسم سلولی و حجم بالای واکنشهای سریع، همچنین نیاز بالای آنها به نوکلئوتید، ظرفیت بسیار محدودی برای سنتز نوکلئوتید دارند. در این سلولها تهیه نوکلئوتید از منبع خارجی برای انجام وظایف طبیعی آنها بسیار مهم است (Boza, 1998). علاوه بر آن، نیاز به نوکلئوتید در دوره رشد سریع و استرسهای فیزیولوژیک افزایش می‌یابد (Low *et al*., 2003). با توجه به تحقیقات انجام شده در موجودات مختلف، نوکلئوتید جیره دارای نقش‌های متابولیک متعددی از جمله افزایش رشد، توسعه میکروفلور روده، افزایش مقاومت به بیماری، افزایش سطح جذب دستگاه گوارش، موثر بودن در متابولیسم چربی و پروتئین، بهبود پاسخهای استرس و کاهش تخریب DNA ناشی از توکسین‌ها می‌باشد (Frankic *et al*., 2006; Boza, 1998; Li & Gatlin, 2003).

لذا با توجه به اثرات بسیار متنوع نوکلئوتید جیره روی موجودات و عدم شناخت کامل عملکرد آن در تغذیه میگوها به نظر می‌رسد بعنوان کاری نوین، بکار بردن نوکلئوتید در جیره میگوی سفید غربی کمک شایان توجهی در بهبود تغذیه و رفع احتمالی مشکلات ناشی از بروز بیماریها و استرس‌ها باشد و بتواند موجب تغییرات رفتاری و فیزیولوژیکی میگو در مواجه با این مشکلات شود.

مواد و روش کار

آزمایش در سال ۱۳۸۵ در ایستگاه تحقیقات شیلات بوشهر (در شهر دلوار) انجام شد. میگوهای سفید غربی با میانگین وزنی (±انحراف معیار) ۳/۲۱±۰/۰۳ گرم از مزرعه پرورشی در دلوار تهیه شدند. ۶ مخزن مدور پلی‌اتیلن ۳۰۰ لیتری (قطر کف ۷۰ سانتیمتر و قطر سقف ۸۰ سانتیمتر × ارتفاع ۶۰ سانتیمتر) برای آزمایش در نظر گرفته شد. قبل از ذخیره‌سازی، تانکها بوسیله مواد ضد عفونی مانند هیپوکلریت سدیم کاملاً ضدعفونی، سپس با آب شستشو داده شدند و سپس به تعداد ۲۵ عدد میگو در هر تانک قرار گرفت. هر یک از مخازن با ۲۰۰ لیتر آب پر شده و روزانه ۵۰ درصد آب آن از طریق سیفون جهت برداشت مدفوع و دیگر مواد باقیمانده تعویض شد. برای هوادهی و تامین اکسیژن به هر یک از مخازن ۱ عدد سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب گردید. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به مدت ۵ هفته انجام شد. اندازه‌گیری عوامل کیفی آب، مانند دمای آب و میزان شوری در ساعات ۱۰ تا ۱۱ و pH بصورت هفتگی انجام گرفت. در کل دوره آزمایش میزان دمای آب ۳۵-۳۱ درجه سانتیگراد، میزان شوری ۴۳-۴۱ و pH آب ۸/۴-۸/۲ در نوسان بود.

میگوها بعد از انتقال از مزرعه پرورشی به ایستگاه تحقیقاتی دلوار به منظور سازگاری به مدت یک هفته با جیره کنترل تغذیه شدند. بعد از مرحله سازگاری در ابتدای آزمایش زیست‌سنجی میگوها انجام شد. سپس با توجه به مقدار دوز پیشنهادی شرکت (Chemoforma, Switzerland)، مکمل VANNAGEN حاوی نوکلئوتید در سطح ۰/۲ درصد به جیره کنترل اضافه شد (Hill *et al*., 2006; Mishra & Hertrampf, 2006; Ancieta-Probstl *et al*., 2005). مکمل واناژن حاوی:

Archive of SID

www.SID.ir

cytidine-5′-monophosphate (CMP), disodium uridine-5′-monophosphate (UMP), adenosine-5′-monophosphate (AMP), disodium inosine-5′-monophosphate (IMP) disodium guanidine-5′–monophosphate (GMP) است. تیمار دوم گروه شاهد بود که هیچگونه مکملی به آن اضافه نشد. آزمایش برای هر تیمار در ٣ تکرار در نظر گرفته شد. از نرم‌افزار Lindo 6.1 در تهیه جیره‌ها آزمایشی ازت و انرژی استفاده شد (Halver, 1976) (جدول ١). غذادهی روزانه در ٥ وعده در ساعات ٨، ١٢، ١٦، ٢٠ و ٢٤ انجام شد. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز صبح از مخازن سیفون شده و آب نیز قبل از غذادهی تعویض گردید. تعداد حبه‌های خوراک (pellet) خورده نشده بطور تقریبی شمارش شده و وزن خشک همان تعداد حبه بعنوان مقدار غذای خورده نشده محاسبه گشت. کلیه مراحل ساخت غذا در آزمایشگاه شیلات دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور انجام شد. زیست‌سنجی میگوها یکبار در اول دوره و بار دیگر در انتهای دوره انجام گرفت.

جدول ١: ترکیب جیره‌های ساخته شده برای بچه میگوهای سفید غربی

اجزای تشکیل‌دهنده (درصد)	جیره پایه	جیره حاوی٠/٢ درصد نوکلئوتید
پودر ماهی[٥]	٣٥	٣٥
پودر میگو[٥]	١٥	١٥
دکسترین[٢]	٣٣/٠٥	٣٣/٠٥
روغن ماهی[١]	٣	٣
روغن سویا[٣]	٣	٣
مکمل معدنی[٤]••	٢	٢
مکمل ویتامینی[٤]•	٢	٢
کلسترول[٤]	٠/٥	٠/٥
ضد قارچ[٣]	٠/٢٣	٠/٢٣
دی کلسیم فسفات[٦]	١	١
سلولز[٢]	٢/٤٥	٢/٢٥
آنتی اکسیدان[٦]	٠/٠٢	٠/٠٢
بایندر[٥]	٢	٢
لستین[٤]	٠/٧٥	٠/٧٥
مکمل نوکلئوتید[٧]	٠	٠/٢٠
جمع	١٠٠	١٠٠

تجزیه تقریبی (درصد)

پروتئین	٣٣/٤٢
چربی	١٠/٠٣
رطوبت	٥/٣٢
خاکستر	٩/١١
کربوهیدرات	٤٢/١٢
انرژی قابل هضم (کیلوکالری بر کیلوگرم)	٣٩٢٤/٣

١- تهیه شده در شرکت پارس کیلکا. ٢- ساخت شرکت مرک آلمان. ٣- تهیه شده از کارخانه خوراک دام آبزیان ساری. ٤- تهیه شده در شرکت کیمیا رشد. ٥- تهیه شده از کارخانه هوواراش ٦- تهیه شده از شرکت گرماب شیمی. ٧- ساخت شرکت Chemoforma (سوئیس)

• - هر٥ کیلوگرم مکمل ویتامین ٠/٥ درصد حاوی ویتامین‌های:A=8000000IU، D3=2000000IU، E=150g، B1=50, K3=50g، B2=40g، B3=150g، B5=200g، B6=80g، B9=15g، B12=0/05g ، H=1/5g ، C=500g ، BHT=100g، اینوزیتول=٥٠٠ گرم، کریر= تا ٥ کیلوگرم می‌باشد.

•• - هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی مواد معدنی کمیابی شامل: آهن (٢٠ گرم)، روی (٦٠ گرم)، سلنیم (٤٠٠ میلیگرم)، کبالت (٢٠٠ میلیگرم)، مس (٢ گرم)، منگنز (٤٠ گرم)، ید (٤٠٠ میلیگرم)، کولین کلراید (٦٠ گرم)، کریر (تا ١ کیلوگرم) می‌باشد.

Archive of SID
www.SID.ir

برای بررسی رشد میگوها و مقایسه بین تیمارها از شاخص‌های رشد استفاده شد که با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید (Goytortua-Bores *et al.*, 2006).

میانگین وزن اولیه (گرم) - میانگین وزن ثانویه(گرم) =افزایش وزن‌بدن

/ مقدار غذای خورده شده(گرم) = ضریب تبدیل غذایی

افزایش وزن بدن(گرم)

- میانگین وزن ثانویه (گرم) = درصد افزایش وزن بدن

۱۰۰ × میانگین وزن اولیه (گرم) / میانگین وزن اولیه (گرم)

-لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی)} = ضریب رشد ویژه

۱۰۰× {زمان/ (لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه

۱۰۰× (تعداد میگوهای انتهای دوره/تعداد میگوهای ابتدای) =درصد بقاء

/ وزن تر تولید شده (گرم) = نرخ بازده پروتئین

پروتئین مصرفی(گرم)

- طول حدقه‌ای کاراپاس نهایی= افزایش طول حدقه‌ای کاراپاس (میلیمتر)

طول حدقه‌ای کاراپاس اولیه

/ (کل غذای مصرفی برای یک میگو) = غذای مصرفی روزانه

۱۰۰× (روزهای پرورش/$^{0.5}$(وزن نهایی میگو × وزن اولیه میگو))

نمونه چربی میگو با کلروفرم/ متانول استخراج شد (Folch *et al.*, 1957) و اسیدهای چرب با BF_3 در متانول متیله شدند. اسیدهای چرب متیل استر بوسیله n-هگزان استخراج شدند (Metcalfe *et al.*, 1966). برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه از دستگاه گازکروماتوگراف (GC) varian مدل CP-3800 (ساخت کشور هلند) مجهز به ستون کاپیلاری از نوع (60m×0.25mm SGE BPX70) و آشکارساز نوع FID (Flame ionization detector) استفاده گردید. دمای آشکارساز و محل تزریق بترتیب روی ۲۶۰ درجه سانتیگراد و ۲۳۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. ۱ میکرولیتر از نمونه استری با استفاده از سرنگ میکرولیتری به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق شد. دمای اولیه ستون روی ۱۶۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. بعد از مدت ۱۰ دقیقه، دمای ستون با سرعت ۲۰ درجه سانتیگراد در دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه سانتیگراد رسانده شد. به مدت ۱۰ دقیقه دما در این درجه باقی ماند و سپس با سرعت ۱ درجه سانتیگراد در دقیقه به دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد رسید. پس از یک دقیقه با سرعت ۲۰ درجه سانتیگراد در دقیقه تا دمای ۲۲۰ درجه سانتیگراد افزایش یافت. در انتها ستون به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۲۰ درجه سانتیگراد باقی ماند تا تمام ترکیبات از آن خارج گردد. در این روش از گاز هلیم (با خلوص ۹۹/۹۹۹۹ درصد) بعنوان گاز حامل و گاز هیدروژن برای سوخت، ازت (با خلوص ۹۹/۹۹۹۹ درصد) بعنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. با مقایسه زمانهای خروج هر اسید چرب نمونه با زمانهای خروج اسیدهای چرب استاندارد و همچنین مقایسه سطح زیر منحنی نمودارها رسم شده، تک‌تک اسیدهای چرب شناسایی و مقدار آن محاسبه شد. مقادیر اسید چرب بصورت درصد سطح زیر پیک از کل بیان شد (Firestone, 1998).

در پایان دوره نمونه‌ها با وزن و طول یکسان انتخاب و به مدت ۲۴ ساعت در محلول دیویدسون تثبیت شدند. پس از آن چندین مرتبه با الکل اتانول ۷۰ درصد مورد شستشو قرار گرفتند، سپس نمونه‌ها توسط الکل اتانول‌های ۹۵، ۱۰۰ درصد و توسط الکل بوتانول آبگیری شدند. نمونه‌ها پس از قرارگیری به مدت ۳ ساعت در گزیلن به منظور پارافینه کردن، در داخل آون در پارافین مایع قرار داده شدند و پس از آن توسط پارافین مرک (Merck) قالب‌گیری شدند. از بافتها برش‌هایی به ضخامت ۴ میکرومتر توسط میکروتوم تهیه شد. لامها پس از نگهداری در داخل آون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و پس از آن پارافین‌زدایی توسط گزیلن به روش هماتوکسیلین- فوشین رنگ‌آمیزی شده و توسط میکروسکوپ نوری Micros مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند (Khodabandeh *et al.*, 2006).

حدود ۸۰ عدد لام که روی هر کدام حدود ۱۵ مقطع بافتی از روده قرار گرفته بود (بطور تقریبی حدود ۱۲۰۰ مقطع بافتی برای شاهد و همین مقدار برای تیمار) انتخاب شد و با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی ۱۰۰۰ اقدام به تهیه عکس از آنها شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار (Image Tools (2.0، میانگین طولی سلولهای اپی‌تلیال بندهای اول، دوم و سوم شکمی بطور جداگانه مورد سنجش قرار گرفت (Varsamos, 2002).

تجزیه و تحلیل داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با آزمون T-test در سطح ۵ درصد انجام شد و از نرم‌افزار آماری SPSS برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید.

نتایج

جدول ۲ نتایج مربوط به مقایسه میانگین شاخص‌های رشد میگوی سفید غربی در گروه شاهد و تیمار ۰/۲ درصد نوکلئوتید را نشان می‌دهد. نتایج مشخص نمود که افزودن نوکلئوتید به ترکیب غذایی میگوی سفید غربی سبب بهبود

Archive of SID
www.SID.ir

شاخص‌های رشد گردیده است. در تیمار ۰/۲ درصد نوکلئوتید، ۱۰ درصد افزایش وزن بدن، ۷/۹۷ درصد افزایش ضریب رشد ویژه، ۱۱/۳۲ درصد افزایش نرخ بازده پروتئین و ۹/۶۴ در صد کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید ($P<0/05$). اختلاف معنی‌داری در میزان بقاء، طول حدقه‌ای کاراپاس و غذای مصرفی روزانه مشاهده نشد ($P>0/05$).

جدول۲: نتایج شاخص‌های رشد میگوهای سفید غربی تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی ۰/۲ درصد نوکلئوتید

شاخص رشد/ تیمار	صفر (درصد)	۰/۲ (درصد)
متوسط وزن اولیه (گرم)	۳/۲۱±۰/۰۳	۳/۲۰±۰٦۰
متوسط وزن ثانویه (گرم)	۵/۲۱±۰/۱۰	۵/٤۱±۰/۰٤
افزایش وزن بدن (گرم)	۲/۰۰±۰/۰۷[b]	۲/۲۰±۰/۰۵[a]
متوسط طول حدقه ای کاراپاس اولیه (میلیمتر)	۱٦/۹۰±۰/۱۰	۱٦/۸۳±۰/۲۸
متوسط طول حدقه ای کاراپاس ثانویه (میلیمتر)	۱۹/۹۳±۰/۱۷	۱۹/۹۹±۰/۲۹
افزایش طول حدقه ای کاراپاس (میلیمتر)	۳/۰۳±۰/۰۹	۳/۱٦±۰/۱۷
غذای مصرفی روزانه (درصد وزن بدن در روز)	۳/۹۱±۰/۰۰	۳/۸۲±۰/۰٤
افزایش وزن بدن (درصد)	٦۲/۲۳±۱/۷۷[b]	٦۷/۸۵±۲/۹۸[a]
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۲/۸۰±۰/۰۸ [b]	۲/۵۳±۰/۰۵ [a]
ضریب رشد ویژه (SGR)	۱/۳۸±۰/۰۳ [b]	۱/٤۹±۰/۰۵ [a]
درصد بقا	۹۳/۳۳±۲/۳۰	۹۳/۳۳±۲/۳۰
نرخ بازده پروتئین (PER) (درصد)	۱/۰٦±۰/۰۳[b]	۱/۱۸±۰/۰۲[a]

میانگین (± انحراف معیار) ۳ تکرار، نبودن حروف در هر ردیف نشانه عدم اختلاف معنی‌دار است ($P>0/05$).

درخصوص ترکیب اسیدهای چرب عضله، افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی میگوی سفید غربی سبب افزایش معنی‌داری در میزان اسیدهای چرب ۱۴:1n5، ۲۰:3n3 و ۲۲:6n3 (DHA) در مقایسه با گروه شاهد شد ($P<0/05$). در تیمار ۰/۲ درصد نوکلئوتید, مقدار اسیدهای چرب اشباع (SFA)، اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه (MUFA)، اسیدهای چرب غیراشباع با بیش از یک پیوند دوگانه (PUFA)، مقدار n3 و n6، نسبت n3/n6 و میزان EPA+DHA، افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد نشان نداد (جدول۳) ($P>0/05$). همچنین میزان کل اسیدهای چرب عضله میگو ۱۰/۲۷ درصد افزایش یافت.

در هر سه بند شکمی، طول سلولهای اپی‌تلیال روده در تیمار نوکلئوتید نسبت به گروه شاهد افزایش یافت که این افزایش تنها در بند اول شکمی معنی‌دار بود ($P<0/05$). طول سلولهای اپی‌تلیال روده در بند اول شکمی ۳۱/۳۵ درصد افزایش نشان داد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳: اسیدهای چرب بافت عضله میگوهای تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی ۰/۲ درصد نوکلئوتید

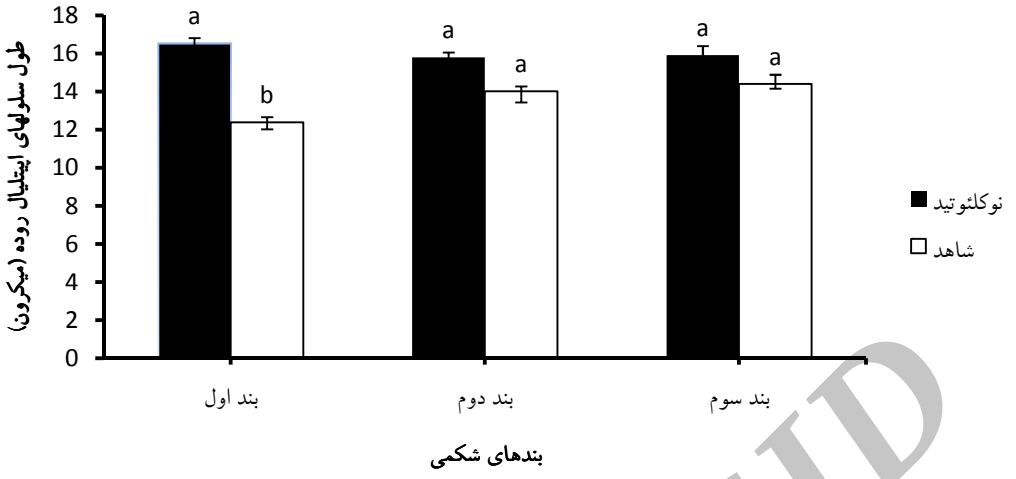
اسیدهای چرب (درصد)	صفر (درصد)	۰/۲ (درصد)
C14	۰/۹۰±۰/۵۰	۰/۹٤±۰/۲۲
C16	۲۰/۲۰±۱/۱۵	۱۹/۱۲±۰/۵۰
C18	۱۲/۲۰±۱/۵۸	۱۳/۳۲±۰/٤۵
C20	۰/۳۳±۰/۰٦	۰/٤۱±۰/۰٤
SFA	۳۳/٦۳±۹/۵۷	۳۳/۷۹±۹/۲۸
C14:1n-5	۰/۰۱±۰/۰۰[b]	/۱٦±۰/۰۰[a]
C16: 1n-7	۱/۳۵±۰/۱۱	۱/۲٦±۰/۰٤
C18: 1n-7	۲/٦٦±۰/۰٦	۲/٦٤±۰/۱۵
C18: 1n-9	۱٤/٤۷±۱/۰۰	۱٤/۸٤±۰/۲٤
C20: 1n-9	۱/۲۳±۰/۰۷	۱/٤۰±۰/۱۲
MUFA	۱۹/۷۱±٦/۳۹	۲۰/۳۰±٦/۰۸
C18:3n-3	۰/۸۰±۰/۲۱	۰/٦۵±۰/۰۵
C18:2n-6	۱۰/۱۸±۱/٤۸	۱۰/۹۰±۰/۱۸
C20:3n-3	۰/۳٤±۰/۰۳[b]	۳/٦۳±۰/۰٤[a]
C20:2n-6	۰/۵۸±۰/۰۵	۰/٦۳±۰/۰٦
C20:4n-6	*	*
C20:5n-(EPA)	۷/۷۹±۲/۱۵	۹/۵۳±۰/٦۰
C22:6n-(DHA)	۵/٤۳±۰/۹٤[b]	۷/۰۹±۰/٤۲[a]
PUFA	۲۵/۱۲±٤/۲۳	۳۲/٤۳±٤/٤٤
n-3	۱٤/۳٦±۳/٦۲	۲۰/۹۰±۳/۸۹
n-6	۱۰/۷٦±٦/۷۸	۱۱/۵۳±۷/۲٦
n-3/n-6	۱/۳۳	۱/۸۱
EPA+DHA	۱۳/۲۲±۱/٦٦	۱٦/٦۲±۱/۷۲
جمع کل	۷۸/٤٦±٦/٤۰	۸٦/۵۲±٦/۲٦

میانگین (± انحراف معیار) ۳ تکرار، نبودن حروف در هر ردیف نشانه عدم اختلاف معنی‌دار است (P>۰/۰۵).

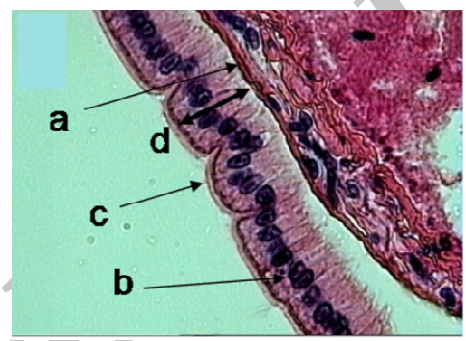
*** مقدار بسیار ناچیز و غیر قابل تعیین**

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ١: افزایش رشد سلولهای اپی‌تلیال روده در میگوهای تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی نوکلئوتید حروف لاتین غیریکسان در راس ستونها بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P<٠/٠٥) بین بندهای مختلف شکمی میگو می‌باشد.



شکل ١: برش عرضی از بافت روده میگوها در این تصویر سلولهای اپیتلیال روده (d) مشخص شده که روی غشای پایه (a) قرار گرفته است و در سطح آن میکروویلی‌ها (c) وجود دارد. هر سلول اپیتلیال خود حاوی یک هسته (b) می‌باشد. با استفاده از نرم‌افزار Image Tools (2.0) میانگین طول سلولهای اپی‌تلیال روده (فلش تیره) مورد سنجش قرار گرفت. بزرگنمایی ٢٤٠٠. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- فوشین n= 1200.

بحث

در تحقیق حاضر افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی میگوی سفید غربی تقریباً سبب افزایش ١٠ درصدی وزن بدن، ٨ درصد ضریب رشد ویژه، ١١ درصد نرخ بازده پروتئین و حدود ١٠ درصد کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه شاهد شد. در تحقیق Hertrampf (٢٠٠٣) روی میگوهای تغذیه شده با نوکلئوتید، میزان وزن بدست آمده ١٧/٨ درصد تا ٢٤/٧ درصد و میزان ضریب تبدیل غذایی ٢٧/٩ درصد تا ٣٤/٨ درصد بهبود یافت. Mishra و Hertramp (٢٠٠٦) میگوهای ببری سیاه با میانگین وزنی ٠/١ گرم را با نوکلئوتید جیره در سطح ٠/٢ درصد به مدت ٩٨ روز مورد تغذیه قرار دادند. برای این منظور از استخرهای خاکی برای تیمارهای آزمایشی خود استفاده کردند. آنها در تحقیق خود بترتیب به بهبود رشد، ضریب تبدیل غذایی و نرخ بازده پروتئین به میزان ٩/٨، ٢٥/٢ و ٢٣/٨ درصد دست یافتند. اما افزایش معنی‌داری در میزان بقا مشاهده نکردند. Borda و همکاران (٢٠٠٣) در بررسی‌های خود این فرضیه را مطرح کردند که یک منبع خارجی از نوکلئوتیدها ممکن است رشد ماهی و سخت پوستان را در مراحل اولیه جهت مواجهه با میزان بالای همانندسازی سلولها افزایش دهد. بعلاوه این فرضیه

Archive of SID
www.SID.ir

مطرح شده است که اثر افزایش رشد متاثر از نوکلئوتیدها، در نتیجه بهبود جذب در مراحل ابتدایی رشد، بلع غذایی سریعتر، که تراوش مواد غذایی به آب را کاهش می‌داد، یا احتمالاً به خاطر نقش آن در متابولیسم است.

در مطالعه حاضر مشخص شد که نوکلئوتید جیره دارای اثرات مثبتی بر پروفیل اسید چرب میگوی سفید غربی است. براساس این نتایج در تیمار ۰/۲ درصد نوکلئوتید, مقدار DHA، ۳۰/۵۷ درصد و میزان کل اسید چرب ۱۰/۲۷ درصد افزایش نشان داد.

بسیاری از محققین دو مکانسیم را برای اثرات نوکلئوتیدها بر ترکیب اسیدهای چرب گزارش نموده‌اند. مکانیسم اول اینگونه بیان می‌کند که نوکلئوتیدها ممکن است با تغییر فلور روده بر سطح اسیدهای چرب غیر شباع اثرگذار باشند. مکانیسم دوم مربوط به دخالت نوکلئوتیدها در ساختار کوآنزیم‌ها و نقش آنها در بهبود سنتز پروتئین‌ها و آنزیم‌های کبدی مورد نیاز برای غیراشباع سازی و طویل کردن زنجیره اسیدهای چرب است که مستقیماً در سنتز اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند در گلبولهای قرمز یا در کبد موثر هستند (Cosgrove, 1998). بطور کلی مطالعه‌ای در ارتباط با اثر نوکلئوتید جیره بر ترکیب اسیدهای چرب عضله میگو انجام نشده است. تاثیرات مثبت نوکلئوتید جیره بر بافت روده حیوانات اهلی و خانگی مانند، افزایش سرعت ترمیم آسیب‌های روده‌ای پس از اسهال (Bueno *et al*., 1994)، بهبود میکروفلور روده (Gil *et al*., 1986; Uauy *et al*., 1990)، افزایش سطح مخاط (Carver, 1994)، تسریع رشد و تمایز روده، افزایش فعالیت آنزیم‌های بخش حاشیه مسواکی (brush border) و افزایش طول پرزها (Uauy *et al*., 1990) به اثبات رسیده است. برای اولین بار واکنش‌های مورفولوژیکی روده ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) به نوکلئوتیدهای جیره از طریق بررسی بافت‌شناسی کلاسیک Burrells و همکاران (۲۰۰۱) مشخص شد. در آن مطالعه، ارتفاع میانگین چین خوردگی روده در قسمتهای قدامی، میانی و خلفی بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. در تحقیق حاضر نیز در هر ۳ بند شکمی طول سلولهای اپی‌تلیال افزایش یافته، اگر چه این افزایش فقط در بند اول شکمی معنی‌دار بود. در گزارش Boza (۱۹۹۸) این گونه بیان شد که بخش قدامی روده کوچک بیشترین ظرفیت جذب اسیدهای نوکلئیک و محصولات مرتبط به آن را دارد که این موضوع نشان‌دهنده این واقعیت است که سلولهای این قسمت از روده کوچک دارای کمترین ظرفیت برای سنتز نوکلئوتیدها از طریق مسیر de novo هستند. از آنجا که در این تحقیق طول سلولهای اپی‌تلیال روده در بند اول شکمی افزایش معنی‌داری داشته است، شاید بتوان اینطور اذعان کرد که بیشترین جذب نوکلئوتید جیره از طریق مسیر salvage در بند اول شکمی میگوی سفید غربی صورت گرفته است چرا که بیشترین تاثیر خود را در این قسمت گذاشته است.

از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که نوکلئوتید جیره دارای اثرات مثبتی بر رشد و عملکرد فیزیولوژیکی میگو است. براساس نتایج حاصله، میزان اسیدهای چرب DHA و ۲۰:۳n۳ که برای تغذیه انسانها ضروری است و همچنین طول سلولهای اپی‌تلیال روده که می‌تواند در بهبود عملکرد روده نقش مثبتی را ایفا نماید افزایش معنی‌داری یافت.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مدیریت و کارکنان محترم ایستگاه تحقیقاتی شیلات دلوار بویژه آقای مهندس عباس تمیمی و مهندس عبدالرضا بازیاری که در فراهم کردن امکانات این تحقیق نهایت همکاری را مبذول داشتند تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

افشارنسب، م. دشتیان‌نسب، ع. و یگانه، و.، ۱۳۸۵. بررسی بیماریزایی ویروس سندرم لکه سفید (White spot Virus Syndrome) در میگوی پا سفید (*Litopenaeus vannamei*). مجله علمی شیلات ایران، سال شانزدهم، شماره ۱، بهار۱۳۸۶، صفحات ۱ تا ۸.

شهبازی، پ. و ملک‌نیا، ن.، ۱۳۸۱الف. بیوشیمی عمومی (جلد اول). انتشارات دانشگاه تهران. ۶۵۲ صفحه.

شهبازی، پ. و ملک‌نیا، ن.، ۱۳۸۱ب. بیوشیمی عمومی (جلد دوم). انتشارات دانشگاه تهران. ۴۲۸ صفحه.

Ancieta-Probstl D.K., Smullen R.P. and Barnes A.C., 2005. Enhancing growth performance of shrimp with nucleotide supplemented diets. Aquaculture Asia-pacific Magazine, 14:26-28.

Borda E., Martinez-Puig D. and Cordoba X., 2003. A balanced nucleotide supply makes sense. Feed Mix, 11: 24–26.

Boza J., 1998. Nucleotide in infant nutrition. Monatsschr Kinderheilkd, 146:39–48.

Briggs M., Funge-Smite S., Subasinghe R. and Phillips M., 2004. Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and Pacific. FAO, RAP Publication. Thailand. pp.20-45.

Bueno J., Torres M., Almendros A., Carmona R., Nunez M.C., Rios A. and Gil A., 1994. Effects of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhoea. Histological and ultrastructural changes. Gut, 35:926–933.

Archive of SID
www.SID.ir

Burrells C., William P.D., Southage P.J. and Wadsworth S.L., 2001. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rate and physiology of Atlantic salmon. Aquaculture, 199:171-184.

Carver J.D., 1994. Dietary Nucleotides: Cellular Immune, Intestinal and Hepatic System Effects. Journal of Nutrition, 124:144S-148S.

Cosgrove M., 1998. Nucleotides. Nutrition, 14:748–751.

Firestone D., 1998. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society, Vol. I–II (5 ed.) (Method 1–62). Champaign: AOCS.

Folch J., Lees M. and Sloane-Stanley C.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226:477-509.

Frankic T., Pajk T., Rezar V., Levart A. and Salobir J., 2006. The role of dietary in nucleotides reduction of DNA damage induced by T-2 toxin and deoxynivalenol in chicken leukocytes. Food and Chemical Toxicology, 44:1838–1844.

Gil A., Corral E., Martı´nez-Valverde A. and Molina, J.A., 1986. Effects of the addition of nucleotides to an adapted milk formula on the microbial pattern of feces in at term newborn infants. Journal of Clincal Nutrition and Gastroenterology, 1:127–132.

Goytortua-Bores E., Civera-Cerecedo R., Rocha-Meza S. and Green-Yee A., 2006. Partial replacement of red crab (*Pleuroncodes planipes*) meal for fish meal in practical diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Effects on growth and *in vivo* digestibility. Aquaculture, 256:414–422.

Halver J.E., 1976. The nutritional requirements of cultivated warm water and cold water fish species. Paper No. 31, FAO Technical Conf. In Aquaculture. Kyoto, May 26- June2. 9P.

Hertrampf J.W., 2003. Less stress with nucleotides. Asian Aquaculture Magazine. 6:22-24.

Hill J., Smullen R., Ancieta D. and Barnes A.C., 2006. Highly purified dietary nucleotide supplements improve growth performance and health status of penaeid shrimp. AQUA Meeting abstracts.

Khodabandeh S., Charmantier G. and Charmantier-Daures M., 2006. Immun–olocalization of Na^+, K^+-ATPase in osmoregulatory organs during the embryonic and post-embryonic development of the lobster *Homarus gammarus*. Journal of Crustacean, Biology, 26(4):515-523.

Li P. and Gatlin D.M., 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. Aquaculture, 251:141–152.

Low C., Wadsworth S., Burrells C. and Secombes C.J., 2003. Expression of immune genes in turbot (*Scophthalmus maximus*) fed a nucleotide-supple–mented diet. Aquaculture, 221:23–40.

Metcalfe L.D., Schmitz A.A. and Pelka J.R., 1966. Rapid preparation of fatty acids esters from lipids for gas chromatographic analysis. Annals of Chemistry, 38:524–535.

Mishra S. K., and Hertrampf J.W., 2006. Nucleotides: The performance promoter. Aquaculture Asia-pacific Magazine, pp.32-33.

Uauy R., Stringel G., Thomas R. and Quan R., 1990. Effect of dietary nucleotides on growth and maturation of the developing gut in the rat. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 10:497–503.

Varsamos S., 2002. Tolerance Range and Osmoregulation in Hypersaline conditions in the European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Journal of Marine Biology Association, 82:1047-1048.

Archive of SID

www.SID.ir

Effected by dietary nucleotide on changes in intestinal morphology, growth and fatty acid profile of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

Oujifard A.[(1)]; Abedian Kenari A.[*(2)];Taheri A.[(3)] and Ghanizadeh Kazerouni E.[(4)]

aabedian@modares.ac.ir

1- Faculty of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

2,4- Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, P.O.Box: 46414-356 Noor, Iran

3- Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, P.O.Box: 99717-56499 Chahbahar, Iran

Received: October 2011 Accepted: January 2012

Keywords: Nucleotide, Fatty acid, Feeding, Growth, *Litopenaeus vannamei*

Abstract

The effects of dietary nucleotide (0.2%) on the growth, intestinal morphology as well as fatty acid profile of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* was investigated in Bushehr province (Delvar) for a 5-week feeding trial. The experiment was carried out in triplicate in circular PVC tanks of 300L capacity. Each tank was randomly filled with 25 shrimps weighting on average 3.21±0.03g. Added dietary nucleotide significantly improved growth factors such as 10% weight increase, 7.97% increase in specific growth rate (SGR), 11.32% increase in protein efficiency ratio (PER), 9.64% decrease in feed conversion ratio (FCR) and 14:1n5, 20:3n3 and DHA fatty acids. However, no significant differences were evident in survival, carapace length gain, daily feed consumption and saturate fatty acid (SFA), monounsaturated fatty acid (MUFA), poly unsaturated fatty acid (PUFA) content, n-3/n-6 as well as EPA+DHA fatty acids between the two treatments. Intestine epithelium cells height (IECH) in the abdominal first section were significantly higher in shrimp fed by dietary nucleotide.

*Corresponding author

Archive of SID

www.SID.ir