تأثير نوكلئوتيد جيره بر رشد، بقا و برخي شاخصهاي همولنف ميگوي وانامي (*Litopenaeus vannamei* Boone,۱۹۳۱)

امين اوجي‌فرد[۱]، عبدالمحمد عابديان‌كناري[۲]*، محمود نفيسي بهابادي[۳]، بابک قائدنيا[۴]، نعمت ا... محمودي[۵]

۱- دانش‌آموخته كارشناسي ارشد شيلات، دانشكده منابع طبيعي و علوم دريايي، دانشگاه تربيت مدرس، نور
۲- دانشيار دانشكده منابع طبيعي و علوم دريايي، دانشگاه تربيت مدرس، نور
۳- استاديار دانشكده كشاورزي و منابع طبيعي، دانشگاه خليج فارس، برازجان
۴- كارشناس ارشد بخش بهداشت و بيماريهاي پژوهشكده ميگوي كشور، بوشهر
۵- دانش‌آموخته كارشناسي ارشد شيلات، دانشكده منابع طبيعي و علوم دريايي، دانشگاه تربيت مدرس، نور

چكيده

تأثير نوكلئوتيد جيره بر رشد، بقا و برخی شاخصهای همولنف ميگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) با وزن متوسط ۰/۰٤g±۳/۲۱ به مدت ۳۵ روز بررسی شد. آزمايش درون مخازن ۳۰۰ ليتری با تراكم ذخيره‌سازی ۲۵ عدد ميگو صورت گرفت. نوكلئوتيد جيره در سطح ۰/۲٪ به جيره غذايی اضافه و با گروه شاهد (صفر درصد) مقايسه شد. غذادهی۳ بار در روز به صورت اشباع انجام گرفت. افزودن نوكلئوتيد جيره به تركيب غذايی سبب افزايش معناداری در وزن نهايی، ضريب رشد ويژه، ميزان بازده پروتئين و كاهش معناداری در ضريب تبديل غذايی در مقايسه با گروه شاهد شد (p<۰/۰۵). در ميزان زنده‌مانی، طول حدقه‌ای كاراپاس و غذای مصرفی اختلاف معناداری بين دو گروه مشاهده نشد (p>۰/۰۵). از نظر تعداد كل هموسيت، شمارش تفريقی هموسيتها (هيالين و دانه‌ای بزرگ) و مقدار كل پروتئين پلاسما اختلاف معناداری در ميگوهای تغذيه شده با نوكلئوتيد جيره در مقايسه با گروه كنترل مشاهده شد(p<۰/۰۵).

كليد واژگان: تغذيه، نوكلئوتيد جيره، رشد، همولنف، ميگوی وانامی.

۱- مقدمه

ميگوی وانامی از گونه‌های مهم پرورشی محسوب می‌شود. پراكنش جغرافيايی آن به صورت بومی در آبهای اقيانوس آرام، سواحل مكزيک، آمريكای جنوبی و مركزی در ناحيه‌ای كه درجه حرارت آب اقيانوس در تمام طول سال بالاتر از ۲۰°C است, می‌باشد[۱]. اين ميگو به علت مزايای قابل توجه در پرورش به تمام نقاط جهان انتقال يافته است [۲]. نسبت به شوريهای مختلف تحمل خوبی داشته و در مقابل بيماريهای ويروسی مانندIHHN و ديگر پاتوژنها مقاومت بالايی دارد [۳]. از سال ۲۰۰۳ اين گونه رتبه اول توليد را در بين گونه‌های پرورشی كسب كرده است. براساس همين بتدريج به دليل هزينه‌های پايين غذايی و سازگاری بالا جايگزين ساير گونه‌های پرورشی در جهان گرديد [۴]. با توجه به مزايای ذكر شده به منظور ايجاد تنوع گونه‌ای و خروج از توليد تک محصولی گونه سفيد هندی و فراهم آوردن قدرت رقابت بيشتر در بازارهای جهانی مؤسسه تحقيقات شيلات ايران

* نويسنده مسئول مقاله: تلفن: ۳-۰۱۲۲۶۲۵۳۱۰۱، صندوق پستی ۳۵۶-۴۶۴۱۴، E-mail:aabedian@modares.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

گونه مورد نظر را انتخاب و در سال ۱۳۸۳ وارد کشور کرد. به این ترتیب زمینه معرفی و توسعه آن از سال ۱۳۸۵ در استان بوشهر فراهم آمد [۵].

اخیراً استفاده از نوکلئوتید در جیره‌های غذایی به دلیل تقویت سیستم ایمنی، افزایش سطح جذب در روده و مؤثر بودن در رشد آبزیان, بسیار مورد توجه قرارگرفته است [۶]. نوکلئوتیدها از جمله ترکیبات داخل سلولی با وزن ملکولی پایین از یک بنیان پورین یا پیریمیدین و یک قند ریبوز ۲- دی‌اکسی ریبوز و یک یا تعدادی گروه فسفات تشکیل می‌شوند. به طور کلی نوکلئوتیدها تقریباً در تمام فرایندهای سلولی دخالت داشته, نقش مهمی در وظایف ساختاری، تنظیمی بدن دارند که از جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

الف. به عنوان واحد ساختمانی DNA وRNA هستند و نقش تعیین کننده‌ای در ذخیره، انتقال و بیان اطلاعات دارند.

ب. در بسیاری از مسیرهای بیوسنتز نقش دارند به طور مثال یوریدین دی فسفات به عنوان حامل ویژه قند در بیوسنتز پلی‌ساکاریدها نقش ایفا می‌کنند.

ج. در انتقال انرژی شیمیایی نقش دارند که معمولاً با از دست دادن گروه فسفات انجام می‌شود. ATP یکی از رایجترین مواد در انتقال انرژی است.

د. به عنوان ترکیبات کوآنزیم مثل فلاوین آدنین دی نوکلئوتید (FAD) و نیکوتین امیدآدنین دی نوکلئوتید (NAD) به کار می‌روند.

ه. تنظیم‌کننده بیولوژیک مثل cyclic phosphate (cylic AMP)-۵´، ۳´ Adenosine می‌باشند که در تنظیم تمام پروسه‌های بیولوژیک نقش کلیدی دارند.

نوکلئوتیدها به صورت پیوسته در سلول سنتز، تجزیه و بازیافت می‌شوند و معمولاً از طریق ۲ مسیر مهم تشکیل می‌شوند. نوکلئوتیدها از طریق مسیر دی نوو[1] از پیش‌ماده‌های آمینو اسید گلوتامین، آسپارتیک اسید، گلایسین، فورمات و دی‌اکسیدکربن شکل می‌گیرند. آنها همچنین از طریق مسیر سالوج[2] به وسیله پیوند ریبوز فسفات با بازهای آزاد به وجود آمده از تجزیه هیدرولیتیکی اسیدهای نوکلئیک و نوکلئوتید سنتز می‌شوند[۷]. این مسیر هم ساده‌تر است و هم انرژی کمتری نسبت به دی نوو مورد نیاز است و به وسیله بازهای آزاد قابل دسترس تنظیم می‌شود. در تحقیقات انجام شده روی موجودات مختلف مشخص شده که مسیرهای سالوج و دی نوو به طور قابل ملاحظه‌ای بین بافتهای مختلف فرق می‌کند و به طور معناداری تحت تأثیر نیازهای متابولیک یا وظایف فیزیولوژیک قرار می‌گیرد. در برخی از بافتها که ظرفیت محدودی در سنتز دی نوو[3] برای تولید نوکلئوتید دارند منبع خارجی از نوکلئوتیدها می‌تواند در مسیر سالوج برای تولید نوکلئوتید مورد استفاده قرار گیرد و سبب تقویت این مسیر شود. سلولهای مهم دستگاه ایمنی مثل لنفوسیتها، گلبولهای قرمز، سلولهای خونساز و سلولهای موکوسی روده 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 نرمال آنها بسیار مهم است [۸، ۹]. حتی در سلولهایی که قادرند خودشان به اندازه کافی مولکولهای لازم برای ساخت DNA و RNA را به منظور تقسیم سلولی تولید کنند, فرایند تولید نیاز به سطح بالایی از انرژی دارد اما با فراهم کردن نوکلئوتیدها برای این فرایند ضمن افزایش سرعت تولید بویژه هنگام استرس، نیاز به انرژی کم می‌شود[۱۰]. علاوه بر آن نیاز به نوکلئوتید در دوره رشد سریع و استرسهای فیزیولوژیک و کاهش پروتئین جیره افزایش می‌یابد[۱۱].

در سخت‌پوستان هموسیتهای سیال[4] به طور کلی به ۳ دسته طبقه‌بندی می‌شوند؛ ۱- هیالین[5] ۲- نیمه دانه‌ای[6] ۳- دانه‌ای بزرگ[7]. هموسیتهای سیال نه فقط از طریق فاگوسیتوز و

1. De novo

2. Salvage
3. De novo synthesis
4. Circulating haemocytes
5. Hyalin
6. Semi-granular
7. Large-granular

Archive of SID
www.SID.ir

کشتن عـوامـل عفونی بلکه بـا سنتز و اگزوسیتوز ترکیبـات ضدمیکروبی, نقش مهمی در سیستم ایمنی میگو ایفا می‌کنند[۱۲]. مطالعات محققان نشان داده است که نوکلئوتید جیره اثرات مثبت معناداری بر رشد و سیستم ایمنی میگوها (افزایش آنزیم پروفنل اکسیداز و تعداد هموسیتها) دارد[۱۳–۱۵]. با توجه به مشکلات پرورش میگو در ایران و بروز بیماری لکه سفید، استفاده از نوکلئوتید جیره می‌تواند موجبات تقویت سیستم ایمنی میگو را فرآهم آورد. بنابراین مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر نوکلئوتید جیره بر شاخصهای رشد، بقا و تغییرات برخی شاخصهای همولنف میگوی وانامی انجام شد.

۲- مواد و روش‌کار

این آزمایش در تابستان سال ۸۶ در ایستگاه تحقیقات شیلات بوشهر (دلوار) انجام شد. میگوهای وانامی با میانگین وزنی ۰/۰٤± ۳/۲۱g از یک مزرعه پرورشی در دلوار (مزرعه آقای اخترشناس) تهیه شدند. ۶ مخزن مدور پلی‌اتیلن۳۰۰ لیتری (قطر کف ۷۰cm، قطر سقف ۸۰cm و ارتفاع ۶۰cm) برای این آزمایش درنظر گرفته شد. قبل از ذخیره‌سازی، تانکها به وسیله مواد ضدعفونی کننده نظیر هیپوکلریت سدیم کاملاً ضدعفونی و با آب شستشو شدند. در هر مخزن ۲۵ عدد میگو قرار گرفت. هر یک از مخازن با ۲۰۰ لیتر آب پر شد و روزانه۵۰٪ آب آن از طریق سیفون کردن برای برداشت مدفوع و دیگر مواد باقیمانده تعویض می‌شد. برای هوادهی و تأمین اکسیژن به هر یک از مخازن ۱ عدد سنگ هوا که به منبع هواده متصل بودند، 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، همچون دمای آب و میزان شوری روزانه در ساعات ۱۰–۱۱ و pH به صورت هفتگی انجام گرفت. در کل دوره آزمایش میزان دمای آب ۳۱°C–۳۵، میزان شوری ۴۱–۴۳ قسمت در هزار و pH آب ۸/۲–۸/۴ در نوسان بود.

۲-۱- تغذیه و زیست‌سنجی میگوها

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 پیشنهـادی شـرکـت (Chemoforma, Switzerland) مکمل اپتیمون[1] حاوی نوکلئوتید در سطح ۰/۲٪ به جیره کنترل اضافه شد [۱۳–۱۵].

مکمل اپتیمون حاوی (UMP) -monophosphate -۵ disodium uridine, (CMP) -monophosphate ۵ cytidine, (AMP) -monophosphate ,adenosine-۵-monophosphate (IMP) ۵ -monophosphate (GMP),disodium inosine-۵ -disodium guanidine است.

تیمار دوم گروه شاهد بود که هیچگونه مکملی به آن اضافه نشد. آزمایش برای هرتیمار در ۳ تکرار در نظر گرفته شد. جیره پایه حاوی ۳۳/۴۲٪ پروتئین، ۱۰/۰۳٪ لیپید، ۹/۱۱٪ خاکستر، ۴۲/۱۲٪ کربوهیدرات، ۵/۳۲٪ رطوبت و ۳۹۲۴/۳ kcal/kg انرژی قابل هضم بود (جدول۱)[۱۶]. از سلولز، روغن ماهی و پودرماهی برای تهیه جیره‌هایی با نیتروژن و لیپید یکسان در بین تیمارها استفاده شد. غذادهی بچه میگوها به میزان اشباع و در ۳ وعده در ساعات ۸، ۱۴ و۲۰ انجام گردید. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز صبح از مخازن سیفون شده و آب نیز قبل از غذادهی تعویض می‌شد. تعداد حبه‌های خوراک[2] خورده نشده به طور تقریبی شمارش شد و وزن خشک همان تعداد حبه به عنوان مقدار غذای خورده نشده محاسبه گردید. زیست‌سنجی میگوها برای تعیین رشد و طول آن یک بار در اول دوره و بار دیگر در انتهای دوره صورت گرفت.

1. Optimon
2. pellet

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۱ ترکیب مواد اولیه غذایی در جیره غذایی بچه میگوهای وانامی

اجزاي تشكيل دهنده (%)	جيره پايه	جيره حاوي ۰/۲% نوكلئوتيد
پودر ماهی[۱]	۳۵	۳۵
دکسترین[۲]	۳۳/۰۵	۳۳/۰۵
روغن ماهی[۳]	۳	۳
آنتی اکسیدان[۴]	۰/۰۲	۰/۰۲
بایندر[۱]	۲	۲
لستین[۵]	۰/۷۵	۰/۷۵
روغن سویا[۶]	۳	۳
مکمل معدنی[۵]**	۲	۲
مکمل ویتامینی[۵]*	۲	۲
پودر میگو[۱]	۱۵	۱۵
ضد قارچ[۶]	۰/۲۳	۰/۲۳
کلسترول[۵]	۰/۵	۰/۵
دی کلسیم فسفات[۴]	۱	۱
سلولز[۲]	۲/۴۵	۲/۲۵
مکمل نوکلئوتید[۷]	۰	۰/۲
جمع	۱۰۰	۱۰۰

۱- تهیه شده از کارخانه هوواراش ۲- ساخت شرکت مرک آلمان ۳-تهیه شده از شرکت پارس کیلکا ۴- تهیه شده از شرکت گرماب شیمی ۵- تهیه شده در شرکت کیمیا رشد ۶- تهیه شده از کارخانه خوراک دام آبزیان ساری ۷- ساخت شرکت Chemoforma (سوئیس).

* هر 5kg مکمل ویتامین ۰/۵٪ حاوی: A=۸۰۰۰۰۰۰IU ,D۳=۲۰۰۰۰۰۰IU ,E=۱۵۰g ,B۱=۵۰ ,k۳=۵۰g ,B۲=۴۰g ,B۳=۱۵۰g ,B۵=۲۰۰g ,B۶=۸۰g ,B۹=۱۵g ,B۱۲=۰/۰۵g ,H=۱/۵Bg ,C=۵۰۰g ,BHT=۱۰۰g ,اینوزیتول=۵۰۰g ,کریر= تا 5kg می‌باشد.

** هرکیلوگرم مکمل معدنی حاوی مواد معدنی کمیابی شامل: آهن (۲۰g)، روی (۶۰g)، سلنیم (۴۰۰mg)، کبالت(۲۰۰mg)، مس(۲g)، منگنز(۴۰g)، ید(۴۰۰mg)، کولین کلراید (۶۰g)، کریر(تا 1kg) می‌باشد.

۲-۲- تعیین وضعیت رشد میگوها

برای بررسی رشد میگوها و مقایسه بین تیمارها از شاخصهای رشد شامل درصد بقا، درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، میزان افزایش وزن بدن، طول حدقه‌ای کاراپاس و میزان بازده پروتئین استفاده شد که با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید:

(WG)= افزایش وزن بدن

میانگین وزن اولیه(g) – میانگین وزن ثانویه(g)

(FCR)= ضریب تبدیل غذایی

افزایش وزن بدن(g) / مقدار غذای خورده شده (g)

(WG٪) = درصد افزایش وزن بدن

۱۰۰× میانگین وزن اولیه (g)/ میانگین وزن اولیه (g)– میانگین وزن ثانویه (g)

(SGR) = ضریب رشد ویژه

{زمان/ (لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه– لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی)} × ۱۰۰

(Survival%) = درصد بقا

[۱۷] (تعداد میگوهای انتهای دوره/تعداد میگوهای ابتدای دوره) ×۱۰۰

(PER) = میزان بازده پروتئین

[۱۸] پروتئین مصرفی(g)/ وزن تر تولید شده (g)

(mm) = افزایش طول حدقه‌ای کاراپاس

[۱۹] طول حدقه‌ای کاراپاس اولیه– طول حدقه‌ای کاراپاس نهایی

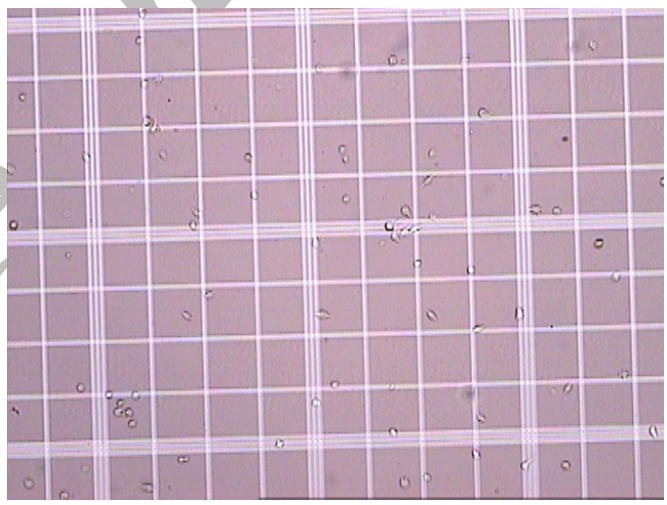
Archive of SID
www.SID.ir

۲-۳- سنجش شاخصهاي همولنف

پس از ۳۵ روز پرورش، میگوها به صورت تصادفی از مخازن پرورشی صید شدند تا برخی از شاخصهای همولنف در آنها سنجش شود. به این منظور همولنف از سینوس شکمی هر میگو با استفاده از سوزن G۲۵ و سرنگ ۱mL خارج شد. سپس در اپندورفهای کوچک که حاوی ۰/۴mL از محلول ضد انعقاد Alsever (۱۱۵میلی‌مول گلوکز، ۳۳٦ میلی‌مول NaCl، ۲۷ میلی‌مول سیترات سدیم و ۹ میلی‌مول EDTA با pH برابر با ۷) بود, تزریق گردید (شکل ۱).

از این نمونه برای تعیین میزان THC[1] و DHC [2] استفاده شد. تعداد هموسیت کل همولنف به‌وسیله لام نئوبار و با بزرگنمایی ۴۰۰ در زیر میکروسکوپ شمارش شد (شکل ۲) [۲۰].

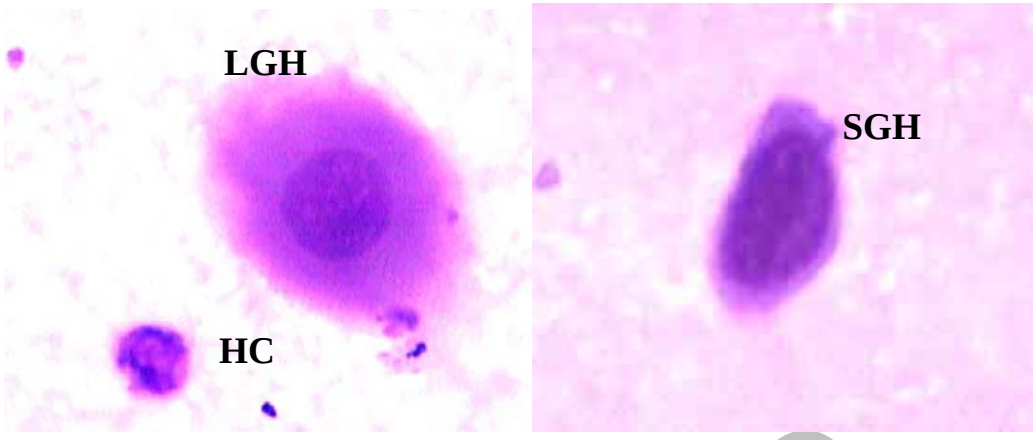
شکل۱ نحوه برداشت همولنف از سینوس شکمی میگوی وانامی



شکل۲ شمارش تعداد کل هموسیت (THC) روی لام نئوبار

1. Total haemocyte count
2. Differential haemocyte count

www.SID.ir



شکل ۳ شمارش تفریقی هموسیتها (DHC)

در این تصویر سلولهای گرانول‌دار بزرگ با هسته بزرگ گرد و سیتوپلاسم غالب ائوزینوفیلیک مشاهده می‌شود (LGH). سلولهای نیمه دانه‌دار اندازه کوچکتری نسبت به سلولهای LGC دارند و سیتوپلاسم آنها تقریباً ائوزینوفیلیک می‌باشد(SGH). سلولهای بدون گرانول کوچک هسته غالب و سیتوپلاسم اندکی دارند که از نظر اندازه کوچکترین سلول محسوب می‌شود (HC). رنگ‌آمیزی مای گرانوالد گیمسا، بزرگنمایی۱۰۰x.

برای تعیین تابلوی هموسیتی یا شمارش افتراقی هوسیتها، پس از تهیه گسترش از همولنف و خشک شدن کامل گسترشها در دمای اتاق به مدت ۳۰ ثانیه تا ۱ دقیقه در متانول خالص ثابت شد. سپس به روش می-گرانوالد-گیمسا[1] رنگ‌آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری، تعداد۲۰۰ سلول هموسیت شمارش شد و تعداد هموسیتهای دانه‌دار بزرگ، نیمه دانه‌دار و هیالین تعیین گردید (شکل۳)[۲۱]. همولنف باقیمانده به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۶۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی آن برای سنجش میزان کل پروتئین پلاسما (TPP)[2] در آزمایشگاه تشخیص طبی با استفاده از روش بیورت به کار رفت [۲۲].

۲-۴- تجزیه و تحلیل آماري

تجزیه وتحلیل داده‌ها و مقایسه میانگینها با آزمون T-test (T- غیرجفتی) در سطح ۵٪ (P=۰/۰۵) انجام شد و از نرم‌افزار آماری SPSS برای آنالیز داده‌ها و از نرم‌افزار اکسل برای رسم نمودارها استفاده گردید.

۳- نتایج

۳-۱- شاخصهاي رشد

جدول ۲ نتایج مربوط به مقایسه میانگین شاخصهای رشد میگوی وانامی در گروه شاهد و تیمار ۰/۲٪ نوکلئوتید جیره را نشان می‌دهد. براساس نتایج، افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی میگوی وانامی سبب بهبود شاخصهای رشد گردید. در تیمار۰/۲٪ نوکلئوتید، ۱۰٪ افزایش وزن بدن، ۷/۹۷٪ افزایش ضریب رشد ویژه، ۱۱/۳۲٪ افزایش میزان بازده پروتئین و ۹/٦٤٪ کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد. اختلاف معناداری در میزان بقا، طول حدقه‌ای کاراپاس و غذای مصرفی مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

1. May-Grunwald-Giemsa stain
2. Total Plasma Protein

Archive of SID
www.SID.ir

۳-۲- شاخصهاي همولنف

جدول ۳ نتایج سنجش شاخصهای همولنف میگوی وانامی در تیمار شاهد و تیمار ۰/۲٪ نوکلئوتید جیره را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که نوکلئوتید جیره باعث افزایش تعداد کل هموسیتها (۳۱/۷۱٪) شده که در این میان تعداد هموسیتهای دانه‌ای بزرگ (۳۷/۵۴٪) و هیالین (۳۴/۶۱٪) افزایش داشتند. اما در هموسیتهای نیمه دانه‌ای نسبت به گروه شاهد اختلاف معناداری وجود نداشت ($p>0/05$). میزان پروتئین کل پلاسمای میگوهایی که از جیره حاوی نوکلئوتید استفاده کردند، نسبت به گروه شاهد ۳۱/۴۰٪ افزایش نشان داد.

جدول۲ نتایج شاخصهای رشد میگوی وانامی تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی نوکلئوتید

شاخص رشد/تیمار	صفر	۰/۲%
متوسط وزن اولیه	۳/۲۱±۰/۰۳	۳/۲۰±۰/۰۶
متوسط وزن نهایی (g)	۵/۲۱±۰/۱۰	۵/۴۱±۰/۰۴
افزایش وزن بدن (g)	^{b}۲/۰۰±۰/۰۷	^{a}۲/۲۰±۰/۰۵
غذای مصرفی (g) برای کل میگوها	۱۴۰/۱۵±۶/۰۲	۱۳۹/۷۴± ۳/۹۷
متوسط طول حدقه‌ای کاراپاس اولیه (mm)	۱۶/۹۰±۰/۱۰	۱۶/۸۳±۰/۲۸
متوسط طول حدقه‌ای کاراپاس نهایی(mm)	۱۹/۹۳±۰/۱۷	۱۹/۹۹±۰/۲۹
افزایش طول حدقه‌ای کاراپاس (mm)	۳/۰۳±۰/۰۹	۳/۱۶±۰/۱۷
درصد افزایش وزن بدن	^{b}۶۲/۲۳±۱/۷۷	^{a}۶۸/۸۵±۲/۹۸
ضریب تبدیل غذایی	^{b}۲/۸۰±۰/۰۸	^{a}۲/۵۳±۰/۰۵
ضریب رشد ویژه	^{b}۱/۳۸±۰/۰۳	^{a}۱/۴۹±۰/۰۵
درصد بقا	۹۳/۳۳±۲/۳۰	۹۳/۳۳±۲/۳۰
میزان بازده پروتئین	^{b}۱/۰۶±۰/۰۳	^{a}۱/۱۸±۰/۰۲

میانگین±۳SD تکرار، نبودن حروف در هر ردیف نشانه نبود اختلاف معنادار است ($p>0/05$).

جدول۳ نتایج اندازه‌گیری شاخصهای همولنف میگوی وانامی تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی نوکلئوتید

شاخصهاي همولنف/ تیمار (×۱۰^{5}cell/ml)		صفر	۰/۲%
THC		۱۱۰/۱۴±۱۴/۳۴^{b}	۱۴۵/۰۷±۱۱/۳۷^{a}
DHC	HC [1]	۶۸/۱۵±۷/۱۳^{b}	۹۱/۷۴±۸/۵۲^{a}
	SGC [2]	۲۳/۵۲±۳/۶۸	۲۷/۹۳±۴/۱۴
	LGC [3]	۱۸/۴۶±۲/۸۱^{b}	۲۵/۳۹±۵/۱۵^{a}
TPP (mg/ml)		۹۳/۸۸±۴/۹۴^{b}	۱۲۳/۳۶±۵/۴۲^{a}

میانگین±SD ۳ تکرار، نبودن حروف در هر ردیف نشانه عدم اختلاف معنادار است ($p>0/05$).

1. Hyalin count
2. Semi-Granular count
3. Large-Granular count

Archive of SID
www.SID.ir

۴- بحث

نوکلئوتید جیره در پستانداران آثار مفید فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای شامل آثار مفید بر رشد، سیستم ایمنی، دستگاه گوارش، فلور روده، متابولیسم چربی و افزایش مقاومت نسبت به بیماریها را نشان داده است [۲۳]. براساس نتایج حاصل از این تحقیق، افزودن نوکلئوتید جیره در سطح ۰/۲٪ به ترکیب غذایی میگوی وانامی منجر به افزایش معناداری در وزن نهایی بدن، درصد افزایش وزن بدن، میزان بازده پروتئین، ضریب رشد ویژه، تعداد کل هموسیتها، میزان پروتئین پلاسما و کاهش معناداری در ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه کنترل شده است که می‌تواند به دلیل کارکردهای مختلف نوکلئوتید در بدن از جمله آثار مثبتی که بر سلولهای هموليف و سلامتی میگو دارد, باشد. لی و گاتلین[1] (۲۰۰۶) گزارش کردند که از جمله دلایل مرتبط با تأثیرات مفید نوکلئوتید جیره، فراهم کردن مقادیر مورد نیاز فیزیولوژیکی از نوکلئوتیدها در جیره‌های غذایی به دلیل ظرفیت سنتزی محدود بعضی بافتهای مشخص (Lymphoid)، هزینه انرژتیک ناکافی برای سنتز دی نوو، تبادلات ایمونو اندوکراینی، تعدیل الگوهای بیان ژن بخصوص بیان ژن آنزیمهای مسیر سالوج، اثر نوکلئوتید جیره بر فلور روده، مورفولوژی روده، کاهش استرس و جاذب شیمیایی بودن نوکلئوتیدهاست[۶]. یکی از پذیرفته‌شده‌ترین فرضیه‌ها در مورد آثار مفید مشاهده شده نوکلئوتیدهای جیره در ماهیان این است که در شرایط استرس‌زای محیطی مثل کیفیت بد آب، تراکم و دستکاری میزان تقاضای نوکلئوتید افزایش می‌یابد [۲۴]. بارلیز[2] و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی سالمون آتلانتیک[3] به میزان ۰/۲۵٪ سبب افزایش وزنی به میزان ۱۵-۲۲٪ نسبت به گروه شاهد در مدت ۸ هفته شد. برتری شاخصهای رشد حاصل از تغذیه با نوکلئوتید در این مطالعه حتی بعد از ۳ هفته گزارش شد[۸]. آدامک[4] و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی قزل‌آلای رنگین کمان به میزان ۰/۶۲ و ۲/۵g/kg سبب افزایش رشد به ترتیب ۸/۹ و ۱۰/۵٪ و افزایش ضریب رشد ویژه به ترتیب ۹ و۱۳٪ در این ماهی شده است [۲۵]. هترامف[5] (۲۰۰۳) مشاهده کرد که در میگوهای تغذیه شده با نوکلئوتید، میزان وزن به دست آمده ۱۷/۸٪ تا ۲۴/۷٪ و میزان ضریب تبدیل غذایی ۲۷/۹٪ تا ۳۴/۸٪ بهبود یافته است [۲۶]. میشرا[6] و همکاران (۲۰۰۶) با تغذیه میگوهای ببری سیاه[7] با نوکلئوتید جیره در سطح ۰/۲٪ در استخرهای خاکی ۰/۴ هکتاری به ترتیب به بهبود رشد، ضریب تبدیل غذایی، میزان بازده پروتئین و بقا به میزان ۹/۸، ۲۵/۲، ۲۳/۸ و ۵/۴٪ دست یافتند[۱۴].آنسیتا- پروبست[8] و همکاران (۲۰۰۵) تأثیر نوکلئوتید جیره (در سطح۰/۲٪) را بر میگوهای ببری سیاه به مدت ۶ هفته در ۶ تکرار بررسی و میانگین رشد، تعداد کل هموسیتها و شمارش تفریقی آنها را سنجش کردند. اگرچه میانگین وزن در هر۶ تکرار افزایش پیدا کرده بود اما از نظر آماری این افزایش معنادار نبود. میزان کل هموسیتها نیز در میگوهای نوجوان (۴-۵g) به میزان ۱۰۰٪ و در میگوهای بزرگتر با وزن۷-۸g به میزان ۳۰٪ افزایش نشان داد که این افزایش را در هموسیتهای دانه‌ای بزرگ مشاهده کردند [۱۵]. در تحقیق حاضر نیز افزایش معناداری در میزان هموسیت کل و شمارش تفریقی هموسیت (هیالین و دانه‌ای بزرگ) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد که با تحقیق فغان[9] (۲۰۰۲) و آنسیتا- پروبست و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد[۱۵، ۲۷]. این افزایش به دلیل اینکه در هموسیتهای دانه‌ای بزرگ (۳۷/۵٤٪) بوده حائز اهمیت است. زیرا هموسیتهای دانه‌ای بزرگ و نیمه دانه‌ای موجب فعال شدن سیستم پروفنول اکسیداز شده و باعث بهبود سیستم

1. Li & Gatlin
2. Burrells
3. Salmo salar
4. Adamek
5. Hertrampf
6. Mishra
7. Penaeus monodon
8. Ancieta-Probstl
9. Fegan

Archive of SID
www.SID.ir

ایمنی میگو می‌شوند. انتخاب یک ترکیب مناسب با خاصیت تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی کاری بسیار دشوار است و مطالعات علمی نیز به ندرت اطلاعات جامع و کاملی برای برنامه‌ریزی مناسب در این خصوص در اختیار محققان قرار می‌دهند [۲۸]. به طور کلی استفاده از نوکلئوتید در آزمایش حاضر باعث افزایش سلولهای همولنف، که بخشی از سیستم ایمنی میگو را دربر می‌گیرند، شده است. براساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر، افزودن نوکلئوتید در سطح ۰/۲٪ به ترکیب غذایی میگوی وانامی موجب افزایش معناداری در میزان هموسیت کل (در حدود ۳۰٪)، هموسیت افتراقی, میزان پروتئین کل پلاسما (حدود ۳۰٪) و نیز بهبود شاخصهای رشد (۱۰٪ افزایش وزن بدن، ۷/۹۷٪ افزایش ضریب رشد ویژه، ۱۱/۳۲٪ افزایش میزان بازده پروتئین و ۹/٦٤٪ کاهش ضریب تبدیل غذایی) در مقایسه با گروه کنترل شد و فرضیه مؤثر بودن افزودن نوکلئوتید در جیره غذایی میگوی وانامی بر میزان رشد و شاخصهای سلامتی میگو را تأیید می‌کند.

۵- سپاسگزاري

از مدیریت و کارکنان محترم ایستگاه تحقیقاتی شیلات دلوار بویژه آقای مهندس عباس تمیمی و مهندس اسماعیل عاشوری که در فراهم کردن امکانات این تحقیق نهایت همکاری را مبذول داشتند، از مهندس امین بهی و مهندس اکبر عباس‌زاده، همچنین از پژوهشکده میگوی کشور بویژه مهندس وحید یگانه، و جناب آقای مهندس هادی مسئول شرکت توران تو که با این پروژه همکاری عملی داشتند، تقدیر و تشکر می‌شود.

۶- منابع

[۱] ویبان ج.، سوبینی ج.، «فن آوری تکثیر و پرورش متراکم میگو»؛ مترجم: شکوری م.؛ معاونت تکثیر و پرورش آبزیان، اداره کل آموزش و ترویج؛ ۱۳۷۶؛ ۱۶۸ ص.

[2] Wyban J., Walash W.A., Godin D.M.; «Temperature effect on growth, feeding rate and feed conversion of the pacific white shrimp»; *Aquaculture*; 1995; 138:267-279.

[3] Cuzon G., Lawrence A., Gaxiola G., Rossas C., Gullaume J.; «Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reard in tank or in ponds»; *Aquaculture*; 2004; 235 (2004) 513-551.

[4] FAO; Global Aquaculture Production 1995-2005; http:// www. fao.org/ fi/website/ FIRetrieveAction. do? dom=collection&xml=global- prodaction. xml&xp_nav=1; 2005.

[۵] عسکری ساری ا.، «بررسی اثر پروتئین جیره غذایی و شوریهای متفاوت آب بر رشد و بازماندگی میگوی وانامی *Litopenaeus vannamei*»؛ *پایان‌نامه دکترای شیلات*، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات؛ ۱۳۸۶؛ ص ۹۵.

[6] Li P., Gatlin III D. M.; «Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications»; *Aquaculture*; 2006; 251: 141-152.

[7] Cosgrove M.; Nucleotides Nutrition; 1998; 14: 748-751.

[8] Burrells C., William P. D., Forno P.F.; «Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds. Effects on resistance to diseases in salmonids»; *Aquaculture*; 2001; vol. 199: 159-169.

[9] Boza J.; Nucleotide in infant nutrition; Monatsschr Kinderheilkd; 1998; vol. 146: 39-48.

[10] Holen E., Bjorge O. A., Jonsson R.; «Dietary nucleotides and human immune cells. II. Modulation of PBMC growth and cytokine secretion»; Nutrition; 2005; vol. 21: 1003-1009.

[11] Low C., Wadsworth S., Burrells C., Secombes C. J.; «Expression of immune genes in turbot, *Scophthalmus maximus*, fed a nucleotide-supplemented diet»; *Aquaculture*; 2003; vol. 221: 23-40.

Archive of SID
www.SID.ir

[۲۱] پوستی ا.، ادیب مرادی م.؛ «بافت‌شناسی مقایسه‌ای و هیستوتکنیک»؛ انتشارات دانشگاه تهران، چاپ چهارم با تجدید نظر؛ ۱۳۸۲؛ ۶۱۰ ص.

[22] Shi X., Li D., Zhuang P., Nie F., Long L.; Comparative blood biochemistry of amur sturgeon, acipenser schrenchii, and Chinese sturgeon, acipenser sinesis; fish physiology and biochemistry; 2006; 32:63-66.

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

[24] Leonardi M., Sandino A. M., Klempau A.; «Effect of a nucleotide-enriched diet on the immune system, plasma cortisol levels and resistance to infectious pancreatic necrosis (IPN) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)»; *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol*; 2003; vol. 23: 52-59.

[25] Adamek Z., Hamackova J., Kouril J., Vachta R., Stibranyiova I.; «Effect of Ascogen probiotics supplementation on farming success in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and wells (*Silurus glais*) under conditions of intensive culture»; Krmiva (Zagreb); 1996; vol. 38: 11-20.

[26] Herrampf J. W.; «Less stress with nucleotides»; *Asian Aquaculture Magazine*; 2003; (6): 22-24.

[27] Fegan D.; «Effectiveness of NuproTM as immune enhancer for shrimp, penaeus monodon»; Shrimp biotechnology business Unit (SBBU); Mahidol University, Bangkok/Thailand; 2002.

[28] Bacher E.; «Shrimp immunity and disease control»; *Aquaculture*; 2000; 191: 3-11.

[12] Smith V. J., Brown J. H., Hauton C.; Immunostimulation in crustaceans: Does it really protect against infection; Fish and Shellfish immunology; 2002; 15 (2003) 71-90.

[13] Hill J., Smullen R., Ancieta D., Barnes A. C.; Highly purified dietary nucleotide supplements improve growth performans and health status of penaeid shrimp; AQUA 2006-Meeting abastract.

[14] Mishra S. K., Hertrampf J. W.; «Nucleotides: The performance promoter»; *Aquaculter Asiapacific magazine*; 2006; 32-33.

[15] Ancieta-Probstl D. K., Smullen R. P., Barnes A.C.; «Enhancing growth performance of shrimp with nucleotide supplemented diets»; *Aquaculture asiapacific magazine*; 2005; (14): 26-28.

[16] Halver J. E.; «The Nutritional requirements of cultivated warm water and cold water fish species»; Paper no31, Fao Tech. Conf. In Aquaculture; Kyoto, May 26- June2; 1976; 9p.

[17] Misra C. K., Kumar D. B., Mukherjee S.C., Pattnaik P.; «Effect of long term administration of dietary â-glucan on immunity, growth and survival of, *Labeo rohita* fingerlings»; *Aquaculture*; 2006; vol. 255: 82-94.

[18] Bai S. C.; Requirements of L-ascorbic acid in a viviparous marine teleost, Korean rockfish, *Sebaster schlegeli* (Hilgendorf). In:Ascorbic acid in aquatic organisms; Dabrowski K.(Ed.); CRC press; 2001; 69-85.

[۱۹] عابدیان ع.؛ «تأثیر سطوح مختلف پروتئین و انرژی جیره بر توان تولید میگوی سفید هندی (*Penaeus indicus*) در شوریهای متفاوت آب»؛ *رسالهٔ دکترای شیلات*؛ دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، دانشگاه تربیت مدرس؛ ۱۳۸۰؛ ۱۳۰ ص.

[20] Jiang G., Yu R., Zhou M.; «Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of *penaeus japonicus* to virulence of white spot syndrome virus»; *Aquaculture*; 2004; 241 (2004) 61-75.

Archive of SID
www.SID.ir