Archive of SID

بررسی عملکرد نوکلئوتید موجود در جیره بر شاخص های رشد و مورفولوژی روده در ماهی قزل آلای رنگین کمان انگشت قد (*Oncorhynchus mykiss*)

احمد طهماسبی کهیانی[۱]، سعید کیوان شکوه[۱*]، امین نعمت اللهی[۲]، نعمت ا... محمودی[۳]، حسین پاشا زانوسی[۴]

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۲. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد

۳. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

چکیده

تأثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر شاخص های رشد و مورفولوژی روده ماهی قزل آلای رنگین کمان انگشت قد (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن متوسط ۰/۰۱ ±۱۱/۴گرم به مدت ۸ هفته در کارگاه تکثیر و پروش ماهیان سردآبی قزل برم واقع در استان چهارمهال و بختیاری مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش درون مخازن ۷۰۰ لیتری با تراکم ذخیره سازی ۴۰ عدد ماهی در هر تانک انجام شد. نوکلئوتید جیره در ۴ سطح ۰/۰۵، ۰/۱۰، ۰/۱۵ و ۰/۲۰ درصد به جیره غذایی اضافه گردید و جیره فاقد نوکلئوتید برای تغذیه گروه شاهد مورد استفاده قرار گرفت. پس از ۸ هفته پرورش، نتایج نشان داد که افزودن نوکلئوتید به جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان سبب افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی شده است. حداکثر بهبود شاخص های مذکور درسطح ۰/۲۰ درصد بوده است که با تیمار ۰/۱۵ درصد اختلاف معنی داری مشاهده نشد، در حالی که با گروه شاهد و سایر تیمارها دارای اختلاف معنی داری می باشد. همچنین در بررسی مورفولوژی روده، بیشترین میزان طول پرز روده در سطح ۰/۲۰ درصد بوده است که در مقایسه با گروه شاهد دارای اختلاف معنی داری می باشد. نتایج این آزمایش نشان داد اضافه کردن نوکلئوتید به جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان به میزان ۰/۲۰ اثرات مثبتی بر برخی پارامترهای رشد و مورفولوژی روده دارد.

واژگان کلیدی: نوکلئوتید، رشد، مورفولوژی روده، قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

* نویسنده مسؤول مقاله، پست الکترونیک: Email: Keyvan56@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

از مهمترین مسائل در پرورش حیوانات، چه به منظور حفظ ذخایر و چه برای تولید بازاری توجه به امر غذا و تغذیه آنهاست بطوریکه در آبزی پروری این مقوله بیش از ۵۰ درصد هزینه های جاری یک مزرعه پرورش آبزیان را در بر می گیرد. کیفیت و کمیت جیره از مقولاتی است که می تواند در سرعت رشد و تولید افزون تر حایز اهمیت بوده بطوریکه می توان با دستیابی به ترکیبات بهینه اقلام غذایی و مقادیر مناسب آنها در یک جیره بالانس شده به این روند بهبود بخشید (افشار مازندران،۱۳۸۱).

نوکلئوتیدها از جمله ترکیبات داخل سلولی با وزن ملکولی پایین، متشکل از یک بنیان پورین یا پیریمیدین و یک قند ریبوز یا ۲- دی اکسی ریبوز و یک یا تعدادی گروه فسفات هستند. بطور کل نوکلئوتیدها تقریباً در تمام فرآیندهای سلولی دخالت داشته و نقش مهمی در وظایف ساختاری و تنظیمی بدن دارند که از جمله می‌توان به موارد زیر اشاره نمود.

نوکلئوتیدها بعنوان واحد ساختمانی DNA و RNA هستند و نقش تعیین کننده ای در ذخیره، انتقال و بیان اطلاعات دارند. در بسیاری از مسیرهای بیوسنتز نقش دارند، به عنوان مثال یوریدین دی فسفات[۱] (UDP) در بیو سنتز پلی ساکاریدها و ویتامین C و سیتیدین دی فسفات[۲] (CDP) در بیوسنتز لیپیدها شرکت می کنند. نوکلئوتیدها در انتقال انرژی شیمیایی نقش دارند که معمولاً با از دست دادن گروه فسفات انجام می شود، آدنوزین تری فسفات[۳] (ATP) یکی از رایجترین مواد در انتقال انرژی است. همچنین آنها در ساختار بسیاری از کوآنزیم ها نظیر فلاوین آدنین دی نوکلئوتید[۴] (FAD)، نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید[۵] (NAD) و کوآنزیم آ[۶] (CoA) شرکت دارند که در بسیاری از مسیرهای متابولیکی نقش ایفا می کنند. نوکلئوتید ها به عنوان تنظیم کننده بیولوژیک محسوب می شوند، برای مثال آدنوزین مونوفسفات حلقوی نقش کلیدی در تنظیم تمام پروسه های بیولوژیک دارد (Li and Gatlin, 2006).

نوکلئوتید ها بصورت پیوسته در سلول سنتز، تجزیه و بازیافت می شوند و معمولاً ازطریق دو مسیر مهم de novo و مسیر salvage تشکیل می‌شوند (Cosgrove,1998). مسیر salvage هم ساده‌تر است و هم انرژی کمتری نسبت به de novo نیاز دارد و توسط بازهای آزاد قابل دسترس تنظیم می شود. در تحقیقات انجام شده روی موجودات مختلف مشخص شده که مسیرهای salvage و de novo بطور قابل ملاحظه ای در بین بافتهای مختلف فرق می کند و بطور معنی داری تحت تاثیر نیاز های متابولیک یا وظایف فیزیولوژیک قرار می گیرد (Holen, *et al* ., 2005). کبد بعنوان مهمترین ارگان ذخیره نوکلئوتید می باشد. در برخی از بافتها که ظرفیت محدودی در سنتز de novo برای تولید نوکلئوتید دارند، منبع خارجی از نوکلئوتیدها می تواند در مسیر salvage برای تولید نوکلئوتید مورد استفاده قرار گیرد و سبب تقویت این مسیر شود. سلول‌های مهم دستگاه ایمنی مثل لنفوسیت‌ها، گلبول‌های قرمز، سلول‌های خون ساز، سلول‌های موکوسی روده و سلول‌های مغز با توجه به متابولیسم سلولی و حجم بالای واکنشهای سریع و همچنین نیاز بالای آنها به نوکلئوتید، ظرفیت بسیار

۱. Uridine diphosphate
۲. Cytidine diphosphate
۳. Adenosine triphosphate
۴. Flavin adenine dinucleotide
۵. Nicotine amide adenine dinucleotide
۶. Coenzyme A

www.SID.ir

Archive of SID

محدودی برای سنتز نوکلئوتید دارند. در این سلول‌ها تهیه نوکلئوتید از منبع خارجی برای انجام وظایف نرمال آنها بسیار مهم است (Li et al ., 2004).

تحقیقات اولیه در بررسی نقش نوکلئوتید در جیره ماهیان به اوایل دهه ۱۹۷۰ بر می گردد، اکثر تحقیقات در آن زمان روی اثرات این مواد به عنوان جاذب های شیمیایی بوده است. (Li and Gatlin, 2006). با تحقیقات Burrells و همکارانش در سال (۲۰۰۱) و مشخص شدن اثرات مفید استفاده از نوکلئوتید بر روی سیستم ایمنی در ماهیان، مکمل نوکلئوتید مورد توجه جهانی قرار گرفت.

با توجه به تحقیقات انجام شده در موجودات مختلف، نوکلئوتید جیره دارای نقش های متابولیک متعددی از جمله بهبود شاخص های ایمنی بدن (ذاتی و اکتسابی)، افزایش رشد، توسعه میکروفلور روده، بهبود نتاج حاصله از مولدین، افزایش مقاومت به بیماری، افزایش سطح جذب دستگاه گوارش، موثر بودن در متابولیسم چربی و پروتئین، افزایش جذب آهن در روده، بهبود پاسخهای استرس، افزایش ظرفیت تنظیم اسمزی، افزایش تاثیر واکسن، کاهش تخریب DNA ناشی از توکسین ها، کاهش ضایعات کبدی و اصلاح عملکرد کبد و بیان ژن شاخص‌های ایمنی می باشد (Frankic et al ., 2006 ؛ Boza, 1998، 1998؛ Li and Gatlin, 2006).

لذا با توجه به اثرات بسیار متنوع نوکلئوتید جیره بر سیستم فیزیولوژیک بدن موجودات، مطالعه حاضر به منظور بررسی تاثیر نوکلئوتید جیره بر شاخص‌های رشد و مورفولوژی روده طراحی و اجرا گردید.

۲- مواد و روش کار

این آزمایش در مهرماه ۸۸ در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی قزل برم واقع در استان چهارمحال و بختیاری در شهرستان لردگان در ۱۶۰ کیلومتری مرکز استان انجام شد. بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان از قسمت تکثیر ماهیان با میانگین وزنی ۰/۰۱ ± ۱۱/۴ گرم پس از طی عملیات رقم بندی تهیه شدند. توزیع بچه ماهیان به گونه ای انجام شد که از لحاظ بیومس، اختلاف معنی داری در شروع آزمایش بین تانک ها وجود نداشته باشد. قبل از ذخیره سازی، استخر ها بوسیله مواد ضد عفونی نظیر هیپو کلریت سدیم کاملاً ضدعفونی، سپس با آب شستشو داده شدند. ماهیان نیز ابتدا با محلول نمک ۴ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی و سپس در داخل ۱۵ استخر بتنی با ابعاد ۲×۰/۸×۱ متر (آبگیری ۷۰۰ لیتر) به تعداد ۴۰ عدد در هر استخر قرار گرفتند.

بچه ماهیهای تهیه شده از کارگاه به مدت یک هفته در این استخر ها نگهداری و با جیره ساخته شده فاقد نوکلئوتید غذا دهی شدند تا عمل سازگاری صورت پذیرد. اندازه گیری عوامل کیفی آب همچون دمای آب، اکسیژن محلول و pH به صورت هفتگی انجام گرفت. در طول دوره پرورش میانگین دمای آب ۵/۰ ±۱۳/۳۲ درجه سانتی گراد، pH آب برابر ۷/۷۱ و اکسیژن محلول ۱/۵± ۸/۲۷ میلی گرم بر لیتر محاسبه گردید.

با توجه به تیمارهای تعیین شده، مکمل تجاری Optimun (ساخت شرکت Chemrofoma، سوئیس) حاوی نوکلئوتید در ۴ سطح ۰/۰۵، ۰/۱۰، ۰/۱.۵ و ۰/۲۰ درصد به جیره کنترل اضافه شد. تیمار پنجم گروه شاهد بود که هیچگونه مکملی به آن اضافه نشد. آزمایش در ۳ تکرار در نظر گرفته شد. جیره ماهیان بر اساس پودر ماهی به عنوان منبع اصلی پروتئین، شامل ۴۴ درصد پروتئین و انرژی ناخالص ۲۰۲۵کیلوژول بر کیلوگرم (NRC, 1993) با استفاده از نرم افزار لیندو (Lindo copyright 1995،Releases ۶/۱) فرمول بندی شد (جدول ۲). از سلولز، پودر ماهی و آرد گندم و سویا برای تهیه جیره هایی با نیتروژن و لیپید یکسان در بین تیمارها استفاده شد (جدول ۱). مکمل اپتیمون بر اساس دستورالعمل شرکت Chemoforma ابتدا با آب

www.SID.ir

Archive of SID

مخلوط و سپس به جیره پایه اضافه شد. در ادامه با مخلوط کردن اجزای جیره به مدت ۲۰ دقیقه در داخل مخلوط کن برقی، به منظور ساخت پلت (دانه بندی خوراک ۲/۵ میلی متر)، جیره به چرخ گوشت منتقل شد. پس از پلت سازی، پلت ها بر روی سینی های خشک کن قرار داده شده و به خشک کن انتقال داده شدند.

جیره ها پس از آماده شدن در ظروف پلاستیکی، در دمای ۴ درجه سانتی گراد و دور از نور قرار داده شده و برای غذادهی به ماهیان استفاده شد. غذادهی بچه ماهیان به میزان ۵-۳ درصد وزن بدن و در ۵ وعده در ساعات ۸، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۸ انجام گردید. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز از مخازن سیفون می‌شدند.

برای بررسی رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها در هفته چهارم و هفته هشتم از شاخص های رشد شامل افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی و ضریب رشد ویژه استفاده شد که با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید (Misra *et al.*, 2006):

افزایش وزن بدن (WG) = $W_2 - W_1$

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم)

ضریب رشد ویژه (SGR) = (Ln W_2 – Ln W_1) / دوره پرورش به روز × ۱۰۰

W_2= وزن ثانویه (گرم) W_1= وزن اولیه (گرم)

در انتهای آزمایش (هفته هشتم) به صورت تصادفی ۵ عدد ماهی از هر واحد آزمایشی جهت انجام بررسی های بافت شناختی انتخاب شدند. جهت این کار ابتدا پس روده ماهیان جدا سازی و به آرامی تخلیه شده و سپس جهت عدم چسبندگی بافت روده و تخریب پرز های روده با استفاده از نخ بخیه یک طرف روده را گره زده و سپس با استفاده از سرنگ ریز، درون بافت روده فرمالین۱۰ درصد تزریق گردید. در انتها طرف دیگر روده نیز با نخ بخیه نیم میلیمتری بسته شد. نمونه روده درون لوله های حاوی فرمالین ۲۰ درصد قرار داده شدند. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول دیویدسون (شامل : اسید استیک ۱۰۰میلی لیتر، الکل اتانول ۹۵٪ ۳۰۰ میلی لیتر، فرمالین۱۰٪ ۲۰۰ میلی لیتر و آب مقطر ۳۰۰ میلی لیتر) فیکس شدند. پس از آن چندین مرتبه با الکل اتانول ۷۰٪ مورد شستشو قرار گرفتند، سپس نمونه ها توسط الکل اتانول ۹۵ و ۱۰۰ درجه و نهایتاً توسط الکل بوتانول (Merck, Germany) آبگیری شدند. نمونه ها پس از قرار گیری 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 (Merck, Germany) قالب گیری شدند. از بافت ها برش هایی به ضخامت ۴ میکرومتر توسط میکروتوم (مدل Rotary ساخت کشور آمریکا) تهیه شد. لامها پس از نگهداری در داخل آون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و پس از آن پارافین زدایی توسط گزیلن به روش هماتوکسیلین- فوشین رنگ آمیزی شده و توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند (Khodabandeh et al., 2006). سپس با استفاده از نرم افزار Image Tools (2.0)، میانگین طولی پرز روده در ماهیان مورد سنجش قرار گرفت (Varsamos, 2002).

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی[1] برنامه ریزی و اجرا گردید. کلیه داده های جمع آوری شده در هر مرحله در نرم افزاراکسل ثبت و برخی موارد توصیفی بر حسب نیاز (نظیر بیومتری ها برای تعیین مقدار غذادهی جدید) در این برنامه انجام پذیرفت. سایر

[1] Completely Randomized Design

www.SID.ir

Archive of SID

داده ها پس از کنترل همگی آنها به وسیله کولموگرونوف- اسمیرنوف، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و تست Duncan بعنوان POST HOC در سطح احتمال ۵ درصد، مقایسه میانگین ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل کلیه داده ها و عملیات مربوطه به وسیله نرم افزار SPSS انجام پذیرفت (16.0, Chicago, IL).

جدول۱ : ترکیب جیره ساخته شده برای تیمارهای مختلف

اجزای تشکیل دهنده (٪)	جیره پایه	٪۰.۵	٪۱۰	٪۱.۵	٪۲۰
پودر ماهی	۴۳	۴۳	۴۳	۴۳	۴۳
آرد گندم	۱۸.۶۵	۱۸.۶۵	۱۸.۶۵	۱۸.۶۵	۱۸.۶۵
سویا	۲۶.۰	۲۶.۰	۲۶.۰	۲۶.۰	۲۶.۰
روغن سویا	۶	۶	۶	۶	۶
مکمل معدنی	۱.۵	۱.۵	۱.۵	۱.۵	۱.۵
مکمل ویتامینی	۱.۵	۱.۵	۱.۵	۱.۵	۱.۵
ویتامین C	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
ضد قارچ	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی کلسیم فسفات	۱	۱	۱	۱	۱
سلولز	۲	۱.۹۵	۱.۹۰	۱.۸۵	۰۱.۸
مکمل نوکلئوتید	۰	۰/۰۵	۰/۱۰	۰/۱۵	.۰/۲۰
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

جدول ۲- تجزیه تقریبی جیره پایه مورد استفاده برای تغذیه بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

نوع ترکیبات (٪)	میزان
پروتئین	۴۸/۲۵
چربی	۱۸/۸۶
رطوبت	۱۲/۴۱
خاکستر	۱۲/۲۵
کربوهیدرات	۸/۲۳
انرژی انرژی ناخالص (کیلوژول بر کیلوگرم)	2025

www.SID.ir

Archive of SID

جیره ها پس از آماده شدن در ظروف پلاستیکی، در دمای ۴ درجه سانتی گراد و دور از نور قرار داده شده و برای غذادهی به ماهیان استفاده شد. غذادهی بچه ماهیان به میزان ۵-۳ درصد وزن بدن و در ۵ وعده در ساعات ۸، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۸ انجام گردید. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز از مخازن سیفون می‌شدند.

برای بررسی رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها در هفته چهارم و هفته هشتم از شاخص های رشد شامل افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی و ضریب رشد ویژه استفاده شد که با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید (Misra *et al.*, 2006):

افزایش وزن بدن (WG) = $W_2 - W_1$

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم)

ضریب رشد ویژه (SGR) = $(\ln W_2 - \ln W_1)$ / دوره پرورش به روز × ۱۰۰

W_1= وزن اولیه (گرم) W_2= وزن ثانویه (گرم)

در انتهای آزمایش (هفته هشتم) به صورت تصادفی ۵ عدد ماهی از هر واحد آزمایشی جهت انجام بررسی های بافت شناختی انتخاب شدند. جهت این کار ابتدا پس روده ماهیان جدا سازی و به آرامی تخلیه شده و سپس جهت عدم چسبندگی بافت روده و تخریب پرز های روده با استفاده از نخ بخیه یک طرف روده را گره زده و سپس با استفاده از سرنگ ریز، درون بافت روده فرمالین۱۰ درصد تزریق گردید. در انتها طرف دیگر روده نیز با نخ بخیه نیم میلیمتری بسته شد. نمونه روده درون لوله های حاوی فرمالین ۲۰ درصد قرار داده شدند. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول دیویدسون (شامل : اسید استیک ۱۰۰میلی لیتر، الکل اتانول ۹۵٪ ۳۰۰ میلی لیتر، فرمالین۱۰٪ ۲۰۰ میلی لیتر و آب مقطر ۳۰۰ میلی لیتر) فیکس شدند. پس از آن چندین مرتبه با الکل اتانول ۷۰٪ مورد شستشو قرار گرفتند، سپس نمونه ها توسط الکل اتانول ۹۵ و ۱۰۰ درجه و نهایتاً توسط الکل بوتانول (Merck, Germany) آبگیری شدند. نمونه ها پس از قرار گیری 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 (Merck, Germany) قالب گیری شدند. از بافت ها برش هایی به ضخامت ۴ میکرومتر توسط میکروتوم (مدل Rotary ساخت کشور آمریکا) تهیه شد. لامها پس از نگهداری در داخل آون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و پس از آن پارافین زدایی توسط گزیلن به روش هماتوکسیلین- فوشین رنگ آمیزی شده و توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند (Khodabandeh *et al* ., 2006). سپس با استفاده از نرم افزار Image Tools (2.0)، میانگین طولی پرز روده در ماهیان مورد سنجش قرار گرفت (Varsamos, 2002).

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی[1] برنامه ریزی و اجرا گردید. کلیه داده های جمع آوری شده در هر مرحله در نرم افزاراکسل ثبت و برخی موارد توصیفی بر حسب نیاز (نظیر بیومتری ها برای تعیین مقدار غذادهی جدید) در این برنامه انجام پذیرفت. سایر داده ها پس از کنترل همگی آنها به وسیله کولموگرونوف- اسمیرنوف، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و تست Duncan بعنوان POST HOC در سطح احتمال ۵ درصد، مقایسه میانگین ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل کلیه داده ها و عملیات مربوطه

[1] Completely Randomized Design

www.SID.ir

Archive of SID

به وسیله نرم افزار SPSS انجام پذیرفت (16.0, Chicago, IL).

۳- نتایج

نتایج نشان داد که افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان سبب بهبود شاخص های رشد شامل افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی گردیده است. بیشترین میزان افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه در تیمار ۰/۲۰ درصد مشاهده شد که به جز با تیمار ۰/۱۵ درصد، با بقیه تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان داد.

در طول دوره پرورش تلفات در هیچکدام از گروه های آزمایشی مشاهده نشد.

نمودار ۱ نتایج طول پرزهای روده را نسبت به اثر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره را در هفته هشتم نشان می دهد. با توجه به نمودار، تیمارها از نظر آماری به پنج گروه تقسیم شدند. در این بین تیمار شماره چهار(۰/۲۰٪) با طولی برابر۰/۰۵ ± ۱/۱ میلی‌متر بیشترین افزایش طول پرز را داشته و با سایر تیمارها اختلاف معنی داری را نشان داد. پس از آن تیمار شماره سه (۰/۱۵٪) با میانگین ۰/۰۶ ± ۰/۸۵ قرار گرفت که این تیمار نیز با تیمارهای دیگر اختلاف معنی داری داشت. کمترین طول پرز روده، مربوط به تیمار شاهد بود (۰/۰۴ ± ۰/۳) که با تیمارهای یک (۰/۰۵ ٪) و دو (۰/۱۰ ٪) اختلاف معنی داری نشان نداد.

جدول ۳- نتایج شاخص های رشد بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با نوکلئوتید در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم (میانگین ± STD[1])

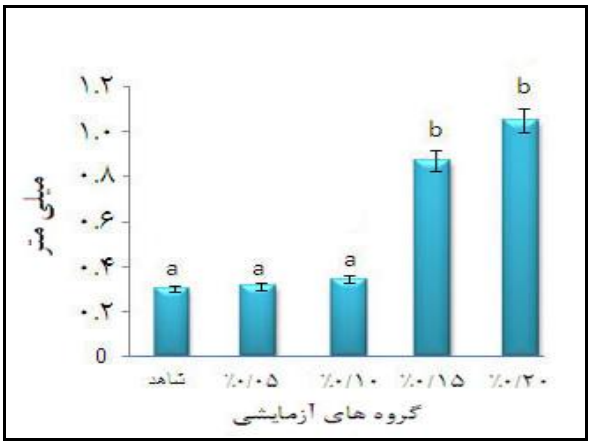
خص رشد/تیمار	شاهد	۰/۰۵٪	۰/۱۰٪	۰/۱۵٪	۰/۲۰٪
افزایش وزن بدن (g)	۲۳/۰۳ ±۰/۸۴[a]	۲۳/۱۰±۰/۶۸[a]	۳۵/۳۷±۰/۲۱[b]	۴۳/۳۶±۰/۹۰[c]	۴۴/۵۶±۰/۶۵[c]
ضریب تبدیل غذایی	۱/۶۲±۰/۸۴[c]	۱/۳۷±۰/۵۹[bc]	۱/۳۰±۰/۱۱[ab]	۱/۱۷±/۰۴ [ab]	۱/۰۵±۰/۰۱ [a]
ضریب رشد ویژه (٪)	۱/۱۱±/۰۴ [a]	۱/۲۵±۰/۰۲ [a]	۱/۶۶±۰/۰۶ [b]	۱/۸۶±۰/۰۴ [c]	۱/۹۱±۰/۰۷ [c]

حروف غیر همسان در بالای اعداد در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

[1] Standard Error

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار۱: تاثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر طول پرز روده ماهیان قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*) در هفته هشتم، حروف غیر همسان بالای هر ستون نشانه اختلاف معنی دار است ($P< ۰/۰۵$).

ضخامت دیواره روده نیز در تیمار شماره پنج (٪۰/۲۰) بیشترین مقدار را نشان داد که این اختلاف بصورت ماکروسکوپی نیز قابل مشاهده بود. طول پرزهای روده در این تیمار به طور چشم گیری افزایش یافته است. در گروه شاهدو تیمارهای یک و دو طول پرزها به طور چشم گیری کاهش یافته است و فضای داخلی لوله گوارش بصورت لوله توخالی قابل مشاهده است (شکل ۱).

۴. بحث

اطلاعات مربوط به سنتز و متابولیسم نوکلئوتید در مهره داران پست تر نظیر ماهی و بی مهرگان همچون سخت پوستان بی نهایت محدود است. در این زمینه حتی در نظریه های مربوط به سنتز و متابولیسم نوکلئوتید خارجی در انسان و سایر پستانداران در برخی موارد اختلاف نظر وجود دارد. اما طی تحقیقات به عمل آمده نشان داده شده است که اضافه کردن مکمل نوکلئوتید خارجی اثرات مثبتی روی فیزیولوژی ارگانیزم هدف خواهد گذاشت (Li et al., 2004).

نتایج حاصل از این تحقیق درهفته هشتم نشان داد که افزودن نوکلئوتید جیره در سطح ۰/۲ درصد به ترکیب غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان منجر به افزایش معنی داری در وزن نهایی بدن و ضریب رشد ویژه و کاهش معنی داری در ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه کنترل شده است. مطالعات گوناگون انجام شده بر گونه های مختلف حکایت از اثرات مثبت و در برخی گونه های دیگر، بی تاثیر بودن نوکلئوتید جیره در رشد ماهیان دارد.

Burrells و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) (وزن اولیه ۴۳ گرم) به میزان ۰/۲۵ درصد سبب افزایش وزنی به میزان ۲۲- ۱۵ درصد نسبت به گروه شاهد در مدت ۸ هفته شد.

Adamek و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی قزل آلای رنگین کمان به میزان ۲/۵ گرم بر کیلوگرم سبب افزایش رشد ۱۰/۵ درصد و افزایش ضریب رشد ویژه ۱۳ درصد نسبت به گروه شاهد در این ماهی شده است. در مطالعه حاضر افزودن نوکلئوتید در جیره سبب افزایش وزنی به میزان ۲۰/۷۱ در صد در تیمار ۰/۲۰درصد می باشد که با نتایج تحقیق آنها شباهت دارد.

این فرضیه مطرح شده است که اثر افزایش رشد متاثر از نوکلئوتیدها در نتیجه بهبود جذب در مراحل ابتدایی رشد، بلع غذایی سریع تر که تراوش مواد غذایی به آب را کاهش می دهد و یا احتمالاً به خاطر نقش آن در متابولیسم است(Borda et al., 2003). Kubitza و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که جیره حاوی اینوزین (۲۸۰۰ mg/kg)، بلع غذا را در باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoide*) تا ۴۶ درصد افزایش داد و مشخص کردند که بهبود اشتهای ناشی از نوکلئوتید جیره می تواند اختلاف میزان رشد را بین ماهیان تغذیه شده با نوکلئوتید جیره و گروه کنترل نشان دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

Rumsey و همکاران (1992) گزارش نمودند که افزایش میزان غذای مصرفی ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با نوکلئوتید جیره، احتمالاً به دلیل جاذب شیمیایی بودن نوکلئوتید ها است که منجر به خوش خوراک شدن غذا و در نتیجه موجب افزایش بلع و رشد بیشتر می گردد. افزایش رشد در تیمار های حاوی نوکلئوتید در این آزمایش می تواند بدلیل خوش خوراکی یا افزایش اشتهای ماهی ناشی از مصرف نوکلئوتید ها باشد.

Li و Gatlin (2006) اذعان داشتند که فراهم کردن مقادیر مورد نیاز فیزیولوژیکی از نوکلئوتیدها در جیره های غذایی به دلیل ظرفیت سنتزی محدود بعضی بافت های مشخص (Lymphoid)، هزینه انرژتیک ناکافی برای سنتز de novo، تبادلات ایمونو اندوکراینی، تعدیل الگوهای بیان ژن به خصوص بیان ژن آنزیم های مسیر salvage نظیر هیپوگزانتین گوانین فسفوریبوزیل ترانسفراز و آدنین فسفوریبوزیل ترانسفراز، اثر نوکلئوتید جیره بر فلور روده، مرفولوژی روده، کاهش استرس و جاذب شیمیایی بودن نوکلئوتیدها از جمله دلایل مرتبط با تأثیرات مفید نوکلئوتید جیره بر شاخص‌های رشد می باشد.

Uauy و همکاران، (1990) گزارش کردند که نوکلئوتید های جیره اثرات چندگانه ای روی مجرای گوارشی مدل های حیوانی از جمله تأثیرات فیزیولوژیکی، مرفولوژیکی و میکروبیولوژیکی دارند. واکنش های مرفولوژیکی مجرای گوارشی انسان ها و حیوانات خشکی به نوکلئوتید جیره شامل افزایش ارتفاع پرزها، افزایش ضخامت دیواره روده میانی و خلفی، و افزایش تعداد سلول های پرزها می باشد(Ortega et al 1995 ,.). در تحقیق حاضر، افزودن نوکلئوتید به جیره غذایی ماهی موجب تغییر در طول پرزهای روده شده است و تغییر بافت شناسی ایجاد شده روند مشخصی را نشان می‌دهد. طول پرز روده در ماهیان تغذیه شده با مقادیر ۰/۲۰ و ۰/۱۵ درصد بطور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود. تاثیرات مثبت نوکلئوتید جیره بر بافت روده حیوانات نظیر، افزایش سرعت ترمیم آسیبهای روده ای پس از اسهال (Bueno *et al.*, 1994)، بهبود میکروفلور روده (Uauy, 1990)، افزایش سطح مخاط (Carver, 1994)، تسریع رشد و تمایز روده، افزایش فعالیت آنزیم های بخش حاشیه مسواکی[1] و افزایش طول پرزها (Uauy, 1990) به اثبات رسیده است.نتایج این تحقیق نشان داد اضافه کردن نوکلئوتید به جیره قزل آلای رنگین کمان در سطوح ۰/۲۰ و ۰/۱۵ درصد اثرات مثبتی بر برخی پارامترهای رشد و مورفولوژی روده دارد. با در نظر گرفتن هزینه های مربوط به اضافه کردن نوکلئوتید در جیره ماهیان، استفاده از میزان ۰/۱۵ درصد در جیره روزانه جهت بهینه نمودن برخی پارامترهای رشد و خصوصیات بافتی روده ماهی پیشنهاد می شود.

تشکر وقدردانی

از دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به جهت پشتیبانی مالی این پژوهش تشکر بعمل آید.

منابع

افشار مازندران، ن.، ۱۳۸۱: راهنمای عملی تغذیه و نهاده های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. انتشارات نوربخش. ص ۲۱۶.

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

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. pp. 39-48.

[1]. Brush border

www.SID.ir

Archive of SID

Kubitza, F., Lovshin, L. L. and Lovell, R. T. 1997: Identification of feed enhancers for largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Aquacult. 148: 191– 200.

Li, P., Lewis, D. H. and Gatlin III, D. M. 2004: Dietary oligonucleotide from yeast RNA influences immune responses and resistance of hybrid striped bass (Morone chrysops× M. saxatilis) to Streptococcus iniae infection. Fish Shellfish Immunol. 16: 561– 569.

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

Misra, C. K., Kumar, D. B., Mukherjee, S. C. and Pattnaik. P. 2006. Effect of long term administration of dietary â-glucan on immunity, growth and survival of Labeo rohita fingerlings. Aquacult. 255: 82–94.

National Research Council (NRC). 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington.

Ortega, M. A., Gil, A. and Sánchez-Pozo, A., 1995: Maturation status of small intestine epithelium in rats deprived of dietary nucleotides. Life Sci. 56: 1623–1630.

Rumsey, G.L.; Winfree, R.A. and Hughes, S.G. 1992. Nutritional value of dietary nucleic acids and purine bases to rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquacult. 108: 97–110.

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. J. Pediatr. Gastroenterol Nutr. 10: 497–503.

Varsamos, S. 2002. Tolerance Range and Osmoregulation in Hypersaline Conditions in the European Sea Bass (Dicentrarchus labrax). J. Mar. Biol. Asso. 82: 1047-1048.

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.

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. Aquacult. 199: 171-184.

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

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

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 Chem. Toxicol. 44: 1838–1844.

Halver, J. E. 1976: The Nutritional requirements of cultivated warm water and cold water fish species. Paper no31, Fao Tech. Conf. In Aquaculture. Kyoto, May 26- June2. 9pp.

Holen, E., Bjørge, O.A. and Jonsson, R. 2005. Dietary nucleotides and human immune cells. II. Modulation of PBMC growth and cytokine secretion. Nutrition, pp. 1003–1009.

Khodabandeh, S., Charmantier,G., Charmantier-Daures, M. 2006. Immunolocalization of Na^+/K^+-ATPase in osmoregulatory organs during the embryonic ans post-embryonic development of the lobster Homarus gammarus. J. Crust. Biol. 26: 515-523.

www.SID.ir