

## مطالعه تغییرات ساختار بافتی روده آزاد ماهی دریای خزر *Salmo trutta caspius* Kessler, 1877 در سطوح مختلف نوکلئوتید جیره

صادق اولاد<sup>۱</sup>، صابر خدابنده<sup>۱\*</sup>، عبدالمحمد عابدیان<sup>۲</sup>، نعمت اله محمودی<sup>۲</sup>

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس
۲. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۴

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۱۸

### چکیده

تأثیر نوکلئوتید جیره در سطوح مختلف (صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد در جیره کنترل) بر ساختار قسمت های مختلف روده در بچه آزاد ماهی دریایی خزر، *Salmo trutta caspius* با میانگین وزن  $12/26 \pm 0/001$  گرم بعد از ۸ هفته بررسی گردید. آزمایش درون مخازن ۳۰۰ لیتری آب شیرین با تراکم ذخیره سازی ۳۵ قطعه بچه ماهی انجام شد. در پایان دوره پرورش جهت بررسی تأثیر نوکلئوتید بر ساختار بخشهای مختلف روده از هر تیمار ۶ قطعه بچه ماهی صید و بلافاصله جهت انجام اعمال بافت شناسی در بوئن فیکس و پس از طی مراحل قالب گیری، برشهای ۴ میکرومتری از آنها تهیه و سپس با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی و بررسی گردیدند. نتایج بررسیهای بافت شناسی بعمل آمده در قسمت دوازدهه نشان داد که تیمارهای حاوی نوکلئوتید در مقایسه با تیمار شاهد، تأثیر معنی داری ( $P < 0/05$ ) بر طول پرز، ضخامت عضله و زیر مخاط دارد و حداکثر طول پرز و میزان بافت عضله در تیمار ۰/۲۵ درصد به دست آمد. مشابه همین نتایج در روده میانی و انتهایی نیز مشاهده گردید، و در بین تیمارهای حاوی نوکلئوتید بیشترین تأثیرات معنی دار ( $P < 0/05$ ) در افزایش طول پرز، میزان بافت عضله و زیر مخاط مربوط به ۰/۲۵ درصد بود. لذا به نظر می رسد افزودن مقدار ۰/۲۵ درصد نوکلئوتید می تواند تأثیرات مثبت قابل توجهی روی رشد و بازسازی بافت روده داشته و شاید با افزودن به سطوح جذبی روده، بتواند نقش مهمی در رشد بچه ماهیان داشته باشد.

**واژگان کلیدی:** روده، نوکلئوتید، آزاد ماهی دریای خزر، *Salmo trutta caspius*

\* نویسنده مسؤل، پست الکترونیک: surp78@yahoo.com

## ۱. مقدمه

تکثیر و پرورش آبزیان از فعالیتهای اقتصادی با ارزش محسوب می شود به طوری که از سال ۱۹۷۰ نرخ رشد معادل ۸/۹ درصد داشته و انتظار می رود که این روند در دهه حاضر میلادی نیز افزایش قابل ملاحظه ای داشته باشد (FAO, 2004).

یکی از فاکتورهای مهم در پرورش آبزیان، تغذیه مناسب آنها بوده و تغذیه ای که بتواند نیازهای متابولیک موجود را به طور مناسب مهیا کند بسیار مورد توجه قرار گرفته است. یکی از ترکیبات مهم تغذیه ای، نوکلئوتیدها می باشند که در واکنشهای سلولی دخالت داشته و نقش مهمی در وظایف ساختاری و تنظیمی بدن دارند (Li and Gatlin, 2006). نوکلئوتیدها همواره در سلول سنتز، تجزیه و بازیافت می شوند. در سالهای اخیر استفاده از نوکلئوتید در جیره های غذایی به دلیل تقویت سیستم ایمنی، افزایش سطح جذب در روده، بهبود کیفیت گوشت و مؤثر بودن در متابولیسم اسید چرب بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Li and Gatlin, 2006). از جمله سلولهای مهم دستگاه گوارش می توان به سلولهای لایه موکوسی اشاره کرد که این سلولها 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; Li et al., 2004). 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 کیفیت گوشت، افزایش مقاومت به

بیماری، افزایش سطح جذب دستگاه گوارش، امکان افزایش توانایی در تنظیم اسمزی، مؤثر بودن در متابولیسم چربی و پروتئین، افزایش جذب آهن در روده، بهبود پاسخهای استرس، کاهش ضایعات کبدی، اصلاح عملکرد کبد و بیان ژن شاخصهای ایمنی می باشد (محمودی، ۱۳۸۷؛ Li and Gatlin, 2006; Boza, 1998; Andres-Elias et al., 2007; Burrells et al., 2001a; Burrells et al., 2001b).

بررسی های انجام شده توسط Ortega و همکاران (1995) و همچنین Uauy و همکاران (1990)، در موش صحرایی، Bustamante و همکاران (1994) در خوک، Borda و همکاران (2003) در ماهی sae bream نشان دادند که نوکلئوتید تأثیر معنی داری بر رشد قسمت های مختلف بافت روده دارد.

دستگاه گوارش ماهیان استخوانی بسته به نوع رژیم تغذیه ای آنها به قسمت های مختلفی تقسیم بندی می شود که هر بخش مورفولوژی و ساختار بافتی خاص خود را دارد (Loretz, 1995). روده آزاد ماهیان از نظر ریخت شناسی به بخشهای مشخصی شامل مری، معده، دوازدهه، روده ابتدایی، روده میانی و روده انتهایی تقسیم شده است. در آزاد ماهیان، دستگاه گوارش محل هضم و جذب غذا، تنظیم یون و تعادل آب و همچنین سدی در مقابل هجوم عوامل بیماریزا می باشد (Jutfelt, 2007). بخش ابتدایی روده عمدتاً مسئول جذب مواد غذایی می باشد (Loretz, 1995; Collie; Ferraris, 1995). جذب یون و آب در طول روده و بیشتر در روده انتهایی رخ می دهد (Loretz, 1995). تحقیقات نشان داده که در آزاد ماهیان آنادروموس (بعنوان مثال آزاد ماهی دریای خزر) در طی تغییر شکل پار به اسمولت (در آب شیرین) تغییرات پیچیده ای در

شده و نیز عدم بررسی اثرات نوکلئوتید بر روی سایر قسمت های بافت روده آزاد ماهی دریای خزر، تحقیق حاضر با هدف مطالعه تغییرات ساختاری دوازدهه، روده میانی و روده انتهایی در اثر این ماده افزودنی انجام گردید.

## ۲. مواد و روش ها

ابتدا با توجه به آزمایشهای معتبر انجام شده در دنیا مبنی بر استفاده از مکمل حاوی نوکلئوتید که دارای استانداردهای لازم برای انجام کارهای تحقیقاتی است، مکمل اپتیمون (Chemofarma, Augst Switzerland) با درصد خلوص ۱۷/۳ درصد، حاوی:

Cytidine-5-monophosphate (CMP),  
Disodium uridine-5-monophosphate (UMP),  
adenosine-5-monophosphate (AMP),  
disodium inosine-5-monophosphate (IMP),  
disodium guanidine-5-monophosphate (GMP)، شناسایی و از طریق نمایندگی این شرکت در ایران (شرکت توران تو) خریداری گردید. بچه ماهیان مورد نظر با میانگین وزنی ۱۲ گرم از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت پس از طی عملیات رقم بندی تهیه شدند. تانکهای فایبرگلاس ۰/۳ متر مکعبی جهت پرورش، قبل از ذخیره سازی بچه ماهیان کاملاً ضدعفونی، سپس با آب شستشو داده شدند. همچنین جهت ضدعفونی ماهیان از محلول نمک ۴ درصد استفاده شد و سپس در داخل تانکها (آبگیری ۲۵۰ لیتر) به تعداد ۳۵ قطعه در هر تانک قرار گرفتند. به دلیل حمل و نقل ماهیان به مدت ۲۴ ساعت در حالت گرسنگی نگهداری شده و سپس، به مدت یک هفته با جیره پایه به منظور سازگار نمودن تغذیه شدند. در ادامه با توجه به تیمارهای تعیین شده، افزودنی غذایی اپتیمون در ۲ سطح ۰/۲۵٪ و ۰/۵٪ به جیره پایه اضافه گردید. تیمار سوم به عنوان

فیزیولوژی، ریخت شناسی، بیوشیمی و رفتار ماهی جهت آماده سازی آبی برای زندگی دریایی رخ می دهد (McCormick and Saunders, 1987) که نشانگر نقش اساسی این اندام در تنظیم اسمزی است. تغذیه و متعاقب آن جذب مواد غذایی، زندگی و حیات را در حیوانات میسر می سازد و ناچاراً پی آمدهای فیزیولوژیک خواهد داشت. افزایش توجه جهانی به افزودن نوکلئوتید ها در جیره ماهیان بوسیله گزارش های Burrells و همکاران (2001a,b) بوجود آمد که با گزارش این محققین تحقیقات در این زمینه شکل تازه ای به خود گرفت (Li and Gatlin, 2006). تحقیقات روی چگونگی اثرات مثبت نوکلئوتیدها در سطح رشد ماهیان محدود می باشد (Burrells et al., 2001a; Burrells et al., 2001b). ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) یکی از ۹ زیرگونه قزل آلی قهوه ای (*Salmo trutta*) در جهان است. این زیرگونه در بین زیرگونه های قزل آلی قهوه ای دارای بزرگترین اندازه و وزن است. این آبی از ماهیان بومی و مهاجر (آنادروموس) دریای خزر می باشد که از ارزش غذایی و شیلاتی بالایی برخوردار است. این ماهی به طور عمده در جنوب دریای خزر در سواحل ایران وجود داشته، و بدلیل کاهش ذخایر آن در دریا تلاش ها در جهت بازسازی آن آغاز و همچنین توسعه پرورش مصنوعی شروع شده است. ارزش اقتصادی بالای ماهی آزاد خزر و کم شدن ذخایر آن در دریا تلاش در جهت بهبود پرورش بچه ماهیان قبل از رهاسازی را افزایش داده است. تحقیقات انجام شده روی اثرات نوکلئوتید جیره در بچه ماهیان آزاد خزر مؤید، افزایش رشد قابل ملاحظه (محمودی، ۱۳۸۷) و همچنین تأثیرات مثبت در رشد بخشهای مختلف بافت کیسه های (اولاد و همکاران، ۱۳۸۷) می باشد. با توجه به موارد اشاره

گروه شاهد (جیره پایه) در نظر گرفته شد که میزان نوکلئوتید صفر درصد بود. جهت فرمولبندی جیره ماهیان از نرم افزار لیندو ( LINDO Systems Inc. Chicago, IL, USA) و بر اساس مواد اولیه داخلی استفاده گردید. از سلولز، روغن ماهی و پودر ماهی برای تهیه جیره هایی با نیتروژن و لیپید یکسان در بین تیمارها استفاده شد (جداول ۱ و ۲).

میزان غذادهی به بچه ماهیان در ۵ وعده در ساعات ۸، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۸ انجام شد. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز از مخازن سیفون می گردید. زیست سنجی ماهیان هر دو هفته یک بار با دقت ۰/۰۱ گرم برای سنجش وزن و با دقت ۱ میلی متر برای طول کل انجام شد. جهت تأمین اکسیژن، به هر یک از مخازن ۲ عدد سنگ هوا که به منبع هواده متصل بودند، نصب گردید. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به مدت ۸ هفته انجام شد. اندازه گیری عوامل کیفی آب، همچون دمای آب، pH و میزان اکسیژن ۲ بار در هفته انجام گرفت. در کل دوره آزمایش میزان دمای آب ۱۶-۱۴ درجه سانتی گراد، میزان اکسیژن ۷/۵-۸/۵ میلی گرم بر لیتر و pH آب ۷/۸-۸/۲ در نوسان بود.

روده خلفی) بدقت از همدیگر جدا شده و برای ادامه کار انتخاب شدند. پس از شستشوی مکرر با الکل اتانول ۷۰٪ نمونه ها در الکل اتانول های ۹۵ و ۱۰۰ درصد و نهایتاً توسط الکل بوتانول آگیری شدند. نمونه ها پس از قرار گیری به مدت ۳ ساعت در گزین به منظور پارافینه کردن، در داخل آن در پارافین مایع قرار داده شدند و پس از آن توسط پارافین (Merck, Germany) به صورت طولی و عرضی قالب گیری شدند. از بلوک ها برش هایی به ضخامت ۴ میکرومتر توسط میکروتوم ساخت شرکت دید سبز تهیه شد. لامها پس از نگهداری در داخل آن در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و پس از آن پارافین زدایی توسط گزین به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ آمیزی شده و توسط میکروسکوپ نوری Micros مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند ( Gil et al., 1986; Carver, 1994). جهت بررسی ضخامت طبقات مخاطی و عضلانی، زیر مخاط و طول پرزها از عکسهای تهیه شده با بزرگنمایی  $50\times$  در مقطع عرضی و طولی از نرم افزار Image Tool 2.00 استفاده گردید. تعداد ۳۰ مقطع عرضی و طولی از هر تیمار برای بررسی های بافت شناسی استفاده گردیدند.

بعد از طی ۸ هفته، ابتدا تعداد ۶ قطعه بچه ماهی برای هر تیمار (میانگین وزن بچه ماهیان  $26/12 \pm 0/01$  گرم و طول  $13/51 \pm 44$  سانتی متر) با عصاره گل میخک (مقدار ۷۵ گرم گل میخک در ۴ لیتر آب مخلوط گردید) بیهوش گردیده، سپس دستگاه گوارش آنها خارج و به مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن تثبیت شدند (در این مرحله سعی شد حداقل سه نمونه هم وزن و هم سایز از هر تیمار بررسی گردد). بعد از تثبیت، ۳ بخش دستگاه گوارش (دوازدهه، روده میانی و

نرم افزار SPSS برای آنالیز آماری و Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید. از آزمون Shapir-wilk برای بررسی نرمال بودن یا نبودن داده ها استفاده شد، و با توجه به نرمال نبودن داده ها از آزمون Kruskal-Wallis برای مقایسه کلی و از آزمون Mann-Whitney برای مقایسه چندگانه استفاده گردید.

جدول ۱. ترکیب جیره ساخته شده برای بچه ماهیان آزاد دریای خزر در تیمارهای مختلف

اجزای تشکیل دهنده (%)	جیره پایه	٪۰/۲۵	٪۰/۵
پودر ماهی a	۶۹/۴	۶۹/۴	۶۹/۴
دکسترین b	۱۳	۱۳	۱۳
روغن ماهی a	۳	۳	۳
روغن سویا e	۲/۷۵	۲/۷۵	۲/۷۵
مکمل معدنی d	۴	۴	۴
مکمل ویتامینی c	۳	۳	۳
ویتامین C e	۰/۱	۰/۱	۰/۱
ضد قارچ e	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی کلسیم فسفات f	۱	۱	۱
مکمل نوکلئوتید g	۰	۰/۲۵	۰/۵
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

<sup>a</sup> Pars Kilka Corporation., Iran <sup>b</sup> Merck Corporation., Germany <sup>c</sup> Unit kg<sup>-1</sup> of diet: Vitamin A, 1200000 C 5400mg; H2, 200mg; B1,200mg; B2, 3600mg; B3, 7200mg; IU; D3, 400000; E, 30 IU; K3, 1200mg; B5, 9000mg; B6, 2400mg; B9, 600mg; B12,4mg; antioxidant 500mg Career up to 1 kg. <sup>d</sup> Unit kg<sup>-1</sup> of diet: Fe, 4500 mg; Cu, 500 mg; Co, 50 mg; Se, 50 mg; Zn, 6000 mg; Mn, 5000 mg; I, 150 mg; choline chloride, 150000 mg; to 1 kg. <sup>e</sup> Khorak-Dam Abzian Corporation, Iran. <sup>f</sup> Garmab Shimi Corporation, Iran.

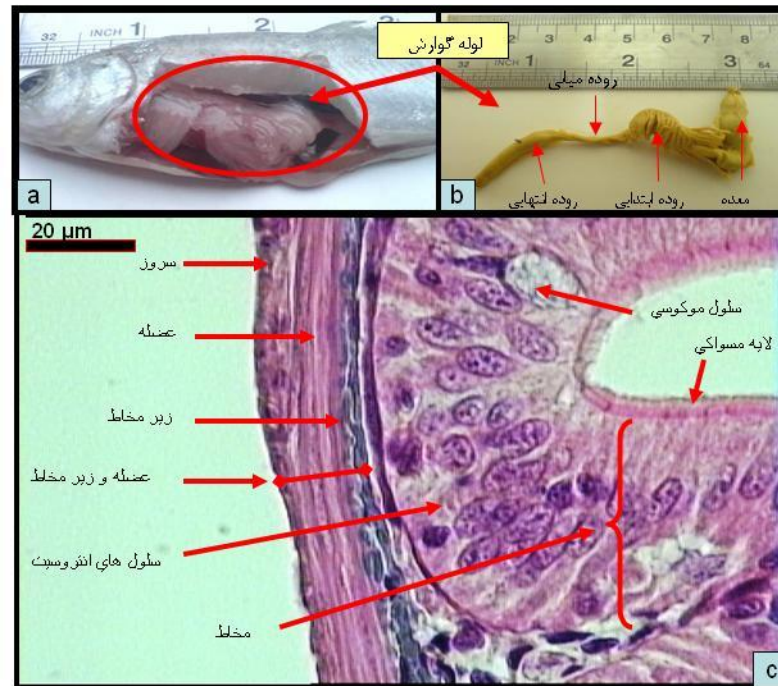
جدول ۲. تجزیه تقریبی جیره پایه مورد استفاده برای تغذیه بچه ماهیان آزاد دریای خزر

میزان (درصد)	نوع ترکیبات
۵۰/۸۲	پروتئین
۱۷/۱	چربی
۱۲/۵	رطوبت
۱۰/۱	خاکستر
۹/۴۸	کربوهیدرات
۳۹۴۸	انرژی قابل هضم (کیلو کالری بر کیلوگرم) *

## ۳. نتایج

شامل مری، معده، روده ابتدایی (دارای ساکهای پیلوریک)، روده میانی و روده انتهایی در شکل ۱- a و ۱- b آورده شده است.

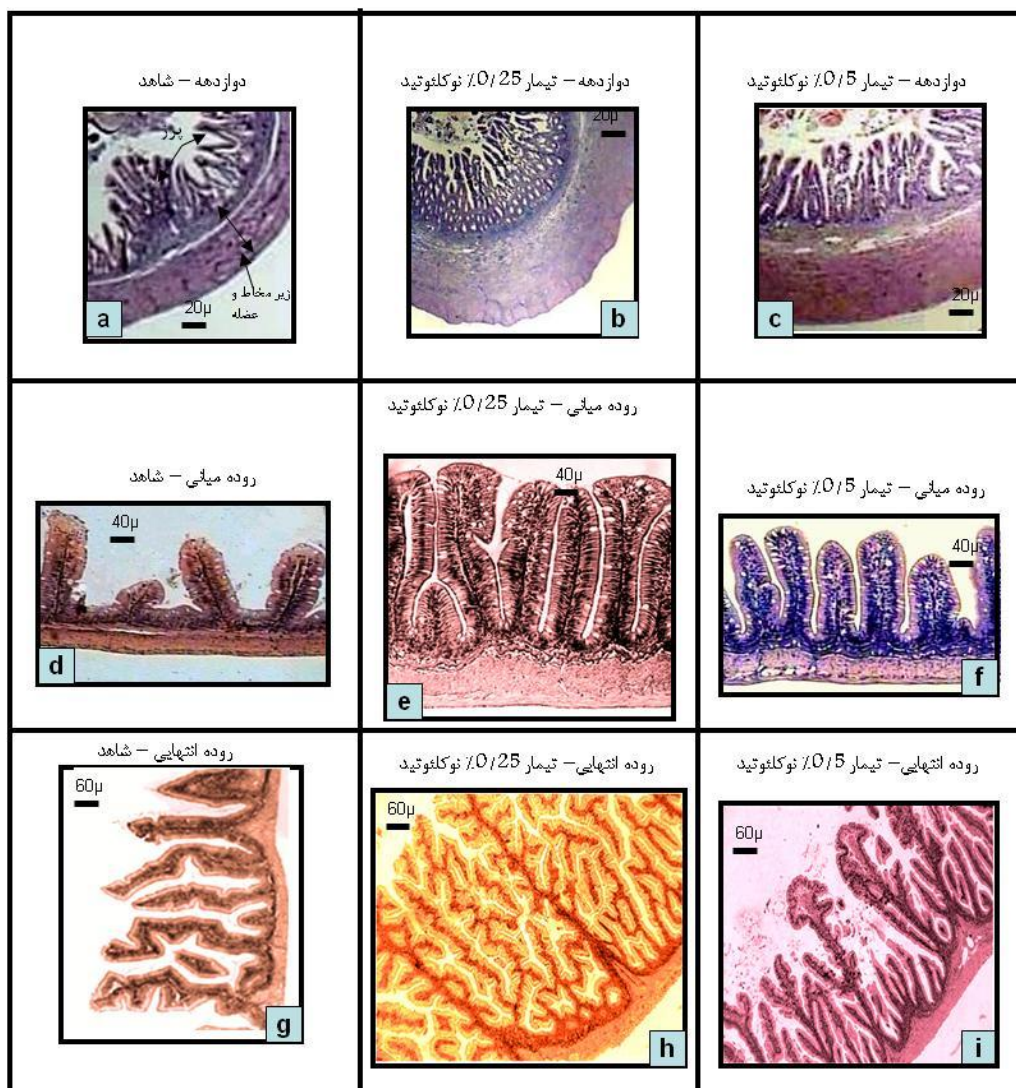
دستگاه گوارش بصورت کامل از نمونه ها خارج گردیده و با استریومیکروسکوپ (لوپ) عکسبرداری شد. قسمت های مختلف لوله گوارش



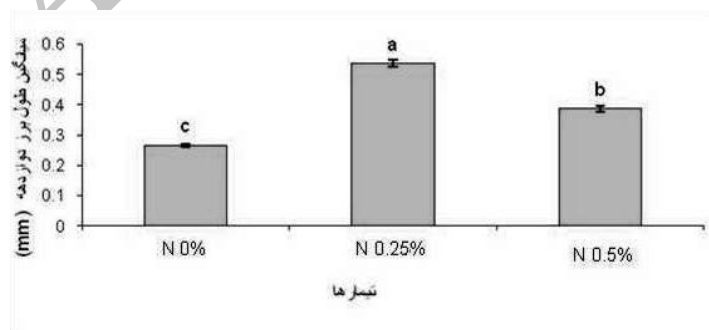
شکل ۱. ساختار روده در آزاد ماهی دریای خزر (شکل ۱- a و b)، و طبقات مختلف سلولی روده در یک مقطع عرضی از آن (شکل ۱- c)، (رنگ آمیزی شده با همتوکسیلین-ئوزین). در بررسی بافت شناسی بخشهای مختلف از جمله پرزها، مخاط، زیر مخاط، عضله و سرور مشاهده و در تیمارهای مختلف مقایسه گردیدند (شکل ۱- c).

بررسی تصاویر و همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که افزودنی غذایی حاوی هر دو غلظت نوکلئوتید تأثیر مثبت معنی داری ( $p < 0.05$ ) بر رشد عضله و زیر مخاط در قسمت دوازده دارد که این در تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ نوری (شکل ۲- a، b و c)، (شکل ۴) آشکار می باشد. اثرات مثبت نوکلئوتید ۰/۲۵٪ حتی نسبت به ۰/۵٪ بیشتر بود.

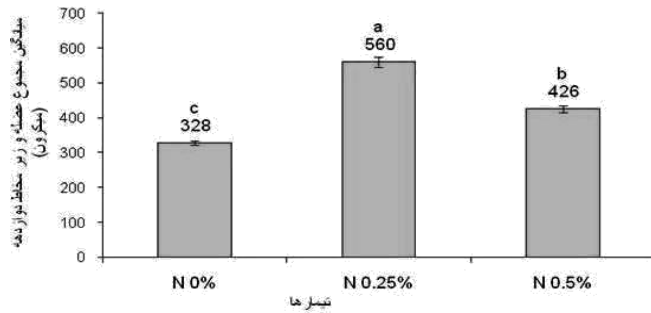
اندازه گیری بعمل آمده با نرم افزار 2.00 Image Tool در بخش دوازدهه نشان داد میانگین طول پرزها به طور معنی دار ( $p < 0.05$ ) در تیمارهای نوکلئوتید نسبت به گروه شاهد (جیره پایه) بیشتر می باشد، و بیشترین میانگین طول پرز (میلی متر) در تیمار نوکلئوتید ۰/۲۵٪ مشاهده گردید (شکل ۲- a، b و c)، (شکل ۳).



شکل ۲. ساختار بافت بخشهای مختلف روده و اثرات نیتروفورانید روی آنها در بچه آزاد ماهی دریای خزر، تیمار شاهد (شکل ۲- a، b، c، d، e، f، g، تیمار ۰/۲۵٪ نیتروفورانید (شکل ۲- h و i) و تیمار ۰/۵٪ (شکل ۲- c، d، e، f، g، h، i). مقیاس تصاویر: تصاویر ۲- a، b و c، ۲۰ میکرومتر، تصاویر ۲- d، e و f، ۴۰ میکرومتر و تصاویر ۲- g، h و i، ۶۰ میکرومتر.



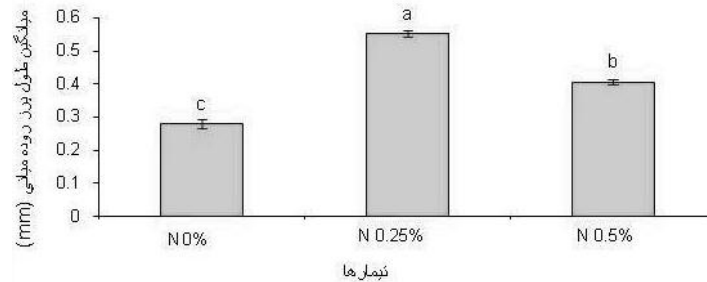
شکل ۳. مقایسه میانگین طول پرز دوازدهه (mm) در مقاطع عرضی و طولی (۳۰ برش بررسی شده) در تیمارهای مختلف بر اساس درصد نیتروفورانید اضافه شده به جیره کنترل.



شکل ۴. مقایسه میانگین ضخامت مجموع طبقات زیر مخاط و عضله دوازدهه (میکرون) در مقطع عرضی و طولی (۳۰ برش بررسی شده) در تیمارهای مختلف بر اساس درصد نوکلئوتید اضافه شده به جیره کنترل.

بر رشد طولی پرز داشته اند (شکل ۲- d, e, f و)،  
(شکل ۵).

بررسی های بعمل آمده روی برشهای طولی روده میانی نشان داد که در این بخش نیز جیره های حاوی نوکلئوتید تأثیر معنی داری ( $p < 0.05$ )

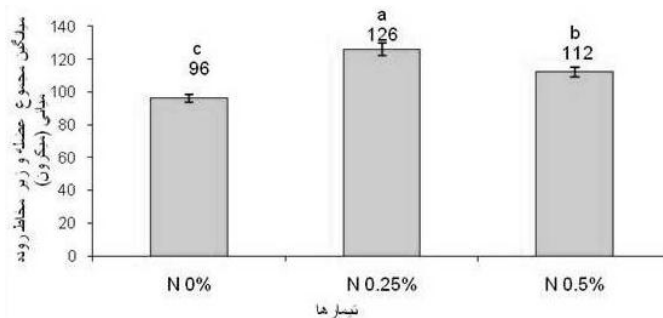


شکل ۵. مقایسه میانگین طول پرز روده میانی (mm) در مقاطع عرضی و طولی (۳۰ برش بررسی شده) در تیمارهای مختلف بر اساس درصد نوکلئوتید اضافه شده به جیره کنترل. بیشترین میزان طول پرز در تیمار ۰/۲۵٪ و کمترین میزان در تیمار شاهد مشاهده گردید.

(شکل ۵). طول پرز در قسمت روده انتهایی نیز بررسی گردید و نتایج نشان داد در این بخش میانگین طول پرز در تیمار شاهد ۰/۵۳۳ میلی متر، در تیمار ۰/۲۵ درصد ۰/۸۶۰ میلی متر و در تیمار ۰/۵ درصد ۰/۷۶۶ میلی متر می باشد که این نتایج نشان دهنده اختلاف معنی دار ( $p < 0.05$ ) بین ۳ تیمار می باشد.

مجموع ضخامت عضله و زیر مخاط در تصاویر تهیه شده از مقاطع طولی روده میانی با استفاده از میکروسکوپ نوری Micros بررسی گردید. نتایج نشان داد که تیمار حاوی نوکلئوتید ۰/۲۵٪ دارای بیشترین ضخامت می باشد. در این تیمار عضله و زیر مخاط حتی نسبت به تیمار ۰/۵٪ به طور معنی داری بیشتر بود (شکل ۲- d, e, f و)،

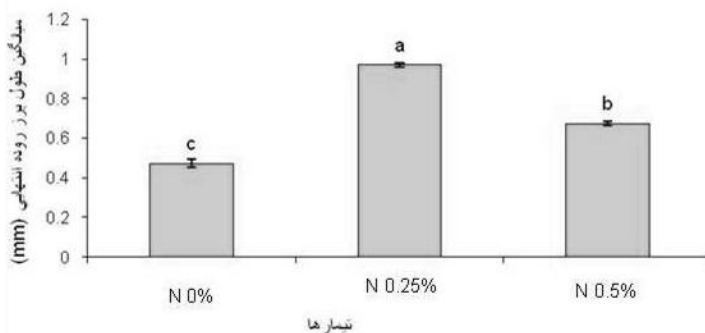




شکل ۶. مقایسه میانگین ضخامت زیر موکوس و لایه عضلانی (میکرون) در مقاطع عرضی و طولی (۳۰ برش بررسی شده) در تیمارهای مختلف بر اساس درصد نوکلئوتید اضافه شده به جیره کنترل.

متوسط داشت و کمترین میزان رشد در تیمار شاهد مشاهده گردید (شکل ۲- g, h و i)، (نمودار ۵).

همانگونه که از نتایج مشخص است در این بخش نیز همانند بخش دوازدهم و روده میانی، تیمار ۰/۲۵٪ بیشترین میانگین طول را دارا می باشد. تیمار ۰/۵٪ نوکلئوتید رشدی در حد



شکل ۷. مقایسه میانگین طول پرز (mm) در مقاطع عرضی و طولی (۳۰ برش بررسی شده) در تیمارهای مختلف بر اساس درصد نوکلئوتید اضافه شده به جیره کنترل.

میانگین را به خود اختصاص داده است (شکل ۶). میانگین طول پرز، ضخامت عضله و زیر مخاط در ۳ تیمار مورد بررسی به طور خلاصه در جدول ۳ اشاره شده است.

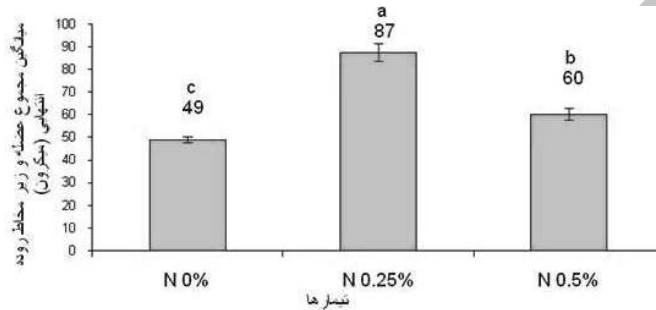
#### ۴. بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر میانگین وزن و طول بچه ماهیان در پایان هفته هشتم در تیمار شاهد، سطح ۰/۲۵ درصد و ۰/۵ درصد نوکلئوتید به

بررسی تصاویر تهیه شده نشان داد که نوکلئوتید باعث رشد عضله و زیر مخاط در روده انتهایی نیز می گردد (شکل ۲- g, h و i). همچنین مقایسه میانگین داده های حاصل از نرم افزار ImageTool 2.00 (شاهد ۴۹ میکرومتر، ۰/۲۵ درصد ۸۷/۵۶۷ میکرومتر، ۰/۵ درصد ۶۰/۳۳۳ میکرومتر) دلالت بر وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارها می باشد. بررسی این قسمت از روده نشان داد تیمار ۰/۲۵ درصد بیشترین

که بیشتر RNA کبد (۰/۸۵) از نوع (rRNA) RNA ریبوزومی است احتمالاً با اضافه کردن نوکلئوتید جیره سنتز پروتئین افزایش معنی داری را نشان می دهد (Perez *et al.*, 2004). بعلاوه این فرضیه مطرح شده است که اثر افزایش رشد متأثر از بلع غذایی سریع تر، که تراوش مواد غذایی به آب را کاهش می داد، می باشد (Li *et al.*, 2004).

ترتیب ۲۰/۹۲±۰/۴۴ گرم، ۲۵/۴۲±۰/۴۴ گرم، ۲۲/۷۷±۰/۲۹ گرم و میانگین طول ۱۳/۱±۰/۱۱، ۱۴/۱±۰/۰۰۱ و ۱۳/۵±۰/۱۲ بود، که همانطور که ملاحظه می شود تفاوت وزن در تیمار ۰/۲۵ درصد نسبت به گروه شاهد قابل توجه می باشد (میانگین وزن ابتدای دوره ۱/۰۰۱±۰/۱۲/۲۶ گرم می باشد). مطالعات نشان داده است که اضافه کردن نوکلئوتید جیره سبب حفظ و ابقای مقدار RNA در سلول های کبدی می شود و از آنجایی



شکل ۸. مقایسه میانگین ضخامت زیر موکوس و لایه عضلانی (میکرون) در مقاطع عرضی و طولی (۳۰ برش بررسی شده) در تیمارهای مختلف بر اساس درصد نوکلئوتید اضافه شده به جیره کنترل.

جدول ۳. مقایسه میانگین های عددی به دست آمده از بررسی بخشهای مختلف لوله گوارش

شاهد	تیمار ۰/۲۵ درصد نوکلئوتید	تیمار ۰/۵ درصد نوکلئوتید	
۳۲۸	۵۶۰	۴۲۶	میانگین مجموع عضله و زیر مخاط دوازدهه (میکرون)
۹۶	۱۲۶	۱۱۲	میانگین مجموع عضله و زیر مخاط روده میانی (میکرون)
۴۹	۸۷	۶۰	میانگین مجموع عضله و زیر مخاط روده انتهایی (میکرون)
۲۸/۰	۰/۵۴	۳۹/۰	میانگین طول پرز دوازدهه (میلی متر مربع)
۲۹/۰	۵۶/۰	۴۱/۰	میانگین طول پرز روده میانی (میلی متر مربع)
۵/۰	۹۸/۰	۷/۰	میانگین طول پرز روده انتهایی (میلی متر مربع)

روده، افزایش فعالیت آنزیم های بخش حاشیه مساکی (brush border) و افزایش طول پرزها در موش (Uauy, 1990) به اثبات رسیده است. واکنش های مرفولوژیک مجرای گوارشی انسان ها و حیوانات زمینی به نوکلئوتید جیره شامل افزایش ارتفاع پرزها، افزایش ضخامت دیواره روده میانی و خلفی افزایش تعداد سلول های پرزها می باشد (Borda et al., 2003). Bustamante و همکاران (۱۹۹۴) افزایش ارتفاع پرزها و تعداد سلولهای انتروسیست روده ای را به میزان ۲۵ درصد در خوکه های تغذیه شده با نوکلئوتید در مقایسه با گروه شاهد مشاهده کردند. Burrells و همکاران، (2001a) برای اولین بار واکنش های مرفولوژیک روده ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) را به نوکلئوتیدهای جیره بررسی و نشان دادند که ارتفاع میانگین چین خوردگی روده (طول پرز) در قسمت های قدامی، میانی و خلفی همچنین مساحت کل روده ماهیان تغذیه شده با جیره دارای نوکلئوتید به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد می باشد. همچنین Borda و همکاران، (2003) نتایج مشابهی را در سیم دریایی (*Sparus aurata*) جوان گزارش کردند. در مطالعه حاضر ساختار تیپیک لوله گوارش شامل طبقه مخاط، زیر مخاط، عضله و سروز در بچه ماهیان آزاد خزر مشاهده گردید. همچنین در بررسی تصاویر بافت شناسی مشخص گردید که همانند کیسه های پیلوریک (اولاد و همکاران، ۱۳۸۷)، نوکلئوتید بر بخشهای دوازدهه، روده میانی و روده انتهایی تأثیر مثبت دارد و نتایج قبلی تأثیر مثبت بر رشد بافت کیسه های پیلوریک را تأیید می کند. بدون شک افزایش سطح جذب در روده به طریق مختلف می تواند میزان جذب مواد غذایی را سبب شده و به همراه سایر تغییرات ساختاری و فیزیولوژیک که این ماده می تواند انجام دهد سبب افزایش رشد

اثرات مثبت نوکلئوتید جیره روی بلع غذا و اشتها در باس دهان بزرگ و قزل آلا (Rumsey et al., 1992) نیز گزارش شده است. اثر نوکلئوتید جیره بر فلور روده، مرفولوژی روده، کاهش استرس و جاذب شیمیایی بودن نوکلئوتیدها از جمله دلایل مرتبط با تأثیرات مفید نوکلئوتید جیره می باشد. لذا می توان گفت که نوکلئوتید همراه با توسعه رشد در روده ماهی آزاد خزر زمینه را برای جذب بهتر و تعدیل عمل آنزیمهای مختلف و هورمونهای درون ریز آماده می سازد. همچنین اشاره شده که فراهم کردن مقادیر مورد نیاز فیزیولوژیک از نوکلئوتیدها در جیره های غذایی به دلیل ظرفیت سنتزی محدود بعضی بافت های مشخص، هزینه انرژی ناکافی برای سنتز *de novo*، تبادلات ایمنو اندوکراینی، تعدیل الگوهای بیان ژن به خصوص بیان ژن آنزیم های مسیر salvage نظیر هیپوگزانتین گوانین فسفوریبوزیل ترانسفراز و آدنین فسفوریبوزیل ترانسفراز، را سبب می گردد (Li and Gatlin, 2006). با توجه به نتایج کسب شده در تحقیق حاضر و نتایج مطالعات اشاره شده می توان گفت که نوکلئوتید جیره (به میزان مشخص) می تواند به طور مستقیم تغییرات بافتی در روده ایجاد کند و همچنین به طور غیر مستقیم بر رفتار تغذیه ای و اعمال متابولیک اثر گذاشته میزان رشد بچه ماهیان را به طور معنی داری افزایش دهد.

اگرچه تحقیقات متعددی روی اثرات نوکلئوتید جیره بر ساختار دستگاه گوارش پستانداران صورت گرفته، تعداد تحقیقات روی ماهیان بسیار محدود می باشد. تأثیرات مثبت نوکلئوتید جیره بر بافت روده حیوانات اهلی و خانگی نظیر، بهبود میکروفلور روده (Uauy, 1994; Carver, 1990)، افزایش سطح مخاط در موش (Li et al., 2004)، تسریع رشد و تمایز

گوارش گردیده و سبب افزایش راندمان جذب مواد غذایی گردد. همچنین به طور غیر مستقیم بر رفتار تغذیه ای و اعمال متابولیک اثر گذاشته میزان رشد بچه ماهیان را به طور معنی داری افزایش دهد.

### منابع

اولاد، ص.، خدابنده، ص.، عابدیان کناری، ع.، محمودی، ن. ۱۳۷۸. اثرات نوکلئوتید جیره برساختار ساکهای پیلوریک ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius*، مجله علمی شیلات. محمودی، ن.ا. ۱۳۸۷. بررسی عملکرد نوکلئوتید جیره بر شاخص های رشد، سیستم ایمنی، پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون، کیفیت گوشت، میکرو فلور و مورفولوژی روده ماهی آزاد دریای خزر پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس. ۸۱ صفحه.

Andres-Elias, N., Pujols, J., Badiola, I., Torrallardona, D. 2007. Effect of nucleotides and carob pulp on gut health and performance of weanling piglets. *Livestock Science*, 108: 280-283.

Borda, E., Martinez-Puig, D., 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.

Burrells, C., William, P.D., Forno, P.F. 2001a. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 1. Effects on resistance to diseases in salmonids. *Aquaculture* 199: 159-169.

Burrells, C., William, P.D., Southage, P.J., Wadsworth, S.L. 2001b. 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.

ماهیان مورد بررسی گردد. بررسی انجام شده توسط Ortega و همکاران (۱۹۹۵) و همچنین Uauy و همکاران (۱۹۹۰)، نیز نشان داد که نوکلئوتید تأثیر معنی داری بر بخشهای مختلف روده در موش صحرایی دارد. نتایج مطالعه اثرات نوکلئوتید جیره بر رشد ماهی آزاد نشان داده که نوکلئوتید میزان رشد را به طور معنی داری افزایش می دهد (محمودی، ۱۳۸۷). در بررسیهای بعمل آمده توسط اولاد و همکاران (۱۳۸۷) نیز حداکثر رشد بافت کیسه های پیلوریک در تیمار حاوی نوکلئوتید (۰/۲۵٪) مشاهده گردید. همانطور که در بالا اشاره شد اطلاعات مربوط به سنتز و متابولیسم نوکلئوتید در مهره داران پست تر نظیر ماهی و بی مهرگان همچون سخت پوستان بسیار 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 (Perez *et al.*, 2004) اما به طور کلی تحقیقات به عمل آمده نشان داده که اضافه کردن مکمل نوکلئوتید خارجی اثرات مثبتی روی فیزیولوژی ارگانیزم هدف خواهد گذاشت (Ortega *et al.*, 1995). نوکلئوتید جیره در پستانداران اثرات مفید فیزیولوژیک و تغذیه ای شامل اثرات مفید بر رشد، سیستم ایمنی، دستگاه گوارش، فلور روده، وظایف کبد، متابولیسم چربی و مقاومت به بیماری را نشان داده است (Burrells *et al.*, 2001a; Burrells *et al.*, 2001b). با توجه به نتایج کسب شده در مطالعه اخیر و نتایج به دست آمده از سایر مطالعات می توان گفت که نوکلئوتید جیره (به میزان مشخص و مطابق با میزان پیشنهادی شرکت تولید کننده که در این تحقیق اعمال گردید) می تواند باعث بروز تغییراتی در جهت بهبود ساختار بافتی در بخشهای مختلف لوله

- Li, P., Lewis, D.H., 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., Lewis, D.H., 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.
- Loretz, A.C. 1995. Electrophysiology of ion transport in teleost intestinal cells. In *Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation*. Wood C.M., Shuttle, T. J. W. (Eds). Academic Press, London, p 25–56.
- Martoja, R., Martoja-Pierson, M. 1967. *Initiation Aux Techniques de l histologie animale*. Masson et Cie, Paris, 345.
- McCormick, S.D., Saunders, R.L. 1987. Preparatory physiological adaptations for marine life of salmonids: osmoregulation, growth, and metabolism. *Am. Fish. Soc. Symp. Ser.* 1: 211 – 229.
- Ortega, M.A., Gil, A., Sanchez-Pozo, A. 1995. Maturation status of small intestine epithelium in rats deprived of dietary nucleotides. *Life Sci.* 56:1623–1630.
- Perez, M.J., Sanchez-Medina, F., Torres, M., Gil, A., Suarez, A. 2004. Dietary Nucleotides Enhance the Liver Redox State and Protein Synthesis in Cirrhotic Rats. *J. Nut.* 134: 2504–2508.
- Rumsey, G.L., Winfree, R.A., Hughes, S.G. 1992. Nutritional value of dietary nucleic acids and purine bases to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 108: 97-110.
- Uauy, R., Stringel, G., Thomas, R., Quan, R. 1990. Effect of dietary nucleotides on growth and maturation of the developing gut in the rat. *J. Pediat. Gastro.* 10: 497–503.
- Bustamante. S.A., Sanches. N., Crosier. J., Miranda. D., Colombo, G., Miller, J.S. 1994. Dietary nucleotide: effects on the gastrointestinal system in swine. *J. Nut.* 124:149S-156S.
- Carver, J.D. 1994. Dietary Nucleotides: Cellular Immune, Intestinal and Hepatic System Effects. *J. Nut.* 124: 144S-148S.
- Collie, N.L., Ferraris, R.P. 1995. Nutrient fluxes and regulation in fish intestine. *Biochem. Molecular Biol. Fish* 4: 222–238.
- FAO 2004. The state of world fisheries and aquaculture. Rome, Italy, p 14-17.
- Gil, A., Corral, E., Martinez-Valverde, A., 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. *J. Clin. Nut. Gast.* 1:127–132.
- Halver, J.E. 1976. The Nutritional requirements of cultivated warm water and cold water fish species. *FAO Technical Conference In Aquaculture*. Kyoto.
- Jutfelt, F., Olsen, R.E., Bjornsson, B.T., Sundell, K. 2007. Parr–smolt transformation and dietary vegetable lipids affect intestinal nutrient uptake, barrier function and plasma cortisol levels in Atlantic salmon. *Aquaculture* 273: 298-311.
- Khodabandeh, S., Charmantier, G., Charmantier-Daures, M. 2006b. Immunolocalization of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in osmoregulatory organs during the embryonic and post-embryonic development of the lobster *Homarus gammarus*. *J. Crust. Biol.* 26: 515- 523.
- Kubitza, F., Lovshin, L.L., Lovell, R.T. 1997. Identification of feed enhancers for largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture* 148: 191– 200.
- Li, P., Gatlin III, D.M. 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. *Aquaculture* 251: 141– 152.