

تأثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر شاخصهای رشد، بقاء و آنزیمهای کبدی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877)

نعمت ا. محمودی^{(۱)*}؛ عبدالمحمد عابدیان کناری^(۲) و مهدی سلطانی^(۳)

mahmoudi.nemat@gmail.com

۱ و ۲- دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴

۳- دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران صندوق پستی: ۶۴۵۳-۱۴۱۵۵

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۷

چکیده

تأثیر نوکلئوتید جیره در سطوح مختلف بر شاخصهای رشد، بقاء و آنزیمهای کبدی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) با وزن متوسط $12/26 \pm 0/01$ گرم به مدت ۶۰ روز بررسی شد. آزمایش درون مخازن ۳۰۰ لیتری با تراکم ذخیره سازی ۳۵ عدد ماهی در هر تانک انجام گرفت. نوکلئوتید جیره در ۵ سطح صفر، ۰/۱۵، ۰/۲۵، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد به جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر اضافه گردید. غذادهی ۵ بار در روز بین ۳ تا ۵ درصد وزن توده زنده در یک دوره پرورش انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یکطرفه (one way ANOVA) انجام شد. افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی ماهی آزاد دریای خزر سبب افزایش معنی داری در وزن نهایی، ضریب رشد ویژه، نرخ بازده پروتئین، ارزش تولیدی پروتئین، غذای مصرفی و کاهش معنی داری در ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با تیمار شاهد گردیده است. از نظر شاخص وضعیت و میزان بقاء اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$). حداکثر بهبود فاکتورهای رشد در سطح ۰/۲۵ درصد نوکلئوتید جیره مشاهده شد ($P < 0/05$). کمترین مقدار آنزیمهای کبدی شامل آسپارات آمینو ترانسفراز (AST یا GOT)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT یا GPT)، در سطح ۰/۳۵ درصد و کمترین مقدار آلکالین فسفاتاز (ALP) در سطح ۰/۲۵ درصد مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشتند ($P < 0/05$). نتایج این آزمایش نشان داد که نوکلئوتید جیره در سطوح ۰/۲۵ و ۰/۳۵ درصد تأثیر نسبتاً معنی داری در افزایش رشد و کاهش تخریب کبد دارد.

لغات کلیدی: تغذیه، نوکلئوتید جیره، رشد، آنزیمهای کبدی، ماهی آزاد دریای خزر

مقدمه

نوکلئوتیدها بصورت پیوسته در سلول سنتز، تجزیه و بازیافت می‌شوند و معمولاً از طریق دو مسیر مهم *de novo* و *salvage* تشکیل می‌شوند (Cosgrove, 1998). مسیر *salvage* ساده‌تر است و انرژی کمتری نسبت به *de novo* نیاز دارد و توسط بازهای آزاد قابل دسترس، تنظیم می‌شود. سلولهای مهم دستگاه ایمنی مانند 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 و تقویت مسیر *salvage* برای انجام وظایف طبیعی آنها بسیار مهم است (Burrells *et al.*, 2001a; Boza, 1998). حتی در سلولهایی که قادرند خود به اندازه کافی مولکولهای لازم برای ساخت DNA و RNA به منظور تقسیم سلولی تولیدکنند، فرآیند تولید نیاز به سطح بالایی از انرژی دارد اما با فراهم کردن نوکلئوتیدها برای این فرآیند ضمن افزایش سرعت تولید بویژه در هنگام استرس، نیاز به انرژی کم می‌شود (Holen *et al.*, 2005). مطالعاتی که درخصوص تاثیر نوکلئوتید در ماهی انجام شده است از جمله Adamek و همکاران (۱۹۹۶) و Burrells و همکاران (۲۰۰۱ الف و ب)، فرضیه تاثیر نوکلئوتید جیره را بر رشد ماهی به اثبات رسانند. تحقیقات محققین حکایت از تاثیر برخی عناصر جیره غذایی، سموم و مواد شیمیایی بر میزان ترشح آنزیمهای کبدی دارد چرا که عوامل غذایی، سموم و مواد شیمیایی بر بافت سازنده این آنزیمها یعنی کبد، تاثیراتی در جهت کاهش یا افزایش این آنزیمها دارد. در خصوص تاثیر نوکلئوتید جیره بر وظایف کبد ماهیان مطالعه‌ای انجام نشده است اما تحقیقات روی سایر موجودات از جمله موشها حاکی از اثرات مثبت نوکلئوتید جیره بر بهبود وظایف کبد است (Carver, 1994). با توجه به مسائل ذکر شده در زمینه پرورش و بازسازی ذخایر ماهی آزاد دریای خزر و بیان اثرات مثبت نوکلئوتید جیره، مطالعه حاضر با هدف افزایش رشد، بقا و کاهش تخریب کبد ماهی آزاد دریای خزر انجام شد.

مواد و روش کار

این آزمایش در بهار سال ۱۳۸۶ در کارگاه تحقیقات آبزیان دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. ماهیان آزاد دریای خزر با میانگین وزنی $12/26 \pm 0/01$ گرم از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی

ماهی آزاد دریای خزر با نام علمی *Salmo trutta caspius* Kessler, 1877 یکی از ۹ زیر گونه قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta*) در جهان است. ماهی آزاد از جمله ماهیان بومی و مهاجر (آنادرموس) دریای خزر می‌باشد که از ارزش غذایی و اقتصادی ویژه‌ای برخوردار است. این ماهی بیشتر در جنوب دریای خزر در سواحل ایران وجود دارد و جمعیت آن در سالهای اخیر بسیار کاهش یافته است (Dorafshan *et al.*, 2007).

با توجه به آلودگی دریاها و منابع آبی، از بین رفتن زیستگاهها و مناطق تخم‌ریزی، موانع موجود بر سر راه مهاجرت به هنگام تخم‌ریزی از دریا به رودخانه‌ها، نظیر سدهای احداث شده در مسیر رودخانه و در نتیجه مسدود شدن مسیر مهاجرت، ورود فاضلابهای شهری به آب رودخانه‌ها و همچنین حضور صیادان سودجو که اقدام به گستردن دام در مسیر مهاجرت می‌نمایند، بقای نسل برخی گونه‌های آبی نظیر ماهی آزاد دریای خزر را که از ارزش اقتصادی بالایی برخوردارند به خطر می‌اندازد (Sarvi *et al.*, 2006). از مهمترین مسائل در پرورش مصنوعی حیوانات، چه به منظور حفظ ذخایر و چه برای تولید بازاری توجه به امر غذا و تغذیه آنهاست بطوریکه در آبی پروری این مقوله بیش از ۵۰ درصد هزینه‌های جاری یک مزرعه پرورش آبزیان را در برمی‌گیرد. کیفیت و کمیت جیره از مقولاتی است که می‌تواند در سرعت رشد و تولید افزونتر حایز اهمیت باشد بطوریکه می‌توان با دستیابی به ترکیبات بهینه اقلام غذایی و مقادیر مناسب آنها در یک جیره بالانس شده به این روند بهبود بخشید. با توجه به مسائل فوق، ضرورت انجام تحقیقات در زمینه‌های مختلف بخصوص تغذیه این گونه با ارزش بیش از پیش نمایان می‌گردد. اما متأسفانه تنها تحقیقات کمی تاکنون در این خصوص انجام شده است.

اخیراً استفاده از نوکلئوتید در جیره های غذایی به دلیل تقویت سیستم ایمنی، افزایش سطح جذب در روده و موثر بودن در رشد ماهی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Li & Gatlin, 2006). 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 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 (Li & Gatlin, 2006).

در پایان آزمایش طول و وزن کل ماهیان هر تانک (۳۵) سنجش شد و برای بررسی رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها از شاخصهای رشد شامل درصد بقاء، درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، میزان افزایش وزن بدن، شاخص کیفیت، نرخ بازده پروتئین و ارزش تولیدی پروتئین استفاده شد که با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید. شاخصهای رشد محاسبه شده برای مقایسه تیمارها بدین شرح می‌باشند.

- میانگین وزن ثانویه (گرم) = (WG) افزایش وزن بدن
میانگین وزن اولیه (گرم)

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

- میانگین وزن ثانویه (گرم) = (WG) درصد افزایش وزن بدن
 $\times 100$ / میانگین وزن اولیه (گرم) / میانگین وزن اولیه (گرم)

/ $(\ln W2 - \ln W1)$ = (SGR) ضریب رشد ویژه
 $\times 100$ (دوره پرورش به روز

$\times 100$ طول / وزن تر = (CF) فاکتور وضعیت
(Misra et al., 2006)

/ تفاوت وزن اولیه و ثانویه (گرم) = (PER) نرخ بازده پروتئین
پروتئین مصرفی (گرم)

/ میزان پروتئین بدن = (PPV) ارزش تولیدی پروتئین
(Bai, 2001) $\times 100$ میزان پروتئین غذا

وزن اولیه = W1 وزن ثانویه = W2

در پایان دوره پرورش (۸ هفته)، ۱۵ عدد ماهی آزاد دریای خزر بصورت تصادفی از تانکهای پرورشی صید شد (۱۵ عدد از هر تکرار یا ۴۵ عدد از هر تیمار) تا پارامترهای بیوشیمیایی خون (آنزیمها)، در آنها مورد سنجش قرار گیرد. برای این کار ابتدا ماهیان بوسیله عصا گل میخک به مقدار ۳۰ میلیگرم بر لیتر (Velisek et al., 2005) بیهوش گردیدند و برای جلوگیری از ورود آب و موکوس به نمونه، ماهی خشک گردید. سرم نمونه‌های خون پس از انعقاد، بوسیله سانتریفیوژ (به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰rpm (۳۵۰ گرم)) جدا و به تیوپها (اپندورف) منتقل و سپس در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند تا اندازه‌گیری آنزیمها صورت گیرد.

برای اندازه‌گیری آنزیمهای آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST یا GOT)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT یا GPT)، از روش دستگاهی و بوسیله Auto analyzer (مدل Epos Analyzer

شهید باهنر کلاردشت پس از طی عملیات رقم‌بندی تهیه شد. قبل از ذخیره‌سازی، تانکها بوسیله هیپو کلریت سدیم کاملاً ضدعفونی، سپس با آب شستشو داده شدند. ماهیان نیز ابتدا با محلول نمک ۴ درصد ضدعفونی و سپس در داخل ۱۵ تانک ۰/۳ مترمکعبی (آبگیری ۲۵۰ لیتر) به تعداد ۳۵ عدد در هر تانک توزیع شدند. جهت هوادهی و تامین 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 ۶۰ روز انجام شد. اندازه‌گیری عوامل کیفی آب، مانند دمای آب، میزان اکسیژن و pH ۲ بار در هفته انجام گرفت. در کل دوره آزمایش میزان دمای آب ۱۶-۱۴ تا ۱۶ درجه سانتیگراد، میزان اکسیژن ۷/۵ تا ۸/۵ میلی‌گرم در لیتر و pH آب ۷/۸ تا ۸/۲ در نوسان بود.

ماهیان بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی بدلیل حمل و نقل به مدت یک هفته با جیره پایه به میزان ۲ درصد وزن توده زنده به منظور سازگاری تغذیه شدند. بعد از مرحله سازگاری در ابتدای آزمایش زیست‌سنجی ماهیان انجام شد. سپس با توجه به تیمارهای تعیین شده مکمل Optimun حاوی نوکلئوتید در ۴ سطح ۰/۱۵، ۰/۲۵، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد به جیره کنترل اضافه شد. تیمار پنجم گروه شاهد بود که هیچگونه مکملی به آن اضافه نشد (صفر درصد). آزمایش در ۳ تکرار انجام شد. مکمل اپتیمون (Chemoforma, Augst Switzerland) حاوی:

disodium uridine-5-monophosphate (UMP),
cytidine-5-monophosphate (CMP),
adenosine-5-monophosphate (AMP),
disodium inosine-5-monophosphate (IMP),
guanidine-5-monophosphate (GMP)

بود. جیره ماهیان براساس آرد ماهی بعنوان منبع اصلی پروتئین، شامل ۵۰ درصد پروتئین خام، ۱۷/۱ درصد لیپید خام و انرژی قابل هضم ۳۹۴۸ کیلوکالری بر کیلوگرم (Haiver, 1876)، با استفاده از نرم‌افزار لیندو (version 6.1) فرمول‌بندی شد. از سلولز، روغن ماهی و آرد ماهی برای تهیه جیره‌هایی با نیتروژن و لیپید یکسان در بین تیمارها استفاده شد (جدول ۱ و ۲). غذادهی بچه ماهیان به میزان ۳ تا ۵ درصد وزن بدن و در ۵ وعده در ساعات ۸، ۱۱، ۱۳، ۱۵ و ۱۸ انجام گردید. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز از مخازن سیفون شدند. زیست‌سنجی ماهیان هر دو هفته یکبار با دقت ۰/۰۱ گرم برای سنجش وزن و با دقت ۱ میلیمتر برای طول کل انجام شد.

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد استفاده شد. از نرم افزار SPSS برای آنالیز آماری و از Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

5000) استفاده گردید. تعیین مقادیر آنزیمهای مربوطه در سرم با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون انجام شد. جهت اندازه‌گیری آنزیمها از روش‌های استاندارد IFCC استفاده گردید و در نهایت مقدار آنزیمها برحسب U/L مورد سنجش قرار گرفت (Rehulka, 2000).

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

تیمار ۴ درصد ۰/۵	تیمار ۳ درصد ۰/۳۵	تیمار ۲ درصد ۰/۲۵	تیمار ۱ درصد ۰/۱۵	جیره پایه صفر	اجزای تشکیل دهنده (درصد)
۶۹/۴	۶۹/۴	۶۹/۴	۶۹/۴	۶۹/۴	بودر ماهی ^a
۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	دکسترین ^b
۳	۳	۳	۳	۳	روغن ماهی ^a
۲/۷۵	۲/۷۵	۲/۷۵	۲/۷۵	۲/۷۵	روغن سویا ^c
۴	۴	۴	۴	۴	مکمل معدنی ^d
۳	۳	۳	۳	۳	مکمل ویتامینی ^c
۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	ویتامین C ^e
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	ضد قارچ ^e
۱	۱	۱	۱	۱	دی کلسیم فسفات ^f
۳	۳/۱۵	۳/۲۵	۳/۳۵	۳/۵	سلولز ^b
۰/۵	۰/۳۵	۰/۲۵	۰/۱۵	۰	مکمل نوکلئوتید ^g
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	جمع

a) Pars Kilka Corporation, Iran

b) Merck Corporation, Germany

c) Unit kg⁻¹ of diet: Vitamin A, 1200000 IU; D3, 400000; E, 30 IU; K3, 1200mg; C 5400mg; H2, 200mg; B1, 200mg; B2, 3600mg; B3, 7200mg; B5, 9000mg; B6, 2400mg; B9, 600mg; B12, 4mg; antioxidant 500mg Career up to 1 kg.

d) Unit kg⁻¹ 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; Career up to 1 kg.

e) Khorak-Dam Abzian Corporation, Iran.

f) Garmab Shimi Corporation, Iran. Contains: phosphor 17%, calcium 23.27%, moist 3%, fluorine 0.17%

g) Chemoforma, Augst, Switzerland.

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

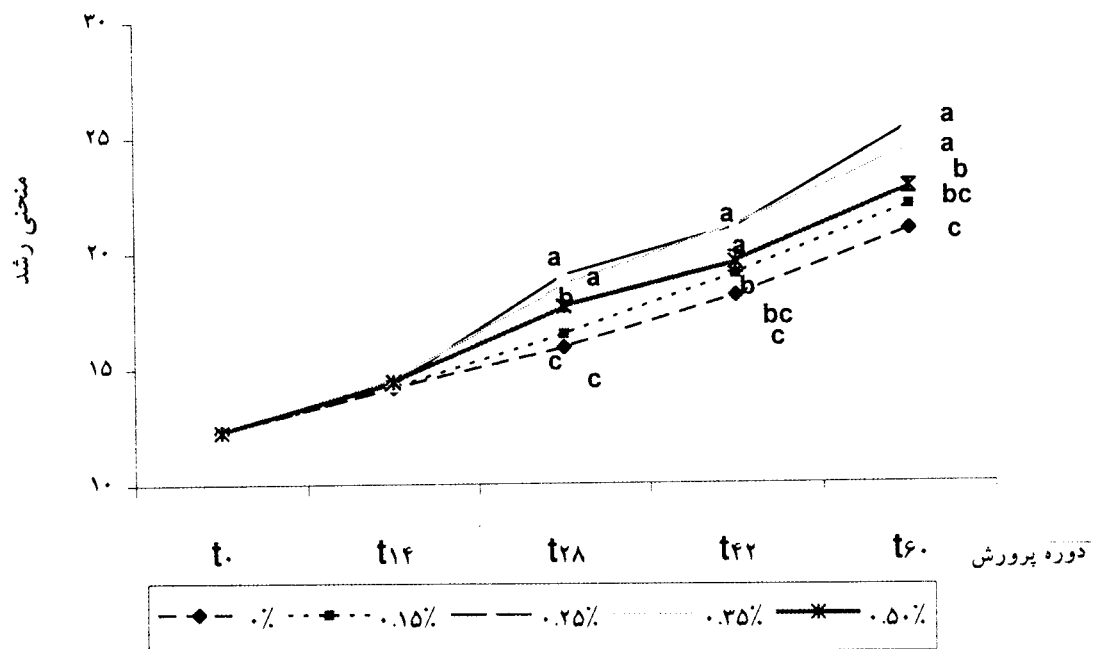
میزان	نوع ترکیبات (درصد)
۵۰/۸۲	پروتئین خام
۱۷/۱	چربی خام
۱۲/۵	رطوبت
۱۰/۱	خاکستر
۹/۴۸	کربوهیدرات
۳۹۴۸	انرژی قابل هضم (کیلو کالری بر کیلوگرم)

نتایج

شاهد (صفر درصد) نشان نداد. سطح ۰/۵ درصد با وجود بهبود شاخصهای رشد در مقایسه با تیمار شاهد، کاهش معنی‌داری نسبت به سطوح ۰/۲۵ و ۰/۳۵ نشان داد.

جدول ۴ نتایج سنجش آنزیمهای کبدی ماهیان آزاد دریای خزر نسبت به اثر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره را نشان می‌دهد. نتایج نشان دادند که نوکلئوتید جیره اثر مثبت معنی‌داری بر عملکرد کبد دارد. حداکثر میزان آنزیمهای کبدی شامل ALT، ALP، AST و LDH در تیمار شاهد (صفر درصد)، و کمترین مقدار ALT، AST و LDH در تیمار ۰/۳۵ درصد و کمترین مقدار ALP در تیمار ۰/۲۵ درصد مشاهده شد. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهند که اختلاف معنی‌داری بین این تیمارها با تیمار شاهد (صفر درصد) وجود دارد. اختلاف معنی‌داری بین ۲ تیمار ۰/۲۵ درصد و ۰/۳۵ درصد در همه آنزیمها مشاهده نشد. در سطوح ۰/۱۵ و ۰/۵ درصد اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد (صفر درصد) مشاهده نشد.

نمودار ۱ منحنی رشد ماهیان آزاد دریای خزر نسبت به اثر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره را طی دوره ۶۰ روزه نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که اختلاف رشد بین تیمارها از روز ۲۸ شروع شده است. جدول ۳ نتایج مقایسه میانگین شاخصهای رشد ماهیان آزاد دریای خزر نسبت به اثر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره را در روز ۶۰ نشان می‌دهد. نتایج نشان دادند که افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی ماهی آزاد دریای خزر سبب بهبود شاخصهای رشد شامل افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، نرخ بازده پروتئین، ارزش تولیدی پروتئین و کاهش ضریب تبدیل غذایی گردیده است. حداکثر بهبود شاخصهای رشد در تیمار ۰/۲۵ درصد مشاهده شد که با سطوح دیگر به جزء تیمار ۰/۳۵ درصد دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$). اختلاف معنی‌داری در شاخص وضعیت و میزان بقاء مشاهده نشد ($P > 0.05$). سطح ۰/۱۵ درصد به جزء در شاخصهای ضریب تبدیل غذایی و نرخ کارایی پروتئین در سایر شاخصها اختلاف معنی‌داری در مقایسه با تیمار



نمودار ۱: منحنی رشد ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با نوکلئوتید در تیمارهای مختلف در یک دوره ۶۰ روزه میانگین \pm ۳ SE تکرار، عدم وجود حروف در ردیف‌ها نشان دهنده معنی‌دار نبودن اختلافات در پارامترهای مذکور می‌باشد ($P > 0.05$).

جدول ۳: نتایج شاخص های رشد ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با نوکلئوتید در تیمارهای مختلف در یک دوره ۶۰ روزه^۱

تیمار	جیره پایه	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
شاخص رشد	صفر	۰/۱۵ درصد	۰/۲۵ درصد	۰/۳۵ درصد	۰/۵ درصد
متوسط وزن اولیه (گرم)	۱۲/۲۶±۰	۱۲/۲۶±۰/۰۰۳	۱۲/۲۶±۰/۰۰۵	۱۲/۲۶±۰/۰۰۵	۱۲/۲۶±۰/۰۰۵
متوسط وزن ثانویه (گرم)	۲۰/۹۲±۰/۴۴ ^c	۲۱/۹۸±۰/۵۱ ^{bc}	۲۵/۴۲±۰/۴۴ ^a	۲۴/۴۵±۰/۱۸ ^a	۲۲/۷۷±۰/۲۹ ^b
افزایش وزن بدن (گرم)	۸/۶۴±۰/۴۲ ^c	۹/۷۲±۰/۵۱ ^{bc}	۱۳/۱۶±۰/۴۴ ^a	۱۲/۱۹±۰/۱۸ ^a	۱۰/۵۱±۰/۲۹ ^b
غذای مصرفی هر ماهی (گرم)	۱۸/۲۹±۰/۵۸ ^b	۱۷/۲۶±۰/۷۸ ^b	۲۰/۹۵±۱/۰۳ ^a	۱۸/۸۸±۰/۵۷ ^{ab}	۱۶/۴۱±۰/۶۷ ^b
درصد افزایش وزن بدن	۷۰/۴۹±۳/۴۶ ^c	۷۹/۲۸±۴/۲ ^{bc}	۱۰۷/۳۹±۳/۵۷ ^a	۹۹/۴۷±۱/۴۷ ^a	۸۵/۷۷±۲/۳۳ ^b
ضریب تبدیل غذایی	۲/۱۱±۰/۰۴ ^a	۱/۷۸±۰/۰۱ ^b	۱/۵۹±۰/۰۳ ^c	۱/۵۵±۰/۰۶ ^c	۱/۵۶±۰/۰۲ ^c
درصد ضریب رشد ویژه	۰/۸۸±۰/۰۳ ^c	۰/۹۷±۰/۰۳ ^{bc}	۱/۲۱±۰/۰۲ ^a	۱/۱۵±۰/۰۱ ^a	۱/۰۳±۰/۰۲ ^b
فاکتور وضعیت	۰/۹۲±۰/۰۱	۰/۹۴±۰	۰/۹۳±۰/۰۱	۰/۹۳±۰/۰۱	۰/۹۱±۰/۰۱
درصد بقا	۹۳/۳۲±۰/۹۵	۹۶/۱۸±۰/۹۵	۹۳/۳۲±۰/۹۵	۹۷/۱۴±۰	۹۳/۳۲±۱/۹
درصد ارزش تولیدی پروتئین	۳۰/۵۱±۰/۳۳ ^b	۳۱/۲۳±۰/۲۸ ^{ab}	۳۱/۷۵±۰/۰۲ ^a	۳۰/۸۶±۰/۲۵ ^{ab}	۳۱/۴۷±۰/۳۸ ^a
درصد نرخ بازده پروتئین	۰/۹۳±۰/۰۱ ^c	۱/۱±۰ ^b	۱/۲۳±۰/۰۲ ^a	۱/۲۷±۰/۰۵ ^a	۱/۲۶±۰/۰۲ ^a

میانگین ± ۳SE تکرار، عدم وجود حروف در ردیفها نشان دهنده معنی دار نبودن اختلافات در پارامترهای مذکور می باشد ($P > 0.05$).

جدول ۴: نتایج اندازه گیری آنزیمهای کبدی ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با نوکلئوتید جیره در تیمارهای مختلف در یک دوره ۶۰ روزه^۱

تیمار	ALP (UL ⁻¹)	AST (UL ⁻¹)	LDH (UL ⁻¹)	ALT (UL ⁻¹)
آنزیم کبد (درصد)				
جیره پایه (صفر)	۶۷۰/۳۵±۸/۵۳ ^a	۲۷۵/۵۹±۲۶/۷۱ ^a	۹۸۳/۲۶±۷۵/۷ ^a	۱۱/۱۴±۰/۲۴ ^a
تیمار ۱ (۰/۱۵)	۶۵۵/۶۳±۱۶/۶۱ ^{ab}	۲۳۵/۰۴±۴۲/۷۹ ^a	۸۶۶/۱±۴۱/۳۳ ^{ab}	۱۰/۰۸±۰/۲ ^{ab}
تیمار ۲ (۰/۲۵)	۶۲۲/۲۶±۳/۹۵ ^b	۲۲۴/۱۹±۱۳/۳ ^{ab}	۸۹۵/۹۱±۲۲/۸۴ ^{ab}	۷/۸۷±۱/۰۲ ^{bc}
تیمار ۳ (۰/۳۵)	۶۳۴/۵۱±۱۶/۵۸ ^{ab}	۱۴۳/۸۵±۱۷/۶۲ ^b	۷۴۸/۵۷±۷۲/۶۱ ^b	۶/۵۶±۰/۰۹ ^c
تیمار ۴ (۰/۵)	۶۵۲/۲۵±۱۷/۳۳ ^{ab}	۲۵۹/۳۹±۱۶/۱۶ ^a	۸۶۱/۹۵±۵۳/۰۳ ^{ab}	۹/۱۷±۰/۰۹ ^{ab}

میانگین ± ۳SE تکرار، حروف غیر همسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$).

بحث

آزاد دریای خزر منجر به افزایش معنی داری در وزن نهایی بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ بازده پروتئین، ضریب رشد ویژه، ارزش تولیدی پروتئین، مقدار غذای مصرفی و کاهش معنی داری در ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با تیمار شاهد (صفر درصد) شده است. در این آزمایش سطح ۰/۱۵ درصد به جزء در شاخصهای ضریب تبدیل غذایی و نرخ کارایی پروتئین در سایر

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., 2001b).

براساس نتایج حاصل از این تحقیق افزودن نوکلئوتید جیره در سطوح ۰/۲۵ درصد و ۰/۳۵ درصد به ترکیب غذایی ماهی

کمان را کاهش داد. همچنین Tacon و Cooke نیز در سال ۱۹۸۰ گزارش کردند که کاهش رشد قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با عصاره RNA باکتریایی (۱۰ درصد جیره) ناشی از افزایش اوره پلازما است. همچنین تحقیق حاضر نشان داد که نوکلئوتید جیره سبب افزایش میزان غذای مصرفی توسط ماهی می‌شود. میزان غذای مصرفی در سطح ۰/۲۵ درصد بیشترین مقدار بوده که به جزء با سطح ۰/۳۵ درصد با سایر گروهها دارای اختلاف معنی‌داری است. Rumsey و همکاران در سال ۱۹۹۲ بیان نمودند که افزایش میزان غذای مصرفی احتمالاً بدلیل جاذب شیمیایی بودن نوکلئوتیدها است که منجر به خوش خوراک شدن غذا می‌گردد. همچنین آنان اشاره کردند که افزودن مواد جاذبی که دارای وزن ملکولی کم بوده و در ساختمان خود دارای ازت باشد (مانند نوکلئوتید) سبب افزایش خوش خوراکی و در نتیجه افزایش رشد می‌گردند.

کبد مهمترین اندام در متابولیسم داروها و سایر مواد می‌باشد. تغییرات فیزیولوژیک صورت گرفته در کبد عموماً بدلیل اثر فرایندهای متابولیک در موجود زنده است. ضایعات کبدی عموماً با قابلیت نفوذپذیری غشای سلولهای کبدی همراه بوده همچنین باعث اختلال در ساخت آنزیمها می‌شود و منجر به رهاسازی برخی آنزیمها به داخل پلازما و افزایش فعالیت آنها می‌گردد. بنابراین افزایش فعالیت آنزیمهایی مانند ALT, AST, LDU, ALP و GGT در سرم بعنوان شاخصی از تخریب کبد است (Shi *et al.*, 2006).

براساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر افزودن نوکلئوتید جیره در سطح ۰/۳۵ درصد به ترکیب غذایی ماهی آزاد دریای خزر منجر به کاهش معنی‌داری در آنزیمهای کبدی شامل ALT, AST و LDH در مقایسه با تیمار شاهد (صفر درصد) شد. ALP در سطح ۰/۲۵ درصد کمترین مقدار را نشان داد که دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد (صفر درصد) بود. در همه آنزیمهای بیان شده سطوح ۰/۲۵ و ۰/۳۵ درصد اختلاف معنی‌داری را نسبت بهم نشان ندادند. در سطوح ۰/۱۵ و ۰/۵ درصد اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد (صفر درصد) مشاهده نشد. بطور کلی مطالعه روی تاثیر نوکلئوتید جیره بر آنزیمهای کبدی انجام نشده است و بیشتر مطالعات روی اثر آن بر سیستم ایمنی متمرکز شده است اما مطالعات Carver در سال ۱۹۹۴، نشان داده است که نوکلئوتید جیره در افزایش وزن کبد، پروتئین پلازما، آلبومین پلازما و کاهش آنزیمهای کبدی از جمله ALT, ALP و AST در موشها موثر است که نتایج این تحقیق

شاخصها اختلاف معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد (صفر درصد) نشان نداد. سطح ۰/۵ درصد با وجود بهبود شاخصهای رشد در مقایسه با تیمار شاهد (صفر درصد)، کاهش معنی‌داری نسبت به سطوح ۰/۲۵ و ۰/۳۵ نشان داد.

Li و Gatlin در سال ۲۰۰۶ اذعان داشتند که از جمله دلایل مرتبط با تأثیرات مفید نوکلئوتید جیره، فراهم کردن مقادیر مورد نیاز فیزیولوژیکی از نوکلئوتیدها در جیره‌های غذایی بدلیل ظرفیت سنتزی محدود بعضی بافتهای مشخص (Lymphoid)، هزینه انرژی ناکافی برای سنتز *de novo*، تبادلات ایمنو اندوکراین، تعدیل الگوهای بیان ژن بخصوص بیان ژن آنزیمهای مسیر salvage، اثر نوکلئوتید جیره بر فلور روده، مرفولوژی روده، کاهش استرس و جاذب شیمیایی بودن نوکلئوتیدها می‌باشد. یکی از پذیرفته شده‌ترین فرضیه‌ها در مورد اثرات مفید مشاهده شده نوکلئوتیدهای جیره در ماهیان این است که در شرایط استرس‌زای محیطی مثل دستکاری (بیومتری در طول تحقیق) در شرایط پرورشی میزان تقاضای نوکلئوتید افزایش می‌یابد (Leonardi *et al.*, 2003).

Burrells و همکاران در سال ۲۰۰۱ الف، گزارش کردند افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی ماهی آزاد اقیانوس اطلس به میزان ۰/۲۵ درصد سبب افزایش وزنی به میزان ۱۵ تا ۲۲ درصد نسبت به تیمار شاهد در مدت ۸ هفته شد، برتری شاخصهای رشد حاصل از تغذیه با نوکلئوتید در این مطالعه حتی بعد از ۳ هفته گزارش شد. این افزایش در میزان وزن با افزایش میزان وزن در تحقیق حاضر (۳۴/۳۴ درصد) همسو و منطبق است. Adamek و همکاران در سال ۱۹۹۶ گزارش کردند که افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی قزل‌آلای رنگین کمان به میزان ۰/۶۲ و ۲/۵ گرم بر کیلوگرم سبب افزایش رشد بترتیب ۸/۹ و ۱۰/۵ درصد و افزایش ضریب رشد ویژه بترتیب ۹ و ۱۳ درصد در این ماهی شده است که از لحاظ افزایش رشد و افزایش ضریب رشد ویژه نتایج مشابه با تحقیق حاضر داشتند. در این تحقیق سطح ۰/۵ درصد با وجود بهبود شاخصهای رشد در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری نسبت به سطوح ۰/۲۵ و ۰/۳۵ درصد نشان داد. کاهش در شاخصهای رشد در این سطح احتمالاً بدلیل افزایش بیش از حد غلظت اسید اوریک، اوره، عدم توازن نیتروژنی و کاهش فعالیتهای اوریکاز ناشی از افزایش کاتابولیسم پورین‌ها است (Fournier *et al.*, 2002).

Rumsey و همکاران در سال ۱۹۹۲، گزارش کردند که عصاره RNA مخمر در ۴/۱ درصد جیره، رشد قزل‌آلای رنگین

منابع

- 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 glais*) under conditions of intensive culture. Krmiva (Zagreb). Vol.38, pp.11-20.
- Bai, S.C. , 2001. Requirements of L- ascorbic acid in a viviparous marine teleost, Korean rockfish, *Sebaster schlegeli* (Hilgendorf). In: (ed. K. Dabrowski), Ascorbic acid in aquatic organisms. CRC Press, pp.69-85.
- Boza, J. , 1998. Nucleotide in infant nutrition. Monatsschr Kinderheilkd, Vol. 146, pp.39-48
- Burrells, C. ; William, P.D. and Forno, P.F. , 2001a. Dietary nucleotides: A novel supplement in fish feeds 1. Effects on resistance to diseases in salmonids. Aquaculture, Vol. 199, pp.159-169
- Burrells, C. ; William, P.D. ; Southage, P.J. and 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, Vol. 199, pp.171-184
- Carver, J.D. , 1994. Dietary Nucleotides: Cellular Immune, Intestinal and Hepatic System Effects. Journal of Nutrition, Vol. 124, pp.144S-148S.
- Cosgrove, M. , 1998. Nucleotides. Nutrition. Vol. 14, pp.748 - 751.
- Dorafshan, S. ; Kalbassi, M.R. ; Pourkazemi, M. ; Mojazi Amiri, B. and Soltan Karimi, S. , 2007. Effects of triploidy on the Caspian salmon *Salmo trutta caspius* haematology. Fish Physiology and Biochemistry, (in press).
- Fournier, V. ; Guillo-Coustans, M.F. ; Métailler, R. ; Vachot, C. ; Moriceau, J. ;

در ارتباط با آنزیمهای کبدی با نتایج تحقیق حاضر منطبق است. همچنین Ogoshi و همکاران در سال ۱۹۸۵ گزارش کردند که مخلوط نوکلئوتید / نوکلئوزید سبب بهبود عملکرد کبد و ترمیم توازن نیتروژن بعد از ۷۵ درصد هیپانوکتومی در موشها می‌شود. این موضوع نشان می‌دهد که ترمیم و رشد کبد، بعنوان یک ارگان مهم بیوسنتز پورین و پیریمیدین می‌تواند توسط تهیه ذخیره خارجی از نوکلئوتیدها و نوکلئوزیدها بهبود یابد.

کبد ارگان ذخیره نوکلئوتید است. نوکلئوتید جیره بطور قابل ملاحظه‌ای متابولیسم نوکلئوتید در کبد را تعدیل و تنظیم می‌کند. در کبد نوکلئوتیدهای خارجی سبب افزایش رشد سلولهای کبدی و بازسازی آنها می‌شود. همچنین نقش مهمی در سنتز گلیکوژن، پروتئین و کاهش تجمع چربی در کبد موشها ایفا کردند (Carver, 1994). Pérez و همکاران در سال ۲۰۰۴ در مطالعات خود کاهش آسیبهای کبد در موشهای تغذیه شده با مکمل نوکلئوتید جیره نسبت به تیمار شاهد مشاهده کردند و کاهش آسیبهای کبدی را ناشی از افزایش توانایی متابولیسم نوکلئوتیدها در سلولهای کبدی، بهبود وظایف میتوکندری و افزایش ساخت پروتئین دانستند. مشابه نتیجه بدست آمده در قسمت شاخصهای رشد، سطح ۰/۱۵ درصد نوکلئوتید جیره افزایش تخریب کبد را نسبت به سطوح ۰/۲۵ و ۰/۳۵ نشان داد که حاکی از نقش مهم سطح تغذیه‌ای مورد استفاده در مکملهای غذایی است. احتمالاً تخریب کبد و افزایش ترشح آنزیمهای کبدی بهم خوردن توازن و تعادل نیتروژنی در کبد و بالا رفتن ترکیبات تجزیه شده از کاتابولیسم پورین که بر خلاف ترکیبات تجزیه شده پیریمیدین، به آسانی حل و دفع نمی‌شوند، اتفاق می‌افتد (Rudolph, 1994). در مجموع با توجه به نتایج کسب شده از این تحقیق فرضیه افزایش رشد و بهبود عملکرد کبد با استفاده از نوکلئوتید جیره غذایی تأیید شده و سطح ۰/۲۵ و ۰/۳۵ درصد برای تغذیه بچه ماهیان آزاد دریای خزر پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

از مدیریت و کارکنان محترم دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس که در فراهم کردن امکانات این تحقیق نهایت همکاری را مبذول داشتند و همچنین از جناب آقای مهندس هادی و شرکت توران تو که با این پروژه همکاری عملی داشتند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

- Delliou, H.Le. ; Huelvan, C. ; Esbruyeres, E. and Kaushik, S.J. , 2002.** Nitrogen utilization and ureogenesis as affected by dietary nucleic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and turbot (*Psetta maxima*). Fish Physiology and Biochemistry, Vol. 26, pp.177-188.
- Halver, J.E. , 1976.** The nutritional requirements of cultivated warm water and cold water fish species. FAO Technical Paper No. 31. Conference in Aquaculture, Kyoto, Japan. May 26 - June 2. pp.9.
- Holen, E. ; Bjørge, O.A. and Jonsson, R. , 2005.** Dietary nucleotides and human immune cells. II. Modulation of PBMC growth and cytokine secretion. Nutrition, vol. 21, pp.1003-1009.
- Leonardi, M. ; Sandino, A.M. and Klempau, A. , 2003.** 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*). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, Vol. 23, pp.52-59.
- Li, P. and Gatlin III, D.M. , 2006.** Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. Aquaculture, Vol. 251, pp.141-152.
- Misra, C.K. ; Kumar, D.B. ; Mukherjee, S.C. and Pattnaik, P. , 2006.** Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of, *Labeo rohita* fingerlings. Aquaculture, Vol. 255, pp.82-94.
- Ogoshi, S. ; Iwasa, M. ; Yonezawa, T. and Tamiya, T. , 1985.** Effect of nucleotide and nucleoside mixture on rats given total parenteral nutrition after 70% hepatectomy. Journal of Parenter Enteral Nutrition, Vol. 9, pp.339-34.
- Pérez, J.M. ; Sánchez-Medina, F. ; Torres, M. ; Gil, A. and Suárez, A. , 2004.** Dietary nucleotides enhance the liver Redox state and protein synthesis in Cirrhotic rats. Journal of Nutrition, Vol. 134, pp.2504-2508.
- Rudolph, F.B. , 1994.** The biochemistry and physiology of nucleotides. Journal of Nutrition, Vol. 124, pp.124S-127S.
- Rehulka, J. , 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, Vol. 190, pp.27-47.
- 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*). Aquaculture, Vol. 108, pp.97-110.
- Sarvi, K. ; Niksirat, H. ; Mojazi Amiri, B. ; Mirtorabi, S.M. ; Rafiee, G.R. and Bakhtiyari, M. , 2006.** Cryopreservation of semen from the endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*, Aquaculture, Vol. 256, pp.564-569.
- Shi, X. ; Li, D. ; Zhuang, P. ; Nie, F. and Long, L., 2006.** Comparative blood biochemistry of Amur sturgeon, *Acipenser schrenckii*, and Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. Fish Physiology and Biochemistry, Vol. 32, pp.63-66.
- Tacon, A.G.J. and Cooke, D.J. , 1980.** Nutritional value of dietary nucleic acids to trout. Nutrition Report International, Vol. 22, pp.631-640.
- Velisek, J. ; Svobodova, Z. and Piaakova, V. , 2005.** Effects of Clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). ACTA Veterinaria Brno (Hungarica), Vol. 74, pp.139-146.

Effects of different levels of dietary nucleotide on growth performance, survival and liver enzyme activity of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877) juveniles

Mahmoudi N.^{(1)*} ; Abedian Konari A.M.⁽²⁾ and Soltani M.⁽³⁾

Mahmoudi.nemat@gmail.com

1,2- Faculty of Natural Resource and Marine Science, Tarbiat Modares University,
P.O.Box: 14155-336 Noor, Iran

3 – Veterinary Faculty of Tehran University, P.O.Box: 14155-6433 Tehran, Iran

Received: November 2007

Accepted: December 2008

Keywords: Nutrition, Nucleotide, Growth, Liver enzyme, *Salmo trutta caspius*, Iran

Abstract

Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*) juveniles were fed with dietary nucleotide levels of 0, 0.15, 0.25, 0.35 and 0.5% to investigate their effects on growth performance, survival rate and liver enzymes. Juveniles with an initial average weight of 12.26 ± 0.001 g were fed with the experimental diets for 60 days. The trial was carried out in 300 liter tanks each containing 35 fish which were fed with five meals a day at the rate of 3-5% of body weight. Statistical analysis was performed using One-way ANOVA.

Results of the study showed that the addition of dietary nucleotide led to significant increase of body weight gain (BW), weight increase percentage (BWI), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER), protein productive value (PPV) and feed intake but significant decrease of food conversion ratio (FCR) as compared to the control treatment ($P < 0.05$). No significant difference was found in condition factor (CF) and survival rate among the treatments ($P > 0.05$). The best value of growth improvement indices was observed at the dietary level of 0.25% nucleotide. Liver enzymes including AST, ALT and LDH at the level of 0.35% and ALP at the level of 0.25% were significantly lower than control treatment ($P < 0.05$). Our results also indicated that dietary nucleotide can have positive effects on growth performance and would decrease liver demolition.

* Corresponding author