اثر نوکلئوتید جیره بر پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*)

فاطمه خانی[1*]، محمدرضا ایمانپور[1]، حامد کلنگی میاندره[1]، علیرضا قائدی[2]، وحید تقی‌زاده[1]

* F.khani88@gmail.com

۱-گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- موسسه تحقیقات شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹٤

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی تاثیر سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره (واناژن) بر پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) انجام گرفت. ماهیان با میانگین وزنی ۲/۱۲ ± ۴۲/۳۷ گرم و میانگین طول ۰/۶۱± ۲۳/۶۷ سانتی‌متر به ۴ تیمار با سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره (۰، ۰/۲۵، ۰/۳۵و ۰/۵ درصد) با سه تکرار با تراکم ۱۲ ماهی در هر تانک تقسیم شدند. پس از ۱۰ هفته غذادهی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون اندازه‌گیری شد. در بین فاکتورهای خونی اندازه‌گیری شده گلوکز، تری‌گلیسیرید، کلسترول، هتروفیل و گلبول‌های قرمز تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های تغذیه شده با نوکلئوتید و گروه شاهد نشان دادند ($p\leq ۰/۰۵$). میانگین گلوکز سرم خون و هتروفیل خون با افزایش سطح نوکلئوتید جیره به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p\leq ۰/۰۵$). بالاترین و کمترین مقادیر کلسترول و تری‌گلیسرید به ترتیب متعلق به تیمارهای ۰/۲۵ و ۰/۳۵ بود. سایر فاکتورهای بررسی‌شده تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان ندادند. از این رو میتوان گفت با توجه به ظرفیت محدود برخی سلولها در سنتز نوکلئوتید، تهیه آن از منبع خارجی می‌تواند در مسیر سالوج برای تولید نوکلئوتید مورد نیاز مورد استفاده قرار گیرد و با افزایش سرعت تولید به ویژه در هنگام استرس، بهبود وضعیت سلامت و فیزیولوژی ماهی را منجر گردد.

لغات کلیدی : نوکلئوتید، فاکتورهای خونی، فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون، تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

*نویسنده مسئول

مقدمه

نوکلئوتیدها از جمله ترکیبات داخل سلولی با وزن مولکولی پایین ، از یک بنیان پورین (آدنین(A)، گوانین (G)، هیپوگزانتین) یا پیریمیدین (اوراسیل (U)، سیتوزین (C) و تیمین (T)) و یک قند ریبوز یا ۲- دی اکسی ریبوز و یک یا تعدادی گروه فسفات تشکیل می‌شوند. در گذشته به دلیل عدم مشاهده علائم نقص یا کمبود نوکلئوتیدها، آنها به‌عنوان ماده مغذی غیرضروری در نظر گرفته می‌شدند اما اکنون مشخص شده که بعضی از سلولها ظرفیت بسیار محدودی برای سنتز نوکلئوتیدها دارند. در این سلول‌ها تهیه نوکلئوتید از منبع خارجی برای انجام وظایف طبیعی آنها بسیار مهم است (Lee *et al*., 2004; Buza, 1998). با وجود اینکه تلاش‌های اولیه در ارزیابی نقش نوکلئوتید در جیره ماهیان به اوایل دهه ۱۹۷۰ بر می‌گردد ولی تحقیقات آن زمان اغلب روی اثرات احتمالی این مواد به عنوان جاذب‌های شیمیایی متمرکز بود (Lee & Gatlin, 2006). نوکلئوتیدها به‌صورت پیوسته در سلول سنتز، تجزیه و بازیافت می‌شوند. نوکلئوتیدها معمولا از طریق مسیر دی‌نووو[1] از پیش ماده‌های آمینواسید گلوتامین، آسپارتیک اسید، گلایسین، فورمات و دی‌اکسیدکربن و همچنین از طریق مسیر سالوج[2] توسط پیوند ریبوز-فسفات با بازهای آزاد حاصل از تجزیه هیدرولیتیکی اسیدهای نوکلئیک و نوکلئوتید سنتز می‌شوند. مسیر سالوج ساده‌تر و نیز نیازمند صرف انرژی کمتری نسبت به روش دی‌نووو بوده و توسط بازهای آزاد قابل دسترس تنظیم می‌شود. در تحقیقات انجام شده روی موجودات مختلف مشخص شده که مسیرهای سالوج و دی‌نووو به‌طور قابل ملاحظه‌ای در بین بافت‌های مختلف فرق می‌کند و به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر نیازهای متابولیک یا وظایف فیزیولوژیک قرار می‌گیرد. در برخی از بافت‌ها که ظرفیت محدودی در روش دی‌نووو در تولید نوکلئوتید دارند، منبع خارجی نوکلئوتید می‌تواند در مسیر سالوج برای تولید نوکلئوتید مورد نیاز مورد استفاده قرار گیرد و سبب تقویت این مسیر گردد (ظریف فرد و همکاران، ۱۳۸۸؛ به نقل از رجب‌پور رحمتی، ۱۳۹۱).

سلول‌های مهم دستگاه ایمنی از قبیل 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 محدودی برای سنتز نوکلئوتید دارند. در این سلول‌ها تهیه نوکلئوتید از منبع خارجی برای انجام وظایف نرمال آن‌ها حتی در سلول‌هایی که خودشان قادر به ساخت میزان کافی مولکول‌های لازم جهت ساخت DNA و RNA به منظور تقسیم سلولی هستند نیز بسیار مهم است. فرآیند تولید، نیاز به سطح بالایی از انرژی دارد اما با فراهم کردن نوکلئوتید از منبع خارجی، ضمن افزایش سرعت تولید به ویژه در هنگام استرس، نیاز به انرژی کاهش می‌یابد. علاوه بر آن نیاز به نوکلئوتید در دوره رشد سریع و استرس‌های فیزیولوژیک و کاهش پروتئین جیره یا کاهش در جذب پروتئین، افزایش می‌یابد (ظریف‌فرد و همکاران، ۱۳۸۸).

مشخص شده است که نوکلئوتیدهای جیره غذایی فعالیت ماکروفاژها و سلول‌های کشنده طبیعی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. تحقیقات در ماهیان نیز نشان داده است که نوکلئوتیدهای خارجی، مکمل سرم و فعالیت لیزوزیم و همچنین فعالیت فاگوسیتوز و تولید آنیون سوپراکسید فاگوسیت‌های راس کلیه در کپور معمولی را افزایش می‌دهد (Lee & Gatlin, 2006). همچنین Lee و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که هیبرید باس راه‌راه تغذیه شده با مکمل الیگونوکلئوتید جیره، نوکلئوتید بالاتری در خون داشت. نوکلئوتیدها بر فعالیت لنفوسیت‌ها و تولید ایمونوگلوبین تاثیر می‌گذارند که نشان می‌دهد نوکلئوتیدها بیشترین اثر خود را روی سیستم ایمنی با تولید میزان مناسب ایمونوگلوبین اعمال می‌کنند. Burrells و همکاران (۲۰۰۱) بیان کردند آزادماهی اقیانوس اطلس تغذیه شده با مکمل نوکلئوتید به مدت ۸ هفته، نسبت به ماهیان تغذیه شده با جیره پایه تولید آنتی بادی های اختصاصی را افزایش داد. همچنین Leonardi و همکاران (۲۰۰۳) افزایش تحریک لنفوسیت‌ها در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با نوکلئوتید را گزارش کردند.

[1] De novo
[2] Salvage

تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) یک گونه استخوانی - غضروفی از تاسماهیان حوضه‌ی جنوبی خزر می‌باشد (بهمنی وهمکاران، ۱۳۸۷). منطقه اصلی پراکنش این ماهی حوضه دریای خزر است، اما برای تکثیر به رودخانه‌های سپیدرود، کورا، ولگا، اورال و به مقدار کم به سایر رودخانه‌ها مانند اترک و گرگان رود وارد می‌شود. بسیاری از کارشناسان عقیده دارند همانطور که در مورد تولید و حفظ ذخایر ماهی قزل‌آلا یا کپورماهیان دغدغه‌ای وجود ندارد، در مورد ماهیان خاویاری نیز باید به این اطمینان دست یافت که پرورش و تولید آنها امکان‌پذیر است. یکی از راه‌های بررسی وضعیت سلامتی و فیزیولوژی ماهیان، سنجش شاخص‌های خون آنان می‌باشد که تحت تاثیر تغذیه، عوامل محیطی و سن آن‌ها است. بنابراین جهت مقایسه تاثیر رژیم‌های متفاوت غذایی بر سلامت بدن و سیستم دفاعی می‌توان شاخص‌های خونی را بررسی نمود از این رو بررسی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم پس از افزودن ترکیب مناسبی از نوکلئوتیدهای آزاد به جیره تاسماهی ایرانی که در شکل غیرآزاد یا همان اسیدهای نوکلئیک بسیار پایدار بوده و هضم آنها مشکل و مستلزم صرف انرژی است (Borda *et al*., 2003; Cosgrove, 1998) می‌تواند شاخص مناسبی جهت بررسی میزان اثرگذاری نوکلئوتیدها بر وضعیت سلامت این گونه با ارزش باشد.

مواد و روش

ماهیان تحت آزمایش

ماهیان مورد استفاده در این تحقیق از مرکز تکثیر و-پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان تهیه گردید. پس از سازگاری با شرایط آزمایشگاهی محل پرورش و رسیدن به وزن۲/۱۲±۴۲/۳۷ گرم و میانگین طول ۰/۶۱ ±۲۳/۶۷ سانتی‌متر ماهیان به طور تصادفی به چهار تیمار با سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره (۰، ۰/۲۵، ۰/۳۵و ۰/۵ درصد جیره) با سه تکرار با تراکم ۱۲ ماهی در هر تانک فایبرگلاس با حجم ۳۰۰ لیتر در آزمایشگاه آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تقسیم شدند.

جیره آزمایشی

بچه ماهیان در طی دوره با جیره استاندارد (آرد ماهی ۵۳٪، آرد گندم ۲۳٪، ژلاتین ۷٪، روغن سویا ۹٪، روغن ماهی ۳٪، مکمل معدنی و ویتامینه ۱/۷۵٪، لیزین ۱/۵٪، متیونین ۱/۵٪، ضدقارچ ۰/۲۵٪) با ترکیب شیمیایی انرژی خام ۵/۳۳ کالری بر گرم، پروتئین ۴۷/۲۳٪، چربی ۱۸/۲۷٪ و خاکستر ۷/۹۴٪ تغذیه شدند (تقی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹) . مکمل واناژن (شرکت کموفورم اوگست سوئیس[۳]) با ترکیب شیمیایی ۴۸ ٪ پروتئین، ۳٪ فیبر، ۱/۵٪ چربی و ۷٪ خاکستر تهیه گردید. پس از افزودن مقادیر محاسبه شده (یوسفی و همکاران، ۲۰۱۱) نوکلئوتید موردنظر برای تیمارها به اقلام غذایی الک شده، با افزودن روغن ماهی و در نهایت مقداری آب مواد به صورت خمیر در آمده و سپس از دستگاه پلت ساز مرکز تحقیقات آبزی پروری دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه گرگان عبور داده شد. پلت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزاد خشک شدند و ماهیان به مدت ۱۰ هفته تحت تیمارهای غذایی با سطوح متفاوت نوکلئوتید (صفر، ۰/۲۵، ۰/۳۵و ۰/۵۰ درصد) قرار گرفتند. غذادهی در دو نوبت صبح و عصر (۸:۰۰ و ۱۶:۰۰) به میزان ۲ درصد وزن بدن انجام شد.

سیستم پرورشی

ماهیان در طی دوره در شرایط ثابت (جدول ۱) و هوادهی دائم نگهداری شدند و فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب (شهری) هرهفته اندازه‌گیری شد. در طول دوره تعویض آب روزانه۷۰ -۵۰ درصد با آب کلرزدایی شده انجام گرفت.

[۳] Chemoforma, Augst, Switzerland

جدول۱: فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب

پارامتر	مقدار
دما	۱۸±۱^{0C}
pH	۷/۴
سختی	۱۸۰ میلی گرم $CaCo_3$
قلیائیت	۱۶۸ میلی‌گرم بر لیتر $CaCo_3$
شوری	۰/۵ppt

خون‌گیری

پس از دوره پرورش ۷۰ روزه با جیره حاوی سطوح متفاوت نوکلئوتید، خون‌گیری با سرنگ ۲ سی‌سی از ناحیه ساقه دمی صورت گرفت و در لوله های موئینه هپارینه و غیر هپارینه قرار گرفت. در پایان با استفاده از خمیر هماتوکریت ته لوله بسته شد. در لوله های غیرهپارینه هم با همین روش خون‌گیری شد و پس از آنکه سریعا سانتریفیوژ گردید. سرم خون که بخش رویی لوله موئینه بوده و شفاف است جدا و جهت بررسی میزان یون‌های منیزیم و کلسیم و سایر فاکتورهای بیوشیمیایی به سرعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردید.

سنجش فاکتورهای خونی

جهت اندازه گیری هماتوکریت لوله‌های موئینه حاوی خون سریعا توسط سانتریفوژ با ۴۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از سانتریفوژ میزان هماتوکریت اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری هماتوکریت قسمت رویی سرم خون روی عدد ۱۰۰ تنظیم شد و با چرخش صفحه گردان عددی که روی قسمت رویی کریت (سلولهای خونی فشرده شده) بود و معرف میزان هماتوکریت است خوانده شد (حافظ امینی و عریان، ۱۳۸۱). سنجش میزان غلظت هموگلوبین طبق روش Dorafshan و همکاران (۲۰۰۸) و شمارش گلبولهای سفید و قرمز خون با رقیق‌سازی کل خون (یک پنجاهم) و به وسیله یک هماتوسیتومتر انجام شد (Rawling, 2009). تخمین میزان لوکوسیت‌های افتراقی (لنفوسیت و ائوزینوفیل) نیز به روش Blaxhall & Daisely (1973) صورت گرفت. متوسط حجم گلبول قرمز (MCV[۴])، متوسط هموگلوبین ذره‌ای (MCH[۵]) و متوسط غلظت هموگلوبین ذره‌ای (MCHC[۶]) نیز طبق فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

فرمول ۱- محاسبه متوسط حجم گلبول قرمز

$$MCV(\mu m^3) = \frac{Ht(\%)}{RBCC(cells\ mm^{-3})} \times 10$$

فرمول ۲- محاسبه متوسط هموگلوبین ذره‌ای

$$MCH(pg\ cell^{-1}) = \frac{Hb\ (g\ 100\ ml^{-1})}{RBCC\ (cells\ mm^{-3})} \times 10$$

فرمول ۳- محاسبه متوسط غلظت هموگلوبین ذره‌ای

$$MCHC(g\ 100ml^{-1}) = \frac{Hb(g\ 100\ ml^{-1})}{Ht(\%)} \times 100$$

سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی سرم

پروتئین کل، کلسترول، گلوکز، منیزیم، کلسیم، تری-گلیسیرید و آلبومین با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون[۷] و به وسیله light wave- S2000 UV/VIS انجام شد. پروتئین کل و آلبومین به ترتیب طبق روش‌های ذکر شده توسط Tietz (۱۹۸۶) و Doumas و همکاران (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شدند. گلوکز سرم نیز از طریق اسپکتروفتومتری به روش گلوکز اکسیداز سنجیده شد (Hosseinifar *et al*., 2010). مقدار کلسیم نیز طبق روش Braun و همکاران (۲۰۱۰) محاسبه شد.

آنالیزهای آماری

پس از اندازه‌گیری فاکتورهای مطرح شده و ثبت آن‌ها، ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد و در صورت نرمال بودن داده‌ها، برای مقایسه بین تیمارهای آزمایشی از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA در سطح احتمال ($p \leq ۰/۰۵$) استفاده شد. آنالیز واریانس با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۸) انجام شد.

نتایج

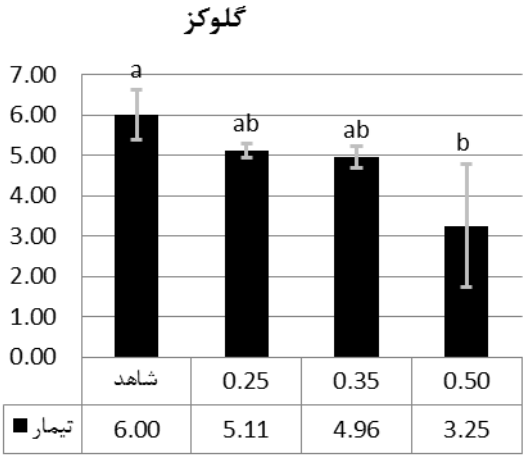
[۴] Mean Corpuscular Volume

[۵] Mean Corpuscular Hemoglobin

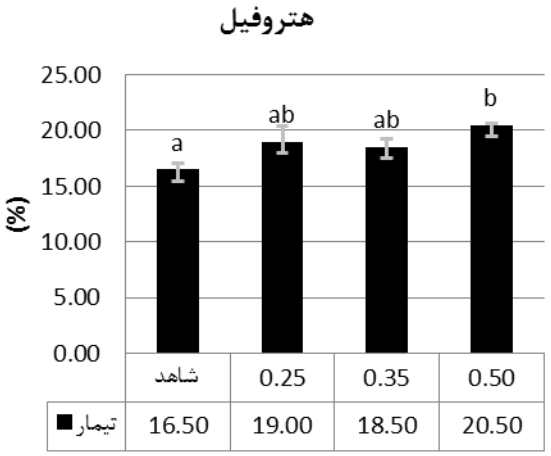
[۶] Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

[۷] Pars Azmun Co. Ltd.; Tehran, Iran

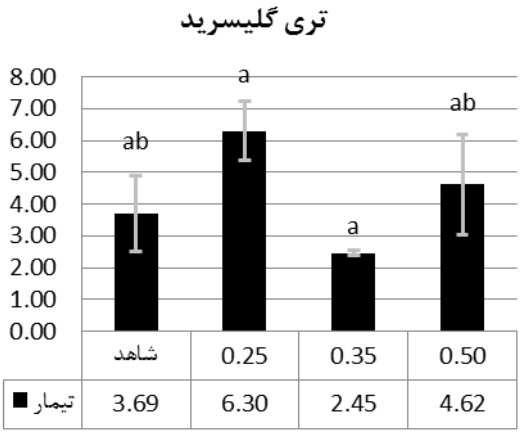
نتایج بررسی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون پس از ده هفته تغذیه بچه‌ماهیان قره‌برون با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت نوکلئوتید (۰/۰، ۰/۲۵، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد جیره) در جداول (۲ و ۳) و شکل‌های (۴-۱) زیر نشان داده شده است. برخی از فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون که دارای تفاوت معنی‌داری بودند در نمودارهای زیر نشان داده شده‌اند.



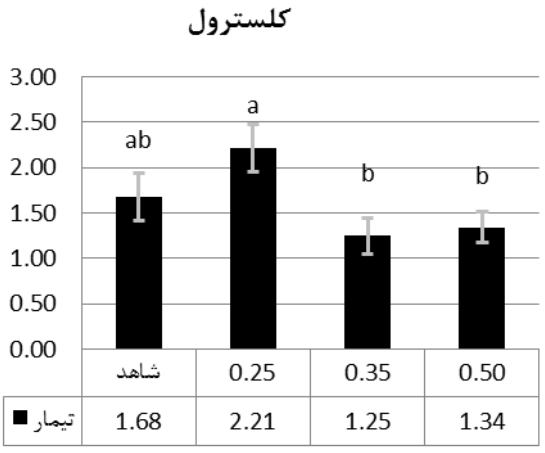
شکل ۱: میانگین گلوکز سرم خون بچه ماهیان قره برون (*A. persicus*) پس از ۱۰ هفته غذادهی با سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره



شکل۲: میانگین هتروفیل بچه ماهیان قره برون (*A. persicus*) پس از ۱۰ هفته غذادهی با سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره



شکل ۳: میانگین تری‌گلیسرید سرم خون بچه ماهیان قره برون (*A. persicus*) پس از ۱۰ هفته غذادهی با سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره



شکل۴: میانگین کلسترول سرم خون بچه ماهیان قره برون (*A. persicus*) پس از ۱۰ هفته غذادهی با سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره

فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون پس از ده هفته تغذیه بچه‌ماهیان قره‌برون با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت نوکلئوتید (۰/۰، ۰/۲۵، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد جیره). وجود حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلافات در پارامترهای مذکور می‌باشد($p\leq ۰/۰۵$).

در بین فاکتورهای خونی محاسبه شده فاکتورهای گلوکز، تری‌گلیسیرید، کلسترول و هتروفیل تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های تغذیه شده با نوکلئوتید و گروه شاهد نشان دادند ($p\leq ۰/۰۵$). میانگین گلوکز سرم خون بچه ماهیان قره برون (*A. persicus*) پس از ۱۰ هفته غذادهی با افزایش سطح نوکلئوتید جیره کاهش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۱) در حالیکه میانگین هتروفیل خون بچه ماهیان قره برون با افزایش سطح نوکلئوتید جیره افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۲). کلسترول و تری‌گلیسرید نیز روند مشابهی را با یکدیگر داشتند با اینحال روند کاهشی یا افزایشی مشخصی با افزایش دوز نوکلئوتید مشاهده نشد (شکل ۳ و ۴). سایر فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده‌اند.

جدول۲: سایر فاکتورهای خونی پس از ده هفته تغذیه بچه‌ماهیان قره‌برون (*A. persicus*) با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت نوکلئوتید

فاکتور / تیمار	شاهد	٪ ۰/۲۵	٪ ۰/۳۵	٪ ۰/۵۰
هماتوکریت	۳۲/۵۰± ۲/۱۲[a]	۳۰/۰۰± ۴/۲۴[a]	۳۴/۵۰± ۵/۵۳[a]	۳۷/۵۰± ۲/۱۲[a]
هموگلوبین	۹/۳۵± ۰/۰۷[a]	۹/۷۰± ۱/۲۷[a]	۱۰/۶۵± ۱/۷۶[a]	۱۱/۹۵± ۰/۳۵[a]
گلبول قرمز	۱/۴۶± ۰/۰۴[a]	۱/۱۳± ۰/۰۲[b]	۱/۳۱± ۰/۰۱[a]	۱/۴۵± ۰/۰۲[a]
گلبول سفید	۳۸۰۰/۰۰± ۱۴۱/۴۲[a]	۳۳۵۰/۰۰± ۳۵۳/۵۵[a]	۳۷۵۰/۰۰± ۷۰/۷۱[a]	۳۴۵۰/۰۰± ۷۰/۷۱[a]
ائوزینوفیل	۲/۵۰± ۲/۱۲[a]	۴/۵۰± ۲/۱۲[a]	۷/۰۰± ۲/۸۲[a]	۴/۰۰± ۱/۴۱[a]
مونوسیت	۳/۰۰± ۲/۸۲[a]	۳/۰۰± ۱/۴۱[a]	۴/۰۰± ۱/۴۱[a]	۳/۰۰± ۱/۴۱[a]
لنفوسیت	۷۸/۰۰± ۰/۰۰[a]	۷۳/۵۰± ۴/۹۴[a]	۷۰/۹۶± ۵/۶۵[a]	۷۲/۵۰± ۲/۱۲[a]
متوسط حجم گلبول قرمز	۲۲۸/۸۰± ۱۲/۷۲[a]	۲۶۳/۵۰± ۱۹/۰۹[a]	۲۴۴/۵۰± ۲۲/۶۲[a]	۲۵۷/۵۰± ۱۰/۶۰[a]
متوسط هموگلوبین ذره‌ای	۶۵/۸۰± ۰/۱۴[a]	۸۳/۷۵± ۳/۱۸[a]	۷۵/۴۰± ۱۱/۸۷[a]	۸۲/۰۰± ۱/۴۱[a]
متوسط غلظت هموگلوبین ذره‌ای	۲۸/۸۰± ۱/۶۹[a]	۳۲/۳۵± ۰/۳۵[a]	۳۰/۷۰± ۱/۹۷[a]	۳۱/۹۰± ۰/۸۴[a]

وجود حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم معنی‌داری اختلافات در پارامترهای مذکور می‌باشد($p\leq ۰/۰۵$). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند.

در بین فاکتورهای خونی اندازه‌گیری شده هموگلوبین، هماتوکریت، ائوزینوفیل، MCV، MCH و MCHC در تیمارهای تغذیه شده با نوکلئوتید مقادیر بالاتری را نسبت به گروه تغذیه شده با جیره فاقد نوکلئوتید نشان دادند (جدول ۲) ولی این تفاوت معنی‌دار نبود ($p\leq ۰/۰۵$).

جدول ۳: سایرفاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون پس از ده هفته تغذیه بچه‌ماهیان قره‌برون (*A. persicus*) با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت نوکلئوتید

فاکتور / تیمار	شاهد	٪ ۰/۲۵	٪ ۰/۳۵	٪ ۰/۵۰
پروتئین کل	۳/۹۲± ۱/۲۷[a]	۴/۳۵± ۱/۳۶[a]	۳/۶۲± ۰/۴۷[a]	۳/۸۳± ۰/۱۸[a]
آلبومین	۲۲۵۱/۵۴± ۶۳/۵۷[a]	۲۴۵/۸۰± ۰/۱۱[a]	۲۳۴/۳۲± ۱۵/۸۲[a]	۲۳۰/۵۰± ۱۴/۸۷[a]
منیزیم	۲/۰۵± ۰/۱۲[a]	۲/۰۳± ۰/۰۳[a]	۲/۰۴± ۰/۰۶[a]	۱/۹۶± ۰/۱۱[a]
کلسیم	۰/۲۸± ۰/۰۱[a]	۰/۲۷± ۰/۰۱[a]	۰/۲۷± ۰/۰۱[a]	۰/۲۷± ۰/۰۱[a]

وجود حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم معنی‌داری اختلافات در پارامترهای مذکور می باشد($p\leq ۰/۰۵$). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند.

در میان سایر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون تفاوت معنی‌داری در مقادیر اندازه‌گیری شده پروتئین کل، آلبومین، منیزیم و کلسیم بین گروه‌های تحت تیمار و گروه شاهد مشاهده نشد (جدول ۳) هرچند میزان آلبومین در گروههای تحت تیمار مقادیر بالاتری را نسبت به گروه شاهد نشان داد البته این افزایش معنی‌دار نبود ($p\leq۰/۰۵$).

بحث

پارامترهای هماتولوژیک (Houston, 1997) همانند وضعیت فیزیولوژیک یک ارگانیسم ، شاخص‌های سلامت ماهی به شمار می‌آیند و می‌توانند تحت تاثیر تغذیه باشند(Kumar *et al*., 2005). Zomborszky-Kovacs و همکاران (۱۹۹۸) افزایش در مقادیر RBC، Hb، WBC را در گوسفندان تغذیه شده با مکمل نوکلئوتید جیره در مقایسه با گروه شاهد گزارش دادند. محمودی (۱۳۸۷) در مطالعه روی اثر نوکلئوتید جیره بر شاخص‌های خونی بچه‌ماهی آزاد دریای خزر تغییرات معنی‌داری را در بیشتر عوامل خونی مشاهده کرد. بورلس و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که ماهی آزاد اقیانوس اطلس تغذیه شده با نوکلئوتید جیره دارای میزان هماتوکریت بیشتری نسبت به گروه شاهد بود هرچند این تفاوت معنی‌دار نبود که این گزارش با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد. طبق نظر Franklin و همکاران (۱۹۹۲)، افزایش سطح هماتوکریت میتواند عکس‌العملی بر پاسخ به استرس باشد. همچنین میتواند بیانگر افزایش ظرفیت انتقال اکسیژن در خون باشد. با در نظر گرفتن نقش نوکلئوتیدها در رابطه با ساخت پروتئین (به طور جزئی‌تر ترنسفرین[۸] و فریتین[۹]) در کبد، فرض بر این است که نوکلئوتیدها می‌توانند جذب آهن را افزایش دهند (Cosgrove, 1998) ولی برخلاف گزارش Yousefi و همکاران (۲۰۱۱)، در این مطالعه هرچند نوکلئوتید جیره جذب آهن را در ماهیان قره برون به طور معنی‌داری افزایش نداد، مقادیر هموگلوبین تیمارهای تغذیه شده با نوکلئوتید به طور جزئی بالاتر از گروه شاهد بود که می‌تواند اثر مثبت نوکلئوتید جیره را در اریتروپویزیز نشان دهد. می‌توان عدم معنی‌داری تفاوت در جذب آهن بین تیمارهای مختلف این تحقیق را با توجه به افزایش نسبی مقادیر هموگلوبین در گروههای تحت تیمار نسبت به گروه شاهد به دلیل تفاوت در گونه و شاید کوتاه بودن دوره پرورش (۱۰ هفته) دانست. البته Chudharya و همکاران (۲۰۰۵) نیز هیچ تغییری را در میزان هموگلوبین خون پس از تیمار با نوکلئوتید مشاهده نکردند که این نتایج با یافته‌های آنان مطابقت دارد. Gil (۲۰۰۲) نقش نوکلئوتیدها را در تکثیر سلولهای خونی گزارش کرد. علاوه بر این ذکر کرد نوکلئوتید جیره میتواند بر بلوغ، فعالیت و تکثیر گلبولهای سفید اثرگذار باشد. Jha و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیقی روی *C. catla* نشان دادند که ماهیان تغذیه شده با مکمل نوکلئوتید مقادیر بالاتری از WBC را در مقایسه با گروه کنترل داشتند در حالیکه مقادیر مشابهی ازRBC در بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده شد که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد (هرچند این تفاوت در WBC معنی‌دار نبود). در صورتیکه چودهاریا و همکاران (۲۰۰۵) هیچ تغییری را در WBC مشاهده نکردند. همچنین تحقیقی مشابه روی *Labeo rohita* افزایش در میزان گلبول‌های قرمز را گزارش داد (Gil, 2002). در تحقیق حاضر نه تنها نوکلئوتید جیره موجب افزایش هتروفیل خون گردیده بلکه با افزایش دوز مصرفی نیز این افزایش بیشتر شده است. نوکلئوتیدها بر فعالیت لنفوسیت‌ها و تولید ایمونوگلوبین تاثیر می‌گذارند که نشان می‌دهد نوکلئوتیدها بیشترین اثر خود را روی سیستم ایمنی با تولید میزان مناسب ایمونوگلوبین اعمال می‌کنند. همچنین Leonardi و همکاران (۲۰۰۳) افزایش تحریک لنفوسیت‌ها را در قزل‌آلای تغذیه شده با نوکلئوتید نسبت به گروه شاهد گزارش کردند ($p\leq۰/۰۵$) که این افزایش لنفوسیت می‌تواند نشانه‌ای از بهبود وضعیت ایمنی ماهی باشد (Yousefi *et al*., 2011). با اینحال در این تحقیق درصد لنفوسیت خون ماهیان تحت تیمار با نوکلئوتید بعد از تنش شوری نسبت به گروه شاهد بیشتر بود ولی این افزایش معنی‌دار نبود ($p\leq۰/۰۵$) که این

[۸] Transferrin
[۹] Ferritin

افزایش اندک نیز می‌تواند دلیلی بر نقش محرک ایمنی بودن نوکلئوتید جیره در گونه‌های ماهیان باشد. پروتئین‌ها مهمترین ترکیبات سرم خون هستند (Kumar *et al.*, 2005). مطالعات مختلف نشان داده است افزودن نوکلئوتید به جیره سبب ابقای مقدار RNA در سلول‌های کبدی شده و از آنجا که بیشتر RNA موجود در کبد (حدود ۸۵ درصد) از نوع rRNA می‌باشد، احتمالا با اضافه نمودن نوکلئوتید جیره، سنتز پروتئین به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Grimble, 1996). Jha و همکاران (۲۰۰۷) افزایش معنی‌داری را در پروتئین کل *C. catla* گزارش دادند درحالی‌که نتایج حاصل از این آزمایش، همانند تحقیق Yousefi و همکاران (۲۰۱۱) روی فیل ماهی، تفاوت معنی‌داری را در میزان پروتئین کل خون نشان نداد که این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در جنس و سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره باشد چرا که کاتلا از گروه ماهیان استخوانی و قره‌برون و فیل ماهی هر دو از تاسماهیان به حساب می‌آیند. آلبومین و گلوبولین عمده‌ترین پروتئین‌های سرم خون می‌باشند (Kumar *et al.*, 2005). مطابق با یافته‌های Yousefi و همکاران (۲۰۱۱) تغییرات آلبومین خون پس از ۱۰ هفته تغذیه با نوکلئوتید جیره در این تحقیق نیز معنی‌دار نبود. برخلاف نتایج حاکی از این تحقیق، Fontana و همکاران(۱۹۹۸) و Yousefi و همکاران (۲۰۱۱) هیچ تفاوت معنی‌داری را در میزان تری‌گلیسیرید ماهیان تغذیه شده با نوکلئوتید جیره گزارش نکردند. در این تحقیق مقادیر به‌دست آمده از سنجش تری‌گلیسیرید در سه سطح معنی‌داری بود که بیشترین و کمترین سطوح به ترتیب متعلق به تیمار ۰/۲۵ و ۰/۳۵ بود و تیمار شاهد و ۰/۵ در یک سطح معنی‌داری قرار گرفتند ($p \leq ۰/۰۵$). گلوکز پلاسما پس از کورتیزول می‌تواند یک شاخص مفید استرس به عنوان دومین واکنش استرس در ماهی به شمار آید (Wedmyer *et al.*, 1990)، به این دلیل که افزایش سطوح کورتیزول می‌تواند موجب کاتابولیسم قند کبد و تقویت تجزیه کلیگوژن کبد به دلیل تامین انرژی طی فرآیند استرس شود (Barton & Iwama, 1991). پایین‌تر بودن مقادیر گلوکز ماهیان تحت تیمار با نوکلئوتید نسبت به گروه شاهد را میتوان به اثر کاهشی نوکلئوتیدها در استرس مرتبط دانست. Yousefi و همکاران (۲۰۱۱) نیز با تحقیق روی فیل‌ماهی نتایج مشابهی با تحقیق Burrells و همکاران (۲۰۰۱) روی سالمون اطلس نشان دادند. در این تحقیق بیشترین مقدار گلوکز متعلق به تیمار شاهد و کمترین مقدار به تیمار ۰/۵۰٪ بود. تیمارهای ۰/۲۵٪ و ۰/۳۵٪ نیز بین این دو گروه قرار داشتند. کاهش گلوکز در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی نوکلئوتید بیانگر استفاده بیشتر از این ماده در تامین انرژی و رشد یا درگیر بودن سیستم پاسخ ثانویه استرس (هایپرگلیسمیای خفیف) در ماهیان تغذیه شده با جیره فاقد نوکلئوتید می‌باشد. یکی از فرضیه‌هایی که در این خصوص وجود دارد این است که میزان نیاز نوکلئوتید جیره با بروز یا افزایش استرس در محیط پرورشی افزایش می‌یابد (Leonardi *et al.*, 2003).

بعضی از سلول‌ها ظرفیت بسیار محدودی برای سنتز نوکلئوتیدها دارند. در این سلول‌ها تهیه نوکلئوتید از منبع خارجی برای انجام وظایف طبیعی آنها بسیار مهم است (Lee *et al.*, 2004; Buza, 1998) از این رو می‌توان مکمل‌های نوکلئوتید را جهت بهبود وضعیت سلامت و تقویت سیستم ایمنی در جهت کنترل و مدیریت استرس آبزیان به عنوان جزئی از جیره به کار برد.

منابع

بهمنی، م.، کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، محسنی، م.، پوردهقانی، م.، جمالزاده، ف.، یوسفی، ا. و دژندیان، س.، ۱۳۸۷. گزارش نهایی پروژه بررسی امکان تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون پرورشی، مولدسازی، تکثیر مصنوعی و تولید بچه ماهی از مولدین تاسماهیان پرورشی. انتشارات موسسه تحقیقات. ۸۶ صفحه.

تقی‌زاده، و.، ایمانپور، م.ر.، اسعدی، ر.، چمن آرا، و. و شربتی، س.، ۱۳۸۹. تاثیر جایگزینی پروتئین گیاهی به جای آرد ماهی روی شاخص‌های رشد، کیفیت لاشه و پارامترهای بیوشیمیایی خون فیل ماهی جوان (*Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران، ۴۲-۳۳ :۱۹.

حافظ امینی، پ. و عریان، ش.، ۱۳۸۱. بررسی اثرات ناشی از استرس کلرور سدیم روی هماتوکریت و هموگلوبین در ماهی کپور معمولی. مجله علمی شیلات ایران، ۱۳-۲۲ :۱۱.

رجب‌پور رحمتی، م.، ۱۳۹۱. افزودنی‌های جیره غذایی ماهیان (پروبیوتیک، ال- کارنیتین، مواد جاذب). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. صفحات ۸۶-۹۳.

ظریف فرد، ا.، بهمنی، م.، خدادای، م. و محمودی، ن. ا.، ۱۳۸۸. تاثیر نوکلئوتید جیره بر برخی شاخص‌های رشد و بقاء ماهی هامور معمولی. مجله بیولوژی دریا، ۱۰۲-۱۱۴ :۱.

محمودی، ن.، عابدیان کناری، ع. و سلطانی، م.، ۱۳۸۷. تاثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر شاخص‌های رشد، بقا و آنزیم‌های کبدی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspicus*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۲۳-۱۳۲ :۱۷.

Barton, B.A. and Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases, 1: 3–26.

Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology, 5: 771–781.

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

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

Braun, N., Lima, R.L.D., Baldisserotto, B., Dafre, A.L. and Nuner, A.P.D.O., 2010. Growth, biochemical and physiological responses of *Salminus brasiliensis* with different stocking densities and handling. Aquaculture, 301: 22–30.

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

Choudhurya, D., Pal, A.K., Sahua, N.P., Kumar, S., Das, S.S. and Mukherjee, S.C., 2005. Dietary yeast RNA supplementation reduces mortality by *Aeromonas hydrophila* in rohu (*Labeo rohita*) juveniles. Fish and Shellfish Immunology, 19: 281–291.

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

Dorafshan, S., Kalbassi, M.R., Pourkazemi, M., Mojazi Amiri, B. and Soltan Karimi, S., 2008. Effects of triploidy on the Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*) haematology. Fish Physiology and Biochemistry, 34: 195–200.

Doumas, B.T., Watson, W.A. and Biggs, H.G., 1977. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. Clinica Chimica Acta, 258: 21–30.

Fontana, L., Moreira, E., Torres, M.I., Fernández, I., Sánchez de Medina, F. and Gil, A., 1998. Dietary nucleotides correct plasma and liver microsomal fatty acid alterations in rats with liver cirrhosis induced by oral intake of thioacetamide. Journal of Hepatology, 28(4): 662– 669.

Gil, A., 2002. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides.

Bulletin of the European Association of Fish Pathology, 23: 52–59.

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

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

Rawling, M.D., Merrifield, D.L. and Davies, S.J., 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. Aquaculture, 294: 118–122.

Tietz, N.W., 1986. Textbook of clinical chemistry. WB Saunders, London.

Wedemeyer, G.A., Barton, B.A. and McLeay, D.J., 1990. Stress and acclimation. In: Schreck, C.B., and Moyle, P.B., (eds) Methods for fish biology. American Fisheries Society, Bethesda, MD, USA. pp. 451–489.

Yousefi, M., Abtahi, B. and Abedian-Kenari, A., 2012. A Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles fed dietary nucleotide. Comparative Clinical Pathology, 21: 1043-1048.

Zomborszky-Kovacs, M., Zomborszky, Z., Tuboly, S., Lengyel, A. and Horn, E., 1998. The effect of thermolysed Brewer's

European Journal of Clinical Nutrition, 56(3): 1–4.

Grimble, G.K., 1996. Why are dietary nucleotides essential nutrients? Journal of nutrition, 76: 475-478.

Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Merrifield, D. and Darvish Bastami, K., 2010. The study of some haematologic and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso)* fed dietary prebiotic oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry, 31: 91-96.

Houston, H., 1997. Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? Transactions of the American Fisheries Society, 126: 879–894.

Jha, A.K., Pal, A.K., Sahu, N.P., Kumar, S. and Mukherjee, S.C., 2007. Haemato immunological responses to dietary yeast RNA, ω-3 fatty acid and b-carotene in (*Catla catla*) juveniles. Fish and Shellfish Immunology, 23: 917- 927.

Kumar, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Choudhury, D., Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C., 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in (*Labeo rohita)* juveniles. Fish and Shellfish Immunology, 19: 331–344

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*).

Technology and Sheep Breeding, 46: 255–261.

yeast of high nucleotide content on some blood parameters in sheep. Wool

The Effect of Dietary Nucleotide on the Haematological and Serum Biochemical Parameters of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) Juveniles

Khani F. [(1)] *; Imanpoor M.R. [(1)] ; Kolangi Miandare H.[(1)]; Ghaedi A.[(2)] and Taghizadeh V.[(2)]

F.Khani88@gmail.com

1. Fisheries Department, University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran
2. Iranian Fisheries Research Organization (I.F.R.O), Tehran, Iran

Received: November 2013 Accepted: July2015

Keywords: Nucleotides, Blood factors, Serum Biochemical Parameters, Persian sturgeon, *Acipenser persicus*

Abstract:

This study was aimed to examine the impact of different levels of dietary nucleotides (Vannagen) on serum biochemical and blood parameters of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Fish (42.37± 2.12 g and 23.67± 0.61 cm) were divided into four treatments with different levels of dietary nucleotides (0, 0.25, 0.35 and 0.5 percent of diet). There were three replicates with a density of 12 fish per tank. After 10 weeks of feeding, serum biochemical and blood parameters were measured. Among the measured factors, blood glucose, triglycerides, cholesterol, erythrocyte and heterophil showed significant differences between the groups fed with nucleotides and the control group ($P \leq 0.05$). By increasing the nucleotide levels, the mean heterophil and serum glucose showed significant increase and decrease, respectively. The highest and lowest values of cholesterol and triglyceride were found in groups fed with 0.25% and 0.35% nucleotides, respectively. The other measured factors had no significant difference ($P \leq 0.05$). Therefore, it could be said that with regard to the limited capacity of cells to synthesize nucleotides, external preparing of nucleotides could result in the production of needed nucleotides and an increase of its production speed, especially during stress. Such preparation can also improve fish physiology and health status.

* Corresponding author