بررسی برخی اثرات نوکلئوتید جیره بر ساختار زوائد باب‌المعدی پیلوریک ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1870)

صادق اولاد؛ صابر خدابنده*؛ عبدالمحمد عابدیان و نعمت اله محمودی

surp78@yahoo.com

دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۳۵۶-۶۴۴۱۴

تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۹

چکیده

به منظور مطالعه اثرات نوکلئوتید بر ساختار زوائد باب‌المعدی در ماهی آزاد خزر، ۳۱۵ عدد بچه ماهی با میانگین وزنی ۱۲/۲۶ گرم (میانگین طول ۱۱/۱۲ سانتیمتر) به مدت ۸ هفته نگهداری و با دو غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد نوکلئوتید در جیره کنترل و شاهد، تیمار گردیدند. برای مطالعه تغییرات ساختاری زوائد باب‌المعدی، در پایان دوره از هر تیمار ۶ عدد ماهی در محلول بوئن تثبیت و پس از طی مراحل قالب‌گیری برشهای ۴ میکرومتری از آنها تهیه و سپس با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. نتایج بررسی نشان داد که در مقایسه با گروه شاهد، هر دو غلظت نوکلئوتید جیره معنی‌دار بود ($P<0/05$) و ضخامت لایه پوششی، طول پرزها، تعداد سلولهای پوششی (انتروسیت) و ضخامت لایه عضلانی زوائد باب‌المعدی را افزایش می‌دهد. بین دو تیمار نوکلئوتید تغییرات لایه پوششی و زیر موکوسی، طول و تعداد پرزها معنی‌دار نبود ($P>0/05$)، در حالیکه غلظت ۰/۲۵ درصد تأثیر قابل ملاحظه‌ای روی تعداد سلولهای انتروسیت و ضخامت لایه عضلانی نسبت به غلظت ۰/۵ درصد نشان داد.

لغات کلیدی: نوکلئوتید، زوائد باب‌المعدی، جذب، رشد، *Salmo trutta caspius*

مقدمه

با توجه به تحقیقات انجام شده در موجودات مختلف، نوکلئوتید جیره دارای نقش‌های متابولیک متعددی از جمله بهبود شاخص‌های ایمنی بدن (ذاتی و اکتسابی)، افزایش رشد، توسعه میکروفلور روده، بهبود نتایج 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 توکسین‌ها، کاهش ضایعات کبدی و اصلاح عملکرد کبد و بیان ژن شاخصهای ایمنی (در ماهی، خوک، موش و انسان) می‌باشد (Frankic *et al*., 2006 ;Boza, 1998 ;Gil *et al*., 1986; Li & Gatlin, 2006) نوکلئوتید جیره در پستانداران اثرات مفید فیزیولوژیک و تغذیه‌ای 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,b). تأثیرات مثبت نوکلئوتید جیره بر بافت روده حیوانات اهلی و خانگی نظیر،

*نویسندهٔ مسئول

بهبود میکروفلور روده (Uauy *et al.*, 1990 ;Gil *et al.*, 1986)، افزایش سطح مخاط در موش (Carver, 1994)، تسریع رشد و تمایز سلولهای روده، افزایش فعالیت آنزیم‌های بخش حاشیه مسواکی (brush border) و افزایش طول پرزها در موش (Uauy *et al.*, 1990) به اثبات رسیده است. واکنش‌های مورفولوژیک مجرای گوارشی انسان و حیوانات خشکی‌زی به نوکلئوتید جیره شامل افزایش ارتفاع پرزها، افزایش ضخامت دیواره روده میانی و خلفی افزایش تعداد سلولهای پرزها می‌باشد (Borda *et al.*, 2003).

عملکرد نوکلئوتید در آبزیان محدود به چند مقاله منتشر شده است (Leonardi *et al.*, 2003;Burrells *et al.*, 2001a,b; Li *et al.*, 2004 ;Li & Gatlin III, 2006). نظر به متفاوت بودن محیط زندگی این مهره‌داران عالی با خشکی‌زیان که در آنها غذا همراه مقدار زیادی آب وارد بدن می‌شود. می‌توان گفت که عکس‌العمل‌ها نسبت به مصرف نوکلئوتید می‌تواند متفاوت باشد. اطلاعات مربوط به سنتز و متابولیسم نوکلئوتید در مهره‌داران پست‌تر نظیر ماهی و بی‌مهرگان همچون سخت‌پوستان بی‌نهایت محدود است. در این زمینه حتی در نظریه‌های مربوط به سنتز و متابولیسم نوکلئوتید خارجی در انسان و سایر پستانداران در برخی موارد اختلاف نظر وجود دارد (Li *et al.*, 2004). اما بطور کلی تحقیقات بعمل آمده نشان داد که اضافه کردن مکمل نوکلئوتید خارجی اثرات مثبتی روی فیزیولوژی ارگانیزم هدف خواهد گذاشت (Ortega *et al.*, 1995).

نوکلئوتیدها، نوکلئوزیدها و بازهای نیتروژنی بوسیله لایه موکوسی (پوششی) روده جذب می‌شوند (Li *et al.*, 2004 ;Boza, 1998). روده از نظر بافت‌شناسی به چهار لایه اصلی تقسیم می‌شود که عبارتند از: لایه موکوسی (پوششی)، زیر موکوس، لایه عضلانی (حلقوی و طولی) و سروزا (Takashima & Hibiya, 1995). زوائد باب‌المعدی ماهیان در قسمت ابتدایی روده بلافاصله بعد از اسفنگتر پیلوریک واقع شده‌اند که تنوع زیادی از نظر اندازه، شکل و تعداد (۱ تا ۱۰۰۰ عدد) دارا بوده و در تعداد اندکی از ماهیان استخوانی دیده می‌شوند (Karasov & Hume, 1997)، که یکی از عمده محلهای جذب مواد غذایی و یون می‌باشند (Collie, 1985; Loretz & Pollina, ;Buddington & Diamond, 1987 2000). در ماهیان واجد زوائد باب‌المعدی تعداد آنها با توجه به گونه و سن تغییر می‌کند (Steven, 1988 ;Bergot *et al.*, 1981). زوائد باب‌المعدی ماهیان نوعی استراتژی تکاملی برای افزایش سطح جذب روده بدون افزایش طول یا ضخامت خود روده محسوب می‌گردد (Wilson *et al.*, 1996 ;Buddington & Diamond, 1987; Veillette, 2005).

تحقیقات روی چگونگی اثرات مثبت نوکلئوتیدها در سطح رشد ماهیان محدود بوده و در آنها بیشتر ساختار خود روده مد نظر بوده است و توجه‌ای به زوائد باب‌المعدی نشده است. Burrells و همکاران (2001b) برای اولین بار واکنش‌های مورفولوژیکی روده ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) را به نوکلئوتیدهای جیره از طریق بررسی بافت‌شناسی کلاسیک مشخص کردند. در آن مطالعه، ارتفاع میانگین چین خوردگی روده در قسمت‌های قدامی، میانی و خلفی همچنین مساحت کل روده ماهیان تغذیه شده با جیره دارای نوکلئوتید بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. نتایج مشابهی توسط Borda و همکاران (2003) در سیم دریایی (*Sparus aurata*) جوان گزارش گردید. Borda و همکاران (2003) با بررسی کاربرد نوکلئوتید جیره برای لارو سیم دریایی (*Sparus aurata*) این فرضیه را مطرح کردند که یک منبع خارجی از نوکلئوتیدها ممکن است رشد ماهی و سخت‌پوستان را در مراحل اولیه جهت مواجهه با میزان بالای همانندسازی سلولها افزایش دهد. این در حالی است که برخی از محققین اثر معنی‌داری را با استفاده از نوکلئوتیدها در برخی گونه‌ها شامل شوریده قرمز (*Sciaenops ocellatus*) (Li *et al.*, 2005) و هیبرید باس راه راه (*Morone saxatili* × *Morone chrysops*) (Li *et al.*, 2004) مشاهده نکردند. 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 نشان‌دهنده، افزایش رشد قابل ملاحظه در بچه ماهیان آزاد خزر می‌باشد (محمودی و همکاران، ۱۳۸۷). با توجه به موارد اشاره شده و نیز عدم بررسی اثرات نوکلئوتید روی زوائد باب‌المعدی آزاد ماهی دریای خزر، تحقیق حاضر با هدف مطالعه تغییرات ساختاری این بخش از دستگاه گوارش در اثر ماده افزودنی نوکلئوتید انجام گردید.

مواد و روش کار

تحقیق به مدت ۸ هفته (از اول فروردین سال ۱۳۸۶) در آزمایشگاه تحقیقات آبزیان دانشکدهٔ علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. ابتدا با توجه به آزمایشات معتبر انجام شده در دنیا مبنی بر استفاده از مکمل حاوی نوکلئوتید که دارای

استانداردهای لازم برای انجام کارهای تحقیقاتی است از جمله Burrells *et al*., 2001b 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) است، با توجه به مقالات علمی موجود Burrells *et al*., 2001a,b شناسایی و تهیه گردید. ۳۱۵ عدد بچه ماهی (میانگین وزنی ۱۲/۲۶ گرم، میانگین طول ۱۱/۱۲ سانتیمتر و سن ۶ ماه) از کارگاه شهید باهنر کلاردشت تهیه و ماهیان هم اندازه (با مقایسه چشمی)، جدا گردیدند. قبل از ذخیره‌سازی، تانکها بوسیله مواد ضدعفونی کننده مانند هیپوکلریت سدیم کاملاً ضدعفونی گردیده و سپس با آب شستشو داده شدند. ماهیان ابتدا با محلول نمک ۴ درصد ضدعفونی و سپس در داخل تانکهای ۰/۳ مترمکعبی به تعداد ۳۵ عدد در هر تانک (۳ تکرار برای هر تیمار) قرار گرفتند. ماهیان بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی، بدلیل حمل و نقل، به مدت یک هفته با جیره کنترل که مطابق با جیره غذایی کارگاه شهید باهنر کلاردشت بود (حاوی پودر ماهی با محتوای پروتئین حدود ۵۰ درصد، چربی ۱۷ درصد، رطوبت ۱۲/۵ درصد، خاکستر ۱۰ درصد، کربوهیدرات ۹/۵ درصد) به منظور سازگاری تغذیه شدند (Halver, 1976). بعد از یک هفته نگهداری ماهیان در دو تیمار بصورت: ۱- جیره کنترل به همراه ۰/۲۵ درصد نوکلئوتید اضافی ۲- جیره کنترل به همراه ۰/۵ درصد نوکلئوتید اضافی و جیره شاهد (بدون نوکلئوتید)، به مدت ۸ هفته نگهداری و تغذیه شدند. غذادهی بچه ماهیان به میزان ۴ تا ۷ درصد وزن بدن و در ۵ وعده در روز در ساعات ۸، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۸ مطابق با درصد و ساعات غذادهی در کارگاه شهید باهنر کلاردشت انجام گرفت. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز از مخازن سیفون می‌گردید (توسط یک شلنگ ۲ متری با تخلیه مقداری آب از کف تانک مواد زائد خارج می‌شد). طی دوره آزمایش، دوره نوری بصورت ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی، میانگین pH ۷/۸، میانگین میزان اکسیژن محلول در آب برابر ۸/۵ میلی‌گرم بر لیتر و میانگین دما ۱۴- ۱۳ درجه سانتیگراد بود. پس از نگهداری ۸ هفته‌ای، از هر تیمار ۶ عدد ماهی صید و بلافاصله امعاء و احشاء به دقت جدا و در محلول بوئن جهت انجام کارهای بافت‌شناسی تثبیت گردیدند.

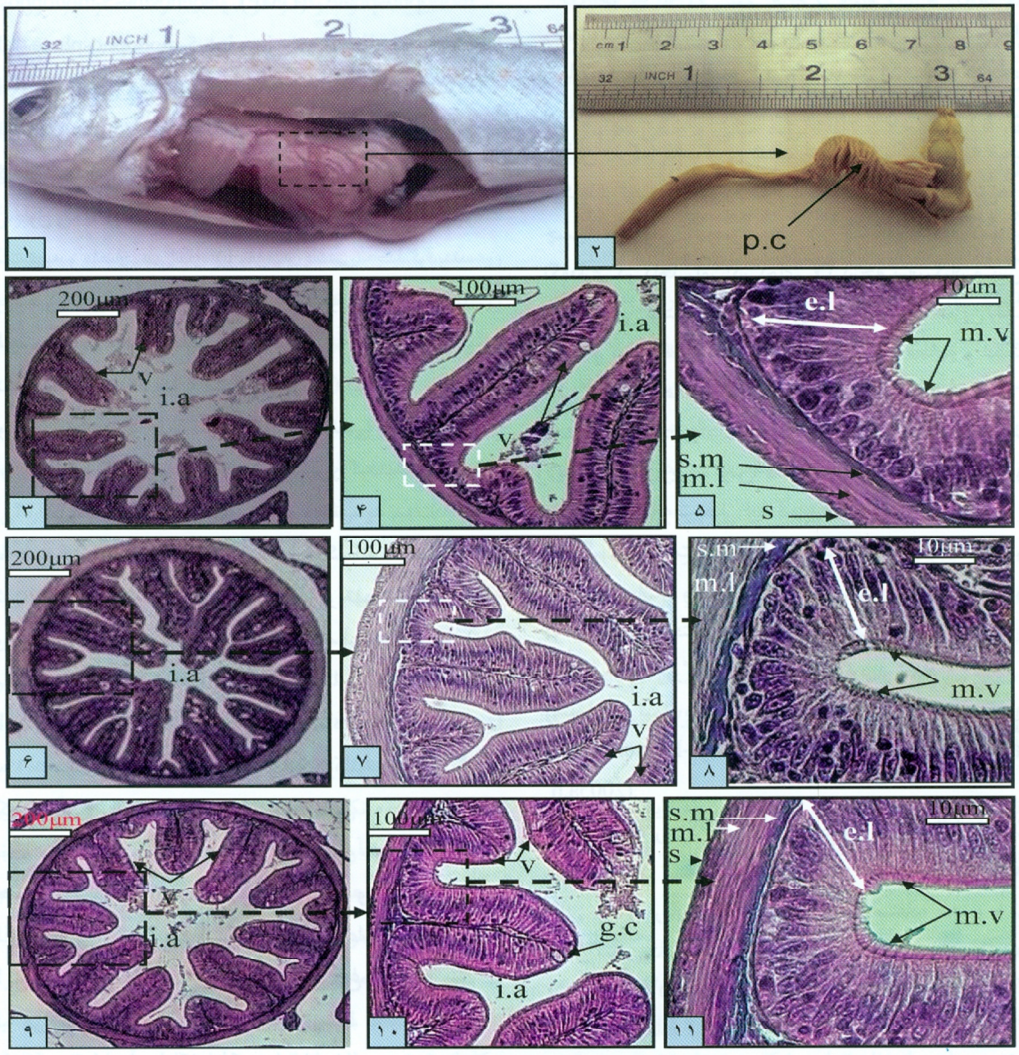
پس از آن با الکل اتانول ۷۰ درصد مورد شستشو قرار گرفتند (۴ تا ۵ مرتبه بمنظور خارج شدن بوئن از بافت). قبل از ادامه آزمایش بخشهای مختلف دستگاه گوارش (معده، روده قدامی، روده میانی و روده خلفی) از همدیگر جدا شده و رودهٔ قدامی (که زوائد باب‌المعدی به آن متصل می‌باشد) انتخاب شدند. نمونه‌ها سپس توسط الکل اتانول‌های ۹۰، ۹۵ و ۱۰۰ درصد و نهایتاً توسط الکل بوتانول (۱۲ ساعت) آبگیری شدند. نمونه‌ها پس از قرارگیری به مدت ۳ ساعت در گزیلن، به منظور پارافینه کردن، به مدت ۱۴ ساعت در داخل آون (دمای ۶۰ درجه سانتیگراد) در پارافین مایع قرار داده و سپس با پارافین (مرک) قالب‌گیری شدند. از بافت‌ها برش‌هایی به ضخامت ۴ میکرومتر توسط میکروتوم شرکت دید سبز تهیه شد. برش‌ها بوسیله چسب مخصوص آلبومین روی لام چسبانده شده، لامها پس از نگهداری در داخل آون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و پس از آن پارافین‌زدایی توسط گزیلن به روش هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و توسط میکروسکوپ نوری نیکن مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند. از عکسهای تهیه شده با بزرگنمایی ۵۰x جهت بررسی بخشهای مختلف زوائد باب‌المعدی (مساحت لایه پوششی، مساحت لایه عضلانی و زیر موکوس، مساحت فضای داخلی و طول پرزها) در مقطع عرضی از نرم‌افزار Image Tool (این نرم‌افزار دارای قابلیت اندازه‌گیری مساحت و طول در ابعاد میکروسکوپی از تصاویر تهیه شده از لامها می‌باشد) و نیز شمارش تعداد سلولهای پوششی (انتروسیت) در تیمارهای مختلف با استفاده از لامهای تهیه شده و در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۲۰۰x انجام گردید. تعداد ۶۰ مقطع عرضی زوائد از هر تیمار برای بررسی‌های بافت‌شناسی استفاده گردیدند (Khodabandeh *et al*., ;Martoja & Martoja-Pierson, 1967 ;2005a,b).

از نرم افزار SPSS برای آنالیز داده‌ها و از نرم‌افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید. از آزمون Kolmogorov-Smirnov برای بررسی نرمال بودن یا نبودن داده‌ها استفاده شد، و با توجه به نرمال نبودن داده‌ها از آزمون Kruskal-Wallis برای مقایسه کلی (سطح اعتماد ۵ درصد) و از آزمون Mann-Whitney برای مقایسه چند گانه استفاده گردید.

نتایج

تغییرات بافتی لایه پوششی در زوائد باب‌المعدی در شاهد و دو تیمار مختلف در اشکال ۳ تا ۱۱ ارائه شده است. اثر مکمل غذایی حاوی نوکلئوتید بر مساحت لایه پوششی در هر مقطع در انتهای دوره (پس از ۸ هفته) بررسی شد که گروههای حاوی نوکلئوتید بطور معنی‌داری با گروه شاهد اختلاف داشتند ($P<0/05$)، و در تیمار ۰/۲۵ درصد بیشترین مساحت لایه پوششی مشاهده گردید، اما اختلاف معنی‌داری بین ۲ گروه تیمار حاوی مکمل نوکلئوتید مشاهده نشد.

شمارش سلولهای پوششی در هر ۲ تیمار و گروه شاهد نشان داد که تعداد آنها در هر ۳ گروه با هم اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵). در تیمار ۰/۲۵ درصد بیشترین و در گروه شاهد کمترین تعداد سلول مشاهده گردید (اشکال ۳ تا ۱۱ و جدول ۱).



موقعیت زوائد باب المعدی و تغییرات بافتی آن در تیمارهای مختلف نوکلئوتید رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین-ائوزین

– موقعیت زوائد باب المعدی در آزاد ماهی دریای خزر (اشکال ۱ و ۲).

– اشکال بافت شناسی مقطع عرضی زوائد باب المعدی بچه آزاد ماهی دریای خزر در تیمار شاهد (اشکال ۳، ٤، ٥)، تیمار ۰/۲۵ درصد نوکلئوتید (اشکال ٦، ۷، ۸) و تیمار ۰/۵درصد (اشکال ۹، ۱۰، ۱۱).

– اشکال ۳، ٦، ۹ نمای کاملی از مقطع عرضی یک زائده باب‌المعدی با بزرگنمایی ۵۰x می باشد. برای پی بردن به جزئیات تغییرات بافتی مقاطع ۳، ٦، ۹ با درشتنمایی بزرگتری در اشکال بعدی آورده شده اند.

-مقطع عرضی یک زائده باب‌المعدی از تیمار شاهد. تعداد پرز کمتر و فضای خالی بیشتری قابل مشاهده می باشد (شکل ۳). در این اشکال پرزها، میکرو پرزها، سروزا، لایه عضلانی و زیر موکوس بخوبی نمایان است.

-اختصارات بکار برده شده در اشکال : el: epithelial layer لایه پوششی، gc: goblet cell سلول موکوسی، ia: inside area فضای داخلی، mv: micro-villi میکروپرز، ml: musclelayer لایه عضلانی، pc: pyloric caeca ساک پیلوریک، s: serosa سروزا، sm: sub mucosa زیر موکوس، v: villi پرز

جدول ۱: پارامترهای مورد بررسی

	شاهد	نوکلئوتید تیمار ۰/۲۵ درصد	نوکلئوتید تیمار ۰/۵ درصد
میانگین مساحت لایه پوششی در مقطع عرضی (میلیمترمربع)	۰/۲۸	۰/۳۲	۰/۳۱
میانگین تعداد سلول پوششی در مقطع عرضی	۱۱۲۵/٦٦	۱٤٤٦/۰۳	۱۳۳۲
میانگین مساحت زیر موکوس و لایه عضلانی در مقطع عرضی (میلیمترمربع)	۰/۰۷	۰/۱۰	۰/۰۹۷
میانگین طول پرز در مقطع عرضی (میلیمتر)	۰/۱۷	۰/۱۹	۰/۱۹
میانگین مساحت فضای داخلی در مقطع عرضی (میلیمتر)	۰/۱٤	۰/۰۸	۰/۰۹

بررسی نتایج اثر مکمل غذایی حاوی نوکلئوتید بر لایه عضلانی و زیر موکوس نشان داد که هر ۳ گروه با هم اختلاف معنی داری دارند (P<۰/۰۵) و بیشترین ضخامت لایه عضلانی و زیر موکوس در گروه ۰/۲۵ درصد مشاهده گردید (اشکال ۴، ۷ و ۱۰ و جدول ۱).

در اندازه‌گیری بعمل آمده با نرم‌افزار Image Tool میانگین طول پرز در ۲ تیمار حاوی نوکلئوتید بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵)، ولی بین ۲ تیمار نوکلئوتید اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (اشکال ۴، ۷ و۱۰ و جدول ۱).

همانطور که در اشکال ۴، ۷ و ۱۰ مشخص می‌باشد، نوکلئوتید تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر رشد پرزها داشته، لذا مساحت فضای داخلی در گروه شاهد که فاقد مکمل نوکلئوتید می‌باشد، بطور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر بوده و در تیمارهای نوکلئوتیددار با رشد قابل توجه پرزها و لایه پوششی، بطور معنی‌داری فضای داخلی کوچکتر می‌شود (اشکال ۳، ۶، ۹ و جدول ۱).

بحث

Burrells و همکاران (2001a) گزارش کردند که ماهی آزاد اقیانوس اطلس تغذیه شده با نوکلئوتید جیره به میزان ۰/۲۵ درصد دارای وزن نهایی به مراتب بیشتری نسبت به گروه شاهد است و برای اولین بار واکنش‌های مورفولوژیک روده ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) را به نوکلئوتیدهای جیره از طریق بررسی بافت‌شناسی کلاسیک مشخص کردند. در این مطالعه، ارتفاع میانگین چین خوردگی روده (طول پرز) در قسمت‌های قدامی، میانی و خلفی همچنین مساحت کل روده ماهیان تغذیه شده با جیره دارای نوکلئوتید بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. همچنین Borda و همکاران، (۲۰۰۳) نتایج مشابهی را در سیم دریایی (*Sparus aurata*) جوان گزارش کردند و با بررسی کاربرد نوکلئوتید جیره برای لارو سیم دریایی (*Sparus aurata*) این فرضیه را مطرح کردند که یک منبع خارجی از نوکلئوتیدها ممکن است رشد ماهی و سخت‌پوستان را در مراحل اولیه جهت مواجهه با میزان بالای همانندسازی سلولها افزایش دهد. در تحقیقات محدود اشاره شده، روی آزاد ماهیان به اثرات نوکلئوتید جیره بر رشد و تغییرات ساختارهای روده بیشتر توجه شده و توجه‌ای به زوائد باب‌المعدی نگردیده است. نتایج کسب شده در تحقیق حاضر روی آزاد ماهی خزر نشان داد که تیمار حاوی نوکلئوتید تأثیر معنی‌داری بر بخشهای مختلف زوائد باب‌المعدی از جمله مساحت لایه‌های پوششی، زیر موکوس و عضلانی، مساحت محیط داخلی، تعداد سلول پوششی (انتروسیت) و طول پرز دارد که در تیمار ۰/۲۵ درصد این تأثیر بوضوح نمایان می‌باشد.

نتایج مطالعه اثرات نوکلئوتید جیره در ماهی آزاد دریای خزر توسط محمودی و همکاران (۱۳۸۷) نشان داد که افزودن نوکلئوتید جیره در سطح ۰/۲۵ درصد به ترکیب غذایی ماهی آزاد دریای خزر منجر به افزایش معنی‌داری در وزن نهایی بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ بازده پروتئین، ضریب رشد ویژه، ارزش تولیدی پروتئین، مقدار غذای مصرفی و کاهش معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه کنترل شده است. در زوائد باب‌المعدی آزاد ماهی خزر، تغییرات بافتی مشاهده شده

بسیار شبیه تغییرات مشاهده شده در بخش قدامی روده ماهی آزاد اقیانوس اطلس بود و به نظر می‌رسد غلظت ۰/۲۵ درصد نسبت به غلظت ۰/۵ درصد اثرات مفیدتری داشته باشد که این نتایج می‌تواند افزایش رشد ماهی در تحقیق فوق را توجیه کند. بدون شک افزایش سطح جذب در زوائد باب‌المعدی به طریق مختلف می‌تواند میزان جذب مواد غذایی را سبب شده و به همراه سایر تغییرات که این ماده می‌تواند انجام دهد سبب افزایش رشد ماهیان مورد بررسی گردد. 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 بترتیب ۲۰/۹۲ گرم، ۲۵/۴۲ گرم و ۲۲/۷۷ گرم و میانگین طول ۱۳/۱۱، ۱۴/۱۱ و ۱۳/۵۲ سانتیمتر بود و همانطور که ملاحظه می‌شود تفاوت وزن در تیمار ۰/۲۵ درصد نسبت به گروه شاهد قابل توجه می‌باشد (میانگین وزن ابتدای دوره ۱۲/۲۶ گرم می‌باشد). همچنین اشاره شده که فراهم کردن مقادیر مورد نیاز فیزیولوژیک از نوکلئوتیدها در جیره‌های غذایی بدلیل ظرفیت سنتزی محدود بعضی بافت‌های مشخص، هزینه انرژتیک ناکافی برای سنتز de novo، تبادلات ایمونو اندوکراینی، تعدیل الگوهای بیان ژن بخصوص بیان ژن آنزیمهای مسیر salvage نظیر هیپوگزانتین گوانین فسفوریبوزیل ترانسفراز و آدنین فسفوریبوزیل ترانسفراز، را سبب می‌گردد (Li & Gatlin, 2006). اثر نوکلئوتید جیره بر فلور روده، مورفولوژی روده، کاهش استرس و جاذب شیمیایی بودن نوکلئوتیدها از جمله دلایل مرتبط با تأثیرات مفید نوکلئوتید جیره می‌باشد. لذا می‌توان گفت که نوکلئوتید همراه با توسعه رشد در زوائد باب‌المعدی ماهی آزاد خزر، که بالطبع این امر با افزایش فضای درونی و امکان برخورد بیشتر مواد غذایی با لایه پوششی، زمینه را برای جذب بهتر و تعدیل عمل آنزیمهای مختلف و هورمونهای درون‌ریز آماده می‌سازد.

علاوه بر اثرات گفته شده Burrells و همکاران، (2001a,b) نشان دادند که فراهم کردن نوکلئوتید جیره قبل و بعد از دوره استرس می‌تواند کاهش میزان رشدی که در شرایط استرس در مقایسه با شرایط بدون استرس بوجود می‌آید را جبران کند. بعلاوه این فرضیه مطرح شده است که افزایش رشد در اثر جیره نوکلئوتید متأثر از بلع غذایی سریعتر بدلیل جاذب غذایی بودن این ماده می‌باشد، که این مسئله (بلع سریع) مسلماً تراوش مواد غذایی را به آب کاهش می‌دهد (Carver, 1994). Kubitza و همکاران (1997) گزارش کردند که IMP (دی سدیم اینوزین ۵ مونوفسفات) جیره (۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، بلع غذا را در باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) تا ۴۶ درصد در جیره حاوی آرد سویا و فاقد IMP افزایش داد و مشخص کردند که بهبود اشتها ناشی از نوکلئوتید جیره می‌تواند اختلاف میزان رشد را بین ماهیان تغذیه شده با نوکلئوتید جیره و گروه کنترل نشان دهد. Rumsey و همکاران (۱۹۹۲) گزارش نمودند که افزایش میزان غذای مصرفی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با نوکلئوتید جیره، احتمالاً بدلیل جاذب شیمیایی بودن نوکلئوتیدهاست که منجر به خوش خوراک شدن غذا و در نتیجه موجب افزایش بلع و رشد بیشتر می‌گردد. بالا بودن میزان غذای مصرفی در تیمار ۰/۲۵ درصد می‌تواند دلیل بر خوش خوراکی یا افزایش اشتهای ماهی ناشی از مصرف نوکلئوتیدها باشد.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر و نتایج مطالعات اشاره شده می‌توان گفت که نوکلئوتید جیره (به میزان مشخص) می‌تواند بطور مستقیم تغییرات بافتی در اندامهای جذب مواد غذایی ایجاد کند و همچنین بطور غیرمستقیم بر رفتار تغذیه‌ای و اعمال متابولیک اثر گذاشته میزان رشد بچه ماهیان را بطور معنی‌داری افزایش دهد.

منابع

خدابنده ص. و تقی‌زاده، ز.، ۱۳۸۵. مکان‌یابی آنزیم Na^+, K^+-ATPase و سلولهای یونوسیت در آبشش گربه ماهی *Silurus glanis* به روش ایمونوهیستوشیمی. فصلنامه پزشکی یاخته، سال هشتم، شماره ۱، بهار ۸۵، ۸ صفحه.

محمودی ن.ا.؛ عابدیان ع. و سلطانی م.، ۱۳۸۷. تأثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر شاخص‌های رشد، بقا و آنزیمهای کبدی ماهی آزاد دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، سال هفدهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۷، صفحات ۱۲۳ تا ۱۳۲.

Bergot P., Blanc J.M. and Escaffre A.M., 1981. Relationship between number of pyloric ceca and growth in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Aquaculture, 22:81–96.

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, 146:39–48.

Buddington R.K., and Diamond J.M., 1987. Pyloric Ceca of Fish: "New" Absorptive Organ. Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 252:G65-G76.

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. and 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. 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, 199:171-184.

Bustamante S.A., Sanches N., Crosier J., Miranda D., Colombo G. and Miller J.S., 1994. Dietary nucleotide: Effects on the gastrointestinal system in swine. Journal of Nutrition, 124:149S-156S.

Carver J.D., 1994. Dietary nucleotides: Cellular immune, intestinal and hepatic system effects. Journal of Nutrition, 124:144S-148S.

Collie N.L., 1985. Intestinal nutrient transport in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and the effects of development, starvation, and seawater adaptation. Journal of Comparative Physiology. Part B. 156:163-174.

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 and Chemical Toxicology, 44:1838–1844.

Gil A., Corral E., Martinez-Valverde A. and Molina J.A., 1986. Effects of the addition of nucleotides to an adapted milk formula on the microbial pattern of feces in atterm newborn infants. Journal of Clinical Nutrition and Gastroenterology, 1:127–132.

Grimble G.K., 1996. Why are dietary nucleotides essential nutrients? British Journal of Nutrition, 76:475–478.

Halver J.E., 1976. The nutritional requirements of cultivated warm water and cold water fish species. Paper No. 31, FAO Technical Conference in Aquaculture. Kyoto, May 26- June 2. 9P.

Karasov W.H. and Hume I.D., 1997. Vertebrate gastrointestinal system, In: The Handbook of Physiology Comparative Physiology. (ed. W.H. Dantzler), The American Physiology Society,

Oxford University Press. Section 13, 1:409–480.

Khodabandeh S., Charmantier G., Blasco C., Grousset E. and Charmantier-Danures M., 2005a. Ontogeny of the antennal glands in the cray fish, *Astacus leptodactylus* (Crustacea, Decapoda): Anatomical and cell differentiation. Cell Tissue Research, 319:153-165.

Khodabandeh S., Ktnik M., Aujoulat F., Charmatier G. and Charmantier-Danures M., 2005b. Ontogeny of the antennal glands in the cray fish, *Astacus leptodactylus* (Crustacea, Decapoda): Immunolocalization of Na^+, K^+-ATPase. Cell Tissue Research, 319:167-174.

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

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 Europe Association Fish Pathology, 23:52–59.

Li P., Burr G.S., Goff J., Whiteman K.W., Davise K.B., Vega R.R., Neill W.H. and Gatlin III D.M., 2005. A preliminary study on the effects of dietary supplementation of brewers yeast and nucleotides, singularly or in combination, on juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture Research, 36:1120–1127.

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

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 and Shellfish Immunology, 16:561–569.

Loretz C.A. and Pollina C., 2000. Natriuretic peptides in fish physiology. Comparative Biochemistry Physiology, Part A, 125:169-187.

Martoja R. and Martoja–Pierson M., 1967. Initiation Aux Techniques de l histologe animale. Masson et Cie, Paris, 345P.

Ortega M.A., Gil A. and Sanchez-Pozo A., 1995. Maturation status of small intestine epithelium in rats deprived of dietary nucleotides. Life Science, 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*). Aquaculture, 108:97–110.

Stevens C.E., 1988. Comparative physiology of the vertebrate digestive system. Quarterly Journal of Experimental Physiology, 74.6:1123-1124.

Takashima F. and Hibiya T., 1995. An Atlas of Fish Histology. Normal and pathological features. 2nd ed. Kodansha Ltd, Tokyo, Japan.

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.

Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 10:497–503.

Veillette P.A. and Young G., 2005. Tissue culture of sockeye salmon intestine: Functional response of Na, K-ATPase to cortisol. Comparative and Evolutionary Physiology, 288:R1598-R1605.

Wilson R.W., Gilmour K.M., Henry R.P. and Wood Ch.M., 1996. Intestinal base excretion in the seawater- adapted rainbow trout: A role in acid-base balance? Journal of Experimental Biology, 199:2331–2343.

Effects of dietary nucleotide on structure of pyloric caeca in *Salmo trtta Caspious* Kessler, 1870

Olad S.; Khodabandeh S.*; Abedian A.M. and Mahmoudi N.

Surp78@yahoo.com

Faculty of Natural Resource and Marine Sciences, University of Tarbiat Modares,

P.O.Box:14155-356 Noor, Iran

Received: January 2009 Accepted: May 2010

Keywords: Nucleotide, Pyloric caeca, Absorption, Growth, *Salmo trutta caspius*

Abstract

To assess the effects of dietary nucleotide on structure of pyloric caeca in *Salmo trutta caspius*, 315 juvenile fish with average weight of 12.26g (average length 11.12cm) were fed with dietary nucleotide (NT) and a control diet for 8 weeks (0.25% NT, 0.5% NT and 0% as control). To investigate the changes of pyloric caeca structure, 6 fish specimens from each treatment fixed into Bouin solution for histological examinations. Then, the sample was placed in paraffin, and 4μm sections of samples were provided and after coloration were investigated for histological features. The investigation demonstrated that both NT-supplemented diets had significant effects ($P<0.05$) on thickness of enterocyte, villi length, number of enterocyte cell and thickness of pyloric caeca muscle. However, between the two treated groups, changes of enterocyte and sub mucosa, length and number of villi were non-significant ($P>0.05$). However, the group receiving 0.25% NT showed more positive effects on enterocyte cell number and thickness of muscle layer compared with those treated with 0.5% NT.

*Corresponding author