

## تأثیر نوکلئوتید در جیره بر برخی شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و برخی شاخص‌های استرس در ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)

هاشم خندان بارانی\* عبدالعلی راهداری نرجس سنجولی

گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون دانشگاه زابل، زابل - ایران

(دریافت مقاله: ۲۴ دی ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۱۰ اسفند ماه ۱۳۹۴)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** تأثیر نوکلئوتید خوراکی در بهبود شاخص‌های رشد، عملکرد غذایی و سیستم ایمنی در مهره‌داران و گونه‌هایی از ماهیان در مطالعات مختلف نشان داده شده است. هدف: تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر نوکلئوتید خوراکی بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و پاسخ به استرس حاد در بچه ماهیان سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) انجام گرفت. روش کار: تعداد ۱۲۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی  $7/58 \pm 0/5g$  با چهار جیره غذایی حاوی مقادیر مختلف نوکلئوتید (۰/۱۵٪، ۰/۲۵٪، ۰/۵۰٪) و صفر درصد به عنوان گروه شاهد به مدت ۸ هفته غذایی شدند. بچه ماهیان در چهار تیمار و سه تکرار به ازای هر تیمار، در ۱۲ مخزن،  $I = 300$  به طور تصادفی رهاسازی شدند و غذایی به مقدار روزانه ۳٪ وزن بدن در ۳ وعده انجام شد. در پایان دوره پرورش پارامترهای رشد اندازه‌گیری و نتایج ثبت گردید. همچنین به منظور آزمایش استرس تعدادی از ماهیان فوق تحت استرس حاد دمایی و pH قرار گرفتند و میزان کورتیزول و گلوکز آنها قبل و بعد از استرس اندازه‌گیری شد. نتایج: نتایج نشان داد که مکمل نوکلئوتید بر روی شاخص‌های رشد، ضریب تبدیل غذایی، نسبت بازده غذایی و بقا اثر معنی‌دار نداشت ( $p > 0/05$ ). در آنالیز تقریبی لاشه نیز اختلاف معنی‌داری از نظر خاکستر، رطوبت و پروتئین بین تیمارها مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ) و تنها محتوای چربی بین تیمارهای تغذیه شده با نوکلئوتید و گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داد ( $p < 0/05$ ). در آزمایشات استرس مشخص شد که پس از انجام استرس میزان کورتیزول و گلوکز به طور معنی‌داری نسبت به قبل استرس افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). در تیمارهای تغذیه شده با نوکلئوتید میزان کورتیزول به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ) و کمترین میزان کورتیزول در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵۰٪ نوکلئوتید مشاهده شد. نتیجه‌گیری نهایی: بنابراین ترکیب نوکلئوتیدی مورد استفاده در مطالعه حاضر موجب بهبود رشد در ماهی سفیدک نشد ولی توانست باعث بهبود پاسخ به استرس در این ماهی گردد.

**واژه‌های کلیدی:** استرس حاد، کورتیزول، گلوکز، نوکلئوتید، ماهی سفیدک سیستان

### مقدمه

نبوده و نوکلئوتید خارجی (اضافه شده به صورت مکمل به غذا) می‌تواند مفید باشد (۹،۳۲). مطالعات مختلفی اثر مثبت مکمل نوکلئوتید خوراکی را بر عملکرد بهتر سیستم ایمنی بدن، سلامت و بهبود رشد در جانوران و انسان گزارش کرده‌اند (۱۵،۱۶،۲۹،۳۰). اگر چه مطالعات اولیه در زمینه تأثیر نوکلئوتید خوراکی در ماهیان در مورد امکان تأثیر این مواد بعنوان جاذب غذا برای ماهیان متمرکز بوده‌اند ولی نتایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که این مکمل در ماهیان نیز می‌تواند همان اثرات سودمند در دیگر جانوران و انسان را داشته باشد. مطالعات متعدد صورت گرفته بر روی ماهیان نشان می‌دهند که مکمل نوکلئوتید در افزایش رشد ماهیان بعنوان مواد جاذب غذا، توسعه میکروفلور روده (۴) و سنتز اسیدهای آمینه غیر ضروری، در بهبود نتایج حاصله از مولدین (۲۲، ۲۰)، افزایش مقاومت به بیماری و تأثیر بر سطح کورتیزول (۸)، افزایش متابولیسم چربی (۱۳)، بهبود پاسخ‌های استرس، افزایش توانایی در تنظیم اسمزی، ضایعات کبدی و اصلاح عملکرد کبد (۱۳، ۱۴) و بیان ژن شاخص‌های ایمنی (۲۵) مؤثر است. در داخل کشور نیز نتایج مطالعات حاکی از اثر مثبت نوکلئوتید بر پارامترهای رشد ماهی هامور معمولی (۳۷) و تعدیل اثرات استرس در فیل ماهی می‌باشد (۳۶). اما این اثرات مثبت در همه ماهیان عمومیت ندارد به عنوان مثال مطالعه بر

امروزه افزایش جمعیت جهان و نیاز روز افزون به غذا (نیازهای پروتئینی)، صنعت آبی پروری را به صورت یک ضرورت نمودار ساخته است و بر این اساس کلیه روش‌ها و مطالعاتی که موجب افزایش تولید و کیفیت بهتر در این صنعت گردد مورد توجه است.

استفاده از مکمل‌های غذایی از جمله راهکارهایی است که علاوه بر تأمین مواد مغذی لازم در جهت حمایت از رشد و تکامل آبی می‌توانند در افزایش سلامت و مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا مفید واقع شوند. از جمله این مکمل‌ها، نوکلئوتیدها هستند. نوکلئوتید از ترکیبات بسیار مهم برای فعالیت‌های سلولی و متابولیسم هستند (۱۰). آنها ترکیبی با وزن مولکولی پایین هستند که از یک بنیان پورین یا پیریمیدین، یک قند ریبوز یا ۲-دی اکسی ریبوز و یک یا تعدادی گروه فسفات تشکیل شده‌اند (۲۰). این ترکیبات در ساخت اسیدهای نوکلئیک، DNA و RNA، تأمین انرژی متابولیک، ساخت آنزیم‌ها و پروتئین‌های مختلف نقش مهمی دارند (۹، ۱۰). نوکلئوتیدها از ترکیبات غیر ضروری بوده و پورین‌ها و پیریمیدین‌های ساخته شده از مسیر *de novo* یا *salvage* در شرایط معمولی برای فرد کافی هستند. اما در شرایط استرس‌زا تولید نوکلئوتید نرمال از دو مسیر فوق کافی



روی ماهی *Red drum* (*Sciaenops ocellatus*) (۲۳، ۱۰) و گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) (۳۵) حاکی از بی اثر بودن نوکلئوتید بر روی رشد این ماهیان می باشد. بنابراین اثر این ترکیب بسته به نوع گونه مورد مطالعه می تواند متفاوت باشد.

ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) جزء خانواده کپور ماهیان بوده و یکی از گونه های با ارزش بومی منطقه سیستان است که به علت از بین رفتن زیستگاه های این گونه (وجود خشک سالی های طولانی) از یک سو و صید بی رویه، احتمال آن می رود که این گونه با ارزش در خطر نابودی قرار گیرد. در حال حاضر اطلاعات کافی در مورد تأثیر مواد مغذی و مکمل های غذایی بر پاسخ های فیزیولوژیک استرس و شاخص های رشد در این گونه در دسترس نیست. بنابراین مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات احتمالی نوکلئوتید خوراکی بر برخی شاخص های رشد، ترکیب شیمیایی لاشه و پاسخ فیزیولوژیک به استرس در این ماهی انجام شد.

## مواد و روش کار

**آزمایش تغذیه:** تعداد ۱۲۰ قطعه بچه ماهی سفیدک سیستان با میانگین وزن اولیه  $0.58 \pm 0.07$ g از مرکز تکثیر ماهیان بومی زهک به آزمایشگاه پژوهشگاه تالاب بین المللی هامون منتقل شدند. بچه ماهیان در چهار تیمار و سه تکرار به ازای هر تیمار در مجموع در ۱۲ تانک ۳۰۰l و هر تانک شامل ۱۰ قطعه بچه ماهی به طور تصادفی رهاسازی شدند. سپس به مدت دو هفته با جیره کنترل به منظور سازگاری تغذیه شدند. سپس تغذیه با جیره های غذایی آزمایشی به مدت ۸ هفته انجام گرفت و بچه ماهیان به میزان روزانه  $3/4$ ٪ وزن بدن و سه بار در روز در ساعات ۸، ۱۳ و ۱۸ غذاهای شدند. سنجش پارامترهای فیزیوشیمیایی آب در طول دوره پرورش به صورت روزانه صورت گرفت. در طول این دوره میانگین دما، pH و اکسیژن محلول در آب به ترتیب  $1 \pm 21$ ،  $5 \pm 8$  و  $1 \pm 6$  mg/l حاصل شد. در پایان دوره پرورش همه ماهیان هر تیمار بیومتری شدند. به این منظور ۲۴ ساعت قبل از اندازه گیری تغذیه ماهیان قطع گردید و سپس ماهیان به وسیله اسانس گل میخک (با دوز ۵۰ ppm) بیهوش شدند و وزن آنها با دقت  $0.1$ g اندازه گیری و ثبت شد.

جیره غذایی مورد استفاده: در این تحقیق به منظور تهیه غذا با توجه به شباهت نوع تغذیه ماهی سفیدک با کپور ماهی معمولی (همه چیز خوری) از غذای پروراری کپور به عنوان جیره پایه استفاده گردید که درصد ترکیبات آن به شرح جدول ۱ می باشد و از مکمل نوکلئوتیدی OPTIMUN (Chemofarma, Augst Switzerland) که حاوی (CMP) adenosine 5-monophosphate disodium uridine 5-monophosphate disodium inosine 5-guanidine

**محاسبه شاخص های رشد و تغذیه:** شاخص های رشد و تغذیه شامل وزن نهایی، وزن کسب شده (WG)، افزایش رشد نسبی (WGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و نسبت بازده غذایی (FER) با استفاده از فرمول های استاندارد محاسبه شد.

$$WG = \text{وزن نهایی بدن (g)} - \text{وزن اولیه بدن (g)} \quad (37)$$

$$WGR = \text{وزن نهایی} \times 100 \div [\text{وزن اولیه (g)}] - \text{وزن اولیه (g)} \quad (15)$$

$$FCR = \text{میزان غذای مصرف شده (g)} / \text{میزان افزایش وزن (g)} \quad (37)$$

$$FER = \text{میزان افزایش وزن (g)} / \text{میزان غذای مصرفی (g)} \quad (11)$$

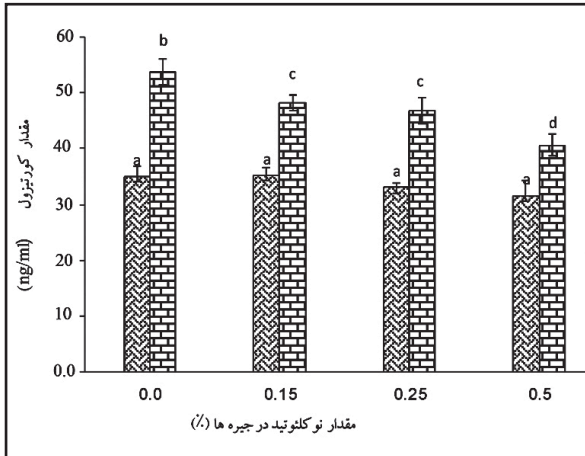
**پاسخ به استرس:** پس از پایان مرحله پرورش (آزمایش اول) به منظور بررسی تأثیر نوکلئوتید در پاسخ به شرایط نامساعد محیطی، دو محیط استرس زا برای دادن شوک و مشخص کردن پاسخ به استرس در بچه ماهیان آماده شدند که شامل استرس اسیدی (pH=5) (۱۱) و استرس دمایی ( $32^\circ\text{C}$ ) (۲) بوده و ماهیان به مدت یک ساعت (۱۷) در معرض عامل استرس زا قرار گرفتند. برای این منظور ابتدا از هر تیمار بطور تصادفی ۵ ماهی انتخاب و نمونه خون آنها گرفته شد (قبل از استرس). سپس باقیمانده ماهیان (۲۵ قطعه بچه ماهی در هر تیمار) به دو گروه مجزا تقسیم و هر گروه به طور جداگانه در معرض عامل استرس زا قرار گرفتند و پس از یک ساعت خون گیری به طور تصادفی از ۵ قطعه بچه ماهی انجام شد. سرم خون بلافاصله با قرار دادن نمونه های خون در دستگاه میکروسانتریفوژ جدا و در فریزر در دمای  $20^\circ\text{C}$  - نگهداری شدند.

تعیین مقدار کورتیزول: مقادیر هورمون کورتیزول با استفاده از دستگاه الایزایدر و کیت IBL، (Cortisol ELISA Germany) و بر حسب نانو گرم بر میلی لیتر و بر اساس دستور العمل کیت اندازه گیری شد. **تعیین مقدار گلوکز:** سنجش میزان گلوکز با روش آنزیماتیک انجام شد که به این منظور از دستگاه سلکترا (Selectra prom) و کیت سنجش گلوکز (Elitech, France) بر حسب میلی گرم در دسی لیتر و بر اساس دستور العمل کیت استفاده گردید.

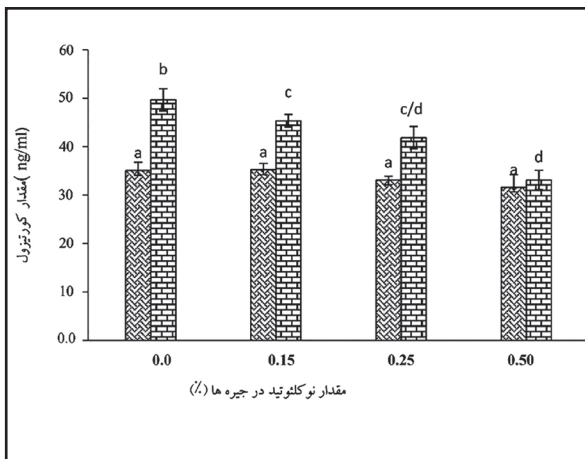
**آنالیزهای شیمیایی لاشه:** آنالیز شیمیایی لاشه ماهیان در پایان دوره آزمایش با استفاده از شیوه های استاندارد رایج (AOAC) انجام شد. سنجش مقادیر پروتئین خام به روش کلدال، چربی خام به روش سوکسله، رطوبت به روش خشک کردن در آن با دمای  $105^\circ\text{C}$  و خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی با دمای  $550^\circ\text{C}$  صورت گرفت.

**تجزیه و تحلیل آماری داده ها:** ابتدا همگن بودن داده ها با آزمون Smirnov Kolmogorov - بررسی شد و پس از اطمینان از همگن

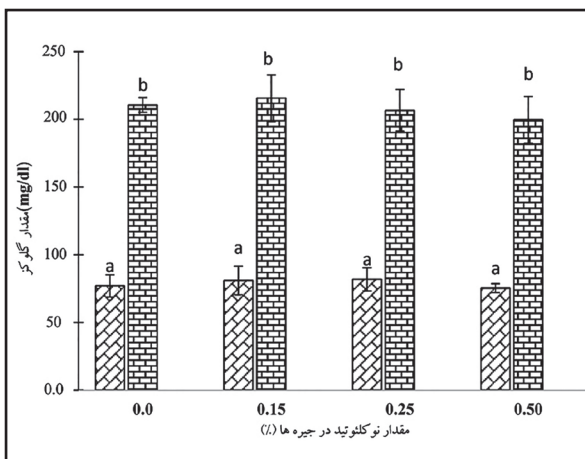




نمودار ۱. تغییرات میزان کورتیزول قبل و بعد از استرس حاد دمایی. بعد از استرس دمایی (■) بعد از استرس دمایی (□)



نمودار ۲. تغییرات میزان کورتیزول قبل و بعد از استرس حاد pH. بعد از استرس دمایی (■) بعد از استرس دمایی (□)



نمودار ۳. تغییرات میزان گلوکز قبل و بعد از استرس حاد دمایی. بعد از استرس دمایی (■) بعد از استرس دمایی (□)

و ۵۰٪ (۴۶/۵±۱۹۷ mg/dl) به دست آمد و پس از استرس تغییر pH بیشترین و کمترین مقدار گلوکز به ترتیب برای تیمارهای ۰/۱۵٪ و ۰/۵۰٪ (۴۲/۱۲±۹/۲۱۷) و (۰/۱۹±۱۹۵ mg/dl) حاصل شد.

بودن داده‌ها تجزیه و تحلیل با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه One Way ANOVA انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey و آزمون T-test برای مقایسه میانگین‌ها در هر تیمار به صورت جداگانه (قبل و بعد از استرس) در سطح ۵٪ استفاده گردید. برای انجام کلیه آنالیزهای آماری فوق از نرم افزار SPSS (۱۶) استفاده شد.

### نتایج

**شاخص‌های رشد:** مقایسه میانگین شاخص‌های رشد بچه ماهی سفیدک در تیمارهای مختلف نوکلئوتید در جدول ۲ آورده شده است. بر اساس این نتایج اگرچه بالاترین وزن متوسط نهایی و کسب شده در تیمار ۰/۵۰٪ مشاهده می‌شود ولی بین تیمارها از نظر وزن نهایی، وزن کسب شده (WG)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و نسبت بازده غذایی (FER) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). نرخ بقاء در کلیه بچه ماهیان تحت تیمار با سطوح مختلف نوکلئوتید در پایان هفته هشتم ۱۰۰٪ بدست آمد.

**آنالیز شیمیایی لاشه:** نتایج آنالیز لاشه بچه ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت نوکلئوتید در جدول ۳ نشان داده شده است. بین تیمارها هیچ تفاوت معنی‌داری از نظر درصد خاکستر، پروتئین و رطوبت مشاهده نشد ( $p > 0.05$ )، تنها تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها مربوط به چربی است ( $p < 0.05$ ) که کمترین مقدار آن در تیمار شاهد و بیشترین مقدار آن در تیمار تغذیه شده با ۰/۲۵٪ نوکلئوتید ثبت گردید.

**کورتیزول:** تغییرات میزان کورتیزول بین تیمارها، قبل و بعد از استرس حاد در نمودار ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که انجام آزمایشات استرس حاد دمایی و تغییر pH باعث افزایش معنی‌دار کورتیزول در همه تیمارها نسبت به قبل از استرس شده است ( $p < 0.05$ ). همچنین میزان کورتیزول در تیمارهای تغذیه شده با نوکلئوتید بعد از آزمایشات استرس به طور معنی‌داری کمتر از تیمار تغذیه شده با جیره پایه (تیمار شاهد) می‌باشد ( $p < 0.05$ ) به طوری که حداقل مقدار کورتیزول برای هر دو عامل استرس زا در تیمار ۰/۵۰٪ به ترتیب ۴۰/۶±۱/۱۵ ng/ml و ۳۲/۹±۱/۸ بدست آمد و حداکثر آن در تیمار شاهد به ترتیب ۵۳/۸±۱/۳۴ ng/ml و ۴۹/۷±۱/۲۸ حاصل شد.

**گلوکز:** نتایج تغییرات مقدار گلوکز در بین تیمارهای مختلف در شرایط قبل و بعد از استرس حاد دمایی و pH در نمودار ۳ و ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میزان کورتیزول قبل از استرس بین تیمارها تفاوت معنی‌دار ندارد ( $p > 0.05$ ) ولی اثر هر دو عامل استرس‌زا بر افزایش مقدار گلوکز معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ). همچنین با توجه به نتایج مشاهده شد که از نظر گلوکز بین تیمارهای تغذیه شده با نوکلئوتید بعد از انجام آزمایشات استرس تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. پس از تست استرس دمایی، بیشترین و کمترین مقدار گلوکز به ترتیب برای تیمارهای شاهد (۵۸/۹±۵/۲۲۴ mg/dl)

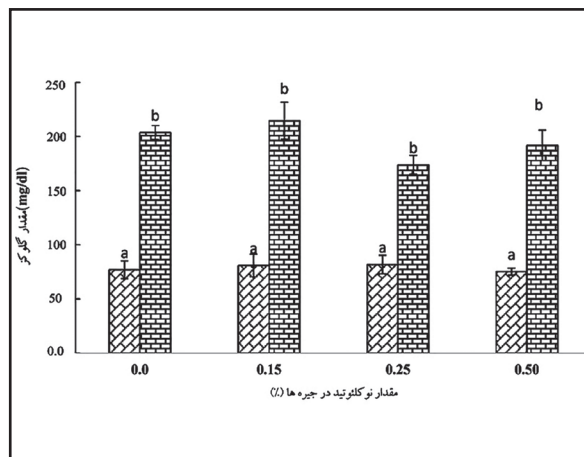


ندارد که با نتایج مطالعه Cheng و همکاران در سال ۲۰۱۱، Welker و همکاران در سال ۲۰۱۱ و Li و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطابقت دارد این در حالی است که برخی از مطالعات اثر معنی دار نوکلوتید بر ضریب تبدیل غذایی را گزارش کرده‌اند (۲۴،۳۴). بدست آمدن نتایج متناقض فوق می‌تواند به علت تأثیر گذاری عوامل مختلفی از قبیل نوع و سن گونه، میزان و ترکیب نوکلوتید تجاری مورد استفاده در جیره باشد (۳۳،۳۵).

ترکیب شیمیایی بدن ماهی همواره ارتباط بسیار نزدیکی به ترکیبات جیره غذایی، درصد و مقدار غذاهای روزانه دارد (۳۱). در مطالعه حاضر بین تیمارها از نظر رطوبت، خاکستر و پروتئین تفاوت معنی دار مشاهده نشد. اما از نظر چربی تفاوت بین گروه‌های تغذیه شده با مکمل نوکلوتید نسبت به گروه شاهد معنی دار است که این نتایج با مطالعه Abdi و همکاران در سال ۲۰۰۹ همخوانی دارد. Li و همکاران در سال ۲۰۰۵ نیز در مطالعه خود مشاهده کردند که میزان چربی کل بدن در ماهیان Red drum تغذیه شده با مکمل نوکلوتید تفاوت معنی داری با گروه تغذیه شده با جیره بدون مکمل دارد که مطابق با مطالعه حاضر است. اما در هیپرید باس راه اثر معنی دار این مکمل بر ترکیب لاشه مشاهده نشد همچنین Salimi Khorshidi و همکاران در سال ۲۰۱۲ در مطالعه خود گزارش کردند که مکمل نوکلوتید در ماهی قزل آلی رنگین کمان انگشت قد باعث افزایش پروتئین و کاهش چربی لاشه شده است. این نتایج متناقض احتمالاً نتیجه تفاوت‌های فردی از لحاظ اندازه و ژنتیک ماهیان می‌باشد (۲۲).

استرس یکی از چالش‌های موجود در فرآیند آبی پروری است. ماهیان در محیط طبیعی و پرورشی مکرراً در معرض عوامل استرس‌زا قرار دارند (۶). تقریباً تمام فاکتورهای زیست محیطی از قبیل دمای سازگاری، شوری و pH به عنوان یک عامل استرس‌زا مطرح می‌باشند و جانور به سرعت به این عوامل استرس‌زا پاسخ می‌دهد (۱۲).

در مطالعه حاضر مقدار کورتیزول پلاسما به طور معنی داری پس از قرارگیری در معرض استرس حاد دما و pH افزایش یافته است که این تغییرات میزان کورتیزول می‌تواند نشان دهنده نقش این هورمون در فرآیند متابولیسم انرژی باشد. Bianca در سال ۲۰۰۹ نشان داد که میزان کورتیزول پس از قرارگیری در معرض استرس حاد به سرعت افزایش می‌یابد که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. مقایسه مقدار کورتیزول بین تیمارها بعد از استرس (دما و pH) نشان می‌دهد که مقدار کورتیزول در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف نوکلوتید به طور معنی داری پایین تر از تیمار تغذیه شده با جیره پایه هستند و کمترین مقدار کورتیزول در تیمار ۵۰٪ حاصل شده است. این نتایج می‌تواند نشان دهنده اثر مثبت نوکلوتید خوراکی در تعدیل اثرات استرس در ماهی سفیدک سیستان باشد. در این رابطه این فرضیه وجود دارد که نوکلوتید خارجی اضافه شده به غذا احتمالاً میزان ذخیره مناسبی را در زمان نیاز متابولیک بالاتر برای ماهی فراهم می‌کند (۲۲،۳۵). Yousefi و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز در تحقیق



نمودار ۴. تغییرات میزان گلوکز قبل و بعد از استرس حاد pH.

قبل از استرس (■) بعد از استرس دمایی (▨)

جدول ۱. ترکیب تقریبی جیره پایه.

درصد	نوع ترکیبات
۳۶	پروتئین
۱۱	چربی
۳۳	کربوهیدرات
۸/۵۵	رطوبت
۸	خاکستر
۳	فیبر

## بحث

مطالعه حاضر جهت بررسی اثر نوکلوتید خوراکی بر برخی شاخص‌های رشد، ترکیب شیمیایی لاشه و تغییرات میزان کورتیزول و گلوکز ناشی از استرس در ماهی سفیدک سیستان انجام شد. مطالعات اثرات مفید نوکلوتید خوراکی را بر روی چندین گونه مختلف ماهی از جمله قزل آلی رنگین کمان و ماهی آزاد اقیانوس آرام پس از ۸ هفته گزارش کرده‌اند. نوکلوتید خوراکی در این ماهیان باعث بهبود رشد، افزایش مقاومت در برابر بیماریها و افزایش قدرت پاسخ ایمنی شده است (۸،۳۴). ولی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پس از ۸ هفته مکمل نوکلوتید در سطوح مختلف نتوانست باعث افزایش معنی داری در وزن نهایی و کسب شده در تیمارهای تغذیه شده با نوکلوتید نسبت به گروه شاهد شود که این امر ممکن است مربوط به میزان نوکلوتید موجود در جیره، مدت زمان تغذیه و یا ترکیب مکمل نوکلوتیدی مورد استفاده در این تحقیق باشد. مشابه نتایج این مطالعه، Abdi و همکاران در سال ۲۰۰۹ نیز گزارش کردند که مکمل نوکلوتید در ماهی کپور معمولی نتوانست باعث افزایش وزن معنی دار شود. همچنین، نتایج مشابهی در مورد ماهی Red drum و گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) گزارش شده است که دلیل این امر ترکیب جیره پایه مورد استفاده بیان شده است (۳۳،۳۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ۸ هفته تغذیه با جیره حاوی نوکلوتید اثر معنی داری بر ضریب تبدیل غذایی در مورد ماهی سفیدک سیستان



جدول ۲. عملکرد رشد و بقا (SE  $\pm$  میانگین) بچه ماهی سفیدک تغذیه شده با سطوح متفاوت نوکلئوتید در پایان هفته هشتم. بین تیمارهای تفاوت معنی دار مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

مقدار نوکلئوتید (%)	وزن اولیه (g)	وزن نهایی (g)	FCR	WG	WGR	FER	درصد بقا
۰	۷/۴۹ $\pm$ ۰/۰۷	۲۴/۴۹ $\pm$ ۰/۱۰	۴۰/۱ $\pm$ ۰/۹۶/۳	۲۷/۱ $\pm$ ۰/۴۷/۳	۸/۲ $\pm$ ۰/۲۶/۴۶	۰/۲۵ $\pm$ ۰/۰۲	۱۰۰
۰/۱۵	۷/۵ $\pm$ ۰/۰۶	۱۶/۱ $\pm$ ۰/۰۶/۱۰	۳۲/۱ $\pm$ ۰/۴۷/۴	۱۲/۱ $\pm$ ۰/۰۹/۳	۶۶/۱ $\pm$ ۰/۱۹/۴۱	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۱	۱۰۰
۰/۲۵	۷/۶ $\pm$ ۰/۰۱۲	۲۷/۱ $\pm$ ۰/۰۷/۱۰	۱۷/۱ $\pm$ ۰/۳۶/۴	۱۶/۱ $\pm$ ۰/۱۴/۳	۲۷/۲ $\pm$ ۰/۵۷/۴۱	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۱	۱۰۰
۰/۵۰	۷/۶۸ $\pm$ ۰/۰۱۱	۱۶/۱ $\pm$ ۰/۳۴/۱۱	۳۸/۱ $\pm$ ۰/۸۴/۳	۱۲/۱ $\pm$ ۰/۶۶/۳	۶۶/۱ $\pm$ ۰/۱۹/۴۶	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۰۴	۱۰۰

جدول ۳. ترکیبات شیمیایی لاشه (میانگین  $\pm$  SE) بچه ماهی سفیدک تغذیه شده با سطوح متفاوت نوکلئوتید در پایان هفته هشتم. حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها است ( $p < 0.05$ ).

مقدار نوکلئوتید (%)	خاکستر (%)	پروتئین (%)	چربی (%)	رطوبت (%)
۰	۴۲/۱ $\pm$ ۰/۲۷/۷	۲۲/۱ $\pm$ ۰/۴۸/۵۹	۱۱۵/۱ $\pm$ ۰/۲۲/۱۴	۳۷/۱ $\pm$ ۰/۷۸/۷۱
۰/۱۵	۰/۳/۱ $\pm$ ۰/۳/۸	۰/۶۶ $\pm$ ۰/۸/۰/۶۱	۲۹/۱ $\pm$ ۰/۸/۱۸ <sup>b</sup>	۴۲/۱ $\pm$ ۰/۸/۷۱
۰/۲۵	۷۲/۱ $\pm$ ۰/۲۴/۸	۹۵/۱ $\pm$ ۰/۱۵/۵۸	۴۹/۱ $\pm$ ۰/۳۵/۱۹ <sup>b</sup>	۴۰/۱ $\pm$ ۰/۴۳/۷۱
۰/۵۰	۰/۶/۱ $\pm$ ۰/۵۷/۸	۱۷/۱ $\pm$ ۰/۹۵/۶۰	۴۸/۱ $\pm$ ۰/۹۱/۱۷ <sup>b</sup>	۸۴/۱ $\pm$ ۰/۵۷/۷۰

بازماندگی و نیز کمک به رشد می شود. بنابراین اثر افزودن مکمل نوکلئوتید به جیره بچه ماهیان سفیدک سیستان به طور مستقیم کاهش استرس و افزایش بازماندگی و به طور غیر مستقیم تأثیر بر رشد می باشد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از ریاست محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی و بومی زهک جناب آقای مهندس تقی نجفی و همکارانشان به خاطر همکاری در تأمین بچه ماهی تشکر می کنند همچنین از آقای دکتر نعمت‌اله محمودی، مهندس خسروانی زاده و مهندس امیری که با این طرح همکاری صمیمانه داشتند، تقدیر و تشکر می شود.

### References

- Abdi, H., Mahmoodi, N., Flahtkar, B. (2009) Effects of dietary nucleotides on some growth and carcass composition of common carp (*Cyprinus carpio*). Marine Sci Technol. 8: 23-31.
- Ahmad, S.M., Shah, F.A., Bhat, F.A., Bhat, J.I.A., Balkhi, M.H. (2011) Thermal adaptability and disease association in common carp (*Cyprinus carpio communis*) acclimated to different (four) temperatures. Thermal Biology. 36: 492-497.
- AOAC. (2005) Official methods of analysis. (18<sup>th</sup> ed.) Association of Official Analytical chemist International. Maryland, USA.
- Andrés-Elias, N., Pujols, J., Badiola, I. Torrallardona, D. (2007) Effect of nucleotides and carob pulp on gut health and performance of weanling piglets. Liv Sci. 108: 274-277.

خود نشان دادند که نوکلئوتید خوراکی تأثیر مثبتی بر پاسخ به استرس (کاهش ترشح کورتیزول) دارد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. همچنین Leonardi و همکاران در سال ۲۰۰۳ با بررسی بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و Mishra و Hertrampf در سال ۲۰۰۶ در ارتباط با میگوی ببری سیاه نیز اثر مثبت مکمل نوکلئوتید را گزارش کردند. این در حالی است که Li و همکاران در سال ۲۰۰۵ با مطالعه اثر نوکلئوتید در پاسخ به استرس بر روی بچه ماهی شوریده (*Sciaenops ocellatus*) نشان دادند که این مکمل غذایی نقش مؤثری در پاسخ به استرس در این ماهی ندارد. Ortuno و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که میزان تغییرات کورتیزول بسته به نوع گونه، تغذیه، شرایط تولید مثلی و عوامل استرس زای مختلف متفاوت است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان گلوکز پلاسما در اثر هر دو عامل استرس‌زا به طور معنی داری افزایش یافته است که این امر ممکن است در نتیجه افزایش کورتیزول و کاتکولامین‌ها (هورمون‌های اصلی کنترل کننده متابولیسم کربوهیدرات‌ها) باشد. Pickering و همکاران در سال ۱۹۸۲ نشان دادند که در شرایط استرس‌زا میزان کاتکولامین‌ها افزایش یافته که ترشح انسولین را تحریک می کنند و ترشح انسولین افزایش گلوکز پلاسما را به دنبال دارد. همچنین در این مطالعه مشخص شد که در تیمارهای مختلف در شرایط استرس‌زا تغییر در میزان گلوکز معنی دار نمی باشد. نتیجه مشابهی نیز در مطالعه Yousefi و همکاران در سال ۲۰۱۰ و Barton و همکاران در سال ۱۹۹۸ حاصل شده است.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که نوکلئوتید در سطوح مختلف نقش مثبت و مؤثری در جلوگیری از بروز پاسخ اولیه (ترشح کورتیزول) ناشی از استرس حاد در بچه ماهی سفیدک سیستان دارد که بیشترین اثر در سطح ۰/۵۰٪ مشاهده شد، بنابراین علی رغم این که نوکلئوتید مورد استفاده در مطالعه حاضر موجب بهبود رشد در ماهی سفیدک نشده ولی می تواند باعث بهبود پاسخ به استرس در این ماهی گردد که در فعالیتهای آبی پروری اثر بسیار مثبتی می باشد زیرا باعث مقاومت نسبت به بیماریها، افزایش



5. Barton, B.A., Rahn, A.B., Feist, G., Bolling, H., Schreck, C.B. (1998) Physiological stress responses of freshwater chondrostean paddlefish (*Polyodon spathula*) to acute physical disturbances. *Comp Biochem Physiol.* 120: 355-363.
6. Bayunova, L., Barannikova, I., Semenkova, T. (2002) Sturgeon stress reactions in aquaculture. *Appl Ichthyol.* 18: 397-404.
7. Bianca, M.P. (2009) Farmed fish welfare-suffering assessment and impact on product quality. *Anim Sci.* 8: 139-160.
8. Burrells, C., Williams, P.D., Southgate, P.J., Wadsworth, S.L. (2001) Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rates and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture.* 199: 171-184.
9. Carver, J.D., Walker, W.A. (1995) The role of nucleotides in human nutrition. *Nutr Biochem.* 6:58-72.
10. Cheng, Z., Buentello, A., Gatlin, D.M. (2011) Dietary nucleotides influence immune responses and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Fish Shell Immunol.* 30: 143-147.
11. Das, P.C., Ayyappan, S., Jena, J. (2006) Hematological changes in the three Indian major carps, *Catla catla* (Hamilton), *Labeo rohita* (Hamilton) and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) exposed to acidic and alkaline water pH. *Aquaculture.* 235: 633-644.
12. Davis, K.B. Parker, N.C. (1990) Physiological stress in striped bass: Effect of acclimation temperature. *Aquaculture.* 91: 349-358.
13. Fontana, L., Moreira, E., Torres, M.I., Fernandez, I., Rios, A., Medina, F.S., Gil, A. (1998) Dietary nucleotides correct plasma and liver microsomal fatty acid alterations in rats with liver cirrhosis induced by oral intake of thioacetamide. *J Hepatol.* 28: 662-669.
14. Frankic, T., Pajk, T., Rezar, V., Levart, A., Salobir, J. (2006) The role of dietary innucleotides reduction of DNA damage induced by T-2 toxin and deoxynivalenol in chicken leukocytes. *Food Chem Toxicol.* 44: 1838-1844.
15. Grimble, G.K., Westwood, O.M.R. (2000) Nucleotides as immunomodulators in clinical nutrition. *Curr Opin Clin Nutr.* 4: 57- 64.
16. Holen, E., Bjørge, O.A., Jonsson, R. (2006) Dietary nucleotides and human immune cells. II. Modulation of PBMC growth and cytokine secretion. *J Nutr.* 22: 90- 96.
17. Iwama, G.K., Afonso, L.O.B., Vijayan, M.M. (2006) Stress in fishes. In: *The Physiology of fishes.* Evans, D.H., Claiborne, J.B. (eds.). (3<sup>rd</sup> ed.) Taylor and Francis. Florida, USA. p. 319-342.
18. Leonardi, M., Sandino, A.M., 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*). *Bull Eur Assoc Fish Pathol.* 23: 52-59.
19. Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M. (2005) *Principles of Biochemistry.* (4<sup>th</sup> ed.) W.H. Freeman. New York, USA.
20. Li, P., Lewis, D.H., Gatlin, D.M. (2004) Dietary oligonucleotides from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Fish Shell Immunol.* 16: 561-569.
21. Li, P., Burr, G.S., Goff, J., Whiteman, K.W., Davis, K.B., Vega, R. R., Neill, W.H., Gatlin, D.M. (2005) A preliminary study on the effects of dietary supplementation of brewer's yeast and nucleotides, singularly or in combination, on juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquacult Res.* 36: 1120-1127.
22. Li, P., Gatlin, D.M. (2006) Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. *Aquaculture.* 251: 141-152.
23. Li, P., Gatlin, D.M., Neill, W.H. (2007) Dietary supplementation of a purified nucleotide mixture transiently enhanced growth and feed utilization of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *J World Aquacult Soc.* 38: 281-286.
24. Lin, Y.H., Wang, H., Shiau, S.Y. (2009) Dietary nucleotide supplementation enhances growth and immune responses of grouper, *Epinephelus*



- malabaricus . Aquacult Nutr. 15: 117-122.
25. Low, C., Wadsworth, S., Burrells, C., Secombes, C.J. (2003) Expression of immune genes in turbot, *Scophthalmus maximus*, fed a nucleotide-supplemented diet. Aquaculture. 221: 23- 40.
  26. Mishra, S.K., Hertrampf, J.W. (2006) Nucleotide: The performance promoter. Aqua Asia Pac. 3: 32-33.
  27. Ortuno, J., Angeles Esteban, M., Meseguer, J. (2002) Lack of effect of combining different stressors on innate immune responses of sea bream (*Sparus aurata* L.). J Vet Immunol Immunopathol. 84: 17-27.
  28. Pickering, A.D., Pottinger, T.G., Christie, P. (1982) Recovery of the brown trout. *Salmo trutta* from acute handling stress: a time-course study. Fish Biol. 20: 229-244.
  29. Pickering, L.K., Granoff, D.M., Erickson, J.R., Masor, M.L., Cordle, C.T., Schaller, J.P., Winship, T.R., Paule, C.L., Hilty, M.D. (1998) Modulation of the immune system by human milk and infant formula containing nucleotides. J Peds. 101: 242-249.
  30. Pirgozliev, V., Acamovic, T., Bedford, M.R. (2009) The effect of supplemental dietary nucleotides when fed to young chickens on performance and nutrient utilization. Brit Poultry. 5: 21-22.
  31. Razavi Shirazi, H. (2001) Marine Products Technology. (1<sup>th</sup> ed.). Naghshe Mehr. Tehran, IRI. 292p.
  32. Rudolph, F.B. (1994) Dietary nucleotides: a recently demonstrated requirement for cellular development and immune function. J Nutr. 124: 1431-1432.
  33. Salimi Khorshidi, N., Keyvanshokoh, S., Salati, A., Zakeri, M., Mahmoudi, N., Tahmasebi-Kohyani, A. (2012) Effects of Dietary Nucleotide Levels on Body Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fingerlings. J Ocean. 3: 41-46.
  34. Tahmasebi-Kohyani, A., Keyvanshokoh, S., Nematollahi, A., Mahmoudi, N., Pasha-Zanoosi, H. (2011) Dietary administration of nucleotides to enhance growth, humoral immune responses, and disease resistance of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Fish Shell Immunol. 30: 189-193.
  35. Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Kleisius, P.H. (2011) Effects of dietary supplementation of a purified nucleotide mixture on immune function and disease and stress resistance in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquacult Res. 42: 1878-1889.
  36. Yousefi, M., Abtahi, B., Abedian kenari, A. (2010) Effects of captivity and handling stresses on cortisol and glucose levels in giant sturgeon juveniles fed with nucleotide contained diet. Iranian J Fish Sci. 63: 147-159.
  37. Zariffard, E., Bahmani, M., Khodadadi, M., Mahmoudi, N., Dashtizadeh, M., Oujifard, A. (2010) Effects of dietary nucleotide on growth performance and body composition of epinephelus coioides. Iranian J Fish Sci. 4: 1-8.



## Effect of dietary nucleotides on some growth parameters, carcass composition and some stress indices in Snow trout (*Schizothorax zarudnyi*)

Khandan Barani, H.\* , Rahdari, A., Sanchooli, N.

Department of Fisheries, International Hamoon Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol-Iran

(Received 14 January 2016, Accepted 29 February 2016)

### Abstract:

**BACKGROUND:** Dietary nucleotide has been shown to improve growth indices, nutritional function and higher vertebrates in fish. **OBJECTIVES:** We investigated the effect of different levels of dietary nucleotide on growth parameters, whole-body composition and fluctuations of cortisol and glucose due to acute stress in Snow trout (*Schizothorax zarudnyi*). **METHODS:** One-hundred-twenty Snow trout fingerlings with average weight  $7.58 \pm 0.05$ g, were fed with four levels of dietary nucleotides including 0 (control), 0.15, 0.25, and 0.5 percent for 8 weeks. Ten fingerlings were stocked into each 300l tank with triplicate in four treatments and fed three times daily at 3-5% body weight rate. At the end of feeding trial, weight gain, Weight gain rate, feed efficiency, Food efficiency ratio and survival were computed. Also, the numbers of fish that were exposed to acute stress (temperature and pH). **RESULTS:** The results showed that none of the nucleotide-supplemented diets had any significant effect on growth indices ( $p > 0.05$ ). None of the dietary treatments resulted in any significant changes to dry matter, ash and protein. The only significant difference was observed in the fat ( $p > 0.05$ ). The fish fed 0.25% nucleotide showed higher whole lipid compared to other dietary treatments. Stress test results showed no significant difference at the beginning of the experiment, whereas after, acute stress cortisol levels were significantly higher in trials. The lowest response was observed in trial with 0.50% nucleotide and the highest was in control groups. Glucose levels were not significantly different, neither before nor after acute stress. **CONCLUSIONS:** The nucleotide composition used in the present study failed to provide significant effects on growth of Snow trout juveniles but could improve response to acute stress.

**Keyword:** acute stress, cortisol, glucose, nucleotide, *Schizothorax zarudnyi*

### Figure Legends and Table Captions

**Graph 1.** Changes plasma cortisol levels of snow trout fed diets containing different levels of nucleotide further acute thermal stress. Different superscripts on each column indicate significant between treatments ( $p < 0.05$ ).

**Graph 2.** Changes plasma cortisol levels (means  $\pm$  S.E.) of snow trout fed diets containing different levels of nucleotide further acute acid stress. Different superscripts on each column indicate significant between treatments ( $p < 0.05$ ).

**Graph 3.** Changes plasma glucose levels (means  $\pm$  S.E.) of snow trout fed diets containing different levels of nucleotide further acute thermal stress. Different superscripts on each column indicate significant between treatments ( $p < 0.05$ ).

**Graph 4.** Changes plasma glucose levels (means  $\pm$  S.E.) of snow trout fed diets containing different levels of nucleotide further acute acid stress. Different superscripts on each column indicate significant between treatments ( $p < 0.05$ ).

**Table 1.** Proximate composition of basal diet.

**Table 2.** Growth performance and survival (means  $\pm$  S.E.) of snow trout fed diets containing different levels of nucleotide for 8 weeks. No significant differences were observed between treatments ( $p > 0.05$ )

**Table 3.** Carcass composition of snow trout fed diets containing different levels of nucleotide for 8 weeks. Different superscripts on each column indicate significant between treatments ( $p < 0.05$ ).

\*Corresponding author's email: hashem.barani@uoz.ac.ir, Tel: 0542-2251521, Fax: 0542-2251521

