مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۷، شماره ۱، ۱۴۰۱، ۴۵-۳۷
مقاله پژوهشی

اثرات تغذیه با سطوح مختلف مکمل نوکلئوتید جیره در بچه ماهیان سفید دریای خزر بر عملکرد رشد، بیان پروتئین شوک حرارتی HSP70 و مقاومت به استرس شوری

حسین انوری‌فر[۱،۳]، عبدالصمد کرامت[۲]، حسین اورجی[۲]، حامد پاک‌نژاد[۴]

[۱] دانش آموخته دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
[۲] گروه شیلات و علوم دام، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
[۳] دانشگاه جامع علمی-کاربردی، واحد استانی گلستان، گرگان، ایران
[۴] گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۲۰. آذر ماه ۱۴۰۰، **تاریخ پذیرش:** ۱ اسفند ماه ۱۴۰۰

10.22059/jvr.2019.245746.2724 20.1001.1.20082525.1401.77.1.5.0

چکیده

زمینهٔ مطالعه: نوکلئوتیدها مواد مغذی نیمه‌ضروری یا بسته به شرایط ضروری بوده که ممکن است در شرایط خاصی مانند دوره‌های رشد سریع یا شرایط استرسی و یا در برخی بافت‌ها ضروری محسوب شوند.

هدف: ارزیابی اثرات تغذیه‌ای مکمل غذایی نوکلئوتید بر عملکرد رشد و مقاومت به استرس بچه‌ماهیان نورس ماهی سفید (*Rutilus kutum*).

روش‌کار: یک جیره پایه، چهار سطح صفر (کنترل)، ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ گرم در کیلوگرم جیره، مکمل غذایی نوکلئوتید افزوده شد تا مطالعه حاضر در ۴ تیمار و ۳ تکرار صورت پذیرد. پس از ۸ هفته (پایان دوره تغذیه)، پارامترهای رشد ارزیابی و ماهیان در معرض استرس شوری ۱۵ ppt قرار گرفتند و میزان کورتیزول و بیان HSP70 در ساعت‌های صفر (قبل از استرس)، ۲، ۸ و ۲۴ ساعت پس از استرس اسمزی اندازه‌گیری شدند.

نتایج: پارامترهای رشد نشان دادند ماهیانی که با جیره ۰/۷ NT kg^{-1} تغذیه شده بودند بیشترین میزان وزن نهایی و DGR را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند ($P<۰/۰۵$) با این وجود هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در فاکتورهای FCR، SGR، CF و PER در بین تیمارها مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). نتایج شاخص‌های استرسی نشان دادند این فاکتورها متأثر از سطوح نوکلوتید جیره بوده به‌طوری‌که ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی مکمل نوکلئوتید سطوح بیشتری از پروتئین شوک حرارتی HSP70 و سطوح کمتری از کورتیزول را در مقایسه با گروه کنترل دارا شدند. در مطالعه حاضر سطوح بیان HSP70 ۲ ساعت پس از استرس به حدود ۷-۳ برابر سطح پایه رسیده و در طی ۲۴ ساعت کاهش یافت ولی با این وجود در ساعت ۲۴ به ۳-۱ برابر سطح پایه رسید. نتایج کورتیزول نیز نشان داد سطوح این فاکتور در ساعت ۲ به بیشترین سطح خود رسید، در ساعت ۸ شروع به کاهش و در ساعت ۲۴ به سطوح قبل از استرس خود باز می‌گشت.

نتیجه‌گیری نهایی: در مجموع بکارگیری مکمل نوکلئوتید در جیره سبب ارتقاء رشد در بچه ماهیان سفید نورس و نیز افزایش مقاومت بچه ماهیان در مقابل شوک شوری شده است.

کلمات کلیدی: مکمل نوکلوتید، پروتئین شوک حرارتی HSP70، شوک شوری، ماهی سفید، پاسخ‌های استرسی

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: عبدالصمد کرامت، گروه شیلات و علوم دام، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
پست الکترونیکی: amirkola@gmail.com

مقدمه

ماهی سفید، *Rutilus kutum* (Kamenskii,1901)، یکی از با ارزش‌ترین ماهیان تجاری ایران بوده که در سرتاسر سواحل ایران و نیز در قسمت شمالی دریای خزر به ویژه در رودخانه‌های ولگا و اورال پراکنش دارد ولی به طور عمده در سواحل جنوبی دریای خزر بین رودخانه کورا تا گمیشان پراکنده بوده و در مجموع ۹۰ درصد ذخایر آن بومی آب‌های ایران است (۱).

سازمان شیلات ایران سالانه به‌طور میانگین حدود ۲۰۰ میلیون بچه لارو از طریق تکثیر مصنوعی تولید و رهاسازی می‌نماید ولی با وجود روند افزایشی تکثیر و رهاسازی، ضریب بازگشت شیلاتی این ماهی روند معکوس داشته است (۲). یکی از راهکارهای احیاء ذخایر ماهی سفید، تولید بچه ماهیان مقاوم‌تر و درشت‌تر است که برای این منظور یکی از روش‌های متداول استفاده از مکمل‌های غذایی است (۳). یکی از مکمل‌هایی که امروزه به دلایل مختلف در آبزی‌پروری و در مطالعه حاضر استفاده می‌شود نوکلئوتیدها می‌باشند (۴). امروزه استفاده از مکمل نوکلئوتید در جیره‌های آبزیان به دلیل تقویت سیستم ایمنی، افزایش سطح جذب در روده، مؤثر بودن در رشد، شرکت در پاسخ‌های استرسی و افزایش ظرفیت تنظیم اسمزی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۵). با وجود این‌که اغلب بافت‌ها توانایی سنتز نوکلئوتید را از طریق مسیرهای از نو (de novo pathway) دارند ولی سلول‌های مهم دستگاه ایمنی نظیر لنفوسیت‌ها، گلبول‌های قرمز، سلول‌های خون‌ساز و سلول‌های موکوسی روده با توجه به متابولیسم سلولی و حجم زیاد واکنش‌های سریع و همچنین نیاز فراوان آن‌ها به نوکلئوتید، فاقد این توانایی بوده و در نتیجه تهیه نوکلئوتید از منبع خارجی برای انجام وظایف این سلول‌ها حیاتی است (۶). با این وجود حتی در سلول‌هایی که قادر هستند خودشان به اندازه کافی مولکول‌های لازم برای ساخت DNA و RNA به منظور تقسیم سلولی را تولید نمایند، نیاز به سطح زیادی از انرژی داشته اما با فراهم کردن نوکلئوتیدها برای این فرایندها، ضمن افزایش سرعت تولید به ویژه در زمان استرس، نیاز به انرژی کم می‌شود. بنابراین نیاز به وجود نوکلئوتید در جیره آبزیان حتی در صورت سنتز بافتی به خوبی احساس می‌شود (۷).

در هنگام رهاسازی ماهیان از آب شیرین به آب دریا، تغییر در شوری سبب ایجاد استرس اسمزی بر ماهی شده و در نتیجه مکانیسم‌های تنظیم یون سلولی به‌طور مخالف و معکوس عمل می‌کند که در نتیجه این تغییرات ساختار پروتئینی سلول‌ها تغییر پیدا می‌کند (۸). زمانی که فرایندهای نرمال سلولی به صورت معکوس عمل می‌کنند مجموعه‌ای از پروتئین‌های متعلق به خانواده پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) سریعاً ساخته می‌شود (۹). پروتئین‌های شوک حرارتی خانواده‌ای از پروتئین‌های به شدت حفاظت شده‌ای هستند که در پاسخ‌های استرسی و در طی فرایندهای بیولوژیکی تولید می‌گردند که سبب تاخوردگی مجدد، گردهم‌آیی مجدد و بازیابی شکل خارجی یا ظاهری پروتئین می‌گردند (۱۰). سلول‌هایی که تحت استرس قرار می‌گیرند به کمک القای پروتئین‌های شوک حرارتی یا بر استرس وارد شده غلبه کرده و زنده می‌مانند و یا تسلیم شده و دچار مرگ می‌گردند. بنابراین موجودات زنده در شرایط مختلف محیطی استراتژی‌های خود را توسعه داده تا بتوانند بقای خود در شیبی بین هموستازی تا مرگ را حفظ نمایند (۱۱).

در مطالعه حاضر ابتدا بچه ماهیان سفید که تازه شروع به تغذیه خارجی نموده‌اند را با سطوح مختلف مکمل نوکلئوتید تغذیه نموده و سپس در معرض شوک شوری قرار می‌گیرند. با توجه به این مسائل، ضرورت انجام مطالعه حاضر در زمینه‌های مختلف به‌خصوص تغذیه با مکمل غذایی، سیستم تنظیم اسمزی، سطح پروتئین‌های شوک حرارتی در ماهی سفید به ویژه در زمان رهاسازی نمایان می‌شود. علاوه بر این موارد تاکنون هیچ مطالعه‌ای در زمینه اثر مکمل‌های غذایی بر بیان HSPs در زمان استرس شوری صورت نگرفته است. لذا هدف از مطالعه حاضر پاسخ به این سوالات است: الف) آیا مکمل نوکلئوتید ضمن افزایش نرخ بازماندگی، می‌تواند سبب تولید بچه ماهیان مقاوم‌تر به هنگام مقابله با استرس شوری شود؟ ب) آیا استفاده از مکمل نوکلئوتید موجب می‌شود تا پس از بکارگیری شوک شوری میزان بیان HSP70 افزایش و شاخص‌های استرسی بیوشیمیایی سرم خون مانند کورتیزول کاهش یابد؟

مواد و روش‌کار

تهیه ماهی، شرایط پرورشی و نحوه تیماربندی: تعداد ۳۰۰۰ بچه‌ماهی نورس ماهی سفید از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری واقع در استان مازندران در اردیبهشت سال ۱۳۹۵ تهیه شد. میانگین وزن و طول اولیه آن‌ها در هنگام صید ۰/۰۵ گرم و ۲۰/۳۷ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. از تانک‌های پلاستیکی ۱۰۰ لیتری (که همگی دارای شکل، رنگ و اندازه مشابه بودند) با تراکم ۲۵۰ قطعه ماهی در هر تانک مورد استفاده قرار گرفت. تانک‌های پرورشی ۲ بار در روز از کف سیفون و در هر سیفون دوسوم حجم آب تعویض می‌شدند. به‌دلیل مشکلات استفاده از غذای پودری، در کلیه تانک‌ها از فیلترهای اسفنجی استفاده شد. سیستم هوادهی تانک‌ها به‌صورت مرکزی طراحی و کلیه تانک‌ها از یک پمپ مرکزی هوادهی می‌شدند. همچنین بدلیل ایجاد بستر مناسب برای رشد

باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (نیتروزموناس و نیتروباکتر) از سنگریزه‌های رودخانه‌ای جهت بسترسازی در ۵۰ درصد کف تانک استفاده شد به‌طوری‌که غذادهی در نقاط فاقد بستر سنگریزه‌ای صورت می‌گرفت. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی کیفیت آب به صورت هفتگی اندازه‌گیری شدند.

به منظور بررسی اثر نوکلئوتید جیره ۴ سطح صفر (کنترل)، ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷گرم نوکلئوتید در ۱ کیلوگرم جیره پایه ($g\ NT\ Kg^{-1}$) برای مکمل نوکلئوتید جیره در نظر گرفته شد (مکمل نوکلئوتید ۱۵ درصد AUGIC شرکت ICC. Indl. Com. Exp. e Imp. Ltda.، کشور برزیل). میزان سطوح چربی، پروتئین مورد استفاده در ساخت جیره، بر اساس مطالعه تغذیه‌ای صورت گرفته بر روی بچه‌ماهیان سفید دریای خزر، ۱۳ و ۴۲ درصد انتخاب شدند (۱۲). بنابراین مطالعه دارای مجموعاً ۴ تیمار بوده که با در نظر گرفتن ۳ تکرار برای هر تیمار، مجموعاً ۱۲ واحد آزمایش به‌کار گرفته شد. ابتدا بچه ماهی سفید جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی، به مدت ۲ هفته با غذای پایه فاقد نوکلئوتید تغذیه شدند. پس از سازگاری، بچه ماهیان به مدت ۶ هفته و ۵ بار در روز در ساعات ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۶ و ۱۸ و به صورت غذادهی در حد سیری انجام شد. ماهیان هر هفته وزن شده و میزان تلفات به صورت روزانه گزارش می‌شد.

چالش شوری و نحوه نمونه‌گیری: بعد از اتمام دوره و ۲۴ ساعت قبل از چالش شوری، تغذیه متوقف شد و ماهیان مستقیماً از آب شیرین به آب به شوری ۱۵ ppt و ۳۰ ppt منتقل شدند. آب شور مورد استفاده در مطالعه حاضر از ترکیب آب دریای خزر و نمک دریاچه ارومیه تهیه شد. به منظور نمونه‌گیری، ۵ قطعه ماهی از هر تانک در زمان‌های ۰ (قبل از چالش شوری)، ۲، ۸ و ۲۴ ساعت بعد از انتقال، به آرامی صید شده و سریعاً به وسیله محلول پودر گل میخک با دز ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و با استفاده از روش غوطه‌وری بیهوش شده و سپس فوراً به تانک نیتروژن مایع منتقل و پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنجش فاکتورهای رشد: تمام ماهیان پس از اتمام دوره پرورش، وزن‌کشی و فاکتورهای رشد شامل میزان افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، شاخص وضعیت، ضریب رشد ویژه، نرخ بازده پروتئین، درصد رشد روزانه و درصد بقاء با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد:

رابطه ۱: ۱۰۰*(میانگین وزن اولیه / (میانگین وزن اولیه - میانگین وزن ثانویه)) = (WG) افزایش وزن بدن

رابطه ۲: افزایش وزن بدن(گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم) = (FCR) ضریب تبدیل غذایی

رابطه ۳: ۱۰۰ × ^{۳}(طول چنگالی) / وزن بدن (گرم) = (CF) شاخص وضعیت

رابطه ۴: ۱۰۰ × (دوره پرورش به روز / (Ln W2 – Ln W1) = (SGR) ضریب رشد ویژه

رابطه ۵: پروتئین مصرفی (گرم) /تفاوت وزن اولیه و ثانویه (گرم) = (PER) نرخ بازده پروتئین

رابطه ۶: ۱۰۰× تعداد روزهای پرورش/ (تفاوت وزن اولیه و ثانویه (گرم) = (DGR) درصد رشد روزانه

اندازه‌گیری میزان بیان HSP70 به روش RT-PCR کمی: استخراج RNA آبشش با استفاده از روش اسید گوانیدنیوم تیوسیانات فنل کلروفرم (acid guanidinium thiocyanate-phenolchloroform method) انجام شد (۱۳). جهت سنتز اولین رشته cDNA از کیت Fermentas cDNA Synthesis Kit (Fermentas; USA) استفاده شد و فرایند کپی‌گذاری طبق دستور کارخانه و دمای مورد نظر انجام و سپس cDNA ساخته شده در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. پرایمرهای qPCR برای ژن پروتئین شوک حرارتی HSP70 و ژن رفرنس ماهی سفید بر اساس مناطق محافظت شده توالی DNA در بانک ژن و پایگاه داده اطلاعات ژنومی NCBI و با استفاده از نرم افزار PRIMER3.0 طراحی شد (جدول ۱). ژن β actine به عنوان ژن رفرنس به منظور استانداردسازی سطوح بیان مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز qPCR به‌وسیله دستگاه iCycler (Bio-Rad) با استفاده از مستر میکس CYBR Green (Fermentas Maxima SYBR Green qPCR Master Mix) توسط پروتکل پیشنهاد شده Kolangi Miandare و همکاران در سال ۲۰۱۶ صورت پذیرفت (۱۳). کارایی PCR بر اساس معادله: $E\%=10^{(1/Slope)-1}\times100$ محاسبه شد. تغییرات در میزان بیان mRNA ژن HSP70 پس از نرمال‌سازی با ژن رفرنس (به منظور برآورد بیان نسبی)، با استفاده از روش منحنی استاندارد مورد ارزیابی قرار

گرفت. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار iQ5 optical system software version 2.0 (Bio-Rad) مورد ارزیابی قرار داده شد.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای اندازه‌گیری میزان بیان HSP70 به روش RT-PCR کمی.

ژن	Accession number	qPCR primers, forward/reverse	Amplicon	کارایی (درصد)
HSP70kut	KT380686/1	AGAGAATGGTGCAGGACGC CTGATGGTGGAGTTGCATTTCTC	۱۸۰	۹۸
BetaKut	DQ061948/1	CCCTGCATGGATGTGTGGAT GGGTGACACCATCACCAGAG	۱۸۹	۹۶

جدول ۲. انحراف معیار±میانگین عملکرد رشد و تلفات بچه ماهیان سفید تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل نوکلئوتید جیره.

مکمل نوکلئوتید	۰	۰/۳	۰/۵	۰/۷	ANOVA	
					P-value	*F-value*
L1	۲۰/۳۷	۲۰/۳۷	۲۰/۳۷	۲۰/۳۷	–	–
W1	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	–	–
L2	۲۶/۰±۶۶/۷۴ ab	۲۵/۱±۸۵/۱۰ a	۲۶/۰±۸۵/۲۸ b	۲۸/۰±۳۸/۷۳ c	۱۱/۰۰	۰/۰۰
W2	۰/۰±۲۸/۰۲ a	۰/۰±۲۷/۰۲ a	۰/۰±۲۹/۰۱ a	۰/۰±۳۴/۰۱ b	۱۶/۰۰	۰/۰۰
WG	۴۵۳/۰±۳۳/۰۲ a	۴۳۰/۰±۰۰/۰۲ a	۴۷۳/۰±۳۳/۰۲ a	۵۷۶/۰±۶۶/۰۲ b	۱۶/۰۰	۰/۰۰
FCR	۱/۰±۹۶/۰۲ a	۱/۰±۷۴/۰۶ a	۱/۸۰۷±۸۷/۰۵ a	۱/۰±۶۹/۰۳ a	۰/۰۰	۱/۰۰
CF	۱/۰±۴۵/۰۳ a	۱/۰±۵۳/۰۷ a	۱/۰±۴۸/۰۳ a	۱/۰±۴۸/۱۰ a	۱/۰۰	۰/۰۰
SGR	۳/۰±۴۸/۱۵ a	۳/۰±۳۹/۱۹ a	۳/۰±۵۶/۱۱ a	۳/۰±۹۰/۱۰ b	۱۳/۰۰	۰/۰۰
PER	۱/۰±۲۱/۰۰ a	۱/۰±۲۲/۰۰ a	۱/۰±۲۲/۰۰ a	۱/۰±۱۹/۰۰ a	۰/۰۰	۱/۰۰
DGR	۰/۰±۴۶/۰۴ a	۰/۰±۴۳/۰۴ a	۰/۰±۴۸/۰۳ a	۰/۰±۵۸/۰۳ b	۱۶/۰۰	۰/۰۰
تلفات ۱	۴۱±۱۱۱ d	۱۷±۵۵ c	۱۱±۴۸ b	۱۳±۴۶ a	۲۶۱۲۲/۰	۰/۰۰
تلفات ۲	۱±۲ d	۰/۰±۳۳/۵۷ c	۰/۰±۳۳/۵۷ c	۰/۰±۳۳/۵۷ c	۴/۰۰	۴/۰۰

L1: طول اولیه (میلی‌متر)؛ L2: طول نهایی (میلی‌متر)؛ W1: وزن اولیه (گرم)؛ W2: وزن نهایی (گرم)؛ WG: درصد افزایش وزن بدن؛ FCR: ضریب تبدیل غذایی؛ CF: شاخص وضعیت؛ SGR: ضریب رشد ویژه؛ PER: نرخ بازده پروتئین؛ DGR: درصد رشد روزانه، تلفات ۱: تعداد تلفات در طول دوره پرورش؛ تلفات ۲: تعداد تلفات پس از شوک شوری.

جدول ۳. نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه و دو طرفه کورتیزول و پروتئین HSP70 در بچه ماهیان سفید پس از ۸ هفته تغذیه با مکمل نوکلئوتید جیره و در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری.

		کورتیزول		HSP70	
	ساعت	*P*-value	Sig.	*P*-value	Sig.
آنالیز واریانس یک‌طرفه	۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	۲	۱۸/۰۰	۰/۰۰	۱۳/۰۰	۰/۰۰
	۸	۳۳/۰۰	۰/۰۰	۱۱/۰۰	۰/۰۰
	۲۴	۱۴/۰۰	۰/۰۰	۲/۰۰	۰/۰۰
آنالیز واریانس دو طرفه	تیمار	۵۰/۰۰	۰/۰۰	۱۳/۰۰	۰/۰۰
	زمان	۱۰۶/۰۲	۰/۰۰	۷۸/۰۰	۰/۰۰
	برهم‌کنش تیمار * زمان	۱۰/۰۰	۰/۰۰	۷/۰۰	۰/۰۰

اندازه‌گیری کورتیزول کل بدن: کورتیزول کل بدن به وسیله روش الایزا بر اساس دستورالعمل سازنده کیت (RE52061، IBL-International، Hamburg، Germany) مورد سنجش قرار گرفت (۱۴).

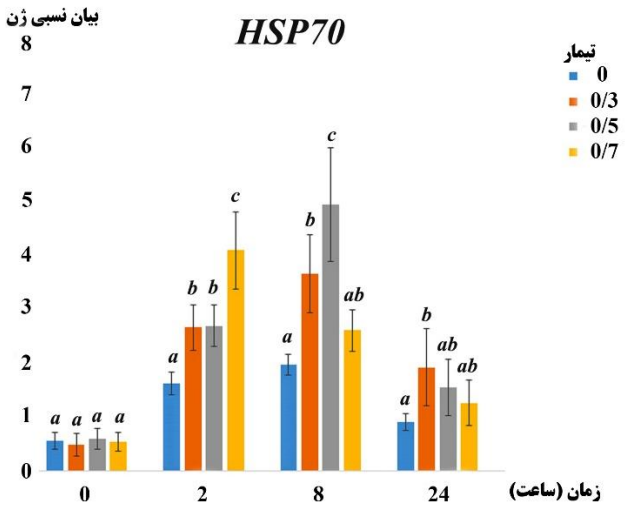
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: مطالعه حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا شد. برای یکنواختی واریانس و توزیع نرمال داده‌ها، به ترتیب از آزمون‌های تک‌متغیره لون و آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و دو طرفه ANOVA انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

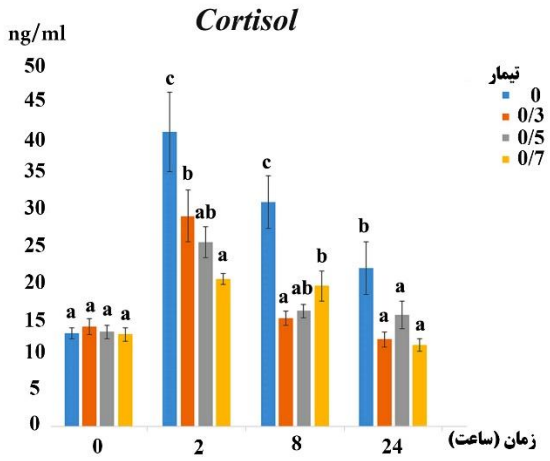
نتایج مطالعه حاضر نشان داد در نرخ تلفات طی ۸ هفته تغذیه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵) به‌طوری‌که ماهیانی که با جیره غذایی حاوی مکمل نوکلئوتید تغذیه نموده بودند دارای نرخ معنی‌دار کمتر از مرگ و میر نسبت به گروه کنترل بودند (جدول ۲). ماهیانی که از جیره g NT kg^{-1} ۰/۷ تغذیه نمودند دارای بیشترین میزان وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و درصد رشد روزانه بودند. همچنین ماهیانی که از جیره g NT kg^{-1} ۰/۳ تغذیه کرده بودند کمترین میزان این فاکتورها در آن‌ها مشاهده شد. ضریب تبدیل غذایی در بین تیمارها معنی‌دار نبود. بهترین میزان فاکتور وضعیت در ماهیانی که با جیره g NT kg^{-1} ۰/۳ تغذیه نمودند مشاهده شد با این وجود در این فاکتور اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. همچنین ماهیانی که از جیره g NT kg^{-1} ۰/۳ بیشترین و ماهیانی که از جیره g NT kg^{-1} ۰/۷ تغذیه می‌نمودند کمترین میزان نرخ بازده پروتئین را داشتند (جدول ۲).

نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه در بین زمان‌های مختلف در بچه‌ماهیان سفید تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل نوکلئوتید جیره نشان داد میزان بیان پروتئین شوک حرارتی HSP70 و کورتیزول کل بدن در تمام زمان‌ها دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند (P<۰/۰۵) (جدول ۳). نتایج آنالیز واریانس دو طرفه و بررسی اثر تیمار، اثر زمان و برهمکنش این دو بر بچه ماهیان سفید تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل نوکلئوتید جیره نشان داد اثر تیمار، اثر زمان و برهمکنش این دو در مورد پروتئین HSP70 و کورتیزول کل بدن دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد (P<۰/۰۵) (جدول ۳).

بیشترین و کمترین میزان کورتیزول کل بدن به ترتیب در ماهیانی که از جیره g NT kg^{-1} ۰ (در زمان ۲ ساعت پس از شوک شوری؛ ۵/۵۲ ± ۴۱/۰۳) و در ماهیانی که از جیره g NT kg^{-1} ۰/۷ تغذیه می‌نمودند (در زمان ۲۴ ساعت پس از شوک شوری؛ ۱۱/۳۵±۰/۸۹) مشاهده شد (نمودار ۱). بیشترین و کمترین میزان بیان پروتئین شوک حرارتی HSP70 به ترتیب در ماهیانی که از جیره g NT kg^{-1} ۰/۵ (در زمان ۸ ساعت پس از شوک شوری؛ ۵/۰۳±۱/۰۷) و در ماهیانی که از جیره g NT kg^{-1} ۰/۳ تغذیه می‌نمودند (در زمان ساعت صفر و یا قبل از شوک شوری؛ ۰/۵۰±۰/۲۱) مشاهده شد (نمودار ۲). بر اساس نتایج مطالعه حاضر میزان بیان پروتئین شوک حرارتی HSP70 پس از ۲ ساعت انتقال به آب شور ۳-۲ برابر میزان سطح پایه (ساعت صفر) افزایش یافت و سپس در طی ۲۴ ساعت کاهش یافت با این وجود میزان بیان پروتئین شوک حرارتی HSP70 در ساعت ۲۴، ۳-۱ برابر سطح پایه شد.



نمودار ۱. روند تغییرات کورتیزول کل بدن در بچه ماهیان سفید تغذیه شده با سطوح مختلف نوکلئوتید جیره در ساعات مختلف پس از قرارگیری با استرس شوری. حروف متفاوت بالای نمودار بیانگر وجود اختلاف آماری بین تیمارها بر اساس نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه در بین ساعات مختلف است.



نمودار ۲. روند تغییرات بیان پروتئین HSP70 در بچه ماهیان سفید تغذیه شده با سطوح مختلف نوکلئوتید جیره در ساعات مختلف پس از قرارگیری با استرس شوری. حروف متفاوت بالای نمودار بیانگر وجود اختلاف آماری بین تیمارها بر اساس نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه در بین ساعات مختلف است.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد تغذیه با مکمل نوکلئوتید در سطح ۰/۷ g NT kg^{-1} سبب ایجاد تأثیرات مثبتی بر عملکرد رشد بچه‌ماهیان سفید در مقایسه با سایر تیمارها شد (جدول ۲). نتایج بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد بکارگیری مکمل نوکلئوتید جیره در سطح ۱ g NT kg^{-1} سبب بهبود عملکرد رشد در تیلاپیای نیلی (۱۵)، ۱/۵ g NT kg^{-1} در ماهیان نوجوان گروپر (۱۶)، ۲-۱/۵ g NT kg^{-1} در ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان(۱۷)، ۲ g NT kg^{-1} در ماهی دروم قرمز (۱۸) و۲/۵ g NT kg^{-1} در ماهی آزاد دریای خزر (۱۹) می‌شود. با این وجود نتایج برخی مطالعات در ماهی نوجوان دروم قرمز (۲۰)، ماهی نوجوان روهو (۲۱)، گربه ماهی کانالی (۲۲) نشان می‌دهد که نوکلئوتید اثری بر بهبود عملکرد رشد ندارد. امروزه توضیح دقیقی در مورد این‌که چگونه نوکلئوتید سبب بهبود عملکرد رشد می‌شود، وجود ندارد (۶) اما به نظر می‌رسد بکارگیری یک منبع خارجی از نوکلئوتید ممکن است سبب ارتقا رشد ماهیان و سخت پوستان در مراحل ابتدایی زندگی شود چرا که در این دوران نرخ تکثیر سلولی بسیار زیاد است (۲۳). با این وجود مکانیسم این‌که چگونه نوکلئوتید سبب بهبود عملکرد رشد می‌شود، تا کنون ناشناخته مانده است. برخی مطالعات بیان می‌دارند اثر جاذب شیمیایی نوکلئوتید که به دلیل حضور برخی مواد مانند آدنوزین مونوفسفات، اینوزین مونوفسفات، اوریدین مونوفسفات و آدنوزین دی فسفات است، سبب این موضوع می‌شود (۱۵). با این وجود با توجه به نوع ترکیب مکمل نوکلئوتید جیره، مرحله زندگی ماهی، نوع گونه و طول دوره تغذیه بکارگیری نوکلئوتید می‌تواند سبب اثرات مثبت یا منفی بر عملکرد رشد ماهیان شود (۷). در مطالعه حاضر اثر تحریک‌کنندگی نوکلئوتید در سطح ۰/۷ g NT kg^{-1} ممکن است به دلیل مرحله زندگی ماهی باشد چراکه در این دوران به دلیل نرخ تکثیر سلولی زیاد، تقاضای بیشتری برای جذب نوکلئوتید وجود دارد و از طرف دیگر به نظر می‌رسد دز زیاد نوکلئوتید (۰/۷ g NT kg^{-1}) سبب طعم بهتری از غذا شده بود.

اگرچه بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد تغییر در فاکتورهای محیطی مانند شوری (هایپر اسموتیک یا هیپو اسموتیک) سبب بیان پروتئین‌های شوک حرارتی در ماهی می‌شود (۲۴) با این وجود تا کنون هیچ مطالعه وجود ندارد که بیان دارد استرس اسمزی و یا هر گونه استرسی سبب افزایش بیان HSPs در ماهی سفید می‌شود. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد شوک شوری سبب القا بیان پروتئین شوک حرارتی HSP70 در بچه ماهیان سفید، همچنین به نظر می‌رسد القا بیان HSP70 توسط شوک شوری بر افزایش مقاومت بچه‌ماهیان سفید تأثیر داشته است به‌طوری‌که بچه‌ماهیان با سطوح بیشتر HSP70 دارای نرخ بیشتری از بازماندگی در مقایسه با گروه کنترل در طی استرس اسمزی بودند (جدول ۲). اگرچه مکانیسم دقیق سلولی که در آن بیان پروتئین‌های شوک حرارتی به ماهی اجازه می‌دهد تا شوک اسمزی را تحمل نماید، تا کنون مشخص نشده است (۲۵)، با این وجود به نظر می‌رسد کاهش تبعات از دست دادن آب سلولی بر پایداری پروتئین، تاخوردگی و حل‌پذیری پروتئین سلوی کاندید مناسبی برای توجیح مکانیسم آن باشد (۲۶). نتایج مطالعه حاضر نشان داد میزان بیان HSP70 در آبشش متأثر از سطوح مکمل نوکلئوتید جیره می‌باشد و گروهی که سطوح بیشتری از نوکلئوتید جیره را دریافت نمودند بیان بیشتری از HSP70 را در آبشش نشان دادند. در ماهیان، میزان HSP70 در ۲ ساعت پس از شوک شوری افزایش یافته و در ساعت ۸ به پیک خود رسیده و سپس تا ساعت ۲۴ روند کاهشی از خود نشان می‌دهد (نمودار ۲). مطالعات در خصوص اثر نوکلئوتید جیره بر میزان بیان پروتئین شوک حرارتی در ماهی بسیار محدود است تنها یک مطالعه وجود دارد که نشان می‌دهد بکارگیری نوکلئوتید جیره تأثیری بر میزان بیان mRNA پروتئین شوک حرارتی HSP70 مغز در خورشید ماهی ندارد (۲۷). در مطالعه حاضر ماهیان به مدت ۸ هفته با جیره حاوی ۰/۴ g NT kg^{-1} نوکلئوتید (نه مکمل نوکلئوتید) تغذیه و سپس مورد استرس دستکاری قرار گرفتند که نتایج نشان داد میزان بیان HSP70 mRNA مغز ارتباطی با نوکلئوتید جیره و یا با استرس دستکاری ندارد. به نظر می‌رسد نتایج متناقض در مطالعه حاضر به دلیل نوع استرس به‌کار رفته در این مطالعه است چراکه میزان بیان پروتئین شوک حرارتی ارتباط نزدیکی با نوع استرسور دارد و در غالب موارد استرس دستکاری، جابه‌جایی، اسارت و شلوغی سبب بیان پروتئین شوک حرارتی نمی‌شود (۲۴،۲۸) و این در حالیست که تحت تأثیر این گونه استرس‌ها پاسخ‌های استرسی فیزیولوژیک مانند افزایش سطوح آدرنالین، کورتیزول، گلوکز و ... مشاهده می‌شود (۲۹). تأثیر بالقوه اثر مکمل نوکلئوتید جیره بر بیان پروتئین شوک حرارتی در ماهی به مقدار بسیار محدودی شناخته شده است و در حال حاضر توضیح مکانیسم دقیق آن بسیار مشکل

است. بر اساس دانش امروزی به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های اثر مکمل نوکلئوتید جیره بر بیان HSPs در ماهی، ارتباط آن با پاسخ‌های استرسی مانند کورتیزول است (۲۷). از آنجایی که در زمان استرس تقاضا برای نوکلئوتید موجود در بدن افزایش یافت، یک منبع خارجی از نوکلئوتید ممکن است برخی از پاسخ‌های استرسی را بهبود بخشد (۶) که در این زمان مکمل نوکلئوتید جیره می‌تواند در کاهش اثرات بازدارندگی سطوح زیاد کورتیزول بر سیستم ایمنی ماهی، مؤثر باشد (۲۷). بنابراین مطالعات بیشتری نیاز است تا دانش امروزی را در خصوص مکانیسم اثر نوکلئوتید جیره بر بیان HSPs گسترش دهد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مکمل نوکلئوتید موجب شد سطوح کورتیزول اندازه‌گیری شده پس از قرارگیری در معرض استرس شوری به‌طور معنی‌داری کاهش یابد به‌طوری‌که در ماهیان گروه کنترل و تیمارهای نوکلئوتید، سطوح کورتیزول در ساعت ۲ به ماکزیمم مقدار خود رسیده و پس از ۸ ساعت به سطوح قبل از استرس باز گردد حتی این مقدار در تیمارهای نوکلوتید به کمتر از زمان صفر در مقایسه با گروه کنترل رسید (نمودار ۲). اخیراً Abedian Kenari و همکاران در سال ۲۰۱۲ در مطالعه‌ای تغذیه‌ای اثرات مکمل نوکلئوتید جیره را بر رشد، پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون بچه‌ماهیان انگشت‌قد ماهی آزاد دریای خزر مورد ارزیابی قرار داده و بیان نمودند پس از استرس حاد اسارت، کورتیزول پلاسما ماهیان گروه کنترل و ماهیانی که از نوکلئوتید تغذیه نموده بودند در ساعت ۳ به ماکزیموم مقدار خود رسیده و ۸ ساعت پس از برطرف شدن استرس به مقدار اولیه خود باز می‌گردد (۱۹). با این وجود در آغاز شرایط استرس مزمن ممکن است سطوح کورتیزول پلاسما افزایش یافته و پس از چند روز با آداپته شدن ماهی به شرایط جدید به سطوح اولیه خود بازگردد (۳۰). به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌هایی که موجب می‌شود مکمل نوکلئوتید به طور سودمندی پاسخ‌های استرسی را متأثر نماید مربوط به اثرات بازدارندگی نوکلئوتید در آزادسازی کورتیزول ناشی از استرس القایی است (۷).

بر اساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان بیان نمود احتمالاً میزان کورتیزول بر میزان بیان HSP70 آبشش بچه ماهیان سفید تأثیرگذار است به‌طوری‌که با افزایش سطوح غلظت کورتیزول بیان HSP70 افزایش و با کاهش غلظت کورتیزول آن بیان HSP70 کاهش یافت. در حمایت از این حدس مطالعه‌ای که روی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان صورت پذیرفت نشان داد هپاتوسیت‌های ماهیانی که در معرض کورتیزول قرار گرفته‌اند، دارای سطوح کمتری از بیان HSP70 در پاسخ به استرس حاد گرمایی بودند (۳۱). در مجموع برای درک بهتر این حدسیات، مطالعات بیشتری نیاز است تا این روابط را بسط نماید.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد بکارگیری مکمل نوکلئوتید در طی تغذیه سبب ایجاد یک سری اثرات مثبت در عملکرد رشد بچه‌ماهیان سفید می‌شود. همچنین بکارگیری مکمل نوکلئوتید در چالش با شوری سبب کاهش سطوح کورتیزول (ساعت ۲ در تیمارهای نوکلئوتید) می‌شود که این موضوع نشان می‌دهد جیره حاوی نوکلئوتید قادر به کاهش استرس در طی انتقال از آب شیرین به شور است. همچنین بر اساس افزایش میزان بازماندگی و سطوح بیشتر پروتئین شوک حرارتی HSP70 می‌توان پیشنهاد نمود بچه‌ماهیان سفید با وزن ۰/۵ گرم این پتانسیل را دارند که مستقیماً به دریا رهاسازی گردند که البته این موضوع نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

سپاسگزاری

از زحمات خانم دکتر نیکوگفتار، پروفسور Sema İşisağ Üçüncü و آقای کابلی (کارخانه خوراک دام و آبزیان شمال) تشکر و قدردانی می‌شود. این مقاله به روح بلند ذات‌اله احمدی‌کمرپشتی (حاجی مدیر) اهدا می‌شود، کسی که خود را به صورت تمام وقت وقف خدمت به دیگران نمود چرا که ایشان معلمی دلسوز و پدری فداکار بودند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Fazli H, Daryanabard GR, Pourgholami R, Abdolmaleki SH, Bandani A, Pourgholami A, Safavi SA. Qualitative assessment of Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum* Kamensky 1901) stocks in Iranian waters of the Caspian Sea (1991-2011). ISFJ. 2012; 21(2): 53-64. doi: 10.22092/ISFJ.2017.110055
2. Abdolhay HA, Daud SK, Rezvani Ghilkolahi S, Pourkazemi M, Siraj SS, Abdul Satar MK. Fingerling production and stock enhancement of Mahisefid (*Rutilus frisii kutum*) lessons for others in the south of Caspian Sea. Rev Fish Biol Fish. 2011; 21(2): 247-257. doi: 10.1007/s11160-010-9163-9
3. Anguiano M, Pohlenz C, Buentello A, Gatlin DM. The effects of prebiotics on the digestive enzymes and gut histomorphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*) and hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). Br J Nutr. 2012; 109(4): 623-629. doi: 10.1017/S0007114512001754 PMID: 22716899
4. Gatlin III DM, Li P. Nucleotides. In: Nakagawa H, Sato M, Gatlin III DM. editors. Dietary Supplements for the Health and

Quality of Cultured Fish. UK, Wallingford, Cromwell press, CAB International. 2007; p. 193-209.
5. Burrells C, Williams PD, Forno PF. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds −1. Effects on resistance to disease in salmonids. Aquaculture. 2001; 199: 159-69. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00577-4
6. Burrells C, Williams PD, Southgate PJ, Wadsworth SL. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 2. Effects of vaccination, salt water transfer, growth rates and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture. 2001; 199: 171-84. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00576-2
7. Li P, Gatlin III DM. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. Aquaculture. 2006; 251: 141-52. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.01.009
8. Deane EE, Woo NYS. Advances and perspectives on the regulation and expression of piscine heat shock proteins. Rev Fish Biol Fish. 2011; 21, 153-85. doi: 10.1007/s11160-010-9164-8
9. Feder ME, Hofmann GE. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. Annu Rev Physiol. 1999; 61: 243-82. doi: 10.1146/annurev.physiol.61.1.243 PMID: 10099689
10. Pelham HRB. Speculations on the functions of the major heat shock and glucose-regulated proteins. Cell. 1986; 46: 959-61. doi: 10.1016/0092-8674(86)90693-8 PMID: 2944601
11. De Jong L, Moreau X, Jean S, Scher O, Thiery A. Expression of the heat shock protein HSP70 in chloride target cells of mayfly larvae from motorway retention pond: a biomarker of osmotic shock. Sci Total Environ. 2006; 366: 164-73. doi: 10.1016/j.scitotenv.2005.12.022 PMID: 16483636
12. Ebrahimi G, Ouraji H, Firouzbakhsh F, Makhdomi C. Effect of dietary lipid and protein levels with different protein to energy ratios on growth performance, feed utilization and body composition of *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) fingerlings. Aquac Res. 2013; 44(9): 1447-1458. doi: 10.1111/j.1365-2109.2012.03152.x
13. Kolangi Miandare H, Niknejad M, Shabani A, Safari R. Exposure of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) to cadmium results in biochemical, histological and transcriptional alterations. Comp Biochem Physiol C. 2016; 181–182: 1-8. doi: 10.1016/j.cbpc.2015.12.004 PMID: 26687766
14. Guest TW, Blaylock RB, Evans AN. Development of a modified cortisol extraction procedure for intermediately sized fish not amenable to whole-body or plasma extraction methods. Fish Physiol Biochem. 2016; 42(1): 1-6. doi: 10.1007/s10695-015-0111-4 PMID: 26245954
15. Barros MM, Guimaraes IG, Pezzato LE, Orsi RDO, Junior ACF, Teixeira CP, Fleuri LF, Padovani CR. The effects of dietary nucleotide mixture on growth performance, haematological and immunological parameters of Nile tilapia. Aquac Res. 2013; 46(4): 987-993. doi: 10.1111/are.12229
16. Lin YH, Wang H, Shiau SY. Dietary nucleotide supplementation enhances growth and immune responses of grouper, *Epinephlus malabaricus*. Aquac Nutr. 2009; 15(2): 117-122. doi: 10.1111/j.1365-2095.2007.00561.x
17. Tahmasebi-Kohyani A, Keyvanshokooh S, Nematollahi A, Mahmoudi N, Pasha-Zanoosi H. Dietary administration of nucleotides to enhance growth, humoral immune responses, and disease resistance of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Fish Shellfish Immunol. 2011; 30: 189-93. doi: 10.1016/j.fsi.2010.10.005 PMID: 20955799
18. Li P, Gatlin III DM, Neill WH. Dietary Supplementation of a Purified Nucleotide Mixture Transiently Enhanced Growth and Feed Utilization of Juvenile Red Drum, *Sciaenops ocellatus*. J World Aquac Soc. 2007; 38: 281-6. doi: 10.1111/j.1749-7345.2007.00096.x
19. Abedian Kenari A, Mahmoudi N, Soltani M, AbedianKenari S. Dietary nucleotide supplements influence the growth, heamato-immunological parameters and stress responses in endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). Aquac Nutr. 2012; 19(1): 54-63. doi: 10.1111/j.1365-2095.2012.00938.x
20. Li P, Burr GS, Goff j, Whiteman KW, Davis KB, Vega RR, Neill WH, Gatlin III DM. A preliminary study on the effects of dietary supplementation of brewers yeast and nucleotides, singularly or in combination, on juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquac Res. 2005; 36: 1120-1127. doi: 10.1111/j.1365-2109.2005.01333.x
21. Choudhurya D, Pal AK, Sahua NP, Kumar S, Das SS, Mukherjee SC. Dietary yeast RNA supplementation reduces mortality by Aeromonas hydrophila in rohu (*Labeo rohita* L.) juveniles. Fish Shellfish Immunol. 2005; 19: 281-91. doi: 10.1016/j.fsi.2005.01.004 PMID: 15820128
22. Welker TL, Lim C, Yildirim-Aksoy M, Klesius PH. Effects of dietary supplementation of a purified nucleotide mixture on immune function and disease and stress resistance in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquac Res. 2011; 42: 1878-1889. doi: 10.1111/j.1365-2109.2010.02794.x
23. Boone AN, Vijayan MM. Glucocorticoid-mediated attenuation of the hsp70 response in trout hepatocytes involves the proteasome. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2002; 283(3): R680- R687. doi: 10.1152/ajpregu.00125.2002 PMID: 12185003
24. Palmisano AN, Winton JR, Dickhoff WW. Tissue-Specific Induction of HSP90 mRNA and Plasma Cortisol Response in Chinook Salmon following Heat Shock, Seawater Challenge, and Handling Challenge. Mar Biotechnol (NY). 2000; 2(4): 329-38. doi: 10.1007/s101260000005 PMID: 10960122
25. DuBeau SF, Pan F, Tremblay GC, Bradley TM. Thermal shock of salmon in vivo induces the heat shock protein HSP 70 and confers protection against osmotic shock. Aquaculture. 1998; 168: 311-23. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00358-5
26. Sheikh-Hamad D, Garcia-Perez A, Ferris JD, Peters EM, Burg MB. Induction of gene expression by heat shock versus osmotic shock. Am J Physiol. 1994; 267: F28-F34. doi: 10.1152/ajprenal.1994.267.1.F28 PMID: 8048561
27. Palermo FA, Cardinaletti G, Cocci P, Tibaldi E, Polzonetti-Magni A, Mosconi G. Effects of dietary nucleotides on acute stress response and cannabinoid receptor 1 mRNAs in sole, *Solea solea*. Comp Biochem Physiol A. 2013; 164: 477-82. doi: 10.1016/j.cbpa.2012.12.005 PMID: 23261992
28. Ackerman PA, Forsyth RB, Mazur CF, Iwama GK. Stress hormones and the cellular stress response in salmonids. Fish Physiol Biochem. 2000; 23: 327-36. doi: 10.1023/A:1011107610971
29. Iwama GK, Thomas PT, Forsyth RB, Vijayan MM. Heat shock protein expression in fish. Rev Fish Biol Fish. 1998; 8: 35-56. doi: 10.1023/A:1008812500650
30. Montero D, Izquierdo MS, Tort L, Robaina L, Vergara JM. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead sea bream, *Sparus aurata*, juveniles. Fish Physiol Biochem. 1999; 20: 53-60. doi: 10.1023/A:100771992
31. Boone AN, Vijayan MM. Constitutive heat shock protein 70 (HSC70) expression in rainbow trout hepatocytes: effect of heat shock and heavy metal exposure. Comp Biochem Physiol C. 2002; 132: 223-33. doi: 10.1016/S1532-0456(02)00066-2 PMID: 12106899

Journal of Veterinary Research

J Vet Res, Volume 77, Number 1, 2022

Original Article

Influence of Dietary Nucleotides on Growth Performance, HSP70 Expression, and Stress Resistance in Kutum (*Rutilus kutum*) Fry

Hossein AnvariFar[1,3], Abdolsamad Keramat[2], Hossein Ouraji[2], Hamed Paknejad[4]

[1] *Graduated from the Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agriculture and Natural Resources, Sari, Iran*
[2] *Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agriculture and Natural Resources, Sari, Iran*
[3] *University of Applied Sciences and Technology, Provincial Unit, Golestan, Iran*
[4] *Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran*

10.22059/jvr.2019.245746.2724

Received: *11 December 2021*, ***Accepted:*** *20 February 2022*

Abstract

BACKGROUND: Nucleotides (NT) are known as semi- or conditionally essential nutrients which might occasionally become essential in pathological and stress conditions that demand intense nucleic acid and protein synthesis.
OBJECTIVES: A feeding trial was conducted to evaluate the effects of NT supplementation on growth performance and stress resistance of fry kutum (*Rutilus kutum*).
METHODS: A basal diet was supplemented with 0 (control), 0.3, 0.5, and 0.7 g NT kg^{-1} to formulate four experimental diets. After eight weeks of feeding trial, the growth parameters were evaluated and then fish exposed to osmotic stress. To elucidate the underlying physiological mechanisms, cortisol and HSP70 levels were measured at selected times of 0, 2h, 8h, and 24h after the osmotic shock.
RESULTS: According to the results of growth parameters after eight weeks of feeding trial, fish fed diet with 0.7 g NT kg^{-1} had the highest final weight and DGR compared with the other treatments ($P<0.05$). However, no significant differences were observed concerning FCR, SGR, CF, and PER between the treatments ($P>0.05$). The results of HSP70 revealed that fish fed with NT had higher levels of HSP70 expression. Additionally, the levels of HSP70 at 2h increased significantly by 3-7-folds over the baseline levels (0h), and then decreased significantly at 24h; however, HSP70 levels at 24h was 1-3-fold over the baseline levels. The findings of cortisol showed that Cortisol values were significantly affected by dietary NT levels ($P<0.05$) and lower stress-induced cortisol and glucose elevation were observed in all the NT groups compared to the control group. Moreover, plasma cortisol levels reached a significant peak 2h after the salinity stress. This value decreased significantly after 8h, returning to the pre-stress levels by 24h ($P>0.05$).
CONCLUSIONS: Our data indicated that NT administration promoted growth performance and increased the ability of resistance to osmotic stress during freshwater to seawater transfer in fry kutum.

Keywords: Dietary nucleotide, Heat shock protein, Osmotic Stress, Kutum, Stress responses

Copyright © 2022. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

&RUUHVSRQGLQJ DXWKRU: Dr. Hamed Paknejad, Tel/Fax: 011-33687901
dr.hamed.paknejad@gmail.com

How to cite this article:

AnvariFar H, Keramat A, Ouraji H, Paknejad H. Influence of Dietary Nucleotides on Growth Performance, HSP70 Expression, and Stress Resistance in Kutum (*Rutilus kutum*) Fry. J Vet Res, 2022; 77(1): 37-45. doi: 10.22059/jvr.2019.245746.2724

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Primers used for the real-time PCR assay of gene expression.
Table 2. Growth performance and survival rate of kutum fry fed dietary nucleotide.
Table 3. Results of one-way and two-way ANOVA of Cortisol and HSP70 levels in kutum fry fed by diets containing different levels of NT in different times of sampling after salinity shock.
Figure 1. Changes in Cortisol levels of kutum fry fed by diets containing different levels of NT in different times of sampling after salinity shock.
Figure 2. Changes in gill HSP70 levels of kutum fry fed by diets containing different levels of NT in different times of sampling after salinity shock.