بررسی تأثیر نوکلئوتید موجود در جیره بر ترکیب اسیدهای آمینه عضله قزل‌آلای رنگین کمان انگشت قد (*Oncorhynchus mykiss*)

نعیمه سلیمی خورشیدی[1]، سعید کیوان شکوه[1*]، امیرپرویز سلاطی[1]، محمد ذاکری[1]، نعمت الله محمودی[2] و احمد طهماسبی کهیانی[1]

[1] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران
[2] گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۱۹- تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۳/۳۰)

چکیده

در این تحقیق، تأثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر ترکیب اسیدهای آمینه عضله ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن متوسط ۱۱/۳۵±۰/۳۲ گرم مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش درون مخازن ۷۰۰ لیتری با تراکم ذخیره سازی ۴۰ عدد ماهی در هر استخر مورد مطالعه قرار گرفت. نوکلئوتید جیره در ۵ سطح صفر، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵ و۰/۲ درصد به جیره غذایی اضافه گردید. غذادهی بین ۵-۳٪ وزن توده زنده طی دوره پرورش و ۵ بار در روز انجام شد. پس از ۸ هفته غذادهی، بیشترین میزان افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه در تیمار ۰/۲ درصد مشاهده شد که به جز با تیمار ۰/۱۵ درصد با بقیه تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد اسیدهای آمینه هیستیدین، آرژنین، ترئونین، والین، ایزولوسین، لوسین، فنیل آلانین، لیزین، اسیدگلوتامیک، سرین، گلیسین، مجموع تیروزین و فنیل آلانین، مجموع اسیدهای آمینه ضروری و مجموع اسیدهای آمینه غیر ضروری به طور معنی‌داری ($P<0/05$) تحت تاثیر سطوح مختلف نوکلئوتید در جیره غذایی قرار دارند. نتایج این آزمایش نشان داد اضافه کردن نوکلئوتید به جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان به میزان ۰/۲ درصد اثرات مثبتی بر ترکیب اسیدهای آمینه عضله دارد و تیمار ۰/۲ درصد دارای مقدار اسیدهای آمینه ضروری بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها بود.

واژه‌های کلیدی: تغذیه، نوکلئوتید، اسید آمینه، قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

* نویسنده مسئول: تلفن: ۹۸۶۳۲۴۲۳۴۹۴۱+ فاکس: ۹۸۶۳۲۴۲۳۴۷۲۵ E-mail: keyvan56@yahoo.com

مقدمه

از مهمترین مسائل در پرورش مصنوعی حیوانات، چه به منظور حفظ ذخایر و چه برای تولید بازاری توجه به امر غذا و تغذیه آنهاست به طوری که در آبزی پروری این مقوله بیش از ۵۰ درصد هزینه‌های جاری یک مزرعه پرورش آبزیان را در بر می‌گیرد (FAO, 2008). کیفیت و کمیت جیره از مقولاتی است که می‌تواند در سرعت رشد و تولید افزون تر حایز اهمیت بوده به طوری که می‌توان با دستیابی به ترکیبات بهینه اقلام غذایی و مقادیر مناسب آنها در یک جیره مناسب به این روند بهبود بخشید (Afshar-Mazandaran, 2002).

نوکلئوتیدها به عنوان واحد ساختمانی DNA و RNA هستند و نقش تعیین کننده ای در ذخیره، انتقال و بیان اطلاعات دارند. (Li and Gatlin, 2006). نوکلئوتیدها بصورت پی درپی شکل گرفته و از بین می‌روند و معمولاً از طریق ۲ مسیر مهم *de novo* و *salvage* تشکیل می‌شوند. آنها ازطریق مسیر *de novo* از پیش ماده‌های آمینو اسید گلوتامین، آسپارتیک اسید، گلایسین، فورمات و دی اکسید کربن شکل می‌گیرند. آن‌ها همچنین از طریق مسیر *salvage* توسط پیوند ریبوز فسفات با بازهای آزاد بوجود آمده از تجزیه هیدرولیتیک اسیدهای نوکلئیک و نوکلئوتید سنتز می‌شوند (Cosgrove, 1998). توانایی این مسیر زمانی افزایش می‌یابد که نوکلئوتیدها از طریق غذا تأمین شود این مسیر هم ساده تر است و هم انرژی کمتری در مقایسه با *de novo* نیاز دارد و توسط بازهای آزاد قابل دسترس تنظیم می‌شود (Boza, 1998). کبد مهمترین ارگان ذخیره نوکلئوتید می‌باشد. در برخی از بافت‌ها که ظرفیت محدودی در سنتز *de novo* برای تولید نوکلئوتید دارند منبع خارجی از نوکلئوتیدها می‌توانند در مسیر *salvage* برای تولید نوکلئوتیدها مورد استفاده قرار گیرد و سبب تقویت این مسیر شود (Li and Gatlin, 2006). در گذشته به دلیل عدم مشاهده علائم نقص یا کمبود نوکلئوتیدها، آنها به عنوان ماده مغذی غیر ضروری در نظر گرفته می‌شدند. اما اکنون مشخص شده است بعضی از سلول‌ها ظرفیت بسیار محدودی برای سنتز نوکلئوتیدها دارند. در این سلول‌ها تهیه نوکلئوتید از منبع خارجی برای انجام وظایف عادی آنها بسیار مهم است (Boza, 1998). سلول‌های مهم دستگاه ایمنی نظیر لنفوسیت‌ها، گلبول‌های قرمز، سلول‌های خونساز و سلول‌های موکوسی روده با توجه به متابولیسم سلولی و حجم بالای واکنش‌های سریع، همچنین نیاز بالای آن‌ها به نوکلئوتید، ظرفیت بسیار محدودی برای سنتز نوکلئوتید دارند. در این سلول‌ها تهیه نوکلئوتید از منبع خارجی برای انجام وظایف عادی آنها بسیار مهم است (Li and Gatlin, 2006).

تا کنون مطالعات مختلفی در ارتباط با تأثیر نوکلئوتید جیره در ماهیان انجام شده است که از جمله می توان به مطالعات Adamek و همکاران (۱۹۹۶)، Burrells و همکاران (۲۰۰۱) و Li و همکاران (2007 a, b) اشاره نمود که بیانگر تاثیر مثبت نوکلئوتید جیره در بهبود شاخص‌های رشد بوده است نتایج این تحقیقات نشان داد که نوکلئوتید جیره به عنوان محرک غذایی با افزایش دلپذیری غذا و در نتیجه افزایش غذای مصرفی و کاهش هدر رفتن غذا سبب افزایش رشد در ماهی و سخت پوستان شده است.

در دیگر مطالعات تأثیر نوکلئوتید جیره را بر متابولیسم پروتئین بررسی کردند که تحقیقات نشان داد نوکلئوتید جیره از طریق حفظ و ابقای مقدار RNA در سلول‌های کبدی در سنتز پروتئین مؤثر است (Grimble, 1996; Fontana *et al.,* 1998; Novak *et al.,* 1994; Perez *et al.,* 2004).

پروتئین‌ها مواد اصلی در بافتهای ماهیان می باشند که حدود ۷۵-۶۵ درصد از کل وزن بدن (ماده خشک) را شامل می شود بنابراین رشد بهینه ماهی به میزان پروتئین جیره از نظر کیفیت و کمیت بستگی دارد (Hardy, 1991). با توجه به نقش اسیدهای آمینه در ساختمان پروتئین‌ها، و تأثیر در رشد، نگهداری و ترمیم بافت‌های بدن و تأمین انرژی (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000) و با توجه به اثرات گوناگون و متنوعی که نوکلئوتیدها بر واکنش‌های مختلف فیزیولوژیک می‌گذارند این مطالعه با هدف بررسی اثرات این ماده ریز مغذی بر عملکرد رشد و ترکیب اسیدهای آمینه عضله در بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش کار

این تحقیق در مهر ماه ۸۸ در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی قزل برم در ۱۶۰ کیلومتری مرکز استان چهارمحال و بختیاری انجام شد. بچه ماهیان قزل آلای رنگین‌کمان از واحد تکثیر ماهیان با میانگین وزنی ۱۱/۳۵±۰/۳۲ گرم پس از انجام عملیات رقم‌بندی انتخاب شدند. توزیع بچه ماهیان به گونه‌ای انجام شد که از لحاظ بیومس، اختلاف معنی‌داری در شروع آزمایش بین استخرها وجود نداشته باشد. قبل از ذخیره‌سازی، استخرها به وسیله

مواد ضدعفونی کننده نظیر هیپوکلریت سدیم کاملاً ضدعفونی و سپس با آب شستشو داده شدند. ماهیان نیز ابتدا با محلول نمک ۴ درصد ضدعفونی و سپس در داخل ۱۵ استخر بتونی با ابعاد ۲× ۰/۸× ۱ متر مکعبی (آبگیری ۷۰۰ لیتر) به تعداد ۴۰ عدد در هر استخر رهاسازی شدند. بچه ماهیان تهیه شده از کارگاه به مدت یک هفته در این استخرها نگهداری و با جیره ساخته شده فاقد نوکلئوتید غذادهی شدند تا عمل سازگاری صورت پذیرد. اندازه گیری عوامل کیفی آب همچون دمای آب، اکسیژن محلول و pH به صورت هفتگی انجام گرفت. با توجه به تیمارهای تعیین شده، مکمل نوکلئوتید اپتیمون (حاوی CMP, GMP, UMP, IMP, AMP با نسبت مساوی، ساخت شرکت Chemoforma، سوئیس) در ۴ سطح ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵ و۰/۲ درصد به جیره اضافه شد. تیمار پنجم، گروه شاهد بودکه هیچ گونه مکملی به آن اضافه نشد. آزمایش در ۳ تکرار انجام گرفت. جیره ماهیان با استفاده از پودر ماهی به عنوان منبع اصلی پروتئین و انرژی ناخالص ۲۰۲۵ کیلوژول بر کیلوگرم (NRC, 1993) با استفاده از نرم‌افزار لیندو (Lindo copyright 1995, Releases 6.1) فرمول‌بندی شد (جدول ۱). از سلولز، پودر ماهی، آرد گندم و سویا برای تهیه جیره‌هایی با نیتروژن و لیپید یکسان در بین تیمارها استفاده شد (جدول ۲ و ۳). مکمل اپتیمون طبق دستورالعمل شرکت کموفورما ابتدا با آب مخلوط و سپس به جیره پایه اضافه شد. با مخلوط کردن مواد اولیه پس از ۲۰ دقیقه روغن سویا اضافه شد و مجدداً همراه با اضافه کردن آب به میزان لازم به مدت ۲۰ دقیقه با همزن برقی مخلوط شدند. به منظور ساخت پلت (با دانه بندی خوراک ۳-۲/۵ میلی متر)، جیره به چرخ گوشت منتقل شد. پس از پلت‌سازی، پلت‌ها بر روی سینی‌های خشک کن قرار داده شده و به خشک کن در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انتقال داده شدند تا میزان رطوبت دانه‌های غذایی کمتر از ۱۰ درصد گردد. جیره‌ها پس از آماده شدن در ظروف پلاستیکی در دمای ۴ درجه سانتی گراد و دور از نور قرار داده شدند و به منظور غذادهی به ماهیان مورد استفاده قرار گرفتند. غذادهی بچه ماهیان به میزان ۵-۳ درصد وزن بدن و در ۵ وعده در ساعات ۸، ۱۱، ۱۳، ۱۵ و ۱۸ انجام گردید. مدفوع و دیگر مواد باقیمانده هر روز از استخرها سیفون می‌شدند. طول دوره ی پرورش ۸ هفته بوده که هر دو هفته یک بار، ماهیان بیومتری می‌شدند. جهت بیومتری، پس از بیهوش کردن ماهیان به وسیله پودر گل میخک با دوز ۳۰ میلی گرم در لیتر، وزن با دقت ۰/۱ گرم اندازه گیری و ثبت شد. خاطر نشان می‌گردد ۲۴ ساعت قبل از بیومتری، غذادهی به ماهیان قطع می‌گردید.

برای بررسی رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها در هفته چهارم و هفته هشتم از شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی و ضریب رشد ویژه استفاده شد که با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Misra *et al.*, 2006):

افزایش وزن بدن (WG) = $W_2 - W_1$

ضریب رشد ویژه (SGR) = $\frac{\text{Ln } W_2 - \text{Ln } W_1}{\text{وزن اولیه (گرم)} = W_1 \quad \text{وزن ثانویه (گرم)} = W_2}$

جهت تعیین ترکیب اسیدهای آمینه عضله تعداد ۶ عدد ماهی به ازای هر تیمار در پایان آزمایش به طور تصادفی[1] صید و پس از سر زنی، تخلیه شکمی و شستشو، کل عضلات بدن با چرخ گوشت همگن شده و در قوطی‌های جداگانه قرار داده شدند و آماده آنالیز گردید. برای سنجش ترکیب اسیدهای آمینه عضله از دو مرحله هضم (Flynn, 1988) و جداسازی استفاده شد که برای تهیه محلول‌ها و بافرها در مرحله جداسازی از روش Lindroth and Mopper (1979)، استفاده شد. برای بررسی و شناسایی اسیدهای آمینه موجود در نمونه از دستگاه HPLC استفاده شد ضمناً در این روش از ستون کروماتوگرافی نوع OPA به طول ستون ۲۵۰×۴ میلی‌متر و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد استفاده شد و آشکارساز نوع فلورسانس با طول موج برانگیختگی ۳۳۰ نانومتر و طول موج نشری ۴۵۰ نانومتر به کار گرفته شد.

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه ریزی و اجرا گردید. کلیه داده‌های جمع آوری شده در هر مرحله در نرم افزار اکسل ثبت و برخی موارد توصیفی بر حسب نیاز (نظیر بیومتری‌ها برای تعیین مقدار غذادهی جدید) در این برنامه انجام پذیرفت. سایر داده‌ها پس از کنترل همگی آن‌ها به وسیله آزمون کولموگورف-اسمیرنف، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن، جهت مقایسه میانگین مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون‌ها در محیط نرم افزار SPSS، version 11.5 و در سطح خطای ۰/۰۵ انجام شد.

[1] Completely Randomized Design

جدول ۱- ترکیب جیره‌های ساخته شده برای تیمارهای مختلف

اجزای تشکیل دهنده	جیره پایه(٪)	٪ ۰/۰۵	٪ ۰/۱	٪ ۰/۱۵	٪ ۰/۲
پودر ماهی	۴۳	۴۳	۴۳	۴۳	۴۳
آرد گندم	۱۸/۶۵	۱۸/۶۵	۱۸/۶۵	۱۸/۶۵	۱۸/۶۵
سویا	۲۶	۲۶	۲۶	۲۶	۲۶
روغن سویا	۶	۶	۶	۶	۶
مکمل معدنی	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
مکمل ویتامینی	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
ویتامینC	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
ضد قارچ	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی کلسیم فسفات	۱	۱	۱	۱	۱
سلولز	۲	۱/۹۵	۱/۹۰	۱/۸۵	۱/۸۰
مکمل نوکلئوتید	۰	۰/۰۵	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

جدول ۲- آنالیز تقریبی جیره غذایی ساخته شده برای ماهی قزل آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف

تجزیه تقریبی	میزان(٪)
پروتئین	۴۸/۲۵
چربی	۱۸/۸۶
رطوبت	۱۲/۴۱
خاکستر	۱۲/۲۵
کربوهیدرات	۸/۲۳
انرژی قابل هضم (کیلو کا لری بر کیلوگرم)	۲۰۲۵

جدول ۳- درصد اسیدهای آمینه جیره غذایی پایه مورد استفاده برای تغذیه ماهی قزل آلای رنگین کمان

اسیدهای آمینه	میزان (٪)
هیستیدین (His)	۱۷/۲۹ ±۰/۱۱
آرژنین (Arg)	۲/۸۳± ۰/۰۳
ترئونین (Thr)	۵/۵۱±۰/۰۵
والین (Val)	۳/۷۸±۰/۰۷
متیونین (Met)	۰/۵۲±۰/۰۵
ایزولوسین (Ilu)	۴/۹۴±۰/۱۵
لوسین (Leu)	۱/۲۱±۰/۱۱
فنیل آلانین (Phe)	۲/۲۳±۰/۲۲
لایزین (Lys)	۲/۳۷±۰/۳۲
اسید آسپارتیک (Asp)	۱۳/۰۴±۱/۵۶
اسید گلوتامیک (Glu)	۲۱/۱۲±۱/۸۹
سرین (Ser)	۲/۸۴±۰/۱۷
گلیسین (Gly)	۹/۹۹±۰/۴۲
آلانین (Ala)	۷/۹۶±۰/۴۳
پرولین (Pro)	۱/۴۹±۰/۱۹
تیروزین (Tyr)	۱/۹۳±۰/۱۴
سیستئین (Cys)	۰/۹۵±۰/۱۸
مجموع اسیدهای آمینه ضروری (TEAA)	۴۰/۶۸±۲/۱۱
مجموع اسیدهای آمینه غیرضروری (TNEAA)	۵۹/۳۲±۱/۶۲

نتایج

۱- پارامترهای رشد

بر اساس نتایج مندرج در جدول ۴، افزودن نوکلئوتید به جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان سبب بهبود شاخص ضریب رشد ویژه و افزایش وزن نهایی بدن گردیده است. بیشترین میزان افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه در تیمار ۰/۲۰ درصد مشاهده شد که به جز با تیمار ۰/۱۵ درصد با بقیه تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد. در طول دوره پرورش تلفات در هیچ کدام از گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد (Tahmasebi-Kohyani *et al.*, 2010).

۲- ترکیب اسیدهای آمینه عضله

نتایج ترکیب اسیدهای آمینه بافت عضله قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف نوکلئوتید جیره در جدول شماره ۵ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که اسیدهای آمینه هیستیدین، آرژنین، ترئونین، والین، ایزولوسین، لوسین، فنیل آلانین، لیزین، اسیدگلوتامیک، سرین، گلیسین، مجموع تیروزین و فنیل آلانین، مجموع اسیدهای آمینه ضروری و مجموع اسیدهای آمینه غیر ضروری به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) تحت تاثیر سطوح مختلف نوکلئوتید در جیره غذایی قرار دارند.

در مورد اسیدهای آمینه ضروری بیشترین مقدار برای اسیدهای آمینه هیستیدین، ترئونین و سرین در تیمار ۰/۲ درصد مشاهده شد که افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد داشتند ($P<۰/۰۵$). بیشترین میزان اسیدهای آمینه متیونین، لوسین و مجموع اسیدهای آمینه ضروری در تیمار ۰/۲ درصد بدست آمد هر چند که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشتند ($P>۰/۰۵$). بالاترین میزان آرژنین در تیمار ۰/۱۵ درصد مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشت ($P<۰/۰۵$)، بین تیمار ۰/۱۵ و ۰/۲ از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). در اسید آمینه والین بالاترین درصد در تیمار ۰/۱ درصد مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با دیگر گروه‌ها داشت ($P<۰/۰۵$). بیشترین میزان ایزولوسین در گروه کنترل مشاهده شد که بجز با تیمار ۰/۱ درصد با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$). در مورد فنیل آلانین بیشترین میزان در گروه شاهد دیده شد که با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$). بیشترین مقدار اسید آمینه لیزین در گروه شاهد بود که بجز با تیمار ۰/۱۵ درصد با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$).

مجموع اسیدهای آمینه غیر ضروری بالاترین میزان را در تیمار ۰/۰۵ درصد داشت که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$)، کمترین میزان آن در تیمار ۰/۲ درصد مشاهده شد هر چند که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ($P>۰/۰۵$).در مورد اسیدهای آمینه آرژنین، اسید آسپارتیک، آلانین، پرولین، تیروزین، سیستئین و مجموع متیونین و سیستئین هیچ گونه تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$).

جدول ۴- نتایج شاخص‌های رشد بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با نوکلئوتید در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم (میانگین ± SE ,n=3)

رشد / تیمار	شاهد	٪۰/۰۵	٪۰/۱	٪۰/۱۵	٪۰/۲
افزایش وزن بدن (g)	۲۳/۰۳±۰/۸۴[a]	۲۳/۱۰±۰/۶۸[a]	۳۵/۳۷±۰/۲۱[b]	۴۳/۳۶±۰/۹۰[C]	۴۴/۵۶±۰/۶۵[C]
ضریب رشد ویژه (٪)	۱/۱۱±۰/۰۴[a]	۱/۲۵±۰/۰۲[a]	۱/۶۶±۰/۰۶[b]	۱/۸۶±۰/۰۴[c]	۱/۹۱±۰/۰۷[c]

حروف غیر همسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

جدول ۵- نتایج تأثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره غذایی بر ترکیب اسیدهای آمینه بافت عضله دربچه ماهی قزل آلای رنگین کمان (میانگین ± SE ,n=3)

اسیدهای آمینه (٪) / تیمار	صفر(٪)	۰/۰۵ (٪)	۰/۱(٪)	۰/۱۵(٪)	۰/۲(٪)
اسیدهای آمینه ضروری (EAA)					
هیستیدین (His)	۴/۳۳±۰/۰۵^{a}	۴/۷۲±۰/۰۷^{b}	۴/۹۱±۰/۰۵^{bc}	۴/۷۵±۰/۰۸^{bc}	۵/۰۶±۰/۱^{c}
آرژنین (Arg)	۷/۶۳±۰/۰۵^{ab}	۷/۴۷±۰/۱۷^{a}	۷/۷۹±۰/۱^{abc}	۸/۰۵±۰/۰۶^{c}	۷/۹۴±۰/۱۲^{bc}
ترئونین (Thr)	۴/۶۴±۰/۰۹^{a}	۴/۸۴±۰/۰۳^{ab}	۴/۸۶±۰/۰۲^{ab}	۵/۰۱±۰/۱۲^{b}	۵/۰۶±۰/۱۵^{b}
والین (Val)	۵/۰۷±۰/۰۴^{a}	۵/۳۷±۰/۰۲^{b}	۵/۴۲±۰/۱۱^{b}	۵/۰۵±۰/۱^{a}	۵/۰۴±۰/۰۶^{a}
متیونین (Met)	۱/۷۱±۰/۰۹	۱/۴۳±۰/۰۴	۱/۵۱±۰/۰۸	۱/۶۲±۰/۰۸	۱/۶۸±۰/۱۵
ایزولوسین (Ilu)	۴/۴۸±۰/۰۶^{b}	۴/۳۴±۰/۰۷^{ab}	۴/۲۴±۰/۰۲^{a}	۴/۴۸±۰/۰۶^{b}	۴/۳۶±۰/۰۴^{ab}
لوسین (Leu)	۷/۹۸±۰/۱۰^{b}	۷/۷۸±۰/۰۸^{b}	۷/۵۱±۰/۰۵^{a}	۷/۹۳±۰/۰۴^{b}	۷/۷۹±۰/۰۵^{b}
فنیل آلانین (Phe)	۴/۸۲±۰/۰۶^{b}	۴/۱۹±۰/۰۷^{a}	۴/۳۹±۰/۱۲^{a}	۴/۱۶±۰/۰۳^{a}	۴/۴۰±۰/۱۴^{a}
لایزین (Lys)	۸/۸۴±۰/۰۳^{c}	۸/۳۵±۰/۱۲^{a}	۸/۵۵±۰/۱۲^{ab}	۸/۷۶±۰/۰۵^{bc}	۸/۵۵±۰/۰۷^{ab}
اسیدهای آمینه غیر ضروری (NEAA)					
اسید آسپارتیک (Asp)	۹/۸۵±۰/۰۲	۹/۹۱±۰/۰۹	۹/۷۸±۰/۰۸	۹/۹۷±۰/۱۸	۹/۷۷±۰/۰۵
اسید گلوتامیک (Glu)	۱۶/۴۸±۰/۳۳^{ab}	۱۶/۹۱±۰/۰۱^{b}	۱۶/۳۷±۰/۰۷^{ab}	۱۶±۰/۰۴^{a}	۱۶/۳۲±۰/۳۳^{ab}
سرین (Ser)	۳/۹۴±۰/۰۸^{a}	۴/۰۸±۰/۰۳^{ab}	۴/۲۴±۰/۰۹^{b}	۴/۱۴±۰/۰۴^{ab}	۴/۲۲±۰/۰۹^{b}
گلیسین (Gly)	۵/۵۵±۰/۰۶^{ab}	۵/۸۱±۰/۰۳^{b}	۵/۳۹±۰/۱۶^{a}	۵/۶۲±۰/۱^{ab}	۵/۳۸±۰/۰۶^{a}
آلانین (Ala)	۵/۶۵±۰/۱۵	۵/۴۷±۰/۰۹	۵/۶۴±۰/۲	۵/۵۹±۰/۰۹	۵/۵۳±۰/۰۴
پرولین (Pro)	۴/۲۶±۰/۰۴	۴/۴۳±۰/۰۳	۴/۴۸±۰/۱۶	۴/۲۴±۴/۰۴	۴/۴۰±۰/۱
تیروزین (Tyr)	۳/۸۶±۰/۰۶	۳/۹۹±۰/۱۵	۴±۰/۱	۳/۷۸±۰/۰۲	۳/۷۳±۰/۱
سیستئین (Cys)	۰/۹۱±۰/۰۴	۰/۹۰±۰/۰۳	۰/۹۲±۰/۰۶	۰/۸۴±۰/۰۵	۰/۸۷±۰/۰۲
Met+Sys	۲/۶۲±۰/۱۱	۲/۳۳±۰/۰۴	۲/۴۳±۰/۰۷	۲/۴۶±۰/۱۱	۲/۵۰±۰/۱۴
Tyr+PHE	۸/۶۷±۰/۰۷^{b}	۸/۱۸±۰/۲^{ab}	۸/۳۹±۰/۲۱^{ab}	۷/۹۵±۰/۰۴^{a}	۸/۱۴±۰/۲۱^{ab}
TEAA	۴۹/۵۰±۰/۳۱^{bc}	۴۸/۴۹±۰/۱۹^{a}	۴۹/۱۸±۰/۰۲^{b}	۴۹/۸۲±۰/۰۵^{c}	۴۹/۸۸±۰/۰۵^{c}
TNEAA	۵۰/۵۰±۰/۳۱^{ab}	۵۱/۵۱±۰/۱۹^{c}	۵۰/۸۲±۰/۰۲^{b}	۵۰/۱۸±۰/۰۵^{a}	۵۰/۱۲±۰/۰۵^{a}

حروف غیر همسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

بحث

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.*, 2001). نتایج حاصل از این تحقیق در هفته هشتم نشان داد که افزودن نوکلئوتید جیره در سطح ۰/۲ درصد به ترکیب غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان منجر به افزایش معنی‌داری در وزن نهایی بدن و ضریب رشد ویژه در مقایسه با گروه کنترل شده است (Tahmasebi-Kohyani *et al.*, 2010). مطالعات گوناگون بر گونه‌های مختلف حکایت از اثرات مثبت و در برخی گونه‌های دیگر بدون اثر بودن نوکلئوتید جیره در رشد ماهیان دارد.

Burrells و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (وزن اولیه ۴۳ گرم) به میزان ۰/۲۵ درصد سبب افزایش وزنی به میزان ۲۲- ۱۵ درصد نسبت به گروه شاهد در مدت ۸ هفته شد، برتری شاخص‌های رشد حاصل از تغذیه با نوکلئوتید در این مطالعه حتی بعد از ۳ هفته گزارش شد. Adamek و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که افزودن نوکلئوتید جیره به ترکیب غذایی قزل آلای رنگین کمان به میزان ۰/۶۲ و ۲/۵ گرم بر کیلوگرم سبب افزایش رشد به ترتیب ۸/۹ و ۱۰/۵ درصد و افزایش ضریب رشد ویژه به ترتیب ۹ و ۱۳ درصد در این ماهی شده است. نتایج این تحقیقات در ارتباط با افزایش رشد با نتایج تحقیق حاضر منطبق است. Rumsey و همکاران (۱۹۹۲) گزارش نمودند که افزایش میزان

غذای مصرفی ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با نوکلئوتید جیره، احتمالاً به دلیل جاذب شیمیایی بودن نوکلئوتیدها است که منجر به خوش خوراک شدن غذا و در نتیجه موجب افزایش بلع و رشد بیشتر می‌گردد. بالا بودن میزان غذای مصرفی در تیمار ۰/۲ درصد می‌تواند دلیل بر خوش خوراکی یا افزایش اشتهای ماهی ناشی از مصرف نوکلئوتیدها باشد. مطالعات گوناگون بر گونه‌های مختلف حکایت از اثرات مثبت و در برخی گونه‌های دیگر بدون اثر بودن نوکلئوتید جیره در رشد ماهیان دارد، برای مثال، بهبود عملکرد رشد در گونه‌های شوریده قرمز (*Sciaenops ocellatus*) در تحقیقات Li و همکاران در سال (۲۰۰۷a) و میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*) توسط Li و همکاران در سال (۲۰۰۷b) مشاهده شد، این در حالی است که در تحقیقاتی دیگر، هیچ گونه اثر معنی داری در گونه‌های شوریده قرمز (Li *et al.*, 2005) و هیبرید باس راه راه (*Morone saxatili × Morone chrysops*) (Li *et al.*, 2004) مشاهده نشد. Gatlin و Li (۲۰۰۶) بیان نمودند که تفاوت در نوع گونه ، دوره غذادهی، مرحله زندگی و نوع مکمل نوکلئوتیدی می تواند علت تفاوت عملکرد رشد در ارتباط با سطح نوکلئوتید در جیره باشد.

در مطالعه حاضر مشخص شد که نوکلئوتید جیره تاثیر معنی‌داری بر پروتئین عضله دارد (Salimi-Khorshidi, 2011). مطالعات مختلف نشان داده است که نوکلئوتید جیره بر سنتز پروتئین موثر است چرا که اضافه کردن نوکلئوتید جیره سبب حفظ و ابقای مقدار RNA در سلول‌های کبدی می‌شود و از آنجایی که بیشترRNA کبد (۸۵٪) از نوع (rRNA) یا همان RNA ریبوزومی است احتمالاً با اضافه کردن نوکلئوتید در جیره سنتز پروتئین افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد (Grimble, 1996). Fontana و همکاران در سال ۱۹۹۸ با بررسی اثر نوکلئوتید جیره در موش‌ها بیان کردند که نوکلئوتید جیره با تغییر در ذخیره سلولی نوکلئوتیدها می‌تواند در بیان ژنتیکی تعدادی از ژن‌ها نقش داشته باشد. در موش-های تغذیه شده با نوکلئوتید جیره در مقایسه با گروه کنترل، Novakو همکاران در سال۱۹۹۴ به افزایش میزان پروتئین و تری گلیسرید پلاسما دست یافتند. همچنین Perez و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که نوکلئوتیدهای جیره با بهبود فسفوریلاسیون اکسایشی، انتقال الکترون و تغییرات شکل کاهشی و اکسایشی NAD، منجر به تحریک ساخت و ذخیره سازی انرژی در سلول‌ها می‌شوند بیشتر انرژی تولید شده توسط سلول برای تحریک و راه اندازی سنتز پروتئین استفاده می‌شود. در مطالعه آنها میزان پروتئین پلاسما در موش‌های تغذیه شده با نوکلئوتید جیره به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. در مطالعه حاضر، درپایان دوره پرورش، افزایش معنی‌داری در مقدار پروتئین عضله بین ماهی‌های تغذیه شده با نوکلئوتید جیره در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد که در این میان تیمار ۰/۲ درصد بالاترین میزان پروتئین لاشه را نشان داد که با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشت و نشان دهنده تاثیر مثبت نوکلئوتید جیره بر متابولیسم پروتئین است (Salimi-Khorshidi, 2011).

حیوانات و ماهی‌ها جهت تأمین اسیدهای آمینه ضروری و انرژی به منابع غذایی نیاز دارند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد با افزودن نوکلئوتید در جیره غذایی قزل آلای رنگین کمان میزان برخی از اسیدهای آمینه ضروری به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است ($P< ۰/۰۵$). بالاترین میزان مجموع اسیدهای آمینه ضروری در تیمار ۰/۲ درصد مشاهده شد. Rumsey و همکاران در سال ۱۹۹۲ بیان کردند که قزل آلای رنگین کمان توانایی استفاده و استخراج اسیدهای نوکلئیک منابع غذایی را برای رشد، پایداری نیتروژن و احتمالاً سنتز اسیدهای آمینه ضروری را دارا باشد. تحقیقات وی نشان داد که ارتباط مثبتی بین RNA جیره و حفظ نیتروژن در قزل آلای رنگین کمان وجود دارد. در بدن ماهیان از اسیدهای نوکلئوتید برای تأمین نیتروژن لازم در ساخت بازهای پورین و پریمیدین استفاده می‌شود. در واقع می‌توان بیان کرد نوکلئوتیدهای غذایی با تأمین نیتروژن برای فرآیندهای متابولیکی سبب کاهش اکسیداسیون اسیدهای آمینه می‌باشند و با تأمین انرژی برای چرخه کربس سبب صرفه جویی در مصرف اسیدهای آمینه در مراحل حد واسط چرخه کربس می‌شوند.

Fournier و همکاران هم در سال ۲۰۰۲، بیان داشتند که میزان فعالیت آنزیم گلوتامات دهیدروژناز در قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با مکمل‌های اسید نوکلوئیک، کاهش یافته بود. با توجه به نقش این آنزیم در اکسیداسیون اسیدهای آمینه برای تأمین انرژی در مراحل چرخه ی کربس میتوان بیان کرد، مکمل‌های نوکلئوتیدی در جیره غذایی گونه مذکور سبب ذخیره آمینواسیدها می‌شود. در مطالعه حاضر، با توجه به اینکه اثر نوکلئوتید جیره بر ترکیب اسیدهای آمینه عضله ماهیان برای اولین بار گزارش می‌گردد لذا لازم است مطالعات تکمیلی در خصوص اثرات همه جانبه آن و نقش آن در

متابولیسم ترکیبات عضله انجام پذیرد.

نتایج این تحقیق نشان داد اضافه کردن نوکلئوتید به جیره قزل‌آلای رنگین کمان به میزان ۰/۲ و ۰/۱۵ درصد اثرات مثبتی بر ترکیب اسیدهای آمینه عضله دارد. با در نظر گرفتن هزینه‌های مربوط به اضافه کردن نوکلئوتید در جیره ماهیان، استفاده از میزان ۰/۱۵ درصد در جیره روزانه جهت بهینه نمودن برخی پارامترهای رشد و پاسخ‌های بیوشیمیایی، پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدر دانی

از دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به جهت پشتیبانی مالی این پژوهش تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

Afshar-Mazandaran, N., 2002. A practical guide to nutrition, feeds and drugs of aquatic animals in Iran. Nourbakhsh, Tehran, 216 p.

Adamek, Z., Hamackova, J., Kouril, J., Vachta, R., Stibranyiova, I., 1996. Effect of Ascogen probiotics supplementation on farming success in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and wells (*Silurus glanis*) under conditions of intensive culture. Krmiva (Zagreb) 38,11–20.

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

Burrells, C., William, P.D., Southage, P.J., Wadsworth, S.L., 2001. 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.

Cosgrove, M., 1998. Nucleotides. Nutrition 14, 748–751.

FAO (Food and Agriculture Organisation), 2008. State of world aquaculture. FAO fisheries Technical Paper 176.

Flynn, K.J., 1988. Some practical aspects of measurements of dissolved free amino acids in natural waters and within microalgae by the use of HPLC. Chemistry and Ecology 3, 269-293.

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

Fournier, V., Gouillou-Coustans, M.F., Métailler, R., Vachot, C., Moriceau, J., Le Delliou, H., Huelvan, C., esbruyeres, E., Kaushik, S.J., 2002. Nitrogen utilisation and ureogenesis as affected by dietary nucleic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and turbot (*Psetta maxima*). Fish Physiology and Biochemistry 26, 177–188.

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

Hardy, R.W., 1991. Pacific Salmon. *Oncorhynchus* spp. In: Wilson, R.P. (ed) Handbook of Nutrient Requirement of Finfish. CRC Press. Boka Ration, pp, 105-121.

Hertrampf J.W., Piedad-pascual F., 2000. Hand book on ingredients for aquaculture feeds. Kluwer Academic Publishers, 573 p.

Lindroth P., Mopper K., 1979. High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with o-phthaldialdehyde. Analytical chemistry, 51,1667–74.

Li, P., Lewis, D.H., 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 Shellfish Immunology 16, 561– 569.

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

Li, P., Gatlin III, D.M., 2007a. Dietary Supplementation of a Purifed Nucleotide Mixture Trasiently Enhanced Growth and Feed Utilization of Juvenile Red Drum, (*Sciaenops ocellatus*). World Aquaculture Society 38, 281-286.

Li. P., Lawrence, A.L., Castille, F.L., Gatlin III, D.M. 2007b: Preliminary evaluation of a purified nucleotide mixture as a dietary supplement for pacific white shrimp *Litopenaeus vannemei* (Boone). Aquaculture Research 38, 887-890.

Misra, C.K., Kumar, D.B., Mukherjee, S.C., Pattnaik, P., 2006: Effect of long term administration of dietary â-glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. Aquaculture 255, 82–94.

Novak, D.A., Carver, J.D., Barness, L.A., 1994. Dietary nucleotides affect hepatic growth and composition in the weanling mouse. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 18, 62–66.

NRC (National Research Council), 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academic Press, Washington, D.C, USA, 114 p.

Perez, M.J., Sanchez-Medina, F., Torres, M., Gil, A., Suarez, A., 2004. Dietary Nucleotides Enhance the Liver Redox State and Protein Synthesis in *Cirrhotic Rats*. Journal of Nutrition 134, 2504–2508.

Rumsey, G.L., Winfree, R.A., Hughes, S.G., 1992. Nutritional value of dietary nucleic acids and purine bases to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 108, 97–110.

Salimi-Khorshidi, N., 2011. Effect of Dietary Nucleotide Levels on Body Composition and Fatty Acid Profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). M.Sc thesis. Khorramshahr University of Marine Science and Technology. Faculty of Marine Natural Resources. Department of Fisheries, 53 p.

Tahmasebi-Kohyani, A., Keyvanshokooh, S., Nematollahi, A., Mahmoudi, N., Pasha-Zanoosi, H., 2010. Dietary administration of nucleotides to enhance growth, humoral immune responses, and disease resistance of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings, Fish and Shellfish Immunology 30, 189-193.

Effects of Dietary Nucleotides on Amino Acid Profile of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Muscle

N. Salami Khorshidi[1], S. Keyvanshokooh[1*], A. Parviz Salati[1], M. Zakeri[1], N. Mahmoudi[2] and A. Tahmasebi-Kohyani[1]

[1] Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran
[2] Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Iran

(Received: 29-Jan.-2012 – Accepted: 19-Jun.-2012)

Abstract

Effects of different levels of dietary nucleotides (NT) were studied on muscle amino acid profile of rain bow trout with an average weight 11.35±0.32 over 8 weeks. This experimental was carried out in 700 L circular tanks with 40 fish per tank. NT was added to the diet at the rates of 0.0, 0.05, 0.1, 0.15 and 0.2%. Fish were fed 5 times a day at a rate of 3-5% body weight. After 8 weeks of feeding, the fish fed 0.2% NT showed higher SGR and WG (%) compared to the control group. No significant differences were observed in fish fed 0.2% NT compared to the fish fed 0.15% NT. The results showed that dietary supplementation of NT has significant effect on His, Arg, Thr, Val, Ilu, Leu, Phe, Lys, Glu, Ser, Gly, Tyr+Phe, TEAA and TNEAA. In fish fed 0.2% NT, total essential amino acid (EAA) content was significantly higher among the experimental groups.

Key words: Nutrition, Nucleotides, Amino acid composition, Rain bow trout, *Oncorhynchus mykiss*

*Corresponding author: Tel: +98 6324234941 Fax: +986324234725 Email: keyvan56@yahoo.com