تغذیه ماهی با مکمل نوکلئوتید: حال و آینده

محمود حافظیه[1*]، شهرام دادگر[1]

۱- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

*jhafezieh@yahoo.com

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۳

چکیده

نقش نوکلئوتیدها و متابولیت‌ها در جیره غذایی ماهیان مختلف، استخوانی، خاویاری، سردابی، گرمابی، دریایی و زینتی محدود به ۲۵ سال گذشته بوده و اطلاعات کمی در مورد آن جمع‌آوری شده است. علاوه بر نقش موثر آن‌ها بر دلپذیر نمودن غذا، تاثیر بر رفتار تغذیه‌ای ماهی و بهینه‌سازی سنتز زیستی اسیدهای آمینه غیرضروری، این نوکلئوتیدهای بیرونی به عنوان مکمل‌های غذایی بر سیستم ایمنی و مقاومت بدن آبزیان پرورشی به بیماری‌ها تاثیر مثبت از خود بجای گذاشته‌اند. تحقیقات انجام‌یافته استفاده از نوکلئوتیدها در جیره غذایی ماهیان پرورشی مولد، نه تنها نشان از بهبود رشد مراحل ابتدایی تکوین زیستی بچه‌ماهیان داشته بلکه، از طریق تقویت مولدین به افزایش کیفیت لارو حاصل از آن‌ها، تغییر ساختار روده، افزایش تحمل نسبت به تنش‌ها و تلفیق پاسخ‌های ایمنی درونی و سازشی آن‌ها انجامیده است. ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مکمل نوکلئوتیدی به طور عموم نسبت به عفونت‌های ویروسی، باکتریایی و انگلی مقاوم‌ترند. علی‌رغم بی‌ثباتی گاه و بی‌گاه در پاسخ‌های فیزیولوژیکی ماهی، استفاده از مکمل نوکلئوتیدی در جیره غذایی ماهی‌های مختلف، منافع ونتایج مثبتی را به همراه داشته است. اگر چه مطالعات تغذیه با نوکلئوتیدها در جیره غذایی آبزیان پرورشی با سئوالات اساسی بدون پاسخ مواجه و هنوز مراحل ابتدایی خود را طی می‌کند، مشاهدات حاصل از نتایج آزمایشات نشان داده است که این ترکیبات به عنوان مواد غذایی نیمه‌ضروری در تضمین بهبود زیست آبزیان پرورشی نقش دارند. دلایل هیپوتز شده در خصوص این ادعا زمانی اثبات می‌شوند که برای سنتز برخی از بافت‌های معین (مثل لنفوئید)، هزینه‌کرد انرژیایی سنتز، واکنش‌های ایمنی غدد درون‌ریز و تلفیق طرح‌های بیان ژن، سطوح مشخصی از نوکلئوتیدها برای انجام فرآیندهای فیزیولوژیکی موجود لازم خواهند بود. با این وجود، هنوز شکاف‌های زیادی در دانش فعلی کاربرد نوکلئوتیدهای بیرونی بر ماهی منجمله در موضوعات گوارش، هضم و جذب، متابولیسم، تاثیر آن‌ها بر فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی به ویژه در بیان ایمنوژن‌ها وتلفیق ایمنوگلوبولین تولیدی وجود دارند. اطلاعات بیش‌تر در خصوص ارتباط پاسخ سن و اندازه آبزی، دوز مناسب، مدت زمان مصرف و نوع مدیریت استفاده از این مکمل‌ها مورد نیاز است و به همین دلیل توصیه شده است در این خصوص تحقیقات بیش‌تری انجام شود.

کلمات کلیدی: نوکلئوتید، مکمل، آبزیان پرورشی، تغذیه.

مقدمه

نوکلئوتیدها دارای فعالیت‌های فیزیولوژیک و زیستی ضروری از جمله رمزگذاری و رمزگشایی اطلاعات ژنتیکی، میانجی‌گری در انرژی متابولیسمی و ارسال سیگنال‌های سلولی هستند و بطور هم‌زمان به عنوان کوآنزیم‌ها، تاثیرگذارهای آلوستریک و آگونیست‌های سلولی محسوب می‌شوند (Carver and Walker, 1995; Cosgrove, 1998). با این وجود، نقش نوکلئوتیدهایی که از طریق جیره غذایی به بدن وارد می‌شوند، سال‌ها است که مورد مناقشه می‌باشد، زیرا در زمان کمبود آن‌ها در مدل‌های انسان یا حیوانی، نقص‌های برجسته و علائم کلاسیک منفی مشاهده نشده و به همین دلیل تا سال‌های گذشته از آن‌ها به عنوان موادغذایی غیرضروری یاد می‌شده است. با این حال، این نگاه در طی تحقیقات مربوط به سال‌های اخیر با تنش‌هایی مواجه شده که نشان داده است کمبود آن‌ها به نقص عمکرد کبد، قلب، روده کوچک و فعالیت بخش‌های سیستم ایمنی خلل وارد نموده است (Grimble and Westwood, 2000a). اثرات تلفیقی نوکلئوتیدهای جیره بر بلوغ، فعالیت و تکثیر، فاگوسیتوز ماکروفاژی، پاسخ‌های ایمنوگلوبولین و هم‌چنین بیان ژنی سیتوکینزهای معین لنفوسیت‌ها در مورد انسان‌ها و حیوانات گزارش شده است (Gil, 2002). مکمل‌های نوکلئوتیدی به خصوص در تحقیقات کلینیکی تغذیه‌ای و تکوین غذاهای فراسودمند انسانی بسیار حائز اهمیت می‌باشند. در کنار کاربرد نوکلئوتیدهای بیرونی در شرایط کلینیکی هم‌چون هپاتوکتومی جزیی (Grimble, 1996) و یا به منظور تقویت نوکلئوتیدی ترکیبات شیر در مادران باردار،اداره دارو و غذای آمریکا استفاده از نوکلئوتیدها مکمل را بسیار توصیه و تجویز نموده است (Aggett et al., 2003).

اگرچه اولین کاربرد ارزیابی مکمل‌های نوکلئوتیدی جیره غذایی ماهیان به دهه ۱۹۷۰ باز می‌گردد، تحقیقات آن زمان بیش‌تر بر اثرات جذب مواد شیمیایی این ترکیبات تاکید داشتند (Mackie, 1973; Kiyohara et al., 1975; Mackie and Adron, 1978). توسعه جهانی کاربرد نوکلئوتیدها در تغذیه ماهیان پرورشی بعد از گزارش Burrells و همکاران (۲۰۰۱a,b) اتفاق افتاد که نشان دادند مکمل نوکلئوتیدی جیره غذایی باعث افزایش مقاومت سالمون ماهیان به عفونت‌های باکتریایی، ویروسی و انگلی شده و هم‌چنین باعث بهبود تاثیر واکسیناسیون و ظرفیت تنظیم اسمزی آن‌ها خواهد شد. تا امروز، همواره تحقیقات تاثیر مثبت استفاده از نوکلئوتیدهای مکمل شده جیره در مدیریت سلامت ماهیان مختلف را نشان داده است (جدول ۱). اگر چه اغلب توضیحات پیشنهادی هنوز در مرحله هیپوتز باقی‌مانده و تحقیقات سیستماتیک بر روی ماهیان تا کامل شدن راه درازی را در پیش دارد. طی دهه گذشته و به دلیل محدودیت‌هایی که اداره دارو و غذای آمریکا و کمیسیون اروپا در مصرف آنتی‌بیوتیک‌هااعمال نموده‌اند (Patterson and Burkholder, 2003)، تحقیقات ایمنی- تغذیه‌ای بر روی آبزیان بسیار مهم جلوه داده است (Gatlin, 2002). تحقیق روی نوکلئوتیدهای غذایی در ماهی به منظور نشان دادن واکنش‌های بین تغذیه و پاسخ‌های فیزیولوژی و هم‌چنین اعمال راه حل‌های عملیاتی در کاهش اثر خطرات بیماری-های عفونی در صنعت آبزی پروری بسیار ضروری به نظر می‌رسند. در این مقاله به طور مروری به ارزیابی دانش فعلی دانشمندان علم تغذیه و فیزیولوژی بر روی نوکلئوتیدهای تغذیه‌ای درماهیان و مقایسه آن با حیوانات خشکی پرداخته شده است. هم‌چنین آینده این ترکیبات مورد نقد و بررسی قرار گرفته است.

جدول ۱: تحقیات انجام شده روی نوکلئوتیدهای (NT) مکمل جیره غذایی ماهیان

شکل نوکلئوتید	دوز و رژیم غذایی	طول دوره	گونه	اندازه ابتدایی ماهی	تاثیر	منابع
آسکوژن - اس	۲و ۵ گرم در هر کیلو گرم غذا	۱۶ هفته	تیلاپا هیبرید	۲۱ روزه	افزایش رشدو بقا	(۱)
آسکوژن	۵ گرم	۱۲۰ روز	تیلاپیا هیبرید	۳۰ روز	افزایش تیتر آنتی بادی بعد از واکسیانسیون و افزایش پاسخ میتوژنیک لنفوسیتی	(۲)
آسکوژن	۰/۶۲، ۲/۵ و ۵ گرم بر حسب ۱٪ وزن بدن در هر روز	۳۷ روز	قزل آلا رنگین کمان	۱۷۰-۱۶۳ گرم	افزایش رشد	(۳)
اوپتیون	۲ گرم در کیلو گرم غذا۰/۰۳ درصد NT ۲٪ وزن بدن در هر روز	۳ هفته	قزل آلا رنگین کمان	۲۱۷ گرم	افزایش بقا حتی در معرض بیماری عفونی *V.anguillarum*	(۴)

شکل نوکلئوتید	دوز و رژیم غذایی	طول دوره	گونه	اندازه ابتدایی ماهی	تاثیر	منابع
	۲ گرم در کیلو گرم غذا۰/۰۳ درصد NT ۱٪ وزن بدن در هر روز	۲ هفته	قزل آلا رنگین کمان	۵۵-۵۳ گرم	افزایش بقا حتی در معرض ویروس کم خونی سالمون	
	۲ گرم در کیلو گرم غذا۰/۰۳ درصد NT ۲٪ وزن بدن در هر روز	۳ هفته	کوهو سالمون	۱۰۰ گرم	افزایش بقا حتی در معرض بیماری عفونی *Piscirickettsia salmonis*	
	۲ گرم در کیلو گرم غذا۰/۰۳ درصد NT ۲٪ وزن بدن در هر روز	۳ هفته	سالمون آتلانتیک	۶۰ گرم	کاهش عفونت شیشک دریایی	
اپتیمون	۲ گرم در کیلو گرم غذا۰/۰۳ درصد NT ۵/ ۱٪ وزن بدن در هر روز	۳ هفته قبل از واکسیناسیون و ۵ هفته بعد از واکسیناسیون	سالمون آتلانتیک	۹/۶±۳۴/۷ گرم	افزایش تیتر آنتی بادی، کاهش مرگ و میر	(۵)
	۲ گرم در کیلو گرم غذا۰/۰۳ درصد NT ۵/ ۱٪ وزن بدن در هر روز	۸ هفته	سالمون آتلانتیک	۳±۴۳ گرم	افزایش کلرید پلاسماو افزایش رشد	
	۲ گرم در کیلو گرم غذا۰/۰۳ درصد NT	۱۰ هفته	سالمون آتلانتیک	۲۰۵ گرم	افزایش چین روده	
آنزیم هضم کننده RNA مخمر	۱۵ میلی گرم به ازای هر ماهی با از طریق فرو کردن لوله در حنجره	۳ روز	کپور معمولی	۱۰۰ گرم	افزایش فاگوسیتوز، افزایش تنفس پشت سر هم، افزایش کمپلمان، افزایش لیزوزیم، کاهش عفونت *A. hydrophila*	(۶)
اپتیمون	نامشخص	۱۲۰ روز	قزل آلا رنگین کمان همه ماده	۱۰۰-۸۰ گرم	افزایش لنفوسیت B، افزایش مقاومت به ویروس IPN، کاهش کورتیزول پلاسما،	(۷)
اپتیمون	۲ گرم در کیلو گرم غذا۰/۰۳ درصد NT تا حد سیری روزانه	۱۵ هفته	توربوت	۵/۱±۱۲۰/۹ گرم	تغییر بیان ایمنوژن در بافت های مختلف	(۸)
آسکوژن پی	۵ گرم در کیلو گرم غذا با مقدار ثابت تا حد سیری روزانه	۷ هفته	باس مخطط هیبرید	۹/۱ و ۷/۱ گرم	افزایش تولید رادیکال اکسیداتیو نوتروفیل، افزایش بقا بعد از چالش با *Streptoccus iniae*	

(1) Ramadan and Atef, 1991- Chemoforma August, Switzerland
(2) Ramadan et al., 1994- Chemoforma August, Switzerland
(3) Adamek et al., 1996 - Chemoforma August, Switzerland
(4) Burrells et al., 2001a- Chemoforma August, Switzerland
(5) Burrells et al., 2001b- Chemoforma August, Switzerland
(6) Sakai et al., 2001 – Amano Seiyaku Co-op, Tokyo, Japan
(7) Leonardi et al., 2003- Chemoforma August, Switzerland
(8) Li et al., 2004a,b- Canadian Biosystem Inc. Calgary Canada

بیوشیمی نوکلئوتیدها

نوکلئوتیدها در بردارنده یک باز پورین یا پیرامیدین، یک قند ریبوز یا ۲- داکسی ریبوز و یک یا چند گروه فسفر می‌باشند. واژه نوکلئوتید در این متن نه تنها به شکل خاصی از ترکیبات خاص اطلاق می‌شود، بلکه همچنین به همه اشکالی که در بردارنده بازهای پورین و پیرامیدین هستند باز می‌گردد. بازهای اصلی پورین شامل آدنین، گوانین، هیپوگزانتین و گزانتین و نوکلئوتیدها از طریق یک اتصال گلیکوسیدیک بین n-8 نیتروژن و C-1’ کربن پنتوز، جایی که C-5’ هیدروکسیل با گروه‌های فسفوریل استر می‌شود، به وجود می‌آید (Rudolph, 1994). بازهای پیرامیدین اصلی نیز شامل

اوراسیل، تیمین و سیتوزین است و شکل‌گیری نوکلئوتیدها نیز به طریق مشابه گفته شده می‌باشد.

پورین‌ها و پیرامیدین‌ها یا مجددا ساخته می‌شوند و یا از طریق مسیرهای بازیافتی به دست می‌آیند (Rudolph, 1994; Carver and Walker 1995; Grimble and Westwood, 2000a). حلقه‌های پورین در سیتوزول سلول‌های پستانداران و از گلیسین، آسپارتات، گلوتامین، و مشتقات تتراهیدروفولیت و دی‌اکسیدکربن با ورودی انرژی قابل ملاحظه‌ای ساخته می‌شوند. حال آن که پیرامیدین‌ها از آسپارتات، گلوتامین و دی‌اکسیدکربن در سیتوزول و میتوکندری سلول‌های پستانداران ساخته می‌شوند. احتمالا همین مسیرها در ماهی نیز عملکرد دارند. مسیرهای بازیافتی باعث حفاظت انرژیایی و نگه‌داری از هوموستازی نوکلئوتیدی می‌شوند. در تحقیقات بر روی پستانداران مشخص شده که مسیرهای مجدد متفاوتی در بین بافت‌های مختلف وجود دارند و ممکن است به طور معنی‌داری به وسیله احتیاجات متابولیکی یا فعالیت‌های فیزیولوژیکی تحت‌تاثیر قرار گرفته باشند. هر چند این اطلاعات در مورد ماهی نیاز به تایید دارند. مسیر تجدید نوکلئوتید در گلبول‌های قرمز، لنفوسیت‌ها، قلب و مغز پستانداران به طور ابتدایی به استفاده از مسیرهای بازیافتی وابسته هستند. مشخص شده که نوکلئوتیدهای رژیم غذایی باعث تعدیل متابولیسم نوکلئوتید کبدی می‌شوند (Lo´pez-Navarro et al., 1995). کبد به طور منحصر به فرد به القائات سریع مصرف نوکلئوتیدی سازش پیدا می‌کند (Grimble and Westwood, 2000a) و این اندام یکی از مهم‌ترین اندام‌ها برای ذخیره نوکلئوتید و حمل بین اندامی در جهت رفع نیازهای فیزیولوژیکی محسوب می‌شود.

هضم و جذب نوکلئوتیدها و متابولیت‌های وابسته

به طور طبیعی نوکلئوتیدهای موجود در تمام غذاهای با منشاء حیوانی و گیاهی به عنوان نوکلئوتیدهای آزاد و اسید نوکلئیک شناخته شده‌اند. غلظت‌های RNA و DNA در غذاها به طور کلی به چگالی سلولی آن‌ها بستگی دارد (Gil, 2002). Clifford و Story (۱۹۷۶) محتوای پورین‌ها وRNA در بعضی مواد غذایی از جمله گوشت اندام‌های مختلف، غذاهای دریایی و لگوم‌های خشک شده را تعیین و گزارش نمودند Devresse (۲۰۰۰). نیز محتوای کلی (بعد از هیدرولیز کامل) بازهای پورین و پیرامیدین ترکیبات غذاهای دریایی هم‌چون آرد ماهی (۱/۴٪) آرد ماهی به صورت کیک فشرده (۰/۴٪)، بخش‌های مایع ماهی (۲/۸٪)، مخمر (۰/۹٪)، عصاره مخمر (۲/۳٪) و پروتئین تک‌سلولی (۲/۱٪)را گزارش نمود. Rumseyو همکاران) ۱۹۹۲) نشان دادند که ۲۰-۱۲٪ کل نیتروژن در مخمر آب‌جو *Saccharomyces cerevisiae* که یک نوع پروتئین تک‌سلولی است و به عنوان غذای آبزیان مورد استفاده دارد، می‌تواند با نیتروژن RNA به خصوص بازهای پورین و پیرامیدین نوکلئوپروتئین‌ها ترکیب شود. براساس گزارش تحقیقات روی پستانداران (Quan and Uauy, 1991)، نوکلئوپروتئین‌ها به وسیله آنزیم پروتئازها به پپتیدها و اسیدهای نوکلئیک تجزیه می‌شوند. اسیدهای نوکلئیک نیز به وسیله آنزیم‌های نوکلئاز به نوکلئوتیدها شکسته می‌شود. گروه‌های فسفات نوکلئوتیدها با آنزیم فسفاتاز قلیایی روده به نوکلئوسیدها منتقل می‌شوند. قندها نیز ممکن است به وسیله نوکلئوسیدازها شکسته و محصول بازهای پورین آزاد و پیرامیدین به دست آیند. نوکلئوسیدها و بازهای نیتروژنوس به وسیله مخاط روده جذب می‌شوند. مطالعات بر روی انسان و موش نشان داد اختلافات خاص گونه‌ای در هضم و جذب نوکلئوتیدهای بیرونی وجود دارد. انسان‌ها ترکیبی از نوکلئوتیدهای حد واسط را جذب می‌کنند، حال آن که موش نوکلئوتیدها را به شکل نوکلئوسیدها جذب می‌کنند (Sonoda and Tatibana, 1978).

بر روی هضم و جذب نوکلئوتیدها در ماهی تحقیقات بسیار محدود می‌باشد، هر چند موجودیت و ویژگی‌های پروتئازها و آلکالین فسفاتازها در روده ماهی به خوبی مطالعه شده است. با این وجود، نوکلئاز، مهم ترین آنزیم برای هضم نوکلئوتیدها در ماهی ها چندان مورد مطالعه قرار نگرفته وفقط در ماهی قزل آلا بررسی شده است (Roald, 1978)، بنابراین، ظرفیت هضم نوکلئوتید های بیرونی در ماهی های مختلف مطالعه نشده است. دو هیپوتز در مورد این که چرا ماهی‌ها به مکمل‌های بیرونی نوکلئوتیدها نیاز دارند. Borda و همکاران (۲۰۰۳) گزارش دادند که نوکلئوتیدها در شکل غیرآزاد و یا در شکل اسید نوکلئیک تمایل دارند پایدار باشند و به سختی هضم می‌شوند و بنابراین توصیه شده است که نوکلئوتیدهای آزاد برای شرایط تنش‌زا باید به‌خوبی بالانس شده باشند، حال آن که Burrells و همکاران (۲۰۰۱b) و Low و همکاران (۲۰۰۳) هیپوتزی ارائه دادند که مقدار مناسب نوکلئوتیدهای بیرونی در غذاهای تجاری استاندارد ماهی بادی وجود داشته باشند. اگر هدف از آن غذا رشد سریع ماهی تحت شرایط غیرتنش باشد. هضم‌پذیری و دست‌یابی زیستی اسیدهای نوکلئیک در ترکیبات غذای طبیعی چون منابع پروتئینی دریایی و یا مخمر آب‌جو برای ماهی‌هایی چون

ماهی قزل‌آلا می‌تواند عصاره اسید نوکلدیک مخمر برای رشد، حفظ نیتروژن و احتمالا سنتز اسیدهای آمینه غیرضروری مورد استفاده قرار دهد (Rumsey *et al*., 1992). در مجموع Roald (۱۹۷۸) نشان داد نوکلئازها مثل پروتئازها در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌توانند تحت‌تاثیر آلودگی‌های محیطی هم‌چون لیگنوسولفونات‌ها، مهار شوند. این موضوع نشان می‌دهد که هضم و جذب نوکلئوتیدها بسیار تحت‌تاثیر شرایط محیطی و یافاکتورهای فیزیولوژیک قرار دارند. غلظت مناسب نوکلئوتید در ترکیبات غذایی و میزان در دسترس بودن زیستی آن‌ها برای ماهی‌ها، درست به همان اندازه که اطلاعات در مورد نوکلئوتیدها در ماهی و یا اطلاعات بر روی چگونگی اثرات محیطی مثل عوامل تنش‌زا و آلودگی‌ها بر هضم جذب نوکلئوتید کمبود دارند، ناشناخته مانده‌اند. این موارد برای به دست آوردن فهم درست و دقیق از میزان عملکرد تغذیه‌ای نوکلئوتیدها در ماهی بسیار بنیادین هستند و باید روی آن‌ها مطالعه و تحقیق انجام داد.

جذب شیمیایی و اثرات تحریکی تغذیه‌ای نوکلئوتیدهای خوراکی

به خوبی مشخص شده که نوکلئوتیدهای معین به عنوان اشتهاآور در پستانداران عمل می‌کنند. Mackie (۱۹۷۳) بخش مولکولی پایین وزن اسکوئید را آنالیز نمود و هیپوتز داد که محتویات نوکلئوتید (AMP) و نوکلئوسید (inosine) به عنوان جاذب‌های شیمیایی برای حیوانات آبزی مثل لابستر عمل می‌کنند. Kiyohara و همکاران (۱۹۷۵) نیز گزارش نمودند که وجود گیرنده‌های شیمیایی بر روی لب‌های ماهی پفی به نوکلئوتیدها (AMP,IMP,UMP و ADP) با روش‌های الکتروفیزیولوژیکی پاسخ می‌هد. این آزمایشات اولیه منتج به کشف مهمی بر اثر جاذبی نوکلئوتیدها در ماهی گردید. نتایج متعاقب آن توسط Mackie و Adron (۱۹۷۸) بر روی ۴۷ نوکلئوتید و نوکلئوسید انجام و مشخص گردید که اینوزین و IMP به عنوان مهم‌ترین و پر پتانسیل ترین محرک‌های چشایی تغذیه‌ای بر روی ماهیان آزمایشی آن‌ها عمل نمود. Ishida و Hidaka (۱۹۸۷) بر روی حساسیت‌های چشایی برخی ماهیان استخوانی دریایی از جمله خرگوش ماهی، isaki grunt، kampachi amberjack, maaji jack mackerel و masaba chub mackerel آزمایشاتی انجام دادند که مشخص شد UMP موثرترین نوکلئوتید برای همه گونه‌های مورد مطالعه است، هر چند ADP و IMP نیز موثر بدند. در مجموع Rumsey و همکاران (۱۹۹۲) نشان دادند که مکمل‌های غذایی با ۲/۵٪ و ۴/۱٪ RNA عصاره مخمر یا ۱/۸۵٪ گوانین یا ۲/۱۷٪ گزانتین به‌طور معنی‌دار باعث افزایش میزان جذب تجمعی غذا در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی ۱۲ هفته آزمایش تغذیه‌ای شدند.

پاسخ چشایی یا رفتاری ماهی‌ها به نوکلئوتیدهای بیرونی می‌تواند خاص گونه باشد. این موضوع توسط Rumsey و Hidaka (۱۹۸۷) نشان داد که نوکلئوتیدهای خوراکی بر روی پاسخ چشایی یا رفتاری خرگوش‌ماهی تاثیر نگذاشت، حال آن که دیگر ماهیان استخوانی به آن پاسخ دادند. با این حال انتشارات وابسته به اثر محرکی اینوسین یا IMP بر روی ماهی‌های مختلف نشان می‌دهند که چندان پایدار و استوار نیستند. Person-LeRuyet و همکاران (۱۹۸۳) گزارش نمودند که اینوسین خوراکی باعث افزایش رشد در لارو توربوت می‌شود. در نتایج آزمایش روری این گروه، لارو توربوت که از مکمل غذایی بتائین و اینوسین تغذیه نمود، نشان داد که رشد بیش‌تر معنی‌داری نسبت به لاروهایی که فقط از مکمل بتائین به تنهایی یا اینوسین به تنهایی تغذیه نموده بودند حاصل گشت. حتی اگر از اینوسین و مقدار کم بتائین استفاده شود باز نتایج رشد ضعیف‌تری نسبت به دو سطح مناسب و با هم این دو نوکلئوتید به‌دست خواهد آمد (Me´tailler *et al*., 1983). با این وجود، Ikeda و همکاران (۱۹۹۱) از ماهی jack mackerel به عنوان مدل استفاده نمودند که مشخص شد IMP, GMP, UMP, UDP, UTP به عنوان موثرترین محرک‌های غذایی‌اند. حال آن که نوکلئوسیدهای (اینوسین، آدنوزین، گوانوزین و یوریدین) و سایر نوکلئوتیدها (AMP, ADP, ATP, IDP, ITP, GDP, GTP, xanthosine 5`-monophosphate, 3`- IMP, 3`-UMP, 2-deoxy-IMP, allyltio-IMP) اثر محرکی ندارند. امروز، گزارشاتی وجود دارند که نشان می‌دهند فقط IMP و نه اینوسین، اثرات محرکی بر تغذیه ماهیانی چون jack mackerel (Ikeda *et al*., 1991)، باس دهان گشاد (Kubitza *et al*., 1997) دارند. Kubitza و همکاران (۱۹۹۷) گزارش نمودند که مکمل غذای IMP (با میزان ۲۸۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) در غذای پایه سویا باعث افزایش جذب غذا ۴۶٪ در ماهی باس دهان گشاد در مقایسه با ماهی که از غذای مکمل استفاده نکرده، گردید. با این وجود، جذب غذا در ماهیان باس دهان گشاد که از سویا و مکمل ۲۸۰۰ یا ۵۶۰۰ میلی‌گرم در کیلو گرم IMP استفاده نموده بودند، کم‌تر از ماهیانی بود که فقط از ۱۰٪ پودر ماهی در غذای‌شان استفاده شده بود. این شاید بدان دلیل باشد که موجودات دریایی (که از آن‌ها پودر مای درست شده) به نسبت غلظت IMP بیش‌تری

دارند و لذا، تاثیر مثبت IMP مکمل شده در مقایسه باغذای محتوی پودر ماهی چندان زیاد نبوده است. IMP می‌تواند به عنوان کاندید اولیه جاذب غذایی در تحقیقاتی که در آن‌ها جای‌گزینی کامل یک منبع پروتئینی به جای پودر ماهی در غذای آبزیان انجام خواهد شد، معرفی گردد.

تاثیرات روده‌ای – معده‌ای نوکلئوتیدهای جیره

نشان داده شده که نوکلئوتیدهای جیره اثرات چند گانه‌ای بر سیستم روده‌ای – معده‌ای مدل‌های زیستی از جمله نفوذ آن‌ها بر عملکرد فیزیولوژی، ریختی و باکتریولوژی دارند. هم‌چنین مشخص شده که نوکلئوتیدهای جیره و یا AMP به تنهایی می‌توانند به طور معنی‌دار باعث افزایش رشد و تمایز تکوین لوله گوارش شوند (Uauy *et al*., 1990). مشخص گردیده که این ترکیبات زخم‌های لوله گوارش را بهبود می‌بخشند و باعث تسهیل بیفید و باکترهای غالب در لوله گوارش و روده می‌شوند (Carver and Walker, 1995). پاسخ‌های ریختی در لوله گوارش انسان و سایر حیوانات خشکی‌زی به نوکلئوتیدهای جیره باعث افزایش پرزهای روده (Uauy *et al*., 1990)، افزایش ضخامت دیواره ژوژنوم و شمار پرزهای آن (Bueno *et al*., 1994) شده است. با این وجود، تحقیقات بر روی پاسخ‌های سیستم روده- معده (GI) ماهیانی که در جیره غذایی از مکمل نوکلئوتیدی استفاده نموده‌اند خیلی معدود و محدود انجام شده است. Burrells و همکاران (۲۰۰۱b) برای اولین بار پاسخ‌های ریختی سالمون آتلانتیک به نوکلئوتیدهای جیره را طی آزمایشات بافتی نشان دادند. در آن مطالعات، متوسط ارتفاع چین‌خوردگی پروکسیمال، وسط و دیستال روده و کل سطح روده ماهی که از مکمل نوکلئوتید در غذا استفاده نموده بود، به طور معنی‌دار بیش‌تر از گروه کنترل به دست آمد. Borda و همکاران (۲۰۰۳) نیز گزارشات مشابهی را در مورد مرحله جوان ماهی بریم دریایی ارائه دادند. کاملا مشخص است که نوکلئوتید جیره اثرات مثبتی بر سلامت روده ماهی از خود برجای خواهد گذارد و از آجا که روده عضو بسیار مهمی در سیستم ایمنی بوده و منطقه‌ای است که نوکلئوتیدهای جیره در آن وارد می‌شوند، احتمال تاثیر آن بر مخاط مرتبط با بافت لنفوئیدی این بخش از سیستم گوارش (MALT= mucosa associated lymphoid tissue) وجود دارد. البته اطلاعات بر روی این بافت در ماهی بسیار جزیی است. در مجموع، نوکلئوتیدهای جیره باعث بهبود وضعیت میکروفلور روده از جمله بیفید و باکترها در انسان و برخی حیوانات خواهد شد. اگر چه بیفید و باکترها هنوز به عنوان یک پروبیوتیک در ماهی‌ها شناخته و معرفی نشده‌اند، احتمال تاثیر نوکلئوتیدهای جیره ببر اکولوژی میکروب‌ها در سیستم گوارش ماهی موضوع بسیار مهمی است که باید در آینده مورد تحقیق قرار گیرد.

تاثیر نوکلئوتیدهای بر رشد ماهی‌ها

به طور کلی مشخص شده است که تحت شرایط معمول و طبیعی سنتز نوکلئوتید برای حمایت از رشد کاملا کافی است (Gosgrovve, 1998)، هر چند مکمل‌های نوکلئوتیدی باعث افزایش رشد موش‌هایی شده‌اند که در حال تغذیه از غذاهای کمپروتئینه بوده‌اند (Gyorgy, 1971). Borda و همکاران (۲۰۰۳) با مرور بر تحقیقات وابسته به کاربرد نوکلئوتیدها بر لارو ماهی بریم دریایی هیپوتزی ارائه نمودند که استفاده بیرونی از نوکلئوتیدها می‌تواند به بهبود رشد ماهی‌ها و سخت‌پوستان به خصوص در مراحل ابتدایی زندگی که در آن تکثیر بالای سلولی وجود دارد، بیانجامد. Person-Le Ruyet و همکاران (۱۹۸۳) هم‌چنین گزارشی دارند که در آن لارو توربوت (متوسط وزن تقریبا ۱۰۰ میلی‌گرمی) که از غذای مکمل شده با اینوسین تغذیه نموده بودند (۱/۳٪ غذا برا ی ۶ روز و ۰/۱۳٪ برای ۴۵ روز) به طور معنی‌دار از رشد افزایشی و بقا بهتری نسبت به گروه کنترل، بعد از ۵۵ روز آزمایش تغذیه برخوردار بودند. نتایج متعاقب این مطالعه نشان داد که ۱۰ یا ۲۰ روز تغذیه از غذای مکمل شده با ۰/۷۷٪ اینوسین نیز به افزایش بازه وزنی در لارو تربوت خواهد انجامید(وزن شروع هر ماهی تقریبا ۲۳۰ میلی گرم بوده است) این چنین هیپوتز شده است که اثر افزایش رشد اینوسین به دلیل بهبود در جذب غذا به خصوص در مراحل ابتدایی تغذیه، در نتیجه بهبود در جذب بیش‌تر غذا و در نتیجه کاهش نشت غذا در آب و متعاقب جذب بهتر، نقش مهم آن در متابولیسم موجود خواهد بود (Me´tailler *et al*., 1983). در کنار اینوسین،اثر افزاینده رشد مخلوط متابولیت‌های نوکلئوتیدی (مثل آسکوژن محصول chemofoma Co., سویس) گاه‌گاهی در ماهی‌هایی چون لارو تیلاپیا (Ramadan and Atef, 1991) و مرحله جوان ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Adamek *et al*., 1996) مشاهده شده است. با این وجود، اثر افزاینده رشد در بیش‌تر مراحل جوان و قبل از بلوغ ماهی‌ها هنوز با سئوال و ابهام همراه است (Li *et al*., 2004a).

نوکلئوتید و تولید مثل

یکی از شناخته شده‌ترین استفاده کرد از مکمل‌های نوکلئوتیدی در مورد تغذیه انسانی به مرحله کودکی باز می‌گردد. با این وجود، تحقیقات بر روی استفاده از مکمل‌های نوکلئوتیدها در استراتژی مادری در انسان‌ها درست به اندازه ماهی‌ها، خیلی محدود است. Gonzalez-Vecino و همکاران (۲۰۰۴) اولین مطالعات تغذیه نوکلئوتیدی در مرحله بلوغ ماهی haddock را انجام و نشان دادند اولین تغذیه لارو حاصل از مولدینی که از نوکلئوتید مکمل در غذای‌شان استفاده کرده بودند از موفقیت بیش‌تری نسبت به لاروهای حاصله از والدینی که از جیره پایه تغذیه نموده بودند (بدون مکمل نوکلئوتیدی) برخوردار بودند. بقا لارو حاصل از مولدین تغذیه شده با مکمل نوکلئوتید حدود ۳۰٪ بیش‌تر از بقا لارو حاصل از مولدینی بود که از نوکلئوتید استفاده نکرده بودند. در مجموع، تکوین لوله گوارش و اندازه لارو حاصل از مولدین تغذیه شده با نوکلئوتید به طور معنی‌داری بیش‌تر از لارو حاصل از مولدین بدون تغذیه با نوکلئوتید بود.

اثر نوکلئوتید بر ایمنی ذاتی

براساس اطلاعات به دست آمده، مشخص گردید که نوکلئوتیدهای جیره بر فعالیت‌های ماکروفاژی هم‌چون فاگوسیتوز (Grimble and Westwood, 2000b; Gil, 2002) و فعالیت‌های سلول‌های کشنده طبیعی (Killer cells) تاثیر می‌گذارد (Carver et al., 1990). تحقیقات بر روی ماهی‌ها نیز نشان داد که نوکلئوتیدهای بیرونی می‌توانند هم بر ترکیبات سلولی و هم هورمونی سیستم ایمنی ذاتی تاثیر گذارند. Sakai و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که این نوکلئوتیدها باعث افزایش کمپلمان‌های سرم (مسیرهای جایگزین) و فعالیت‌های آنزیمی و هم‌چنین فاگوسیتوز و تولیدآنیون سوپراکسید فاگوسیت سر کلیه در کپور معمولی می‌شوند. Li و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارشی ارائه دادند که در آن نشان دادند ماهی باس مخطط هیبریدی که از غذای مکمل شده با یک الیگونولئوتید (آسکوژن P محصول بیوسیستم- آلبرتا- کانادا) تغذیه نمود، محصول رادیکال اکسیداتیو نوتروفیل خونش بیش‌تر از ماهیان گروه کنترل بود. با این وجود، اثر نوکلئوتید جیره بر سیستم تنفسی سریع سلول‌های سر کلیه در سالمون ماهیان هنوز نشان داده نشده است (Burrells *et al.*, 2001a). Devresse (۲۰۰۰) پیشنهاد نمود که نوکلئوتیدهای بیرونی به‌عنوان غذاهای کلیدی برای سیستم ایمنی میگو قلمداد شوند. این موضوع با توجه به دانسته‌های امروزه باید چندین بار مورد آزمون قرار گیرد.

Low و همکاران (۲۰۰۳) اولین گزارش تغییر در بیان ژن ایمنی القایی به وسیله مکمل نوکلئوتیدی را ارائه داد و کشف نمود که ترکیبات سیستم غیرایمنی خاص هم‌چون بیان لیزوزیم به طور معنی‌دار در طحال و کلیه ماهی توربوتی که از جیره حاوی مکمل نوکلئوتید تغذیه نموده بود، کاهش یافت، اما هیچ اثری بر روی آبشش‌های آن مشاهده نگردید. اینترلوکین یک بتا Interleukin 1 β یک افزایش معنی‌دار در بیان کلیه ماهی تغذیه شده با مکمل نوکلئوتیدی نشان داد، جایی که بیان ترانسفرین و تغییر شکل فاکتور رشد β بدون تاثیر از آن نوکلئوتید گزارش گردید (Low *et al.*, 2003).

اثر نوکلئوتیدها بر ایمنی اکتسابی

این نوکلئوتیدها بر فعالیت لنفوسیت‌ها و محصولات ایمنوگلوبولین نیز تاثیر دارند. Jyonouchi و همکاران (۱۹۹۴و ۱۹۹۳) و Navarro و همکاران (۱۹۹۶) پیشنهاد نمودند که نوکلئوتیدها حداکثر اثر خود بر سیستم ایمنی با تعدیل محصولات ایمنوگلوبولین اعمال می‌کنند.Ramadan و همکاران (۱۹۹۴) نیز اولین مشاهدات خود را دال بر اثر مکمل نوکلئوتیدی (آسکوژن، Chemoforma Basal- Switzerland) با اثرات پتانسیل ایمنی بر روی پاسخ‌های ایمین حد واسط سلولی وهورمونی ماهی تیلاپیا بعد از تزریق داخل عضلات و یا حمام‌دهی مستقیم با فرمالین برای کشتن *Aeromonas hydrophila* گزارش نمودند. تیترهای آنتی‌بادی در ماهیان تیماری بعد از واکسیناسیون درست هم‌چون مکمل آسکوژن جیره و به طور معنی‌دار، بسیار بیش‌تر از آن ماهیانی که از غذای پایه تغذیه کرده بودند، به دست آمد. پدیده‌های مشابه بر روی دیگر گونه ماهیان هم‌چون قزل‌آلای رنگین کمان (Burrells *et al.*, 2001b; Leonardi *et al.*, 2003) و باس مخطط هیبرید (Li *et al.*, 2004a) به دست آمد. Burrells و همکاران (۲۰۰۱b) مشاهده نمودند که سالمون آتلانتیک که به مدت ۸ هفته از غذای مکمل شده با نوکلئوتید تغذیه نمودند، در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنی‌دار محصول آنتی‌بادی خاص در آن‌ها افزایش یافت. Leonardi و همکاران (۲۰۰۳) گزارش نمودند که افزایش معنی‌دار تحریکی لنفوسیت در ماهیان قزل‌آلایی که از جیره غذایی مکمل با نوکلئوتید تغذیه شده بودند به دست آمد. تیتر آنتی‌بادی ماهی باس مخطط هیبرید تغذیه شده با مکمل الیگونوکلئوتید بعد از واکسیناسیون با فرمالین کشنده *Streptococcus iniae* سه برابر

بیش‌تر از گروه ماهیان کنترل به دست آمد (Li *et al*., 2004a). Low و همکاران (۲۰۰۳) نیز کشف نمودند که نوکلئوتیدهای جیره باعث افزایش بیان ایمنوگلوبولین M و ژن فعال‌کننده آنزیم ریکامبیناز در آبشش و طحال ماهی توربوت شده اما بیان آن‌ها در کلیه را کاهش داد. اگرچه مکانیسم‌های عملکرد هنوز از نظر عملی مشخص نشده است، این نوکلئوتیدها ممکن است بتوانند به‌عنوان آجودانت دهانی (داروی دهانی) مورد استفاده قرار گیرند و بنابر این تاثیر واکسیناسیون را افزایش دهند. Burrells و همکاران (۲۰۰۱b) استراتژی واکسیناسیون و کاهش از ۶ به ۲٪ مرگ و میر در سالمون ماهیان واکسینه شده را کشف کرد ند. تحقیقات بر روی دست‌کاری ایمنی اکتسابی با بهره‌گیری از نوکلئوتید بیرونی نتایج پایداری را در گونه‌های مختلف ماهیان نشان داد. با این وجود، تحقیقات بیش‌تری در این موضوع لازم است تا نتایج کاملا همراه با تضمین باشد.

اثرات نوکلئوتیدها بر پاسخ‌های تنشی

یکی از هیپوتزهای پذیرفته شده در مورد اثرات مثبت نوکلئوتیدهای جیره در ماهیان، ارتباط عوامل تنش‌زاها در شرایط طبیعی آبزی‌پروری چون کیفیت پایین آب، ازدحام بیش از حد و تنش‌های ناشی از جابه‌جایی که نیاز به افزایش نوکلئوتیدها بیش از آن چه که به طور طبیعی در غذا آن‌ها وجود داشته (به عبارت بهتر افزودن نوکلئوتیدهای بیرونی از طریق مکمل نمودن در غذا) را کاملا نشان داده است (Burrells et al., 2001b; Low *et al*., 2003). یکی از محتمل‌ترین مکانیسم‌های عملکرد مثبت نوکلئوتیدهای جیره بر روی سیستم ایمنی ماهی اثرات مهاری کورتیزولی است که در اثر تنش آزاد می‌شود. Burrells همکاران (۲۰۰۱b) اولین هیپوتز خود را در خصوص اثر نوکلئوتیدهای جیره که باعث افزایش تحمل تنش و ایجاد ظرفیت تنظیم اسمزی و رشد بهینه در سالمون ماهی آتلانتیکی که از غذای مکمل شده با نوکلئوتید در مقایسه با گروه ماهیان کنترل و بعد از یک تنش‌دهی حاد با انتقال ماهی به آب دریا شدند، ارائه نمودند. این هیپوتز تا قبل از کارهای Leonardi و همکاران (۲۰۰۳) که نشان دادند نوکلئوتیدهای جیره باعث کاهش سطح کورتیزول سرم خون در ماهیان سالم قزل‌آلای رنگین‌کمان بعد از ۱۲۰-۹۰ روز تغذیه و ماهیانی که با ویروس نکروز پانکراسی عفونی شده بودند، به طور کلی پذیرفته نشده بود. این کاهش اثر تنش مرتبط با نوکلئوتیدهای جیره منتج به افزایش تحمل به بیماری‌ها در ماهیانی که با عامل بیماری چانج داده شده بودند گردید. با این وجود، مطالعات بعدی در آزمایشگاه بر روی مرحله جوان ماهی درام قرمز نتیجه معکوس در بر داشت زیرا تغییرات فاحشی در بین افراد ماهیان نشان داد (Li and Gatlin, unpublished data). لذا هنوز موضوع تاثیر و درگیری نوکلئوتیدهای بیرونی بر مسیر سیگنالی مرتبط با پاسخ‌های تنشی یا این که آیا تنش‌زاهای مختلف اثرات خاص روی متابولیسم نوکلئوتید ماهیان دارند یا نه، شناخته نشده باقی‌مانده است.

نوکلئوتیدها و مقاومت به عفونت‌های بیماری‌زا

در مورد مطالعات و تحقیقات ایمنی و مقاومت‌سنجی ماهیان در این خصوص هنوز اطلاعات کمی وجود دارد، از طرف دیگر مارکرهای زیستی مناسبی که در ماهیان مشخص کننده سطح تحمل آن‌ها به عوامل بیماری‌زایی باشند هنوز خوب به دست نیامده‌اند. بنابراین، بقا بعد از چالش با عوامل بیماری‌زای معین هنوز به اندازه‌گیری مقاومت به بیماری بسنده می‌شود. گزارش‌هایی وجود دارد که نوکلئوتیدهای مکمل جیره می‌توانند به افزایش مقاومت ماهی‌ها در برابر عوامل بیماری‌زایی چون عوامل ویروسی، باکتریایی و انگلی منتج شوند و در نهایت نشان داده شده که توصیه استفاده از این ترکیبات بیوشیمیایی در مدیریت آبزی‌پروری سالم به جا بوده است.

Burrels و همکاران (۲۰۰۱a) مشاهده نمودند که در یک آزمایش ۵۶ روزه بر روی ماهیانی که با عامل عفونی ISA= Infectious salmon Anemia آلوده شده بودند، در سالمون ماهی آتلانتیکی که فقط ۲ هفته از غذای مکمل شده با نوکلئوتید استفاده نموده کل میزان مرگ و میر ۳۵/۷٪ بوده است، حال آن که سالمون ماهیان کنترل ۴۸٪ مرگ و میر نشان دادند. اختلاف در مرگ و میر بین دو گروه تیماری بعد از ۳۹ روز و ۴۵ روز نیز کاملا معنی‌دار بود.

Leonardi و همکاران (۲۰۰۳) نیز گزارشی دارند که در آن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره مکمل‌دار نوکلئوتیدی که برای ۶۰ روز در معرض عامل عفونی ویروس تزریقی IPN = Infectious Pancreatic Necrosis بقا یافتند حال آن که ماهیان در معرضی که از غذای پایه استفاده نموده بودند همگی مردند.

افزایش مقاومت در برابر عوامل عفونی باکتریایی مختلف نیز در مورد ماهیان مختلف از جمله سالمون ماهیان (Burrells *et al*., 2001a)، کپور معمولی (Sakai *et al*., 2001)، باس مخطط هیبرید (Li *et al*., 2004a) گزارش شده است. Burrells و همکاران (۲۰۰۱) گزارش نمودند که بعد از حمام‌دهی قزل‌آلای رنگین‌کمانی که غذای مکمل‌دار نوکلئوتیدی خورده با عامل عفونی *Vibrio anguillarum* مرگ ومیر فقط ۳۱٪ بوده، حال آن که در

گروه‌هایی که در معرض بیماری بوده وفقط از غـذای پایـه و مکمـل بتاگلوکان (β-glucan) مصـرف نمودنـد، ایـن میـزان مـرگ و میـر به ترتیب ۴۹٪ و ۴۳٪ محاسبه شده است. اگرچه تفاوت‌هایی زیادی بین تکرار تیمارهای تغذیه شده با مکمل نوکلئوتید و تیمـار تغذیـه شده با غذای پایه وجـود داشـته کـه مـی‌توانـد روپوشـی بـر وجـود اختلافات باشد، ولی به هر حال اسـتفاده از نوکلئوتیـدها بـه عنـوان مکمل از نظر عملکرد بسیار بهتـر و معنـی‌دارتـر از گـروه کنتـرل و گروهی که از بتا گلوکان استفاده نموده بودند خـود را نشـان دادنـد. Burrells و همکاران (۲۰۰۱a) هم‌چنین نشان دادند کـه سـالمون کوهو آلـوده شـده بـا *Piscirickettsia salmonis* کـه یـک نـوع ریکتزیا مانند درون سلولی g-proteobacteria است. نتیجه ۷۸/۸٪ مرگ و میر در ماهیان تغذیه شده با غذای پایه دست آمـد حـال آن که میزان مـرگ و میـر در ماهیـان آلـوده‌ای کـه بـا غـذای مکمـل توکلئوتیدی تغذیه شده بودند تنها ۴۶/۹٪ بود.هر چند مکانیسـم آن هنوز کامـل شـناخته نشـده اسـت. Sakai و همکـاران (۲۰۰۱) بـا لوله‌گذاری سوسپانسیون نمکی نوکلئوتیدی درون دهان ماهی کپـور معمولی یا استفاده از مقدار مسـاوی دکسـترین (گـروه کنتـرل) بـه صـورت دهـانی و تزریـق درون پریتونیـومی بـا ۰/۱ میلـی‌لیتـر سوسپانسـیون ۳×۱۰^{۷} سـلولی *A. hydrophila* بـه تعیـین تعـداد باکتری در خون، کبد و کلیـه ۲، ۴، ۸ و ۱۲ سـاعت بعـد از تزریـق پرداختند. در خون، کلیه و کبد ماهی‌های تیمار شده بـا نوکلئوتیـد، هیچ‌گونه سلول *A. hydrophila* حتی بعد از ۱۲ ساعت چـالنج بـه دست نیامد. اگر چه شمار بـاکتری در خـون و کبـد ماهیـان گـروه کنترل در هر میلی‌لیتر ۱×۱۰^{۳} cfu بود. در مورد مرحله جوان باس مخطط هیبریدی که برای ۷ یا ۸ هفته قبـل از در معـرض بیمـاری عفونی *S. iniae* قرار گرفتن با غذای مکمل دار نوکلئوتیدی تغذیـه شده بود، میزان مرگ و میـر (۳٪ در آزمـون اول و ۱۳٪ در آزمـون دوم) کاهش نشان داد حال آن که در ماهیانی که فقط از غذای پایه تغذیه نموده بودند این میزان ۲۰٪ در آزمـون اول و ۴۰٪ در ازمـون دوم به‌دست آمد. مـرگ و میـر در ماهیـان تغذیـه شـده بـا مکمـل نوکلئوتیدی که به طور ثانویه در معرض ایـن عامـل بیمـاری‌زا قـرار داده شدند ۵۲٪ بود که نسبت به ۸۳ ٪ گروه کنتـرل کـاملا کـاهش معنـی‌دار نشـان داد (Li *et al.*, 2004). از آن جـا کـه بـاکتری بیماری‌زا می‌تواند مسیرهای مختلفی برای ایجـاد عفونـت داشـته و پاسخ‌های ایمنی میزبان نیز چند گانـه خواهـد بـود (Ellis, 1999)، مکانیسم‌های محافظتی نوکلئوتیدی بیرونی می‌تواند بسیار متفـاوت باشند.

در کنار بیماری‌زایی‌های باکتریایی و ویروسـی، نوکلئوتیـدهای غذایی به طور معنی‌دار باعث کاهش شمار انگل‌هایی هم‌چون شپش دریایی در سـالمون مـاهی آتلانتیـک شـده‌انـد (Burrells *et al.*, 2001). Burrells (۲۰۰۱) گزارش نمود که تغذیه ماهیان با غـذای حاوی مکمل نوکلئوتیدی همراه با مصرف سیپرمترین بر روی مرحله تکوین اولیه چالیموس شپش دریایی اثر می‌گذارد و لذا باعث کاهش شمار شپش قبل از پیش مولدی شده که خود عامل اصـلی بیمـاری انگلی ماهی است. بنابراین، نتایج تجربیات و آزمایشات مختلف نشان داده که استفاده از مکمـل‌هـای نوکلئوتـد باعـث افـزایش مقاومـت ماهی‌ها در برابر شمار زیادی از پاتوژن‌ها می‌شود. این پدیده ممکـن است در کاربرد آن‌ها به‌منظور کنترل بیماری‌های آبزی‌پروری بسیار مهم جلوه نماید.

میزان مصرف، مدیریت زمان و نوع نوکلئوتید

تعیین دوز مصرف از اولین موارد مدیریت محرک‌های ایمنـی اسـت (Sakai, 1999). بهترین دوز نوکلئوتید مصرفی هنوز چندان مـورد مطالعه قرار نگرفته است. Sakai و همکـاران (۲۰۰۱) در مـورد دوز مناسـب نوکلئوتیـد بیرونـی بـه منظـور فعـال نمـودن ماکروفـاژ فاگوسـیتوزکننـده گزارشـاتی ارائـه دادنـد. حیوانـات تـک معـده‌ای خشکی‌زی به طور معمول نمـی‌تواننـد مقـادیر بـالای نوکلئوتیـد را مصرف کنند، زیرا در اثر متابولیسم پورین زیاد، مقادیر بالایی اسـید اوریک در خون به دست می‌آید که سمی اسـت و مـی‌توانـد اثـرات منفی روی متابولیسم سـایر مـواد غـذایی بـه همـراه داشـته باشـد (Rumsey *et al.*, 1992) . بـرای مثـال مصـرف ۴ گـرم پـورین و پیرامیدین در روز سطح ایمن است و بیش‌تر از آن مـی‌توانـد سـطح اسید اوریک را بالا برده و تولید نقرس نماید (Devresse, 2000). با این وجود در مورد ماهی‌هایی چن سالمون و باس دریایی می‌تواننـد تحمل بیش‌تری به سطوح بالای اسید نوکلئیک و یا مخمر با مزیـت انزم یوریکاز کبـدی داشـته باشـند (Rumsey *et al.*, 1985; Kinsella *et* 1992; Oliva-Teles and Goncalves, 2001).

Rumsey و همکاران (۱۹۹۲) گزارش دادند که عصـاره RNA مخمر بیش از ۴/۱٪ غـذا باعـث کـاهش رشـد در مـاهی قـزل‌آلای رنگین‌کمان نمی‌شود. مطالعات جدیدتر نشان دادند که کاهش رشـد ناشی از عضـاره RNA باکتریـایی (بـه میـزان ۱۰٪ غـذا) در مـاهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با افزایش اوره سرم و افـزایش خاکسـتر لاشـه ماهی مرتبط اسـت. حـال آن کـه عصـاره RNA در سـطح ۲/۵٪ و ۵ ٪ غذا چنین اثر کاهنده‌ای بر رشد را نخواهد داشت (Tacon and Cooke, 1980). بـا ایـن وجـود، Adamek و همکـاران (۱۹۹۶)

گزارش نمودند که ۰/۶۲ و ۲/۵ گرم آسکوژن بر کیلوگرم غذا باعث افزایش رشد و بهره‌وری غذا در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد شد حال آن که ۵ گرم آسکوژن بر هر کیلوگرم غذا به کاهش رشد در این ماهی و هم‌چنین در ماهی طلایی که ۳۷ روز تغذیه شده، منتج شد. این مجموعه مطالعات به‌دنبال دست‌یابی به دوز بهینه مصرف نوکلئوتیدی در ماهیان مختلف بوده هر چند از نظر آماری هنوز باید مطالعات بیش‌تری انجام گیرند. شاید هم نیاز به مطالعات تعیین مکانیسم مولکولی برای بهینه‌سازی دوز نوکلئوتید مصرفی باشد.

مدیریت رژیم برای بهینه‌سازی یکی دیگر از موارد مهم کاربرد محرک‌های ایمنی در آبزی‌پروری محسوب می‌شوند. مصرف طولانی مدت پپتیدوگلیکان و لوامیسول می‌تواند منجر به اثرات جانبی ناخواسته بر رشد و یا مقاومت به بیماری در ماهیان پرورشی گردند (Matsuo and Miyazano, 1993; Li *et al*., 2004b). در همین زمان شاهد قطعی وجود ندارد که نشان از سودمندی زمان استفاده از نوکلئوتید جیره داشته باشد. با این وجود، Leonardi و همکاران (۲۰۰۳) مشاهده نمودند که پاسخ میتوژنیک لنفوسیت‌های B ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت‌تاثیر نوکلئوتید جیره بعد از ۶۰ روز تغذیه قرار گرفتند. حال آن که بعد از ۱۲۰ روز هیچ اثری از خود نشان ندادند. ماهی باس مخطط هیبرید تغذیه شده با آسکوژن P مکمل شده با غذا برای ۱۶ هفته هیچ نشانی از افزایش ایمنی ذاتی از جمله محصول رادیکال اکسیداتیو نوتروفیلی، لیزوزیم سرم و محصول آنیون سوپراکسید درون و بین سلولی سلول‌های سر کلیه را نشان ندادند که با نتایج ۸ هفته‌ای تغذیه با همان غذا مشابهت نداشت (Li *et al*., 2004a). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که زمان مصرف نوکلئوتید نیز باید مدیریت شود با این وجود، تحقیقات جامعی در این خصوص ضروری است تا اثر نوکلئوتیدها (دوز و مدت زمان مصرف) بر ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها به دست آید. امروزه بیش‌تر تحقیقات به استفاده مخلوط نوکلئوتیدها بسنده شده است، البته به جز در مورد اینوسین و IMP. شکل باز آزاد آدنین در جیره غذایی (۱/۵۴٪) ناخواسته است، زیرا به طور جدی باعث کاهش جذب غذا، بازه وزنی، از دست دادن نیتروژن و افزایش مرگ و میر در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد شد، حال آن که، سایر بازهای پورین مثل گوانین (۱/۸۵ درصد)، گزانتین (۲/۱۷ درصد) و هیپوگزانتین (۱/۹۴ درصد) اثرات منفی نداشتند (Rumsey *et al*., 1992). اثر سمیت آدنین برای سلول‌ها می‌تواند به افزایش سطوح cAMP بین سلولی وابسته باشد. تحقیقات بیشتر در خصوص اثرات اختصاصی نوکلئوتیدهای متنوع مورد نیاز است تا در درک بهتر استفاده از نوکلئوتیدها کمک کنند.

تحقیقات آینده

انتخاب منابع مناسب نوکلئوتیدی از اولین ملاحظات در تحقیقات آینده خواهد بود. امروزه، بیش‌تر انتشارات بر روی نوکلئوتیدها در مورد استفاده در غذای ماهیان در محصولات تجاری ثبت شده است و اطلاعات وابسته به غلظت و نرخ انواع نوکلئوتیدها به‌طور عام هنوز غیرقابل دسترس هستند. لذا خیلی سخت است تا ارزیابی کمی و یا مقایسه‌ای اثرات نوکلئوتیدهای مکمل شده (به عنوان مثال، مخمری چون *Saccharomyces cerevisiae* که یک منبع مهم نوکلئوتیدی است)، بر روی پاسخ‌های ایمنی در گونه‌های مختلف ماهی صورت گیرد. بنابراین، فقدان فرآیند عمل‌آوری و یا اطلاعات جزیی در مورد این محصولات برای تعیین این که اگر نوکلئوتیدها در شکل مونو نوکلئوتیدی و یا پلی‌نوکلئوتیدی (الیگو نوکلئوتیدی) وجود داشته باشند کار را خیلی سخت‌تر می‌نمایند. براساس اطلاعات حاصل از حیوانات خشکی‌زی، مونو نوکلئوتیدها و پلی‌نوکلئوتیدها دارای تاثیرات مختلفی بر موجودات هستند. اثرات محرک ایمنی الیگونوکلئوتیدهای باکتریایی و یا پرایمر اولیگوداوکسی نوکلئوتید در شرایط آزمایشگاه (Laing *et al*., 1999; Meng *et al*., 2003) و در شرایط محیط طبیعی دارای ماهی (Tassakka and Sakai, 2002) نشان داده شده است، هر چند این اولیگو نوکلئوتیدها از مخمر نبودند. اگر چه تلاش‌های اخیر در کشف تاثیر مکمل‌های نوکلئوتیدی بر روی ماهی‌ها دلگرم‌کننده است، بهبود در روش‌ها، به ویژه انتخاب منابع نوکلئوتیدها به عنوان یک ضرورت در آینده تحقیقات جلوه نمایی می‌کند.

نوکلئوتیدها به طور آزمایشی نه تنها به عنوان منابع نیتروژنی بلکه به عنوان محرک‌های غذایی مورد استفاده قرار گرفته، براساس اطلاعات و دانش امروزی، مدیریت سلامت مهم‌ترین هدف استفاده از این مکمل‌ها در صنعت آبزی پروری قلمداد می‌شود. با این وجود، تحقیقات انجام شده و در حال انجام، بر روی دوز مصرف، مدیریت و نوع نوکلئوتید مصرفی بسیار محدود بوده و به خصوص در تاثیرپذیری از شرایط اکولوژی و فیزیولوژی موجود هدف، نیازمند تحقیقات پیشرفته‌تر می‌باشند. تحقیقات بر روی پاسخ احتمالی سن/ اندازه ماهی، به خصوص در زمان پیش مولدی به نوکلئوتیدهای جیره غذایی هنوز چندان کفایت نمی‌کنند. در مجموع، فرآیندهای هضم و جذب نوکلئوتیدها باید مورد مطالعه دقیق‌تر قرار گیرند. حداقل شکل یا اشکال نوکلئوتیدها که راحت‌تر می‌توانند توسط

ماهی‌ها هضم شوند باید مورد پایش قرار گیرند و سپس در بوته آزمایش قرار گیرند. Grimble (۲۰۰۱) در مورد حساسیت ژنوتیپ‌های مختلف مواد غذایی محرک، به عنوان تاثیرکننده بر ژنتیک پلی‌مورفیسم محصول سیتوکین پیش ازالتهاب بحث و بررسی نمودند. هر چند این چنین اطلاعاتی در مورد ماهی‌ها وجود ندارند، با این وجود به خوبی ثابت شده که تاثیرات ژنتیک پلی‌مورفیسم روی رشد و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک مثل تولید لیزوزیم توسط ماهی وجود دارند. اگر چه این موضوع برای کشف و بررسی بسیار سخت است، تفاوت‌های ژنتیکی می‌تواند دلیلی بر یافته‌های متنوع در خصوص اثر نوکلئوتیدها بر عملکردهای مختلف ماهی‌ها باشند.

نوکلئوتیدهای بیرونی می‌توانند در مسیرهای سیگنالینگ سلولی درست مثل ترکیبات غذایی بیوسنتزی عمل کنند. تاثیر نوکلئوتیدها در دسترس بر روی نرخ نسخه‌برداری ژنی در سلول‌های بافت پوششی روده توسط Walsh و همکاران (۱۹۹۰ و ۱۹۹۲) گزارش شده است. البته همین گزارشات در مورد سلول‌های روده توسط (Valde´s et al., 2000; Sa´nchez-Pozo and Gil, 2002) نیز گزارش شده است. پاسخ اختصاصی عنصر cis-acting ژن‌ها هم‌چون آنزیم ترانسقر از فسفوریبوزیل هیپوگزانتین هم‌چون پروتئین اتصالی به خوبی تعیین ویژگی شده که به نوکلئوتیدهای در دسترس بسیار حساس می‌باشند (Walsh et al., 1990, 1992). به منظور دقت و جامعیت درک آلترناتیوهای مختلف در بیان ژن‌های خاص بافت‌های مختلف و اندام‌های مختلف ماهی، تکوین و کاربرد ابزار جدید در بیولوژی مولکولی بسیار حائز اهمیت و ضروری است تا بتواند تاییدی بر ادعاهای تغذیه‌ای حاصل از نوکلئوتیدها در ماهی باشند. Low و همکاران (۲۰۰۳) مثال‌هایی را که در آن تحقیقات آتی باید به دنبال انجام آن باشند، ردیف نمودند. پیشرفت در افشای ژنوم ماهی‌ها در بهبود تکوین ابزارهای قدرتمند آنالیز کننده هم‌چون میکروآرای که روشنایی بر روی تاثیرات مختلف نوکلئوتید ها می‌اندازد، بسیار کمک‌کننده خواهد بود. بااین وجود، تلاش‌های زیادی در این موارد مورد نیاز است تا پایه‌های منابع اصلی این علم را به وجود آورند.

منابع

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

Aggett, P., Leach, J.L., Rueda, R. and MacLean, W.C., 2003. Innovation in infant formula development: a reassessment of ribonucleotides in 2002. Nutrition 19, 375 – 384.

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

Bueno, J., Torres, M., Almendros, A., Carmona, R., Nunez, M.C., Rios, A. and Gil, A., 1994. Effects of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhoea. Histological and ultrastructural changes. Gut 35, 926 – 933.

Burrells, C., 2001. Nucleotides aid dietary louse control. Fish Farmer 24, 62.

Burrells, C., William, P.D. and Forno, P.F., 2001a. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 1. Effects on resistance to diseases in salmonids. Aquaculture 199, 159 – 169.

Burrells, C., William, P.D., Southage, P.J. and Wadsworth, S.L., 2001b. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rate and physiology of Atlantic salmon. Aquaculture 199, 171 - 184.

Carver, J.D. and Walker, W.A., 1995. The role of nucleotides in human nutrition. J. Nutr. Biochem. 6, 58 – 72.

Carver, J.D., Cox, W.I. and Barness, L.A., 1990. Dietary nucleotide effects upon murine natural killer cell activity and macrophage activation. J. Parenter. Enteral Nutr. 14, 18 – 22.

Clifford, A.J. and Story, D.L., 1976. Levels of purines in foods and their metabolic effects in rats. J. Nutr. 106, 435 – 442.

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

Ishida, Y. and Hidaka, I., 1987. Gustatory responses profiles for amino acids, glycinebetaine and nucleotides in several marine teleosts. Nippon Suisan Gakkaishi 53, 1391 – 1398.

Jyonouchi, H., Zhang, L. and Tomita, Y., 1993. Studies of immunomodulating actions of RNA/nucleotides: RNA/Nucleotides enhance in vitro immunoglobulin production by human peripheral blood mononuclear cells in response to T-dependent stimuli. Pediatr. Res. 33, 458 – 465.

Jyonouchi, H., Zhang-Shanbhag, L., Tomita, Y. and Yokoyama, H., 1994. Nucleotide-free diet impairs T-helper cell functions in antibody production in response to T-dependent antigens in normal C57B1/6 mice. J. Nutr. 124, 475 – 481.

Kinsella, J.E., German, B. and Shetty, J., 1985. Uricase from fish liver: isolation and some properties. Comp. Biochem. Physiol. 82B, 621 – 624.

Kiyohara, S., Hidaka, I. and Tamura, T., 1975. Gustatory response in the puffer-II. Single fiber analysis. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 41, 383 – 391.

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

Laing, K.J., Hardie, L.J., Aartsen, W., Grabowski, P.S. and Secombes, C.J., 1999. Expression of an inducible nitric oxide synthase gene in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Dev. Comp. Immunol. 23, 71 – 85.

Leonardi, M., Sandino, A.M. and Klempau, A., 2003. Effect of a nucleotide-enriched diet on the immune system, plasma cortisol levels and resistance to infectious pancreatic necrosis (IPN) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 23, 52 – 59.

Devresse, B., 2000. Nucleotides—a key nutrient for shrimp immune system. Feed Mix 8, 20 – 22.

Ellis, A.E., 1999. Immunity to bacteria in fish. Fish Shellfish Immunol. 9, 291 – 308. Gatlin III, D.M., 2002. Nutrition and fish health. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 671 – 702.

Gil, A., 2002. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. Eur. J. Clin. Nutr. 56 (Suppl. 3), S1 – S4.

Gonzalez-Vecino, J.L., Cutts, C.J., Batty, R.S., Greenhaff, P.L. and Wadsworth, S., 2004. The effects of nucleotideenriched broodstock diet on first feeding success and survival of haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.) larvae. Abstract Book of 11th International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish. Phuket Island, Thailand, May 2–7, 2004. p. 268.

Grimble, G.K., 1996. Why are dietary nucleotides essential nutrients? Br. J. Nutr. 76, 475 – 478.

Grimble, G.K., 2001. Nutritional modulation of immune function. Proc. Nutr. Soc. 60, 389 – 397.

Grimble, G.K. and Westwood, O.M.R., 2000a. Nucleotides. In: German, J.B., Keen, C.L. (Eds.), Nutrition and Immunology: Principles and Practice. Humana Press Inc., Totowa, NJ, USA, pp. 135 – 144.

Grimble, G.K. and Westwood, O.M.R., 2000b. Nucleotides as immunomodulators in clinical nutrition. Curr. Opin. Clin. Nutr. 4, 57 – 64.

Gyo¨rgy, P., 1971. Biochemical aspect of human milk. Am. J. Clin. Nutr. 24, 970.

Ikeda, I., Hosokawa, H., Shimeno, S. and Takeda, M., 1991. Feeding stimulant activity of nucleotides, tryptophan, and their related compounds of jack mackerel. Nippon Suisan Gakkaishi 57, 1539 – 1542.

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

Li, P., Wang, X. and Gatlin III, D.M., 2004b. Excessive dietary levamisole suppresses growth performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops M. saxatilis*), and elevated levamisole in vitro impairs macrophage function. Aquac. Res. 35, 1380 – 1383.

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

Lo´pez-Navarro, A.T., Gil, A. and Sa´nchez-Pozo, A., 1995. Deprivation of dietary nucleotides results in a transient decrease in acidsoluble nucleotides and RNA concentration in rat liver. J. Nutr. 125, 2090 – 2095.

Low, C., Wadsworth, S., Burrells, C. and Secombes, C.J., 2003. Expression of immune genes in turbot (*Scophthalmus maximus*) fed a nucleotide-supplemented diet. Aquaculture 221, 23 – 40.

Mackie, A.M., 1973. The chemical basis of food detection in the lobster *Homarus gammarus*. Mar. Biol. 21, 103 – 108.

Mackie, A.M. and Adron, J.W., 1978. Identification of inosine and inosine 5V-monophosphate as the gustatory feeding stimulants for the turbot, *Scophthalmus maximus*. Comp. Biochem. Physiol. 60A, 79 – 83.

Matsuo, K. and Miyazano, I., 1993. The influence of long-term administration of peptidoglycan on diseases resistance and growth of juvenile rainbow trout. Nippon Suisan Gakkaishi 59, 1377 – 1379.

Meng, Z., Shao, J. and Xiang, L., 2003. CpG oligodeoxynucleotides activate grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) macrophages. Dev. Comp. Immunol. 27, 313 – 321.

Me´tailler, R., Cadena-Roa, M. and Person-Le Ruyet, J., 1983. Attractive chemical substances for the weaning of Dover sole (*Solea vulgaris*): qualitative and quantitative approach. J. World Maric. Soc. 14, 679 – 684.

Navarro, J., Ruiz-bravo, A., Jimenez-Varela, M. and Gil, A., 1996. Modulation of antibody-forming cell and mitogen-driven lymphoproliferative responses by dietary nucleotides in mice. Immunol. Lett. 53, 141 – 145.

Oliva-Teles, A. and Goncalves, P., 2001. Partial replacement of fishmeal by brewer's yeast *Saccaromyces cerevisae* in diets for sea bass *Dicentrarchus labrax* juveniles. Aquaculture 202, 269 – 278.

Patterson, J.A. and Burkholder, K.M., 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. Poultry Sci. 82, 627 – 631.

Person-Le Ruyet, J., Menu, B., Cadena-Roa, M. and Me´tailler, R., 1983. Use of expanded pellets supplemented with attractive chemical substances for the weaning of turbot (*Scophthalmus maximus*). J. World Maric. Soc. 14, 676 – 678.

Quan, R. and Uauy, R., 1991. Nucleotides and gastrointestinal development. Semin. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2, 3 – 11.

Ramadan, A. and Atef, M., 1991. Effect of the biogenic performance enhancer (Ascogen bSQ) on growth rate of tilapia fish. Acta Vet. Scand. 87, S304 – S306.

Ramadan, A., Afifi, N.A., Moustafa, M. and Samy, A.M., 1994. The effect of ascogen on the immune

Tacon, A.G.J. and Cooke, D.J., 1980. Nutritional value of dietary nucleic acids to trout. Nutr. Rep. Int. 22, 631 – 640.

Tassakka, A.R. and Sakai, M., 2002. CpG oligodeoxynucleotides enhance the non-specific immune responses on carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture. 209, 1 – 10.

Uauy, R., Stringel, G., Thomas, R. and Quan, R., 1990. Effect of dietary nucleotides on growth and maturation of the developing gut in the rat. J. Pediatr. Gastroenterol Nutr. 10, 497 – 503.

Valde´s, R., Ortega, M.A., Casado, F.J., Felipe, A., Gil, A., Sa´nchezPozo, A. and Pastor-Anglada, M., 2000. Nutritional regulation of nucleoside transporter expression in rat small intestine. Gastroenterology. 119, 1623 – 1630.

Walsh, M.J., Sa´nchez-Pozo, A. and Leleiko, N.S., 1990. A regulatory element is characterized by purine-mediated and cell-typespecific gene transcription. Mol. Cell. Biol. 10, 4356 – 4364.

Walsh, M.J., Tsao, K.L. and Leleiko, N.S., 1992. Characterization of DNA-protein interactions within a distal regulatory element upstream of a mammalian housekeeping gene promoter. J. Biol. Chem. 267, 7026 – 7035.

response of tilapia fish to *Aeromonas hydrophila* vaccine. Fish Shellfish Immunol. 5, 159 – 165.

Roald, S.O., 1978. Effects of sublethal concentrations of lignosulphonates on growth, intestinal flora and some digestive enzymes of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture. 12, 327 – 335.

Rudolph, F.B., 1994. The biochemistry and physiology of nucleotides. J. Nutr. 124, 124S – 127S.

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

Sakai, M., 1999. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture. 172, 63 – 92.

Sakai, M., Taniguchi, K., Mamoto, K., Ogawa, H. and Tabata, M., 2001. Immunostimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio* L. J. Fish Dis. 24, 433 – 438.

Sa´nchez-Pozo, A. and Gil, A., 2002. Nucleotides as semiessential nutritional components. Br. J. Nutr. 87, 135S – 137S.

Sonoda, T. and Tatibana, M., 1978. Metabolic fate of pyrimidines and purines in dietary nucleic acids ingested by mice. Biochim. Biophys. Acta. 521, 55 – 66.