جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد چهاردهم، شماره سوم، مرداد – شهریور ۱۳۸۶
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

مقایسه فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی در معده، ضمائم پیلوریک و روده ماهیان یک تابستانه و دو تابستانه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

عباس زمانی[1*]، عبدالمجید حاجی مرادلو[2]، رسول مدنی[3] و فریبا گلچین فر[4]

[1]دانش آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [2]دانشیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [3]دانشیار بخش بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، حصارک کرج، [4]مربی بخش بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات واکسن وسرم سازی رازی، حصارک کرج

تاریخ دریافت: ۸۴/۹/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۹/۱۵

چکیده

میزان فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) به‌منظور تعیین ظرفیت هضمی این ماهیان در سنین یک و دو تابستانه مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی مشخص شد که میزان فعالیت آنزیم پپسین که به‌طور اختصاصی در معده اندازه‌گیری شده بود در ماهیان یک تابستانه به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان دو تابستانه است (P<۰/۰۵). آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین که در روده و ضمائم پیلوریک اندازه‌گیری شده بودند، حاکی از آن بود که در روده ماهیان یک تابستانه به‌طور معنی‌داری بالاتر از روده ماهیان دو تابستانه است (P<۰/۰۵). در ضمائم پیلوریک مقدار آنزیم تریپسین در ماهیان یک تابستانه بیشتر از دو تابستانه بود ولی اختلاف آماری معنی‌داری نبود (P>۰/۰۵) در صورتی که کیموتریپسین اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز، لیپاز و فسفاتاز قلیایی نیز نشان داد که در روده و ضمائم پیلوریک ماهیان یک تابستانه به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان دو تابستانه است (P<۰/۰۵). نتایج حاصل از بررسی دال بر آن است که غذای مورد استفاده می‌تواند نقش مهمی در فعالیت آنزیمی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های گوارشی، دو تابستانه، ماهی آزاد دریای خزر، یک تابستانه

مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) از جمله ماهیان با ارزش این دریا می‌باشد که در سواحل غربی و جنوبی این دریا پراکنده است که برای تخمریزی به رودخانه‌های غربی این دریا و همچنین رودخانه‌های جنوبی آن مانند تنکابن و سرداب رود در ایران مهاجرت می‌کند (کازانچف، ۱۳۷۱). امروزه بدلیل صید بی‌رویه، مسدود شدن راه‌های مهاجرت به سبب ساختن پل‌ها و سدها، آلودگی آب‌ها و از همه مهمتر از بین رفتن محل‌های تخمریزی نسل این ماهی با ارزش رو به انقراض است (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۳). از جمله راه‌های جلوگیری از انقراض این گونه مهم و نادر دریای خزر همانند سایر ماهیان در معرض انقراض

*- مسئول مکاتبه: abbas_782002@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

این دریا تکثیر مصنوعی و رهاسازی آن به دریا می‌باشد. یکی از مراحل تکثیر تا رهاسازی مرحله پرورش در سنین یک تابستانه[1] و دو تابستانه[2] است. این ماهی معمولاً در سن دو تابستانه به رودخانه رهاسازی شده و از آنجا وارد دریا می‌شود. یکی از مهمترین نکات در رهاسازی وزن ماهی می‌باشد به‌طوری‌که هرچه ماهیان در وزن بالاتری رهاسازی شوند درصد بقاء و مهاجرت به دریا بیشتر می‌شود (بارانیکووا، ۱۳۷۹). از سوی دیگر، وزن ماهی تا حدود زیادی به تغذیه مناسب بستگی دارد چون هر چه ماهی غذای باکیفیت بالایی دریافت نماید وزن بالاتری را نیز کسب خواهد کرد (لاول، ۱۹۸۸؛ کولکوفسکی، ۲۰۰۱). فرایند گوارش در ماهیان نسبت به پستانداران کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعه فعالیت آنزیمی در ماهیان می‌تواند بعضی از جنبه‌های فیزیولوژی تغذیه را روشن سازد و در رفع مشکلات تغذیه‌ای مؤثر باشد. همچنین ترکیب بیوشیمیایی غذا نیز می‌تواند در فعالیت آنزیمی مؤثر باشد (کوزمینا، ۱۹۹۶؛ کوزمینا؛ اسوورتسوا، ۲۰۰۱). ماهیان یک‌تابستانه و دو تابستانه در کارگاه پرورشی غذایی با درصد مواد مغذی مختلف دریافت می‌کنند و به لحاظ تفاوت سنی محسوس اختلاف وزن بالایی ندارند. افزایش سن می‌تواند باعث افزایش فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی در ماهیان شود هر چند که به رژیم غذایی مصرفی در ماهیان نیز ارتباط دارد (کوزین و همکاران، ۱۹۸۷؛ هیدالگو و همکاران، ۱۹۹۹). مطالعه برروی فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهیان در ایران بسیار اندک بوده و در زمینه تأثیر ترکیب غذایی برروی فعالیت آنزیم‌های گوارشی تحقیقی صورت نگرفته است. در این تحقیق سعی شده است تا با اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های مهم در عمل گوارش مانند پپسین، تریپسین، کیموتریپسین، آلفا- آمیلاز، لیپاز و فسفاتاز قلیایی ظرفیت هضمی این ماهیان را با توجه به رژیم غذایی مورد استفاده در آنها مشخص نمود و اثر ترکیب غذایی برروی فعالیت آنزیمی را مورد ارزیابی قرار داد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط پرورش: ماهیان مورد نیاز در این تحقیق از کارگاه تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنرکلاردشت در پائیز ۱۳۸۳ تأمین شدند. در این تحقیق ۲۵ عدد ماهی یک‌تابستانه (وزن ۲/۷۲±۱٤/۲۸ گرم و طول ۲/۲٦±۱۰/۹۵ سانتی‌متر) و ۲۲ عدد ماهی دو تابستانه (وزن ۵/۰۲ ± ۲۱/۷۳ گرم و طول ۳/۰۵±۱۳/۰۲ سانتی‌متر) مورد استفاده قرار گرفتند. این ماهیان در استخرهای بتونی به ابعاد ۰/۷×۲/۵×۲/۵ متر، دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد و pH=۷/۸ پرورش یافته بودند. تغذیه ماهیان با استفاده از غذای کنسانتره تهیه شده در کارگاه (یک تابستانه: پروتئین ٤۰درصد، چربی ۱۵ درصد، کربوهیدرات ۱۰ درصد و فسفر ۱ درصد و دو تابستانه: پروتئین ۳۰ درصد، چربی ۲۰درصد، کربوهیدرات ۱۵ درصد و فسفر ۱/٦ درصد) انجام شده بود.

نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌ها: ماهیان ٤۸ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی نشدند تا دستگاه گوارش آنها از مواد غذایی بخوبی تخلیه شود. سپس ماهیان را با استفاده از یک سوزن بلند قطع نخاع کرده و سریعاً در مجاورت یخ قرارداده تا با حداقل رساندن تغییر فعالیت آنزیمی کالبد گشایی آنها صورت گیرد. سپس معده، ضمائم پیلوریک[3] و روده با دقت جدا شدند. معده و روده به‌صورت طولی بریده شده و محتویات داخل آنها تخلیه و سپس با آب مقطر سرد بخوبی شستشو شدند (چانگ و همکاران، ۲۰۰۲) تا مواد غذایی باقیمانده در معده و روده خارج شود. بعد بلافاصله در شرایط انجماد در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس در آزمایشگاه نمونه‌ها از شرایط انجماد خارج شده و وزن گردیدند. بعد با نسبت وزنی به حجمی

1- Parr
2- Smolt
3- Pyloric Caeca

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

(W/V) ۱ به ۵ با کلریدسدیم ۰/۲ مولار مخلوط شده (گاولیکا و همکاران، ۲۰۰۰) و در حضور یخ عمل یکنواخت‌سازی با هموژنایزر (مدل DI18 Disperser) صورت گرفت. سپس سوسپانسیون حاصله در سانتریفیوژ (مدل Hettich Refrigerator D-78532) با دور ۵۰۰۰ در دقیقه با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از پایان سانتریفیوژ، مایع رویی[1] جدا شد و برای سنجش آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیمی: سنجش فعالیت آنزیمی با روش‌های زیر انجام شد: واحد فعالیت آنزیم براساس ($U/mg\ protein.min^{-1}$) بیان گردید.

آنزیم پپسین: برای سنجش فعالیت آنزیم پپسین از روش آنسون (۱۹۳۸) استفاده گردید. در این روش از پودر هموگلوبین به‌عنوان سوبسترا استفاده شد که هموگلوبین در آب مقطر حل شد و سپس با اسید کلریدریک ۰/۳ نرمال رقیق شد. برای رقیق‌سازی نمونه از اسید کلریدریک ۰/۰۱ نرمال استفاده شد. یک واحد فعالیت اختصاصی آنزیم پپسین (U) برابر است با یک میکرومول از تیروزین که در مدت ۱ دقیقه و به ازای یک میلی‌گرم پروتئین محلول در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد آزاد می‌شود.

آنزیم تریپسین: برای سنجش فعالیت آنزیم تریپسین از روش ارلانگر و همکاران (۱۹٦۱) استفاده گردید. در این روش از BAPNA (N-α- بنزویل- DL- آرژنین پارانیتروآنیلید) به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. BAPNA در دی متیل سولفاکساید (DMSO) حل شد و سپس با بافر تریس ۰/۰۵ مولار رقیق شد. برای رقیق‌سازی نمونه نیز از اسیدکلریدریک ۰/۰۰۱ نرمال استفاده شد. یک واحد فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین (U) برابر است با یک میکرومول پارانیتروآنیلین که در مدت ۱ دقیقه و به ازای یک میلی‌گرم پروتئین محلول در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد آزاد می‌شود.

آنزیم کیموتریپسین: برای سنجش فعالیت آنزیم کیموتریپسین از روش هومل (۱۹۵۹) استفاده گردید. در این روش از BTEE (N- بنزویل- L- تیروزین- اتیل استر) به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. BTEE در متانول ۵۰درصد حل شد. برای رقیق‌سازی نمونه از اسید کلریدریک ۰/۰۰۱ نرمال استفاده شد. یک واحد فعالیت اختصاصی آنزیم کیموتریپسین (U) برابر است با یک میکرومول N- بنزویل- DL- تیروزین که در مدت ۱ دقیقه و به ازای یک میلی‌گرم پروتئین در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد محلول آزاد می‌شود.

آنزیم آلفا-آمیلاز: برای سنجش فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز از روش برنفلد (۱۹۵۱) استفاده گردید. در این روش از نشاسته به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. نشاسته در بافر فسفات سدیم ۰/۰۲ مولار حاوی کلرید سدیم ۰/۰۰٦ مولار آماده شد. برای رقیق‌سازی نمونه از آب مقطر استفاده شد. یک واحد فعالیت اختصاصی آنزیم آلفا- آمیلاز (U) برابر است با یک میکرومول مالتوز که در مدت ۱ دقیقه و به ازای یک میلی‌گرم پروتئین محلول در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد آزاد می‌شود.

آنزیم لیپاز: برای سنجش فعالیت آنزیم لیپاز از روش ورتینگتون (۱۹۹۱) استفاده گردید. در این روش از امولسیون صمغ عربی ـ روغن زیتون[2] به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. صمغ عربی با روغن زیتون و مقداری یخ خرد شد و آب مقطر مخلوط شد و سپس با مخلوط‌کن در دور پائین عمل هم‌زدن انجام گرفت و بعد با پشم شیشه عمل صاف کردن جهت به‌دست آوردن یک محلول شفاف انجام شد. برای رقیق‌سازی نمونه از کلرید کلسیم ۰/۰۰۵ مولار استفاده شد. یک واحد فعالیت اختصاصی آنزیم لیپاز (U) برابر است با یک میکرومول اسید چرب که در مدت ۱ دقیقه

1- Supernatant

2- Olive oil

و به ازای یک میلی‌گرم پروتئین محلول در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد آزاد می‌شود.

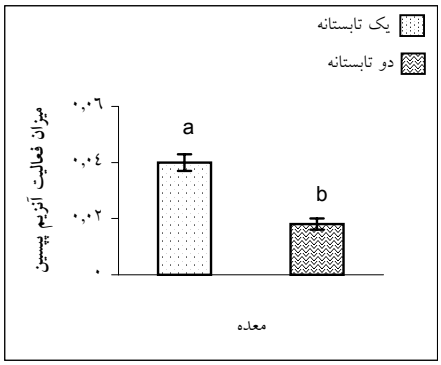
آنزیم فسفاتاز قلیایی: برای سنجش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی ازروش والتر و شوت (۱۹۷٤) استفاده گردید. در این روش از پارا- نیتروفنیل فسفات به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. پارا- نیتروفنیل فسفات در حضور بافردی‌اتانول آمین آماده شد. برای رقیق‌سازی نمونه از آب مقطر سرد استفاده گردید. یک واحد فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی (U) برابر است با یک میکرومول پارانیتروفنل که در مدت ۱ دقیقه و به ازای یک میلی‌گرم پروتئین محلول در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد آزاد می‌شود.

سنجش پروتئین محلول: پروتئین محلول در بافت معده، ضمائم پیلوریک و روده با روش لوری و همکاران (۱۹۵۱) اندازه‌گیری گردید. در این روش از آلبومین سرم گاوی (BSA)[1] به‌عنوان استاندارد(۱mg/ml) استفاده شد.

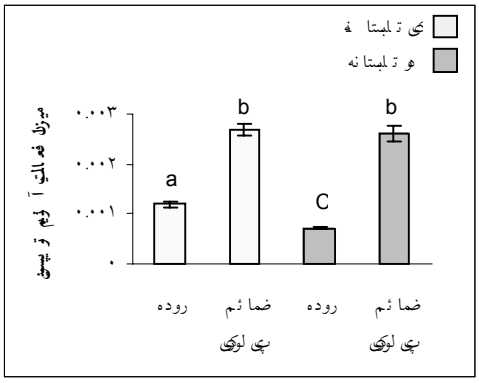
آنالیز آماری: برای مقایسه فعالیت آنزیم‌های گوارشی در معده، ضمائم پیلوریک و روده ماهیان یک‌تابستانه و دوتابستانه ماهی آزاد دریای خزر و رسم نمودارها از نرم افزارهای $Spss_{12}$ و Excel استفاده گردید. برای تعیین معنی‌دار بودن اختلاف از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده گردید و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. تمام ارزیابی‌ها نیز در ۳ تکرار انجام گرفت.

نتایج

نتایج حاصله از مقایسه فعالیت آنزیم‌های گوارشی در شکل‌های ۱ تا ٦ آمده است. فعالیت آنزیم پپسین (شکل ۱) که فقط در معده ماهیان یک تابستانه و دو تابستانه اندازه‌گیری گردید مشخص نمود که در ماهیان یک تابستانه به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان دو تابستانه است ($p<۰/۰۵$). فعالیت آنزیم تریپسین (شکل ۲) نشان داد که در روده ماهیان یک تابستانه به‌طور معنی‌داری بالاتر از روده ماهیان دو تابستانه است ($p<۰/۰۵$). در ضمائم پیلوریک یک تابستانه فعالیت آنزیم تریپسین نسبت به دو تابستانه بیشتر بود ولی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). فعالیت آنزیم کیموتریپسین (شکل ۳) نشان داد که در روده و ضمائم پیلوریک ماهیان یک تابستانه به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان دو تابستانه است ($P<۰/۰۵$). فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز، لیپاز و فسفاتاز قلیایی (شکل‌های ٤، ۵ و ٦) نیز که در روده و ضمائم پیلوریک اندازه‌گیری شده بودند نشان داد که فعالیت این آنزیم‌ها در روده و ضمائم پیلوریک ماهیان یک تابستانه به‌طور معنی‌داری پائین‌تر از روده و ضمائم پیلوریک ماهیان دوتابستانه است ($P<۰/۰۵$).

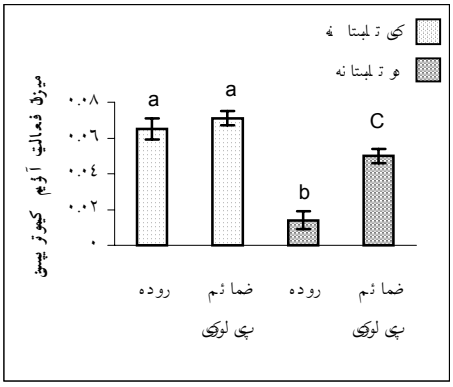


شکل ۱- فعالیت آنزیم پپسین.

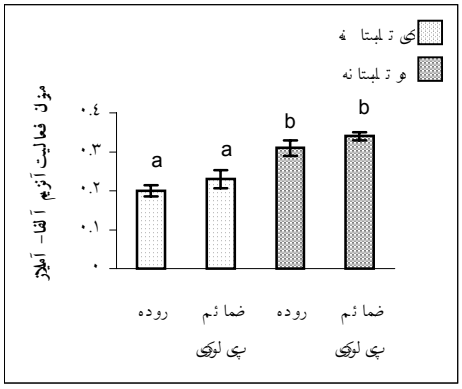


شکل ۲- فعالیت آنزیم تریپسین.

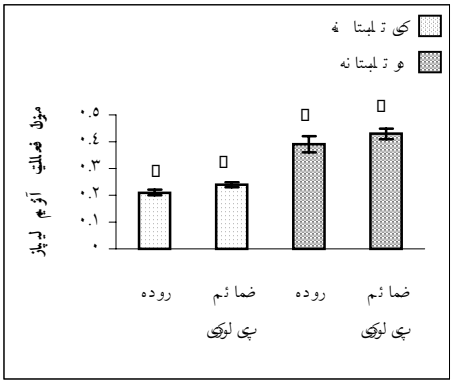
1- Bovine Serum Albumin



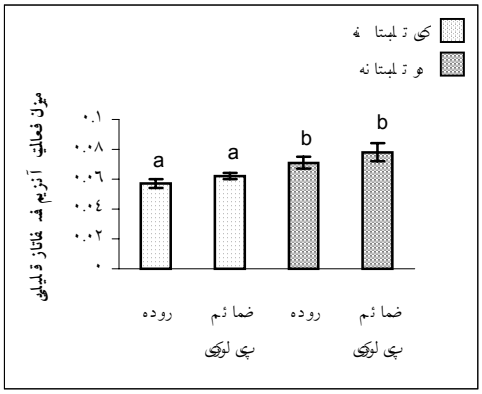
شکل ۳- فعالیت آنزیم کیموتریپسین.



شکل ٤- فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز.



شکل ٥- فعالیت آنزیم لیپاز.



شکل ٦- فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی.

توجه: در تمامی شکل‌ها، تفاوت بین آنهایی که دارای حرف یکسان نیستند معنی‌دار می‌باشد ($Mn \pm SD$, $N=3$, $\alpha=0.05$).

واحد فعالیت آنزیم براساس فعالیت اختصاصی (U/ mg protein.min^{-1}) می‌باشد.

بحث

محققین مختلف میزان فعالیت آنزیمی و تعیین قدرت هضمی را در صورت دریافت غذای مورد نیاز متناسب با سن در ماهیان، توسط بررسی کرده‌اند (کوزمینا، ۱۹۹٦؛ دگوآرا و همکاران، ۲۰۰۳). توانایی ماهی برای استفاده از مواد غذایی به فعالیت آنزیم‌های گوارشی موجود در دستگاه گوارش بستگی دارد (چانگ و همکاران، ۲۰۰۲). گلس و همکاران (۱۹۸۹) پیشنهاد کردند که برای پی بردن به عملکرد و شرایط مناسب هیدرولیز پروتئین در ماهیان بررسی فعالیت آنزیم‌های پروتئاز ضروری می‌باشد. در ماهی آزاد کوهو (*Oncorhynchus kisutch*) وزن ماهی با فعالیت آنزیم‌های گوارشی مؤثر در هضم غذا ارتباط دارد (هارد و همکاران، ۱۹۹٦). همانگونه که در نتایج دیده شد، فعالیت آنزیم پپسین در معده ماهیان دو تابستانه به‌طور معنی‌داری پائین‌تر از ماهیان یک تابستانه است. مطالعات انجام شده، نشان می‌دهد که در ماهیان گوشتخوار با افزایش سن فعالیت آنزیم‌های پروتئاز مانند پپسین افزایش می‌یابد (ایلینا و تورتسکی، ۱۹۸۸؛ کوزمینا و اسوورتسوا، ۲۰۰۳). کوزمینا (۱۹۹٦) نشان داد که افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز در اردک ماهی علاوه‌بر افزایش سن به نوع غذای

مصرفی و میزان مواد پروتئینی موجود در غذا نیز بستگی دارد. به‌نظر می‌رسد در ماهیان یک تابستانه غذای حاوی پروتئین بالا دلیلی بر بالا بودن فعالیت آنزیم پپسین نسبت به ماهیان دو تابستانه بوده است. در مورد فعالیت تریپسین و کیموتریپسین نیز نتایج مشابه مانند پپسین مشاهده شد، به‌طوری‌که در روده ماهیان یک تابستانه فعالیت این آنزیم‌ها به‌طور معنی‌داری بالاتر از روده ماهیان دو تابستانه بود. در مورد فعالیت این آنزیم‌ها در ضمائم پیلوریک نیز مشخص شد که در ماهیان یک تابستانه بیشتر از ماهیان دو تابستانه است که در مورد کیموتریپسین اختلاف معنی‌داری ملاحظه شد. کروگدال و همکاران (۱۹۹٤) گزارش دادند که بین میزان ترشح آنزیم تریپسین و قابلیت هضم غذا در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان رابطه وجود دارد. هوفر و شیمر (۱۹۸۱) و یوناس و همکاران (۱۹۸۳) نیز اثر تغذیه برروی فعالیت آنزیم‌های پروتئاز را تأیید کردند. بودینگتون و دوروشوف (۱۹۸٦) نشان دادند که فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز در تاسماهی سفید پایین بوده و علت آن پایین بودن مواد کربوهیدراته دارند در غذای این ماهی پایین می‌باشد و با کمتر شدن مواد کربوهیدراته در غذا میزان ترشح این آنزیم کاهش می‌یابد. هیدالگو و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که مقدار فعالیت آنزیم برای یک ماده مغذی می‌تواند به‌دلیل حضور آن ماده در غذای ماهی باشد زیرا در تحقیق آنها مشخص شد که در بین ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، مارماهی و سیم‌دریایی که ماهیان با رژیم غذایی گوشتخواری هستند وقتی با غذایی با ترکیب مواد مغذی مختلف تغذیه شدند میزان فعالیت آنزیم‌ها مانند آنزیم آلفا- آمیلاز متفاوت می‌شود. در ماهی آزاد دریای خزر نیز به دلیل رژیم غذایی گوشتخواری میزان مواد کربوهیدرات پایین می‌باشد و از آنجایی‌که میزان فعالیت آنزیم آلفا ـ آمیلاز در ماهیان دوتابستانه به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان یک‌تابستانه است علت آن احتمالاً می‌تواند به خاطر بالا بودن مواد کربوهیدراته در غذای ماهیان دو تابستانه باشد. کاوایی و ایکدا (۱۹۷۲) و زولتوسکا و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که فعالیت لوله گوارشی و ترشحات آنزیمی مانند لیپاز به مقدار مواد چربی در غذا بستگی دارد. همچنین داس و تریپاتی (۱۹۹۱) فعالیت آنزیم لیپاز را در ماهی کپور علفخوار جوان و مسن بررسی نموده و به این نتیجه رسیدند که افزایش فعالیت این آنزیم در ماهیان مسن علاوه‌بر تغذیه به افزایش سن نیز بستگی دارد. بررسی‌ها برروی ماهی سیم سفید (*Diplodus sargus*) نیز نشان داد که از زمان تفریخ تا سن ٤٤ روزگی سطح فعالیت آنزیم لیپاز افزایش یافته و در هنگام شروع تغذیه در مراحل مختلف لاروی افزایش در سطح فعالیت آنزیم لیپاز مشاهده می‌شود (کارا و همکاران، ۲۰۰۳). بالا بودن فعالیت آنزیم لیپاز در ماهیان دوتابستانه نسبت به ماهیان یک تابستانه می‌تواند هم به سن و هم به بالاتر بودن مواد چربی در غذا بستگی داشته باشد.

آنزیم فسفاتاز قلیایی نقش مهمی در فرآیند معدنی‌سازی اسکلت حیوانات آبزی بر عهده دارد (سارکار و همکاران، ۱۹۹٦). از آنجایی‌که میزان فسفر در غذای ماهیان دوتابستانه بیشتر از غذای ماهیان یک‌تابستانه است در نتیجه، فعالیت این آنزیم نیز در ماهیان دو تابستانه بیشتر از ماهیان یک‌تابستانه بود. همچنین کوزمینا (۱۹۹٦) اثر سن را بر افزایش فعالیت این آنزیم در اردک ماهی و سوف نیز مؤثر دانست. همان‌گونه که در شکل‌های ۱ تا ٦ مشخص است فعالیت آنزیم‌ها در ضمایم پیلوریک نسبت به روده بالاتر است. این نتایج با نتایج به‌دست آمده توسط دگوآرا و همکاران (۲۰۰۳) همخوانی دارد. آنها با بررسی فعالیت آنزیم‌ها برروی ماهی *Sparrus aurata* به این نتیجه رسیدند که در ضمایم پیلوریک فعالیت آنزیم‌ها نسبت به روده بالاتر می‌باشد و علت آن می‌تواند وجود توده کوچکی از پانکراس در قسمت ابتدایی روده و در بین ضمایم پیلوریک باشد. ماهی آزاد دریای خزر متعلق به خانواده آزاد ماهیان بوده و در ماهیان این خانواده پانکراس به‌صورت توده کوچکی در بین ضمایم پیلوریک قراردارد (رابرتس و

شفرد، ۱۳۷۸). پانکراس نقش مهمی در تولید آنزیم‌ها دارد (جابلینگ، ۱۹۹۵).

نتایج این تحقیق حاکی از آن است که هر چند سن ماهی آزاد افزایش یافته است ولی فعالیت آنزیمی فقط تحت تأثیر سن نیست بلکه ترکیب غذایی نیز در فعالیت آنزیمی نقش دارد. از آنجایی که ماهی آزاد دریای خزر همانند سایر آزاد ماهیان دارای رژیم غذایی گوشتخواری است و در ماهیان گوشتخوار با افزایش سن میزان فعالیت آنزیم‌ها بخصوص پروتئازها افزایش می‌یابد (کوزمینا، ۱۹۹٦؛ هیدالگو و همکاران، ۱۹۹۹) بنابراین، استفاده از غذای با درصد پروتئین بالاتر در سطوح مختلف و سنجش مجدد فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند در مشخص شدن هر چه بهتر عملکرد هضمی و نهایتاً میزان رشد در این ماهیان مؤثر باشد.

منابع

۱.بارانیکووا، الف. ۱۳۷۹. گزارش دوره آموزشی فیزیولوژی و بیوشیمی تاسماهیان. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران (ترجمه)، ۱۳۵ ص.

۲.رابرتس، آر.جی.، شفرد، سی.جی. ۱۳۷۸. بیماری‌های ماهیان قزل‌آلا و آزاد، ترجمه بهیار جلالی جعفری و مهدی میار، انتشارات نوربخش ۲٥٤ ص.

۳.کازانچف، ا.ان. ۱۳۷۱. ماهیان دریای خزر و حوضه آبریز آن، ترجمه ابوالقاسم شریعتی، شرکت سهامی شیلات ایران، تهران، ۱۷۱ ص.

٤.وثوقی، غ.، و مستجیر، ب. ۱۳۷۳. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران، ۳۱۷ ص.

5.Anson, M.L. 1938. The estimation of Pepsin, Trypsin , Papain and Cathepsin with Hemoglobin. Journal of General Physiology., 22: 79-89.

6.Bernfeld, P. 1951. Amylases α and β. In Methods in Enzymology, Vol.1 (Colowick, P & Kaplan, N.O.,eds), pp. 149-157. New York: Academic Press.

7.Buddington, R.K., and Doroshov, S.I. 1986. Digestive enzyme complement of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Comparative Biochemistry and Physiology, 83A: 561-567.

8.Cara, J.B., Moyano, F.J., Cardenas, S., Fernandez-Diaz, C., and Yuffera, M. 2003. Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream. Journal of Fish Biology. 63: 48-58.

9.Chong, A.S.C., Hashim, R., Chow-Yang, L., and Ali, A.B. 2002. Partial characterization and activities of proteases from the digestive tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). Aquaculture. 203: 321-333.

10.Cousin, J.C.B., Baudin-Laurencin, F., and Gabaudan, J. 1987. Ontogeny of enzyme activities in fed and fasting turbot, *Scophthalmus maximus* L. Journal of Fish Biology., 30:15-33.

11.Das, K.M., and Tripathi, S.D. 1991. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharhyngodan idella*, Aquaculture. 92: 21-32.

12.Deguara, S., Jauncey, K., and Agius, C. 2003. Enzyme activities and pH variations in the digestive tract of gilthead sea bream. Journal of Fish Biology. 62:1033-1043.

13.Erlanger, B., Kokowsky, N., and Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Archive Biochemistry and Biophysics. 95: 271-278.

14.Gawlicka, A., Parrent, B., Horn, M.H., Ross, N., Opstad, I., and Torrissen, O.J. 2000. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. Aquaculture. 184: 303-314.

15.Glass, H.J., Macdonald, N.L., Moran, R.M., and Stark, J.R. 1989. Digestion of protein in different marine species.Comparative Biochemistry and Physiology. 94B: 607-611.

16.Haard, N.F., Dimes, L.E., Arndt, R.E., and Dong, F.M. 1996. Estimation of protein digestibility: IV. Digestive proteinases from the pyloric caeca of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed diets contaning soybean mael.Comparative Biochemistry and Physiology. 115B: 533-540.

17.Hidalgo, M.C., Urea, E., and Sanz, A. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits.Proteolitic and amylase activities. Aquaculture. 170: 267-283.
18.Hofer, R., and Schiemer, F. 1981. Proteolytic activity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits. Oecologia.,48: 342-345.
19.Hummel, B.C.W. 1959. A modified spectrophotometric determinations of chymotrypsin , trypsin and thrombin. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology., 37: 1393-1399.
20.Il'ina, I.D., and Turetskiy, V.I. 1988. Development of the digestive function in fishes. Journal of Ichthyology., 28: 74-82.
21.Jobling, M. 1995. Digestion and absorbtion.In: Jobling, M. (Ed), Environmental Biology of Fishes, Chapter 6.Chapman & Hall, London England,pp.175-210.
22.Jonas, E., Ragyanzski, M., Olah, J., and Borros, L. 1983. Proteolytic digestive enzymes of carnivorous (*silurus glanis* L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and Omnivorous (*cyprinus carpio* L.) fishes. Aquaculture., 30: 145-154.
23.Kawai, S., and Ikeda, S. 1972. Studies on digestive enzymes of fishes.II.Effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in carp intestine.Bull.Jpn.Soc. Sci.Fish., 38 :265-270.
24.Kolkovski, S. 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-Implications and applications to formulated diets.Aquaculture., 200:181-201.
25.Krogdahl, A., Lea, T.B., and Olli, J.J. 1994. Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).Comparative Biochemistry and Physiology.,107A:215-219.
26.Kuzmina, V.V. 1996. Influance of age on digestive enzymes activity in some freshwater teleosts. Aquaculture., 148:25-37.
27.Kuzmina, V.V., and Skvortsova, E.G. 2001. Activity of proteolytic enzymes of potential prey of predatory fish influence of natural and anthropogenic factors. Journal of Ichthyology. 41(3):246-254.
28.Kuzmina, V.V., and Skvortsova, E.G. 2003. Contribution of dietary proteolytic enzymes to digestion processes of carnivorous fish. Journal of Ichthyology. 43(2): 175-180.
29.Lovell, T., 1988. Nutrition and feeding of fish. Published by van Nostrand Reinhold. New York. 260p.
30.Lowry, O.H., Rosebiough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent.Journal of Biological Chemistry., 193: 265-275.
31.Sarkar, S.K., Ganguly, T.K., and Medda, C. 1996. Change of alkaline phosphatase activity during the early of bundh-bred Indian major carps *Labeo rohita* (Ham), *Catla catla*(Ham) and *Cirrhinus mrigala* (Ham). The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh., 48(1): 40-46.
32.Walter, K., and Schutt, C. 1974. Alkaline phosphatase in serum (continous assay). In. Bergmeyer, H.U.(Ed), Methods of Enzymatic Analysis,vol.2, 2 nd edn. Academic press, Newyork, NY, pp: 860-864.
33.Worthington, C.C. 1991. Worthington enzyme manual related Biochemical.3th Edition. Freehold, New jersey, pp: 212-215.
34.Zoltwska, K., Kolman, R., Lopienska, E., and Dec, A. 2002. Comprison of digestive enzyme activities in the larvae of siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) and Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti* Brandt) back cross hybrids. Czech Journal of Animal Science, 47(7): 281-288.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 14(3), July-Aug 2007
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Comparison of some digestive enzymes activity in the stomach, pyloric caeca and intestine of the Parr and Smolt Caspian Brown Trout (*Salmo trutta caspius*)

A. Zamani[1], A. Hajimoradloo[2], R. Madani[3] and F. Golchinfar[4]
[1]Former M.Sc. student Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran,
[2]Associate Prof. Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran,
[3]Associate Prof. Dept. of Biothecnology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Hesarak, Iran,
[4]Researcher of Dept. of Biothecnology Razi Vaccine and Serum Research Institute, Hesarak, Iran

Abstract

The activities of some digestive enzymes were measured in order to assess digestive capacity in parr and smolt Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). The results showed that pepsin activity assessed exclusively in the stomach, was significantly higher in parr than in smolt ($P<0.05$). Trypsin and chymotrypsin activity assessed in the pyloric caeca and intestine showed that they were significantly higher in parr intestine than in smolt intestine ($P<.0.05$). Trypsin activity was higher in parr pyloric caeca than in smolt pyloric caeca but significant differences wasn,t detected ($P>0.05$). Chymotrypsin activity was significantly higher in parr pyloric caeca than in smolt pyloric caeca ($P<0.05$). α-amylase, lipase and alkaline phosphatase activity were also assessed in the pyloric caeca and intestine, the results showed a noticeable increase in each enzyme activity in smolt than in parr ($P<0.05$). Results of assessment showed used food can be had important role in enzyme activity.

Keywords: Digestive Enzymes; Smolt; Caspian brown trout; Parr