

اندازه‌گیری و مقایسه سطح فعالیت برخی آنزیمهای گوارشی در لارو ماهی آزاد دریای خزر و ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در مرحله شروع تغذیه خارجی

عباس زمانی^{(۱)*}؛ عبدالمجید حاجی مرادلو^(۲)؛ رسول مدنی^(۳)؛ مهرداد فرهنگی^(۴) و
امیر سعید ویلکی^(۵)

Zamanibouzandan @ yahoo.com

- ۱- گروه شیلات دانشکده علوم دریایی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، کد پستی: ۹۹۷۱۷-۵۶۴۹۹
 - ۲- گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان صندوق پستی: ۲۸۶
 - ۳- بخش بیوتکنولوژی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی حصارک، کرج صندوق پستی: ۱۱۳۶۵-۱۵۵۸
 - ۴- گروه شیلات و محیط زیست دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج صندوق پستی: ۴۱۱۱
 - ۵- سازمان شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۲۵۲
- تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۸۵

چکیده

به منظور تعیین قدرت هضمی لاروها در ماهی آزاد دریای خزر و قزل‌آلای رنگین کمان، فعالیت آنزیمهای گوارشی پپسین، تریپسین، کیموتریپسین، آلفا-آمیلاز، لیپاز و فسفاتاز قلیایی در زمان جذب ۲/۳ کیسه زرده و جذب کامل آن مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی‌ها نشان داد که در قزل‌آلای رنگین کمان با جذب ۲/۳ کیسه زرده سطح فعالیت آنزیمهای مورد مطالعه نسبت به ماهی آزاد بیشتر بوده و بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0/05$). در زمان جذب کامل کیسه زرده سطح فعالیت آنزیمهای پپسین، تریپسین، آلفا-آمیلاز، لیپاز و فسفاتاز قلیایی در ماهی آزاد نسبت به قزل‌آلای رنگین کمان بیشتر بود، ولی فعالیت آنزیمهای پپسین، تریپسین، لیپاز و فسفاتاز قلیایی در دو گونه ماهی بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$) و فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در دو گونه ماهی اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$). فعالیت آنزیم کیموتریپسین در زمان جذب کامل کیسه زرده در ماهی آزاد نسبت به قزل‌آلای رنگین کمان کمتر بود ولی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). از نظر زمان شروع غذادهی بررسی‌ها نشان داد که سطح فعالیت آنزیمهای پپسین، تریپسین، کیموتریپسین و فسفاتاز قلیایی در قزل‌آلای رنگین کمان بیشتر از ماهی آزاد بود، ولی بین دو گونه، فعالیت آنزیم پپسین اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد ($P > 0/05$) و آنزیمهای تریپسین، کیموتریپسین و فسفاتاز قلیایی اختلاف آماری معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/05$). فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در قزل‌آلای رنگین کمان کمتر از ماهی آزاد بود و بلحاظ آماری اختلاف بین آنها معنی‌داری نبود ($P > 0/05$). سطح فعالیت آنزیم لیپاز در هر دو گونه برابر بود. بالا بودن فعالیت آنزیمی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نسبت به ماهی آزاد در زمان جذب ۲/۳ کیسه زرده می‌تواند نشانگر آن باشد که ماهی قزل‌آلای رنگین کمان توانایی بیشتری در هضم مواد غذایی در این مرحله دارد و یکی از دلایل دریافت نکردن مناسب غذا توسط ماهی آزاد در این مرحله نیز می‌تواند علت پایین بودن فعالیت آنزیمی باشد.

لغات کلیدی: لارو، ماهی آزاد دریای خزر، ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، آنزیمهای گوارشی

مقدمه

جمله آگاهی از سطح فعالیت آنزیمهای گوارشی و ترشحات آن در زمان شروع تغذیه فعال است که توجه به نقش آنها در امر تغذیه می‌تواند در کاهش مرگ و میر در این مرحله مؤثر باشد (Ragyanski, 1980). از آنجائیکه ماهی آزاد دریای خزر در شرایط مصنوعی و بدور از محیط طبیعی قرار دارد، لذا به سختی تغذیه نموده و غذا را بخوبی دریافت نمی‌کند. به همین دلیل در کارگاه پرورشی، غذادهی به لاروها در مرحله انتهایی جذب کیسه زرده (تقریباً جذب کامل) صورت می‌گیرد. در صورتیکه در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان که از نظر ویژگی‌های تغذیه‌ای به این ماهی شباهت دارد و هر دو آنها متعلق به یک خانواده هستند، غذادهی زمانی انجام می‌شود که ۲/۳ کیسه زرده جذب شده باشد (شفرود و برومیچ، ۱۳۷۵). در این مطالعه سعی شده است تا فعالیت برخی آنزیمهای گوارشی که در هضم مواد غذایی مؤثرند مورد ارزیابی قرار گرفته تا از این طریق بتوان ظرفیت هضمی لارو این ماهیان را هنگامی که از نظر فیزیولوژیک آماده دریافت غذای خارجی هستند، تعیین نمود.

مواد و روش کار

برای تعیین فعالیت آنزیمهای گوارشی در لارو ماهی آزاد دریای خزر و قزل‌آلای رنگین کمان، نمونه‌برداری از لاروها از اوایل بهمن ماه تا اواخر اسفند ماه ۱۳۸۳ در کارگاه تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت صورت گرفت. غذای مورد استفاده در کارگاه برای هر دو گونه از نوع SFT00 قزل‌آلای رنگین کمان بود که ترکیب شیمیایی آن در جدول ۱ آمده است.

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) و ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) دو گونه مهم از خانواده آزاد ماهیان (Salmonidae) می‌باشند. در ایران ماهی آزاد برای بازسازی ذخایر و ماهی قزل‌آلای رنگین کمان برای پرورش در مقیاس تجاری از اهمیت بالایی برخوردارند. در پرورش این ماهیان یکی از مهمترین مراحل، مرحله تفریح تا جذب کامل کیسه زرده می‌باشد که تغذیه فعال نیز جزئی از این مرحله بشمار می‌رود. با توجه به اینکه بازماندگی بالا در این مرحله می‌تواند بقاء و رشد را در مراحل بالاتر تحت تاثیر قرار دهد، از اینرو یکی از نگرانی‌ها در پرورش لارو ماهیان یافتن راهکارهایی برای کاهش مرگ و میر در این مرحله است (Gawlicka et al., 2000). این مشکل میتواند تا حدودی از طریق مشخص نمودن قدرت هضمی لاروها و اینکه ماهیان قادر به هضم چه نوع ماده غذایی هستند برطرف شود. از طرف دیگر لاروگونه‌های مختلف ماهیان از نظر زمان شروع غذادهی متفاوت هستند چون ذخیره کیسه زرده آنها متفاوت است (Ronnestad et al., 1998). در لارو بعضی از ماهیان مانند کاد آتلانتیک (*Gadus morhua*)، توربوت (*Scophthalmus maximus*) و فلاندر زمستانی (*Pleuronectes americanus*) که از تخمهایی کوچک تفریح می‌شوند، میزان زرده پایین بوده و غذادهی زمانی آغاز می‌شود که دهان باز شده و کیسه زرده در مراحل انتهایی جذب باشد (Watanabe & Jobling, 1995; Kiron, 1994). در گونه‌هایی مانند هالیبوت آتلانتیک که لاروها از تخمهایی بزرگ تفریح شده و میزان زرده آنها بیشتر است مسئله تعیین زمان غذادهی به لاروها نسبت به لاروهای با میزان زرده پایین مشکلتر می‌باشد (Olsen et al., 1999). یکی از مهمترین مباحث در امر تغذیه توجه به ویژگیهای فیزیولوژیک از

جدول ۱: ترکیب شیمیایی غذای آغازین (SFT00) مورد استفاده در زمان شروع تغذیه (ساخت کارخانه چینه)

پروتئین خام	چربی خام	خاکستر	فیبر خام	فسفر	رطوبت	انرژی خام
(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(کیلوکالری در کیلوگرم درصد)
۵۵	۱۲	۲	۱۲	۱/۴	۱۰	۵۲۰۰

میانگین ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. تمام ارزیابی‌ها نیز در ۳ تکرار انجام گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از مقایسه سطح فعالیت آنزیمهای گوارشی مورد مطالعه در ماهی آزاد دریای خزر و قزل‌آلای رنگین کمان در نمودارهای ۱ تا ۶ نشان داده شده‌اند. نتایج نشان داد که در قزل‌آلای رنگین کمان با جذب ۲/۳ کیسه زرده، سطح فعالیت آنزیمهای پپسین، تریپسین، کیموتریپسین، آلفا-آمیلاز، لیپاز و فسفاتاز قلیایی (نمودارهای ۱ تا ۶) نسبت به ماهی آزاد بیشتر بوده و بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین دو گونه ماهی وجود دارد ($P < 0.05$). در زمان جذب کامل کیسه زرده سطح فعالیت آنزیمهای پپسین (نمودار ۱)، تریپسین (نمودار ۲)، آلفا-آمیلاز (نمودار ۴)، لیپاز (نمودار ۵) و فسفاتاز قلیایی (نمودار ۶) در ماهی آزاد نسبت به قزل‌آلای رنگین کمان بیشتر اندازه‌گیری گردید. بطوریکه فعالیت آنزیمهای پپسین، تریپسین، لیپاز و فسفاتاز قلیایی بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$) ولی آنزیم آلفا-آمیلاز آماری اختلاف معنی‌داری را در لارو دو گونه ماهی نشان داد ($P < 0.05$). فعالیت آنزیم کیموتریپسین (نمودار ۳) در زمان جذب کامل کیسه زرده در ماهی آزاد نسبت به قزل‌آلای رنگین کمان کمتر بود ولی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$).

از نظر زمان شروع غذادهی که در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در زمان جذب ۲/۳ کیسه زرده و در ماهی آزاد دریای خزر در زمان جذب کامل کیسه زرده است، بررسی‌ها نشان داد که سطح فعالیت آنزیمهای پپسین، تریپسین، کیموتریپسین و فسفاتاز قلیایی در قزل‌آلای رنگین کمان بیشتر از ماهی آزاد بود بطوریکه آنزیم پپسین اختلاف آماری معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). ولی آنزیمهای تریپسین، کیموتریپسین و فسفاتاز قلیایی اختلاف آماری معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0.05$). فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در قزل‌آلای رنگین کمان کمتر از ماهی آزاد بود و بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). سطح فعالیت آنزیم لیپاز در هر دو گونه برابر بود.

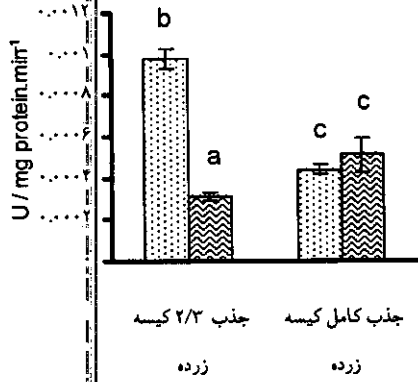
نمونه‌برداری از لاروها در زمان جذب ۲/۳ کیسه زرده و جذب کامل آن صورت گرفت. در ماهی آزاد دریای خزر نمونه‌برداری در روزهای ۳۲ (جذب ۲/۳ زرده) و ۴۳ (جذب کامل زرده) و در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در روزهای ۱۴ (جذب ۲/۳ زرده) و ۲۱ (جذب کامل زرده) انجام شد. در هر مرحله از نمونه‌برداری تعدادی از لاروها جمع‌آوری و با شوک دمایی بی‌حس شده و سپس بز روی پلیت حاوی یخ قرار گرفته و در زیر استریومیکروسکوپ آن دسته از لاروهایی که از نظر ریخت‌شناسی سالم و دارای ناهنجاری نبودند، انتخاب شدند. سپس با استفاده از دستمال کاغذی قطرات آب اضافی آنها جذب شده و وزن هر لارو در هر مرحله محاسبه شد. در هر مرحله ۷۰ تا ۱۳۰ لارو سالم انتخاب شد و بلافاصله در فریزر در برودت ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

در این مرحله نمونه‌ها از فریزر خارج و در دمای اتاق انجمادزایی آنها صورت گرفت. سپس آنها را وزن نموده و تا حجم ۵ برابر (w/v) با کلرید سدیم ۰/۲ مولار مخلوط شدند. سپس نمونه مخلوط شده با کلرید سدیم ۰/۲ مولار در بشر ریخته شد و در مجاورت یخ و با استفاده از همزن‌نایزر (مدل DI18 Disperser) عمل یکنواخت‌سازی انجام شد (Gawlicka *et al.*, 2000). سپس سوسپانسیون حاصله در سانتریفیوژ (مدل Hettich Refrigerator D-78532) با دور ۵۰۰۰ در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت. بعد از سانتریفیوژ بخش رویی حاصله با پیپت جمع‌آوری شده و برای سنجش آنزیمی استفاده گردید.

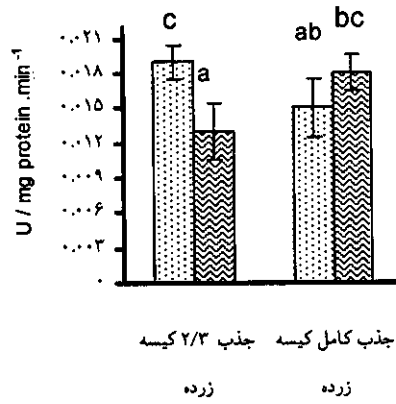
برای سنجش فعالیت آنزیم پپسین، تریپسین، کیموتریپسین، آلفا-آمیلاز، لیپاز و فسفاتاز قلیایی بترتیب از روشهای Anson, 1938; Erlanger *et al.*, 1961; Hummel, 1959; Bernfeld, 1951; و Worthington, 1991 و Walter & Schutt, 1974 استفاده گردید. برای مقایسه فعالیت آنزیمهای گوارشی در لارو ماهی آزاد دریای خزر و قزل‌آلای رنگین کمان در زمان جذب ۲/۳ کیسه زرده و جذب کامل آن و برای رسم نمودارها از نرم افزارهای SPSS و Excel استفاده گردید. نمونه‌برداری از لاروها بصورت تصادفی ساده انجام شد و برای تعیین معنی‌داری بودن یا نبودن اختلاف از تجزیه واریانس یکطرفه (ANOVA) استفاده گردید و

ماهی قزل آلابی رنگین کمان

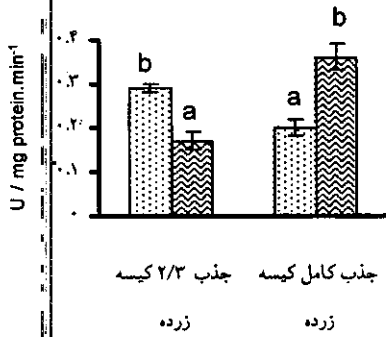
ماهی آزاد دریای خزر



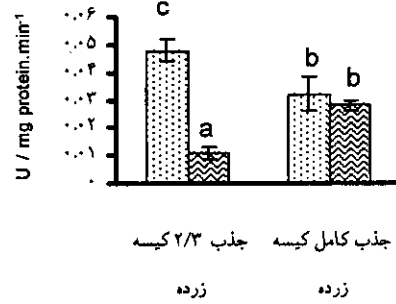
نمودار ۲: فعالیت آنزیم تریپسین



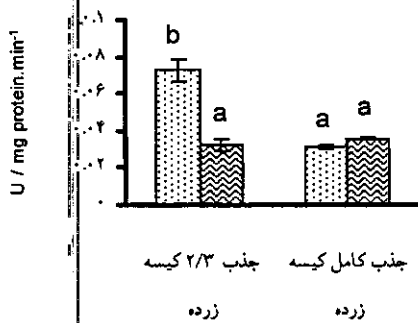
نمودار ۱: فعالیت آنزیم پپسین



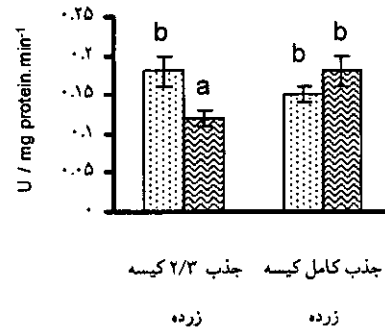
نمودار ۴: فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز



نمودار ۳: فعالیت آنزیم کیموتریپسین



نمودار ۶: فعالیت آنزیم فسفاتاز قلبانی



نمودار ۵: فعالیت آنزیم لیپاز

در تمام نمودارها، تفاوت بین نمودارهایی که دارای حرف مشترک نیستند معنی‌دار می‌باشد (Mn±SD, n=3, α=0.05).

بحث

ترشحات آنزیمی با وقایع بافت‌شناسی در ارتباط است (Cara و همکاران، ۲۰۰۳). مطالعه بر روی ۴ گونه از ماهیان با رژیم غذایی مختلف (کپور معمولی با رژیم غذایی همه چیزخواری، کپور نقره‌ای با رژیم غذایی فیتوپلانکتونی، *Amiurus nebulosus* با رژیم غذایی گوشتخواری و *Coregonus nasus* با رژیم غذایی زئوبنتوز) نشان داد که سیستم عملکرد پروتئازها مانند پروتئاز قلیایی می‌تواند با شکل‌گیری و تمایز اندامهای مختلف مرتبط باشد (Kuzmina & Gelman, 1998). مقایسه فعالیت آنزیمی بین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و ماهی آزاد دریای خزر نشان داد که در زمان شروع تغذیه افزایش در سطح فعالیت آنزیمها وجود دارد ولی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بجز آنزیمهای آلفا-آمیلاز و لیپاز بقیه آنزیمهای مورد بررسی فعالیت بیشتری داشته و اختلاف آماری معنی‌داری با ماهی آزاد داشتند. در مورد آنزیم آلفا-آمیلاز باید به این نکته اشاره نمود که هر دو این ماهیان از دسته ماهیان گوشتخوار محسوب می‌شوند و مقدار کربوهیدرات در غذای آنها کم است (سدویک، ۱۳۷۹). از آنجاییکه آنزیم آلفا-آمیلاز بر روی مواد ترکیبات قندی عمل می‌کند، بنابراین بایستی در این گونه ماهیان فعالیت پایینی داشته باشد. بررسی بر روی لارو ماهی هالیبوت آتلانتیک (*Hippoglossus hippoglossus*) نشان داد که این ماهی یک ماهی گوشتخوار بوده و چون مقدار کربوهیدرات در غذای این ماهی کم است لذا میزان فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز پائین است (Gawlicka et al., 2000). در ماهیان گوشتخوار بخصوص آنها بیکه در دمای پایین پرورش می‌یابند بدلیل استفاده اندک از مواد کربوهیدراته در غذای آنها، فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز پائین است (Gawlicka et al., 2000). در مورد آنزیم لیپاز می‌توان گفت که دو نوع از این آنزیم در لارو ماهیان قابل ارزیابی است که یکی با جذب زرده در ماهیان (نوع فسفولیپید) همراه است و دیگری با تغذیه ماهی (هضم لیپید موجود در غذا) در ارتباط می‌باشد (Oozeki & Bailey, 1995). در ماهی آزاد دریای خزر از آنجاییکه تا قبل از جذب کیسه زرده غذایی دریافت نمی‌کند بنابراین آنزیم لیپاز می‌تواند از نوع اول باشد. مطالعه شیمی بافتی کیسه زرده در ماهی آزاد دریای خزر نیز وجود واکوتلهای چربی در کیسه زرده را تأیید می‌نماید (بحرکاظمی، ۱۳۸۲). در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که در زمان جذب ۲/۳ کیسه زرده غذایی می‌شود وجود آنزیم لیپاز می‌تواند از نوع دوم باشد. البته باید توجه نمود که مقدار چربی موجود در غذای این ماهیان پایین است. فعالیت آنزیمهای تریپسین و کیموتریپسین در قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به ماهی آزاد دریای خزر در زمان شروع غذایی بالاتر بوده و اختلاف آماری معنی‌داری داشتند. از آنجاییکه مقدار پروتئین در غذای این ماهیان بالاست بنظر

بزرسی فعالیت آنزیمهای پپسین، تریپسین، کیموتریپسین، آلفا-آمیلاز، لیپاز و فسفاتاز قلیایی نشان داد که این آنزیمها در زمان جذب ۲/۳ کیسه زرده و جذب کامل آن در ماهی آزاد دریای خزر و قزل‌آلای رنگین‌کمان وجود دارند. این آنزیمها نقش مهمی در هضم مواد غذایی بخصوص در مرحله شروع تغذیه فعال دارند (Gawlicka et al., 2000). ترشحات آنزیمی در لارو ماهیان می‌تواند با وقایعی همچون تکامل دستگاه گوارش و شکل‌گیری برخی اندامهای مهم در عمل گوارش نظیر پانکراس و کبد در ارتباط باشد (Govoni et al., 1986). تغییر در فعالیت آنزیمی می‌تواند با شروع تغذیه خارجی و تغییر در رژیم غذایی و همچنین افزایش سن صورت گیرد (Kuzmina & Gelman, 1998). در ماهی آزاد دریای خزر و ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در زمان شروع غذایی افزایش در سطح فعالیت آنزیمها وجود دارد. در مورد اثر تغذیه بر افزایش فعالیت آنزیمی گزارشات متعددی در لارو ماهیان وجود دارد. در ماهی *Coregonus polan* در زمان شروع غذایی افزایش در سطح فعالیت آنزیم پپسین گزارش گردیده است (Dabrowski, 1982). در تاسماهی دریاچه‌ای (*Acipenser fulvescens*) نیز در زمان شروع غذایی در ۱۴ تا ۱۸ روزگی بعد از تفریح افزایش در سطح فعالیت آنزیمهای پپسین و آلفا-آمیلاز و لیپاز گزارش گردیده است (Buddington, 1985). در ماهی *Diplodus sargus* با شروع غذایی در ۵ روز بعد از تفریح و با تغییر در رژیم غذایی افزایش در سطح فعالیت آنزیمهای پپسین، پروتئاز قلیایی، آلفا-آمیلاز، لیپاز و فسفاتاز قلیایی دیده شد (Cara et al., 2003). در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) در زمان شروع غذایی افزایش در سطح فعالیت آنزیمهای تریپسین و کیموتریپسین دیده شد (Lauff & Hufer, 1984). در ماهی *Scophthalmus maximus* با شروع غذایی در ۳ روز بعد از تفریح در سطح فعالیت آنزیمهای تریپسین و کیموتریپسین و فسفاتاز قلیایی افزایش مشاهده شد (Cousin et al., 1987). در تاسماهی سبیری (*Acipenser baeri*) با شروع غذایی افزایش در سطح فعالیت آنزیمهای کیموتریپسین و لیپاز دیده شد (Gisbert et al., 1999). در ماهی *Solea solea* در زمان شروع تغذیه خارجی افزایش در سطح فعالیت آنزیم آمیلاز گزارش گردید (Cousin et al., 1987). در ماهی *Sparus aurata* نیز در زمان غذایی افزایش در سطح فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی مشاهده شد (Sarasquete et al., 1993). بررسی‌های بافت‌شناسی در ماهی آزاد دریای خزر نشان می‌دهد که در زمان جذب ۲/۳ کیسه زرده تکامل دستگاه گوارش صورت گرفته و اندامهایی مانند معده، روده قدامی، میانی و خلفی شکل گرفته است (بحرکاظمی، ۱۳۸۲). در ماهی *D. sargus* نیز

از زمان تفریح تا مرحله بچه ماهی یک تابستانه (Parr). پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران. ۱۱۶ صفحه.

سدویک، ا.د.، ۱۳۷۹. راهنمای تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلا. ترجمه: مهرداد عبدا... مشائی، ویراست پنجم، انتشارات نور بخش. ۲۰۸ صفحه.

شفر، ج. و برومیچ، ن.، ۱۳۷۵. پرورش متراکم ماهی. ترجمه: مسعود ستاری و محمد کریم معتمد، جلد اول، ۱۹۳ صفحه.

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

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

Buddington, R.K., 1985. Digestive secretions of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, during early development. *Journal of Fish Biology*. Vol. 26, pp.715-723.

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*. Vol. 63, pp.48-58.

Cousin, J.C.B.; Baudin-Laurencin, F. and Gabaudan, J., 1987. Ontogeny of enzymes activities in fed and fasting Turbot, *Scophthalmus maximus*. *Journal of Fish Biology*. Vol. 30, pp.15-33.

Dabrowski, K., 1982. Proteolytic enzyme activity decline in starving fish alevins and larvae. *Environ. Biology of fishes*. Vol. 7, No. 1, pp.73-76.

Erlanger, B.; Kokowsky, N. and Cohen, W., 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch. Biochem. Biophys.* Vol. 95, pp.271-278.

Gawlicka, A.; Parent, 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*

می‌رسد که در زمان شروع غذادهی، قزل‌آلای رنگین کمان قابلیت هضم بیشتری از مواد پروتئینه را دارا باشد چون این آنزیمها جزء آنزیمهای پروتئاز روده‌ای محسوب می‌شوند و بیشتر هضم و جذب مواد غذایی در روده اتفاق می‌افتد (Jobling, 1995). فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در قزل‌آلای رنگین کمان نسبت به ماهی آزاد دریای خزر در زمان شروع غذادهی بیشتر بوده و اختلاف آنها از نظر آماری معنی‌دار بود. این آنزیم که از منطقه نوار مسواکی (Brush Border) در روده ترشح می‌شود نقش مهمی در فرآیند معدنی سازی اسکلت جانوران آبی، انتقال فسفات و همچنین هیدرولیز پروتئینهای فسفوریله شده دارد (Letelier et al., 1985). از آنجاییکه مقدار پروتئین هضم شده در روده توسط آنزیمهای تریپسین و کیموتریپسین در قزل‌آلای رنگین کمان بیشتر از ماهی آزاد است لذا بالا بودن فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی که در هیدرولیز پروتئینهای فسفوریله شده نقش دارد منطقی بنظر می‌رسد. فعالیت آنزیم پپسین در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بالاتر از ماهی آزاد در زمان شروع غذادهی است ولی اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد. با توجه به بالا بودن مقدار پروتئین در غذای این ماهیان باید گفت که در حدود ۱۰ درصد از باندهای پپتیدی در معده شکسته می‌شود و مابقی باندها در روده توسط آنزیمهای پروتئاز روده‌ای شکسته می‌شود (Ugolev & Kuzmina, 1993). البته باید توجه نمود که آنزیم پپسین یک آنزیم معدی است که توسط این اندام ترشح می‌شود و بررسی‌ها در ماهیان مختلف از جمله ماهی *D. sargus* نشان می‌دهد که با رشد لارو و تکامل بیشتر دستگاه گوارش مانند معده میزان فعالیت این آنزیم افزایش بیشتری می‌یابد (Cara et al., 2003). بررسی فعالیت آنزیمی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و ماهی آزاد دریای خزر نشان داد که در زمان جذب ۲/۳ کیسه زرده قزل‌آلای رنگین کمان توانایی بیشتری در هضم مواد غذایی داشته و در کارگاه پرورشی غذادهی در همین زمان انجام می‌شود. در ماهی آزاد در زمان جذب ۲/۳ کیسه زرده تکامل دستگاه گوارش صورت گرفته و از این نظر ماهی قادر به تغذیه است ولی فعالیت آنزیمی در مقایسه با ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پایین است و علت دریافت نکردن مناسب غذا توسط ماهی آزاد در این مرحله می‌تواند به علت پایین بودن فعالیت آنزیمی بخصوص آنزیمهای پروتئاز باشد. لذا مطالعات بیشتر می‌تواند بر روی ترکیب غذایی مورد استفاده در زمان تغذیه لارو ماهی آزاد صورت گیرد، زیرا بنظر می‌رسد که غذای مورد استفاده برای قزل‌آلای رنگین کمان در زمان شروع غذادهی، غذای مناسبی برای ماهی آزاد نباشد.

منابع

بحر کاظمی، م.، ۱۳۸۲. مطالعه بافت‌شناسی و شیمی بافتی لوله گوارش ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

- hippoglossus*): Indication of readiness for first feeding. *Aquaculture*. Vol. 184, pp.303-314.
- Gisbert, E. ; Sarasquete, M.C. ; Williot, P. and Castello-Orvay, F. , 1999. Histochemical of the development of the digestive system of Siberian sturgeon during early ontogeny. *Journal of Fish Biology*. Vol. 55, pp.596-616.
- Govoni, J.J. ; Boehlert, G.W. and Watanabe, Y. , 1986. Physiology of digestion in fish larvae. *Environ. Biology of Fishes*. Vol. 16, No. 1-3, pp.59-77.
- Hummel, B.C.W. , 1959. A modified spectrophotometric determinations of chymo-trypsin, trypsin and thrombin. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. Vol. 37, pp.1393-1399.
- Jobling, M. , 1995. Digestion and absorption. In: (ed. M. Jobling), *Environmental Biology of Fishes*, Chapter 6, Chapman & Hall, London, UK. pp.175-210.
- Kuzmina, V.V. and Gelman, A.G. , 1998. Traits in the development of the digestive function in fish. *Journal of Ichthyology*. Vol. 39, No. 1, pp.106-115.
- Lauff, M. and Hofer, R. , 1984. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture*. Vol. 37, No. 4, pp.335-345.
- Letelier, M.E. ; Repetto, Y. ; Aldunate, J. and Morello, A. , 1985. Acid and Alkaline phosphatase activity in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 81B, pp.47-51.
- Olsen, Y. ; Evjemo, J.O. and Olsen, A. , 1999. Status of the cultivation technology for production of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) juveniles in Norway/Europe. *Aquaculture*. Vol. 176, pp.3-13.
- Oozeki, Y. and Bailey, K.M. , 1995. Ontogenetic development of digestive enzymes activities in larval wall eye Pollock, *Theragra chalcogramma*. *Mar. Biol*. Vol. 122, pp.177-186.
- Ragyanski, M. , 1980. Preliminary investigation on the proteolytic digestive enzymes of Carp fry. *Aquaculture Hung. (Szarvas)*. Vol. 2, pp.27-30.
- Rønnestad, I. ; Koven, W. ; Tandler, A. ; Morde Chai, H. and Fyhn, H.J. , 1998. Utilization of yolk fules in developing eggs and larvae of European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*. Vol. 161, pp.157-170.
- Sarasquete, M.C. ; Polo, A. and Yufera, M. , 1993. A histochemical and immunochemical study of digestive enzymes and hormones during the larval development of the Sea bream, *Sparus aurata* L. *Histochemistry Journal*. Vol. 25, pp.430-437.
- Ugolev, A.M. and Kuzmina, V.V. , 1993. Pischevaritelnie protsessai adaptatsyy uryb, Izdatelstva, Akodemai nauk, Russia. 238P.
- Walter, K. and Schutt, C. , 1974. Alkaline phosphatase in serum (continuous assay) In: (ed. H.U. Berg meyer), *Methods of enzymatic analysis*. 2nd edition. Academic Press, New York, USA. Vol. 2, pp.860-864.
- Watanabe, T. and Kiron, V. , 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture*. Vol. 124, pp.223-251.
- Worthington, C.C. , 1991. *Worthington enzyme manual related Biochemical*. 3rd Edition. Freehold, New Jersey, USA. pp.212-215.

A measurement and comparison of digestive enzymes activity in larvae of Caspian brown trout and rainbow trout at initiation of exogenous feeding

Zamani A.^{(1)*}; Hajimoradloo A.⁽²⁾; Madani R.⁽³⁾; Farhangi M.⁽⁴⁾ and

Vilaki A.S.⁽⁵⁾

Zamanibouzandan @ yahoo.com

1- Fisheries Department, Faculty of Marine Science, Navigation and Marine Sciences University, Zip Coad: 99717-56499 Chabahar, Iran

2- Fisheries Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, P.O.Box: 386 Gorgan, Iran

3- Biotechnology Department, Razi Vaccine and Serum Research Institute, P.O.Box: 11365-1558 Karaj, Iran

4- Fisheries & Environmental Sciences Department, Faculty of Natural Resources, Tehran University, P.O.Box: 4111 Karaj, Iran

5-Iranian Fisheries Organization, P.O.BOX: 14155-6353 Tehran, Iran

Received: November 2006

Accepted: January 2007

Keywords: Digestive enzymes, Caspian brown trout, Rainbow trout

Abstract

To determine the digestive capacity of larvae in Caspian brown trout and Rainbow trout, activity of digestive enzymes including pepsin, trypsin, chymotrypsin, α -amylase, lipase and alkaline phosphatase in $\frac{2}{3}$ and complete yolk-sac absorption stages were assessed. Results showed enzyme activity was significantly higher in Rainbow trout than in Caspian brown trout at $\frac{2}{3}$ yolk-sac absorption stage ($P < 0.05$). Enzyme activity was increased in Caspian brown trout at complete yolk-sac absorption. The enzymes pepsin, trypsin, α -amylase, lipase and alkaline phosphatase were higher in Caspian brown trout than in Rainbow trout but of these only α -amylase was significantly different between the two ($P < 0.05$). Chymotrypsin was lower in Caspian brown trout than in Rainbow trout but not significantly ($P > 0.05$). At the start of feeding, activity of pepsin, trypsin, chymotrypsin and alkaline phosphatase were higher in Rainbow trout than in Caspian brown trout but the difference was not significant for pepsin ($P > 0.05$) whereas trypsin, chymotrypsin and alkaline phosphatase were significant different between the two ($P < 0.05$). α -amylase was lower in Rainbow trout than in Caspian brown trout but not significantly ($P > 0.05$). Lipase was similar in both fish. Higher enzyme activity in Rainbow trout than in Caspian brown trout at $\frac{2}{3}$ yolk-sac absorption shows the high ability for digesting food in rainbow at this stage. Also, low enzyme activity in Caspian brown trout at this stage is believed to be one of the reasons for low food intake and digestion at this stage.

* Corresponding author