دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره پنجم، شماره دوم، تابستان ۹۶
http://jair.gonbad.ac.ir

بررسی تأثیر سطوح مختلف پروتئین و چربی جیره غذایی بر فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی تحت در ماهی صبیتی جوان *Sparidentex hasta* (Valenciennes, 1830)

فرزانه شیروانی فارسانی[۱]، پریتا کوچنین*[۲]، محمد ذاکری[۳]، احمد تقوی‌مقدم[۴]، سیدمحمد موسوی[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
[۲]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
[۳] استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
[۴]مربی، مؤسسه سرم و واکسن سازی رازی اهواز، اهواز، ایران
تاریخ ارسال: ۹۴/۱۰/۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۶

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی ماهیان جوان صبیتی (*S. hasta*) تحت تأثیر سطوح مختلف پروتئین و چربی جیره غذایی، طراحی گردید. شش جیره غذایی شامل سه سطح پروتئین (۳۵، ۴۰ و ۴۵ درصد) و دو سطح چربی (۷ و ۱۴ درصد) جهت تغذیه ماهیان در تیمارهای ۱ تا ۶ در نظر گرفته شد. ماهیان با میانگین وزنی اولیه ۰/۲۸±۳۶/۵۵ گرم به طور تصادفی (۱۰ ماهی در تانک) در ۱۸ تانک ۳۰۰ لیتری حاوی آب فیلتر شده دریا با شوری ppt ۲۷ ذخیره سازی شدند. ماهیان آزمایشی به مدت ۵۶ روز، سه بار در روز تا حد سیری ظاهری غذادهی شدند. پس از پایان دوره آزمایش، فعالیت آنزیم‌های گوارشی شامل پروتئاز کل، آلکالین‌فسفاتاز و آلفاآمیلاز اندازه‌گیری شد. براساس نتایج حاصل از این مطالعه فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز و پروتئاز کل به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف پروتئین قرار گرفتند ولی اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز مشاهده نگردید. همچنین در سطوح مختلف چربی جیره غذایی اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های آلکالین‌فسفاتاز و آلفاآمیلاز مشاهده نشد. درصورتی‌که فعالیت پروتئاز کل افزایش معنی‌داری در سطح ۱۴ درصد چربی جیره غذایی نشان داد. از لحاظ مقایسه‌ای ارتباط مستقیمی میان افزایش میزان فعالیت آنزیم الکالین‌فسفاتاز و روند کاهشی اندکی در میزان فعالیت آنزیم

*نویسنده مسئول: pkochanian@gmail.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

آلفاآمیلاز با افزایش سطوح چربی جیره غذایی مشاهده گردید. از طرفی هم‌کنش اثر پروتئین و چربی جیره غذایی تنها بر میزان فعالیت پروتئاز کل تأثیر معنی‌داری نشان داد. نتایج نشان داد که می‌توان با ایجاد تعادل مناسب بین سطوح ۴۰٪ پروتئین و ۱۴٪ چربی در جیره غذایی ماهی صبیتی، سبب صرفه جویی در مصرف پروتئین، بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی و در نهایت افزایش رشد و کاهش هزینه‌های تولید غذا گردید. همچنین تعیین نسبت فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز به پروتئاز می‌تواند قابلیت تطابق آبزیان را با شرایط تغذیه‌ای نشان دهد.

***واژه‌های کلیدی*: *S. hasta*، آنزیم‌های گوارشی، پروتئین جیره غذایی، چربی جیره غذایی**

مقدمه

نیاز پروتئینی ماهیان گوشتخوار دریایی نسبت به سایر ماهیان بیشتر بوده (Fatma Abidi and Khan, 2010) و درنتیجه به جیره غذایی با سطح بالای پروتئین نیاز دارند که به‌کار بردن مقادیر بالای پروتئین در جیره غذایی آن‌ها از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نیست (NRC, 1993)، در نتیجه فقط در صورت استفاده از منابع جایگزین پروتئین جهت تأمین انرژی مورد نیاز ماهی نظیر چربی و کربوهیدرات، آبزی‌پروری دریایی قادر به توسعه خواهد بود. از آنجایی‌که چربی نسبت به کربوهیدرات منبع مناسب‌تری جهت تأمین انرژی در گونه‌های گوشتخوار است، استفاده از سطوح مناسب چربی در جیره غذایی سبب تأمین انرژی مورد نیاز ماهی و در نتیجه ذخیره پروتئین جهت رشد می‌گردد (Monentcham *et al*., 2010; Arshad Hossain *et al*., 2010). بنابراین با به‌کار بردن سطوح مناسب و نسبت متعادل پروتئین و چربی در جیره غذایی ماهی، می‌توان گامی اساسی در جهت بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی و افزایش رشد ماهی در روند توسعه آبزی‌پروری پایدار و مقرون به‌صرفه برداشت (Lee *et al*., 2002).

آنزیم‌های گوارشی نقش بسیار مهمی در روند هضم و جذب مواد مغذی اعم از پروتئین و چربی دارند (Rungruangsak-Torrissen *et al*., 2006) و ارزیابی فعالیت آنزیم‌های گوارشی در گونه‌های پرورشی در انتخاب درست اجزای غذایی جیره برای محققان و پروش‌دهندگان بسیار مفید است (Lan and Pan, 1993). با وجود اهمیت زیاد این موضوع، داده‌های حاصل از تحقیقات پژوهشگران در زمینه تغییرات فعالیت آنزیم‌های گوارشی با تغییر سطوح اجزای جیره غذایی برای ماهیان اندک است. از این رو مطالعه آنزیم‌های گوارشی یک گام ضروری در پی بردن به چگونگی مکانیسم گوارش و سازگاری جانداران با تغییرات محیط مغذی است (Sunde *et al*., 2004) که جهت نیل به این هدف و پی‌بردن به وضعیت گوارشی ماهی، مطالعه دقیق در مورد عادات تغذیه‌ای، رژیم غذایی و محیط اکولوژیک ماهی ضروری است (Falcón-Hidalgo *et al*., 2011).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

از جمله آنزیم‌های گوارشی که در این روند تأثیر بسزایی دارند می‌توان به پروتئازهای قلیایی و اسیدی، آلکالین‌فسفاتاز و آلفاآمیلاز اشاره کرد. قسمت تحتانی دستگاه گوارش بیشتر ماهیان (خصوصاً در ماهیان گوشتخوار) واجد یک معده حقیقی است که مخاط ترشحی آن، پروتئازهای اسیدی مانند پپسین و پپتیداز برای شکستن پروتئین تولید می‌کند (Yúfera *et al.*, 2004; García-Meilán *et al.*, 2013). پروتئین در محیط قلیایی روده نیز توسط پروتئازهای قلیایی نظیر آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین شکسته می‌شود. ماهیان گوشتخوار همچنین دارای یک یا چند کیسه به‌نام زوائد باب‌المعدی می‌باشند که این کیسه‌ها واجد بافت ترشحی‌اند و در محل اتصال معده-روده قرار دارند. وجود بافت‌های ترشحی متعدد نشان دهنده فعالیت بالاتر آنزیم‌های پروتئازی در ماهیان گوشتخوار نسبت به سایر ماهیان با عادات تغذیه‌ای دیگر می‌باشد (Xiong, 2012). فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز، تنها در منطقه نوار مسواکی[1] سلول‌های اپی تلیال روده‌ای، بالا می‌باشد. این آنزیم اغلب به عنوان شاخص درجذب مواد مغذی تلقی می‌شود (Silva *et al.*, 2010). همچنین نقش مهمی در هضم نهایی مواد پروتئینی بر عهده دارد. این آنزیم در حضور سوبسترا در مدت زمان کوتاهی فعالیت خود را نشان می‌دهد (Wahnon *et al.*, 1992). فعالیت این آنزیم با حضور مواد غذایی پپتیدی افزایش می‌یابد (Sonoyama *et al.*, 1994). آلکالین‌فسفاتاز در راستای فعالیت پروتئازها به هیدرولیز بهتر پروتئین‌ها کمک نموده و این عمل را در سطوح مناسب پروتئینی جیره غذایی به بهترین شکل خود انجام می‌دهد. آنزیم آلفاآمیلاز در پانکراس، معده، روده، صفرا و در بعضی گونه‌ها در مری دارای فعالیت است (Klahan *et al.*, 2009)، اما در روده و لوزالمعده بیشتر مشهود بوده و حداکثر فعالیت آن در محیط قلیایی می‌باشد (Natalia *et al.*, 2004). با این‌حال تولید کننده اصلی آن لوزالمعده و کبد می‌باشد (Klahan *et al.*, 2009). از طرفی فعالیت آن در بخش پیشین دستگاه گوارش گوشتخواران، نسبت به بخش‌های دیگر بیشتر بوده ولی به طور کلی ترشح این آنزیم در گوشتخواران در مقایسه با گیاهخواران کمتر است (Xiong, 2012).

ماهی صبیتی (*S. hasta*) از گونه‌های مهم و تجاری خلیج فارس محسوب می‌شود و میزان صید بالایی در مناطق مختلف خلیج فارس به خصوص در سواحل استان خوزستان دارد (Teng *et al.*, 1999; Abu-Rezq *et al.*, 2013). در ایران پرورش ماهیان دریایی در خلیج فارس در مراحل اولیه خود به سر می‌برد. در میان کشورهای خاور دور و نزدیک، ایران با توجه به نوار ساحلی منحصر به‌فرد خود دارای موقعیتی ممتاز در زمینه پرورش ماهیان دریایی می‌باشد. با بهبود مدیریت، ارتقا تکنولوژی تغذیه و آگاهی بیشتر نسبت به انتخاب مکان پرورش، می‌توان انتظار داشت که این امر نقش بسزایی در آبزی‌پروری دریایی و رونق اجتماعی و اقتصادی مناطق ساحلی ایران داشته باشد. از میان نمونه‌های

1. Brush border

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

معرفی شده جهت پرورش، پرورش ماهی صبیتی به دلیل قرار داشتن در لیست مهم‌ترین گونه‌های با ارزش حوضه خلیج فارس و ذائقه پسندی بالای آن در منطقه، از اهمیت به‌سزایی برخوردار می‌باشد. نظر به گسترش جهانی آبزی‌پروری و روند رو به رشد تقاضا برای محصولات دریایی مسلماً در ایران جهت تولید اقتصادی این محصولات در ابتدا از گونه‌هایی از شانک ماهیان که دارای ویژگی‌های مناسب جهت پرورش هستند استفاده خواهد شد. گسترش محصولات دریایی در ایران بر حسب نیاز بازار به محصولات دریایی می‌باشد. قیمت این محصولات را عوامل زیادی از جمله عادات غذایی مصرف کنندگان، کیفیت، رقابت و نوع آن تعیین می‌کنند. در سال‌های اخیر افزایش تقاضا برای ماهیانی نظیر صبیتی و هامور ماهیان و نیز سود بالای پرورش این ماهیان نظر سرمایه گذاران ایران را به این صنعت جلب کرده است و سرمایه‌گذاری‌های جدید برای پرورش این ماهیان در سواحل بوشهر و قشم رو به افزایش می‌باشد (Pourkhan *et al*., 2009). از سوی دیگر علاقه‌مندی به پرورش گونه با ارزش صبیتی در سایر کشورهای حوضه خلیج فارس به اثبات رسیده است. در این میان، کشور کویت دارای سابقه تحقیقاتی و عملی در زمینه پرورش گونه‌هایی از شانک ماهیان نظیر گونه با ارزش صبیتی در جهت تکثیر و پرورش می‌باشد. میزان تولیدات آبزی‌پروری سالانه در کویت برای این گونه از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۴ در حدود ۵۵ تا ۱۶۴ تن بوده است و در سال ۲۰۰۵ و ۲۰۰۶ طبق گزارشات FAO، کویت فاقد تولیدات حاصل از آبزی‌پروری این گونه بوده است. در سال ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۱ میزان تولیدات سالانه با روندی کاهشی به میزان ۱۳ تا ۳۵ تن رسید (FAO, 2012). که علت این امر را می‌توان نامناسب بودن تکنیک‌های پرورشی به خصوص اطلاعات ناکافی در زمینه نیازهای تغذیه‌ای این گونه و در نتیجه مرگ و میر آن دانست.

ماهی صبیتی نسبت به ماهی شانک زرد باله از رشد سریع‌تر و بازارپسندی و قیمت بیشتری برخوردار است (Abu-Rezq *et al*., 2013)؛ این رشد سریع، مدت زمان تبدیل ماهی به اندازه‌ی بازاری را کوتاه‌تر می‌کند که این نکته سبب افزایش ارزش اقتصادی و سودآوری سیستم‌های پرورشی این گونه می‌شود (Al-Abdul-Elah *et al*., 2000). با این وجود به دلیل نو پا بودن صنعت آبزی‌پروری دریایی، اطلاعات دقیقی در مورد تکنیک‌های تکثیر و پرورش این گونه با ارزش تجاری برای رسیدن به بالاترین میزان تولید با صرفه اقتصادی، در دست نمی‌باشد. از طرفی مهم‌ترین مرحله در پرورش هر گونه، شناخت صحیح از نیازهای تغذیه‌ای، ظرفیت گوارشی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی آن گونه جهت افزایش راندمان غذایی و افزایش رشد می‌باشد. از این رو مطالعات تغذیه‌ای در جهت طراحی و ساخت جیره‌های غذایی با کم‌ترین هزینه و متعادل از لحاظ سطوح مختلف مواد غذایی برای استفاده در سیستم‌های پرورش ماهی صبیتی، امری لازم و ضروری می‌باشد (Aprodu *et al*., 2012).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط پرورش: ماهیان جوان صبیتی (*S. hasta*) به تعداد ۳۰۰ قطعه در شهریور ماه ۱۳۹۲ از ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی در بندر امام خمینی (ره) تهیه و به آزمایشگاه خیس دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انتقال داده شدند. طول دوره پرورش ۵۶ روز بود. پس از ۲۱ روز دوره سازگاری، ماهیان با میانگین وزنی اولیه ۰/۲۸±۳۶/۵۵ گرم به صورت تصادفی (۱۰ ماهی در تانک) در ۱۸ تانک ۳۰۰ لیتری حاوی آب فیلتر شده دریا با شوری ppt ۲۷ ذخیره سازی شدند. در طول دوره آزمایشی میانگین شوری آب و دمای آب به ترتیب بین ppt ۰/۰۴±۲۷/۴ و ۰/۰۸±۲۶/۳۱ درجه سانتی‌گراد حفظ گردید. میانگین اکسیژن محلول آب ۰/۱۳±۶/۱۶ میلی‌گرم بر لیتر و محدوده pH هم ۸-۷ بود. دوره آزمایش در سالنی سرپوشیده با شرایط یکسان با تناوب نوری بر اساس ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی کنترل گردید و ماهیان آزمایشی سه بار در روز در ساعات ۸:۰۰، ۱۳:۰۰ و ۱۸:۰۰ به روش سیری غذادهی شدند.

جدول ۱- اجزای غذایی و فرمولاسیون جیره‌های غذایی آزمایشی (گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک جیره غذایی) ماهی صبیتی جوان (*S. hasta*).

اجزای غذایی	تیمارهای غذایی					
	P35/L7	P40/L7	P45/L7	P35/L14	P40/L14	P45/L14
پودر ماهی[1]	۳۴	۳۴	۳۴	۳۴	۳۴	۳۴
آرد سویا[1]	۱۸	۱۸	۱۸	۱۸	۱۸	۱۸
کازئین[1]	۳	۱۲	۲۱	۳	۱۲	۲۱
روغن ماهی	۳	۳	۳	۸	۸	۸
روغن آفتابگردان	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۴	۴	۴
آرد گندم[1]	۳۳/۵	۲۵/۵	۱۷/۵	۲۸/۵	۲۰	۱۱/۵
زئولیت	۴	۳	۲	۱/۵	۱	۰/۵
مکمل ویتامین[2]	۲	۲	۲	۲	۲	۲
مکمل معدنی[3]	۱	۱	۱	۱	۱	۱

۱. آنالیز تقریبی اجزای غذایی براساس درصد وزن خشک، پودر ماهی (٪۶۴/۱۷ پروتئین خام و ٪۳/۸۵ چربی خام)؛ پودر سویا (٪۴۱/۶۵ پروتئین خام و ٪۲/۱۷ چربی خام)؛ پودر کازئین (٪۶۸/۴۳ پروتئین خام و٪ ۳/۳۵ چربی خام)؛ آرد گندم (٪۳۹/۱۱ پروتئین خام و ٪۱/۱۹ چربی خام).

۲. در هر کیلوگرم مکمل ویتامین: A: 600000IU، D_3:400000 IU، E: 40000 mg، K_3: 1000 mg، B_1: 3000 mg، B_2: 5000 mg، B6: 3000 mg، B12:8000 mg، C: 52000 mg، نیکوتنیک اسید: 30000 mg، دی-کلسیم پانتوتنیک: 9000 mg، فولیک اسید: 1600 mg، دی بیوتین: 160 mg، اینوزیتول: 24000 mg، آنتی اکسیدانت: 5000 mg.

۳. در هر کیلوگرم مکمل ماده معدنی: منگنز: ۲۶۰۰ میلی گرم، آهن: ۴۰۰۰ میلی‌گرم، روی: ۶۰۰۰ میلی‌گرم، سلنیوم: ۵۰۰۰ میلی‌گرم، ید: ۲۰۰۰ میلی‌گرم، کولین کلراید: ۱۲۰۰۰۰ میلی‌گرم.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

جیره‌های غذایی آزمایشی: در این پژوهش شش جیره غذایی شامل سه سطح پروتئین ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درصد و دو سطح چربی ۷ و۱۴ درصد (وزن خشک جیره غذایی) طراحی گردید (Sa *et al*., 2006; Alam *et al*., 2009). تمامی آنالیزهای تقریبی اجزای غذایی و جیره‌های آزمایشی با استفاده از روش کار استاندارد (AOAC) انجام پذیرفت. اجزای غذایی و فرمولاسیون جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ و آنالیز تقریبی جیره‌های غذایی آزمایشی در جدول ۲ آورده شده‌اند. جیره‌های غذایی آزمایشی با استفاده از نرم افزار WUFFFDA[1] (نسخه ۲,۴) فرموله شدند. مراحل ساخت جیره‌های غذایی آزمایشی در آزمایشگاه شیلات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام گردید.

جدول ۲- آنالیز تقریبی جیره‌های غذایی آزمایشی (گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک جیره غذایی، n=۳) ماهی صبیتی جوان (*S. hasta*).

مواد مغذی	تیمارهای غذایی					
	P35/L7	P40/L7	P45/L7	P35/L14	P40/L14	P45/L14
ماده خشک	۹۴/۶۱	۹۳/۳۱	۹۳/۱۶	۹۴/۶۹	۹۴/۱۱	۹۴/۱۶
پروتئین	۳۶/۰۶	۳۹/۴۷	۴۴/۶۷	۳۵/۷۰	۴۱/۰۲	۴۶/۷۰
چربی	۷/۰۴	۶/۵۲	۷/۳۸	۱۴/۲۲	۱۴/۴۸	۱۴/۳۴
خاکستر	۱۶/۵۴	۱۶/۹۷	۱۶/۱۱	۱۶/۰۱	۱۶/۸۲	۱۶/۲۵
کربوهیدرات[1]	۳۴/۹۷	۳۰/۳۵	۲۵	۲۸/۷۶	۲۱/۷۹	۱۶/۸۷
GE[2]	۱/۷۰	۱/۷۰	۱/۷۴	۱/۸۸	۱/۹۱	۱/۹۵

۱. (رطوبت+ خاکستر+ چربی+ پروتئین)- ۱۰۰= کربوهیدرات

انرژی خام یا Gross Energy (مگا ژول بر کیلوگرم)، براساس مقادیر ۰/۰۱۷، ۰/۰۳۹۸ و ۰/۰۲۳۷ مگا ژول برگرم به‌ترتیب برای کربوهیدرات، چربی و پروتئین محاسبه شده است.

مراحل نمونه‌گیری از دستگاه گوارش: در انتهای دوره آزمایش، جهت کاهش میزان استرس ماهیان، ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی قطع گردید تا دستگاه گوارش آن‌ها از مواد غذایی به خوبی تخلیه شود (Lemieux *et al*., 1999). ماهی‌ها قبل از نمونه‌برداری توسط عصاره گل میخک به میزان ۲۰۰ppm بیهوش شدند. سپس سه عدد ماهی از هر تکرار آسان‌کشی (قطع نخاع) شده و سریعاً در مجاورت یخ قرار داده شدند تا با حداقل رساندن تغییر فعالیت آنزیمی کالبدگشایی آن‌ها صورت گیرد. در ادامه روده (شامل زوائد پیلوریک، روده و پانکراس) ماهیان خارج شده و جهت عدم اختلال در امر سنجش آنزیمی، کل چربی‌های دیواره بیرونی روده به وسیله اسکالپل جدا و با سرم فیزیولوژی شستشو و در نهایت توزین گردید و درون میکروتیوپ قرار داده شد (Lemieux *et al*., 1999, Al-Saraji

1. Windows User-friendly feed formulation data again

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

and Nasir, 2013). سپس جهت سنجش فعالیت آنزیمی بلافاصله در شرایط انجماد ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد (تانک ازت مایع) نگهداری شدند. لازم به ذکر است که تمام عملیات جداسازی و پاکسازی روده بر روی یخ صورت پذیرفت تا سرعت واکنش‌های آنزیمی کاهش پیدا کرده و محتوای آنزیمی آن حفظ گردد (Kuz'mina *et al.*, 2010).

تهیه عصاره آنزیمی و تعیین فعالیت آنزیم‌های گوارشی: برای سنجش فعالیت آلفاآمیلاز و پروتئاز کل نمونه‌های روده، پانکراس و زوائد پیلوریک پس از خارج شدن از دمای ۸۰- توزین شده و به نسبت ۱ به ۹ با بافر (Tris-HCl ۱۰۰میلی مولار، EDTA ۱/۰ میلی مولار و Triton X- 100 ۱/۰ درصد) در pH ۸/۷ مخلوط شدند. سپس با دستگاه هموژنایزر (D-500, Germany) به‌مدت ۳۰ ثانیه هموژن و در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (Sigma 36HK, USA) با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی در میکروتیوپ ۲ میلی‌لیتری تقسیم شدند. برای استخراج آنزیم آلکالین‌فسفاتاز، ابتدا نمونه‌ها پس از خارج شدن از دمای ۸۰- توزین شده و به نسبت ۱ به ۳۰ با بافر (۲میلی مولار Tris-HCl، ۵۰ میلی مولار Manitol) در pH ۷/۸ مخلوط شدند. سانتریفیوژ در دور ۴۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت. نمونه‌ها هموژن شدند و ۰/۱ مولار $CaCl_2$ به آن‌ها افزوده گردید. سپس در دستگاه سانتریفیوژ یخچال دار با دور ۹۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند و محلول رویی جداسازی گردید (Fischbach and Zawta, 1992).

سنجش غلظت پروتئین محلول: پروتئین محلول نمونه‌های روده‌ای هموژن شده ماهی جوان صبیتی به روش بردفورد (Bradford, 1976) سنجیده شد. به این منظور از آلبومین سرم گاوی (BSA[1]) به عنوان استاندارد استفاده گردید و سپس جهت سنجش پروتئین محلول ابتدا منحنی استاندارد پروتئین تهیه شد. اندازه‌گیری پروتئین محلول عصاره آنزیمی در ۳ تکرار انجام و جذب نوری توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (UV100, USA) در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید. سپس قرائت نوری بدست آمده از نمونه‌ها به منحنی استاندار BSA منتقل و میزان پروتئین محلول محاسبه گردید (Bradford, 1976).

سنجش فعالیت پروتئاز کل: برای سنجش فعالیت پروتئاز کل از روش ورتینگتون (Worthington, 1993) استفاده گردید. در این روش از کازئین به عنوان سوبسترا استفاده شد. برای سنجش این آنزیم از بافر کلسیم کلرید ۰/۰۱[2] مولار، معرف فولین، تری کلرو استیک اسید[3] و استاندارد تیروزین استفاده و

1. Bovine Serum Albomin
2. CaCL2
3. TCA

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

منحنی آن رسم گردید. سپس جذب نوری در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت و داده‌ها به منحنی استاندارد تیروزین انتقال و میزان فعالیت پروتئاز کل محاسبه شد (Worthington, 1993).

سنجش فعالیت فسفاتازقلیایی: کلیه مراحل سنجش به صورت خودکار توسط دستگاه اتوآنالیزر (Mindry BS-200, China) انجام شد. جهت سنجش این آنزیم کیت تشخیص کمی آلکالین‌فسفاتاز شرکت پارس آزمون تهران مورد استفاده قرار گرفت. در این روش سوبسترای P-Nitrophenylphosphate توسط آنزیم آلکالین‌فسفاتاز به فسفات و پارانیتروفنول شکسته می‌شود که یک واکنش رنگ‌زا می‌باشد (Fischbach and Zawta, 1992). در این سنجش از دو معرف A (Diethanolamine, pH 9/8: 1 mol/l; Magnesium chloride: 0/5 mmol/l) و B (P-Nitrophenylphosphate: 10 mmol/l) استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز: برای تعیین فعالیت آلفاآمیلاز از نشاسته به عنوان سوبسترا و از منحنی مالتوز به عنوان منحنی استاندارد استفاده شد. نشاسته تحت اثر آنزیم تجزیه شده و تولید مالتوز می‌نماید که از طریق رنگ سنجی و تغییر شدت رنگ در معرف دی‌نیتروسالیسیلیک اسید قابل سنجش می‌باشد (Bernfeld, 1951; Worthington, 1993; Hassanatabar *et al.*, 2013). واحد فعالیت آلفاآمیلاز، بر حسب میکرومول مالتوز آزاد شده تحت اثر آنزیم در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد (Bernfeld, 1951; Worthington, 1993).

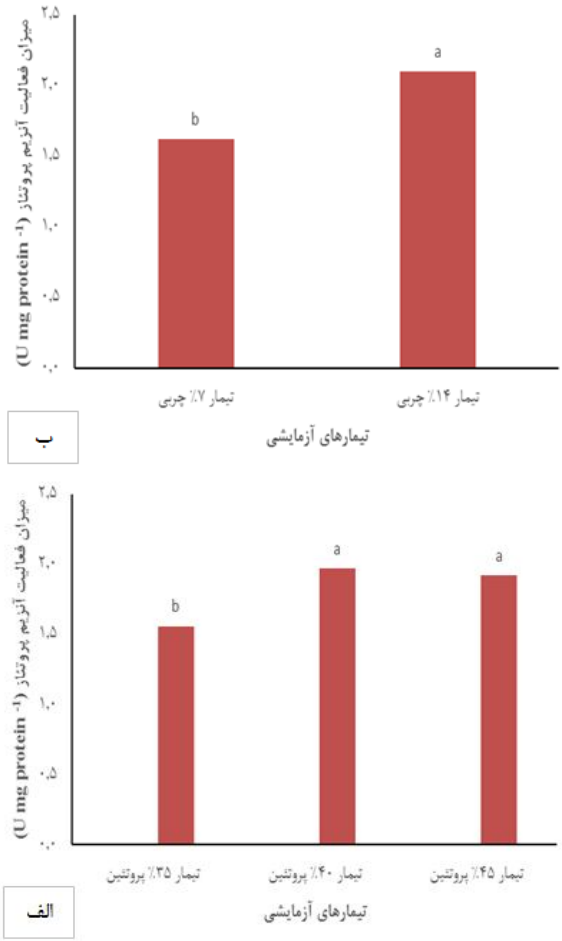
آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (version 16) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده شد. جهت آنالیز داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه (Two- way ANOVA) استفاده شد، سپس اختلاف میان تیمارها در داده‌های به دست آمده در سطح احتمال ($p\leq ۰/۰۵$) به کمک پس آزمون دانکن، بررسی گردید. داده‌ها در نتایج به صورت میانگین± خطای استاندارد (Mean± S.E) بیان شد.

نتایج

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه میزان فعالیت پروتئاز کل تحت تأثیر سطوح مختلف پروتئین و چربی جیره غذایی قرار گرفت ($p<۰/۰۵$) و در سطوح پروتئین ۴۰٪ و چربی ۱۴٪ جیره غذایی بیشترین میزان فعالیت پروتئاز کل مشاهده شد (شکل ۱). همچنین طبق جدول ۳ برهم‌کنش اثر متقابل پروتئین و چربی جیره غذایی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت پروتئاز کل داشت ($p<۰/۰۵$). میزان فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز تنها تحت تأثیر سطوح مختلف پروتئین جیره غذایی قرار گرفت ($p<۰/۰۵$) به طوری‌که در سطح ۴۰ و ۳۵ درصد پروتئین به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت

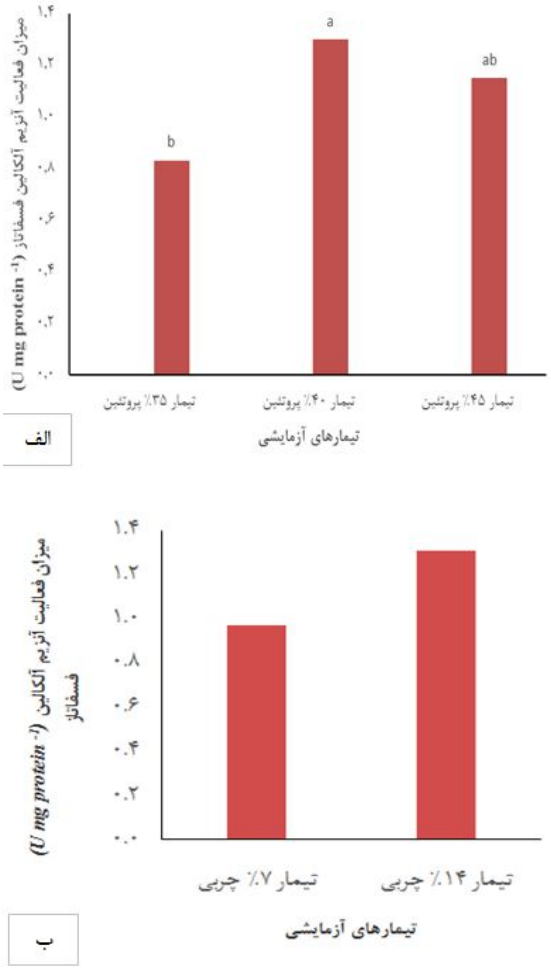
[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

این آنزیم نشان داده شد (شکل ۲). سطوح مختلف چربی جیره غذایی اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز نداشت (p>۰/۰۵) ولی با این حال از لحاظ مقایسه‌ای ارتباط مستقیمی میان افزایش سطوح چربی و افزایش میزان فعالیت این آنزیم مشاهده گردید. همچنین بر اساس آزمون واریانس دو طرفه سطوح مختلف پروتئین و چربی و اثر متقابل این دو ماده مغذی در جیره غذایی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آمیلاز نداشت (p>۰/۰۵) ولی در کل، از لحاظ مقایسه‌ای بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در سطح پروتئین ۴۰ درصد و سطح چربی ۷ درصد مشاهده گردید (جدول ۳).



شکل ۱- اثر سطوح مختلف پروتئین (الف) و چربی (ب) جیره غذایی بر فعالیت پروتئاز قلیایی ماهی صبیتی جوان (*S. hasta*).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]



شکل ۲- اثر سطوح مختلف پروتئین (الف) و چربی (ب) جیره غذایی بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز ماهی جوان صبیتی (*S. hasta*).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

جدول ۳- نتایج میزان فعالیت اختصاصی آنزیم‌های گوارشی تغذیه شده با سطوح مختلف پروتئین و چربی جیره غذایی در ماهی صبیتی جوان (*S. hasta*) بر حسب m u.min-1/mg protein. (میانگین± خطای استاندارد، n=۶)

	پروتئاز	آلکالین فسفاتاز	آمیلاز
	میانگین تیمارها (آزمون واریانس یک طرفه)		
تیمار ۱ (P35/L7)	۱/۵۶±۰/۰۱^{b}	۰/۸۰±۰/۱۰^{b}	۱۲/۴۲±۰/۳۱
تیمار ۲ (P40/L7)	۱/۶۸±۰/۰۲^{b}	۰/۹۲±۰/۱۷^{ab}	۱۲/۸۵±۰/۳۷
تیمار ۳ (P45/L7)	۱/۶۱±۰/۰۱^{b}	۱/۱۶±۰/۲۵^{ab}	۱۳/۰۸±۰/۳۰
تیمار ۴ (P35/L14)	۱/۵۶±۰/۰۱^{b}	۰/۸۶±۰/۱۴^{b}	۱۲/۳۱±۰/۳۶
تیمار ۵ (P40/L14)	۲/۳۴±۰/۰۳^{a}	۱/۷۷±۰/۱۷^{a}	۱۳/۲۰±۰/۲۹
تیمار ۶ (P45/L14)	۲/۳۳±۰/۰۴^{a}	۱/۱۴±۰/۱۲^{ab}	۱۲/۵۳±۰/۳۳
میانگین اثرات اصلی			
۳۵ (درصد پروتئین)	۱/۵۶^{b}	۰/۸۳^{b}	۱۲/۳۷
۴۰ (درصد پروتئین)	۱/۹۷^{a}	۱/۳۰^{a}	۱۳/۰۰
۴۵ (درصد پروتئین)	۱/۹۲^{a}	۱/۱۵^{ab}	۱۲/۸۴
۷ (درصد چربی)	۱/۶۲^{b}	۰/۹۷^{b}	۱۲/۸۲
۱۴ (درصد چربی)	۲/۱۰^{a}	۱/۳۱^{a}	۱۲/۷۳
	آزمون واریانس دو طرفه[۱]		
P	۰/۰۰۰	۰/۰۴۴	Ns
L	۰/۰۰۰	Ns	Ns
P×L	۰/۰۰۱	Ns	Ns

حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ($p<۰/۰۵$) با سه تکرار ($n=۳$). عدم وجود حروف در ستون‌ها نشانه معنا دار نبودن اختلاف در پارامترهای مذکور است.

۱: P: سطح پروتئین، L: سطح چربی، P×L: اثر متقابل پروتئین و چربی جیره غذایی. علامت Ns: not significant ($p<۰/۰۵$) و بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار است.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد کـه فعالیـت پروتئـاز قلیـایی در روده تحـت تـأثیر سـطوح مختلف پروتئین جیره غذایی قرار گرفت. با افزایش سطح پروتئین جیره غذایی تا سطح ۴۰ درصد سـیر صعودی در فعالیت پروتئاز کل مشاهده گردید. نصیر و السراجی (Al-Saraji and Nasir, 2013) نیـز وجود فعالیت آنزیم‌های پروتئازی متأثر از جیره غذایی حاوی سطوح پروتئینی را در روده ماهیـان کپـور معمولی (*C. carpio*) گزارش کردند. همچنین ژیونگ (Xiong, 2012) با مطالعه خود اظهار داشـتند که بافت‌های متعددی جهت ترشح آنزیم‌های پروتئازی در ماهیان گوشتخوار وجود دارد که وجـود ایـن

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

بافت‌های ترشحی متعدد می‌تواند نشان دهنده فعالیت بالاتر آنزیم‌های پروتئازی در ماهیان گوشتخوار نسبت به سایر ماهیان با عادات تغذیه‌ای دیگر می‌باشد. سطوح مختلف چربی و هم‌کنش اثر سطوح مختلف پروتئین و چربی جیره غذایی باعث ایجاد تأثیر معنی‌دار در میزان فعالیت پروتئاز کل گردید. به طوری‌که تحقیق حاضر، افزایش فعالیت پروتئاز را در سطح ۱۴ درصد چربی نشان داد. بنابراین استفاده از جیره‌های غذایی با سطوح مختلف ماکرونوترینت‌ها و سنجش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند در مشخص شدن هر چه بهتر عملکرد هضمی و نهایتاً افزایش رشد در این ماهیان مؤثر باشد (Zamani *et al.*, 2007). چنانچه در این مطالعه افزایش فعالیت پروتئاز قلیایی در سطح پروتئین ۴۰ درصد و چربی ۱۴ درصد جیره غذایی مشاهده گردید. همچنین در مطالعه‌ای مشابه روی همین گونه در این سطح از پروتئین و چربی جیره غذایی افزایش رشد مشاهده شد که می‌تواند به دلیل افزایش هضم و جذب غذا دراثر افزایش فعالیت اینگونه آنزیم‌ها باشد. همچنین مطالعات پیشین اظهار داشتند افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئازی سبب افزایش عمل هضم و جذب پروتئین، افزایش رشد و صرفه‌جویی در مصرف پروتئین در جیره غذایی می‌گردد (Al-Saraji and Nasir, 2013). بنابراین می‌توان گفت که افزایش چربی تا سطح ۱۴٪ در جیره غذایی می‌تواند اثر سود مندی در مصرف غذا توسط این گونه داشته باشد و بالطبع باعث ایجاد تعادلی مناسب با سطح ۴۰٪ پروتئین جیره غذایی، بهبود فعالیت آنزیم‌های پروتئازی و صرفه جویی در مصرف پروتئین در جیره غذایی می‌گردد. از آنجائی‌که ایجاد تعادل مناسب میان اجزای غذایی یک اصل مهم در روند ساخت جیره‌های غذایی است، می‌توان اظهار داشت که نسبت ۴۰٪ پروتئین به ۱۴٪ چربی بر اساس تیمارهای غذایی آزمایشی، بهترین نسبت برای ساخت جیره غذایی متعادل از نظر اجزای غذایی در جهت بهبود فعالیت آنزیم‌های پروتئازی ماهی جوان صبیتی می‌باشد.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز به‌ترتیب در سطوح پروتئین ۴۰٪ و ۳۵٪ درصد مشاهده شد. در واقع سطوح پروتئینی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز نشان داد (شکل ۲). در صورتی‌که سطوح مختلف چربی جیره غذایی اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز نداشت. با این حال در این تحقیق روند مشابهی بین افزایش سطوح چربی و افزایش میزان فعالیت این آنزیم مشاهده گردید. بنابراین می‌توان بیان کرد که با افزایش طول دوره پرورشی یا افزایش اندک چربی جیره غذایی می‌توان شاهد تغییرات معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز بود. همچنین بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، تفاوت معنی‌داری در هم‌کنش اثر سطوح مختلف پروتئین و چربی جیره غذایی بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز دیده نشد. به طور کلی و از لحاظ مقایسه‌ای در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز همسو با فعالیت آنزیم‌های پروتئازی تغییر کرد. چنان‌چه بیش‌ترین فعالیت پروتئاز کل

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

نیز در سطح پروتئین ۴۰٪ و چربی ۱۴٪ جیره غذایی مشاهده شد. در راستای نتایج حاصل از این تحقیق، بررسی‌های صورت گرفته بر آنزیم آلکالین‌فسفاتاز نشان می‌دهد که این آنزیم در فرآیند جذب و انتقال چربی و کربوهیدرات از عرض سلول‌های دیواره روده مشارکت می‌کند. آنزیم آلکالین‌فسفاتاز توسط سلول‌های انتروسیت بالغ غشای لبه مسواکی تولید می‌شود و بنابراین یک شاخص عملکرد سلول‌های انتروسیت روده به حساب می‌آید (Nya and Austin, 2011). وجود سطح بالای آنزیم آلکالین‌فسفاتاز در روده بیانگر ظرفیت بالای جذب مواد مغذی، رشد و بلوغ روده و در نهایت رشد ماهی است (Nya and Austin, 2011; Taheri *et al.*, 2011; Yeganeh *et al.*, 2014).

مطالعه حاضر روندی غیر معنی‌دار از فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در سطوح مختلف پروتئین جیره غذایی نشان داد که با توجه به رژیم گوشتخواری ماهی صبیتی قابل توجیه می‌باشد. چنانچه در مطالعه‌ای که کاسترو و همکاران (Castro *et al.,* 2013) بر ماهی شانک سفید (*Diplodus sargus*) انجام دادند، بیان داشتند که الگوی آنزیمی خوبی برای هضم پروتئین وجود دارد اما ظرفیت گوارش کربوهیدرات پایین است که با عادت غذایی گوشتخواری گونه مورد مطالعه مطابقت داشت. همچنین فزناندز و همکاران (Fernandez *et al.,* 2001) در مطالعه خود، وابستگی سیستم گوارشی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی به نوع جیره غذایی را نشان دادند. همچنین بررسی انجام شده توسط برخی محققین نشان داد که افزایش سطوح نشاسته در جیره غذایی باعث کاهش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) به‌عنوان نوعی ماهی گوشتخوار گردیده است (Krogdahl and Bakke-McKellp, 2005; Spannhof and Plantikow, 1983). کاهش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز با افزایش سطوح کربوهیدرات، محدودیت ماهیان گوشتخوار به استفاده از کربوهیدرات جیره غذایی را نشان می‌دهد. همچنین محققین دیگر پایین‌تر بودن میزان هضم کربوهیدرات جیره غذایی را در سه گونه از ماهیان گوشتخوار نشان دادند (Saborido-Rey and Munilla-Morán, 1996). این پژوهشگران بیان کردند که آلفاآمیلاز آنزیم اصلی در فرآیند هضم و جذب این ماهیان محسوب نمی‌شوند. با این حال تعیین نسبت فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز به پروتئاز می‌تواند قابلیت تطابق آبزیان را با شرایط تغذیه‌ای نشان دهد (Lazzari *et al*., 2010)، که با دستیابی به این نسبت می‌توان تعادل مناسبی بین سطوح اجزای جیره غذایی ایجاد کرد. همچنین اطلاعاتی درمورد میزان جایگزینی اجزای غذایی در شرایط خاص غذایی و محیطی و همچنین اطلاعاتی در جهت مقرون به‌صرفه کردن جیره غذایی بدست آورد. اگرچه بدیهی است که در ماهی صبیتی به دلیل رژیم غذایی گوشتخواری، آنزیم‌های پروتئازی نقش برجسته‌تری نسبت به آنزیم آلفاآمیلاز در هضم و جذب مواد مغذی جیره غذایی ایفا می‌کنند (Caruso *et al*., 2009; Ahmad *et al*., 2012).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

از طرفی بر اساس نتایج بدست آمده در مطالعه کنونی، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز ماهیان صبیتی جوان در سطوح مختلف چربی جیره غذایی نشان داده نشد. با این‌حال کاهش میزان فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز با افزایش سطح چربی جیره غذایی از سطح ۷٪ به سطح ۱۴٪ به‌طور مقایسه‌ای مشاهده گردید. برخی مطالعات وجود رابطه‌ای معکوس بین میزان فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و سطح چربی جیره غذایی را نشان دادند (Pavasonic *et al*., 2007). همچنین در ماهی شانک سر طلایی (*S. aurata*) میزان فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز تحت تأثیر سطوح چربی جیره غذایی قرار گرفت (Fountoulaki *et al*., 2005). مشاهده تغییرات فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز هرچند به مقدار اندک، در پژوهش کنونی نشان دهنده حضور فعال آنزیم آلفاآمیلاز در ماهی صبیتی جوان می‌باشد. چندین مطالعه وجود این آنزیم را در بسیاری از گونه‌های ماهی اعم از گوشتخوار و غیر از آن نشان دادند (Lundstedt *et al*., 2004). همچنین با توجه به نتایج می‌توان اظهار داشت که با ایجاد تعادل مناسب بین سطوح ۴۰٪ پروتئین و ۱۴٪ چربی در جیره غذایی ماهی صبیتی می‌توان سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی و در نهایت افزایش هضم و جذب غذا گردید.

تشکر و قدر دانی

این تحقیق در دو بخش پرورش ماهیان در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و سنجش آنزیمی در موسسه سرم و واکسن سازی رازی اهواز انجام پذیرفته است. نویسندگان این مقاله از کلیه کسانی که در انجام این پروژه همکاری داشته‌اند، تشکر می‌نمایند.

منابع

Abu-Rezq T., Al-Abdul-Elah K., El-Dakour S., Al-Marzouk A. 2013. Hybridization and Larval Rearing of *Sparidentex hasta* ×*Acanthopagrus latus* and their Reciprocals. Open Marine Biology Journal, 7: 1-7.

Ajdari N. 2014. Effects of different dietary protein and lipid levels on on growth performance and body biochemical composition in juvenile Sobeity, *Sparidentex hasta* . M.Sc. Thesis. Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Faculty of Marine and Natural Resources. (In Persian).

Ahmad M., Qureshi T.A., Singh A.B. 2012. Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate contents on the carcass composition of *Cyprinuscarpio communis* fingerlings. African Journal of Biotechnology, 11: 8353-8360.

Al-Abdul-Elah K.M., El-Dakour S., Nelson T. 2000. The growth performance of two Sparids and their hybrid. Eropean Aquaculture Society, special publication, No. 28, 15 P.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

Alam M.S., Watanabe W.O., Carroll P.M., Rezek T. 2009. Effects of dietary protein and lipid levels on growth performance and body composition of black sea bass *Centropristis striata* during grow-out in a pilot-scale marine recirculating system. Aquaculture Research, 40: 442-449.

Al-Saraji A.Y.J., Nasir N.A.N. 2013. Effect of different dietary proteins and fats on the digestive enzymes activeties in the common carp fingerlings (*Cyprinus carpio L.*) reared in floating cages. Mesopotamian Journal of Marine Science, 28: 121–130.

Aprodu I., Vasile A., Gurau G., Ionescu A., Paltenea E. 2012. Evaluation of nutritional quality of the common carp (*Cyprinus carpio*) enriched in fatty acids. The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI, Food Technology, 36: 61-73.

Arshad Hossain M., Almatar S. M., James C.M. 2010. Optimum dietary protein level for juvenile silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen). Journal of the World Aquaculture Society, 41: 710-720.

Bernfeld P. 1951. Amylases α and β. In: Colowick P, Kaplan NO (Eds.). Methods in enzymology, Vol. 1, Academic Press, New York, pp: 149-157.

Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.

Caruso G., Denaro M., Genovese L. 2009. Digestive enzymes in some Teleost species of interest for Mediterranean aquaculture. The Open Fish Science Journal, 2: 74-86.

Castro C., Pérez-Jiménez A., Coutinho F., Pousão-Ferreira P., Brandão T.M., Oliva-Teles A., Peres H. 2013. Digestive enzymes of meagre (*Argyrosomus regius*) and white seabream (*Diplodus sargus*). Effects of dietary brewer's spent yeast supplementation. Aquaculture, 416: 322-327.

Falcón-Hidalgo B., Forrellat-Barrios A., Farnés O.C., Hernández K.U. 2011. Digestive enzymes of two freshwater fishes*Limia vittata* and Gambusia *punctata* with different dietary preferences at three developmental stages. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 158: 136-141.

FAO. 2012. The state of world fisheries and aquaculture. 2012. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome. 230 P.

Fatma Abidi S., Khan M.A. 2010. Growth, protein retention, and body composition of fingerling Indian major carp, rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fed diets with various levels of lysine. Journal of the World Aquaculture Society, 41: 791-799.

Fernandez I., Moyano F.J., Diaz M., Martinez T. 2001. Characterization of α-amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (Sparidae, Teleostei). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 262: 1-12.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

Fischbach F., Zawta B. 1992. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klinicheskaia Laboratornaia Diagnostika, 38: 555-561.

Fountoulaki E., Alexis M.N., Nengas I., Venou B. 2005. Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilt head sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture Research, 36: 1243-1251.

García-Meilán I., Valentin J.M., Fontanillas R., Gallardo M.A. 2013. Different protein to energy ratio diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): Effects on digestive and absorptive processes. Aquaculture, 412: 1-7.

Hassanatabar F., Ouraji H., Esmaeili A., Babaei S.S. 2013. Study of the Activities of Digestive Enzymes, Amylase and Alkaline Phosphatase, in Kutum Larvae, *Rutilus frisiikutum* fed artemia nauplii. World Journal of Fish and Marine Sciences, 5: 266-270.

Klahan R., Areechon N., Yoonpundh R., Engkagul A. 2009. Characterization and Activity of Digestive Enzymes in DifferentSizes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Kasetsart Journal Natural Science, 43: 143–153.

Krogdahl Å., Bakke-McKellp A.M. 2005. Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). Comparative Biochemistry and Physiology, 141: 450-460.

Kuz'mina V.V., Shekovtsova N.V., Bolobonina V.E. 2010. Activity dynamics of proteinases and glycosidases of fish chyme with exposure in fresh and brackish water. Biology Bulletin, 37: 605-611.

Lan C.C., Pan B.S. 1993. In-vitro digestibility simulating the proteolysis of feed protein in the midgut gland of grass shrimp (*Penaeus monodon*). Aquaculture, 109: 59-70.

Lazzari R., Neto J.R., Pedron F.A., Loro V.L., Pretto A., Gioda C.R. 2010. Protein sources and digestive enzyme activities in jundiá (*Rhamdia quelen*). Scientia Agricola, 67: 259-266.

Lee S.M., Joen I.G., Lee J.Y. 2002. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). Aquaculture, 211: 227–239.

Lemieux H., Blier P.U., Dutil J.D. 1999. Do digestive enzymes set physiological limiton growth rate and food conversion efficiency in Atlantic cod (Gadus morhua). Fish Physiology and Biochemistry, 20: 293-303.

Lundstedt L.M., Melo J.F.B., Moraes G. 2004. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. Comparative Biochemistry and Physiology, 137B: 331-339.

Monentcham S. E., Pouomogne V., Kestemont P. 2010. Growth, feed utilization and body composition of African bonytongue, *Heteotis niloticus*, fingerlings fed

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

diets containing various protein and lipid levels. Aquaculture Research, 41: 438-445.

Munilla-Morán R., Saborido-Rey F. 1996. Digestive enzymes in marine species.II. Amylase activities in gut from seabream (*Sparus aurata*), turbot (*Scophthalmus maximus*) and redfish (*Sebastes mentella*). Comparative Biochemistry and Physiology, 113: 827-834.

Natalia Y., Hashim R., Ali A., Chong A. 2004. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, theAsian bony tongue (*Scleropages formosus*) (Osteoglossidae). Aquaculture, 233: 305-320.

NRC (National Research Council, USA). 1993. Nutrient Requirements of fish. National Academy of Sciences, Washington. D.C, USA, 114 P.

Nya E.J., Austin B. 2011. Dietary modulation of digestive enzymes by the administration of feed additives to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. Aquaculture Nutrition, 17: 459-466.

Pavasonic A., Anderson A.J., Mather P.B., Richardson N.E. 2007. Influence of dietaryprotein on digestive enzyme activity, growthand tail muscle composition in redclawcrayfish, *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture, 38: 644-652.

Pourkhan M., Hosainizadegan R., Ziyaian H., Sakientezami M. 2009. Investigate marine fish aquaculture facilities in the Persian Gulf to Cage culture. Persian Gulf International Conference, Boushehr, pp: 33-55. (In Persian)

Rungruangsak-Torrissen K., Moss R., Andersen L., Berg A., Waagbo R. 2006. Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). Fish Physiology and Biochemistry, 32: 7-23.

Sa R., Pousao-Ferreira P., Oliv a-Telest A. 2006. Effect of dietary protein and lipidlevels on growth and feed utilization of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. Aquaculture Nutrition, 12: 310-321.

Silva F.C., Nicoli J.R., Zambonino-Infante J.L., Le Gall M.M., Kaushik S., Gatesoupe F.J. 2010. Influence of partialsubstitution of dietary fish meal on the activity of digestive enzymes in the intestinal brush border membrane of gilthead seabream, (*Sparus aurata*) and goldfish, (*Carassius auratus*). Aquaculture, 306: 233-237.

Sonoyama K., Kiriyama S., Niki R. 1994. Effect of dietary protein level on intestinal aminopeptidase activity and mRNA level in rats. The Journal of Nutritional Biochemistry, 5: 291-297.

Spannhof L., Plantikow H. 1983. Studies on carbohydrate digestion in *rainbow trout*. Aquaculture, 30: 95–108.

Sunde J., Eiane S., Rustad A., Jensen H., Opstvedt J., Nygård E., Venturini G., Rungruangsak-Torrissen K. 2004. Effect of fish feed processing conditions on digestive protease activities, free amino acid pools, feed conversion efficiency and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). Aquaculture Nutrition, 10: 261-277.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]

Taheri A., Abedian-Konari A., Habibi-Rezayi M., Motamedzadegan A., Ojifard A. 2011. Effect of different amounts of protein hydrolyzate on digestive enzymes of Alvin rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Pathobiology, 4: 665-674

Teng S.K., El-Zahr C., Al-Abdul-Elah K., Almatar S. 1999. Pilot-scale spawning and fry production of blue-fin porgy, *Sparidentexhasta* (Valenciennes), Kuwait. Aquaculture, 178: 27-41.

Wahnon R., Cogan U., Mokady S. 1992. Dietary fish oil modulates the alkalinephosphatase activity and not the fluidity of rat intestinal microvillus membrane. The Journal of Nutrition, 122: 1077-1084.

Worthington V. 1993. Enzymes Related Biochemicals Manual. Worthington Chemical Corporation, 347 P.

Xiong Y.L. 2012. Dairy proteins. Nonmeat Ingredients and Additives. In: Hui YH (Eds.). Handbook of Meat and Meat Processing, 2nd Edition, CRC Press, pp: 573-590.

Yeganeh S., Ramezanzadeh F., Janikhalili Kh., Babayi S.S. 2014. Effects of light period of the activity of digestive enzymes in the gastrointestinal larvae and juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Iran Fisheries, 2: 1-14.

Yúfera M., Fernández-Díaz C., Vidaurreta A., Cara J., Moyano F. 2004. Gastrointestinal pH and development of the acid digestion in larvae and early juveniles of *Sparus aurata* (Pisces: Teleostei). Marine Biology, 144: 863-869.

Zamani A., Hajimoradlo A., Madani R., Golchinfar F. 2007. Comparing the activity of digestive enzymes in the stomach, intestine and pyloric appendages in one and two Summer of *Salmo trutta caspius*. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 3: 1-9.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-05-30]