نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی
Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه گنبد کاووس

بررسی تغییرات آنزیم‌های گوارشی پانکراسی از مرحله تخم تا لارو ماهی سفیدک سیستان

فاطمه دهمرده[1]، احمد قرایی*[1]، جواد میردار هریجانی[1]، عباس جمشیدیان[2]، عبدالعلی راهداری[3]
[1] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
[2] گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
[3] گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی اصیل
DOI: 10.22034/jair.8.5.7

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۰۰/۰۹/۲۴
پذیرش: ۰۰/۱۱/۱۰

نویسنده مسئول مکاتبه:
احمد قرایی، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
ایمیل: agharaei551@uoz.ac.ir

چکیده

به‌منظور شناسایی گرایش رژیم غذایی و تهیه جیره‌های مناسب برای ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) میزان فعالیت آنزیم های آلفا آمیلاز، تریپسین و لیپاز درپنج مرحله شامل: تخم لقاح‌یافته، لارو تازه تفریخ‌شده، لارو یک‌روزه، لارو در مرحله جذب ۲/۳ کیسه زرده و لارو در مرحله انتهای جذب کیسه زرده، در ۲۰ عدد تخم جنین‌دار و ۸۰ عدد لارو زنده تا ۵۳ روزگی موردبررسی قرار گرفتند. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها نشان داد که در هر پنج گروه تخم و لارو ماهیان، میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز از همه بیشتر می‌باشد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در مرحله انتهای جذب کیسه زرده (۴/۴ ±۵۹/۶۳ واحد / میلی‌گرم پروتئین (و کمترین آن در مرحله جذب ۲/۳ کیسه زرده (۰/۵ ± ۷/۷۸ واحد / میلی‌گرم پروتئین)مشاهده گردید. فعالیت این آنزیم در مرحله انتهای جذب کیسه زرده با تمامی مراحل دیگر اختلاف معنی‌داری داشت (p <۰/۰۵). نتایج نشان داد فعالیت آنزیم‌های تریپسین و لیپاز از مرحله تخم تا لارو ۴ روزه روند افزایشی داشته و بیشترین میزان فعالیت آن‌ها در مرحله انتهای جذب کیسه زرده به‌ترتیب می‌باشد. در بررسی آنزیم‌های تریپسین و لیپاز اختلاف معنی‌داری بین لارو ۴ روزه با لارو یک‌روزه و لارو سه روزه مشاهده نشد (p > ۰/۰۵) اما بین لارو ۴ روزه با تخم لقاح‌یافته و لارو تازه تفریخ‌شده اختلاف معنی‌دار به‌دست آمد (p <۰/۰۵).

واژه‌های کلیدی:
ماهی سفیدک سیستان (*S. zarudnyi*)، آنزیم آلفا-آمیلاز، آنزیم تریپسین، آنزیم لیپاز.

۱ | مقدمه

موجودات زنده به‌واسطه انجام انواع گوناگون واکنشهای بیوشیمیایی توانایی حیات را کسب نموده‌اند که تقریباً همگی آنها به‌وسیله دسته‌ای از مواد زیستی به نام آنزیم صورت می‌گیرند. ازمهم‌ترین خصوصیاتی که عملکرد آنزیم‌ها دارند توان کاتالیتیکی بالای آنها است. مطالعات زیادی درخصوص فعالیت آنزیم‌های هضمی و بافت‌شناسی ماهیان مختلف انجام پذیرفته است. تحقیقات نشان‌داده است که میزان فعالیت آنزیم های هضمی در ماهیان باتوجه به نوع رژیم‌غذایی آنان متفاوت می‌باشد. دراین راستا تحقیقات انجام‌شده روی کپورماهیان هندی ازجمله مریگال، روهو و کاتلا *Catla catla, Labeo rohita, Cirrhinus merigal* نشان داد که آنزیم آمیلاز در تمامی بخش روده‌ای ترشح شده و بیشترین فعالیت آن در بخش نزدیک به انتهای روده می‌باشد (Das and Tripathi, 1991). نامولاوا و همکاران (Namulava *et al.*, 2013) تحقیقاتی را درخصوص فعالیت آنزیم‌های گوارشی آلفا آمیلاز و تریپسین در بخش‌های مختلف لوله گوارش ماهی بالغ خانواده سوف Nile Perch (*Lates niloticus*) انجام داده‌اند. تحقیقات آنها نشان‌داده است که بیشترین میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بخش قدامی روده تمرکز یافته و ازطرفی آنزیم تریپسین در بخش قدامی و خلفی نسبت به بخش میانی روده فعالیت بیشتری را نشان‌داده است. ماهی سفیدک (*Schizothorax zarudnyi*) براساس گزارش کد (Coad, 1998, 2002) در دنیا منحصراً در آسیای غربی و تنها در حوزه ماشکید مشاهده می‌شود. براساس گزارش آناندال و هورا (Annandal and Hora, 1920) عمدتاً نمونه‌های بالغ از این گونه در تالاب هامون مشاهده گردیده است. باتوجه به اینکه سیستان و منابع آبی موجود، مشترک بین کشور ایران و افغانستان بوده و شکل‌گیری این منابع منوط به پرآب بودن رودخانه‌های سرمنشاء گرفته از خاک افغانستان می‌باشد. بنابراین، ماهی سفیدک یک گونه مهاجر تولیدمثل (Potamodromous) بوده و مقطعی از دوران زندگی خود را در آب های جریان‌داری که خاک افغانستان را پشت سر می‌گذارند سپری می‌کنند و بنابراین، این گونه در کشور ایران بومی و از کشور افغانستان منشاء گرفته است (Coad, 1998). ماهی سفیدک سیستان یکی از

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]
[DOI: 10.22034/jair.8.5.19]

ماهیان باارزش دریاچه هامون و چاه نیمه های سیستان می‌باشد که نقش مهمی را در اقتصاد صیادان این منطقه ایفاء می‌نماید. در گذشته-ای نه چندان دور این ماهی یکی‌از مهم‌ترین آبزیان مورد علاقه و استفاده خانوارهای منطقه را تشکیل می‌داده است که باتوجه به خشکسالی سال‌های اخیر و از بین رفتن زیستگاه طبیعی آن در منطقه (دریاچه هامون) به‌نوعی درمعرض خطر انقراض قرار گرفته است. باتوجه به سازگاری ماهی سفیدک‌سیستان با شرایط آب‌وهوایی مناطق گرمسیر و همچنین مشخص شدن بیوتکنیک تکثیر این گونه و امکان تولید بچه‌ماهی، مشخص نمودن نیازهای غذایی این ماهی تضمین کننده استمرار تکثیر و پرورش آن در استخرهای پرورشی می‌باشد. باتوجه به اینکه تغذیه بیشترین هزینه را در پرورش ماهی به‌خود اختصاص داده، تهیه جیره‌های غذایی با فرمولاسیون مناسب می‌تواند نقش مهمی در توسعه و پرورش یک گونه ایفا نماید که در این بین به‌نظر می‌رسد شناسایی و ارزیابی میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی بتواند نقش بسیار مهمی در شناسایی گرایش رژیم غذایی این گونه و تهیه جیره‌های غذایی مناسب برای آن فراهم نماید.

۲ | مواد و روش‌ها

مقایسه فعالیت آنزیم‌های گوارشی، تخم و بچه‌ماهیان مورد استفاده در این تحقیق ازانکوباتورهای ویس واقع در کارگاه تکثیرماهیان بومی و محیط پرورشی (استخر پرورش ماهی در شهرستان زهک) تهیه شدند. بدین منظور تعداد ۲۰عددتخم جنین‌دار و ۸۰ عدد لارو زنده ماهی سفیدک سیستان در پنج گروه شامل تخم لقاح‌یافته، لارو تازه تفریخ شده، لارو یک‌روزه، لارو در مرحله جذب ۲/۳ کیسه زرده و لارو در مرحله انتهای جذب کیسه زرده (Naz, 2009 ; Gunasekera *et al*, 1999) جمع‌آوری و تا زمان انجام آزمایشات آنزیمی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

به‌منظور تهیه عصاره آنزیمی، نمونه‌های تخم و لارو ماهی ابتدا از فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد و سپس به یخچال منتقل شدند تا شرایط هم‌دمایی و انجمادزدایی به‌تدریج در نمونه‌ها ایجاد شود. هر یک از نمونه‌های تخم جنین‌دار و لاروها پس از توزین به نسبت۱۰برابر وزنی–حجمی (w/v) با بافر Triss-HCl ۰/۰۵ مولار با هموژنایزر (مدل ULTRATURRAX, IKA T10 basic ساخت کشور آلمان) در سه بازه زمانی ۳۰ ثانیه‌ای با سرعت ۶۰۰۰ دور در ۴ دقیقه در مجاورت یخ هموژنیزه شده و ترکیب حاصل با استفاده از سمپلر به میکروتیوب‌های دو سی‌سی منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی-گراد و با دور ۹۴۰۰ به‌مدت ۴ دقیقه سانتریفیوژ شدند. فاز آبی حاصل از سانتریفیوژ جدا شده و در میکروتیوپ‌های دو سی‌سی تا زمان انجام آزمایشات آنزیمی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند (German, 2009).

سنجش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز: برای سنجش فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز از روش (Bernfeld , 1951) و ازکیت تشخیصی تجاری شرکت پارس آزمون و براساس راهنمای کیت و به شرح ذیل استفاده گردید.

بدین منظور ابتدا نمونه‌های موردنظر با انتقال از فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد به فریزر۲۰- درجه سانتی‌گراد و سپس یخچال انجمادزدایی شدند. به‌منظور تهیه شاهد مقدار۲۰ میکرولیتر آب مقطر با ۱۰۰۰ میکرولیتر مخلوط معرف‌های ۱و۲ سنجش آلفا آمیلاز در بشر۲ میلی-لیتری ترکیب و در بن ماری به‌مدت زمان ۲ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و سپس مخلوط تهیه شده را با سمپلر به کووت منتقل و در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده و دستگاه در طول موج ۴۰۵ نانومتر صفر شد. برای نمونه‌های آزمایش مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی با ۱۰۰۰ میکرولیتر از مخلوط معرف‌های ۱و۲ در بشرهای ۲ میلی‌لیتری مخلوط و پس از تکان دادن در بن‌ماری به‌مدت ۲ دقیقه در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده سپس میزان جذب نوری در طول موج ۴۰۵ نانومتر در فاصله زمانی ۱، ۲ و۳ دقیقه خوانده شد. اختلاف جذب نوری در دقایق ۱، ۲ و ۳ تعیین باهم جمع و بر عدد ۳ تقسیم نموده میانگین به‌دست آمده را در عدد ثابت ۵۱۵۱ ضرب و میزان فعالیت آنزیم برحسب واحد U اندازه‌گیری گردید. با تقسیم عدد به‌دست آمده بر میزان فعالیت پروتئین از روش برادفورد (۱۹۷۶) میزان فعالیت این آنزیم برحسب واحد U/mg protein به‌دست آمد.

سنجش فعالیت آنزیم تریپسین: برای تعیین فعالیت آنزیم تریپسین از روش (Erlanger *et al*, 1961) و از (BAPNA) benzoyl-DL- arginine-p-nitroanilide به‌عنوان سوبسترا استفاده گردید. این ماده تحت‌تأثیر آنزیم تجزیه و تبدیل به پارانیتروآنیلین می‌شود که در محیط قلیایی رنگ زرد ایجاد می‌نماید.

ابتدا ۲۵ میکرولیتر آب مقطر و عصاره آنزیمی با ۱/۲۵ میلی‌لیتر محلول سوبسترای آماده شده BAPNA به لوله‌های آزمایش شاهد و نمونه اضافه شد و به مدت ۱دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند تا هم دما شوند. سپس ۱ میلی لیتر اسیداستیک ۳۰ درصد به‌منظور متوقف کردن واکنش آنزیمی به لوله‌ها اضافه شد و عمل قرائت نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر انجام گرفت (Erlanger *et al.*, 1961). واحد فعالیت آنزیم تریپسین بر حسب میکرومول سوبسترا که در دقیقه به‌ازای میلی‌گرم پروتئین آزاد می‌شود از رابطه زیر محاسبه شد (Chong *et al*, 2002):

$$\text{U/mg protein} = \frac{\text{میلی لیتر مخلوط واکنش} \times 1000 \times \text{میزان جذب نوری در طول موج 410 نانومتر}}{8800 \times \text{میلی گرم پروتئین در مخلوط واکنش}}$$

۸۸۰۰: ضریب اضمحلال BAPNA

۱۰۰۰: عدد ثابت

سنجش فعالیت آنزیم لیپاز: به‌منظور سنجش میزان فعالیت آنزیم لیپاز از روش (Worthington, 1991) و ازکیت تشخیصی تجاری شرکت پارس آزمون و براساس راهنمای کیت به‌شرح ذیل استفاده گردید.

بدین منظور پس از انجمادزدایی نمونه‌ها میزان تغییرات جذب نوری برای بلانک، کالیبراتور و نمونه‌ها محاسبه و براساس فرمول ارائه شده در راهنمای کیت میزان فعالیت آنزیم لیپاز محاسبه گردید. برای بلانک میزان ۲۰ میکرولیتر آب مقطر با ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف شماره ۱ (پیوست ۲) سنجش لیپاز ترکیب و پس از تکان دادن در بن‌ماری به

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

[DOI: 10.22034/jair.8.5.19]

مدت ۲/۵ دقیقه در دمای ۳۷°c انکوبه شده سپس میزان ۲۵۰ میکرولیتر از معرف شماره ۲ سنجش لیپاز اضافه شده و مجدداً در بن ماری در دمای ۳۷°c به‌مدت زمان ۲ دقیقه انکوبه نموده سپس ترکیب حاصل را با استفاده از سمپلر به کووت منتقل و در طول موج ۵۸۰ نانومتر دستگاه را صفر نمودیم. برای نمونه‌های آزمایش نیز مانند روش فوق عمل نموده و به جای آب مقطر از عصاره آنزیمی تهیه‌شده استفاده شده و پس از قرار دادن نمونه‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری در دقایق ۱ و ۲ قرائت گردید. برای کالیبراتور نیز مانند روش به کار رفته برای قرائت جذب نوری نمونه‌ها استفاده گردید با این تفاوت که به‌جای استفاده از عصاره آنزیمی نمونه از محلول کالیبراتور TruCal U استفاده گردید. پس از قرائت جذب‌ها با استفاده از فرمول ذیل میزان فعالیت آنزیم لیپاز برحسب واحد U محاسبه گردید.

$$\text{Lipase(U/l)} = \frac{(\Delta A\ \text{Sample} - \Delta A\ \text{Blank})}{\Delta A\ \text{Cal}} \times \text{Conc. Cal (U/l)}$$

$\Delta A\ Sample$: میانگین تغییرات جذب نوری نمونه‌ها- $\Delta A\ Blank$: میانگین تغییرات جذب نوری شاهد- $\Delta A\ Cal$: میانگین تغییرات جذب نوری کالیبراتور- $Conc.\ Cal$: غلظت استاندارد. با تقسیم عدد به‌دست آمده بر میزان فعالیت پروتئین به روش برادفورد (Bradford, 1976) میزان فعالیت آنزیم برحسب واحد U/mg protein محاسبه گردید.

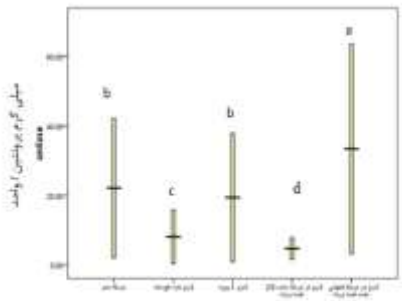
جهت بررسی داده‌ها ابتدا نرمال بودن آنها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. سپس جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) استفاده شد و در صورت معنی‌دار بودن، به کمک آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسات چندگانه صورت گرفت. آزمون‌ها در محیط نرم‌افزار SPSS-16 انجام شد.

۳ | نتایج

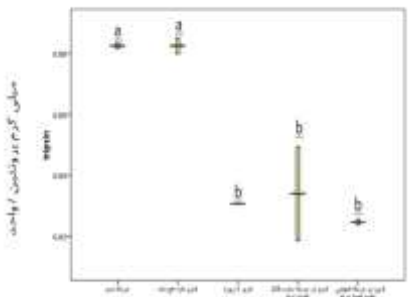
میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در تخم لقاح‌یافته، لارو تازه تفریخ شده، لارو یک‌روزه، لارو در مرحله جذب ۲/۳ کیسه زرده و لارو در مرحله انتهای جذب کیسه‌زرده ماهی سفیدک‌سیستان (*S. zarudnyi*) در شکل ۱ نشان‌داده شده است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در مرحله انتهای جذب کیسه‌زرده (لارو ۴ روزه) بوده و بین فعالیت این آنزیم در لارو ۴روزه با مراحل دیگر اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p <$ ۰/۰۵).

میزان فعالیت آنزیم تریپسین در تخم لقاح یافته، لارو تازه تفریخ شده، لارو یک‌روزه، لارو در مرحله جذب ۲/۳ کیسه‌زرده و لارو در مرحله انتهای جذب کیسه‌زرده ماهی سفیدک سیستان (*S. zarudnyi*) در شکل ۲ نشان داده شده است. بررسی فعالیت آنزیم تریپسین نشان داد که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در مرحله انتهای جذب کیسه زرده بوده و بین مرحله انتهای جذب کیسه‌زرده با تخم لقاح یافته و لارو تازه تفریخ‌شده اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p <$ ۰/۰۵).

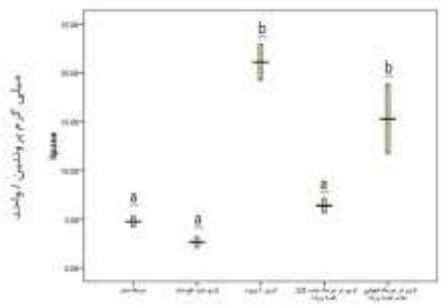
میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تخم لقاح یافته، لارو تازه تفریخ شده، لارو یک روزه، لارو در مرحله جذب ۲/۳ کیسه زرده و لارو در مرحله انتهای جذب کیسه‌زرده ماهی سفیدک سیستان (*S. zarudnyi*) در شکل ۳ نشان‌داده شده است. نتایج تحقیق نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم لیپاز در مرحله انتهای جذب کیسه‌زرده بوده ولی بین مرحله انتهای جذب کیسه‌زرده با لارو یک‌روزه و لارو در مرحله جذب ۲/۳ کیسه‌زرده (لارو ۳ روزه) اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p <$ ۰/۰۵) ولی بین لارو در مرحله انتهای جذب کیسه‌زرده با تخم لقاح‌یافته و لارو تازه تفریخ‌شده اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p <$ ۰/۰۵).



شکل ۱- فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در تخم لقاح‌یافته و مراحل مختلف لاروی ماهی سفیدک سیستان.حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p <$ ۰/۰۵) است.



شکل ۲- فعالیت آنزیم تریپسین در تخم لقاح‌یافته و مراحل مختلف لاروی ماهی سفیدک سیستان. حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p <$ ۰/۰۵) است.



شکل ۳- **فعالیت آنزیم لیپاز در تخم لقاح‌یافته و مراحل مختلف لاروی ماهی سفیدک سیستان. حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p <$ ۰/۰۵) است.**

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

[DOI: 10.22034/jair.8.5.19]

۴ | بحث و نتیجه‌گیری

Casanova *et al*., 2006) گزارش شده است. در لارو ماهیان دو نوع آنزیم لیپازگزارش شده است. نوع اول با جذب زرده در ماهیان همراه است (نوع فسفولیپید) و نوع دوم با گوارش چربی‌های خارجی (چربی موجود در غذا) در ارتباط است (Oozeki and Bailey, 1995). ازآنجایی‌که لارو ماهی سفیدک تا قبل از جذب کیسه زرده غذایی دریافت نمی‌کند بنابراین، آنزیم لیپاز می‌تواند از نوع اول باشد. به‌طور کلی، فعالیت اختصاصی آنزیم لیپاز در مطالعه حاضر روند صعودی را نشان داد. تغذیه فعال در لارو ماهیان با غذای زنده آغاز می‌شود و ازآنجاکه میزان چربی در غذای زنده بالاست و منبعی مهم برای تأمین انرژی در لارو ماهیان محسوب می‌شود (Shields *et al*., 1999). بنابراین، افزایش فعالیت لیپولیتیک طی مراحل تکوینی لارو ماهی سفیدک ممکن است مکانیسمی ژنتیکی به‌منظور سازگاری سیستم گوارشی لارو برای هضم بهتر چربی ها به هنگام شروع تغذیه فعال باشد؛ به‌خصوص واکس استرها که بخش درخور توجهی از چربی‌های موجود در زئوپلانکتون را شامل می‌شوند و هضم‌پذیری کمی هم دارند (Patton *et al*., 1975).

نتایج نشان داد که فعالیت اختصاصی آنزیم آمیلاز از مرحله تخم تا انتهای جذب کیسه زرده در لارو ماهی سفیدک افزایش پیدا کرد و به بیشترین مقدار خود در مرحله انتهای جذب کیسه زرده و قبل از شروع تغذیه فعال رسید. همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که از بین سه آنزیم آلفاآمیلاز، تریپسین و لیپاز، بیشترین میزان فعالیت در تخم و لارو این ماهی متعلق به آنزیم آلفاآمیلاز می‌باشد. ماهی سفیدک سیستان (*S. zarudnyi*) جزء کپورماهیان (Nelson, 1976) و از انواع ماهیان همه‌چیزخوار می‌باشد و مطالعات نشان‌داده است که در کپورماهیان همه‌چیزخوار آنزیم آلفاآمیلاز نسبت به پروتئازها فعالیت بیشتری را دارا می‌باشد (Chakrabarti *et al*., 1955; Hidalgo *et al*., 1999). فعالیت آنزیم آمیلاز در مرحله تغذیه داخلی در لارو *D. dentex* (Gisbert *et al*., 2009) گزارش شده است. تحقیقات نشان داده است که کربوهیدرات جیرهٔ غذایی (غذای زنده و غذای خشک) ترشح آنزیم آمیلاز را تحریک می کند (Naz, 2009). ازآنجایی‌که لارو ماهی سفیدک تا قبل از جذب کیسه زرده غذایی دریافت نمی‌کند، حضور آنزیم آمیلاز در این مرحله نشان‌دهنده آن است که آمیلاز طی مراحل اولیه تکامل لاروی حتی در نبود غذا سنتز می‌شود. این ویژگی یک برنامه‌ریزی ژنتیکی در لارو ماهی است تا بعد از مراحل اولیه لاروی، کربوهیدرات را هضم و با مصرف جیره های غنی از کربوهیدرات، پروتئین را ذخیره کند (Zambonino Infante and Cahu, 2007). به‌طورکلی، می‌توان گفت افزایش آلفا آمیلاز در دوران کیسه زرده یک برنامه‌ریزی ژنتیکی است. باتوجه به مقادیر بالای گلیکوژن وکربوهیدرات در غذای زنده (Gisbert *et al*., 2009)، همچنین رژیم غذایی ماهی سفیدک) علف‌خواری (افزایش آنزیم‌آمیلاز برای آمادگی لارو در هضم مقادیر بالای کربوهیدرات غذای مصرفی به هنگام شروع تغذیه فعال منطقی به‌نظر می‌رسد. مطالعات نشان داده است که در همه گونه‌های علف‌خوار، چه در مرحله لاروی و چه در مرحله بلوغ، فعالیت آنزیم میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در بخش‌های مختلف لوله گوارش متفاوت می‌باشد. ازآنجاکه ماهیان همه‌چیز خوار فاقد معده می‌باشند، فرآیند اصلی هضم مواد غذایی در روده انجام شده و این امر اهمیت آنزیم‌های گوارشی روده را دوچندان می‌کند. همان‌گونه که نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد میزان فعالیت آنزیم‌های موردبررسی در این تحقیق در پنج گروه مختلف باهم متفاوت می‌باشند. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز و تریپسین و آلفاآمیلاز در سن چهار روزگی یعنی در مرحله انتهای جذب کیسه زرده مشاهده شد.

آنزیم تریپسین در زمان تفریخ و قبل از شروع تغذیه فعال در لارو ماهی سفیدک مشاهده شد. مشاهده فعالیت آنزیم تریپسین قبل از شروع تغذیه فعال نشان می‌دهد که این آنزیم با غذا تحریک نمی شود (Zambonino Infante and Cahu., 2001). حضور آنزیم تریپسین قبل از شروع تغذیه فعال در لارو سایرگونه‌های ماهی نیز گزارش شده است (Lazo *et al*., 2007; Gisbert *et al*., 2009). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که در لارو ماهی سفیدک سیستان فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین درزمان تفریخ بالاست و در مرحله تغذیه داخلی افزایش می‌یابد. حضور آنزیم تریپسین در تخم و روز تفریخ می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت بالای این آنزیم در دوران جنینی (مرحله قبل از تفریخ) و تفریخ باشد. در لارو *Dentex dentex* نیز، فعالیت تریپسین در لاروهای تازه تفریخ شده بالاست که به‌علت اهمیت این نوع آنزیم طی مراحل تشکیل جنین و تفریخ است، زیرا طی مراحل تشکیل جنین، پروتئین ها و اسیدهای آمینه آزاد از منابع اصلی انرژی‌اند (Gisbert *et al*., 2009). قبل از شروع تغذیه فعال ممکن است ناشی از تنظیم رونویسی برای گوارش بهتر پروتئین‌های زرده باشد (Lazo *et al*., 2007). از سوی دیگر، غذاهای زنده مانند روتیفر و کوپه‌پودا در پرورش لارو ماهیان کاربرد فراوانی دارند. ازآنجایی‌که بیشترین ماده مغذی تشکیل دهنده این ارگانیسم‌ها پروتئین است بنابراین، قابلیت هضم پروتئین برای لاروها در مراحل اولیه رشد و تکوین لارو از اهمیت بسیاری برخوردار است (García-Gasca *et al*., 2006). بنابراین، بالا بودن میزان تریپسین در لارو ماهی سفیدک‌سیستان قبل از شروع تغذیه فعال ممکن است مکانیسمی ژنتیکی به‌منظور سازگاری گوارشی لارو برای هضم بهتر پروتئین‌ها باشد. همچنین یافته‌های عابدیان‌کناری و خسروی‌بختیاروند (Abedian-Kenari and Khosravi Bakhtiar-vand, 2015) نتایج این تحقیق را در رابطه با افزایش فعالیت آنزیم تریپسین با رشد و افزایش سن تأئید می‌کند.

فعالیت اختصاصی آنزیم لیپاز در ماهی سفیدک سیستان در مرحله قبل از تفریخ، زمان تفریخ و قبل از شروع تغذیه فعال شناسایی شد. نتایج نشان داد که فعالیت اختصاصی آنزیم لیپاز از ابتدا تا انتهای آزمایش افزایش یافت و به بیشترین مقدار خود در مرحله انتهایی جذب کیسه زرده و قبل از شروع تغذیه فعال رسید. فعالیت آنزیم لیپاز در لحظه تفریخ و قبل از شروع تغذیه فعال در (*Dentex dentex* (Gisbert *et al*., 2009)) توربوت *Scophthalmus maximus* (Hoehnereitan, 2001) و کاد اطلس *Gadus morhua* (Pérez-

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]
[DOI: 10.22034/jair.8.5.19]

آمیلاز بالاست و این فعالیت با افزایش سن بیشتر می‌شود (German *et al*., 2004). نتایج مطالعه چاکرابارتی و همکاران (Chakrabarti *et al*., 2006)، در دوره لاروی هیبرید حاصل از بیگ هد ماده و فیتوفاگ نر، درباره فعالیت آنزیم آمیلاز در مرحله تغذیه داخلی نتایج تحقیق حاضر را تأیید می‌کند.

همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آمیلاز در لارو ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* نیز گزارش شده است (Abedian-Kenari and khosrvani bakhtiarvand., 2015) که دلیل آن می‌تواند قابلیت هضم چربی و کربوهیدرات در مراحل اولیه رشد باشد.

۵ | تشکر و قدردانی

این تحقیق با پشتیبانی پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون و با استفاده از گرنت پژوهشی به شماره UOZ-GR-9618-94 انجام شد. بدین‌وسیله از کلیه همکارانی که در انجام این تحقیق یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌گردد.

پست الکترونیک نویسنده:

احمد قرایی: agharaei551@uoz. ac. ir

REFERENCES

Abedian-Kenari A.M., Khosravi Bakhtiarvand N. 2015. Changes of digestive enzymes activity in Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*) during larval developmental stages. International Journal of Fuzzy Systems, 14 (1):158-175.

Annandal N., Hora S.L. 1920. The fish of seistan-records of the Indian museum. Calcutta, India. 3: 151-173 .

Bernfeld P. 1951. Amylase α and β. In: Methods in Enzym ology. Edited by P Colowick and N O Kaplan. Academic Press. New York, USA. 26: 715-723 .

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

Chakrabarti I., Gani M.D.A., Chaki K.K., Sur R., Misra K.K. 1995. Digestive enzyme in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation. Comparative Biochemistry Physiology, 112: 167-177 .

Chakrabarti R., Rathore R.M., Mittal P., Kumar S. 2006. Functional changes in digestive enzymes and characterization of proteases of silver carp (♂) and bighead carp (♀) hybrid, during early ontogeny. Aquaculture, 253, 694-702 .

Chong A.S.C., Hashim R., Chow-Yang L., Ali A.B. 2002. Partial characterization and activities of proetases from the digestive tact of discus fish (*Symphy sodon aequifasciata*). Aqaculture, 203:321-333 .

Coad B.W. 1998. Systematic biodiversity in the freshwater of Iran. Italian Journal Zoology, 65:101-108 .

Coad B.W. 2002. Freshwater fishes of Iran, A check list. Scivtific names. Website.

García-Gasca Galaviz M.A., Gutiérrez J.N. Garcı´a-Ortega A. 2006. Development of the digestive tract, trypsin activity and gene expression in eggs and larvae of the bullseye puffer fish *Sphoeroides annul* Aquaculture. 251: 366- 376 .

German D.P., Horn M.H., Gawlicka A. 2010. Digestive enzyme activities in herbivorous and carnivorous Prichlebach Fish (Teleostei: *Stichaeidea*): Ontogenetic Dietary and Phylogenetic effect. Physiological and biochemical zoology, 77 (5): 789-804 .

Gisbert E., Gimenez G., Fernandez I., Katzamanis Y., Stevez A. 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. Aquaculture, 287: 381-387 .

Hidalgo M.C., Urea E., Sanz A. 1999.comparative study of digestive enzyme in fish with different nutritional habitus. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture, 170: 267- 283 .

Namulawa V.T., Kato C.D., Rutiaisire J., Britz P.J., Beukes N., Pletschke B.I., Whiteley C. 2013. Enzyme activity I the Nile perch gut: Implications to Nile Perch culture. Intertational Journal of Fisheries and Aquaculture, 5 (9):122- 228 .

Naz M. 2009. Ontogeny of Biochemical Phases of Fertilized Eggs and Yolk Sac Larvae of Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 9: 77-83 .

Nelson J.S. 1976. Fishes of the word, 3rd edition. New York. John Wiley and sons. USA.

Oozeki Y., Bailey K.M. 1995. Ontogenetic development of digestive enzymes activities in larval wall eye Pollock, *Theragra chalcograma*. Marine Biology, 122: 177-186 .

Pérez-Casanova J.C., Murray H.M., Gallant J.W., Ross N. W., Douglas S.E., Johnson S.C. 2006. Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). Aquaculture, 251:377-401 .

Shields R.J., Bell J.G., Luizi F.S., Gara J., Bromage N., Sargent J.R. 1999. Natural copepods are superior to enriched *Artemia* nauplii as feed for halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) in terms of survival, pigmentation and retinal morphology: relation to dietary essential fatty acids. Nutrition, 129(6):1186-1194 .

Zambonino Infante J.L., Cahu C.L. 2007. Dietary modulation of some digestive enzymes and metabolic processes in developing marine fish: Applications to diet formulation. Aquaculture, 268: 98-105 .

نحوه استناد به این مقاله:

دهمرده ف.، قرایی ا.، میردارهریجانی ج.، جمشیدیان ع.، راهداری ع. بررسی تغییرات آنزیم‌های گوارشی پانکراسی از مرحله تخم تا لارو ماهی سفیدک سیستان. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۳۹۹، ۱۴۵-۱۴۰ :۸(۵).

Dahmardeh F., Gharaei A., MirdarHarijani J., Jamshidian A., Rahdari A. Investigation of pancreatic digestive enzymes changes from egg to larvae phase of *Schizothorax zarudnyi*. Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2021, 8(5): 140-145.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

[DOI: 10.22034/jair.8.5.19]

Investigation of pancreatic digestive enzymes changes from egg to larvae phase of *Schizothorax zarudnyi*

Dahmardeh F[1]., Gharaei A[1*]., Mirdar Harijani J[1]., Jamshidian A[2]., Rahdari A[3]

[1]Dept. of Fisheries, Natural Resources Faculty, University of Zabol, Zabol, Sistan & Balouchestan, Iran
[2]Dept. of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Sistan & Balouchestan, Iran
[3]Dept. of Fisheries, Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Sistan & Balouchestan, Iran

Type:

Original Research Paper

DOI: 10.22034/jair.8.5.7

Paper History:

Received: 15-12-2021
Accepted: 30-01- 2022

Corresponding author:

Gharaei A. Dept. of Fisheries, Natural Resources Faculty, University of Zabol, Zabol, Sistan & Balouchestan, Iran

Email: agharaei551@uoz. ac. ir

Abstract

In order to identify trends and provide suitable diet for *Schizothorax zarudnyi*, the activity of alpha-amylase, trypsin, and lipase in five treatment groups including: fertilized egg, newly-hatched larvae, the larvae a day, larvae absorbed in the bag 2/ 3 yolk and absorption of yolk sac larvae, in 20 embryonated eggs and 80 larvae at the end of 53 days were studied. Analysis of the data showed that in all five groups of fish eggs and larvae, the activity of the alpha-amylase enzyme is even more. Most of the activity of the enzyme alpha-amylase in the bottom of the absorption of the yolk sac (59. 63±4. 4 IU/ mg protein) and lowest in the 2/3 absorb the yolk sac (7. 78±0. 5 IU/ mg protein (seen. The activity of alpha-amylase enzyme in the process of absorbing the yolk sac in comparison with the other groups were significantly different ($p < 0.05$). Results showed that the activity of the trypsin and lipase enzyme from egg to larvae four-day rising trend, and highest of their activities observed at the end of yolk sac absorption stage. In assessing enzymes trypsin and lipase were not observed significant difference between the 3-day-old larvae and 4-day-old larvae ($p > 0/05$), but the larvae 4 days fertilized eggs and newly hatched larvae were significant differences ($p < 0/05$).

Keywords: Snow trout (*Schizothorax zarudnyi*), Alpha-amylase enzyme, Trypsin enzyme, Lipase enzyme.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

[DOI: 10.22034/jair.8.5.19]