دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی
گروه شیلات

پایان نامه کارشناسی ارشد

عنوان

مطالعه رشد، فعالیت آنزیم های گوارشی و ترکیب اسیدهای چرب تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در طی مراحل تکامل لاروی

پژوهش
سیده صدیقه بابایی

استاد راهنما
دکتر عبدالمحمد عابدیان کناری

استاد مشاور
دکتر رجب محمد نظری

پائیز ۸۹

بسم الله الرحمن الرحيم

تأییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخه نهائی پایان نامه خانم سیده صدیقه بابایی

تحت عنوان:مطاله رشد وفعالیت آنزیم های گوارشی تاس ماهی ایرانی(*Acipenser persicus*)

در طی مراحل تکامل لاروی

را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی‌ارشد پیشنهاد می کنند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
۱- استاد راهنما	دکترعبدالمحمد عابدیان	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکتررجب محمد نظری	استادیار	
۳-نماینده‌شورای‌تحصیلات‌تکمیلی	دکترمسعود رضایی	دانشیار	
۴- استاد ناظر	دکترعبدالصمد کرامت	استادیار	
۵- استاد ناظر	دکترمسعود رضایی	دانشیار	

بسمه تعالی

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: درصورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهید.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کنید:

« کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته **مهندسی شیلات- تکثیر و پرورش آبزیان** است که در سال ۱۳۸۹ در دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای **دکتر عبدالمحمد عابدیان کناری** و مشاوره جناب آقای دکتر **رجب محمد نظری** از آن دفاع شده است. »

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به « دفتر نشر آثار علمی » دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶: اینجانب **سیده صدیقه بابایی** دانشجوی رشته **مهندسی شیلات- تکثیر و پرورش آبزیان** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: سیده صدیقه بابایی

تاریخ و امضاء:

دستورالعمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی
دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

تقدیم به

...پدر و مادرم

که شکوه بی بدیل و ابدی زندگیم هستند.

و

...همسرم

به خاطر حمایت های بی دریغش

تقدیر و سپاس

سپاس خداوندی را که اگر لطف بی کرانش نبود تلاش و پویش بی معنا می شد، او که در تمام لحظه های سهل و سخت بود و چگونه بودن را به من آموخت. مراحل اجرایی و تدوین این پایانامه پس از الطاف الهی مدیون راهنمایی و همفکری بزرگوارانی است که بی تردید بدون همراهی آنان طی این طریق با مشکلات فراوان همراه بود لذا بر خود لازم می دانم مراتب سپاس خود را به کلید کسانی که در مراحل مختلف پژوهش مرا یاری نمودند، اعلام دارم.

از استاد راهنمای محترم و بزرگوار جناب آقای دکتر **عابدیان کناری** که مسئولیت این پایانامه را تقبل نمودند و در تمام مراحل انجام آن از هیچ کوششی به جهت پربارتر شدن آن دریغ ننموده و همواره با راهنمایی های ارزشمند خود گره گشای مسائل و مشکلات این پژوهش بودند، کمال تشکر و امتنان را دارم.

نهایت سپاس قلبی خود را تقدیم حضور استاد مشاور محترم و ارجمند جناب آقای دکتر **نظری** می دارم که با تقبل مشاورت پایانامه و راهنمایی های ارزشمند خود مراتب ارتقاء آن را فراهم ساختند و با صبر و حوصله همگام من بودند. از اساتید گرانقدر جناب آقای دکتر **رضایی** و جناب آقای دکتر **کرامت** به پاس قبول زحمت داوری و ارائه نقطه نظرات ارزشمندشان سپاسگزارم. از مساعدت و لطف نماینده محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر رضایی نهایت سپاسگزاری را دارم. از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر **حبیبی رضایی** که در انجام مراحل آزمایشگاهی این تحقیق از مشاوره و راهنمایی های ارزشمندشان بهره بردم، تشکر و قدردانی می کنم و همچنین از استاد گرانقدر جناب آقای دکتر **Gisbert** به خاطر پیشنهادات و راهنمایی های مشفقانه و سودمندشان متشکرم. از ریاست و پرسنل محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری بویژه جناب آقایان مهندس **نوری**، **شریفی ور حیمی** و همچنین مسئولین محترم آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی آقایان مهندس **کمالی** و **بور** تشکر می نمایم.

تشکر صمیمانه خود را تقدیم **پدر و مادر گرانقدر و بزرگوارم** و **خانواده عزیزم** می کنم که وجودشان همواره مایه آرامش و نگاه گرمشان پشتیبان لحظه لحظه زندگی ام بوده است. آنان که اگر گرمی صداقتشان نبود، هرگز شکوه لحظه بالیدن به باور رفتن و رسیدن معنا نمی شد.

از **همسر عزیز و مهربانم** که با صبر و شکیبایی فراوان، مشوق و یاریگرم بوده و **خانواده محترمش** که دعای خیرشان پشت و پناهم بوده و خواهد بود کمال تشکر را دارم.

همچنین از **دوستان عزیز و گرامی ام**: خانم ها فرهودی، اسماعیلی، پزشک، قهرمانی، فیروزه و شهیم و آقایان اویسی پور، طاهری، ستوده، زمانی، یوسف زاده، نجفی، کریم زاده، امیری مقدم و ایمانی که در مراحل مختلف این پژوهش مرا یاری نمودند، تشکر و قدردانی می نمایم.

سیده صدیقه بابایی

چکیده

هـدف از ایـن تحقیـق، بررسـی تغییـرات رشـد، فعالیـت آنـزیم هـای گوارشـی (پپـسین، تریپـسین، کیموتریپسین، آلفا آمیلاز، لیپاز، فسفاتاز قلیایی و N-آمینوپپتیداز) و ترکیب اسیدهای چرب تاسماهی ایرانی از زمان تفریخ تا ۴۰ روز بعد از آن می باشد. لارو تاسماهی ایرانی از تکثیر مصنوعی یـک مولـد ماده (۲۶/۳۳ کیلوگرم) و یک مولد نر (۱۹ کیلوگرم) بدست آمد. تغذیه لاروها بعد از جذب کیسه زرده طبق شرایط کارگاه، تا روز سیزدهم با ناپلی آرتمیا و سپس تا انتهای دوره با دافنی انجام شـد. دمـای آب در دوره ی پرورش ۱۸– ۱۷ درجه سانتیگراد، اکسیژن ۷ mg/l- ۵/۵ و pH حـدود ۸ بـود. نمونـه برداری از لاروها بصورت تصادفی در روزهای ۱ (روز تفریخ)، ۵، ۹ (جـذب کیـسه زرده)، ۱۴، ۱۹، ۲۴، ۲۹، ۳۴ و ۴۰ انجام گرفت. نتایج حاصل از رشد نشان داد، رابطه بین طول کل- وزن بدن و طول کـل- عرض دهان صعودی می باشد، همچنین رشد وزنی تا روزهای ۱۴-۱۹ به طور آهسته انجام شده و بعد از آن روند افزایشی می باشد. فعالیت آنزیمی بر اساس فعالیت اختـصاصی (U/mg protein) محاسـبه شد. نتایج حاصل از فعالیت آنزیم های گوارشی نشان داد که فعالیت پروتئاز های قلیایی (تریپـسین و کیموتریپسین) قبل از شروع تغذیه فعال بالا بود اما با شـروع تغذیـه فعالیـت پپـسین افـزایش یافـت. فعالیت آمیلاز نیز با شروع تغذیه افزایش یافت و لیپاز نیز روند صعودی را تا انتهای آزمایش نشان داد. فعالیت فسفاتاز قلیایی تا روز ۱۹ روند صعودی را نشان داد، درحالیکه فعالیت آمینوپپتیداز در انتهـای دوره کاهش یافت. این نتایج نشاندهنده اهمیت پروتئازهای قلیایی در مراحل اولیه زندگی می باشد که با افزایش سن، گوارش مشابه با افراد بالغ می شود. نتایج پروفیل اسیدهای چرب نشان مـی دهـد کـه اسید های چرب اشباع در طول دوره پرورش افزایش یافته در مقابل اسیدهای چرب تـک غیـر اشـباع کاهش می یابد که این کاهش نشاندهنده مصرف آنها در تولید انرژی اسـت. نـسبت اسـیدهای چـرب سری6-n-3/n نیز تا انتهای دوره کاهش یافت. نتایج نشان می دهد لارو تاسماهی ایرانی قابلیـت سـنتز اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند از اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک در زمان پرورش در آب شیرین را دارد.

کلمات کلیدی: تاسماهی ایرانی، هضم و گوارش، لارو، انتوژنی، رشد، اسید چرب، آنزیم های گوارشی.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه ۱
۱-۱. مقدمه ۲
فصل دوم: کلیات و مروری بر منابع ۸
۲-۱. دستگاه گوارش در ماهیان ۹
۲-۲. آنزیم ها ۱۰
۲-۲-۱. معده و پروتئاز اسیدی ۱۰
۲-۲-۲. پانکراس و ترشحات آن ۱۱
۲-۲-۲-۱. تریپسین ۱۱
۲-۲-۲-۲. کیموتریپسین ۱۲
۲-۲-۲-۳. کربوکسی پپتیداز ۱۲
۲-۲-۲-۴. آمیلاز ۱۳
۲-۲-۲-۵. لیپاز ۱۳
۲-۲-۳. روده و ترشحات آن ۱۴
۲-۲-۳-۱. فسفاتاز قلیایی ۱۴
۲-۲-۳-۲. آمینوپپتیداز ۱۵
۲-۲-۳-۳. لوسین- آلانین پپتیداز ۱۵
۲-۲-۴. تحقیقات انجام شده در ایران و سایر کشورها ۱۶
۲-۳. چربی‌ها و اسیدهای چرب ۱۹
۲-۳-۱. شیمی اسیدهای چرب ۱۹
۲-۳-۲. بیوسنتز اسیدهای چرب ۲۰
۲-۳-۳. عملکرد اسیدهای چرب ۲۱
۲-۳-۳-۱. تولید انرژی ۲۱
۲-۳-۳-۲. ساختار و عملکرد غشایی ۲۱
۲-۳-۴. تحقیقات انجام شده در ایران و سایر کشورها ۲۲
فصل سوم: مواد و روش ها ۲۴
۳-۱. مواد ۲۵
۳-۱-۱. مواد مصرفی ۲۵
۳-۱-۲. دستگاه و لوازم غیر مصرفی ۲۵
۳-۲. روش ها ۲۷
۳-۲-۱. تکثیر و پرورش لاروها ۲۷
۳-۲-۲. کشت آرتمیا ۲۸

۳-۲-۳. نمونه برداری از لاروها ۲۸
۳-۲-۴. سنجش آنزیم های گوارشی ۲۹
۳-۲-۴-۱. تعیین فعالیت آنزیم های گوارشی ۲۹
۳-۲-۴-۲. تهیه عصاره آنزیمی ۲۹
۳-۲-۴-۳. تهیه عصاره آنزیم های روده ای ۲۹
۳-۲-۴-۴. سنجش غلظت پروتئین محلول ۳۰
۳-۲-۴-۵. سنجش فعالیت آنزیم پپسین ۳۱
۳-۲-۴-۶. سنجش فعالیت آنزیم تریپسین ۳۳
۳-۲-۴-۷. سنجش فعالیت آنزیم کیموتریپسین ۳۴
۳-۲-۴-۸. سنجش فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز ۳۵
۳-۲-۴-۹. سنجش فعالیت آنزیم لیپاز ۳۸
۳-۲-۴-۱۰. سنجش فعالیت فسفاتاز قلیایی ۳۹
۳-۲-۴-۱۱. سنجش فعالیت آنزیم N- آمینوپپتیداز ۳۹
۳-۳ تعیین. ترکیب اسیدهای چرب عضله ۴۱
۳-۳-۱. استخراج چربی ۴۱
۳-۳-۲. استری کردن چربی ۴۱
۳-۳-۳. شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه ۴۱
۳-۴. طرح آزمایشی و رسم نمودارها ۴۳
فصل چهارم: نتایج ۴۴
۴-۱. نتایج مربوط به رشد ۴۵
۴-۲. فعالیت آنزیم های گوارشی ۴۸
۴-۲-۱. فعالیت آنزیم پپسین ۴۸
۴-۲-۲. فعالیت آنزیم تریپسین ۴۹
۴-۲-۳. فعالیت آنزیم کیموتریپسین ۵۰
۴-۲-۴. فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز ۵۰
۴-۲-۵. فعالیت آنزیم لیپاز ۵۱
۴-۲-۶. فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی ۵۲
۴-۲-۷. فعالیت آنزیم N-آمینوپپتیداز ۵۲
۴-۳. نتایج پروفیل اسیدهای چرب ۵۳
فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری ۵۸
۵-۱. رشدلارو ۵۹
۵-۲. آنزیم های گوارشی ۶۰
۵-۲-۱. فعالیت آنزیم پپسین ۶۰

۵-۲-۲. فعالیت آنزیم تریپسین ۶۲
۵-۲-۳. فعالیت آنزیم کیموتریپسین ۶۳
۵-۲-۴. فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز ۶۴
۵-۲-۵. فعالیت آنزیم لیپاز ۶۵
۵-۲-۶. فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی ۶۷
۵-۲-۷. فعالیت آنزیم N-آمینوپپتیداز ۶۹
۵-۳. ترکیب اسیدهای چرب ۷۲
۵-۴. نتیجه گیری ۷۵
۵-۵. پیشنهادها ۷۶
۵-۵-۱. پیشنهادهای مستخرج از پایان نامه ۷۶
۵-۵-۲. پیشنهادهای پژوهشی ۷۷
فهرست منابع ۷۸
ضمیمه ۸۷
چکیده انگلیسی ۸۸

فهرست جداول

جدول ۲-۱. آنزیم های گوارشی و مکان ترشح و فعالیت آنها (Jobling، ۱۹۹۵)..... ۱۶
جدول ۳-۱. غلظت های مختلف آلبومین سرم گاوی..... ۳۰
جدول ۴-۱. ترکیب اسیدهای چرب لارو تاسماهی ایرانی در مراحل مختلف تکامل لاروی..... ۵۶
جدول ۴-۲. ترکیب اسیدهای چرب غذای زنده در تغذیه لارو تاسماهی ایرانی..... ۵۷

فهرست نمودارها

نمودار ۳-۱. منحنی استاندار BSA ۳۱
نمودار ۳-۲. منحنی استاندارد مالتوز..... ۳۷
نمودار ۴-۱. منحنی طول و وزن لارو تاسماهی ایرانی تغذیه شده با ناپلی آرتمیا و دافنی..... ۴۶
نمودار ۴-۲. منحنی ضریب رشد ویژه (SGR) لارو تاسماهی ایرانی..... ۴۶
نمودار ۴-۳. منحنی رگرسیون بین طول و وزن لارو تاسماهی ایرانی..... ۴۷
نمودار ۴-۴. منحنی رگرسیون بین سن و وزن لارو تاسماهی ایرانی ۴۷
نمودار ۴-۵. منحنی رگرسیون بین طول و عرض دهان لارو تاسماهی ایرانی..... ۴۷
نمودار ۴-۶. منحنی رگرسیون بین سن و طول کل لارو تاسماهی ایرانی..... ۴۷
نمودار ۴-۷. فعالیت اختصاصی آنزیم پپسین (u /mg protein)..... ۴۹
نمودار ۴-۸. فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین (u /mg protein) ۴۹
نمودار ۴-۹. فعالیت اختصاصی آنزیم کیموتریپسین (u /mg protein)..... ۵۰
نمودار ۴-۱۰. فعالیت اختصاصی آنزیم آمیلاز (u /mg protein)..... ۵۱
نمودار ۴-۱۱. فعالیت اختصاصی آنزیم لیپاز (u /mg protein) ۵۱
نمودار ۴-۱۲. فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی (u /mg protein)..... ۵۲
نمودار ۴-۱۳. فعالیت اختصاصی آنزیم آمینوپپتیداز (u /mg protein)..... ۵۳
نمودار ۴-۱۴. روند اسیدهای چرب *SFA* ، *MUFA*، *HUFA*، *PUFA* و *n-3/n-6* در
لارو تاسماهی ایرانی در مراحل مختلف لاروی..... ۵۵

فهرست رابطه ها

رابطه ۳-۱. ..... ۲۹

$$SGR=[(\ln \text{final BW (g)} - \ln \text{initial BW (g)}) \times 100] \times (\text{number of days})^{-1}$$

رابطه ۳-۲. ..... ۳۲

$$\text{میزان پروتئین (mg) / فعالیت آنزیمی (U)} = \text{فاکتور رقت} \times \frac{۴ \times ۱۰۰۰ \times \{ \text{جذب نمونه (۲۸۰nm) } _ \text{ جذب شاهد (۲۸۰nm)} \}}{\text{میزان پروتئین در نمونه (mg)} \times ۱۰ \times ۱۲۵۰}$$

رابطه ۳-۳. ..... ۳۴

$$\text{میزان پروتئین (mg) / فعالیت آنزیمی (U)} = \frac{\text{حجم محلول درون کوت (ml)} \times ۱۰۰۰ \times \text{(مدت زمان انکوباسیون / (۴۱۰nm) میزان جذب)}}{\text{میزان پروتئین در نمونه (mg)} \times ۸۸۰۰}$$

رابطه ۳-۴. ..... ۳۵

$$\text{میزان پروتئین (mg) / فعالیت آنزیمی (U)} = \frac{\text{حجم محلول درون کوت (ml)} \times ۱۰۰۰ \times \text{(مدت زمان انکوباسیون / (۴۱۰nm) میزان جذب)}}{\text{میزان پروتئین در نمونه (mg)} \times ۸۸۰۰}$$

رابطه ۳-۵. ..... ۳۷

$$\text{میزان پروتئین (mg) / فعالیت آنزیمی (U)} = \text{فاکتور رقت} \times \frac{\text{میزان مالتوز آزاد شد (µ mol)}}{\text{مدت زمان انکوباسیون (دقیقه)} \times \text{میزان پروتئین در نمونه (mg)}}$$

رابطه ۳-۶. ..... ۳۸

$$\text{میزان پروتئین (mg) / فعالیت آنزیمی (U)} = \frac{\text{حجم محلول درون کوت (ml)} \times ۱۰۰۰ \times \text{(مدت زمان انکوباسیون / (۴۰۵ nm) میزان جذب)}}{\text{میزان پروتئین در نمونه (mg)} \times ۱۶۵۰۰}$$

رابطه ۳-۷. تغییر میزان جذب ×۱۰۰۰ = فعالیت آنزیمی در ۳۷ درجه سانتیگراد..... ۳۹

رابطه ۳-۸. جذب شاهد - جذب نمونه = تغییر میزان جذب ۳۹

رابطه ۳-۹. ..... ۴۰

$$\text{فعالیت آنزیمی (ml)} = \text{فاکتور رقت} \times \frac{\text{حجم محلول درون کوت (ml)} \times \{ \text{تغییر جذب شاهد } _ \text{ تغییر جذب نمونه در واحد زمان} \}}{\text{حجم عصاره آنزیمی (ml)} \times ۱۰/۸}$$

رابطه ۳-۱۰. ..... ۴۰

$$\text{میزان پروتئین (mg) / فعالیت آنزیمی (U)} = \frac{\text{فعالیت آنزیمی (ml)}}{\text{میلی گرم پروتئین در میلی لیتر آنزیم}}$$

فهرست تصاویر

شکل ۲-۱. جایگاه عملکرد آنزیم های پپسین، تریپسین و کیموتریپسین (Jobling، ۱۹۹۵) ۱۲
شکل ۲-۲. جایگاه عملکرد اگزوپپتیدازها (کربوکسی پپتیداز و آمینو پپتیداز) (Jobling، ۱۹۹۵) ۱۵
شکل ۲-۳. مسیر شماتیک سنتز اسیدهای چرب چند غیر اشباع C20 و C22 از پیش‌سازهای C18 ..... ۲۱
شکل ۳-۱. انکوباتور یوشچنکو ۲۷
شکل ۳-۲. ونیروهای پرورش لارو تاسماهی ایرانی ۲۷
شکل ۳-۳. افزودن سوبسترا به لوله های آزمایش ۳۳
شکل ۳-۴. استاندارد مالتوز ۳۷
شکل ۳-۵. سنجش پروفیل اسید چرب غذای زنده ۴۲
شکل ۳-۶. دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) ۴۲
شکل ۴-۱. روند رشد در لارو تاسماهی ایرانی ۴۸
شکل ۵-۱. تغییرات آنزیم سیتوزولیک (لوسین آلانین پپتیداز) و BBM (فسفاتاز قلیایی) در لارو باس دریایی (Zambonino و Cahu، ۲۰۰۱) ۶۹

اختصارات

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

ARA: Arachidonic acid

BBM: Brush Border Membrane

BSA: Bovin serum albomin

DHA: Decosahexanoic acid

DPH: Days Post Hatching

EFA: Essential Fatty Acids

EPA: Eicosapentanoic acid

FAO: Food and Agriculture Organization

HUFA: Highly Unsaturated Fatty Acids

MUFA: Mono Unsaturated Fatty Acids

PUFA: Polyunsaturated Fatty Acids

S.D: Standard Deviation

SFA: Saturated Fatty Acids

SGR: Specific Growth Ratio

فصل اول

مقدمه

مقدمه

دریای خزر به واسطه موقعیت جغرافیایی، ترکیب گونه های زیستی و تعداد بیشمار گونه های بومی بعنوان یک اکوسیستم منحصر به فرد در جهان مطرح است. یکی از گونه های با ارزش بومی در سواحل جنوبی دریای خزر، تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از خانواده Acipenseridae می باشد. این ماهی هم جهت استفاده از گوشت و هم خاویار صید می شود. امروزه به دلیل صید بی رویه، آلودگی دریاها و منابع آبی، از بین رفتن زیستگاه ها و مناطق تخمریزی، موانع موجود بر سر راه مهاجرت به هنگام تخمریزی از دریا به رودخانه ها، نظیر سدهای احداث شده در مسیر رودخانه، ورود فاضلاب های شهری به آب رودخانه ها و همچنین حضور صیادان سودجو که اقدام به گستردن دام در مسیر مهاجرت می نمایند بقای نسل این ماهیان که از گونه های آسیب پذیر (vulnerable) دریای خزر می باشند، به خطر افتاده است (Kiabi و همکاران، ۱۹۹۹). در این راستا به منظور بازسازی ذخایر این ماهیان چندین مرکز تکثیر مصنوعی در ایران مشغول تولید این ماهیان هستند که ماحصل آن رهاسازی سالانه بیش از ۲۰ میلیون بچه ماهی خاویاری در دریای خزر است (نظری و همکاران، ۱۳۸۸)، که در حال حاضر این رقم بشدت کاهش یافته است. همچنین از اهداف توسعه ای سازمان شیلات ایران، دستیابی به تولید سالانه ۱۵۰۰ تن گوشت انواع تاسماهیان تا سال ۲۰۱۰ میلادی است (پایگاه اطلاع رسانی سازمان شیلات ایران، ۱۳۸۵). یکی از مشکلات پرورش این ماهیان در مراکز تکثیر و پرورش، وابستگی بالای آنها به غذای زنده و تلفات ناشی از استفاده از جیره خشک در مراحل

ابتدایی زندگی می باشد چرا که بازماندگی و رشد بالا در این مرحله می تواند بقا و رشد در مراحل بالاتر را تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین می توان گفت تغذیه لارو ماهیانی از قبیل تاسماهی ایرانی که در مراحل اولیه زندگی به تولید غذای زنده (مانند آرتمیا) وابسته هستند، با توجه به افزایش قیمت و نوسان هزینه های تولید غذای زنده و فقدان یک جیره مناسب، توسعه آبزی پروری این ماهیان را دچار مشکل کرده است (Zambonino Infante و Cahu، ۲۰۰۱؛ Robinsona و همکاران، ۲۰۰۵؛ Tlusty و همکاران، ۲۰۰۵). این مشکل می تواند تا حدودی از طریق مشخص نمودن توان هضمی و اینکه ماهیان قادر به هضم چه نوع ماده ای هستند، برطرف شود.

هضم، فرآیند کلیدی در متابولیسم جانور است که نشان می دهد وجود مواد مغذی برای عملکردهای بیولوژیکی بدن مورد نیاز است (Gisbert و همکاران، ۲۰۰۹). رشد و توسعه موفق سیستم گوارشی برای رشد و بقای لارو ماهی ضروری است زیرا یک سیستم گوارشی کارآمد، ماهی را قادر به صید، بلع، هضم و جذب غذا می سازد. اگر چه لوله گوارش لارو ماهی از نظر مرفولوژیکی در زمان شروع تغذیه فعال قادر به جذب غذا می باشد، اما سیستم هضمی قبل از اینکه کاملاً فعال و کار آمد شود نیاز به یک سری تغییرات رشدی اساسی دارد (Cahu و Zambonino Infante، ۱۹۹۸). بیشتر اطلاعات در رابطه با فرآیند هضم و جذب در ماهیان ناشی از تحقیقات روی افراد جوان یا بالغ یک جمعیت می باشد در حالیکه ثابت شده است احتیاجات کمی و کیفی غذا در لارو ماهیان بسیار متفاوت از افراد بالغ می باشد. یکی از ویژگی های اصلی سیستم هضمی لارو ماهیان تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در طی مراحل تکامل اولیه (انتوژنی[1]) می باشد. تغییرات متفاوتی در ساختار روده و تولید آنزیم ها در ارتباط با گونه، عادات غذایی و دما حاصل می شود (Bolasina و همکاران، ۲۰۰۶). اطلاعات روی فیزیولوژی گوارش لارو بسیار ضروری و محدود می باشد این موضوع بطور واضح مصرف مواد غذایی جیره و محدودیت نوع جیره ای که باید به لارو ماهی پیشنهاد شود را تحت تاثیر قرار می دهد (Finn و Kapoor، ۲۰۰۸؛ Cyrino و همکاران، ۲۰۰۷).

[1]. Ontogeny

در این راستا یکی از جنبه های مهم مطالعات فیزیولوژی هضم، اطلاع از کارایی گوارش بر اساس نوع و عملکرد آنزیم های گوارشی (الگوهای انتوژنی آنزیم های گوارشی)، به منظور تعیین زمان آغاز تغذیه خارجی (weaning) و تعیین ظرفیت لارو در هضم و جذب انواع مختلف مواد مغذی شامل غذای زنده و یا ریزجیره ها می باشد (Cahu و Zambonino Infante، ۱۹۹۸؛ Gisbert و همکاران، ۲۰۰۹). بطور کلی اطلاع از نحوه تکامل سیستم آنزیمی می تواند در تشخیص عوامل محدود کننده رشد در پرورش لارو، کاهش تلفات در زمان تغذیه فعال و طراحی جیره غذایی متناسب با سیستم آنزیمی موثر باشد و علاوه بر آن، به عنوان شاخصی قابل اطمینان از فعالیت های گوارشی و شرایط تغذیه ای لارو ماهیان می باشد (Bolasina و همکاران، ۲۰۰۶؛ Gisbert و همکاران، ۲۰۰۴).

دستگاه گوارش لارو تاسماهیان مانند سایر گونه های ماهی، در زمان تفریخ توسعه نیافته و باید قبل از تغذیه خارجی تکامل یابد تا توانایی هضم و جذب را داشته باشند. لارو تاسماهیان بعد از تفریخ به طور کامل وابسته به ذخایر کیسه زرده اند و به محض اتمام کیسه زرده تغذیه خارجی را شروع کرده تا انرژی مورد نیاز را تامین کند. در زمان شروع تغذیه، این لاروها دارای لوله گوارشی فعالی از لحاظ آناتومیکی، همراه با تغییرات شدید ریخت شناسی می باشند (Gisbert و همکاران، ۱۹۹۸). بنابراین در این تحقیق فعالیت آنزیم های گوارشی تاسماهی ایرانی در مراحل لاروی مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به اینکه هضم مواد غذایی در معده و روده اتفاق می افتد و این فرآیند توسط آنزیم های معده و ترشحات خارجی پانکراس و روده صورت می گیرد، گروهی از مهمترین آنزیم های گوارشی معده (پپسین)، پانکراس (تریپسین، کیموتریپسین، لیپاز و آلفا آمیلاز) و روده (فسفاتاز قلیایی و N-آمینوپپتیداز) مورد بررسی قرار گرفتند (Gisbert و همکاران، ۲۰۰۹).

با توجه به اینکه ترکیب مواد مغذی تخم و بدن لاروها در طی مراحل تکامل لاروی در ماهیان تغییر می کند، آگاهی از احتیاجات لارو در مراحل اولیه زندگی می تواند نقش بسزایی در ارائه یک جیره مناسب ایفا کند (Abi-Ayad و همکاران، ۲۰۰۰).

تحقیقات مختلفی انجام گرفته تا مشخص شود چه مقدار از مواد مغذی مختلف (اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب و کربوهیدرات ها) در طی مراحل انتوژنی برای تامین انرژی در ماهیان مصرف می شوند (Sargent، ۱۹۹۵). استراتژی تامین انرژی در ماهیان در مراحل مختلف رشد و نمو متفاوت است (Fraser و همکاران، ۱۹۸۸). در این زمینه اطلاعات بسیار کمی در رابطه با متابولیسم اسیدهای چرب در لارو ماهیان وجود دارد درحالیکه عملکرد فیزیولوژیکی اسیدهای چرب از جمله حفظ عملکرد طبیعی بدن و غشای زیستی در دوران لاروی بسیار مهم است (Roustaian و همکاران، ۱۹۹۹). لیپیدها نقش مهمی در تغذیه ماهیان برای ذخیره انرژی و تامین اسیدهای چرب ضروری ایفا می کنند (Abedian-kenari و همکاران، ۲۰۰۹). تعدادی از اسیدهای چرب بشدت غیر اشباع (HUFA) مانند ۲۰:۴n-۶ (آراشیدونیک اسید)، ۲۲:۶n-۳ (DHA) و ۲۰:۵n-۳ (EPA) نقش ساختاری در طی مراحل اندام زایی[1] دارند به عنوان مثال در غشای سلول ها (سلول های ماهیچه، مغز و شبکیه چشم) مورد استفاده قرار می گیرند و پیش ساز مولکول های فعال فیزیولوژیکی مثل ایکوزانوئیدها[2] می باشند (Sargent، ۱۹۹۵). مصرف اسیدهای چرب در دوره لاروی متفاوت می باشد و در میان گونه های مختلف ماهیان انتخابی است و وابسته به ذخایر کیسه زرده انتقال یافته از والدین می باشد (Heming و Buddington، ۱۹۸۸). همچنین ترکیب اسید چرب بدن ماهی در تمام دوره زندگی وابسته به محتوای اسید چرب غذای مصرفی است (Sargent و همکاران، ۲۰۰۲). در واقع، غذا مهمترین عامل محیطی است که ترکیب اسیدهای چرب را در ماهی تحت تأثیر قرار می دهد (Millamena، ۱۹۹۶).

شناخت ترکیب اسیدهای چرب در تخم و لارو ماهیان برای تخمین و ارزیابی احتیاجات غذایی لارو به هنگام شروع تغذیه فعال، می تواند مفید باشد. ترکیب اسید چرب به دلیل اهمیت ساختاری و فیزیولوژیکی آنها از نقطه نظرهای مختلف مورد بررسی قرار گرفته است برای مثال ترکیبات اسید چرب در ارتباط با عادات غذایی، ارزش غذایی، گرسنگی، تغییرات تنظیم اسمزی و عادات مهاجرت در میان گونه های مختلف ماهیان ارزیابی شده است (Gunasekera و همکاران، ۱۹۹۹). ترکیب و میزان

[1]. organogenesis
[2]. eicosanoids