دانشکده شیلات و محیط زیست

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته
بوم شناسی آبزیان شیلاتی

بررسی تأثیر شوری بر زمان عبور غذا و فعالیت آنزیم‌های گوارشی (کیموتریپسین، تریپسین، آلفاآمیلاز و فسفاتاز قلیایی) در بچه ماهیان سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*)

پژوهش و نگارش:
ناهید قیسوندی

استاد راهنما:
دکتر عبدالمجید حاجی مرادلو

استاد مشاور:
دکتر رسول قربانی

تابستان ۱۳۹۲

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه‌های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود؛ بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱- قبل از چاپ پایان‌نامه خود، مراتب را قبلا به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.
۲- قبل از چاپ پایان نامه در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.
۳- انتشار نتایج پایان نامه باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **ناهید قیسوندی** دانشجوی رشته **شیلات** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

رسولان باز به کافران پاسخ دادند که آری ما هم مانند شما بشری بیش نیستیم لیکن خدا هر کس از بندگان را بخواهد به نعمت بزرگ نبوت منت می گذارد و ما را نرسد که آیت و معجزی الا به اذن و دستور خدا بیاوریم مؤمنان باید به خدا در هر حال توکل کنند. و چرا ما بر خدا توکل نکنیم ؟ در صورتی که خدا ما را به راه راست هدایت فرموده و البته به آزار و ستمهای شما صبر خواهیم کرد که ارباب توکل باید همیشه در همه حال خوش و ناخوش بر خدا توکل کنند.

سوره ابراهیم آیه ۱۱ و ۱۲ .

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم که بود نشان تاج افتخاری است بر سرم

و خواهر و برادر مهربانم

و آقای دکتر حاجی مرادلو

شاید نشانی باشد از سپاس

تشکر و قدردانی

سپاس و ستایش خدای را که هر چه از او در نهایت همت خویش طلب کردم، در نهایت سخاوت خود به من ارزانی داشت. اکنون که در سایه الطاف خداوند متعال در پایان این مرحله از تحقیق قرار دارم، بر خود لازم می‌دانم که از زحمات استاد فرزانه جناب آقای دکتر حاجی مرادلو به خاطر راهنمایی‌های ارزنده‌ای که در طول تحصیل و مراحل انجام پایان نامه ارائه نمودند کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم.

از استاد مشاور گرامی جناب آقای دکتر قربانی به خاطر ارائه راهنمایی‌ها و نظرات ارزشمند کمال تشکر و قدردانی را دارم. از پدر و مادر مهربانم و کلیه عزیزانی که در این دو سال خوشه چین علم، معرفت و محبت آن‌ها بوده‌ام، دوستان گرانقدر و همه کسانی که به نحوی در انجام این پژوهش همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد. امید آنکه همه این بزرگواران در سایه الطاف الهی موفق و موید باشند.

چکیده

زمان عبور غذا و فعالیت آنزیم‌های گوارشی (تریپسین، کیموتریپسین، آلفا-آمیلاز و فسفاتاز قلیایی) که در هضم و جذب مواد غذایی موثر هستند با چهار تیمار (آب شیرین (۰PPt)، آب لب‌شور (۵PPt)، انتقال ناگهانی ماهی به شوری ۱۰PPt (در این گروه ماهیان بلافاصله از آب شیرین به شور منتقل شدند) و انتقال تدریجی ماهی به شوری ۱۰ PPt (در این گروه ماهیان از آب شیرین به آب لب شور به مدت ۱۲ ساعت و سپس به آب شور منتقل شدند)، در ماهی سفید دریای خزر مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق ماهیان با وزن ۵۳۲±۰/۰۰۵ میلی‌گرم انتخاب شدند. مدت زمان آزمایش ۲۰ روز بود. پس از پایان دوره آزمایش در زمان‌های ۰،۱، ۳، ۵، ۸، ۱۶ و ۲٤ ساعت بعد از غذادهی از هر تیمار نمونه‌برداری از روده انجام شد. فعالیت آنزیمی براساس فعالیت اختصاصی $U/mg\ protein.min^{-1}$ محاسبه گردید. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار MSTATC و SPSS استفاده گردید. نتایج نشان داد در زمان ۸ ساعت پس از غذادهی، تقریبا در تمام تیمارها به جز تیمار آب لب شور روده به صورت پر مشاهده شد. فعالیت تریپسین، آمیلاز، کیموتریپسین در تیمار آب لب‌شور در مقایسه با سایر تیمارها بیش‌ترین فعالیت را داشت، اما با گروه انتقال ناگهانی ماهی به شوری ۱۰PPt اختلاف معنی‌دار نداشت (P> ۰/۰۵). میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بر خلاف سایر آنزیم‌ها در گروه انتقال ناگهانی ماهی به شوری ۱۰PPt دارای حداکثر فعالیت بود. اوج فعالیت آنزیم تریپسین در گروه آب شیرین و انتقال تدریجی ماهی به شوری ۱۰PPt، ۸ ساعت پس از غذادهی و در گروه آب لب‌شور و انتقال ناگهانی ماهی به شوری ۱۰PPt، ۵ ساعت پس از غذادهی رخ داد، در آنزیم کیموتریپسین در تمام گروه‌های آزمایشی ۵ ساعت پس از غذادهی، اتفاق افتاد. درحالی‌که در آنزیم فسفاتاز قلیایی ۸ ساعت پس از غذادهی دارای حداکثر فعالیت بود. اوج فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در تیمار آب لب شور و انتقال ناگهانی ماهی به شوری ۱۰PPt، ۸ ساعت پس از غذادهی بود، درحالی‌که برای تیمار آب شیرین و انتقال تدریجی ماهی به شوری ۱۰PPt، ۵ ساعت پس از غذادهی اتفاق افتاد. بنابراین شوری روی فعالیت آنزیم‌های گوارشی و زمان عبور غذا تاثیر گذار است.

کلمات کلیدی: ماهی سفید دریای خزر، شوری، زمان عبورغذا، آنزیم‌های گوارشی.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱ کلیات ۲

۱-۱-۱ آنزیم ۲

۱-۱-۲ تاریخچه آنزیم ۲

۱-۱-۳ طبقه‌بندی آنزیم‌ها بر اساس کمیته آنزیمولوژی ۳

۱-۱-٤ تقسیم‌بندی آنزیم‌ها ٤

۱-۲ اهمیت تعیین زمان عبور غذا در دستگاه گوارش ماهیان ۷

۱-۲-۱ روش‌های اندازه گیری زمان انتقال غذا ۸

۱-۳ ضرورت انجام تحقیق ۸

۱-٤ فرضیه‌ها ۱۰

۱-۵ اهداف ۱۰

فصل دوم: مروری بر منابع

۲-۱ مطالعات انجام شده در خصوص فعالیت آنزیم‌های گوارشی ۱۲

۲-۱-۱ سابقه تحقیق در ایران ۱۲

۲-۱-۲ سابقه تحقیق در سایر کشورها ۱۲

۲-۲ مطالعات انجام شده در خصوص زمان عبور غذا ۱۷

۲-۲-۱ سابقه تحقیق در ایران ۱۷

۲-۲-۲ سابقه تحقیق در سایر کشورها ۱۷

۲-۳ مطالعات انجام شده در خصوص فعالیت آنزیم های گوارشی پس از غذادهی ۱۸

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱ تهیه ماهی و سازگاری به شرایط آزمایشگاهی ۲۲

۳-۲ طرح و مدیریت آزمایش ۲۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۳ نمونه‌برداری ۲۲
۳-٤ آماده‌سازی نمونه‌ها ۲۳
۳-۵ سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی ۲٤
۳-۵-۱ تعیین فعالیت آنزیم تریپسین (EC ۳. ٤. ۲۱. ٤) ۲٤
۳-۵-۲ تعیین فعالیت آنزیم کیموتریپسین (EC ۳. ٤. ۲۱. ۱) ۲٦
۳-۵-۳ تعیین فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز (EC ۳. ۲. ۱. ۱) ۲۷
۳-۵-٤ تعیین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی (EC ۳. ۱. ۳. ۱) ۲۹
۳-۵-۵ تعیین پروتئین محلول ۳۰
۳-٦ روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها ۳۲

فصل چهارم: نتایج

٤-۱ سنجش زمان عبور غذا ۳٤
٤-۲ فعالیت آنزیم‌های گوارشی ۳٦
٤-۲-۱ فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین ۳٦
٤-۲-۲ فعالیت اختصاصی آنزیم کیموتریپسین ۳۷
٤-۲-۳ فعالیت اختصاصی آنزیم آمیلاز ۳۹
٤-۲-٤ فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی ٤۰
٤-۳ پروتئین محلول بافت روده ٤۱

فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری

۵- شوری ٤٤
۵-۱ تاثیر شوری روی فعالیت آنزیم های گوارشی ٤٦
۵-۲ فعالیت پروتئین محلول ٤۸
۵-۳ فعالیت آنزیم های گوارشی پس از غذادهی ٤۹

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۵-٤ زمان عبور غذا ۵۰
۵-۵ نتیجه گیری کلی ۵۱
۵-٦ پیشنهادات پژوهشی ۵۲

منابع ۵٤

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ٤-١ آنالیز واریانس نسبت طول کل روده به وجود غذا در ابتدا و انتها روده ٣٤
جدول ٤-٢ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم تریپسین (میلی واحد بر میلی‌گرم پروتئین)..... ٣٦
جدول ٤-٣ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم کیموتریپسین (میلی واحد بر میلی‌گرم پروتئین) ٣٨
جدول ٤-٤ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز (میلی واحد بر میلی‌گرم پروتئین) ٣٩
جدول ٤-٥ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی (میلی واحد بر میلی‌گرم پروتئین)..... ٤٠

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۳-۱ نمودار منحنی استاندارد پروتئین محلول ۳۱
شکل ٤-۱ نمودار مکان نسبی غذا در روده در شوری‌های مختلف پس از غذادهی ۳۵
شکل ٤-۲ نمودار درصد عبور ابتدای غذا در شوری‌های مختلف پس از غذادهی ۳۵
شکل ٤-۳ نمودار درصد عبور انتهای غذا در شوری‌های مختلف پس از غذادهی ۳٦
شکل ٤-٤ نمودار تغییر فعالیت اختصاصی تریپسین در شوری‌های مختلف در طی ساعات پس از غذادهی.... ۳۷
شکل ٤-۵ نمودار تغییر فعالیت اختصاصی کیموتریپسین در شوری‌های مختلف در طی ساعات پس از غذادهی ۳۸
شکل ٤-٦ نمودار تغییر فعالیت اختصاصی آلفا آمیلاز در شوری‌های مختلف در طی ساعات پس از غذادهی..... ٤۰
شکل ٤-۷ نمودار تغییر فعالیت اختصاصی فسفاتاز قلیایی در شوری‌های مختلف طی ساعات پس از غذادهی ٤۱
شکل ٤-۸ نمودار تغییر پروتئین محلول در معرض شوری‌های مختلف در طی ساعات پس از غذادهی..... ٤۲

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱ کلیات

۱-۱-۱ آنزیم

موجودات زنده به واسطه انجام انواع گوناگون واکنش‌های بیوشیمیایی توانایی حیات را کسب نموده‌اند که تقریباً همگی آنها به وسیله دسته‌ای از مواد زیستی به نام آنزیم صورت می‌گیرند. از مهم‌ترین خصوصیاتی که عملکرد آنزیم‌ها دارند توان کاتالیتیکی بالا آنها است. (پرویز شهبازی و ناصر ملک‌نیا، ۱۳۵۹).

سرعت واکنش‌های آنزیمی به عواملی مانند: درجه حرارت، pH، غلظت سوبسترا و غلظت آنزیم بستگی دارد. آنزیم‌ها در درجه حرارت پایین فعالیت چندانی ندارند ولی, با افزایش درجه حرارت فعال‌تر می‌شوند تا این‌که در درجه حرارات معینی (درجه حرارت بهینه) حداکثر فعالیت را از خود نشان می‌دهند. در درجه حرارت‌های بالاتر از درجه حرارت بهینه به علت بهم ریختن ساختمان خود فعالیت خود را از دست می‌دهند و دیگر فعال نمی‌شوند. pH نیز در فعالیت آنزیمی اثر گذار است به‌طوری‌که بعضی از آنزیم‌ها در pH اسیدی و بعضی دیگر در pH قلیایی دارای حداکثر فعالیت هستند (زمانی، ۱۳۸۱). غلظت سوبسترا نیز در فعالیت آنزیم تاثیرگذار است به‌طوری‌که اگر غلظت آنزیم را ثابت نگه داشته و غلظت سوبسترا را افزایش دهیم سرعت واکنش آنزیمی افزایش می‌یابد تا حدی که تمام آنزیم موجود در محیط در ترکیب با سوبسترا قرار گیرد. از این موقع به بعد افزایش غلظت سوبسترا در سرعت واکنش تاثیری ندارد و واکنش در حداکثر سرعت خود یکسان جریان پیدا می‌کند (زمانی، ۱۳۸۱).

۱-۱-۲ تاریخچه آنزیم

کشف آنزیم‌ها در واقع به پژوهش‌های وسیع پاپن[1] وابسته بود. پاپن در سال ۱۸۳۳ از جو سبز شده ترکیبی به نام مالت را استخراج کرد که نشاسته را به قند تبدیل می‌ساخت و این ترکیب را دیاستاز نامیدند که اکنون به آن آمیلاز می‌گویند. چند سال بعد از شیره معده فردی که رژیم غذایی او پروتئین بود، ماده‌ای جدا کردند و آن را پپسین نامیدند. این ترکیبات را تحت نام کلی مخمر می‌نامیدند. لیبیگ[2]

1- Papen
2- Liebig

در آن موقع اظهار داشت که این مخمرها می‌توانند مواد غیر زنده‌ای باشند که از سلول‌های زنده به دست می‌آیند درحالی‌که پاستور[1] و دیگران هنوز بر این باور بودند که مخمرها بایستی حاوی مواد زنده باشند.

با وجود این اختلاف نظرها، کوهن[2] در سال ۱۸۷۸ از کلمه یونانی enzume (به معنی در مخمر) استفاده کرد و نام آنزیم (enzyme) را پیشنهاد نمود. بوخنر[3] در سال ۱۸۹۷ نشان داد که وقتی عصاره یک سلول مخمر (بدون حضور سلول زنده) به قند اضافه شود، تخمیر قند صورت می‌گیرد. در سال ۱۹۲٦ سامنر[4] آنزیم اوره آز را از عصاره لوبیا خالص کرد و آن را کریستاله نمود. در دهه ۱۹۳۰ جان نورتروپ[5] پپسین، تریپسین و کیموتریپسین را کریستالوگرافی نمود (پرویز شهبازی و ناصر ملک نیا، ۱۳۵۹).

۱-۱-۳ طبقه‌بندی آنزیم‌ها بر اساس کمیته آنزیمولوژی

کمیته آنزیمولوژی، آنزیم‌ها را به شش طبقه تقسیم کرد و برای هر طبقه یک شماره گذاشت (پرویز شهبازی و ناصر ملک‌نیا، ۱۳۵۹).

۱- اکسیدوردوکتازها[6]: این آنزیم‌ها در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا دخالت دارند.

۲- ترانسفرازها[7]: انتقال یک اتم یا یک گروه را بین دو مولکول انجام می‌دهند.

۳- هیدرولازها[8]: این آنزیم‌ها در واکنش‌های هیدرولیز دخالت دارند.

٤- لیازها[9]: خارج کردن یک گروه از سوبسترا (به شرطی که به طریق هیدرولیز نباشد) را انجام می‌دهند.

۵- ایزومرآزها[10]: در واکنش‌های ایزومریزاسیون دخالت دارند.

1- Pasterr
2- Kuhne
3- Buchner
4- Sumner
5- Northrop
6- Oxidoreductase
7- Transferase
8- Hydrolase
9- Lyase
10- Isomerase

٦- لیگازها[1]: اتصال دو مولکول با استفاده از شکستن پیوند فسفات یا پیروفسفات در نوکلئوزیدتری فسفات را انجام می‌دهند.

برای هر آنزیم یک نام (E.C. name) و یک عدد (E.C. number) تعیین شده است. در اینجا E.C. مخفف Enzyme Commission می‌باشد. مثلا اگر عدد آنزیمی چنین بود EC ٣. ٤. ٢١. ٤ عدد اول نشان‌دهنده طبقه (در بالا ذکر شد)، عدد دوم نشان‌دهنده گروه (یعنی آن طبقه به چند گروه تقسیم می‌شود)، عدد سوم زیرگروه و عدد چهارم مشخص کننده نوع واکنش است.

١-١-٤ تقسیم‌بندی آنزیم‌ها

آنزیم‌ها را براساس تعداد زنجیره‌های پلی‌پپتیدی به صورت زیر تقسیم بندی کرده‌اند (پرویز شهبازی و ناصر ملک نیا، ١٣٥٩).

١-١-٤-١ آنزیم‌های مونومریک

پروتئین‌هایی هستند که تنها از یک زنجیر پلی پپتیدی ساخته شده‌اند، بنابراین آنها را نمی‌توان به واحدهای کوچک‌تر تفکیک نمود. تعداد کمی از آنزیم‌های مونومر شناخته شده‌اند و تمام آنها نیز در واکنش های هیدرولیز دخالت دارند. شماری از آنزیم‌های مونومر، پروتئازها هستند، به عبارت دیگر عمل آنها هیدرولیز پیوندهای پپتیدی در پروتئین‌های دیگر است. برای این که از عمل آنها جهت آسیب رساندن به پروتئین‌ها و آنزیم‌های دیگر جلوگیری شود، اغلب به صورت غیرفعال سنتز می‌شوند. وقتی آنزیمی غیر فعال باشد به آن پروآنزیم[2] یا زیموژن[3] گویند. این آنزیم‌های غیر فعال هنگامی که لازم باشد فعال می‌گردند.

١-١-٤-١-١ آنزیم‌های مونومریک پروتئازی

سرین پروتئازها: مثل کیموتریپسین، تریپسین، الاستاز.

اسید پروتئازها: پپسین.

1- Ligase
2- proenzyme
3- zymogen

کربوکسی پپتیداز: کربوکسی پپتیداز A، کربوکسی پپتیداز .B

۱-۱-٤-۱-۲ آنزیم‌های مونومریک غیر پروتئازی

لیزوزیم و ریبو نوکلئاز.

۱-۱-٤-۲ آنزیم‌های الیگومر

لاکتات دهیدروژناز، آنزیم‌های مرحله گلیکولیز، لاکتوز سنتتاز، تریپتوفان سنتتاز، کمپلکس پیروات دهیدروژناز.

بیش‌ترین هضم آنزیمی مواد غذایی در روده رخ می‌دهد. این آنزیم‌ها ممکن است توسط غده پانکراس یا سلول‌های ترشحی دیواره روده ترشح شوند. آنزیم‌های گوارشی همچنین به وسیله میکروفلور روده نیز ترشح می‌شوند. این آنزیم‌ها نقش مهمی در تجزیه مواد غذایی و تبدیل آن به مواد قابل جذب توسط سلول دارند. آنزیم‌های مورد بررسی در این تحقیق شامل تریپسین، کیموتریپسین، آلفاآمیلاز و فسفاتاز قلیایی می‌باشند که از آنزیم‌های روده‌ای مهم بوده و نقش مهمی در فرایند گوارش بر عهده دارند (جوبلینگ[1]، ۱۹۹۵).

- تریپسین[2]: این آنزیم مهم‌ترین آنزیم پروتئاز روده‌ای بوده که وظیفه هضم پروتئین و تبدیل آن به پپتیدها را بر عهده دارد. تریپسین یک آنزیم آندوپپتیداز است یعنی بر روی اتصالات پپتیدی موجود در داخل زنجیره پروتئینی اثر گذاشته و مولکول پروتئینی بزرگ را به پپتیدهای کوچک تبدیل می‌کند. این آنزیم اتصالات پپتیدی را از سمت گروه آمینی در جایی که اسیدآمینه لیزین و آرژینین قرار دارد را می‌شکند. این آنزیم ابتدا به‌صورت غیرفعال (تریپسینوژن) در پانکراس تولید شده و بعد از ورود به روده توسط آنزیم آنتروکیناز که توسط سلول‌های جدار روده تولید می‌شود در pH قلیایی به شکل فعال یعنی تریپسین تبدیل می‌شود. تریپسین در عصاره پانکراس بعضی از ماهیان الاسموبرانش مثل *Mustelus cartarias*، *Littoralis sp*، *Squalus sp* وجود دارد. تریپسین توسط قسمت برون ریز پانکراس ترشح می‌شود و ممکن است در یک اندام متراکم تجمع یافته باشد مانند ماهی ماکرل یا

1- Gobling
2- Trypsin

به‌طور پیچیده‌ای در غشای مزنتریک اطراف روده و کبد قرار گرفته باشد. این آنزیم همچنین توسط هپاتوپانکراس نیز ترشح می‌شود (جوبلینگ، ۱۹۹۵؛ کومار و تمبر[1]، ۱۹۹۸).

- کیموتریپسین[2]: این آنزیم از دیگر آنزیم‌های پروتئولیتیک روده‌ای بوده که به شکل غیرفعال کیموتریپسینوژن در پانکراس تولید شده و سپس در روده در pH قلیایی توسط آنزیم آنتروکیناز به شکل فعال یعنی کیموتریپسین تبدیل می‌شود. کیموتریپسین مانند تریپسین یک آندوپپتیداز است ولی با این تفاوت که اتصالات پپتیدی را در جایی‌که اسیدآمینه‌های آروماتیک (تیروزین، فنیل‌آلانین و تریپتوفان) یا هیدروفوبیک (مانند متیونین، گلوتامین، آسپاراژین و لوسین) باشد را می‌شکند (جوبلینگ، ۱۹۹۵).

- آلفا-آمیلاز[3] : این آنزیم از دسته آنزیم‌های آمیلولیتیک است که بر روی کربوهیدرات‌ها اثر گذاشته و اتصالات ٤و١-α را می‌شکند. آمیلاز منجر به تولید مالتوز می‌شود. آلفا-آمیلاز نیز مانند تریپسین و کیموتریپسین از پانکراس ترشح و در روده عمل می‌کند. تحقیقات بر روی آنزیم‌های کربوهیدراتیک در ماهیان عمدتا به شناسایی آنزیم‌های آمیلولیتیک محدود شده است. در تیلاپیا که یک ماهی گیاهخوار است فعالیت آلفا-آمیلاز از سراسر لوله گوارش گزارش شده است. در ماهیان گیاهخوار پانکراس منبع اصلی تولید آلفا- آمیلاز است هرچند که موکوس و ضمائم روده‌ای هم می‌توانند در تولید آن موثر باشند, ولی در ماهیان گوشتخوار تنها منبع تولید آلفا-آمیلاز پانکراس است (جوبلینگ، ۱۹۹۵؛ کومار و تمبر، ۱۹۹۸).

- فسفاتاز قلیایی[4] (Alkaline Phosphatase): این آنزیم در هیدرولیز و سنتز استرهای اسید فسفریک و انتقال گروه‌های فسفات از اسید فسفریک به سایر ترکیبات در pH قلیایی نقش دارد و آنرا تسریع می‌نماید و نقش مهمی در فرایند معدنی‌سازی اسکلت حیوانات آبزی و رشدونمو موجودات زنده بر عهده داشته و در فرایند متابولیسمی مختلف به ویژه در رشد و تشکیل استخوان نقش دارد (سنجر[5] و همکاران، ۱۹۹۵). فعالیت این آنزیم برای نخستین بار در سلول‌های داخلی بافت پوششی دستگاه

1- Kumar&Tembre
2- Chymotrypsin
3- Amylase
4- Alkaline Phosphatase
5- Senger

گوارش لارو*Oryzias latipes* (آیکدا[1]، ۱۹۵۹) و در قزل آلای رنگین کمان (پاراکاش[2]، ۱۹٦۱) در ۳۵-٤٥ روز بعد از لقاح مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱-۲ اهمیت تعیین زمان عبور غذا در دستگاه گوارش ماهیان

سرعت گوارش[3]: سرعت پر و خالی شدن دستگاه گوارش از پارامترهای مهم می‌باشد که برای کمیت دادن به گوارش غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد. به فاصله زمانی بین بلع و اولین تشخیص، زمان انتقال غذا در دستگاه گوارش و به زمان لازم برای خارج شدن کل غذای گوارش زمان تخلیه دستگاه گوارش می‌گویند. تفاوت بین زمان تخلیه و زمان انتقال، زمان نگهداری نامیده می‌شود (احتشامی، ۱۳۸٦).

زمان انتقال غذا در روده روی تبدیل موادغذایی (آزازا[4] و همکاران، ۲۰۱۰) و بهره‌وری پروتئین اثرگذار می‌باشد (یوسانگ[5] و همکاران، ۲۰۱۰). این شاخص در روده ماهی وابسته به تعدادی از عوامل شامل گونه، اندازه، سن ماهی، دمای آب، کیفیت غذا، اندازه غذا و تکرار غذادهی می‌باشد (استورباکن[6] و همکاران، ۱۹۹۹؛ بویس[7] و همکاران، ۲۰۰۰؛ تیمینگ و هرمن[8]، ۲۰۰۱ و ونسچل و ورنر[9]، ۲۰۰٤). زمان انتقال غذا در روده یک عامل مهم برای مدل‌سازی جذب و مصرف غذای روزانه است. به عنوان مثال این شاخص (زمان انتقال غذا) مسئول کنترل اشتهای ماهی می‌باشد، هم‌چنین در گونه‌های ماهیان تجاری برای اهداف آبزی‌پروری جهت برآورد مقدار ماده‌غذایی مصرف شده برای اهداف مدیریتی مهم است (وینیگر[10] و همکاران، ۲۰۰۷). تخلیه دستگاه گوارش نشان‌دهنده زمان مورد نیاز برای هضم غذا است و معمولاً تحت تأثیر یکسری از عوامل مانند گونه ماهی و شرایط فیزیولوژی آن، ترکیبات فیزیکی- شیمیایی رژیم غذایی (آدامیدوس[11] و همکاران، ۲۰۰۹) و دما و شوری (وینیگرو همکاران، ۲۰۰۷) می‌باشد.

1- Ikeda
2- Parakash
3- Ingestion rate
4- Azaza
5- Uscanga
6- Storebakken
7- Boyce
8- Temming & Herrmann
9- Wuenschel & Werner
10- Vinagre
11- Adamidou

۱-۲-۱ روش‌های اندازه‌گیری زمان انتقال غذا

کشتن ماهیان[1]: ماهی‌ها با مقدار مشخصی از غذای تغذیه شده در زمان معینی کشته و میزان غذای باقیمانده در معده تخمین زده می‌شود. این مقدار می‌تواند به صورت درصدی از حجم، وزن (خشک یا تر)، وزن خشک بدون خاکستر و میزان انرژی مقدار غذای بلعیده شده باشد.

عکس‌برداری به روش اشعه X[2]: متداول‌ترین راه در این روش وارد کردن یک ماده نشاندار مانند P۳۲، Cel٤٤ به غذا و محاسبه زمان عبور آن از دستگاه گوارش می‌باشد. غذاهای حاوی باریم نیز همچنین متداول می‌باشد.

استفاده از رنگ‌ها: در این روش رنگ‌هایی به غذا وارد می‌شود و زمانی که این رنگ‌ها برای اولین بار در مدفوع دیده می‌شوند محاسبه می‌گردد.

مشاهده مستقیم[3]: این روش در مراحل لاروی قابل استفاده می‌باشد زیرا که دستگاه گوارش و محتویات آن از درون روده لاروهای شفاف قابل مشاهده است (احتشامی، ۱۳۸۹).

۱-۳ ضرورت انجام تحقیق

زیستگاه اصلی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) مربوط به سواحل جنوبی دریای خزر به خصوص سواحل ایران می‌باشد. این ماهی ارزش اکولوژیکی بالایی برای اکوسیستم دریای خزر و هم‌چنین ارزش ژنی مطلوب جهت حفظ ژنتیک درون جمعیت را دارا است. با توجه به اینکه خط ساحلی در جنوب دریای خزر به بیش از ۹۰۰ کیلومتر می‌رسد، از این رو ارزش اقتصادی این ماهی در صنعت ماهیگیری از اهمیت بالایی برخوردار است. باتوجه به نامساعد شدن شرایط اکولوژیکی ناشی از ورود پساب‌های شهری و صنعتی به منابع آبهای جاری خصوصا رودخانه‌ها، تخریب بستر رودخانه‌ها، عدم امنیت مهاجرت، صید بی‌رویه و کاهش دبی آب در بعضی از فصول سال جهت رهاسازی بچه ماهیان سفید مشکلاتی را در حال و آینده به‌وجود خواهد آورد و هم چنین، به دلیل این‌که بسیاری از زیستگاه‌های طبیعی این ماهی تنها از طریق طبیعی نمی‌تواند بازسازی گردد، در نتیجه تولیدو پرورش مصنوعی آن ضروری است (آذری تاکامی و همکاران، ۱۳٦۹). لذا بدست آوردن میزان

1- Fish kill
2- X-ray imaging method
3- Direct observation