دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دانشکده شیلات و محیط زیست
پایان‌نامه کارشناسی ارشد

تاثیر گرسنگی و غذادهی مجدد بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی (تریپسین، کیموتریپسین، آلفا- آمیلاز و فسفاتاز قلیایی) ماهی کلمه، *Rutilus rutilus*

نگارش

مرضیه ابوالفتحی

استاد راهنما

دکتر عبدالمجید حاجی مرادلو

زمستان ۱۳۸۹

بسم الله الرحمن الرحيم

تقدیم به آنان که بر صحنه زندگی‌ام

همواره عشق باریده‌اند

صاحبان برترین مقام، پدر و مادر عزیزم

و

برادر و خواهر مهربانم

تشکر و قدردانی

گذراندن مراحل اجرایی و تدوین این پایان نامه 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 تمامی کسانی که در مراحل مختلف این پژوهش مرا یاری نموده اند تقدیم دارم.

سپاس ویژه خود را تقدیم می نمایم به خانواده ارجمندم که همواره چراغ وجودشان روشنگر راهم بوده است. امتنان و سپاس قلبی خود را به استاد راهنمای گرامی جناب آقای دکتر عبدالمجید حاجی مرادلو تقدیم می کنم که در تمامی لحظات اجرای پایان نامه مرا بین محبت ها و راهنمایی های خویش ساخته اند.

از جناب آقای دکتر قربانی و جناب آقای مهندس زمانی که مسئولیت مشاوره این پایان نامه را به عهده داشتند و با راهنمایی های ارزنده شان در تمام مراحل انجام این تحقیق مرا یاری نموده اند بسیار سپاسگزارم

از جناب آقای دکتر جعفری و جناب آقای دکتر ایمانپور که با کمال لطف زحمت باز خوانی و داوری این پایان نامه را به عهده گرفتند، بی نهایت متشکرم

از جناب آقای دکتر وارسته نماینده محترم تحصیلات تکمیلی کمال قدردانی و سپاس را دارم

از جناب آقای مهندس چمنی، مهندس ملایی، مهندس نعیمی و مهندس جافر به جهت همکاری صمیمانه شان کمال تشکر را دارم

از مسئول محترم حراست جناب آقای مومن به جهت همکاری بی دریغشان سپاسگزارم

بی کرانه ترین سپاس ها را تقدیم می کنم به دوستان خوبم سرکار خانم پاکروان فر و خانم مهرآور به پاس محبت های بی دریغشان

با سپاس فراوان از خانم اعتمادیان، هم اتاقی های خوبم و آقایان اصغری و کبیر که در مراحل انجام کار یاریم نموده اند.

یادم می ماند که به پاس لحظات ارزشمندی که متعلق به خودشان بود و از من دریغ نورزیدند مدیونشان بمانم و همواره روزهایی سرشار از موفقیت و سربلندی را برایشان آرزومندم.

چکیده

سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مطلوب جهت ارزیابی فرایند گوارش و شرایط تغذیه موجود استفاده شود. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر دوره‌های مختلف گرسنگی، بر رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه‌ماهی کلمه، ***Rutilus rutilus*** در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد بود. بدین منظور ۴ تیمار (میانگین وزن هر ماهی ۰/۱۲۳ ± ۱/۶۸ گرم) در نظر گرفته شد. در تیمار اول (گروه شاهد) ماهیان دو بار در روز، تا حد سیری با غذای تجاری SFK تا پایان دوره آزمایش تغذیه شدند. تیمارهای دوم، سوم و چهارم، به‌ترتیب یک، دو و سه هفته محرومیت غذایی داشتند. سپس در طی دوره غذادهی مجدد تا حد سیری تغذیه شدند. نتایج نشان داد که فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین در تمام تیمارها، در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). فعالیت اختصاصی آنزیم کیموتریپسین نیز در تیمار یک و دو تغییر معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). اما سطح فعالیت آن در تیمار سه، حتی پس از چهار هفته غذادهی مجدد به سطح اولیه نرسید. فعالیت آلفا- آمیلاز در هر سه تیمار در اثر گرسنگی کاهش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). اما در طی دوره غذادهی مجدد، فعالیت آنزیم افزایش یافت و به میزان اولیه رسید (به جز تیمار سه). فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تیمار سه، تحت تاثیر گرسنگی قرار نگرفت. اما در تیمار یک و دو بعد از غذادهی مجدد، میزان فعالیت آنزیم به بیش از مقدار اولیه رسید. ساختار روده نیز تحت تاثیر گرسنگی قرار گرفت. اما طول دوره گرسنگی تاثیر معنی‌داری بر سرعت رشد ویژه، میانگین وزن بدن و بقا در طی دوره غذادهی مجدد نداشت و هر سه تیمار رشد جبرانی کامل را نشان دادند. بنابراین می‌توان گفت، سیستم گوارشی ماهی کلمه بسیار انعطاف‌پذیر می‌باشد و قادر به حفظ ظرفیت گوارشی حتی در دوره‌های پیشرفته گرسنگی و برگشت نسبتاً سریع این ظرفیت پس از گرسنگی می‌باشد .

کلمات کلیدی: ماهی کلمه، آنزیم‌های گوارشی، گرسنگی، رشد جبرانی

فهرست

عنوان **صفحه**

فصل اول

مقدمه..... ۱

۱-۱ کلیات..... ۲

۱-۲ فرضیات..... ۹

۱-۳ اهداف..... ۹

فصل دوم

بررسی منابع..... ۱۰

۲-۱ مطالعه آنزیم‌های گوارشی در مراحل لاروی..... ۱۱

۲-۱-۱ تحقیقات داخل کشور..... ۱۱

۲-۱-۲ تحقیقات خارج از کشور..... ۱۱

۲-۲ مطالعه آنزیم‌های گوارشی بعد از مرحله لاروی..... ۱۳

۲-۲-۱ تحقیقات داخل کشور..... ۱۳

۲-۲-۲ تحقیقات خارج از کشور..... ۱۴

۲-۳ رشد جبرانی..... ۱۶

۲-۳-۱ تحقیقات داخل کشور..... ۱۶

۲-۳-۲ تحقیقات خارج از کشور..... ۱۷

فصل سوم

مواد و روش‌ها..... ۱۹

۳-۱ تهیه ماهی و سازگاری به شرایط آزمایشگاهی..... ۲۰

۳-۲ طرح و مدیریت آزمایش..... ۲۰

۳-۳ نمونه‌برداری..... ۲۱

۳-۴ آماده‌سازی نمونه‌ها..... ۲۲
۳-۵ سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی..... ۲۲
۳-۵-۱ سنجش فعالیت آنزیم تریپسین..... ۲۳
۳-۵-۲ سنجش فعالیت آنزیم کیموتریپسین..... ۲۴
۳-۵-۳ سنجش فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز..... ۲۶
۳-۵-۴ سنجش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی..... ۲۸
۳-۵-۵ سنجش پروتئین محلول..... ۳۰
۳-۶ روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها..... ۳۲

فصل چهارم

نتایج..... ۳۳
۴-۱ بقا..... ۳۴
۴-۲ رشد..... ۳۴
۴-۳ فعالیت آنزیم‌های گوارشی..... ۳۵
۴-۳-۱ فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین..... ۳۵
۴-۳-۲ فعالیت کلی آنزیم تریپسین..... ۳۶
۴-۳-۳ روند فعالیت آنزیم تریپسین در طی دوره‌های مختلف گرسنگی..... ۳۷
۴-۳-۴ فعالیت اختصاصی آنزیم آلفا- آمیلاز..... ۳۸
۴-۳-۵ فعالیت کلی آنزیم آلفا- آمیلاز..... ۴۰
۴-۳-۶ روند فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز در طی دوره‌های مختلف گرسنگی..... ۴۱
۴-۳-۷ فعالیت اختصاصی آنزیم کیموتریپسین..... ۴۲
۴-۳-۸ فعالیت کلی آنزیم کیموتریپسین..... ۴۴
۴-۳-۹ روند فعالیت آنزیم کیموتریپسین در طی دوره‌های مختلف گرسنگی..... ۴۵
۴-۳-۱۰ فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی..... ۴۶
۴-۳-۱۱ فعالیت کلی آنزیم فسفاتاز قلیایی..... ۴۸
۴-۳-۱۲ روند فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در طی دوره‌های مختلف گرسنگی..... ۴۹

۴-۳-۱۳ پروتئین محلول بافت روده..... ۵۰
۴-۳-۱۴ مقایسه میزان فعالیت اختصاصی آنزیم‌های گوارشی..... ۵۱
۴-۳-۱۵ تغییر ساختار روده..... ۵۲

فصل پنجم

بحث..... ۵۴
۵-۱ بقا..... ۵۵
۵-۲ سرعت رشد ویژه..... ۵۶
۵-۳ رشد جبرانی..... ۵۷
۵-۴ فعالیت آنزیم‌های گوارشی..... ۶۲
۵-۴-۱ پروتئین محلول بافت روده..... ۶۳
۵-۴-۲ فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین و کیموتریپسین..... ۶۵
۵-۴-۳ فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی..... ۶۷
۵-۴-۴ فعالیت اختصاصی آنزیم آلفا- آمیلاز..... ۶۸
۵-۴-۵ فعالیت کلی آنزیم‌های گوارشی ماهی کلمه..... ۶۹
۵-۴-۶ مقایسه میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کلمه..... ۷۰
۵-۵ نتیجه‌گیری کلی..... ۷۱
۵-۶ پیشنهادات پژوهشی..... ۷۲
۵-۷ پیشنهادات اجرایی..... ۷۲

منابع..... ۷۳

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

۳-۱ ترکیب تقریبی جیره آزمایشی SFK *بر اساس درصد*..... ۲۰
۳-۲ مدل اجرای تحقیق..... ۲۱
۳-۳ منحنی استاندارد پارا- نیتروفنل..... ۲۹
۴-۱ میانگین وزن بدن، سرعت رشد ویژه و بقا تیمارهای مختلف در ارتباط با دوره گرسنگی..... ۳۴
۴-۲ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم تریپسین (میلی واحد بر میلی‌گرم پروتئین محلول)..... ۳۵
۴-۳ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم تریپسین (میلی واحد بر میلی‌گرم وزن تر بافت)..... ۳۶
۴-۴ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین محلول)..... ۳۸
۴-۵ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز (میلی واحد بر میلی‌گرم وزن تر بافت)..... ۴۰
۴-۶ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم کیموتریپسین (واحد بر میلی‌گرم پروتئین محلول)..... ۴۲
۴-۷ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم کیموتریپسین (میلی واحد بر میلی‌گرم وزن تر بافت)..... ۴۴
۴-۸ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی (واحد بر میلی‌گرم پروتئین محلول)..... ۴۶
۴-۹ آنالیز واریانس فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی (میلی واحد بر میلی‌گرم وزن تر بافت)..... ۴۸
۴-۱۰ میانگین طول و عرض چین‌خوردگی‌های لایه مخاطی روده (میکرون)..... ۵۳

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

۳-۱ نمودار منحنی استاندارد پروتئین محلول..... ۳۲
۴-۱ نمودار تغییرفعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد..... ۳۶
۴-۲ نمودار تغییر فعالیت کلی آنزیم تریپسین در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد..... ۳۷
۴-۳ نمودار روند فعالیت آنزیم تریپسین در طی دوره‌های مختلف گرسنگی..... ۳۸
۴-۴ نمودار تغییر فعالیت اختصاصی آنزیم آلفا- آمیلاز در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد..... ۳۹
۴-۵ نمودار تغییر فعالیت کلی آنزیم آلفا- آمیلاز در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد..... ۴۱
۴-۶ نمودار روند فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز در طی دوره‌های مختلف گرسنگی ۴۲
۴-۷ نمودار تغییر فعالیت اختصاصی آنزیم کیموتریپسین در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد..... ۴۳
۴-۸ نمودار تغییر فعالیت کلی آنزیم کیموتریپسین در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد..... ۴۵
۴-۹ نمودار روند فعالیت آنزیم کیموتریپسین در طی دوره‌های مختلف گرسنگی..... ۴۶
۴-۱۰ نمودار تغییر فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد..... ۴۷
۴-۱۱ نمودار تغییر فعالیت کلی آنزیم فسفاتاز قلیایی در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد..... ۴۹
۴-۱۲ نمودار روند فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در طی دوره‌های مختلف گرسنگی..... ۵۰
۴-۱۳ نمودار تغییر پروتئین محلول بافت روده در طی دوره گرسنگی و غذادهی مجدد..... ۵۱
۴-۱۴ نمودار مقایسه میزان فعالیت اختصاصی آنزیم‌های گوارشی..... ۵۲

فهرست روابط

عنوان **صفحه**

۳-۱ سرعت رشد ویژه..... ۲۱
۳-۲ فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین..... ۲۴
۳-۳ فعالیت کلی آنزیم تریپسین..... ۲۴
۳-۴ فعالیت اختصاصی کیموتریپسین..... ۲۵
۳-۵ فعالیت کلی آنزیم کیموتریپسین..... ۲۵
۳-۶ فعالیت اختصاصی آنزیم آلفا- آمیلاز..... ۲۸
۳-۷ فعالیت کلی آنزیم آلفا- آمیلاز..... ۲۸
۳-۸ فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی..... ۳۰
۳-۹ فعالیت کلی آنزیم فسفاتاز قلیایی..... ۳۰

فصل اول

مقدمه

۱-۱ کلیات

ماهیان می‌توانند بر اساس عادات غذایی خود به چهار رده شناخته شده دتریت‌خوار، گیاه‌خوار، گوشت‌خوار و همه‌چیزخوار طبقه‌بندی شوند. در هر رده نیز می‌توانند یوری‌فاژ، استنوفاژ و یا مونوفاژ باشند. اغلب ماهی‌های مورد توجه برای اکوکالچر یوری‌فاژ می‌باشند (راست[۱]، ۲۰۰۲). هر چند ماهی تغییر متابولیسم و رفتار خود، تا حدودی قادر به تغییر رژیم غذایی، درپاسخ به نوع ماده غذایی در دسترس می‌باشد. مصرف غذا توسط ماهی به ترکیب غذا، زمان غذادهی، میزان غذا و فعالیت آنزیم-های گوارشی موجود در قسمت‌های مختلف سیستم گوارشی آنها بستگی دارد. بنابراین فعالیت آنزیم-های گوارشی و جذب غذای بلعیده شده تاثیر مهمی بر سرعت رشد دارد (هارپز[۲] و همکاران، ۲۰۰۵؛ چانگ[۳] و همکاران، ۲۰۰۲). از طرفی فعالیت آنزیم‌های گوارشی نیز تابع میزان انباشتگی روده، دما، شیمی آب، pH، سن ماهی و آنزیم‌های با منشا خارجی (آنزیم‌های موجود در غذای زنده) می-باشد(بیترلیچ[۴]، ۱۹۸۵).

گوارش، فرآیند کلیدی در متابولیسم موجودات می‌باشد. چون تعیین‌کننده مواد غذایی مورد نیاز تمام کارکردهای زیستی است. بنابراین مطالعه فیزیولوژی گوارش موضوع بسیار مهمی است چون بازدهی خالص تمام فرآیندهای گوارشی به میزان زیادی متکی به نوع و کارکرد آنزیم‌های گوارشی می‌باشد (گیزبرت[۵] و همکاران، ۲۰۰۹).

در ماهی‌ها فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تمام بخش‌های روده پراکنده است و به بخش خاصی اختصاص ندارد. اگر چه یک ناحیه خاص از روده ممکن است بالاترین فعالیت را برای یک آنزیم خاص نشان دهد. بسیاری از محققین این فقدان جایگاه ویژه فعالیت را، به سازگاری روده به غذاهای متنوعی که توسط ماهی در محیط طبیعی خورده می‌شود، نسبت می‌دهند (چاکرابارتی[۶] و همکاران، ۱۹۹۵). بنابراین می‌توان گفت که سیستم روده‌ای ماهی هنوز در مرحله تکاملی است و اغلب ناحیه‌ها

---

[1] - Rust
[2] - Harpaz
[3] - Chong
[4] - Bitterlich
[5] - Gisbert
[6] - Chakrabarti

قبل از تکامل جایگاه ویژه تولید آنزیم که در مهره‌داران رده بالاتر دیده می‌شود، قادر به تولید تمام آنزیم‌های اصلی می‌باشند (دگوآرا[1] و همکاران، ۲۰۰۳).

رشد و راندمان تغذیه در ماهی، به ظرفیت بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی آن‌ها برای گوارش و تبدیل مواد غذایی بلعیده شده، بستگی دارد. اما ترکیبی از فاکتورهای زیستی و غیرزیستی متعددی وجود دارد که می‌تواند وضعیت فیزیولوژیکی موجود و فرآیندهای مرتبط با گوارش، جذب و تبدیل این مواد غذایی را به‌شدت تحت تاثیر قرار دهد. توانایی ماهی برای مقابله با شرایط نامساعد، بسته به گونه می-تواند متفاوت باشد. بنابراین آگاهی از این ویژگی‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی می‌تواند به‌عنوان ابزاری مناسب برای به حداکثر رساندن پرورش ماهی باشد. مطالعه فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی به تعیین محدوده پروتئین و کربوهیدرات جیره کمک می‌کند. همچنین با استفاده ازسطوح آنزیم‌های گوارشی، می‌توان توانایی یک گونه را برای استفاده از مواد غذایی مختلف پیش‌بینی کرد (فارن[2] و همکاران، ۲۰۰۸). به‌عنوان مثال گونه‌های همه‌چیزخوار توانایی بالایی برای گوارش کربوهیدرات‌ها دارند. به‌طوری‌که فعالیت آمیلاز در سرتاسر سیستم گوارشی آن‌ها خصوصاً زوائد پیلوریک مشاهده می‌شود (پرزجیمنز[3] و همکاران، ۲۰۰۹).

آگاهی از عملکرد مکانیزم گوارش به تعیین بهترین ظرفیت گوارشی مواد غذایی کمک می‌کند. به-طور خلاصه مطالعه فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی می‌تواند بعضی از جنبه‌های فیزیولوژِی تغذیه ماهی را توضیح دهد و به حل مشکلات تغذیه‌ای ماهی از جمله تناسب یک جیره دستی و توانایی تغذیه ماهی کمک کند (فارن و همکاران، ۲۰۰۸). آنالیز فعالیت آنزیم‌های گوارشی یک روش ساده و مطمئن است که می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای فرآیند گوارش و شرایط تغذیه‌ای لارو استفاده شود (بولاسینا[4] و همکاران، ۲۰۰۶).

جدول ۱-۱ (پیوست) برخی از آنزیم‌های گوارشی ماهی را با شرح وظایف، مکان فعال‌سازی و بافت‌های تولیدکننده این آنزیم‌ها نشان می‌دهد. در این مطالعه آنزیم‌های تریپسین، کیموتریپسین، آلفا آمیلاز و فسفاتازقلیایی مورد سنجش قرار گرفتند.

---

[1] - Deguara
[2] - Furne
[3] - Perez-Jimenez
[4] - Bolasina

تریپسین

پروتئاز داخلی است که توسط آسینارهای لوزالمعدی به شکل غیرفعال (تریپسینوژن) ترشح می-شود و تنها پس از ورود به روده، توسط آنزیم اینتروکیناز در pH قلیایی فعال می‌شود (نیاورانی، ۱۳۸۴). تریپسین به‌طور ویژه‌ای پروتئین‌ها و پپتیدها را از محل گروه کربوکسیل آمینواسید آرژینین و لیزین هیدرولیز می‌کند و نقش مهمی را در فرآیندهای بیولوژیکی از جمله گوارش و فعال‌سازی زیموژن‌ها به عهده دارد (کلوملا[1] و همکاران، ۲۰۰۷). تریپسین و کیموتریپسین گوارش پروتئین‌ها را قبل از آغاز گوارش اسیدی (تکامل معده) امکان‌پذیر می‌نمایند. تریپسین، جایگاهی اساسی در کنترل فعالیت پانکراس دارد چون تنها پروتئاز پانکراسی است که می‌تواند پیش‌ماده خود را فعال کند(گیزبرت و همکاران، ۲۰۰۹).

بعضی از محققین معتقدند pH اپتیمم برای فعالیت آنزیم تریپسین بالاتر از آنزیم کیموتریپسین می باشد(هیدالگو[2] و همکاران، ۱۹۹۹).

تریپسین در بسیاری از ماهیان گرمابی و سردآبی گزارش شده است. از جمله طحال *Katsuwonus pelamis* و *Thunnus albacores*، زواید پیلوریک *Oncorhynchus tshawytscha* و *Colossoma macropomum*، روده *Oreochromis niloticus* و کل امعا و احشا *Sardinops melanostictus* و *Engraulis japonica* (کلوملا و همکاران، ۲۰۰۷). این آنزیم به‌عنوان یک شاخص مفید جهت وضعیت تغذیه‌ای موجود مورد تاکید قرار گرفته است. چون به‌طور مستقیم در ارتباط با متابولیسم پروتئین‌هاست ودر لارو ماهی نیز وجود دارد (بولاسینا وهمکاران، ۲۰۰۶؛ بولاسینا و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین به‌عنوان یک شاخص سرعت رشد و ضریب تبدیل غذایی در کاد شناخته شده است (بلانگر[3] و همکاران، ۲۰۰۲).

[1] - Klomklao
[2] - Hidalgo
[3] - Belanger

کیموتریپسین

کیموتریپسین نیز مانند تریپسین یک آنزیم آندوپپتیداز است ولی با این تفاوت که پیوندهای پپتیدی را از سمت گروه کربوکسیل آمینواسیدهای آروماتیک (مانند تیروزین، فنیل‌آلانین و تریپتوفان) و هیدروفوبیک (مانند متیونین) می‌شکند (نوراس[1]، ۱۹۸۹). پیش‌ساز غیرفعال این آنزیم نیز توسط سلول-های آسینار پانکراس سنتز شده و با ورود به روده توسط آنزیم تریپسین و در شرایط قلیایی (pH=۸) فعال می‌شود (کریم‌زاده و همکاران، ۱۳۸۰).

فسفاتاز قلیایی

فسفاتاز قلیایی توسط دستگاه گلژی سلول‌های جاذب تولید می‌شود سپس از آنجا به نوار مسواکی روده که جایگاه فعالیت آن است، انتقال می‌یابد (سازر[2] و همکاران، ۲۰۰۷). این آنزیم واکنش‌های هیدرولیزی ترکیبات فسفاتی مختلف (ترکیبات هگزوزفسفات، گلیسروفسفات و مشتقات نوکلئوتیدها) را در pH قلیایی کاتالیز می‌کند (کریم زاده و همکاران، ۱۳۸۰). فعالیت این آنزیم نخستین بار در سلول‌های داخلی بافت پوششی لارو *Oryzias latipes* (ایکدا[3]، ۱۹۵۹) و در قزل‌آلای رنگین کمان در ۴۵-۳۵ روز بعد از لقاح مورد ارزیابی قرار گرفت (پاراکاش[4]، ۱۹۶۱).

این آنزیم در مراحل ابتدایی لارو نیز وجود دارد. بنابراین وجود این آنزیم همراه با آنزیم‌های پانکراسی در مراحل ابتدایی، ممکن است لارو را قادر به گوارش و جذب مواد غذایی کیسه زرده و غذای زنده در طی تغذیه خارجی کند(آلوارز -گانزالز[5] و همکاران، ۲۰۰۶). فسفاتاز قلیایی در معدنی-شدن استخوان، فرآیند جذب غشایی و فرآیندهای انتقالی متفاوت از جمله انتقال فسفات و کلسیم روده و ایمنوگلوبین درونی جنین نیز شرکت می‌کند (آسگیرسون[6] و همکاران، ۱۹۹۵). وجود این آنزیم

[1]- Neurath
[2] - Suzer
[3] - Ikeda
[4] - Parakash
[5] - Alvarez-Gonzalez
[6] - Asgeirsson

در هر گونه‌ای نشان دهنده‌ی یک گام مهم در بلوغ روده‌ای می‌باشد که ممکن است در آمادگی موجود برای آغاز غذادهی خارجی مهم باشد (کوال[1] و همکاران، ۲۰۰۷).

آلفا- آمیلاز

از گروه آنزیم‌های آمیلولیتیک است که پیوندهای آلفا (۴←۱) نشاسته و گلیکوژن را تجزیه می‌کند، ولی تاثیری بر پیوندهای آلفا (۶←۱) ندارد. محصولات شامل، دی‌ساکارید و تری‌ساکاریدهای مالتوز و مالتوتریوز هستند (گروه مترجمین خانه زیست شناسی، ۱۳۸۴). مکان اصلی ترشح، پانکراس می-باشد. اما در بعضی گونه‌ها، مخاط روده و ضمائم پیلوریک یک مکان اضافی برای ترشح این آنزیم-هاست (ستاری، ۱۳۸۲). در ماهیان گیاه‌خوار و همه‌چیزخوار پانکراس منبع اصلی تولید آلفا- آمیلاز است. هر چند مخاط روده و ضمائم آن نیز می‌توانند در تولید آن موثر باشند. ولی در ماهیان گوشتخوار تنها منبع تولید آلفا- آمیلاز پانکراس می‌باشد (کومار[2] و تمبر[3]، ۱۹۹۸). فعالیت آمیلولیتیک با عادات غذایی ماهی در ارتباط می‌باشد. مطالعات مختلفی نشان داده است که فعالیت آمیلاز در ماهی‌های همه‌چیزخوار و گیاه‌خوار بیشتر از ماهی‌های گوشت‌خوار می‌باشد (فارن و همکاران، ۲۰۰۸).

رشد جبرانی

جانوران در محیط‌های طبیعی به‌طور غیرمنتظره‌ای در معرض شرایط نامساعد زیستی قرار می-گیرند، که این شرایط آن‌ها را مجبور به توقف فعالیت‌های مهمی از جمله رشد می‌نماید (بوجارد[4] و همکاران، ۲۰۰۰). مشخص شده است که با اعمال گرسنگی و افزایش شوری محیط از وزن‌توده دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلا کاسته می‌شود (ماکلود[5]، ۱۹۷۸). گرسنگی موقعیتی است که اغلب گونه-های ماهی در طبیعت با آن مواجه می‌شوند و به‌نظر می‌رسد اغلب ماهی‌ها آن را تحمل می-کنند(کراگدال[6] و همکاران، ۲۰۰۵). یکی از مهم‌ترین فاکتورهایی که در دوره لاروی موجب مرگ‌ومیر

[1] - Kvale
[2] - Kumar
[3] - Tembre
[4] - Boujard
[5] - Macleod
[6] - Krogdahl

بالا می‌شود گرسنگی است. بررسی وضعیت تغذیه‌ای لارو و بچه‌ماهی‌های پرورش‌یافته تحت دوره-های مختلف گرسنگی، می‌تواند به تعیین تاثیر محرومیت غذایی بر رشد ماهی و همچنین تعیین مدت زمانی که محرومیت غذایی، بقای لارو و بچه‌ماهی را تحت تاثیر قرار می‌دهد کمک کند (بولاسینا و همکاران، ۲۰۰۶). اندازه‌گیری‌های مورفومتریک نیز می‌تواند شاخصی برای تاثیر گرسنگی باشد. مثلاً کاهش ضخامت بدن لارو ماهی یا کاهش فاکتور وضعیت در اثر گرسنگی، که در چندین گونه دریایی و آب شیرین گزارش شده است. علاوه بر تغییرات مورفولوژیکی، تغییرات بافت‌شناسی ناشی از گرسنگی از جمله تغییر در بافت کبد و روده نیزگزارش شده است. تخریب سلولی اندام‌های گوارشی، بهترین شاخص برای وجود شرایط گرسنگی می‌باشد (تیلاکر[1]، ۱۹۷۸). در ماهیانی که در معرض محرومیت غذایی قرار گرفتند مشاهده شده که طول روده، چین‌خوردگی‌های لایه مخاطی روده، طول میکروویلی‌ها و فعالیت آنزیم‌های گوارشی کاهش یافته است (جرمان[2] و همکاران، ۲۰۱۰).

میزان در دسترس بودن غذا در محیط‌های آبی طبیعی بسیار متفاوت می‌باشد، بنابراین ماهی ممکن است سطوح متفاوتی از گرسنگی را در طی مراحل تکامل خود تجربه کند، که منجر به تغییر در میزان رشد می‌شود. هنگامی که غذا دوباره در دسترس قرار می‌گیرد، ماهی ذخایر انرژی خود را بازسازی کرده و ممکن است رشد جبرانی نیز داشته باشد. رشد جبرانی، مرحله‌ای از رشد سریع بعد از محرومیت غذایی می‌باشد. رشد ماهی در پاسخ به محرومیت غذایی در گونه‌های مختلف متفاوت می-باشد. رشد جبرانی براساس میزان برگشت‌پذیری به سه گروه تقسیم می‌شود:

۱- رشد فراجبرانی[3]: در ماهی‌هایی که دوره‌های متعدد گرسنگی و غذادهی مجدد را طی می‌کنند و در نهایت به وزنی بالاتر از ماهی‌هایی که به‌طور دائم تغذیه می‌کنند می‌رسند.

۲- رشد جبرانی کامل[4]: در ماهی‌هایی که قبلاً در معرض محرومیت غذایی قرار گرفتند. وزن این ماهی‌ها مشابه وزن ماهی‌هایی است که به‌طور دائم تغذیه می‌شوند.

---

[1] - Theilacker
[2] - German
[3] - Over compensation
[4] - complete compensation

۳- رشد جبرانی نسبی[1]: در ماهی‌هایی که به‌طور محدود تغذیه می‌شوند. در این گروه، ماهی بعد از تغذیه کافی، رشد سریعی را نشان می‌دهد، اما به وزن بدن ماهی‌هایی که به‌طور مداوم تغذیه می‌شوند، نمی‌رسد (تیان[2] وکین[3]، ۲۰۰۳).

رشد جبرانی در ماهی تنها جنبه نظری ندارد. بلکه ممکن است در آبزی‌پروری کاربرد داشته باشد. یک کاربرد مناسب این پدیده، می‌تواند افزایش میزان رشد و بازدهی تغذیه باشد (وانگ[4] و همکاران، ۲۰۰۰). آگاهی از رشد جبرانی می‌تواند ابزار مفیدی در بررسی فاکتور_هایی که ظرفیت رشد ماهی را محدود می‌کند باشد. سرعت رشد می‌تواند تحت تاثیر فاکتورهای زیستی (تغذیه، تحرک، اندازه، بلوغ و اثرات متقابل گروهی) و غیرزیستی (دما، رژیم نوری، اکسیژن محلول و شوری) باشد. اما سرعت رشد ماکزیمم با ظرفیت گوارشی و بلعیدن تعیین می‌شود (بلانگر و همکاران، ۲۰۰۲). مطالعه رشد جبرانی درماهی نتایج متناقضی داشته است. در اغلب مطالعات جبران مشاهده شده، اما تنها ظرفیت محدودی برای رشد جبرانی گزارش شده است. از طرفی اغلب مطالعات رشد جبرانی، در گونه‌های سردآبی انجام شده و مطالعه روی گونه‌های گرمابی محدود می‌باشد (وانگ و همکاران، ۲۰۰۰).

همچنین محرومیت غذایی در آبزیان نسبت به حیوانات خونگرم کمتر بحث شده است و اغلب اشاره‌ای جزیی به تاثیر گرسنگی بر ظرفیت گوارشی دارد (کراگدال و همکاران، ۲۰۰۵). از طرفی اطلاعات در مورد رویکردهای متابولیکی ازجمله گرسنگی، در گیاه‌خواران و همه‌چیزخواران نسبت به گونه‌های گوشت‌خوار محدود می‌باشد (فیگویردو- گاراتی[5] و همکاران، ۲۰۰۲). گرسنگی و غذادهی مجدد می‌تواند فعالیت آنزیم‌های توده بافتی و محتوی پروتئین بخش‌های مختلف روده را تحت تاثیر قرار دهد. اما پروسه‌های تنظیمی دخیل در تغییرات روده‌ای در طی گرسنگی و غذادهی مجدد هنوز به درستی کشف نشده و در مورد ماهی کمتر مطالعه شده است (کراگدال و همکاران، ۲۰۰۵).

این مطالعه ما را قادر می‌سازد تا دریابیم فعالیت آنزیم‌های گوارشی تا چه حد می‌توانند تغییر یابند و آیا این تغییر در سطوح مختلف گرسنگی متفاوت است؟ به‌علاوه مطالعه این آنزیم‌ها درمرحله

---

[1] - Partial compensation
[2] - Tian
[3] - Qin
[4] - Wang
[5] - Figueiredo-Garutti

غذادهی مجدد، می‌تواند در برآورد ظرفیت پاسخگویی ماهی و میزان برگشت پذیری آن در مقابل این تغییرات کمک کند.

۱-۲ فرضیه‌ها

۱- فعالیت آنزیم‌های کیموتریپسین، تریپسین، آلفا- آمیلاز و فسفاتاز قلیایی در شرایط محرومیت غذایی بچه‌ماهی کلمه با گروه شاهد تغییرات معنی‌داری را نشان می‌دهد.

۲- فعالیت آنزیم‌های کیموتریپسین، تریپسین، آلفا- آمیلاز و فسفاتاز قلیایی در شرایط غذادهی مجدد بچه‌ماهی کلمه با گروه شاهد تغییرات معنی‌داری را نشان می‌دهد.

۳- سابقه دوره‌های مختلف گرسنگی بر سرعت رشد بچه‌ماهیان کلمه تاثیر معنی‌دار دارد.

۱-۳ اهداف

۱-تعیین فعالیت آنزیم‌های کیموتریپسین، تریپسین، آلفا- آمیلاز و فسفاتاز قلیایی در شرایط محرومیت غذایی بچه‌ماهی کلمه

۲- تعیین فعالیت آنزیم‌های کیموتریپسین، تریپسین، آلفا- آمیلاز و فسفاتاز قلیایی در شرایط غذادهی مجدد بچه‌ماهی کلمه

۳- تعیین تاثیر دوره‌های مختلف گرسنگی در مراحل بعدی پرورش بچه‌ماهی کلمه