View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Aquatic Commons

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]
Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

مقایسه میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) از مرحله ناپلی تا بلوغ با استفاده از جیره‌های غذایی مختلف

مهکامه لشکری زاده بمی[۱]؛ مهرداد فرهنگی*[۲]؛ ناصر آق[۳] و امید صفری[٤]

Farhangi@nrf.ut.ac.ir

۱و۲-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج صندوق پستی: ٤١١١

۳-پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه

٤-گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی، مشهد

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۰

چکیده

استفاده از آرتمیای بالغ در آبزی‌پروری، آگاهی از روند تغییرات آنزیم‌های گوارشی در مراحل مختلف تکاملی آنرا با توجه به مصرف جیره‌های غذایی ارزان قیمت با اهمیت می‌کند. در این مطالعه اثر استفاده از جیره‌های غذایی ارزان قیمت بر میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی تریپسین، آمیلاز و لیپاز در مراحل مختلف رشد آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در ۵ تیمار و ۲ تکرار به مدت ۱۵ روز با استفاده از ۵ نوع جیره غذایی شامل: آرد گندم، جیره غذایی ماهی کپور معمولی، کنجاله سویا، مخلوط کنجاله سویا و کنجاله کانولا (جیره ترکیبی ۱) و مخلوط کنجاله سویا و آرد گندم (جیره ترکیبی ۲) در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ناپلی‌ها پس از تفریخ به محیط‌های پرورش خود معرفی شدند. میزان فعالیت‌های آنزیم‌ها در روزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ دوره پرورش مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش رابطه همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان فعالیت آنزیم تریپسین و مقدار پروتئین خام (۰/۷۴)، میزان فعالیت آنزیم آمیلاز و مقدار کربوهیدرات (۰/۴۹)، میزان فعالیت آنزیم لیپاز و مقدار چربی خام (۰/۸۴) در جیره‌های غذایی مورد استفاده و افزایش فعالیت هر سه آنزیم با افزایش روند تکامل آرتمیا مشاهده شد. در طول دوره پرورش، آنزیم تریپسین در تمامی تیمارها به استثناء تیمار آرد گندم، آنزیم آمیلاز در تمامی تیمارها و آنزیم لیپاز در تمامی تیمارها به استثناء دو تیمار غذای کپور معمولی و آرد گندم، شاهد افزایش معنی‌داری بودند. براساس نتایج می‌توان اذعان نمود که فعالیت آنزیم‌های گوارشی بسته به جیره غذایی مورد استفاده و مرحله تکاملی آرتمیا تغییر می‌نماید. با توجه به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی آرتمیا ارومیانا تا مرحله بلوغ، استفاده از آرتمیا ارومیانای بالغ علاوه بر کاهش فشار بر منابع طبیعی سیست و ناپلی آن، منجر به صرفه اقتصادی بیشتر شده و کیفیت بهتری نسبت به سیست و ناپلی آن موجب می‌گردد.

لغات کلیدی: آرتمیا ارومیانا، ، آنزیم‌های گوارشی، جیره غذایی، چرخه زندگی

*نویسنده مسئول

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]

Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

مقدمه

با توجه به استفاده روز افزون از آرتمیا در آبزی‌پروری، فشار بر منابع طبیعی به منظور تأمین سیست و ناپلی آن روز به روز در حال افزایش است. بر همین اساس استفاده از آرتمیای بالغ پرورشی نه تنها موجب افزایش میزان توده زنده در واحد حجم می‌شود، بلکه تا حد زیادی از فشار وارده به منابع طبیعی برای تأمین سیست خواهد کاست (Schumann, 1995). این موضوع در مورد آرتمیا ارومیانا با توجه به مشکلات اخیر ایجاد شده در دریاچه ارومیه از قبیل افزایش میزان شوری و تبخیر، افزایش حجم ورودی آلاینده‌های صنعتی و کشاورزی و غیره (آق، ۱۳۸۱) در خور توجه ویژه است. به علاوه، عقیده بر این است که آرتمیای بالغ دارای ارزش تغذیه‌ای بیشتری در مقایسه با سیست و ناپلی آرتمیا، بخصوص از نظر مقدار پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری برای آبزیان است (McEvoy & Støttrup, 2003).

استفاده از غذاهای زنده در اکثر گونه‌های ماهیان، موجب رشد و بقاء بیشتری در مقایسه با غذاهای مصنوعی می‌شود (Dabrowski, 1984). یک تفاوت مهم از نظر فیزیولوژی تغذیه بین غذاهای زنده و غذاهای مصنوعی وجود آنزیم‌های گوارشی در غذاهای زنده است. آنزیم‌های مذکور (آنزیم‌های با منشأ خارجی) نقش مهمی در هضم مواد غذایی و رشد در ماهیان ایفاء می‌کنند (Dabrowski, 1979). این موضوع بخصوص در مورد لارو ماهیان دارای معده کوچک یا ماهیان فاقد معده از اهمیت زیادی برخوردار است (Dabrowski, 1982). از سوی دیگر از آن جایی که پرورش آرتمیا با استفاده از غذاهای گرانقیمت مانند ریز جلبکها مقرون به صرفه نیست (Lavens & Sorgeloos, 1996)، به همین جهت می‌توان با استفاده از غذاهای ارزان قیمت به کاهش هزینه‌های پرورش این موجود کمک شایانی نمود. از جمله غذاهای ارزان قیمت قابل استفاده در پرورش آرتمیا می‌توان به ضایعات محصولات کشاورزی مانند سبوس گندم، سبوس برنج، آرد گندم و ... اشاره نمود.

نتایج مطالعات نشان داده است که در مورد سخت‌پوستانی مانند آرتمیا (Bellini, 1957a,b)، میگوهای گونه *Palaemon serratus* (Van Wormhoudt, 1973) و *Penaeus japonicas* (Laubier-Bonichon *et al.*, 1977)) آنزیم‌های گوارشی در طول مراحل مختلف لاروی دچار تغییرات زیادی می شوند. با وجود اهمیت زیاد این موضوع، در مورد تغییرات آنزیم‌های گوارشی آرتمیا با توجه به جیره‌های غذایی مورد استفاده، تحقیقات اندکی صورت گرفته است (Samain *et al.*, 1976; Samain *et al.*, 1980; García-Ortega *et al.*, 1998). بعلاوه در مورد تغییرات آنزیم‌های گوارشی در طول مراحل مختلف تکاملی آرتمیا ارومیانا تا مرحله بلوغ نیز اطلاعاتی در دست نیست. در صورت یافتن ارتباط بین میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی و جیره‌های غذایی مورد استفاده در مراحل مختلف تکامل آرتمیا ارومیانا، این امکان وجود خواهد داشت تا نسبت به تهیه جیره‌های غذایی مناسب برای هر مرحله تکاملی زندگی آرتمیا و رفع هر چه بیشتر نیازهای تغذیه‌ای این موجود اقدام بعمل آورد.

هدف از این تحقیق، بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی تریپسین، آمیلاز و لیپاز در مراحل مختلف تکامل آرتمیا ارومیانا و تأثیر جیره‌های غذایی مختلف بر فعالیت این آنزیم‌ها می‌باشد.

مواد و روش کار

این آزمایش در قالب یک طرح تصادفی با استفاده از ۵ تیمار و ۲ تکرار انجام شد. جهت اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی مواد غذایی از روش‌های آنالیز استاندارد استفاده شد (Petterson *et al.*, 1999). جیره غذایی ماهی کپور معمولی بعنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. علت انتخاب این جیره بعنوان جیره شاهد این بود که با مقایسه این جیره غذایی ارزان قیمت با جیره غذایی گران قیمت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، مشاهده شد که آرتمیا ارومیانا قادر به مصرف جیره غذایی ماهی کپور معمولی متناسب با نیازهای غذایی خود در حد جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان است. جیره‌های غذایی دیگر براساس مقادیر بیشتر پروتئین و کربوهیدرات جهت مقایسه روند تغییرات آنزیم‌های گوارشی (Spannhof & Plantikow, 1983; Twining *et al.*, 1983) آرتمیا ارومیانا انتخاب شدند. آرد گندم یکی از اقلام غذایی مورد استفاده بود که بعنوان منبع غذایی سرشار از کربوهیدرات به تنهایی در یکی از تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. کنجاله سویا یکی دیگر از اقلام غذایی بود که به تنهایی بعنوان منبع غذایی غنی از پروتئین در یکی دیگر از تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. جیره‌ای حاوی ۴۱/۱۰ درصد کنجاله کانولا و ۵۸/۹ درصد کنجاله سویا (جیره ترکیبی ۱) در یکی دیگر از تیمارها مورد استفاده واقع شد. در جیره غذایی دیگر از ۵۰ درصد کنجاله سویا و ۵۰ درصد آرد گندم (جیره ترکیبی ۲) استفاده بعمل آمد (جدول ۱).

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]
Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

جدول۱: ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی مورد استفاده در تغذیه آرتمیا ارومیانا (براساس ماده خشک) (میانگین ± انحراف معیار) (۲ =r)

غذای مورد استفاده	پروتئین خام (درصد)	عصاره عاری از ازت (درصد)	چربی خام (درصد)	انرژی خام (کیلوکالری در گرم)
جیره غذایی ماهی کپور (جیره شاهد)	۳۵/۸۷±۰/۰۱	۸/٦ ± ۰/۰۲	۳/۰ ± ۰/۰۲	۳۸۸/۷ ± ۰/۰۱
کنجاله سویا	٦۱/۰±۰/۰۲	۸/۳ ± ۰/۰۱	٤/۰ ± ۰/۰۲	۵۳۳/۸ ± ۰/۰۲
جیره ترکیبی ۱ (کنجاله سویا+کنجاله کانولا)	۵٤/۰±۰/۰۲	۱۸/۰ ± ۰/۰۱	٤/۰ ± ۰/۰۱	۵۱۹/۰ ± ۰/۰۱
جیره ترکیبی ۲ (کنجاله سویا+آرد گندم)	۳۵/۰± ۰/۰۱	٤۲/۰ ± ۰/۰۲	۳/۰ ± ۰/۰۲	۵۵۵/۸ ± ۰/۰۱
آرد گندم	۱۰/۸۱ ± ۰/۰۱	۷۷/۰ ± ۰/۰۱	۲/۰ ± ۰/۰۱	۵۷۷/۸ ± ۰/۰۲

به منظور تعیین درصد پروتئین خام از روش کجلدال، جهت تعیین درصد چربی خام از روش سوکسله (Petterson *et al.*, 1999) و برای تعیین میزان انرژی خام مواد غذایی از دستگاه بمب کالری متر (Gauquelin *et al.*, 2007) استفاده بعمل آمد. مقدار کربوهیدرات با محاسبه میزان عصاره عاری از ازت تعیین شد (Petterson *et al.*, 1999).

ناپلی‌ها پس از تفریخ در ظروف ۲ لیتری حاوی ۶/۲ گرم سیست در هر ظرف، ۱ لیتر آب با دمای ۲۸ درجه سانتیگراد، اکسیژن بیش از ۲ میلی‌گرم در لیتر و شوری ۳۵ گرم در لیتر، pH برابر با ۸/۵-۸ (آق و نوری، ۱۳۷۶؛ Warland & Warland, 2001) به محیط پرورش خود معرفی شدند. محیط پرورش از ۱۰ عدد تانک ۱۰۰ لیتری که ۵۰ لیتر آن با آب دمای ۲۸ درجه سانتیگراد، اکسیژن بیش از ۲ میلی‌گرم در لیتر، شوری ۶۰ گرم در لیتر، pH در حد ۸/۵-۸، و دوره روشنایی برابر با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (آق و نوری، ۱۳۷۶؛ Lavens & Sorgeloos, 1996; McEvoy & Støttrup, 2003) پر گردیده بود، تشکیل شد. در این آزمایش، در ۵ روز اول دوره پرورش از مخمر نانوایی به مقدار ۱/۱ گرم در روز جهت تغذیه ناپلی‌ها و به میزان ۳ بار در روز و در فواصل زمانی ۵ ساعته استفاده شد. سپس از روز ششم تا روز پانزدهم دوره آزمایش، هر یک از جیره‌های غذایی به مقدار ۲ گرم در روز به ازاء هر تانک، به میزان ۵ بار در روز و در فواصل زمانی ۴ ساعته مورد استفاده قرار گرفت (Warland & Warland, 2001).

برای سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی تریپسین، آمیلاز و لیپاز نمونه‌برداری از آرتمیا در روزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ صورت گرفت. پس از شستشو با آب شیرین و توزین، نمونه‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره (Farhangi & Carter, 2001) و در ادامه از آنها عصاره آنزیمی تهیه شد. به این ترتیب که نمونه‌ها در پایان دوره پرورش، از فریزر خارج و در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند. سپس عصاره‌های تهیه شده در محلول نمکی فیزیولوژیکی (نمک طعام ۰/۹ درصد) هموژنیزه شدند. در ادامه به هر یک از نمونه‌ها، محلول نمکی اضافه شد تا حجم نهایی نمونه‌ها به ۱/۶ میلی‌لیتر رسید. نمونه‌های هموژن شده به مدت ۵ دقیقه در g× ۵۰۰۰ سانتریفوژ شدند. در انتها مایع تجمع یافته در قسمت بالای نمونه‌ها بلافاصله برای سنجش تغییرات آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت (Moraiti-Ioannidou *et al.*, 2008).

برای سنجش میزان فعالیت آنزیم تریپسین از α-N-بنزوئیل-DL- آرژنین-پارا-نیتروآنیلید-هیدروکلراید (BAPNA) بعنوان سوبسترا استفاده شد (Erlanger *et al.*, 1961; Chong *et al.*, 2002). واحد فعالیت آنزیم تریپسین برحسب میکرو مول سوبسترا که در هر دقیقه به ازاء ۱ میلی‌گرم پروتئین آزاد می شد با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Chong *et al.*, 2002):

[میلی‌گرم پروتئین /واحد فعالیت = (مقدار سوبسترا در دقیقه) × ۱۰۰۰)/(۳×۸۸۰۰ ×DF

که در آن DF فاکتور رقت و ۸۸۰۰ ضریب ثابت مولکولی برای پارا- نیترو آنیلین است.

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]
Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

برای تعیین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز از نشاسته بنعوان سوبسترا استفاده شد (Bernfeld, 1951; Worthington, 1991). واحد فعالیت آنزیم آمیلاز برحسب میکرو مول مالتوز آزاد شده در هر دقیقه به ازاء ۱ میلی‌گرم پروتئین از طریق فرمول زیر محاسبه شد (Worthington, 1991):

/ مقدار مالتوز آزاد شده) = میلی‌گرم پروتئین /واحد فعالیت
DF× (۳ دقیقه × میلی‌گرم پروتئین

که در آن DF فاکتور رقت است.

فعالیت آنزیم لیپاز با روش سوبسترای امولسیون روغن زیتون-صمغ عربی و به طریق تیتراسیون در دمای اتاق اندازه‌گیری شد (Worthington, 1991). واحد فعالیت آنزیم لیپاز برحسب میکرو مول اسید چرب که در مدت ۱ دقیقه به ازاء ۱ میلی‌گرم پروتئین آزاد می‌شود با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

×مقدار اسید چرب آزاد شده) = میلی‌گرم پروتئین /واحد فعالیت
DF × (میلی‌گرم پروتئین /۱۰۰۰ ×۰/۰۱

که در آن DF فاکتور رقت و ۰/۰۱ نرمالیته هیدروکسید سدیم است که بعنوان محلول تیتراسیون مورد استفاده قرار گرفت.

از آزمون شاپیرو-ویلک به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده گردید. داده‌های درصدی با استفاده از روش $\arcsin\sqrt{x}$ تبدیل شدند. نتایج با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One way-ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها از آزمون دانکن و سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید. رابطه رگرسیونی بین میزان فعالیت آنزیم‌ها و مقادیر پروتئین، چربی و کربوهیدرات جیره‌های غذایی با استفاده از نرم‌افزار Minitab محاسبه شد. برای انجام آنالیزهای آماری و رسم نمودارها بترتیب از نرم‌افزارهای SPSS و Excel استفاده بعمل آمد.

نتایج

نتایج حاصل از میزان فعالیت آنزیم تریپسین در آرتمیاهای تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم پرورش در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج حاکی از آن است که در روز پنجم دوره پرورش، هیچگونه اختلاف معنی‌داری از نظر میزان فعالیت آنزیم تریپسین در میان تیمارها وجود نداشت. با مقایسه میزان فعالیت آنزیم تریپسین در تیمارهای مختلف در روز دهم دوره پرورش مشاهده شد که میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با آرد گندم دارای کمترین مقدار و فاقد تفاوت معنی‌دار با تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۲ و دارای تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها بود ($P<۰/۰۵$). بعلاوه بین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با استفاده از جیره ترکیبی ۲ و تیمارهای تغذیه شده با کنجاله سویا و جیره غذایی ماهی کپور نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میزان فعالیت تریپسین در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ بیشتر از دیگر تیمارها بود. همچنین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۲ اختلاف معنی‌داری با تیمار تغذیه شده با استفاده از جیره ترکیبی ۱ داشت ($P<۰/۰۵$). مقایسه میانگین فعالیت آنزیم تریپسین در میان تیمارها در روز پانزدهم نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با آرد گندم کمتر از دیگر تیمارها و دارای اختلاف معنی‌دار با آنها بود ($P<۰/۰۵$) ولی فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۲ بود. تیمارهای تغذیه شده با کنجاله سویا و جیره ترکیبی ۱ نیز از لحاظ فعالیت آنزیم تریپسین فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند. البته میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ نسبت به بقیه تیمارها بیشتر و به استثناء تیمار تغذیه شده با کنجاله سویا دارای اختلاف معنی‌دار با آنها بود ($P<۰/۰۵$).

براساس جدول ۲ و مقایسه میزان فعالیت آنزیم تریپسین در تیمارهای مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش می‌توان گفت که بطور کلی میزان فعالیت این آنزیم در طول دوره پرورش در کلیه تیمارها، به استثناء تیمار تغذیه شده با آرد گندم، بصورت معنی‌داری افزایش یافته است ($P<۰/۰۵$). لازم به ذکر است که بین میزان فعالیت آنزیم تریپسین و مقدار پروتئین خام جیره‌های غذایی همبستگی مثبت ($R^2=۰/۷۴$) و معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) وجود داشت (نمودار ۱).

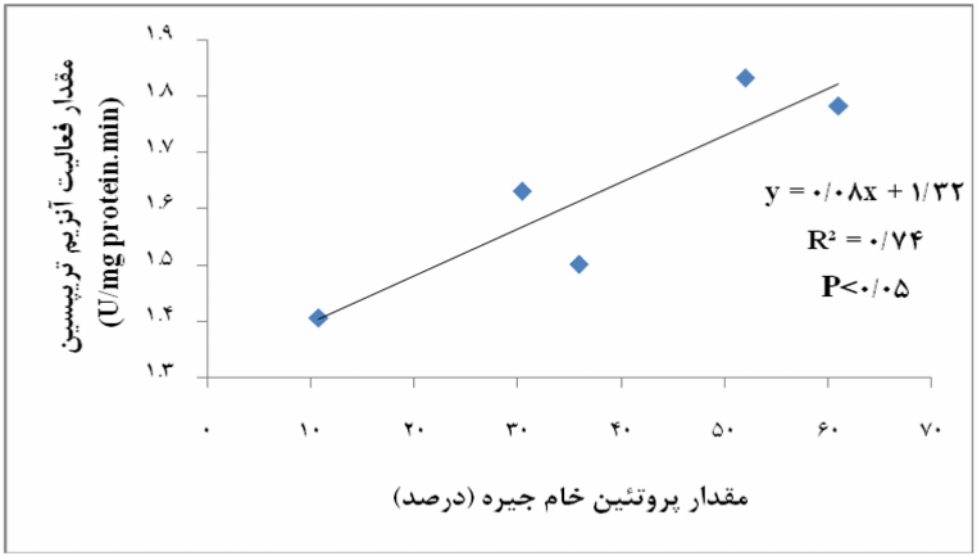
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]

Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

جدول ۲: مقایسه میزان (میانگین± انحراف معیار) فعالیت آنزیم تریپسین (میلی‌گرم پروتئین /واحد فعالیت در دقیقه) در آرتمیای تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش (r=۲)

	جیره غذایی ماهی کپور معمولی (جیره شاهد)	کنجاله سویا	جیره ترکیبی ۱ (کنجاله سویا+کنجاله کانولا)	جیره ترکیبی ۲ (کنجاله سویا+آرد گندم)	آرد گندم
روز ۵	$^{(x)}$۱/۱۹±۰/۱٤	$^{(x)}$۱/۱۵±۰/۱٤	$^{(x)}$۱/۲۱±۰/۱۸	$^{(x)}$۱/۲۳±۰/۱٤	$^{(x)}$۱/۲۳±۰/۱٤
روز ۱۰	$^{bc, (y)}$۱/٦٤±۰/۲۳	$^{bc, (y)}$۱/۷۰±۰/۱۸	$^{c, (y)}$۱/۷۵±۰/۲۱	$^{ab, (y)}$۱/۵۰±۰/۱٦	$^{a, (xy)}$۱/٤۱±۰/۱۸
روز ۱۵	$^{b, (z)}$۲/۰۷±۰/۱۵	$^{c, (z)}$۲/۵۱±۰/۱۹	$^{c, (z)}$۲/۵٤±۰/۱۸	$^{a, (z)}$۱/۷۷±۰/۲۲	$^{a, (y)}$۱/۵۹±۰/۱٤

* داده‌های ارائه شده در هر ردیف (**a-b**) و ستون (**x-z**) با حروف غیرمشترک با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).



نمودار ۱: رابطه همبستگی بین مقدار پروتئین خام جیره (درصد) و میزان فعالیت آنزیم تریپسین (میلی‌گرم پروتئین /واحد فعالیت در دقیقه) در آرتمیای تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی در مراحل مختلف پرورش

نتایج حاصل از فعالیت آنزیم آمیلاز در آرتمیاهای تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم پرورش در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج حاکی از آن است که بدلیل تغذیه تمامی تیمارها با مخمر تا روز پنجم دوره پرورش هیچگونه اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها از لحاظ میزان فعالیت آنزیم آمیلاز وجود نداشت. در روز دهم میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در تیمار تغذیه شده با کنجاله سویا در مقایسه با دیگر تیمارها کمتر و فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمارهای تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ و جیره ترکیبی ۲ بود. در میزان فعالیت این آنزیم در دو تیمار تغذیه شده با استفاده از جیره ترکیبی ۲ و جیره غذایی ماهی کپور نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. بعلاوه میان دو تیمار تغذیه شده با جیره غذایی ماهی کپور و آرد گندم نیز از لحاظ میزان فعالیت آمیلاز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. هر چند میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با آرد گندم در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود و از نظر میزان فعالیت آمیلاز دارای تفاوت معنی‌داری با دیگر تیمارها (به استثناء تیمار تغذیه شده با جیره غذایی ماهی کپور) بود (P<۰/۰۵). با مقایسه میزان فعالیت آنزیم

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]
Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

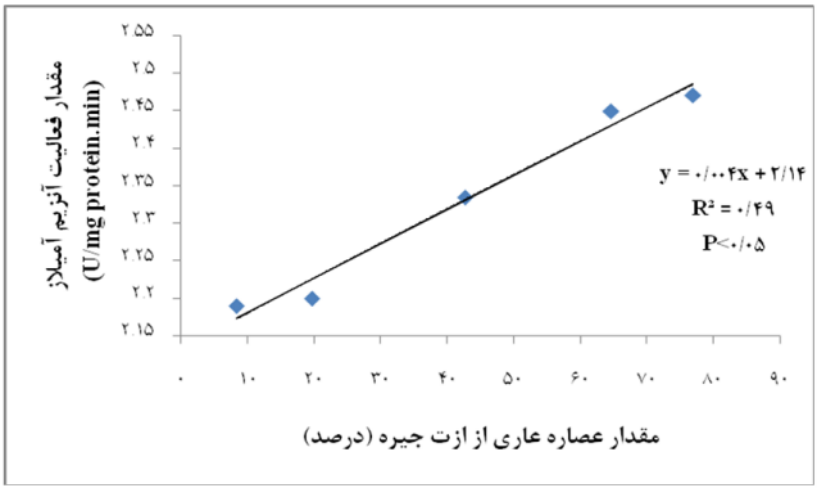
آمیلاز در روز پانزدهم در بین تیمارها مشاهده گردید که میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با کنجاله سویا در مقایسه با سایر تیمارها کمتر و فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمارهای تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ و جیره ترکیبی ۲ بود. میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با آرد گندم در مقایسه با تیمارهای دیگر (به جز تیمار تغذیه شده با جیره غذایی ماهی کپور) بیشتر بود و با آنها اختلاف معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$).

مقایسه میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در تیمارهای مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش (جدول ۳) نشان داد که بطور کلی میزان فعالیت این آنزیم در طول دوره پرورش در تمامی تیمارها بطور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). بعلاوه بین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز و مقدار عصاره عاری از ازت جیره‌های غذایی رابطه همبستگی مثبت ($R^2=۰/۴۹$) و معنی‌دار وجود داشت ($P<۰/۰۵$) (نمودار ۲).

جدول ۳: مقایسه میزان (میانگین± انحراف معیار) فعالیت آنزیم آمیلاز (میلی گرم پروتئین /واحد فعالیت در دقیقه) در آرتمیای تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش (r=۲)

	جیره غذایی ماهی کپور معمولی (جیره شاهد)	کنجاله سویا	جیره ترکیبی ۱ (کنجاله سویا+کنجاله کانولا)	جیره ترکیبی ۲ (کنجاله سویا+آرد گندم)	آرد گندم
روز ۵	$^{(x)}$۱/۹۱±۰/۲٤	$^{(x)}$۱/۸۹±۰/۲۰	$^{(x)}$۱/۹۰±۰/۱٦	$^{(x)}$۱/۸۵±۰/۲۱	$^{(x)}$۱/۸۷±۰/۱۷
روز ۱۰	$^{bc, (y)}$۲/٤٥±۰/۱۳	$^{a, (y)}$۲/۱٦±۰/۱۸	$^{a, (y)}$۲/۱۷±۰/۱۲	$^{ab, (y)}$۲/۳۱±۰/۱۵	$^{c, (y)}$۲/۵۰±۰/۱٤
روز ۱۵	$^{c, (z)}$۳/۰۵±۰/۲۳	$^{a, (z)}$۲/۵۲±۰/۱۳	$^{a, (z)}$۲/۵۳±۰/۱۰	$^{ab, (z)}$۲/۸۵±۰/۱٤	$^{c, (z)}$۳/۰۸±۰/٤۲

*داده‌های ارائه شده در هر ردیف (**a-b**) و ستون (**x-z**) با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($P<۰/۰۵$).



نمودار ۲: رابطه همبستگی بین مقدار عصاره عاری از ازت جیره (درصد) و میزان فعالیت آنزیم آمیلاز (میلی‌گرم پروتئین /واحد فعالیت در دقیقه) در آرتمیای تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در دوره‌های گوناگون پرورش

نتایج حاصل از مقایسه فعالیت آنزیم لیپاز در آرتمیاهای تغذیه شده با جیره‌های مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج حاکی از آن است که بدلیل تغذیه تمامی تیمارها با مخمر تا روز پنجم دوره پرورش مقدار فعالیت آنزیم لیپاز در روز پنجم دوره آزمایش در میان تیمارها فاقد اختلاف معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که در

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]
Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

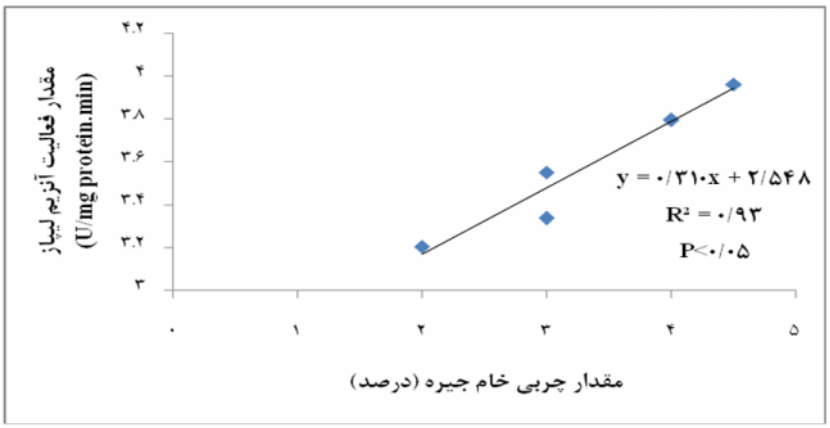
روز دهم دوره پرورش میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تیمار تغذیه شده با آرد گندم در مقایسه با سایر تیمارها کمتر و فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمار تغذیه شده با جیره غذایی ماهی کپور بود. از طرفی میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با جیره غذایی ماهی کپور تفاوت معنی‌داری با تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۲ نداشت. بعلاوه بین دو تیمار تغذیه شده با کنجاله سویا و جیره ترکیبی ۲ نیز تفاوت معنی‌داری از نظر میزان فعالیت لیپاز وجود نداشت. میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ بصورت معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($P<۰/۰۵$). مقایسه تیمارها در روز پانزدهم دوره پرورش نشان داد که میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تیمار تغذیه شده با آرد گندم بصورت معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود ($P<۰/۰۵$). میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ بصورت معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها (به جز تیمار تغذیه شده با کنجاله سویا) بود ($P<۰/۰۵$).

مقایسه میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تیمارهای مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش نشان داد که بطور کلی میزان فعالیت این آنزیم در طول دوره پرورش در تمامی تیمارها، به استثناء دو تیمار تغذیه شده با جیره غذایی ماهی کپور و آرد گندم، بصورت معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$) (جدول۴). همچنین بین میزان آنزیم لیپاز و مقدار چربی جیره‌های غذایی همبستگی مثبت ($R^2=۰/۹۳$) و معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) وجود داشت (نمودار ۳).

جدول ٤: مقایسه میانگین (± انحراف معیار) فعالیت آنزیم لیپاز (میلی‌گرم پروتئین/واحد فعالیت در دقیقه) در آرتمیای تغذیه شده با جیره‌های مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش (r=۲)

	جیره غذایی ماهی کپور معمولی (جیره شاهد)	کنجاله سویا	جیره ترکیبی ۱ (کنجاله سویا+کنجاله کانولا)	جیره ترکیبی ۲ (کنجاله سویا+آرد گندم)	آرد گندم
روز ۵	$^{(x)}$۳/۰۱±۰/۲۰	$^{(x)}$۳/۱۱±۰/۱۷	$^{(x)}$۳/۰٤±۰/۲۰	$^{(x)}$۳/۰۱±۰/۱۹	$^{(x)}$۳/۱۱±۰/۱۳
روز ۱۰	$^{ab, (y)}$۳/۳۷±۰/۲٤	$^{c, (y)}$۳/۸۳±۰/۱۵	$^{d, (y)}$٤/۱۱±۰/۱۹	$^{bc, (y)}$۳/٤٦±۰/۱۷	$^{a, (x)}$۳/۱۸±۰/۱٦
روز ۱۵	$^{b, (y)}$۳/٦٤±۰/۲۳	$^{d, (z)}$٤/٤٦±۰/۱۹	$^{d, (z)}$٤/۷۵±۰/۱۷	$^{c, (z)}$٤/۰۰±۰/۱۹	$^{a, (x)}$۳/۳۳±۰/۲۰

*داده‌های ارائه شده در هر ردیف (**a-b**) و ستون (**x-z**) با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند ($P<۰/۰۵$).



نمودار ۳: رابطه همبستگی بین مقدار چربی خام جیره (درصد) و میزان فعالیت آنزیم لیپاز (میلی‌گرم پروتئین/واحد فعالیت در دقیقه) در آرتمیای تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در دوره‌های گوناگون پرورش

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]
Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

بحث

با وجود این که آنزیم‌ها از اهمیت بسیاری در مراحل اولیه تغذیه لارو آبزیان برخوردارند، با این حال تاکنون مطالعه‌ای در مورد روند تغییرات آنزیم‌های گوارشی در مراحل مختلف زندگی آرتمیا ارومیانا صورت نگرفته است. به علاوه آگاهی از نقش مواد غذایی مختلف بر میزان فعالیت آنزیم های گوارشی می‌تواند بعنوان یک ابزار موثر در تهیه جیره‌های غذایی مناسب برای آرتمیا در مراحل مختلف زندگی مورد استفاده قرار گیرد. این تحقیق با هدف بررسی روند تغییرات آنزیم‌های گوارشی تریپسین، آمیلاز و لیپاز با توجه به ضرورت استفاده از جیره‌های غذایی ارزان قیمت در مراحل مختلف پرورش آرتمیا ارومیانا از مرحله ناپلی تا بلوغ انجام شد.

در مطالعه حاضر عدم مشاهده اختلاف معنی‌دار میان فعالیت تمامی آنزیم‌ها تا روز پنجم دوره پرورش می‌تواند بدلیل تغذیه کلیه تیمارها با استفاده از مخمر باشد. در مورد فعالیت آنزیم تریپسین مقدار فعالیت کمتر این آنزیم در کل دوره پرورش در تیمار تغذیه شده با آرد گندم و فعالیت بیشتر آن در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ نسبت به دیگر تیمارها می‌تواند بدلیل کمتر بودن میزان پروتئین در آرد گندم و وجود دو منبع غنی از پروتئین در جیره ترکیبی ۱ (کنجاله سویا و کنجاله کانولا) (Newkirk *et al.*, 2003; Olguin *et al.*, 2003) باشد. این موضوع با توجه به وجود رابطه همبستگی مثبت بین میزان فعالیت این آنزیم و مقدار پروتئین جیره غذایی مورد استفاده قابل توجیه است. همچنین، فعالیت بیشتر آنزیم تریپسین در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ نسبت به تیمار تغذیه شده با کنجاله سویا، با وجود میزان پروتئین بیشتر در کنجاله سویا، می‌تواند بدلیل وجود عوامل ضد تغذیه‌ای مختلف در کنجاله سویا باشد که این عوامل مانع هضم مناسب پروتئین می‌شوند (Francis *et al.*, 2001; Halver & Hardy, 2002). در مرور منابع، گزارشی که میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در مراحل مختلف تکاملی آرتمیا ارومیانا را مورد بررسی قرار داده باشد یافت نشد.

در مطالعه‌ای میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و پروتئازها در آرتمیا سالینا (*Artemia salina*) با تغذیه از ریزجلبک (*Tetraselmis suecica*) مورد سنجش قرار گرفت (Samain *et al.*, 1976). تولید آمیلاز متناسب با افزایش تراکم فیتوپلانکتون‌ها افزایش و در مقابل تولید پروتئازها کاهش یافت. در صورتی که در محیط عاری از فیتوپلانکتون‌ها میزان فعالیت پروتئازها بیشتر بود. نسبت آمیلاز/پروتئاز قابلیت تطابق آرتمیا را با شرایط تغذیه‌ای نشان داد. در تحقیق حاضر نیز به نظر می‌رسد که مقدار فعالیت آنزیم تریپسین در صورت استفاده از غذاهای حاوی کربوهیدرات بیشتر و پروتئین کمتر (همانند آرد گندم) کاهش و در مقابل میزان فعالیت آنزیم آمیلاز افزایش یافت. افزایش غیر معنی‌دار فعالیت آنزیم تریپسین در تیمار تغذیه شده با آرد گندم در طول دوره پرورش نسبت به سایر تیمارها نیز می‌تواند بدلیل میزان پروتئین بسیار کمتر آرد گندم در مقایسه با دیگر جیره‌های غذایی مورد استفاده در این آزمایش باشد (NRC, 1993).

کمترین و بیشترین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز بترتیب در تیمارهای تغذیه شده با کنجاله سویا و آرد گندم در کل دوره پرورش مشاهده شد. این موضوع با توجه به کمتر بودن مقدار کربوهیدرات‌ها در کنجاله سویا و بیشتر بودن مقدار آن در آرد گندم نسبت به دیگر جیره‌های غذایی مورد استفاده در این آزمایش (NRC, 1993) قابل توجیه است. البته عدم وجود اختلاف معنی‌دار از نظر میزان فعالیت آنزیم آمیلاز بین تیمار تغذیه شده با آرد گندم و تیمار تغذیه شده با جیره غذایی ماهی کپور، می‌تواند بدلیل مصرف هر چه بیشتر کربوهیدرات جیره غذایی ماهی کپور برای تولید انرژی جهت جبران کمبود انرژی این جیره غذایی توسط آرتمیا باشد (Wickins & Lee, 2002). بعلاوه، وجود اختلاف معنی‌دار در فعالیت آنزیم آمیلاز میان دو تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۲ و آرد گندم، با وجود بیشتر بودن میزان کربوهیدرات در غذای ترکیبی ۲ (۴۲ درصد) در قیاس با جیره غذایی ماهی کپور (۸/۶ درصد)، می‌تواند بدلیل وجود مقدار زیاد پروتئین در جیره غذایی ماهی کپور و در نتیجه کاهش فعالیت این آنزیم (Samain *et al.*, 1976) و از طرفی متناسب بودن میزان انرژی جیره ترکیبی ۲ با مقدار انرژی آرد گندم و در نتیجه عدم نیاز به فعالیت بیشتر آنزیم آمیلاز در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۲ جهت جبران کمبود انرژی باشد (Wickins & Lee, 2002).

در مطالعه‌ای پس از تغذیه آرتمیا (*Artemia* sp.) با ریزجلبک (*Tetraselmis suecica*) میزان تولید آمیلاز با افزایش تراکم فیتوپلانکتون‌ها افزایش یافت (Samain *et al.*, 1976). در پژوهشی که در خرچنگ لجنی (*Scylla serrata*)

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]
Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

انجام گردید (Pavasovic *et al.*, 2004) مشاهده شد که با جایگزینی مقداری از پروتئین غذا با کربوهیدرات‌ها فعالیتهای آنزیم‌های موثر بر هضم کربوهیدرات‌ها افزایش پیدا کرد. در تحقیق حاضر، با وارد نمودن آرد گندم (غنی از کربوهیدرات) جهت تهیه جیره ترکیبی ۲ میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در تیمار تغذیه شده با این جیره با فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با کنجاله سویا و تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ (که هر دو جیره کنجاله سویا و جیره ترکیبی ۱ حاوی مقادیر پروتئین بیشتر از کربوهیدرات بودند) فاقد اختلاف معنی‌دار بود. در صورتی که مقدار فعالیت آن در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۲ در مقایسه با آنها بیشتر بود. این موضوع قابلیت آرتمیا ارومیانا را در تنظیم فعالیت آنزیم‌های گوارشی متناسب با جیره غذایی مورد مصرف را نشان می‌دهد (Samain *et al.*, 1976).

در این تحقیق نیز با توجه به وجود رابطه هم بستگی مثبت بین میزان فعالیت این آنزیم و مقدار کربوهیدرات‌ها در جیره غذایی مورد مصرف، مشخص گردید که میزان فعالیت این آنزیم با افزایش مقدار کربوهیدرات در جیره‌های غذایی افزایش و با تغذیه از آرد گندم بعنوان منبعی غنی از کربوهیدرات‌ها به بیشترین میزان خود رسید. بعلاوه، افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در تمامی تیمارها می‌تواند بدلیل وجود مقدار مناسب کربوهیدرات در تمامی جیره‌های غذایی مورد استفاده باشد (Venou *et al.*, 2003). علت رابطه همبستگی کم بین آمیلاز و میزان عصاره عاری از ازت جیره غذایی مربوطه در مقایسه با رابطه همبستگی بین آنزیم تریپسین و میزان پروتئین جیره غذایی و آنزیم لیپاز و میزان چربی جیره غذایی در این است که رابطه همبستگی آنزیم‌های تریپسین و لیپاز با سوبستراهای اختصاصی آنها محاسبه شده است. در صورتی که رابطه همبستگی مذکور جهت آنزیم آمیلاز برای عصاره عاری از ازت که سوبسترای اختصاصی آنزیم آمیلاز محسوب نمی‌شود، محاسبه شده است.

کمترین میزان فعالیت آنزیم لیپاز در کل دوره پرورش در تیمار تغذیه شده با آرد گندم مشاهده شد. علت این امر می‌تواند به کمتر بودن مقدار چربی در آرد گندم در مقایسه با دیگر جیره‌های غذایی مورد استفاده در این آزمایش نسبت داده شود (NRC, 1993). بیشترین میزان فعالیت این آنزیم نیز در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ مشاهده شد. بطور کلی با مشاهده رابطه همبستگی مثبت بین میزان فعالیت آنزیم لیپاز و مقدار چربی در جیره غذایی، مشخص می‌شود که با افزایش مقدار چربی جیره غذایی، میزان فعالیت این آنزیم نیز افزایش یافت. دلیل دیگر کمتر بودن میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با آرد گندم می‌تواند متاثر از وجود کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم در آرد گندم باشد، زیرا نشان داده شده است که این مواد قادر به کاهش قابلیت هضم چربی‌ها می‌باشند (Levrat *et al.*, 1996). در تحقیقی مشاهده شد که بین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز (در نتیجه میزان کربوهیدرات در غذا) و مقدار چربی در غذا (در نتیجه میزان فعالیت آنزیم لیپاز) رابطه معکوسی وجود دارد (Pavasonic *et al.*, 2007). در پژوهش حاضر، با وجود مقادیر بسیار نزدیک چربی در جیره‌های غذایی مورد استفاده به یکدیگر، وجود اختلاف معنی‌دار میان فعالیت آنزیم لیپاز میان تیمارهای مختلف، با توجه بوجود تفاوت در مقادیر کربوهیدرات جیره‌ها، می‌تواند بدلیل اختلاف در فعالیت آنزیم آمیلاز میان تیمارها نسبت داده شود. به همین دلیل در هر مورد که فعالیت آنزیم آمیلاز زیاد بود، میزان فعالیت آنزیم لیپاز کاهش یافت و بالعکس.

به هنگام پرورش آرتمیا (*Artemia franciscana*) با فیتوپلانکتون ها مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم های گوارشی در طول مراحل مختلف تکاملی تحت تاثیر میزان مصرف غذا، ترکیب شیمیایی غذا و قابل بلع بودن آن و نیز نیازهای تغذیه ای آرتمیا قرار می گیرد (Samain *et al.*, 1980). همچنین تغییرات قابل ملاحظه‌ای در میزان فعالیت این آنزیم‌ها در طول مراحل تکاملی مختلف آرتمیا متناسب با سن و نوع غذای مورد مصرف مشاهده شد. در تحقیق دیگری با مقایسه میزان فعالیت آنزیم تریپسین در مراحل اولیه ناپلیایی آرتمیای دریاچه بزرگ نمک مشاهده شد که مقدار این آنزیم در طول مراحل اولیه ناپلیایی تفاوت چندانی نداشت و میزان آن بسیار پایین بود (García-Ortega *et al.*, 1998). در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد که میزان فعالیت هر سه آنزیم گوارشی متناسب با سیر تکاملی آرتمیا ارومیانا تا روز پانزدهم دوره پرورش افزایش یافت. همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی با توجه به نیازهای غذایی آرتمیا ارومیانا دچار تغییر شد. در تحقیقی که در پست لاروهای میگوی سفید (*Penaeus setiferus*) انجام گرفت، مشاهده شد که رژیم غذایی تنها عامل مؤثر بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی نیست، بلکه مراحل تکامل موجود نیز در این امر مؤثر است (Lovett & Felder, 1990). به همین دلیل نیز

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]
Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

در این تحقیق با افزایش رشد آرتمیا ارومیانا تا ۱۵ روزگی، میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی نیز افزایش یافت. این نتایج حاکی از آن است که توانایی آرتمیا در مصرف غذای بیشتر و متنوع‌تر همزمان با کامل شدن سیر تکامی موجود افزایش می‌یابد. بنابراین استفاده از آرتمیا ارومیانای بالغ در آبزی‌پروری با سود بیشتری در مقایسه با مصرف سیست‌ها و ناپلی‌ها همراه است.

تاکنون فعالیت آنزیم آمیلاز در آرتمیا ارومیانا به ثبت نرسیده بود، در این تحقیق برای اولین بار وجود این آنزیم در آرتمیا ارومیانا به اثبات رسید. این امر موید آن است که آرتمیا ارومیانا قادر به استفاده از مواد غذایی حاوی کربوهیدرات‌های زیاد است. با توجه به اینکه کربوهیدرات‌ها ارزان‌ترین منابع تامین انرژی در تغذیه آبزیان محسوب می‌شوند، این نکته حائز اهمیت اقتصادی زیادی است. این امکان وجود دارد که تغییرات آنزیم‌های گوارشی آرتمیا ارومیانا را به موازات یکدیگر در مراحل مختلف تکامل آن مورد بررسی و روابط همبستگی بین آنها را محاسبه تا مرحله بلوغ قرار داده و سپس با انتخاب یک گونه آبزی، میزان مقاومت، رشد و شاخص‌های تغذیه‌ای گروه تغذیه شده با این آرتمیا را با گروه تغذیه نشده با این آرتمیا (گروه شاهد) مورد مقایسه قرار داد. در هر حال، آگاهی کامل در مورد روند تغییر در فعالیت آنزیم‌های گوارشی در آرتمیا ارومیانا مستلزم انجام مطالعات بیشتری در آینده است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مسئولین محترم آزمایشگاههای شیلات و خاک‌شناسی گروه شیلات و محیط زیست دانشگاه تهران و پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه تشکر و قدردانی بعمل می آید. همچنین از زحمات سرکار خانم شیرین محمودی و آقایان حمید احمدی نیا و علیرضا اشتیاقی کمال تشکر را داریم.

منابع

آق، ن. و نوری، ف.، ۱۳۷۶. تولید انبوه آرتمیا در آزمایشگاه. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه. ۷۵ صفحه.

آق، ن.، ۱۳۸۱. بررسی بیولوژیکی و اکولوژیکی آرتمیا ارومیانا. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. شورای پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران. ۱۵۰ صفحه.

Bellini L., 1957a. Studio delle dipeptidasi e proteinasi nello svillupo di *Arteiiiiu suliiiu* Leach. Atti Acad tiuz Liiicei R .C., 22:340-346. *In*: (P. Lavens and P. Sorgeloos, 1996 eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. University of Ghent, Ghent, Belgium, 295P.

Bellini L., 1957b. Studio delle amilasi nello svillupo di *Artei7iiu saliiia* Leach. Arri Acad iiaz Liiicei R .C., 22:303-307. *In*: (P. Lavens and P. Sorgeloos, 1996 Eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. University of Ghent, Ghent, Belgium, 295P.

Bernfeld P., 1951. Amylases α and β. *In*: (P. Colowick and N.O. Kaplan Eds.), Methods in Enzymology, Academic Press, New York, USA. Vol. I, pp.149-157.

Chong A.S.C., Hashim R., Chow-Yang L. and Ali A.B., 2002. Partial characterization and activities of proteases from the digestive tract of discus fish *Symphysodon aeguifasciata.* Aquaculture, 203:321-333.

Dabrowski K., 1979. The role of proteolytic enzymes in fish digestion. *In*: (E. Styczynska-Jurewicz, T. Backiel, E. Jaspers & G. Persoone Eds.), Cultivation of fish fry and its live food. European Mariculture Society Spec. Publ. 4, Bredene.

Dabrowski K., 1982. Proteolytic enzyme activity decline in starving fish alevins and larvae. Environment Biology of Fish, 7:73-76.

Dabrowski K., 1984. Influence of initial weight during the change from live to compound feed on the survival and growth of four cyprinids. Aquaculture, 40:27–40.

Erlanger B., Kolkowsky N. and Cohen W., 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Archive Biochemistry Biophysics, 95:271-278.

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]
Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

Farhangi M. and Carter C.G., 2001. Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of dehulled lupin (*Lupins angustifolius*). Aquaculture Research, 32:329-340.

Francis G., Makkar H.P. S. and Becker K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture, 199:197-227.

Garcia-Ortega A., Verreth J.A.J., Coutteau P., Segner H., Huisman E.A. and Sorgeloos P., 1998. Biochemical and enzymatic characterization of decapsulated cysts and nauplii of the brine shrimp Artemia at different developmental stages. Aquaculture, 161:501-514.

Gauquelin F., Cuzon G., Gaxiola G., Rosas C., Arena L., Bureau D.P. and Cochard J.C., 2007. Effect of dietary protein level on growth and energy utilization by *Litopenaeus stylirostris* under laboratory conditions. Aquaculture, 271:439-448.

Gorospe J. and Nakamura K., 1996. Associated bacterial microflora in Artemia-rice bran culture. Bamidgeh 48(2):99–107.

Halver J.E. and Hardy R.W., 2002. Fish Nutrition. Academic Press, San Diego, 839P.

Laubier-Bonicahon A., Van Wormoudt A. and Sellos D., 1977. Croissance larvaire contrôlée de *Penaeus ,japonicas* Bate. Enzymes digestives et changements de régimes alimentaires. 3rd Meeting ICES Working Group Mariculture. Brest, France, Mai 1977. pp.131-145.1n: Actes et Colloques No. 4. CNEXO (Ed.), Brest, France. 381P.

Lavens P. and Sorgeloos P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. University of Ghent, Ghent, Belgium, 295P.

Levrat M.A., Moundras C., Younnes H., Morand C., Demigné C. and Rémésy C., 1996. Effectiveness of resistant starch, compared to guar gum, in depressing plasma cholesterol and enhancing fecal steroid excretion. Lipids, 31:1069-1075.

Lovett D.L. and Felder D.L., 1990. Ontogenic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). The Biological Bulletin, 178:144-159.

McEvoy L.A. and Støttrup J.G., 2003. Live feed in marine aquaculture. Oxford, UK, 318P.

Moraiti-Ioannidou M., Castritsi-Catharios J. and Miliou H., 2008. Biochemical composition and digestive enzyme activity during naupliar development of *Artemia* spp. from three solar saltworks in Greece. Aquaculture, 286:259-265.

Newkirk R.W., Classen H.L., Scott T.A. and Edney M.J., 2003. The digestibility and content of amino acids in toasted and non- toasted canola meals. Canola Journal of Animal Science, 83:131-139.

NRC (Nutritional Research Council), 1993. Nutrient Requirements of Fish, 128P.

Olguin M.C., Hisano N., D'Ottavio A.E., Zingale M.I., Revelant G.C. and Calderari S.A., 2003. Nutritional and antinutrtional aspects of Argentina soy flour assessed on weanling rats. Journal of Food Composition and Analysis, 16:441-449.

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]
Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

Olsen A.I., Attramadal Y., Jensen A. and Olsen Y., 1999. Influence of size and nutritional value of *Artemia franciscana* on growth and quality of halibut larva (*Hippoglossus hippoglossus*) during the live feed period. Aquaculture, 179:475-487.

Pavasovic M., Richardson N.A., Anderson A.J., Mann D. and Mather P.B., 2004. Effect of pH, temperature and diet on digestive enzyme profiles in the mud crab, *Scylla serrata.* Aquaculture, 242:641-654.

Pavasonic A., Anderson A.J., Mather P.B. and Richardson N.E., 2007. Influence of dietary protein on digestive enzyme activity, growth and tail muscle composition in redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture, 38:644-652.

Petterson D.S., Harris D. J., Rayner C. J., Blakeney A.B. and Choct M., 1999. Methods for the analysis of premium livestock grains. Australian Journal of Agricultural Research, 50:775-787.

Samain J.F., Boucher J. and Buestel D., 1976. Biological significance of protein content and of amylase and protease activities in *Artemia salina* L.: application aspects to nutritive studies [Signification biologique des teneurs protéiques et des activités de l'amylase et des protéases chez *Artemia salina* L.: aspects d'application à l'étude de la nutrition], in: Persoone, G., Jaspers, E. (Eds), Proceedings of the 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, 17-23 September, 1975, 1. Research in mariculture at laboratory- and pilot scale. pp.391-417.

Samain J.F., Moal J., Daniel J.Y., Le Coz J.R. and Jezequel M., 1980. The digestive enzymes amylase and trypsin during the development of Artemia: effect of food conditions. *In*: G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels and E. Jaspers Eds.), The brine shrimp Artemia: Physiology, Biochemistry, Molecular Biology, Universa Press, Wetteren, Belgium, 664P.

Schumann K., 1995. Artemia FAQ 1.1, Artemia Brineshrimp FAQ 1.1 http://web.cecs.pdx.edu. Cited 13 August 2008.

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

Twining S.S., Alexander P.A., Huibregste K. and Glick D.M., 1983. A pepsinogen from rainbow trout. comparative biochemistry and physiology. Part B. Biochemical and Molecular Biology, 75:109–112.

Van Wormhoudt T., 1973. Variations des protéases, des amylases et des protéines solubles au cours du développement larvaire chez *Palaemon serratus.* Marine Biology, 19: 245-248. *In*: (P. Lavens and P. Sorgeloos, 1996 Eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. University of Ghent, Ghent, Belgium, 295P.

Venou B., Alexis M. N., Fountoulaki E., Nengas I., Apostolopoulou M. and Castritsi-Catharíou I., 2003. Effect of extrusion of wheat and corn on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) growth, nutrient utilization efficiency, rates of gastric evacuation and digestive enzyme activities. Aquaculture, 225:207-223.

Warland D. and Warland T., 2001. Artemia: Decapsulation, hatching, feeding, ongrowing and enrichment, Oz Reef, Online, http://www.ozreef.org. Cited 20 August 2008.

Wickins J.F. and Lee D., 2002. Crustacean farming, ranching and culturing. 465P.

Worthington C.C., 1991. Worthington enzyme manual related biochemical. 3rd Edition. Freehold. New Jersey. pp. 38-42 (amylase).

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]

Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110012]

Downloaded from isfj.ir at 9:42 +0330 on Tuesday November 28th 2017

Comparison of the digestive enzyme activities in *Artemia urmiana* from nauplii to adult stages using different diets

Lashkarizadeh M. [(1)]; Farhangi M.[(2)*]; Agh N.[(3)] and Safari O.[(4)]

Farhangi@nrf.ut.ac.ir

1,2-Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, Tehran University, P.O.Box: 4111 Karj, Iran

3- Artemia & Aquatics Animals Research Institute, Uriya University, Urmia, Iran

4- Environment Department, Faculty of Environment & Natural Resources, Firdausi University, Mashhad, Iran

Received: March 2011 Accepted: October 2011

Keywords: *Artemia urmiana*, Digestive enzymes, Diet, Life stages

Abstract

Due to the importance of adult *Artemia* in aquaculture, information regarding the digestive enzyme activities variation with inexpensive diets has great importance in *Artemia* at different life stages. In this study, the effect of different inexpensive diets on digestive enzyme activities, including trypsin, amylse and lipase of *Artemia urmiana* was investigated in different life stages. The experiment was carried out with 5 treatments and each with 2 replicates over 15 days using 5 diets (wheat meal, common carp diet, soy meal, a mixture of soy meal and canola meal (compound diet 1) and a mixture of soy meal and wheat meal (compound diet 2) in a completely random design. Nauplii were introduced to their cultivation environments after hatching and the digestive enzyme activities were measured in days 5, 10 and 15 of the experiment. Positive and significant correlation were observed between the crude protein content of the diets and trypsin activity (0.74), the carbohydrate content of the diets and amylase activity (0.49), and crude fat content of the diets and lipase activity (0.84). The activities of all enzymes were increased with the *Artemia* development in this study. During the experimental period, the trypsin, activities were increased in all treatments with the exception of wheat meal treatment, amylase activities were increased in all treatments and lipase activities were increased in all treatments with the exception of common carp diet and wheat meal treatments. Digestive enzyme activities were affected by the diets and *Artemia* life stages. Regarding the increasing digestive enzyme activities until adult stage in *Artemia urmiana*, using adult *Artemia urmiana* decreases pressure on resources of Artemia cyst and nauplii in natural environments. In addition, this condition may result in more economic returns and better quality of adult *Artemia* compared to its cyst and nauplii.

*Corresponding author