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

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

بررسی اثرات طول دوره نوری بر فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی معده ای و روده ای در لارو و نوجوان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سکینه یگانه [۱]*، فرشته رمضان زاده [۲] ، خسرو جانی خلیلی [۱]، سیده صدیقه بابایی [۳]

*skyeganeh@gmail.com

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- دانشگاه تربیت مدرس نور

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۳ **تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۳**

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی دوره تکاملی آنزیم‌های گوارشی و تاثیر دوره نوری بر فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی معده‌ای (پپسین) و روده‌ای(فسفاتاز قلیایی وN- آمینوپپتیداز) در لارو و نوجوان قزل‌آلای رنگین‌کمان بود . تعداد ۳۶۰۰ لارو قزل‌آلا در آغاز تغذیه فعال (۱۸ روز پس از تفریخ) با میانگین وزن اولیه ۰/۰۰۹± ۱۱۹ میلی‌گرم در ۴ تیمار دوره نوری و هر تیمار با سه تکرار (۳۰۰ قطعه لارو در هر تکرار) قرار گرفتند و آزمایش طی ۶ هفته انجام شد. ۴ تیمار دوره نوری شامل ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی، ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی، ۴ ساعت روشنایی و ۲۰ ساعت تاریکی و ۲۴ ساعت روشنایی طراحی گردید. نمونه‌برداری از لاروها بصورت کاملاً تصادفی در روزهای ۰، ۱، ۳، ۵، ۸، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۹ و ۴۴ روز بعد از آغاز تغذیه فعال انجام شد. طبق نتایج بدست‌آمده، فعالیت آنزیم‌های گوارشی در لارو و نوجوان ماهی قزل‌آلا، تغییرات مشابهی با سن در همه تیمارهای نوری داشت. در انتهای آزمایش، فعالیت اختصاصی آنزیم پپسین و آمینوپپتیداز در تیمار نوری ۲۴ ساعت روشنایی نسبت به تیمارهای ۱۴ ساعت روشنایی، ۱۰ ساعت روشنایی و ۴ ساعت روشنایی بیشتر بود، اما اختلاف معنی‌داری در فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی بین دوره‌های نوری مختلف مشاهده نشد($p>0.05$). همچنین فعالیت آنزیم‌های گوارشی لارو و نوجوان قزل‌آلا، در دوره نوری طولانی‌تر، بهبود می‌یابد.

لغات کلیدی: دوره نوری، آنزیم‌های گوارشی، پپسین، N-آمینوپپتیداز، فسفاتاز قلیایی، قزل‌آلای رنگین‌کمان.

*نویسنده مسئول

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

مقدمه

پرورش ماهیان آب شیرین در اواخر دهه ۱۹۶۰ با واردات تخم‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از اروپا به ایران آغاز شد. امروزه، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به دلیل بازارپسندی زیاد و گوشت لذیذ، معمول‌ترین ماهی پرورشی آب شیرین محسوب می‌شود (Faramarzi *et al*., 2011). مطالعات تغذیه‌ای و فیزیولوژی ماهیان در مراحل اولیه تکامل لاروی، همچنین بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی ابزارهای با ارزشی جهت بهتر فهمیدن ظرفیت‌های تغذیه ای لارو جوان و استقرار پروتکل‌های تغذیه ای مناسب برای بهینه‌سازی پرورش لاروی می‌باشد. (Ueberschär, 1993; Diaz *et al*., 1997).

اندام‌های گوارشی طی مرحله اولیه زندگی به طور عمده تکامل یافته و فعالیت می‌کنند و توسعه آنتوژنیکی و عملکردی آنها بطور مستقیم رشد، بقا و شرایط تغذیه‌ای آنها را تعیین می‌کند. همچنین فعالیت آنزیم‌های گوارشی شاخص خوبی از ظرفیت گوارشی است و مستقیما تکامل لوله‌های گوارشی و وضعیت تغذیه‌ای ماهی را نشان می‌دهد (Ueberschär, 1993). توسعه آنتوژنیک آنزیم‌های گوارشی نشان‌دهنده تکامل دستگاه گوارشی و توانایی گوارش در ماهی می‌باشد و در نتیجه می‌تواند به عنوان یک شاخص وضعیت تغذیه‌ای در مراحل اولیه زندگی مورد استفاده قرار گیردِ (Yúfera & Darias, 2007). فرایند بلوغ دستگاه گوارش چند هفته پس از تخم گشایی، در لارو ماهی رخ می دهد و مربوط به تغییر نوع هضم از لاروی به بالغ است. دستیابی به بچه‌ماهی انگشت‌قد متکی به توسعه مناسب عملکرد گوارشی طی زندگی لاروی است و فرایند بلوغ دستگاه گوارش می‌تواند با ترکیب جیره‌ی غذایی تغییر کند (Zambonino-Infante & Cahu, 2001).

نور یکی از مهمترین عوامل موثر در روند زیستی آبزیان از جمله تغذیه، تولید مثل، مهاجرت، جهت‌یابی و غیره می‌باشد. اثرات این عامل روی ماهی از نظر کیفیت (طول موج‌های مختلف)، کمیت (شدت‌های مختلف) و دوره نوری (چرخه روزانه، تفاوت فصلی، عرض جغرافیایی) قابل بررسی می‌باشد (Sumpter, 1992). در این میان یکی از مهمترین عوامل موثر بر رشد و بقای لارو ماهیان، دوره نوری است.

اگرچه مطالعات خوبی در ارتباط با اثر دوره نوری بر عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان وجود دارد (حسینی نجدگرامی و ایرانی، ۱۳۸۵؛ قربانی و محمدی تبار، ۱۳۸۸؛ Taylor *et al*., 2006; Faramarzi *et al*., 2011)، اما مطالعات اندکی در ارتباط با فعالیت آنزیمی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Golchinfar *et al*., 2010) و هیچ مطالعه‌ای در ارتباط با اثر دوره نوری بر فعالیت آنزیمی انجام شده است (Shan *et al*., 2008). در این مطالعه سعی شده است تا اثر دوره نوری بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی معده و روده‌ای مورد بررسی قرار گیرد، تا بدین وسیله بتوان ظرفیت هضمی لارو این ماهی را هنگامی که از نظر فیزیولوژیک آماده دریافت غذای خارجی است، تعیین نموده، همچنین سرعت و میزان تغییرات آنزیمی و ارتباط آن با دوره نوری را مشخص کرد.

مواد و روش ها

تعداد ۶۰۰۰ تخم چشم‌زده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از مرکز تکثیر و پرورش ماهی سردآبی نیاک واقع درجاده هراز خریداری و به سالن آکواریوم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انتقال یافت. جهت انتقال تخم‌های چشم‌زده از یونولیت ۱۶ خانه‌ای (۴×۴) با ابعاد ۴۰× ۴۰ سانتیمتر، استفاده شد. در زمان انتقال (حدود ۳ ساعت)، جهت ایجاد دمای پایین و محافظت از تخم، در زیر یونولیت قطعات یخ و در روی تخم چشم‌زده، از پودر یخ استفاده شد. پس از عمل هم‌دمایی، تخم‌ها در ترافهای فایبرگلاس

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

(ابعاد ۲۱۵×۴۲×۱۲)، در یک لایه قرار گرفتند. لاروها، پس از جذب ۲/۳ کیسه زرده و شروع تغذیه فعال با میانگین وزنی ۰/۰۰۹± ۱۱۹ میلی گرم، از سبدهای تراف - خارج شده و بطور تصادفی با تراکم ۳۰۰ عدد در هر تکرار تقسیم بندی شدند. پارامترهای کیفی آب به صورت روزانه و با استفاده از دستگاه های اکسیژن متر (مدل CMD 200)، pH سنج (مدلSartorius PB-11) ساخت کشور انگلیس و دماسنج الکلی اندازه گیری شدند و مقادیر این پارامترها به ترتیب، mg/l ۰/۹۲±۸/۳۶، ۰/۳۲±۷/۶۲ و ۱/۸۴±۱۵/۰۲ درجه سانتی‌گراد برآورد شد. تغذیه لاروها، با استفاده از غذای آغازین بیومار (۵۲٪ پروتئین خام، ۱۳٪ چربی خام، ۰/۴٪ فیبر، ۹/۶٪ خاکستر) با اندازه ۰/۵ میلی-متر انجام شد.

لاروها به مدت ۴۴ روز بعد از جذب ۲/۳ کیسه زرده، در معرض تیمارهای نوری شامل ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی، ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی، ۴ ساعت روشنایی و بیست ساعت تاریکی و ۲۴ ساعت روشنایی قرار گرفتند. جهت ایجاد محیط ایزوله نوری از پوشش پلاستیکی مشکی ضخیم استفاده شد که تمامی سطوح تیمارهای نوری را می‌پوشاند. به عنوان منبع نوری از لامپهای فلورسنت ۱۸ واتی که با فاصله ۳۰ سانتی‌متر از سطح آب قرار گرفتند، استفاده شد. نمونه‌برداری از لاروها بطور کاملاً تصادفی و در صبح روزهای صفر، ۱، ۳، ۵، ۸، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۹ و ۴۴ روز بعد از آغاز تغذیه فعال (۱۹، ۲۳، ۲۵، ۲۸، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۸، ۶۳ روز پس از تخم گشایی) انجام شد. جهت نمونه برداری، لاروها از ۱۲ ساعت قبل غذادهی نشدند، تا دستگاه گوارش آنها از مواد غذایی بخوبی تخلیه شود. پس از نمونه برداری، با استفاده از دستمال کاغذی قطرات آب اضافی لاروها جذب شد و بلافاصله نمونه‌ها در شرایط انجماد ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا مرحله سنجش نگهداری شدند.

تعیین فعالیت آنزیم پپسین با روش Anson (1983) و با استفاده از محلول هموگلوبین ۲/۵ درصد رقیق شده در اسید کلریدریک ۰/۳ نرمال به عنوان سوبسترا انجام شد. یک واحد از فعالیت پپسین به‌عنوان ۱میکرومول تیروزین رهاشده در دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۲۸۰ نانومتر تعیین شد. از رابطه زیر جهت محاسبه فعالیت آنزیم استفاده شد:

$$(U) = \frac{\text{میزان پروتئین (mg)}}{\text{فعالیت آنزیمی}} / \frac{Df \times ۴ \times ۱۰۰۰ \times (۲۸۰nm)}{\text{میزان جذب}}$$

$$\text{میزان پروتئین در نمونه (mg)} \times ۱۰ \times ۱۲۵۰$$

Df: فاکتور رقت.

۱۲۵۰: ضریب ثابت مولکولی تیروزین و عدد ۱۰ مدت زمان انکوباسیون نمونه است.

جهت سنجش آنزیم فسفاتاز قلیایی از پارا- نیتروفنیل فسفات به عنوان سوبسترا استفاده شد (Gisbert *et al*., 2009). پارا ـ نیتروفنیل فسفات در حضور بافر BTEE (بنزوئین تیروزین اتیل استر) آماده شد. یک واحد از فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی در هر میلی‌لیتر، برابر است با یک میکرومول پارا نیتروفنل که در هر دقیقه از یک میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی در ۴۰۷ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد آزاد شد. از رابطه زیر جهت محاسبه فعالیت آنزیم استفاده شد:

$$\text{تغییر میزان جذب} \times ۱۰۰۰ = \text{فعالیت آنزیمی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد}$$

$$\text{جذب شاهد} - \text{جذب نمونه} = \text{تغییر میزان جذب}$$

اندازه‌گیری آنزیم N-آمینوپپتیداز به روش Spunging & Blumberg (1989)، Prescott & Wilkes (1976) انجام شد. در این روش از معرف L-Leucine P-Nitroanilide که در متانول حل شده است به عنوان سوبسترا استفاده گردید. ۲ میلی لیتر محلول ۱ میلی مولار این معرف با ۱ میلی لیتر بافر ۲۰۰ میلی مولار فسفات سدیم در pH ۷ و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

آب دیونیزه مخلوط گردید و حجم آن با آب دیونیزه به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد، سپس ۹۰۰ میکرولیتر از این مخلوط را با ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج شده سریعاً مخلوط کرده و تغییر جذب برای ۵ دقیقه، هر دقیقه در ۴۰۵ نانومتر قرائت گردید. از رابطه زیر جهت محاسبه فعالیت آنزیم استفاده شد:

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

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

پروتئین محلول نمونه‌های آنزیمی با روش Bradford (1976) و با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان استاندارد سنجیده شد. به منظور تهیه محلول برادفورد ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم ماده شیمیایی کوماسی بلو را در ۵۰ میلی لیتر الکل اتانول ۹۵٪ و ۱۰۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵٪ حل نموده و سپس حجم محلول بدست آمده با بکارگیری آب دوبار تقطیر به حجم ۱۰۰۰ میلی-لیتر رسانده شد. این محلول توسط کاغذ فیلتر واتمن نمره ۱، فیلتر شده و دور از نور تا زمان سنجش آنزیمی در یخچال نگهداری گردید.

نتایج حاصل با استفاده ازنرم افزار SPSS (version 17) تجزیه و تحلیل گردید. نرمال‌بودن داده‌ها با روش کولموگراف-اسمیرنوف بررسی شد. برای تعیین معنی دار بودن یا نبودن اختلاف تیمارها از روش تجزیه واریانس دوطرفه (Two-Way-ANOVA) در قالب طرح کاملا تصادفی، استفاده شد. میانگین ها با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شدند. تمام ارزیابی ها نیز در سه تکرار انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار آماری Excel استفاده گردید.

نتایج

مطابق جدول ۱، فعالیت اختصاصی آنزیم پپسین در همه تیمارهای نوری از روز ۱۹ تا ۳۵ پس از تفریخ روند نسبتا افزایشی نشان داد و در روز ۳۵ به بیشترین میزان فعالیت خود رسید ($P\leq ۰/۰۵$، df=۱۰، F=۱۴۲/۶) که مقادیر آن در تیمارهای نوری مختلف، تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$، df=۳، F=۴/۷۶)، پس از آن تا انتهای دوره پرورش، روند نسبتا یکنواختی در فعالیت آن مشاهده شد ($P>۰/۰۵$، df=۱۰، F=۱۴۲/۶).

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده، از روز ۱۹ تا ۲۵ افزایش کمی در فعالیت آنزیم آمینوپپتیداز مشاهده شد ($P>۰/۰۵$، df=۱۰، F=۷۴۳/۳۸). پس از آن تا روز ۳۵ میزان فعالیت آنزیمی بدون اختلاف معنی دار، کاهش یافت. همچنین از روز ۳۵ تا ۴۵، فعالیت آنزیمی افزایش پیدا کرد ($P\leq ۰/۰۵$، df=۳، F=۷۴۳/۳۸)، پس از آن تا روز ۵۰ کاهش در فعالیت دیده شد. سپس تا روز ۵۸ فعالیت آنزیمی به میزان قابل توجهی افزایش پیدا کرد، که مقادیر آن در تیمار نوری ۲۴ ساعت روشنایی، بیشترین و در گروه ۴ ساعت روشنایی و بیست ساعت تاریکی، کمترین بود، همچنین از روز ۵۸ تا ۶۳ کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیمی همه گروه‌های پرورشی مشاهده شد ($P\leq ۰/۰۵$، df=۳، F=۱۳/۴۹).

طی دوره آزمایش روند نسبتا افزایشی در فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی مشاهده شد. از روز ۱۹ تا ۲۵ آزمایش، فعالیت این آنزیم افزایش یافت ($P\leq ۰/۰۵$، df=۱۰، F=۸۵/۰۶، جدول ۳)، سپس تا روز ۳۰ کاهش در فعالیت

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]

Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

مشاهده شد، اما از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین از روز ۳۵ تا ۴۰ و ۴۵ تا ۵۰ فعالیت آنزیمی مجددا کاهش پیدا کرد (P>۰/۰۵، df=۱۰، F=۸۵/۰۶). پس از آن، تا انتهای دوره، افزایش فعالیت با اختلاف معنی-دار به‌دست آمد (P≤۰/۰۵، df=۱۰، F=۸۵/۰۶). بالاترین فعالیت آنزیمی در انتهای دوره آزمایش، در تیمار ۲۴ ساعت روشنایی و کمترین فعالیت در گروه ۴ ساعت روشنایی و بیست ساعت تاریکی مشاهده شد (P>۰/۰۵، df=۳، F=۸/۵۴).

جدول ۱: فعالیت اختصاصی آنزیم پپسین (u/mg protein) لارو و نوجوان ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای نوری مختلف طی دوره پرورش (روزهای ۱۹، ۲۳، ۲۵، ۲۸، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۸، ۶۳ پس از تخم‌گشایی).

تیمار / روز	۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی (Mean±SD)	۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی (Mean±SD)	۲۴ ساعت روشنایی (Mean±SD)	۴ ساعت روشنایی و ۲۰ ساعت تاریکی (Mean±SD)
۱۹	$_{A}^{a}$۸/۲۲۳±۱/۱۸۹	$_{A}^{a}$۸/۴۹۳±۰/۹۲۶	$_{A}^{a}$۷/۸۸۸±۱/۷۱۷	$_{A}^{a}$۸/۱۱۱±۰/۷۹۰
۲۳	$_{A}^{a}$۱۲/۵۹۵±۳/۲۷	$_{A}^{a}$۱۲/۰۱۶±۱/۴۳	$_{A}^{a}$۱۱/۸۷۹±۴/۸۰	$_{A}^{a}$۱۱/۵۴۶±۲/۵۶
۲۵	$_{A}^{b}$۲۵/۳۲±۲/۲۳	$_{A}^{b}$۲۶/۶۹±۲/۶۳	$_{A}^{b}$۲۹/۴۷±۳/۲۷	$_{A}^{b}$۲۴/۳۶±۷/۱۵
۲۸	$_{A}^{c}$۳۵/۷۵±۹/۹۸	$_{A}^{bc}$۳۵/۵۹±۹/۳۸	$_{A}^{bc}$۳۸/۵۳±۷/۵۶	$_{A}^{bc}$۳۴/۵۷±۴/۰۵
۳۰	$_{A}^{c}$۳۹/۲۰±۳/۸۲	$_{A}^{c}$۳۷/۲۵±۷/۴۳	$_{A}^{c}$۴۲/۷۹±۷/۶۴	$_{A}^{c}$۳۶/۵۵±۶/۴۹
۳۵	$_{A}^{b}$۶۲/۹۳±۴/۳۹	$_{A}^{d}$۶۲/۰۵±۷/۲۸	$_{A}^{d}$۶۳/۴۲±۵/۴۵	$_{A}^{d}$۵۸/۷۹±۱۲/۴۳
۴۰	$_{A}^{d}$۵۹/۳۱±۷/۵۰	$_{A}^{d}$۵۶/۶۴±۲/۵۷	$_{A}^{d}$۵۹/۵۲±۹/۹۰	$_{A}^{d}$۴۹/۱۴±۹/۰۰
۴۵	$_{A}^{d}$۵۸/۳۵±۴/۱۰	$_{A}^{d}$۵۷/۳۳±۲/۶۵	$_{A}^{d}$۵۹/۳۵±۴/۱۸	$_{A}^{d}$۵۰/۴۳±۵/۴۳
۵۰	$_{A}^{d}$۵۹/۵۵±۱۰/۳۰	$_{A}^{d}$۵۸/۰۶±۵/۳۱	$_{A}^{d}$۶۰/۳۴±۶/۹۲	$_{A}^{d}$۵۱/۳۳±۱/۹۶
۵۸	$_{A}^{d}$۵۹/۶۶±۵/۰۷	$_{A}^{d}$۵۹/۴۰±۴/۲۷	$_{A}^{d}$۶۰/۶۰±۴/۹۷	$_{A}^{d}$۵۵/۷۰±۳/۶۷
۶۳	$_{A}^{d}$۶۱/۹۳±۴/۰۵	$_{A}^{d}$۶۱/۳۳±۶/۲۴	$_{A}^{d}$۶۳/۷±۳/۶۹	$_{A}^{d}$۵۹/۷۱±۵/۱۳

در هر ستون میانگین‌هایی که فاقد یک حرف مشترک از حروف a, b, c, d,... می‌باشند نسبت به هم دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند (P≤۰/۰۵، df=۱۰، F=۱۴۲/۶).

در هر ردیف، میانگین‌هایی که فاقد یک حرف مشترک از حروف A, B, ... می‌باشند نسبت به هم دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند (P≤۰/۰۵، df=۳، F=۴/۷۶).

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]

Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

جدول ۲: فعالیت اختصاصی آنزیم آمینوپپتیداز (u/mg protein) لارو و نوجوان ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای نوری مختلف طی دوره پرورش (روزهای ۱۹، ۲۳، ۲۵، ۲۸، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۸، ۶۳ پس از تخم‌گشایی).

تیمار / روز	۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی (Mean±SD)	۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی (Mean±SD)	۲۴ ساعت روشنایی (Mean±SD)	۴ ساعت روشنایی و ۲۰ ساعت تاریکی (Mean±SD)
۱۹	۰/۳۰۵±۰/۰۰۸۴$_{A}^{a}$	۰/۲۷۵±۰/۰۱۶۱$_{A}^{ab}$	۰/۲۵۵±۰/۰۱۰۶$_{A}^{a}$	۰/۲۵۲±۰/۰۲۴۸$_{A}^{ab}$
۲۳	۰/۳۶۸±۰/۰۸۰۲$_{A}^{ab}$	۰/۳۶۵±۰/۰۱۵۵$_{A}^{bc}$	۰/۳۵۸±۰/۰۴۳۵$_{A}^{ab}$	۰/۲۶۱±۰/۰۱۰۸$_{A}^{ab}$
۲۵	۰/۴۲۲±۰/۰۵۸۳$_{A}^{ab}$	۰/۴۲۰±۰/۰۶۸۴$_{A}^{cd}$	۰/۴۱۱±۰/۰۹۹۹$_{A}^{ab}$	۰/۳۹۸±۰/۰۴۷۵$_{A}^{cd}$
۲۸	۰/۳۶۷±۰/۰۳۹۹$_{A}^{ab}$	۰/۳۷۶±۰/۰۴۹۶$_{A}^{bc}$	۰/۳۷۵±۰/۰۴۹۵$_{A}^{ab}$	۰/۳۴۹±۰/۰۱۸۳$_{A}^{bc}$
۳۰	۰/۳۱۹±۰/۰۵۱۳$_{A}^{a}$	۰/۳۰۳±۰/۰۲۹۷$_{A}^{ab}$	۰/۳۳۷±۰/۰۲۲۴$_{A}^{a}$	۰/۲۵۲±۰/۰۱۲۲$_{A}^{ab}$
۳۵	۰/۲۷۴±۰/۰۴۱۸$_{AB}^{a}$	۰/۲۵۸±۰/۰۲۴۶$_{AB}^{a}$	۰/۳۲۱±۰/۰۳۰۲$_{A}^{a}$	۰/۲۰۵±۰/۰۱۸۶$_{B}^{a}$
۴۰	۰/۳۰۱±۰/۰۶۰۸$_{A}^{a}$	۰/۲۸۳±۰/۰۴۱۱$_{A}^{ab}$	۰/۳۱۲±۰/۰۴۵۰$_{A}^{a}$	۰/۲۷۵±۰/۰۳۱۵$_{A}^{ab}$
۴۵	۰/۵۰۹±۰/۰۷۴۰$_{A}^{b}$	۰/۵۰۲±۰/۰۲۸۹$_{A}^{d}$	۰/۵۲۷±۰/۰۷۷۴$_{A}^{b}$	۰/۴۵۲±۰/۰۱۴۴$_{A}^{d}$
۵۰	۰/۳۲۵±۰/۰۲۲۹$_{A}^{a}$	۰/۳۰۴±۰/۰۱۰۶$_{A}^{ab}$	۰/۳۴۳±۰/۰۱۲۶$_{A}^{a}$	۰/۲۷۸±۰/۰۰۳۸$_{A}^{ab}$
۵۸	۱/۷۱۳±۰/۰۱۳۹$_{A}^{d}$	۱/۷۰۹±۰/۰۸۰۴$_{A}^{f}$	۱/۷۷۷±۰/۰۷۳۶$_{A}^{d}$	۱/۵۴۷±۰/۰۲۸۹$_{B}^{f}$
۶۳	۱/۵۵۷±۰/۰۳۵۲$_{A}^{c}$	۱/۴۹۴±۰/۰۴۰۸$_{A}^{e}$	۱/۵۷۷±۰/۰۶۱۳$_{A}^{c}$	۱/۴۷۲±۰/۰۴۲۷$_{A}^{e}$

در هر ستون میانگین‌هایی که فاقد یک حرف مشترک از حروف a, b, c, d, ... می‌باشند نسبت به هم دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند (F=۷۴۳/۳۸ ،df=۱۰ ،P≤۰/۰۵).

در هر ردیف، میانگین‌هایی که فاقد یک حرف مشترک از حروف A, B,... می‌باشند نسبت به هم دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند (P≤۰/۰۵، F=۱۳/۴۹ ،df=۳).

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]

Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

جدول ۳: فعالیت اختصاصی آنزیم فسفاتاز قلیایی (u/mg protein) لارو و نوجوان ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای نوری مختلف (طی دوره پرورش (روزهای ۱۹، ۲۳، ۲۵، ۲۸، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۸، ۶۳ پس از تخم‌گشایی).

روز / تیمار	۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی (Mean±SD)	۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی (Mean±SD)	۲۴ ساعت روشنایی (Mean±SD)	۴ ساعت روشنایی و ۲۰ ساعت تاریکی (Mean±SD)
۱۹	۰/۹۲۸±۰/۱۹۵$_{A}^{a}$	۰/۹۷۳±۰/۱۷۱$_{A}^{a}$	۰/۷۶۵±۰/۱۰۴$_{A}^{a}$	۰/۹۴۴±۰/۱۵۹$_{A}^{a}$
۲۳	۱/۳۷۰±۰/۲۹۸$_{A}^{ab}$	۱/۴۰۴±۰/۲۹۹$_{A}^{ab}$	۱/۳۱۸±۰/۱۷۱$_{A}^{b}$	۱/۲۵۰±۰/۲۱۳$_{A}^{ab}$
۲۵	۱/۶۸۰±۰/۴۱۴$_{A}^{bc}$	۱/۶۴۸±۰/۱۹۵$_{A}^{bc}$	۱/۷۸۸±۰/۲۱۹$_{A}^{bc}$	۱/۴۴۸±۰/۰۷۷۷$_{A}^{ab}$
۲۸	۱/۲۶۳±۰/۲۱۱$_{A}^{ab}$	۱/۲۸۲±۰/۱۵۱$_{A}^{ab}$	۱/۳۰۹±۰/۱۵۹$_{A}^{b}$	۱/۱۸۴±۰/۰۲۸۸ $_{A}^{ab}$
۳۰	۱/۲۰۹±۰/۲۰۶$_{A}^{ab}$	۱/۱۸۰±۰/۱۸۷ $_{A}^{ab}$	۱/۲۷۹±۰/۲۲۷$_{A}^{b}$	۱/۰۸۲±۰/۱۴۸$_{A}^{ab}$
۳۵	۱/۵۴۵±۰/۳۹۳$_{A}^{abc}$	۱/۶۳۴±۰/۱۲۶$_{A}^{bc}$	۱/۶۹۷±۰/۱۷۵$_{A}^{bc}$	۱/۴۰۶±۰/۱۹۲$_{A}^{abc}$
۴۰	۱/۲۸۸±۰/۱۳۶ $_{A}^{ab}$	۱/۲۰۰±۰/۲۷۱$_{A}^{ab}$	۱/۴۱۰±۰/۰۹۹$_{A}^{b}$	۱/۱۸۹±۰/۱۷۷$_{A}^{ab}$
۴۵	۲/۱۰۷±۰/۲۰۵$_{A}^{cd}$	۲/۱۲۱±۰/۲۳۰$_{A}^{c}$	۲/۱۸۸±۰/۳۰۶$_{A}^{c}$	۱/۸۷۹±۰/۲۳۹$_{A}^{b}$
۵۰	۱/۵۲۵±۰/۲۲۲$_{A}^{abc}$	۱/۵۶۴±۰/۱۸۵$_{A}^{abc}$	۱/۵۹۹±۰/۲۹۲$_{A}^{b}$	۱/۴۱۷±۰/۲۶۶$_{A}^{ab}$
۵۸	۲/۶۷۰±۰/۲۵۵$_{A}^{d}$	۳/۰۵±۰/۵۹۸$_{A}^{d}$	۳/۰۵۹±۰/۳۸۹$_{A}^{d}$	۲/۹۰۰±۰/۷۹۴$_{A}^{c}$
۶۳	۴/۴۵۴±۰/۸۳۵$_{AB}^{e}$	۴/۴۶۷±۰/۶۴۶$_{AB}^{e}$	۴/۷۶۶±۰/۶۰۴$_{A}^{e}$	۴/۰۸۸±۱/۲۵۰$_{B}^{d}$

در هر ستون، میانگین‌هایی که فاقد یک حرف مشترک از حروف a, b, c, d,… می‌باشند نسبت به هم دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند (F=۸۵/۰۶ ،df=۱۰ ،P≤۰/۰۵).

در هر ردیف، میانگین‌هایی که فاقد یک حرف مشترک از حروف A, B می‌باشند نسبت به هم دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند (F=۸/۵۴ ،df=۳ ،P≤۰/۰۵).

بحث

آگاهی از عملکرد دستگاه گوارشی و آنزیم‌های مترشحه از آن، می‌تواند به تامین مواد مغذی با قابلیت هضم و جذب بهتر در جیره غذایی ماهی کمک کند، همچنین الگوی آنزیم‌های گوارشی می‌تواند نشان‌دهنده عادت غذایی ماهی باشد (Hidalgo *et al.*, 1999; Hofer & Kock, 1989). تغییر در فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌تواند با شروع تغذیه خارجی و همچنین افزایش سن صورت گیرد (Ilina & Turetskiy, 1988). هر یک از آنزیم‌های گوارشی لارو ممکن است الگوی خاصی از تغییرات متناسب با سن را متحمل شوند که احتمالا

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

وابسته به تغییرات فیزیولوژیکی و آناتومی آنها طی تکامل اولیه می‌باشد (Shan *et al*., 2008).

پپسین آنزیم گوارشی عمده در معده حیوانات است که به عنوان زایموژن غیرفعال پپسینوژن از سلولهای عمده غدد اکسینتیک واقع در اپیتلیوم دیواره معده ترشح می‌شود. در محیط اسیدی پپسینوژن سریعا به پپسین تبدیل می‌شود (Kuz'mina & Skvortsova, 2003). این آنزیم یک آنزیم معدی است که توسط این اندام ترشح می‌شود و بررسی‌ها در ماهیان مختلف از جمله White bream (*Abramis bjoerkna*) نشان داد که با رشد لارو و تکامل بیشتر دستگاه گوارش مانند معده، میزان فعالیت این آنزیم افزایش بیشتری می‌یابد (Cara *et al*., 2003).

تغییرات مشابهی همراه با سن، در فعالیت آنزیمی همه تیمارهای نوری وجود داشت. طبق نتایج بدست آمده، فعالیت اختصاصی آنزیم پپسین طی دوره، پروفایل افزایشی نشان داد. در همه تیمارها فعالیت اختصاصی آنزیم پپسین از روز ۱۹ تا ۳۵ پس از تفریخ روند افزایشی داشت و در روز ۳۵ به بیشترین میزان فعالیت خود رسید ($P\leq ۰/۰۵$، df=۱۰، F=۱۴۲/۶). همانطور که در سایر گونه‌ها مشاهده شده است، افزایش فعالیت آنزیمی، ممکن است به‌علت توسعه ارگانهایی مانند غدد معدی می‌باشد (Cara *et al*., 2003; Zamani *et al*., 2009). Sarieyyüpoğlu *et al*., (2003)، در مطالعه‌ی بافت-شناسی دستگاه گوارش قزل‌آلای رنگین‌کمان، گزارش کردند که دو روز پس از تفریخ، معده به صورت یک بخش مجزا از مری تشکیل می‌گردد و اولین علامت تشکیل غدد معدی در روز ۲۲ پس از تفریخ مشاهده می-شود. و در لارو ۲۹ روزه غدد معدی، متعدد می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های Golchinfar *et al*., (2010) مطابقت دارد، آنها گزارش کردند در ماهی قزل-آلا، پپسین از روز دواز دهم تا سی و یکم پس از تفریخ روند نسبتا افزایشی داشت. در مطالعات انجام‌شده Mojazi Amiri *et al*., (2005) در مورد قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo caspius*) ، پس از ۲۸ روزگی فعالیت پپسین تا روز ۵۸ افزایش یافت که می‌تواند با تشکیل معده عملکردی و ترشح غدد معدی توضیح داده شود (Ribeiro *et al*., 1999). Babaei *et al*., (2011) نیز افزایش پپسین را از زمان شروع تغذیه خارجی (همراه با تغذیه داخلی) تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) یعنی از روز نهم مشاهده کردند. بررسی‌ها نشان داد که در ماهیان گوشتخوار با افزایش سن، فعالیت آنزیم‌های پروتئازی مانند پپسین افزایش می‌یابد (Kuz'mina, 1996; Mojazi Amiri, 2005). با توجه به بالا بودن میزان پروتئین در غذای آزاد ماهیان باید گفت که حدود ۱۰ درصد از باندهای پپتیدی در معده شکسته می‌شود و مابقی باندها در روده توسط آنزیم‌های پروتئاز روده‌ای شکسته می‌شود (Ugolev & Kuz'mina, 1994).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد طی آزمایش، دوره نوری اثر معنی‌داری روی فعالیت اختصاصی آنزیم پپسین گذاشت و بیشترین فعالیت در تیمار ۲۴ ساعت روشنایی مشاهده شد ($P\leq ۰/۰۵$، df=۳، F=۴/۷۶)، اما در روزهای پرورش اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار نبود. اگرچه بیشترین و کمترین فعالیت به‌ترتیب در تیمار ۲۴ ساعت روشنایی و ۴ ساعت روشنایی و بیست ساعت تاریکی مشاهده گردید. مطالعه Suzer *et al*., (2006) ، روی لارو (*Pagellus erythrinus*) نشان داد که شدت نوری در مدت ۳۰ روز پس از تفریخ، روی فعالیت آنزیم پپسین در گروه‌های آزمایشی اثری نداشت و اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. البته فعالیت پپسین در لارو این ماهی ابتدا در روز ۲۵ بعد از تفریخ یافت شد. نور روی تنظیم فعالیت اختصاصی آنزیم پپسین، مستقل از کمیت و کیفیت غذایی اثر می-گذارد (Suzer *et al*., 2006).

آنزیم N-آمینوپپتیداز، یکی از آنزیم‌های نوار مسواکی روده‌ای است که در مراحل نهایی هضم غذا در ماهی، به شکست باندهای پپتیدی پروتئین‌های هیدرولیز شده کمک می‌کند. این آنزیم در زمان تغذیه اولیه، پایین می-باشد و متعاقبا همراه با سن افزایش می‌یابد (Cahu &

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

Sarieyyüpoğlu *et* .Zambonino-Infante, 1995) (2000) ,*al*.، در مطالعه‌ی بافت‌شناسی دستگاه گوارش قزل‌آلای رنگین‌کمان، گزارش کردند که در روز سوم پس از تفریخ، روده از معده تمایز می‌یابد، و نوار مسواکی در ناحیه اپیتلیال مشاهده می‌شود.

الگوی آنتوژنیک مشابهی در فعالیت اختصاصی آمینوپپتیداز در همه تیمارهای نوری مشاهده شد. مطابق جدول ۲ فعالیت اختصاصی آمینوپپتیداز روند افزایشی نشان داد (P≤۰/۰۵، df=۱۰، F=۷۴۳/۳۸). . آمینوپپتیدازها در بافت‌های مختلفی از جمله خون، کبد و کلیه پراکنده شده‌اند و تعیین مرحله‌ای که روده شروع به سنتز این آنزیم می‌کند، مشکل است (Kurokawa & Suzuki., 1998). در مطالعه انجام‌شده توسط Ma *et al*., (2005) روی لارو کروکر زرد Large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) فعالیت آمینوپپتیداز از روز ۲۱-۴۰ به میزان ۳ برابر افزایش یافت. افزایش در فعالیت آمینوپپتیداز، بلوغ نرمال انتروسیت‌ها را در غشای نوار مسواکی لارو در حال تکامل همانند سایر گونه‌ها شامل پستانداران، توصیف می‌کند. تشکیل یک غشای نوار مسواکی کارآمد، حالت بالغ گوارش توسط انتروسیت‌ها را نشان می‌دهد (Henning *et al*., 1994).

بنابر نتایج تحقیق حاضر در انتهای دوره پرورش، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در میزان فعالیت آنزیم آمینوپپتیداز مشاهده شد (P≤۰/۰۵، df=۳، F=۱۳/۴۹). به استثنای روزهای ۳۵ و ۵۸ آزمایش، در سایر روزها اختلاف بین تیمارهای نوری معنی‌دار نبود. همچنین، بالاترین مقادیر فعالیت در تیمار ۲۴ ساعت روشنایی و کمترین میزان در گروه ۴ ساعت روشنایی و بیست ساعت تاریکی محاسبه شد. دوره نوری طولانی، احتمالا موجب تغذیه بهتر و رشد بیشتر و در نتیجه فعالیت آنزیمی بیشتر می‌گردد.

آلکالین فسفاتاز عمدتا در غشای سلولی که در آن انتقال فعال صورت می‌گیرد، یافت شده است و به عنوان یک نشانگر عمده جذب مواد غذایی در نظر گرفته شده است. فعالیت آلکالین فسفاتاز اغلب برای ارزیابی عملکرد غشای روده مورد استفاده قرار می‌گیرد (Wahnon *et al*., 1992). در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) همراه با جذب ۲/۳ کیسه زرده، فعالیت فسفاتاز قلیایی افزایش می‌یابد که این افزایش با تکامل و تمایز اندام‌های گوارشی در ارتباط می‌باشد (Zamani *et al*., 2009). با توجه به وجود آنزیم فسفاتاز قلیایی در روده و عملکرد آن در آخرین مراحل هضم و گوارش، تصور بر اینست که این آنزیم علامتی برای جذب مواد مغذی باشد (Senger *et al*., 1994).

در تحقیق حاضر فعالیت اختصاصی فسفاتاز قلیایی، همراه با سن ماهی افزایش نشان داد ((P≤۰/۰۵، df=۱۰، F=۸۵/۰۶، جدول ۳). افزایش مقادیر این آنزیم در روده نشان‌دهنده تکامل انتروسیت‌های عملکردی است. در مطالعه انجام شده توسط Zamani *et al*., (2009) روی لارو قزل‌آلای قهوه‌ای طی روزهای ۲۸ تا ۵۸ افزایش در فعالیت آنزیمی مشاهده شد. همچنین در بررسی Kuz'mina (1996) روی اردک‌ماهی و سوف که ماهیان گوشتخوارند، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با افزایش سن، افزایش یافت. بر طبق مطالعات Gisbert *et al*., (2009) با افزایش سن فعالیت آنزیم‌های غشای نوارمسواکی افزایش می‌یابد که این ویژگی بلوغ نرمال انتروسیت‌های روده‌ای و شکل‌گیری غشای نوار مسواکی کارآمد در لارو ماهی است. Babaei *et al*., (2011) در تحقیق خود در ارتباط با تکامل آنزیم‌های گوارشی تاسماهی ایرانی (*Acipeser persicus*) در طول مرحله لاروی، مشاهده کردند که فعالیت آلکالین فسفاتاز، ۲۴-۱۹ روز پس از تفریخ افزایش می‌یابد و پس از آن ثابت می‌ماند که این موضوع را نشانه‌ی بلوغ روده و حصول قابلیت هضمی مشابه بچه‌ماهی جوان بیان کردند.

طبق نتایج بدست آمده، دوره نوری اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیمی فسفاتاز قلیایی ایجاد نکرد (P>۰/۰۵، df=۳، F=۸/۵۴). اگرچه تغییرات معنی‌داری همراه با سن

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

در همه تیمارها وجود داشت. در انتهای آزمایش بالاترین و کمترین فعالیت آنزیمی به‌ترتیب در تیمار ۲۴ ساعت روشنایی و ۴ ساعت روشنایی و بیست ساعت تاریکی برآورد شد. اگرچه تیمارهای ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی، ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی و ۲۴ ساعت روشنایی باهم تفاوت معنی‌داری نداشتند، ولی نسبت به گروه ۴ ساعت روشنایی و بیست ساعت تاریکی اختلاف معنی‌دار آماری نشان دادند. یافته‌های مشابهی در بررسی Xiaowu *et al*., (2001) روی خرچنگ *Eriocheir sinensis* بدست آمد. در گزارش این محققین، نور روی فعالیت فسفاتاز اثر معنی‌داری ایجاد نکرد.

در مطالعات انجام شده، اثر دوره نوری بر رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان (حسینی‌نجدگرامی و ایرانی، ۱۳۸۵؛ قربانی و محمدی تبار،۱۳۸۸) به‌خوبی مشخص شده است. دوره نوری با اثر بر سیستم غدد درون‌ریز به‌خصوص هورمون رشد، موجب افزایش اشتها و ضریب تبدیل غذایی می‌شود (Simensen *et al*., 2000). نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش طول دوره نوری از ۴ ساعت به ۲۴ ساعت روشنایی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و در نتیجه قابلیت هضمی قزل‌آلای رنگین‌کمان بهبود می‌یابد، لذا می‌توان گفت افزایش رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دوره‌نوری بیشتر، می‌تواند بازتابی از فعالیت آنزیمی و در نتیجه قابلیت هضمی بیشتر باشد.

منابع

حسینی نجد گرامی، ا. و ایرانی، ع.، ۱۳۸۵. تاثیر رژیم نوری بر رشد، بقا و پارامترهای تغذیه‌ای لارو نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پژوهش و سازندگی در امور آبزیان شماره ۷۲. صفحه ۲-۵.

قربانی، ع. و محمدی تبار، ب.، ۱۳۸۸. بررسی تاثیردوره‌های گوناگون نوری بر روی رشد ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان. مطالعه موردی پژوهشکده آبزی‌پروری آبهای داخلی، بندر انزلی، ۱۲ صفحه.

Anson M.L., 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with Hemoglobin. Journal of General Physiology, 22: 79-89.

Babaei S.S., Abedian Kenari A.M., Nazari R.M., and Gisbert E., 2011. Developmental changes of digestive enzymes in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) during larval ontogeny. Aquaculture, 318: 138-144.

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

Cahu C.L., and Zambonino-Infante J.L., 1995. Maturation of the pancreatic and intestinal digestive function in sea bass, *Dicentrarchus labrax*: Effect of weaning with different protein sources. Fish Physiology and Biochemistry, 14: 431–437.

Cardenas S., Fernandez-Diaz C., and Yuffera M., 2003. Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream. Journal of Fish Biology, 63: 48-58.

Diaz M., Moyano F.J., Garcia-Carreno F.L., Alarcon F.J., and Sarasquete M.C., 1997. Substrate-SDS-PAGE determination of protease activity through larval development in sea bream. Aquaculture International, 5: 461–471.

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

Faramarzi M., Kiaalvandi S., and Iranshahi F., 2011. The influence of photoperiod regims on growth performance and survival rate of rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. World Journal of Fish and Marine Sciences, 3(4): 314_317.

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

Golchinfar F., Zamani A., Hajimoradloo A., and Madani R., 2011. Assessment of digestive enzymes activity during the fry development of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*: from hatching to primary stages after yolk sac absorption. Iranian Journal of Fisheries Science, 10(3): 403-414.

Henning S.J., Rubin D.C., and Shulman R.J., 1994. Ontogeny of the intestinal mucosa. In: Johnson, L.R. (Ed), Physiology of the gastrointestinal tract, 3rd edition Raven Press, New York, Pp. 571-610.

Hidalgo M.C., Urea E., and Sanz A., 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture, 170: 267–283.

Hofer R., and Kock G., 1989. Method for quantitative determination of digestive enzymes in fish larvae. Polish Arch Hydrobiology, 36: 439–441.

Kurokawa T., and Suzuki T., 1998. Development of intestinal brush border aminopetidase in the larval Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 162: 113–124.

Kuz'mina V.V., 1996. Influence of age on digestive enzymes activity in some freshwater teleost. Aquaculture, 148: 25-37.

Kuz'mina V.V., and Skvortsova E.G., 2003. Contribution of dietary proteolytic enzymes to digestion processes of carnivorous fish. Journal of Ichthyology, 43(2): 175-180.

Ilina I.D., and Turetskiy V.I., 1988. Development of the digestive function in fishes. Journal of Ichthyology, 28: 74-82.

Ma H., Cahu C., Zambonino-Infante J.L., Ya H., Duana Q., Le Gall M.M., and Ma K., 2005. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture, 245: 239–248.

Mojazi Amiri B., Bahrekazemi M., Pousti I., and Vilaki A.S., 2005. A histological study on the development of the digestive tract of *Salmo trutta caspius* (Kessleri) from hatching to parr stage. Iranian Journal of Fisheries Science, 5: 63–84.

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

Prescott, J.M., and Wilkes, S.H., 1976. Methods in enzymology. Vol. XLV, Part 23 B, Pp. 530-543.

Ribeiro L., Zambonino-Infante J.L., Cahu C., and Dinis M.T., 1999. Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup.1858. Aquaculture, 179: 465–473.

Sarieyyüpoğlu M., Girgin A., and Köprücü S., 2000. Histological Study in the Digestive Tract on Larval Development Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). Turkish Journal of Zoology, 24: 199-205.

Segner H., Storch V., Reinecke M., Kloas W., and Hanke W., 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. Marine Biology, 119: 471–486.

Shan X., Xiao Z., Huang W., and Dou S., 2008. Effects of photoperiod on growth, mortality and digestive enzymes in miiuy croaker larvae and juvenile. Aquaculture, 281: 70-76

.**Simensen L.M., Jonassen T.M., Imsland A.L., and Stefansson S.O., 2000.** Photoperiod regulation of growth of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture, 190: 119-128.

Spungin A., and Blumberg S., 1989. Streptomyces griseous amino peptidase is a calcium-activated zinc metallo-protein Purification and properties of the enzyme. European Journal Biochemistry, 183: 471-777.

Sumpter J.P., 1992. Control of growth of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 92: 299-320.

Suzer C., Saka S., and Fırat K., 2006. Effects of illumination on early life development and digestive enzyme activities in Common pandora, *Pagellus erythrinus* L. larvae. Aquaculture, 260: 86–93.

Taylor J., North B., Porter M., Bromage N., and Migaud H., 2006. Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 256: 216-234.

Ueberschär B., 1993. Measurement of proteolytic enzyme activity: significance and application in larval fish research. *In*: Walter BT, Fyhn HJ (Eds.), Physiological and biochemical aspects of fish development. University of Bergen, Norway, Pp. 233–239.

Ugolev A.M, and Kuz'mina V.V., 1994. Fish enterocyte hydrolases. Nutrition adaptations. Comparative Biochemistry and Physiology, 107A: 187-93.

Wahnon R., Coogan V., and Mokady S., 1992. Dietary fish oil modulates the alkaline phosphatase activity and not the fluidity of rat intestinal

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

microvillus membrane. Journal of Nutrition, 122(5): 1077-1084.

Xiaowu L.I., Zhongjie L.I., Jiashou L.I.U., Tangln Z., and Chaowen Z., 2001. Effects of light intensity on molting, growth, precocity, digestive enzyme activity and chemical composition of juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. Aquaculture, 19: 301-311.

Yúfera M., and Darias M.J., 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. Aquaculture, 268: 53–63.

Zamani A., Hajimoradloo A., Madani R., and Farhangi M., 2009. Assessment of digestive enzymes activity during the fry development of the endangered Caspian brown trout, *Salmo caspius*. Journal of Fish Biology, 75(4): 932-937.

Zambonino-Infante J.L., and Cahu C.L, 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. Comparative Biochemistry and Physiology, 130C: 477–487.

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103701]
Downloaded from isfj.ir at 10:26 +0330 on Thursday December 28th 2017

The effect of photoperiod on stomach and intestinal digestive enzymes in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae and juvenile

Yeganeh[(1)*] S., Ramzanzadeh[(2)] F., Jani Khalili[(1)] Kh., Babaei[(3)] S. S.

skyeganeh@gmail.com

1- Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
2- Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
3- Fisheries Department, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

Key words: Photoperiod, Digestive enzyme, Pepsin, N-amino peptidase, Alkaline phosphatase, Rainbow trout.

Abstract

This study investigated the ontogeny of some digestive enzyme and explored the effects of photoperiod on stomach (pepsin) and intestine enzyme activity (alkaline phosphatase and N-amino peptidase) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae juvenile. About 3600 larval rainbow trout in first feeding (18 days after hatching) with an average initial weight 119±0.009 mg were distributed in plastic tanks in four treatments (300 larvae in each replicate). Four light treatments consisting of 14 to 10 h, 10 to 14 h, 4 to 20 h and 24 to 0 h (light: dark), were compared in triplicates for 6 weeks.. Finally, a random sampling from larvae was undertaken on days 1, 3, 5, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 39 and 44 days after the onset of first feeding. According to the results, the digestive enzymes activity in fish larvae and juveniles had a similar change trend with age at all photoperiods. In addition, at the end of experiment, the specific activity of pepsin and N-amino peptidase were the highest in 24h Light treatment, but there was no significant difference in specific activities of alkaline phosphatase ($p>0.05$). The results demonstrated that growth and digestive enzymes activity of rainbow trout larvae and juvenile are improved by applying of longer photoperiod in rearing conditions.

* Corresponding author