# فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده تحت تأثیر نسبت‌های مختلف مکمل‌های غذایی متیونین و لیزین در جیره غذایی ماهی جوان صبیتی (*Sparidentex hasta*)

رضوان موحدیان[۱]، محمد ذاکری[۱*]، پریتا کوچنین[۱]، سید محمد موسوی[۱]، احمد تقوی مقدم[۲]

*Zakeri.mhd@gmail.com

۱- دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
۲ - عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی (شعبه اهواز)

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۵

## چکیده

این تحقیق با هدف مطالعه اثرات نسبت‌های مختلف مکمل‌های غذایی متیونین و لیزین بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده در ماهی جوان صبیتی (*Sparidentex hasta*) طراحی و اجرا گردید. ۱۸۰ قطعه ماهی جوان صبیتی با میانگین وزنی ۱/۴± ۳۱/۳۸ گرم در ۱۸ تانک پلی اتیلنی ۳۰۰ لیتری با تراکم یکسان در هر تانک (۱۰ عدد ماهی در هر تانک) توزیع گردید. ماهیان با ۶ جیره غذایی آزمایشی با نسبت‌های مختلف متیونین به لیزین شامل تیمار فاقد متیونین و لیزین (گروه شاهد)، تیمار ۱ حاوی۱۰۰٪ متیونین، تیمار ۲ حاوی ۷۵٪ متیونین و ۲۵٪ لیزین، تیمار ۳ حاوی ۵۰٪ متیونین و ۵۰٪ لیزین، تیمار ۴ حاوی ۲۵٪ متیونین و ۷۵٪ لیزین، تیمار ۵ حاوی۱۰۰٪ لیزین در حد ۲ درصد وزن خشک جیره غذایی، به مدت ۸ هفته و در حد سیری به روش دستی تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش، آنزیم‌های گوارشی تریپسین، کیموتریپسین، آلکالین‌فسفاتاز، پروتئاز کل، لیپاز و آلفاآمیلاز مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که استفاده از نسبت‌های مختلف مکمل‌های اسیدآمینه‌ای متیونین و لیزین بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی تریپسین، کیموتریپسین، آلکالین‌فسفاتاز و لیپاز به طور معنادار تأثیر گذاشت ($P<۰/۰۵$). آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین با افزایش میزان لیزین در جیره غذایی روند افزایشی را داشتند، بطوریکه تیمار ۵ بیشترین فعالیت این آنزیم‌ها را نشان داد. در حالیکه فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز در تیمارهایی با مقادیر بیشتر اسیدآمینه متیونین در جیره غذایی، میزان بالاتری داشت (تیمار ۲). افزایش اسیدآمینه لیزین در جیره غذایی سبب کاهش فعالیت آنزیم لیپاز گردید. سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های آلفاآمیلاز و پروتئاز کل، تفاوت معناداری را نشان نداد. همچنین با توجه به حد متعادل‌تر مکمل‌های اسیدآمینه‌ای متیونین و لیزین در تیمار ۲، می‌توان جیره غذایی با نسبت ۷۵ درصد مکمل اسید آمینه متیونین و ۲۵ درصد لیزین را مطابق نیاز این گونه معرفی نمود.

**واژه‌های کلیدی:** متیونین، لیزین، آنزیم‌های گوارشی، ماهی جوان صبیتی

*نویسنده مسئول



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

## مقدمه

پرورش ماهیان دریایی از شاخه‌های بسیار مهم و در حال گسترش صنعت آبزی‌پروری در جهان است، که به لحاظ اقتصادی و ارزش غذایی مورد توجه صیادان، متخصصین تغذیه و بهداشت قرارگرفته است (FAO, 2012). تولیدات آبزی‌پروری جهان در آب‌های دریایی ۸۲/۶ تن در سال ۲۰۱۱ بود که به ۷۹/۷ تن در سال ۲۰۱۲ کاهش یافت (FAO, 2014). بنابراین لزوم توجه به مدیریت آبزی‌پروری برای این گونه، اهمیت بیشتری پیدا می‌کند. به همین علت بررسی نیازهای تغذیه‌ای در مراحل مختلف زندگی و ظرفیت گوارشی جهت افزایش راندمان غذایی، سبب ارائه راهکارهای جدید در زمینه تکثیر و پرورش و دستیابی به رشد بهینه آن می‌شود (FAO, 2014). ماهی صبیتی (*Sparidentex. hasta*)، از جمله ماهیان تجاری خلیج فارس می‌باشد، که در سال‌های اخیر به دلیل صید بیش از حد مجاز این گونه، منابع آن کاهش چشم‌گیری یافته است (Abu-Rezq *et al*., 2013).

از آنجا که اساس تولید پایدار آبزیان، بهینه‌سازی مصرف پروتئین در جیره غذایی است و با توجه به اهمیت اسیدهای آمینه ضروری بعنوان پیش‌نیاز پروتئین در ساخت جیره‌های غذایی، بهینه‌سازی آن‌ها، می‌تواند باعث جبران اثرات زیست محیطی پرورش آبزیان، بهبود عملکرد رشد و سودآوری صنعت آبزی‌پروری شود (Li *et al*., 2009). استفاده از اسیدآمینه در جیره‌های غذایی آبزیان، مستلزم آن است که همه‌ی اسیدهای آمینه با مقدار مناسب و به طور همزمان برای سنتز پروتئین وجود داشته باشند (Nordas *et al*., 2001). عدم تعادل در اسیدهای آمینه در جیره غذایی، موجب کاهش به‌کارگیری پروتئین موجود در آن برای رشد آبزی می‌گردد (Abidi and khan, 2010). براساس گزارشات موجود، ظرفیت جذب مواد غذایی، می‌تواند الگویی از پاسخ به استفاده از مکمل‌های اسیدآمینه‌ای آزاد در جیره غذایی باشد (Santigosa *et al*., 2011; García - Meilán, 2013). تفاوت در زمان‌های جذب اسیدهای آمینه، می‌تواند سنتز پروتئین از اسیدهای آمینه موجود در جیره غذایی را کاهش دهد، چرا که قبل از سنتز پروتئین، اسیدهای آمینه توسط سیستم گوارش هضم و جذب شده و از دسترس آبزی خارج می‌گردند (Ambardekar *et al*., 2009; Yuan *et al*., 2011).

از اسیدهای آمینه آزاد می‌توان جهت متعادل نمودن جیره‌های غذایی نامتوازن و بهبود کارایی آن استفاده نمود (Hansen *et al*., 2011). متیونین اسیدآمینه‌ی ضروری و حاوی ترکیبات گوگردی است که به عنوان پیش ماده فرآیندهای متابولیک مهم در بدن آبزیان شناخته شده و در ساختمان پروتئین‌ها یافت می‌شود (Kasper *et al*., 2000; Zhuo *et al*., 2011). همچنین لیزین همراه با متیونین به عنوان پیش ماده برای ساخت کارنتین استفاده می‌شود که در نقل و انتقال گروه آسیل چرب با زنجیره بلند به داخل میتوکندری جهت بتا اکسیداسیون نقش دارد (Zhou *et al*., 2010). سطوح اسیدهای آمینه در ترشح هورمون‌های رشد و انسولین دخیل می‌باشد و در نتیجه، نرخ سنتز پروتئین افزایش می‌یابد. علاوه بر این، تغییر سطح اسیدهای آمینه ضروری می‌تواند فعالیت پروتئاز روده‌ای، لیپاز، آلکالین فسفاتاز و پمپ سدیم پتاسیم را تحت تأثیر قرار دهد (Zhou *et al*., 2007; Tang *et al*., 2009). بنابراین تغییر در منبع پروتئین و ترکیب اسیدهای آمینه جیره غذایی می‌تواند بر تولید و غلظت آنزیم‌های روده‌ای مؤثر باشد (Nya and Austin, 2011). ظرفیت گوارشی و فعالیت‌های آنزیمی از عوامل مهم تأثیرگذار در نرخ رشد بوده و می‌تواند نقش محدودکننده‌ای داشته باشند. از جمله مطالعاتی که در این زمینه انجام گرفته می‌توان به تحقیق پیک موسوی و همکاران (۱۳۸۹) بر بچه فیل ماهیان جوان (*Huso huso*)، Zhuo و همکاران (۲۰۱۱) بر ماهی شانک سیاه انگشت‌قد (*Sparus macrocephalus*) و Nordas و همکاران (۲۰۰۱) در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmon salar*) اشاره داشت. براین اساس انجام تحقیقات در سطح میکرو مولکولی اطلاعات دقیق‌تری را درخصوص نیاز تغذیه‌ای از مراحل مختلف رشد، کیفیت و میزان رشد در



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

ماهی نشان می‌دهد (Abdel-Warith *et al.*, 2013; Belanger *et al.*, 2002). به دنبال ارائه راهکارهای جدید جهت گسترش تعادل اسیدآمینه‌ای جیره‌های غذایی، با استفاده از مکمل‌های اسیدآمینه‌ای، چگونگی متابولیسم آن‌ها در بدن و تغییر فعالیت آنزیم های گوارشی، در این تحقیق سعی شد تا با اندازه‌گیری آنزیم‌های مهم روده‌ای در عمل گوارش مانند پروتئاز، تریپسین، کیموتریپسین، آلکالین فسفاتاز، لیپاز و آلفاآمیلاز، اثرات سطوح و نسبت‌های مختلف مکمل‌های اسیدآمینه‌ای متیونین و لیزین در جیره غذایی ماهی صبیتی (*S. hasta*) مورد ارزیابی قرار گیرد.

## مواد و روش کار

### طراحی سیستم و تیماربندی آزمایش

ماهیان جوان صبیتی از بخش تکثیر ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) تهیه گردید. ماهی‌ها قبل از شروع آزمایش در تانک‌های ۳۰۰ لیتری به مدت ۲۱ روز با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند. در مدت سازگاری ماهیان جوان صبیتی با جیره غذایی پایه فرموله شده (تیمار شاهد)، سه بار در روز به روش سیری تغذیه شدند. ۱۸۰ قطعه ماهی جوان با میانگین وزن اولیه ۱/۴± ۳۱/۳۸ گرم و طول کل اولیه ۰/۱۹ ± ۱۱/۶۱ سانتی‌متر به صورت تصادفی در ۱۸ تانک پلی اتیلن با ظرفیت ۳۰۰ لیتر، مجهز به سیستم هواده ذخیره‌سازی شدند. دوره نوری در سالن سرپوشیده به صورت دوازده ساعت روشنایی به دوازده ساعت تاریکی (۱۲D:۱۲L) انجام گرفت. در طول دوره آزمایش به طور میانگین دمای آب ۰/۱± ۲۶/۱ درجه سانتی‌گراد، میزان شوری آب ۰/۰۷± ۲۵/۵ قسمت در هزار، میزان اکسیژن محلول ۰/۰۹± ۶/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر و میانگین pH برابر ۸-۷ حفظ گردید.

شش تیمار غذایی حاوی پودر ماهی دریایی و پودر سویا به عنوان منابع پروتئینی، روغن ماهی دریایی و روغن سویا به عنوان منابع چربی، آرد گندم، مکمل‌های اسیدهای آمینه متیونین و لیزین، مکمل ویتامینی و مواد معدنی با سطوح یکسان پروتئین و چربی (بترتیب ۴۵ درصد و ۱۵ درصد وزن خشک جیره غذایی) و سطوح مختلف مکمل‌های غذایی متیونین و لیزین شامل، گروه شاهد (فاقد مکمل آمینواسیدی)، تیمار حاوی۱۰۰٪ متیونین به میزان ۲ درصد وزن خشک جیره غذایی (تیمار ۱)، تیمار حاوی ۷۵٪ متیونین و ۲۵٪ لیزین به میزان ۱/۵ درصد متیونین و ۰/۵ درصد لیزین وزن خشک جیره غذایی (تیمار ۲)، تیمار حاوی ۵۰٪ متیونین و ۵۰٪ لیزین به میزان ۱ درصد متیونین و ۱ درصد لیزین وزن خشک جیره غذایی (تیمار ۳)، تیمار حاوی ۲۵٪ متیونین و ۷۵٪ لیزین به میزان ۰/۵درصد متیونین و ۱/۵ درصد لیزین وزن خشک جیره غذایی (تیمار ۴)، تیمار حاوی۱۰۰٪ لیزین در حد ۲ درصد وزن خشک جیره غذایی (تیمار ۵)، با سه تکرار طراحی گردید (جدول ۱ و ۲). ماهیان به مدت ۵۶ روز با جیره های غذایی مربوطه، سه نوبت در روز در ساعات ۰۸:۰۰، ۱۳:۰۰ و ۱۸:۰۰ بر اساس روش سیری (Rawls *et al.*, 2012) و به صورت دستی غذادهی شدند. آنالیز بیوشیمیایی اجزای غذایی و جیره‌های غذایی آزمایشی با استفاده از روش های استاندارد (AOAC, 1995) و حداقل با سه تکرار انجام شد.

### نمونه برداری و سنجش آنزیمی

سه عدد ماهی از هر تکرار با استفاده از روش آسان کشی قطع نخاع شده و سریعاً در مجاورت یخ قرار داده شدند تا با حداقل رساندن تغییر فعالیت آنزیمی، کالبدگشایی آن‌ها صورت گیرد. جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، روده ماهیان به روش Caho و همکاران (1999) آماده سازی و بلافاصله در شرایط انجماد ۱۹۶- درجه‌سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند (Kuz'mina, 2010).



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

**جدول ۱: اجزای غذایی و آنالیز تقریبی ترکیبات بیوشیمیایی جیره‌های غذایی آزمایشی (n=۳).**

| اجزای غذایی | جیره‌های غذایی آزمایشی | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (گرم در کیلوگرم) | جیره‌غذایی ۱ | جیره‌غذایی ۲ | جیره‌غذایی ۳ | جیره‌غذایی ۴ | جیره‌غذایی ۵ | جیره‌غذایی ۶ |
| پودر ماهی[۱] | ۴۴۰ | ۴۴۰ | ۴۴۰ | ۴۴۰ | ۴۴۰ | ۴۴۰ |
| پودرسویا[۱] | ۲۲۰ | ۲۲۰ | ۲۲۰ | ۲۲۰ | ۲۲۰ | ۲۲۰ |
| آرد گندم[۱] | ۲۰۰ | ۲۰۰ | ۲۰۰ | ۲۰۰ | ۲۰۰ | ۲۰۰ |
| روغن ماهی | ۶۵ | ۶۵ | ۶۵ | ۶۵ | ۶۵ | ۶۵ |
| روغن سویا | ۴۰ | ۴۰ | ۴۰ | ۴۰ | ۴۰ | ۴۰ |
| اسیدآمینه لیزین | ۰ | ۰ | ۵ | ۱۰ | ۱۵ | ۲۰ |
| اسیدآمینه متیونین | ۰ | ۲۰ | ۱۵ | ۱۰ | ۵ | ۰ |
| مکمل مواد معدنی[۲] | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ |
| مکمل ویتامینی [۳] | ۱۰ | ۱۰ | ۱۰ | ۱۰ | ۱۰ | ۱۰ |
| زئولیت | ۲۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| **آنالیز بیوشیمیایی جیره‌های غذایی آزمایشی** | | | | | | |
| پروتئین | ۴۵/۷۳ | ۴۵/۷۷ | ۴۵/۹۵ | ۴۶/۳۰ | ۴۵/۹۵ | ۴۴/۷۲ |
| چربی | ۱۲/۳۴ | ۱۲/۵۵ | ۱۲/۲۸ | ۱۱/۴۲ | ۱۱/۴۶ | ۱۲/۳۰ |
| خاکستر | ۱۰/۳۹ | ۹/۶۴ | ۱۰/۰۶ | ۱۰/۵۴ | ۱۰/۲۴ | ۱۱/۱۲ |
| رطوبت | ۵/۲۷ | ۵/۷۲ | ۵/۴۷ | ۵/۲۷ | ۵/۲۷ | ۵/۶۱ |
| کربوهیدرات[۴] | ۲۶/۳۶ | ۲۶/۳۲ | ۲۶/۲۴ | ۲۶/۶۷ | ۲۷/۰۸ | ۲۵/۸۶ |
| انرژی کل( MJ/Kg)[۵] | ۲/۰۲ | ۲/۰۳ | ۲/۰۲ | ۱/۹۹ | ۲/۰۰ | ۱/۹۸ |

۱- آنالیز تقریبی اجزای غذایی بر اساس درصد وزن خشک: پودر ماهی (پروتئین خام ۶۴/۱۷ درصد و چربی ۳/۸۵ درصد)، پودر سویا: (پروتئین ۴۱/۶۵ درصد و چربی ۲/۱۷ درصد) آرد گندم: (پروتئین ۱۱/۳۹ درصد و چربی ۱/۱۹ درصد).-

۲- هر کیلو مکمل ماده معدنی شامل مواد معدنی کمیابی مانند: منگنز: ۲۶۰۰ mg، مس: ۶۰۰۰ mg، آهن: ۴۰۰۰ mg، روی: ۶۰۰۰ mg، سلنیوم: ۵۰۰ mg، ید: ۲۰۰۰mg، کبالت: ۵۰۰ mg، کولین کلراید: ۱۲۰۰۰۰ mg.

۳- هر کیلو مکمل ویتامین حاوی ویتامین‌های A=۶۰۰۰۰۰IU، D3 =۴۰۰۰۰۰ IU، E=۴۰۰۰ mg، $B_1$=۳۰۰۰ mg، $B_2$=۵۰۰۰ mg، $B_6$ =۳۰۰۰mg، $B_{12}$=۸۰۰۰ mg، C=۵۲۰۰۰mg، نیکوتنیک اسید: ۳۰۰۰۰ mg، دی کلسیم پانتوتنیک: ۹۰۰۰ mg، فولیک اسید: ۱۶۰۰ mg، دی بیوتین: ۱۶۰mg، اینوزیتول: ۲۴۰۰۰ mg، آنتی اکسیدانت: ۵۰۰۰ mg.

۴- کربوهیدرات= (رطوبت + خاکستر + چربی + پروتئین) − ۱۰۰

۵- انرژی کل براساس مقادیر ۰/۰۱۷، ۰/۰۳۹۸ و ۰/۰۲۳۷ مگا ژول بر گرم به ترتیب برای کربوهیدرات، چربی و پروتئین محاسبه شده است.

برای سنجش آنزیم‌های تریپسین، کیموتریپسین، لیپاز، آلفا آمیلاز و پروتئاز ابتدا نمونه‌های منجمد شده، سریعاً توزین گردیده و قبل از ذوب شدن کامل، به نسبت ۱ به ۹ (وزنی / حجمی) با بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH = ۷/۸) مخلوط و در حضور یخ عمل یکنواخت سازی با هموژنایزر الکتریکی (D-500, Germany) صورت گرفت (Caho *et al.*,1999; Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2002). سپس جداسازی مایع رویی از سوسپانسیون حاصله جهت سنجش آنزیمی انجام گرفت (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007). همچنین برای استخراج آنزیم آلکالین فسفاتاز، از روش Caho (1999) استفاده گردید. سپس، ۰/۱ مولار $CaCl_2$ به آن اضافه شده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۹۰۰۰×g سانتریفوژ گردید. محلول به‌دست آمده جهت سنجش آنزیم آلکالین فسفاتاز استفاده شد (Fischbach and Zawta, 1992).



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

**جدول ۲: ترکیب اسیدهای آمینه در جیره‌های غذایی آزمایشی (براساس درصد پروتئین)**

| اسیدهای آمینه | جیره‌های غذایی آزمایشی | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | جیره‌غذایی ۱ | جیره‌غذایی۲ | جیره‌غذایی ۳ | جیره‌غذایی ۴ | جیره‌غذایی ۵ | جیره‌غذایی ۶ |
| | **اسیدهای آمینه ضروری (EAA)** | | | | | |
| آرژنین | ۵/۷۱ | ۵/۵۳ | ۵/۵۴ | ۵/۵۶ | ۵/۵۵ | ۵/۵۸ |
| هیستیدین | ۱/۹۱ | ۲/۱۱ | ۲/۰۳ | ۱/۸۸ | ۱/۸۷ | ۱/۷۹ |
| ایزولوسین | ۳/۶۴ | ۳/۹۵ | ۳/۸۵ | ۳/۸۰ | ۳/۶۶ | ۳/۵۸ |
| لوسین | ۷/۰۱ | ۶/۹۵ | ۷/۰۰ | ۷/۰۲ | ۷/۰۶ | ۷/۱۰ |
| لیزین | ۳/۳۸ | ۳/۱۰ | ۳/۹۰ | ۴/۸۲ | ۵/۸۴ | ۶/۸۱ |
| متیونین | ۲/۲۴ | ۴/۴۹ | ۴/۱۱ | ۳/۵۲ | ۲/۸۹ | ۲/۲۷ |
| فنیل‌آلانین | ۴/۴۹ | ۴/۴۱ | ۴/۴۲ | ۴/۴۲ | ۴/۴۴ | ۴/۴۵ |
| ترئونین | ۳/۳۱ | ۳/۳۲ | ۳/۳۲ | ۳/۳۴ | ۳/۳۴ | ۳/۳۵ |
| والین | ۴/۰۱ | ۴/۳۵ | ۴/۲۱ | ۴/۱۴ | ۴/۰۴ | ۳/۹۴ |
| | **اسیدهای آمینه غیر ضروری (NEAA)** | | | | | |
| آلانین | ۳/۱۹ | ۳/۳۱ | ۳/۲۵ | ۳/۲۶ | ۳/۲۳ | ۳/۲۱ |
| اسیدآسپارتیک | ۵/۷۹ | ۵/۹۰ | ۵/۸۸ | ۵/۸۷ | ۵/۸۴ | ۵/۸۲ |
| سیستئین | ۱/۶۸ | ۱/۸۲ | ۱/۷۶ | ۱/۷۷ | ۱/۷۶ | ۱/۷۲ |
| اسیدگلوتامیک | ۳۳/۴۵ | ۳۰/۶۲ | ۳۰/۴۹ | ۳۰/۱۴ | ۳۰/۱۰ | ۲۹/۹۱ |
| گلیسین | ۳/۵۶ | ۳/۴۱ | ۳/۵۰ | ۳/۵۲ | ۳/۵۵ | ۳/۶۲ |
| پرولین | ۹/۰۴ | ۹/۲۲ | ۹/۲۰ | ۹/۱۶ | ۹/۱۴ | ۹/۱۰ |
| سرین | ۴/۳۳ | ۴/۰۱ | ۴/۱۳ | ۴/۲۰ | ۴/۲۷ | ۴/۴۱ |
| تیروزین | ۳/۲۴ | ۳/۵۲ | ۳/۴۷ | ۳/۴۰ | ۳/۳۳ | ۳/۲۸ |
| TEAA[1] | ۳۵/۷۰ | ۳۸/۲۱ | ۳۸/۳۸ | ۳۸/۵۰ | ۶۹۳۸ | ۳۸/۸۷ |
| TNEAA[2] | ۶۴/۲۸ | ۶۱/۸۱ | ۶۱/۶۸ | ۶۰/۴۷ | ۶۱/۲۲ | ۶۱/۰۷ |
| TEAA/TNEAA(٪) | ۵۵/۵۴ | ۶۱/۸۲ | ۶۲/۲۲ | ۶۳/۶۷ | ۶۳/۲۰ | ۶۳/۶۵ |

۱- مجموع اسیدهای آمینه ضروری (Total essential amino acids)

۲- مجموع اسیدهای آمینه غیرضروری (Total non-essential amino acids)

پروتئین محلول نمونه‌های هموژن شده ماهی جوان صبیتی به روش Bradford (۱۹۷۶) سنجیده شد. به این منظور از آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان استاندارد استفاده گردید.

سنجش آنزیم تریپسین با استفاده از روش Worthington (1991) انجام گردید. در این روش از N- بنزوئیل-L- آرژنین اتیل استر (BAEE) به عنوان سوبسترا استفاده شد (Sigma, B4875).

در سنجش آنزیم کیموتریپسین از روش Hummel (۱۹۵۹) استفاده گردید. در این روش از N- بنزوئیل- L– تیروزین اتیل استر (BTEE , Sigma, B6123) به عنوان سوبسترا استفاده گردید.

کلیه مراحل سنجش فعالیت فسفاتاز قلیایی به صورت خودکار توسط دستگاه اتوآنالیزر (Mindry BS-200، چین) انجام شد. فرمول های محاسباتی و همچنین معروف های سنجش فعالیت فسفاتاز قلیایی براساس روش پیشنهادی Bessey و همکاران (1946) انجام گردید.

جهت سنجش آنزیم پروتئاز، از روش Worthington (1991) استفاده شد. در این روش از کازئین به عنوان سوبسترا استفاده گردید.



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

همچنین برای سنجش آنزیم لیپاز نیز از روش Worthington (1991) استفاده گردید. در این روش از امولسیون روغن زیتون به‌عنوان سوبسترا استفاده شد.
در نهایت جهت تعیین فعالیت آلفا- آمیلاز از نشاسته به عنوان سوبسترا استفاده گردید (Worthington, 1991). پس از رسم منحنی استاندارد مالتوز، میزان مالتوز رهاسازی شده تحت اثر آنزیم بر روی سوبسترا (نشاسته) محاسبه گردید (Beranfeld, 1991).

### آنالیز آماری

داده‌ها در نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد (Mean ± SE) بیان شدند. جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One – way ANOVA) استفاده شد و از پس آزمون جداساز دانکن (Dancan) برای مقایسه میانگین‌ها در صورت همگنی واریانس ها جهت تعیین اختلاف بین تیمارها در سطح P<۰/۰۵، استفاده گردید.

## نتایج

نتایج سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده ماهیان تحت تأثیر مکمل‌های غذایی متیونین و لیزین در جیره‌های غذایی در پایان دوره آزمایشی در جدول ۳ آورده شده است. مکمل‌های غذایی متیونین و لیزین در جیره غذایی باعث ایجاد تغییرات معنی‌دار (P<۰/۰۵) در میزان فعالیت آنزیم های تریپسین، کیموتریپسین، آلکالین فسفاتاز، لیپاز روده ماهیان جوان صبیتی گردید درحالی که تغییرات معنا داری در فعالیت پروتئاز کل و آلفا آمیلاز مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بیشترین میزان فعالیت آنزیم تریپسین روده بطور معنی‌داری مربوط به تیمار ۵ (۱۰۰٪ لیزین) و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد بوده است. همچنین بیشترین میزان فعالیت آنزیم کیموتریپسین در تیمار حاوی ۱۰۰ درصد مکمل آمینو اسیدی لیزین و کمترین میزان آن در تیمار شاهد، مشاهده گردید. فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تحت تأثیر مکمل‌های غذایی متیونین و لیزین، در تیمار ۲ حاوی ۷۵٪ متیونین به ۲۵٪ لیزین، بیشترین حد را نشان داد که با سایر گروه‌ها بجز تیمار ۱ (۱۰۰٪ متیونین) اختلاف معنی‌دار داشت. بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم لیپاز بترتیب در تیمار شاهد و در تیمار ۵ مشاهده گردید.

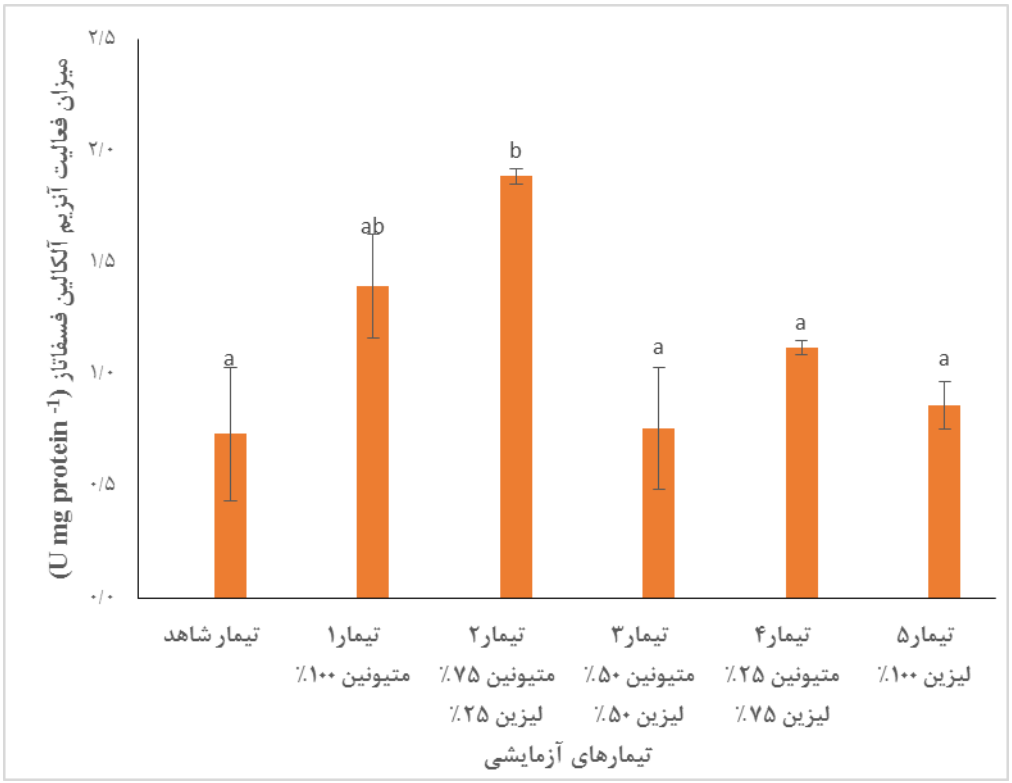
**جدول ۳: فعالیت اختصاصی آنزیم‌های گوارشی روده تحت تأثیر مکمل‌های غذایی متیونین و لیزین بر حسب U/mg protein (میانگین ± خطای استاندارد، n=۳)**

| آنزیم های گوارشی | تیمارهای آزمایشی | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | تیمار شاهد | تیمار ۱ ۱۰۰٪ متیونین | تیمار ۲ ۷۵٪ متیونین ۲۵٪ لیزین | تیمار ۳ ۵۰٪ متیونین ۵۰٪ لیزین | تیمار ۴ ۲۵٪ متیونین ۷۵٪ لیزین | تیمار ۵ ۱۰۰٪ لیزین |
| تریپسین | ۳/۹±۰/۹۶$^{a}$ | ۶/۳۵±۰/۹۷$^{b}$ | ۶/۵۳±۰/۲۳$^{b}$ | ۷/۹±۰/۵۷$^{bc}$ | ۷/۴۶±۰/۲۶$^{bc}$ | ۹/۲۳±۰/۲۳$^{c}$ |
| کیموتریپسین | ۳۱۹/۶±۲۹/۶۰$^{a}$ | ۴۷۵/۸±۳۶/۶۳$^{b}$ | ۴۴۵/۹۳±۴۵/۷۸$^{b}$ | ۵۶۲/۴۶±۲۶/۷۳$^{bc}$ | ۴۶۳/۴۳±۱۸/۶۶$^{b}$ | ۶۴۷/۶±۶۵/۷$^{c}$ |
| آلکالین‌فسفاتاز | ۰/۷۳±۰/۲۹$^{a}$ | ۱/۳۹±۰/۲۳$^{ab}$ | ۱/۸۹±۰/۳۴$^{b}$ | ۰/۷۶±۰/۲۷$^{a}$ | ۱/۱۲±۰/۰۳$^{a}$ | ۰/۸۶±۰/۱۰$^{a}$ |
| پروتئاز | ۱/۵۴±۰/۰۰۴ | ۱/۵۳±۰/۰۰۴ | ۱/۵۲±۰/۰۱۱ | ۱/۵۱±۰/۰۰۶ | ۱/۵۴±۰/۰۰۱ | ۱/۵۲±۰/۰۰۳ |
| لیپاز | ۵/۵۵±۰/۴۹$^{a}$ | ۲/۷۷±۰/۵۳$^{b}$ | ۳/۷۰±۰/۶۹$^{b}$ | ۲/۴۶±۰/۶۱$^{b}$ | ۲/۴۵±۰/۶۲$^{b}$ | ۱/۸۵±۰/۴۳$^{b}$ |
| آلفا آمیلاز | ۱۲/۵۳±۰/۳۲ | ۱۲/۴۶±۰/۲۸ | ۱۲/۵۷±۰/۰۴ | ۱۲/۷۳±۰/۱۶ | ۱۲/۱۹±۰/۲۸ | ۱۲/۶۷±۰/۱۹ |

* حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی است (P<۰/۰۵).



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]




**شکل۱: فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز روده ماهیان جوان صبیتی، تحت تأثیر مکمل‌های غذایی متیونین و لیزین در جیره غذایی**

## بحث

طبق مطالعات انجام‌شده، تمامی گونه‌های ماهیان به تمام اسیدآمینه‌ی ضروری در جیره غذایی خود برای رسیدن به حداکثر رشد نیاز دارند (Wilson, 1985; Zhou *et al.*, 2010). از طرفی، شرط لازم برای بهبود راندمان غذایی و توسعه آبزی‌پروری پایدار، توسعه جیره‌های غذایی متعادل به ویژه از نظر اسیدهای آمینه است (Abidi and Mukhtar, 2010). جهت توسعه فرمولاسیون جیره‌های غذایی به‌خصوص ازنظر تعادل اسیدهای آمینه ضروری، مطالعه در این زمینه بسیار لازم است. با توجه به وابسته بودن توانایی ماهی برای متابولیسم یک جیره غذایی، دسترسی به آنزیم‌های گوارشی مناسب اهمیت دارد (Phillips *et al.*, 1969; Caruso *et al.*, 2009). به این منظور، تعیین و شناخت نیازهای تغذیه‌ای و جنبه‌های خاص فیزیولوژی، جهت تعیین ظرفیت گوارشی و بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی، برای تولید آبزیان در شرایط پرورشی متراکم قابل توجه است (Bakke *et al.*, 2010; Castro *et al.*, 2013). همچنین تحقیقات نشان می‌دهد، آگاهی از سطح فعالیت آنزیم‌ها در پی بردن به توانایی قدرت هضمی ماهیان و انتخاب اجزای غذایی مفید مؤثر بوده و می توان با صرف هزینه کمتر به رشد بهتری دست یافت (Hidalgo *et al.*, 1999; Applebaum and Holt, 2003).

رشد و کارایی تغذیه‌ای در ماهی وابسته به ظرفیت بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ماهی برای هضم و انتقال مواد مغذی است که آنزیم‌ها مهم‌ترین نقش را در شکسته شدن



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

و هضم و جذب غذا در دستگاه گوارش بر عهده دارند (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2006). نتایج جدول ۳، میزان فعالیت آنزیم تریپسین و کیموتریپسن تحت تاثیر افزایش محتوای مکمل آمینواسیدی لیزین در جیره غذایی را نشان می‌دهد. گزارش‌های متعددی به وجود رابطه خطی بین فعالیت این دو آنزیم اشاره دارند (Martínez – Palacios *et al.*, 2006; Hidalgo *et al.*, 2011). برخی مطالعات دیگر نیز افزایش میزان اسیدآمینه لیزین در جیره غذایی را سبب افزایش فعالیت آنزیم تریپسین و کیموتریپسین دانستند (Naz and Turkmen., 2009; Hansen *et al.*, 2011; Abdel-Warith and Younis., 2013). این درحالی است که Koven و همکاران (۲۰۰۲) هیچ تغییری را در میزان فعالیت آنزیم تریپسین در ماهی شانک (*S. aurata*) با جیره غذایی حاوی اسیدآمینه کریستاله ثبت نکردند. بیرمی و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه بر روی اثرات مکمل های متیونین و لیزین بر شاخص های رشد ماهی صبیتی، گزارش نمودند که بیشترین میزان شاخص‌های رشد بطور معنی‌داری در سطوح پایین تر لیزین نسبت به متیونین در جیره غذایی مشاهده گردید. به نظر می‌رسد جذب غیرهمزمان اسیدهای آمینه کریستاله در جیره غذایی و ویژگی این آنزیم در هیدرولیز پیوندهای پپتیدی Lys-x و Arg-x (ملک‌نیا و شهبازی، ۱۳۸۴)؛ عدم تأثیرگذاری مکمل‌های اسیدآمینه‌ای با نسبت بالاتر لیزین را در جیره‌های غذایی بر شاخص‌های رشد ماهی (بیرمی، ۱۳۹۳) در مقایسه با فعالیت آنزیم تریپسین و کیموتریپسن به همراه داشته است (Webster *et al.*, 2000; Hansen *et al.*, 2011). بعبارت دیگر می توان استنباط نمود که افزایش ظرفیت گوارشی آنزیم های تریپسین و کیموتریپسن بعنوان نشانگر آنزیمی با شاخص های رشد در این گونه ارتباط مستقیم ندارد و نمی توان افزایش میزان فعالیت این آنزیم ها را تحت تاثیر افزایش نسبت اسید آمینه لیزین در جیره غذایی ماهی صبیتی را منتج به بهبود شاخص های رشد و تغذیه در این گونه دانست.

نوع، منبع و میزان مواد مغذی می‌تواند آنزیم و میزان آن را در دستگاه گوارش تغییر دهد. این ویژگی تطبیقی از آنزیم‌ها می‌تواند با موفقیت در مورد استفاده از مواد مغذی موجود در جیره غذایی استفاده گردد (Moraes and Bidinotto, 2000; Debnath *et al.*, 2007). آنزیم آلکالین فسفاتاز توسط سلول‌های انتروسیت بالغ غشای لبه مسواکی تولید می‌شود که شاخص عملکرد سلول‌های انتروسیت روده است. این سلول‌ها دارای آنزیم‌های گوارشی (Krogdahl and Marie Bakke-McKellep, 2005) برای هضم مواد غذایی و پروتئین‌های حامل برای جذب مواد غذایی هضم شده هستند، که در نهایت افزایش عملکرد این سلول‌ها و ترشح بیشتر آنزیم‌ها بخصوص آنزیم آلکالین‌فسفاتاز سبب رشد بیشتر موجود می‌شود (Nya and Austin, 2011). در تحقیق حاضر بالاترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در جیره غذایی حاوی سطوح بالای مکمل آمینواسیدی متیونین مشاهده گردید (۷۵ درصد متیونین و ۲۵ درصد لیزین). از سوی دیگر، در مطالعه بیرمی (۱۳۹۳) گزارش گردید که ماهیان تغذیه شده با جیره های غذایی با سطوح بالای متیونین عملکرد رشد بهتری را به طور معناداری نسبت به گروه تغذیه شده با جیره غذایی شاهد و تیمارهایی با سطوح بالای لیزین داشتند. این موضوع بیانگر وجود رابطه مثبت خطی بین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و شاخص های رشد در گونه صبیتی است (یگانه و همکاران، ۱۳۹۳؛ طاهری و همکاران، ۱۳۹۰؛ Nya and Austin, 2011).

نقش اصلی اسیدآمینه متیونین، در سنتز پروتئین‌های ساختاری و رشد مطلوب در ماهی می‌باشد (Abidi and Khan, 2011) همچنین برخی مشاهدات نیز افزایش سنتز پروتئین خالص را به افزایش سطح اسیدآمینه متیونین در جیره غذایی تا حد مشخصی نسبت داده‌اند (Niu *et al.*, 2013). بنظر می‌رسد با کاهش مکمل متیونین از حد مطلوب، ظرفیت جذب مواد مغذی توسط این آنزیم و در نهایت رشد کاهش می‌یابد. همچنین تغییر نسبت اسیدهای آمینه‌ی متیونین و لیزین در جیره غذایی



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

بر فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز تأثیر داشته است و حد مناسب اسیدآمینه متیونین می‌تواند رشد و فعالیت آنزیم‌های روده‌ای را بهبود بخشد. همچنین می‌تواند از طریق گسترش باکتری‌های مفید و کاهش باکتری‌های مضر بر تعادل فلور روده‌ای آبزیان نیز مؤثر باشد (Tang *et al*., 2009). میزان فعالیت این آنزیم در روده بیانگر وضعیت فعالیت روده است و نقش مهمی در فرآیند معدنی سازی اسکلت موجودات آبزی و تشکیل استخوان، فرآیندهای متابولیکی مختلف به‌ویژه در رشد و نمو موجودات زنده دارد (طاهری و همکاران، ۱۳۹۰). در واقع، می‌توان این آنزیم را به عنوان بهترین نشانگر آنزیمی شاخص‌های رشد (بیرمی، ۱۳۹۳)، در پاسخ فیزیولوژیک بدن موجود به تغییر در محتوای تغذیه‌ای برای گونه مورد مطالعه در نظر گرفت.

پروتئازها، از عوامل مهم هضم پروتئین در سیستم گوارش آبزیان هستند (Yúfera *et al*., 2004; Wu *et al*., 2009; García and Meilán, 2013). مقدار و فعالیت آنزیم‌های پروتئازی در گونه‌های مختلف و جیره‌های غذایی با ترکیب مواد مغذی مختلف، متفاوت است (Buddington *et al*., 2004; García and Meilán, 2013). در این تحقیق میزان فعالیت پروتئاز کل و آلفاآمیلاز تحت تأثیر مکمل‌های متیونین و لیزین موجود در جیره غذایی آزمایشی نسبت به گروه شاهد، تقریباً هیچگونه تغییری را نشان نداد و تفاوت معنی‌دار میان تیمارهای آزمایشی مشاهده نگردید ($P>0/05$). این نتیجه با توجه به نقشی که پروتئاز در شکست پیوندهای پپتیدی و تبدیل پروتئین به اسیدهای آمینه ایفا می‌کند، همچنین کوتاه بودن دوره‌ی تغذیه‌ای و روابط میان آنزیم‌های گوارشی و از سوی دیگر، گوشتخوار بودن گونه مورد مطالعه و ثابت بودن محتوای کربوهیدرات در جیره غذایی، می تواند قابل توجیه باشد (Jahan-Mihan *et al*., 2011).

نتایج حاصل از فعالیت آنزیم لیپاز در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مکمل‌های اسیدآمینه‌ای متیونین و لیزین، تقریباً روندی کاهشی را نشان داد ($P<0/05$). مطالعات بیرمی (۱۳۹۳) بر ماهی صبیتی (*S. hasta*) و Chimsung and Tantikitti (2001) بر گربه ماهی (*Mystus nemurus*) بیان داشتند، که میزان چربی بدن در تیمارهای حاوی اسیدهای آمینه نامتعادل بالاست. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً عدم تعادل در اسیدهای آمینه‌ای جیره غذایی می‌تواند بر فعالیت آنزیم لیپاز تأثیرگذار باشد. بر اساس نتایج این تحقیق میزان فعالیت این آنزیم با افزایش نسبت مکمل لیزین در جیره غذایی کاهش یافت. Nordrum و همکاران (2000) گزارش نمودند که با اضافه کردن اسیدآمینه متیونین کریستاله در جیره غذایی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmon. salar*)، قابلیت هضم‌پذیری ظاهری چربی‌ها افزایش یافت. بنابراین، می توان استنباط نمود که اسید آمینه متیونین با تاثیر بر فعالیت آنزیم لیپاز در هضم بهتر چربی ها نقش موثرتری نسبت به اسید آمینه لیزین ایفاد می کند.

نتایج این تحقیق حاکی از آن است که افزایش نسبت مکمل آمینواسیدی لیزین درجیره غذایی صبیتی ترشح آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین را افزایش داد. در حالی‌که افزایش نسبت متیونین در جیره غذایی سبب افزایش فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز شده است. با توجه به وجود رابطه مستقیم بین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در این مطالعه و شاخص های رشد و تغذیه ای در ماهیان جوان صبیتی در مطالعه بیرمی (۱۳۹۳) تحت تاثیر نسبت های مختلف اسیدهای آمینه متیونین و لیزین، می توان این آنزیم را به عنوان نشانگر اصلی آنزیمی جهت ارزیابی تعادل بین این مکمل‌ها معرفی نمود. بنابراین، تیمار ۲ بعنوان بهترین نسبت مکمل اسیدآمینه‌ای متیونین و لیزین برای این گونه با ۷۵ درصد متیونین و ۲۵ درصد لیزین در جیره غذایی، پیشنهاد می گردد.



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از جناب آقای علی محمدیان و سرکار خانم فاطمه محمدی نافچی که با کمال سعه صدر و با حسن خلق و فروتنی مرا در انجام این تحقیق راهنمایی نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

## منابع

**بیرمی، ن. ۱۳۹۳.** اثرات مکمل‌های آمینواسیدی لیزین و / یا متیونین بر شاخص‌های رشد، تغذیه و ترکیبات بیوشیمیایی بدن ماهیان جوان صبیتی (*Sparidentex hasta*). پایان نامه دوره کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۸۸ صفحه.

**پیک موسوی، م.، بهمنی، م.، سواری، ا.، حسنی، م. و حقی، ن. ۱۳۸۹.** بررسی سطوح مختلف متیونین بر فاکتورهای رشد و ترکیبات بدن بچه فیل ماهیان جوان (*Huso huso*). نشریه دامپزشکی ایران، شماره ۸۹، ۱۹-۱۲.

**طاهری، ع.، عابدیان کناری، ع.، حلاج، ر.، حبیبی رضایی، م.، معتمد زادگان، ع. و اوجی فرد، ا. ۱۳۹۰.** تأثیر مقادیر متفاوت پروتئین آبکافت روی آنزیم‌های گوارشی آلوین‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پاتوبیولوژی مقایسه ای، علمی- پژهشی، سال هشتم، شماره ۴،۶۷۴ -۶۶۵.

**ملک نیا، ن. و شهبازی، پ. ۱۳۸۴.** بیوشیمی عمومی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ بیست و چهارم. جلد اول. ۵۰۲ صفحه.

**یگانه، س.، رمضان‌زاده، ف.، جانی خلیلی، خ. و بابایی، س.ص. ۱۳۹۳.** بررسی اثرات طول دوره نوری بر فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی معده ای و روده ای در لارو و نوجوان قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، سال ۲۳ ام، شماره ۲، ۱-۱۴.

**Abdel-Warith, A.-W.A.-M and Younis, E.M., 2013.** Influence of dietary inclusion of full-fat soybean meal and amino acids supplementation on growth and digestive enzymes activity of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 13:69-77.

**Abidi, F and Khan, S., 2010.** Growth, protein retention, and body composition of fingerling Indian major carp, rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fed diets with various levels of lysine. Journal of the World Aquaculture Society, 41: 791-799.

**Abidi, S and Khan, M., 2011.** 'Total sulphur amino acid requirement and cysteine replacement value for fingerling rohu, *Labeo rohita*: effects on growth, nutrient retention and body composition. Aquaculture Nutrition, 17: 583-594.

**Abu-Rezq, T., Al-Abdul-Elah, K., El-Dakour, S. and Al-Marzouk, A., 2013.** Hybridization and Larval Rearing of *Sparidentex hasta* ×*Acanthopagrus latus* and their Reciprocals. Open Marine Biology Journal, 7: 1-7.

**Ambardekar, A.A., Reigh, R.C and Williams, M.B., 2009.** Absorption of amino acids from intact dietary proteins and purified amino acid supplements follows different timecourses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture, 291: 179–187.

**AOAC, 1995.** Official Methods of Analysis, 15th edition,. Association of Official



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

Analytical Chemists, Washington DC, 1094.

**Applebaum, S and Holt, G., 2003.** The digestive protease, chymotrypsin, as an indicator of nutritional condition in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). Marine Biology, 142: 1159-1167.

**Bakke, A.M., Glover, C and Krogdahl, Å., 2010.** Feeding, digestion and absorption of nutrients. In: Grosell, M., Farrell, A.P., Brauner, C.J. (Eds.), Fish Physiology, Academic Press, 57–110.

**Bélanger, F., Blier, P and Dutil, J. D. 2002.** Digestive capacity and compensatory growth in Atlantic cod (*Gadus morhua*). Fish Physiology and Biochemistry, 26: 121-128.

**Bernfeld, P., 1951.** Amylases α and β. In methods in enzymology , vol.1 (Colowick, P & Kaplan, N.O.,eds), pp.149-157. New York: Academic press.

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

**Brown, R., Bennet, A and Slebocka-Tilk, H., 1992**. Recent perspectives concerning the mechanism of H3O+-and hydroxide-promoted amide hydrolysis. Accounts of chemical research, 25: 481-88.

**Buddington, R.K and Krogdahl, Å., 2004.** Hormonal regulation of the fish gastrointestinal tract. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 139: 261-271.

**Cahu C., Zambonino Infante J., Quazuguel P and Le Gall M., 1999.** Protein hydrolysate *vs*. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Aquaculture, 171: 109-119.

**Caruso, G., Denaro, M and Genovese, L., 2009.** Digestive enzymes in some Teleost species of interest for Mediterranean aquaculture. Open Fish Science, 2: 74-86.

**Castro, C., Pérez-Jiménez, A., Coutinho, F., Pousão-Ferreira, P., Brandão, T. M and Oliva-Teles, A., Peres, H., 2013.** Digestive enzymes of meagre (*Argyrosomus regius*) and white seabream (*Diplodus sargus*). Effects of dietary brewer's spent yeast supplementation. Aquaculture, 416: 322-27.

**Debnath, D., Pal, A. K., Sahu, N. P., Yengkokpam, S., Baruah, K., Choudhury, D and Venkateshwarlu, G., 2007.** Digestive enzymes and metabolic profile of (*Labeo rohita*) fingerlings fed diets with different crude protein levels. Comparative Biochemistry and Physiology part B: Biochemistry and Molecular Biology, 146: 107-14.

**FAO, 2014.** This State of world Fisheries and Aquculture 2014. Rome. 148.

**FAO, 2012.** The state of world fisheries and aquaculture. 2012. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome, 230.

**Fischbach, F and Zawta, B., 1992.** Age-dependent reference limits of several



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klin Lab, 38: 555-561.

**García-Meilán, I., Valentín, J., Fontanillas, R and Gallardo, M., 2013.** Different protein to energy ratio diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): Effects on digestive and absorptive processes. Aquaculture, 412: 1-7.

**Hansen, A. C., Hemre, G. I., Karlsen, Ø., Koppe, W and Rosenlund, G., 2011.** Do plant-based diets for Atlantic cod (*Gadus morhua L.*) need additions of crystalline lysine or methionine? Aquaculture Nutrition, 17: 362-371.

**Hidalgo, B., Barrios, A., Farnés, O.C and Hernández, K.U., 2011.** Digestive enzymes of two freshwater fishes *Limia vittata* and *Gambusia punctata* with different dietary preferences at three developmental stages. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 158: 136-141.

**Hidalgo, M.C., Urea, E and Sanz, A., 1999.** Comparative study of digestive amylase activities. Aquaculture, 170: 267-83.

**Hummel, B.C., 1959.** A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37: 1393-1399.

**Jahan-Mihan, A., Luhovyy, B. L., El Khoury, D and Anderson, G. H., 2011.** Dietary proteins as determinants of metabolic and physiologic functions of the gastrointestinal tract Nutrients, 3: 574-603.

Kasper, C.S., White, M.R and Brawn, P.B., 2000. Choline is required enzymes in fish with different nutritional habitus Proteolytic and by tilapia when methionine is not in excess. J. Nutrition, 130: 238–244.

**Koven, W., Rojas-García, C., Finn, R., Tandler, A and Rønnestad, I., 2002.** Stimulatory effect of ingested protein and/or free amino acids on the secretion of the gastro-endocrine hormone cholecystokinin and on tryptic activity, in early-feeding herring larvae, *Clupea harengus*. Marine Biology, 140: 1241-1247.

**Krogdahl, Å and Marie Bakke-McKellep, A., 2005.** Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 141: 450-460.

**Kuz'mina, V., Shekovtsova, N and Bolobonina, V., 2010.** Activity dynamics of proteinases and glycosidases of fish chyme with exposure in fresh and brackish water. Biology Bulletin, 37: 605-611.

**Li, P., Mai, K.S., Trushenski, Jesse and Wu, G.Y., 2009.** New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. Amino Acids, 37: 43–53.



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

**Martínez Palacios, C., Racotta, I., Ríos-Durán, M., Palacios, E., Toledo-Cuevas, M and Ross, L., 2006.** Advances in applied research for the culture of Mexican silversides (*Chirostoma, Atherinopsidae*). Biocell, 30: 137-148.

**Moraes, G and Bidinotto, P.M., 2000.** Induced changes in the amylohydrolytic profile of the gut of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1885) fed different levels of soluble carbohydrate: its correlation with metabolic aspects. Review Ictiology, 8: 47–51.

**Naz, M and Türkmen, M., 2009.** The changes in digestive enzymes and hormones of gilthead seabream larvae (*Sparus aurata, L* 1758) fed on *Artemia nauplii* enriched with free methionine. Aquaculture international, 17: 243-56.

**Nguyen, T and Davis, D., 2009.** Re-evaluation of total sulphur amino acid requirement and determination of replacement value of cysteine for methionine in semi-purified diets of juvenile Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Nutrition, 15: 247-253.

**Niu, J., Du, Q., Lin, H.Z., Chen, Y.Q., Huang, Z., Wang, J., Wang, Y and Chen, Y.F., 2013.** Quantitative dietary methionine requirement of juvenile golden pompano (*Trachinotus Ovatus*) at a constant dietary cystine level. Aquaculture. Nutrition, 19: 677–686.

**Nordas, H., Sveier, H., Berge, G and Lied, E., 2001.** Dietary inclusion of crystalline D- and L-methionine: effects on growth, feed and protein utilization, and digestibility in small and large Atlantic salmon (*Salmon salar* L.). Aquaculture Nutrition, 7: 169-181.

**Nordrum, S., Krogdahl, A., Røsjø, C., Olli, J.J and Holm, H., 2000.** Effects of methionine, cycteine and medium chain triglycerides on nutrient digestibility, absorption of amino acids along the intestinal tract and nutrient retention in Atlantic salmon (*Salmon salar L*.) under pair-feeding regime. Aquaculture, 186: 341-360.

**Nya, E. J and Austin, B., 2011.** Dietary modulation of digestive enzymes by the administration of feed additives to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*) Walbaum. Aquaculture Nutrition, 17: 459-466.

**Pérez-Jiménez, A., Guedes, M.J., Morales, A.E and Oliva-Teles, A., 2007.** Metabolic responses to short starvation and refeeding in (*Dicentrarchus labrax*). Effect of dietary composition. Aquaculture, 265: 325-335.

**Phillips, AM Jr., 1969.** Nutrition, digestion and energy utilization. In: Hoar WS, Randall DJ, Ed. Fish Physiology, Academic Press, London: 391-432.

**Rawls, J.F and Wong, S., 2012.** Intestinal microbiota composition in fishes is influenced by host ecology and



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

environment. Molecular Ecology, 21: 3100-3102.

**Rungruangsak-Torrissen, K., Moss, R., Andersen , L., Berg, A and Waagbo, R., 2006.** Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar L*). Fish Physiology and Biochemistry, 32: 7-23.

**Rungruangsak-Torrissen, K., Rustad, A., Sunde, J., Eiane, S.A., Jensen, H.B., Opstvedt, J., Nygård, E., Samuelsen, T.A., Mundheim, H and Luzzana, U., 2002.** In vitro digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82: 644-654.

**Santigosa, E., García-Meilán, I., Valentin, J.M., Pérez-Sánchez, J., Médale, F., Kaushik, S and Gallardo, M., 2011.** Modifications of intestinal nutrient absorption in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources in sea bream (*Sparus aurata*) and rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). Aquaculture, 317: 146-154.

**Tang, L., Wang, G. X., Jiang, J., Feng, L., Yang, L., LI, S. H., Kuang, S. Y and Zhou, X. Q., 2009.** Effect of methionine on intestinal enzymes activities, microflora and humoral immune of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio var. Jian*). Aquaculture Nutrition, 15: 477-83.

**Tantikitti, C and Chimsung, N., 2001.** Dietary lysine requirement of freshwater catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). Aquaculture Research, 32: 135–141.

**Webster, C.D., Tiu, L.G., Morgan, A.M and Gannam, A.L., 2000.** Differences in Growth in Blue Catfish (*Ictalurus furcatus*) and Channel Catfish *Z. punctatus* Fed Low-Protein Diets With and Without Supplemental Methionine and/or Lysine. Journal of the World Aquaculture Society, 31: 195-205.

**Wilson, R.P and Poe, W.E., 1985.** Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 80: 385-388.

Worthington, C.C., 1991. Worthington enzyme manual related Biochemical. 3th Edition. Freehold, New jersey, pp: 212-215.

**Wu, T., Sun, L.-C., Du, C.-H., Cai, Q.-F., Zhang, Q.-B., Su, W.-J and Cao, M.-J., 2009.** Identification of pepsinogens and pepsins from the stomach of European eel (*Anguilla anguilla*). Food chemistry, 115: 137-42.

**Yuan, Y.-c., Gong, S.-y., Yang, H.-j., Lin, Y.-c., Yu, D.-h and Luo, Z., 2011.** Effects of supplementation of crystalline or coated lysine and/or methionine on growth performance and feed utilization of the



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. Aquaculture Nutrition, 316: 31-36.

**Yúfera, M., Fernández-Díaz, C., Vidaurreta, A., Cara, J.B and Moyano, F.J., 2004.** Gastrointestinal pH development of the acid digestion in larvae in early juveniles of *Sparus aurata* (Pisces: Teleostei). Marine Biology, 144: 863–869.

**Zhou, F., Shao, J., Xu, R., Ma, J and Xu, Z., 2010.** Quantitative l-lysine requirement of juvenile black sea bream (*Sparus macrocephalus*). Aquaculture Nutrition, 16: 194-204.

**Zhou, F., Xiao, J. X., Hua, Y., Ngandzali, B. O amd Shao, Q. J., 2011.** Dietary l-methionine requirement of juvenile black sea bream (*Sparus macrocephalus*) at a constant dietary cysteine level. Aquaculture Nutrition, 17: 469-81.

**Zhou, X.Q., Zhao, C.R and Lin, Y., 2007.** Compare the effect of diet supplementation with uncoated or coated lysine on juvenile Jian Carp (*Cyprinus carpio Var. Jian*). Aquaculture Nutrition, 13: 457–461.

[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]

[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]

# Intestinal digestive enzyme activity under the influence of different dietary supplements methionine and lysine in the diet of *Sparidentex hasta*

**Movahedian R.[1], Zakeri M.[1*], Kochanian P.[1], Mousavi S.M.[1], Taghavi Moghadam A.[2]**

[*]Zakeri.mhd@gmail.com

1- Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology
2- Academic member of Razi Vaccine and Serum Research Institute (Ahwaz Branch)

**Abstract**

This study was conducted to determine the effects of dietary methionine and lysine supplementation on digestive enzymes activity in juvenile Sobaity, *Sparidentex hasta*. For this purpose, 180 juvenile fish with an initial average weight of 31.38 ± 1.4 g were distributed randomly in eighteen (300 L) polyethylene tanks. 6 experimental diets were prepared with different levels of methionine and lysine including control diet (without dietary methionine and lysine), Diet 1: 100% methionine; Diet 2: 75% methionine and 25% lysine; Diet 3: 50% methionine and 50% lysine; Diet 4: 25% methionine and 75% lysine; Diet 5: 100% lysine. During the experimental period, fish were fed to satiation thrice daily (8:00, 13:00 and 18:00 hours) for 8 weeks. At the end of the experiment, digestive enzymes (trypsin, chymotrypsin, alkaline phosphatase, amylase, lipase and total protease were effected by different dietary levels of methionine and lysine supplementations (P<0/05). Also, the activity of trypsin and chymotrypsin had showed an increasing trend with increased amount of diet lysine while enzyme activity of alkaline phosphatase was higher in treatments contains maximum amount of methionine supplementation. According to results, the increasing of lysine in diet reduced enzyme activity of lipase. The results, showed no significant differences between experimental treatments in amylase and total protease (P<0/05). Based on the results of evaluation digestive enzymes, amino acids supplements of lysine and methionine were changed the activity of digestive enzymes in juvenile Sobaity, (*S. hasta*). Finally, Diet 2 with 75% methionine and 25% lysine was suggested for used by Sobaity, as to the balance of dietary methionine and lysine supplementation.

**Key words:** methionine, lysine, digestive enzymes, *Sparidentex hasta*

[*]Corresponding auther



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-06-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.2.16.8 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110241 ]