

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

مهکامه لشکری زاده بمی<sup>(۱)</sup>؛ مهرداد فرهنگی<sup>(۲)\*</sup>؛ ناصر آق<sup>(۳)</sup> و امید صفری<sup>(۴)</sup>

Farhangi@nrf.ut.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج صندوق پستی: ۴۱۱۱

۲- پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه

۳- 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 آبزی پروری، آگاهی از روند تغییرات آنژیم‌های 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 آنژیم‌های 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 تفريخت به محیط‌های پرورش خود معرفی شدند. میزان فعالیت‌های آنژیم‌ها در روزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ دوره پرورش مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش رابطه همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان فعالیت آنژیم تریپسین و مقدار پروتئین خام (۰/۷۴)، میزان فعالیت آنژیم آمیلاز و مقدار کربوهیدرات (۰/۴۹)، میزان فعالیت آنژیم لیپاز و مقدار چربی خام (۰/۸۴) در جیره‌های غذایی مورد استفاده و افزایش فعالیت هر سه آنژیم با افزایش روند تکامل آرتمیا مشاهده شد. در طول دوره پرورش، آنژیم تریپسین در تمامی تیمارها به استثناء تیمار آرد گندم، آنژیم آمیلاز در تمامی تیمارها و آنژیم لیپاز در تمامی تیمارها به استثناء دو تیمار غذایی کپور معمولی و آرد گندم، شاهد افزایش معنی‌داری بودند. براساس نتایج می‌توان اذعان نمود که فعالیت آنژیم‌های گوارشی بسته به جیره غذایی مورد استفاده و مرحله تکاملی آرتمیا تغییر می‌نماید. با توجه به افزایش فعالیت آنژیم‌های گوارشی آرتمیا ارومیانا تا مرحله بلوغ، استفاده از آرتمیا ارومیانای بالغ علاوه بر کاهش فشار بر منابع طبیعی سیستم و ناپلی آن، منجر به صرفه اقتصادی بیشتر شده و کیفیت بهتری نسبت به سیستم و ناپلی آن موجب می‌گردد.

**لغات کلیدی:** آرتمیا ارومیانا، آنژیم‌های گوارشی، جیره غذایی، چرخه زندگی

## مقدمه

استفاده، تحقیقات اندکی صورت گرفته است (Samain *et al.*, 1976; Samain *et al.*, 1980; García-Ortega *et al.*, 1998). علاوه 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 شده 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 کربوهیدراتات جهت مقایسه روند تغییرات آنزیم‌های گوارشی (Twining *et al.*, 1983; Spannhof & Plantikow, 1983) آرتمیا ارومیانا انتخاب شدند. آرد گندم یکی از اقلام غذایی مورد استفاده بود که بعنوان منبع غذایی سرشار از کربوهیدراتات 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).

با توجه به استفاده روز افزون از آرتمیا در آبری پروری، فشار بر منابع طبیعی به منظور تأمین سیستم 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 وارد به منابع طبیعی برای تأمین سیستم 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 سیستم 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 مقرن 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) گوارشی در طول مراحل مختلف لاروی دچار تغییرات زیادی می‌شوند. با وجود اهمیت زیاد این موضوع، در مورد تغییرات آنزیم‌های گوارشی آرتمیا با توجه به جیره‌های غذایی مورد

جدول ۱: ترکیب شیمیابی جیره‌های غذایی مورد استفاده در تغذیه آرتیمیا ارومیانا (براساس ماده خشک)

(میانگین ± انحراف معیار) (r=۲)

انرژی خام (کیلوکالری در گرم)	چربی خام (درصد)	عصاره عاری از ازت (درصد)	پروتئین خام (درصد)	غذای مورد استفاده
۳۸۸/۷ ± ۰/۰۱	۳/۰ ± ۰/۰۲	۸/۶ ± ۰/۰۲	۳۵/۸۷ ± ۰/۰۱	جیره غذایی ماهی کپور (جیره شاهد)
۵۳۳/۸ ± ۰/۰۲	۴/۰ ± ۰/۰۲	۸/۳ ± ۰/۰۱	۶۱/۰ ± ۰/۰۲	کنجاله سویا
۵۱۹/۰ ± ۰/۰۱	۴/۰ ± ۰/۰۱	۱۸/۰ ± ۰/۰۱	۵۴/۰ ± ۰/۰۲	جیره ترکیبی ۱ (کنجاله سویا+کنجاله کانولا)
۵۵۵/۸ ± ۰/۰۱	۳/۰ ± ۰/۰۲	۴۲/۰ ± ۰/۰۲	۳۵/۰ ± ۰/۰۱	جیره ترکیبی ۲ (کنجاله سویا+آرد گندم)
۵۷۷/۸ ± ۰/۰۲	۲/۰ ± ۰/۰۱	۷۷/۰ ± ۰/۰۱	۱۰/۸۱ ± ۰/۰۱	آرد گندم

برای سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی تریپسین، آمیلاز و لیپاز نمونه برداری از آرتیمیا در روزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ صورت گرفت. پس از شستشو با آب شیرین و توزین، نمونه‌ها در فریزر -۸۰ درجه سانتی گراد 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 میلی لیتر رسید. نمونه‌های هموژن شده به مدت ۵ دقیقه در ۸ × ۵۰۰ سانتی‌فیوژن شدند. در انتها مایع تجمع یافته در قسمت بالای نمونه‌ها بلافالسه برای سنجش تغییرات آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت (Moraiti & Ioannidou, 2008).

برای سنجش میزان فعالیت آنزیم تریپسین از N-a-N بنزوئیل-DL-آرژنین-پار-نیترو-آنیلید-هیدروکلرايد (BAPNA) Erlanger et al., 1961; Chong (1961; Chong et al., 2002) سوبسترا استفاده شد (Chong et al., 2002). واحد فعالیت آنزیم تریپسین بر حسب میکرو مول سوبسترا که در هر دقیقه به ازاء ۱ میلی گرم پروتئین آزاد می شد با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Chong et al., 2002):  $\text{مقدار سوبسترا در دقیقه} = \frac{\text{میلی گرم پروتئین}}{\text{میلی گرم سوبسترا}} \times \text{ DF}$  (DF =  $\frac{\text{مقدار سوبسترا در دقیقه}}{\text{مقدار سوبسترا در دقیقه}} \times 1000 \times 3$ ). که در آن DF فاکتور رقت و ضریب ثابت مولکولی برای پارا-نیترو آنیلین است.

به منظور تعیین درصد پروتئین خام از روش کجلداال، جهت تعیین درصد چربی خام از روش سوكسله (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 کربوهیدراتات 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 میلی گرم در لیتر و شوری ۳۵ گرم در لیتر، pH برابر با ۸-۸/۵ (آق و نوری، 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 میلی گرم در لیتر، شوری ۶۰ گرم در لیتر، pH در حد ۸-۸/۵، و دوره روشنایی برابر با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (آق و نوری، McEvoy & Lavens & Sorgeloos, 1996; Lavens & Sorgeloos, 1996; 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).

است که در روز پنجم دوره پرورش، هیچگونه اختلاف معنی‌داری از نظر میزان فعالیت آنژیم تریپسین در میان تیمارها وجود نداشت. با مقایسه میزان فعالیت آنژیم تریپسین در تیمارهای مختلف در روز دهم دوره پرورش مشاهده شد که میزان فعالیت این آنژیم 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 ( $P < 0.05$ ). بعلاوه بین میزان فعالیت این آنژیم 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 آنژیم در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۲ اختلاف معنی‌داری با تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ از استفاده از جیره ترکیبی ۱ داشت ( $P < 0.05$ ). مقایسه میانگین فعالیت آنژیم تریپسین در میان تیمارها در روز پانزدهم نشان داد که میزان فعالیت این آنژیم در تیمار تغذیه شده با آرد گندم کمتر از دیگر تیمارها و دارای اختلاف معنی‌دار با آنها بود ( $P < 0.05$ ) 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 آنژیم تریپسین فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند. البته میزان فعالیت این آنژیم 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 ( $P < 0.05$ ).

براساس جدول ۲ و مقایسه میزان فعالیت آنژیم تریپسین در تیمارهای مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش می‌توان گفت که بطور کلی میزان فعالیت این آنژیم در طول دوره پرورش در کلیه تیمارها، به استثناء تیمار تغذیه شده با آرد گندم، بصورت معنی‌داری افزایش یافته است ( $P < 0.05$ ). لازم به ذکر است که بین میزان فعالیت آنژیم تریپسین و مقدار پروتئین خام جیره‌های غذایی همبستگی مثبت ( $R^2 = 0.74$ ) و معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) وجود داشت (نمودار ۱).

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

$$\text{مقدار مالتوز آزاد شده} = \frac{\text{میلی‌گرم پروتئین}}{\text{مقدار مالتوز آزاد شده}} \times \frac{\text{ DF}}{\text{ میلی‌گرم پروتئین}}$$

که در آن DF فاکتور رقت است.

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

$$\text{مقدار اسید چرب آزاد شده} = \frac{\text{میلی‌گرم پروتئین}}{\text{ DF}} \times \frac{\text{ میلی‌گرم پروتئین}}{1000} \times 1000$$

که در آن DF فاکتور رقت و  $1000/\text{ DF}$  است که بعنوان محلول تیتراسیون مورد استفاده قرار گرفت.

از آزمون شاپیرو-ولیک 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 آنژیم‌ها و مقدار پروتئین، چربی و کربوهیدرات‌های غذایی با استفاده از نرم‌افزار Minitab محاسبه شد. برای انجام آنالیزهای آماری و رسم نمودارها بترتیب از نرم‌افزارهای SPSS و Excel استفاده بعمل آمد.

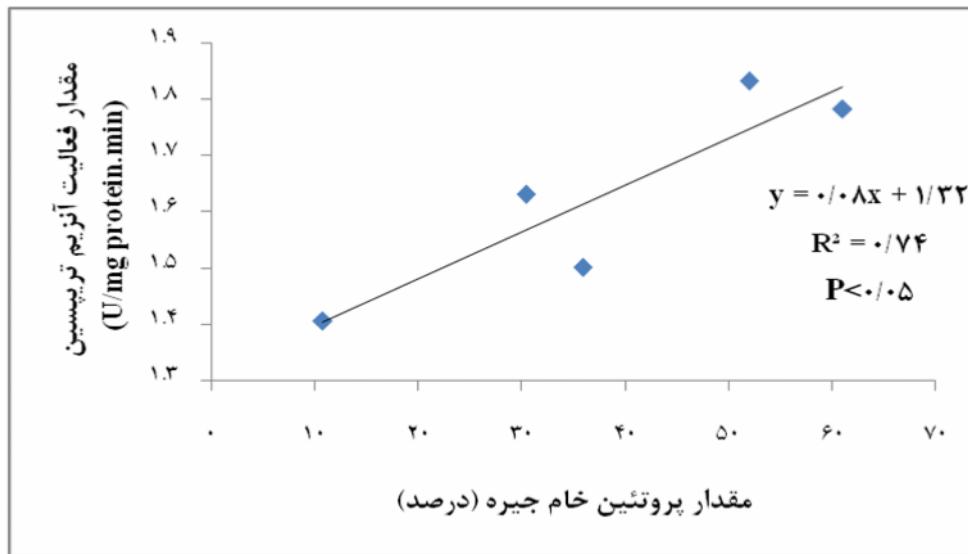
## نتایج

نتایج حاصل از میزان فعالیت آنژیم 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

جدول ۲: مقایسه میزان (میانگین ± انحراف معیار) فعالیت آنزیم تریپسین (میلی گرم پروتئین / واحد فعالیت در دقیقه) در آرتیمیا تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش ( $r=2$ )

جیره غذایی ماهی کپور معمولی (جیره شاهد)	جیره ترکیبی ۲ (کنجاله سویا+آرد گندم)	جیره ترکیبی ۱ (کنجاله سویا+کنجاله کانولا)	کنجاله سویا آرد گندم	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵
(x) $1/19 \pm 0/14$	(x) $1/21 \pm 0/18$	(x) $1/23 \pm 0/14$	(x) $1/15 \pm 0/14$	(x) $1/23 \pm 0/14$	a, (xy) $1/41 \pm 0/18$	a, (y) $1/59 \pm 0/14$
bc, (y) $1/64 \pm 0/23$	bc, (y) $1/70 \pm 0/21$	ab, (y) $1/50 \pm 0/16$	bc, (y) $1/70 \pm 0/18$	bc, (y) $1/64 \pm 0/23$	b, (z) $2/07 \pm 0/15$	c, (z) $2/54 \pm 0/18$

\* داده‌های ارائه شده در هر ردیف (a-b) و ستون (x-z) با حروف غیرمشترک با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ( $P<0.05$ ).



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

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 ( $P<0.05$ ). با مقایسه میزان فعالیت آنزیم

۱۱۹

نتایج حاصل از فعالیت آنزیم آمیلاز در آرتیمیاهای 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 قادر اختلاف معنی‌دار با تیمارهای تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ و جیره ترکیبی ۲ بود.

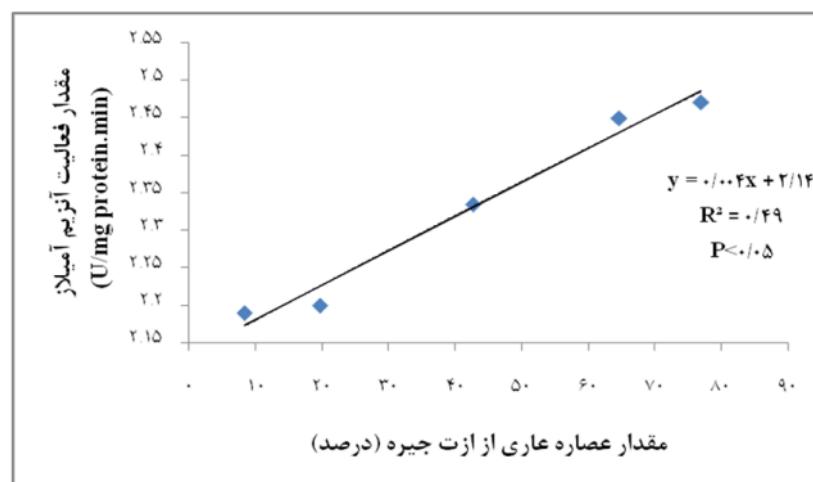
مقایسه میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در تیمارهای مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش (جدول ۳) نشان داد که بطور کلی میزان فعالیت این آنزیم در طول دوره پرورش در تمامی تیمارها بطور معنی‌داری افزایش یافت ( $P<0.05$ ). بعلاوه بین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز و مقدار عصاره عاری از ازت جیره‌های غذایی رابطه همبستگی مثبت ( $R^2=0.49$ ) و معنی‌دار وجود داشت ( $P<0.05$ ) (نمودار ۲).

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 ( $P<0.05$ ).

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 ( $n=2$ )

آرد گندم	جیره ترکیبی ۲ (کنجاله سویا+آرد) گندم	جیره ترکیبی ۱ (کنجاله سویا+کنجاله کانولا)	کنجاله سویا	جیره غذایی ماهی کپور معمولی (جیره شاهد)	
(x) $1/87 \pm 0/17$	(x) $1/85 \pm 0/21$	(x) $1/90 \pm 0/16$	(x) $1/89 \pm 0/20$	(x) $1/91 \pm 0/24$	روز ۵
c, (y) $2/50 \pm 0/14$	ab, (y) $2/31 \pm 0/15$	a, (y) $2/17 \pm 0/12$	a, (y) $2/16 \pm 0/18$	bc, (y) $2/45 \pm 0/13$	روز ۱۰
c, (z) $3/08 \pm 0/42$	ab, (z) $2/85 \pm 0/14$	a, (z) $2/53 \pm 0/10$	a, (z) $2/52 \pm 0/13$	c, (z) $3/05 \pm 0/23$	روز ۱۵

\*داده‌های ارائه شده در هر ردیف (a-b) و ستون (x-z) با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ( $P<0.05$ ).



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

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

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

فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ بصورت معنی داری بیشتر از سایر تیمارها (به جز تیمار تغذیه شده با کنجاله سویا) بود ( $P<0.05$ ).

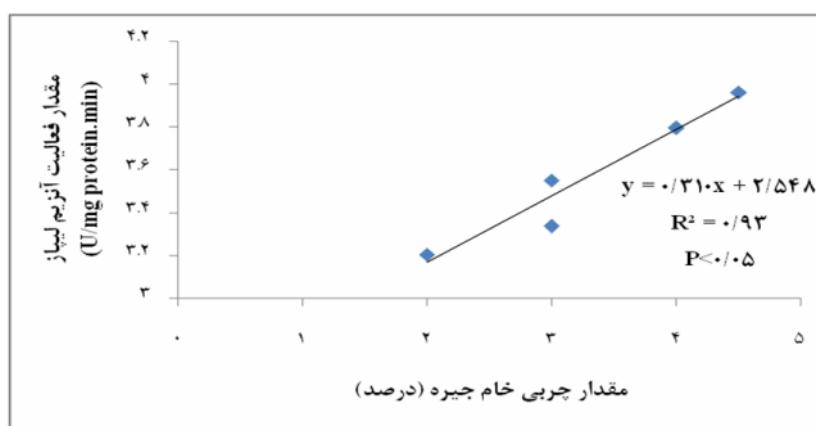
مقایسه میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تیمارهای مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش نشان داد که بطور کلی میزان فعالیت این آنزیم در طول دوره پرورش در تمامی تیمارها، به استثناء دو تیمار تغذیه شده با جیره غذایی ماهی کپور و آرد گندم، بصورت معنی داری افزایش یافت ( $P<0.05$ ) (جدول ۴). همچنین بین میزان آنزیم لیپاز و مقدار چربی جیره های غذایی همبستگی مثبت ( $R^2=0.93$ ) و معنی داری ( $P<0.05$ ) وجود داشت (نمودار ۳).

روز دهم دوره پرورش میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تیمار تغذیه شده با آرد گندم در مقایسه با سایر تیمارها کمتر و فاقد اختلاف معنی دار 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 معنی داری با تیمار تغذیه شده با جیره غذایی ماهی کپور نداشت. علاوه برین دو تیمار تغذیه شده با کنجاله سویا و جیره ترکیبی ۲ نیز تفاوت معنی داری از نظر میزان فعالیت لیپاز وجود نداشت. میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ بصورت معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود ( $P<0.05$ ). مقایسه تیمارها در روز پانزدهم دوره پرورش نشان داد که میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تیمار تغذیه شده با آرد گندم بصورت معنی داری کمتر از سایر تیمارها بود ( $P<0.05$ ). میزان

جدول ۴: مقایسه میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) فعالیت آنزیم لیپاز (میلی گرم پروتئین/ واحد فعالیت در دقیقه) در آرتمیای تغذیه شده با جیره های مختلف در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم دوره پرورش ( $n=2$ )

آرد گندم	آرد گندم (کنجاله سویا+آرد گندم)	جیره ترکیبی ۲ (کنجاله سویا+کانولا)	جیره ترکیبی ۱ (کنجاله سویا+کنجاله کانولا)	کنجاله سویا	جیره غذایی ماهی کپور معمولی (جیره شاهد)
(x) $3/11\pm0.13$	(x) $3/0.1\pm0.19$	(x) $3/0.4\pm0.20$	(x) $3/11\pm0.17$	(x) $3/0.1\pm0.20$	روز ۵
a, (x) $3/18\pm0.16$	bc, (y) $3/4.6\pm0.17$	d, (y) $4/11\pm0.19$	c, (y) $3/8.3\pm0.15$	ab, (y) $3/3.7\pm0.24$	روز ۱۰
a, (x) $3/3.3\pm0.20$	c, (z) $4/0.0\pm0.19$	d, (z) $4/7.0\pm0.17$	d, (z) $4/4.6\pm0.19$	b, (y) $3/6.4\pm0.23$	روز ۱۵

\*داده های اوله شده در هر ردیف (a-b) و ستون (x-z) با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند ( $P<0.05$ ).



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

## بحث

در صورتی که در محیط عاری از فیتوپلانکتون‌ها میزان فعالیت پروتئازها بیشتر بود. نسبت آمیلاز/پروتئاز قابلیت تطبیق 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 کربوهیدرات‌بیشتر 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 برتریب 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). علاوه، وجود اختلاف معنی‌دار در فعالیت آنزیم آمیلاز میان دو تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۲ و آرد گندم، با وجود بیشتر بودن میزان کربوهیدرات‌های در غذای ترکیبی ۲ (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 Samain *et al.*, 1976 افزایش تراکم فیتوپلانکتون‌ها افزایش یافت (Scylla *serrata*). در پژوهشی که در خرچنگ لجنی (

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 آنزیم‌های گوارشی می‌تواند عنوان 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 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 مجموع، گزارشی که میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در مراحل مختلف تکاملی آرتمیا ارومیانا را مورد بررسی قرار داده باشد یافته 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 یافت.

چربی در جیره غذایی، مشخص می‌شود که با افزایش مقدار چربی جیره غذایی، میزان فعالیت این آنژیم نیز افزایش یافت. دلیل دیگر کمتر بودن میزان فعالیت این آنژیم در تیمار تغذیه شده با آرد گندم می‌تواند متأثر از وجود کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم در آرد گندم باشد، زیرا نشان داده است که این مواد قادر به کاهش قابلیت هضم چربی‌ها می‌باشند (Levrat *et al.*, 1996). در تحقیقی مشاهده شد که بین میزان فعالیت آنژیم آمیلاز (در نتیجه میزان کربوهیدرات‌های غذا) و مقدار چربی در غذا (در نتیجه میزان فعالیت آنژیم لیپاز) رابطه معکوسی وجود دارد (Pavasonic *et al.*, 2007). در پژوهش حاضر، با وجود مقداری بسیار نزدیک چربی در جیره‌های غذایی مورد استفاده به یکدیگر، وجود اختلاف معنی‌دار میان فعالیت آنژیم لیپاز میان تیمارهای مختلف، با توجه بوجود تفاوت در مقدار کربوهیدرات‌های جیره‌ها، می‌تواند بدلیل اختلاف در فعالیت آنژیم آمیلاز میان تیمارها نسبت داده شود. به همین دلیل در هر مورد که فعالیت آنژیم آمیلاز زیاد بود، میزان فعالیت آنژیم لیپاز کاهش یافت و بالعکس.

به هنگام پرورش آرتمیا (*Artemia franciscana*) با فیتوبلانکتون‌ها مشاهده شد که میزان فعالیت آنژیم‌های گوارشی در طول مراحل مختلف تکاملی تحت تاثیر میزان مصرف غذا، ترکیب شیمیایی غذا و قابل بلع بودن آن و نیز نیازهای تغذیه‌ای آرتمیا قرار می‌گیرد (Samain *et al.*, 1980). همچنین تغییرات قابل ملاحظه‌ای در میزان فعالیت این آنژیم‌ها در طول مراحل تکاملی مختلف آرتمیا متناسب با سن و نوع غذای مورد مصرف مشاهده شد. در تحقیق دیگری با مقایسه میزان فعالیت آنژیم تریپسین در مراحل اولیه ناپلیایی آرتمیای دریاچه بزرگ نمک مشاهده شد که مقدار این آنژیم 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 آنژیم گوارشی متناسب با سیر تکاملی آرتمیا ارومیانا تا روز پانزدهم دوره پرورش افزایش یافت. همچنین میزان فعالیت آنژیم‌های 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 آنژیم‌های گوارشی نیست، بلکه مراحل تکامل موجود نیز در این امر مؤثر است (Lovett & Felder, 1990).

۱۲۳

انجام گردید (Pavasovic *et al.*, 2004) مشاهده شد که با جایگزینی مقداری از پروتئین غذا با کربوهیدرات‌ها فعالیتهای آنژیم‌های مؤثر بر هضم کربوهیدرات‌ها افزایش پیدا کرد. در تحقیق حاضر، با وارد نمودن آرد گندم (غنى از کربوهیدرات) جهت تهیه جیره ترکیبی ۲ میزان فعالیت آنژیم آمیلاز در تیمار تغذیه شده با این جیره با فعالیت این آنژیم 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 مقدار پروتئین بیشتر از کربوهیدرات بودند) قادر 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 آرتیما ارومیانا را در تنظیم فعالیت آنژیم‌های گوارشی مناسب 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 آنژیم و مقدار کربوهیدرات‌ها در جیره غذایی مورد مصرف، مشخص گردید که میزان فعالیت این آنژیم با افزایش مقدار کربوهیدرات‌ها در جیره‌های غذایی افزایش و با تغذیه از آرد گندم بعنوان منبعی غنى از کربوهیدرات‌ها به بیشترین میزان خود رسید. بعلاوه، افزایش معنی‌دار فعالیت این آنژیم در تمامی تیمارها می‌تواند بدلیل وجود مقدار کربوهیدرات‌ها 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 آنژیم تریپسین و میزان پروتئین جیره غذایی و آنژیم لیپاز و میزان چربی غذایی در این است که رابطه همبستگی آنژیم‌های تریپسین و لیپاز با سوبستراهای اختصاصی آنها محاسبه شده است. در صورتی که رابطه همبستگی مذکور جهت آنژیم آمیلاز برای عصاره عاری از ازت که سوبستراتی اختصاصی آنژیم آمیلاز محسوب نمی‌شود، محاسبه شده است.

کمترین میزان فعالیت آنژیم 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 آنژیم نیز در تیمار تغذیه شده با جیره ترکیبی ۱ مشاهده شد. بطور کلی با مشاهده رابطه همبستگی مثبت بین میزان فعالیت آنژیم لیپاز و مقدار

- Bellini L., 1957a.** Studio delle dipeptidasi e proteinasi nello sviluppo di *Artei iiiii siliiu* Leach. Atti Acad. 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 sviluppo di *Artei iiiii saliia* Leach. Atti Acad. 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  $\alpha$  and  $\beta$ . 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 *Sympodus aequifasciata*. 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.

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 متنوع تر همزمان با کامل شدن سیر تکامی موجود افزایش می‌یابد. بنابراین استفاده از آرتمیا ارومیانای بالغ در آبری‌پروری 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 مoid آن است که آرتمیا ارومیانای قادر به استفاده از مواد غذایی حاوی کربوهیدرات‌های زیاد است. با توجه به اینکه کربوهیدرات‌ها ارزان‌ترین منابع تامین ارزشی 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 می‌آید. همچنین از خدمات 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.

- 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 stysiostriatus* under laboratory conditions. Aquaculture, 271:439-448.
- Gorospe J. and Nakamura K., 1996.** Associated bacterial microflora in Artemia-rice bran culture. Bamidreh 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. In: 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 Rémesy 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.** Ontogenetic 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 antinutritional aspects of Argentina soy flour assessed on weanling rats. Journal of Food Composition and Analysis, 16:441-449.

- 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-Cathariou 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).

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

Lashkarizadeh M.<sup>(1)</sup>; Farhangi M.<sup>(2)\*</sup>; Agh N.<sup>(3)</sup> and Safari O.<sup>(4)</sup>

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, amylase 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