پرورش لارو ماهی

تکوین برخی از آنزیم‌های گوارشی در مرحله لاروی ماهی صبیتی *Sparidentex hasta*

سمیرا ناظم‌رعایا*[۱]، محمدعلی نعمت اللهی[۱]، راضیه یزدان پرست[۲]، حمید فرحمند[۱]، قدرت اله میرزاده[۳]

[۱] گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران

[۲] گروه بیوشیمی مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران

[۳] شیلات استان هرمزگان، بندرعباس

s_nazemroaya@alumni.ut.ac.ir*

واژه‌های کلیدی: صبیتی، آنزیم، لارو، تکوین.

مقدمه

چند سالی است که در خط ساحلی جنوب کشور به دلیل مشکلات برخواسته از صید بی رویه و خطر کاهش جمعیت‌ها و افزایش نیاز بازار به تکثیر و پرورش برخی از ماهیان دریایی مانند صبیتی روی آورده شده است. این ماهی با بازارپسندی بسیار بالا در شرایط پرورشی از رشد نسبتاً سریعی برخوردار است (Teng *et al.*, 1999). باوجود افزایش قابل ملاحظه تولید جهانی از ۱۱/۵ تن در سال ۲۰۰۰ به ۱۳۰۰ تن در سال ۲۰۱۲ (RAIS, 2012)، مشکلات مربوط به مراحل پرورش لاروی مانند هزینه‌های بالای سرمایه‌گذاری برای پرورش غذای زنده، ارزش غذایی غیرقابل اطمینان و راندمان پایین غنی‌سازی آن همچنان پابرجاست. کاربرد غذاهای تجاری خشک می‌تواند این نگرانی‌ها را برطرف سازد. بدین منظور، برای پیشبرد ساخت ریزجیره‌های مناسب برای جایگزینی با غذای زنده، آگاهی از ظرفیت گوارشی با مشخص کردن فعالیت آنزیم‌ها و ارزیابی سیر تکامل آنها در خلال دوره لاروی می‌تواند به عنوان شاخصِ نوع و مقدار مواد غذایی جای گیرنده در ریزجیره به کار آید (Alvarez-González *et al.*, 2010) ؛ همچنین تعیین کننده ظرفیت لارو برای هضم و جذب مواد مغذی در غذاهای زنده و یا ریزجیره‌ها باشد و زمان تقریبی حرکت از سوی غذای زنده به ریز جیره‌ها را مشخص کند (Jimenez-Martinez *et al.*, 2012). این مطالعه اولین مورد درباره فیزیولوژی گوارشی لارو ماهی صبیتی با اندازه‌گیری فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی معده، پانکراس و روده «پپسین، تریپسین، لیپاز، آمیلاز و آلکالاین فسفاتاز» می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه های لارو ماهی صبیتی، از طریق تکثیر و پرورش آنها در کارگاه تکثیر ماهیان دریایی واقع در روستای بندر معلم از توابع بندر لنگه در غرب استان هرمزگان در فاصله زمانی اسفند ۱۳۹۱ تا اردیبهشت ۱۳۹۲ و نمونه برداری تصادفی در سه تکرار زیستی در روزهای ۰، ۲،

۵، ۱۰، ۱۴ و ۱۶ (۱۰۰ عدد)، ۲۰ و ۲۵ (۸۰ عدد)، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ (۶۰ عدد) بعد از تخم‌گشایی تأمین شدند. روش پرورش با آب سبز با کاربرد نانوکلروپسیس از روز ۲۰-۱ بود. روتیفر از روز ۱۰-۲ و ناپلی آرتمیا از روز ۳۰-۱۶ ارائه شد و زمان آغاز «جایگزینی تدریجی غذای زنده با غذای دستی» روز ۲۵ و پایان آن روز ۳۰ پس از تخم‌گشایی بود. نمونه‌ها در نیتروژن مایع غوطه‌ور و منجمد شدند و سپس به فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد منتقل شدند. برای استخراج عصاره خام آنزیمی، نمونه‌های پودر شده توسط هاون به همراه ازت مایع با نسبت (w/v ۱۰: ۱) با محلول ۰/۱۵ مولار کلریدسدیم مخلوط گردید و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ ºC در ۱۵۰۰۰ g سانتریفیوژ و روشناور جدا شد. فعالیت آنزیم‌های تریپسین با سوبسترای پارانیتروآنیلین (Torrissen *et al.*, 1994)، آلفا- آمیلاز با نشاسته (Bernfeld, 1951)، آلکالاین فسفاتاز با پارا-نیتروفنیل فسفات (Koyama *et al.*, 1987)، لیپاز با پارانیتروفنیل مریستات (Iijima *et al.*,1998) و پپسین با کازئین (Rungruangsak- Torrissen *et al.*, 2006) و روش طیف سنجی توسط اسپکتروفتومتر و میزان پروتئین محلول با روش لوری و با استفاده از دستگاه خوانشگر الایزا سنجیده شدند. از نرم افزار SPSS با روش تجزیه واریانس یک‌طرفه و آزمون چند دامنه توکی جهت مقایسه تفاوت آماری بین میانگین فعالیت هر آنزیم در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری در سطح معنی داری ۵٪ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج بیانگر آن بود که تمام آنزیم‌ها به جز پپسین در زمان تفریخ قابل تشخیص بودند و پس از این زمان فعالیت آنها با بالارفتن سن لارو افزایش یافت. پیدایش زودهنگام فعالیت تریپسین و آمیلاز پیش از باز شدن دهان، به فرآیندی با برنامه‌ریزی ژنتیکی نسبت داده شد. فعالیت تریپسین الگویی نوسانی (با دو پیک در روزهای ۱۶ و ۳۰ پس از تفریخ) نشان داد که این نوسان همزمان با بلع غذا و در پاسخ به تغییر جیره در خلال دوره پرورش بود. هم لیپاز و هم آمیلاز پس از آغاز مرحله جایگزینی غذای زنده با غذای خشک به دلیل تأثیر ترکیب غذایی ریز جیره افزایش نشان دادند. حضور زودهنگام به همراه روند افزایشی آلکالاین فسفاتاز از روز ۵ پس از تفریخ بیانگر بلوغ زودرس انتروسیت‌ها و در نتیجه رشد سریع در این گونه بود. فعالیت آنزیم پپسین اولین بار در روز ۱۶ پس از تفریخ مشخص گردید و پس از جایگزینی غذای زنده با غذای خشک (بین روزهای ۲۵ تا ۳۰ پس از تفریخ) تا انتهای دوره ازمایش به شدت افزایش داشت. افزایش پیشرونده پپسین به دنبال کاهش در فعالیت تریپسین پس از اتمام مرحله جایگزینی غذای زنده با غذای خشک، بیانگر تغییر در فیزیولوژی هضمی و رسیدن به شکل بالغ هضم پروتئین در لارو ماهی صبیتی بود. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که چنین تکامل آنتوژنیک زودهنگام از آنزیم‌های اشاره شده در بالا این امکان را فراهم می‌سازد تا لارو ماهی صبیتی را در زمانی زودتر از روز ۲۵ پس از تفریخ با غذای خشک تغذیه کرد تا ضمن کاهش مصرف غذای زنده، کارایی جایگزینی غذای زنده با خشک نیز بهبود یابد.

فهرست منابع

Alvarez-González, C., Moyano-López, F., Civera-Cerecedo, R., Carrasco-Chávez, V., Ortíz-Galindo, J.L., Nolasco-Soria, H., Tovar-Ramírez, D., Dumas, S., 2010. Development of digestive enzyme activity in larvae of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* II: Electrophoretic analysis. Fish Physiol Biochem 36, 29-37.

Jimenez-Martinez, L.D., Alvarez-González, C.A., Tovar-Ramírez, D., Gaxiola, G., Sanchez-Zamora, A., Moyano, F.J., Alarcón, F.J., Márquez-Couturier, G., Gisbert, E., Contreras-Sánchez, W.M ,Perales-García, N., Arias-Rodríguez, L., Indy, J.R., Páramo-Delgadillo, S., Palomino-Albarrán, I.G., 2012. Digestive enzyme activities during early ontogeny in Common snook (*Centropomus undecimalis*). Fish Physiol Biochem 38, 441-454.

RAIS, 2012. Annual Aquaculture Statistics. FAO Fisheries and Aquaculture Department.

Teng, S.-K., El-Zahr, C., Al-Abdul-Elah, K., Almatar, S., 1999. Pilot-scale spawning and fry production of blue-fin porgy, *Sparidentex hasta* (Valenciennes), in Kuwait. Aquaculture 178, 27-41.

Torrissen, K., Lied, E., Espe, M., 1994. Differences in digestion and absorption of dietary protein in Atlantic salmon (Salmo salar) with genetically different trypsin isozymes. Journal of Fish Biology 45, 1087-1104.