تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۷/۱۶

نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۶، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۲

۴۲۳

تغییرات آنتوژنی آنزیم‌های گوارشی پانکراسی و اسیدهای چرب در تخم و لارو کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*)

❖ **وحید چمن‌آرا:** دانشکدهٔ علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان و عضو باشگاه پژوهش‌گران جوان دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ایلام
❖ **آناهیتا فرهودی*:** دانشکدهٔ علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان و عضو باشگاه پژوهش‌گران جوان دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گچساران

چکیده

تغییرات آنتوژنی آنزیم‌های گوارشی پانکراسی و پروفیل اسیدهای چرب در تخم لقاح‌یافته و لارو کیسه زرده‌دار کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*)، برای ارزیابی احتیاجات غذایی لارو کپور علف‌خوار هنگام شروع تغذیهٔ فعال، بررسی شدند. از تخم لقاح‌یافته، لارو تازه تفریخ‌شده، لارو یک‌روزه، لارو در مرحلهٔ جذب $\frac{2}{3}$ کیسهٔ زرده و لارو در مرحلهٔ انتهای جذب کیسهٔ زرده نمونه‌برداری شد. در مطالعهٔ حاضر، آنزیم‌های گوارشی دخیل در هضم پروتئین، چربی و کربوهیدرات شامل تریپسین، کیموتریپسین، لیپاز و آمیلاز در تخم، زمان تفریخ و شروع تغذیهٔ فعال شناسایی شدند. بالابودن فعالیت اختصاصی تریپسین و کیموتریپسین، در تخم و لاروهای تازه تفریخ‌شدهٔ کپور علف‌خوار، اهمیت بالای آنزیم‌های مذکور را در دوران جنینی و تفریخ نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$). فعالیت اختصاصی لیپاز و آمیلاز در مطالعهٔ حاضر روندی صعودی را نشان داد ($P<۰/۰۵$)؛ همچنین، نتایج نشان داد که هم‌زمان با افزایش اسیدهای چرب اشباع (SFA)، میزان اسیدهای چرب تک غیر اشباع (MUFA) کاهش پیدا کرد که این امر حاکی از اهمیت اسیدهای چرب تک غیر اشباع، به‌منزلهٔ منبعی مهم در تأمین انرژی، طی مراحل جنینی و تکوین لاروی است.

واژگان کلیدی: آنتوژنی، آنزیم‌های پانکراسی، اسید چرب، تکوین لاروی، کپور علف‌خوار، *Ctenopharyngodon idella*.

* نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۰۹۳۶۶۹۳۵۴۷۹ Email: anifarhoudi@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

۱. مقدمه

کپورماهیان از خانواده‌های مهم ماهیان‌اند که با دارابودن بیش از ۲۰۰۰ گونه در جهان پراکنش یافته‌اند (Kirpichnikov, 1972). کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*) از خانوادهٔ Cyprinidae از جمله ماهیان بدون معده است که در محیط طبیعی از گیاهان عالی و علوفه‌ای مانند نی، علف مرغ، شبدر، یونجه و گیاهان آبزی استفاده می‌کند. ماهی آمور به علت مرغوبیت گوشت، قیمت بالا، امکان تکثیر مصنوعی و تغذیه با علوفهٔ دستی از جمله ماهیان پرورشی با ارزش اقتصادی بالا محسوب می‌شود و سهم زیادی از تولید کپورماهیان در دنیا را به خود اختصاص می‌دهد (Amirkolaie *et al*., 2010). در ایران نیز، تکثیر و پرورش کپور علف‌خوار به علت مرغوبیت گوشت از نظر اقتصادی توجیه‌پذیر است و ارزش اقتصادی بالایی دارد.

فرآیند گوارش در ماهیان نسبت به پستانداران کمتر بررسی شده است. مطالعهٔ فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهیان می‌تواند برخی از جنبه‌های فیزیولوژی تغذیه را روشن کند و در رفع مشکلات تغذیه‌ای مؤثر باشد (Kolkovski, 2001). به این منظور، یکی از جنبه‌های مهم مطالعات فیزیولوژی گوارش اطلاع از کارایی سیستم گوارشی بر اساس نوع و عملکرد آنزیم‌های گوارشی (الگوهای آنتوژنی آنزیم‌های گوارشی) به منظور تعیین زمان آغاز تغذیهٔ خارجی و تعیین ظرفیت لارو در هضم و جذب انواع مختلف مواد مغذی شامل غذای زنده و یا ریزجیره‌هاست (Gisbert *et al*., 2009). در لارو ماهیان گیاه‌خوار و همه‌چیزخوار، به علت فقدان ساختار معده و ترشح‌نشدن پپسین، گوارش و هضم غذا بیشتر متکی به آنزیم‌های پانکراسی و روده‌ای است.

از این‌رو، بیشتر مطالعات اولیهٔ آنتوژنی آنزیم‌های گوارشی لارو ماهیان روی پروتئازهای پانکراسی متمرکز شده است (Lazo *et al*., 2007)، به ویژه تریپسین که یگانه آنزیم پانکراسی است که سایر آنزیم‌های گوارشی را فعال می‌کند؛ بنابراین، ممکن است نقش اصلی را در فرآیند گوارش لارو ماهیان داشته باشد (Gisbert *et al*., 2004).

چربی‌ها و اسیدهای چرب سازندهٔ آنها، به همراه پروتئین‌ها، اصلی‌ترین جزء ترکیبات آلی بدن ماهی‌اند و نقش اصلی را به‌منزلهٔ منبع انرژی سوخت و سازی برای رشد، تولیدمثل، حرکت و مهاجرت ایفا می‌کنند (Tocher, 2003). همچنین، اسیدهای چرب چند غیر اشباع ۲۰ کربنه به لحاظ فیزیولوژیک در سنتز غشا و تکوین جنینی اهمیت دارند (Cejas *et al*., 2004). اطلاعات بسیار کمی دربارهٔ متابولیسم اسیدهای چرب در لارو ماهیان در دسترس است؛ در حالی که، عملکرد فیزیولوژیک اسیدهای چرب از جمله حفظ عملکرد طبیعی بدن و غشای زیستی در دوران لاروی بسیار مهم است (Roustaian *et al*., 1999). از این رو، شناخت تغییرات پروفیل اسید چرب در تخم و لارو ماهیان برای تخمین و ارزیابی احتیاجات غذایی لارو، به هنگام شروع تغذیهٔ فعال، و ارائهٔ جیرهٔ غذایی مناسب برای بهبود شرایط تغذیه‌ای مولدان می‌تواند مفید باشد (Gunasekera *et al*., 1999 a,b). در مرحلهٔ لاروی مصرف اسیدهای چرب، متفاوت و در بین گونه‌ها انتخابی است و وابسته به ذخایر کیسهٔ زردهٔ انتقال‌یافته از والدین است (Abi-Ayad *et al*., 2000). چربی و پروتئین ذخیره‌شده در تخم ماهیان برای تأمین انرژی و سنتز ترکیبات بنیادی غشای سلولی لاروهای در حال رشد همچنین، تأمین اسیدهای چرب و اسیدهای آمینهٔ ضروری مصرف می‌شود (Naz, 2009).

Archive of SID

www.SID.ir

آنتوژنی آنزیم‌های گوارشی در گونه‌های مختلف ماهیان از جمله *Oreochromis niloticus* (Tengjaroenkul *et al.*, 2002)، *Paralichthys californicus* (Gisbert *et al.*, 2004)، *Sciaenops ocellatus* (Lazo *et al.*, 2007)، *Salmo caspius* (Zamani *et al.*, 2009) و *Cyprinus carpio* (Farhoudi *et al.*, 2012) بررسی شده است.

در خصوص بررسی آنتوژنی اسیدهای چرب می‌توان به مطالعاتی اشاره کرد که دربارهٔ گونه‌های *Maccullochella macquariensis* و *M. peelii peelii* (Gunasekera *et al.*, 1999 a)، *Sander lucioperca* (Abi-Ayad *et al.*, 2004)، *Sparus aurata* (Naz, 2009) و *Cyprinus carpio* (Farhoudi *et al.*, 2011) انجام گرفته است.

شروع تغذیهٔ فعال در لارو ماهیان با غذای زنده از قبیل جلبک‌ها، روتیفر و ناپلی آرتمیا صورت می‌گیرد. اگرچه غذای زنده به علت ارزش غذایی بالا می‌تواند تأثیر بسزایی در رشد، بقا و سلامتی لارو داشته باشد، اما به علت هزینهٔ بالای تولید و تجهیزات آزمایشگاهی مطالعات بسیار زیادی برای تولید micro-diets (غذای خشک)، در تغذیهٔ لارو ماهیان به هنگام شروع تغذیهٔ فعال، در حال انجام است (Srichanun *et al.*, 2013). شواهد حاکی از آن است که کپور علف‌خوار توانایی استفاده از غذای پلت را دارد و تلاش‌هایی به منظور تعیین نیاز ماهی به مواد مغذی برای تهیهٔ غذای متناسب این گونه انجام شده است (Cai *et al.*, 2005). تاکنون مطالعه‌ای دربارهٔ آنتوژنی آنزیم‌های گوارشی و ترکیبات اسید چرب تخم و لارو کپور علف‌خوار تا مرحلهٔ انتهای جذب کیسهٔ زرده (تقریباً جذب کامل) انجام نگرفته است. با توجه به مسائل ذکرشده، در خصوص اهمیت بررسی آنتوژنی آنزیم‌های گوارشی و ترکیبات اسید چرب در دورهٔ جنینی و تکوین لاروی، مطالعهٔ حاضر برای ارزیابی احتیاجات غذایی لارو کپور علف‌خوار هنگام شروع تغذیهٔ فعال و به منظور افزایش در کیفیت تولید لارو و ماهی جوان همچنین، ارائهٔ یک جیرهٔ غذایی مناسب برای بهبود شرایط تغذیه‌ای مولدان می‌تواند مفید باشد.

۲. مواد و روش کار

۲. ۱. نمونه‌برداری

نمونه‌های تخم و لارو کپور علف‌خوار برای آزمایش‌های مربوط به سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و اسید چرب، در اواخر خرداد ۱۳۹۰ از یکی از استخرهای تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی (کارگاه غدیری)، در اطراف ساری تهیه شدند. مولدان ماده با وزن ۳ تا ۱۰ کیلوگرم و مولدان نر با وزن ۳ تا ۷ کیلوگرم، برای تخم‌ریزی به حوضچه‌های دایره‌ای به قطر ۸ متر و ارتفاع ۱/۵ متر منتقل شدند. تخم‌های لقاح‌یافته در محل خروجی حوضچه جمع‌آوری و به انکوباتورهای ویس منتقل شدند. دمای آب ۲۴ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. تخم‌ها پس از ۲۴ تا ۳۶ ساعت تفریخ شدند.

نمونه‌های تهیه‌شده شامل تخم لقاح‌یافته (مرحلهٔ ۱)، لارو تازه تفریخ‌شده (مرحلهٔ ۲)، لارو یک‌روزه (مرحلهٔ ۳)، لارو در مرحلهٔ جذب $\frac{2}{3}$ کیسهٔ زرده (مرحلهٔ ۴) و لارو در مرحلهٔ انتهای جذب کیسهٔ زرده (تقریباً جذب کامل) (مرحلهٔ ۵) بودند (Gunasekera *et al.*, 1999 a؛ Naz, 2009). نمونه‌ها در قوطی فیلم قرار داده شدند و در ازت مایع در دمای ۱۹۶- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری سپس، به یخچال ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

۲.۲. تهیهٔ عصارهٔ آنزیمی و سنجش آنزیم‌های پانکراسی (تریپسین، کیموتریپسین، لیپاز و آمیلاز)

برای سنجش فعالیت آنزیم‌های پانکراسی، تخم و لارو به صورت کامل هموژن شدند. برای تهیهٔ عصارهٔ آنزیمی در سنجش آنزیم‌های پانکراسی (تریپسین، کیموتریپسین، لیپاز و آمیلاز) از روش Furne و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد. سنجش فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین و کیموتریپسین بر اساس روش Erlanger و همکاران (۱۹۶۱) و به ترتیب با استفاده از Benzoyl-DL-arginin-p-nitroanilide و Succinyl-$(Ala)_2$-Pro-phe-p-nitroanilide، به‌منزلهٔ سوبسترا، انجام شد. سنجش فعالیت اختصاصی آنزیم لیپاز بر اساس روش Iijima و همکاران (۱۹۹۸) و با استفاده از p-nitrophenyl myristate، به‌منزلهٔ سوبسترا، انجام شد. سنجش فعالیت اختصاصی آنزیم آلفا-آمیلاز بر اساس روش Bernfeld و همکاران (۱۹۵۱) و با استفاده از نشاسته، به‌منزلهٔ سوبسترا، انجام شد. پروتئین محلول نمونه‌های هموژن‌شدهٔ تخم و لارو کپور علف‌خوار به روش Bradford (۱۹۷۶) سنجیده شد و از آلبومین سرم گاوی (BSA)، به‌منزلهٔ سوبسترا، استفاده شد.

۳.۲. تعیین ترکیب اسید چرب

ترکیب اسید چرب در دو مرحله شامل استخراج چربی (Folch *et al.*, 1957) و استری‌کردن چربی (Metcalfe and Schmitz, 1961) تعیین شد. برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب از دستگاه گاز کروماتوگراف (Varian, model: CP3800Walnut Creek, Netherlands) مجهز به ستون کاپیلاری (BPX 70 SGE; 60m ×0.25 mm i.d., filmthickness 0.25µm) و آشکارساز نوع FID استفاده شد. دمای آشکارساز و محل تزریق به ترتیب بر روی ۲۶۰ و ۲۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم شدند. به میزان ۱ میکرولیتر از نمونهٔ استری با استفاده از سرنگ میکرولیتری به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق شد. دمای اولیهٔ ستون روی ۱۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم شد که ۴/۵ دقیقه در این دما ماند و با سرعت ۲ درجهٔ سانتی‌گراد در دقیقه به ۱۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد رسید و ۹ دقیقه در این دما ماند و با سرعت ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد رسید. در این روش از گاز ازت با خلوص (۹۹/۹۹۹۹ درصد) به‌منزلهٔ گاز حامل و هوای خشک استفاده شد. زمان اجرای عملیات دستگاه برای هر نمونه ۴۵ دقیقه بود. ترکیب اسید چرب نمونه‌ها با مقایسه با پیک استاندارد انجام شد و برای محاسبهٔ سطح زیر پیک از نرم‌افزار Chromatography Varian Star Software (version 6.41) استفاده شد و نتایج به صورت درصد گزارش شد.

۴.۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی (Completely Randomized Design) برنامه‌ریزی و اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با توجه به نرمال‌بودن داده‌ها و همگنی واریانس، با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One – Way ANOVA) انجام شد. برای مقایسهٔ میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. همهٔ داده‌ها به صورت میانگین همراه با انحراف معیار گزارش شدند و ارزیابی‌ها در ۳ تکرار انجام گرفتند. از نرم‌افزار SPSS (version 17) برای آنالیز آماری داده‌ها و از Microsoft Excel برای رسم نمودارها استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

۳. نتایج

۱.۳. آنزیم‌های پانکراسی

نتایج فعالیت آنزیم‌های گوارشی پانکراسی (تریپسین، کیموتریپسین، لیپاز و آمیلاز) در تخم (مرحلهٔ ۱) و لارو کپور علف‌خوار تا مرحلهٔ انتهای جذب کیسهٔ زرده (مرحلهٔ ۲ تا مرحلهٔ ۵)، در نمودار ۱ نشان داده شده است.

فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین از مرحلهٔ تخم (مرحلهٔ ۱) تا انتهای دوره (مرحلهٔ ۵) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). بیشترین و کمترین فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین به ترتیب در مرحلهٔ انتهای جذب کیسهٔ زرده (۰/۰۳±۰/۲۰ u/mg protein) و تخم (۰/۰۴±۰/۱۰ u/mg protein) مشاهده شد. برخلاف آنزیم تریپسین، فعالیت اختصاصی آنزیم کیموتریپسین از مرحلهٔ تخم (۰/۰۰۳۰±۰/۰۰ u/mg protein) تا زمان جذب کامل کیسهٔ زرده (۰/۰۰۱۵ ±۰/۰۰ u/mg protein) روند کاهشی را نشان داد ($P<۰/۰۵$). بیشترین فعالیت آنزیم کیموتریپسین در لحظهٔ تفریخ (۰/۰۰۳۴±۰/۰۰ u/mg protein) شناسایی شد.

به‌طور کلی، فعالیت اختصاصی آنزیم‌های لیپاز و آمیلاز روندی صعودی را نشان داد. همان طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، فعالیت لیپاز در کل دوره نوسان داشته و کمترین فعالیت اختصاصی لیپاز در تخم (۰/۰۰۰۳±۰/۰۰ u/mg protein) گزارش شده است ($P<۰/۰۵$)؛ که در مرحلهٔ ۵ به بیشترین مقدار خود (۰/۰۰۰۶±۰/۰۰ u/mg protein) رسیده است ($P<۰/۰۵$). روند صعودی در فعالیت اختصاصی آنزیم آمیلاز در کل دوره منظم بود که در مرحلهٔ ۵ به بیشترین مقدار خود (۷۶/۰۴±۱۴/۵۷ u/mg protein) رسید ($P<۰/۰۵$).

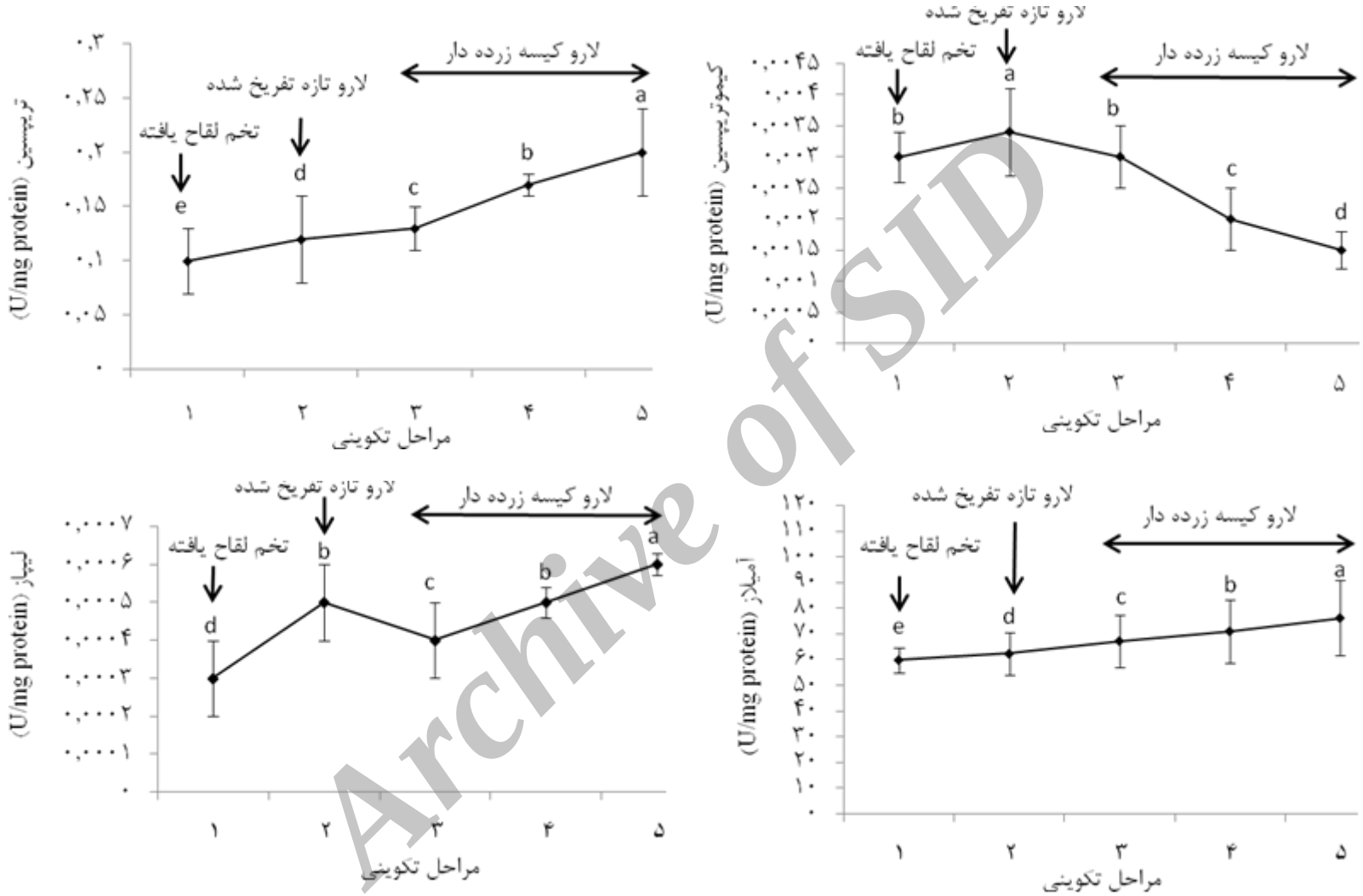
۲.۳. ترکیب اسیدهای چرب

پروفیل اسیدهای چرب در تخم و لارو کیسه زرده‌دار کپور علف‌خوار در مرحلهٔ رشد و تکوین لاروی در جدول ۱ آورده شده است. کمترین مقدار ΣSAFA[1] در اولین روز تفریخ (۵/۶۷±۳۲/۴۲ درصد) مشاهده شد که به نسبت زمان آغاز آزمایش‌ها (۳/۰۱±۳۳/۳۵ درصد) به میزان ۰/۹۳ درصد کمتر بود، اما پس از آن تا پایان دورهٔ آزمایش به میزان ۵/۷۷ درصد افزایش یافت و به بیشترین مقدار خود (۶/۱۴±۳۸/۱۹ درصد) رسید ($P<۰/۰۵$). میزان ۱۴:۰ طی دوره دارای تغییراتی بود، اما به‌طور کلی مقدار آن در پایان دوره (۰/۰۱±۰/۹۴درصد) به میزان ۰/۱۷ درصد بیشتر از مقدار اولیهٔ (۰/۱۹±۰/۷۷درصد) آن بود. میزان ۱۶:۰ تقریباً ثابت بود و ۱۸:۰، به مقدار۴/۲۴ درصد افزایش یافت.

مجموع اسیدهای چرب تک غیر اشباع (ΣMUFA[2]) طی دوره ۳/۲۷ درصد کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). کمترین و بیشترین میزان مجموع اسیدهای چرب تک غیر اشباع به ترتیب در مرحلهٔ انتهای جذب کیسهٔ زرده (۱/۰۶±۷/۰۹ درصد) و تخم (۲/۰۲±۱۰/۵۷ درصد) بود. میزان ۱۶:۱n–۷ تا روز اول پس از تفریخ، نوسان چشمگیری نداشت، اما به‌طور کلی به میزان ۲/۱۱ درصد کاهش یافت. میزان ۹–۱۸:۱n طی دوره نوساناتی داشت، اما میزان اولیه (۰/۰۷±۰/۵۴درصد) و انتهایی آن (۰/۰۰±۰/۵۰ درصد) تغییر چشمگیری نشان نداد.

1. Saturated Fatty Acid
2. Monounsaturated Fatty Acid

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۱. فعالیت اختصاصی آنزیم‌های گوارشی پانکراسی (U/mg protein) در تخم لقاح‌یافته و لارو کیسه زرده‌دار کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*)
حروف غیر همسان در هر نمودار نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار است ($P<0/05$)

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. ترکیب اسیدهای چرب (بر حسب درصد٪) در تخم لقاح‌یافته و لارو کیسه زرده‌دار کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*)

اسید چرب	مرحلهٔ ۱	مرحلهٔ ۲	مرحلهٔ ۳	مرحلهٔ ۴	مرحلهٔ ۵
اسید مریستیک (C۱۴:۰)	۰/۷۷±۰/۱۹^{bc}	۰/۷۹±۰/۱^{b}	۰/۶۳±۰/۰۷^{cd}	۰/۶۱±۰/۰۴^{d}	۰/۹۴±۰/۰۱^{a}
اسید پنتادکانوئیک (C۱۵:۰)	۰/۵۸±۰/۰۱^{d}	۰/۶۳±۰/۰۸^{c}	۰/۵۴±۰/۰۳^{e}	۰/۷۲±۰/۰۱^{b}	۰/۹۹±۰/۰۰^{a}
اسید پالمتیک (C۱۶:۰)	۲۲/۶۱±۴/۳۰^{a}	۲۲/۰۸±۳/۰۹^{a}	۱۸/۶۲±۲/۱۷^{b}	۲۱/۰۷±۲/۱۲^{a}	۲۳/۰۲±۴/۰۱^{a}
اسید هپتادکانوئیک (C۱۷:۰)	۰/۸۳±۰/۰۴^{c}	۰/۸۵±۰/۰۶^{a}	۰/۶۳±۰/۱۴^{e}	۰/۸۲±۰/۰۱^{d}	۰/۸۴±۰/۰۰^{b}
اسید استئاریک (C۱۸:۰)	۶/۷۶±۰/۲۳^{c}	۷/۶۳±۰/۹۴^{c}	۹/۹۳±۲/۰۳^{b}	۸/۹۸±۱/۷۹^{b}	۱۱/۰۰±۱/۴۱^{a}
اسید هنیکوزانوئیک (C۲۱:۰)	۰/۵۵±۰/۰۹^{b}	۰/۶۴±۰/۰۴^{a}	۰/۵۱±۰/۰۰^{d}	۰/۴۷±۰/۰۷^{e}	۰/۵۳±۰/۰۶^{c}
اسید لیگنوسریک (C۲۴:۰)	۱/۲۴±۰/۱۷^{c}	۱/۲۶±۰/۲۰^{c}	۱/۵۴±۰/۱۰^{b}	۱/۹۴±۰/۰۷^{a}	۰/۸۷±۰/۰۹^{d}
$\sum SFA$	۳۳/۳۵±۳/۰۱^{d}	۳۳/۹۰±۴/۰۴^{c}	۳۲/۴۲±۵/۶۷^{e}	۳۴/۶۱±۶/۰۲^{b}	۳۸/۱۹±۶/۱۴^{a}
اسید پالمیتولئیک (C۱۶:۱n-۷)	۴/۶۲±۰/۸۸^{a}	۴/۴۳±۱/۰۹^{b}	۴/۰۶±۱/۱۷^{c}	۲/۶۷±۰/۹۶^{d}	۲/۵۱±۰/۶^{e}
اسید اولئیک (C۱۸:۱n-۹)	۰/۵۴±۰/۰۷^{b}	۰/۵۱±۰/۰۶^{c}	۰/۴۷±۰/۰۸^{e}	۰/۵۷±۰/۰۶^{a}	۰/۵۰±۰/۰۰^{d}
اسید اکتادکانوئیک (C۱۸:۱n-۷)	۴/۶۲±۰/۸۰^{a}	۴/۶۱±۰/۵۳^{b}	۴/۱۹±۰/۳۱^{c}	۳/۷۷±۰/۸۶^{d}	۳/۲۴±۰/۷۲^{e}
اسید ایکوزنوئیک (C۲۰:۱n-۹)	۰/۷۷±۰/۰۲^{d}	۰/۷۹±۰/۰۲^{d}	۰/۹۷±۰/۴^{a}	۰/۸۶±۰/۰۰^{b}	۰/۸۴±۰/۰۲^{c}
$\sum MUFA$	۱۰/۵۷±۲/۰۲^{a}	۱۰/۳۶±۱/۱۱^{b}	۱۰/۲۴±۱/۷۱^{c}	۷/۸۷±۱/۰۲^{d}	۷/۰۹±۱/۰۶^{e}
اسید لینولئیک (C۱۸:۲n-۶)	۳/۷۴±۰/۸۲^{a}	۳/۷۴±۰/۱۴^{a}	۲/۱۷±۰/۱۱^{b}	۱/۷۸±۰/۶۴^{c}	۱/۴۶±۰/۶۸^{d}
اسید لینولنیک (C۱۸:۳n-۳)	۰/۸۵±۰/۰۴^{a}	۰/۸۵±۰/۰۴^{a}	۰/۳۵±۰/۰۴^{d}	۰/۵۷±۰/۰۷^{c}	۰/۶۵±۰/۰۴^{b}
اسید آراشیدونیک AA (C۲۰:۴n-۶)	۵/۶۸±۰/۹^{d}	۵/۸۶±۱/۰۲^{c}	۷/۱۸±۱/۴۳^{b}	۸/۶۴±۰/۸۸^{a}	۸/۶۴±۰/۹۱^{a}
اسید ایکوزاپنتانوئیک EPA (C۲۰:۵n-۳)	۲/۴۰±۰/۶۲^{d}	۲/۴۴±۰/۷۳^{cd}	۲/۴۶±۰/۶۱^{c}	۲/۶۶±۰/۷۹^{b}	۵/۴۳±۱/۰۲^{a}

Archive of SID

www.SID.ir

اسید دوکوزاهگزانوئیک DHA (C۲۲:۶n-۳)	۱۲/۶۸±۲/۰۶^{d}	۱۲/۶۹±۲/۹۱^{d}	۱۶/۰۵±۲/۰۹^{c}	۱۸/۷۶±۴/۰۱^{b}	۱۸/۹۳±۲/۰۹ ^{a}
$\sum PUFA$	۲۵/۳۳±۵/۰۷^{e}	۲۵/۶۰±۴/۰۷^{d}	۲۸/۲۱±۴/۶۷^{c}	۳۲/۴۱±۴/۰۱^{b}	۳۵/۱۲±۴/۰۶^{a}
$\sum HUFA$	۲۰/۷۷±۳/۱۴^{e}	۲۱/۰۰±۲/۳۴^{d}	۲۵/۷۱±۱/۳۶^{c}	۳۰/۰۶±۲/۳۹^{b}	۳۳/۰۱±۳/۹۱^{a}
$\sum$ n-۳	۱۵/۸۸±۲/۰۲^{e}	۱۵/۹۸±۳/۰۱^{d}	۱۸/۸۷±۱/۴۷^{c}	۲۱/۳۱±۲/۰۷^{b}	۲۵/۰۱±۲/۷۱^{a}
$\sum$ n-۶	۹/۴۲±۲/۰۰^{d}	۹/۶۱±۰/۹۳^{c}	۹/۳۵±۰/۹۸^{e}	۱۰/۴۳±۱۰/۸۳^{a}	۱۰/۱۱±۱/۰۷^{b}
n-۶/n-۳	۱/۶۸±۰/۴۰^{d}	۱/۶۶±۰/۰۹^{e}	۲/۰۱±۰/۱۱^{c}	۲/۰۴±۰/۷۲^{b}	۲/۴۷±۰/۷۲^{a}
DHA/EPA	۵/۲۹±۰/۱^{c}	۵/۲۱±۱/۳^{d}	۶/۵۴±۱/۷۱^{b}	۷/۰۷±۱/۱۴^{a}	۳/۴۸±۰/۶۶^{e}
$\sum F.A.M.E$	۶۹/۲۵±۱/۸۰^{e}	۶۹/۸۶±۴/۱۲^{d}	۷۰/۸۷±۳/۲۱^{c}	۷۲/۵۴±۷/۰۱^{b}	۸۰/۴۰±۷/۳۲^{a}

داده‌ها به صورت میانگین با انحراف معیار گزارش شده‌اند (۳ تکرار). حروف غیر همسان در هر ردیف نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

(Saturated Fatty Acid) SFA: اسیدهای چرب اشباع؛ (Monounsaturated Fatty Acid) MUFA: اسیدهای چرب غیر اشباع تک زنجیره؛ (Highly unsaturated Fatty Acid) HUFA: اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (اسید آراشیدونیک C۲۰:۴n-۶، اسید ایکوزاپنتانوئیک C۲۰:۵n-۳ و اسید دوکوزاپنتانوئیک n-۳ C۲۲:۶)؛ (Poly unsaturated Fatty acid) PUFA: اسیدهای چرب غیر اشباع چند زنجیره؛ DHA (اسید دوکوزاهگزانوئیک)؛ EPA (اسید ایکوزاپنتانوئیک)؛ FAME (Fatty Acids Methyl Esters): مجموع اسیدهای چرب استری‌شده.

Archive of SID

www.SID.ir

میزان ایکوزاپنتانوئیک (EPA[1]) طی دوره با گذشت زمان افزایش پیدا کرد؛ به‌طوری که، اختلاف میزان نهایی با میزان اولیهٔ آن ۳/۰۳ درصد بود. همچنین، میزان اسید دوکوزاهگزانوئیک (DHA[2]) طی دوره افزایش یافت و به بیشترین مقدار خود (۲/۰۹±۱۸/۹۳ درصد) در انتهای دوره رسید ($P<0/05$). نسبت DHA/EPA نیز طی دوره نوساناتی داشت به‌طوری که، بیشترین و کمترین میزان آن به ترتیب در مرحلهٔ جذب $\frac{2}{3}$ کیسهٔ زرده (۱/۱۴±۷/۰۷ درصد) و مرحلهٔ جذب کامل کیسهٔ زرده (۰/۶۶±۳/۴۸ درصد) بود ($P<0/05$).

مجموع اسیدهای چرب چند غیراشباع (ΣPUFA[3]) و مجموع اسیدهای چرب به‌شدت غیراشباع (ΣHUFA[4]) در کل دوره روندی افزایشی داشتند ($P<0/05$). بیشترین مقدار ΣPUFA و ΣHUFA در مرحلهٔ جذب کامل کیسهٔ زرده و به ترتیب به میزان ۴/۰۶±۳۵/۱۲ درصد و ۳/۹۱±۳۳/۰۱ درصد و کمترین مقدار آنها در روز اول آزمایش به ترتیب به میزان ۵/۰۷±۲۵/۳۳ درصد و ۳/۱۴±۲۰/۷۷ درصد مشاهده شد.

اسیدهای چرب سری n–۳ از ابتدا (۲/۰۲±۱۵/۸۸ درصد) تا انتهای (۲/۷۱±۲۵/۰۱ درصد) دوره روند افزایشی داشت و میزان آن از ابتدای دوره ۹/۱۳ درصد افزایش نشان داد ($P<0/05$). اسیدهای چرب سری n–۶، از ابتدا (۲/۰۰±۹/۴۲ درصد) تا انتهای (۱/۰۷±۱۰/۱۱ درصد) دوره، ۰/۶۹ درصد افزایش یافت ($P<0/05$). نسبت n–۳/n–۶ از ابتدا تا انتهای دوره به میزان ۰/۷۹ درصد افزایش یافت ($P<0/05$).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

۱.۴. آنزیم‌های پانکراسی

آنزیم تریپسین در زمان تفریخ و قبل از شروع تغذیهٔ فعال در لارو کپور علف‌خوار مشاهده شد. مشاهدهٔ فعالیت آنزیم تریپسین قبل از شروع تغذیهٔ فعال نشان می‌دهد که این آنزیم با غذا تحریک نمی‌شود (Zambonino Infante and Cahu, 2001). حضور آنزیم تریپسین قبل از شروع تغذیهٔ فعال در لارو سایر گونه‌های ماهی نیز گزارش شده است (Lazo *et al.*, 2007؛ Gisbert *et al.*, 2009). نتایج نشان داد که در کپور علف‌خوار فعالیت اختصاصی آنزیم تریپسین در زمان تفریخ بالا بود و در مرحلهٔ تغذیهٔ داخلی افزایش یافت. حضور آنزیم تریپسین در تخم و روز تفریخ می‌تواند نشان‌دهندهٔ اهمیت بالای این آنزیم در دوران جنینی (مرحلهٔ قبل از تفریخ) و تفریخ باشد. در لارو *Dentex dentex* نیز، فعالیت تریپسین در لاروهای تازه تفریخ‌شده بالاست که به علت اهمیت این نوع آنزیم طی مراحل تشکیل جنین و تفریخ است، زیرا طی مراحل تشکیل جنین پروتئین‌ها و اسیدهای آمینهٔ آزاد از منابع اصلی انرژی‌اند (Gisbert *et al.*, 2009). در مطالعه‌ای که دربارهٔ فعالیت تریپسین و کیموتریپسین در کاد اطلس (*Gadus morhua*) در مراحل جنینی انجام گرفت نشان داده شد که فعالیت تریپسین و کیموتریپسین ۹ روز بعد از لقاح (مرحلهٔ اندام‌زایی) افزایش یافت و از روز ۱۰ بعد از لقاح، درست قبل از اولین تغذیه، فعالیت آنها کاهش یافت (Sveinsdottir *et al.*, 2006). مطالعات نشان داده است که پروتئازهایی مانند تریپسین نقش کلیدی در هضم زرده (Gisbert *et al.*, 2009)، کلیواژ پروتئین‌های زرده طی بلوغ نهایی اووسیت‌ها (Sveinsdottir *et al.*, 2006) و فعال‌سازی پروتئازهای دیگر (کاتپسین‌های

1. Eicosapentaenoic acid
2. Docosahexaenoic Acid
3. Poly unsatur fatty acid
4. Highly unsaturated Fatty Acid

Archive of SID

D و L) (Carnevali *et al*., 2001) طی مراحل اولیهٔ تکوین در ماهیان ایفا می‌کنند. Carnevali و همکاران (۲۰۰۱) بیان کردند که یک سرین پروتئاز مانند تریپسین ممکن است در فعال‌سازی اولیهٔ کاتپسین‌های D و L در *Dicentrarchus labrax* نقش داشته باشد که این نتایج نشان‌دهندهٔ تقاضای بالای انرژی در زمان تفریخ است. بنابراین، فعالیت بالای تریپسین در زمان تفریخ می‌تواند به علت عملکرد آن در زمان جنینی و فعال‌سازی پروتئازهای دیگر باشد. نتایج مطالعهٔ حاضر با نتایج در لارو *Sciaenops ocellatus* دربارهٔ روند فعالیت تریپسین در مرحلهٔ تغذیهٔ داخلی مطابقت دارد.

در این مطالعه مشخص شد که بالابودن فعالیت تریپسین، قبل از شروع تغذیهٔ فعال، تحت تأثیر مکانیسمی ژنتیکی است و متأثر از غذا نیست و افزایش در فعالیت تریپسین قبل از شروع تغذیهٔ فعال ممکن است ناشی از تنظیم رونویسی برای گوارش بهتر پروتئین‌های زرده باشد (Lazo *et al*., 2007). از سوی دیگر، غذاهای زنده مانند روتیفر و کوپه‌پودا در پرورش لارو ماهیان کاربرد فراوانی دارند. از آنجایی که بیشترین مادهٔ مغذی تشکیل‌دهندهٔ این ارگانیسم‌ها پروتئین است بنابراین، قابلیت هضم پروتئین برای لاروها در مراحل اولیهٔ رشد و تکوین لارو از اهمیت بسیاری برخوردار است (García-Gasca *et al*., 2006). افزایش فعالیت تریپسین درست قبل از شروع تغذیهٔ فعال به منظور سازگاری سیستم گوارشی لارو برای هضم بهتر پروتئین‌ها در لارو فلاندر ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) (Kurokawa *et al*., 1996) و (García-Gasca *et al*., 2006) *Sphoeroides annulatus* گزارش شده است. بنابراین، بالابودن میزان تریپسین در لارو کپور علف‌خوار درست قبل از شروع تغذیهٔ فعال ممکن است مکانیسمی ژنتیکی به منظور سازگاری سیستم گوارشی لارو برای هضم بهتر پروتئین‌ها باشد.

نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که فعالیت اختصاصی آنزیم کیموتریپسین از ابتدا تا انتهای دورهٔ آزمایش روندی کاهشی و در روز تفریخ بالاترین میزان را داشت. حضور آنزیم کیموتریپسین در تخم و روز تفریخ می‌تواند نشان‌دهندهٔ اهمیت بالای این آنزیم در دوران جنینی (مرحلهٔ قبل از تفریخ) و تفریخ باشد. احتمالاً فعالیت بالای کیموتریپسین در این مرحله در ارتباط با آنزیم‌های داخل‌سلولی بافت آندودرم زرده (هضم پینوسیتوزی در لایهٔ آندودرم کیسهٔ زرده) است (Buddington, 1985). فعالیت آنزیم کیموتریپسین در مرحلهٔ تغذیهٔ داخلی لارو کپور علف‌خوار روندی نزولی را نشان داد که این موضوع احتمالاً می‌تواند ناشی از تغییر در متابولیسم ذخایر زرده (از پروتئین به چربی و در نتیجه افزایش فعالیت لیپاز) در این مرحله باشد.

در بررسی‌های انجام‌شده دربارهٔ فعالیت آنزیم کیموتریپسین در گونه‌های *Dentex dentex* (Gisbert *etal*., 2009)، *Gadus morhua* (Pérez-Casanova *et al*., 2006)، *Paralichthys californicus* (Alvarez-González *et al*., 2006) و *Pseudosciaena crocea* (Ma *et al*., 2005) مشخص شد که آنزیم کیموتریپسین در مراحل جنینی، به ویژه مرحلهٔ اندام‌زایی، بیشترین فعالیت را دارد و بعد از تفریخ و طی مرحلهٔ تغذیهٔ داخلی، به علت تغییر در متابولیسم ذخایر زرده، فعالیت آن کاهش می‌یابد که این نتایج تأییدکنندهٔ نتایج فعالیت کیموتریپسین در تخم و لارو کپور علف‌خوار است.

فعالیت اختصاصی آنزیم لیپاز در کپور علف‌خوار در مرحلهٔ قبل از تفریخ، زمان تفریخ و قبل از شروع تغذیهٔ فعال شناسایی شد. نتایج نشان داد که فعالیت

Archive of SID

www.SID.ir

اختصاصی آنزیم لیپاز از ابتدا تا انتهای آزمایش افزایش یافت و به بیشترین مقدار خود در مرحلهٔ انتهایی جذب کیسهٔ زرده و قبل از شروع تغذیهٔ فعال رسید. فعالیت آنزیم لیپاز در لحظهٔ تفریخ و قبل از شروع تغذیهٔ فعال در *Dentex dentex* (Gisbert *et al.*, 2009)، توربوت (*Scophthalmus maximus*) (Hoehnereitan, 2001) و کاد اطلس (*Gadus morhua*) (Pérez-Casanova *et al.*, 2006) گزارش شده است. در لارو ماهیان دو نوع آنزیم لیپاز گزارش شده است. نوع اول با جذب زرده در ماهیان همراه است (نوع فسفولیپید) و نوع دوم با گوارش چربی‌های خارجی (چربی موجود در غذا) در ارتباط است (Oozeki and Bailey, 1995). از آنجایی که لارو کپور علف‌خوار تا قبل از جذب کیسهٔ زرده غذایی دریافت نمی‌کند بنابراین، آنزیم لیپاز می‌تواند از نوع اول باشد. به‌طور کلی، فعالیت اختصاصی آنزیم لیپاز در مطالعهٔ حاضر روندی صعودی را نشان داد. تغذیهٔ فعال در لارو ماهیان با غذای زنده آغاز می‌شود و از آنجا که میزان چربی در غذای زنده بالاست و منبعی مهم برای تأمین انرژی در لارو ماهیان است (Shields *et al.*, 1999)، بنابراین، افزایش فعالیت لیپولیتیک طی مراحل تکوینی لارو کپور علف‌خوار ممکن است مکانیسمی ژنتیکی به منظور سازگاری سیستم گوارشی لارو برای هضم بهتر چربی‌ها به هنگام شروع تغذیهٔ فعال باشد؛ به خصوص واکس استرها که بخش درخور توجهی از چربی‌های موجود در زئوپلانکتون را شامل می‌شوند و هضم‌پذیری کمی هم دارند (Patton *et al.*, 1975). افزایش فعالیت لیپولیتیک در فاز تغذیهٔ داخلی به منظور سازگاری سیستم گوارشی لارو برای هضم بهتر چربی‌های موجود در زئوپلانکتون‌ها در لارو سایر گونه‌های ماهیان نیز گزارش شده است (Finn *et al.*, 1995؛ Rønnestad *et al.*, 1995؛ Gawlicka *et al.*, 2000).

نتایج نشان داد که فعالیت اختصاصی آنزیم آمیلاز از مرحلهٔ تخم تا انتهای جذب کیسهٔ زرده در لارو کپور علف‌خوار افزایش پیدا کرد و به بیشترین مقدار خود در مرحلهٔ انتهای جذب کیسهٔ زرده و قبل از شروع تغذیهٔ فعال رسید. فعالیت آنزیم آمیلاز در مرحلهٔ تغذیهٔ داخلی در لارو *Dentex dentex* (Gisbert *et al.*, 2009) گزارش شده است. تحقیقات نشان داده است که کربوهیدرات جیرهٔ غذایی (غذای زنده و غذای خشک) ترشح آنزیم آمیلاز را تحریک می‌کند (Naz, 2009). از آنجایی که لارو کپور علف‌خوار تا قبل از جذب کیسهٔ زرده غذایی دریافت نمی‌کند، حضور آنزیم آمیلاز در این مرحله نشان‌دهندهٔ آن است که آمیلاز طی مراحل اولیهٔ تکامل لاروی حتی در نبود غذا سنتز می‌شود. این ویژگی یک برنامه‌ریزی ژنتیکی در لارو ماهی است تا بعد از مراحل اولیهٔ لاروی، کربوهیدرات را هضم و با مصرف جیره‌های غنی از کربوهیدرات پروتئین را ذخیره کند (Zambonino Infante and Cahu, 2007). به‌طور کلی، می‌توان گفت افزایش آلفا آمیلاز در دوران کیسهٔ زرده یک برنامه‌ریزی ژنتیکی است.

با توجه به مقادیر بالای گلیکوژن و کربوهیدرات در غذای زنده (Gisbert *et al.*, 2009)، همچنین رژیم غذایی کپور علف‌خوار (علف‌خواری)، افزایش آنزیم آمیلاز برای آمادگی لارو در هضم مقادیر بالای کربوهیدرات غذای مصرفی به هنگام شروع تغذیهٔ فعال منطقی به نظر می‌رسد. مطالعات نشان داده است که در همهٔ گونه‌های علف‌خوار، چه در مرحلهٔ لاروی و چه در مرحلهٔ بلوغ، فعالیت آنزیم آمیلاز بالاست و این فعالیت با افزایش سن بیشتر می‌شود (German *et al.*, 2004). نتایج مطالعهٔ Chakrabarti و همکاران (۲۰۰۶)، در دورهٔ لاروی

Archive of SID

www.SID.ir

هیبرید حاصل از بیگ هد ماده و فیتوفاگ نر، دربارهٔ فعالیت آنزیم آمیلاز در مرحلهٔ تغذیهٔ داخلی نتایج تحقیق حاضر را تأیید می‌کند.

۲.۴. اسید چرب

افزایش در میزان اسیدهای چرب اشباع (SFA) در مطالعهٔ حاضر نشان‌دهندهٔ مصرف‌نشدن این مادهٔ مغذی برای تأمین انرژی است. پژوهش‌گران این افزایش در ذخایر اسیدهای چرب اشباع را به سنتز *Bioconversion* و *de novo* نسبت می‌دهند که طی این فرآیند این دسته از اسیدهای چرب در بدن سنتز می‌شوند (Abi-ayad *et al*., 2004). نتایج مطالعهٔ حاضر با نتایج در *Perca fluviatilis* (Abi-ayad *et al*., 2000)، *Galaxias maculates* (Dantagnan *et al*., 2007) و *Cyprinus carpio* (Farhoudi *et al*., 2011) مطابقت دارد و بیانگر مصرف‌نشدن SFA، به‌منزلهٔ منبع انرژی، طی مراحل تکوین جنینی و لاروی است. تحقیقات Abi-ayad و همکاران (۲۰۰۴) دربارهٔ لارو *Sander lucioperca*، که به مدت ۳ روز غذادهی نشدند، نشان داد که میزان SFA افزایش یافت و، حتی با وجود گرسنگی، این دسته از اسیدهای چرب برای تأمین انرژی استفاده نشدند. با این حال، در برخی گونه‌ها اسیدهای چرب اشباع نقش مهمی در تأمین انرژی طی مراحل تکوین لاروی دارند. مطالعات Mourente و Tocher (۱۹۹۲) نشان داد که میزان SFA در لارو و ماهی جوان *Scophthalmus maximus* کاهش پیدا کرد و به‌منزلهٔ منبع انرژی در مغز مصرف شد. کاهش ۱/۴۸ درصدی در میزان SFA بین زمان تفریخ (مرحلهٔ ۲) و اولین روز تفریخ (مرحلهٔ ۳) در لارو کپور علف‌خوار ممکن است دلالت بر مصرف SFA برای تأمین انرژی طی این مراحل داشته باشد. بر اساس مطالعهٔ Abi-ayad و همکاران (۲۰۰۴)، چنین الگویی نشان‌دهندهٔ آن است که لاروها ممکن است در مراحل مختلف زندگی از اسیدهای چرب مختلف، به‌منزلهٔ منبع انرژی ترجیحی، استفاده کنند و در نوع اسید چربی که استفاده می‌کنند، تبعیضی قائل نشوند.

در کپور علف‌خوار از مرحلهٔ تخم تا مرحلهٔ انتهایی جذب کیسهٔ زرده، هم‌زمان با افزایش SFA، میزان اسیدهای چرب تک غیر اشباع (MUFA) کاهش پیدا می‌کند. این الگو نشان‌دهندهٔ آن است که اسیدهای چرب تک غیر اشباع یک منبع مهم تأمین انرژی در مراحل جنینی و لارو کپور علف‌خوارند. تحقیقات نشان داده است که در ماهیان دریایی مانند *Scophthalmus maximus* (Mourente *et al*., 1991) و *Clupea harengus* (Tocher *et al*., 1985) همچنین، ماهیان آب شیرین مانند *Cyprinus carpio* (Csengeri and Dey, 1995) و *Perca fluviatilis* (Abi-ayad *et al*., 2000) ذخایر MUFA به‌منزلهٔ منبعی پرانرژی به ویژه در مرحلهٔ اندام‌زایی، متامورفوز، تکامل مغز، رشد و متابولیسم پایه (تنفس، شنا، دفع مواد زائد و ...) محسوب می‌شوند. اسید لینولئیک (C۱۸:۶n-۲) و اسید لینولنیک (C۱۸:۳n-۳) از جمله اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFA) و اسید آراشیدونیک (AA[1])، ایکوزاپنتانوئیک (EPA[2]) و اسید دوکوزاهگزانوئیک (DHA[3]) از جمله اسیدهای چرب به‌شدت غیر اشباع (HUFA) هستند. اسیدهای چرب HUFAبه‌منزلهٔ ترکیبات ساختاری برای فرآیندهای فیزیولوژیکی بدن‌اند (Tocher, 2003). نتایج نشان داد مجموع اسیدهای چرب چند غیر اشباع و به‌شدت غیر اشباع (∑ PUFA و ∑ HUFA) در کل دوره روندی افزایشی دارند. اسید لینولئیک (C۱۸:۶n-۲) از مرحلهٔ جنینی تا مرحلهٔ انتهای جذب کیسهٔ زرده، به میزان ۲/۲۸

1. Arachidonic Acid
2. Eicosapentaenoic acid
3. Docosahexaenoic Acid

Archive of SID

www.SID.ir

درصد کاهش می‌یابد. هم‌زمان با این کاهش، میزان اسید آراشیدونیک (C۲۰:۶n-۴) نیز افزایش می‌یابد. همچنین، هم‌زمان با کاهش در میزان اسید لینولنیک (C۱۸:۳n-۳)، اسید ایکوزاپنتانوئیک (C۲۰:۵n-۳) و اسید دوکوزاهگزانوئیک (C۲۲:۶n-۳) نیز افزایش پیدا کردند. این الگو بیانگر آن است که کپور علف‌خوار، همانند سایر ماهیان آب‌های شیرین، قابلیت تبدیل اسید لینولئیک به اسید آراشیدونیک و اسید لینولنیک (n-۳ C۱۸:۳) را به اسید دوکوزاهگزانوئیک (C۲۲:۶n-۳) و اسید ایکوزاپنتانوئیک (C۲۰:۵n-۳) دارد. تحقیقات نشان داده است که ماهیان آب شیرین قادرند از طریق طویل‌سازی[1] و غیر اشباع‌سازی[2]، اسید لینولئیک را به اسید آراشیدونیک و اسید لینولنیک (C۱۸:۳n-۳) را به اسید دوکوزاهگزانوئیک (C۲۲:۶n-۳) و اسید ایکوزاپنتانوئیک (C۲۰:۵n-۳) تبدیل کنند (Zakeri *etal.*, 2011). توانایی لارو در سنتز اسید ایکوزاپنتانوئیک و اسید دوکوزاهگزانوئیک از اسید لینولنیک همراه با توانایی تبدیل اسید لینولئیک به اسید آراشیدونیک است، زیرا هر دو مسیر نیاز به آنزیم Δ5- desaturase را دارند (McEvoy *etal.*, 1996).

نتایج نشان داد که میزان اسید آراشیدونیک از ابتدای آزمایش تا انتهای دوره افزایش می‌یابد که نشان‌دهندهٔ ذخیرهٔ این اسید چرب ضروری به علت اهمیت آن به‌منزلهٔ پیش‌ساز ترکیبات شبه هورمونی ایکوزانوئید[3] است. این ترکیبات فعال، پروستاگلاندین‌ها[4]، ترومبوکسان‌ها[5] و لوکوسرین‌ها[6] را شامل می‌شوند که در تکامل و رشد سیستم ایمنی، واکنش‌های استرسی و التهابی دخیل‌اند (Fountoulaki *et al.*, 2003). نتایج مطالعهٔ حاضر دربارهٔ ذخیرهٔ اسید آراشیدونیک در مرحلهٔ جنینی و جذب کیسهٔ زرده با نتایج مطالعات Dantagnan و همکاران (۲۰۰۷) روی تخم و لارو *Galaxias maculatus* مطابقت دارد.

در لارو کپور علف‌خوار، میزان اسید ایکوزاپنتانوئیک (C۲۰:۵n-۳) در مرحلهٔ شروع شنای آزاد (مرحلهٔ انتهای جذب کیسهٔ زرده) و پرشدن کیسهٔ شنا افزایش یافت. علت این افزایش در مرحلهٔ شروع شنای آزاد، مشارکت اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA) در غشای سلولی کیسهٔ شنا بود (Awaiss *et al.*, 1996) و به همین علت بیوسنتز آن در این دوره افزایش یافت.

اسید دوکوزاهگزانوئیک (DHA) در لارو کپور علف‌خوار در مرحلهٔ انتهای جذب کیسهٔ زرده، نسبت به تخم، مقادیر بیشتری را نشان داد. این الگو بیانگر ذخیرهٔ این اسید چرب ضروری در مراحل اولیهٔ زندگی کپور علف‌خوار، به علت اهمیت آن در فعالیت‌های فیزیولوژیک بدن، است. DHA ترکیبی بنیادی در غشای سلولی بافت‌های عصبی و بینایی، به ویژه در فرآیندهای Synaptogenesis و Retinogenesis، است (Cejas *et al.*, 2003). Cejas و همکاران (۲۰۰۳) ذخیرهٔ DHA در مرحلهٔ جنینی و جذب کیسهٔ زردهٔ لارو *Diplodus sargus* را، به علت اهمیت DHA در فرآیندهای فیزیولوژیکی طی مراحل بعدی زندگی، گزارش کرده‌اند، اما در برخی گونه‌ها نتایج متفاوتی گزارش شده است و نشان می‌دهد که به‌رغم اهمیت DHA، به‌منزلهٔ ترکیبی ساختاری در بافت‌های عصبی و بینایی، این اسید چرب به‌طور کامل ذخیره نمی‌شود و در دورهٔ جنینی و لاروی برخی گونه‌ها برای تأمین انرژی نیز به کار می‌رود؛ از جمله لارو *Sparus aurata*، که می‌تواند به علت استفادهٔ ترجیحی از برخی

1. Elangation
2. Desaturation
3. Eicosanoid
4. Prostaglandins
5. Thromboxans
6. Leucotrienes

Archive of SID
www.SID.ir

اسیدهای چرب در دورهٔ تکوین لاروی برای تأمین انرژی، از DHA به‌منزلهٔ منبع انرژی استفاده کند (Rønnestad, 1994).

همچنین، نتایج نشان داد که میزان اسیدهای چرب سری n–۳ ، n–۶ و نسبت n–۳/n–۶ افزایش می‌یابد که علت افزایش نسبت n–۳/n–۶ افزایش در مقدار اسیدهای چرب سری n–۳ نسبت به اسیدهای چرب سری n–۶ است. احتمالاً، علت افزایش اسیدهای چرب سری n–۳ نسبت به اسیدهای چرب سری n–۶ در مطالعهٔ حاضر ذخیرهٔ آنها به علت اهمیت آنها در فرآیندهای فیزیولوژیکی در مراحل بعدی زندگی است. تحقیقات نشان داده است که، صرف نظر از غذای مصرفی مولدان، تخم و لارو ماهیان در مرحلهٔ تغذیهٔ داخلی حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب سری n–۳ HUFA ، به خصوص DHA، هستند که نشان‌دهندهٔ اهمیت آنها در دورهٔ تکوین جنینی و لاروی است (Furuita *et al.*, 2002). این دسته از اسیدهای چرب، به‌منزلهٔ مهم‌ترین اسیدهای چرب تشکیل‌دهندهٔ فسفولیپیدها، نقش حیاتی در ساختار فیزیولوژیکی غشای سلولی ایفا می‌کنند (Furuita *et al.*, 2007). این موضوع ضرورت تأمین اسیدهای چرب سری n–۳ HUFA به خصوص DHA را در جیرهٔ غذایی مولدان تأیید می‌کند.

۵. نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که کاهش یا افزایش برخی آنزیم‌ها قبل از تغذیهٔ فعال به فیزیولوژی هضم و متابولیسم ماهی مرتبط باشد. به‌طور کلی، در تحقیق حاضر نشان داده شد که پروتئازهای قلیایی (تریپسین و کیموتریپسین) در شروع زندگی لارو اهمیت بسیار زیادی دارند. پروتئازهای تریپسین و کیموتریپسین نقش کلیدی درهضم پروتئین‌های زرده و فعال‌سازی پروتئازهای دیگر (کاتپسین‌های D و L)، به منظور تأمین انرژی در مراحل اولیهٔ تکوین ماهیان، ایفا می‌کنند. افزایش فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آمیلاز، درست قبل از شروع تغذیهٔ فعال، به منظور سازگاری سیستم گوارشی لارو برای هضم بهتر چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها در استفاده از منابع غیر پروتئینی و ذخیرهٔ پروتئین جیره است. مقایسهٔ ترکیب اسیدهای چرب در مطالعهٔ حاضر بیانگر آن است که میزان اسیدهای چرب مختلف طی مراحل جنینی و لاروی تغییر می‌کند و این امر نشان‌دهندهٔ تغییر احتیاجات تخم و لارو کپور علف‌خوار به اسیدهای چرب مختلف در مراحل گوناگون زندگی است. همچنین، لاروها از اسیدهای چرب مختلف، به‌منزلهٔ منبع انرژی ترجیحی، استفاده می‌کنند و در نوع اسید چربی که استفاده می‌کنند، تبعیضی قائل نمی‌شوند. همچنین، طی دوران جنینی تا شروع تغذیهٔ فعال تمامی احتیاجات رشد، اندام‌زایی، سلولی و متابولیسم باید از ذخایر کیسهٔ زرده حاصل شود؛ بنابراین، در گونه‌هایی که مولدان از جیرهٔ دستی استفاده می‌کنند باید احتیاجات جیره از نظر منابع پروتئینی مناسب باشد و اسیدهای چرب ضروری فراهم شوند. از آنجایی که بهبود شرایط تغذیه‌ای در مولدان در کیفیت تخم و در نتیجه کیفیت و بقای لارو اثر مثبت دارد، بهتر است دربارهٔ منابع تأمین‌کنندهٔ اسیدهای چرب ضروری در جیرهٔ غذایی مولدان تحقیقات بیشتر و دقیق‌تری انجام شود.

Archive of SID

www.SID.ir

References

[1]. Abi-Ayad, S.M.E.A., Boutiba, Z., Mélard, C., Kestemont, P., 2004. Dynamics of total body fatty acids during early ontogeny of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. Fish Physiology and Biochemistry. 30, 129–136.

[2]. Abi-Ayad, S.M.E.A., Kestemont, P., Me´lard, C., 2000. Dynamics of total lipids and fatty acids during embryogenesis and larval development of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). Fish Physiology and Biochemistry. 23, 233– 243.

[3]. Alvarez-González, C.A., Cervantes-Trujano, M., Tovar-Ramírez, D., Conklin, D.E., Nolasco, H., Gsibert, E., Piedrahita, R., 2006. Development of digestive enzymes in California halibut *Paralichthys californicus* larvae. Fish Physiology and Biochemistry. 31, 83–93.

[4]. Amirkolaie, A.K., Lashkar Boloky, M., Mirzaee Abdoli, S., 2010. Effects of pellet and grass diets on growth and morphology of gastro-intestinal tract in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Journal of Fisheries, Iranian Journal of Natural Resources. 63 (3), 209-217.

[5]. Awaiss, A., Kestemont, P., Micha, J.C., 1996. Fatty acid profiles of two freshwater fish larvae (gudgeon and perch) reared with *Brachionus calyciflorus* Pallas (rotifer) and/or dry diet. Aquaculture Research. 27, 651-658.

[6]. Bernfeld, P., 1951. Amylases α and β. In: Methods in Enzymology, Colowick P., Kaplan N.O., eds, New York: Academic Press, Vol.1, pp.149-157.

[7]. 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 Biochemestry. 72, 248–254.

[8]. Buddington, R., 1985.Digestive secretions of lake sturgeon (*Acipenser fulvencens)* during early development. Fish Biology. 26, 715–723.

[9]. Cai, X., Luo, L., Xue, M., Wu, X., Zhan, W., 2005. Growth performance, body composition and phosphorus availability of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) as affected by diet processing and replacement offishmeal by detoxified castor bean meal. Aquaculture Nutrition. 11,293–299.

[10]. Carnevali, O., Mosconi, G., Cambi, A., Ridolfi, S., Zanuy, S., Polzonetti-Magni, A.M., 2001. Changes of lysosomal enzyme activities in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) eggs and developing embryos. Aquaculture. 202, 249–256.

[11]. Cejas, J.R., Almansa, E., Jérez, S., Bolaños, A., Felipe, B., Lorenzo, A., 2004. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white seabream (*Diplodus sargus*) eggs and larvae. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B. 139, 209–216.

[12]. Cejas, J.R., Almansa, E., Villamandos, J.E., Badía, P., Bolaños, A., Lorenzo, A., 2003. Lipid and fatty acid composition of ovaries from wild fish and ovaries and eggs from captive fish of white seabream (*Diplodus sargus*). Aquaculture. 216, 299–313.

[13]. Chakrabarti, R., Rathore, R.M., Mittal, P., Kumar, S., 2006. Functional changes in digestive enzymes and characterization of proteases of silver carp (♂) and bighead carp (♀) hybrid, during early ontogeny. Aquaculture. 253, 694–702.

[14]. Csengeri, I. and Dey, I. 1995. Fatty acid metabolism in carp during early ontogeny. *In*: Fish and Shellfish Larviculture Symposium (Larvi'95). p. 161. Edited by P. Lavens, E. Jaspers and I. Roelants. September 3–7, 1995, Gent, Belgium. European Aquaculture Society, Special Publication 24.

[15]. Dantagnan, H., Bo'rquez, A. S., Valdebenito, I. N., Salgado, I. A., Serrano, E. A., Izquierdo, M. S., 2007. Lipid and fatty acid composition during embryo and larval development of puye

Archive of SID

www.SID.ir

Galaxias maculates Jenyns, 1842, obtained from estuarine, freshwater and cultured populations. Fish Biology. 70, 770–781.

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

[17]. Farhoudi, A., Abedian Kenari, A.M., Nazari, R.M., Makhdoomi, C.H. 2011. Study of Body Composition, Lipid and Fatty Acid Profile during Larval Development in Caspian Sea carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Fisheries and Aquatic Science. 6(4), 417-428.

[18]. Finn, R.N., Rønnestad, I., Fyhn, H.J., 1995. Respiration, nitrogen and energy metabolism of developing yolk-sac larvae of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* (L.).Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 111, 647–671.

[19]. Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S., 1957.A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Biological Chemistry. 226, 497–509.

[20]. Fountoulaki, E., Alexis, M.N., Nengas, I., Venou, B., 2003. Effects of dietary ArachidonicAcid (20:4n-6), on growth, body composition, and tissue fatty acid profile of gilthead bream fingerlings (*Sparus aurata* L.). Aquaculture. 225, 309–323.

[21]. Furne, M., Garcia-Gallego, M., Hidalgo, M.C., Morales, A.E., Domezain, A., Domezain, J., Sanz, A., 2008. Effect of starvation and re-feeding on digestive enzyme activities in sturgeon (*Acipenser naccarii*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*).Comparative Biochemistry and Physiology. 149, 420–425.

[22]. Furuita, H., Hori, K., Suzuki, N., Sugita, T., Yamamoto, T., 2007. Effects of n-3 and n-6 fatty acids in brood stock diet on reproduction and fatty acid composition of brood stock and eggs in the Japanese eel *Anguilla japonica*. Aquaculture. 267, 55–61.

[23]. Furuita, H., Tanaka, H., Yamamoto, T., Suzuki, N., Takeuchi, T., 2002. Effects of high levels of n-3 HUFA in brood stock diet on egg quality and egg fatty acid composition of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture. 210, 323–333.

[24]. García-Gasca, Galaviz, M.A., Gutiérrez, J.N., Garcı´a-Ortega, A., 2006. Development of the digestive tract, trypsin activity and gene expression in eggs and larvae of the bullseye puffer fish *Sphoeroides annulatus*. Aquaculture. 251, 366– 376.

[25]. Gawlicka, A., Parent. B., Horn, M.H., Ross, N., Opstad, I., Torrissen, O.J., 2000. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. Aquaculture. 184, 303–314.

[26]. German, D.P., Horn, M.H., Gawlicka, A., 2004. Digestive Enzyme Activities in Herbivorous and Carnivorous Prickleback Fishes (Teleostei: Stichaeidae): Ontogenetic, Dietary, and Phylogenetic Effects. Physiological and Biochemical Zoology. 77 (5), 789–804.

[27]. Gisbert, E., Giménez, G., Fernández, I., Kotzamanis, Y., Estévez, A., 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny.Aquaculture. 287, 381-387.

[28]. Gisbert, E., Piedrahita, R.H., Conklin, D.E., 2004. Ontogenic development of the digestive system in California halibut (*Pralichthys californicus*) with notes on feeding practices. Aquaculture. 232, 455-470.

[29]. Gunasekera R.M,. De silva S.S., Ingram B.A., 1999 (a). Early ontogeny-related changes of the fatty acid composition in the Percichthyid fishes trout cod (*Maccullochella macquariensis*), murry cod (*M.peelii peelii*).Aquatic Living Resource. 12, 219-227.

[30]. Gunasekera R.M,. De silva S.S., Ingram B.A., 1999 (b). The amino acid profiles in developing eggs and larvae of the freshwater Percichthyid fishes, trout cod (*Maccullochella macquariensis*), murry cod (*M.peelii peelii*).Aquatic Living Resource. 12 (4), 255-261.

Archive of SID

www.SID.ir

[31]. Hoehnereitan, K., 2001. Development of bile-salt dependent lipase in larval turbot. Fish Biology. 58, 737-745.

[32]. Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y., 1998.Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. Fish physiology and Biochemistry. 18, 59-69.

[33]. Kirpichnikov V.S., 1972. Methods and effectiveness of Rop-sha carp breeding. Immunication I. Breeding Aims, Orginal Forms and Cross System, Russian Journal of Genetics. 8(1), 65-72.

[34]. Kolkovski, S., 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets. Aquaculture. 200, 181-201.

[35]. Kurokawa, T., Suzuki, T., 1996.Formation of the diffuse pancreas and the development of digestive enzyme synthesis in larvae of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture. 141 P, 267–276.

[36]. Lazo, J.P., Mendoza, R., Holt, G.J., Aguilera, C., Arnold, C.R., 2007. Characterization of digestive enzymes during larval development of red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture. 265, 194-205.

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

[38]. McEvoy, L.A., Navarro J.C., Hontoria F., Amat F., Sargent J.R., 1996. Two novel Artemia enrichment diets containing polar lipid. Aquaculture. 144, 334- 335.

[39]. Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A., (1961). The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. Analytical Chemistry. 33, 363-364.

[40]. Mourente, G., Tocher, D.R. 1992. Effects of weaning onto a pelleted diet on docosahexaenoic acid (22:6n-3) levels in brain of developing turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture. 105, 363–377.

[41]. Mourente, G., Tocher, D.R. and Sargent, J.R. 1991. Specific accumulation of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in brain lipids during development of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Lipids. 26, 871–877.

[42]. Naz, M., 2009. Ontogeny of Biochemical Phases of Fertilized Eggs and Yolk Sac Larvae of Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 9, 77-83.

[43]. Oozeki, Y., Bailey, K.M., 1995. Ontogenetic development of digestive enzymes activities in larval wall eye Pollock, *Theragra chalcograma*. Marine Biology. 122, 177-186.

[44]. Patton, J.S., Nevenzel, J.C., Benson, A.A., 1975. Specificity of digestive lipases in hydrolysis of wax esters and triglycerides studied in anchovy and other selected fish. Lipids. 10, 575-583.

[45]. Pérez-Casanova, J.C., Murray, H.M., Gallant, J.W., Ross, N.W., Douglas, S.E., Johnson, S.C., 2006. Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). Aquaculture. 251, 377–401.

[46]. Rønnestad, I., Finn, R.N., Lein, I., Lie, Ø., 1995. Compartmental changes in the contents of total lipid, lipid classes and their associated fatty acids in developing yolk-sac larvae of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* (L.). Aquaculture Research. 1, 119–130.

[47]. Rønnestad, I., Koven, W.M., Tandler, A., Harel, M., Fyhn, H.J., 1994. Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilthead seabream (*Sparus aurata*). Marine Biology. 120, 187– 196.

Archive of SID

www.SID.ir

[48]. Roustaian, P., Kamarudin, M.S., Omar, H., Saad, C.R., Ahmad, M.H., 1999. Changes in fatty acid profile during larval development of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de man). Aquaculture Research. 30, 815-824.

[49]. Shields, R.J., Bell, J.G., Luizi, F.S., Gara, J., Bromage, N., Sargent, J.R., 1999. Natural copepods are superior to enriched *Artemia* nauplii as feed for halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) in terms of survival, pigmentation and retinal morphology: relation to dietary essential fatty acids. Nutrition. 129 (6), 1186-1194.

[50]. Srichanun, M., Tantikitti, C.H., Utarabhand, P., Kortner, T.M., 2013. Gene expression and activity of digestive enzymes during the larval development of Asian seabass (*Lates calcarifer*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part B (165), 1–9.

[51]. Sveinsdottir, H., Thorarensen, H., Gudmundsdóttir, A. 2006. Involvement of trypsin and chymotrypsin activities in Atlantic cod (*Gadus morhua*) embryogenesis. Aquaculture. 260, 307–314.

[52]. Tengjaroenkul, B., Smith, B.J., Smith, S.A., Chatreewongsin, U., 2002: Ontogenic development of the intestinal enzymes of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquaculture. 211, 241–251.

[53]. Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. Review. Fisheries Sci. 11, 107–184.

[54]. Tocher, D.R., Fraser, A.J., Sargent, J.R. and Gamble, J.C. 1985a. Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus* L.). Lipids. 20, 69–74.

[55]. Zakeri, M.,P. Kochanian, J.G. Marammazi, V. Yavari, A. Savari and M. Haghi, 2011. Effects of dietary n-3 HUFA concentrations on spawning performance and fatty acids composition of broodstock, eggs and larvae in yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus*. Aquaculture. 310, 388-394.

[56]. Zamani, A., Hajimoradloo, A., Madani, R., Farhangi, M., 2009. Assessment of digestive enzymes activity during the fry development of the endangered Caspian brown trout *Salmo caspius*. Fish Biology. 75, 932–937.

[57]. Zambonino Infante, J.L., Cahu, C.L., 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. Comparative Biochemistry and Physiology. 130(4), 477- 487.

[58]. Zambonino Infante, J.L., Cahu, C.L., 2007. Dietary modulation of some digestive enzymes and Metabolic processes in developing marine fish: Applications to diet formulation. Aquaculture. 268, 98-105.

Archive of SID

www.SID.ir