بررسی ترکیب شیمیایی و پروفیل اسیدآمینه لاشه و میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی خواجو (*Schizothorax pelzami*) در کلاسه‌های طولی مختلف

- **احسان ابراهیمی***: گروه شیلات دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
- **حمیدرضا احمدنیای‌مطلق**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- **امید صفری**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۸

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی ترکیب شیمیایی لاشه و پروفیل اسیدآمینه لاشه و میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی خواجو (*Schizothorax pelzami*) انجام شد. به این منظور ماهیان خواجو از منطقه شمال شرق ایران صید و پس از آماده سازی نمونه‌ها، آنالیزهای مربوطه در سه کلاسه طولی (۸ تا ۱۲، ۱۲ تا ۱۶ و ۱۶ تا ۲۰ سانتی‌متر) مختلف انجام گرفت. نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد، با افزایش اندازه ماهیان، میزان پروتئین خام لاشه به‌طور معنی‌داری کاهش و میزان چربی خام و خاکستر افزایش یافت ($p<0/05$). آرژنین و لوسین فراوان‌ترین و متیونین کم‌ترین اسیدآمینه موجود در لاشه ماهی خواجوی بودند. با افزایش وزن ماهیان، میزان اسیدهای آمینه لوسین، لیزین، ترئونین و متیونین لاشه روند افزایشی معنی‌داری را نشان دادند ($p<0/05$). آنزیم پروتئاز کل بیش‌ترین میزان فعالیت را در روده میانی داشت و میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئاز کل و لیپاز با افزایش وزن بدن ماهیان روند افزایشی معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ماهی خواجو می‌تواند به‌عنوان یک گونه با عادت غذایی همه‌چیزخواری متمایل به گوشت‌خواری درنظر گرفته شود. اطلاعات مربوط به ترکیب شیمیایی و پروفیل اسیدآمینه لاشه ماهی خواجو می‌تواند به‌عنوان الگویی جهت تهیه فرمولاسیون جیره‌های غذایی استفاده شود.

کلمات کلیدی: ماهی خواجو *S. pelzami*، گونه بومی، کلاسه طولی، لاشه، آنزیم گوارشی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: ehsan.ebraahimi@gmail.com

مقدمه

صنعت آبزی‌پروری در تمام نقاط جهان رو به گسترش است ولی روند این گسترش در ایران با سرعت کم‌تری در حال انجام است. این توسعه در گذشته شامل معرفی گونه‌های غیربومی مانند کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*) کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)، کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) می‌شد. کشورهای درحال‌توسعه و توسعه‌یافته مانند چین و هند و برخی کشورهای اروپایی در سال‌های اخیر به سمت استفاده از گونه‌های بومی در حرکت بوده و تحقیقات گسترده‌ای را در این زمینه انجام داده‌اند. بسیاری از جمعیت‌های گونه‌های مختلف ماهیان در اثر آلودگی‌های صنعتی، از بین رفتن زیستگاه‌ها و صید بی‌رویه کاهش شدیدی داشته‌اند (ابراهیمی و همکاران ۱۳۹۶؛ صفری و ابراهیمی ۱۳۹۷). جمعیت ماهی خواجو (*S. plezami*) در سال‌های اخیر در اثر خشکسالی‌های پی‌درپی و از بین رفتن مناطق تخم‌ریزی کاهش چشمگیری داشته است. مطالعات بیش‌تری نیاز است تا با اطمینان بیش‌تر این‌گونه را به‌عنوان گونه تحت خطر معرفی نمود. در این راستا ایجاد مراکز تکثیر مصنوعی از مطمئن‌ترن روش‌ها برای بازسازی ذخایر طبیعی ماهیان است. در ایران پرورش جنس *Schizothorax* در مراحل آزمایشی می‌باشد (Gharaei و همکاران، ۲۰۱۱). این جنس از کشورهای چین، هند، افغانستان و چند کشور دیگر گزارش شده است (Coad، ۱۹۹۵)و چندین‌گونه از آن به‌خاطرارزش غذایی و تجاری بالا به‌عنوان گونه پرورشی موردتوجه‌قرارگرفته است(Gharaeiو همکاران، ۲۰۱۰). ماهی خواجو، در ناحیه مونتان آسیا ازجمله رودخانه‌های افغانستان، ترکمنستان (Mirza، ۱۹۸۸) و حوضه آبریز رودخانه تجن در شمال‌شرق ایران پراکنش یافته است (عبدلی و همکاران، ۱۳۸۶). این ماهی از نظر شکل ظاهری به ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شباهت زیادی دارد، از این رو به آن ماهی قزل‌آلای برفی نیز گفته می‌شود. از جنس *Schizothorax*، ۵۹ گونه ماهی در جهان گزارش شده است (Paully و Froese، ۲۰۰۱). هامون ماهی (*Schizothorax zarudnyi*)، در جنوب‌شرق و ماهی خواجو (*S. plezami*)، در شمال‌شرق ایران مشاهده می‌شوند(Coad، ۱۹۹۸).مطالعه‌های متعددی در مورد تعیین زمان تخم‌ریزی و تغییرات چرخه تولیدمثلی (ذبیحی و همکاران، ۱۳۸۲)، ترکیب شیمیایی لاشه در فصول مختلف (زکی‌پور و همکاران، ۱۳۸۸)، تکثیر با استفاده از هورمون‌های مصنوعی (رضوانی‌گیل‌کلایی، ۱۳۸۹؛ قرایی و همکاران، ۱۳۹۰) و استفاده از مکمل‌های پربیوتیکی درجیره‌غذایی(جهانجو، ۱۳۹۰)هامون ماهی موجود در دریاچه هامون و چاه‌نیمه‌های سیستان انجام شده است. علی‌رغم تمایل بازارهای محلی به مصرف‌ماهی‌خواجوی‌موجود در شمال‌شرق ایران و قرارگیری در فهرست‌IUCN به‌عنوان‌گونه‌ای با حداقل نگرانی، اطلاعات‌محدودی در مورد زیست‌شناسی(پویایی‌جمعیت)،فیزیولوژی تولیدمثل و ترجیح غذایی‌این‌گونه ارزشمندوجود دارد(عبدلی و همکاران، ۱۳۸۶). بررسی ترکیبات تشکیل‌دهنده لاشه ماهیان ابزار ارزشمندی در فهم نیازهای تغذیه‌ای با اهداف بازسازی ذخایر و اهلی‌سازی گونه‌های ماهیان استخوانی‌می‌باشد(Kim و Lall، ۲۰۰۰).دراین‌ارتباط،بررسی ترکیبات لاشه می‌تواند به‌عنوان گامی اولیه در معرفی گونه‌ای وحشی به صنعت آبزی‌پروری با هدف شناخت ترجیح و نیازهای غذایی آن مطرح باشد. متناسب با نوع تغذیه ماهی از منابع مختلف (جانوری، گیاهی و کفزیان)فعالیت آنزیم‌های‌گوارشی در دستگاه‌گوارش آن تغییر می‌کند (Kuzmina، ۱۹۹۶) بنابراین یکی از روش‌ها مهم در تعیین جیره غذایی ماهیان بررسی میزان فعالیت آنزیم گوارشی در آن‌ها می‌باشد (Lan و Pan، ۱۹۹۳). هم‌چنین جهت بهبود عملکرد رشد در ماهیان پرورشی‌می‌بایست جیره‌غذایی دارای‌پروفیل اسیدآمینه‌متعادل نسبت به‌نیازهای ماهی باشد (Pion، ۱۹۷۶؛ Kim و Lall، ۲۰۰۰؛ Tasbozan و همکاران، ۲۰۱۳). با توجه به اهمیت اقتصادی و پراکنش گسترده ماهی خواجو (*S. pelzami*)، در منابع آبی شمال‌شرق کشور و هم‌چنین خطر کاهش جمعیتی در اثر از بین رفتن زیستگاه‌ها لازم است تا جهت حفاظت و تولید اقتصادی این‌گونه مطالعاتی در مورد اکولوژی و نیازهای غذایی آن انجام پذیرد. از این‌رو بررسی نیازهای تغذیه‌ای می‌تواند اطلاعات با ارزشی را در زمینه حفاظت و پرورش و نگه‌داری این‌گونه در اختیار قرار دهد. علی‌رغم اهمیت اقتصادی و پراکنش گسترده ماهی خواجو (*S. pelzami*)، در منابع آبی شمال‌شرق کشور، اطلاعاتی راجع به ترجیح و نیازهای غذایی ارائه نگردیده است. از این‌رو در این مطالعه باهدف شناخت نیازهای پایه تغذیه‌ای و تعیین جیره غذایی مناسب، ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده لاشه، میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ترکیب اسیدهای آمینه لاشه ماهیان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها: نمونه‌ها از زیستگاه‌های طبیعی این‌گونه در رودخانه‌های منطقه‌خراسان رضوی، شمال‌شرق ایران(رودخانه‌های شاهرگ، دربادام، لائین و چشمه سبز) با کمک دستگاه الکتروشوکر (Samus M725 – 400-1000 volt – 100-650 Watts) در فصل بهار جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها بلافاصله در یخ قرار گرفته و پس از انتقال به آزمایشگاه دانشگاه‌فردوسی مشهدجهت انجماد و جلوگیری از تغییر در ترکیب شیمیایی و فساد لاشه‌ها در فریزر (۸۰- درجه سانتی‌گراد)

جهت آزمایش‌های بعدی نگه‌داری شدند. زیست‌سنجی طولی و وزنی همه نمونه‌ها به‌ترتیب با دقت یک میلی‌متر و یک گرم (با کمک ترازو مدل A&B Japan) انجام شد. تعداد ۱۳۵ قطعه از نمونه‌های صید شده، با توجه به فراوانی طول استاندارد ماهیان، سه کلاسه طولی مختلف (۱۲-۸ ، ۱۶-۱۲ و ۲۰-۱۶ سانتی‌متر) با تعداد برابر دسته‌بندی شدند. تمام آزمایش‌های زیستی طبق دستورالعمل کمیته اخلاق زیستی برخورد با موجودات زنده دانشگاه فردوسی مشهد (مصوب خرداد ۱۳۹۵) انجام شد.

ترکیب شیمیایی و پروفیل اسیدهای آمینه: تعداد ۵ قطعه ماهی از هر کلاسه طولی به‌صورت تصادفی انتخاب، چرخ و یکنواخت گردید. سپس نمونه‌گیری از آن جهت انجام آزمایش‌های شیمیایی انجام شد (AOAC، ۲۰۰۵). جهت سنجش میزان رطوبت، نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند (AOAC، ۲۰۰۵). جهت سنجش میزان پروتئین خام از روش کلدال (N×۶/۲۵) و چربی خام از روش سوکسله با کمک حلال اتر استفاده شد (AOAC، ۲۰۰۵). هم‌چنین جهت سنجش میزان خاکستر، نمونه‌ها به‌مدت ۸ ساعت در داخل کوره الکتریکی (۵۵۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. مقدار اسیدهای آمینه نمونه‌ها بعد از هیدرولیز با اسید کلریدریک ۶ مولار، مرکاپتواتانول ۰/۵ گرم بر لیتر و ۰/۲ گرم بر لیتر فنول در دمای ۱۱۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت طبق روش استاندارد (AOAC، ۲۰۰۵) و با استفاده از دستگاه خودکار تجزیه‌کننده اسیدهای آمینه (Sykam Amino acid analyzer s433; Germany) در آزمایشگاه دانشگاه فردوسی اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم‌های گوارشی: جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز، آمیلاز و لیپاز روده میانی، ۵ قطعه ماهی از هر کلاسه طولی جدا و بعد از توزین و کدگذاری در داخل فویل‌های آلومینیومی قرار داده شد و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد گردید. سپس نمونه‌های روده میانی در آزمایشگاه با بافر فسفات (به نسبت وزنی ۳۰ به ۷۰) یکنواخت شد و پس از سانتریفیوژ (به‌مدت ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد)، مایع رویی حاصل شده جهت آزمایش‌های بعدی سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی استفاده گردید. فعالیت پروتئاز با استفاده از سوبسترای بنزویل- آرژنین- پی- نیتروآنیلیدو و با کمک منحنی استاندارد شده تریپسین گاوی (Kakade و همکاران ۱۹۷۳)، آمیلاز با استفاده از نشاسته به‌عنوان سوبسترا و از طریق رنگ‌سنجی (Worthington، ۱۹۹۱) و لیپاز با استفاده از سوبسترای امولسیون روغن زیتون- صمغ عربی و به‌طریق تیتراسیون (Worthington، ۱۹۹۱) اندازه‌گیری شد. یک واحد پروتئاز، برابر با یک میکرومول تیروزین آزاده شده در مدت یک دقیقه به‌ازای هر گرم پروتئین، یک واحد لیپاز، برابر با یک میکرومول اسید چرب آزاد شده در مدت یک دقیقه به‌ازای هر گرم پروتئین آلبومین گاوی و یک واحد آمیلاز، برابر با یک میکرومول مالتوز آزاده شده در مدت یک دقیقه به‌ازای هر گرم پروتئین آلبومین گاوی درنظر گرفته شد.

آنالیز آماری: کلیه داده‌های درصدی به‌صورت آرک‌سینوس تبدیل شدند. پس از تحقق دو شرط اصلی آزمون‌های پارامتریک تجزیه واریانس (نرمال بودن داده‌ها و همگن بودن واریانس) (Zar، ۲۰۰۷)، از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) جهت مقایسه واریانس بین کلاسه‌های طولی و از آزمون دانکن جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین کلاسه‌های طولی (در سطح اعتماد ۹۵ درصد) با کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ استفاده گردید.

نتایج

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود ماهیان خواجوی صید شده در سه کلاسه طولی با میانگین وزن‌های متوسط ۲/۳۱±۲۱/۵۴، ۳/۱۳±۴۵/۵۶ و ۳/۴۵±۸۲/۶۷ گرم قرار گرفتند. میزان رطوبت لاشه ماهیان در کلاسه‌های طولی مختلف تفاوت آماری معنی‌داری را با یکدیگر نشان نداد ($p>0/05$) و میزان آن در دامنه ۷۸/۴۹ تا ۷۶/۵۴ درصد قرار داشت (جدول ۱). با افزایش میانگین وزن ماهیان خواجو، میزان پروتئین خام لاشه به‌طور معنی‌داری ($p<0/05$) کاهش یافت و از ۱۴/۸۷ درصد در کلاسه طولی ۱۲-۸ سانتی‌متر به ۱۰/۴۷ درصد در کلاسه طولی ۲۰-۱۶ سانتی‌متر رسید (جدول ۱). میزان چربی خام لاشه ماهیان صید شده با افزایش وزن بدن روند افزایشی معنی‌داری ($p<0/05$) را نشان داد و از ۴/۸۵ درصد در کلاسه طولی اول به ۸/۲۵ درصد در کلاسه طولی سوم رسید (جدول ۱). در این رابطه، روند افزایشی مشابهی در میزان خاکستر لاشه ماهیان صید شده مشاهده گردید و میزان خاکستر از ۱/۷۳ در کلاسه طولی اول به ۴/۷۰ درصد در کلاسه طولی دوم رسید (جدول ۱). پروفیل اسیدآمینه لاشه ماهی خواجو در جدول ۲ نشان داده شده است. با افزایش وزن ماهیان، میزان اسیدهای آمینه لوسین، لیزین، ترئونین و متیونین لاشه روند افزایشی معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$). میزان هیستیدین لاشه ماهیان خواجو با افزایش وزن از ۱/۴۲ درصد در کلاسه طولی اول به ۱/۶۳ درصد در کلاسه طولی دوم رسید و سپس به‌طور معنی‌داری ($p<0/05$) کاهش یافت و در کلاسه طولی سوم به ۱/۵۴ درصد رسید (جدول ۲). میزان کل اسیدهای آمینه ضروری (TEAA) با افزایش وزن بدن روند افزایشی معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$) و از ۴۴/۴۹ درصد در کلاسه طولی اول به ۴۷/۶۳ درصد در کلاسه طولی سوم رسید (جدول ۲). هرچند مقادیر اسیدهای آمینه غیرضروری (گلوتامیک اسید، سرین، آسپارتیک

جدول۱: میانگین (± انحراف معیار) وزن (گرم) و ترکیب شیمیایی (درصد) لاشه ماهیان خواجوی (*S. pelzami*) صید شده در کلاسه‌های طولی مختلف از رودخانه‌های منطقه خراسان (رودخانه شاهرگ و رودخانه چشمه سبز) (n=۵)

	کلاسه طولی اول ۸-۱۲ سانتی‌متر	کلاسه طولی دوم ۱۲-۱۶ سانتی‌متر	کلاسه طولی سوم ۱۶-۲۰ سانتی‌متر
وزن میانگین (گرم)	۲۱/۵۴±۲/۳۱a	۴۵/۵۶±۳/۱۳b	۸۲/۶۷±۳/۴۵c
درصد رطوبت (درصد)	۷۸/۴۹±۰/۷۰a	۷۷/۶۰±۰/۴۵a	۷۶/۵۴±۰/۸۲ a
پروتئین خام (درصد)	۱۴/۸۷±۰/۶۹c	۱۲/۵۲±۰/۹۵b	۱۰/۴۷±۰/۸۸ a
چربی خام (درصد)	۴/۸۵±۰/۴۱a	۶/۹۷±۰/۴۳b	۸/۲۵±/۵۵c
خاکستر (درصد)	۱/۷۳±۰/۰۵a	۲/۸۹±۰/۰۹b	۴/۷۰±۰/۰۷c

* ردیف‌هایی با حداقل یک حرف غیرمشترک در سطح ۵ درصد تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر دارند (p<۰/۰۵).

جدول۲: ترکیب (میانگین± انحراف معیار) اسیدهای آمینه (درصد) لاشه ماهیان خواجوی (*S. pelzami*) صید شده در کلاسه‌های طولی مختلف از رودخانه‌های منطقه خراسان (رودخانه شاهرگ و رودخانه چشمه سبز) (n=۵)

	کلاسه طولی اول ۸-۱۲ سانتی‌متر	کلاسه طولی دوم ۱۲-۱۶ سانتی‌متر	کلاسه طولی سوم ۱۶-۲۰ سانتی‌متر
آرژنین	۷/۰±۴۲/۰۲	۷/۰±۳۱/۰۴	۷/۰±۹۰/۰۳
هیستیدین	۱/۰±۴۲/۰۴a	۱/۰±۶۳/۰۳c	۱/۰±۵۴/۰۴b
ایزولوسین	۶/۰±۰۲/۰۳	۶/۰±۸۳/۰۲	۷/۰±۱۲/۰۵
لوسین	۷/۰±۳۲/۰۴a	۷/۰±۶۴/۰۴b	۷/۰±۹۱/۰۲c
لیزین	۲/۰±۸۷/۰۵a	۳/۰±۱۴/۰۴b	۳/۰±۰۷/۰۴b
فنیل آلانین	۳/۰±۵۲/۰۳	۳/۰±۵۴/۰۲	۳/۰±۶۳/۰۲
ترئونین	۶/۰±۴۸/۰۱a	۶/۰±۷۳/۰۲b	۶/۰±۸۵/۰۵c
والین	۶/۰±۵۷/۰۴	۶/۰±۶۴/۰۳	۶/۰±۸۲/۰۳
تریپتوفان	۲/۰±۰۷/۰۳	۲/۰±۰۵/۰۴	۲/۰±۱۱/۰۲
متیونین	۰/۰±۶۲/۰۴a	۰/۰±۶۹/۰۳b	۰/۰±۶۸/۰۲b
ΣTEAA	۴۴/۰±۴۹/۰۵ a	۴۵/۰±۲۰/۰۵b	۴۷/۰±۶۳/۰۶c
گلوتامیک اسید	۱۰/۰±۶۲/۰۲	۱۰/۰±۷۹/۰۳	۱۰/۰±۷۰/۰۲
سرین	۶/۰±۸۷/۰۴	۷/۰±۱۱/۰۲	۷/۰±۰۳/۰۵
آسپاراتیک اسید	۶/۰±۴۹/۰۳	۶/۰±۹۴/۰۴	۶/۰±۷۳/۰۴
گلایسین	۶/۰±۸۷/۰۳	۶/۰±۹۸/۰۴	۶/۰±۸۵/۰۳
آلانین	۶/۰±۸۴/۰۵	۶/۰±۹۴/۰۵	۶/۰±۷۳/۰۴
تیروزین	۱/۰±۷۲/۰۲	۱/۰±۹۲/۰۱	۱/۰±۹۴/۰۵
ΣNTEAA	۳۹/۰±۴۱/۰۵ a	۳۹/۰±۶۸/۰۴ a	۳۹/۰±۹۸/۰۳ a

* ردیف‌هایی با حداقل یک حرف غیرمشترک در سطح ۵ درصد تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر دارند (p<۰/۰۵).

ΣTEAA: مجموع اسیدهای آمینه ضروری (Total Essential Amino Acid)

ΣTNEAA: مجموع اسیدهای آمینه غیرضروری (Total Non-Essential Amino Acid)

اسید، گلایسین، آلانین و تیروزین) با افزایش‌وزن بدن، روند معنی‌داری را نشان نداد (p>۰/۰۵) و میانگین مجموع اسیدهای آمینه غیرضروری در دامنه ۳۹/۴۱ درصد تا ۳۹/۹۸ درصد قرار داشت (جدول۲). میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در بخش روده میانی در کلاسه‌های طولی مختلف در ماهی خواجوی صید شده در جدول ۳ گزارش شده است. بیش‌ترین میزان فعالیت در آنزیم پروتئاز کل مشاهده شد که میزان فعالیت آن با افزایش وزن بدن ماهیان روند افزایشی معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵) و از ۲/۳۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در کلاسه طولی اول به ۳/۴۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در کلاسه طولی سوم رسید. هم‌چنین میزان فعالیت آنزیم گوارشی لیپاز نیز با افزایش وزن ماهیان روند مشابهی(p<۰/۰۵) را نشان‌داد و از ۰/۹۵ واحدبرمیلی‌گرم پروتئین در کلاسه طولی اول به ۲/۰۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در کلاسه طولی سوم رسید (جدول۳). در این رابطه میزان فعالیت آنزیم آمیلاز، تفاوت آماری معنی‌داری را بین کلاسه‌های طولی مختلف نشان نداد (p>۰/۰۵) و میزان فعالیت این آنزیم در دامنه ۱/۰۵ تا ۱/۱۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین قرار داشت (جدول۳).

جدول۳: میانگین (± انحراف معیار) میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) ماهیان خواجوی (*S. pelzami*) صید شده در کلاسه‌های طولی مختلف از رودخانه‌های منطقه خراسان (رودخانه شاهرگ و رودخانه چشمه سبز) (n=۵)

	کلاسه طولی اول ۸-۱۲ سانتی‌متر	کلاسه طولی دوم ۱۲-۱۶ سانتی‌متر	کلاسه طولی سوم ۱۶-۲۰ سانتی‌متر
پروتئاز کل	۲/۳۵ ± ۰/۲۱a	۲/۹۷ ± ۰/۴۳b	۳/۴۵ ± ۰/۳۵c
لیپاز	۰/۹۵ ± ۰/۱۵a	۱/۶۴ ± ۰/۲۳b	۲/۰۵ ± ۰/۳۴c
آمیلاز	۱/۰۵ ± ۰/۰۹a	۱/۰۷ ± ۰/۰۸a	۱/۱۰ ± ۰/۰۷a

* ردیف‌هایی با حداقل یک حرف غیرمشترک در سطح ۵ درصد تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر دارند (p<۰/۰۵).

بحث

ماهی خواجو، یکی از گونه‌های بومی موجود در شمال‌شرق ایران می‌باشد. یکی از راه‌های حفاظت گونه مذکور، شناسایی نیازها و عادات غذایی بوده (ابراهیمی و همکاران ۱۳۹۶؛ صفری و همکاران ۱۳۹۳؛ صفری و ابراهیمی ۱۳۹۷) تا بتوان در شرایط اسارت اقدام به امر تکثیر و پرورش این گونه نمود. شناسایی ترکیب شیمیایی لاشه و میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی، اطلاعات باارزشی را در زمان تهیه فرمولاسیون جیره غذایی گونه‌های آبزی فراهم می‌نماید (Kim و Lall، ۲۰۰۰). در مطالعه حاضر، ترکیب شیمیایی لاشه ماهیان خواجو موجود در کلاسه‌های طولی مختلف (به‌ترتیب ۲/۳۱±۲۱/۵۴، ۳/۱۳±۴۵/۵۶ و

۸۲/۶۷±۳/۴۵ گرم) مورد بررسی قرار گرفت. با افزایش وزن ماهیان میزان پروتئین خام لاشه کاهش و میزان چربی خام و خاکستر افزایش یافت. ترکیب شیمیایی لاشه ماهیان در گونه‌های مختلف و حتی در یک گونه بسته به جنس، سن، شرایط محیطی و فصل به میزان زیادی متفاوت می‌باشد (رضوی‌شیرازی، ۱۳۷۳؛ FAO، ۲۰۰۴). در ماهی خواجو (*Shizothorax zarudnyi*) موجود در چاه نیمه‌های جنوب‌شرق ایران، سیکل سالیانه تغییرات ترکیبات شیمیایی لاشه مشاهده می‌گردد به‌طوری‌که با کاهش میزان رطوبت عضله، میزان پروتئین خام و چربی خام افزایش می‌یابد (زکی‌پور و همکاران، ۱۳۸۸).

در مطالعه حاضر، مقدار پروتئین خام لاشه ماهی خواجو (۴۷/۸۷-۱۰/۱۴ درصد) بر حسب وزن تر، کم‌تر از میانگین آن در گونه‌هایی هم‌چون کپور معمولی (*C. carpio*)، مریگال (*Cirrhinus mrigala*) و فیتوفاگ (*H. molitrix*) از خانواده کپور ماهیان می‌باشد که این مقدار برای آن‌ها به‌ترتیب ۲۴/۶۹، ۱۸/۹۷ و ۲۰/۲۲ درصد گزارش گردیده است(Ali و همکاران ۲۰۰۵). هم‌چنین میزان محتوای پروتئین خام لاشه ماهی آمور پرورشی (*Ctenophayngodon idella*) در شرایط مختلف پرورش بین ۱۸/۹۰ تا ۱۹/۲۱ درصد محاسبه گردیده است (اسماعیل‌زاده و همکاران، ۱۳۸۲). پائین بودن سطح پروتئین بدن در ماهی خواجو، علاوه بر مسائل ژنتیکی می‌تواند ناشی از کمبود غذا در مناطق زیست این ماهیان به‌دنبال خشکسالی‌های اخیر و قطع ارتباط بین مخازن آبی منطقه باشد. پروتئین یکی از مهم‌ترین اجزای بافت عضله به‌عنوان بخش خوراکی بدن ماهیان می‌باشد. عموماً میزان پروتئین خام بافت عضله در ماهیان بر حسب وزن تر، ۲۴-۱۰ درصد و بر حسب وزن خشک، ۷۰-۶۵ درصد می‌باشد (Sikorski و همکاران، ۱۹۹۰). میزان پروتئین کل و کیفیت آن در گونه‌های آبزی پرورشی و یا صید شده از طبیعت بسیار مشابه می‌باشد (Nettleton، ۱۹۹۰). دسترسی به داده‌های ترکیب اسیدهای آمینه لاشه گونه‌های آبزی مدنظر جهت امر تکثیر و پرورش می‌تواند به‌عنوان شاخصی جهت تعیین کیفیت و کمیت اسیدهای آمینه جیره غذایی (Pion، ۱۹۷۶؛ Kim و Lall، ۲۰۰۰؛ Tasbozan و همکاران، ۲۰۱۳) درنظر گرفته شود. کیفیت و کمیت جیره غذایی مهم‌ترین عاملی است که تأثیر مستقیمی بر میزان تولید (Wilson و Poe، ۱۹۸۵؛ Mambrini و Kaushik، ۱۹۹۵) گونه‌های پرورشی دارد. در برخی مطالعات هم‌بستگی بسیار نزدیکی بین مقدار اسیدهای آمینه لاشه ماهی با میزان مصرف آن از طریق جیره غذایی گزارش شده است. با استفاده از این رابطه برخی از احتیاجات اسیدآمینه‌ای تخمین زده شده با سایر روش‌ها مورد تائید قرار گرفت (دانش‌مسگران و همکاران، ۱۳۷۸). به‌عنوان مثال از ۱۰ اسیدآمینه ضروری که مقدار مورد نیاز آن توسط روش اضافه وزن در گربه‌ماهی کانالی مورد مطالعه قرار گرفته بود، لیزین (Wilson و همکاران، ۱۹۷۷)، ترئونین (Wilson و همکاران، ۱۹۷۸)،هیستیدین(Wilson و همکاران، ۱۹۸۰) و متیونین (Harding و همکاران، ۱۹۷۷) در تعیین احتیاجات برآورده شده با استفاده از روش آنالیز ترکیب لاشه مورد تائید قرار گرفته است. در تحقیقی مشابه، از بین ۱۰ اسیدآمینه مورد نیاز ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)، ترئونین، ایزولوسین و لیزین آزاد موجود در لاشه با مقادیر تعیین شده به‌روش اضافه وزن همبستگی بسیار زیادی داشت (Santiago و Lovell، ۱۹۸۸).

ازآن‌جایی‌که لیزین به‌طور معمول، اولین اسیدآمینه محدود کننده اقلام غذایی می‌باشد، لذا نیاز به اسیدهای آمینه ضروری دیگر نسبت به نیاز به لیزین بر پایه محتوای پروتئین ایده‌آل بیان می‌شود (Cole، ۱۹۷۸). در مطالعه‌ای، نیاز به اسیدآمینه در گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) برحسب احتیاجات غذایی لیزین و نسبت A/E (میزان یک اسیدآمینه ضروری بر میزان کل اسیدهای آمینه ضروری به‌همراه سیستئین و تیروزین) اسیدهای آمینه لاشه بدن، همبستگی بسیار زیادی را بین مقادیر تعیین شده و محاسبه شده نیاز به اسیدآمینه نشان داد (Wilson، ۱۹۹۱). در این ارتباط مطالعات متعددی میزان نیاز به اسیدهای آمینه ضروری را پس از تعیین لیزین مورد نیاز به‌همین روش در گونه‌های هم‌چون شوریده قرمز (*Sciaenops ocellatus*) (Moon و Gatlin، ۱۹۹۱)، هامور مخطط (*Epinephelus latifasciatus*) (Brown، ۱۹۹۵) و کفشک ژاپنی (*Paralichthys oliaceus*) (Forster و Ogata، ۱۹۹۸) تعیین نمودند. در مطالعه حاضر، آرژنین و لوسین فراوان‌ترین و متیونین کم‌ترین اسیدآمینه موجود در لاشه ماهی خواجوی صید شده در کلاسه‌های طولی مختلف بود (جدول۲). به‌نظر می‌رسد در مطالعات آتی مربوط به تهیه فرمولاسیون جیره غذایی باید به‌میزان اسیدآمینه متیونین توجه ویژه نمود. هم‌چنین می‌توان جهت تعیین مقادیر دقیق نیاز به اسیدهای آمینه ضروری به‌روش غلظت پاسخ از اطلاعات مربوط به ترکیب اسیدآمینه لاشه ماهی خواجو نیز استفاده نمود.

میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی وابسته به گونه، وزن، فصل، رژیم غذایی ومراحل تکوین(انتوژنی) (Kuzmina، ۱۹۹۶) و متغیرهای درونی هم‌چون ویژگی‌های ذاتی آنزیم، میزان تولید و ترشح آن است (Yan و همکاران، ۱۹۹۶).

در ماهیان همه‌چیزخوار و گوشت‌خوار، میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز و لیپاز بالا می‌باشد (Evans، ۱۹۹۸). لذا برحسب اطلاعات مطالعه حاضر و گزارش‌های قبلی (صفری و ابراهیمی، ۱۳۹۷) ماهی خواجومی‌تواند به‌عنوان یک گونه با عادت غذایی همه‌چیزخواری با تمایل به گوشت‌خواری درنظر گرفته شود. دراین ارتباط، با افزایش طول و به‌تبع بزرگ شدن اندازه بدن، وزن دستگاه گوارش (شاخص

احشائی) جهت تأمین حداقل احتیاجات غذایی افزایش می‌یابد. لذا فعالیت روده و به‌خصوص فعالیت آنزیم‌های گوارشی دخیل در فرآیند هضم و جذب نیز افزایش می‌یابد.در مطالعه حاضر میزان فعالیت آنزیم آمیلاز تفاوتی را بین‌ماهیان خواجوی با کلاسه‌های وزنی مختلف نشان نداد ولی میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئاز کل و لیپاز افزایش یافت. هم‌چنین به‌نظر می‌رسد که افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌تواند به‌دلیل تغییر عادت غذایی از پلانکتون‌خواری به کفزی‌خواری باشد که در اثر تغییر مرحله زندگی (انتوژنی) و افزایش سن است. هر چند مطالعات بیش‌تری در آینده نیاز می‌باشد تا ارتباط بین عادت‌های غذایی در مراحل مختلف زندگی و میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی مشخص شود. درنهایت، نتایج مطالعه حاضر نشان داد ماهی خواجو می‌تواند به‌عنوان یک گونه با عادت غذایی همه‌چیزخواری متمایل به گوشت‌خواری درنظر گرفته شود. اطلاعات مربوط به ترکیب شیمیایی و پروفیل اسیدآمینه لاشه ماهی خواجو می‌تواند به‌عنوان الگویی جهت تهیه فرمولاسیون جیره‌های غذایی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل انجام پروژه تحقیقاتی طرح کسر خدمت به سفارش سازمان تحقیقات و جهاد خودکفایی نیروی دریایی سپاه پاسداران جمهوری اسلامی ایران می‌باشد.

منابع

۱. **ابراهیمی، ا.؛ کامرانی، ا.؛ حیدرنژاد، م.س. و صفری، ا.، ۱۳۹۶.** اثر نور و دما بر فعالیت حرکتی و رفتار تغذیه‌ای ماهی خواجو *Schizothorax pelzami*. رساله دکتری. دانشگاه هرمزگان. بندرعباس. ۸۶ صفحه.

۲. **اسماعیل‌زاده، ر.؛ سحری، م، و حمیدی‌اصفهانی، ز.، ۱۳۸۲.** مقایسه ترکیبات غذایی گوشت ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) و ماهی علف‌خوار پرورشی (*Ctenopharyngodon idella*) و فرآوری ماریناد از آن‌ها. مجله علمی شیلات. سال ۱۲، شماره ۴، صفحات ۱۶ تا ۱۹.

۳. **پاپهن ، ف. و رونق، م.، ۱۳۸۱.** بررسی میزان چربی و پروتئین عضلات ماهی شوریده در منطقه هندیجان در فصول مختلف. مجله دامپزشکی. دوره ۸، شماره ۵، صفحات ۷۵ تا ۸۲.

۴. **جهانجو، و.، ۱۳۹۰.** اثرات سطوح متفاوت پربیوتیک مانان الیگو ساکارید جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، تغذیه، نرخ بازماندگی و ترکیب بدن شیزوتراکس زارودنی پرورشی (*Schizothorax zarudnyi*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی آزادشهر. ۱۲۸ صفحه.

۵. **دانش‌مسگران، م.؛ معینی، م.س.؛ ترکی، م.؛ دستار، ب.؛ خواجه‌علی، ف.؛ بوجارپور، م. و طباطبایی، ف.، ۱۳۷۸.** اسیدهای آمینه در تغذیه دام. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. مشهد. ۴۴۴ صفحه.

۶. **ذبیحی، م.؛ پورکاظمی، م.؛ کاظمی، ر.ا. و کمالی، ا.، ۱۳۸۲.** تعیین زمان تخم‌ریزی و تغییرات چرخه تولیدمثلی هامون ماهی (*Shizothorax zarudnyi*) بر مبنای شاخص وزنی گناد، شاخص وزنی کبد و شاخص چاقی. مجله علمی شیلات ایران. دوره ۱۲، شماره ۴، صفحات ۴۱ تا ۵۶.

۷. **رضوانی‌گیل‌کلایی، س.، ۱۳۸۹.** بررسی تکثیر و پرورش ماهی شیزوتراکس زارودنی تا وزن یک گرم در استخر خاکی. موسسه تحقیقات شیلات ایران. شماره پروژه ۸۹۱۴۱-۸۹۱۰-۱۲-۱۴.

۸. **رضوی‌شیرازی، ح.، ۱۳۷۳.** تکنولوژی فرآورده‌های دریایی، اصول نگه‌داری و عمل‌آوری. انتشارات شرکت شیلانه. صفحات ۳۱ تا ۴۸.

۹. **زکی‌پور رحیم‌آبادی، ا.؛ ارشدی، ع.؛ زارع، پ. و حیدری، م.ر.، ۱۳۸۸.** بررسی مقایسه‌ای ترکیبات شیمیایی عضله ماهی خواجو (*Shizothorax zarudnyi*) و انجک (*Shizocypris altidorsalis*) در فصول مختلف و جنس‌های مختلف در استان سیستان و بلوچستان. مجله علمی شیلات ایران. دوره ۳، شماره ۳، صفحات ۱۵ تا ۲۰.

۱۰. **صفری، ا.؛ باقری، ج. وناصری‌زاده،م.، ۱۳۹۳.** مطالعه هورمون‌های استروئیدی جنسی پلاسمای خون ماهیان مولد ماده خواجو (*Schizothorax pelzami*) در طی فصول سال. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۶۹، شماره ۴، صفحات ۴۲۳ تا ۴۳۰.

۱۱. **صفری، ا. و ابراهیمی، ا.، ۱۳۹۷.** بررسی امکان تولید جیره غذایی بهینه در ماهی خواجو (*Schizothorax pelzami*) به‌عنوان گونه بومی شمال‌شرق ایران باهدف تولید پایدار در سیستم‌های پرورشی. طرح پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد. ۱۵۰ صفحه.

۱۲. **عبدلی، ا.؛ رسولی، پ.؛ یزدان‌دادبی‌بالان، ح. و عبدلی، ل.، ۱۳۸۶.** بررسی برخی جنبه‌های اکولوژیکی گونه *Shizothorax pelzami* از رودخانه لائین سو در شمال‌شرق ایران. مجله علوم محیطی. دوره ۴، شماره ۳، صفحات ۶۹ تا ۷۶.

۱۳. **قرایی، ا.؛ راهداری، ع.ع. و غفاری، م.، ۱۳۹۰.** تکثیر مصنوعی ماهی سفیدک سیستان، *Shizothorax zarudnyi* با استفاده از هورمون‌های سنتتیک. مجله علوم و فنون دریایی. دوره ۱۰، شماره ۱، صفحات ۱ تا ۱۱.

۱۴. **Ali, M.; Ighbal, F.; Salam, A.; Iram, S. and Athar, M., 2005.** Comparative study of body composition of different fish species from brackish water pond. International Journal of Environment Science and Technology. Vol. 2, No. 3, pp: 229-232.

۱۵. **AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005**. Official Methods of Analysis, 18th ed. AOAC International, Maryland, USA.

۱۶. **Brown, J.; Helm, M. and Moir, J., 1995**. New candidate species for aquaculture. In: Boghen, A.D., (Ed.), ColdWater Aquaculture in Atlantic Canada. 2nd edn. Tribune Press, Sackville, New Brunswick. pp: 341-362.

۱۷. **Coad, B.W., 1998**. Systematic biodiversity in the fresh water fishes of Iran. Ital. J. Zool. Vol. 65, pp: 101-108.

۱۸. **Coad, B.W., 1995**. Freshwater fishes of Iran. Acta. Sc. Nat. Brno. Vol. 29, No. 1.

۱۹. **Cole, D.J.A., 1978**. Amino acid nutrition of the pig. In: Haresign, W. and Lewis, D., (Eds.), Recent Advances in Animal Nutrition. Butterworth, London. pp: 59-72.

۲۰. **Evans, D.H., 1998**. The physiology of fishes. CRC Press. New York. USA. 519 p.

۲۱. **FAO. 2004**. FAO Yearbook of fishery statistics 2004 (Vol. 1/2). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

۲۲. **Forster, I. and Ogata, H.Y., 1998**. Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys oliaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. Aquaculture. Vol. 161, pp: 131-142.

۲۳. **Gharaei, A.; Rahdari, A. and Ghaffari, M., 2010**. *Schizothorax zarudnyi* as a potential species for aquaculture. Paper presented in the Aqua 2010, Phuket, Thailand, 22-25 September 2010. pp: 119-120.

۲۴. **Gharaei, A.; Rahdari, A. and Ghaffari, M., 2011**. Induced Spawning of *Schizothorax zarudnyi* (Cyprinidae) By Using Synthetic Hormones (Ovaprim and HCG). World Journal of Fish and Marine Sciences. Vol. 3, No. 6, pp: 518-522.

۲۵. **Harding, D.E.; Allen, O.; Jr, W. and Wilson, R.P., 1977.** Sulfur amino acid requirement of channel catfish: L-methionine and L-cystine. Journal of Nutrition. Vol. 107, pp: 2031-2035.

۲۶. **Kakade, M.L.; Hoffa, D.E. and Leiner, I.E., 1973**. Contribution of trypsin inhibitors to the deleterious effects of unheated soybeans fed to rats. Journal of Nutrition. Vol. 103, pp: 1772-1778.

۲۷. **Kim, J.D. and Lall, S.P., 2000**. Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (Paralichthys olivaceus). Aquaculture. Vol. 187, pp: 376-373.

۲۸. **Kuzmina, V.V., 1996**. Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts. Aquaculture. Vol. 148, pp: 25-37.

۲۹. **Lan, C.C. and Pan, B.S., 1993**. *In vitro* digestibility simulating the proteolysis of feed protein in midgut gland of grass shrimp (*Penaeus monodon*). Aquaculture. Vol. 109, pp: 59-70.

۳۰. **Mambrini, M. and Kaushik, S.J., 1995**. Indispensable amino acid requirements of fish: correspondance between quantitative data and amino acid profiles of tissue proteins. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 11, pp: 240-247.

۳۱. **McCafferty, W.P., 1981**. Aquatic Entomology. Jones and Bartlett Publishers. U.S.A. 449 p.

۳۲. **Mirza, M.R., 1988**. A note on the systematic of the genus *Schizothoraz* Heckel, 1993 (Pisces: Cyprinidae). Pak. J. Zool. Vol. 20, No. 3, pp: 312-314.

۳۳. **Moon, H.Y. and Gatlin, D.M., 1991**. Total sulfur amino acid requirement of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture. Vol. 95, pp: 97-106.

۳۴. **Needham, P.R. and Needham, J.G., 1962**. A guide to the study of Fresh-water biology. Holden Day Publisher. U.S.A. 107 p.

۳۵. **Nettleton, J.A., 1990**. Comparing nutrients in wild and farmed fish. Aquaculture magazine. January/February. pp: 34-41.

۳۶. **Pauly, D. and Froese, R., 2001**. Fish stocks. In Levin, S.A., (ed.) Encyclopedia of Biodiversity. Academic Press, San Diego. Vol. 1, 144 p.

۳۷. **Pennak, R.L., 1953**. Fresh water invertebrate of the United States. The Ronald Press. U.S.A.

۳۸. **Pion, R., 1976**. Dietary Effects and Amino Acids in Tissues. Protein Metabolism and Nutrition, London, Butterworths. pp: 259-278.

۳۹. **Santiago, C.B. and Lovell, R.T., 1988.** Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. Journal of Nutrition. Vol. 118, pp: 1540-1546.

۴۰. **Sikorski, Z.E.; Kołakowska, A. and Burt, J.R., 1990**. Postharvest biochemical and microbial changes. Seafood: resources, nutritional composition, and preservatives. Boca Raton, FL. CRC Press Inc. pp: 29-75.

۴۱. **Tasbozan, O.; Ozcan, O.; Erbas, C.; Undag, E.; Atici, A. and Adaklia, A., 2013**. Determination of Proximate and Amino Acid Composition of Five Different Tilapia Species from the Cukurova Region (Turkey). Journal of Applied Biological Sciences. Vol. 7, No. 3, pp: 17-22.

۴۲. **Usinger, R.L., 1963**. Aquatic insect of California. University of California Press. U.S.A. 508 p.

۴۳. **Wilson, R.P.; Harding, D.E.; Garling, D. and Jr, L., 1977.** Effect of dietary pH on amino acid utilization and the lysine requirement of fingerling channel catfish. Journal of Nutrition. Vol. 107, pp: 166-170.

۴۴. **Wilson, R.P.; Allen, O.W.; Robinson, E.H. and Poe, W.E., 1978.** Tryptophan and threonine requirements of fingerling channel catfish. Journal of Nutrition. Vol. 108, pp: 1595-1599.

۴۵. **Wilson, R.P.; Poe, W.E. and Robinson, E.H., 1980.** Leucine, isoleucine, valine and histidine requirements of fingerling channel catfish. Journal of Nutrition. Vol. 110, pp: 627-633.

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

۴۷. **Wilson, R.P., 1991.** Amino acid nutrition of fish: a new method of estimating requirement values. In: Proc. 12th U.S.–Japan Symp. on Aquaculture Nutrition, Newport, Oregon, Oct. 1991. pp: 49-54.

۴۸. **Worthington, C.C., 1991.** Worthington enzyme manual related biochemical. 3rd Edition. Freehold. New Jersey. pp: 38-44.

۴۹. **Yan, T.; Teo, L.H. and Sin, Y.M., 1996.** Effects of metals on α-amylase activity in the digestive gland of the green mussel, *Perna viridis* L. Bulletin of environmental contamination and toxicology. Vol. 56, No. 4, pp: 677-682.

۵۰. **Yildiz, M.; Şener, E. and Timur, M., 2007.** Effects of variations in feed and seasonal changes on body proximate composition of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 7, pp: 45-51.

۵۱. **Zar, J.H., 2007.** Biostatistical Analysis, 5th ed. Prentice Hall, Inc. Upper Saddle River, NJ, USA.