بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز، تریپسین و لیپاز در ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)

- **حسینعلی شیبک:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، صندوق‌پستی: ۵۳۸-۹۸۶۱۵
- **مصطفی غفاری:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، صندوق‌پستی: ۵۳۸-۹۸۶۱۵
- **احمد قرایی*:** گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، صندوق‌پستی: ۵۶۴۹۹-۹۹۷۱۷
- **مهدی جهانتیغ:** گروه پاتولوژی، پژوهشکده دام‌های خاص، دانشگاه زابل، صندوق‌پستی: ۵۳۸-۹۸۶۱۵
- **ساحل پاکزادتوچایی:** پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، دانشگاه زابل، صندوق‌پستی: ۵۳۸-۹۸۶۱۵

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۳

چکیده

در تحقیق حاضر به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی از ۱۲ عدد ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) در قالب ٤ گروه (۳عدد ماهی در هر گروه) با متوسط وزن ٦/۳±١٤١/٦، ۲/٦۳±۲۰۹/٥، ۹/٦±۲٦۳/۱ و ۲٦/۹±۳۲٦/۱٥ گرم استفاده شد. با توجه به تفاوت فعالیت آنزیم‌های گوارشی در طول روده، سنجش آنزیم‌های گوارشی آلفا آمیلاز، تریپسین و لیپاز در سه بخش قدامی، میانی و خلفی روده انجام شد. نتایج نشان داد که در بین آنزیم‌های مورد بررسی، آنزیم آلفا آمیلاز بیش‌ترین میزان فعالیت را دارا می‌باشد. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بخش میانی روده ثبت شد و بین بخش‌های مختلف روده اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم مشاهده شد (p<۰/۰٥). هم‌چنین بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و لیپاز در بخش قدامی روده به‌دست آمد و بین فعالیت هر دو آنزیم در بخش قدامی و میانی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰٥). به‌طورکلی با افزایش وزن ماهی میزان فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی افزایش یافته بود. به‌نظر می‌رسد با توجه به فعالیت بیش‌تر آنزیم آلفا آمیلاز تهیه جیره‌های غذایی بر پایه کربوهیدرات‌ها بتواند به‌عنوان جیره غذایی مناسب برای ماهی سفیدک سیستان باشد.

کلمات کلیدی: ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)، آنزیم آلفا آمیلاز، آنزیم تریپسین، آنزیم لیپاز

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: agharaei551@gmail.com

مقدمه

آگاهی از الگوی آنزیم‌های گوارشی می‌تواند به درک توانایی یک گونه در استفاده از مواد غذایی مختلف کمک کند (Hofer و Kock، ۱۹۸۹). رفتار آنزیم‌های گوارشی در ماهیان استخوانی مشابه سایر مهره‌داران می‌باشد (Fernandez و همکاران، ۲۰۰۱؛ Stevens و Hume، ۱۹۹۵). بنابراین ارزیابی فعالیت آنزیم‌های گوارشی در گونه‌های پرورشی می‌تواند در انتخاب اجزاء جیره غذایی مفید واقع شود (Lan و Pan، ۱۹۹۹). در این بین تعیین فعالیت‌های آنزیمی ویژه (پروتئازها، کربوهیدرازها و لیپاز) می‌تواند اطلاعات مهمی درخصوص توانایی هضم و راندمان هر گونه پرورشی درخصوص ترکیبات غذایی مختلف فراهم نماید (Caruso و همکاران، ۲۰۰۹). توانایی یک ماهی برای هضم و جذب مواد غذایی به‌حضور و کیفیت آنزیم‌های گوارشی بستگی دارد (Seenappa و Devaraj، ۱۹۹۵). عوامل متعددی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی تاثیرگذار هستند که از جمله می‌توان به سن (Kuzmina، ۱۹۹۶)، نوع تغذیه (Jonase و همکاران، ۱۹۸۳)، ترکیب غذا (Deguara و همکاران، ۲۰۰۳)، فصل و دمای سازگاری گونه مورد نظر (Lunstedt و همکاران، ۲۰۰۴) اشاره نمود. علاوه بر آن میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی با توجه به نوع رژیم غذایی (از پلانکتون‌خواری تا شکارچی و بنتوزخواری) تغییر می‌کند (Kuzmina، ۱۹۹۶). کپورماهیان بزرگ‌ترین خانواده را در بین ماهیان تشکیل می‌دهند، به‌طوری‌که گونه‌های مختلف گیاه‌خوار، گوشت‌خوار، پوده‌خوار و همه‌چیزخوار در این خانواده یافت می‌شوند. رژیم‌های غذایی مختلف سبب شده است که دستگاه گوارش آن‌ها نیز دستخوش تغییراتی شود. کپورماهیان فاقد معده بوده و بخش اعظم هضم و جذب مواد غذایی در روده آن‌ها انجام می شود که این امر سبب شده است که ساختار روده آن‌ها با توجه به تنوع وسیع عادات غذایی بسیار متغیر باشد (ستاری، ۱۳۸۵). ماهیان گیاه‌خوار معمولاً دارای روده بزرگ‌تر نسبت به ماهیان گوشت‌خوار بوده و دارای پروفیل آنزیمی سازش یافته با غالبیت کربوهیدرازها بوده که اجازه می‌دهد پلی‌ساکاریدها را تجزیه کنند و در مقابل آن گوشت‌خواران، روده کوتاه با سطوح بالایی از پروتئازها در مقایسه با گیاه‌خواران هستند و در روده آن‌ها آمیلازها و لیپازها فعالیت به‌مراتب کم‌تری دارند (Hidalgo و همکاران، ۱۹۹۹؛ Seixa Filho و همکاران، ۱۹۹۹؛ Chakrabarti و همکاران، ۱۹۹۵). ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) از خانواده کپورماهیان بوده (Nelson، ۱۹۷۶) و بومی منطقه سیستان می‌باشد. در سال‌های اخیر تکثیرمصنوعی آن جهت بازسازی ذخایر طبیعی و نیز معرفی به فعالیت‌های آبزی‌پروری انجام شده است (Gharei و همکاران، ۲۰۱۰). بنابراین هدف از این تحقیق تعیین نرماتیو و بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز، تریپسین و لیپاز در دستگاه گوارش گونه ماهی سفیدک سیستان (*Schizothoraz zarudnyi*) به‌منظور بهبود شرایط تغذیه‌ای آن در شرایط پرورشی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی آلفا آمیلاز، تریپسین و لیپاز، تعداد ۱۲ عدد ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) (با متوسط وزن ۶/۳±۱۴۱/۶، ۲/۶۳±۲۰۹/۵، ۹/۶±۲۶۳/۱ و ۲۶/۹±۳۲۶/۱۵ گرم و به‌ترتیب با طول استاندارد ۱/۲±۲۲/۴، ۰/۷۷±۲۴/۰۵، ۰/۴۹±۲۴/۸ و ۲/۱±۲۷/۵ سانتی‌متر) در پائیز و زمستان سال ۱۳۹۱ از مخازن چاه نیمه‌های سیستان واقع در شهرستان زهک (طول جغرافیایی ۴۱ درجه و ۶۱ دقیقه شرقی و ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی) در استان سیستان و بلوچستان صید و به مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهی بومی زهک منتقل شدند. ماهیان مورد نظر به‌مدت ۴۸ ساعت در مخازن حاوی آب تازه تحت هوادهی به‌منظور تخلیه محتویات لوله گوارش‌شان نگه‌داری شدند (Das و Tripathi، ۱۹۹۱). سپس به‌منظور کالبد گشایی، این ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک، بی‌هوش و سریعاً در مجاورت یخ (به‌منظور به‌حداقل رساندن فعالیت آنزیمی) از قسمت‌های مختلف روده آن‌ها نمونه‌برداری انجام شد (Deguara و همکاران، ۲۰۰۳). به‌طوری که روده نمونه‌های ماهی به‌دقت جدا شده و پس از تقسیم به سه بخش قدامی، میانی و خلفی به‌صورت طولی برش داده شده و به‌منظور حذف محتویات باقی‌مانده در روده با آب مقطر سرد به‌خوبی شسته شدند (Chong و همکاران، ۲۰۰۲). نمونه‌های تهیه شده بلافاصله در ازت مایع قرار داده شدند و به آزمایشگاه پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون منتقل و سپس در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در شرایط آزمایشگاه نمونه‌ها انجمادزدایی و توزین شدند و هر یک از نمونه‌ها با نسبت وزنی به حجمی(w/v) ۱ به ۱۰ با بافر Triss-HCl ۰/۰۵ مولار توسط هموژنایزر (مدل IKA T10 basic, ULTRATURRAX ساخت کشورآلمان) در کنار یخ در سه بازه زمانی ۳۰ ثانیه‌ای با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه همگن گردیدند. سوسپانسیون حاصله با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار

(مدل EPPENDORF 5810 R) با سرعت ۹۴۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و طی ۴ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از پایان سانتریفیوژ، بخش رویی حاصله جدا شده و در ویال‌های ۲۰۰ میکرولیتری در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام مطالعات آنزیمی نگه‌داری شدند. برای سنجش آنزیم آلفا آمیلاز از روش Bernfeld (۱۹۵۱)، آنزیم تریپسین از روش Erlanger و همکاران (۱۹۶۱) و لیپاز از روش Worthington (۱۹۹۱) استفاده شد. هم‌چنین پروتئین محلول در بافت روده با روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) و از آلبومین سرم گاوی (BSA) به‌عنوان استاندارد (۱میلی‌گرم در میلی‌لیتر) استفاده شد. تمامی ارزیابی‌ها در ۳ تکرار انجام پذیرفت. برای مقایسه فعالیت آنزیمی در بخش‌های مختلف روده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCELL و برای تعیین معنی‌دار بودن اختلاف میزان فعالیت آنزیم‌ها در گروه‌های وزنی مختلف از تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد و در صورت وجود اختلاف، میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه گردیدند.

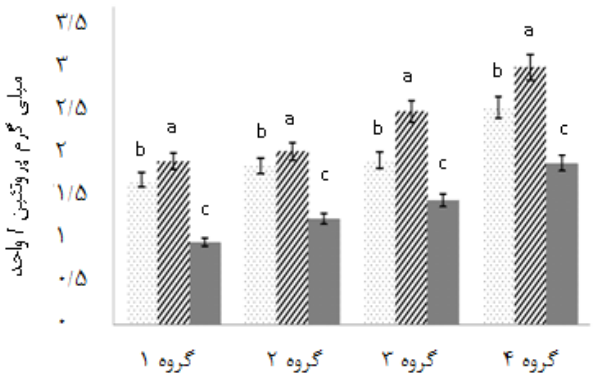
نتایج

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در بین سه آنزیم مورد بررسی (آلفا آمیلاز، تریپسین و لیپاز) آنزیم آلفا آمیلاز بیش‌ترین میزان فعالیت را در این ماهی در بخش میانی روده به‌خود اختصاص داده و فعالیت این آنزیم در بخش‌های مختلف روده نیز دارای اختلاف معنی‌داری است ($p<۰/۰۵$) (شکل ۱).

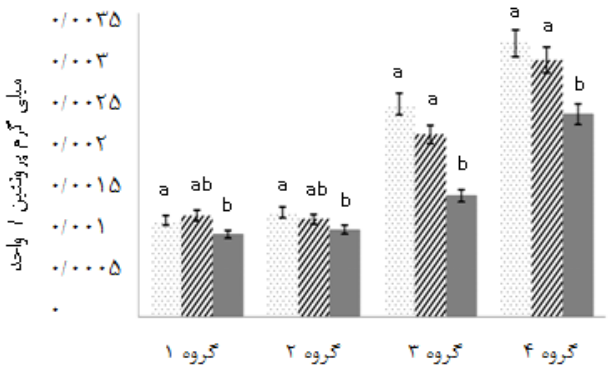
ازطرفی بررسی فعالیت آنزیم تریپسین نشان داد که بیش‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در بخش قدامی روده بوده و هم‌چنین فعالیت آن بین بخش قدامی و میانی اختلاف معنی‌داری به‌دست نیامد ($p>۰/۰۵$) ولی بین بخش قدامی و میانی با بخش خلفی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). آنالیز داده‌ها هم‌چنین نشان داد که فعالیت آنزیم تریپسین با افزایش وزن متغیر بوده و روند افزایشی را همراه با افزایش وزن نشان می‌دهد (شکل ۲).

در مورد آنزیم لیپاز نیز مشخص شد که بیش‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در بخش قدامی روده است. ولی بین بخش قدامی و میانی با بخش خلفی در میزان فعالیت این آنزیم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) (شکل ۳).

به‌طورکلی با افزایش وزن بدن میزان فعالیت هر سه آنزیم مورد بررسی افزایش یافته بود.

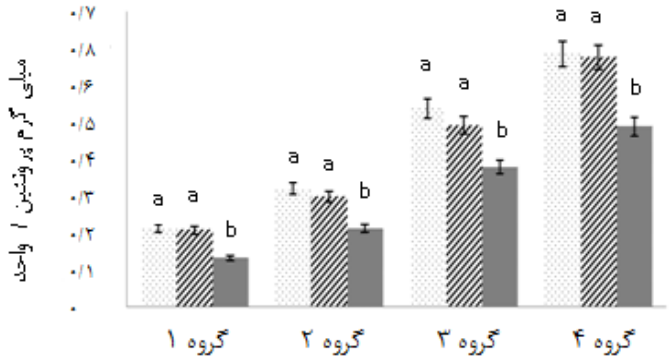


شکل ۱: نمودار فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بخش‌های مختلف روده ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) در وزن-های مختلف



شکل ۲: فعالیت آنزیم تریپسین در بخش‌های مختلف روده ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) در وزن‌های مختلف

گروه‌های وزنی به‌ترتیب دارای وزن متوسط ۱۴۱/۶±۶/۳، ۲۰۹/۵۵±۲/۶۳، ۲۶۳/۱±۹/۶، ۳۲۶/۱۵±۲۶/۹ گرم می‌باشند. در هر گروه وزنی حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد (قدامی ، میانی ، خلفی)



شکل ۳: فعالیت آنزیم لیپاز در بخش‌های مختلف روده ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) در وزن‌های مختلف

گروه‌های وزنی به‌ترتیب دارای وزن متوسط ۱۴۱/۶±۶/۳، ۲۰۹/۵۵±۲/۶۳، ۲۶۳/۱±۹/۶، ۳۲۶/۱۵±۲۶/۹ گرم می‌باشند. در هر گروه وزنی حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد (قدامی، میانی، خلفی)

بحث

ماهیان مختلف دارای رژیم‌های غذایی متفاوتی بوده که براساس رژیم غذایی آن‌ها ساختار لوله گوارش و پروفیل آنزیمی آن‌ها دستخوش تغییرات می‌شود. ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) جزء کپورماهیان (Nelson، ۱۹۷۶) همه‌چیزخوار (رضوانی‌گیل‌کلایی، ۱۳۹۰) و فاقد معده می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که از بین سه آنزیم آلفاآمیلاز، تریپسین و لیپاز، بیش‌ترین میزان فعالیت در روده این ماهی متعلق به آنزیم آلفا آمیلاز می‌باشد. این یافته با یافته‌های Chakrabarti و همکاران (۱۹۹۵) و Hidalgo و همکاران (۱۹۹۹) در مورد کپورماهیان مطابقت دارد.

منابع آنزیمی در روده شامل لوزالمعده، کیسه شنا، غذای خورده شده و فلور باکتریایی روده می‌باشد (Smith، ۱۹۸۹) که در این بین لوزالمعده نقش مهمی را در تولید آنزیم‌ها ایفا می‌نماید (Jobling، ۱۹۹۵). میزان فعالیت یک آنزیم در روده به‌میزان سوبسترای موجود و در دسترس روده می‌باشد (Gruzdkov و همکاران، ۱۹۸۱). همان‌گونه که نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد میزان فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی در بخش‌های مختلف روده با هم متفاوت می‌باشند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بخش میانی روده و تریپسین و لیپاز در بخش قدامی روده می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و تریپسین در بخش خلفی روده در بسیاری از تاکسون‌های کپورماهیان کاهش می‌یابد (Chakrabarti و همکاران، ۱۹۹۵؛ Das و Tripathi، ۱۹۹۱؛ Hofer، ۱۹۸۲). Tengjaroenkul و همکاران (۲۰۰۰) مطالعه‌ای را بر روی فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) انجام دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بخش میانی روده تمرکز یافته که با نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر مشابهت دارد. مطالعات انجام شده بر روی سایر ماهیان (Namulawa و همکاران، ۲۰۱۳؛ Saraquete و همکاران، ۱۹۹۳؛ Palanisamy، ۱۹۹۰؛ Cockson و Bourne، ۱۹۷۲) نشان داده است که بیش‌ترین میزان فعالیت تریپسین در بخش قدامی روده تمرکز یافته که با نتایج تحقیق حاضر مشابهت دارد. همان‌گونه که نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم لیپاز در بخش قدامی روده تمرکز یافته که با نتایج به‌دست آمده توسط برخی محققین (Karimi و همکاران، ۲۰۱۰؛ Odedeyi و Fagbenro، ۲۰۱۰؛ Klahan و همکاران، ۲۰۰۹؛ Tengjaroenkul و همکاران، ۲۰۰۰) مشابهت دارد.

آنزیم‌های آمیلاز و تریپسین جزو آنزیم‌ها با منشاء لوزوالمعده‌ای بوده و بنابراین در بخش قدامی روده ترشح می‌شوند. این مطلب این موضوع را قوت می‌بخشد که فعالیت این آنزیم‌ها در بخش خلفی روده به‌علت کاهش میزان سوبستراهای مورد نیاز آن‌ها و نیز شکسته شدن و باز جذب مجدد آنزیم‌ها (Clements و Raubenheimer، ۲۰۰۶؛ Hofer، ۱۹۸۲) و نیز کاهش تغییرات pH در طول ناحیه روده‌ای (Moriarty، ۱۹۷۳) می‌باشد. مطالعات نشان داده است که میزان فعالیت آنزیم لیپاز در بخش خلفی روده کپورماهیان مختلف (Chakrabarti و همکاران، ۱۹۹۵؛ Das و Tripathi، ۱۹۹۱) و دیگرماهیان همه‌چیزخوار نظیر *Dorosoma cepedianum* (Smooth و Findlay، ۲۰۰۰) و *Hypostomus plecostomus*

(German، ۲۰۰۹) کاهش می‌یابد و همگی به نتایج مشابهی رسیده‌اند مبنی بر این‌که این آنزیم توسط لوزوالمعده ترشح شده و شرایطی مشابه با آنزیم‌های آمیلاز و تریپسین دارد. فعالیت آنزیمی با افزایش وزن و سن ماهی به‌علت افزایش اندازه روده و ضخامت لایه موکوسی افزایش می‌یابد (Kuzmina، ۱۹۹۶؛ Kuzmina، ۱۹۸۴). نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی با افزایش اندازه ماهی دارای نوسان بوده ولی دارای روند افزایشی است که با یافته‌های Kuzmina (۱۹۹۶) بر روی فعالیت آنزیم آمیلاز بر روی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) و Klahan و همکاران (۲۰۰۹) بر روی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) مشابهت دارد. مطالعات انجام شده نشان داده است که در ماهیان گوشت‌خوار با افزایش سن میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئاز افزایش می‌یابد (Kuzmina و Skvortsova، ۲۰۰۳). بررسی‌های انجام شده نشان داده است که افزایش سن باعث افزایش فعالیت آنزیم لیپاز در ماهی سیم سفید *Diplodus argus* (Cara و همکاران، ۲۰۰۳)، ماهیان جوان و بالغ کپور علفخوار *Ctenopharyngodon idella* (Das و Tripathi، ۱۹۹۱) و اردک ماهی *Esox lusios* (Kuzmina، ۱۹۹۶) می‌شود.

نتایج این تحقیق نشان داد که در بین آنزیم‌های مورد بررسی (آلفا آمیلاز، تریپسین و لیپاز) در روده ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)، آنزیم آلفا آمیلاز بیش‌ترین میزان فعالیت را دارد. هم‌چنین بخش‌های قدامی و میانی روده مکان‌های اصلی هضم و جذب مواد غذایی توسط آنزیم‌های گوارشی در روده این ماهی هستند. از سوی دیگر مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های گوارشی در اندازه‌های متفاوت ماهی سفیدک سیستان دارای نوسان بوده و با افزایش اندازه ماهی، فعالیت این آنزیم ها نیز افزایش می‌یابد.

با توجه به فعالیت بیش‌تر آنزیم آلفا آمیلاز در مقایسه با آنزیم‌های تریپسین و لیپاز در این ماهی، به‌نظر می‌رسد تهیه جیره‌های غذایی بر پایه کربوهیدرات بتواند به‌عنوان یک جیره غذایی پایه برای تغذیه این ماهی مورد استفاده قرار گیرد. از سوی دیگر تفاوت فعالیت آنزیم‌های گوارشی در اندازه‌های مختلف می‌تواند برای انتخاب مواد غذایی مناسب جهت افزایش ظرفیت هضم و کاهش هزینه تولید در اندازه‌های متفاوت ماهی سفیدک سیستان مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

۱. **رضوانی‌گیل‌کلایی، س.، ۱۳۹۰.** بررسی و تکثیر و پرورش شیزوتوراکس زارودنی تا وزن یک گرمی در استخرهای خاکی. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۶۶ صفحه.

۲. **ستاری، م.، ۱۳۸۵.** ماهی‌شناسی۱. تشریح و فیزیولوژی. انتشارات حق‌شناس. ۶۶۲ صفحه

3. **Bernfeld, P., 1951.** Amylase α and β. In: Methods in Enzym ology. Edited by P Colowick and N O Kaplan. Academic Press. New York, USA. Vol. 26, pp: 715-723.
4. **Cara, J.B.; Moyano, F.J.; Cardenas, S.; Fernandez Diaz, C. and Yuffera, M., 2003.** Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream. Journal of Fish Biol. Vol. 63, pp: 48-58.
5. **Caruso, G.; Denaro, M.G. and Genoves, L., 2009.** Digestive enzym in some teleost sprciecies of interest for Mediterin Aquaculture. The Open Fish Science J. Vol. 2, pp: 74-86.
6. **Chakrabarti, I.; Gani, M.D.A.; Chaki, K.K.; Sur, R. and Misra, K.K., 1995.** Digestive enzyme in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation. Comp Bio and Physiol. Vol. 112, pp: 167-177.
7. **Chong, A.S.C.; Hashim, R.; Chow Yang, L. and Ali, A.B., 2002.** Partial characterization and activities of proetases from the digestive tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). Aqaculture. Vol. 203, pp: 321-333.
8. **Clements, K.D. and Raubenheimer, D., 2006.** Feeding and nutrition. Edited by D.H. Evans and J.B. Caliborne. 3rd Ed. The Physiology of Fishes, Claiborne. pp: 44-82.
9. **Cockson, A. and Bourne, D., 1972.** Enzymes in the digestive tract of two species of euryhalin fish. Comp Bio and Physiol. Vol. 41, No. 4, pp: 715-718.
10. **Das, K.M. and Tripathi, S.D., 1991.** Studies on the digestive enzy- mes of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Aquaculture. Vol. 92, pp: 21-32.
11. **Deguara, S.; Jauncey, K. and Agius, C., 2003.** Enzyme activities and pH variation in the digestive tract of gilthead seabream. Journal of Fish Biol. Vol. 62, pp: 1033-1043.
12. **Erlanger, B.; Kokowsky, N. and Cohen, W., 1961.** The prepration and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Archives of Biochemistry and Biophi. Vol. 95, pp: 271-278.
13. **Fernandez, I.; Moyano, F.J.; Diaz, M. and Martinez, T., 2001.** Ch- aracterization of α-amylase activity in five species of Mediterization sparid fish (Sparidae, Teleostei). Journal of Exp Marin Biol and Eco. Vol. 262, pp: 1-12.
14. **German, D.P., 2009.** Do herbivorous minnows have pluge flow reactor guts? Evidence from digestive enzyme activities, gastrointestinal fermentation, and luminal nutrient concentration. Journal Com Physiol and Biochem. Vol. 179, pp: 759-771.
15. **Gharei, A.; Rahdari, A. and Ghaffari, M., 2010.** *Schizothorax zarudnyi* as potential specie for aquaculture. Farming the water for people and food Conference. pp: 22-25.
16. **Gruzdkov, A.A.; Gusev, U.M. and Ugolev, A.M., 1981.** The three compartmental enzyme of the entero

17. **Hidalgo, M.C.; Urea, E. and Sanz, A., 1999.** Comparative study of digestive enzyme in fish with different nutritional habitus. Proteolytic and amylase activities. Aquacultre. Vol. 170, pp: 267-283.

18. **Hofer, R., 1982.** Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivorous of an omnivorous cyprinid. Comparativ biochemistry and physiol. Vol. 72, pp: 55-63.

19. **Hofer, R. and Kock, G.,** 1989. Methode of quantitative determination of digestive enzyme in fish larvea. Poiskie Archiwum Hydrobio. Vol. 36, pp: 439-441.

20. **Jobling, M., 1995.** Digestive and abruption. In: Environmental Biology of Fishes. Edited by Jobling. Chapman and Hall, London, England. pp: 175-210

21. **Jonase, E.; Ragyanszki, M.; Olah, J. and Boros, L., 1983.** Proteolytic digestive enzymes of carnivorus (*Silurus glanis*), Herbivorus (*Hypophthalmictys molitrix*) and the omnivore (*Cyprinus carpio*) fishes. Aquaculture. Vol. 30, pp: 145-154.

22. **Karimi, I.; Noori, F.; Agh, N.; Moghaddam, A.; Chalechale, A.; You- sefi, M. and Dadyan, A., 2010.** Distribution of lipase activity in selected tissues of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). Journal of applied Biol Sciences. Vol. 4, No. 1, pp: 33-40.

23. **Klahan, R.; Areechon, N.; Younpundh, R. and Engkagul, A., 200 9.** Characterization and activity of digestive enzymes in different sizes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Kasetsart Journal. pp: 143-153.

24. **Kuzmina, V.V., 1984.** Relative enzyme activity of the intestinal lumen and mucosa. Journal of Ichthyo. Vol. 24, pp: 140-144.

25. **Kuzmina, V.V., 1996.** Influence of age on some digestive enzymes activity in some freshwater teleosts. Aquaculture. Vol. 148, No. 1, pp: 25-37.

26. **Kuzmina, V.V. and Skvortsova, E.G., 2003.** Contribition of dietary proteolytic enzyme to digestion processes of carnivorous fish. Journa l of Ichthyol. Vol. 43, No. 2, pp: 175-180.

27. **Lan, C.C. and Pan, B.S., 1999.** In vitro digestibility simulating the proteolysis of feed protein in the midgut gland of grass shrimp (*Penaeus monodon*). Aquaculture. Vol. 109, pp: 59-70.

28. **Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L. and Randall, R.J., 19- 51.** Protein measure with the folin phenol reagent. Journal of Biology and Chem, Vol. 193, pp: 265-275.

29. **Lunstedt, L.M., Melo, J.F.B. and Moraes, G., 2004.** Digestive enzymes and metabolical profle of *Pseudoplastisoma coruscans* (Teleostei: Siluriforms) in respons to diet composition.Comparative Bioche and Physi. VOl. 137, pp: 331-339.

30. **Mondal, S.; Roy, T.; Sen, S.K. and Ray, A.K., 2008.** Distribution of enzyme producing bacteria in the digestive tracts of some freshwater fish. Acta Ichthylogica ET Piscatoria. Vol. 38, No. 1, pp: 1-8.

31. **Moriarty, D.J.W., 1973.** The physiology of digestion of blu-green algae in the cichlid fish. Tilapia nilotica. Journal of Zoo. Vol. 171, pp: 25-39

32. **Namulawa V.T.; Kato, C.D.; Rutiaisire, J.; Britz, p.J.; Beukes, N.; Pl Etschke, B.I. and Whiteley, C., 2013.** Enzyme activity I the Nile perch gut: Implications to Nile Perch culture. International Journal of Fish and Aqua. Vol. 5, No. 9, pp: 221-228

33. **Nelson, J.C., 2006.** Fishes of the world. Edited by John Wiley and Sons. 4 th Ed. New York. 601 p

34. **Nelson, J.S., 1976.** Fishes of the word. Edited by John Wiley and sons. 3rd Ed. New York. 573 p.

35. **Odedeyi, D.O. and Fagbenro, O.A., 2010.** Feeding habits and dige- stive enzymes in the gut of *Mormyrus rume* (Osteichthyes: mormyridea). Tropical zoology. Vol. 23, pp: 75-89.

36. **Palanisamy, K., 1990.** Digestive enzyme complement of *Liza parisa* (Hamilton). Mangalor. Vol. 207, No. 4, pp: 145-148.

37. **Saraquete, M.C.; Polo, A. and Gonzalez De Canales, M.L., 1993.** A histochemical and immunohistoch- - emical study of digestive enzymes and hormons during the larval development of the sea bream (*Sparus aurata*). The Histochemical Journal. Vol. 25, No.6, pp: 430-437.

38. **Seenappa, D. and Devaraj, K.V., 1995.** Effect of different level of protein, fat and carbohydrate on growth, feed utilization and body carcass composition of fingerlings in *Catla catla*. Aquaculture. Vol. 129, pp: 243-249.

39. **Seixa Filho, J.T.; Oliveria, M.G.A.; Donzele, J.L.; Gomide, A.T.M. and Menin, E., 1999.** Activided amylaseem quimo de tre especies de peixes Telostei de aqua doce. Rev Brasil Zoot, Vol. 28, pp: 907-913.

40. **Smith, L.S., 1980.** Digestion in teleost fishes. In: Lectures presented at the FAO-UNDP Training urse in fish feeding technology. ACD ACDP/REP. Vol. 80, No. 11, pp: 3-17.

41. **Smith, L.S., 1989.** Digestive function in teleost fish. In Fish Nutrition. Edited by Halver. 2nd Ed. Sandiago, Academy press. pp: 331-421.

42. **Smooth, J.C. and Findlay, R.H., 2000.** Digestive enzyme and gut sufacant activity of detritivorous gizzard shad. ***Canadian*** Journal of Fish and Aquatic Scie. Vol. 57, pp: 1113-1119.

43. **Stevens, C.E. and Hume, I.D., 1995.** Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System. Press Syndicate of the University of Cambridge, Melbourne. 419 p.

44. **Tengjaroenkul, B.; Smith, B.; Caceci, T. and Smith, S.A., 2000.** Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, Oreochromis niloticus, Aquaculture. Vol. 18, No. 2, pp: 317-327.

45. **Worthington, C.C., 1991.** Worthington enzyme manual related biochemical. Edited by Frehold. 3rd Ed.New Jersey, USA. pp: 212-215.