

¹مديرة زراعة البصرة، وزارة الزراعة ² قسم الاسماك والثروة البحرية ، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق

الهضمية وتوجد في معظم أجزائها [11] . وتعد دراسة الإنزيمات الهاضمة خطوة أساسية باتجاه فهم آلية الهضم وكيفية تكيف الكائنات الحية لنفسها لمواجهة التغيرات الحاصلة في بيئتها التغذوية [31]. ويُعدّ إنزيم ألفا أميليز من أهم الإنزيمات الهاضمة للنشا في القناة الهضمية للأسماك، فقد لوحظ أنه قريب جدا من ناحية التركيب الجزيئي والخصائص الوظيفية من ذلك الموجود في الثدييات، إلا أنه

يعتبر إنزيم ألفا أميليز من مجموعة الانزيمات carbohydrases اي من الانزيمات المحللة للمواد الكربوهيدراتية، ويصنف ضمن مجموعة انزيمات التحلل Hydrolases . ووجود الإنزيمات الهاضمة في الفعريات الأعلى يكون مقصورا على مناطق محددة من القناة الهضمية، في حين في الأسماك تكون الانزيمات الأساسية اكثر انتشارا في القناة

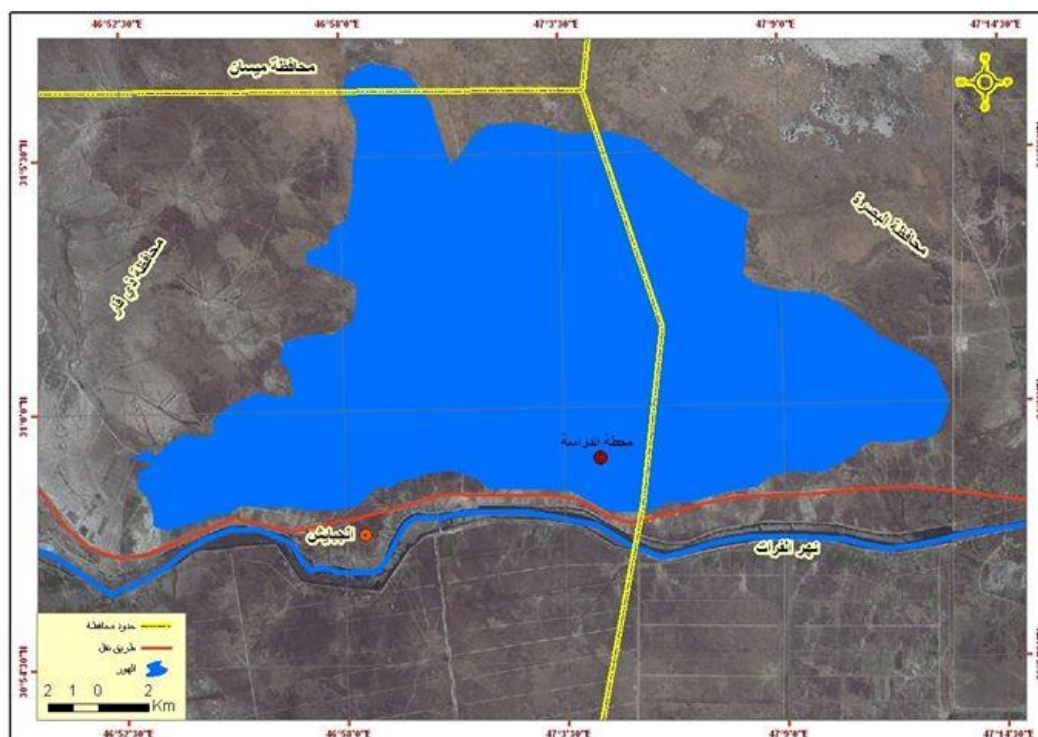
الهاضمة للكربوهيدرات والهاضمة للدهون بالقدر نفسه [4] .

وتهدف الدراسة الحالية الى تقدير نشاط إنزيم ألفا اميليز في مستخلص القناة الهضمية لثلاثة أنواع من الأسماك مختلفة في عاداتها الغذائية باستعمال (α -amylase kit)، في الجزء الجنوبي من هور الجبايش.

المواد وطرائق العمل

العمل الحقلي تقــــع منطقة جمع العينات بين خط طول " 00.9' 05' 47° شرقاً وخط عرض 30° 58' 24.4 شمالاً وتسمى هذه المنطقة محلياً أبو جولان وتبعد 7 كم شرق قضاء الجبايش كما موضح في الشكل (1)، وقد جمعت أسماك الشلك *Leuciscus vorax* وأسماك الخشني *Liza abu* وأسماك البلطي *Oreochromis aureus* من الجزء الجنوبي لهور الجبايش شهرياً للمدة من نيسان 2014 ولغاية كانون الثاني 2015 بوساطة شبك الصيد الخيشومية لـ gill net مختلفة الأحجام وجهاز الصيد بالكهرباء، وقد شرحت عينة من كل نوع واخذ جزء من المعدة، والحوصلة والجزء الرقيق من الأمعاء والثلاث الأول من الأمعاء لأسماك الشلك والخشني والبلطي على التوالي، وذلك لتقدير نشاط إنزيم ألفا اميليز للأنواع الثلاثة، وقد وضعت في انبوبة بلاستيكية محكمه حجم 10 مل ووضع في قنينة Tenir debout azote liquid تحتوي على نايتروجين سائل وحفظت داخل القنينة على درجة - 196م°، وذلك لإيقاف نشاط الأنزيم لحين وصولها إلى المختبر لإجراء تقدير النشاط الأنزيمي [10] .

وعلى النقيض من الثدييات التي تنتج الإنزيم في الخلايا اللعابية والبنكرياسية فإن المصدر الوحيد له فــــي الأسماك يبدو هو البنكرياس خارجي الإفراز Exocrine pancreas [23]، وقد أظهرت جميع أنواع الأسماك المدروسة لغاية الآن وجود للإنزيمات الهاضمة للكربوهيدرات في قناتها الهضمية، لكن هناك اختلافات بين الأنواع فــــي نشاط الإنزيمات المختلفة [25] [9] وتشير العديد من الدراسات الى تأثير عادات التغذية على نشاط انزيم ألفا اميليز في مستخلص القناة الهضمية، وجد ان نشاط الأنزيم في الاسماك نباتية ومختلطة التغذية اعلى منه في الأسماك لحمية التغذية [17] [14] [13] [18]، ويذكر العديد من الدراسات أن أسماك الكارب الشائع *Cyprinus Carpio* (Common carp) يتفوق على انواع اخرى من الأسماك مثل *Tilapia* (*Oreochromis mossambicus*) ، milk ، *Salmonids fish* (*Chanos chnoas*) (*Salmonidae*)، grass carp ، *Ctenopharyngodon idella* بأفرازة كميات عالية من إنزيم ألفا-إميليز [8]، [21، 30، 26، 22، 24] وقد أشارت دراســــة [2] زيادة نشاط أنزيم ألفا أميليز في مستخلص القناة الهضمية لإصبعيات الكارب الشائع مع زيادة مستوى النشا في العلائق . وبما أن البروتين هو المادة الأهم في غذاء الأسماك، لذلك فإن معظم الدراسات ركزت على وصف الإنزيمات الهاضمة للبروتين وتقييمها، في حين لم تدرس الإنزيمات الأخرى مثل الإنزيمات



شكل (1) خارطة تمثل موقع جمع العينات في الجزء الجنوبي من هور الجبايش.

العمل المختبري :

مستخلص القناة الهضمية للأسماك، وقد وضعت عينة مستخلص القناة الهضمية في حمام مائي على درجة حرارة 37 م° قبل إجراء عملية تقدير نشاط الإنزيم ، وقد أضيف 1مل من الكاشف إلى خلية Cavait وقد سحبت (25 مايكرومل) من العينة بوساطة Microsreng وقد اضيفت إلى الكاشف وتركت لمدة دقيقة قبل وضعها في جهاز المطياف Spectrophotometer، وقد تم تصفير الجهاز باستخدام الماء المقطر أولاً، وقد ثبت الجهاز على طول موجي 405nm ، ثم وضعت العينة والكاشف في الجهاز وتركوا لمدة دقيقة وسجلت القراءة الأولى، ثم تركوا لدقيقة ثانية وسجلت القراءة الثانية ثم تركوا لدقيقة ثالثة وسجلت القراءة الثالثة وبعد اخذ القراءات

تم تنظيف الأجزاء المختارة من القناة الهضمية للأنواع الثلاثة بوساطة محلول ملحي فسلجي تركيز 0.9غم/لتر ثم وزنت بميزان حساس، ووضعت في هاون خزفي وأضيف إليها محلول منظم (Trisbuffer, 50 Mm, pH 7.2) بنسبة 9 : 1 (حجم : وزن) وسحقت جيداً، ووضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 5500 دورة / دقيقة ولمدة 20 دقيقة ، وقد عزل الراشح وتم حفظه بالتبريد (الثلاجة) لحين إجراء تقدير نشاط إنزيم ألفا أميليز في اليوم نفسة [13]، وقد استعمل (Amylase Kit method E-PNPG7 نوع) R1 : 20×3 mL من شركة Biolabo reagents، فرنسية الصنع لتقدير نشاط إنزيم ألفا أميليز في

من الجهاز تم تسجيلها لإجراء الحسابات حسب المعادلة التالية :

$$IU/L = (\Delta Abs/min) \times 5140$$

Abs Δ = التغير في قراءات جهاز Spectrophotometer

يعبر عن نشاط إنزيم ألفا أميليز فـــــــي مستخلص القناة الهضمية للأسماك نسبة للوزن IU/g tissue [16] .

والشكل على التوالي كما يظهر في الشكل (3).

المناقشة

ترتبط الصعوبة الرئيسية في دراسة نشاط الإنزيمات الهاضمة في الأسماك بشكل أكبر بعملية جمع مستخلصات القناة الهضمية منه في طرائق التحليل والتي غالبا ما تستعمل الطرائق المتبعة مع الفقرات، فقد تتباين نتائج الدراسات حسب [1]،

من الجهاز تم تسجيلها لإجراء الحسابات حسب المعادلة التالية :

$$IU/L = (\Delta Abs/min) \times 5140$$

Abs Δ = التغير في قراءات جهاز

Spectrophotometer

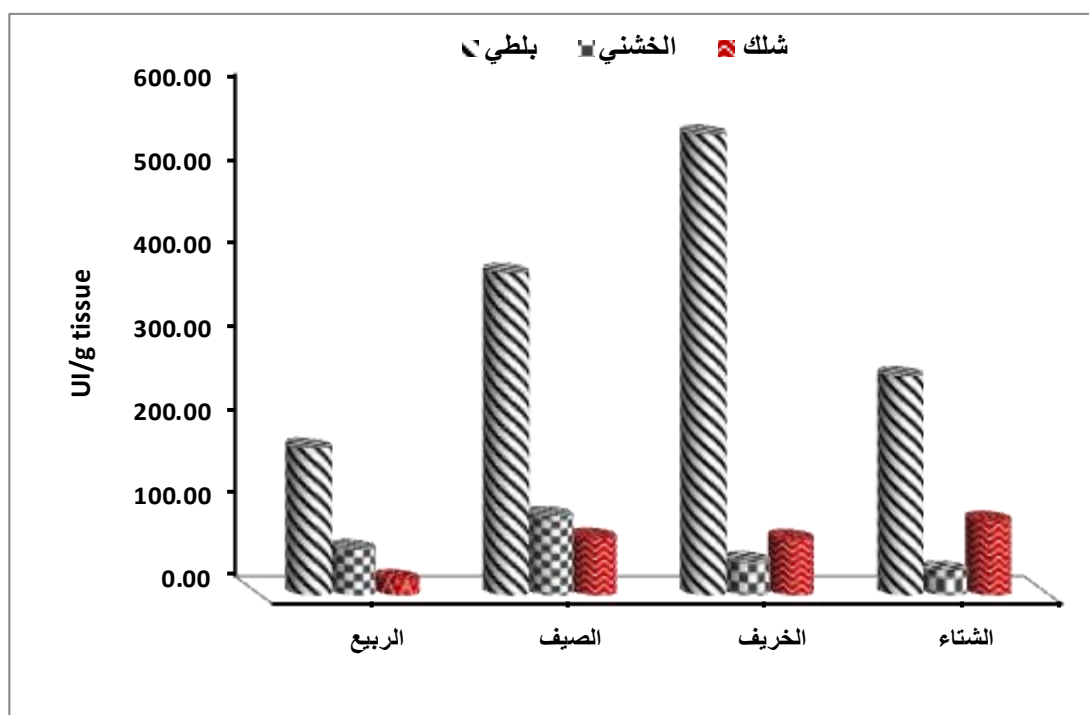
يعبر عن نشاط إنزيم ألفا أميليز فـــــــي مستخلص القناة الهضمية للأسماك نسبة للوزن IU/g tissue [16] .

النتائج

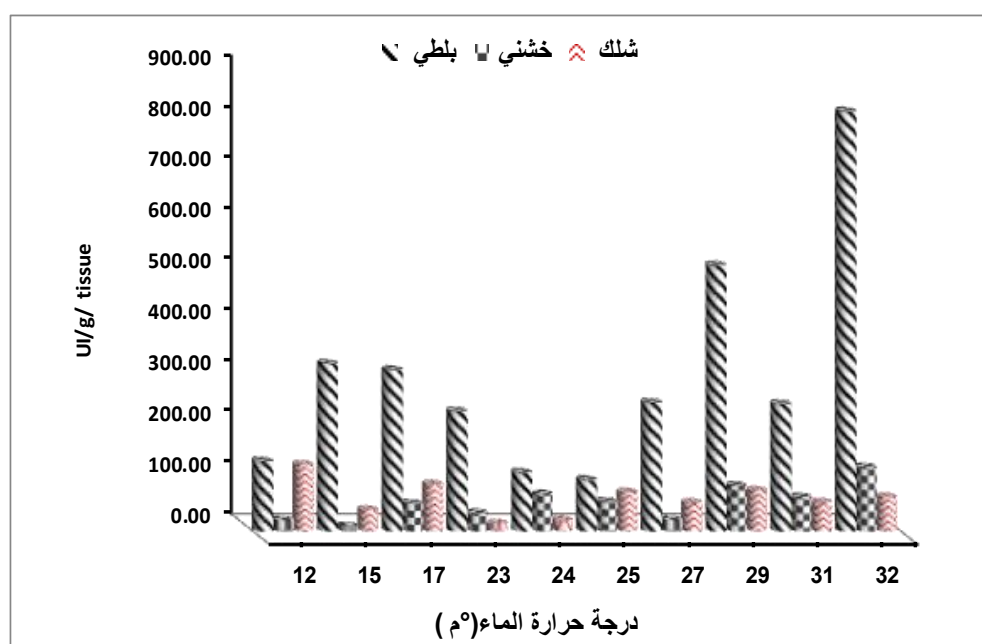
أشارت النتائج إلى أن قيم نشاط إنزيم ألفا أميليز في مستخلص القناة الهضمية تأثر بالعادات الغذائية للأنواع الثلاثة من الأسماك (البطي والخنثي والشك)، كما يظهر في الجدول (1) وشكل (2)، فقد تفوقت الأسماك ذات التغذية النباتية التي بلغ أعلى قيم لنشاط إنزيم ألفا أميليز فيها خلال موسم الخريف (550.65) وحدة دولية/غرام نسيج، وأدنى قيمة خلال موسم الربيع فبلغ (176.28) وحدة دولية/غرام نسيج، وبينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوي (p>0.05 ، siq =0.0017) بين سمكة البطي والخنثي، والبطي والشك (sig=0.0025)،

جدول (1): التغيرات الموسمية في نشاط إنزيم ألفا أميليز وحدة دولية/غم نسيج في مستخلص القناة الهضمية للأنواع الثلاثة من الأسماك.

الموسم	نوع الأسماك		
	الخنثي	الشبك	الشبك
الربيع	176.28 a	54.70 b	18.85 b
الصيف	385.22 a	94.32 b	68.38 b
الخريف	550.65 a	40.25 b	66.79 b
الشتاء	261.55 a	28.84 b	88.86 b



شكل (2): التغيرات الموسمية في نشاط إنزيم الفا اميليز للأنواع الثلاثة من الأسماك (البطي والخشني والشلك) خلال مدة الدراسة.



شكل (3): يوضح علاقة نشاط إنزيم الفا اميليز مع درجة حرارة الماء خلال مدة الدراسة.

باختلاف طرائق جمع مستخلص القناة الهضمية، فقد الطبقة المخاطية للقناة الهضمية [3]، ويقوم البعض يستعمل البعض القناة الهضمية كاملة مع الغدد المرتبطة بها في حين يقوم البعض الآخر بقشط وتنظيف القناة الهضمية قبل الاستخلاص أو يستعملها مع محتوياتها من الغذاء. فيتأثر نشاط

المستتعات شهيتها عندما تنخفض درجة الحرارة إلى 10°م ودرجة الحرارة المثلى لتغذية أسماك البلطي 24°م وتفقدها شهيتها عندما تنخفض درجة الحرارة إلى 13°م، وأن أعلى درجة حرارة يصلها الإنزيم وهو محتفظ بكامل الفعالية ولمدة من الزمن أي عدم حصول تغير في حالته الطبيعية تسمى درجة الحرارة المثلى لثبات الإنزيم.

وقد توفقت الدراسة مع نتائج دراسة [6] عند مقارنته اسماك ثلاثة أنواع من عائلة الشبوطيات في جنوب العراق فقد أظهرت النتائج تفوق الأسماك نباتية التغذية (البنّي) على الأسماك مختلطة التغذية (الكارب الشائع) ولحمية التغذية (الشك).

المصادر

- 1- التميمي، رياض عدنان (1998). تأثير نسبة البروتين إلى الطاقة في العلائق على نمو اصبعيات الكارب العادي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة. جامعة البصرة. 64 ص.
- 2- التميمي، رياض عدنان (2007). العلاقة بين نشاط أنزيم الفا اميليز ونوعية العلائق في الكارب الشائع *Cyprinus carpio* تحت الظروف المختبرية. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة. جامعة البصرة. 141 ص.
- 3- الديكل، عادل يعقوب (1996). دراسة تغذية وأيضية لصغار اسماك البني *Barbus sharpeyi* والكطان *B. xanthopterus* والكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* تحت الظروف المختبرية. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة البصرة. 119 ص.

الإنزيمات الهاضمة بشكل عام بمكونات الغذاء، والتأثير الأكبر في هذا المجال يعود إلى مستويات الكاربوهيدرات فيها [12]، وقد وجد أن نشاط إنزيم ألفا أميليز يزداد بارتفاع مستوى النشا بشكل خاص والكاربوهيدرات بشكل عام فـي العلائق [28] [27] [15] [5]. وهذا ما أظهرته الدراسة الحالية من تزايد في قيم نشاط لإنزيم ألفا أميليز فـي مستخلص القناة الهضمية للأسماك ذات التغذية النباتية البلطي (*Oreochromis ureaus*) لاحتوائه على نسبة عالية من الكاربوهيدرات، فقد تغير لون المواد المتفاعلة إلى الأصفر الفاتح خلال الدقيقة الثالثة من التفاعل وهذه النتيجة تدل على تكسير جزيئات النشا بوجود انزيم الفا اميليز وتحولها إلى جزيئات المالتوز بوجود الماء، أما في الأسماك مختلطة ولحمية التغذية (الخشني والشك) فقد استمر التفاعل حتى 10 دقائق وهذا ناتج من وجود كميات قليلة من إنزيم الفا اميليز في القناة الهضمية تبعاً لطبيعة التغذية المختلطة واللحمية لسمكتي الخشني والشك، تتوافق هذه النتائج مع ما أشارت إليه العديد من الدراسات من أن نشاط إنزيم الفا أميليز يرتفع في الأسماك نباتية ومختلطة التغذية مقارنة مع الأسماك لحمية التغذية [14] [13] [18] ودرجة حرارة ألماء من المتغيرات البيئية التي لها التأثير الرئيسي في التمثيل الغذائي للأسماك وذلك لأن درجة حرارة جسم السمكة في معظم الأسماك عند حالة السكون تكون قريبة من درجة حرارة البيئة، الارتفاع في درجة حرارة البيئة يؤدي إلى سرعة التفاعل في كل العمليات الفسيولوجية والبيوكيميائية داخل جسم الأسماك، وتفقدها أسماك

- carnivorous fishes inhabiting mudflats in andian sundarban estuaries. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 12: 265-27.
- 11-Chakrabarti, I.; Gani, M. A.; Chaki, K. K.; Sur, R. and Misra, K. K. (1995). Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation. Comp. Biochem. Physiol., 112: 167-177.
 - 12-De Almeida, L. C.; Lundstedt, L. M. and Moraes, G. (2006). Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. Aquacult. Nutr., 12: 443-450.
 - 13-Drewe, K. E.; Horn, M. H.; Dickson, K. A. and Gawlicka, A. (2004). Insectivore to frugivore: ontogenetic changes in gut morphology and digestive enzyme activity in the characid fish *Brycon guatemalensis* from Costa Rican rain forest streams. J. Fish Biol., 64: 890-902.
 - 14-Fernandez, I.; Moyano, F. J.; Diaz, M. and Martinez, T. (2001). Characterization of α -amylase activity in five species of Mediterranean spar fishes (Sparidae, Teleostei). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 262: 1-12.
 - 15-Fountoulaki, E., Alexis, M. N., Nengas, I. and Venou, B. (2005). Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream
 - 4-Alarcon, F. J.; Martinez, T. F.; Diaz, M. and Moyano, F. J. (2001). Characterization of digestive carbohydrase activity in the gilthead seabream (*Sparus aurata*). Hydrobiologia, 445: 199-204.
 - 5-Ali, M. Z. and Jauncey, K. (2004). Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio in African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). Aquacult. Int., 12: 169-180.
 - 6-AL-Tameemi, R.; Al-Dubaikal, A.; Salman, N.A. (2010). Comparative study of α -amylase activity in three Cyprinid species different feeding habits from southern Iraq. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 10: 1-2.
 - 7-Appleford, P. and Anderson, T. A. (1996). The effect of inclusion level and time on digestibility of starch for common carp (*Cyprinus carpio*, Cyprinidae). Asian Fish. Sci., 9: 121-126 .
 - 8-Bondi, A. and Spandorf, A. (1954). The action of the digestive enzyme of the carp. Br. J. Nutr. 8: 240-246.
 - 9-Chan, A. S.; Horn, M. H.; Dickson, K. A. and Gawlicka, A. (2004). Digestive enzyme activities in carnivores and herbivores: Comparisons among four closely related prickleback fishes (Teleostei: Stichaeidae) from a California rocky intertidal habitat. J. Fish Biol., 65: 848-858.
 - 10- Chaudhur, A.; Mukherjee, S. and Homechaudhuri, S. (2012). Diet and digestive enzymes activity in

- 21-Kitamikado, M. and Tachino, S. (1960). Studies on the digestive enzymes of rainbow trout. I. Carbohydrases. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 26: 679-684 .
- 22-Kminkova, M.; Moucha, Z. and Kucera, J. (1995). Extraction of digestive enzymes from viscera of carp. Potravinarske Vedy UZPI., 13(6): 419-425.
- 23-Krogdahl, A.; Hemre, G.-I. and Mommsen, T. P. (2005). Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarva stages. Aquacult. Nutr., 11: 103-12.
- 24-Kuz'mina, V.; Glatman, L.; Drabkin, V. and Gelman, A. (2003). Amylolytic activity in fish intestinal mucosa: Temperature eff. Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol., 134(3): 529-534. (Abs.).
- 25-Munilla-Moran, R. and Saborido-Rey, F. (1996). Digestive enzymes in marine species. II. Amylase activities in gut from seabream (*Sparus aurata*), turbot (*Scophthalmus maximus*) and redfish (*Sebastes mentella*). Comp. Biochem. Physiol., 113: 827-834.
- 26- Nevalyonny, A. N.; Zaistev, V. F.; Yegorov, S. N. and Korostelyov, S. (1991). digestive enzymes in carp (*Cuprinus carpio L.*) Ac Ichthyologica et Piscatoria., 21(1): 59-63.
- (*Sparus aurata*). Aquacult. Res., 36: 1-9.
- 16-German, D. B. Horn, M. H. Gawlicka, A. (2004). Digestive enzyme activities in herbivorous and carnivorous prickpleback fishes (Teleostei: Stichaeidae): Ontogenetic dietary, and phylogenetic effects. Physiological and Biochemical Zoology , 77(5): 789-804.
- 17-Hidalgo, M. C.; Urea, E. and Sanz, A. (1999). Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture, 170: 267-283.
- 18-Horn, M. H.; Gawlicka, A. K.; German, D. P.; Logothetis, E. A.; Cavanagh, J.W. and Boyle, K. S. (2006). Structure and function of the stomachless digestive system in three related species of New World silverside fishes (Atherinopsidae) representing herbivory, omnivory, and carnivory. Mar. Biol., 149: 1237-1245.
- 19-Kawai, S. and Ikeda, S. (1972). Studies on digestive enzymes of fishes. II. Effect of dietary change on the activities of digestive enzyme in carp intestine. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 38: 265-270.
- 20-Keshavanath, P.; Manjappa, K. and Gangadhara, B. (2002). Evaluation of carbohydrate rich diets through common carp culture in manured tanks. Aquacult. Nutr., 8: 169- 174 .

- Comparative studies on carbohydrate in of a carnivorus fish. In: Halver, J. E. and Tiews, K. (Eds.). Finfish nutrition and fish feed Technology. Vol. I, Heenemann, Berlin. Pp: 127-143.
- 31-Sunde, J.; Eiane, S. A.; Rustad, A.; Jensen, H. B.; Opstvedt, J.; Nygard, E.; Venturini, G. and Rungruangsak-Torrissen, K. (2004). Effect of fish feed processing conditions on digestive protease activities, free amino acid pools, feed conversion efficiency and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquacult. Nutr., 10: 261-277.
- 27-Peres A.; Cahu, C. L.; Zambonino-Infante, J. L.; Le Gall, M. M. and Quazuguel, P. (1996). Amylase and trypsin responses to intake of dietary carbohydrate and protein depend on the development stage in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Fish Physiol. Biochem., 15: 237-242.
- 28-Ribeiro, L.; Zambonino-Infante, J. L.; Cahu, C. and Dinis, M. T. (2002). Digestive enzymes profile of *Solea senegalensis* post larvae fed *Artemia* and compound diet . Fish Physiol. Biochem., 27: 61-69.
- 30-Shimeno, S; Hosokawa, H.; Hirata, H. and Takeda, M. (1977).

The Activity of α -Amylase Enzyme in the Gut Extract of Three Fish Species in the Southern Part of Chybaesh Marsh, Iraq

Osamah, A. Salih¹, Adel, Y. Al-Dubakel² and Jasim, M. Abed²

¹ Directory of Basrah Agriculture, Ministry of Agriculture, Iraq ²Department of Fisheries and Marine Resources, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah, Iraq

e-mail: Osamaal68@yahoo.com

Abstract: The study aim to estimation the activity of α -Amylase enzyme in the gut extract of three fish species with varying in their feeding habit i.e. Shilluk *Leuciscus vorax* (carnivores), blue tilapia *Oreochromis aureus* (herbivores) and Khushani *Liza abu* (omnivores) in the Southern part of Chybaesh Marsh, Iraq for the period from April (2014) to December in (2015). The fishes were collected by gill nets and electrical fishing apparatus. A sample, part from the gut of each species of fish were taken in the field and placed plastic tube (10)ml and then preserved in a container containing liquid nitrogen (-190C°). To estimating of the enzyme activity a kit was used (Amylase method E-PNPG7). The results showed superiority of herbivores fish, which reached the maximum activity of the enzyme in autumn (550.65 IU / g tissue) while the lowest value recorded in spring (176.28 IU / g tissue), the statistical analysis showed significant differences (sig= 0.0017, p>0.05) between tilapia and khushni, tilapia and shilluk (sig=0.0025, p<0.05) ,while not recorded significant differences (sig= 0.0887, p>0.05) between the shilluk and the Khushni, whereas recorded between the omnivores and carnivores, also positive significant correlation was found between enzyme activity in Khushani and water temperature (r = 0.717) but thereis not significant differences (r = 0.467, r = -0.337) between temperature of Shilluk and tilapia respectively.

Key words: α -Amylase enzyme, Shilluk, Tilapia , Khushani, Chybaesh Marsh.