



اثر محدودیت غذایی بر فعالیت آنزیم لیپاز در کرم ابریشم دورگه تجارتي

داوود آزیده‌هاک^{۱*}، سید حسین حسینی مقدم^۲، عباسعلی قیصری^۱ محمد قدمیاری^۳

^۱گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان) *نویسنده مسئول : داوود آزیده‌هاک

Davoud_azi@yahoo.com ،

^۲گروه علوم دامی و گروه پژوهشی کرم ابریشم، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

^۳گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان -

چکیده

تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثر محدودیت غذایی در سنین مختلف لاروی بر عملکرد و فعالیت آنزیم لیپاز در کرم ابریشم دورگه تجارتي تغذیه شده با برگ‌های توت رقم کوکوزه استان اصفهان در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل پنج تیمار و ۳ تکرار و ۱۱۰ عدد لارو کرم ابریشم در هر تکرار انجام شد. چهار گروه محدودیت غذایی شامل: گروه محدودیت به میزان یک سوم مقدار استاندارد و شروع از سن ۴، گروه محدودیت به میزان دو سوم مقدار استاندارد و شروع از سن ۴، گروه محدودیت به میزان یک سوم مقدار استاندارد و شروع از سن ۵ و گروه محدودیت به میزان دو سوم مقدار استاندارد و شروع از سن ۵ و گروه شاهد که تغذیه بدون محدودیت و برابر با مقدار توصیه شده توسط جداول استاندارد غذایی بود. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی آنزیم لیپاز در سن پنجم روز ۴ تعداد ۱۰ عدد لارو از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب شدند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد در دو گروه شروع محدودیت از سن ۴، محدودیت غذایی باعث افزایش فعالیت آنزیم لیپاز شد. در نهایت فعالیت آنزیم لیپاز در تمام گروه‌های محدودیت غذایی نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$).

واژگان کلیدی: فعالیت آنزیم گوارشی لیپاز، کرم ابریشم، محدودیت غذایی

مقدمه

در سال های اخیر تحقیقات گسترده ای در موضوعات مختلف به ویژه اصلاح نژاد کرم ابریشم انجام گرفته است اما در مباحث تغذیه ای و فیزیولوژی گزارش های علمی بسیار کمی وجود داشته و نیاز به بررسی های فراگیر دارد که از جمله بررسی عملکرد تغذیه ای کرم ابریشم در استان های مختلف کشور می باشد. از سوی دیگر تحقیقات نشان داده است بعضی از آنزیم های گوارشی حشرات به عنوان نشانگرهای مناسب بیوشیمیایی می توانند مورد استفاده قرار گیرند تا تغییر شرایط بیولوژیک را نشان دهند برای مثال، محققین افزایش فعالیت برخی از آنزیم ها را در کرم ابریشم تاسار پرورش داده شده در فضای مسقف نسبت به فضای آزاد نشان دادند (شیوا کومار و شامیتا، ۲۰۱۱). در این تحقیق اثر محدودیت غذایی بر میزان فعالیت آنزیم لیپاز در دستگاه گوارش کرم ابریشم دورگه تجارتي مورد ارزیابی قرار می گیرد.

مواد و روش ها

برای بررسی تأثیر تغذیه از برگ توت رقم کوکوزه بر روی آنزیم های گوارشی و سایر صفات تغذیه ای و عملکردی کرم ابریشم، از هیبرید ۱۰۳×۱۰۴ استفاده شد. لاروها با استفاده از برگ توت رقم کوکوزه مطابق با روش های معمول پرورش داده شدند. در این تحقیق ۵ تیمار مورد بررسی قرار گرفتند که شامل: گروه اول: یک سوم مقدار غذای استاندارد با شروع محدودیت از سن چهارم



لاروی. گروه دوم: دو سوم مقدار غذای استاندارد با شروع محدودیت از سن چهارم لاروی. گروه سوم: تیمار شاهد که مقدار غذای استاندارد را مصرف کرد. گروه چهارم: یک سوم مقدار غذای استاندارد با شروع محدودیت از سن پنجم لاروی، گروه پنجم: دو سوم مقدار غذای استاندارد با شروع محدودیت از سن پنجم لاروی. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم لیپاز پس از جداسازی روده میانی لاروها در ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر به هر ایندورف که محتوی ۲ لوله گوارش بود اضافه کرده و به صورت دستی هموژنایز شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳ هزار دور و دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. ۱۰ میکرولیتر از مایع رویی سانتریفیوژ شده در پلیت الایزا ریخته و ۱۸ میکرولیتر سوبسترای P- نیتروفل استات و ۱۷۲ میکرولیتر بافر تریس با $\text{PH}=7$ در چاهک های پلیت الایزا مخلوط نموده و در انتها به آن ۱۰۰ میکرولیتر NaOH اضافه کرده و جذب محصول تولید شده به مدت ۵ دقیقه با فاصله زمانی ۴۵ ثانیه در طول موج ۴۰۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر الایزا ریدر خوانده شد. پس از ۶ بار دوره که اعداد دیگر تقریباً ثابت شده و تغییر چندان دیگری نکردند، نمودار مربوطه رسم شد. سوبسترای نهایی این آزمایش P- نیتروفل استات بود که این ترکیب در واکنش با NaOH رنگ زرد کم رنگ تولید می کند. جذب نوری هر تیمار روی منحنی استاندارد ثبت شده و سپس به کمک منحنی استاندارد P- نیتروفل میزان فعالیت آنزیم لیپاز اندازه گیری شد. همانند سایر آنزیم ها میزان پروتئین آنزیم پروتئاز در نمونه ها نیز اندازه گیری شد تا در اعلام نهایی فعالیت لیپاز در محاسبات مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج و بحث

جذب نوری آنزیم لیپاز پس از هر ۴۵ ثانیه در جدول زیر نشان می دهد بیشترین فعالیت آنزیمی در نقطه آغازین را تیمارهای سن ۵ (یعنی تیمارهای یک سوم مقدار استاندارد، شروع محدودیت از سن ۵ و دو سوم مقدار استاندارد شروع محدودیت از سن ۵) دارا می باشند ولی طی روند فعالیت آنزیمی طی دقایق متوالی بیشترین فعالیت آنزیمی را پس از آن تیمارهای شروع محدودیت از سن ۴ دارا بودند. تیمار شاهد در این میان، کمترین فعالیت آنزیمی را دارا بود ($P<0/05$).

جذب نوری آنزیم لیپاز پس از هر ۴۵ ثانیه با میانگین های دو تکرار (نانومتر) و میانگین فعالیت لیپاز (میکرومول بر دقیقه بر

میلی گرم پروتئین)

تیمار	زمان آغاز	۴۵ ثانیه بعد	۹۰ ثانیه بعد	۱۳۵ ثانیه بعد	۱۸۰ ثانیه بعد	۲۲۵ ثانیه بعد	میانگین کل
							فعالیت بعد از محاسبات
شاهد	۰/۵۵۱	۰/۷۴۸	۰/۹۵۰	۱/۱۲۹	۱/۳۰۱	۱/۵۳۱	^e ۲۳
۱/۳ استاندارد از سن ۴	۱/۶۵۱	۱/۸۸۲	۲/۰۵۳	۲/۲۶۰	۲/۴۱۷	۲/۶۳۵	^d ۳۶/۸
۲/۳ استاندارد از سن ۴	۰/۷۴۲	۱/۰۹۷	۱/۳۵۰	۱/۵۵۴	۱/۷۵۱	۱/۹۲۶	^c ۴۷/۱
۱/۳ استاندارد از سن ۵	۱/۷۹۹	۲/۰۷۲	۲/۳۰۴	۲/۵۰۱	۲/۶۵۸	۲/۸۵۵	^b ۵۵/۱
۲/۳ استاندارد از سن ۵	۰/۷۱۸	۱/۰۳۲	۱/۳۰۱	۱/۵۱۶	۱/۶۸۴	۱/۸۴۵	^a ۶۵/۵۵
بلانک	۰/۳۰۵	۰/۳۶۰	۰/۳۸۷	۰/۳۸۹	۰/۴۰۰	۰/۴۰۲	

a-e: در ستون میانگین تکرارها میانگین هایی با حروف متفاوت اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند ($P<0/05$).



بر اساس نتایج به دست آمده میزان فعالیت آنزیمی تمامی این تیمارها در نمودار مربوط به آنها مشخص شده است. شیب تمامی این نمودارها نیز اندازه گیری شده که این شیب مبین میزان فعالیت آنزیمی می باشد بنابراین بالاترین شیب نمودار مربوط به آنزیم لیپاز طی دقایق متوالی مربوط به تیمار دو سوم مقدار استاندارد شروع محدودیت از سن ۴ و کمترین شیب مربوط به تیمار دو سوم مقدار استاندارد از سن ۵ برای این آنزیم می باشد. ضریب R^2 که در تمامی این نمودارها محاسبه شده است بیانگر ضریب اطمینان در رسم این نمودارها بر اساس دقت بالای آن می باشد که تمامی آنها دقت بالای ۹۸ درصد را نشان می دهند. اعتباری و متین دوست (۲۰۰۴) نشان دادند که گرسنگی می تواند باعث کاهش بسیاری از ترکیبات شیمیایی همولف مانند گلوکز شود.

نتایج این تحقیق در جدول فوق نشان می دهد که بیشترین فعالیت آنزیمی را تیمارهای شروع محدودیت از سن ۵ دارا می باشند و سپس تیمارهایی با شروع سن چهارم قرار دارند. در این میان مقایسه محدودیت شدید با محدودیت ملایم نشان می دهد که در تیمارهای با محدودیت شدید فعالیت لیپاز کمتر بوده است و با نزدیک شدن تغذیه به مقدار استاندارد میزان فعالیت لیپاز بیشتر شده است و به طور کلی محدودیت غذایی چه جزئی و چه شدید باعث افزایش معنی دار فعالیت این آنزیم می شود. این موضوع نشان می دهد که احتمالاً هضم چربی ها در حالت محدودیت غذایی برای این حشره بیشتر از قندها اهمیت داشته و در اولویت قرار دارد.

منابع

- حسینی مقدم س ح ، میرحسینی س ض، غنی پور م، صیداوی ع، بیژن نیا ع. ۱۳۸۷. تأثیر سال ، فصل و سطح تغذیه بر عملکرد هیبریدهای کرم ابریشم. مجله پژوهشی دانشگاه اصفهان (علوم پایه). شماره ۲. جلد ۳۱. ص ۷۵-۹۰.
- حسینی مقدم س ح ، میرحسینی س ض، غنی پور م، صیداوی ع. ۱۳۹۰. بررسی برخی از شاخص های تغذیه ای هیبریدهای تجارتمی کرم ابریشم در پنج سن لاروی. نشریه پژوهش های علوم دامی ایران، شماره ۳. جلد ۳. ص ۳۱۱-۳۱۸.
- Etebari K, Ebadi R, Matindoost L. 2004. Effect of feeding mulberry's enriched leaves with ascorbic acid on some biological, biochemical and economical characteristics of silkworm *Bombyx mori* L. International Journal of Industrial Entomology, 8 (1): 81-87.
- Shiva Kumar G, Shamitha G. 2011. Comparative studies of amylase activity in the outdoor and total indoor reared Tasar silkworm, *Antheraea Mylitta* Drury (Daba TV). Asian Journal of Experiment Biological Science, 2 (2):1-14.