اثرات جایگزینی پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی جو بر تغییرات آنزیم‌های گوارشی و کبدی در بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

امینه زارع‌تبار[1]، حسین اورجی*[1]، سکینه یگانه[1]، عبدالصمد کرامت[1]

*Hoseinoraji@yahoo.com

۱- گروه شیلات، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۸

چکیده

اثرات جایگزینی پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی جو بر تغییرات آنزیم های گوارشی و کبدی در جیره غذایی بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) با وزن اولیه ۱/۱±۱۶/۵۳ گرم، طی یک پژوهش ۸ هفته‌ای و در قالب یک طرح کاملا تصادفی با ۵ تیمار، هر یک با ۳ تکرار بررسی گردید. جیره شاهد (فاقد کنسانتره پروتئینی جو) و ۴ جیره حاوی سطوح (۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ درصد) کنسانتره پروتئینی جو بودند. در پایان دوره آزمایش، میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)، آنزیم آسپارتات (AST) و آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) سرم تیمارهای آزمایشی مختلف، تفاوت معنی‌داری را به لحاظ آماری نشان دادند ($p<۰/۰۵$)، اما در میزان لاکتات‌دهیدروژناز (LDH) بین تیمارهای آزمایشی مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی تا سطح ۷۵ درصد جایگزینی، فعالیت آنزیم پپسین با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). فعالیت کیموتریپسین و آمینو پپتیداز در بین تیمارهای آزمایشی مختلف تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$). در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی تا سطح ۵۰ درصد جایگزینی میزان فعالیت آنزیم تریپسین و آلکالین فسفاتاز نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p>۰/۰۵$). فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز نیز تفاوت معناداری را به لحاظ آماری در بین تیمارهای آزمایشی با سطوح مختلف کنسانتره پروتئینی جو نشان دادند ($p<۰/۰۵$). آنزیم‌های گوارشی در سطوح بالای جایگزینی کاهش یافت. ولی در سطوح متوسط جایگزینی اثرات کمتری در آنزیم‌های پانکراسی مشاهده شد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان اذعان نمود، که کنسانتره پروتئینی جو تا سطح ۵۰ درصد جیره برای ماهی آزاد دریای خزر قابل تحمل است. اما وقتی که از این حد بالاتر رود، احتمالاً با افزایش مقدار مواد ضد تغذیه‌ای و به دنبال آن کاهش جذب مواد مغذی، کاهش مقبولیت و پذیرش غذا و اثرات نامطلوب را بر رشد بدنبال خواهد داشت.

لغات کلیدی: ماهی آزاد دریای خزر، کنسانتره پروتئینی جو، آنزیم‌های گوارشی، آنزیم‌های کبدی

*نویسنده مسئول

مقدمه

آبزی‌پروری نقش بسیار مهمی در تامین غذای بشر و کاهش فقر جهانی ایفاء می‌کند (Tacon and Metian, 2008). گرچه تولید پودر ماهی بتدریج روند کاهشی را طی نموده است اما سهم آن در آبزی‌پروری افزایش یافته و این موضوع باعث گردیده است تا مطالعات اخیر به دلیل مشکلات استفاده از پودر ماهی، بر منابع جایگزینی برای پودر ماهی متمرکز گردد (Bilgüven and Baris, 2011) و گنجاندن منابع پروتئینی گیاهی در غذای آبزیان در حال گسترش است (Glencross *et al*, 2005; Gatlin *et al*, 2007). استفاده از مواد گیاهی غنی از پروتئین، می‌تواند باعث کاهش وابستگی به پودر ماهی شود و در نتیجه موجب کاهش قیمت خوراک نیز می‌گردد (Aragao *et al*., 2003). به طور کلی، منابع پروتئین گیاهی ارزان قیمت و در دسترس‌اند (Palmegiano *et al*., 2006) که با توجه به خصوصیات، هر یک از آنها می‌توانند با نسبت‌های متفاوت در ترکیب جیره غذایی استفاده شوند. از جمله مهم‌ترین منابع پروتئین‌های گیاهی می‌توان به کنجاله سویا، کنجاله پنبه‌دانه، کنجاله بذرک، کنجاله کلزا، گلرنگ، کنجاله کنجد، دانه باقلا و همچنین دانه جو اشاره کرد (Gatlin *et al*., 2007). جهت جایگزینی با پودر ماهی می‌توان علاوه بر کنجاله‌های گیاهی، از کنسانتره‌های پروتئین گیاهی استفاده کرد. کنسانتره پروتئین گیاهی دارای مقادیر پروتئین بالا (برای مثال، حداقل ۶۵ درصد در مورد کنسانتره سویا) و ترکیب آمینواسید مشابه پودر ماهی می‌باشد (Bowyer *et al*., 2013). از کنسانتره پروتئینی جو تولیدی به روش آنزیمی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Morken *et al*., 2011) و ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) (Bell *et al*, 2014; Burr *et al*, 2013) استفاده شده و نتایج خوبی حاصل شده است.

جو (*Hordeum vulgre* L.) یکی از نخستین غله‌های جهان بشمار می‌رود (Hosseini, 2011). اهمیت این دانه به دلیل کاربرد در تغذیه دام، استفاده به عنوان ماده قابل تخمیر در صنایع آبجوسازی و در رژیم غذایی روزانه انسان می‌باشد (Galtin *et al*., 2007). هر صد گرم دانه جو حاوی، آب ۱۱/۱، پروتئین ۸/۲، چربی ۱، کربوهیدرات ۷۸/۸ و خاکستر ۰/۹ گرم است (Hosseini, 2011). آزادماهیان از با ارزش‌ترین گونه‌های آبزی هستند. ماهی آزاد دریای خزر به دلیل گوشت خوشمزه و لذیذ دارای ارزش تجاری بالایی می‌باشد. این گونه جزء گونه‌های شاخص و منحصربفرد دریای خزر بشمار می‌رود که به دلیل صید بی‌رویه، تخریب زیستگاه‌ها و مناطق تخم‌ریزی در معرض خطر قرار دارد و بقاء نسل این گونه آبزی به خطر افتاده است (Naderi *et al*., 2004). مسائل مرتبط با تغذیه از جمله یافتن منابع پروتئینی جدید، برای دستیابی به جیره‌غذایی مناسب این ماهی، می‌تواند برای موفقیت در پرورش این گونه موثر باشد (Saber *et al*., 2005). کبد دارای عملکرد بیوشیمیایی بسیاری نظیر متابولیسم مواد غذایی و تولید اسیدهای صفراوی می‌باشد و نقش مهمی در عملکرد سیستم ایمنی دارد (Hall, 2010). تمامی این عملکردها در کبد توسط آنزیم‌ها صورت می‌گیرد. آنزیم‌های، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، فسفاتاز قلیایی (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) آنزیم‌های مهم موجود در کبد هستند که در زمان بروز امراض در خون ماهی رها می‌شوند. افزایش فعالیت این آنزیم‌های سرمی در پاسخ به عوامل خارجی، به عنوان یکی از شاخص های اختلال در عملکرد کبدی، در نظر گرفته می شود (Rehulka, 2000; Shi *et al*., 2006). یکی از مهمترین مباحث در امر تغذیه، توجه به ویژگی‌های فیزیولوژیک و آگاهی از سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی است که توجه به نقش آنها در امر تغذیه می‌تواند در فرمولاسیون جیره مفید باشد (Ragyanski, 1980). هضم و جذب مواد مغذی به طور مستقیم وابسته به فعالیت آنزیم‌های هضمی، بخصوص آنزیم‌های پروتئازی (در رابطه با پروتئین) می‌باشند. بیشتر منابع جایگزین پودر ماهی، منابع گیاهی می‌باشند که استفاده از آنها بدلیل دارا بودن مقادیر بالای کربوهیدرات بر فیزیولوژی هضم در دستگاه گوارش اثرگذار است و قابلیت هضم و مصرف مواد مغذی را کاهش می‌دهد (Deguara *et al*., 2003). اثرات پودر گیاهی جایگزین بر رشد و کارایی تبدیل غذایی و بویژه تاثیر کنسانتره‌های پروتئینی گیاهی بر شاخص‌های بیوشیمیایی از قبیل تغییرات در فعالیت آنزیم گوارشی توسط Krogdahl و همکاران (۲۰۰۳) مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج مطالعات صورت‌گرفته بر ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (Krogdahl *et al*., 2003) و ماهی کادآتلانتیک (*Gadus morhua*) (Lemieux *et al*., 1999) و ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) (Krogdahl *et al*., 2003) نشان دادند که اجزاء غذایی بر عملکرد متابولیک (بخصوص ترشح آنزیم) و نرخ رشد و

کارایی تبدیل غذا تاثیرگذارند. با توجه به اینکه، در ارتباط با استفاده از کنسانتره پروتئینی جو تهیه شده به روش شیمیایی در آبزی‌پروری مطالعه‌ای انجام نشده است و یافتن جایگزینی با کارایی مناسب برای پودر ماهی دارای اهمیت می باشد، لذا در این پژوهش، کنسانتره پروتئینی جو به روش شیمیایی تهیه شد و تاثیر سطوح مختلف جایگزینی با پودر ماهی بر تغییرات آنزیم های گوارشی و کبدی بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

محل انجام آزمایش و نحوه پرورش

تحقیق حاضر در سالن ونیرو دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری صورت گرفت. تعداد ۳۰۰ بچه ماهی آزاد دریای خزر از مرکز پرورش ماهی آزاد واقع در تنکابن خریداری شدند. پس از طی مرحله سازگاری (۱۰ روز)، ماهیانی که از لحاظ وزن و طول تقریبی در یک اندازه بودند، به طور تصادفی انتخاب و در ۱۵ مخزن فایبرگلاس (هر مخزن حاوی ۲۰ قطعه ماهی با متوسط وزن اولیه ۱/۱±۱۶/۵۳ گرم (میانگین±انحراف معیار) توزیع گردیدند و به مدت ۸ هفته با جیره‌های غذایی ساخته شده، تغذیه شدند. براساس رفتار تغذیه‌ای بچه‌ماهیان، غذادهی در حد سیری در ۳ نوبت انجام شد.

تهیه کنستانتره پروتئینی جو و آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی

برای تهیه کنسانتره پروتئینی، دانه جو (پوست‌کنده) از فروشگاه دام و طیور خریداری و آرد شد. کنسانتره پروتئینی با روش قلیایی تهیه گردید (Wu *et al*., 1979). در این روش آرد جو با آب دیونیزه با نسبت ۱:۱۰ مخلوط گردید و با استفاده از سود (۰/۰۶ mol/L)، pH مخلوط به۱۱/۲ رسانیده شد و به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اتاق هم زده شد. سپس مخلوط حاصل با سانتریفوژ دور ۳۰۰۰× g به مدت ۱۵ دقیقه تخلیص گردید و محلول رویی، جدا شد و pH آن، با اسید کلریدریک ۶ مولار به ۵/۴ رسانیده شد و با سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰×g به مدت ۱۵ دقیقه رسوب پروتئین، جداسازی و با آب مقطر دیونیزه شسته شد. سپس pH آن با استفاده از سود (۰/۰۶ mol/l) به ۷ رسانده شد. بعد از طی مراحل فوق، نمونه‌ها در فریز دراير قرار گرفت و محصول نهایی به عنوان کنسانتره پروتئینی جو در جیره غذایی استفاده گردید.

پس از آنالیز مواد اولیه از قبیل پودر ماهی (۷۱/۴ درصد پروتئین)، کنسانتره پروتئینی جو (۷۰/۱ درصد پروتئین) و آرد گندم (۱۱ درصد پروتئین)، ۵ جیره غذایی شامل جیره شاهد (فاقد کنسانتره پروتئینی جو) و ۴ جیره حاوی سطوح (۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ درصد) کنسانتره پروتئینی جو ساخته شدند؛ بسته‌بندی گردیدند و تا زمان مصرف در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنجش آنزیم های کبدی

در پایان دوره پرورشی از هر تیمار تعداد ۳ بچه ماهی به طور تصادفی جهت خون‌گیری انتخاب شدند. ابتدا ماهیان توسط پودر گل میخک (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش و خونگیری از قسمت انتهایی باله مخرجی ماهیان به وسیله‌ی سرنگ، انجام گرفت. نمونه‌های سرم جداسازی‌شده تا زمان انجام آزمایش‌های سرمی در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی ساخت شرکت پارس آزمون، آنزیم آلکالین‌فسفاتاز (ALP) و لاکتات‌دهیدروژناز (LDH)، آنزیم آسپارتات (AST) و آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) سرم، با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر بررسی گردید (Peyghan and Takamy, 2002).

سنجش آنزیم‌های گوارشی

نمونه برداری از ماهیان در انتهای دوره بعد از ۲۴ ساعت قطع غذا انجام گرفت. در زمان نمونه برداری، از هر تیمار ۵ عدد ماهی برداشته و با آب مقطر شستشو داده شد. سپس ماهیان بیهوش و روی یخ قرار داده شدند. دستگاه گوارش به کمک ابزار جراحی برداشته شد و با سرم فیزیولوژی شسستشو داده شد. بعد از اتمام نمونه برداری دستگاه گوارش به فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد منتقل گردید. پروتئین محلول نمونه‌های هموژن شده دستگاه گوارش توسط دستگاه اسپکتوفتومتری و با روش Bradford (۱۹۷۶)، سنجیده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از آلبومین سرم گاوی (BSA) استفاده گردید. برای تعیین فعالیت آنزیم پپسین از سوبسترای هموگلوبین و با روش Worthington (۱۹۹۱)، آنزیم تریپسین از Benzoyl –DL-arginin-p-nitroanilide به عنوان سوبسترا و کیموتریپسین از سوبسترا Succinyl-

(Ala)2 –Pro –phe-p-nitroanilide به روش Erlanger (۱۹۶۱)، آنزیم آلفا-آمیلاز از سوبسترای نشاسته با روش Bernfeld (۱۹۵۱)، آنزیم لیپاز با استفاده از هیدرولیز p-nitrophenyl myristate به عنوان سوبسترا به روش Iijiama و همکاران (۱۹۹۸) آنزیم آلکالین فسفاتاز با استفاده از سوبسترا ۴-نیترو فنیل فسفات (PNPP) به روش Bessey و همکاران (۱۹۴۶) و آنزیم آمینوپپتیداز با سوبسترای L-leucine p-nitroanilide مطابق با روش Maroux و همکاران (۱۹۷۳) استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با توجه به نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس، با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One–Way ANOVA) انجام شد. برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین همراه با انحراف معیار گزارش شده و ارزیابی‌ها در ۳ تکرار صورت گرفت. از نرم افزار SPSS (21) برای آنالیز داده‌ها استفاده شد.

نتایج

مابین فعالیت آنزیم‌های ALP، AST و ALT اندازه‌گیری شده در تیمارهای آزمایشی، در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (p<۰/۰۵) (جدول۱). با افزایش سطوح جایگزینی کنسانتره پروتئینی جو، میزان ALP و AST کاهش یافت، همچنین کمترین میزان AST و ALT در تیمار ۵۰ درصد جایگزینی مشاهده شد (p<۰/۰۵). میزان LDH در بین تیمارهای مختلف تغذیه شده با کنسانتره پروتئینی جو و تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

جدول ۱: مقایسه میانگین شاخص‌های آنزیم‌های کبدی ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با سطوح مختلف کنسانتره پروتئینی جو

Table 1: Comparison of mean liver enzymes indices of Caspian salmon fed with different levels of barley protein concentrate.

شاخص	شاخص				
	شاهد	تیمار ۱ (۲۵ درصد)	تیمار۲ (۵۰ درصد)	تیمار ۳ (۷۵ درصد)	تیمار ۴ (۱۰۰درصد)
ALP (u/l)	۴۵۹/۵ ±۲/۱۲^{a}	۴۳۹/۵ ±۲۱/۹۲^{ab}	۳۷۶ ±۵۲/۳۲^{ab}	۳۳۶/۵ ±۴۵/۹۶^{b}	۳۲۹/۲ ±۲۵/۱۶^{b}
AST (u/l)	۳۷۵/۵ ±۳۰/۴۰^{a}	۲۸۶/۵ ±۱۴/۸۴^{ab}	۲۵۰ ±۵۵/۱۵^{b}	۳۰۷/۵ ±۵۳/۰۳^{ab}	۲۹۹/۶ ±۳۷/۱^{ab}
(u/l) ALT	۷/۲۱ ±۱/۴۱^{a}	۵/۵ ±۰/۷۰^{b}	۵ ±۰/۹۹^{b}	۸/۳ ±۱/۸۱^{a}	۷/۵ ±۱/۶۳^{a}
(u/l) LDH	۱۵۴۶/۵ ±۱۰۴/۷۶	۱۵۵۹ ±۱۳۵/۷۶	۱۵۰۸ ±۱۱۸/۷۹	۱۵۰۹/۵ ±۲۲۶/۹۸	۱۵۱۱/۹ ±۲۰۱/۶۴

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف از میانگین بیان شده‌اند. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست (p<۰/۰۵).

نتایج حاصل از مقایسه فعالیت آنزیم‌های گوارش در ماهیان تغذیه شده با تیمارهای مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. آنزیم پپسین اندازه‌گیری شده در تیمارهای تغذیه شده با جایگزینی پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی جو، تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد بجز تیمار۱۰۰ درصد جایگزینی نشان ندادند (p>۰/۰۵). با افزایش جایگزینی از فعالیت این آنزیم نسبت به تیمار شاهد کاسته شد. اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین در تیمارهای مختلف که با سطوح کنسانتره پروتئینی جو تغذیه شدند، نشان داد که بین فعالیت این آنزیم‌ها تفاوت معنی دار وجود داشت (p<۰/۰۵). همچنین در ماهیان تغذیه شده با سطوح بالای جایگزینی، میزان فعالیت این آنزیم ها نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. فعالیت آنزیم‌های نوار مسواکی روده در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد (p<۰/۰۵). فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در نواحی روده تا سطح ۵۰ درصد جایگزینی پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی جو تاثیر معنی‌داری را بر فعالیت این آنزیم نداشته ولیکن با افزایش جایگزینی در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ درصد فعالیت آنزیم فوق به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافته است. همچنین فعالیت آنزیم آمینوپپتیداز روده با افزایش

جایگزینی کاهش معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند (p<۰/۰۵). فعالیت آنزیم آمیلاز در تیمارهای جایگزینی پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی جو تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد (p<۰/۰۵) که با افزایش سطوح جایگزینی میزان فعالیت آمیلاز افزایش یافت. فعالیت آنزیم لیپاز اندازه‌گیری شده در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ درصد جایگزینی کنسانتره پروتئینی جو تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد (p<۰/۰۵). با افزایش جایگزینی در سطح ۱۰۰ درصد، از فعالیت این آنزیم به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاسته شد (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با سطوح مختلف کنسانتره پروتئینی جو

Table 2: Comparison of mean activity of digestive enzymes in salmon fed different levels of barley protein concentrate.

آنزیم‌های گوارشی (u/mg protein)	تیمار				
	شاهد	تیمار ۱ (۲۵ درصد)	تیمار۲ (۵۰ درصد)	تیمار ۳ (۷۵ درصد)	تیمار ۴ (۱۰۰درصد)
پپسین	۰/۶۴±۰/۰۳^{a}	۰/۶۳ ±۰/۰۱^{a}	۰/۶۲ ±۰/۰۲^{a}	۰/۶۱ ±۰/۰۳^{a}	۰/۳۸ ±۰/۰۴^{c}
تریپسین	۱/۶۱±۰/۰۱^{a}	۱/۵۴ ±۰/۰۱^{b}	۱/۵۹ ±۰/۰۱^{a}	۰/۶۱ ±۰/۰۲^{b}	۰/۶۲ ±۰/۰۱^{b}
کیمو تریپسین	۰/۳۳±۰/۰۲^{a}	۰/۲۲ ±۰/۰۱^{b}	۰/۲۳ ±۰/۰۲^{b}	۰/۲۴ ±۰/۰۱^{b}	۰/۲۳ ±۰/۰۲^{b}
آمیلاز	۶۴/۵±۱/۳۶^{c}	۸۵ ±۳/۲۴^{b}	۱۰۵ ±۲/۲۴^{a}	۱۰۱/۵ ±۲/۰۲^{a}	۱۰۲/۹ ±۳/۱^{a}
لیپاز	۰/۷۵±۰/۰۳^{a}	۰/۷۲ ±۰/۰۴^{a}	۰/۶۶ ±۰/۰۲^{b}	۰/۷۵ ±۰/۰۲^{a}	۰/۶۵ ±۰/۰۱^{b}
آلکالین فسفاتاز	۸۲±۲/۲^{a}	۸۳ ±۲/۳^{a}	۸۰ ±۲/۷^{a}	۰/۶۵ ±۲/۴^{b}	۵۷ ±۱/۱^{c}
آمینوپپتیداز	۰/۱۲۹±۰/۰۰۳^{a}	۰/۱۰۸ ±۰/۰۰۱^{b}	۰/۱۰۶ ±۰/۰۰۲^{b}	۰/۰۸۷ ±۰/۰۰۱^{c}	۰/۰۵۴ ±۰/۰۰۲^{d}

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف از میانگین بیان‌شده‌اند. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست (p<۰/۰۵).

بحث

وضعیت کبد، یک شاخص مهم آسیب‌شناسی برای تشخیص صدمات ایجاد شده به علت شرایط تغذیه‌ای است. زیرا وظیفه آن سوخت و ساز ترکیباتی است که از دستگاه گوارش می‌رسند (Abedian *et al.*, 2013).

بین تیمارهای مختلف در میزان فعالیت آنزیم‌های سرمی کبد (AST، ALP وALT) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد، بجز در فعالیت LDH سرم که تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. میزان ALT در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی ۷۵ درصد جایگزینی کنسانتره پروتئینی جو، بالاتر از جیره‌های غذایی دیگر بود که به میزان چربی جیره غذایی می‌تواند مرتبط باشد. در مطالعه Lin و Luo (۲۰۱۱) با افزایش جایگزینی سویا در جیره غذایی ماهی تیلاپیا (*O. niloticus*) تا سطح ۵۰ درصد فعالیت آنزیم‌های GOT (آنزیم AST) و GPT (آنزیم ALT) در کبد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. Abedian و همکاران (۲۰۱۳) نیز در بررسی استفاده از نوکلئوتید در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر کاهش فعالیت این آنزیم ها را در مقایسه با تیمار شاهد گزارش کردند. همچنین در مطالعه حسینی فرد و همکاران (۱۳۹۲) با افزایش سطوح آرد کنجاله سویا در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین‌کمان، سطح فعالیت آنزیم‌های سرمی AST، ALT و ALP به صورت معنی‌داری کاهش یافت. این محققین بیان نمودند که این امر می‌تواند ناشی از اثر مطلوب و مفید سطوح بالاتر آرد سویا در جیره بر عملکرد کبد باشد. اگرچه در بررسی Soltan و همکاران (۲۰۰۸) با افزایش جایگزینی پنبه دانه در جیره تیلاپیا به جای پودر ماهی میزان ALT و AST به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین Metwalli و همکاران (۲۰۱۳) در جایگزینی جزئی و کامل پودر ماهی با گلوتن ذرت در جیره غذایی تیلاپیا تاثیر معنی‌داری بر میزان ALT و AST سرم خون مشاهده نکردند. به طور کلی، افزایش سطوح LDH نشان دهنده افزایش آسیب به بافت کبد است (Rao., 2006). در مطالعه حاضر جیره غذایی تاثیری در میزان فعالیت LDH نداشت که با مطالعه Abedian و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد.

در این تحقیق، با افزایش میزان سطوح کنسانتره پروتئینی جو تا سطح ۵۰ درصد در جیره غذایی، میزان فعالیت

آنزیم‌های کبدی کاهش یافت. کاهش فعالیت آنزیم‌های ALT و AST در ماهیان می‌تواند نشان دهنده ی غیر فعال شدن ترانس‌آمیناسیون و کاهش کاتوبولیسم اسیدآمینه باشد (Prasada and Ramana, 1985; Bibiano *et al*., 2006). ترانس‌آمینازها (ALT و AST) یکی از مسیرهای اصلی برای سنتز و دی‌آمیناسیون کردن اسیدهای آمینه هستند (Lin and Luo, 2011). فعالیت ترانس‌آمینازها در برآورد وضعیت تغذیه‌ای برخی از ماهیان مفید می‌باشد (Bibiano *et al*., 2006). این نشان دهنده سازگاری بالای متابولیسم حیوانات گوشتخوار با پروتئین جیره و توانایی کم آنها در استفاده از کربوهیدرات گزارش شده است (Lundstedt *et al*, 2004). همچنین مطالعات Rehulka و Minaoik (۲۰۰۷) نشان داد که افزایش فعالیت AST از علایم آسیب جدی به کبد از طریق آزادسازی AST میتوکندریایی است و عفونت نیز باعث افزایش مقادیر ALT و LDH می‌شود.

بررسی آنزیم های گوارشی یک گام ضروری برای درک مکانیسم هضم و چگونگی سازگاری ارگانیسم با تغییرات در محیط تغذیه است (Sunde *et al*., 2004). فعالیت آنزیم پپسین تا سطح ۷۵ درصد جایگزینی پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی جو تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد. اما فعالیت پپسین در ماهیان تغذیه شده با تیمار۱۰۰ درصد جایگزینی کاهش معنی‌داری را نشان داد که این نتایج مطابق با مطالعه Horie و همکاران (۱۹۹۵) می‌باشد. با توجه به اینکه مرحله اول هضم در ماهیان گوشتخوار در معده اتفاق می‌افتد، فیبر موجود در غذا می‌تواند مانع از فعالیت پپسین و به دنبال آن، سبب کاهش رشد ماهی گردد (Greenwood, 1953). براساس نتایج، فعالیت آنزیم تریپسین تا سطح ۵۰ درصد تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد. این نتایج می‌تواند به علت توانایی سازگاری ماهی با کنسانتره پروتئینی جو تا این سطح باشد. اما در سطوح بالاتر جایگزینی فعالیت این آنزیم نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. برخلاف تریپسین آنزیم کیموتریپسین از ابتدا روند کاهشی نسبت به تیمار شاهد نشان داد. کاهش در فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند به علت مواد ضد تغذیه ای موجود در پروتئین های گیاهی باشد. این مساله در مطالعات سایر محققین نیز عنوان شده است (Krogdhal *et al*,2003; Haard *et al* 1996). در مطالعه Robaina و همکاران (۱۹۹۵) نیز کاهش فعالیت آنزیم تریپسین در جایگزینی پودر ماهی با آرد لوبیا گزارش شد. احمدی فر و همکاران (۱۳۹۰) گزارش نمودند که در جایگزینی پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی سبوس برنج، در میزان فعالیت این آنزیم‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. ولیکن با افزایش سطوح جایگزینی فعالیت این آنزیم ها نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. آنزیم‌های روده‌ای مانند آلکالین فسفاتاز، آمینوپپتیداز N، آمیلاز و لیپاز که در مرحله نهایی هضم نقش دارند، در غشاء نوارمسواکی (Brush border) انتروسیت روده قرار دارند (Cahu and Infante, 2001) و در پژوهش حاضر نیز مورد سنجش قرار گرفتند. همانگونه که در نتایج مشاهده شد، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و آمینوپپتیداز N، در تیمارهای جایگزینی پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی جو نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت. این نتایج با گزارش Silva و همکاران (۲۰۱۰) در مورد جایگزینی پودر لوبیا و کانولا به جای پودر ماهی در جیره غذایی ماهی سی بریم مشابه می‌باشد. همچنین در مطالعه احمدی فرد و همکاران (۱۳۹۰)، فعالیت این دو آنزیم در تیمارهای بالای جایگزینی کنسانتره پروتئینی سبوس برنج در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت که با مطالعه حاضر مطابقت داشت. همچنین در مطالعه Tibaldi و همکاران (۲۰۰۶) کاهش در فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز را گزارش کردند. در مطالعات Bakke-McKellep و همکاران (۲۰۰۰) و Krogdhal و همکاران (۲۰۰۳) نیز کاهش در فعالیت آنزیم‌های آمینوپپتیداز و آلکالین فسفاتاز در ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) تغذیه شده با پودر سویا را مشاهده نمودند. کاهش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند در نتیجه آسیب به بافت‌های غشای بیرونی یا انتروسیت‌های روده‌ای باشد. وجود فاکتورهای ضد تغذیه‌ای در گیاهان از مهم‌ترین محدودیت‌های استفاده از پودرهای گیاهی است که موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های هضمی می‌شوند (Francis *et al*., 2001). احتمالاً یکی از علت‌های کاهش فعالیت آنزیم‌های مذکور در پژوهش حاضر نیز وجود مواد ضد تغذیه‌ای (پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای) در جو بکار رفته در جیره ماهیان باشد که ممکن است در فرآیند تولید کنسانتره حذف نشده باشند. به طور کلی، فعالیت بیشتر این آنزیم‌ها در تیمار شاهد می‌تواند نشانگر این باشد که در ماهیان تغذیه شده با پودر ماهی میکروویلی و ویلی روده بهتر توسعه یافته است (احمدی فر و همکاران، ۱۳۹۰). با بررسی فعالیت آنزیم لیپاز در پژوهش حاضر، کاهش معنی‌داری بین تیمارهای ۵۰ و

۱۰۰ درصد جایگزینی کنسانتره پروتئینی جو با تیمار شاهد مشاهده شد. این نتایج با مطالعه فرهودی (۱۳۹۶) در رابطه با جایگزینی نسبی پودر ماهی با جلبک قرمز دریایی (*Gracilaria pygmaea*) ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) مطابقت داشت. کاهش فعالیت لیپاز در سطوح بالا می‌تواند در نتیجه وجود یکسری از فاکتورهای ضدتغذیه‌ای باشد که بر آنزیم‌های پانکراسی تاثیر می‌گذارند (Robaina *et al*, 1995; Alarcon *et al*, 1999). آلفا آمیلاز از دسته آنزیم های آمیلولیتیک است. آلفا-آمیلاز در پانکراس تولید شده، منجر به تجزیه نشاسته و تولید مالتوز می‌شود. ولی بر سایر فرم‌های کربوهیدرات تاثیر کمی دارد. در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در تیمارهای جایگزینی پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی جو تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد بطوریکه با افزایش جایگزینی میزان آنزیم آلفا آمیلاز افزایش یافت که این افزایش با نتایج فرهودی و همکاران (۱۳۹۶) و Palmeganio و همکاران (۲۰۰۶) مشابه می‌باشد. اگرچه Kumar و همکاران (۲۰۱۱) کاهش را در فعالیت آنزیم آمیلاز گزارش کردند.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان این فرضیه را ثابت کرد که ماهیان می‌توانند فعالیت آنزیمی دستگاه گوارش را با توجه به ترکیب مواد غذایی جیره به تعادل برسانند. آنزیم‌های گوارشی در سطوح بالای جایگزینی کاهش یافت، ولی در سطوح متوسط جایگزینی تغییر کمتری در آنزیم‌های پانکراسی مشاهده شد. آنزیم‌های نوارمسواکی (Brush border) روده نیز حساسیت بیشتری نسبت به کنسانتره پروتئینی جو نشان دادند. استفاده از کنسانتره پروتئینی جو تا سطح ۵۰ درصد جیره برای ماهی آزاد دریای خزر قابل تحمل است، اما وقتی که از این حد بالاتر رود، احتمالاً با افزایش مقدار مواد ضدتغذیه‌ای و به دنبال آن کاهش جذب مواد مغذی، سبب کاهش فعالیت‌های آنزیم‌های روده شده است و اثرات نامطلوب بر رشد را در پی خواهد داشت.

منابع

احمدی فرد، ن.، عابدیان کناری، ع.، و معتمد زادگان، ع.، ۱۳۹۰. بررسی فعالیت آنزیم های پروتئینی معده، پانکراس و روده ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)تغذیه شده با تیمارهای جایگزین شده پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی سبوس برنج. شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۵(۴): ۳۶۵-۳۷۶. DOI10.22059/JFISHERIES.2013.30540 :

فرهودی، آ.، ۱۳۹۶. تأثیر جایگزینی نسبی آرد ماهی با ماکروجلبک گراسیلاریا پیگما (*Gracilaria pygmaea*) بر عملکرد رشد، آنالیز تقریبی لاشه، قابلیت هضم ظاهری و آنزیم‌های گوارشی ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*). رساله، دانشگاه هرمزگان.

Abedian, A., Mahmoudi, N., Soltani, M. and Abedian kenari, S., 2013. Dietary nucleotide supplements influence the growth, haemato-immunological parameters and stress responses in endangered Caspian brown trout (S almo trutta caspius K essler, 1877). *Aquaculture Nutrition*, 19(1): 54-63. DOI:10.1111/j.1365-2095.2012.00938.x

Alarcón, F.J., Moyano, F.J. and Díaz, M., 1999. Effect of inhibitors present in protein sources on digestive proteases of juvenile Sea bream (*Sparus aurata*). Aquatic Living Resources, 12(4), 233-238.

Aragao, C., Conceicao, L.E.C., Dias, J., Marques, A.C., Gomes, E. and Dinis, M.T., 2003. Soy protein concentrate as a protein source for Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) diets: effects on growth and amino acid metabolism of postlarvae. *Aquaculture Research*, 34: 1443-1452. DOI:10.1111/j.1365-2109.2003.00971.x

Bakke-McKellep, A.M., Press, C.M., Baeverfjord, G., Krogdahl, A. and Landsverk, T., 2000. Changes in immune and enzyme histochemical phenotypes of cells in the intestinal mucosa of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., with soybean meal-induced enteritis. *Journal of Fish Diseases*, 23(2): 115-127. DOI: 10.1046/j.1365-2761.2000.00218.x

Bell, G.J., Strachan, F., Roy, W.J., Matthew, C., Mcdonald, P., Barrows, F.T. and Sprague, M., 2014. Evaluation of barley protein concentrate and fish protein concentrate, made from trimmings, as sustainable ingredients in Atlantic salmon *(Salmo salar L.)* feeds. Aquaculture Nutrition. (22), 2. 326-334.

Bernfeld, P., 1951. Amylases α and β. In Met hods in Enzymology, Colowick P., Kaplan N.O., eds, New York: Academic Press. 1: 149-157.

Bessey, O.A., Lowry, O.H. and Brock, M.J., 1946. Rapid caloric method for determination of alkaline phosphatase in five cubic millimeters of serum. *Journal of Biological Chemistry*, 164: 321-329.

Bibiano Melo, J.F., Lundstedt, L.M., Metón, I., Baanante, I.V. and Moraes, G., 2006. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of Rhamdia quelen (Teleostei: Pimelodidae). *Archives of Biochemistry and Biophysics*. A. 145: 181-187. DOI:10.1016/j.cbpa.2006.06.007

Bilgüven, M. and Baris, M., 2011. Effects of the Feeds Containing Different Plant Protein Sources on Growth Performance and Body Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11: 345-350.

Bowyer, J.N., Qin, J.G., Smullen, R.P., Adams, L.R., Thompson, M.J.S. and Stone, D.A.J., 2013. The use of a soy product in juvenile Yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) feeds at different water temperatures: 2. Soy protein concentrate. *Aquaculture*, 410-411: 1-10. DOI:10.1016/j.aquaculture.2012.12.005

Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248–254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

Burr, G.S., Brrrows, F.T. and Wolters, W.R., 2013. Growth of Atlantic Salmon, *Salmo salar*, fed diets Containing Barley Protein Concentrate. *Journal of Applied Aquaculture*, 25, 320–328.

Cahu, C. and Infante, J.Z., 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 200(1-2), 161-180.

Deguara, S., Jauncey, K. and Agius, C., 2003. Enzyme activities and pH variations in the digestive tract of gilthead sea bream. *Journal of Fish Biology*, *62*(5), 1033-1043.

derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199**:** 197-227.

Erlanger, B.F., Kokowski, N. and Cohen, W., 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 95: 271– 278. DOI:/10.1016/0003-9861(61)90145-X

Francis, G., Makkar, H.P. and Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199(3-4): 197-227. DOI:10.1016/S0044-8486(01)00526-9

Gatlin III, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, A. and Nelson, R., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*, 38: 551-579. DOI:10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x

Glencross, B., Evans, D., Dods, K., Mcafferty, P., Hawkins, W., Maas, R. and Sipsas S., 2005. Evaluation of the digestible value of lupin and soybean protein concentrates and isolates when fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using either stripping or settlement fecal

collection methods. *Aquaculture*, 245: 211–220. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.11.033

Greenwood, P.H., 1953. Feeding mechanism of the Cichlid fish *Tilapia esculenta* Graham. *Nature*, 172: 207–208.

Haard, N.F., Dimes, L.E., Arndt, R.E. and Dong, F.M., 1996. Estimation of protein digestibility—IV. Digestive proteinases from the pyloric caeca of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed diets containing soybean meal. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 115(4): 533-540. DOI: 10.1016/S0305-0491(96)00189-7

Hall, J.E., 2010. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. (12th ed.) Saunders. New York, USA.

Horie, Y., Sugase, K. and Horie, K., 1995. Physiological differences of soluble and insoluble dietary fibre fractions of brown algae and mushrooms in pepsin activity in vitro and protein digestibility. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 4: 251–255.

Hosseini, M.N., 2011. Cereal crops. University of Tehran Press. pp. 55-58. DOI:10.1016/B978-0-08-100435-7.00001-0

Iijiama, N., Tanaka, S., Ota, Y., 1998. Purfication and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of Red sea bream (*Pagrus major*). *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*, Vol. 18: 59-69.

Krogdahl Å., Bakke-McKellep A., Baeverfjord G., 2003. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition*, 9, 361-371.

Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A. and Baeverfjord G., 2003. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition*, 9: 361-371. DOI:10.1046/j.1365-2095.2003.00264.x

Kumar, V., Makkar, H. P. S. and Becker, K., 2011. Detoxified Jatropha curcas kernel meal as a dietary protein source: growth performance, nutrient utilization and digestive enzymes in common carp (*Cyprinus carpio L.*) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 17(3), 313-326. DOI:/10.1111/j.1365-2095.2010.00777.x

Lemieux H., Blier P. and Dutil J.D., 1999. Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 20, 293-303.

Lin, S. and Luo, L., 2011. Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for juvenile tilapia, Oreochromis niloticus× O. aureus. *Animal Feed Science and Technology*, 168(1-2): 80-87. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2011.03.012

Lundstedt, L.M., Melo, J.F.B. and Moraes, G., 2004. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 137: 331-339. DOI:10.1016/j.cbpc.2003.12.003

Maroux, S., Louvard, D. and Barath, J., 1973. The aminopeptidase from hog intestinal brush border. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology*, 321: 282-295. DOI: 10.1016/0005-2744(73)90083-1

Metwalli, A. A. 2013. Effects of partial and total substitution of fish meal with corn gluten meal on growth performance, nutrients utilization

and some blood constituents of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 287(1825), 1-21.DOI: 10.12816/0011044

Morken, T., Kraugerud, O.F., Barrowes, F.T., Sorensen, M., Storebakken, T. and Overland, M., 2011. Sodium diformate and extrusion temperature affect nutrient digestibility and physical quality of diets with fish meal and barley protein concentrate for Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 317: 138–145. DOI:10.1016/j.aquaculture.2011.04.020

Naderi, M. and Abdoli, A., 2004. Fish Species Atlas of South Caspian (Sea Basin Iranian Water). 90, P: 80.

Palmegiano, G.B., Dapra, F., Forneris, G., Gai, F., Gasco, L., Guo, K., Peiretti, P.G., Sicuro, B. and Zoccarato, I., 2006. Rice protein concentrate meal as a potential ingredient in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 258 (1-4): 357-367. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.04.011

Peyghan, R. and Takamy, G.A., 2002. Histopathological, serum enzyme, cholesterol and urea changes in experimental acute toxicity of ammonia in common carp Cyprinus carpio and use of natural zeolite for prevention. *Aquaculture International*, 10(4): 317-325. DOI: 10.1023/A:102240852

Prasada, K.S. and Ramana, R.K.V., 1985. Tissue specific alterations of aminotransferases and total ATPase in the fish tilapia mossambica under methyl parathion impact. Toxicology Leaflets. 20: 53-57. DOI: 10.1016/0378-4274(84)90182-6

Ragyanski, M., 1980. Preliminary investigation on the proteolitic digestive enzymes of carp fry. *Aquaculture*, 2: 27-30.

Rao, Y.V., Das, B.K., Jyotyrmayee, P. and Chakrabarti, R., 2006. Effect of Achyranthes aspera on the immunity and survival of Labeo rohita infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 20(3): 263-273.

Rehulka, J., 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 190: 27–47. DOI:/10.1016/S0044-8486 (00)00383-5

Řehulka, J. and Minařík, B., 2007. Blood parameters in brook trout Salvelinus fontinalis (Mitchill, 1815), affected by columnaris disease. *Aquaculture Research*, 38(11): 1182-1197. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01786.x

Robaina, L., Izquierdo, M.S., Moyano, F.J., Socorro, J., Vergara, J.M., Montero, D. and Fernandez-Palacios, H., 1995. Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for Gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications. *Aquaculture*, 130(2-3): 219-233. DOI: 10.1016/0044-8486(94)00225-D

Saber, A., Abedian Kenari, A. and Seif Abadi, S.J., 2005. The effect of different levels of dietary protein and energy on growth and body composition Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*). *Journal of MarineScience and Technology*, 4(1-2): 45-54.

Shi, X., Li, D., Zhuang, P., Nie, F. and Long, L., 2006. Comparative blood biochemistry of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) and Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 32 :63–66. DOI: 10.1007/s10695-006-7134-9

Silva, F.C., Nicoli, J.R., Zambonino-Infante, J.L., Le Gall, M.M., Kaushik, S. and Gatesoupe, F.J., 2010. Influence of partial

substitution of dietary fish meal on the activity of digestive enzymes in the intestinal brush border membrane of gilthead sea bream, Sparus aurata and goldfish, Carassius auratus. *Aquaculture*, 306(1-4): 233-237. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.05.018

Soltan, M.A., Hanafy, M.A. and Wafa, M.I.A., 2008. Effect of replacing fish meal by a mixture of different plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus L*.) diets. *Global Veterinaria*, *2*(4), 157-164.

Sunde, J., Eiane, S., Rustad, A., Jensen, H., Opstvedt, J., Nygård, 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.). *Aquaculture Nutrition*, 10: 261-277. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2004.00300.x

Tacon, A.G.J. and Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285: 146-158. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.015

Tibaldi, E., Hakim, Y., Uni, Z., Tulli, F., de Francesco, M., Luzzana, U. and Harpaz, S., 2006. Effects of the partial substitution of dietary fish meal by differently processed soybean meals on growth performance, nutrient digestibility and activity of intestinal brush border enzymes in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax). Aquaculture*, 261(1), 182-193.

Worthington, C.C., 1991. Worthington enzyme manual related Biochemical. 3th Edition. Freehold. New Jersey. pp, 250-253 (pepsin).

Wu, Y.V., Sexson, K.R. and Sanderson, J.E., 1979. Barley protein concentrates from high protein, high-lysin varieties. *Journal of Food Science*, 44: 1580–1583.

The effects of replacing fish meal with barley protein concentrate on digestive enzyme activity and hepatic enzymes of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*)

Zaretbar A.[1]; Ouraji H.[1*]; Yegane S.[1]; Keramat A.[1]

*hoseinoraji@yahoo.com

1- Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari

Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of replacing fish meal with barley protein concentrate (BPC) on digestive enzyme activity and hepatic enzymes of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*), with initial weight mean 16.53±1.1g, in a 8 week study in a design completely randomized with 5 treatments, each with 3 replications. Experimental diets consisted of control diet (without barley protein concentrate) and four diets containing levels of 25, 50, 75, 100% barley protein concentrate. At the end of the experiment, ALP, AST and ALT levels were significantly different in different experimental treatments ($p<0.05$). However, there was no significant difference in LDH between different treatments ($p>0.05$). There was no significant difference in Pepsin enzyme activity between fish that fed with experimental diets up to 75% replacement and control treatment ($p>0.05$). The activity of Chymotrypsin and Aminopeptidase in different treatments showed a significant difference compared to control ($p<0.05$). There was no significant difference in in Trypsin and alkaline phosphatase activity between fish that fed with experimental diets up to 50% replacement and control treatment ($p>0.05$). The activity of amylase and lipase enzymes showed a significant difference between treatments with different levels of barley concentrate ($p<0.05$). Digestive enzymes decreased at higher replacement levels, but in the middle levels of replacement, there was less effectsin pancreatic enzymes. Therefore it can be concluded that BPC levels up to 50% of the diet are tolerable for the Caspian salmon, but when it goes higher than this level, will probably result in an increase in anti-nutrients, a decrease in nutrient uptake, low diet palatability, and have adverse effects on fish growth.

Keywords: *Salmo trutta caspius*, Barley protein concentrate, Digestive enzymes, Hepatic enzymes

*Corresponding author