

Effect of combined multi-enzyme of cellulase, alpha-amylase, xylanase, beta-glucanase and application of it on growth performance and in common carp (*Cyprinus carpio*)

Atefeh Karamad¹, Ali Shabani^{*2}, Hamed Paknejad³, Ali Jafar Nodeh⁴

1. Ph.D. Student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: atefehkaramad@yahoo.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Aquaculture, College of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: shabani@gau.ac.ir
3. Associate Prof., Dept. of Aquaculture, College of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hkolangi@gmail.com
4. Instructor, Dept. of Aquaculture, College of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: a.jafar55@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 09.07.2022
Revised: 09.17.2022
Accepted: 09.19.2022

Keywords:
Common carp,
Digestion,
Enzyme,
Growth

ABSTRACT

Due to the increasing use of herbal items in aquatic ration, the amount of anti-nutritional substances in aquatic ration has increased. One of the ways to reduce the effects of anti-nutritional substances of non-starch polysaccharides is using enzyme supplements in aquatic feed. In the present study, at first, the minimum required amount of alpha-amylase, cellulase, xylanase and beta-glucanase enzymes for wheat and soybean flour was obtained by Miller's sugar test method. Carp fish with an average initial weight of 10.77 ± 1.75 in 5 treatments and 3 repetitions including ration without enzyme (control treatment), ration containing enzyme which was added to the food as a spray after manufacturing (treatment 1), ration containing enzyme which added to its substrate 6 hours after production (Treatment 2), ration containing enzyme added to substrate 12 hours before production (Treatment 3) and ration containing enzyme added to substrate 24 hours before production (Treatment (4), was fed with ration containing multi-enzyme for 60 days. The results of the experiment showed that the total weight in treatment 3 (23.09 ± 1.5) compared to the control treatment (17.67 ± 0.48) increased significantly ($P \leq 0.05$). Also, the investigations of this experiment showed that the use of enzymes improves the growth indices and food conversion ratio of common carp ($P \leq 0.05$). In this study, the combination of enzymes in treatment 3 increased the apparent digestion of protein and fat compared to the control ($P \leq 0.05$).

Cite this article: Karamad, Atefeh, Shabani, Ali, Paknejad, Hamed, Jafar Nodeh, Ali. 2024. Effect of combined multi-enzyme of cellulase, alpha-amylase, xylanase, beta-glucanase and application of it on growth performance and in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (1), 91-102.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2022.20578.1703

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بررسی اثرات مولتی آنزیم ترکیبی (آلفا آمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز) بر فاکتورهای رشد و هضم ظاهری ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

عاطفه کارآمد^۱، علی شعبانی^{۲*}، حامد پاک‌نژاد^۳، علی جعفر نوده^۴

۱. دانشجوی دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: atefehkaramad@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: shabani@gau.ac.ir
۳. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hkolangi@gmail.com
۴. مربی گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: a.jafar55@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی - پژوهشی	با توجه به افزایش روزافزون استفاده اقلام گیاهی در جیره آبزیان میزان مواد ضد تغذیه‌ای جیره آبزیان افزایش یافته است. یکی از راه‌های کاهش اثرات مواد ضدتغذیه‌ای پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای، استفاده از مکمل‌های آنزیمی در خوراک آبزیان است. در مطالعه حاضر ابتدا حداقل مقدار مورد نیاز آنزیم‌های آلفا آمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز برای آرد گندم و سویا با روش تست قند میلر (Reducingsuger test) به دست آمد. ماهیان کپور با میانگین وزن اولیه 10.77 ± 1.75 در ۵ تیمار و ۳ تکرار شامل جیره فاقد آنزیم (تیمار شاهد)، جیره حاوی آنزیم که بعد از ساخت به صورت اسپری به غذا اضافه شد (تیمار ۱)، جیره حاوی آنزیم که ۶ ساعت قبل از ساخت به سوسترای آن اضافه شده (تیمار ۲)، جیره حاوی آنزیم که ۱۲ ساعت قبل از ساخت به سوسترای آن اضافه شده (تیمار ۳) و جیره حاوی آنزیم که ۲۴ ساعت قبل از ساخت به سوسترای آن اضافه شده (تیمار ۴)، به مدت ۶۰ روز با جیره‌های حاوی مولتی آنزیم تغذیه شد. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که میزان وزن کل در تیمار ۳ (23.09 ± 1.05) در مقایسه با تیمار شاهد (17.67 ± 0.48) به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). هم‌چنین بررسی‌های این آزمایش نشان داد استفاده از آنزیم‌ها موجب بهبود شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی ماهی کپور معمولی می‌گردد ($P \leq 0.05$). در این مطالعه آنزیم‌ها در تیمار ۳ موجب افزایش هضم ظاهری پروتئین و چربی نسبت به شاهد شدند ($P \leq 0.05$).
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۶	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۶	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۸	
واژه‌های کلیدی: آنزیم، رشد، کپور معمولی، هضم ظاهری	

استناد: کارآمد، عاطفه، شعبانی، علی، پاک‌نژاد، حامد، جعفر نوده، علی (۱۴۰۳). بررسی اثرات مولتی آنزیم ترکیبی (آلفا آمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز) بر فاکتورهای رشد و هضم ظاهری ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۳ (۱)، ۹۱-۱۰۲.

DOI: 10.22069/japu.2022.20578.1703



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

تقاضای رو به رشد برای مصرف ماهی و محدود بودن ذخایر طبیعی موجب توسعه آبی‌پروری در جهان شده است، که علت آن کیفیت بالای پروتئین، اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب مفید ماهی است. در حال حاضر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از مهم‌ترین ماهی‌های پرورشی گرمابی به‌شمار رفته و جز سه گونه آبی‌پروری بزرگ دنیا محسوب می‌شود (۱). موفقیت و توسعه پایدار صنعت آبی‌پروری بستگی به کاهش هزینه‌های پرورش دارد که در این بین هزینه خوراک ۵۰ تا ۶۰ درصد هزینه کل را در بر می‌گیرد (۲). تولید پودر ماهی در جهان سالانه ۵ تا ۶ میلیون تن برآورد می‌شود و مقدار تولید آن در چند سال گذشته ثابت بوده است. بنابراین برای تداوم توسعه آبی‌پروری نیاز به استفاده منابع جایگزین پودر ماهی می‌باشد (۳). از این رو پژوهش‌های گسترده‌ای در راستای جایگزینی پودر ماهی با مواد پروتئینی گیاهی انجام شده است. استفاده از مواد مشتق شده از گیاهان در غذای ماهیان روز به روز در حال افزایش است و یکی از محدودیت‌های اصلی در استفاده از مواد گیاهی حضور پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در گیاهان است (۲). ماهی و دیگر حیوانات تک‌معدده‌ای آنزیم‌هایی مانند سلولاز، بتاگلوکاناز و زایلاناز که بر هضم پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای مؤثرند را ندارند (۴). این پلی‌ساکاریدها جزئی از ساختار و دیواره غشای سلول‌های گیاهی می‌باشند که موجب کاهش راندمان رشد در آبزیان می‌گردند.

استفاده از آنزیم‌های کربوهیدراتازی خارجی می‌تواند یک راه مؤثر برای کاهش میزان تأثیر مواد ضدتغذیه‌ای در رژیم غذایی ماهیانی که جیره آن‌ها حاوی سطوح بالایی از مواد غذایی گیاهی است، باشد (۲). آنزیم‌های مورد استفاده در این پژوهش شامل آلفاآمیلاز گلیکوزیدهایی هستند که پلیمرهای آلفا ۱ به

۴ را هیدرولیز می‌کنند، پیوندهای آلفا ۱ به ۴ داخلی را به‌طور تصادفی می‌شکنند و به الیگوساکاریدهایی دارای ۲ تا ۶ مولکول گلوکز تبدیل می‌کنند (۵). آنزیم‌های سلولازی پیوندهای بتا ۱ به ۴ گلیکوزیدی مولکول سلولز را به‌طور تصادفی می‌شکنند، و قطعات الیگوساکاریدی تولید می‌کنند (۶). پلی‌ساکارید آرابینوزایلان در دیواره سلولی گیاهان یافت می‌شود و توانایی جذب آب به میزان ده برابر وزن خود را دارا هستند، استفاده از آنزیم زایلاناز موجب شکسته شدن پیوند بتا ۱ به ۴ شده و میزان ویسکوزیته غذا را کاهش می‌دهد. همی‌سلولز از دو قسمت آرابینوزایلان و بتا گلوکان تشکیل شده است. آنزیم بتاگلوکاناز توانایی شکستن پیوندهای ۱ به ۴ را در این پلی‌ساکارید را داراست (۷). علاوه بر این آنزیم‌های پلی‌ساکاریدی باعث کاهش زمان هضم غذا و کاهش ویسکوزیته غذا می‌شوند. استفاده از آنزیم‌های کربوهیدراتازی موجب دسترسی بهتر آنزیم‌های هیدرولیزکننده صفرا به چربی‌ها شده و راندمان هضم و جذب چربی افزایش می‌یابد (۸). علاوه بر این ممکن است موجب افزایش دسترسی آنزیم‌های پروتئازی به پروتئین‌ها شده که نتیجه آن بهبود استفاده از نیتروژن و اسیدهای آمینه می‌باشد (۸). در نهایت به نظر می‌رسد استفاده از آنزیم‌های کربوهیدراتازی باعث افزایش بازده انرژی و مواد غذایی می‌گردد. هر گونه تغییر در کربوهیدرات و چربی و پروتئین جیره مستقیماً بر پارامترهای خونی وضعیت ایمنی و کیفیت لاشه اثر می‌گذارد (۹). با این حال هنوز اثرات آنزیم خارجی کربوهیدراتازی بر عملکرد ماهی خوب مشخص نیست در برخی پژوهش‌ها رشد ماهی افزایش یافته (۱۰، ۱۱، ۱۲) و در موارد دیگر هیچ اثری مشخص نشده (۵، ۱۳، ۱۴) که دلیل آن می‌تواند نوع جیره و نوع گونه پرورشی و حتی نوع آنزیم به‌کار رفته باشد. در مجموع اطلاعات درباره آنزیم‌های کربوهیدراتازی و اثرات آن به‌خصوص به‌صورت

تست قند میلر (۱۵) حداقل میزان آنزیم سلولاز، آلفا آمیلاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز مورد نیاز برای یک کیلوگرم آرد گندم و کنجاله سویا به دست آمد. بدین صورت که ابتدا یک گرم از آرد گندم و کنجاله سویا در لوله آزمایش ریخته شد و به هر نمونه ۳ سی‌سی آب مقطر همراه آنزیم‌ها با دوزهای ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم اضافه شد (جدول ۱). لوله‌های آزمایش با بیوفیلیم بسته شد و سپس نمونه‌ها ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار قرار گرفت، در انتها آزمایش تست قند میلر روی نمونه‌ها انجام شد.

انفرادی مشخص نبوده و از آن‌جا که در حیوانات غیرنشخوارکننده دیگر مانند مرغ نتایج خوبی به دست آمده و در برخی ماهیان مؤثر بوده (۲)، انجام این پژوهش می‌تواند بهترین دوز مصرفی هر یک از آنزیم‌های مورد استفاده را برای جیره ماهی کپور معمولی بر پایه کربوهیدرات سویا و آرد گندم به دست آورده تا بتواند مورد استفاده صنایع خوراک آبزیان قرار گیرد.

مواد روش‌ها

ابتدا برای سنجش میزان دوز استفاده از هر آنزیم بر اساس منبع کربوهیدراتی با روش کمی آزمایش

جدول ۱- نتایج حاصل از تست میلر.

میزان جذب طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) در دوز آنزیم						نوع آنزیم	نوع منبع کربوهیدراتی
۰/۵ گرم بر کیلوگرم	۰/۴ گرم بر کیلوگرم	۰/۳ گرم بر کیلوگرم	۰/۲ گرم بر کیلوگرم	۰/۱ گرم بر کیلوگرم	۰ گرم بر کیلوگرم		
۱/۰۴ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۹۲ ± ۰/۲۱ ^{ab}	۰/۹۴ ± ۰/۰۸ ^{ab}	۰/۹۴ ± ۰/۰۳ ^{ab}	۰/۸۲ ± ۰/۰۹ ^{ab}	۰/۸ ± ۰/۱۴ ^b	آلفا آمیلاز	آرد گندم
۱/۰۹ ± ۰/۰۷ ^a	۱/۰۸ ± ۰/۰۱ ^a	۱/۰۵ ± ۰/۱۲ ^a	۱/۰۷ ± ۰/۲۱ ^a	۱/۰۵ ± ۰/۰۶ ^a	۰/۸۳ ± ۰/۰۸ ^b	سلولاز	
۰/۹۴ ± ۰/۱۱ ^a	۰/۹۴ ± ۰/۰۲ ^a	۰/۹۳ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۸ ± ۰/۰۸ ^b	۰/۸۲ ± ۰/۰۱ ^b	۰/۷۹ ± ۰/۰۲ ^b	زایلاناز	
۱/۰۱ ± ۰/۱۶ ^a	۱/۱۱ ± ۰/۲۶ ^a	۱/۱۲ ± ۰/۰۸ ^a	۱/۱۲ ± ۰/۰۴ ^a	۰/۸۸ ± ۰/۰۴ ^{ab}	۰/۸۳ ± ۰/۰۲ ^b	بتاگلوکاناز	
۱/۴۸ ± ۰/۲۲ ^a	۱/۲ ± ۰/۰۷ ^b	۱/۲۲ ± ۰/۰۹ ^b	۱/۱۳ ± ۰/۰۴ ^b	۱/۲۸ ± ۰/۰۵ ^b	۱/۱۴ ± ۰/۰۳ ^b	آلفا آمیلاز	کنجاله سویا
۱/۳۴ ± ۰/۱۱ ^a	۱/۳۳ ± ۰/۰۷ ^a	۱/۳۱ ± ۰/۱۶ ^a	۱/۳۱ ± ۰/۱ ^a	۱/۱۵ ± ۰/۱۲ ^b	۱/۰۳ ± ۰/۰۲ ^b	سلولاز	
۱/۷۴ ± ۰/۱۲ ^a	۱/۵۴ ± ۰/۰۷ ^b	۱/۵۹ ± ۰/۰۱ ^b	۱/۵۴ ± ۰/۰۴ ^b	۱/۵ ± ۰/۰۷ ^b	۱/۱۲ ± ۰/۱۳ ^c	زایلاناز	
۱/۱۳ ± ۰/۰۶ ^a	۱/۱۷ ± ۰/۰۵ ^a	۱/۱۴ ± ۰/۰۲ ^a	۱/۱۷ ± ۰/۰۴ ^a	۱/۰۹ ± ۰/۰۳ ^a	۱/۰۴ ± ۰/۰۱ ^b	بتاگلوکاناز	

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هستند ($P \leq 0.05$). داده‌ها به صورت $ME \pm SD$ بیان شده‌اند.

درصد آلفا آمیلاز، ۹/۱ درصد سلولاز، ۲۷/۲۷ درصد زایلاناز و ۱۸/۱۸ درصد بتاگلوکاناز می‌باشد و ترکیب دوم برای کنجاله سویا شامل ۳۸/۴۶ درصد آلفا آمیلاز، ۱۵/۳۸ درصد سلولاز، ۳۸/۴۶ درصد زایلاناز و ۷/۷ درصد بتاگلوکاناز می‌باشد.

ساخت جیره: ابتدا مواد لازم جهت ساخت جیره از کارخانه خوراک دام و آبزیان مازندران (ساری- ایران) تهیه گردید. پس از آنالیز مواد اولیه جیره موردنظر با

بر اساس نتایج به دست آمده در جدول ۱ میزان آنزیم مورد نیاز برای آرد گندم از آنزیم‌های آلفا آمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز به ترتیب ۰/۵، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۲ گرم بر کیلوگرم به دست آمد و میزان آنزیم مورد نیاز برای کنجاله سویا از آنزیم‌های آلفا آمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز به ترتیب ۰/۵، ۰/۲، ۰/۵ و ۰/۱ گرم بر کیلوگرم به دست آمد. بر اساس داده‌های فوق ترکیب مخلوط آنزیمی آرد گندم شامل ۴۵/۴۵

انکوباتور قرار گرفت، سپس توسط چرخ گوشت پلت شد و پلت‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت در خشک‌کن قرار گرفته تا خشک شوند (۱۶). بعد از سرد شدن برای ساخت تیمار افزودن مخلوط آنزیم‌ها به صورت اسپری با چربی ابتدا مخلوط آنزیم‌های کنجاله سویا و آرد گندم با یکدیگر روی جیره اسپری گردید (۱۷). روی سایر جیره‌ها نیز به همان اندازه چربی بدون آنزیم اسپری گردید. سپس تا زمان استفاده در فریز ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگاه‌داری شدند (۱۶).

استفاده از نرم‌افزار Lindo فرموله (جدول ۲) شد و برای ساخت جیره‌ها مواد خشک غیرگیاهی ابتدا با هم مخلوط شدند و سپس اقلام گیاهی وزن شده براساس تیماربندی (جدول ۳) آماده‌سازی شد. تیماربندی بدین صورت بود که در تیمارهای افزودن مخلوط آنزیم‌ها قبل از ساخت ابتدا مخلوط آنزیم‌های ساخته شده برای آرد گندم به آرد گندم و مخلوط آنزیم‌های ساخته شده برای کنجاله سویا به کنجاله سویا به صورت جدا از هم اضافه شد و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد با زمان‌های ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت در

جدول ۲- ترکیب جیره ساخته شده برای تغذیه کپور معمولی.

درصد موجود در جیره	مواد اولیه*
۱۶	پودر ماهی
۳۶	پودر سویا
۳۹	آرد گندم
۱/۲۵	روغن ماهی
۱/۲۵	روغن سویا
۰/۲۵	لسیتین
۱	دی کلسیم فسفات
۲	مکمل معدنی**
۲	مکمل ویتامینه***
۰/۲۵	ضد قارچ
۰/۰۲	آنتی‌اکسیدان (BHT)
۰/۴۸	پرکننده
آنالیز تقریبی جیره پس از ساخت (درصد ماده خشک)	
۳۱/۶۹	پروتئین خام (درصد)
۴/۹۹	چربی خام (درصد)
۶/۵۱	خاکستر (درصد)
۵۶/۸۱	کربوهیدرات (درصد)
۲/۶	رطوبت (درصد)
۱۹/۲۲	انرژی کل**** (کیلو ژول بر گرم)

* اقلام غذایی از کارخانه خوراک دام و آبزیان مازندران (ساری- ایران) تهیه گردید
 ** هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی آهن (۶ گرم)، روی (۱۰ گرم)، سلنیم (۲۰ میلی‌گرم)، کبالت (۱۰۰ میلی‌گرم)، مس (۶۰۰ میلی‌گرم)، منگنز (۵ گرم)، ید (۴۰۰ میلی‌گرم)، کولین کلراید (۶۰ گرم)
 *** هر ۵ کیلوگرم مکمل ویتامینه ۰/۵ درصد حاوی ۱۵۰ گرم ویتامین E، ۲۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۰/۰۵ گرم ویتامین B12، ۸۰ گرم ویتامین B6، ۲۰۰ گرم ویتامین B5، ۱۵۰ گرم ویتامین B3، ۴۰ گرم ویتامین B2، ۵۰ گرم ویتامین B1، ۵۰ گرم ویتامین K3، ۵۰۰ گرم اینوزیتول، ۵۰۰ گرم ویتامین C
 **** بر اساس ضریب ۲۳/۶، ۳۹/۵ و ۱۷/۲ (واحد کیلو ژول بر گرم) به ترتیب برای پروتئین، چربی و کربوهیدرات محاسبه شد (NRC، ۱۹۹۳)

جدول ۳- تیمار بندی.

تیمار	زمان اضافه کردن مخلوط آنزیم‌ها
c (شاهد)	بدون مخلوط آنزیم‌ها
۱	اضافه کردن مخلوط آنزیم‌ها بعد از ساخت به صورت اسپری با روغن
۲	اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های آرد گندم به آرد گندم ۶ ساعت قبل ساخت جیره
۳	اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های سویا به کنجاله سویا ۶ ساعت قبل ساخت جیره
۴	اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های آرد گندم به آرد گندم ۱۲ ساعت قبل ساخت جیره
۵	اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های سویا به کنجاله سویا ۱۲ ساعت قبل ساخت جیره
۶	اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های آرد گندم به آرد گندم ۲۴ ساعت قبل ساخت جیره
۷	اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های سویا به کنجاله سویا ۲۴ ساعت قبل ساخت جیره

$$(1) \text{ رشد } (WG) = W_f - W_i$$

که در آن، W_f وزن نهایی (گرم) و W_i وزن اولیه (گرم).

$$(2) \text{ نرخ رشد ویژه } (SGR) = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{t} \times 100$$

که در آن، $\ln W_f$ لگاریتم طبیعی وزن نهایی (گرم)، $\ln W_i$ لگاریتم طبیعی وزن اولیه (گرم) و t مدت آزمایش (روز).

$$(3) \text{ ضریب تبدیل غذایی } (FCR) = \frac{F}{W_f - W_i}$$

که در آن، F وزن خشک غذای داده شده (گرم)، W_f وزن نهایی (گرم) و W_i وزن اولیه (گرم).

$$(4) \text{ درصد افزایش وزن بدن } (WGP) = \frac{BW_f - BW_i}{BW_i} \times 100$$

که در آن، W_f وزن نهایی (گرم) و W_i وزن اولیه (گرم).

درصد بازماندگی طبق رابطه زیر محاسبه می‌گردد:

$$(5) \text{ درصد بازماندگی } (SR) = \frac{N_f}{N_i} \times 100$$

که در آن، N_f تعداد نهایی ماهیان و N_i تعداد اولیه ماهیان.

نحوه پرورش: پرورش ماهی در تابستان سال ۱۳۹۸ با

انتقال بچه‌ماهیان از مزرعه سد وشمگیر به مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. پس از انجام مرحله سازگاری، ۲۲۵ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی 10.77 ± 1.75 به‌طور تصادفی انتخاب و در ۱۵ تانک فایبرگلاس (۴۰۰ لیتری) با حجم آب ۱۰۰ لیتر به میزان ۱۵ قطعه در هر تانک توزیع گردیدند. غذادهی ماهیان ۳ وعده در روز (ساعت ۸، ۱۳ و ۱۸) به‌صورت اشباع تا حد سیری ظاهری انجام شد. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۳ ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی انجام پذیرفت. میزان دمای آب ۲۶ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد (میانگین $24/31$) و pH $7/6$ تا $8/1$ اندازه‌گیری گردید. آب مخازن به‌طور دائم هوادهی و تعویض آب (به‌طور میانگین ۷۰ درصد آب روزانه جایگزین می‌شد) به‌صورت سیفون کردن روزانه صورت گرفت.

سنجش فاکتورهای رشد: در ابتدای دوره تمام بچه‌ماهیان با ترازوی دقیق توزین شده و پس از آن در انتهای دوره نیز کل ماهیان مورد سنجش وزنی و طولی قرار گرفت. درصد زنده‌مانی و شاخص‌های رشد شامل، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه (SGR) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) توسط روش‌های معمول و روابط زیر تعیین شد.

و one-way انجام شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS Version 20 برای آنالیز آماری و Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج

نتایج شاخص‌های رشد و زنده‌مانی: نتایج شاخص‌های رشد، تغذیه و زنده‌مانی در جدول ۴ آورده شده است. بر اساس این جدول تفاوت معنی‌داری میان وزن اولیه و زنده‌مانی تیمارها وجود نداشت ($P > 0/05$). بیش‌ترین میزان افزایش وزن بدن در تیمار ۳ (افزودن آنزیم ۱۲ ساعت قبل از ساخت) مشاهده شد و پس از آن تیمارهای ۲ (افزودن آنزیم ۶ ساعت قبل از ساخت) و ۴ (افزودن آنزیم ۲۴ ساعت قبل از ساخت) در یک سطح قرار داشتند. ضریب رشد ویژه در تیمار ۳ (افزودن آنزیم ۱۲ ساعت قبل از ساخت) بالاتر از سایر تیمارها بود و تیمار شاهد پایین‌تر از سایر تیمارها قرار داشت. شاخص ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد بالاتر از سایر تیمارها بود و تیمار ۳ (افزودن آنزیم ۱۲ ساعت قبل از ساخت) کم‌تر از سایر تیمارها قرار گرفت.

تعیین قابلیت هضم و جذب مواد مغذی: در انتهای آزمایش مدفوع ماهی به روش مالش جمع‌آوری شد. مقدار یک گرم از نمونه در داخل کورسیبل ریخته و سپس نمونه‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه نگهداری می‌گردند. نمونه‌ها به دسیکاتور منتقل شده و پس از توزین در داخل کوره به مدت ۶ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه قرار می‌گیرند. خاکستر پس از سرد شدن و حداقل رطوبت به ظروف ۱۰۰ میلی‌لیتری انتقال و مقدار ۶ میلی‌لیتر اسید سولفوریک به آن اضافه می‌شود. ظروف بر روی هیتر قرار گرفته و تا ۲۸۰ تا ۲۹۰ حرارت داده می‌شوند. وقتی حالت جوشیدن آن ثابت شد مقدار ۳ میلی‌لیتر برمید پتاسیم ۴/۵ درصد اضافه می‌شود و ادامه داده تا جوشیدن ادامه یابد و محلول به رنگ زرشکی غلیظ درآید و بخار سفید رنگ تولید نماید حرارت دادن ۲ تا ۳ دقیقه با کاهش آن ادامه و پس از خنک شدن محلول حاصل به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده می‌شود و سپس مقداری از آن را برداشته و با دستگاه اسپکتوفتومتری میزان اکسید کروم خوانده می‌شود (۱۸).

آنالیز آماری: طرح کلی این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به رشد و سایر پارامترها، با آزمون ANOVA

جدول ۴- نتایج شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای ماهی کپور تغذیه شده با جیره آزمایشی.

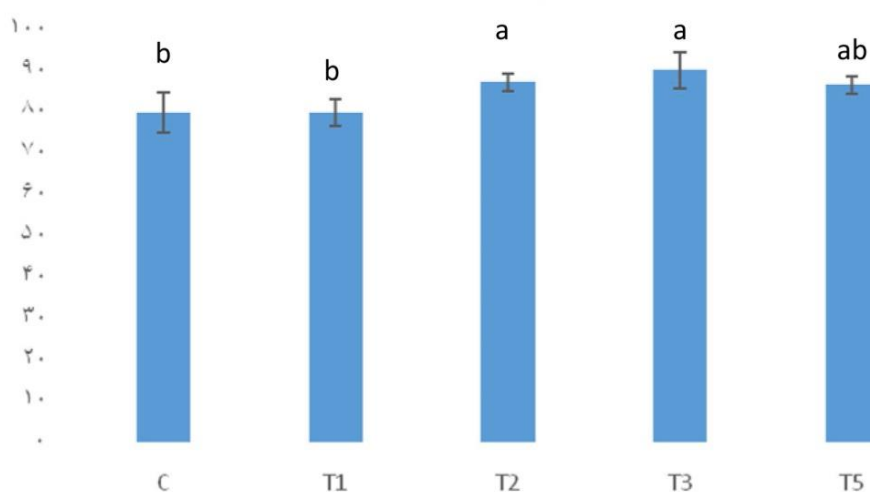
شاخص تیمار	وزن اولیه	وزن نهایی	درصد افزایش وزن	نرخ رشد ویژه	ضریب تبدیل	بقا
c (شاهد)	۷/۷۶±۰/۳	۱۷/۶۷±۰/۴۸ ^C	۱۲۷/۷۵±۲/۷۸ ^C	۱/۳۷±۰/۰۲ ^C	۲/۰۸±۰/۱۴ ^a	۹۳/۳۳±۶/۶۷
T1	۷/۹۳±۰/۳۷	۱۹/۰۲±۱/۱۹ ^{bc}	۱۳۹/۷۷±۹/۵۷ ^{bc}	۱/۴۶±۰/۰۷ ^{bc}	۱/۹۲±۰/۰۷ ^{ab}	۹۵/۵۶±۳/۸۵
T2	۷/۶۲±۰/۳۴	۲۰/۸۲±۱/۰۷ ^b	۱۷۳/۷۵±۲۲/۰۷ ^{ab}	۱/۶۷±۰/۱۳ ^{ab}	۱/۷۴±۰/۱۱ ^{bc}	۹۳/۳۳±۶/۶۷
T3	۷/۷۸±۰/۳	۲۳/۰۹±۱/۵ ^a	۱۹۷/۶۵±۳۰/۸۲ ^a	۱/۸۱±۰/۱۷ ^a	۱/۴۳±۰/۰۷ ^d	۹۵/۵۶±۷/۷
T4	۷/۶۹±۰/۴۱	۲۰/۶±۱/۱۶ ^b	۱۶۸/۹۲±۲۸/۳۸ ^C	۱/۶۴±۰/۱۸ ^{ab}	۱/۶۵±۰/۱۲ ^c	۹۳/۷۸±۷/۷

C: شاهد، T1: افزودن آنزیم بعد از ساخت، T2: افزودن آنزیم ۶ ساعت قبل ساخت، T3: افزودن آنزیم ۱۲ ساعت بعد از ساخت، T4: افزودن آنزیم ۲۴ ساعت بعد از ساخت، حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هستند ($P \leq 0/05$)، داده‌ها به صورت $ME \pm SD$ بیان شده‌اند

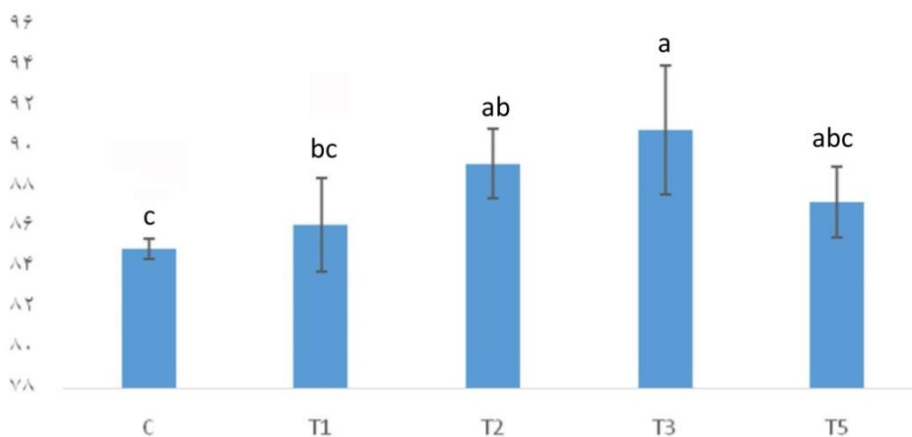
شد و بعد از آن تیمار ۲ (افزودن آنزیم ۶ ساعت قبل از ساخت) قرار داشت، تیمار شاهد نیز از سایر تیمارها کم‌تر بود. در نمودار ۳ داده‌های هضم ظاهری خاکستر جیره آمده است، بر اساس این نمودار اختلاف معنی‌دار در تیمارها مشاهده شد بدین‌صورت که هضم ظاهری خاکستر در تیمار ۳ (افزودن آنزیم ۱۲ ساعت قبل از ساخت) از سایر تیمارها بیش‌تر بود و بعد از آن تیمارهای ۲ و ۴ (افزودن آنزیم ۶ و ۲۴ ساعت قبل از ساخت) قرار داشتند و تیمارهای شاهد و ۱ (افزودن آنزیم پس از ساخت) پایین‌تر از سایر تیمارها بودند.

نتایج شاخص هضم ظاهری: در نمودار ۱ داده‌های هضم ظاهری پروتئین جیره آمده است. بر اساس این نمودار تفاوت معنی‌دار در این شاخص مشاهده شد ($P \leq 0/05$) به‌طوری‌که بالاترین میزان هضم ظاهری در تیمارهای ۲ و ۳ (افزودن آنزیم ۶ و ۱۲ ساعت قبل از ساخت) و کم‌ترین در تیمار ۱ (افزودن آنزیم بعد از ساخت) و شاهد مشاهده شد. داده‌های هضم ظاهری چربی در نمودار ۲ آمده است در این شاخص اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P \leq 0/05$) و بر این اساس میزان هضم ظاهری چربی در تیمار ۳ (افزودن آنزیم ۱۲ ساعت قبل از ساخت) بالاتر از سایر تیمارها مشاهده

هضم ظاهری پروتئین



هضم ظاهری چربی





C: شاهد، T1: افزودن آنزیم بعد از ساخت، T2: افزودن آنزیم 6 ساعت قبل ساخت، T3: افزودن آنزیم 12 ساعت بعد از ساخت، T4: افزودن آنزیم 24 ساعت بعد از ساخت، حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هستند ($P \leq 0.05$)، داده‌ها به صورت $ME \pm SD$ بیان شده‌اند

شکل ۱- هضم ظاهری پروتئین، چربی و خاکستر جیره ماهی کپور معمولی.

Adeoye و همکاران (۲۰۱۶) روی ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) و آنزیم‌های پروتئاز، فیتاز و کربوهیدراز Adeye و همکاران (۲۰۱۶a) روی ماهی تیلاپیا نیل و آنزیم‌های پروتئاز، فیتاز و زایلاناز و پروبیوتیک (*Bacillus subtilis*، *Bacillus pumilus* و *Bacillus licheniformis*) Monier (۲۰۱۹) روی ماهی کپور معمولی و مولتی آنزیم Hostazyme و Luo و همکاران (۲۰۲۰) روی ماهی کراکر زرد (*Larimichthys crocea*) و آنزیم زایلاناز مطالعه کردند مطابقت داشت اما با نتایج (۱۳) که روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و مولتی آنزیم Superzyme CS و Yigit و همکاران (۲۰۱۱) روی ماهی تیلاپیا نیل و آنزیم سلولاز مطالعه کردند مطابقت نداشت (۱۹).

میزان شاخص ضریب رشد ویژه، وزن نهایی و درصد افزایش وزن بدن در این تیمار از سایر تیمارها بالاتر بود و میزان شاخص FCR در تیمار ۳ از سایر تیمارها پایین‌تر بود. که نشان‌دهنده تأثیر مدت زمان

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به این‌که تغذیه نقش مهمی در رشد آبزیان دارد، استفاده از جیره غذایی با هضم‌پذیری مناسب نقش به‌سزایی در تامین نیازهای آبزی ایفا می‌کند. اما افزودن روزافزون کربوهیدرات به جیره موجب افزایش مواد ضدتغذیه‌ای آن خواهد شد و به‌تبع موجب کاهش راندمان می‌گردد. در این پژوهش ابتدا حداقل آنزیم موردنیاز برای هضم کربوهیدرات‌های آرد گندم و سویا جیره در آزمایشگاه با روش *reducing suger test by DNS* و در قدم دوم بهترین روش استفاده از آنزیم‌ها در جیره ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرار گرفت. در مطالعه حاضر پس از ۶۰ روز تغذیه ماهیان با جیره‌های آزمایشی نشان داد که با افزایش زمان افزودن آنزیم‌ها به غذای ماهی کپور تا ۱۲ ساعت شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای بهبود پیدا می‌کند و با دو برابر شدن این زمان به ۲۴ ساعت شاخص‌های رشد کاهش می‌یابد نتایج این مطالعه با نتایج Ghomi و همکاران (۲۰۱۱) روی فیل ماهی (*Huso huso*) و مولتی آنزیم *Kemin*®

هضم روی راندمان هضم دارد که با نتایج (۲۰، ۲۱، ۲۲) مطابقت دارد و با نتایج Dalsgaard و همکاران (۲۰۱۱) که روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و آنزیم‌های بی‌گلوکاناز، زایلاناز پروتئاز مطالعه کردند مطابقت ندارد (۱۴). بر اساس مطالعه‌های گذشته علت بهبود شاخص‌های رشد را افزایش دسترسی ماهی به مواد مغذی جیره به‌دلیل کاهش اثرات ضدتغذیه‌ای NSPها گزارش کردند و احتمالاً این عامل موجب بهبود راندمان رشد در این مطالعه شده است.

بر اساس مطالعات گذشته عموماً آنزیم‌ها با چربی مخلوط گشته و بعد از ساخت به غذا اضافه می‌شد که یکی از دلایل مهم حفظ آنزیم‌ها از عوامل مخرب پروسه ساخت غذا هم‌چون گرما می‌باشد. از آن‌جا که زمان یکی از عوامل مؤثر روی راندمان استفاده از آنزیم‌ها می‌باشد در این مطالعه مشخص گردید در تیمار افزودن آنزیم با چربی به نسبت تیمارهای افزودن آنزیم قبل از ساخت راندمان کم‌تری دارد که احتمالاً دلیل آن کم‌تر بودن زمان لازم برای هضم کربوهیدرات‌ها بوده است.

که بر اساس نتایج این مطالعه مشخص شد انتخاب روش صحیح اضافه کردن آنزیم‌ها همانند انتخاب صحیح ترکیب و نوع آنزیم‌ها روی شاخص‌های رشد مهم و تأثیرگذار می‌باشد. در این پژوهش در شاخص زنده‌مانی هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و تیمارهای مختلف مشاهده نشد که می‌تواند به‌دلیل شرایط مناسب تغذیه‌ای در تمامی تیمارها باشد. در مطالعه حاضر آنزیم‌ها بر روی میزان

هضم و جذب مؤثر بودند به‌طوری‌که بهترین میزان هضم ظاهری پروتئین، چربی و خاکستر در تیمار در تیمار ۳ (افزودن آنزیم ۱۲ ساعت قبل از ساخت) مشاهده شد که با نتایج (۱۴، ۲۲) همخوانی داشت. دلیل اختلاف به وجود آمده در تیمارها احتمالاً تغییر در مدت زمان هضم کربوهیدرات‌ها بوده است در نتیجه بر اساس یافته‌های این پژوهش افزایش میزان هضم دلیل بر افزایش راندمان نیست بلکه باید هضم بهینه متناسب با فیزیولوژی آبزی، نوع و مقدار کربوهیدرات و ترکیب آنزیمی را به دست آورد. به‌طورکلی استفاده از آنزیم‌های کربوهیدراتی موجب دسترسی بهتر آنزیم‌های هیدرولیزکننده صفرا و آنزیم‌های پروتئازی به سوبسترا شده است در نتیجه موجب تغییر در شاخص‌های هضم ظاهری، رشد و سلامتی آبزیان می‌گردد (۹).

بر اساس داده‌های به دست آمده از پژوهش حاضر این نتیجه حاصل شد که برای افزایش راندمان استفاده از جیره‌های حاوی کربوهیدرات بالا، می‌توان از آنزیم‌های کربوهیدرات‌سازی آلفا‌آمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز با ترکیب فوق را ۱۲ ساعت قبل از ساخت به اقلام گیاهی اضافه کرد و موجب بهبود راندمان شاخص‌های رشد، تغذیه‌ای و هضم ظاهری ماهی کپور معمولی شد، اما نیاز است روش‌های گذشته که عموماً بر اساس افزودن آنزیم به صورت اسپری استوار بود مورد بازنگری قرار گیرد و برای بهبود راندمان در مطالعات بعدی پیشنهاد می‌گردد از آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز نیز در جهت بهبود راندمان ترکیب آنزیمی استفاده گردد.

منابع

- 1.FAO. (2008). Yearbooks of fishery statistics. [http:// www.fao.org](http://www.fao.org). Cited: August 10. 2010.
- 2.Sinha, A. K., Kumar, V., Makkar, H. P., De Boeck, G., & Becker, K. (2011). Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition—A review. *Food Chemistry*, 127, 1409.
- 3.Allan, G. L., Parkinson, S., Booth, M. A., Stone, D. A., Rowland, S. J., Frances, J., & Warner-Smith, R. (2000). Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: I. Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture*, 186, 293-310.
- 4.Kuz'mina, V. V. (1996). Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts. *Aquaculture*, 148, 25-37.
- 5.Wong, D. W. (2013). Food enzymes: structure and mechanism. Springer Science & Business Media.
- 6.Bayer, E. A., Lamed, R., & Himmel, M. E. (2007). The potential of cellulases and cellulosomes for cellulosic waste management. *Current Opinion in Biotechnology*, 18, 237-245.
- 7.Krogdahl, Å., HEMRE, G., I., & Mommsen, T. P. (2005). Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture nutrition*, 11, 103-122.
- 8.Vahjen, W., Osswald, T., Schäfer, K., & Simon, O. (2007). Comparison of a xylanase and a complex of non starch polysaccharide-degrading enzymes with regard to performance and bacterial metabolism in weaned piglets. *Archives of animal nutrition*, 61, 90-102.
- 9.Stepanowska, K., & Sawika, A. (2006). The effect of feeding method on body weight gains, concentration of selected components in the blood, and peroxidation processes of carp, *Cyprinus carpio*. *Acta Ichthyologica Et Piscatorial*, 36, 25-29.
- 10.Lin, S., Mai, K., & Tan, B. (2007). Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture research*, 38, 1645-1653.
- 11.Luo, J., Li, Y., Jin, M., Zhu, T., Li, C., & Zhou, Q. (2020). Effects of dietary exogenous xylanase supplementation on growth performance, intestinal health, and carbohydrate metabolism of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. *Fish physiology and biochemistry*, 46, 1093-1110.
- 12.Monier, M. N. (2020). Efficacy of dietary exogenous enzyme supplementation on growth performance, antioxidant activity, and digestive enzymes of common carp, *Cyprinus carpio* fry. *Fish physiology and biochemistry*, 46, 713-723.
- 13.Ogunkoya, A. E., Page, G. I., Adewolu, M. A., & Bureau, D. P. (2006). Dietary incorporation of soybean meal and exogenous enzyme cocktail can affect physical characteristics of faecal material egested by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 254, 466-475.
- 14.Dalsgaard, J., Verlhac, V., Hjermitsev, N. H., Ekman, K. S., Fischer, M., Klausen, M., & Pedersen, P. B. (2011). Effects of exogenous enzymes on apparent nutrient digestibility in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* fed diets with high inclusion of plant-based protein. *Animal feed science and technology*, 171, 181-191.
- 15.Miller, G. L. (1959). Use of dinitro salicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31, 426-428.
- 16.Abedian Kenari, A., Sotoudeh, E., & Rezaei, M. H. (2011). Dietary soybean phosphatidylcholine affects growth performance and lipolytic enzyme activity in Caspian brown trout, *Salmo trutta Caspius* alevin. *Aquaculture Research*, 42, 655-663.
- 17.Castillo, S., & Gatlin, D. M. (2015). Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: a review. *Aquaculture*, 435, 286-292.
- 18.AOAC. (2005). Official method of Analysis.

19. Yigit, N. O., & Olmez, M. (2011). Effects of cellulase addition to canola meal in tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. *Aquaculture Nutrition*, 17, 494-500.
20. Adeoye, A. A., Jaramillo-Torres, A., Fox, S. W., Merrifield, D. L., & Davies, S. J. (2016). Supplementation of formulated diets for tilapia, *Oreochromis niloticus* with selected exogenous enzymes: Overall performance and effects on intestinal histology and microbiota. *Animal Feed Science and Technology*, 215, 133-143.
21. Ghomi, M. R., Shahriari, R., Langroudi, H. F., Nikoo, M., & von Elert, E. (2012). Effects of exogenous dietary enzyme on growth, body composition, and fatty acid profiles of cultured great sturgeon, *Huso huso* fingerlings. *Aquaculture International*, 20, 249-254.
22. Maas, R. M., Verdegem, M. C., Lee, C. N., & Schrama, J. W. (2021). Effects and interactions between phytase, xylanase and β -glucanase on growth performance and nutrient digestibility in Nile tilapia. *Animal Feed Science and Technology*, 271, 114767.