

## اثرات مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و عملکرد تولیدمثلی ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*)

- مهرداد عادلیان\*: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- محمدرضا ایمان‌پور: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- ولی‌اله جعفری: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۷

### چکیده

افزودن ترکیبات مختلف آنزیم‌ها به جیره غذایی یک راه بالقوه برای بهبود ارزش غذایی مواد مغذی است. مولتی آنزیم ناتوزیم دارای پروتاز، لیپاز، فیتاز، آلفا آمیلاز، سلولاز، آمیلوگلوکوسیداز، بتاگلوکاناز، پنتوسناز، همی سلولاز، زایلاناز، پکتیناز، اسیدفسفاتاز و اسیدفیتاز است، بنابراین به نظر می‌رسد جهت افزایش قابلیت هضم، از بین بردن عوامل ضد تغذیه‌ای و در نتیجه بهبود شاخص‌های رشد و عملکرد تولیدمثلی ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) می‌توان از مولتی آنزیم ناتوزیم استفاده کرد و به‌طور کلی وضعیت تغذیه را بهبود بخشید. هدف از این آزمایش استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی قرمز و بررسی اثرات آن بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و عملکرد تولیدمثلی است. جهت انجام این آزمایش از ماهیانی با میانگین وزنی  $0.03 \pm 0.06$  گرم استفاده شد و مولتی آنزیم ناتوزیم پلاس® (بیوپروتون، استرالیا) در ۵ تیمار ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا، به جیره غذایی اضافه شد. این مولتی آنزیم در سطح آنزیمی ۱ (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) بهترین افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، درصد افزایش وزن بدن و راندمان پروتئین را ایجاد کرد که با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ ) اما بر درصد بازماندگی تاثیری نداشت ( $P > 0.05$ ). مولتی آنزیم ناتوزیم در سطح آنزیمی ۲ (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) بالاترین میزان شاخص گنادوسوماتیک، هماوری، درصد لقاح و بازماندگی لاروی را ایجاد کرد که با گروه شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بودند ( $P < 0.05$ ) اما این مولتی آنزیم در هیچ‌یک از گروه‌های آزمایش تاثیری بر قابلیت تفریح و درصد تحرک اسپرم نداشت ( $P > 0.05$ ). پیشنهاد می‌گردد از این مولتی آنزیم در جیره غذایی ماهیانی که ارزش اقتصادی بالایی دارند، استفاده شود و عملکرد رشد و تولیدمثلی ماهی را بهبود بخشد.

**کلمات کلیدی:** شاخص‌های رشد، عملکرد تولیدمثلی، مولتی آنزیم ناتوزیم، ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*)



## مقدمه

ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) با فرهنگ و عقاید مردم در سراسر جهان عجین شده و یک ماهی بسیار مهم به لحاظ اقتصادی و تحقیقی است. هم‌چنین، ماهی قرمز گونه‌ای می‌باشد که به‌صورت گسترده در مطالعات تولیدمثلی و کنترل هورمونی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bjerselius و همکاران، ۱۹۹۵) و به‌عنوان یک مدل زیستی مناسب به‌شمار می‌رود. آنزیم‌های تجاری به‌طور خاص، ترکیبی از چندین نوع آنزیم هستند که روی انواع مختلفی از اجزاء تشکیل‌دهنده مواد غذایی، مؤثرند (Hastings، ۱۹۴۶؛ Moran و McGinnis، ۱۹۶۸؛ Åman و Pettersson، ۱۹۸۹؛ Ritz و همکاران، ۱۹۹۵). اخیراً آنزیم‌ها به‌عنوان افزودنی به جیره غذایی حیوانات، به‌طور گسترده استفاده می‌شود (Forster و همکاران، ۱۹۹۹؛ Selvaraj و همکاران، ۲۰۰۴). افزودن ترکیبات مختلف آنزیم‌ها به جیره غذایی یک راه بالقوه برای بهبود ارزش غذایی مواد مغذی است (Khalafalla و همکاران، ۲۰۱۰). مواد مغذی که توسط اووسیت‌ها دریافت می‌شوند، جریان عمل‌شان در طول رشد و بلوغ اووسیت‌ها از فاکتورهای کلیدی است که بر کیفیت تخم‌انرژی‌گذار می‌باشند (Craig و Harvey، ۱۹۸۴؛ Bromage و همکاران، ۱۹۹۲). آنزیم‌ها می‌توانند اثرات عوامل ضدتغذیه‌ای را از بین ببرند و سبب بهبود عملکرد در رشد ماهی شوند (Farhangi و Carter، ۲۰۰۷؛ Soltan، ۲۰۰۹). به‌عنوان مثال یکی از عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در جیره غذایی، ترکیبات فیتاتی می‌باشد. پیوندهای فیتات با یون‌های معدنی مثبت نظیر پتاسیم (K)، کلسیم (Ca)، روی (Zn)، آهن (Fe)، مس (Cu) و منگنز (Mg) باعث تشکیل ترکیب‌هایی با قابلیت جذب پایین می‌شود (Sardar و همکاران، ۲۰۰۷). علاوه بر این فیتات با پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه نیز پیوند برقرار می‌کند. آمین‌های موجود در کناره زنجیره آمینواسید موجب به‌وجود آمدن پیوند پروتئین فیتات و کاهش قابلیت هضم پروتئین‌ها می‌شود. یکی از آنزیم‌های موجود در برخی از مولتی آنزیم‌ها فیتاز می‌باشد. فیتاز یک آنزیم ویژه برای هیدرولیز کردن فیتات است. این آنزیم در دستگاه گوارش بسیاری از حیوانات وجود دارد، اما میزان آن به‌طور طبیعی پایین است و یا در حیوانات تک‌معدده‌ای وجود ندارد. در نتیجه قابلیت هضم فیتات کاهش می‌یابد و در نتیجه دسترسی به مواد معدنی، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه‌ها در جیره‌های غذایی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (Vielma و همکاران، ۲۰۰۴). بنابراین به‌نظر می‌رسد با به‌کارگیری مولتی آنزیم‌ها و افزایش جذب برخی از مواد ضروری مورد نیاز رسیدگی جنسی نظیر کلسیم و پروتئین می‌توان علاوه بر بهبود فاکتورهای رشد، عملکرد

تولیدمثلی را بهبود بخشید. مطالعات زیادی پیرامون آنزیم‌ها در جیره غذایی و اثربخشی آن‌ها بر رشد ماهی‌ها صورت گرفته است، مولتی آنزیم اندوفید در جیره غذایی کپورماهیان (*Cyprinus carpio*) (Shahsavani و Kazerani، ۲۰۱۱)، مولتی آنزیم کمین در جیره غذایی فیل‌ماهیان (*Huso huso*) (Ghomi و همکاران، ۲۰۱۲)، مولتی آنزیم کمزم در جیره غذایی ماهی قرمز (Wenbin و Aimin، ۲۰۰۶)، مولتی آنزیم‌های ناتوزیم و همی‌سل در جیره غذایی ماهی آزاد خزر (*Salmo trutta caspius*) (Zamini و همکاران، ۲۰۱۲)، آنزیم بتاگلوکاناز در جیره غذایی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Nie و همکاران، ۲۰۰۷)، مولتی آنزیم ضدپلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در جیره هیبرید تیلاپپا (*Oreochromis Niloticus* × *O. Aureus*) (Wen-ju و همکاران، ۲۰۰۸)، مولتی آنزیم آمیکوزایم در جیره غذایی بچه‌ماهیان انگشت‌قد تیلاپپای نیل (Khalafalla و همکاران، ۲۰۱۰)، مولتی آنزیم حاوی بتاگلوکاناز و پروتئاز در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Dalsgaard و همکاران، ۲۰۱۲)، مولتی آنزیم کمین در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (عادلین و همکاران، ۱۳۹۵)، مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (عادلین و همکاران، ۱۳۹۵). مطالعات اندکی در زمینه به‌کارگیری آنزیم‌ها در جیره غذایی و اثراتشان بر عملکرد تولیدمثلی در ماهی‌ها صورت گرفته است، به‌کارگیری ۰/۰۵٪ از آنزیم آمیکوزایم در جیره غذایی مولدین تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) به‌طور معنی‌داری سبب بهبود پارامترهای تولیدمثلی شد (Tahoun و همکاران، ۲۰۱۱). استفاده از مولتی آنزیم کمین در جیره غذایی ماهی کپور معمولی تفاوت معنی‌داری در شاخص گنادوسوماتیک ایجاد نکرد (عادلین و همکاران، ۱۳۹۲). استفاده از ۷۵۰ میلی‌گرم مولتی آنزیم ناتوزیم بر کیلوگرم از جیره غذایی ماهی کپور معمولی سبب افزایش معنی‌دار شاخص گنادوسوماتیک گردید (عادلین و همکاران، ۱۳۹۲). مولتی آنزیم ناتوزیم دارای پروتئاز، لیپاز، فیتاز، آلفا‌امیلاز، سلولاز، آمیلوگلوکوسیداز، بتاگلوکاناز، پنتوسوناز، همی سلولاز، زایلاناز، پکتیناز، اسیدفسفاتاز و اسیدفیتاز است (Zamini و همکاران، ۲۰۱۲). بنابراین به‌نظر می‌رسد جهت افزایش قابلیت هضم، از بین بردن عوامل ضدتغذیه‌ای و در نتیجه بهبود شاخص‌های رشد و عملکرد تولیدمثلی ماهی قرمز می‌توان از مولتی آنزیم ناتوزیم استفاده کرد و به‌طور کلی وضعیت تغذیه را بهبود بخشید. هدف از پژوهش حاضر به‌کارگیری مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی قرمز و بررسی اثرات آن بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و عملکرد تولیدمثلی است.



## مواد و روش‌ها

### ماهی و شرایط آزمایش: این آزمایش به صورت طرح کاملاً

تصادفی در پنج تیمار و سه تکرار در سالن تحقیقات آبی پروری شهید ناصرفضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. ماهی‌ها از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی در استان گیلان خریداری شدند و به مرکز تحقیقات آورده شدند. ماهیان پس از مواجهه با حمام آب نمک ۰.۲٪ (به مدت ۲۰ دقیقه) در ۱۵ آکواریم توزیع شدند. در هر آکواریم ۱۰ ماهی با میانگین وزنی  $5/56 \pm 0/03$  گرم قرار داده شدند. هر آکواریم تا حجم ۴۰ لیتر پرشد و هوادهی آکواریم‌ها به صورت ملایم انجام شد. ماهی‌ها به میزان ۰.۳٪ توده وزنی و روزی ۲ بار در ساعت ۹ و ۱۶ تغذیه شدند. جهت آداپته کردن ماهی‌ها، همه آن‌ها به مدت یک هفته از جیره غذایی بدون آنزیم تغذیه شدند و بعد از آن به ماهی‌ها به مدت ۳۶ هفته (از تیرماه ۹۵ تا فروردین ۹۶) جیره‌های آزمایشی داده شد. در طول مدت آزمایش علائم بیماری و یا تلفاتی در هیچ‌یک از گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد. جهت اندازه‌گیری میزان غذای مورد نیاز ماهیان، ماهیان هر دو هفته یک‌بار زیست‌سنجی شدند و میزان غذا، مطابق با افزایش وزن تنظیم گردید.

### افزودن آنزیم به جیره غذایی: برای انجام این آزمایش از جیره

تجاری (انرژی ۴۴۳۰۰۱، تایلند؛ رطوبت ۰.۱۲٪، پروتئین ۰.۴۱٪، چربی ۰.۶٪ و فیبر ۰.۲٪) استفاده شد و مولتی آنزیم ناتوزیم پلاس (بیوپروتون، استرالیا) در ۵ تیمار ۰، ۰.۲۵، ۰.۵، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا، به جیره غذایی اضافه شد. برای این کار، مولتی آنزیم با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت یک ده هزارم گرم توزین شد و بعد از آن هر گروه توزین شده، به صورت جداگانه در آب حل شد و سپس با استفاده از افشانه بر روی غذا اسپری شد. برای این که آبشویی به حداقل برسد، پودر ژلاتین (به میزان ۰.۲٪) به آب اضافه گردید و زمانی که پودر ژلاتین کاملاً در آب حل شد، با استفاده از افشانه بر روی غذاهایی که مولتی آنزیم به آن اضافه شده بود، اسپری شد (پودر ژلاتین در همه گروه‌ها به میزان برابر استفاده شد و همین مقدار به گروه شاهد نیز اضافه گردید). مولتی آنزیم ناتوزیم دارای ۱۳ آنزیم پروتئاز، لیپاز، فیتاز، آلفا آمیلاز، سلولاز، آمیلوگلوکوسیداز، بتاگلوکاناز، پنتوسناز، همی سلولاز، زایلاناز، پکتیناز، اسیدفسفاتاز و اسیدفیتاز بود (شرکت تولید کننده اطلاعاتی در مورد نسبت این آنزیم‌ها، در مولتی آنزیم ناتوزیم در اختیار قرار نداده است).

### محاسبه فاکتورهای رشد: در هر گروه، وزن اولیه و وزن نهایی

ماهی‌ها به صورت تک تک اندازه‌گیری شد و افزایش وزن (WG)، نرخ

رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، درصد افزایش وزن بدن (WGP) و راندمان پروتئین (PER) طبق Tiews و Castell (۱۹۸۰) به صورت ذیل محاسبه گردید:

$$WG = \text{Weight Gain} = W_f - W_i$$

Wf: وزن نهایی (گرم) و Wi: وزن اولیه (گرم)

$$\text{SGR} = \text{Specific Growth Rates} = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{t} \times 100$$

LnWf: لگاریتم طبیعی وزن نهایی (گرم)، LnWi: لگاریتم طبیعی وزن اولیه (گرم) و t: مدت آزمایش (روز)

$$\text{FCR} = \text{Feed conversion Ratio} = \frac{F}{W_f - W_i}$$

F: وزن خشک غذای داده شده (گرم)، Wf: وزن نهایی (گرم) و Wi: وزن اولیه (گرم)

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

Wf: وزن نهایی (گرم) و Wi: وزن اولیه (گرم)

$$\text{PER} = \text{Protein Efficiency Ratio} = \frac{BW_f - BW_i}{AP}$$

Wf: وزن نهایی (گرم)، Wi: وزن اولیه (گرم) و P: میزان پروتئین استفاده شده در جیره (گرم)

درصد بازماندگی طبق فرمول زیر محاسبه شد (Needham و Laird، ۱۹۸۸):

$$\text{SR} = \text{Survival Rate} = \frac{N_f}{N_i} \times 100$$

Nf: تعداد نهایی ماهیان و Ni: تعداد اولیه ماهیان

### فاکتورهای تولیدمثلی: ابتدا ماهیان مولد در عصاره گل میخک

(اوزینول) بی‌هوش شدند و وزن هر ماهی با استفاده از ترازو (با دقت ۰/۰۱ گرم) اندازه‌گیری شد و پس از استخراج تخمدان ماهی، وزن ماهی و تخمدان ماهی توزین گردید. شاخص گنادوسوماتیک توسط فرمول زیر محاسبه شد (Biswas، ۱۹۹۳):

$$\text{GSI} = \text{Gonadosomatic Index} = \frac{WG}{WB} \times 100$$

WG: وزن تخمدان و WB: وزن بدن

طبق فرمول‌های زیر هم‌آوری مطلق، هم‌آوری نسبی و هم‌آوری کاری محاسبه شد (ایمانپور و زادمجید، ۱۳۸۸):

تعداد کل تخمک‌های موجود در بدن هر ماهی ماده = هم‌آوری مطلق (AF = Absolute Fecundity)

تعداد کل تخمک‌های موجود در بدن هر ماهی ماده = هم‌آوری نسبی (RF = Relative Fecundity)

وزن ماهی ماده

تعداد تخمک‌های دارای قابلیت باروری = هم‌آوری کاری (WF = Working Fecundity)

طبق فرمول زیر درصد لقاح محاسبه شد (Gonzales Jr، ۲۰۱۲):

$$\text{FR} = \text{Fertilization Rate} = \frac{\text{تعداد تخم‌های لقاح یافته}}{\text{تعداد کل تخمک‌های رهاسازی شده}} \times 100$$



ANOVA) مورد بررسی قرار گرفتند و برای مقایسه میانگین بین تیمارها، از تست دانکن استفاده شد ( $P < 0.05$ ).

## نتایج

**فاکتورهای رشد:** با توجه به جدول ۱ بالاترین میزان افزایش وزن در سطوح آنزیمی ۱ و ۲ ایجاد گردید که با سطوح آنزیمی ۳، ۴ و گروه شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بودند ( $P < 0.05$ ). نرخ رشد ویژه در سطوح آنزیمی ۱، ۲ و ۳ به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است ( $P < 0.05$ ) اما سطح آنزیمی ۴ با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). ضریب تبدیل غذایی در سطوح آنزیمی ۱ و ۲ به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش داشت ( $P < 0.05$ ). بالاترین درصد افزایش وزن بدن و راندمان پروتئین در سطوح آنزیمی ۱ و ۲ ایجاد گردید که به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش داشت ( $P < 0.05$ ) اما سطوح آنزیمی ۳ و ۴ نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $P > 0.05$ ). درصد بازماندگی در هیچ‌یک از گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر نداشتند ( $P > 0.05$ ).

قابلیت تفریح و بازماندگی لاروی طبق فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Jaya-Ram و همکاران، ۲۰۰۸):

$$\text{تعداد کل تخم‌های تفریح شده} \times 100 = \frac{\text{تعداد کل تخم‌ها}}{\text{تعداد کل تخم‌های تفریح شده}} \times 100$$

(H = Hatchability) قابلیت تفریح

$$\text{بازماندگی لاروی (LS = Larval Survival)} = \frac{\text{تعداد کل لاروهای آزاد در حال شنا (شش روز پس از لقاح)}}{\text{تعداد کل تخم‌های تفریح شده}} \times 100$$

طول دوره تحرک اسپرم با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست انجام شد (Cosson و همکاران، ۲۰۰۰). سمن با رقیق کننده (آب مقطر) به نسبت ۱ به ۲۰۰۰ در میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتی‌گراد) رقیق شد و حرکت اسپرم با تأخیر زمانی کم‌تر از ۷ ثانیه بعد از شروع فعالیت اسپرم توسط دوربین متصل به میکروسکوپ ثبت گردید و تا زمانی که صد درصد اسپرم‌ها از تحرک باز ایستادند با دوربین تصویربرداری شد. در ادامه با استفاده از نرم‌افزار Adobe Premiere Pro CS5 هر ثانیه به ۶ فریم تبدیل شد و با مقایسه دو فریم متوالی، درصد تحرک اسپرم محاسبه گردید (Turner و Montgomerie، ۲۰۰۲).

**آنالیز داده‌ها:** داده‌های حاصل از این پژوهش به‌وسیله نرم‌افزار SPSS۲۴، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way

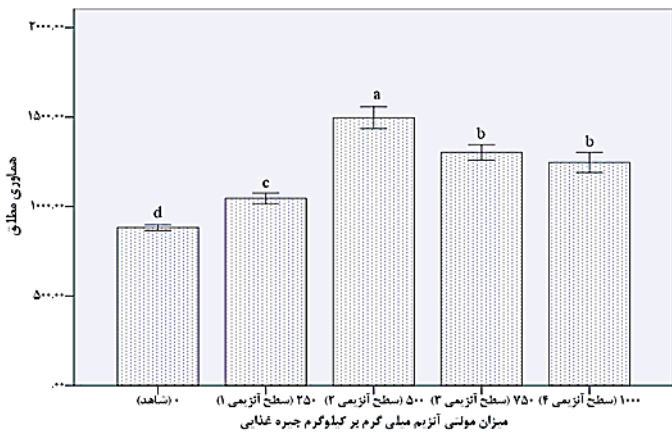
جدول ۱: اثر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزیم بر فاکتورهای رشد و بازماندگی

میزان آنزیم (میلی‌گرم در کیلوگرم) پارامتر	۰ (شاهد)	۲۵۰ (سطح آنزیمی ۱)	۵۰۰ (سطح آنزیمی ۲)	۷۵۰ (سطح آنزیمی ۳)	۱۰۰۰ (سطح آنزیمی ۴)
وزن اولیه (گرم)	۵/۵۳±۰/۰۸ <sup>a*</sup>	۵/۵۹±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۵/۵۷±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۵/۵۴±۰/۱۰ <sup>a</sup>	۵/۵۲±۰/۰۸ <sup>a</sup>
وزن نهایی (گرم)	۱۵/۵۹±۰/۲۲ <sup>c</sup>	۱۸/۴۷±۰/۱۸ <sup>a</sup>	۱۸/۶۶±۰/۱۲ <sup>a</sup>	۱۷/۱۷±۰/۴۹ <sup>b</sup>	۱۶/۹۹±۰/۱۶ <sup>b</sup>
افزایش وزن (WG) (گرم)	۱۰/۰۶±۰/۱۴ <sup>c</sup>	۱۲/۸۸±۰/۲۶ <sup>a</sup>	۱۳/۰۹±۰/۱۵ <sup>a</sup>	۱۱/۶۳±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۱۱/۴۷±۰/۰۷ <sup>b</sup>
نرخ رشد ویژه (SGR) (درصد/روز)	۱/۵۹±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۱/۸۳±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۱/۸۶±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۷۳±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۱/۷۲±۰/۰۱ <sup>ab</sup>
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۱/۷۱±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۵۲±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۱/۵۰±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۵۹±۰/۰۶ <sup>ab</sup>	۱/۶۰±۰/۰۱ <sup>ab</sup>
درصد افزایش وزن بدن (WGP) (درصد)	۱۸۱/۶۱±۰/۳۵ <sup>b</sup>	۲۳۰/۳۱±۷/۹۶ <sup>a</sup>	۲۳۵/۰۵±۴/۲۱ <sup>a</sup>	۲۰۹/۹۰±۱۴/۸۸ <sup>ab</sup>	۲۰۷/۴۰±۱۶/۶۴ <sup>ab</sup>
راندمان پروتئین (PER)	۱/۴۲±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۱/۵۹±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۱/۶۲±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۵۳±۰/۰۶ <sup>ab</sup>	۱/۵۱±۰/۰۱ <sup>ab</sup>
درصد بازماندگی (SR) (درصد)	۱۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>

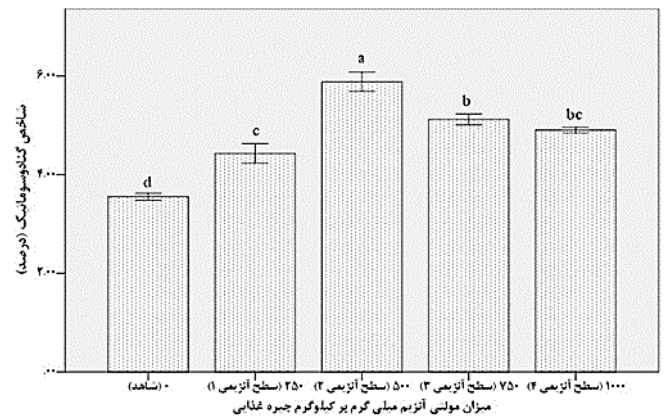
\* حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف، بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف خطا می‌باشد.

مولتی آنزیم ناتوزیم به جیره غذایی سبب افزایش معنی‌دار در قابلیت تفریح نگردید ( $P < 0.05$ ). شکل ۷ نشان می‌دهد که بیش‌ترین درصد بازماندگی لاروی در سطح آنزیمی ۲ ایجاد شد که با دیگر گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ ). طول دوره تحرک اسپرم (شکل ۸) در سطوح آنزیمی ۱، ۲ و ۳ بیش‌تر از دیگر گروه‌ها بودند و با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشتند ( $P < 0.05$ ). شکل ۹ نشان می‌دهد که افزودن این مولتی آنزیم به جیره غذایی تفاوت معنی‌داری در درصد تحرک اسپرم ایجاد نکرد ( $P < 0.05$ ).

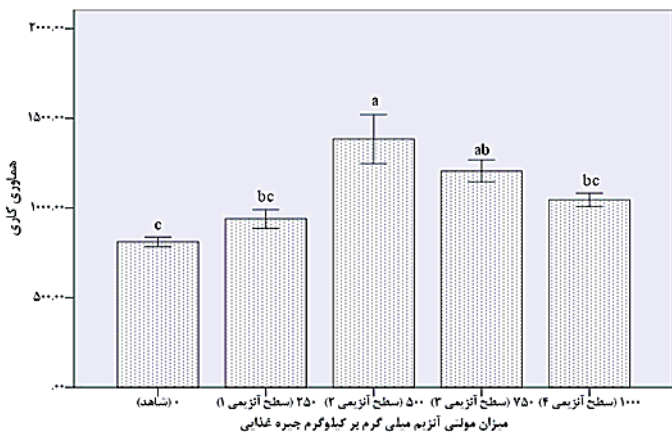
**فاکتورهای تولیدمثلی:** با توجه به شکل ۱ بیش‌ترین درصد گنادوسوماتیک در سطح آنزیمی ۲ ایجاد شد که با دیگر گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ ). در شکل‌های ۲، ۳ و ۴ بالاترین میزان هم‌آوری در سطح آنزیمی ۲ ایجاد گردید که با گروه شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). درصد لقاح (شکل ۵) در سطح آنزیمی ۲ بیش‌تر از دیگر گروه‌ها بود و نسبت به دیگر گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ ). با توجه به شکل ۶ افزودن



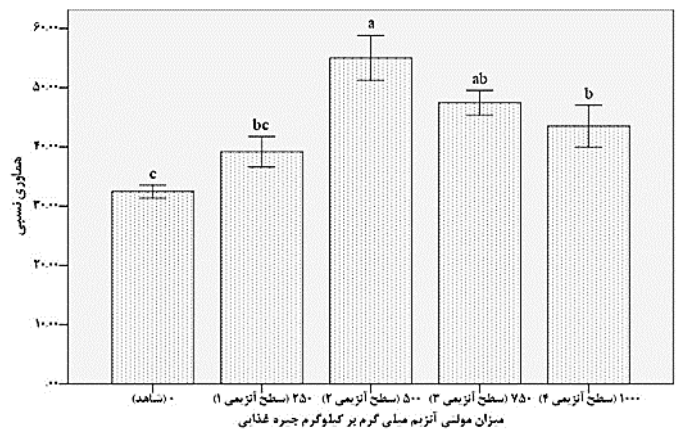
شکل ۲: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزیم بر هم آوری مطلق



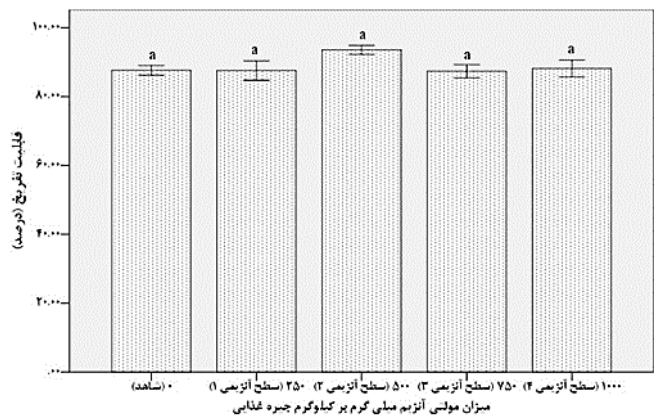
شکل ۱: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزیم بر شاخص گنادوسوماتیک



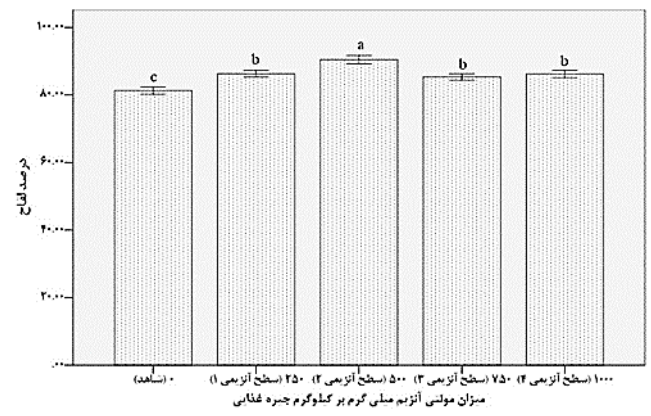
شکل ۴: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزیم بر هم آوری کاری



شکل ۳: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزیم بر هم آوری نسبی



شکل ۶: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزیم بر قابلیت تفریح

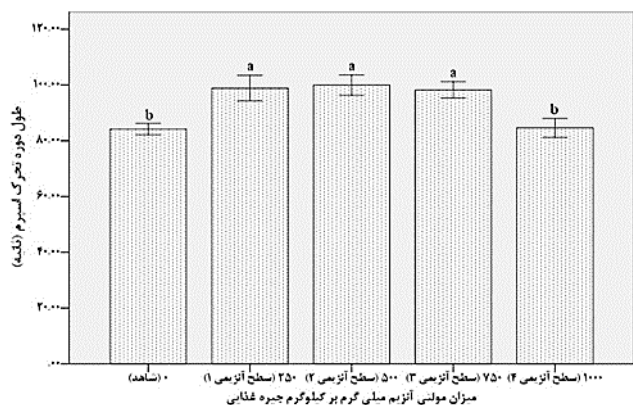


شکل ۵: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزیم بر درصد لقاخ

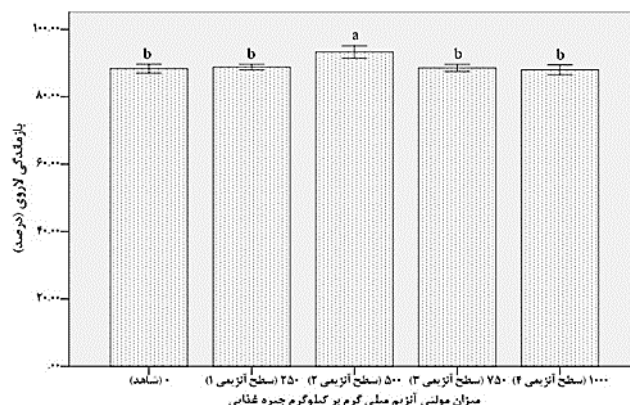
حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد. داده ها به صورت میانگین ± انحراف خطا می باشد.



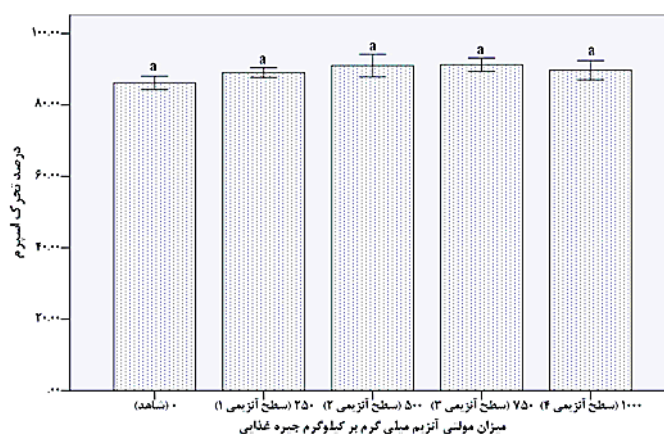




شکل ۸: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزیم بر طول دوره تحرک اسپرم



شکل ۷: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزیم بر بازماندگی لاروی



شکل ۹: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی آنزیم ناتوزیم بر درصد تحرک اسپرم

حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف خطا می باشد.

## بحث

### فاکتورهای رشد

**افزایش وزن:** استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم در سطوح آنزیمی ۱ و ۲ بیشترین افزایش وزن را ایجاد کرد که با گروه شاهد تفاوت معنی دار داشت ( $P < 0/05$ ). اما افزایش وزن در این دو سطح آنزیمی با هم تفاوت معنی دار نداشتند ( $P < 0/05$ ), بنابراین می توان بیان نمود که بهترین افزایش وزن در سطح آنزیمی ۱ (۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد گردید اما در سطوح آنزیمی بالاتر (سطوح آنزیمی ۳ و ۴) میزان افزایش وزن نسبت به سطوح آنزیمی ۱ و ۲ کاهش یافت. برخی یافته‌ها با تحقیق حاضر هم‌سو بود، Zamini و همکاران (۲۰۱۲) در آزمایشی از مولتی آنزیم‌های ناتوزیم و همی سل در جیره غذایی

ماهی آزاد دریای خزر (*salmo trutta caspius*) استفاده کردند که بالاترین میزان رشد در گروهی بود که از ۰/۵ گرم ناتوزیم + ۰/۵ گرم همی سل به‌ازای هر کیلوگرم جیره غذایی استفاده شده بود. در تحقیقی عادلین و همکاران (۱۳۹۵) از مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) استفاده کردند و بیان نمودند که استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم به ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم جیره غذایی بالاترین میزان رشد را ایجاد نمود. Ghomi و همکاران (۲۰۱۲) با به‌کارگیری مولتی آنزیم کمین در جیره فیل ماهیان (*Huso huso*) نشان دادند که این مولتی آنزیم به‌میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم جیره غذایی سبب افزایش وزن بدن در این ماهیان می‌گردد اما سطوح آنزیمی بالاتر (۷۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) سبب کاهش وزن نهایی می‌گردد. Amin و همکاران (۲۰۰۶)

کمترین ضریب تبدیل غذایی را ایجاد کرد. Khalafalla و همکاران (۲۰۱۰) بیان نمودند که استفاده از مولتی آنزیم آمیکوزایم در سطوح ۰/۵٪ و ۰/۱٪ در جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد تیلایابی نیل (*Oreochromis niloticus*) موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی گردید. این یافته‌ها با پژوهش حاضر هم‌سو بود.

#### درصد افزایش وزن: بیشترین درصدافزایش وزن بدن در سطوح

آنزیمی ۱ و ۲ (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) مشاهده شد. این پژوهش با یافته‌های Zamini و همکاران (۲۰۱۲) و عادلان و همکاران (۱۳۹۵) هم‌سو بود. به‌کارگیری مولتی آنزیم‌ها در جیره غذایی سبب افزایش ترشح آنزیم‌های درونی ماهیان می‌گردد (Weerd, ۱۹۹۹; Ng و Chen, ۲۰۰۲). بنابراین به‌نظر می‌رسد علاوه بر مولتی آنزیم‌ها، افزایش ترشح آنزیم‌های درونی نیز باعث بهبود رشد در ماهیان شده و درصد افزایش وزن بیش‌تر می‌شود.

#### راندمان پروتئین: بالاترین راندمان پروتئین در سطوح آنزیمی

۱ و ۲ (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) مشاهده شد. در پژوهشی Lin و همکاران (۲۰۰۷) بیان نمودند که استفاده از مولتی آنزیم حاوی پروتئاز، بتاگلوکاناز و زایلاناز در جیره غذایی هیبرید ماهی تیلایابی (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) سبب افزایش ابقای پروتئین می‌شود. در تحقیقی Khalafalla و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند که استفاده از مولتی آنزیم آمیکوزایم در سطوح ۰/۵٪ و ۰/۱٪ در جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد تیلایابی نیل (*Oreochromis niloticus*) سبب افزایش معنی‌دار راندمان پروتئین نسبت به گروه شاهد می‌شود. به‌نظر می‌رسد آنزیم پروتئاز با تجزیه پروتئین موجود در جیره غذایی، سبب افزایش جذب پروتئین شده و راندمان پروتئین را بهبود می‌بخشد علاوه بر این، فیتاز موجود در مولتی آنزیم ناتوزیم با تجزیه فیتات که یکی از عوامل ضدتغذیه‌ای است، جذب پروتئین را افزایش می‌دهد.

#### درصد بازماندگی: با توجه به یافته‌های این پژوهش مولتی آنزیم

ناتوزیم تأثیری بر درصد بازماندگی ماهی قرمز نداشت. Khalafalla و همکاران (۲۰۱۰) بیان نمودند که استفاده از مولتی آنزیم آمیکوزایم در جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد تیلایابی نیل (*Oreochromis niloticus*) تأثیری بر درصد بازماندگی نداشت. Tahoun و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که آنزیم آمیکوزایم در جیره غذایی مولدین تیلایابی نیل بر درصد بازماندگی تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد. Ai و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از جیره حاوی آنزیم‌های گلوکاناز، پنتوزاناز و سلولاز بیان نمودند که استفاده از این تیمار آنزیمی در جیره باس دریایی ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) در میزان درصد بازماندگی

بیان نمودند که استفاده مولتی آنزیم کمز در مقادیر بین ۷۵۰-۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی به‌طور معنی‌داری سبب بهبود رشد ماهی قرمز شد ولی استفاده از مقادیر بیش‌تر سبب کاهش رشد گردید، این کاهش عملکرد رشد که در نتیجه افزودن مولتی آنزیم‌ها بیش‌تر از مقادیر مشخصی حاصل می‌گردد، کاملاً با پژوهش حاضر هم‌سو بود. به‌نظر می‌رسد افزودن مولتی آنزیم بیش از حد بهینه باعث ایجاد اثرات سوء در فرایند هضم شده و رشد ماهی کاهش می‌یابد. برخی از یافته‌ها با پژوهش حاضر هم‌خوانی نداشت، تبریزی و همکاران (۱۳۹۰) اثرات سطوح مختلف مولتی آنزیم کمین+ فیتاز را بر عملکرد رشد و میزان بقای ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرواری مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند که این مولتی آنزیم بر افزایش وزن تأثیری نداشت. این عدم هم‌خوانی می‌تواند به‌دلیل تفاوت در دمایی باشد که این ماهی در آن پرورش داده می‌شود چون آنزیم‌ها برای ایجاد بیش‌ترین فعالیت به دمایی اپتیمم نیازمندند (Hidalgo و همکاران، ۱۹۹۹).

#### نرخ رشد ویژه: در این پژوهش سطوح آنزیمی ۱، ۲ و ۳ (۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) بهترین نرخ رشد ویژه

را ایجاد نمود که با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ). اما این سه سطح آنزیمی باهم تفاوت معنی‌دار نداشتند ( $P > 0/05$ ). بنابراین بهترین نرخ رشد ویژه در سطح آنزیمی ۱ ایجاد گردید. تحقیق حاضر با پژوهش‌های Ghomi و همکاران (۲۰۱۲)، Amin و همکاران (۲۰۰۶) و عادلان و همکاران (۱۳۹۵) هم‌خوانی داشت، هم‌چنین این یافته‌ها کاهش نرخ رشد ویژه در اثر افزودن مولتی آنزیم بیش‌ازحد بهینه را بیان کردند که با تحقیق حاضر هم‌سو بود. Kumar و همکاران (۲۰۰۶) با به‌کارگیری آنزیم آمیلاز در جیره غذایی بچه ماهیان انگشت قد کپور روهو (*Labeo rohita*) گزارش کردند که این آنزیم تأثیر معنی‌داری بر رشد ماهیان نداشت ( $P > 0/05$ ). هم‌چنین Thongprajukaew و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از آنزیم کربوهیدراز در جیره ماهی جنگو (*Betta splendens* Regan) بیان نمودند که استفاده از این آنزیم در جیره سبب افزایش معنی‌دار نرخ رشد ویژه در ماهیان نشد ( $P > 0/05$ ). این عدم هم‌خوانی ممکن است به‌دلیل عدم استفاده از آنزیم‌های مناسب، متنوع و تعداد کم آنزیم‌ها باشد.

#### ضریب تبدیل غذایی: مولتی آنزیم ناتوزیم کم‌ترین ضریب تبدیل

غذایی را در سطح آنزیمی ۱ و ۲ ایجاد نمود. با توجه به عدم معنی‌داری این دو سطح آنزیمی، بهترین ضریب تبدیل غذایی در سطح آنزیمی ۱ (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد گردید. Yildirim و Turan (۲۰۱۰) گزارش نمودند که استفاده از ۷۵۰ میلی‌گرم مولتی آنزیم فارمازیم در جیره غذایی گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*)



جیره غذایی اثر مثبت داشت. این گزارش با تحقیق حاضر هم‌سو بود. Duray و همکاران (۱۹۹۴) در طی آزمایشی گزارش کردند که افزایش چربی جیره غذایی مولدین خرگوش ماهی (*Siganus guttatus*) منجر به افزایش هم‌آوری و تفریح گردید. بنابراین به‌نظر می‌رسد در تحقیق حاضر مولتی آنزیم ناتوزیم با دارا بودن لیباز، جذب چربی را در این ماهی افزایش داده و سبب افزایش هم‌آوری می‌گردد.

**درصد لقاح:** باتوجه به شکل ۵ بالاترین درصد لقاح در سطح آنزیمی ۲ (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد شد که با دیگر گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ). تغذیه مولدین عامل مهمی است که علاوه بر هم‌آوری و گامتوژنیز، بر کیفیت گامت نیز تاثیر می‌گذارد (Brooks و همکاران، ۱۹۹۷؛ Izquierdo و همکاران، ۲۰۰۱). به‌نظر می‌رسد مولتی آنزیم ناتوزیم با اثرگذاری بر کیفیت تغذیه مولدین می‌تواند درصد لقاح که یکی از پارامترهای کیفی گامت است را افزایش دهد.

**قابلیت تفریح:** در شکل ۶، اگرچه قابلیت تفریح در سطح آنزیمی ۲ (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) نسبت به دیگر گروه‌ها بالاتر بود اما در هیچ یک از گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌داری حاصل نشد ( $P > 0/05$ ). مهم‌ترین فاکتورهای محیطی اثرگذار بر کیفیت تخمک، شامل شرایط غذایی مولدان و شرایط فیزیکی و شیمیایی آب (دما، pH، شوری، سختی آب و ...) در طول دوره انکوباسیون اند (ایمانپور و زادمجید، ۱۳۸۸). در تحقیق حاضر گروه شاهد نیز قابلیت تفریح بالایی داشت. به‌نظر می‌رسد ماهی قرمز نسبت به فاکتورهای محیطی اثرگذار بر قابلیت تفریح، حساسیت کم‌تری داشته و در نتیجه تمامی گروه‌های مورد آزمایش درصد تفریح بالایی داشتند.

**بازماندگی لاروی:** همان‌طور که شکل ۷ نشان می‌دهد بالاترین درصد بازماندگی لاروی در سطح آنزیمی ۲ (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد شد که با دیگر گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ). منابع انرژی و پروتئینی یکی از نیازهای ضروری هر نوع ماهی است که برای نگه‌داری، رشد و تولیدمثل لازم است (Reidel و همکاران، ۲۰۱۰). از طرف دیگر ترکیبات متفاوت تخمک همانند چربی‌ها، اسیدهای چرب، پروتئین و اسیداسکوربیک روی کیفیت تخمک و بقای لاروها تأثیر می‌گذارد (ایمانپور و زادمجید، ۱۳۸۸) این گزارش با آزمایش حاضر هم‌خوانی داشت. برخی از مواد معدنی مانند فسفر و دیگر جنبه‌های مواد مغذی مانند کیفیت پروتئین، برای تولیدمثل ماهی اهمیت دارند (Izquierdo و همکاران، ۲۰۰۱). افزودن فیتاز به جیره غذایی باعث جذب بیش‌تر غذا، رشد بیش‌تر، تبدیل غذایی موثرتر نسبت به گروه شاهد در گربه‌ماهی کانال گردید و نیز

تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد، این یافته‌ها با تحقیق حاضر هم‌خوانی داشت. Zamini و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که ۰/۵ گرم ناتوزیم + ۰/۵ گرم همی‌سل به‌ازای هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر (*salmo trutta caspius*) سبب افزایش معنی‌دار درصد بازماندگی نسبت به گروه شاهد گردید ( $P < 0/05$ ) این تحقیق با پژوهش حاضر مطابقت نداشت. به‌نظر می‌رسد در ماهیانی که نسبت به شرایط محیطی حساس‌ترند، استفاده از آنزیم‌ها و اثراتشان بر درصد بازماندگی ملموس‌تر باشد.

### – فاکتورهای تولیدمثلی

**شاخص گنادوسوماتیک:** در شکل ۱۱ اگرچه تمامی سطوح آنزیمی (سطوح آنزیمی ۱، ۲، ۳ و ۴) نسبت به گروه شاهد در شاخص گنادوسوماتیک تفاوت معنی‌دار داشتند ( $P < 0/05$ ) اما بالاترین درصد گنادوسوماتیک در سطح آنزیمی ۲ (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد گردید که به‌جز سطح آنزیمی ۳ (۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی)، با دیگر گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ) بنابراین می‌توان نتیجه گرفت بهترین سطح آنزیمی که بالاترین شاخص گنادوسوماتیک را ایجاد می‌کند و به‌لحاظ اقتصادی مناسب می‌باشد، سطح آنزیمی ۲ است. عادلین و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که به‌کارگیری ۷۵۰ میلی‌گرم مولتی آنزیم ناتوزیم بر کیلوگرم از جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) سبب افزایش معنی‌دار شاخص گنادوسوماتیک گردید. این تحقیق با پژوهش حاضر هم‌خوانی داشت. Khalafalla و همکاران (۲۰۱۰) در پژوهشی بیان کردند که استفاده از آنزیم آمیکوزایم در سطوح ۰/۵٪ و ۱٪ در جیره غذایی بچه‌ماهیان انگشت‌قد تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) موجب افزایش شاخص گنادوسوماتیک گردید که با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ). این تحقیق با پژوهش حاضر مطابقت داشت. در آزمایشی عادلین و همکاران (۱۳۹۲) با به‌کارگیری مولتی آنزیم کمین در جیره غذایی ماهی کپور معمولی نتیجه گرفتند این مولتی آنزیم در شاخص گنادوسوماتیک تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد. این یافته با تحقیق حاضر هم‌سو نبود. ممکن است این عدم هم‌خوانی به‌دلیل استفاده از مولتی آنزیم‌های متفاوت باشد.

**هم‌آوری:** همان‌طور که شکل‌های ۲، ۳ و ۴ نشان می‌دهند، بالاترین میزان هم‌آوری مطلق، هم‌آوری نسبی و هم‌آوری کاری در سطح آنزیمی ۲ (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد گردید که با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ). در تحقیقی Tahoun و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که مولتی آنزیم آمیکوزایم بر عملکرد تولیدمثلی (هم‌آوری مطلق و هم‌آوری نسبی) تیلاپای نیل، به‌واسطه افزایش انرژی در دسترس، از مواد غیرپروتئینی ترکیبات



## تشکر و قدردانی

نویسنده بر خود لازم دانسته از سرکار خانم الناز جهاندار فرد که با تحمل زحمات فراوان حق زیادی بر تحقیق دارند، تشکر و سپاسگزاری نماید.

## منابع

- ایمان پور، م.ر. و زادمجید، و.، ۱۳۸۸. مقدمه‌ای بر تکثیر ماهیان. انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۹۰ صفحه.
- تبریزی، م.؛ نجاتی، م.؛ نوتاش، ش. و میرزایی، ح.، ۱۳۹۰. تأثیر سطوح مختلف مولتی آنزیم بر عملکرد و میزان بقاء ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز. دوره ۵، شماره ۱، صفحات ۱۱۱۰ تا ۱۱۰۳.
- عادلیان، م.؛ ایمان پور، م.؛ تقی‌زاده، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۲. استفاده از مولتی آنزیم کمین در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر آن بر شاخص گنادوسوماتیک (GSI). دومین همایش ملی شیلات و آبزیان ایران. دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس.
- عادلیان، م.؛ ایمان پور، م.؛ تقی‌زاده، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۲. استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر آن بر شاخص گنادوسوماتیک (GSI). دومین همایش ملی شیلات و آبزیان ایران. دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس.
- عادلیان، م.؛ ایمان پور، م.؛ تقی‌زاده، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۵. استفاده از مولتی آنزیم کمین در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و اثرات آن بر شاخص‌های رشد و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون. فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۸، شماره ۱، صفحات ۲۰۱ تا ۲۰۶.
- عادلیان، م.؛ ایمان پور، م.؛ تقی‌زاده، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۵. استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و اثرات آن بر شاخص‌های رشد و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون. فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۸، شماره ۲، صفحات ۲۰۷ تا ۲۱۴.
- Ai, Q.; Kangsen, M.; Wenbing, Z.; Wei, X.; Beiping, T.; Chunxiao, Z. and Huitao, L., 2007. Effects of Exogenous Enzymes (Phytase, Non-Starch Polysaccharide Enzyme) in Diets on Growth, Feed Utilization, Nitrogen and Phosphorus Excretion of Japanese Seabass, *Lateolabrax Japonicus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. Vol. 147, No. 2, pp: 502-508.
- Aimin, W. and Liu, W., 2006. Effects of Exogenous Enzymes on the Growth and Apparent Digestibility of Allotrogenetic Crucian Carp Fingerlings. Feed Industry. Vol. 2, No: 8, pp: 45-56.
- Biswas, S.P., 1993. Manual of Methods in Fish Biology. South Asian Publishers.
- Bjerselius, R.; Hákan, O. and Wenbin, Z., 1995. Endocrine, Gonadal and Behavioral Responses of Male Crucian Carp to the Hormonal Pheromone 17a, 20β

بار فسفر موجود در مواد دفعی کاهش یافت (Jackson و همکاران، ۱۹۹۶). پس می‌توان نتیجه گرفت مولتی آنزیم ناتوزیم با داشتن آنزیم فیتاز عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در جیره غذایی را کم کرده و سبب افزایش جذب پروتئین و مواد معدنی نظیر فسفر می‌گردد. علاوه بر این با داشتن پروتئاز و لیپاز جذب پروتئین و چربی افزایش یافته و در نتیجه میزان چربی و پروتئین تخمک افزایش می‌یابد و سبب افزایش بازماندگی لاروی می‌گردد.

**طول دوره تحرک اسپرم:** شکل ۸ نشان می‌دهد که افزودن این مولتی آنزیم به جیره غذایی در سطوح آنزیمی ۱، ۲ و ۳ طول دوره تحرک اسپرم را تحت تأثیر قرار داد و سبب افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد گردید ( $P < 0/05$ ) اما این سه سطح آنزیمی (سطوح آنزیمی ۱، ۲ و ۳) با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $P > 0/05$ ). بهبود تغذیه در مولدین و غذادهای عالی کیفیت گامت‌ها را بهبود می‌بخشد (Izquierdo و همکاران، ۲۰۰۱؛ Rurangwa و همکاران، ۲۰۰۴). مولتی آنزیم ناتوزیم با داشتن آنزیم‌های متفاوت سبب بهبود تغذیه شده و کیفیت گامت‌ها را تحت تأثیر قرار داده و مدت زمان تحرک اسپرم را افزایش می‌دهد.

**درصد تحرک اسپرم:** با توجه به شکل ۹ استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی تفاوت معنی‌داری در درصد تحرک اسپرم ایجاد نکرد ( $P > 0/05$ ). در منابع پژوهشی در زمینه اثرات آنزیم‌ها بر درصد تحرک اسپرم یافت نشد. مولتی آنزیم ناتوزیم در سطوح آنزیمی ۱ و ۲ (به ترتیب ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) بهترین فاکتور رشد را ایجاد کرد که با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت اما با توجه به این که این دو سطح آنزیمی (سطوح آنزیمی ۱ و ۲) تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند، به لحاظ اقتصادی، سطح آنزیمی ۱ (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) به عنوان بهترین جهت ایجاد بالاترین فاکتور رشد معرفی می‌گردد. این مولتی آنزیم در درصد بازماندگی تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایش ایجاد نکرد. مولتی آنزیم ناتوزیم بالاترین میزان شاخص گنادوسوماتیک، هم‌آوری، درصد لقاح و بازماندگی لاروی را در سطح آنزیمی ۲ (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد کرد که با گروه شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود اما این مولتی آنزیم در هیچ‌یک از گروه‌های آزمایش تأثیری بر قابلیت تفریح و درصد تحرک اسپرم نداشت. پیشنهاد می‌گردد از این مولتی آنزیم در جیره غذایی ماهیانی که ارزش اقتصادی بالایی دارند، استفاده شود و عملکرد رشد و تولیدمثلی ماهی را بهبود بخشد. هم‌چنین به مراکز تحقیقاتی پیشنهاد می‌شود نحوه اثرگذاری و مکانیسم تأثیرات مولتی آنزیم‌ها بر رشد و عملکرد تولیدمثلی را مورد بررسی قرار دهند.



- at Sub-Optimal Protein in the Diet of Labeo Rohita (Hamilton) Fingerlings Increases Cell Size of Muscle. *J of Fisheries and Aquatic Science*. Vol. 1, No. 2, pp: 102-111.
۳۱. **Laird, L.M. and Needham Ted.** 1988. Growth, Nutrition and Feeding, Salmon and Trout Farming. England: Ellis Horwood Limited.
۳۲. **Lin, S.; Kangsen, M. and Beiping, T.,** 2007. Effects of Exogenous Enzyme Supplementation in Diets on Growth and Feed Utilization in Tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture Research*. Vol. 38, No. 15, pp: 1645-1653.
۳۳. **Moran, E.T. and McGinnis, J.,** 1968. Growth of Chicks and Turkey Poults Fed Western Barley and Corn Grain-Based Rations: Effect of Autoclaving on Supplemental Enzyme Requirement and Asymmetry of Antibiotic Response between Grains. *Poultry Science*. Vol. 47, No. 1, pp: 152-158.
۳۴. **Ng, W; Chen, K. and Mei, L.,** 2002. Replacement of Soybean Meal with Palm Kernel Meal in Practical Diets for Hybrid Asian-African Catfish, *Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*. *J of applied aquaculture*. Vol. 12, No. 4, pp: 67-76.
۳۵. **NIE, G.X.; Jun, I.W. and Zhou, H.,** 2011. Effects of Xylanase on Growth and Levels of Serum Hormones of *Tilapia nilotica*. *J of fishery sciences of China*. Vol. 2, pp: 1-10.
۳۶. **Pettersson, D. and Aman, P.,** 1989. Enzyme Supplementation of a Poultry Diet Containing Rye and Wheat. *British J of Nutrition*. Vol. 62, No. 1, pp: 139-149.
۳۷. **Reidel, A.; Wilson, R.B.; Aldi, F. and Romagosa, E.,** 2010. The Effect of Diets with Different Levels of Protein and Energy on the Process of Final Maturation of the Gametes of *Rhamdia quelen* Stocked in Cages. *Aquaculture*. Vol. 298, No. 3-4, pp: 354-359.
۳۸. **Ritz, C.W.; Hulet, R.M.; Self, B.B. and Denbow, D.M.,** 1995. Growth and Intestinal morphology of male Turkeys as influenced by dietary supplementation of Amylase & Xylanase. *Poultry Science*. Vol. 74, No. 8, pp: 1329-1334.
۳۹. **Rurangwa, E.; Kime, D.E.; Ollevier, F. and Nash, J.P.,** 2004. The Measurement of Sperm Motility and Factors Affecting Sperm Quality in Cultured Fish. *Aquaculture*. Vol. 234, No. 1, pp: 1-28.
۴۰. **Sardar, P.; Randhawa, H.S.; Abid, M. and Prabhakar, S.K.,** 2007. Effect of dietary microbial Phytase supplementation on Growth Performance, Nutrient Utilization, Body Compositions and Haemato-biochemical Profiles of *Cyprinus carpio*. Fingerlings Fed Soyprotein based Diet. *Aquaculture Nutrition*. Vol. 13, No. 6, pp: 444-456.
۴۱. **Soltan, M.A.,** 2009. Effect of Dietary Fish Meal Replacement by Poultry By-Product Meal with Different Grain Source and Enzyme Supplementation on Performance, Feces Recovery, Body Composition and Nutrient Balance of Nile Tilapia. *Pakistan J of Nutrition*. Vol. 8, No. 4, pp: 395-407.
۴۲. **Tahoun, A.M.; Mabroke, R.S.; El-Haroun, E.R. and Suloma, A.,** 2011. Effect of Exogenous Enzyme Supplementation on Reproductive Performance of Broodstock Nile Tilapia Reared in a Hapa-in-Pond Hatchery System. In Proceedings of the 4th Global Fisheries and Aquaculture Research Conference, the Egyptian International Center for Agriculture, Giza, Egypt, pp: 61-73.
۴۳. **Thongprajukaew, K.; Kovitvadi, U.; Kovitvadi, S.; Somsueb, P. and Rungruangsak-Torrissen, K.,** 2011. Effects of Different Modified Diets on Growth, Digestive Enzyme Activities and Muscle Compositions in Juvenile Siamese Fighting Fish. *Aquaculture*. Vol. 322, pp: 1-9.
۴۴. **Turner, E. and Montgomerie, R.,** 2002. Ovarian Fluid Enhances Sperm Movement in Arctic Charr. *Journal of Fish Biology*. Vol. 60, No. 6, pp: 1570-1579.
۴۵. **Vielma, J.; Ruohonen, K. and Gabaudan, J.,** 2004. Top spraying Soybean Meal-based Diets with Phytase Improves Protein and Mineral Digestibilities but Not Lysine Utilization in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*. Vol. 35, No. 10, pp: 955-964.
۴۶. **Weerd, J.H.van.,** 1999. Balance Trials with African Catfish *Clarias gariepinus* Fed Phytase-treated Soybean Meal-based Diets. *Aquaculture Nutrition*. Vol. 5, No. 2, pp: 135-42.
۴۷. **Wen-ju, W.; Ji-ting, W.A.N. and Shu-qin, W.,** 2008. Effects of Non-Starch Polysaccharide on Activities of Protease and Amylase of Hybrid Tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Chinese J of Animal Nutrition*. Vol. 5, pp: 9-16.
۴۸. **Yildirim, Y.B.,** 2010. Effects of Exogenous Enzyme Supplementation in Diets on Growth and Feed Utilization in African Catfish, *Clarias gariepinus*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. Vol. 9, No. 2, pp: 327-331.
۴۹. **Zamini, A.; Kanani, H.; Esmaeili, A.; Ramezani, S. and Zorie Zahara, J.,** 2012. Effects of Two Dietary Exogenous Multi-Enzyme Supplementation, Natuzyme® and Beta Mannanase, on Growth and Blood Parameters of Caspian Salmon. *Comparative Clinical Pathology*. pp: 1-6.
- Dihydroxy-4-Pregnen-3-One. *Chemical Senses*. Oxford University Press. Vol. 20, No. 2, pp: 221-230.
۱۱. **Bromage, N.; John, J.; Clive, R.; Mark, T.; Briony, D.; John, S.; Jim, D. and Gavin, B.,** 1992. Broodstock Management, Fecundity, Egg Quality and the Timing of Egg Production in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. Vol. 100, No. 1, pp: 141-166.
۱۲. **Brooks, S.; Charles, R.T. and John, P.S.,** 1997. Egg Quality in Fish: What Makes a Good Egg? Reviews in Fish Biology and Fisheries. Vol. 7, No. 4, pp: 387-416.
۱۳. **Castell, J.D. and Klaus, T.,** 1980. Report of the EIFAC, IUNS and ICES Working Group on Standardization of Methodology in Fish Nutrition research. (Hamburg, Federal Republic of Germany. pp: 21-23.
۱۴. **Cosson, J.; Linhart, O.; Mims, S.D.; Shelton, W.L. and Rodina, M.,** 2000. Analysis of Motility Parameters from Paddlefish and Shovelnose Sturgeon Spermatozoa. *Journal of Fish Biology*. Vol. 56, No. 6, pp: 1348-1367.
۱۵. **Craik, J.C.A. and Harvey, S.M.,** 1984. Egg Quality in Rainbow Trout: The Relation between Egg Viability, Selected Aspects of Egg Composition, and Time of Stripping. *Aquaculture*. Vol. 40, No. 2, pp: 115-134.
۱۶. **Dalsgaard, J.; Verlhac, V.; Hjermslev, N.H.; Kim, S.E.; Fischer, M.; Klausen, M. and Per Bovbjerg, P.,** 2012. 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*. Vol. 171, No. 2, pp: 181-191.
۱۷. **Duray, M.; Hiroshi, K. and Felicitas, P.,** 1994. The Effect of Lipid-Enriched Broodstock Diets on Spawning and on Egg and Larval Quality of Hatchery-Bred Rabbitfish (*Siganus guttatus*). *The Philippine Scientist* 31. San Carlos Publications, University of San Carlos, pp: 42-57.
۱۸. **Farhangi, M. and Chris, G.C.,** 2007. Effect of Enzyme Supplementation to Dehulled Lupin-based Diets on Growth, Feed Efficiency, Nutrient Digestibility and Carcass Composition of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*. Vol. 38, No. 12, pp: 1274-1282.
۱۹. **Felix, N. and Selvaraj, S.,** 2004. Enzymes for Sustainable Aquaculture. *Aquaculture Asia* 9. Network of Aquaculture Centers. pp: 5-6.
۲۰. **Forster, I.; Dave, A.H.; Bakhshish, S.; Dosanjh, M.; Rowshandeli, M. and Jim, P.,** 1999. Potential for Dietary Phytase to Improve the Nutritive Value of Canola Protein Concentrate and Decrease Phosphorus Output in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Held in 11° C Fresh Water. *Aquaculture*. Vol. 179, No. 1, pp: 109-125.
۲۱. **Ghomi, M.R.; Shahriari, R.; Faghani Langroudi, H. and Nikoo, M.,** 2012. The Effects of Dietary Enzyme on Some Blood Biochemical Parameters of the Cultured Great Sturgeon *Huso huso* Juveniles. *Comparative Clinical Pathology*. Vol. 21, No. 2, pp: 201-204.
۲۲. **Gonzales, J. and John, M.,** 2012. Preliminary Evaluation on the Effects of Feeds on the Growth and Early Reproductive Performance of Zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. Vol. 51, No. 4, pp: 401-412.
۲۳. **Hastings, W.H.,** 1946. Enzyme Supplements to Poultry Feeds. *Poultry Science*. Vol. 25, No. 6, pp: 584-586.
۲۴. **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*. Vol. 170, No. 3, pp: 267-283.
۲۵. **Izquierdo, M.S.; Fernandez-Palacios, H. and Tacon, A.G.J.,** 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive Performance of Fish. *Aquaculture*. Vol. 197, No. 1, pp: 25-42.
۲۶. **Jackson, L.; Scott, M.; Li, H. and Robinson, E.H.,** 1996. Use of Microbial Phytase in Channel Catfish *Ictalurus punctatus* Diets to Improve Utilization of Phytate Phosphorus. *Journal of the World Aquaculture Society*. Vol. 27, No. 3, pp: 309-313.
۲۷. **Jaya-Ram, A.; Meng, K.K.; Phaik, S.L.; Kolkovski, S. and Shu-Chien, A.C.,** 2008. Influence of Dietary HUFA Levels on Reproductive Performance, Tissue Fatty Acid Profile and Desaturase and Elongase mRNAs Expression in Female Zebrafish. *Aquaculture*. Vol. 277, No. 3, pp: 275-281.
۲۸. **Kazerani, H.R. and Shahsavani, D.,** 2011. The Effect of Supplementation of Feed with Exogenous Enzymes on the Growth of Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Veterinary Research*. Vol. 12, No. 2, pp: 127-132.
۲۹. **Khalafalla, M.M.; Bassiouni, M.I.; Eweedah, N.M. and Elmezyne, H.M.,** 2010. Performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings Fed Diets Containing Different Levels of Amecozyme®. *Journal of Agricultural Research*. Vol. 36, pp: 111-122.
۳۰. **Kumar, S.; Sahu, N.P. and Pal, A.K.,** 2006. Non Gelatinized Corn Supplemented with Microbial Cc-Amylase