اثرات مولتی‌آنزیم کمبو 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: اسفند ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۷

چکیده

ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) به‌طور وسیعی به‌عنوان معروف‌ترین ماهی در سرتاسر جهان گسترش یافته است و یک مدل زیستی مناسب به‌شمار می‌رود. آنزیم‌ها می‌توانند اثرات عوامل ضدتغذیه‌ای را از بین ببرند و سبب بهبود عملکرد رشد ماهی شوند. جیره غذایی به خاطر اثری که روی کیفیت تخم دارد مورد توجه زیادی قرارگرفته است، یافته‌های جدید نشان می‌دهد که افزودن مولتی‌آنزیم‌ها به جیره غذایی می‌تواند بر شاخص‌های گنادی تأثیرگذار باشد. هدف از این پژوهش به‌کارگیری مولتی‌آنزیم کمبو در جیره غذایی ماهی قرمز و بررسی اثربخشی آن بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و عملکرد تولیدمثلی است. برای انجام این آزمایش از جیره تجاری (انرژی ٤EF٣٠٠١، تایلند) استفاده شد و مولتی‌آنزیم کمبو® (شرکت زوبین‌زرین، ایران) در ۵ تیمار ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا، به جیره غذایی اضافه شد. این مولتی‌آنزیم به‌طورکلی در مقادیر ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی بهترین فاکتور رشد را ایجاد کرد که با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵) اما در درصد بازماندگی تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایش ایجاد نکرد (P>۰/۰۵). هم‌چنین مولتی‌آنزیم کمبو با مقدار ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی بالاترین میزان شاخص گنادوسوماتیک، هم‌آوری و درصد لقاح را ایجاد کرد که با گروه شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) اما در هیچ‌یک از گروه‌های آزمایش در قابلیت تفریخ، بازماندگی لاروی و درصد تحرک اسپرم تفاوت معنی‌دار ایجاد نگردید (P>۰/۰۵). در یک نتیجه‌گیری کلی مولتی‌آنزیم کمبو با مقدار ۷۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم جیره غذایی به‌عنوان بهترین میزان آنزیم جهت پرورش و میزان ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی به‌عنوان بهترین سطح برای بهبود عملکرد تولیدمثلی معرفی می‌گردد.

کلمات کلیدی: شاخص‌های رشد، عملکرد تولیدمثلی، مولتی‌آنزیم کمبو، ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*)

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Mehrdad20ad@Gmail.com

مقدمه

ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) از خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) است و به‌لحاظ زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*)است.این‌ماهی به‌طور وسیعی به‌عنوان معروف‌ترین ماهی در سرتاسر جهان گسترش یافته است (Suzuki، ۱۹۹۷؛ Smartt، ۲۰۰۸). این ماهی یک گونه بسیار مهم به‌لحاظ اقتصادی و تحقیقی است به‌طوری‌که به‌صورت گسترده در مطالعات تولیدمثلی و کنترل هورمونی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bjerselius و همکاران، ۱۹۹۵) و به‌عنوان یک مدل زیستی مناسب به‌شمار می‌رود. بنابراین به‌نظر می‌رسد نتایج حاصل تحقیقاتی که روی این ماهی صورت می‌گیرد برای برخی از ماهیان ارزشمندِ دیگر قابل تعمیم باشد. با گسترش محصولات آنزیمی حاوی اجزاء اختصاصی، استفاده از آنزیم‌ها برای بهبود وضعیت تغذیه که نیاز به توجه بیش‌تری دارد، ضروری به‌نظر می‌رسد. محققین از سال ۱۹۲۰ تأثیرات مفید آنزیم‌ها را بر مواد غذایی طیور به‌ویژه غذاهایی که حاوی دانه‌های غلات با ترکیب بالایی از فیبر هستند مشاهده نموده‌اند (Hastings، ۱۹۴۶؛ Moran و McGinnis، ۱۹۶۸؛ Pettersson و Åman، ۱۹۸۹؛ Ritz و همکاران، ۱۹۹۵). آنزیم‌ها می‌توانند اثرات عوامل ضدتغذیه‌ای را از بین ببرند و سبب بهبود عملکرد رشد ماهی شوند (Farhangi و Carter، ۲۰۰۷؛ Soltan، ۲۰۰۹). جیره غذایی به‌خاطر اثری که روی کیفیت تخم دارد مورد توجه زیادی قرارگرفته است، بهبود تغذیه در مولدین و غذادهی عالی کیفیت گامت‌ها را بهبود می‌بخشد (Izquierdo و همکاران، ۲۰۰۱؛ Rurangwa و همکاران، ۲۰۰۴). اخیراً یافته‌های جدید نشان می‌دهد که افزودن مولتی‌آنزیم‌ها به جیره غذایی می‌تواند بر شاخص‌های گنادی تأثیرگذار باشد و سبب رسیدگی جنسی در زمانی کوتاه‌تر نسبت به گروه شاهد شوند (عادلیان و همکاران، ۱۳۹۲). بنابراین انتظار می‌رود با به‌کارگیری آنزیم‌ها درجهت بهبودتغذیه،می‌توان‌علاوه برشاخص‌های رشد و بازماندگی، عملکرد تولیدمثلی را نیز بهبود بخشید. مطالعات وسیعی پیرامون آنزیم‌ها در جیره غذایی و اثراتشان بر رشد ماهی‌ها صورت گرفته است، مولتی‌آنزیم حاوی آمیلاز، پروتئاز، بتا-گلوکاناز، بتا گلوکوزیداز و سلولاز در جیره غذایی کپورماهیان انگشت‌قد (*Cyprinus carpio*) (Bogut و همکاران، ۱۹۹۵)، مولتی‌آنزیم حاوی پروتئاز، بتا گلوکاناز و زایلاناز در جیره غذایی هیبرید تیلاپیا (*Oerochromis nioticus* × *O. aureus*) (Lin و همکاران، ۲۰۰۷)، مولتی‌آنزیم حاوی زایلاناز، بتاگلوکاناز، پروتئاز، بتا آمیلاز، همی سلولاز، پکتیناز، سلولاز و سلوبیاز در جیره غذایی گربه ماهی افریقایی (*Clarias gariepinus*) (Yildirim و Turan، ۲۰۱۰)، مولتی‌آنزیم‌های ناتوزیم و همی‌سل در جیره‌غذایی‌ماهی‌آزادخزر (*Salmo trutta caspius*)(Zaminiو همکاران، ۲۰۱۲)، مولتی‌آنزیم آویزیم در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (قبادی و همکاران، ۱۳۸۸)، آنزیم رونوزایم در جیره غذایی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Boonyaratpalin و همکاران، ۲۰۰۰)، مولتی‌آنزیم کمین+ فیتاز در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان (تبریزی و همکاران،۱۳۹۰)، آنزیم آمیلاز در جیره غذایی بچه‌ماهیان انگشت قد کپور روهو (*Labeo rohita*) (Kumar و همکاران، ۲۰۰۶)، مولتی‌آنزیم حاوی گلوکاناز، پنتوزاناز و سلولاز در جیره غذایی باس دریایی ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) (Ai و همکاران، ۲۰۰۷)، مولتی‌آنزیم‌انیبیوسل‌درجیره‌غذایی‌ماهی‌تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Soltan، ۲۰۰۹) و آنزیم کربوهیدراز در جیره غذایی ماهی جنگو (*Betta splendns Regan*)(Thongprajukaewو همکاران، ۲۰۱۱). در هیچ‌یک از مطالعات اثرات مولتی‌آنزیم کمبو در جیره غذایی آبزیان مورد بررسی قرار نگرفته است اما پژوهش‌های اندکی در زمینه اثرات مولتی‌آنزیم کمبو در جیره غذایی طیور صورت گرفته است، نوبخت و اشرف (۱۳۹۳) اثرات سطوح مختلف تفاله چغندرقند و مولتی‌آنزیم کمبو برعملکرد، فراسنجه‌های خون و صفات کیفی تخم‌مرغ درمرغ‌های تخم‌گذاررامورد بررسی قرار دادند هم‌چنین نوبخت و همکاران (۱۳۹۱) بیش‌ترین مقادیر افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی را در جیره‌های حاوی مولتی‌آنزیم‌های سافیزیم و کمبو گزارش کردند. Kalantar و همکاران (۲۰۱۴) اثرات دو گونه باکتری *Thymus vulgaris* L و *Glycyrrhiza glabra* و مولتی‌آنزیم کمبو را در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند. هدف از پژوهش حاضر به‌کارگیری مولتی‌آنزیم کمبو در جیره غذایی ماهی قرمز و بررسی اثربخشی آن بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و عملکرد تولیدمثلی است.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط آزمایش: این آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در پنج تیمار و سه تکرار در سالن تحقیقات آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی 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 ۲٪ (به‌مدت ۲۰ دقیقه) در ۱۵ آکواریوم توزیع شدند. در هر آکواریوم ۱۰ ماهی با میانگین وزنی ۰/۰۲±۵/۵۷ گرم قرار داده شدند.هرآکواریوم‌تا حجم ۴۰ لیتر پرشد و هوادهی آکواریوم‌ها به‌صورت ملایم انجام شد. ماهی‌ها به‌میزان ۳٪ توده وزنی و روزی ۲بار در ساعت ۹ و ۱۶ تغذیه شدند. جهت آداپته کردن ماهی‌ها، همه آن‌ها به‌مدت یک هفته از جیره غذایی بدون آنزیم تغذیه شدند و بعد از آن به ماهی‌ها به‌مدت 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 موردنیاز ماهیان، ماهیان هر دوهفته 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 ۴EF۳۰۰۱، تایلند؛ رطوبت ۱۲٪، پروتئین ۴۱٪، چربی ۶٪ و فیبر ۲٪) استفاده شد و مولتی‌آنزیم (کمبو®، شرکت زوبین‌زرین، ایران، تحت لیسانس American Biosystems, Inc.) در ۵ تیمار ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا، به جیره غذایی اضافه شد. برای این کار، مولتی‌آنزیم با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت یک ده هزارم گرم توزین شد و بعد از آن هرگروه توزین شده، به صورت جداگانه در آب حل شد و سپس با استفاده از افشانه بر روی غذا اسپری شد. برای این‌که آبشوئی به‌حداقل برسد، پودر ژلاتین (به میزان ۲٪) به آب اضافه گردید و زمانی که پودر ژلاتین کاملاً در آب حل شد، با استفاده از افشانه بر روی غذاهایی که مولتی‌آنزیم به آن اضافه شده بود، اسپری شد. (پودر ژلاتین در همه گروه‌ها به‌میزان برابر استفاده شد و همین مقدار به گروه شاهد نیز اضافه گردید). مولتی‌آنزیم کمبو حاوی سلولاز (۷۵۰۰۰ واحد در کیلوگرم)، بتاگلوکاناز (۲۰۰۰۰ واحد در کیلوگرم)، همی‌سلولاز (۲۰۰۰۰ واحد در کیلوگرم)، آمیلاز (۳۰۰۰۰ واحد در کیلوگرم)، پروتئاز (۱۱۰۰۰۰۰ واحد در کیلوگرم)، آلکالین پروتئاز (۱/۲ واحد آنسون در کیلوگرم)، زایلاناز (۲۰۰۰۰ واحد در کیلوگرم) و لیپاز (۷۵۰۰۰ واحد در کیلوگرم) است (نوبخت و همکاران، ۱۳۹۱).

محاسبه فاکتورهای رشد: در هرگروه، وزن اولیه و وزن نهایی ماهی‌ها به‌صورت تک‌تک اندازه‌گیری شد و افزایش وزن (WG= Weight Gain)، نرخ رشد ویژه (SGR= Specific Growth Rates)، ضریب تبدیل غذایی (FCR= Feed conversion Ratio)، درصد افزایش وزن بدن (WGP= Wight Growth Percent) و راندمان پروتئین (PER= Protein Efficiency Ratio) طبق Castell و Tiews (۱۹۸۰) به‌صورت ذیل محاسبه گردید:

$$\text{افزایش وزن } (WG) = W_f - W_i$$

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

$$\text{نرخ رشد ویژه } (SGR) = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{t} \times ۱۰۰$$

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

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

F وزن خشک غذای داده‌شده (گرم)، Wf وزن نهایی (گرم) و Wi وزن اولیه (گرم)

$$\text{درصد افزایش وزن بدن } (WGP) = \frac{BW_f - BW_i}{BW_i} \times ۱۰۰$$

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

$$\text{راندمان پروتئین (PER)} = \frac{BW_f - BW_i}{AP}$$

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

درصد بازماندگی (SR=Survival Rate) طبق فرمول زیر محاسبه شد (Laird و Needham، ۱۹۸۸):

$$\text{درصد بازماندگی } (SR) = \frac{N_f}{N_i} \times ۱۰۰$$

Nf تعداد نهایی ماهیان و Ni تعداد اولیه ماهیان

فاکتورهای تولیدمثلی: ابتدا ماهیان مولد در عصاره گل میخک (اوژینول) 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):

$$\text{درصد گنادوسوماتیک (Gonado Somatic Index) } (GSI) = \frac{W_G}{W_B} \times ۱۰۰$$

wG وزن تخمدان و wB وزن بدن

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

$$\text{هماوری مطلق } (AF) = \text{تعداد کل تخمک‌های موجود در بدن هر ماهی ماده}$$

$$\text{هماوری نسبی } (RF) = \frac{\text{تعداد کل تخمک‌های موجود در بدن هر ماهی ماده}}{\text{وزن ماهی ماده}}$$

$$\text{هماوری کاری } (WF) = \text{تعداد تخمک‌های دارای قابلیت باروری}$$

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

$$\text{درصد لقاح } (FR) = \frac{\text{تعداد تخم‌های لقاح یافته}}{\text{تعداد کل تخمک‌های رهاسازی شده}} \times ۱۰۰$$

قابلیت تفریخ (Hatchability) و بازماندگی لاروی (Larval Survival) طبق فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Jaya-Ram و همکاران، ۲۰۰۸):

$$\text{قابلیت تفریخ } (H) = \frac{\text{تعداد کل تخم‌های تفریخ شده}}{\text{تعداد کل تخم‌ها}} \times ۱۰۰$$

$$\text{بازماندگی لاروی } (LS) = \frac{\text{تعداد کل لاروهای آزاد در حال شنا (شش روز پس از لقاح)}}{\text{تعداد کل جنین‌های تفریخ شده}} \times ۱۰۰$$

طول دوره تحرک اسپرم با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست انجام شد (Cosson و همکاران، ۲۰۰۰). سمن با رقیق‌کننده (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 صددرصد اسپرم‌ها از تحرک باز ایستادند با دوربین تصویربرداری شد. در ادامه با استفاده از نرم‌افزار Adobe Premeier 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 ANOVA) مورد بررسی قرار گرفتند و برای مقایسه میانگین بین تیمارها، از تست دانکن استفاده شد (P<۰/۰۵).

نتایج

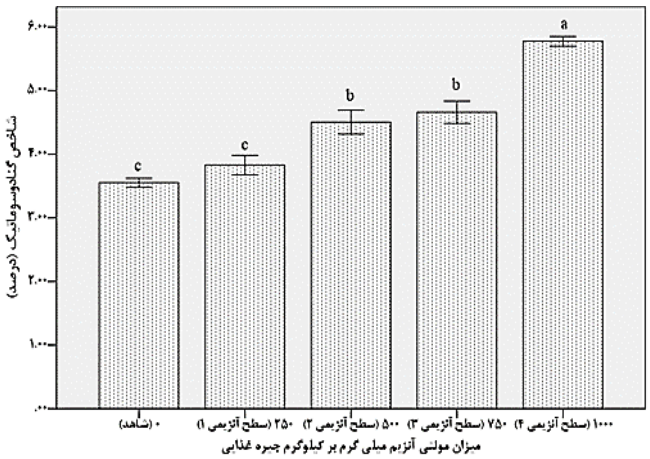
فاکتورهای رشد: همان‌طورکه جدول ۱ نشان می‌دهد، میزان افزایش وزن در گروه شاهد، سطح ۱، سطح ۲، سطح ۳ و سطح ۴ به ترتیب ۱۰/۰۶، ۱۰/۲۵، ۱۱/۰۶، ۱۲/۱۰ و ۱۲/۲۶ بود که سطوح آنزیمی ۳ و ۴ با گروه شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بودند (P<۰/۰۵). نرخ رشد ویژه در سطوح آنزیمی ۲، ۳ و ۴ به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است (P<۰/۰۵) اما سطح آنزیمی ۱ با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت(P>۰/۰۵).ضریب تبدیل غذایی درسطوح آنزیمی ۳ و ۴ به‌طور معنی‌داری‌نسبت‌به گروه شاهد کاهش داشت (P<۰/۰۵) اما در سطوح آنزیمی ۱ و ۲ ضریب تبدیل غذایی تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان نداد (P>۰/۰۵). درصد افزایش وزن بدن و راندمان پروتئین در سطوح آنزیمی ۳ و ۴ به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش داشت (P<۰/۰۵) اما درصد افزایش‌وزن بدن و راندمان پروتئین درسطوح آنزیمی ۱ و ۲ نسبت به گروه‌شاهد تفاوت‌معنی‌داری را نشان نداد(P>۰/۰۵).درصد بازماندگی در هیچ‌یک از گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵).

جدول۱: اثر سطوح مختلف آنزیم کمبو بر فاکتورهای رشد و بازماندگی

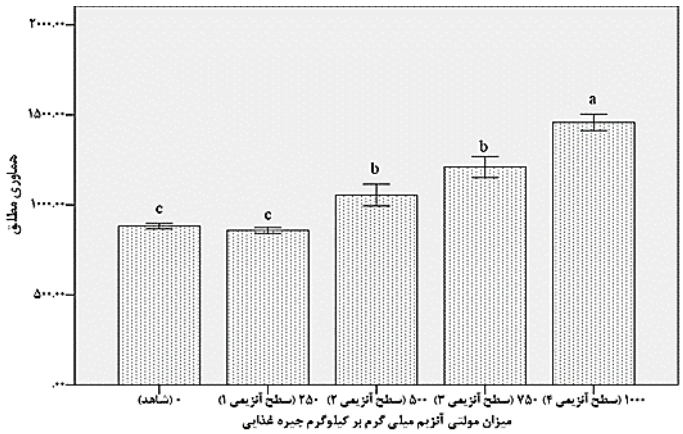
میزان آنزیم (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۰	۲۵۰	۵۰۰	۷۵۰	۱۰۰۰
پارامتر	(شاهد)	(سطح آنزیمی ۱)	(سطح آنزیمی ۲)	(سطح آنزیمی ۳)	(سطح آنزیمی ۴)
وزن اولیه (گرم)	۵/۵۳±۰/۰۸^{a}*	۵/۵۲±۰/۰۴^{a}	۵/۵۴±۰/۰۲^{a}	۵/۶۵±۰/۰۲^{a}	۵/۶۰±۰/۰۴^{a}
وزن نهایی (گرم)	۱۵/۵۹±۰/۲۲^{b}	۱۵/۷۷±۰/۲۱^{b}	۱۶/۶۰±۰/۰۵^{ab}	۱۷/۷۵±۰/۳۶^{a}	۱۷/۸۶±۰/۶۸^{a}
افزایش وزن (WG) (گرم)	۱۰/۰۶±۰/۱۴^{b}	۱۰/۲۵±۰/۱۶^{b}	۱۱/۰۶±۰/۰۷^{ab}	۱۲/۱۰±۰/۳۳^{a}	۱۲/۲۶±۰/۶۳^{a}
نرخ رشد ویژه (SGR) (درصد/ روز)	۱/۵۹±۰/۰۱^{d}	۱/۶۱±۰/۰۱^{cd}	۱/۶۸±۰/۰۱^{bc}	۱/۷۶±۰/۰۲^{ab}	۱/۷۸±۰/۰۴^{a}
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۱/۷۱±۰/۰۲^{a}	۱/۶۸±۰/۰۳^{a}	۱/۶۴±۰/۰۱^{ab}	۱/۵۸±۰/۰۱^{b}	۱/۵۶±۰/۰۴^{b}
درصد افزایش وزن بدن (WGP) (درصد)	۱۸۱/۶۱±۰/۳۵^{c}	۱۸۴/۸۰±۱/۶۸^{c}	۱۹۹/۵۹±۲/۲۸^{bc}	۲۱۴/۲۰±۴/۹۴^{ab}	۲۱۸/۸۹±۹/۷۸^{a}
راندمان پروتئین (PER)	۱/۴۲±۰/۰۱^{c}	۱/۴۴±۰/۰۲^{bc}	۱/۴۸±۰/۰۱^{abc}	۱/۵۳±۰/۰۱^{ab}	۱/۵۵±۰/۰۴^{a}
درصد بازماندگی (SR) (درصد)	۱۰۰±۰/۰۰^{a}	۱۰۰±۰/۰۰^{a}	۱۰۰±۰/۰۰^{a}	۱۰۰±۰/۰۰^{a}	۱۰۰±۰/۰۰^{a}

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

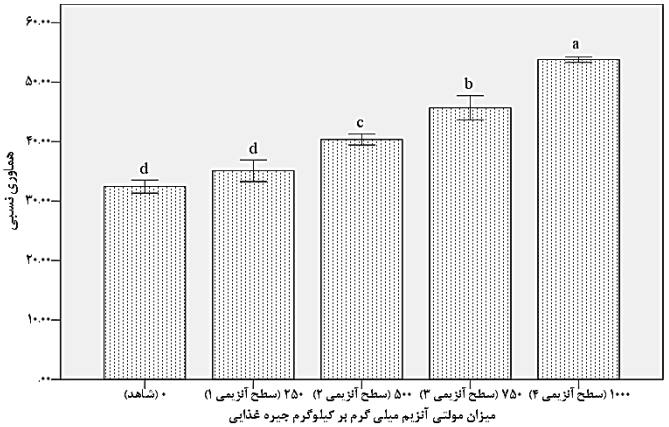
فاکتورهای تولیدمثلی: باتوجه‌به شکل‌های ۱و ۲ افزودن مولتی آنزیم کمبو به جیره غذایی سبب افزایش معنی‌دار درصد گنادوسوماتیک و هم‌آوری مطلق در سطوح آنزیمی ۲، ۳ و ۴ نسبت به گروه شاهد گردید (P<۰/۰۵) هم‌چنین درصد گنادوسوماتیک و هم‌آوری مطلق در سطح آنزیمی ۴ با سطوح آنزیمی ۲ و ۳ تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). در شکل ۳ میزان هم‌آوری نسبی در سطوح آنزیمی ۲، ۳ و ۴ با گروه شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) اما سطح آنزیمی ۱ با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). شکل ۴ نشان می‌دهد که میزان هم‌آوری کاری در سطوح آنزیمی ۳ و ۴ با سطوح آنزیمی ۱، ۲ و گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵) اما سطوح آنزیمی ۱، ۲ و گروه شاهد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). درصد لقاح (شکل ۵) تنها در سطح آنزیمی ۴ نسبت به دیگر گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵) و سطوح آنزیمی ۱، ۲، ۳ و گروه شاهد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند (P>۰/۰۵). با توجه به شکل‌های ۶ و ۷ افزودن مولتی‌آنزیم کمبو به جیره‌غذایی سبب افزایش‌معنی‌دار درقابلیت تفریخ و بازماندگی لاروی نگردید (P>۰/۰۵). شکل ۸ نشان می‌دهد که افزودن این مولتی‌آنزیم به جیره غذایی در سطوح آنزیمی ۲، ۳ و ۴ طول دوره تحرک اسپرم را تحت تاثیر قرار داد و سبب افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد گردید (P<۰/۰۵). با توجه به شکل ۹ افزودن این مولتی‌آنزیم به جیره غذایی تفاوت معنی‌دار در درصد تحرک اسپرم ایجاد نکرد (P>۰/۰۵).



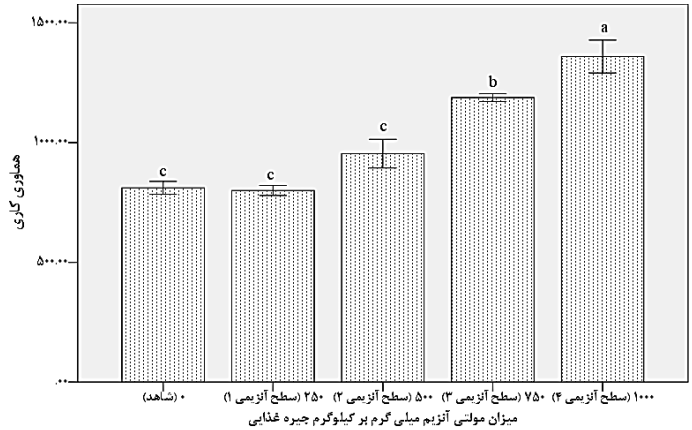
شکل ۱: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم کمبو بر شاخص گنادوسوماتیک



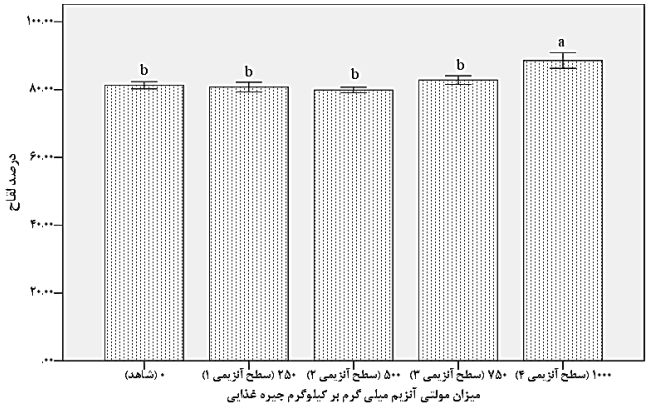
شکل ۲: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم کمبو بر هماوری مطلق



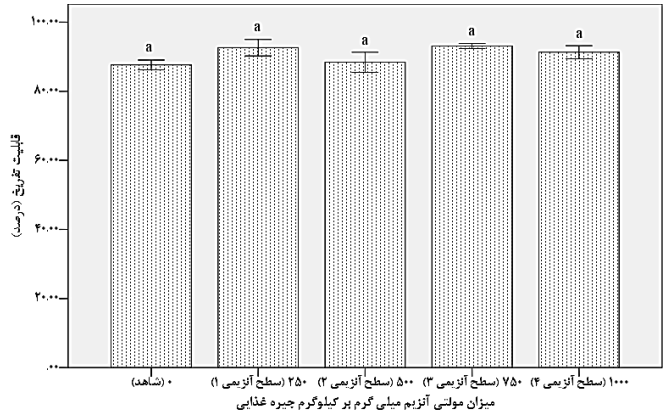
شکل ۳: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم کمبو بر هماوری نسبی



شکل ۴: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم کمبو بر هماوری کاری

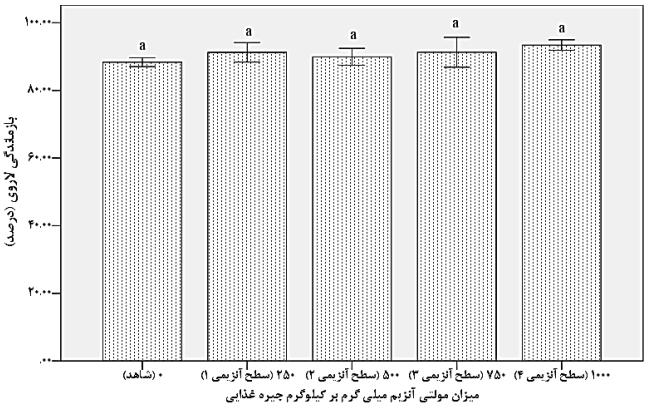


شکل ۵: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم کمبو بر درصد لقاح

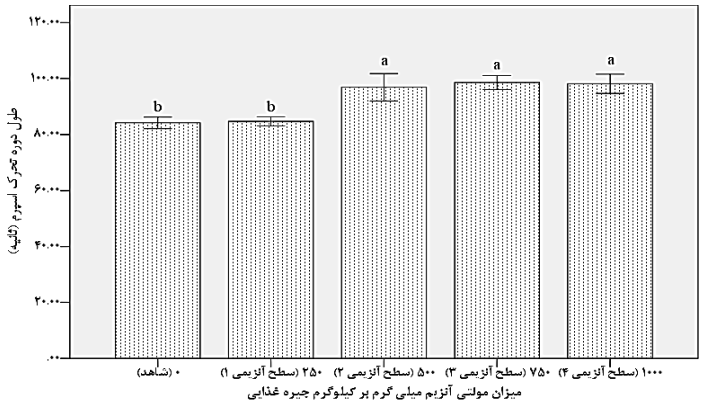


شکل ۶: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم کمبو بر قابلیت تفریخ

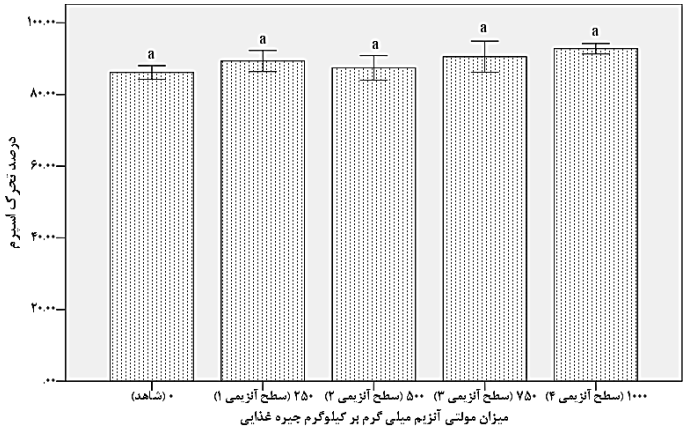
حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین± انحراف خطا می‌باشد.



شکل ۷: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم کمبو بر بازماندگی لاروی



شکل ۸: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم کمبو بر طول دوره تحرک اسپرم



شکل ۹: نمودار اثر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم کمبو بر درصد تحرک اسپرم

حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین± انحراف خطا می‌باشد.

بحث

فاکتورهای رشد

افزایش وزن: پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از مولتی‌آنزیم کمبو در سطوح آنزیمی ۳ و ۴ بیش‌ترین افزایش وزن را ایجاد کرد که با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ($P<0/05$) اما باتوجه به این‌که افزایش وزن در این دو سطح آنزیمی با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند ($P>0/05$)، بهترین افزایش وزن در سطح آنزیمی ۳ (۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد گردید. در هیچ‌یک از مطالعات اثرات مولتی‌آنزیم کمبو در جیره غذایی آبزیان مورد بررسی قرار نگرفته است اما پژوهش‌های اندکی در زمینه اثرات مولتی‌آنزیم کمبو در جیره غذایی طیور صورت گرفته است، نوبخت و همکاران(۱۳۹۱) بیش‌ترین مقدار افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی را در جیره‌های حاوی ۰/۰۲۵ درصد مولتی‌آنزیم سافیزیم + ۰/۰۲۵ درصد مولتی‌آنزیم کمبو گزارش کردند که با پژوهش حاضر هم‌سو است. در دیگر پژوهش‌ها که از آنزیم‌های دیگری در جیره غذایی آبزیان استفاده شده است نتایج مشابهی با تحقیق حاضر، حاصل شده است، Ghomi و همکاران (۲۰۱۲) با به‌کارگیری مولتی‌آنزیم کمین در جیره فیل‌ماهیان (*Huso huso*) نشان دادند که این مولتی‌آنزیم به‌میزان ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی می‌تواند در افزایش وزن بدن این ماهیان مؤثر باشد. Zamini و همکاران (۲۰۱۲) در آزمایشی از مولتی‌آنزیم‌های ناتوزیم و همی‌سل 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 همی‌سل به‌ازای هر کیلوگرم جیره غذایی استفاده شده بود. Aimin و همکاران (۲۰۰۶) بیان نمودند که استفاده مولتی آنزیم کمزم در مقادیر بین ۷۵۰-۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی به‌اندازه معنی‌داری سبب بهبود رشد ماهی قرمز شد. نتایج برخی از تحقیق‌ها با پژوهش حاضر هم‌خوانی ندارد، Kazerani و Shahsavani (۲۰۱۱) طی یک آزمایش بیان نمودند که استفاده از مولتی‌آنزیم اندوفید سبب کاهش رشد در کپور ماهیان و افزایش

ضریب تبدیل غذایی در این ماهیان شد. تبریزی و همکاران (۱۳۹۰) به بررسی تأثیر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم کمین+ فیتاز بر عملکرد و میزان بقاء ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرواری پرداختند و نشان داد که این مولتی‌آنزیم بر افزایش وزن تأثیر معنی‌داری نداشت. به‌نظر می‌رسد این عدم هم‌خوانی می‌تواند به‌دلیل تفاوت در نوع آنزیم‌ها، نوع گونه و دمایی باشد که آزمایش‌ها در آن صورت گرفته است.

نرخ رشد ویژه: یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که بهترین نرخ رشد ویژه در سطح آنزیمی ۴ (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد گردید (P<۰/۰۵). این یافته با پژوهش‌های Bogut و همکاران (۱۹۹۵)، Aimin و همکاران (۲۰۰۶)، Lin و همکاران (۲۰۰۷)، Wen-ju و همکاران (۲۰۰۸) و Ghomi و همکاران (۲۰۱۲) هم‌خوانی داشت. Kumar و همکاران (۲۰۰۶) با تغذیه نمودن بچه ماهیان انگشت‌قد کپور روهو (*Labeo rohita*) با جیره‌های تیمار شده با آنزیم آمیلاز گزارش کردند که این آنزیم تأثیر معنی‌داری بر رشد ماهیان نداشت (P>۰/۰۵) این تحقیق با پژوهش حاضر هم‌سو نبود هم‌چنین Thongprajukaew و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از آنزیم کربوهیدراز در جیره ماهی جنگو (*Betta splendns Regan*) گزارش نمودند که استفاده از این آنزیم در جیره سبب افزایش معنی‌دار نرخ رشد ویژه در ماهیان نشد (P>۰/۰۵). ممکن است این عدم تطابق به این دلیل باشد که آنزیم آمیلاز یا کربوهیدراز به تنهایی نمی‌تواند کمبودهای آنزیمی سیستم گوارش ماهیان را جبران نماید و نرخ رشد ویژه را بهبود ببخشد.

ضریب تبدیل غذایی: مولتی‌آنزیم کمبو کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی را در سطح آنزیمی ۳ و ۴ ایجاد نمود. با توجه به عدم معنی‌داری این دو سطح آنزیمی، بهترین ضریب تبدیل غذایی در سطح آنزیمی ۳ (۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد گردید. این تحقیق با یافته‌های عادلیان و همکاران (۱۳۹۵) که بیان می‌کند مولتی‌آنزیم کمین به میزان ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی را ایجاد می‌کند هم‌سو بود. بررسی‌های Yildirim و Turan (۲۰۱۰) نشان داد که استفاده از مولتی‌آنزیم حاوی حاوی زایلاناز، بتاگلوکاناز، پروتئاز، بتا آمیلاز، همی سلولاز، پکتیناز، سلولاز و سلوبیاز به‌میزان ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی در گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی را حاصل نمود. به‌نظر می‌رسد هم‌سویی در این یافته‌ها به‌دلیل تنوع کافی آنزیم‌ها در ترکیبات مولتی‌آنزیم‌ها و استفاده از دوز مناسب مولتی‌آنزیم‌ها در جیره غذایی باشد.

درصدافزایش وزن: بیش‌ترین درصد افزایش وزن بدن در سطح آنزیمی ۴ (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) مشاهده شد. بهبود درصد افزایش بدن با پژوهش Zamini و همکاران (۲۰۱۲) و عادلیان و همکاران (۱۳۹۵) مطابقت داشت.

راندمان پروتئین: بیش‌ترین راندمان پروتئین در سطح آنزیمی ۴ (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) مشاهده شد. Lin و همکاران (۲۰۰۷)، با مطالعه خود گزارش کردند که استفاده از مولتی آنزیم حاوی پروتئاز، بتاگلوکاناز و زایلاناز در جیره غذایی هیبرید ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) سبب افزایش ابقای پروتئین می‌شود. به‌نظر می‌رسد وجود آنزیم پروتئاز در مولتی‌آنزیم کمبو به‌عنوان یکی از اجزاء اصلی، جذب پروتئین را تحت تأثیر قرار داده و راندمان پروتئین را افزایش می‌دهد.

درصد بازماندگی: این تحقیق نشان داد که افزودن مولتی‌آنزیم کمبو بر درصد بازماندگی ماهی قرمز تاثیری نداشت. Tahoun و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که آنزیم آمیکوزیم در جیره غذایی مولدین تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) 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 باس‌دریایی ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) در میزان درصد بازماندگی تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد. این گزارش‌ها با تحقیق حاضر هم‌سو بود. به نظر می‌رسد اگر از مولتی آنزیم کمبو در جیره غذایی ماهی قرمز در وزن‌های پایین‌تر استفاده می‌شد، به‌دلیل حساسیت بیش‌تر بچه‌ماهی‌ها، در بین تیمارهای مختلف، درصد بازماندگی تفاوت معنی‌دار داشت.

فاکتورهای تولیدمثلی

شاخص گنادوسوماتیک: همان‌طور که شکل ۱ نشان می‌دهد شاخص گنادوسوماتیک در سطوح آنزیمی ۲، ۳ و ۴ با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵) اما بالاترین درصد گنادوسوماتیک در سطح آنزیمی ۴ (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد گردید که با دیگر گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). افزایش شاخص گنادوسوماتیک در اثر افزودن مولتی‌آنزیم‌ها به جیره غذایی با یافته‌های عادلیان و همکاران (۱۳۹۲) هم‌خوانی داشت. بهبود تغذیه در مولدین و غذادهی عالی کیفیت گامت‌ها را بهبود می‌بخشد (Izquierdo و همکاران، ۲۰۰۱؛ Rurangwa و همکاران، ۲۰۰۴) بنابراین به‌نظر می‌رسد مولتی آنزیم‌ها با تأثیر بر جیره غذایی، سبب بهبود کیفیت غذایی شده و شاخص گنادوسوماتیک را افزایش می‌دهند.

هم‌آوری: با توجه به شکل‌های ۲، ۳ و ۴ بالاترین میزان هم‌آوری مطلق، هم‌آوری نسبی و هم‌آوری کاری در سطح آنزیمی ۴ (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد گردید که با دیگر گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). Tahoun و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که مولتی‌آنزیم آمیکوزیم بر عملکرد تولیدمثلی (هم‌آوری

مطلق و هم‌آوری نسبی) تیلاپیای نیل، به‌واسطه افزایش انرژی در دسترس، از مواد غیرپروتئینیِ ترکیبات جیره غذایی اثر مثبت داشت. این گزارش با تحقیق حاضر هم‌سو بود. بنابراین به‌نظر می‌رسد مولتی آنزیم کمبو علاوه بر پروتئاز، با دارا بودن کربوهیدرازها و لیپاز، میزان انرژی در دسترس ماهی را افزایش داده و عملکرد تولیدمثلی را بهبود می‌بخشد. از طرف دیگر کیفیت متفاوت تخمک در بین گونه‌های ماهیان می‌تواند وابسته به ترکیبات غذایی موجود در تخمک به‌خصوص مقادیر چربی موجود در آن باشد (ایمانپور و زادمجید، ۱۳۸۸) پس وجود لیپاز می‌تواند سبب افزایش جذب لیپیدها و در نتیجه افزایش لیپید موجود در تخمک شود و کیفیت تخمک را بهبود بخشد.

درصد لقاح: باتوجه به شکل ۵، بیش‌ترین درصد لقاح در سطح آنزیمی ۴ (۱۰۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) ایجاد شد که دیگر گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌دار داشت($P<0/05$). به‌خوبی ثابت شده است که وضعیت تغذیه مولدین به‌طور قابل توجهی می‌تواند بلوغ تخمدان و عملکرد تولیدمثلی را تحت تاثیر قرار دهد (Alava و همکاران، ۱۹۹۳؛ Cahu و همکاران، ۱۹۹۴، ۱۹۹۵؛ Xu و همکاران، ۱۹۹۴؛ Bogut و همکاران، ۱۹۹۵؛ Millamena و Quinitio، ۲۰۰۰؛ Cavalli و همکاران، ۱۹۹۹؛ Wouters و همکاران، ۱۹۹۹، ۲۰۰۱، ۲۰۰۱) بنابراین به‌نظر می‌رسد افزودن مولتی‌آنزیم کمبو به جیره غذایی، با اثرگذاری بر کیفیت تغذیه می‌تواند درصد لقاح که یکی از پارامترهای تولیدمثلی است را افزایش دهد.

قابلیت تفریخ: شکل ۶ نشان می‌دهد که افزودن مولتی‌آنزیم کمبو به جیره غذایی در هیچ‌یک از گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌داری در قابلیت تفریخ ایجاد نکرد($P>0/05$). مهم‌ترین فاکتورهای محیطی اثرگذار بر کیفیت تخمک، شامل شرایط غذایی مولدان و شرایط فیزیکوشیمیایی آب (دما، pH، شوری، سختی آب و ...) در طول دوره انکوباسیون‌اند (ایمانپور و زادمجید، ۱۳۸۸) از این جمله می‌توان نتیجه گرفت تنها عاملی که کیفیت تخمک را تحت تأثیر قرار می‌دهد، شرایط غذایی مولدان و کیفیت جیره غذایی نیست بلکه عوامل متعددی نظیر شرایط فیزیکو شیمیایی آب می‌تواند قابلیت تفریخ را تحت تأثیر قرار دهد. به‌نظر می‌رسد عدم معنی‌داری قابلیت تفریخ در پژوهش حاضر به‌همین دلیل باشد.

بازماندگی لاروی: باتوجه به شکل ۷ افزودن مولتی‌آنزیم کمبو به جیره غذایی در هیچ‌یک از گروه‌های آزمایش تفاوت معنی‌داری در بازماندگی لاروی ایجاد نکرد($P>0/05$). Jaya-Ram و همکاران (۲۰۰۸) در تحقیقی با بررسی اثرات سطوح مختلف HUFA بر عملکرد تولیدمثلی ماهی زبرا (*Danio rerio*) بیان کردند که سطوح مختلف HUFA در جیره غذایی بر درصد بازماندگی لاوری اثرگذار نیست این یافته با پژوهش حاضر هم‌سو بود. از طرف دیگر ترکیبات متفاوت تخمک همانند چربی‌ها، اسیدهای چرب، پروتئین و اسیداسکوربیک روی کیفیت تخمک و بقای لاروها تأثیر می‌گذارند (ایمانپور و زادمجید، ۱۳۸۸) این گزارش با آزمایش حاضر هم‌خوانی نداشت. به‌نظر می‌رسد اگر مدت زمان (۶ روز) استفاده شده در فرمول درصد بازماندگی لاروی بیش‌تر بود (بیش‌تر از یک ماه)، شاید در درصد بازماندگی لاروی در گروه‌های مختلف این آزمایش تفاوت ایجاد می‌شد.

طول دوره تحرک اسپرم: شکل ۸ نشان می‌دهد که افزودن این مولتی‌آنزیم به جیره غذایی در سطوح آنزیمی ۲، ۳ و ۴ طول دوره تحرک اسپرم را تحت تاثیر قرار داد و سبب افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد گردید ($P<0/05$). بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند که تحرک اسپرم می‌تواند رابطه مثبت و مستقیمی با میزان لقاح داشته باشد (ایمانپور و زادمجید، ۱۳۸۸) این تحقیقات با پژوهش حاضر هم‌خوانی داشت. ممکن است مولتی‌آنزیم کمبو با داشتن کربوهیدرازها سبب افزایش جذب کربوهیدرات‌ها در بدن ماهی شده و میزان کربوهیدرات‌های در دسترس اسپرم را افزایش داده و در نتیجه انرژی در دسترس اسپرم افزایش یابد و مدت زمان تحرک اسپرم را افزایش دهد.

درصد تحرک اسپرم: شکل ۹ بیان می‌کند که افزودن مولتی آنزیم کمبو به 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. به‌نظر می‌رسد تفاوت‌های فردی در ماهیان از علل عدم تفاوت معنی‌دار در درصد تحرک اسپرم باشد.

مولتی‌آنزیم کمبو به‌طورکلی در سطوح آنزیمی ۳ و ۴ (به‌ترتیب ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) بهترین فاکتور رشد را ایجاد کرد که با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت اما در درصد بازماندگی تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایش ایجاد نکرد. این مولتی‌آنزیم در سطح آنزیمی ۴ (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) بالاترین میزان شاخص گنادوسوماتیک، هم‌آوری و درصد لقاح را ایجاد کرد که با گروه شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود اما در هیچ‌یک از گروه‌های آزمایش در قابلیت تفریخ، بازماندگی لاروی و درصد تحرک اسپرم تفاوت معنی‌دار ایجاد نگردید. در یک نتیجه‌گیری کلی اگر از این مولتی‌آنزیم جهت پرورش ماهی استفاده می‌شود سطح آنزیمی ۳ (۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) به‌عنوان بهترین میزان آنزیم جهت افزودن به جیره غذایی پیشنهاد می‌شود اما اگر علاوه بر پرورش، تکثیر ماهی از دیگر اهداف پرورش‌دهنده است، سطح آنزیمی ۴ (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) به‌عنوان بهترین بهبود دهنده عملکرد تولیدمثلی معرفی می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان برخود لازم دانسته از سرکارخانم الناز جهاندارفرد که با تحمل زحمات فراوان حق زیادی بر آن‌ها دارند، تشکر و سپاسگزاری نمایند.

منابع

۱. **ایمان‌پور، م.ر. و زادمجید، و.، ۱۳۸۸.** مقدمه‌ای بر تکثیر ماهیان. انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۹۰ صفحه.

۲. **تبریزی، م.؛ نجاتی، م.؛ نوتاش، ش. و میرزایی، ح.، ۱۳۹۰.** تأثیر سطوح مختلف مولتی‌آنزیم بر عملکرد و میزان بقاء ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرواری (*Oncorhynchus mykiss*). مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز. دوره ۵، شماره ۱، صفحات ۱۱۰۳ تا ۱۱۱۰.

۳. **عادلیان، م.؛ ایمان‌پور، م.؛ تقی‌زاده، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۲.** استفاده از مولتی‌آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر آن بر شاخص گنادوسوماتیک. دومین همایش ملی شیلات و آبزیان ایران. دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس.

۴. **عادلیان، م.؛ ایمان‌پور، م.؛ تقی‌زاده، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۵.** استفاده از مولتی‌آنزیم 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.

۵. **عادلیان، م.؛ ایمان‌پور، م.؛ تقی‌زاده، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۵.** استفاده از مولتی‌آنزیم 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.

۶. **قبادی، ش.؛ متین فر، ع.؛ نظامی، ش. و سلطانی، م.، ۱۳۸۸.** عملکرد مکمل آنزیمی آویزایم بر جایگزینی آرد ماهی با آرد سویا و تأثیر آن بر رشد و بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله شیلات ایران. سال ۳، شماره ۲، صفحات ۱۱ تا ۲۲.

۷. **نوبخت، ع. و اشرف، ع.، ۱۳۹۳.** بررسی اثرات سطوح مختلف تفاله چغندرقند و مولتی‌آنزیم کمبو بر عملکرد، فراسنجه‌های خون و صفات کیفی تخم‌مرغ و در مرغ‌های تخم‌گذار. نشریه علوم دامی. شماره ۱۰۲، صفحات ۴۲ تا ۵۱.

۸. **نوبخت، ع.؛ مهینی، ف. و خدایی، ص.، ۱۳۹۱.** بررسی اثر استفاده از آنزیم‌های تجاری بر عملکرد و کیفیت لاشهٔ جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های بر پایهٔ گندم، و جو. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران. جلد ۴، شماره ۱، صفحات ۳۲ تا ۳۸.

۹. **Ai, Q.; Kangsen, M.; Wenbing, Zh.; Wei, X.; Beiping, T.; Chunxiao, Zh. 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 and integrative physiology. Vol. 147, No. 2, pp: 502-508.

۱۰. **Aimin, W. and Liu, W., 2006.** Effects of Exogenous Enzymes on the Growth and Apparent Digestivibility of Allogynogenetic Crucian Carp Fingerlings [J]. Feed Industry. Vol. 2, 8 p.

۱۱. **Alava, V.R.; Kanazawa, A.; Teshima, S. and Sakamoto, S., 1993.** Effect of Dietary Phospholipids and N-3 Highly Unsaturated Fatty Acids on Ovarian Development of Kuruma Prawn. Nippon Suisan Gakkaishi. Nippon Suisan Gakkai. Vol. 59, No. 2, pp: 345-351.

۱۲. **Biswas, S.P., 1993.** Manual of Methods in Fish Biology. South Asian Publishers.

۱۳. **Bjerselius, R.; Hákan, O. and Wenbin, Zh., 1995.** Endocrine, Gonadal and Behavioral Responses of Male Crucian Carp to the Hormonal Pheromone 17α, 20β Dihydroxy-4-Pregnen-3-One. Chemical Senses. Oxford University Press. Vol. 20, No. 2, pp: 221-230.

۱۴. **Bogut, I.; Opačak, A. and Stević, I., 1995.** The Influence of Polyzymes Added to the Food on the Growth of Carp Fingerlings (*Cyprinus carpio L.*). Aquaculture. Vol. 129, No. 1. pp: 252-261.

۱۵. **Boonyaratpalin, M.; Promkunthong, W. and Hunter, B., 2000.** Effects of Enzyme Pre-Treatment on in Vitro Glucose Solubility of Asian Plant by-Products and Growth and Digestibility of Oil Palm Expeller Meal by *Oreochromis niloticus* (Nile Tilapia). In Proceedings of the Third European Symposium on Feed Enzymes, The Netherlands. pp: 86-92.

۱۶. **Cahu, C.; Guillaume, J.C.; Stephan,G. and Chim, L., 1994.** Influence of Phospholipid and Highly Unsaturated Fatty Acids on Spawning Rate and Egg and Tissue Composition In *Penaeus vannamei* Fed Semi-Purified Diets. Aquaculture. Vol. 126, No. 1, pp: 159-170.

۱۷. **Cahu, C.; Cuzon, L.G. and Quazuguel, P., 1995.** Effect of Highly Unsaturated Fatty Acids, α-Tocopherol and Ascorbic Acid in broodstock diet on egg composition and development of *Penaeus indicus*. Comparative biochemistry & physiology part A: Physiology, Elsevier. Vol. 112, No. 3, pp: 417-424.

۱۸. **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.

۱۹. **Cavalli, R.O.; Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1999.** Performance Of *Macrobrachium rosenbergi*i Broodstock Fed Diets with Different Fatty Acid Composition. Aquaculture. Vol. 179, No. 1, pp: 387-402.

۲۰. **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.

۲۱. **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.

۲۲. **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.

۲۳. **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. 412 p.

۲۴. **Hastings, W.H., 1946.** Enzyme Supplements to Poultry Feeds. Poultry Science. Vol. 25, No. 6, pp: 584-586.

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. **Jaya-Ram, A.; Meng-Kiat, K.; Phaik-Siew, L.; Sagiv, K. and Shu-Chien, A.Ch., 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.

۲۷. **Kalantar, M.; Rezaei, M.; Salary, J. and Hemati Matin, H.R., 2014.** *Thymus vulgaris L., Glycyrrhiza glabra* or Combo® Enzyme in Corn vs. Barley-Based Broiler Diets. J of Coastal Life Medicine. Vol. 2, No. 12, pp: 993-997.

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. **Kumar, S.; Sahu, N.P. and Pal, A.K., 2006.** Non Gelatinized Corn Supplemented with Microbial Cc-Amylase at Sub-Optimal Protein in the Diet of *Labeo rohita* Fingerlings Increases Cell Size of Muscle. Journal of Fisheries andAquatic Science. Vol. 1, No. 2, pp: 102-111.

۳۰. **Laird, L.M. and Needham, T., 1988.** Growth, Nutrition and Feeding, Salmon and Trout Farming. England: Ellis Horwood Limited.

۳۱. **Lin, Sh.; 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.

۳۲. **Millamena, O.M. and Quinitio, E., 2000.** The Effects of Diets on Reproductive Performance of Eyestalk Ablated and Intact Mud Crab *Scylla serrata*. Aquaculture. Vol. 181, No. 1. pp: 81-90.

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. **Pettersson, D. and Åman, P., 1989.** Enzyme supplementation of a poultry diet containing rye and wheat. British Journal of Nutrition. Vol. 62, No. 1, pp: 139-149.

۳۵. **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 and Xylanase. Poultry Science. Vol. 74, No. 8, pp: 1329-1334.

۳۶. **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.

۳۷. **Smartt, J., 2008.** Goldfish Varieties and Genetics: Handbook for Breeders. John Wiley & Sons.

۳۸. **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 Journal of Nutrition. Vol. 8, No. 4, pp: 395-407.

۳۹. **Suzuki, K., 1997.** The Goldfish and Japanese. San Ichi Publishing Co., Ltd.

۴۰. **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.

۴۱. **Thongprajukaew, K.; Uthaiwan, K.; Satit, K.; Pisamai, S. and Rungruangsak-Torrissen, K., 2011.** Effects of different modified diets on growth, digestive enzyme activities and muscle compositions in juvenile Siamese Fighting Fish (*Betta splendens* Regan, 1910). Aquaculture. Vol. 322, pp: 1-9.

۴۲. **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.

۴۳. **Wen-ju, W.; Ji-ting1, W.A.N.; Shu-qin, W.U.; Cun-bin, S.H.I. and Cheng, J.I., 2008.** Effects of non-starch polysaccharide on activities of protease and Amylase of Hybrid Tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*). Chinese Journal of Animal Nutrition. Vol. 5, 16 p.

۴۴. **Wouters, R.; Gomez, L.; Lavens, P. and Calderon, J., 1999**. Feeding enriched Artemia biomass to *Penaeus vannamei* broodstock: Its effect on reproductive performance and larval quality. J of Shellfish Research. Vol. 18, No. 2, pp: 651-656.

۴۵. **Wouters, R.; Piguave, X.; Bastidas, L.; Calderon, J. and Sorgeloos, P., 2001.** Ovarian maturation and haemolymphatic vitellogenin concentration of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed increasing levels of total dietary lipids and HUFA. Aquaculture Research. Vol. 32, No. 7. pp: 573-582.

۴۶. **Wouters, R.; Lavens, P.; Nieto, J. and Sorgeloos, P., 2001.** Penaeid Shrimp broodstock nutrition: An updated review on research and development. Aquaculture. Vol. 202, No. 1, pp: 1-21.

۴۷. **Xu, X.L.; Ji, W.J.; Castell, J.D. and O'dor, R.K., 1994**. Influence of dietary lipid sources on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition of Chinese Prawn (*Penaeus chinensis*) broodstock. Aquaculture. Vol. 119, No. 4, pp: 359-370.

۴۸. **Yildirim, Y.B. and Turan, F., 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 and Zorie Zahara, S., 2012**. Effects of two dietary exogenous multi-enzyme supplementation, Natuzyme® and Beta-Mannanase (Hemicell®), on growth and blood parameters of Caspian Salmon (*Salmo trutta Caspius*). Comparative Clinical Pathology. pp: 1-6.