"مقاله پژوهشی"

تاثیر آنزیم‌های خارجی (آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز) بر شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی و فلور باکتریایی روده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه‌شده با جیره حاوی کربوهیدرات بالا

عارف حشمتی[۱]، عبدالمحمد عابدیان کناری[۱]*، رقیه صفری[۲]

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
۲- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران/

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۳

چکیده

یکی از محدودیت‌های اصلی استفاده از مواد گیاهی در جیره آبزیان به خصوص ماهیان گوشتخوار وجود پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در این مواد می‌باشد. امروزه استفاده از آنزیم‌های کربوهیدراتی خارجی به عنوان راه حل کاهش مشکلات استفاده از مواد گیاهی مورد توجه قرار گرفته است. آنزیم‌های آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز مهمترین آنزیم‌های کربوهیدراتی مصرفی در صنعت خوراک می‌باشند که با شکستن پیوندهای ۱ به ۴ گلیکوزیدی موجب کاهش اثرات ضد تغذیه‌ای این ترکیبات می‌شوند. مطالعه حاضر به بررسی عملکرد آنزیم‌های آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز روی ۲۱۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (میانگین وزنی۳/۸۵±۱۷/۶۵ گرم) در ۷ تیمار با سه تکرار پرداخته است. افزودن مخلوط آنزیم‌ها به سه روش: قبل از ساخت جیره (۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت قبل)، به هنگام ساخت (مخلوط با سایر مواد) و پس از ساخت بصورت پاشیدن انجام شده است. ابتدا ترکیب آنزیمی مورد نظر برای آرد گندم و کنجاله سویا توسط آزمایش برون‌تنی طراحی گردید که میزان آنزیم مورد نیاز آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز برای آرد گندم به ترتیب ۰/۵، ۰/۱، ۰/۳ و۰/۲ و برای کنجاله سویا به ترتیب ۰/۵، ۰/۲، ۰/۵ و۰/۱ گرم بر کیلوگرم به دست آمد. پس از ساخت جیره‌ها، غذادهی سه بار در روز و در حد سیری صورت گرفت. در انتهای دوره آزمایش (۶۰ روز)، از هر تکرار ۳ عدد ماهی به صورت تصادفی نمونه‌برداری شد. آنزیم‌ها بر روی شاخص گلبول سفید، قرمز، هماتوکریت و کمپلمان اثر معنی‌داری نداشتند اما موجب افزایش معنی دار میزان کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون در تیمار افزودن مخلوط آنزیم ۶ ساعت قبل از ساخت غذا شدند. میزان گلوکز در تیمارهای افزودن مخلوط آنزیم ۳ و ۶ ساعت قبل از ساخت به طور معنی‌داری بالاتر از سایرین بود. میزان لاکتوباسیلوس‌های روده و لیزوزیم سرم در تیمار افزودن مخلوط آنزیم ۶ ساعت قبل از ساخت به طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها قرار گرفت. به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد استفاده از مخلوط آنزیم‌ها ۶ ساعت قبل ساخت می‌تواند راندمان استفاده از جیره حاوی کربوهیدرات را در ماهی قزل آلای رنگین کمان بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: تغذیه، آنزیم‌های کربوهیدراتی، پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای، قزل‌آلای رنگین‌کمان.

* عهده‌دار مکاتبات: aabedian@modares.ac.ir

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]

[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

مقدمه

بر اساس گزارش فائو (۲۰۲۰) میزان تولید آبزی‌پروری حدود ۴۶ درصد کل تولید ماهیان را شامل می‌شود و به سرعت در جهان در حال افزایش است. یکی از مهم‌ترین مباحث در تولید و توسعه پایدار صنعت آبزی‌پروری تامین خوراک با هزینه مناسب است (Sinha و همکاران، ۲۰۱۱). پودر ماهی به دلیل قابلیت هضم و جذب بالا، اسیدهای چرب غیر اشباع، مواد معدنی، فسفولیپیدها و نوکلئوتیدها یک منبع بسیار مهم و گرانقیمت در جیره ماهیان گوشتخوار می‌باشد (Gatlin و همکاران، ۲۰۰۷؛ Oliva-Teles، ۲۰۱۲)، اما تولید آن در سال‌های اخیر حدود ۴ میلیون تن بوده است و پیش‌بینی می‌شود تخصیص ماهی‌های صیدشده به صنعت تولید پودر ماهی از ۱۸ درصد در سال ۲۰۱۶ به ۱۵ درصد در سال ۲۰۳۰ کاهش یابد (Kobayashi و همکاران، ۲۰۱۵). با توجه به محدودیت تولید پودر ماهی تحقیقات گسترده‌ای در راستای جایگزینی پودر ماهی با مواد پروتئینی گیاهی انجام شده است (Castillo و همکاران، ۲۰۱۵). اختلاط مواد مشتق‌شده از گیاهان در غذای ماهیان روز به روز در حال افزایش است. یکی از محدودیت‌های اصلی در استفاده از مواد گیاهی حضور پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در گیاهان است (Sinha و همکاران، ۲۰۱۱). ماهی و دیگر حیوانات تک معده‌ای آنزیم‌هایی مانند سلولاز، بتاگلوکاناز و بتازایلاناز که بر هضم پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای موثرند را ندارند (Kuz'mina، ۱۹۹۶). این پلی‌ساکاریدها جزیی از ساختار و دیواره غشای سلول‌های گیاهی می‌باشند (Sinha و همکاران، ۲۰۱۱) که موجب تغییرات در ویسکوزیته هضم، مورفولوژی و فیزیولوژی روده، کاهش جذب گلوکز و تغییر در فلورباکتریایی روده ماهیان شده (Vahouny و همکاران،۱۹۸۱؛ Angkanaporn و همکاران، ۱۹۹۴؛ Johansen و همکاران، ۱۹۹۶،Leenhouwers و همکاران، ۲۰۰۶؛ Sinha و همکاران، ۲۰۱۱) و در نتیجه کاهش رشد ماهی را بهمراه دارد (Kumar و همکاران؛ ۲۰۱۲؛Maas و همکاران؛ ۲۰۲۰). جهت رفع این مشکل استفاده آنزیم‌های کربوهیدراتازی در صنایع تولیدی خوراک طیور و خوک به یک افزودنی رایج تبدیل شده است. با توجه به مطالعات اندک در خصوص عملکرد مثبت برخی آنزیم‌های خارجی در غذای آبزیان، به‌نظر می‌رسد استفاده از این آنزیم‌ها می‌تواند یک راه موثر برای کاهش میزان تاثیر مواد ضدتغذیه‌ای در رژیم غذایی ماهیان گوشت خوار حاوی سطوح بالایی از مواد غذایی گیاهی باشد (Sinha و همکاران، ۲۰۱۱).

آنزیم‌های کربوهیدراتازی آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز پیوندهای گلیکوزیدی ۱ به ۴ داخلی را به طور تصادفی می‌شکنند (Tull و همکاران ۱۹۹۴؛ Bayer و همکاران، ۲۰۰۷؛ Wong، ۲۰۱۳) با این حال هنوز اثرات آنزیم خارجی کربوهیدراتازی برعملکرد ماهی خوب مشخص نیست، در برخی تحقیقات رشد ماهی افزایش یافته (Carter، ۱۹۹۴؛ Lin و همکاران، ۲۰۰۷؛ Ai و همکاران، ۲۰۰۷؛ Zhou و همکاران، ۲۰۱۳؛ Adeoye و همکاران، ۲۰۱۶؛ Monier، ۲۰۲۰ و در موارد دیگر اثری بر شاخص‌های رشد دیده نشده (Ogunkoya و همکاران،۲۰۰۶؛ Dalsgaard و همکاران ۲۰۱۱؛ Maas و همکاران، ۲۰۲۱) که دلیل آن می‌تواند نوع جیره، نوع گونه پرورشی، مرحله زندگی و حتی نوع آنزیم به‌کار رفته باشد (Jiang و همکاران، ۲۰۱۴). نحوه استفاده از

آنزیم‌ها به دلیل ناپایداری آنها در مقابل حرارت می‌تواند در عملکرد آنها موثر باشد. بر اساس گزارش Bedford (۲۰۰۰) و Adeola و Cowieson (۲۰۱۱) به منظور جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها در زمان ساخت غذا آنها را با چربی مخلوط کرده و بر روی غذا اسپری می کنند، اما این روش هم می‌تواند بر کارائی آنزیم‌ها تأثیر گذار باشد (Murray و همکاران، ۲۰۰۹؛ Castillo، 2015). بنابراین برای دستیابی به عملکرد بهینه آنزیمها در این مطالعه سعی گردید استفاده از آنزیم‌ها در سه مرحله قبل، حین و بعد ساخت غذا مورد مطالعه قرار گیرد تا اطلاعات جامعی از آن برای هم تولیدکنندگان خوراک غذا و مزرعه داران بدست آید. در مطالعه حاضر سطح مورد نیاز هر یک از آنزیم‌ها بر اساس کنجاله سویا و آرد گندم به صورت برون تنی به‌دست آمد و با روش‌های گوناگون (قبل،هنگام و بعداز ساخت) به جیره‌ها اضافه شد. به عبارت دیگر هدف از این مطالعه ابتدا به دست آوردن حداقل آنزیم مورد نیاز از هر یک از آنزیم‌ها برای کنجاله سویا و آرد گندم بود و در قدم بعدی تعیین بهترین روش اضافه کردن آنزیم‌ها به غذای ماهی قزل آلای رنگین کمان بود.

روش کار

ابتدا برای سنجش میزان دوز استفاده از هر آنزیم بر اساس منبع کربوهیدراتی با روش کمی آزمایش تست قند میلر (Miller، ۱۹۵۹) حداقل میزان آنزیم سلولاز، آلفاآمیلاز، 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 با مقادیر متفاوت آنزیم‌ها با دوزهای ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ اضافه شد (جدول ۱). لوله‌های آزمایش با بایوفیلم 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. برای آزمایش تست قند Miller نیاز به استاندارد گلوکز ۴ میکرومول بر میلی لیتر، بافر استات ۰/۰۵ مول در pH=8/4 و DNS است. برای ساخت محلول DNS در یک بالن ژوژه یک لیتری ۱۰ گرم ۳و۵ دی نیتروسالیسلیک در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید، سپس ۱۶ گرم سود سدیم در ۱۶۰ سی سی آب مقطر به آرامی حل شد و به نمونه ۳و۵ دی نیتروسالیسلیک اضافه گردید و سپس در دمای ۵۰ درجه ۴۰۳ گرم پتاسیم سدیم تارتارات تترا هیدرات اضافه و به حجم یک لیتر رسانده، سپس از کاغذ صافی عبور داده شده و در دمای ۴ درجه نگه داری گردید. نمونه‌ها بعداز ۲۴ ساعت از انکوباتور خارج و حجم هر نمونه به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. یک میلی‌لیتر از هر نمونه برداشته و داخل لوله آزمایش ریخته و به هر لوله آزمایش یک میلی‌لیتر بافر و سه میلی‌لیتر محلول DNS اضافه شد به لوله شاهد به جای نمونه، آب مقطر و در لوله استاندارد به جای نمونه استاندارد ریخته، سپس همه لوله‌ها در آب جوش به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت و پس ازسرد شدن نمونه‌ها در طول موج 540nm طیف‌سنجی شدند و عدد جذب قرائت گردید.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

جدول ۱: نتایج حاصل از آزمایش تست قند میلر روی آرد گندم و کنجاله سویا

نوع منبع کربوهیدرات	نوع آنزیم	میزان جذب طیف سنج نوری (اسپکتروفتومتر) در دوز مختلف آنزیم					
		۰ گرم بر کیلوگرم (شاهد)	۰/۱ گرم بر کیلوگرم	۰/۲ گرم بر کیلوگرم	۰/۳ گرم بر کیلوگرم	۰/۴ گرم بر کیلوگرم	۰/۵ گرم بر کیلوگرم
آرد گندم	آلفاآمیلاز	± ۰/۱۴b ۰/۸	± ۰/۰۹ab ۰/۸۲	± ۰/۰۳ab ۰/۹۴	± ۰/۰۸ab ۰/۹۴	± ۰/۲۱ab ۰/۹۲	± ۰/۰۳a ۱/۰۴
	سلولاز	± ۰/۰۸b ۰/۸۳	± ۰/۰۶a ۱/۰۵	± ۰/۲۱a ۱/۰۷	± ۰/۱۲a ۱/۰۵	± ۰/۰۱a ۱/۰۸	± ۰/۰۷a ۱/۰۹
	زایلاناز	± ۰/۰۲b ۰/۷۹	± ۰/۰۱b ۰/۸۲	± ۰/۰۸b ۰/۸	± ۰/۰۲a ۰/۹۳	± ۰/۰۲a ۰/۹۴	± ۰/۱۱a ۰/۹۴
	بتاگلوکاناز	± ۰/۰۲b ۰/۷۳	± ۰/۰۴ab ۰/۸۸	± ۰/۰۴a ۱/۱۲	± ۰/۰۸a ۱/۱۲	± ۰/۲۶a ۱/۱۱	± ۰/۱۶a ۱/۰۱
کنجاله سویا	آلفاآمیلاز	± ۰/۰۳b ۱/۱۴	± ۰/۰۵b ۱/۲۸	± ۰/۰۴b ۱/۱۳	± ۰/۰۹b ۱/۲۲	± ۰/۰۷b ۱/۲	± ۰/۲۲a ۱/۴۸
	سلولاز	± ۰/۰۲b ۱/۰۳	± ۰/۱۲b ۱/۵۴	± ۰/۱a ۱/۳۱	± ۰/۱۶a ۱/۳۱	± ۰/۰۷a ۱/۳۳	± ۰/۱۱a ۱/۳۴
	زایلاناز	± ۰/۱۳c ۱/۱۲	± ۰/۰۷b ۱/۵	± ۰/۰۴b ۱/۵۴	± ۰/۰۱b ۱/۵۹	± ۰/۰۷۳b ۱/۵۴	± ۰/۱۲a ۱/۷۴
	بتاگلوکاناز	± ۰/۰۱b ۱/۰۴	± ۰/۰۳a ۱/۰۹	± ۰/۰۴a ۱/۱۷	± ۰/۰۲a ۱/۱۴	± ۰/۰۵a ۱/۱۷	± ۰/۰۶a ۱/۱۳

داده‌ها به‌صورت ME±SD بیان شده‌اند. حروف متفاوت در یک ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار هستند ($P\leq0/05$)،

بر اساس نتایج به‌دست آمده در جدول ۱، میزان آنزیم بهینه (بر اساس میزان و عملکرد) مورد نیاز برای هضم آرد گندم از آنزیم‌های آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز به ترتیب۰/۵، ۰/۱، ۰/۳ و۰/۲ گرم بر کیلوگرم به دست آمد و میزان آنزیم مورد نیاز برای کنجاله سویا از آنزیم‌های آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز به ترتیب ۰/۵، ۰/۲، ۰/۵ و۰/۱ گرم بر کیلوگرم به دست آمد. بنابراین ترکیب اول برای آرد گندم شامل ۰/۵ گرم بر کیلوگرم آلفاآمیلاز معادل ۴۵/۴۵ درصد، ۰/۱ گرم بر کیلوگرم سلولاز معادل ۹/۱ درصد، ۰/ ۳ گرم بر کیلوگرم زایلاناز معادل ۲۷/۲۷ درصد و ۰/۲ گرم بر کیلوگرم بتاگلوکاناز معادل ۱۸/۱۸ درصد از ۱/۱ گرم مخلوط آنزیم‌های آرد گندم می‌باشد. ترکیب دوم برای کنجاله سویا شامل۰/۵ گرم بر کیلوگرم آلفاآمیلاز معادل ۳۸/۴۶ درصد، ۰/۲گرم بر کیلوگرم سلولاز معادل ۱۵/۳۸درصد، ۰/۵ گرم بر کیلوگرم زایلاناز معادل ۳۸/۴۶ درصد و ۰/۱ گرم بر کیلوگرم بتاگلوکاناز معادل ۷/۷ درصد از ۱/۳ گرم مخلوط آنزیم‌ها برای کنجاله سویا بدست آمد. درمجموع مقدار آنزیم مورد نیاز برای یک کیلوگرم آرد گندم و کنجاله سویا به ترتیب۱/۱ و ۱/۳ گرم بر کیلوگرم از مخلوط‌های آنزیمی فوق بوده که قبل از ساخت عذا در ساعات مختلف برای این دو ماده اولیه و نیز برای سایر جیره ها به نسبت ماده اولیه مورد استفاده در غذا محاسبه شدند.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

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 مورد نظر با استفاده از نرم افزار Lindo فرموله (جدول ۲) شد که در آن از پودر ماهی کیلکا استفاده شد و ۳۰ درصد کربوهیدرات جیره از آرد گندم و کنجاله سویا که مجموعا ۵۰ درصد جیره را شامل شده است تامین گردید. برای ساخت جیره‌ها مواد خشک غیرگیاهی ابتدا با هم مخلوط شدند و سپس اقلام گیاهی وزن شده بر اساس تیماربندی (جدول ۳) آماده‌سازی شد. تیمار بندی بدین صورت بود که در تیمارهای افزودن مخلوط آنزیم‌ها قبل از ساخت غذا، ابتدا مخلوط آنزیم‌های ساخته شده برای آرد گندم به آرد گندم و مخلوط آنزیم‌های ساخته شده برای کنجاله سویا به کنجاله سویا به صورت جداگانه اضافه شد و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در زمان‌های مختلف ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت، در تیمار حین ساخت، مخلوط آنزیم‌های آرد گندم و سویا بر حسب میزان مورد استفاده این دو ماده غذایی در جیره محاسبه و به غذا اضافه گردیدند و توسط چرخ گوشت پلت شدند، سپس پلت‌ها در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت در خشک کن نگه‌داری تا خشک شدند (Abedian Kenari و همکاران، ۲۰۱۱). بعداز سرد شدن برای ساخت تیمار افزودن مخلوط آنزیم‌ها به صورت اسپری با چربی ابتدا آنزیم‌های کنجاله سویا و آرد گندم بر حسب میزان مورد استفاده این دو ماده در غذا با یکدیگر مخلوط و سپس روی جیره اسپری گردیدند (Castillo و همکاران، ۲۰۱۵). جهت ایجاد شرایط برابر روی سایر جیره‌ها نیز به همان اندازه چربی بدون آنزیم اسپری شد. سپس تا زمان استفاده در فریز ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند Abedian Kenari (و همکاران، ۲۰۱۱).

جدول ۲: ترکیب جیره ساخته شده برای تغذیه قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مواد اولیه*	درصد موجود در جیره
پودر ماهی	۳۳/۶۷
پودر سویا	۳۱/۳۶
آرد گندم	۱۸/۹۶
روغن ماهی	۴/۳۷
روغن سویا	۴/۳۷
لسیتین	۰/۵
دی کلسیم فسفات	۱
مکمل معدنی**	3
مکمل ویتامینه***	۳
ضد قارچ	۰/۲۵
آنتی اکسیدان (BHT)	۰/۰۲
اکسید کروم cr2o3	۰/۵
آنالیز تقریبی جیره پس از ساخت (درصد ماده خشک)	
پروتئین خام (٪)	۴۰/۰۷
چربی خام (٪)	۱۳/۴۲
خاکستر (٪)	۱۳/۳۷
کربوهیدرات (٪)	۳۳/۱۴
رطوبت (٪)	۲/۷
****انرژی کل (Kj/g)	۲۰/۴۶

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

* 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 ویتامین‌های: E:۱۵۰ IU، D۲۰۰۰۰۰۰ IU، A۸۰۰۰۰۰ IU: ، B_{12}: ۰/۰۵ gr، B_3 :۱۵۰gr ،B۲۰۰:gr ،B۸۰:gr ،Enositol:۵۰۰gr ،K۵۰:gr ،B۵۰:gr ،B۵۰:gr ،B۴۰:gr ،C:۵۰۰gr

**** 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: تیمارهای مختلف غذایی مورد استفاده در آزمایش

تیمار	زمان اضافه کردن مخلوط آنزیم‌ها
E0 (شاهد)	بدون مخلوط آنزیم‌ها
E1	افزودن مخلوط آنزیم‌ها هنگام ساخت
E2	افزودن مخلوط آنزیم‌ها بعد از ساخت به صورت اسپری با روغن
E3	افزودن مخلوط آنزیم‌ها به آرد گندم و و کنجاله سویا ۳ ساعت قبل ساخت جیره
E4	افزودن مخلوط آنزیم‌ها به آرد گندم و و کنجاله سویا ۶ ساعت قبل ساخت جیره
E5	افزودن مخلوط آنزیم‌ها به آرد گندم و و کنجاله سویا ۱۲ ساعت قبل ساخت جیره
E6	افزودن مخلوط آنزیم‌ها به آرد گندم و و کنجاله سویا ۲۴ ساعت قبل ساخت جیره

نحوه پرورش

پرورش ماهی در بهار سال ۱۳۹۸ با انتقال بچه ماهیان از مزرعه پرورش ماهی واقع در جاده محمود آباد به آمل به کارگاه تحقیقات آبزیان دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. پس از انجام مرحله سازگاری، ۲۱۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که تقریبا از لحاظ وزنی (میانگین وزنی ۳/۸۵±۱۷/۶۵ گرم) در یک اندازه بودند. به‌طور تصادفی انتخاب و در ۲۱ تانک فایبرگلاس (۱۰۰ لیتری) با حجم آب ۸۰ لیتر به تعداد ۱۰ قطعه ماهی در هر تانک توزیع گردیدند. غذادهی ماهیان به مدت ۶۰ روز بصورت اشباع تا حد سیری ظاهری انجام شد. غذادهی ۳ وعده در روز (ساعت ۸، ۱۳و ۱۸) انجام گرفت. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره‌ی نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی انجام پذیرفت. میزان دمای آب، اکسیژن محلول و pH به ترتیب ۱۴ تا ۱۸ (میانگین ۱۵/۷۸) درجه سانتی‌گراد، ۸/۵ تا ۹ میلی‌گرم در لیتر و ۷/۳ تا ۸/۲ اندازه‌گیری گردید. آب مخازن به‌طور دائم هوادهی می‌شد و تعویض آب (به‌طور میانگین ۷۰ درصد آب روزانه جایگزین می‌شد) به صورت سیفون کردن روزانه صورت گرفت.

سنجش فلور باکتریایی‌های کل و لاکتوباسیلوس‌های روده

در انتهای دوره از فلور میکروبی روده نمونه برداری انجام شد. برای اینکار ابتدا ۴۸ ساعت قبل از نمونه برداری تغذیه ماهیان قطع شد، حفره‌ی شکمی پس از استریل با الکل با استفاده از اسکالپل باز گردید. روده در حد فاصل بعد از معده و ۰/۵ سانتی‌متر مانده به مخرج قطع شد. یک واحد از این محتویات روده در ۹ واحد سرم فیزیولوژی رقیق شده و از نمونه فوق، رقت های متوالی 10^{2} تا 10^{6} تهیه گردید و به صورت سطحی در محیط کشت PCA برای شمارش فلور باکتریایی کل و به صورت پور پلیت در محیط کشت MRS برای

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

شمارش لاکتوباسیلوس‌ها کشت داده شد. پلیت‌های MRS به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در جار بی‌هوازی قرار داد شد. پلیت‌های PCA نیز به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند. پس از انکوباسیون، کلنی‌ها شمارش شده و تعداد کل باکتری‌ها با احتساب رقت مورد استفاده مشخص گردید (Gonzalez و همکاران، ۱۹۹۹؛ Ben-Giglrey و همکاران، ۱۹۹۸).

سنجش شاخص‌های خونی

پس از پایان دوره آزمایش، تعداد ۳ عدد ماهی به‌صورت تصادفی انتخاب و قبل از انجام خونگیری، ماهیان توسط محلول پودر گل میخک بیهوش شدند، خونگیری از سیاهرگ ساقه دمی انجام گرفت. مقدار خون جمع آوری شده به دو قسمت تقسیم شد. نمونه‌های خون حاوی ماده ضد انعقاد جهت اندازه‌گیری هماتوکریت]با روش سانتریفیوز)، گلبول قرمز و گلبول سفید (با لام نئوبار) استفاده شدند. سرم خون نمونه‌های خون موجود در لوله‌های فاقد ماده ضدانعقاد سانتریفیوژ (به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۶۰۰۰ rpm) جداسازی و به منظور اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی خون مورد استفاده قرار گرفت. جهت تعیین میزان لیزوزیم سرم از روش Sankaran و Gurnani (۱۹۷۲)، فعالیت همولیتیک کمپلمان از روش Amar و همکاران (۲۰۰۰) بر اساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش (RaABC)و میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و HDL موجود در سرم خون با استفاده از کیت پارس آزمون، سنجش شدند.

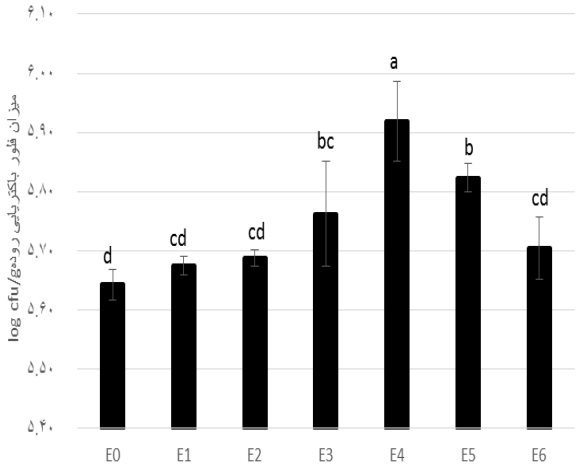
آنالیز آماری

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به رشد و سایر پارامترها، با آزمون ANOVA One way- انجام شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. از نرم افزار SPSS Version 20 برای آنالیز آماری و Excel برای رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج

فلور باکتریایی روده

شکل ۱ تعداد باکتری‌های کل موجود در روده را نشان می‌دهد. بیشترین میزان باکتری کل در تیمار E4 و بعد آن در E5 مشاهده گردید. کمترین میزان آن در تیمار E0 مشاهده شد ($P\leq0/05$).



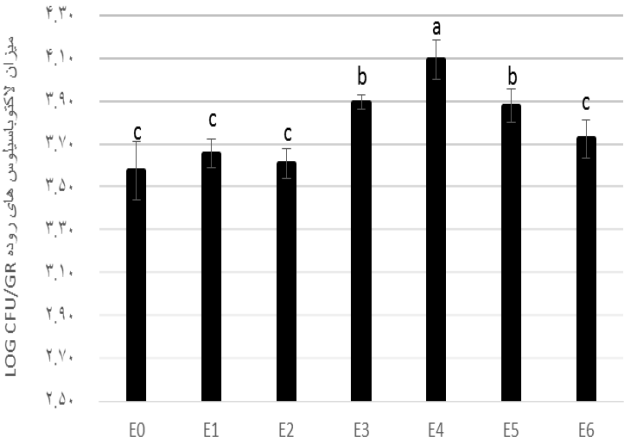
شکل ۱: تعداد باکتری کل روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره های مختلف طی دوره ۶۰ روزه

داده‌ها به‌صورت ME±SD بیان شده‌اند. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار هستند ($P\leq0/05$).

نتایج مقدار لاکتوباسیلوس‌های (باکتری های مفید) روده در شکل ۲ نشان داده شده است. بیشترین میزان در تیمار E4 و بعد آن بیشترین مقدار به ترتیب در E5 و

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

E3 مشاهده گردید، سایر تیمارها در یک سطح قرار داشتند (P≤0/05).

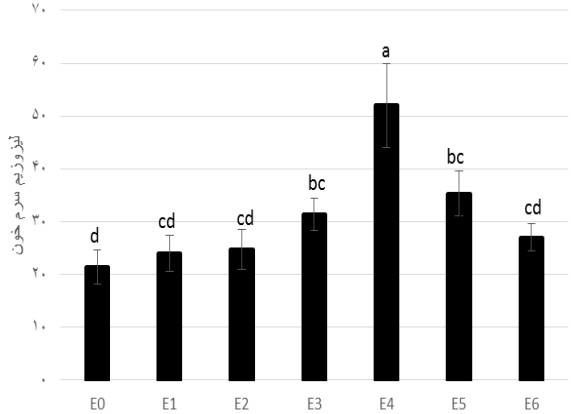


شکل ۲: تعداد لاکتوباسیلوس‌های روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره های مختلف طی دوره ۶۰ روزه

داده‌ها به‌صورت ME±SD بیان شده‌اند. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار هستند (P≤0/05).

شاخص های ایمنی خون ماهی

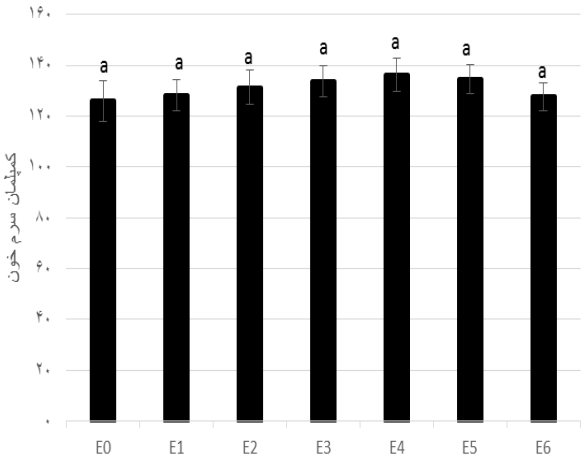
شکل ۳ تاثیر مخلوط آنزیم‌ها بر میزان لیزوزیم سرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را نشان می‌دهد، اختلاف میان تیمارها معنی‌دار بود (P≤0/05) به گونه ای که میزان آن در تیمار E4 از همه بیشتر و در تیمار E0 از همه کمتر بود.



شکل ۳: میزان لیزوزیم سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های مختلف طی دوره ۶۰ روزه

داده‌ها به‌صورت ME±SD بیان شده‌اند. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار هستند (P≤0/05).

بر اساس شکل ۴ استفاده از آنزیم با روش‌های مختلف اختلاف معنی‌دار ی در میزان شاخص ایمنی کمپلمان نسبت به یکدیگر ایجاد ننمود (P>0/05).



شکل ۴: میزان کمپلمان سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های مختلف طی دوره ۶۰ روزه

داده‌ها به‌صورت ME±SD بیان شده‌اند. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار هستند (P≤0/05).

شاخص‌های هماتولوژی و بیوشیمایی خون ماهی

بر اساس جدول ۴ تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های تعداد گلبول‌های سفید، قرمز و هماتوکریت خون ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های مختلف دیده نشد (P>0/05). اما میزان گلوکز خون در تیمارها متفاوت بود (P≤0/05)، به طوری که در تیمارهای E3 و E4 بالاترین میزان مشاهده شد و سایر تیمارها در یک سطح قرار داشتند. مقدار تری‌گلیسرید سرم در تیمار E4 بالاتر از سایر تیمارها بود و کمترین مقدار در تیمار E0 مشاهده شد (P≤0/05)، در شاخص کلسترول نیز تیمارE4 بالاتراز

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

سایر تیمارها و تیمار E0 کمتراز سایر تیمارها بود (P≤0/05)، همچنین بالاترین میزان شاخص HDL در تیمار E6 و کمترین در تیمار E0 مشاهده گردید (P≤0/05).

جدول ۴: تغییرات شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های مختلف طی دوره ۶۰ روزه

تیمار / شاخص	E0	E1	E2	E3	E4	E5	E6
گلبول سفید در میلی متر	۸۰۲ ± ۱۴۲۰۰	۹۰۷ ۱۴۳۰۰±	۱۴۱۰۰±۸۵۰	۱۲۳۰۰± ۴۱۶	۸۳۸ ۱۲۴۰۰±	۱۲۶۰۰± ۷۶۳	۱۰۳۰۰± ۱۲۵۸
گلبول قرمز در میلی متر	۰/۹ ۱۰/۴±	۱۰/۱± ۲/۰	۱۰/۴± ۱/۲	۹/۸± ۱/۰	۹/۴± ۲/۵	۱۰/۱± ۳/۳	۹/۸±۲/۴
هماتوکریت (درصد)	۴/۰ ۴۱/۳±	۴۰/۷± ۴/۰	۴۱/۳± ۳/۸	۴۲/۳± ۵/۱	۴۰/۰± ۳/۰	۳۹/۳± ۵/۰	۴۲/۰± ۵/۲
گلوکز mg/dl	۳/۵b ۵۹/۳±	۷۰/۱± ۲/۹b	۶۷/۳± ۳/۷b	۸۲/۶± ۸/۴a	۸۹/۵± ۹/۶a	۶۲/۲± ۵/۰b	۶۷/۹± ۷/۸b
تری گلیسرید	۹۷±۵/۳d	۱۱۴/۷±۸/۱c	۱۳۶/۷±۸/۴ab	۱۲۳/۷±۷/۲bc	۱۴۲/۳±۸/۴a	۱۳۱/۷±۷/۲ab	۱۲۷/۳±۵/۸ab
کلسترول mg/dl	۱۰/۶c ۱۸۶/۷±	۸/۹b ۲۱۵/۷±	۹/۵ab ۲۲۴/۰±	۵/۷ab ۲۲۲/۷±	۳/۸a ۲۳۰/۷±	۲۱۱/۰± ۴/۶b	۵/۰ab ۲۲۴/۷±
HDL mg/dl	۱/۰b ۳۹/۰±	۶/۱ab ۴۴/۰±	۴۳/۰± ۳/۶ab	۴۴/۰± ۴/۴ab	۵/۰ab ۴۵/۰±	۴۵/۰± ۴/۴ab	۵۰/۰± ۲/۰a

داده‌ها به‌صورت ME±SD بیان شده‌اند. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار هستند (P≤0/05).

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه سلامتی و ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان هنگامیکه مخلوطی از آنزیمهای خارجی به یک جیره حاوی کربوهیدرات بالا افزوده شد مورد مقایسه قرار گرفت. معمولا وجود منابع کربوهیدراتی بالا در ماهیان گوشتخوار نظیر قزل آلای رنگین کمان موجب مشکلاتی در رشد، ترکیب بدن و سلامتی ماهی می گردد که در این نوشتار سلامتی ماهی و فلور میکروبی روده مورد بررسی قرار گرفت. جمعیت میکروبی روده به خصوص پروبیوتیک‌ها معمولا در هضم و جذب غذا، حفظ انرژی و ایمنی و حفاظت میزبان در برابر هجوم میکروبی بیگانه نقش دارند (Guarner و Malagelada، ۲۰۰۳). بر اساس تحقیق حاضر، جمعیت باکتریایی کل روده ماهی قزل آلای رنگین کمان با افزودن مخلوط آنزیم‌ها تغییر کرد بطوریکه جمعیت باکتریایی کل، در تیمار افزودن مخلوط آنزیم‌ها ۶ ساعت قبل از ساخت (E4) نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود که با تغییر زمان، جمعیت آن کاهش یافت. Zhou و همکاران (۲۰۱۲) با افزودن آنزیم سلولاز به جیره ماهی آمور ، حشمتی و عابدیان (۱۳۹۷) با افزودن آنزیم سلولاز و آلفا آمیلاز به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و Adeoye و همکاران،

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

(۲۰۱۶) با افزودن (ROXAZYME®G2) به جیره ماهی تیلاپیا، در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که آنزیم‌های خارجی کربوهیدراتازی باعث افزایش تعداد باکتری‌های روده می‌گردد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. احتمالا دلیل آن عملکرد مناسب آنزیمهای خارجی روی مواد اولیه گیاهی (گندم و سویا) قبل از ساخت غذا بوده که منابع کربوهیدراتی آنها را به واحدهای کوچک‌تری تبدیل و قابل دسترس میکروبهای روده نموده است و کارکرد بهتر مدت زمان ۶ ساعت نسبت به سایر زمانها احتمالا مربوط به هضم مناسبتر مواد اولیه در این زمان باشد. لاکتوباسیلوس‌ها گروهی از باکتری‌های گرم مثبت هستند که تعداد زیادی از آنها در گروه پروبیوتیک‌ها (باکتری‌های مفید) می‌باشند، بر اساس تحقیقات (حق پرست و همکاران، ۱۳۹۲: رستنده وهمکاران، ۱۳۹۳) پروبیوتیک‌ها باعث افزایش ایمنی می‌شوند. در مطالعه حاضر جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها با استفاده از آنزیم‌های خارجی افزایش یافته است به طوری که در تیمار افزودن مخلوط آنزیم‌ها ۶ ساعت قبل از ساخت (E4) بالاترین میزان مشاهده شد، تیمارهای افزودن مخلوط آنزیم‌ها هنگام ساخت و اسپری نیز برتری خاصی نسبت به یکدیگر نداشتند. در مطالعه حشمتی و عابدیان (۱۳۹۷) گزارش کردند که آنزیم‌های کربوهیدراتازی موجب بهبود میزان لاکتوباسیلوس‌های روده می‌شوند. آنزیم‌های کربوهیدراتازی خارجی با شکستن پلیمرهای کربوهیدراتی و تبدیل آنها به زنجیره‌های کوچک‌تر الیگوساکاریدی همچون مانان الیگوساکاریدها سوبسترا لازم برای افزایش فلور باکتری را ایجاد می‌کنند که این عامل باعث افزایش بار باکتریایی روده ماهیانی شده است که در جیره آنها از آنزیم استفاده گردیده است (Bedford و همکاران، ۲۰۰۱). بر اساس این نتایج مخلوط آنزیم‌ها به شرط استفاده صحیح می‌تواند در بهبود ایمنی بدن نقش داشته باشد. لیزوزیم، پراکسیداز و سیستم کمپلمان اجزای کلیدی دفاعی ماهی هستند چرا که آنها در برابر عوامل بیماری زا یا به طور مستقیم با تخریب دیواره‌های سلولی آنها و یا از طریق تولید مواد شیمیایی مضر، مانند رادیکال‌های اکسیداتیو مقابله می‌کنند (Nayak، ۲۰۱۰). در مطالعه Adeoye و همکاران، ۲۰۱۶، مشاهده شد که افزودن آنزیم به جیره ماهی تیلاپیا موجب افزایش مقدار لیزوزیم می گردد. همچنین در مطالعه حشمتی و عابدیان ۱۳۹۷، گزارش شده که آنزیم‌های کربوهیدراتازی موجب افزایش لیزوزیم ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌گردد. در این تحقیق نیز با افزودن آنزیم به جیره‌ها میزان لیزوزیم افزایش یافت. عملکرد مثبت آنزیم‌ها روی ایمنی بدن شاید به دلیل عملکرد آنها روی باکتری‌های مفید روده باشد که روی ایمنی بدن اثر دارند. فعالیت همولیتیک سرم در واقع همان فعالیت سیستم کمپلمان از مسیر فرعی است، و در سیستم ایمنی ذاتی ماهیان بیشترین اهمیت را دارا می‌باشد، مهم‌ترین وظایف زیستی سیستم کمپلمان شامل از بین بردن میکروارگانیسم‌ها از طریق شرکت و همراهی در فرایندهای فاگوسیتوز، واکنش‌های التهابی، پاک‌سازی و کمپلکس‌های ایمنی، القاء و بهبود پاسخ‌های آنتی‌بادی است (Mauri، ۲۰۱۱). در این مطالعه میزان فعالیت کمپلمان تفاوت معنی‌دار میان تیمارها دیده نشد. که با مطالعه حشمتی و عابدیان، ۱۳۹۷ مطابقت نداشت. در مطالعه حاضر در شاخص‌های خون‌شناسی شامل تعداد کل گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد، که با نتایج

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

مطالعات عادلیان و همکاران (۱۳۹۵)، Zamini و همکاران (۲۰۱۲) و Adeoye و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت داشت. افزایش میزان پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای باعث کاهش جذب گلوکز در روده می‌گردد (Leenhouwers و همکاران،۲۰۰۷)، به طوری که با افزودن این مواد به جیره ماهی سالمون میزان جذب گلوکز کاهش پیدا کرد (Storebakken و همکاران، ۱۹۸۷).در مطالعه حاضر میزان گلوکز در تیمارهای افزودن مخلوط آنزیم‌ها ۳ و۶ ساعت قبل ساخت بالاتر از سایرین قرار دارد، که علت آن احتمالا همان هضم و جذب بالاتر در این گروه ها باشد. در تضاد با این نتایج Mohammadbeygi و همکاران (۲۰۱۲) کاهش میزان گلوکز و در جهت این نتایج Ghomi و همکاران (۲۰۱۲) افزایش میزان گلوکز را مشاهده نمودند که علت این اختلاف‌ها می‌تواند نوع و روش استفاده از آنزیم‌ها باشد. میزان شاخص کلسترول و تری‌گلیسرید در همه تیمارها بالاتر از تیمار شاهد (E0) مشاهده شد و تیمار افزودن مخلوط آنزیم ۶ ساعت قبل از ساخت (E4) بالاتر از سایرین بود. در خصوص میزان HDL سرم خون نیز تمامی تیمارها بالاتر از شاهد بود و تیمار افزودن آنزیم ۲۴ ساعت قبل از ساخت بالاتر از سایر تیمارها بود، علت این امر به وضوح مشخص نیست ولی شاید به دلیل در دسترس قرار گرفتن کربوهیدراتها برای ماهی توسط آنزیمهای خارجی باشد که منبع انرژی هستند و نیاز به استفاده از چربی جیره را برای سوخت و ساز کاهش داده و موجبات تجمع آنها را در خون و بدن فراهم می آورند.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس داده‌های به دست آمده از پژوهش حاضر استفاده از مخلوط آنزیم‌های کربوهیدراتازی خارجی (آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز) موجب بهبود شاخص‌های سلامتی، فلورباکتریایی کل و لاکتوباسیلوسهای روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گردیده است. همچنین مشخص گردید استفاده از مخلوط آنزیم‌ها ۶ ساعت قبل از ساخت جیره می‌تواند راندمان استفاده از جیره دارای کربوهیدرات بالا را بهبود بخشد. از طرفی مزیت و برتری قابل توجهی در استفاده از آنزیم بعد از ساخت جیره نسبت به افزودن آنزیم هنگام ساخت آن دیده نشد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. حشمتی، ع.، و عابدیان کناری، ع.، ۱۳۹۷. تاثیر بکارگیری دو نوع از آنزیم‌های کربوهیدراتی (سلولاز و آلفاآمیلاز) بر عملکرد رشد و فلور باکتریایی روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه علمی پژوهشی پژوهشهای ماهی شناسی کاربردی، ۶(۲)، ۴۹-۶۰.

۲. حق پرست، ر.، مشکینی .، وتوکمه چی، ا.،۱۳۹۲. اثرات پروبیوتیک باکتوسل و پری بیوتیک مانان اولیگوساکارید بر رشد و ایمنی در ماهی قزل آلای رنگین کمان، مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۸(۴)،۳۸۲-۳۷۵

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

۳. رستنده، ا.، شمسایی، م.، بهمنش، ش.، نیک پور، ژ.، ۱۳۹۳. بررسی اثر مکمل میکروبی باکتوسل بر شاخص‌های رشد و بقا و فاکتورهای ایمنی در بچه ماهی سفید(*Rutilus frisi ikutum*)، مجله علوم تکثیر و آبزی پروری، ۲(۲):۳۵-۴۸

۴. عادلیان، م.، ایمانپور، م.ر.، تقی‌زاده.، مازندرانی، م. ۱۳۹۵. استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره ماهی کپور معمولی و اثرات آن بر شاخص‌های رشد برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون، فصلنامه محیط زیست جانوری، سال هشتم، (۲) ۲۱۴-۲۰۷.

5. AbedianKenari, A., Sotoudeh, E., Rezaei, M. H., 2011. Dietary soybean phosphatidylcholine affects growth performance and lipolytic enzyme activity in Caspian brown trout (SalmotruttaCaspius) alevin. Aquaculture Research, 42(5), 655-663.
6. Adeola, O., & Cowieson, A. J. 2011. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. Journal of animal science, 89(10), 3189-3218.
7. 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.
8. Ai, Q., Mai, K., Zhang, W., Xu, W., Tan, B., Zhang, C., Li, H., 2007. Effects of exogenous enzymes (phytase, non-starch polysaccharide enzyme) in diets on growth, feed utilization, nitrogen and phosphorus excretion of Japanese seabass)Lateolabrax japonicas). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular ؛and Integrative Physiology, 147(2), 502-508.
9. Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S., Watanabe, T., 2000. Effects of dietary B-carotene on theimmune response of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Fisheries Science, 66: 1068 - 75.
10. Angkanaporn, K., Choct, M., Bryden, W. L., Annison, E. F., Annison, G., 1994. Effects of wheat pentosans on endogenous amino acid losses in chickens. Journal of the Science of Food and Agriculture, 66(3), 399-404.
11. Bayer, E. A., Lamed, R., Himmel, M. E., 2007. The potential of cellulases and cellulosomes for cellulosic waste management. Current Opinion in Biotechnology, 18(3), 237-245.
12. Bedford, M. R., Apajalahti, J., Van der Poel, A. F. B., Váhl, J. L., Kwakkel, R. P., 2001. Implications of diet and enzyme supplementation on the microflora of the intestinal tract. In Advances in nutritional technology 2001. Proceedings of the 1st World Feed Conference, Utrecht, Netherlands, 7-8 November, 2001. pp. 197-206.
13. Bedford, M. R. 2000. Exogenous enzymes in monogastric nutrition—their current value and future benefits. Animal Feed Science and Technology, 86(1-2), 1-13.
14. Ben-Giglrey, B., Vieites Baptista de Sousa, J. M., Villa, T. G., 1998. Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (Thunnus alalunga) muscle during frozen storage. Journal of Food Protection®, 61(5), 608-615.
15. Carter, C. G., Houlihan, D. F., Buchanan, B., Mitchell, A. I., 1994. Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon, Salmo salar L., fed a diet containing supplementary enzymes. Aquaculture Research, 25(1), 37-46.
16. Castillo, S., Gatlin, D. M., 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: a review. Aquaculture, 435, 286-292.
17. Dalsgaard, J., Verlhac, V., Hjermitslev, N. H., Ekmann, 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

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

inclusion of plant-based protein. Animal feed science and technology, 171(2), 181-191.

18. FAO (Food and Agriculture Organization)., 2020. The state of world fisheries and aquaculture. Rome: FAO Fisheries and Aquaculture Department.
19. Gatlin, III, D. M., Barrows, F. T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T. G., Hardy, R. W & Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. Aquaculture research, 38(6), 551-579.
20. 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(2), 249-254.
21. Gonzalez, C. J., López-Díaz, T. M., Prieto, M., Otero, A., 1999. Bacterial microflora of wild brown trout (Salmo trutta), wild pike (Esox lucius), and aquacultured rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Journal of Food Protection®, 62(11), 1270-1277.
22. Guarner, F., Malagelada, J. R. 2003. Gut flora in health and disease. The Lancet, 361(9356), 512-519.
23. Johansen, H. N., Knudsen, K. B., Sandström, B., Skjøth, F., 1996. Effects of varying content of soluble dietary fibre from wheat flour and oat milling fractions on gastric emptying in pigs. British journal of nutrition, 75(03), 339-351.
24. Kobayashi, M., Msangi, S., Batka, M., Vannuccini, S., Dey, M. M., & Anderson, J. L., 2015. Fish to 2030: the role and opportunity for aquaculture. Aquaculture economics & management, 19(3), 282-300.
25. Kumar V., Sinha A. K., Makkar H. P. S., De Boeck G., Becker K. (2012). Phytate and phytase in fish nutrition. Journal of animal physiology and animal nutrition, 96(3), 335-364.
26. Kuz'mina, V. V., 1996. Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts. Aquaculture, 148, 25-37.
27. Leenhouwers, J. I., ADJEI-BOATENG, D., Verreth, J. A. J., Schram, J. W., 2006. Digesta viscosity, nutrient digestibility and organ weights in African catfish (Clariasgariepinus) fed diets supplemented with different levels of a soluble non−starch polysaccharide. Aquaculture Nutrition, 12(2), 111-116.
28. Leenhouwers, J. I., ter Veld, M., Verreth, J. A., Schrama, J. W., 2007. Digestacharacteristiscs and performance of African catfish (Clariasgariepinus) fed cereal grains that differ in viscosity. Aquaculture, 264(1), 330-341.
29. Lin, S., Ma, K., Tan, B., 2007. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, Oreochromisniloticus x O. aureus. Aquaculture research, 38(15), 1645-1653.
30. 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.
31. Maas, R. M., Verdegem, M. C., Stevens, T. L., Schrama, J. W., 2020. Effect of exogenous enzymes (phytase and xylanase) supplementation on nutrient digestibility and growth performance of Nile tilapia (Oreochromis niloticus) fed different quality diets. Aquaculture, 529, 735723.
32. Mauri I., Romero A., Acerete L., MacKenzie S., Roher N., Callol A., Tort L., 2011. Changes in complement responses in Gilthead seabream (Sparus aurata) and European seabass (Dicentrarchus labrax) under crowding stress, plus viral and bacterial challenges. Fish ؛and shellfish immunology, 30: 182-188.
33. Miller, G. L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical chemistry, 31(3), 426-428.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]

34. Mohammadbeygi, M., Imanpour, M. R., Taghizadeh, V., Shabani, A., 2012. The Application of Exogenous ذ-Glucanase in Barley Based Diet and its Effects on Some Hematological Parameters of Common Carp (Cyprinus carpio). World Applied Sciences Journal, 20(11), 1466-1471.
35. 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(2), 713-723.
36. Murray, K., Rodwell, V., Bender, D., Botham, K. M., Weil, P. A., Kennelly, P. J., 2009. Harper's Illustrated Biochemistry. 28.
37. Nayak, S. K., 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. Fish and Shellfish Immunology, 291: 2-14.
38. 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(1), 466-475.
39. Oliva–Teles, A., 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. Journal of fish diseases, 35(2), 83-108.
40. Sankaran, K., Guranani, S., 1972. On the variation in the catalytic activity of lysozyme in fish. Indian Journal BiochemBiophs, 9: 162 - 165.
41. 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.
42. Storebakken, T., Austreng, E., 1987. Binders in fish feeds: II. Effect of different alginates on the digestibility of macronutrients in rainbow trout. Aquaculture, 60(2), 121-131.
43. Tull, D., Withers, S. G., 1994. Mechanisms of Cellulases and Xylanases: A Detailed Kinetic Study of the Exo-. beta.-1, 4-glycanase from Cellulomonas Fimi. Biochemistry, 33(20), 6363-6370.
44. Vahouny, G. V., Tombes, R., Cassidy, M. M., Kritchevsky, D., Gallo, L. L., 1981. Dietary fibers VI: binding of fatty acids and monolein from mixed micelles containing bile salts and lecithin. Experimental Biology and Medicine, 166(1), 12-16.
45. Wong, D. W., 2013. Food enzymes: structure and mechanism. Springer Science ؛and Business Media. 851 p.
46. Zhou, Y., Yuan, X., Liang, X. F., Fang, L., Li, J., Guo, X., He, S., 2013. Enhancement of growth and intestinal flora in grass carp: the effect of exogenous cellulase. Aquaculture, 416, 1-7.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.4.6.4]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.4.69]