Archive of SID.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

*Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*

**Print ISSN: 2345-427X**
**Online ISSN: 2345-4288**

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

**Atefeh Karamad[1], Ali Shabani[*2], Hamed Paknejad[3], Ali Jafar Nodeh[4]**

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

**Article Info**

**Article type:**
Full Length Research Paper

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

**Keywords**:
Common carp,
Digestion,
Enzyme,
Growth

**ABSTRACT**

Due to the increasing use of herbal items in aquatic ration, the amount of anti-nutritional substances in aquatic ration has increased. One of the ways to reduce the effects of anti-nutritional substances of non-starch polysaccharides is using enzyme supplements in aquatic feed. In the present study, at first, the minimum required amount of alpha-amylase, cellulase, xylanase and beta-glucanase enzymes for wheat and soybean flour was obtained by Miller's sugar test method. Carp fish with an average initial weight of 10.77±1.75 in 5 treatments and 3 repetitions including ration without enzyme (control treatment), ration containing enzyme which was added to the food as a spray after manufacturing (treatment 1), ration containing enzyme which added to its substrate 6 hours after production (Treatment 2), ration containing enzyme added to substrate 12 hours before production (Treatment 3) and ration containing enzyme added to substrate 24 hours before production (Treatment (4), was fed with ration containing multi-enzyme for 60 days. The results of the experiment showed that the total weight in treatment 3 (23.09±1.5) compared to the control treatment (17.67±0.48) increased significantly ($P\leq0.05$). Also, the investigations of this experiment showed that the use of enzymes improves the growth indices and food conversion ratio of common carp ($P\leq0.05$). In this study, the combination of enzymes in treatment 3 increased the apparent digestion of protein and fat compared to the control ($P\leq0.05$).

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

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2022.20578.1703
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

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

عاطفه کارامد[۱]، علی شعبانی*[۲]، حامد پاک‌نژاد[۳]، علی جافر نوده[٤]

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

**اطلاعات مقاله**

**نوع مقاله:**
مقاله کامل علمی- پژوهشی

**تاریخ دریافت:** ۱٤۰۱/۰٦/۱٦
**تاریخ ویرایش:** ۱٤۰۱/۰٦/۲٦
**تاریخ پذیرش:** ۱٤۰۱/۰٦/۲۸

**واژه‌های کلیدی:**
آنزیم،
رشد،
کپور معمولی،
هضم ظاهری

**چکیده**

با توجه به افزایش روزافزون استفاده اقلام گیاهی در جیره آبزیان میزان مواد ضد تغذیه‌ای جیره آبزیان افزایش یافته است. یکی از راه‌های کاهش اثرات مواد ضدتغذیه‌ای پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای، استفاده از مکمل‌های آنزیمی‌در خوراک آبزیان است. در مطالعه حاضر ابتدا حداقل مقدار مورد نیاز آنزیم‌های آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز برای آرد گندم و سویا با روش تست قند میلر (Reducingsuger test) به‌دست آمد. ماهیان کپور با میانگین وزن اولیه ۱۰/۷۷±۱/۷۵ در ۵ تیمار و ۳ تکرار شامل جیره فاقد آنزیم (تیمار شاهد)، جیره حاوی آنزیم که بعد از ساخت به‌صورت اسپری به غذا اضافه شد (تیمار ۱)، جیره حاوی آنزیم که ٦ ساعت قبل از ساخت به سوبسترای آن اضافه شده (تیمار ۲)، جیره حاوی آنزیم که ۱۲ ساعت قبل از ساخت به سوبسترای آن اضافه شده (تیمار ۳) و جیره حاوی آنزیم که ۲٤ ساعت قبل از ساخت به سوبسترای آن اضافه شده (تیمار ٤)، به مدت ٦۰ روز با جیره‌های حاوی مولتی آنزیم تغذیه شد. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که میزان وزن کل در تیمار ۳ (۱/۵±۲۳/۰۹) در مقایسه با تیمار شاهد (۰/٤۸±۱۷/٦۷) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P\leq ۰/۰۵$). هم‌چنین بررسی‌های این آزمایش نشان داد استفاده از آنزیم‌ها موجب بهبود شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی ماهی کپور معمولی می‌گردد ($P\leq ۰/۰۵$). دراین مطالعه آنزیم‌ها در تیمار ۳ موجب افزایش هضم ظاهری پروتئین و چربی نسبت به شاهد شدند ($P\leq ۰/۰۵$).

استناد: کارامد، عاطفه، شعبانی، علی، پاک‌نژاد، حامد، جافر نوده، علی (۱۴۰۳). بررسی اثرات مولتی آنزیم ترکیبی (آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز) بر فاکتورهای رشد و هضم ظاهری ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۳ (۱)، ۱۰۲-۹۱.
DOI: 10.22069/japu.2022.20578.1703

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



## مقدمه

تقاضای رو به رشد برای مصرف ماهی و محدود بودن ذخایر طبیعی موجب توسعه آبزی‌پروی در جهان شده است، که علت آن کیفیت بالای پروتئین، اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب مفید ماهی است. در حال حاضر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از مهم‌ترین ماهی‌های پرورشی گرمابی به‌شمار رفته و جز سه گونه آبزی‌پروری بزرگ دنیا محسوب می‌شود (۱). موفقیت و توسعه پایدار صنعت آبزی‌پروری بستگی به کاهش هزینه‌های پرورش دارد که در این بین هزینه خوراک ۵۰ تا ٦۰ درصد هزینه کل را در بر می‌گیرد (۲). تولید پودر ماهی در جهان سالانه ۵ تا ٦ میلیون تن برآورد می‌شود و مقدار تولید آن در چند سال گذشته ثابت بوده است. بنابراین برای تداوم توسعه آبزی‌پروری نیاز به استفاده منابع جایگزین پودر ماهی می‌باشد (۳). ازاین‌رو پژوهش‌های گسترده‌ای در راستای جایگزینی پودر ماهی با مواد پروتئینی گیاهی انجام شده است. استفاده از مواد مشتق شده از گیاهان در غذای ماهیان روز به روز در حال افزایش است و یکی از محدودیت‌های اصلی در استفاده از مواد گیاهی حضور پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در گیاهان است (۲). ماهی و دیگر حیوانات تک‌معده‌ای آنزیم‌هایی مانند سلولاز، بتاگلوکاناز و زایلاناز که بر هضم پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای مؤثرند را ندارند (٤). این پلی‌ساکاریدها جزیی از ساختار و دیواره غشای سلول‌های گیاهی می‌باشند که موجب کاهش راندمان رشد در آبزیان می‌گردند.

استفاده از آنزیم‌های کربوهیدراتازی خارجی می‌تواند یک راه مؤثر برای کاهش میزان تأثیر مواد ضدتغذیه‌ای در رژیم غذایی ماهیانی که جیره آن‌ها حاوی سطوح بالایی از مواد غذایی گیاهی است، باشد (۲). آنزیم‌های مورد استفاده دراین پژوهش شامل آلفاآمیلاز گلیکوزیدهایی هستند که پلیمرهای آلفا ۱ به ٤ را هیدرولیزمی‌کنند، پیوندهای آلفا ۱ به ٤ داخلی را به‌طور تصادفی می‌شکنند و به الیگوساکاریدهایی دارای ۲ تا ٦ مولکول گلوکز تبدیل می‌کنند (۵). آنزیم‌های سلولازی پیوندهای بتا ۱ به ٤ گلیکوزیدی مولکول سلولز را به‌طور تصادفی می‌شکنند، و قطعات الیگوساکاریدی تولید می‌کنند (٦). پلی‌ساکارید آرابینوزایلان در دیواره سلولی گیاهان یافت می‌شود و توانایی جذب آب به میزان ده برابر وزن خود را دارا هستند، استفاده از آنزیم زایلاناز موجب شکسته شدن پیوند بتا ۱ به ٤ شده و میزان ویسکوزیته غذا را کاهش می‌دهد. همی‌سلولز از دو قسمت آرابینوزایلان و بتا گلوکان تشکیل شده است. آنزیم بتاگلوکاناز توانایی شکستن پیوندهای ۱ به ٤ را در این پلی‌ساکارید را داراست (۷). علاوه بر این آنزیم‌های پلی‌ساکاریدی باعث کاهش زمان هضم غذا و کاهش ویسکوزیته غذا می‌شوند. استفاده از آنزیم‌های کربوهیدراتازی موجب دسترسی بهتر آنزیم‌های هیدرولیزکننده صفرا به چربی‌ها شده و راندمان هضم و جذب چربی افزایش می‌یابد (۸). علاوه‌بر این ممکن است موجب افزایش دسترسی آنزیم‌های پروتئازی به پروتئین‌ها شده که نتیجه آن بهبود استفاده از نیتروژن و اسیدهای آمینه می‌باشد (۸). در نهایت به نظر می‌رسد استفاده از آنزیم‌های کربوهیدراتازی باعث افزایش بازده انرژی و مواد غذایی می‌گردد. هر گونه تغییر در کربوهیدرات و چربی و پروتئین جیره مستقیماً بر پارامترهای خونی وضعیت ایمنی و کیفیت لاشه اثر می‌گذارد (۹). بااین‌حال هنوز اثرات آنزیم خارجی کربوهیدراتازی بر عملکرد ماهی خوب مشخص نیست در برخی پژوهش‌ها رشد ماهی افزایش یافته (۱۰، ۱۱، ۱۲) و در موارد دیگر هیچ اثری مشخص نشده (۵، ۱۳، ۱٤) که دلیل آن می‌تواند نوع جیره و نوع گونه پرورشی و حتی نوع آنزیم به‌کار رفته باشد. در مجموع اطلاعات درباره آنزیم‌های کربوهیدراتازی و اثرات آن به‌خصوص به‌صورت



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



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

## مواد روش‌ها

ابتدا برای سنجش میزان دوز استفاده از هر آنزیم بر اساس منبع کربوهیدراتی با روش کمی آزمایش تست قند میلر (۱۵) حداقل میزان آنزیم سلولاز، آلفاآمیلاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز مورد نیاز برای یک کیلوگرم آرد گندم و کنجاله سویا به‌دست آمد. بدین‌صورت که ابتدا یک گرم از آرد گندم و کنجاله سویا در لوله آزمایش ریخته شد و به هر نمونه ۳ سی‌سی آب مقطر همراه آنزیم‌ها با دوزهای ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/٤ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم اضافه شد (جدول ۱). لوله‌های آزمایش با بایوفیلم بسته شد و سپس نمونه‌ها ۲٤ ساعت در دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار قرار گرفت، در انتها آزمایش تست قند میلر روی نمونه‌ها انجام شد.

**جدول ۱- نتایج حاصل از تست میلر.**

| نوع منبع کربوهیدراتی | نوع آنزیم | میزان جذب طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) در دوز آنزیم | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ۰ گرم بر کیلوگرم | ۰/۱ گرم بر کیلوگرم | ۰/۲ گرم بر کیلوگرم | ۰/۳ گرم بر کیلوگرم | ۰/٤ گرم بر کیلوگرم | ۰/۵ گرم بر کیلوگرم |
| آرد گندم | آلفاآمیلاز | ۰/۸ ± ۰/۱٤$^{b}$ | ۰/۸۲ ± ۰/۰۹$^{ab}$ | ۰/۹٤ ± ۰/۰۳$^{ab}$ | ۰/۹٤ ± ۰/۰۸$^{ab}$ | ۰/۹۲ ± ۰/۲۱$^{ab}$ | ۱/۰٤ ± ۰/۰۳$^{a}$ |
| | سلولاز | ۰/۸۳ ± ۰/۰۸$^{b}$ | ۱/۰۵ ± ۰/۰٦$^{a}$ | ۱/۰۷ ± ۰/۲۱$^{a}$ | ۱/۰۵ ± ۰/۱۲$^{a}$ | ۱/۰۸ ± ۰/۰۱$^{a}$ | ۱/۰۹ ± ۰/۰۷$^{a}$ |
| | زایلاناز | ۰/۷۹ ± ۰/۰۲$^{b}$ | ۰/۸۲ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۰/۸ ± ۰/۰۸$^{b}$ | ۰/۹۳ ± ۰/۰۲$^{a}$ | ۰/۹٤ ± ۰/۰۲$^{a}$ | ۰/۹٤ ± ۰/۱۱$^{a}$ |
| | بتاگلوکاناز | ۰/۷۳ ± ۰/۰۲$^{b}$ | ۰/۸۸ ± ۰/۰٤$^{ab}$ | ۱/۱۲ ± ۰/۰٤$^{a}$ | ۱/۱۲ ± ۰/۰۸$^{a}$ | ۱/۱۱ ± ۰/۲٦$^{a}$ | ۱/۰۱ ± ۰/۱٦$^{a}$ |
| کنجاله سویا | آلفاآمیلاز | ۱/۱٤ ± ۰/۰۳$^{b}$ | ۱/۲۸ ± ۰/۰۵$^{b}$ | ۱/۱۳ ± ۰/۰٤$^{b}$ | ۱/۲۲ ± ۰/۰۹$^{b}$ | ۱/۲ ± ۰/۰۷$^{b}$ | ۱/٤۸ ± ۰/۲۲$^{a}$ |
| | سلولاز | ۱/۰۳ ± ۰/۰۲$^{b}$ | ۱/۱۵ ± ۰/۱۲$^{b}$ | ۱/۳۱ ± ۰/۱$^{a}$ | ۱/۳۱ ± ۰/۱٦$^{a}$ | ۱/۳۳ ± ۰/۰۷$^{a}$ | ۱/۳٤ ± ۰/۱۱$^{a}$ |
| | زایلاناز | ۱/۱۲ ± ۰/۱۳$^{c}$ | ۱/۵ ± ۰/۰۷$^{b}$ | ۱/۵٤ ± ۰/۰٤$^{b}$ | ۱/۵۹ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۱/۵٤ ± ۰/۰۷$^{b}$ | ۱/۷٤ ± ۰/۱۲$^{a}$ |
| | بتاگلوکاناز | ۱/۰٤ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۱/۰۹ ± ۰/۰۳$^{a}$ | ۱/۱۷ ± ۰/۰٤$^{a}$ | ۱/۱٤ ± ۰/۰۲$^{a}$ | ۱/۱۷ ± ۰/۰۵$^{a}$ | ۱/۱۳ ± ۰/۰٦$^{a}$ |

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هستند (P≤۰/۰۵)، داده‌ها به‌صورت ME±SD بیان شده‌اند

بر اساس نتایج به دست آمده در جدول ۱ میزان آنزیم مورد نیاز برای آرد گندم از آنزیم‌های آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز به ترتیب ۰/۵، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۲ گرم بر کیلوگرم به‌دست آمد و میزان آنزیم مورد نیاز برای کنجاله سویا از آنزیم‌های آلفاآمیلاز، سلولاز، زایلاناز و بتاگلوکاناز به ترتیب ۰/۵، ۰/۲، ۰/۵ و ۰/۱ گرم بر کیلوگرم به‌دست آمد. بر اساس داده‌های فوق ترکیب مخلوط آنزیمی آرد گندم شامل ٤۵/٤۵ درصد آلفاآمیلاز، ۹/۱ درصد سلولاز، ۲۷/۲۷ درصد زایلاناز و ۱۸/۱۸ درصد بتاگلوکاناز می‌باشد و ترکیب دوم برای کنجاله سویا شامل ۳۸/٤٦ درصد آلفاآمیلاز، ۱۵/۳۸ درصد سلولاز، ۳۸/٤٦ درصد زایلاناز و ۷/۷ درصد بتاگلوکاناز می‌باشد.

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



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



استفاده از نرم‌افزار Lindo فرموله (جدول ۲) شد و برای ساخت جیره‌ها مواد خشک غیرگیاهی ابتدا با هم مخلوط شدند و سپس اقلام گیاهی وزن شده براساس تیماربندی (جدول ۳) آماده‌سازی شد. تیماربندی بدین‌صورت بود که در تیمارهای افزودن مخلوط آنزیم‌ها قبل از ساخت ابتدا مخلوط آنزیم‌های ساخته شده برای آرد گندم به آرد گندم و مخلوط آنزیم‌های ساخته شده برای کنجاله سویا به کنجاله سویا به‌صورت جدا از هم اضافه شد و در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد با زمان‌های ٦، ١٢ و ٢٤ ساعت در انکوباتور قرار گرفت، سپس توسط چرخ گوشت پلت شد و پلت‌ها در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد به مدت ١٢ ساعت در خشک‌کن قرار گرفته تا خشک شوند (١٦). بعد از سرد شدن برای ساخت تیمار افزودن مخلوط آنزیم‌ها به‌صورت اسپری با چربی ابتدا مخلوط آنزیم‌های کنجاله سویا و آرد گندم با یکدیگر روی جیره اسپری گردید (١٧). روی سایر جیره‌ها نیز به همان اندازه چربی بدون آنزیم اسپری گردید. سپس تا زمان استفاده در فریز ٢٠- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند (١٦).

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

| مواد اولیه* | درصد موجود در جیره |
|---|---|
| پودر ماهی | ١٦ |
| پودر سویا | ٣٦ |
| آرد گندم | ٣٩ |
| روغن ماهی | ١/٢٥ |
| روغن سویا | ١/٢٥ |
| لسیتین | ٠/٢٥ |
| دی کلسیم فسفات | ١ |
| مکمل معدنی** | ٢ |
| مکمل ویتامینه*** | ٢ |
| ضد قارچ | ٠/٢٥ |
| آنتی‌اکسیدان (BHT) | ٠/٠٢ |
| پر کننده | ٠/٤٨ |
| آنالیز تقریبی جیره پس از ساخت (درصد ماده خشک) | |
| پروتئین خام (درصد) | ٣١/٦٩ |
| چربی خام (درصد) | ٤/٩٩ |
| خاکستر (درصد) | ٦/٥١ |
| کربوهیدرات (درصد) | ٥٦/٨١ |
| رطوبت (درصد) | ٢/٦ |
| انرژی کل**** (کیلو ژول بر گرم) | ١٩/٢٢ |

* اقلام غذایی از کارخانه خوراک دام و آبزیان مازندران (ساری- ایران) تهیه گردید

** هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی آهن (٦ گرم)، روی (١٠ گرم)، سلنیم (٢٠ میلی‌گرم)، کبالت (١٠٠ میلی‌گرم)، مس (٦٠٠ میلی‌گرم)، منگنز (٥ گرم)، ید (٤٠٠ میلی‌گرم)، کولین کلراید (٦٠ گرم)

*** هر ٥ کیلوگرم مکمل ویتامینه ٠/٥ درصد حاوی ١٥٠ گرم ویتامین E، ٢٠٠٠٠٠٠ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ٨٠٠٠٠٠ واحد بین‌المللی ویتامین A، ٠/٠٥ گرم ویتامین $B_{12}$، ٨٠ گرم ویتامین $B_6$، ٢٠٠ گرم ویتامین $B_5$، ١٥٠ گرم ویتامین $B_3$، ٤٠ گرم ویتامین $B_2$، ٥٠ گرم ویتامین $B_1$، ٥٠ گرم ویتامین $K_3$، ٥٠٠ گرم اینوزیتول، ٥٠٠ گرم ویتامین C

**** بر اساس ضریب ٢٣/٦، ٣٩/٥ و ١٧/٢ (واحد کیلو ژول بر گرم) به ترتیب برای پروتئین، چربی و کربوهیدرات محاسبه شد (NRC، ١٩٩٣)



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



جدول ۳- تیماربندی.

| تیمار | زمان اضافه کردن مخلوط آنزیم‌ها |
|---|---|
| c (شاهد) | بدون مخلوط آنزیم‌ها |
| ۱ | اضافه کردن مخلوط آنزیم‌ها بعد از ساخت به صورت اسپری با روغن |
| ۲ | اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های آرد گندم به آرد گندم ٦ ساعت قبل ساخت جیره<br>اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های سویا به کنجاله سویا ٦ ساعت قبل ساخت جیره |
| ۳ | اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های آرد گندم به آرد گندم ۱۲ ساعت قبل ساخت جیره<br>اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های سویا به کنجاله سویا ۱۲ ساعت قبل ساخت جیره |
| ٤ | اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های آرد گندم به آرد گندم ۲٤ ساعت قبل ساخت جیره<br>اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های سویا به کنجاله سویا ۲٤ ساعت قبل ساخت جیره |

**نحوه پرورش:** پرورش ماهی در تابستان سال ۱۳۹۸ با انتقال بچه‌ماهیان از مزرعه سد وشمگیر به مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. پس از انجام مرحله سازگاری، ۲۲۵ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۱/۷۵±۱۰/۷۷ به‌طور تصادفی انتخاب و در ۱۵ تانک فایبرگلاس (٤۰۰ لیتری) با حجم آب ۱۰۰ لیتر به میزان ۱۵ قطعه در هر تانک توزیع گردیدند. غذادهی ماهیان ۳ وعده در روز (ساعت ۸، ۱۳ و ۱۸) به‌صورت اشباع تا حد سیری ظاهری انجام شد. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۳ ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی انجام پذیرفت. میزان دمای آب ۲٦ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد (میانگین ۲٤/۳۱) و pH ۷/٦ تا ۸/۱ اندازه‌گیری گردید. آب مخازن به‌طور دائم هوادهی و تعویض آب (به‌طور میانگین ۷۰ درصد آب روزانه جایگزین می‌شد) به‌صورت سیفون کردن روزانه صورت گرفت.

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

$$(WG)\text{رشد} = W_f - W_i \quad (۱)$$

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

$$(SGR)\text{نرخ رشد ویژه} = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{t} \times 100 \quad (۲)$$

که در آن، $LnW_f$ لگاریتم طبیعی وزن نهایی (گرم)، $LnW_i$ لگاریتم طبیعی وزن اولیه (گرم) و t مدت آزمایش (روز).

$$(FCR)\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{F}{W_f - W_i} \quad (۳)$$

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

$$(WGP)\text{درصد افزایش وزن بدن} = \frac{BW_f - BW_i}{BW_i} \times 100 \quad (٤)$$

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

درصد بازماندگی طبق رابطه زیر محاسبه می‌گردد:

$$(SR)\text{درصد بازماندگی} = \frac{N_f}{N_i} \times 100 \quad (۵)$$

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



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



**تعیین قابلیت هضم و جذب مواد مغذی:** در انتهای آزمایش مدفوع ماهی به روش مالش جمع‌آوری شد. مقدار یک گرم از نمونه در داخل کورسیبل ریخته و سپس نمونه‌ها به مدت ٤ ساعت در دمای ١٠٠ درجه نگه‌داری می‌گردند. نمونه‌ها به دسیکاتور منتقل شده و پس از توزین در داخل کوره به مدت ٦ ساعت در دمای ٥٥٠ دره قرار می‌گیرند. خاکستر پس از سرد شدن و حداقل رطوبت به ظروف ١٠٠ میلی‌لیتری انتقال و مقدار ٦ میلی‌لیتر اسید سولفوریک به آن اضافه می‌شود. ظروف بر روی هیتر قرار گرفته و تا ٢٨٠ تا ٢٩٠ حرارت داده می‌شوند. وقتی حالت جوشیدن آن ثابت شد مقدار ٣ میلی‌لیتر برمید پتاسیم ٤/٥ درصد اضافه می‌شود و ادامه داده تا جوشیدن ادامه یابد و محلول به رنگ زرشکی غلیظ درآید و بخار سفید رنگ تولید نماید حرارت دادن ٢ تا ٣ دقیقه با کاهش آن ادامه و پس از خنک شدن محلول حاصل به حجم ١٠٠ میلی‌لیتر رسانده می‌شود و سپس مقداری از آن را برداشته و با دستگاه اسپکتوفتومتری میزان اکسید کروم خوانده می‌شود (١٨).

**آنالیز آماری:** طرح کلی این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به رشد و سایر پارامترها، با آزمون ANOVA و one-way انجام شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح اطمینان ٩٥ درصد استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS Version 20 برای آنالیز آماری و Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

## نتایج

**نتایج شاخص‌های رشد و زنده‌مانی:** نتایج شاخص‌های رشد، تغذیه و زنده‌مانی در جدول ٤ آورده شده است. بر اساس این جدول تفاوت معنی‌داری میان وزن اولیه و زنده‌مانی تیمارها وجود نداشت (P>٠/٠٥). بیش‌ترین میزان افزایش وزن بدن در تیمار ٣ (افزودن آنزیم ١٢ ساعت قبل از ساخت) مشاهده شد و پس از آن تیمارهای ٢ (افزودن آنزیم ٦ ساعت قبل از ساخت) و ٤ (افزودن آنزیم ٢٤ ساعت قبل از ساخت) در یک سطح قرار داشتند. ضریب رشد ویژه در تیمار ٣ (افزودن آنزیم ١٢ ساعت قبل از ساخت) بالاتر از سایر تیمارها بود و تیمار شاهد پایین‌تر از سایر تیمارها قرار داشت. شاخص ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد بالاتر از سایر تیمارها بود و تیمار ٣ (افزودن آنزیم ١٢ ساعت قبل از ساخت) کم‌تر از سایر تیمارها قرار گرفت.

**جدول ٤- نتایج شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای ماهی کپور تغذیه شده با جیره آزمایشی.**

| شاخص / تیمار | وزن اولیه | وزن نهایی | درصد افزایش وزن | نرخ رشد ویژه | ضریب تبدیل | بقا |
|---|---|---|---|---|---|---|
| C (شاهد) | ٧/٧٦±٠/٣ | ١٧/٦٧±٠/٤٨$^{C}$ | ١٢٧/٧٥±٢/٧٨$^{c}$ | ١/٣٧±٠/٠٢$^{c}$ | ٢/٠٨±٠/١٤$^{a}$ | ٩٣/٣٣±٦/٦٧ |
| T1 | ٧/٩٣±٠/٣٧ | ١٩/٠٢±١/١٩$^{bc}$ | ١٣٩/٧٧±٩/٥٧$^{bc}$ | ١/٤٦±٠/٠٧$^{bc}$ | ١/٩٢±٠/٠٧$^{ab}$ | ٩٥/٥٦±٣/٨٥ |
| T2 | ٧/٦٢±٠/٣٤ | ٢٠/٨٢±١/٠٧$^{b}$ | ١٧٣/٧±٢٢/٠٧$^{ab}$ | ١/٦٧±٠/١٣$^{ab}$ | ١/٧٤±٠/١١$^{bc}$ | ٩٣/٣٣±٦/٦٧ |
| T3 | ٧/٧٨±٠/٣ | ٢٣/٠٩±١/٥$^{a}$ | ١٩٧/٦٥±٣٠/٨٢$^{a}$ | ١/٨١±٠/١٧$^{a}$ | ١/٤٣±٠/٠٧$^{d}$ | ٩٥/٥٦±٧/٧ |
| T4 | ٧/٦٩±٠/٤١ | ٢٠/٦±١/١٦$^{b}$ | ١٦٨/٩٢±٢٨/٣٨$^{c}$ | ١/٦٤±٠/١٨$^{ab}$ | ١/٦٥±٠/١٢$^{c}$ | ٩٣/٧٨±٧/٧ |

C: شاهد، T1: افزودن آنزیم بعداز ساخت، T2: افزودن آنزیم ٦ ساعت قبل ساخت T3: افزودن آنزیم ١٢ ساعت بعداز ساخت، T4: افزودن آنزیم ٢٤ ساعت بعداز ساخت،حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هستند (P≤٠/٠٥)، داده‌ها به‌صورت ME±SD بیان شده‌اند

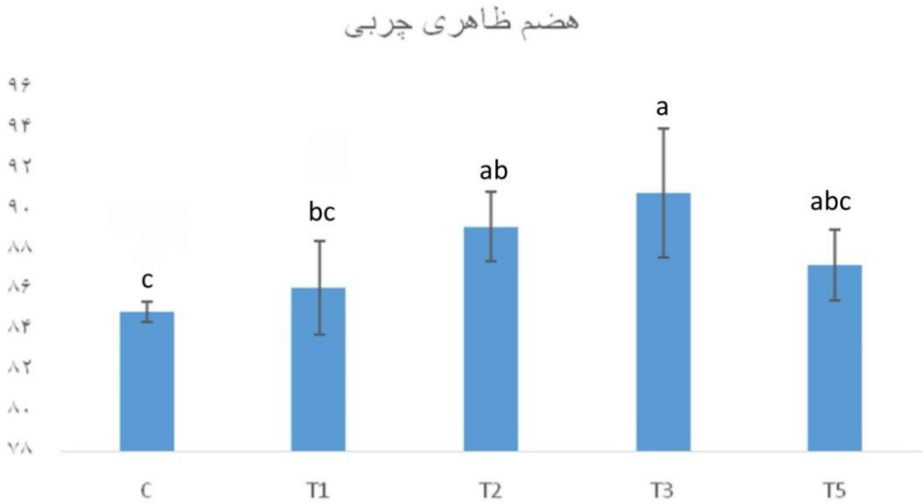


Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



**نتایج شاخص هضم ظاهری:** در نمودار ۱ داده‌های هضم ظاهری پروتئین جیره آمده است. بر اساس این نمودار تفاوت معنی‌دار دراین شاخص مشاهده شد (P≤۰/۰۵) به‌طوری‌که بالاترین میزان هضم ظاهری در تیمارهای ۲ و ۳ (افزودن آنزیم ٦ و ۱۲ ساعت قبل از ساخت) و کم‌ترین در تیمار ۱ (افزودن آنزیم بعد از ساخت) و شاهد مشاهده شد. داده‌های هضم ظاهری چربی در نمودار ۲ آمده است در این شاخص اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P≤۰/۰۵) و بر این اساس میزان هضم ظاهری چربی در تیمار ۳ (افزودن آنزیم ۱۲ ساعت قبل از ساخت) بالاتر از سایر تیمارها مشاهده شد و بعد از آن تیمار ۲ (افزودن آنزیم ٦ ساعت قبل از ساخت) قرار داشت، تیمار شاهد نیز از سایر تیمارها کم‌تر بود. در نمودار ۳ داده‌های هضم ظاهری خاکستر جیره آمده است، بر اساس این نمودار اختلاف معنی‌دار در تیمارها مشاهده شد بدین‌صورت که هضم ظاهری خاکستر در تیمار ۳ (افزودن آنزیم ۱۲ ساعت قبل از ساخت) از سایر تیمارها بیش‌تر بود و بعد از آن تیمارهای ۲ و ٤ (افزودن آنزیم ٦ و ۲٤ ساعت قبل از ساخت) قرار داشتند و تیمارهای شاهد و ۱ (افزودن آنزیم پس از ساخت) پایین‌تر از سایر تیمارها بودند.

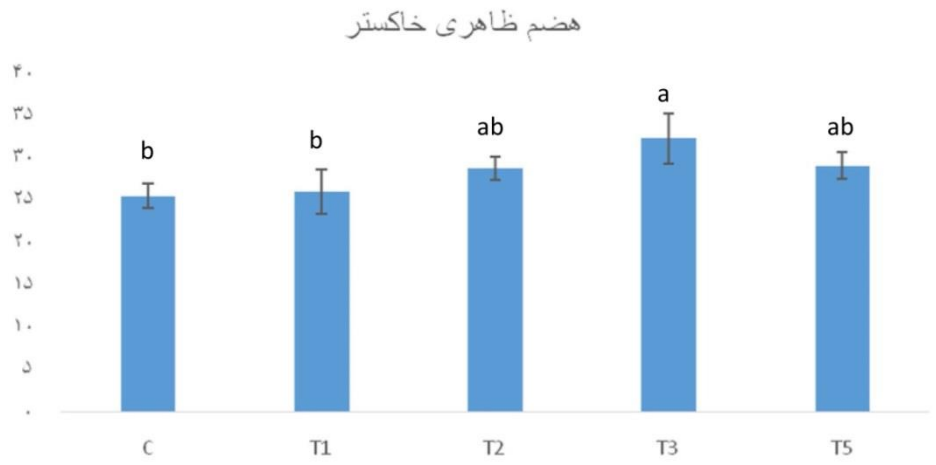





Archive of SID.ir

Archive of SID.ir






**C: شاهد، T1: افزودن آنزیم بعد از ساخت، T2: افزودن آنزیم ٦ ساعت قبل ساخت، T3: افزودن آنزیم ١٢ ساعت بعد از ساخت، T4: افزودن آنزیم ٢٤ ساعت بعد از ساخت، حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هستند (P≤٠/٠٥)، داده‌ها به‌صورت ME±SD بیان شده‌اند**

**شکل ١- هضم ظاهری پروتئین، چربی و خاکستر جیره ماهی کپور معمولی.**

## بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به این‌که تغذیه نقش مهمی در رشد آبزیان دارد، استفاده از جیره غذایی با هضم‌پذیری مناسب نقش به‌سزایی در تامین نیازهای آبزی ایفا می‌کند. اما افزودن روزافزون کربوهیدرات به جیره موجب افزایش مواد ضدتغذیه‌ای آن خواهد شد و به‌تبع موجب کاهش راندمان می‌گردد. در این پژوهش ابتدا حداقل آنزیم موردنیاز برای هضم کربوهیدرات‌های آرد گندم و سویا جیره در آزمایشگاه با روش reducing suger test by DNS و در قدم دوم بهترین روش استفاده از آنزیم‌ها در جیره ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرار گرفت. در مطالعه حاضر پس از ٦٠ روز تغذیه ماهیان با جیره‌های آزمایشی نشان داد که با افزایش زمان افزودن آنزیم‌ها به غذای ماهی کپور تا ١٢ ساعت شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای بهبود پیدا می‌کند و با دو برابر شدن‌این زمان به ٢٤ ساعت شاخص‌های رشد کاهش می‌یابد نتایج این مطالعه با نتایج Ghomi و همکاران (٢٠١١) روی فیل‌ماهی (*Huso huso*) و مولتی آنزیم Kemin®، Adeoye و همکاران (٢٠١٦) روی ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) و آنزیم‌های پروتئاز، فیتاز و کربوهیدراز Adeye و همکاران (٢٠١٦a) روی ماهی تیلاپیا نیل و آنزیم‌های پروتئاز، فیتاز و زایلاناز و پروبیوتیک (*Bacillus subtilis*، *Bacillus licheniformis* و *Bacillus pumilus*)، Monier (٢٠١٩) روی ماهی کپور معمولی و مولتی آنزیم Hostazyme و Luo و همکاران (٢٠٢٠) روی ماهی کراکر زرد (*Larimichthys crocea*) و آنزیم زایلاناز مطالعه کردند مطابقت داشت اما با نتایج (١٣) که روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و مولتی آنزیم Superzyme CS و Yigit و همکاران (٢٠١١) روی ماهی تیلاپیا نیل و آنزیم سلولاز مطالعه کردند مطابقت نداشت (١٩).

میزان شاخص ضریب رشد ویژه، وزن نهایی و درصد افزایش وزن بدن در این تیمار از سایر تیمارها بالاتر بود و میزان شاخص FCR در تیمار ٣ از سایر تیمارها پایین‌تر بود. که نشان‌دهنده تأثیر مدت زمان



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



هضم روی راندمان هضم دارد که که با نتایج (۲۰، ۲۱، ۲۲) مطابقت دارد و با نتایج Dalsgaard و همکاران (۲۰۱۱) که روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و آنزیم‌های بی گلوکاناز، زایلاناز پروتئاز مطالعه کردند مطابقت ندارد (۱٤). بر اساس مطالعه‌های گذشته علت بهبود شاخص‌های رشد را افزایش دسترسی ماهی به مواد مغذی جیره به‌دلیل کاهش اثرات ضدتغذیه‌ای NSPها گزارش کردند و احتمالاً این عامل موجب بهبود راندمان رشد دراین مطالعه شده است.

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

که بر اساس نتایج این مطالعه مشخص شد انتخاب روش صحیح اضافه کردن آنزیم‌ها همانند انتخاب صحیح ترکیب و نوع آنزیم‌ها روی شاخص‌های رشد مهم و تأثیرگذار می‌باشد. در این پژوهش در شاخص زنده‌مانی هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و تیمارهای مختلف مشاهده نشد که می‌تواند به‌دلیل شرایط مناسب تغذیه‌ای در تمامی تیمارها باشد. در مطالعه حاضر آنزیم‌ها بر روی میزان هضم و جذب مؤثر بودند به‌طوری‌که بهترین میزان هضم ظاهری پروتئین، چربی و خاکستر در تیمار تیمار ۳ (افزودن آنزیم ۱۲ ساعت قبل از ساخت) مشاهده شد که با نتایج (۱٤، ۲۲) همخوانی داشت. دلیل اختلاف به وجود آمده در تیمارها احتمالاً تغییر در مدت زمان هضم کربوهیدرات‌ها بوده است در نتیجه بر اساس یافته‌های این پژوهش افزایش میزان هضم دلیل بر افزایش راندمان نیست بلکه باید هضم بهینه متناسب با فیزیولوژی آبزی، نوع و مقدار کربوهیدرات و ترکیب آنزیمی را به دست آورد. به‌طورکلی استفاده از آنزیم‌های کربوهیدراتی موجب دسترسی بهتر آنزیم‌های هیدرولیزکننده صفرا و آنزیم‌های پروتئازی به سوبسترا شده است در نتیجه موجب تغییر در شاخص‌های هضم ظاهری، رشد و سلامتی آبزیان می‌گردد (۹).

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



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



## منابع


1.FAO. (2008). Yearbooks of fishery statistics. http:// www.fao.org. Cited: August 10. 2010.

2.Sinha, A. K., Kumar, V., Makkar, H. P., De Boeck, G., & Becker, K. (2011). Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition–A review. *Food Chemistry*, 127, 1409.

3.Allan, G. L., Parkinson, S., Booth, M. A., Stone, D. A., Rowland, S. J., Frances, J., & Warner-Smith, R. (2000). Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, Bidyanus bidyanus: I. Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture*. 186, 293-310.

4.Kuz'mina, V. V. (1996). Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts. *Aquaculture*. 148, 25-37.

5.Wong, D. W. (2013). Food enzymes: structure and mechanism. Springer Science & Business Media.

6.Bayer, E. A., Lamed, R., & Himmel, M. E. (2007). The potential of cellulases and cellulosomes for cellulosic waste management. *Current Opinion in Biotechnology*. 18, 237-245.

7.Krogdahl, Å., HEMRE, G., I., & Mommsen, T. P. (2005). Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture nutrition*. 11, 103-122.

8.Vahjen, W., Osswald, T., Schäfer, K., & Simon, O. (2007). Comparison of a xylanase and a complex of non starch polysaccharide-degrading enzymes with regard to performance and bacterial metabolism in weaned piglets. *Archives of animal nutrition*, 61, 90-102.

9.Stepanowska, K., & Sawika, A. (2006). The effect of feeding method on body weight gains, concentration of selected components in the blood, and peroxidation processes of carp, *Cyprinus carpio*. *Acta Ichthiologica Et Piscatorial*. 36, 25-29.

10.Lin, S., Mai, K., & Tan, B. (2007). Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture research*, 38, 1645-1653.

11.Luo, J., Li, Y., Jin, M., Zhu, T., Li, C., & Zhou, Q. (2020). Effects of dietary exogenous xylanase supplementation on growth performance, intestinal health, and carbohydrate metabolism of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. *Fish physiology and biochemistry*, 46, 1093-1110.

12.Monier, M. N. (2020). Efficacy of dietary exogenous enzyme supplementation on growth performance, antioxidant activity, and digestive enzymes of common carp, *Cyprinus carpio* fry. *Fish physiology and biochemistry*, 46, 713-723.

13.Ogunkoya, A. E., Page, G. I., Adewolu, M. A., & Bureau, D. P. (2006). Dietary incorporation of soybean meal and exogenous enzyme cocktail can affect physical characteristics of faecal material egested by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 254, 466-475.

14.Dalsgaard, J., Verlhac, V., 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 inclusion of plant-based protein. *Animal feed science and technology*. 171, 181-191.

15.Miller, G. L. (1959). Use of dinitro salicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31, 426-428.

16.Abedian Kenari, A., Sotoudeh, E., & Rezaei, M. H. (2011). Dietary soybean phosphatidylcholine affects growth performance and lipolytic enzyme activity in Caspian brown trout, *Salmotrutta Caspius* alevin. *Aquaculture Research*. 42, 655-663.

17.Castillo, S., & Gatlin, D. M. (2015). Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: a review. *Aquaculture*. 435, 286-292.

18.AOAC. (2005). Official method of Analysis.




Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



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



Archive of SID.ir