تاثیر مقادیر مختلف مولتی آنزیم بر تغییرات آنزیم‌های کبدی و فاکتورهای عملکردی در ماهیان قزل آلای رنگین‌کمان *(Oncorhynchus mykiss)* پرواری

جاوید مرتضوی تبریزی[1*]، جواد شیعه[2]، شهاب نوتاش[1]، حمید میرزایی[3]، امیر منصور وطن خواه[4]

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۰/۴/۲۵

چکیده

آنزیمها کاتالیزورهای آلی هستند که می‌توانند سبب آغاز و یا تسریع واکنش‌های شیمیایی شده و یک یا چند نوع ترکیب آلی را به تولیدات آلی تبدیل نمایند. با هدف بررسی تاثیر سطوح مختلف مکمل مولتی آنزیم بر روی میزان تغییرات بیوشیمیایی آنزیم های کبدی و فاکتور های عملکردی در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان پرواری (۵± ۱۵۰ گرم)، چهار جیره غذایی متفاوت از لحاظ سطوح مختلف مکمل مولتی آنزیم برای ماهیان تنظیم و مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری در مورد نرخ بقای ماهی و ضریب تبدیل غذایی به صورت دوره‌ای انجام شد. در پایان دورهٔ پرورشی از هر گروه ۵۰ قطعه ماهی و در کل ۲۰۰ قطعه به طور تصادفی انتخاب و برخی از پارامتر های بیوشیمیایی کبد، مورد آزمایش قرار گرفت. در طی این بررسی مقدار ضریب تبدیل غذایی، میزان بقاء، وزن ماهیان (رشد مطلق) و طول کل ماهیان در گروه های تحت مطالعه در هیچکدام از مقاطع زمانی اندازه‌گیری شده معنی دار نبود. نتایج مقایسه میانگین داده های این آزمایش نشان داد که در گروه ۱/۵ کیلو گرم در تن میزان AST سرم کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار ۰/۵ و ۱ کیلوگرم در تن داشته است ($p<0/05$). در تیمار ۰/۵ کیلو گرم در تن، کاهش معنی داری در میزان ALT سرم در مقایسه با گروه شاهد داشته است ($p<0/05$). استفاده از مولتی آنزیم کاهش معنی‌داری از نظر سطوح مختلف LDH سرم در گروه های تیمار نسبت به گروه شاهد ایجاد نمود ($p<0/05$) و اختلاف معنی داری از نظر سطوح مختلف ALP در بین گروه های مختلف مشاهده نشد ($p>0/05$). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از مولتی آنزیم، می‌تواند باعث کاهش مقادیر AST، ALT و LDH ماهیان قزل آلای رنگین کمان پرواری شود.

واژگان کلیدی: مولتی آنزیم، ALT، AST،LDH، ALP ، قزل آلای رنگین کمان

مقدمه

آنزیمها کاتالیزورهای آلی هستند که می‌توانند سبب آغاز و یا تسریع واکنش‌های شیمیایی شده و یک یا چند نوع ترکیب آلی را به تولیدات آلی تبدیل نمایند که در غیر این صورت این واکنش با سرعت قابل قبولی نمی توانست ادامه یابد.(۲۵) تمام آنزیم‌های گوارشی متعلق به گروه هیدرولازها هستند. امروزه آنزیمهای جدا سازی شده برای انواع مختلفی از اهداف بزرگ

۱- استادیار، گروه بهداشت و آبزیان ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.

۲- دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

۳- دانشیار، گروه بهداشت و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.

۴ – کارشناس، مرکز تحقیقات دارویی تبریز، تبریز، ایران

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: J.mortazavi@iaut.ac.ir

تجاری مثل بهبود وضعیت تغذیه‌ای به کار می‌روند. با گسترش محصولات آنزیمی حاوی اجزاء اختصاصی، استفاده از آنزیمها برای بهبود وضعیت تغذیه که نیاز به توجه بیشتری دارد، ضروری به نظر می‌رسد. از سال ۱۹۲۰ محققین تأثیرات مفید آنزیمها بر روی مواد غذایی طیور، بویژه غذا هایی که حاوی دانه‌های غلات با ترکیب بالایی از فیبر هستند، را مشاهده نموده اند (۱۰، ۱٦، ۱۸ و ۲۲) آنزیمهای تجاری به طور خاص، ترکیبی از چندین آنزیم مختلف می‌باشد که بر روی انواع مختلف اجزاء مواد غذایی موثر می باشند. آنزیم‌هایی که تاثیرات آنها در پرورش حیوانات ثابت شده شامل زیلانزها (Xylanase)، آرابینوکسی لانازها (arabinoxylanase)، $\beta-$ گلوکاناز (B-Glucanase)، سلولاز (Cellulase) و فیتاز (phytase) (٦) پروتئاز (protease) (۱۹) و فسفولیپاز (phospholipase) (۲٤) می‌باشند. نتایج تحقیقات Jackson در ۱۹۹٦، Eya , lovell در ۱۹۹۷، Li و Robbinson در ۱۹۹۷ در گربه ماهی و Cain و Garling در ۱۹۹۵، Rodehutscork و Pfeffer در ۱۹۹۵ و Vielma در ۲۰۰۰ کارایی فیتاز در افزایش قابلیت دسترسی فسفر در ماهی ها را ثابت نموده است (٤، ۸، ۱۲، ۱۵، ۲۳ و۲۷). آنزیمهای آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتارت آمینوترانسفراز (AST) در ماهیان وجود دارد. این آنزیمها در بافت کبد تغلیظ شده و در عفونتهای شدید خونی خصوصاً با منشا آئروموناس (Aeromonas spp)، میزان AST، افزایش و میزان ALT سرم کاهش می‌یابد (۳ و۱۱). همچنین، میزان AST در نفروکلسینوز آزاد ماهیان افزایش می‌یابد. در کپور ماهیان مقدار AST در حدود ۲٤ ساعت پس از عفونت، به حداکثر میزان خود، یعنی دو برابر مقدار اولیه می‌رسد، ولی میزان ALT در موارد بروز عفونت، کاهش می‌یابد (۲و ۱۳). لذا در این مطالعه سعی بر این بوده تا اثرات مقادیر مختلف مولتی آنزیم کمین + فیتاز، بر روی میزان تغییرات بیوشیمیایی آنزیم‌های کبدی (ALT، AST، ALP و LDH) مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار

طی این بررسی تعداد ۲۰۰۰ قطعه بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان به وزن ۵ ± ۱۵۰ گرم بطور تصادفی انتخاب و در ٤ گروه تقسیم بندی گردید و به استخرهای گرد با حجم ۵ متر مکعب آب، تحت شرایط دمایی ۱۳ درجه سانتیگراد، میزان آمونیاک کمتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر، میزان اکسیژن بین ppm ۷–۸ و میزان CO2 کمتر از ۵ppm قرار گرفتند. بعد از وارد کردن ماهی در استخر ها، به مدت دو روز جیره پایه تجاری (شرکت بهسان تغذیه آریان،گروه بتا) رایج در مزرعه، به تمام تیمار ها داده شد تا تنش ناشی از رقم بندی و انتقال ماهیان برطرف شود.

گروه های آزمایشی شامل زیر بودند:

تیمار ۱: شاهد (جیره پایه بدون مولتی آنزیم کمین + فیتاز)

تیمار۲: جیرهٔ پایه + ۰/۵ کیلوگرم مولتی آنزیم کمین + فیتاز در تن جیره

تیمار۳: جیرهٔ پایه + ۱ کیلوگرم مولتی آنزیم کمین + فیتاز در تن جیره

تیمار٤: جیرهٔ پایه + ۱/۵ کیلوگرم مولتی آنزیم کمین+ فیتاز در تن جیره

جیره پایه برای تمامی گروه ها یکسان در نظر گرفته شد و ماهیان از جیره تجاری (گروه بتا) به صورت 2 GFT بر اساس پیشنهاد شرکت سازنده برای پنج دوره آزمایشی استفاده گردید.

جدول ۱- مشخصات مولتی آنزیم کمین + فیتاز (شرکت کاجک پاییزان):

نام آنزیم	شماره IUB International Union of Biochemistry	منشاء بیولوژیکی	کمترین فعالیت آنزیمی
فیتاز	3.1.3.2.6.	*Aspergillus oruzae* (DSM 14223)	۱۰۰۰Units/g
لیپاز	3.1.1.3.	*Rnizopus japonious*	۲۰۰۰Units/g
زایلاناز	3.2.1.8.	*Trichoderma viride* (Nibh Ferm bp 4842)	۲۰۰۰۰Units/g
اندو ۱، ۳ (۴) بتاگلوکاناز	3.2.1.6.	*Aspergillus aculeatus*	۳۰۰۰ Units/g
کمپلکس سلولز	3.2.1.4.	*Trichoderma reesel*	۵۰۰۰ Units/g
آلفا-آمیلاز	3.2.1.1.	*Bacillus amyloliquefaciens*	۲۰۰۰Units/g
پروتئاز	3.4.24.28.	*Bacilus subtilis*	۲۰۰۰Units/g

به منظور مخلوط کردن جیره با مکمل مولتی آنزیم کمین + فیتاز، ابتدا مکمل با روغن آفتاب گردان مخلوط شده(۳۰ سی سی روغن آفتاب گردان به ازای هر کیلوگرم جیره) و سپس بر روی خوراک به طور دستی اسپری شد. لازم به ذکر است که جهت یکنواخت شدن آزمایش، به تیمار شاهد نیز ۳۰ سی سی روغن آفتاب گردان به ازای هر کیلوگرم جیره بدون مکمل مولتی آنزیم اضافه شد. جیره های آزمایشی به مدت ٤٠ روز به ۲۰۰۰ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان پرواری خورانده شد. در طول از آزمایش، وزن کشی ماهیان با استفاده از ترازوی دیجیتالی اندازه گیری گردید. این عمل برای هر واحد آزمایشی سه بار تکرار و میانگین سه بار به عنوان وزن ماهی ها ثبت گردید. تغییرات طول کل ماهیان در گروه های مختلف آزمایشی با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی متر اندازه گیری گردید. در پایان دورهٔ پرورشی از هر گروه ۵۰ قطعه ماهی و در کل ۲۰۰ قطعه به طور تصادفی انتخاب و سپس اقدام به خونگیری با استفاده از سرنگ و سر سوزن ۱۸ از ناحیه قلب بصورت مستقیم نموده و نمونه های خون جمع آوری شده در لوله های آزمایش فاقد ماده ضد انعقاد تخلیه گردید، سپس نمونه‌ها سریعاً به آزمایشگاه بیوشیمی مرکز تحقیقات دارویی انتقال و نمونه های خون که منعقد شده بودند، را سانتریفوژ نموده و نمونه سرم خون در لوله های کوچک (میکروتیوپ) تخلیه و با استفاده از کیت های بیوشیمیایی ساخت شرکت پارس آزمون، اقدام به بررسی فاکتورهای ALT، AST، ALP و LDH سرم، با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر Abbot Alycon 300 گردید.

فراسنجه‌هایی که در این تحقیق در طی دوره آزمایش ثبت گردید، شامل افزایش وزن (رشد مطلق)، ضریب تبدیل غذایی، افزایش طول کل و نرخ بقای ماهی بود.

رشد مطلق توسط فرمول زیر محاسبه می شود:

TWG = Wb-Wa

Wb= وزن ماهی در روز b

Wa= وزن ماهی در روز a

نتایج

در طی این بررسی مقدار ضریب تبدیل غذایی در شاهد ۲/۰۸ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۱/٦٨، ۱/۷۳ و ۲/۰۹ تعیین گردید، که در سطح α=۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها، مشاهده نشد میزان بقاء در گروه شاهد ۹٦٪ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب، ۹۸٪، ۱۰۰٪ و ۹۸٪ بود که بر اساس آزمون آماری خی دو (Chi

(square در سطح α=۰/۰۵ تفاوت بین گروه های تحت مطالعه، معنی دار نبود. بر اساس آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه(One way Analyse of Variance) در سطح α =۰/۰۵ تفاوت بین میانگین طول ماهیان در گروه های تحت مطالعه در هیچکدام از مقاطع زمانی اندازه گیری شده معنی دار نبود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس افزایش وزن (رشد مطلق) ماهیان قزل آلای رنگین کمان در دوره آزمایشی مشخص گردید که بین میزان مصرف مولتی آنزیم و میزان افزایش وزن رابطه معنی داری مشاهده نشد. (p>۰/۰۵)

در طی این تحقیق مقادیر متوسط AST در گروه شاهد ٤٠١ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ٤٢١، ٤٣٠ و ٣٥٩ unit/lit تعیین گردید که نتایج مقایسه میانگین داده‌های این آزمایش نشان داد که در گروه ۱/۵ کیلوگرم در تن میزان AST سرم کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار ۰/۵ و ۱ کیلوگرم در تن داشته است (p<۰/۰۵) (جدول ۱).

مقادیر متوسط ALT در گروه شاهد ۲۷ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۲۱، ٢٤ و ۲۵ unit/lit تعیین گردید که نتایج مقایسه میانگین داده های این آزمایش نشان داد که در گروه ۰/۵ کیلو گرم در تن کاهش معنی داری در میزان ALT سرم در مقایسه با گروه شاهد داشته است (p<۰/۰۵)(جدول ۱).

مقادیر متوسط ALP در گروه شاهد ٢٦٢ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۲۵۷، ۲۸۱ و ۳۰۷ unit/lit تعیین گردید که اختلاف معنی‌داری از نظر سطوح مختلف ALP در بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد (p>۰/۰۵) (جدول ۱).

مقادیر متوسط LDH در گروه شاهد ۸۵۹ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۷۷۵، ٦٧٥ و ٦٤٠ unit/lit تعیین گردید که مقایسه میانگین داده‌های این آزمایش نشان داد که استفاده از مولتی آنزیم کاهش معنی داری از نظر سطوح مختلف LDH سرم در گروه های تیمار نسبت به گروه شاهد ایجاد نموده است (p<۰/۰۵) (جدول ۱).

بحث

در طی این بررسی میزان ضریب تبدیل غذایی در گروه شاهد ۲/۰۸ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۱/٦٨، ۱/۷۳ و ۲/۰۹ تعیین گردید. در بررسی که توسط Lin و همکاران در ۲۰۰۷ در خصوص میزان تاثیر مولتی آنزیم بر روی عملکرد رشد در ماهیان کپور در مرحله قبل بلوغ انجام گرفت، مشاهده گردید که میزان ضریب تبدیل غذایی ماهی و میزان رشد در صورت استفاده از مولتی آنزیم در مقادیر ۰/۰۵٪ و ۰/۰۳٪ بهبود می یابد که کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در جیره حاوی ۰/۰۵٪ گزارش گردید.(١٤) در تحقیقی که توسط Yildirim و Touran در ۲۰۱۰ در گربه ماهیان آفریقایی انجام گردید، بهترین میزان ضریب تبدیل غذایی و عملکرد رشد را در ۰/۰۷۵ درصد مولتی آنزیم مشاهده نمود (۲۸).

جدول۱- تاثیرات مقادیر مختلف مولتی آنزیم بر روی برخی از پارامتر های بیوشیمیایی در ماهیان قزل آلای پرواری

پارامتر / گروه	AST U/L	ALT U/L	ALP U/L	LDH U/L
شاهد	۴۰۱/۶۶±۹/۳۵^{ab}	۲۷/۱۸±۱/۲۱^{b}	۲۶۲/۵۸±۱۳/۱۳^{a}	۸۵۹/۴۲±۷/۵۱^{c}
تیمار ۱	۴۲۱/۳۸±۱۴/۰۸^{b}	۲۱/۷۴±۱/۱۳^{a}	۲۵۷/۴۴±۱۸/۷۹^{a}	۷۷۵/۱±۶۷/۸^{b}
تیمار ۲	۴۳۰/۸±۱۲/۵۵^{b}	۲۴/۹±۱/۳۹^{ab}	۲۸۱/۲۲±۱۶/۱۱^{a}	۶۷۵/۱۴±۱۳۹/۹۹^{a}
تیمار ۳	۳۵۹/۴۴±۱۴/۳۴^{a}	۲۵/۴۶±۱/۷۷^{ab}	۳۰۷/۶۶±۲۱/۵۸^{a}	۶۴۰/۲۲±۹/۵۷^{a}

میزان رشد مطلق در گروه شاهد ۵۸/۵ گرم و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۷۱، ٦۹ و ۵۵ تعیین گردید. Ritz و همکاران در ۱۹۹۵ اصلاح در میزان بازده وزنی بدن و مصرف غذا در بوقلمون های ماده تغذیه شده با مکمل زیلاناز را مشاهده نمود(۲۲).

درصد بقاء در شاهد ۹٦٪ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب، ۹۸٪، ۱۰۰٪ و ۹۸٪ تعیین گردید. Odetallah و همکاران در ۲۰۰۲ گزارش کرده اند که وجود آنزیم زیلاناز در بوقلمون ها سبب کاهش مرگ و میر می‌شود. آنها توضیح داده‌اند که میزان مرگ و میر در گروه کنترل بطور اولیه در اثر عفونت روده ای بوده، در حالی که میزان مرگ و میر در گروه های تیمار حاوی آنزیم در اثر اختلالات قلبی ریوی بوده که اغلب مرتبط با رشد بسیار سریع پرندگان می‌باشد(۱۷).

لذا در طی این تحقیق مشخص گردید که استفاده از مولتی آنزیم تاثیری روی میزان ضریب تبدیل غذایی، رشد مطلق و میزان بقاء ماهی قزل آلای رنگین کمان ندارد که این نتایج با برخی مطالعات قبلی که بر روی گربه ماهی کانال، ماهی پنگوس ، قزل آلای رنگین کمان انجام یافته همخوانی ندارد (۷، ۹ و ۱۲).

در طی این تحقیق مقادیر متوسط AST در گروه شاهد ٤۰۱ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ٤۲۱، ٤۳۰ و ۳۵۹ unit/lit تعیین گردید که نتایج مقایسه میانگین داده‌های این آزمایش نشان داد که در گروه ۱/۵ کیلو گرم در تن میزان AST سرم کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار ۰/۵ و ۱ کیلوگرم در تن داشته است (p<۰/۰۵).

مقادیر متوسط ALT در گروه شاهد ۲۷ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۲۱، ۲٤ و ۲۵ unit/lit تعیین گردید که نتایج مقایسه میانگین داده های این آزمایش نشان داد که در گروه ۰/۵ کیلو گرم در تن کاهش معنی داری در میزان ALT سرم در مقایسه با گروه شاهد داشته است (p<۰/۰۵).

مقادیر متوسط ALP در گروه شاهد ۲٦۲ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۲۵۷، ۲۸۱ و ۳۰۷ unit/lit تعیین گردید که اختلاف معنی داری از نظر سطوح مختلف ALP در بین گروه های مختلف مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

مقادیر متوسط LDH در گروه شاهد ۸۵۹ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۷۷۵، ٦۷۵ و ٦٤۰ unit/lit تعیین گردید که مقایسه میانگین داده های این آزمایش نشان داد که استفاده از مولتی آنزیم کاهش معنی داری از نظر سطوح مختلف LDH سرم در گروه های تیمار نسبت به گروه شاهد ایجاد نموده است(p<۰/۰۵).

خواجه در ۱۳۸٦ در طی بررسی برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل آلای رنگین کمان پرورش یافته در استخر های خاکی مقادیر آنزیم های ALT، AST، ALP و LDH را به ترتیب ۲٤±۲۹ ،۳۲۰±۷۲۲ ،۱۵۰±۳۷۷ و۳۵۳± ۵۷۹ گزارش نموده است.(۱)

با مقایسه مقادیر فوق با نتایج آزمایش مشاهده می شود که مقادیر AST، LDH، ALT و ALP ماهیانی که از مکمل مولتی آنزیم استفاده نموده‌اند در رنج نرمال قرار داشته است. با توجه به اینکه مقادیر AST و ALT سرم در بیماری نکروتیک حاد کبد در اثر تماس با سموم کبدی نظیر تتراکلروکربن افزایش می‌یابد، مقدار این آنزیمها در بیماری مزمن کبد، آنگونه که انتظار می‌رود زیاد نمی شود (۲، ۵ و۲٦). Rhulka در ۲۰۰۲ برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل آلا از جمله آنزیم‌های ALT و LDH را در آلودگی به آئروموناس را مطالعه و افزایش سرمی آنزیم‌های مذکور را گزارش نموده است (۲۰). همین محقق در سال ۲۰۰۳ آنزیم‌های سرم ماهی قزل آلا را در آلودگی تجربی به سپتی سمی هموراژیک را بررسی و افزایش آنزیم های ALT، AST و LDH و کاهش ALP را گزارش کرده است (۲۱). با توجه به نتایج این آزمایش، بنابراین می‌توان بیان نمود که استفاده از مولتی آنزیم می‌تواند باعث کاهش برخی از پارامترهای بیوشیمیایی

کبد (ALT, AST و LDH) شود که در نارسایی‌های کبدی دچار تغییر می گردد، شود.

مقدار ALT/AST در این تحقیق در گروه شاهد ۰/۰٦ و در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۰/۰٤، ۰/۰۵ و ۰/۰٦ تعیین گردید. با توجه به اینکه هر چه مقدار ALT/AST افزایش یابد امکان ایجاد بیماری‌های کبدی افزایش می‌یابد، در نتیجه می توان مشاهده نمود که در هنگام استفاده از مولتی آنزیم این عدد کاهش می یابد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از مولتی آنزیم، می تواند باعث کاهش مقادیر AST، ALT و LDH ماهیان قزل آلای رنگین کمان پرواری شود. لذا می توان مصرف این مکمل را برای استفاده در مزارع پرورش ماهی در مقادیر بررسی شده توصیه نمود.

منابع

۱- خواجه، غ. پیغان، ر. (۱۳۸٦): بررسی برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل آلای رنگین کمان پرورش یافته در استخر های خاکی. مجله تحقیقات دامپزشکی. ، دوره ٦۲ شماره ۳، صفحه: ۱۹۷-۲۰۳.

۲- مجابی، ع. نظیفی حبیب آبادی، س. صافی، ش. (۱۳۷۹): بیوشیمی درمانگاهی دامپزشکی. انتشارات نوربخش. صفحه: ۳۸۵-۳۹۳.

3- Brenden, R. A., Huizngа, H. W., (1986): Pathophysiology of experimental Aeromonas hydrophila infection in gold fish, carassius auratus. J. Fish Dis. 9: 163-167.

4- Cain, K. D. Garling, D. L., (1995): Pretreatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents. Fish-Cul. 57:114-119.

5- Casillas, E., Myers, M. S., Rhodes, L. D., Mc Cain, B.B., (1986): Serum chemistry of diseased English sole, Parophrys vetulus, from polluted aveas of Puget Sound, Washington. J. Fish Dis.8:473-449.

6- Choct, M., Kocher, A., (2000): Use of enzymes in non-cereal grain feedstuffs. In: Proceedings, Twenty First World's Poultry Congress, Montreal, Canada, August. 20-24.

7- Debnath, D., Pal, A. K., Sahu, N. P., Jain, K. K., Yengkokpam, S., Mukherjee, S. C., (2005): Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of Pangasius pangasius (Hamilton) fingerlings. Aquacult. Res. 36:180-187.

8- Eya, J. C., Lovell, R. T., (1997): Net absorption of dietary phosphorus from various inorganic sources and effect of fungal phytase on net absorption of plant phosphorus by channel catfish. World Aquacul. Soc. 28: 386-391.

9- Farhangi, M. , Carter, C. G., (2007): Effect of enzyme supplementation to dehulled lupin-based diets on growth, feed efficiency, nutrient digestibility and carcass composition of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum). Aquacult. Res. 38:1274-1282.

10- Hastings, W. H., (1946): Enzyme supplements to poultry feeds. Poult. Sci. 25:584-586.

11- Horton, H. R., Moran, L. A., Ochs, R. S. Rawn, J. D., Srimgeour, K. G., (1996e): Properties of enzyme. Pages: 119-146. In: Principles of Biochemistry. Ed.2. J. Challice, C. Pratt, T.O. Quin, M. Ryan, D. Kirschner, and P. Corey, eds. Prentice-Hall Inc., Upper Saddle River, New Jersey.

12- Jackson, L. S., Li, M. H., Robinson, E. H., (1996): Use of microbial phytase in channel catfish (Ictalurus punctatus) diets to improve utilization of phytate phosphorus. World Aquac. Soc.27:297-302.

13- Jalali, B., (1995): Monogenean parasites of freshwater fishes in Iran. Thesis of Ph.D. Desertattion. Hungarian Academy of Science. Hungary. 59-60.

14- Lin, S., Mai, K. Tan, B., (2007): Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, Oreochromis niloticus. Aureus. Aquacult. Res. 38:1645-1653.

15- 15)Li, M. H. Robinson, E. H., (1997): Microbial phytase can replace inorganic phosphorus supplements in channel catfish (Ictalurus punctatus) diets. World Aquac. Soc.28:402-406.

16- Moran, Jr. E. T., Mc Ginnis, J., (1968): Growth of chicks and turkey poults fed western barley and corn grain-based rations: effects of autoclaving on supplemental enzyme requirement and asymmetry of antibiotic response between grains. Poult. Sci. 47:152-158.

17- Odetallah, N. H., Wang, J. J., Garlich, J.D., Shih, J. C. H., (2003): Keratinase in starter diets improves growth of broiler chicks. Poult. Sci. 82:664-670.

18- Petterson, D. Aman, P., (1989): Enzyme supplementation of a poultry diet containing rye and wheat. Br. J. Nutr. 62:139-149.

19- Preston, C. M., Mc Cracken, K. J., Bedford, M. R. (2001): Effect of eheat content, fat source and enzyme supplementation on diet metabolisability and performance . Br. Poult. Sci. 42:625-632.

20- Rhulka, J., (2002): Aeromonas causes sever skin lesions in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): Clin. Pathol., haematol. and biochemistry. Acta. Vet. BRNO. 71:351-360.

21- Rhulka, J., (2003): Haematological analysis in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) affected by viral haemorrhagic septicemia (VHS). Dis. Aguat. Org. 56: 185-193.

22- Ritz, C. W., Hulet, R. M. Self, B. B., Denbow, D. M., (1995): Growth and intestinal morphology of male turkeys as influenced by dietary supplementation of amylase and xylanase. Poult. Sci. 74:1329-1334.

23- Rodehutscord, M. Pfeffer, E., (1995): Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Water Science Technology. 31:143-147.

24- Santos, J., Ferket, P. R., Grime, J. L., Edens, F. W., (2004): Dietary supplementation of endoxylanase and phospholipase for turkeys fed wheat-based rations. Int. J. Poult. 3:20-32.

25- Schaible, P. J. (1970): Anatomy and physiology. Pages: 71-90. In:Poultry: Feeds and Nutrition. P. J. Schaible, ed. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut.

26- Trall, M. A., Alan, A., Campbell, T., (2004): Veterinary hematology and clinical chemistry. Lippicot Williams & Wikins. England. 499-503.

27- Vielma, J., Makinen, T., Ekholm, P., Koskela, J., (2000): Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and algal availability of phosphorus load. Aqua. 183:349-362.

28- Yildirim, Y.B., Turan, F., (2010): Effects of Exogenous Enzyme Supplementation in Diets on Growth and Feed Utilization in African Catfish, Clarias gariepinus. J. Animal Vet. Adv. 2:327-331.