تأثير إضافة بعض المعززات الحيوية Probiotics في العليقة على معايير الصورة الدموية وفعالية انزيمات ALT و AST وALP لأسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L.

محمود احمد محمد ، *طارق صالح حسن العكيلي ، رغدة جياد محمد الصفو
جامعة الموصل ، كلية الزراعة والغابات ، * وزارة العلوم والتكنولوجيا

الملخص

أجريت هذه الدراسة لغرض مقارنة أنواع مختلفة من المعززات الحيوية Probiotics وبمستويين لكل منها والتي استخدمت في علائق اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. لدراسة تأثيرها على التحليلات الكيموحيوية والتي تضمنت الصورة الدموية وفعالية أنزيمات ALT و AST وALP .غذيت المجاميع التسعة من الأسماك (15 سمكة/مجموعة) وبمعدل وزن ابتدائي22,44±2غم/سمكة لمدة 84 يوما على عليقة متوازنة حيث غذيت المجموعة الأولى على عليقة المقارنة. تم إضافة المعزز الحيوي بيومين ايمبو بمعدل 1غم/كغم من العليقة المقدمة للمجموعة الثانية من الأسماك و2غم/كغم من العليقة للمجموعة الثالثة. تم إضافة 0,5 و1غم من المعزز الحيوي Poultry star®me لكل كغم من العليقة والتي استخدمت في تغذية المجموعة الرابعة والخامسة من الأسماك على التوالي، بينما العليقة المقدمة الى المجموعة السادسة احتوت على 6غم من بروبايوتك العراق و8غم من نفس المعزز للمجموعة السابعة من الأسماك. أما المجموعة الثامنة والتاسعة فقد غذيت على عليقة احتوت على 3و5غم من خميرة الخبز الجافة التجارية على التوالي. تضمنت نتائج تحليل الصورة الدموية ارتفاع في نسب حجم الخلايا المرصوصة وتركيز الهيموكلوبين لمجاميع الأسماك المغذاة على العلائق 4 و5 و2 و3 والتي اختلفت معنويا عن بقية مجاميع الأسماك. في حين إن أعلى مستوى لقيم دليل الإجهاد (Hetrophil/Lymphocyte) قد سجلت في المجاميع الثامنة والتاسعة وبفرق معنوي (أ<0.05) عن بقية المجاميع. إن قيم البروتين والكلوبيولين في سيرم الدم لمجاميع الأسماك المغذاة على العلائق المدعمة بالمعزز الحيوي كانت ذات قيم ايجابية مسجلة فروق معنوي (أ<0.05) مقارنة بعليقة السيطرة. وان الفرق المعنوي (أ<0.05) في قيم الألبومين كانت في مجاميع الأسماك المغذاة على العلائق الثانية والثالثة والسادسة وبالضد من مجموعة المقارنة، بينما ارتفعت فعالية AST و ALP و ALT في مجموعة الأسماك المقارنة عن بقية المجاميع وان أفضل فعالية AST و ALP كانت لمجموعة الأسماك الخامسة عن مجاميع الأسماك قيد التجربة.

EFFECT OF SOME PROBIOTICS SUPPLEMENTATION ON BLOOD PICTURE AND ACTIVITIES OF ALT , AST , ALP ON COMMON CARP *Cyprinus carpio* L.

Mahmoud A. M. , *Tariq Salih Hassan Aloqaily Raghda Chyad Mohammad Al-Safo
Mosul Univ. , College of Agriculture & Forestry , Animal Resources Dept.
Mosul – Iraq
*** Ministry of Science and Technology**

ABSTRACT

This study was planed to compare between different types of probiotics in two level used in common carp fish food to study it's effect 0n biochemical parameters which included the blood picture and the activity of the ALT, AST and ALP.A same ration was fed for 84 days to nine fish groups (15 fish/each) with initial weight 22.44 ± 2 gm/fish and the intact ration was fed to the 1st fish group as a control. The biominimbo probiotic was added 1gm/1kg ration for the 2nd fish group and 2 gm/1kg ration for the 3rd group. 0.5 and1 gm of the poultry star®me per 1kg ration was used to feed the 4th and 5th fish group respectively. The ration of the 6th fish group

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث.

included 6 gm of the Iraqi probiotics and the 7th group ration included 8 gm of the same probiotics. 3 and 5 gm of the commericial dry yeast was added to the 8th and 9th fish group ration respectively. The blood picture analysis indicated that the compact cells and the hemoglobin concentration of the probiotic fed fish in group 4,5,2 and 3 were significantly ($p<0.05$) grater than that found for the other groups. The Heterophil/Lymphocyte was scored significantly ($p<0.05$) higher in the 8th and 9th fish groups than the others. Blood serum protein and globuline of the probiotic fed fish group were found positively significant ($p<0.05$) grater value than the control, and a significant ($p<0.05$) supereority in serum albumin was found in favor of the 2nd, 3rd, 4th and 6th fish group aganest the control. The control group fish showed a greater ALT, AST, ALP activity than the others, while the AST and ALP activity was higher in 5th group than the others.

المقدمة

أدت عملية زيادة كثافة الاستزراع للأسماك في وحدة المساحة الى ظهور مشاكل لهذا القطاع رافقت هذا العمل تمثلت في زيادة انتشار الأمراض وتردي نوعية المياه والى زيادة الإجهاد والأمراض الناتجة عنه وزيادة الأمراض الطفيلية والبكتيرية والفيروسية التي أدت الى تثبيط النمو مما استدعى أللجوء الى استخدام المضادات الحيوية Antibiotics بشكل واسع في حقول الإنتاج الحيواني ومنها أحواض الأسماك للسيطرة على هذه المعوقات وتحسين النمو وكفاءة التحويل الغذائي، إلا أن الاستخدام المفرط وبكميات عالية أدى الى ظهور عتر جرثومية مرضية مقاومة لهذه المضادات الحيوية واغلبها ذات طيف واسع على العديد من الأحياء المجهرية مما يلحق الضرر ببعض الأنواع المفيدة المتواجدة في مايكروفلورا الأمعاء ويتعدى هذا التأثير السلبي الى وجود أخطار متمثلة في التأثير التراكمي لها في لحوم الحيوانات المستهلكة من قبل الإنسان ، ومما زاد هذه الأخطار هو إمكانية نقل هذه البكتريا للإنسان وذلك يكون باتجاهين إما عن طريق تناول الإنسان للحوم الحاوية على هذه البكتريا أو عن طريق انتقالها بصورة مباشرة للإنسان (SCAN، 2003 وFAO، 2005 وCabello،2006 وSorum، 2006) ، وللأسباب المذكورة آنفا تم إصدار إعلان من قبل منظمة الاتحاد الأوربي في كانون الثاني/يناير/2006 والذي تم بموجبه منع استعمال المضادات الحيوية في زيادة النمو ضمن قطاع الإنتاج الحيواني وهذا مما دفع العاملين في قطاع الأسماك الى دراسة محتوى المنطقة المعوية لأسماك المياه الدافئة والباردة البحرية لتحديد العتر المفيدة من الأحياء المجهرية المتواجدة فيها (Ahmedوآخرون ، 2005 وRingo وآخرون ، 2006 وHovda وآخرون ، 2007 وZhou وآخرون ، 2009). إن الضرر الذي أحدثته المضادات الحيوية لبيئة المايكروفلورا الأمعاء نبهت العاملين في هذا المجال الى أهمية إيجاد بدائل عن الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية وآمنة في تأثيراتها على صحة الإنسان والحيوان على حد سواء. وهذا ما قاد الباحثين الى استخدام الأحياء المجهرية الدقيقة المفيدة كإضافات تغذوية فظهرت منتجات تجارية تحت اسم Probiotics (Denev، 2008) وان استخدام المعززات الحيوية تساهم في تحسن الشهية وقابلية الكائن الحي من الاستفادة من عناصر الغذاء بشكل أفضل عن طريق إنتاج الفيتامينات من قبل المايكروفلورا المضافة وتقليل سمية بعض المركبات في الغذاء وزيادة قابلية هضم العناصر الغذائية غير القابلة للهضم ، وأشارت دراسات عدة الى وجود تأثير إيجابي للمعزز الحيوي وعلى نطاق واسع ضد الأمراض والبكتريا المرضية (Nikolskelainen وآخرون ، 2001 وGuntherوJimenez_Montealegre، 2004). أدى شيوع استعمال المايكروفلورا المعوية في معالجة العديد من الأمراض في بداية الثمانينات من القرن الماضي، بطلب وكالة الغذاء والعقاقير الأمريكية Food and Drag Administration (FDA) من الشركات والعاملين بمجال الأحياء المجهرية الى إصدار قائمة غراس General Recognize As Safe (GRAS) والتي احتوت عشرات الأنواع والأجناس من الأحياء المجهرية المفيدة التي سمحت منظمة الصحة العالمية بإضافتها للأغذية مما جعل الباحثين يتقيدون بهذه القائمة وكانت هذه التشريعات مقدمة لبداية ازدهار دور

المايكروفلورا المعوية في إحداث التوازن الميكروبي في القناة الهضمية والتي تم اكتشافه من قبل Elie Mechnikoff(1845 - 1916) والذي عرفها على أنها تزود الحيوان ببعض الأحياء المجهرية النافعة والتي تضفي التأثيرات الصحية ايجابية على المضيف. نظراً لاختلاف نوعية المعززات الحيوية المصنعة والمطروحة تجاريا من حيث نوع الأحياء المجهرية التي تحتويها ولتحديد النوع والمستوى الأمثل الذي يمكن إضافته في علائق اسماك الكارب الشائع *C. carpio* L. فضلا عن دراسة تأثيرات هذه المعززات على الصورة الدموية وإنزيمات الدم، تم إجراء هذه الدراسة.

مواد البحث وطرائقه

تم تنفيذ هذا البحث في مختبر الأسماك التابع إلى قسم الثروة الحيوانية في كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل ولمدة اثنتا عشر أسبوعاً اعتباراً من 2011/1/11 ولغاية 2011/4/3 ، تم فيه استخدام 27 حوضا زجاجيا بأبعاد 40x60x40 سم موزعة على حوامل معدنية بثلاث طبقات. جهزت الأحواض الزجاجية بمضخات هواء صغيرة من نوع RS-510 صينية المنشأ فضلاً عن وجود ضاغطة هواء compressor مصممة بحيث يتم تجهيز الهواء إلى جميع الأحواض بشكل متساوٍ قدر الإمكان.استخدمت اسماك الكارب الشائع common carp *C.carpio* L. في تجربة النمو والتي تم وضعها في محلول ملحي بتركيز3٪ ولمدة خمسة دقائق للتخلص من الطفيليات الخارجية إن وجدت (محيسن، 1983). وزعت 135سمكة من صغار أسماك الكارب على27 حوضا زجاجيا بمعدل وزن22,44 ± 2 غم/ سمكة وبواقع 5سمكة/ حوض قبل البدء بالتجربة وبواقع ثلاثة مكررات / معاملة ، تم أقلمة الأسماك المذكورة آنفاً لمدة ثلاثة أسابيع لتعويد الأسماك على بيئة الأحواض الزجاجية والتغذية.تم تجهيز الأحواض الزجاجية بمياه الإسالة وذلك بعد أن تم وضعها في خزان للماء كبير بدون غطاء داخل المختبر لمدة 24 ساعة للتخلص من الكلور فضلاً عن الحصول على ماء ذي درجة حرارة ملائمة مع ماء الأحواض الزجاجية بتشغيل ثلاث أجهزة تكييف (سبلت من نوع LG 2طن). تم التخلص من الفضلات الصلبة التي تطرحها الأسماك باستخدام طريقة السيفون وتم استبدال ما يقارب نسبة 20٪-25٪ من كمية الماء الموجود في الحوض الزجاجي يوميا بماء نقي.بلغت درجة الحرارة ماء الأحواض الزجاجية 25-29°م والمقاسة بوساطة محرار زئبقي.

تم استخدام جهاز حقلي من نوع JENWAY موديل 9070 لقياس كمية الأوكسجين المذاب، والذي بلغ 6,3-6,8 ملغم/لتر طيلة مدة التجربة، وهذه المعايير المذكورة آنفاً والتي تقع ضمن الحدود الملائمة لنمو أسماك المياه الدافئة والتي تقع بين 25-30°م و 3-7 ملغم/لتر لدرجة الحرارة والأوكسجين المذاب على التوالي (Hepher،1988) ، أما درجة الأس الهيدروجيني pH فقد بلغت 6,1 – 7,2 التي قيست بوساطة جهاز قياس الأس الهيدروجيني من نوع HANNA عند درجة حرارة الغرفة وهي ضمن الحدود الموصى بها من قبل (FAO،1981). أما بالنسبة لتركيز النترات فقد بلغت 4,004-5,459 ملغم/لتر الذي تم قياسها في مختبر البيئة العائد إلى قسم الهندسة المدنية / كلية الهندسة / جامعة الموصل باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer. تم الحصول على المعززات الحيوية وهي : BimonImbo و Poultry star® me و خميرة الخبز الجافة*Sacchromyces cerevisias* من الاسواق المحلية وبروبايوتك العراق من كلية الزراعة جامعة بغداد. جلبت اسماك الكارب الشائع *C.carpio* L. من المكتب الاستشاري الزراعي في كلية الزراعة والغابات جامعة الموصل. تم توليف تسعة علائق تجريبية احتوت على أربعة أنواع من المعززات الحيوية وبمستويين لكل منها فضلاً عن عليقة المقارنة (خالية من المعزز الحيوي) و الموصوفة في أدناه :1- بروبايوتك العراق محلي الصنع مجهز من كلية الزراعة/جامعة بغداد والمحملة على عرانيص الذرة يحتوي على الأعداد والأنواع المبينة أدناه والمقاسة بوحدة تكوين المستمرة colony forming unit وحسب ما ذكره السوداني، (2009) ومحمد، (2005).

نوع الأحياء المجهرية	العدد الكلي للأحياء/غم من المنتج
Lactobacillus acidophilus	10^8
Lactobacillus	10^9
Bacillus subtilis	10^{10}
Sacchromyces cerevisias	10^{10}

2- بيومين ® إيمبو نمساوي المنشأ يحتوي على بكتريا *Enterococcus faecium* كما يحتوي هذا المنتج على مادة Fructo oligosaccharides والتي تعد كسابق حيوي Prebiotics.

3- Poultry star® me نمساوي المنشأ يحتوي على بكتريا *Lactobacilli* و*Bifidobacteria* كما ويحتوي هذا المنتج على مادة Fructooligo saccharides والتي تعد مصدرا لغذاء بكتريا *Lactobacilli* و*Bifidobacteria* .

4- خميرة الخبز الجافة الجاهزة (Yuva) منتج تركي تجاري تحتوي على خميرة *Sacchromyces cerevisias* غذيت الأسماك على تسعة علائق تجريبية احتوت على المعززات الحيوية المذكورة انفا وبمستويين لكل منها فضلاً عن عليقة المقارنة وهي : العليقة 1 : عليقة مقارنة (خالية من المعزز الحيوي). العليقة 2 و3 : بيومين ® إيمبو 1و 2غم/كغم علف. العليقة 4 و5 : Poultry star® me 0.5و 1غم/كغم علف. العليقة 6 و7 : بروبايوتك العراق 6 و8 غم/كغم علف. العليقة 8 و9 : خميرة الخبز الجافة الجاهزة 3 و5 غم/كغم علف. والجدول (1) يبين المكونات والتركيب الكيميائي للعلائق التجريبية. غذيت الأسماك على العلائق المذكورة آنفا بنسبة 3٪ من وزنها الحي ، وبواقع ثلاث وجبات يوميا. ارتفعت كمية العلف المقدم للأسماك اعتمادا على الزيادة المستحصل عليها في الوزن كل أسبوعين إذ تم وزن الأسماك فرديا بميزان حساس (0,01غم) نوع Citizen صيني المنشأ.

جدول (1) المكونات والتركيب الكيميائي ٪ للعلائق التجريبية الحاوية على أنواع مختلفة من المعزز الحيوي

العلائق / المكونات	المقارنة	بيومين® ايمبو		Poultry star® me		بروبايوتك العراق		خميرة الخبز الجافة	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
مستوى المعزز الحيوي	صفر	0.1	0.2	0.05	0.1	0.6	0.8	0.3	0.5
مركز بروتين حيواني	10	10	10	10	10	10	10	10	10
كسبة فول الصويا	30	30	30	30	30	30	30	30	30
شعير اسود محلي	20	20	20	20	20	20	20	20	20
ذرة صفراء	18.5	18.4	18.3	18.45	18.4	17.9	17.7	18.2	18.0
نخالة حنطة	19	19	19	19	19	19	19	19	19
ملح طعام	1	1	1	1	1	1	1	1	1
خليط فيتامينات وأملاح ومعادن	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
حجر كلس	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
مادة رابطة (بنتونايت)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
التركيب الكيميائي %									
بروتين خام	مستخلص ايثر		رماد		ألياف خام		المستخلص الخالي من النتروجين NFE		طاقة أيضية (ميكاجول/كغم)
25.45	3.54		6.97		4.75		52.20		13.17

* تم حساب الطاقة الممثلة اعتمادا على معادلة Smith،(1971) وهي : ME(MJ/Kg) = Protein X 18.8 + Fat X 33.5 + NFE X13.8

تحليلات الصورة الدموية

أخذت نماذج الدم من الأسماك في نهاية مدة التجربة والبالغة 12 أسبوعاً وبواقع ثلاث سمكات / مكرر إذ تم سحب الدم من الوريد الذنبي caudal vein الواقع خلف الزعنفة المخرجية باستعمال محاقن بلاستيكية سعة 3 مل (مطر ،2000) .

تم ترطيب هذه المحاقن من الداخل بمادة acetic acid –ethylenediminetetra (EDTA) المانعة للتخثر لغرض إجراء الاختبارات الخاصة ببروتينات وانزيمات الدم ، فقد تم وضع كمية الدم المسحوب في أنابيب زجاجية ومن ثم فصل المصل serum باستخدام جهاز طرد مركزي وبسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة عشر دقائق (Yang وChen ،2003) ، تلتها عملية عزل المصل بوساطة ماصة دقيقة. تم حفظ مصل الدم عند درجة حرارة -20م لحين إجراء الفحوصات المختبرية.

تقدير النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة packed cell volume (pcv)

تم اعتماد الطريقة الموضحة من قبل Blaxhallو Daisllyو (1973) في تقدير النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة إذ استخدمت فيها أنابيب شعرية حاوية على مانع تخثر (هيبارين) microhaematocrit capillary tubes التي تم تعبئتها إلى أكثر من ثلثي حجمها بالدم ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي الشعيري centrifuge microhaematocrit عند سرعة 9000 دورة/ دقيقة ولمدة 15 دقيقة تم قياس النسبة المئوية لحجم خلايا الدم المرصوصة بالاستعانة بمسطرة خاصة microhaematocrit reader .

فحص هيموغلوبين الدم

تم تقدير كمية الهيموغلوبين في الدم باستعمال عدة قياس من إنتاج شركة الهلال السعودية للكواشف وبالاعتماد على طريقة درابكن (1935) Drabkinوباستخدام جهاز المطياف الضوئي عند طول موجي مقداره 540 نانوميتر وكما يأتي:

1. تم قراءة العينة القياسية Standard.
2. استخدمت 27 أنبوبة اختبار مكونة من 20 مايكروليتر من الدم وتم إضافة 5 مل من محلول كاشف درابكن.
3. تم الاستعانة بالمعادلة الآتية لحساب نسبة الهيموغلوبين في الدم :

$$\text{الهيموكلوبين (غم/100 مللتر)} = \frac{\text{قراءة العينة}}{\text{قراءة العينة القياسية}}$$

قياس فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) Alkaline phosphatase

استخدمت طريقة Kind و King ، (1954) وبالاستعانة بكاشف خاص من إنتاج شركة Biolabo الفرنسية

قياس فعالية أنزيم (ALT) Alanine Amino transferase

استخدمت الطريقة المعتمدة من قبل Reitman و Frankel ، (1957) وباستخدام كاشف خاص من شركة Rondex، (UK، United Kingdom)

قياس فعالية أنزيم (AST) transferase Aspartate Amino

استخدمت الطريقة المعتمدة من قبل Reitman و Frankel (1957) وباستخدام كاشف خاص من شركة Rondex، (UK، United Kingdom)

قياس تركيز البروتين الكلي Total Protein

استخدمت طريقة Gornall وآخرون ، (1949) وباستخدام كاشف خاص من إنتاج شركة Biolabo الفرنسية

قياس تركيز الألبومين Albumin

استخدمت طريقة Doumas، (1971) وبالاستعانة بكاشف خاص من إنتاج شركة Biolabo الفرنسية

قياس تركيز الكلوبيولين Globulin

تم قياس تركيز الكلوبيولين باستخدام المعادلة الآتية :

تركيز الكلوبيولين (غم/100 مل دم) = تركيز البروتين الكلي – تركيز الألبومين

تم تحليل البيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) بالاستعانة بالبرنامج الإحصائي الجاهز Statistical Package for Social Science(SPSS، 2001) في تحليل تأثير المعاملات التجريبية في المعايير المدروسة، وقد تم اختبار الفروق المعنوية بين متوسطات الصفات المدروسة باستخدام اختبار دنكن متعدد المدى multiple rang test Duncan’s (Duncan، 1955).

النتائج والمناقشة

بينت نتائج التحليل الإحصائي لمعيار حجم خلايا الدم المرصوصة للأسماك المغذاة على العلائق التجريبية المختلفة (الجدول ، 2) وجود فروق معنوية (أ<0.05) مابين الأسماك المغذاة على العلائق التجريبية المختلفة وعليقة المقارنة (باستثناء العليقة،8) إن أعلى القيم التي تم الحصول عليها كانت عند تغذية الأسماك على العليقة الرابعة والخامسة (PS 0.5 و 1 غم/كغم علف) تليها العليقة الثالثة (بيومين ايمبو 2غم/كغم) والتي بلغت 27.66 و 26.33 و 26 %على التوالي والتي اختلفت معنويا عن عليقة المقارنة 22%سال. إن النتائج التي حصلنا عليها لقيم هذا المعيار باستخدام المعزز الحيوي بروبايوتك العراق (العليقة السادسة ،6غم/كغم علف) والتي بلغت 24.33 % وهي ذات قيمة وصلت الى القيم التي حصلنا عليها من تغذية الأسماك على العليقة الحاوية على البيومين ايمبو (عليقة 2 و 3) والعلائق الحاوية على المعزز الحيوي PS (عليقة، 5) وان زيادة الكمية من بروبايوتك العراق الى 8غم/كغم علف (عليقة، 7) أدى الى خفض قيمة حجم الخلايا المرصوصة لتبلغ نسبة 23.66 % والتي لم تختلف معنويا عن القيم المسجلة نتيجة التغذية على العليقتين 2 و 3 المدعمتين بالمعزز الحيوي بيومين ايمبو وعن عليقة المقارنة.

إن أدنى القيم التي تم الحصول عليها نتيجة لاستخدام المعززات الحيوية هي استخدام خميرة الخبز الجافة الجاهزة وخاصة للأسماك المغذاة على العليقة الثامنة 3غم/كغم علف (23 %) وان زيادة كمية الإضافة الى 5غم/كغم علف قد حسن أداء الأسماك لتبلغ نسبة خلايا الدم المرصوصة الى 23.66% لتصل في قيمتها الى مستوى استخدام بيومين ايمبو وبروبايوتك العراق مسجلا تفوقا معنويا عن عليقة المقارنة ولكن تختلف معنويا عن استخدام المعزز الحيوي PS (عليقة 4 و 5).

إن القيم المسجلة لمعيار تركيز خضاب الدم كانت أكثر وضوحا في بيان تأثير استخدام ونوع المعززات الحيوية على هذا المعيار وهذا ما أكدته نتائج التحليل الإحصائي في تفوق الأسماك في قيم هذا المعيار نتيجة لاستخدام المعززات الحيوية (باستثناء خميرة الخبز الجافة الجاهزة) مقارنة بعليقة السيطرة التي سجلت أدنى القيم والتي بلغت 7.11 غم/100 مل بينما بلغت أعلى القيم نتيجة لاستخدام المعزز الحيوي PS والتي بلغت 8.38 و8.31 غم/100 مل للعليقتين 4 و 5 على التوالي تلاها في التأثير الأسماك المغذاة على العليقة الحاوية على المعزز الحيوي البيومين® ايمبو مسجلة قيمة مقدارها 8.26 و8.22 غم/100 مل للعليقتين 2 و 3 على التوالي. أشارت النتائج التحليل الإحصائي لمعيار قيمة دليل الإجهاد والمدونة في الجدول (2) وجود فروق معنوية (أ<0.05) مابين العلائق التجريبية المختلفة وعليقة المقارنة حيث إن أعلى قيمة قد تم تسجيلها للأسماك المغذاة على المعاملة الثامنة (خميرة الخبز الجافة الجاهزة ، 3غم/كغم علف) التي بلغت 14 تليها الأسماك المغذاة على عليقة السابعة والتاسعة والتي بلغت فيها نسبة الخلايا المتغايرة الى الخلايا اللمفاوية 13.50 والأسماك المغذاة على عليقة المقارنة والثالثة التي سجلت قيمة قدرها 12.35 و12.34 على التوالي تليها العليقة الخامسة والسادسة والتي بلغت فيها قيمة دليل الإجهاد 8.52 و 8.69 على التوالي وان أوطأ قيمة فقد سجلت في الأسماك المغذاة على العليقة الثانية والرابعة حيث بلغت القيمة 7.52 و7.52 لكلا المعاملتين. إن ارتفاع قيم صفتي حجم خلايا الدم المرصوصة وخضاب الدم ربما يرجع الى التأثيرات الايجابية لاستخدام المعززات الحيوية من أهمها توافر فيتامين B_{12} الذي يعد العامل المحدد لتكوين خضاب الدم (الهيموغلوبين) وهذا ما توصل إليه Kumar وآخرون، (2006) وجود زيادة تركيز هيموغلوبين الدم عند تغذية اسماك الكارب الهندي *Labeorohita* على عليقة مدعمة بمعزز حيوي حاوي على بكتريا *Bacillus subtillis*، كما وجد Hughes-Jones، (1992) بان تركيز هيموغلوبين الدم ينخفض انخفاضا مضطردا بانخفاض فيتامين B_{12} وقد وجد Berge وآخرون ، (2005) بان إضافة المعزز الحيوي يعد مفيدا في تحسن قيم خلايا الدم المرصوصة في عليقة اسماك السالمون *Oncorhynchust shawytscha* وقد تراوحت مابين 39.2-40.2 وان إضافة المعزز الحيوي قد أدى الى تحسن في القيم لتكون ضمن المعدلات حيث تراوحت مابين 32-51 المقبولة لأسماك Cobia (Lunger وآخرون ، 2006). إن ارتفاع قيمة دليل الإجهاد سببه ارتفاع عدد الخلايا المتغايرة عن الحد الطبيعي (النسبة الطبيعية لخلايا الدم المتغايرة 6-7 % من خلايا الدم البيضاء) بالرغم من قلة عددها في الدم إلا أنها تزداد عند تعرض الأسماك لحالات الإجهاد أو عند تعرضها لحالات مرضية، أما الخلايا اللمفاوية فإنها تشكل النسبة الأعلى من خلايا الدم البيضاء (85-90 %) حيث لاحظ Kumar وآخرون ،

(2006) زيادة محتوى الهيموكلوبين وأعداد كريات الدم الحمراء والبيضاء عند تغذية أسماك *Labeorohita* على عليقة حاوية على خميرة جافة استخدمت كمعزز حيوي.

جدول (2) تأثير نوع ومستوى المعزز الحيوي على معايير حجم خلايا الدم المرصوصة وتركيز خضاب الدم ودليل الإجهاد في اسماك الكارب الشائع (المتوسط ± الخطأ القياسي)

المعايير المدروسة / المعاملات	حجم الخلايا المرصوصة(٪)	تركيز خضاب الدم غم/100مل	دليل الإجهاد Heterophil/ Lymphocyte
المقارنة (1)	0.577±22 هـ	0.008±7.11 د	0.05±12.35 ب ج
بيومين ايمبو(1غم/كغم) (2)	0.577±24 ب ج د	0.008±8.26 أب	0.01±7.52 ج د
بيومين ايمبو(2غم/كغم) (3)	0.000±26 أب ج	0.011±8.22 أب	0.05±12.34 ب ج
Poultrystar(0.5غم/كغم) (4)	0.333±27.66 أ	0.021±8.38 أ	0.01±7.52 ج د
Poultrystar(1غم/كغم) (5)	0.333±26.33 أب	0.012±8.31 أ	0.03 ± 8.52 ب ج
بروبايوتك العراق(6غم/كغم) (6)	0.241 ±24.33 ب ج	0.005±7.51 أب ج	0.06 ± 8.69 ب ج
بروبايوتك العراق(8غم/كغم) (7)	1.452±23.66 ج د	0.011±7.45 ب ج	0.02± 13.50 أب
خميرة الخبز الجافة(3غم/كغم) (8)	0.577±23 دهـ	0.088±7.17 ج د	0.07±14.00 أ
خميرة الخبز الجافة(5غم/كغم) (9)	0.881±23.66 ج د	0.057±7.24 ب ج د	0.01 ± 13.50 أب

الحروف المختلفة ضمن العمود للصفة المدروسة تشير إلى وجود فروق معنوية (أ<0.05).

إن النتائج الايجابية التي حصلنا عليها من إضافة المعززات الحيوية على معايير الدم والتي شملت حجم الخلايا المرصوصة وتركيز خضاب الدم قد شملت كذلك محتوى الدم من البروتين الكلي والألبومين والكلوبيولين وهذا مابينته النتائج المدونة في الجدول (3) في أن إضافة المعززات الحيوية بأنواعها المختلفة قد أثرت ايجابيا وبشكل معنوي (أ<0.05) على قيم معيار البروتين الكلي لدم الأسماك باستثناء استخدام خميرة الخبز الجافة المدونة في العليقتين الثامنة والتاسعة لتسجل قيم مقدارها 2.535 و2.405 غم/مل التي سجلت فروقا حسابية مع عليقة المقارنة (2.240) ولكنها لم ترتقي الى الفرق المعنوي كما هو الحال مع بقية الإضافات. إن أعلى قيمة لمعيار البروتين الكلي قد تم تسجيله هو عند تغذية الأسماك على العليقة الرابعة (10.221) المضاف إليها المعزز الحيوي PS بمقدار 0.5غم/كغم علف فيما كانت القيم التي حصلنا عليها من إضافة المعزز الحيوي بيومين® ايمبو هي 10.218 و 10.217 للعليقتين 2 و 3 على التوالي، تليها الأسماك المغذاة على العليقة الخامسة (PS 1غم/كغم علف) لتسجل قيمة مقدارها 10.214 غم/100مل. إن هذه القيم والتي تم فيها إضافة المعزز الحيوي PS وبيومين® ايمبو ولمستوي الإضافة قد سجلت فرقا معنويا عن عليقة المقارنة، وهذا ما تم تأكيده كذلك في ان المعززات الحيوية المحلية (بروبايوتك العراق) لها تأثيرا ايجابيا في رفع قيمة هذا المعيار لتسجل قيمة مقدارها 9.397 و 8.039 غم/100مل (عليقة 6 و 7) على التوالي. جاءت نتائج التحليل الإحصائي لقيم معياري تركيز الألبومين والكلوبيولين (الجدول، 3) لتؤكد أهمية إضافة المعززات الحيوية في تحسين صحة الأسماك فضلا عن تقوية الجهاز

المناعي وهذا ما دلت عليه القيم المسجلة لهذين المعيارين. إن أفضل النتائج التي تم الحصول عليها لمعيار تركيز الألبومين والكلوبيولين كانت باستخدام الإضافات من المعزز الحيوي بيومين® ايمبو و PS وللمستويين من الإضافة (الجدول، 3) إن أعلى القيم لتركيز الألبومين كانت عند تغذية الأسماك على العليقة الثالثة والثانية (1.549 و 1.496 غم/100مل) والخامسة والرابعة (1.338 و 1.202 غم/100مل) تلاها في القيمة بروبايوتك العراق حيث بلغت الأسماك المغذاة على العليقة السادسة والسابعة 1.125 و 0.633 غم/100مل على التوالي والقيم المذكورة أنفا اختلفت معنويا (أ<0.05) عن عليقة المقارنة (0.536 غم/100مل) والتي لم تختلف عن القيم المسجلة معنويا عند تغذية الأسماك على العليقتين المدعمتين بخميرة الخبز الجافة التجارية بالرغم من وجود اختلافات حسابية نتيجة لاستخدام هذا النوع من المعززات الحيوي. أكدت نتائج التحليل الإحصائي لقيم معيار الكلوبيولين لدى الأسماك على العلائق المدعمة بالمعززات الحيوية في تقوية الجهاز المناعي من خلال القيم المسجلة في الجدول (3)، إذ ارتفعت قيم الكلوبيولين (غم/100مل) نتيجة لتغذية الأسماك على العليقة الرابعة (9.019) والخامسة (8.875) الحاويتان على المعزز الحيوي PS تليها في التأثير العليقة الثانية (8.722) الحاوية على المعزز الحيوي بيومين ايمبو. تلتها في القيم الأسماك المغذاة على العليقة الحاوية على بروبايوتك العراق للعليقتين 6 و 7 (8.271 و 7.40). إن إضافة خميرة الخبز الجافة قد أحدثت تحسنا في المعيارين المذكورين آنفا ولكنها لم تصل الى تسجيل فرقا معنويا كما هو الحال عند تغذية الأسماك على بيومين® ايمبو و PSوبروبايوتك العراق، إن هذا الاختلاف في تأثير نوع المعزز الحيوي على قيم النمو والاستفادة من الغذاء والمذكورين في الجدول 7 و 8 و9 مما انعكس ايجابيا في قيم البروتين الكلي ولاختلاف محتوى المعززات الحيوية من الأحياء المجهرية وبالتالي درجة استيطانها في القناة الهضمية لتنعكس على معايير النمو وهذا الانعكاس لتحسين او تقوية الجهاز المناعي نتيجة لاستيطان الأحياء المجهرية المفيدة وهذا ما بينته نتائج قيم الكلوبيولين في الجدول (3).

جدول (3) تأثير نوع ومستوى المعزز الحيوي على تركيز البروتين الكلي والألبومين والكلوبيولين لأسماك الكارب الشائع (المتوسط ± الخطأ القياسي).

المعايير المدروسة / المعاملات	تركيز البروتين الكلي (غم/100مل)	تركيز الألبومين (غم/100مل)	تركيز الكلوبيولين (غم/100مل)
المقارنة(1)	0.0006±2.240د	0.0003±0.536هـ	0.0003±1.704هـ
بيومين ايمبو(1غم/كغم)(2)	0.000±10.218أب	0.0005±1.496أب	0.0005±8.722أب ج
بيومين ايمبو(2غم/كغم) (3)	0.0005±10.217 أب	0.0006±1.549 أ	0.0008±8.667 ب ج
Poultrystar(0.5غم/كغم) (4)	0.008±10.221 أ	0.0003±1.202 ب ج	0.0006±9.019 أ
Poultrystar(1غم/كغم) (5)	0.0014±10.214 أب	0.0008±1.338 أب ج	0.002±8.875 أب
بروبايوتك العراق(6غم/كغم) (6)	0.0005±9.397 أب ج	0.033±1.125 ب ج د	0.033±8.271 ب ج د
بروبايوتك العراق(8غم/كغم) (7)	0.0008±8.039 ب ج	0.0008±0.633 ج د	0.0017±7.40 ج د
خميرة الخبز الجافة(3غم/كغم) (8)	0.000±2.535 ب ج د	0.033±0.625 ج د هـ	0.0008±1.95 ج د هـ
خميرة الخبز الجافة(5غم/كغم) (9)	0.0003±2.405 ج د	0.003±0.568 د هـ	0.000±1.83 د هـ

الحروف المختلفة ضمن العمود للصفة المدروسة تشير إلى وجود فروق معنوية (أ<0.05).

تتفق النتائج التي حصلنا عليها في دراستنا الحالية مع ما توصل إليه Zhou وآخرون، (2010) عند تغذيتهم اسماك البلطي *Oreochromis niloticus* وبتراكيز مختلفة على المعزز الحيوي إذ لاحظوا ارتفاعا في تركيز كل من البروتين الكلي والألبومين والكلوبيولين ، وتوصل Lunger وآخرون ، (2006) عند تغذيتهم اسماك Cobia وبمستويات مختلفة لمدة 6 أسابيع وجدوا ارتفاع في تركيز البروتين بنسبة تصل الى 25 % ، أما Siwicki وآخرون ، (1994) فقد بينوا عند تغذيتهم اسماك التراوت *Oncrhynchus mykiss* على علائق حاوية على خميرة تجارية ®Macrogard عدم وجود تأثير في معيار بروتين الدم عند إضافة المعزز الحيوي، في حين أشار Nayar وآخرون ، (1998) عند تغذيته لأسماك البلطي على عليقة احتوت على خميرة الخبز تحسنا في معيار نسبة بروتين الدم ويرجع السبب الى احتوائها على مركبات المانوز المرتبطة مع peptides لتكون mannoprotein كما وتحتوي على السكريات المعقدة والتي تكون على شكل mannanoligo sacchrides كما وتحتوي أيضا على مركبات تحسن التفاعلات المناعية Ortuño وآخرون ، (2002) بالإضافة الى تحسن النمو (Lara-flores وآخرون ، 2003) أما Kobeisy و Hussein ، (1995)عند تغذية اسماك *O.niloticus* على مستويات مختلفة من الخمائر وصلت الى 20 % فقد وجدوا زيادة في تركيز الألبومين والبروتين الكلي والكلوبيولين وهذا ما وجده Ghodratizadeh وآخرون ، (2011) وجود ارتفاع في تركيز البروتين الكلي وبالتالي الألبومين والكلوبيولين عند تغذيتهم اسماك الكارب الشائع على علائق مدعمة بالمعزز الحيوي.

أكدت نتائج التحليل الإحصائي لمعيار فعالية أنزيم ALT (Alanine amino Transferase) (وحدة دولية/لتر) بتفوق الأسماك المغذاة على العليقتين الخامسة والرابعة المدعمتان بالمعزز الحيوي PS 1غم/كغم علف (3.16) و 0.5غم/كغم علف (3.83) (الجدول، 4) وكذلك الأسماك المغذاة على العليقة الثامنة المدعمة بخميرة الخبز الجافة (3غم/كغم علف) 4.53 تليها العليقة الثالثة 5 (وحدة دولية/لتر) تليها في القيم الأسماك المغذاة على العليقة التاسعة الحاوية على خميرة الخبز الجافة عند مستوى إضافة 5غم/كغم علف والتي مسجلة قيمة مقدارها 5.23 أما الأسماك المغذاة على العلائق المدعمة بالمعزز الحيوي المحلي بروبايوتك العراق فقد سجلت قيم مقدارها 5.5 و 5.63 للعليقتين 6 و 7 على التوالي، أما أعلى قيمة معنوية(أ<0.05) بين العلائق الحاوية على المعزز الحيوي فقد سجلتها الأسماك المغذاة على المعاملة الثانية المدعمة بالمعزز الحيوي بيومين® ايمبو بكمية 1غم/كغم علف التي بلغت 6.16 أما عليقة المقارنة فقد أعطت أعلى فرق معنوي بالنسبة للمعيار المذكور انف إذ بلغت قيمة فعالية أنزيم ALT فيها 11 وحدة دولية / لتر.

إن أعلى قيمة لمعيار فعالية أنزيم AST (Aspartate amino Transferase) (وحدة دولية/لتر) قد تم تسجيله نتيجة لتغذية الأسماك على العليقة الثانية المدعمة بالمعزز الحيوي بيومين® ايمبو (1غم/كغم علف عليقة، 2) والتي بلغت 116.33 فيما كانت القيم التي حصلنا عليها من إضافة بروبايوتك العراق عند مستوى إضافة 6غم/كغم علف هي 111 (عليقة، 6) تليها العليقة الثامنة والتاسعة المدعمتان بالمعزز الحيوي خميرة الخبز الجافة عند مستوى إضافة 3 و 5 غم/كغم علف لتسجلا قيمة مقدارها 109 و 103.33 على التوالي تليها عليقة المقارنة والتي سجلت قيمة مقدارها 102.33 أما أقل قيمة فقد سجلت في الأسماك المغذاة على العليقة الخامسة والرابعة (1 و 0.5 غم/كغم علف) والمدعمتان بالمعزز الحيوي PS واللتان سجلتا قيم مقدارها 64 و 73.33 وحدة دولية/لتر على التوالي تلاها في القيمة الأسماك المغذاة على العليقة الثالثة 2غم/كغم علف والمدعمة بالمعزز الحيوي بيومين ايمبو والتي سجلت قيمة مقدارها 94 تلتها العليقة السابعة (بروبايوتك العراق، 8غم/كغم علف) فقد بلغت قيمة فعالية أنزيم AST فيها 96.33 وحدة دولية/لتر.

جاءت نتائج التحليل الإحصائي لقيم فعالية أنزيم ALP(Alkaline phosphatase) (وحدة دولية/لتر) لتؤكد أهمية إضافة المعززات الحيوية في تأثيرها على قيم فعالية هذا المعيار حيث تبين بان أفضل النتائج تم الحصول عليها هو استخدام المعزز الحيوي PS عند مستوى إضافة 1غم/كغم علف والتي سجلت قيمة مقدارها 3.26 تليها العليقة التاسعة والثامنة المدعمتان بالمعزز الحيوي خميرة الخبز الجافة الجاهزة لتسجل قيمة مقدارها 3.89 و 3.94 على التوالي تليها العليقة السابعة والسادسة والمدعمتان بالمعزز الحيوي المحلي بروبايوتك العراق واللتان بلغتا 4.59 و 4.64 على التوالي تلتهما العليقة الرابعة PS (0.5غم/كغم علف) والثالثة المدعمة بالمعزز الحيوي بيومين® ايمبو (2غم/كغم علف) واللتان لم تختلفان معنويا

فيما بينهما لتسجلان قيمة مقدارها 4.68 و 4.69 على التوالي.

إن أعلى قيمة تم تسجيلها من قبل المعاملة الثانية المدعمة بالمعزز الحيوي بيومين® ايمبو عند مستوى إضافة 1غم/كغم علف والتي سجلت قيمة مقدارها 6.45 تليها عليقة المقارنة 5.82 (وحدة دولية/لتر) لتتفق مع ما تم استنتاجه عن قيمة فعالية أنزيم AST.

إن ارتفاع أنزيم ALT وAST في أكباد الأسماك يدل الى عدم تعرض الأسماك للإصابات المرضية أما عند خروجها من نسيج الكبد الى الدم يدل ذلك الى تعرض الأسماك للإصابات المرضية كما لاحظ Ghodratizadeh وآخرون ، (2011) وجود ارتفاع في فعالية أنزيمي ALT وAST في دم أسماك الكارب الشائع عند تغذيتها على علائق مدعمة بخميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* وبكتريا *Bacillus substilis*. ووجد الخياط، (2006) انخفاض في فعالية أنزيم ALT وAST في أكباد أسماك العراض المتواجدة في نهر دجلة ويعود السبب الى حصول ضرر في نسيج الكبد مما أدى الى تحررهما من الخلايا المتضررة ورفع مستواها في الدم ، كما لاحظ Salsi، (2005) انخفاض في فعالية أنزيمي ALT وAST في سمكة *Oncorhynchus mykiss* المصابة بمرض طفيلي.

جدول (4) تأثير نوع ومستوى المعزز الحيوي على معايير فعالية الأنزيمات الناقلة للامين ALT وAST وأنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP لأسماك الكارب الشائع (المتوسط ± الخطأ القياسي).

المعايير المدروسة / المعاملات	ALT وحدة دولية/لتر	AST وحدة دولية/لتر	ALP وحدة دولية/لتر
المقارنة (1)	0.577± 11.00 أ	0.881±102.33 ب ج	0.006±5.82 أب
بيومين ايمبو(1غم/كغم) (2)	0.088± 6.16 أب	0.881±116.33 أ	0.008±6.45 أ
بيومين ايمبو(2غم/كغم) (3)	0.288± 5.00 ب ج د	0.577±94.00 ج د	0.003±4.69 أب ج
Poultrystar(0.5غم/كغم) (4)	0.166± 3.83 ج د	0.881±73.33 د ه	0.006±4.68 أب ج
Poultrystar (1غم/كغم) (5)	0.088± 3.16 د	0.577±64.00 ه	0.003± 3.26 د
بروبايوتك العراق(6غم/كغم) (6)	0.185± 5.63 أب ج	0.577±111.00 أب	0.003±4.64 أب ج
بروبايوتك العراق(8غم/كغم) (7)	0.057± 5.50 أب ج	0.666±96.33 ب ج د	0.006±4.59 ب ج
خميرة الخبز الجافة(3غم/كغم) (8)	0.233± 4.53 ج د	0.577±109.00 أب ج	0.006±3.94 ب ج د
خميرة الخبز الجافة(5غم/كغم) (9)	0.033± 5.23 ب ج	0.333±103.33 ب ج	0.008±3.89 ج د

الحروف المختلفة ضمن العمود للصفة المدروسة تشير إلى وجود فروق معنوية (أ<0.05).

المصادر

الخياط، بيداء حازم عبد الحاج محمود (2006). دراسة عيانية وكيموحيوية لأكباد عدد من الأسماك العظمية وتأثير التطفل على سمكة الأنموذج (العراض) في نهر دجلة في مدينة الموصل . اطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل ، قسم علوم حياة. 136 صفحة.

السوداني، علي عبد الحسين كاظم (2009). تأثير إضافة المعزز الحيوي (بروبايوتك العراق) ومزرعة الفطر (*Aspergillusniger*) كسابق حيوي في الأداء الإنتاجي وصفات الذبيحة لفروج اللحم . مجلة الزراعة العراقية 14(8): 135-144 .

محمد، شهلة محمد سعيد (2005). إضافة المعزز الحيوي المحلي ، خميرة الخبز ومخلوط الإنزيمات المستوردين الى العليقة وتأثيرها في بعض الصفات الإنتاجية والدمية لفروج اللحم . رسالة ماجستير ، جامعة السليمانية ، كلية الزراعة ،السليمانية ، جمهورية العراق. 60 صفحة.

محيسن، فرحان ضمد (1983). أمراض وطفيليات الأسماك. مطبعة جامعة البصرة ، البصرة ، جمهورية العراق . 227 صفحة .

Ahmed, H.; T. Al-Harbi and M.N. Uddin (2005). Bacterial diversity of tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in brackish water in Saudi Arabia. Aquaculture , 250: 566-572.

Berge, G.M.; G.Baeverfjord ;A.Skrede and T.Storebakken (2005). Bacterial protein grown on natural gas as protein source in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar*, in saltwater. Aquaculture, 244: 233-240.

Blaxhall, P.L. and K. W. Daislly (1973). Routine haematological methods for use with fish food . J. Fish., Biol., 5:771-781 .

Cabello, F.C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environ Microbio., 8: 1137-1144.

Denev, S.A. (2008). Ecological alternatives of antibiotic growth promoters in the animal husbandry and aquaculture.DSc.Thesis, Department of Biochemistry Microbiology.Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria, pp 294.

Doumas, B.T. ; W.A. Waston and H.G. Briggs (1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. Clin. Chim. Acta.,31m., p.87-96.

Drabkin, D.L. and J.H. Austin (1935). J.Biol. Chem., 112: 51.

Duncan, C.B. (1955). Multiple rang and Multiple " F " test. Biometric., 11: 1-12.

FAO (2005). Responsible Use of Antibiotics in Aquaculture (Ed. Serrano pH), FAO Fisheries Technical Paper 469, FAO, Rome, Italy, pp 98.

Food and Agriculture Organization (FAO)، (1981). Report of the symposium on new developments in the utilization of the heated effluents in the circulation system for intensive aquaculture stavanger , 29-30 ,Rome. Italy.

Ghodratizadeh, S.; M. Farhoudi and R. Habibian (2011). Effects of addition of *Saccharomyces cerevisiae* and Bacillus substilis in diet on selected hematological and biochemical parameters in common carp *Cyprinus carpio* . Faculty of Medical Science.University.,Urmia, Iran.

Lara-Flores, M.; M.A. Olvera-Novoa ; B.E. Guzman-Mendez and W. Lopez-Madrid (2003). Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 216:193-201.

Lunger, A.N. ; S.R. Craig and E. McLean (2006). Replacement of fish meal in cobia *Rachycentron canadum* diets using an organically certified protein. Aquaculture, 257: 393–399.

Metchnikoff, E. (1907). The prolongation of life. Optimistic studies.William Heinemann, London, United Kingdom.

Nayar, S.; S. Hegde, ; P. S. Rao, and P. Sudha (1998). Live organisms as feed in aquaculture. Infofish Int., 4, 36-39.

Nikoskelainen, S.; A. Ouwehand ; S. Salminen and G. Bylund (2001). Protection of rainbow trout (*Oncorhvnchus mykiss)* from furunculosis by *Luctobacillus nramnosus* Aquaculture, 198: 229-236.

Ortuno, J.; A. Cuesta ; A. Rodríguez ; M. A. Esteban and J. Meseguer (2002). Oral administration of yeast *Saccharomyces cerevisiae* enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream *Sparus aurata* L.. Vet. Immunol. Immunopathol, 85: 41-50.

Reitman, A. and S. Frankel (1957). Determination of aspartate amino transferase and alanine aminotransferase. Am. J. Clin. Path., 28: 56.

Gunther, J. and R. Jiménez_Montealegre (2004).Effect of the probiotic Bacillus subtilis on the growth and food utilization of tilapia *Oreochromis niloticus* and prawn *Macrobrachium rosenbergii* under laboratory conditions. Rev. Biol. Trop., 52(4): 937- 943 .

Hepher, B.(1988). Nutrition of pond fish .London Cambridge University Press.pp 27.

Hovda, M.B.; B.T. Lunestad ; R. Fontanillas and J.T. Jan Thomas Rosnes (2007). Molecular characterization of the intestinal microbiota of farmed Atlantic salmon *Salmo salar* L.. Aquaculture, 272: 581-588.

Hughes-Jones, N.C. and S.N. Wickramasinghe (1992). Lecture Notes on Haematology. Blackwell Scientific Publications.

Kind, P.R.N. and E.J. King (1954). Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino – antipyrine . J. Clin . path., 7: 322-326 .

Kobeisy, M.A. and S.Y. Hussein (1995). Influence of dietary live yeast on growth performance and some blood constituents in *Oreochromis niloticus.* Proc. 5th Sci. Conf. Animal Nutrition, Ismailia, Egypt, Des., Vol .1: 417-625.

Kumar, S.S. ; R. Philip and C.T. Achuthankutty (2006). Antiviral property of marine actinomycetes against white spot syndrome virus in penaeid shrimps. Current Sci., 91: 807-811.

Sorum, H. (2006). Antimicrobial drug resistance in fish pathogens In: Aarestrup, F.M. (Ed.), Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal origin, ASM Press, Washington DC, pp. 213-238.

SPSS.(2001). Statistical Package for Social Science, Version 10, SPSS Inc, U.S.A.

Yang, J-Li and H. Chen (2003). Serum metabolic enzyme activities and hepatocyte ultra structure of common carp after Gallium exposure. Zoolo. Stu., 42(3):455-461.

Zhou, A.; Y. Liu ; P. Shi ; S. He ; B. Yao and E. Ringø (2009). Molecular characterization of the autochthonous microbiota in the gastrointestinal tract of adult yellow grouper Epinephelu sawoara cultured in cages. Aquaculture, 286: 184-189.

Zhou, X.; Y. Wang. ; Y. Jiangtao and L. Weifen (2010). Inhibition ability of probiotic, *Lactococcuslactis*, against A. hydrophila and study of its immunostimulatory effect in tilapia *Oreochromis niloticus* International Journal of Engineering, Science and Technology, Vol. pp. 73-80.

Ringo, E.; S. Sperstad ; R. Myklebust ; S. Refstie and A. Krogdahl (2006). Characterization of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod GadusmorhuaL..The effect of fish meal, standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal. Aquaculture, 261: 829-841.

Salsi, W.K. (2005). Studies on the effect of *Oncorhynchus mykiss* by the *Lytocestu sindicus*. Neth. Inst. Fish, Invest. Rep. Ca., 99: 115-119.

SCAN, (2003). Opinion of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the criteria for assessing the safety of microorganisms resistant to antibiotics of human clinical and veterinary importance. European Commission Health and Consumer Protection Directorate- General.

Siwicki A.K.; D.P. Anderson and G.L. Rumsey (1994). Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. Veterinary lmmunology and lmmunopath., 41: 125-139.

Smith, R. G. (1971) . A method for measuring digestibility and metabolizabble of energy of feeds .Prog.Fish Cult. . 33 : 132 - 134 .