تأثير استعمال خليط المعززات الحيوية مع فيتامين C في النمو و الصفات الدموية والكيموحيوية لأسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L.

جمال خلف عطية كلية الطب البيطري / جامعة بغداد

علي مجهول كاني كلية الزراعة / جامعة الكوفة

قبل للنشر في **نيسان 2011**

الخلاصة

وزعت عشوائيا 112 اصبعية من أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. في 14 حوض زجاجي ذو ابعاد 70 سم × 40 سم × 40 سم تراوحت مديات اوزانها بين 25 -28 غم لدراسة تأثير أستعمال خليط من تراكيز مختلفة من المعزز الحيوي المحلي مع فيتامين C بتركيز 1 غم/ كغم من العلف في النمو، والصورة الدموية والكيموحيوية لأسماك التجربة .

تضمنت التجربة 7 مجاميع كل مجموعه تحتوي على 16 سمكة ، غذيت معاملة السيطرة (C) على عليقة سيطرة بدون تدعيم بالمعزز الحيوي وفيتامين C وكانت نسبة البروتين الكلي في العليقة 26 % , مجموعة(T1)أضيف فيتامين C فقط بتركيز 1غم / كغم الى العليقة ,ومجموعتى(T2 و T3) أضيف المعزز الحيوي المحلي فقط وبتركيز 4.5 و 5.5 غم/ كغم على التوالي بينما أحتوت المعاملات للمجاميع(T4 و T5 و T6)على خليط 4.5 و5.5 و6.5 غم/ كغم معزز حيوي مع 1 غم / كغم فيتامين C على التوالي.

غذيت صغار أسماك التجربة لمدة 60 يوما سبقتها مدة اقلمة استمرت اسبوعين قبل بدء التجربة .

بينت النتائج معدل الزيادات الوزنية الكليةلاسماك مجاميع التجربة 6.86 و 9.82 و 15.00 و 10.87 و17.51 و14.60 و13.51 غم ، و حسبت معدلات النمو النوعي والنسبي ومعدل التحويل الغذائي .

بلغ معدل أعداد كريات الدم الحمر 1.80 و1.88 و 1.95 و 2.40 و 2.00 و 2.70 و 2.20 و 2.10 ×10^6 خلية /ملم ^{3},بينما بلغت أعداد خلايا الدم البيض 24.40 و 24.60 و 25.80 و 27.00 و 26.00 و27.96 و 26.60 و 26.20 × 10^3 خلية/ملم^3، وبلغ خضاب الدم 8.40 و 8.70 و 9.80 و 11.10 و10.20 و11.90 و10.80 و10.50 غم/100 مللتر، وبلغ حجم الخلايا المرصوص 27.10 و27.60 و28.50 و29.90 و29.10 و30.50 و29.50 و29.30 % ،للمجاميع C و T1 وT2 وT3 وT4 وT5 وT6 على التوالي .

بينت نتائج التحليل الاحصائي ($P \leq 0.05$) تفوق عالي المعنوية للمعاملة T4 على بقية المعاملات .

قدرت فعالية الانزيمات AST و ALT و ALP في مصل الدم لاسماك التجربة وبينت نتائج التحليل الاحصائي أنخفاض معنوي في المعاملات التي ضمت خليط المعزز الحيوي وفيتامين C، وأفضل معاملة كانت T4 إذ بلغت 70.40 وحدة دولية/ لتر.

تستنتج الدراسة الى امكانية استعمال خليط المعزز الحيوي المحلي مع فيتامين C لتحسين معايير النمو والحالة الصحية للاسماك، وتفوق المعاملة T4 الحاوية على المعزز الحيوي بتركيز 4.5 غم مع فيتامين C بتركيز 1 غم / كغم علف .

Effect of mix probiotic and vitamin C on growth and some biochemical tests in common carp *Cyprinus carpio* L

Jamal Khalaf Atiyah AL-Faragi
College of Veterinary Medicine
Baghdad University

Ali Majhool Kany Al- Thalimy
College of Veterinary Medicine
kufa University.

Summary

One hundred and twelve Common carp fish fingerling *Cyprinus carpio* L. were collected, range between 25-28 gm in weight to study the effect of different concentrations of local probiotic and mixed with Vitamin C in concentration 1g/kg feed on growth performance, blood and biochemical picture.

This experiment included 7 groups each group contain 16 fish distributed randomly as follow: Control group (C) fed diet free vitamin C and probiotic during the period of 60 days and all total protin in feed reach 26% . Group 2(T1) group fed diet contain Vit C (1gm /kg) food. Treated (T2andT3) groups fed diet containing probiotic 4.5&5.5 g/ kg respectively , where as groupsT4,T5 and T6 fed the diets containing Probiotic added at level 4.5,5.5 and 6.5 g/ kg respectively and each mixed with 1 gm\kg Vit C .

Results of fish total growth rate were 6.86,9.82,15.00,10.87,17.51,14.60 and 13.51gm, evaluate relative growth rate ,the absolute specific growth rate, food conversion and the protein efficiency ratio . The statistically analysis showed increase significantly($P \leq 0.05$)for T4 in all treatment. While erythrocyte counts was 1.80, 1.88, 1.95, 2.40, 2.00, 2.70, 2.20 and 2.10 $\times 10^6$ cells\mm^3, blood cells counts are 24.40 ,24.60 ,25.80 ,27.00 ,26.00 ,27.96 ,26.60 and 26.20$\times 10^3$cells\mm^3, blood haemoglobin was8.40,8.70,9.80, 11.10,10.20,11.90,10.80 and 10.50 gm\100dl, haematocrit value are 27.10 ,27.60 ,28.50 ,29.90 ,29.10 ,30.50 ,29.50 and29.30 % for fish before starting expermint (Z) and C,T1,T2,T3,T4,T5,T6,groups, respectively . Evaluate the enzymatic activity for AST,ALT and ALP in blood serum of fish . The statisticaly analysis showed decrease significantly($P \leq 0.05$) at treatment contain mix probiotic and Vit C but excel T4 inform 70.40,10.40,30.30 I U\ L respectively.

Conclusion ,the present studied suggested that the level of probiotic and Vit C (4.5g\kg and Vi C 1gm\kg) used could be improve the performance growth and fish healthy.

Keywords ,probiotic, carp,cyprinus carpio L,

.

المقدمة

أدى أحتياج الإنسان إلى سدّ احتياجاته من البروتين لاسيما البروتين حيواني الأصل الى الاتجاة نحو الأحياء المائية مثل الأسماك، بسبب ا لقيمة الغذائية العالية للحوم الاسماك لما تحويه من بروتين ودهون وأملاح معدنية. تتراوح نسبة البروتين في لحوم الأسماك بيــن 20 – 90 % من الوزن الجاف و 18.5 % من الوزن الرطب وهي تفوق نسبة البروتين في لحوم الأبقار (16.18 %) والبيض (13.6 %) واللبن (3.8 %)(I) مماشجع الباحثين إلى تطوير الإنتاج السمكي بمختلف الوسائل العلمية لرفع الإنتاج كماً ونوعاً وأقل التكاليف بأستعمال علائق خاصة للاسماك مضاف لها محفزات النمو والهورمونات والمضادات الحياتية والمعززات الحيوية بوصفها إضافات علفية تحسن وترفع مستوى الإنتاج من دون التأثير في الصحة العامة للمستهلك.

تُعَرف المعززات الحيوية على إنها الإحياء المجهرية المفيدة التي تضاف إلى الغذاء ولها تأثير في حفظ التوازن للنبيت المعوي للمضيف، وإن تكون هذه الإحياء غير مرضية وغير منتجة للسموم ولها القابلية على الاحتفاظ بأعداد عالية من الخلايا الحية اثناء العمليات التصنيعية وفي المنتوج النهائي ولمدة زمنيه مناسبة، وتمتلك القدرة على الاحتفاظ بمعيشتها اثناء اجتيازها الجهاز الهضمي للمضيف (2). يعمل المعزز الحيوي على تحسين الهضم عن طريق زيادة فعالية الانزيمات الهاضمة فتعمل على تحفيز الشهية وتزيد من جاهزية العلف وتحسين الهضم والامتصاص (3) أضيف فيتامين C في علائق الاسماك مع المعزز الحيوي باعتبارة احد أهم موانع التأكسد في بلازما الدم وإن الشكل المختزل للفيتامين يمكن أن يتحول إلى الشكل المؤكسد نتيجة تفاعلات الأكسدة، إذ تحصل عملية إزالة لذرتي هيدروجين ويكون التفاعل عكسي (4)،وللفيتامين دور مهم وفعال في عملية تكوين وإدامة مادة الكولاجين في خلايا وأنسجة جسم الإنسان والحيوان،اذ يُعد الفيتامين عامل مساعــد Co-factor لتنشيط الأنزيمات المسؤولة عن تكوين هذه المادة، وهو ضروري لعمليات نضوج كريات الدم الحمر والمحافظة على صفات الدم الطبيعية. كما بين(5)ان هناك زياده في كمية العلف المستهلك لجميع المعاملات المغذاة على تراكيز مختلفه من فيتامين Cفي العليقه المقدمة لاسماك اصبعيات *Heterolom. longifills*مقارنة مع مجموعة السيطره.

هدفت الدراسة الحالية الى معرفة تاثيراستعمال المعزز الحيوي المحلي بروبايتك العراق وفيتامين C كمسحوق مضاف الى علائق اسماك الكارب الشائع وبتراكيز مختلفة فـــــــــي :

1. النمو ومعدل التحويل الغذائي ومعدل النمو النسبي والنوعي وكفاءة نسبة البروتين.
2. الصورة الدمية للاسماك : عد كريات الدم الحمراء و البيضاء وهيموكلوبين الدم وحجم الخلايا المرصوص .
3. المعايير الكيموحيوية : تقدير انزيمات كل من (Aspartate amino Transferase (AST و Alanine amino Transferase (ALT) و Alkaline phosphatase (ALP))

المواد وطرائق العمل

اجريت الدراسه في مختبر الاسماك للدراسات العليا في كلية الطب البيطري / جامعة بغداد للمدة مابين 8\2\2010 لغاية 2010/4/22من ضمنها مدة اقلمة الاسماك التي استمرت اسبوعين قبل بدء التجربه . استعمل اربعة عشر حوضا زجاجيا بابعاد 70 سم× 40سم×40 سم سعة كل منها 84 لتر .استعملت اجهزه للتدفئه عند الحاجه لأبقاء درجة حرارة الماء ثابتة عند مدى محدد.

اسماك التجربة

وزعت الاسماك بمعدل 8 اسماك للحوض الواحد بواقع مكررين لكل معاملة مع مراعاة تقارب اوزان الاسماك قدر الامكان في جميع الوحدات التجريبية. غذيت الاسماك بنسبة 3% من وزن الجسم الحي الرطب اثناء مدة التجربة وغذيت الاسماك وبواقع مرتين باليوم تقريبا. نظفت الاحواض يوميا قبل تقديم الوجبة الغذائية للتخلص من الفضلات وبقايا الغذاء باستبدال اكثر من 70% من ماء الحوض. اجريت عملية وزن الاسماك كل اسبوعين. قيس كل من درجة حرارة الماء والاس الهيدروجيني .

تحضير العلائق

جمعت المواد العلفية (مركز بروتيني حيواني هولندي المنشأ و فول الصويا أرجنتيني المنشأ و ذرة صفراء و شعير، و نخالة محلية ومجموعة فيتامينات والأملاح) واستخدمت في تصنيع علائق التجربة ، استعمل المعزز الحيوي (بروبايوتك العراق) الذي تم الحصول عليه من قسم الثروة الحيوانية في كلية الزراعة / جامعة بغداد اذ يحتوي المعزز الحيوي المستعمل على بكتريا *Lactobacillus acidophilus* 10^{10} CFU/ G و *Bacillus subtilus* 10^{10} CFU / G و *Saccharomyes cerevisiae* . اضيف فيتامين C بتركيز 1 غم لكل كيلو غرام من العلف في عليقة المعاملة T1 و T2 معاملة مضافا لها معززا حيويا probiotic بتركيز 4.5 غم لكل كغم من العلف و T3 معاملة مضافا لها معززا حيويا بتركيز 5.5 غم/كغم علف و T4 مضافا لها معززا حيويا بتركيز 4.5 مع فيتامين C بتركيز 1 غم /كغم علف , و T5 مضافا لها بتركيز 5.5 غم مع فيتامين C بتركيز 1 غم/كغم علف , و T6 مضاف لها معزز حيوي بتركيز 6.5 غم مع فيتامين C بتركيز 1 غم/كغم علف . مزجت المواد المضافة بصورة جيدة كي تتجانس مع المواد العلفية ثم صنعت على شكل اقراص بأستعمال ماكنة فرم يدوية بفتحات 2 – 3 ملم . بعدها وضعت في عبوات بلاستيكية لحين الاستعمال في الثلاجة المنزلية اذ كانت كل وجبة تصنيع تكفي مدة 7 ايام من التجربة .

معايير النمو للاسماك

معدل الزيادة الوزنية الكلية (غم) = معدل الوزن النهائي (غم) – معدل الوزن الابتدائي (غم)

معدل النمو النسبي (RGR) Relative Growth Ratio

قدر حسب المعادلة التي ذكرها (7)معدل النمو النسبي= (الوزن الثاني –الوزن الاول / الوزن الاول) * 100

معدل النمو النوعي Specific Growth Ratio (SGR)

استعملت المعادلة التي ذكرها(8)

معدل النمو النوعي =(اللوغارتم الطبيعي للوزن الثاني – اللوغارتم الطبيعي للوزن الاول / الفرق بالايام ما بين الوزن الثاني عن الوزن الاول) * 100

معدل التحويل الغذائي Food convertion Rate

استعملت المعادلة التي ذكرها (7) ويعد احد المعايير الخاصة بقياس كفاءة العليقة

معدل التحويل الغذائي = وزن الغذاء المتناول (غم) / الزيادة الوزنية للاسماك (غم)

المعايير الدمية

سُحب الدم من الاسماك عن طريق الوريد الذيلي Caudal vein في بداية التجربة من مجموعة السيطرة , اما في نهاية التجربة فتم سحب الدم من القلب مباشرة Cardiac puncture باستعمال محاقن بلاستيكية سعة 2 سم3 , تراوحت كمية الدم المسحوب 2-1 سم3 , اذ استعملت انابيب حاوية على مانع تخثر EDTA Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid , اجريت الفحوصات التالية:-

العدد الكلي لخلايا الدم الحمراء والبيض وحسب ما جاء بطريقة 0(9) .

قياس تركيز الهيموكلوبين اعتمدت طريقة السايانوميت هيموكلوبين والموضحة من قبل (9) .

ج قياس حجم خلايا الدم المرصوص وحسب الطريقة التي اشار اليها (9)

واستعملت انابيب لا تحتوي على مانع تخثر لفصل المصل من الدم باستعمال جهاز الطرد المركزي وبسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة عشرة دقائق (10) تلتها عملية سحب المصل بوساطة ماصة دقيقة والذي تم حفظه في مجمدة عند درجة حرارة – 20 م` لحين اجراء الفحوصات المختبرية ثم اجريت الفحوصات التالية :

المعايير الكيموحيوية

1-قياس تركيز انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP) قدرت فعالية أنزيم ALP على طول موجي 510 نانوميتر بجهاز المطياف الضوئي، بوساطة عدة تقديرية جاهزة kit من انتاج شركة Randox،(11)

2 قياس تركيز انزيم Aspartate amino Transferase (AST)

قدر تركيز هذا الأنزيم على طول موجي 510 نانوميتر في جهاز المطياف الضوئي بوساطة عدة تقديرية جاهزة Kit من انتاج شركة Randox (12).

3. قياس تركيز انزيم (Alanine amino Transferase (ALT قدرت فعالية هذا الأنزيم على طول موجي 510 نانوميتر بجهاز المطياف الضوئي بوساطة عدة تقديرية جاهزة Kit،(12)من انتاج شركة Randox .

النتائج والمناقشة

اولأ: النمو

بينت نتائج جدول (1) تفوق المعاملة T4 معنويا ضمن مستوى ($P\leq0.05$) الحاوية على المعزز الحيوي بتركيز 4.5 غم + فيتامين C بتركيز 1 غم/كغم من العلف، تلتها المعاملة T2 و T5 و T6 و T3 و T1 و معاملة السيطرة C على التوالي، تتفق هذة النتائج مع ما حصل عليه(13) بأن هناك تأثير إيجابي لاضافة المعزز الحيوي لاسماك الكارب الشائع عند حصول الاسماك على احتياجاتها الاساسية من البروتين في العليقة، وقد تعود هذة الزيادات في معدلات النمو الكلية الى تاثير الاحياء المجهرية المفيدة ودورها في تعزيز عملية الهضم عن طريق أفرازها لبعض الانزيمات ومنتجات مفيدة أخرى مثل البروتينات والاحماض الامينية والعضوية تحلل بعض أنواع الاحياء المجهرية المستعملة كمعزز حيوي للمادة الغذائية الخام الى وحدات أصغر وتصبح سهلة الامتصاص من قبل الجسم (14) ويعود سبب زيادة معدلات النمو للاسماك الى دور فيتامين C في العليقة اذ يشارك في عملية أيض عدد من الاحماض الامينية مثل Tyrosine و Phenylalanine و الناقل الكيميائي Carntine (15).

معدل التحويل الغذائي

يوضح (الجدول 2) النتائج الخاصة بمعدلات التحويل الغذائي بأن هناك تحسن في معدل التحويل الغذائي في جميع المعاملات مقارنة بالسيطرة وإن أفضل معاملة هي T4 مقارنة مع بقية المجاميع و مجموعة السيطرة تتفق هذة النتائج مع ما توصل اليه (16)عند أستعمال المعزز الحيوي التجاري الحاوي على بكتريا *Bacillus* spp في أسماك *Oncorhynshus.mykiss* اذ لاحظ أن معدل التحويل الغذائي في المعاملة الحاوية على تركيز 3.8×10^9 CFU/g كانت أفضل من بقية المعاملات مقارنة مع مجموعة السيطرة في تجربة أستمرت شهرين ولعل السبب يعود الى نسبة تركيزالاحياء المجهرية المفيدة الموجودة في المعزز الحيوي التي ادت الى تحسن القيمة الغذائية للعناصر المكونة للعليقة وهذا يزيد من شهية الاسماك ، لتناول الغذاء الامر الذي ادى الى تحسن معدل التحويل الغذائي ، وتعد خميرة*Saccharamyces.cerevisiae* الموجود في المعزز الحيوي مصدرا للبروتين الخام في علائق الاسماك التي تعمل كمحفز نمو و لاسيما توليدها للاحماض الامينية الامر الذي ادى الى استعمالها في تعزيز عمل بكتريا حامض اللاكتيك من جهة وتحفيز نمو الكائن الحي من جهة أخرى، لهذه الاسباب أدخلت الخميرة في الكثير من العلائق غير التقليدية لاسماك الكارب الشائع .(17و18)

جدول (1) تاثير اضافة تراكيز مختلفة من المعزز الحيوي وفيتامينC في معدلات النمو (غم) لاسماك التجربة

المعاملات	معدل الوزن في بداية التجربة (غم)	معدل الوزن بعد 14 يوم من التجربة (غم)	معدل الوزن بعد 28 يوم من التجربة (غم)	معدل الوزن عند 42 يوم من التجربة (غم)	معدل الوزن بعد 60 يوم من التجربة (غم)	معدل الزيادة الوزنية الكلية في نهاية التجربة
C	25.96	26.56± 0.44 de	28.30± 0.55 c	30.62±1.02 d	33.82± 0.47 e	6.86± 0.49 f
T1	28.14	28.82± 0.32 a	33.44± 0.16 a	34.10± 0.40 a	37.96± 0.14 d	9.82± 0.18 e
T2	26.66	27.58±0.42 bc	30.42±0.008 a	35.23± 0.007 ab	41.66±0.34 b	15± 0.28 b
T3	26.50	27.30±0.008 cd	29.95± 0.15 bc	33.10±0.60 c	37.37± 0.47 d	10.87± 0.21 d
T4	27.45	28.33± 0.17 b	31.22± 0.58 a	36.12± 0.52 ab	44.96± 0.16 a	17.51± 0.28 a
T5	27.40	28.30± 0.20 ab	31.08± 0.42 a	35.82± 0.32 ab	42±0.35 b	14.60± 0.23 b
T6	25.92	26.32±0.002 e	29.5±0.27 c	33.72±0.22 c	39.43±0.23 c	13.51± 0.28 c

الاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي ضمن مستوى ($P \leq 0.05$) ± الخطا القياسي .

معدل النمو النسبي

حققت المعاملة T4 أفضل قيمة في معدل النمو النسبي(جدول 2) وبفرق معنوي ضمن مستوى ($P \leq 0.05$) عن بقية المعاملات ، وهذا قدغع يعود الى زيادة الاحياء المجهرية المفيدة للامعاء وسرعة التصاقها على سطح الطبقة المخاطية للخلايا المعوية التي تعد بيئة مناسبة لنموها وتكاثرها وعمل خميرة *S.cerevisiae* في تعزيز أعداد البكتريا المفيدة كونها مادة غذائية لانواع من البكتريا اللاهوائية ، ومن ثم تؤدي الى زيادة فعاليتها في الهضم والامتصاص وزيادة جاهزية العناصر الغذائية وهذا يؤدي الى زيادة معدل النمو النسبي(19)، أو ربما بسبب الفعل التأزري مابين المعزز الحيوي وفيتامين C اذ يعتبر الفيتامين أساسي في نمو الاسماك الطبيعي وهناك بعض الخواص التي تساعد في أنتاج غذاء مقاوم للاكسدة عند أضافة فيتامين C في العلائق (20)

تتفق هذة النتائج مع ماتوصل اليه Ghosh and Ray (21)عند إضافة خميرة *S.cerevisiae*، وبتراكيز مختلفة الى علائق الاسماك التي أدت الى زيادة معدل النموالنسبي وعزي السبب في ذلك الى أنتاج الانزيمات خارج الخلوية Extracellular enzymes من الاحياء المجهرية المعوية التي تساعد في الافادة من الغذاء في تحقيق النمو.

معدل النمو النوعي

حققت المعاملة T4 أفضل قيمة في معدل النمو النوعي (جدول 2)، وبفرق معنوي عند مستوى ($P \leq 0.05$) عن بقية المعاملات و قد يعود ذلك الى الدور الذي تلعبة بكتريا *B.subtillus* الموجودة في المعزز الحيوي التي تقوم بأنتاج أنزيمات هاضمة مثل amylase و protease و lipase التي تزيد من تركيز أنزيمات الهضم المعوية (22) فضلا عن تحسن الفعالية الهضمية نتيجة تصنيع الفيتامينات وعوامل مساعدة اخرى (23) .

نسبة كفاءة البروتين

سجلت المعاملة T4(جدول 2)أفضل قيمة في نسبة كفاءة البروتين وبفرق معنوي ضمن مستوى (P≤0.05) عن بقية المعاملات ، وهذا قد يعزى الى دور بكتريا العصيات اللبنية وخميرة *S.cerevisiae* وبكتريا *B.subtillus* التي تفرز بعض الانزيمات المحللة للعناصرالغذائية المكونة للعليقة ، تعمل على زيادة معامل هضمها وأمتصاصها وزيادة الإفادة منها وهذا يؤدي الى زيادة النمو ونسبة كفاءة البروتين (19) فضلا عن وجود فيتامين C الذي يدخل في عملية أيض العديد من الاحماض الامينية المهمة في النمو والزيادة الوزنية وبالتالي زيادة نسبة كفاءة البروتين للاسماك(24) .

(جدول 2) : تاثير اضافة تراكيز مختلفة من المعزز الحيوي وفيتامينC في معدل التحويل الغذائي(%) ومعدل النمو النسبي(%) ومعدل النمو النوعي(%) ونسبة كفاءة البروتين(%) وقيمة البروتين المنتج (%)لاسماك التجربة .

الصفات المدروسة / المعاملات	معدل التحويل الغذائي	معدل النمو النسبي	معدل النمو النوعي	نسبة كفاءة البروتين
C	0.17±6.42 ab	0.10±30.27 f	0.02±0.441 c	0.02±0.599 d
T1	0.19±5.65 b	0.40±34.89 e	0.01±0.498 c	0.06 ±0.680 d
T2	0.20±3.63 c	0.15±56.26 b	0.03±0.743 b	0.03 ±1.057 b
T3	0.39±4.87 b	0.56±41.01 d	0.04±0.571 c	0.03±0.788 cd
T4	0.11±3.19 c	0.36±63.78 a	0.01±0.821 ab	0.05±1.20 a
T5	0.16±3.81 c	0.41±53.28 c	0.06±0.711 bc	0.03±1.00 b
T6	0.40±3.90 c	0.50±52.12 c	0.05±0.69 bc	0.04±0.985 b

المعدل ± الخطأ القياسي. الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي ضمن مستوىP≤0.05 .

ثانياً : الصورة الدمية

عدد كريات الدم الحمر

حصلت زيادة معنوية في أعداد كريات الدم الحمر (جدول 3) بين المعاملة T4 وبقية المعاملات مقارنة مع مدة ماقبل التجربة ومجموعة السيطرة ضمن مستوى (P≤0.05)، اذ تفوقت المعاملة T4 على جميع المعاملات و قد يعود ذلك الى زيادة كمية البروتين والحديد والنحاس والكوبلت الداخلة عن طريق الغذاء المتناول وهذه المواد أساسية في صناعة وتكوين كريات الدم الحمر، أو بسبب الدور التأزري للمعزز الحيوي مع فيتامين C في أمتصاص الحديد من الامعاء والمحافظة على شكلة الذائب في الماء والذي يحتاجة الجسم في صناعة كريات الدم الحمر وهيموكلوبين الدم (25) .

تتفق هذه الدراسة مع ما توصل اليه Irianto and Austin (26)عندما لاحظوا أن هناك زيادة في العدد الكلي لكريات الدم الحمر في الاسماك المغذاة على المعزز الحيوي مقارنة مع مجموعة

السيطرة ، وأشار Marzouk *et al* (27) ان هناك زيادة معنوية في عدد خلايا الدم الحمر لاسماك *O.niloticus* للمعاملات المغذاة على المعزز
الحيوي التجاري مقارنة بمجموعة السيطرة .

عدد خلايا الدم البيض

نلاحظ من(الجدول 3) زيادة معنوية في أعداد كريات الدم البيض بين المعاملات مقارنة مع مدة ماقبل التجربة ومجموعة السيطرة عند مستوى ($P\leq0.05$) وتفوق المعاملة T4 على جميع المعاملات، وقد يعود السبب الى المعزز الحيوي الذي يعمل في زيادة قابلية الهضم والتي تساعد في أدامة التوازن المايكروبي داخل القناة الهضمية وزيادة عملية الايض الغذائي، وزيادة النمو والاستجابة المناعية (28)هذا دليل على الجانب الامين من استخدام المعزز الحيوي ودورة في تحسن الحالة الصحية لاسماك التجربة فضلاً عن دور فيتامين C في حماية خلايا الدم البيض من الضرر والتلف التأكسدي وذلك لدوره في أعادة تنشيط وتكوين فيتامين E اذ يعمل فيتامين C على تحويل جذور فيتامينE غيرالفعالة الى فيتامين E الفعال وإن هذا الفيتامين لة دور مهم في حماية أغشية هذة الخلايا من الاضرار التأكسدية (29)

قياس هيموكلوبين الدم

يبين (الجدول3) زيادة معنوية بنسبة هيموكلوبين الدم بين المعاملات مقارنة مع المدة قبل التجربة ومجموعة السيطرة عند مستوى ($P\leq0.05$) وتفوق المعاملة T4 على جميع المعاملات، و يعزى ذلك الى دور الاحياء المجهرية الموجودة في المعزز الحيوي والعمل التأزري لفيتامين C في زيادة عدد كريات الدم الحمر الذي أدى الى زيادة حجم الخلايا المرصوص وهيموكلوبين الدم ، أو قد يعود الى زيادة أمتصاص الحديد في حالة زيادة مستوى فيتامين C، ومن ثم يؤثر في زيادة تركيز الهيموكلوبين وعدد كريات الدم الحمر لما للحديد من أهمية في تصنيع كريات الدم الحمروالهيموكلوبين (30)

حجم الخلايا المرصوص

يوضح(الجدول3) زيادة معنوية في حجم الخلايا المرصوص بين المجاميع المعاملة مقارنة مع المدة قبل التجربة ومجموعة السيطرة عند مستوى ($P\leq0.05$) وتفوق المعاملة T4 على جميع المعاملات.، وقد يعود ذلك الى دورالاحياء المجهرية المفيدة التي تزيد من جاهزية الحديد والنحاس، وحامض الفوليك وبقية العناصر المعدنية والفيتامينا (31) وبما أن العوامل المؤثرة في عدد كريات الدم الحمر يؤثر أيضا في حجم الخلايا المرصوص وتركيز خضاب الدم(32) لذلك فمن المتوقع أرتفاع حجم الخلايا المرصوص لمعاملات التجربة ، أو ربما يعود ذلك الى فعل فيتامين C التأزري مع المعزز الحيوي، اذ يعمل بصورة غير مباشرة في حماية كريات الدم الحمر من التكسر بفعل الاضرار التأكسدية وذلك عن طريق أعادة تنشيط فيتامين E الموجود في أغشية هذة الكريات، والمسؤول عن حماية الاغشية من الاضرار التأكسدية ومن ثم تقليل نسبة تكسر كريات الدم الحمر(33) . أن التغيرات الايجابية التي حصلت في الصورة الدموية لمعاملات التجربة لاسيما المعاملة T4 من أرتفاع نسبة كريات الدم الحمر والبيض، وهيموكلوبين الدم وحجم الخلايا المرصوص دليل على التاثير الايجابي للمعزز الحيوي مع فيتامين C في تحسن النمو والاستجابة المناعية للاسماك

(جدول 3) تاثير اضافة تراكيز مختلفة من المعزز الحيوي وفيتامينC في الصورة الدمية لمجموع خلايا الدم البيض، و خلايا الدم الحمروهيموكلوبين الدم وحجم الخلايا المرصوص لاسماك التجربة.

الفحوصات الدمية / المعاملات	خلايا الدم الحمر ×10^6خلية/ملم3	الدم البيض ×10^3خلية/ملم^3	هيموكلوبين الدم غرام /100مللتر	حجم الخلايا المرصوص(%)
بداية التجربة Z	0.11± 1.80 c	0.11± 24.40d	0.11±8.40 d	27.10±0.51 d
C	0.06 ±1.88 c	0.23± 24.60d	0.17±8.70 d	0.23± 27.60d
T1	0.02± 1.95 c	0.23 ±25.80c	0.11±9.80 c	0.28 28.50 cd
T2	0.23 ±2.40 b	0.17± 27.00bc	0.51±11.10 ab	0.40 29.90 bc
T3	0.23± 2.00 c	0.57 ±26.00c	0.11±10.20 c	0.05±29.10 bc
T4	0.17 ±2.70 ab	0.34± 27.96ab	0.17±11.90 a	0.28±30.50 ab
T5	0.11 ±2.20 c	0.23± 26.60c	0.28±10.80 bc	0.28±29.50 bc
T6	0.05 ±2.10 c	0.46± 26.20c	0.28± 10.50 c	0.17 ±29.30 bc

المعدل ± الخطأ القياسي. الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي ضمن مستوى$P\leq0.05$.

ثالثا :المعايير الكيموحيوية

قياس تركيز أنزيم Aspartate amino Transferase (AST) (وحدة دولية/لتر)

سجلت المجاميع المعاملة إنخفاضاً معنوياً في نسبة أنزيم AST مقارنة مع مدة ماقبل التجربة ومجموعة السيطرة عند مستوى $P\leq0.05$ ، وحصول المعاملة T4 على أقل مستوى من جميع المعاملات في مستوى هذا الانزيم في مصل الدم(جدول 4) و يعود هذا الى الاحياء المجهرية المفيدة في المعزز الحيوي الذي يستفيد منها المضيف لتحسين الحالة الفسلجية بوساطة تحسين مخاطية الامعاء والجهاز المناعي فضلاً عن تحسن الحالة التغذوية، وعمل موازنة للاحياء المجهرية في القناة الهضمية وتغيير الايض المايكروبي(27) ، ومن ثم يؤدي الى أرتفاع مستواه في انسجة الجسم وأنخفاض مستواه في مصل الدم اذ يقوم أنزيم AST بتنشيط نقل مجموعة الامين من الحامض الاسبا رتك الى حامض أوكزال الخليك، أو ربما أنخفاض الانزيم بسبب وجود فيتامين C الذي يقلل من أفراز هورمون الكورتيكوستيرون من القشرة الكظرية والذي يؤثر في العديد من الانزيمات منها AST وALT و ALP مؤديا الى أرتفاعها في الدم (34)، واشار Marzouk (27)الى أن هناك أنخفاض في أنزيم AST في مصل دم اسماك *O.niloticus* مقارنة مع مجموعة السيطرة عند تغذيتها على المعزز الحيوي التجاري الحاوي على *B.subtillus* و *S.cerevisiae* ولمدة 6 أسابيع كما يتاثر المستوى الطبيعي لانزيم AST في الانسجة وبلازما الدم بعدة عوامل كالتلوث والتسمم (35) والاصابة بالامراض فضلا عن العوامل البيئية كدرجة الحرارة والملوحة.

قياس تركيز أنزيم Alanine amino Transferase (ALT)

حصلت المعاملة T4 على أقل مستوى من جميع المعاملات في مستوى هذا الانزيم في الدم(جدول 4) ويعود هذا الى وجود الاحياء المجهرية المفيدة في المعزز الحيوي و فيتامين C في العليقة التي تسهم في تحسن الحالة التغذوية والمناعية للاسما ك (36)، وهذا أدى الى قلة تحطم أعضاء الجسم الداخلية للاسماك مثل الكبد والطحال والكلية والعضلات ومن ثم حدوث أنخفاض في مستوى هذا الانزيم في بلازما الدم(37) ،اذ يقوم أنزيم ALT بتنشيط نقل مجموعة الامين من الحامض الاميني الالنين الى

حامض البايروفيك ،وقد يعود إيضا الى دور فيتامين C التأزري مع المعززالحيوي اذ يعد هذا الفيتامين من مضادات الاكسدة ولة دورمهم في حماية الدهون البروتينية الموجودة في جدار الخلية من أضرار الاكسدة ونظرا لان الانزيمات AST و ALT يزيد تركيزها في الانسجة فعند تحطم جدار خلايا الانسجة ولاسيما الاعضاء الغنية بهذة الانزيمات مثل الكبد والقلب و العضلات الهيكلية والكلية سيؤدي الى زيادة تركيزها في مصل الدم (38).

قياس تركيز أنزيم Alkaline phosphatase (ALP)

يبين(الجدول 4) إنخفاض معنوي في نسبة أنزيم ALP بين المجاميع المعاملة مقارنة مع المدة قبل التجربة، ومجموعة السيطرة ضمن مستوى (P≤0.05) وحصول المعاملة T4 على أقل مستوى من جميع المعاملات من هذا الانزيم في الدم. و يعود هذا الى وجود الاحياء المجهرية المفيدة في المعزز الحيوي و فيتامين C في العليقة الذي عمل على زيادة النمو وتحسين الحالة الصحية والمناعية لهذه الاسماك اذ أوضح Robert (39) أن أنزيم ALP يزداد في حالة أصابة العظام أو في حالة أنسداد القنوات الكبدية لذلك عند أرتفاع مستواة قد يدل على التهاب أوخلل بالكبد أو مرض بالعظام .

يتضح من نتائج التجربة وجود إنخفاض في مستويات أنزيمات AST و ALT و ALP في كافة المجاميع المعاملة مقارنة مع المدة قبل التجربة ومجموعة السيطرة وتفوق المعاملة T4 على بقية المعاملات ، وهذا يدل على تحسن الحالة الصحية والمناعية للاسماك وبالتالي انعكس على زيادة النمو، والتحويل الغذائي بفعل الدورالتأزري للمعزز الحيوي مع فيتامين C في تغذية هذة الاسماك .

(جدول 4) تاثير اضافة تراكيز مختلفة من المعزز الحيوي وفيتامينC على بعض انزيمات مصل الدم (وحدة دولية/لتر) AST، ALT وALP . في بداية ونهاية التجربة .

الصفات / المعاملات	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)
بداية التجربة	0.46±87.30 a	0.11±17.20 a	0.11±36.20 a
C	0.34±86.40 a	0.28± 16.80 a	0.28±36.00 a
T1	0.11 ±81.90 b	0.28 ±15.50 b	0.11± 35.20 b
T2	0.28 ±72.50 d	0.17±12.30 d	0.28± 32.50 d
T3	0.05±80.10 b	0.05 ±15.10 b	0.23±35.60 b
T4	0.23± 70.40 e	0.17±10.40 e	0.17±30.30 e
T5	0.23±78.60 c	0.11±14.20 c	0.51±33.40 c
T6	0.40±86.00 a	0.23 ±16.80 a	0.28± 35.00 b

المعدل ± الخطأ القياسي. الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي ضمن مستوىP≤0.05 .

المصادر

1.المنظمة العربية للتنمية الزراعية (1996).دراسة الجدوى الفنية والاقتصادية لإنتاج الإعلاف السمكية من مصادر غير تقليدية .الخرطوم .صفحة 8 -9 .

2.Pedone CA Arnaud CC Postaire ER Bouley CF and Reinert P(2000).Multicentric study of the effect of milk fermented by *Lactobacillus casei* on the incidence of diarrhea . Int J Clin Pract. 54(9):568 .

3. Gibson GR(2007) .Functional Foods : Probiotics and Prebiotics food Microbial Sciences Unit ,Department Of Food Biosciences ,The University of Reading ,UK.28:965- 989.

4. Murray RK Granner DK Mayer PA and Rodwell VW (1999). Harpers Biochemistry. 25th ed. Norwalk, connect cut/san Mateo, California, : 640-641.

5. Ibiyo LMO Atteh JO Omotosho JS Madu CT and Aeme AN .(2007).Possible improvement in income with vitamin C fortified diets in practicalfarming of veterinary *Heterobranchus longifilis* fingerlings. J Ani Advan 6(4: 479-484.

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

7. Lapie LP and Bigueras-Benitez CM(1991).Feeding studies on tilapia using fish silage.FAO., 470:165-175.

8. Jobling M and Koskela J(1996).Inter individual variations in feeding and Growth In rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during restricted feeding In a subsequent period of compensatory growth. fish Biol. 49:658-667.

9. Coles EH (1986) . Veterinary clinical pathology ,4 th ed. w .B . Sounders company Philadeliphia , London , Toront, 43-64 .

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

11. King PRN and King EJ (1954) . Method of King and Armstrong In: Practical clinical Biochemistry .(Cited by Varleg et al.,1980) London ,897.

12- Reitman S and Frankel S (1957) . A colorimetric method the termination of serum glutamic oxalate and glutamic pyruvic transaminase . Amer Clin Pathy. 28 : 56 – 65 .

13 عبد الرحمن ، نسرين محي الدين (2008) . إنتاج معزز حيوي سمكي ودورة في نمو صغارأسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L . أطروحة دكتوراة ، جامعة السليمانية ، كلية الزراعة .

14. Hansen LA (1998). Home new product forage inoculateds direct fed microbial , yeast probiotics microbial products chr-Hanson. Biosystems. (w.w.w.httm/hansen Com). (Cited by Al-Moushelly 2001).

15. Wildman EEC and Medeiros DM (2000). Advanced human nutrition. CRC press – LLC.

16. Tahere B Seyed A H Vahid Y Morteza A and Ali F(2008). Growth ,Survival and Gut Microbial Load of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*)Fry Given Diet Supplemented with probiotic during the Two Months of First Feeding.Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.Iran., 43-48

17. Atack TH Jauncey K and Matty AJ (1979) . The utilization of some single cell protein by fingerling mirror carp . Aquacultare. ,18 : 337 – 348.

18. الفراجي , جمال خلف عطية (2006). أنتاج معززات حيوية وبروتينات وحيدة الخلية من خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* وبكتريا حامض اللاكتيك *Streptococcus thermophilus* وأختبارهما تغذويا في نمو اصبعيات الكارب العادي *Cyprinus carpio* L. أطروحة دكتوراة ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد .

.19. Fritts CA and Waldroup PW(2003).Evaluation of Bio-mas mannan oligosaccharide as a replacement for growth promoting antibiotics In diets for turkeys.Inter J Poult Sci. 2:19-22.

20. Frei B Stocker R England L and Ames BN(1990).Ascorbate : the most effective antioxidant in human blood plasma. Advan Exper Med Bio 260: 155-163.

21. Ghosh K Sen SL and Ray AK(2005).Feed utilization efficiency and growth performance in Rohu,*Labeo rohita*(Hamilton,1822)fingerlings fed yeast extract powder supplemented diets .Acta Ichthyol Piscat. 35(2):111- 117

22. Lee SY and Lee BH(1990). Esterlytic and lipolytic activities of *Lctobacillus case isubspcasei* L129.Food Sci.,55,119.

23. Gullian M Thomposon F and Rodriguez J(2004).Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei* .Aquaculture ,233:1-14.

24. Wildmanb EEC and Medeiros DM (2000). Advanced human nutrition. CRC press – LLC.

25. Hungerford jr..and Linder MC(1993).Interaction of pH and ascorbate Intestinal iron absorption .J Nutr.113:2615-2622.

26. Irianto A and Austin B(2002).Use of diet probiotics to control furunculosis in rainbow trout , *Oncorhynchus mykiss* (walbaum).J Fish Diseases, 25: 333-342

27. Marzouk MS Moustafa MM and Nermeen MM (2008).Evaluation of immunomodulatory effects of some probiotics on cultured *Oreochromis niloticus* . International symposium on tilapia in aquaculture,1043-1058.

28. Aly SM Ahmed YA Ghareeb AA and Mohamed MF(2008).Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus* ,as potential probiotics,on the immune Response and resistance of Tilapia nilotica(*Oreochromis niloticus*)to Challenge infection.Fish and shellfish immunology, 25, Egypt. 128-136.

29. Bianchini FS Elmstahl C Martinez AL Kappel VT Douki J Cadet H Ohshima E and Kaaks R (2000) **.**Oxidative DNA damage in human lymphocytes: correlations with plasma levels of alpha -tocopherol and carotenoids**.** Carcinogenesis, 21(2): 321-324.

30. FAO / WHO(1998). Preparation and use of food based dietary guidelines, World Health Organization, Roma.

31. Van der Heuvel EM Schoterman MC and Muijs T (2000) .Trans-galactooligosacchyides stimulate calcium absorption in postmenopausal Women . J Nutr 130:2938-2942.

32. Sturkie PD(1986). Avian Physiology. 4th ed.Springer velag. New York IN

33. May JM Qu ZC and Mendiratta S(1998). Protection and recycling of – tocopherol in human erythrocytes by intracellular ascorbic acid. Arch Biochem Biophys. 349: 281-289.

34. Leumg AY and Foster S(1996).Drugs and cosmetics,2nd Encyclopedia of common natural ingredients used in food.New York.John Wiley and Sons ,Inc,USA.(cited by El-Tohamy and Al-Kady,2007).

35.Zaki MS Mostafa SO Fawzi OM Khafagy M (2009). Clinicopathalogia ,Biochemical and Microbiological change on Grey Mullet Exposed to Cadmium Chloride.American-Eurasian J Agric Environ Sci.5(1):20-23,Egypt.

36.Nikoskelainem S Ouwehand AC Bylund G Salminen S and Lilius E(2003). Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*).fish and fish Immun.,15:443-452 .

37.Cruz MC De-La and Mroga K(1989).The effect of *Vibrio anguillarum* extacellular products on Japanese eels.Aquaculture, 80(3-4):201-210.

38. Pamelan CC Harvey RA and Ferrier DR(2005) .Lippincotts illustrated review of Biochemistry, 3rded.Philadephia.Baltimore.New york.London. 1:507 P.

39. Robert KM Granner DK Mayes PA and Rodwell VW(2005).Harpers illustraped of Biochemistry ,26 th edition. New York . London.