

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری

عنوان:

بررسی اثر پروبیوتیک بومی بر روی
شاخص های رشد، بیوشیمیایی و ایمنی
تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) جوان پرورشی

مجری:

سهیل بازاری مقدم

شماره ثبت

۶۱۶۰۶

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری

عنوان طرح/ پروژه: بررسی اثر پروبیوتیک بومی بر روی شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی و ایمنی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) جوان پرورشی
کد مصوب: ۹۷۰۰۲۴-۹۶۰۳۱-۹۶۰۰۱-۱۲-۳۲-۱۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: سهیل بازاری مقدم
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه‌ها و طرح‌های ملی و مشترک دارد): -
نام و نام خانوادگی مجری: سهیل بازاری مقدم
نام و نام خانوادگی همکار(ان): علیرضا شناور ماسوله، رضوان اله کاظمی، جلیل جلیل پور رودکلی، مهدی عزیزاده رودپشتی، مهدی معصوم زاده، هوشنگ یگانه راسته کناری، علی حلاجیان، محمد پوردهقانی پیشکناری، مجید پورصفر طبالوندانی، اسماعیل فرزانه بازقلعه، بهاره یونس حقیقی
نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -
محل اجرا: استان گیلان
تاریخ شروع: ۱۳۹۷/۱۱/۱
مدت اجرا: ۲ سال و ۶ ماه
ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۱
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی‌ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: بررسی اثر پروبیوتیک بومی بر روی شاخص های رشد، بیوشیمیایی و ایمنی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)
جوان پرورشی

کد مصوب: ۹۷۰۰۲۴-۹۶۰۳۱-۱۲-۰۰۱-۱۲-۳۲-۱۲

شماره ثبت (فروست): ۶۱۶۰۶ تاریخ: ۱۴۰۱/۳/۹

با مسئولیت اجرایی جناب آقای سهیل بازاری مقدم دارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته بهداشت آبزیان می باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماری های آبزیان در

تاریخ ۱۴۰۱/۱/۲۹ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد پژوهشکده مرکز ایستگاه

با سمت عضو هیئت علمی در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان
خاویاری مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده	۱
۱-مقدمه	۳
۱-۲- بیان مساله	۳
۱-۳- ماهیان خاویاری	۵
۱-۳-۱- تاسماهی ایرانی	۶
۱-۴- پروبیوتیک	۷
۱-۴-۱- ضرورت استفاده از پروبیوتیک ها در آبی پروری	۸
۱-۴-۲- اشکال پروبیوتیک ها	۸
۱-۴-۳- مکانیسم های اثر پروبیوتیک ها	۸
۱-۵- شاخص های خونی	۹
۱-۵-۱- گلبول های قرمز خون (RBC)	۹
۱-۵-۲- گلبول های سفید خون (WBC)	۱۰
۱-۶- اهمیت، ضرورت و هدف از اجرای پروژه	۱۲
۲- مروری بر منابع و پیشینه تحقیق	۱۴
۲-۱- تحقیقات انجام شده در ایران	۱۴
۲-۲- تحقیقات انجام شده در دیگر کشورها	۱۸
۳- مواد و روش ها	۲۱
۳-۱- استخراج و تولید پروبیوتیک اختصاصی تاسماهی ایرانی	۲۱
۳-۲- نحوه آماده سازی و تهیه جیره های غذایی	۲۱
۳-۳- اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب	۲۳
۳-۴- محاسبه شاخص های رشد	۲۳
۳-۵- ارزیابی شاخص های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی	۲۴
۳-۵-۱- خون گیری و تهیه سرم	۲۴
۳-۵-۲- شمارش گلبول های قرمز (RBC)، گلبول های سفید (WBC) و اندازه گیری هماتوکریت	۲۵
۳-۵-۳- اندازه گیری هموگلوبین	۲۶
۳-۵-۴- شاخص های گلبول قرمز	۲۶
۳-۵-۵- تشخیص افتراقی گلبول های سفید	۲۶

۲۷۳-۵-۶- تعیین میزان گلوکز
۲۷۳-۵-۷- توتال پروتئین
۲۷۳-۵-۸- اندازه گیری آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز
۲۸۳-۵-۹- اندازه گیری آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)
۲۸۳-۵-۱۰- اندازه گیری آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH)
۲۸۳-۵-۱۱- اندازه گیری ایمنوگلوبولین M (IgM)
۲۸۳-۵-۱۲- اندازه گیری فعالیت لیزوزیم (Lysozyme)
۲۹۳-۶-۶- آزمایش های میکروبی
۲۹۳-۶-۱- آماده سازی محیط های کشت
۲۹۳-۶-۲- آماده سازی رقت های محلول روده
۲۹۳-۶-۳- کشت اولیه
۳۰۳-۶-۴- کشت باکتریایی
۳۰۳-۷-۷- مطالعات بافت شناسی
۳۱۳-۸-۸- سنجش یون های شاخص تنش شوری و اسمولاریته
۳۲۳-۹-۹- روش های آماری
۳۳۴- نتایج
۳۳۴-۱-۱- نتایج فاکتور های رشد
۳۳۴-۱-۱-۱- وزن اولیه
۳۳۴-۱-۱-۲- وزن نهایی
۳۴۴-۱-۱-۳- طول کل اولیه
۳۴۴-۱-۱-۴- طول کل نهایی
۳۵۴-۱-۵- ضریب چاقی
۳۵۴-۱-۶- ضریب تبدیل غذایی (FCR)
۳۶۴-۱-۷- درصد افزایش وزن (BWI)
۳۷۴-۱-۸- نرخ رشد ویژه (SGR)
۳۷۴-۱-۹- نرخ رشد روزانه (ADG)
۳۸۴-۲-۲- نرخ بازماندگی
۳۹۴-۳-۳- شاخص های خون شناسی

- ۳۹ ۱-۳-۴ گلبول های سفید خون (WBC)
- ۳۹ ۲-۳-۴ گلبول های قرمز خون (RBC)
- ۴۰ ۳-۳-۴ هموگلوبین
- ۴۱ ۴-۳-۴ هماتوکریت
- ۴۱ ۵-۳-۴ متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)
- ۴۲ ۶-۳-۴ متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH)
- ۴۲ ۷-۳-۴ غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز (MCHC)
- ۴۳ ۸-۳-۴ نوتروفیل
- ۴۳ ۹-۳-۴ لنفوسیت
- ۴۴ ۱۰-۳-۴ مونوسیت
- ۴۴ ۱۱-۳-۴ ائوزینوفیل
- ۴۶ ۴-۴ شاخص های بیوشیمیایی خون
- ۴۶ ۱-۴-۴ گلوکز
- ۴۶ ۲-۴-۴ توتال پروتئین
- ۴۷ ۵-۴ آنزیم های کبدی
- ۴۷ ۱-۵-۴ ALT
- ۴۷ ۲-۵-۴ AST
- ۴۸ ۳-۵-۴ ALP
- ۴۸ ۴-۵-۴ LDH
- ۴۹ ۶-۴ ارزیابی شاخص های ایمنی
- ۴۹ ۱-۶-۴ IgM
- ۵۰ ۲-۶-۴ لیزوزیم
- ۵۱ ۷-۴ مواجهه سازی با شوری (مطالعات اسمزی)
- ۵۳ ۸-۴ مطالعات باکتری شناسی
- ۵۳ ۱-۸-۴ شمارش کلی باکتری های روده
- ۵۳ ۲-۸-۴ شمارش باکتری های اسید لاکتیک روده
- ۵۴ ۹-۴ مطالعات بافت شناسی
- ۵۴ ۱-۹-۴ بافت شناسی آبشش

۵۶	۲-۹-۴- بافت شناسی روده
۶۲	۳-۹-۴- بافت شناسی کبد
۶۴	۴-۹-۴- بافت شناسی کلیه
۶۸	۵- بحث
۶۸	۱-۵- بررسی تاثیر پروبیوتیک بر برخی شاخص های رشد تاسماهی ایرانی
۷۰	۲-۵- بررسی تاثیر پروبیوتیک بر شاخص های خون شناسی تاسماهی ایرانی
۷۲	۳-۵- بررسی تاثیر پروبیوتیک بر شاخص های بیوشیمیایی خون تاسماهی ایرانی
۷۳	۴-۵- بررسی تاثیر پروبیوتیک بر شاخص های ایمنی خون تاسماهی ایرانی
۷۳	۵-۵- تاثیر بر باکتریهای روده
۷۴	۶-۵- تنش با شوری
۷۶	۷-۵- بافت شناسی
۷۹	۶- نتیجه گیری نهایی
۸۱	منابع
۸۹	چکیده انگلیسی

چکیده

تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) یکی از ماهیان با ارزش اقتصادی در جهان است که طی دو دهه ی اخیر عوامل گوناگونی موجب کاهش میزان ذخایر این ماهیان در دریای خزر گردیده است. با توسعه پرورش ماهیان خاویاری در کشور، امکان بروز و افزایش انواع بیماریهای عفونی در مزارع پرورشی وجود دارد و در این راستا مصرف پروبیوتیک های بومی و اختصاصی در ارتقای سلامت این ماهیان حائز اهمیت خواهد بود. مطالعه حاضر در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری (گیلان- رشت) انجام شد و از چهار سویه باکتری اسید لاکتیک (*Enterococcus faecalis* و *Weissella cibaria*، *Pediococcus pentosaceus*، *Lactococcus lactis*) که در مطالعات پیشین از روده تاسماهی ایرانی جداسازی شده بودند با نسبت های برابر در غذای مصرفی تاسماهی ایرانی استفاده گردید. در این بررسی ۳۰۰ عدد تاسماهی ایرانی جوان با میانگین وزنی $92/5 \pm 0/5$ گرم در ۴ تیمار (هر تیمار با ۳ تکرار) با مقادیر ۰ (شاهد)، ۱۵۰ (تیمار ۱)، ۳۰۰ (تیمار ۲) و ۴۵۰ (تیمار ۳) میلی گرم پروبیوتیک اختصاصی (به ازای هر کیلوگرم غذای مصرفی) در وان های فایبرگلاس (۱۲ عدد) ۵۰۰ لیتری (با حجم آبگیری ۳۵۰ لیتر) به مدت ۸ هفته پرورش داده شدند. در این بررسی شاخص های گوناگون رشد، شمارش فلور باکتریایی کل (در محیط کشت TSA) و باکتری های اسید لاکتیک (در محیط کشت MRS)، شاخص های ایمنی (ایمنوگلوبولین M یا IgM، فعالیت لیزوزوم یا LA)، شاخص های بیوشیمیایی (فعالیت آنزیم های آسپارات ترانس آمیناز (AST)، آلانین ترانس آمیناز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) لاکتات دهیدروژناز (LDH)، پروتئین کل و گلوکز) سرم خون و ساختار بافتی روده تاسماهی ایرانی جوان در مقایسه با گروه شاهد (فاقد پروبیوتیک) سنجش و مقایسه شدند. همچنین در پایان دوره پرورش ۸ هفته ای، ۱۰ عدد بچه ماهی از هر تیمار و گروه شاهد برای سنجش توان سازگاری با شوری، به آب با شوری ۱۰ در هزار معرفی و نسبت به اندازه گیری شاخص های اسمولاریته و یون های سدیم، پتاسیم، منیزیم، کلر و کلسیم پلاسما خون در ساعات ۰، ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ پس از معرفی اقدام گردیده و ساختار بافتی آبشش و کلیه مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان داد که شاخص های رشد از قبیل ضریب چاقی، ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن در تیمار های تغذیه شده با پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد، بهبود یافته و دارای اختلاف معنی دار آماری بودند ($P < 0.05$). ضمناً در ماهیانی که از پروبیوتیک استفاده نمودند تلفاتی مشاهده نشد. شاخص های خون شناسی و بیوشیمیایی در تیمارهای مورد تغذیه با پروبیوتیک (WBC، RBC، هماتوکریت، توتال پروتئین و گلوکز)، در مقایسه با گروه شاهد دارای اختلاف معنی دار آماری بودند ($P < 0.05$). در بررسی انجام گرفته بر روی شاخص ایمنی اختصاصی (IgM) در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک، از مقادیر بالاتری برخوردار بوده و نسبت به شاهد دارای اختلاف معنی داری بوده اند ($P < 0.05$). همچنین در بررسی شاخص ایمنی غیر اختصاصی

(لیزوزیم) نیز نتایج نشان دهنده ی مقادیر بالاتر میزان لیزوزیم در تمام تیمارها در مقایسه با گروه شاهد بود ($P < 0.05$).

نتایج شمارش باکتریایی نشان داد که بیشترین و کمترین میزان شمارش کل باکتریایی در روده با اختلاف معنی دار به ترتیب در تیمارهای شاهد و ۲ مشاهده شد ($P < 0.05$). همچنین شمارش باکتری های اسید لاکتیک در محیط کشت MRS نشان داد که بیشترین مقدار باکتری های اسید لاکتیک در تیمارهای ۲ و ۳ و کمترین مقدار آن نیز در گروه شاهد مشاهده گردید ($P < 0.05$). نتایج بررسی بافتی بخش های مختلف روده نشان داد که آسیب مشاهده شده در روده تاسماهی ایرانی در تیمار ۲ نسبت به سایر تیمارها کمتر بود. نتایج تنش شوری نیز بیانگر تغییرات شاخص های تنظیم اسمزی بویژه اسمولاریته و یون سدیم در ساعات مختلف آزمایش و تغییرات ساختار بافتی آبشش و کلیه بود و تیمار ۲ بهترین عملکرد در تنظیم اسمزی و سازگاری با شوری را از خود نشان داد. بطور کلی نتایج نشان داد که دوز بهینه مصرف پروبیوتیک های اختصاصی در تاسماهی ایرانی جوان مربوط به تیمار (۲) با مقدار ۳۰۰ میلی گرم پروبیوتیک به ازای هر کیلوگرم غذای مصرفی می باشد.

کلمات کلیدی: تاسماهی ایرانی، پروبیوتیک اختصاصی، رشد، خون شناسی، ایمنی