

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی

عنوان:

بررسی اثرات افزودنی پروبیوتیک‌ها
(پروتوتایپ‌های آزمایشگاهی) بر رشد، پارامترهای خونی،
ایمنی، آنزیمی و میزان فلور باکتریایی لوله گوارش
بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مجری مسئول:

منیره فئید

شماره ثبت

۶۵۱۷۱

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی

عنوان طرح/پروژه: بررسی اثرات افزودنی پروبیوتیک‌ها (پروتوتایپ‌های آزمایشگاهی) بر رشد پارامترهای خونی، ایمنی، آنزیمی و میزان فلورباکتریایی لوله گوارش بچه ماهی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

کد مصوب: ۳۴-۷۳-۱۲۱۲-۰۱۲-۰۱۰۳۵۵

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: منیره فئید

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد): منیره فئید

نام و نام خانوادگی مجری: امیر میمندی پور

نام و نام خانوادگی همکار(ان): محمد صیاد بورانی، جواد دقیق روحی، صاحبعلی قربانی، سیدفخرالدین میرهاشمی نسب، مریم میربخش، مریم قیاسی، سحر محمودی، مهدی شمس آرا، سیدصفا علی فاطمی، سید محمد صلواتیان، محدث قاسمی، سیدافشین امیری سندسی، هادی بابائی سیاه گل، فرشاد ماهی صفت، شهرام ثباتی آلمانی، عادل حسینجانی، حجت اله محسن پور آبکنار

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -

محل اجرا: استان گیلان

تاریخ شروع: ۱۴۰۱/۱/۱

مدت اجرا: ۱ سال

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۳

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: بررسی اثرات افزودنی پروبیوتیک‌ها (پروتوتایپ‌های آزمایشگاهی) بر رشد پارامترهای خونی، ایمنی، آنزیمی و میزان فلورباکتریایی لوله گوارش بچه ماهی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

کد مصوب: ۳۴-۷۳-۱۲۱۲-۰۱۲-۰۱۰۳۵۵

شماره ثبت (فروست): ۶۵۱۷۱ تاریخ: ۱۴۰۳/۱/۱۸

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم منیره فیید دارای مدرک تحصیلی دکترای تخصصی در رشته میکروبیولوژی است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در تاریخ ۱۴۰۲/۱۲/۲۰ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد ☐ پژوهشکده ☒ مرکز ☐ ایستگاه ☐

با سمت محقق غیر هیئت علمی در پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده.....		۱
۱-مقدمه.....		۳
۱-۱-ساختار فیزیکی ماهی قزل آلاى رنگین کمان.....		۴
۱-۱-۱-مزیت پرورش قزل آلاى رنگین کمان.....		۴
۱-۱-۲-پرورش ماهی قزل آلا در جهان.....		۵
۲-۱-تاریخچه پرورش ماهی در ایران.....		۶
۳-۱-تاریخچه پروبیوتیک ها.....		۶
۱-۳-۱-معیارهای انتخاب پروبیوتیک ها.....		۷
۲-۳-۱-مشخصه پروبیوتیک های آبزیان.....		۸
۳-۳-۱-مروری بر تاریخچه پروبیوتیک ماهی قزل آلا.....		۹
۴-۱-بیماری یرسینیوز در ماهی قزل آلاى رنگین کمان.....		۱۰
۱-۴-۱-تاریخچه بیماریزایی یرسینیوزیس.....		۱۱
۵-۱-اهمیت و ضرورت انجام تحقیق.....		۱۲
۱-۵-۱-بازارپسندی و اهمیت اقتصادی ماهی قزل آلاى رنگین کمان.....		۱۲
۲-۵-۱-اهمیت این گونه در آبرزی پروری.....		۱۲
۳-۵-۱-بررسی اهمیت مطالعه پروبیوتیک های ماهی قزل آلاى رنگین کمان در آبرزی پروری.....		۱۲
۴-۵-۱-اهمیت و ضرورت بررسی ایمنی زایی در ماهی.....		۱۳
۶-۱-اهداف تحقیق.....		۱۳
۲-مواد و روش ها.....		۱۴
۱-۲-روش کار.....		۱۴
۲-۲-نمونه برداري خون.....		۱۶
۳-۲-سنجش شاخص های رشد.....		۱۷
۴-۲-سنجش شاخص های بیوشیمیایی و ایمنی.....		۱۸
۵-۲-آزمایش های میکروبی.....		۱۸
۱-۵-۲-آماده سازی رقتهای محلول روده.....		۱۸
۲-۵-۲-کشت باکتریایی.....		۱۹

۲-۶-بررسی تیمارهای ماهی در مواجهه با باکتری یرسینیا راگری	۲۰
۲-۶-۱-کشت باکتری یرسینیا راگری	۲۰
۲-۶-۲-چالش با باکتری یرسینیا راگری	۲۰
۲-۶-۳-خون گیری از ماهیان دارای علائم و ماهیان کنترل	۲۱
۲-۷-روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها	۲۱
۳-نتایج	۲۲
۳-۱-شاخص های فیزیوشیمیایی	۲۲
۳-۲-شاخص های رشد	۲۳
۳-۲-۱-ضریب تبدیل غذایی	۲۳
۳-۲-۲-ضریب رشد ویژه	۲۳
۳-۲-۳-ضریب چاقی	۲۴
۳-۲-۴-درصد افزایش وزن بدن	۲۴
۳-۳-شاخص های ایمنی و بیوشیمیایی	۲۵
۳-۴-شاخص های خون شناسی	۲۷
۳-۵-شاخص های باکتریایی روده	۲۸
۳-۶-بعد از مواجهه با یرسینیا راگری	۲۹
۳-۶-۱-میزان بقا در تیمارهای مختلف پس از مواجهه با یرسینیا راگری	۲۹
۳-۶-۲-شاخص های ایمنی و بیوشیمیایی بعد از مواجهه با یرسینیا راگری	۳۰
۳-۶-۳-شاخص های خون شناسی بعد از مواجهه با یرسینیا راگری	۳۲
۴-بحث	۳۴
۴-۱-شاخص های رشد	۳۴
۴-۲-خون شناسی	۳۵
۴-۳-شاخص های آنزیمی، ایمنی و بیوشیمیایی	۳۷
۴-۳-۱-لیزوزیم	۳۷
۴-۳-۲-ایمنوگلوبولین M (IgM)	۳۸
۴-۳-۳-آنزیم های کبدی	۴۰
۴-۳-۴-پروتئین کل	۴۱

۴۱	 ۴-۳-۵- گلوکز
۴۲	 ۴-۴- کلني باکتری های روده
۴۴	 ۴-۵- پس از مواجهه سازی با باکتری یرسینیا راگری
۴۴	 ۴-۵-۱- میزان بقا
۴۴	 ۴-۵-۲- خون شناسی
۴۶	 ۴-۵-۳- شاخص های آنزیمی، ایمنی و بیوشیمیایی
۴۸	 ۵- نتیجه گیری نهایی
۴۹	 پیشنهادها
۵۰	 منابع
۵۷	 چکیده انگلیسی

چکیده

این تحقیق در بخش‌های بهداشت و بیماری‌ها و ایستگاه غذای زنده پژوهشکده آبروی پروری آبهای داخلی انجام گردید. برای انجام این آزمایش، ۲۰ قطعه بچه قزل آلائی رنگین کمان به صورت تصادفی به هر وان فایبرگلاس (۱۸ وان) با حجم کلی ۷۰ لیتر به عنوان سه تکرار معرفی شدند. ماهیان در آغاز آزمایش دارای میانگین متوسط (۵/۰±۰/۵g) و میانگین طول کل (۸/۵±۰/۳cm) بودند. عوامل فیزیکی و شیمیایی در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمون در شرایط مناسب و اختلاف معنی داری نداشتند ($P>0/05$). این پژوهش با ۴ تیمار آزمایشی و ۲ گروه شاهد به مدت ۲ ماه و نیم انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل دو نوع فرمولاسیون تهیه شده شامل فرمولاسیون ۱ (پدیوکوکوس اسیدی لاکتیزی (MK758075)، لاکتوکوکوس لاکتیس (MN947246.1) و ویسلا سیاری (MN947228)) که سه سویه برتر پروبیوتیک ارزیابی شده در شرایط آزمایشگاهی هستند و در دو غلظت (۳۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم (A) و ۵۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم (B)) بررسی شد فرمولاسیون ۲ شامل کل سویه های پروبیوتیکی شناسایی شده عبارتند از: ویسلا سیاری (MN947228)، لاکتوکوکوس لاکتیس (MN947246.1) و لاکتوباسیلوس کورواتوس (MK757915.1)، پدیوکوکوس اسیدی لاکتیزی (MK758075) و انتروکوکوس فاسیوم (MK757913) که آن هم در دو غلظت (۳۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم (C) و ۵۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم (D) و گروههای شاهد (جیره پایه بدون باکتری های پروبیوتیک) یا تیمار F و تیمار E (پروبیوتیک تجاری بيو آکوا^۱) بودند. در طی دو ماه غذایی، شاخص های رشد وزن کسب شده (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR) ضریب چاقی (CF) درصد افزایش وزن بدن (BWI) و ضریب تبدیل غذا (FCR) فلور باکتریایی کل (TSA) و پروبیوتیکی روده (MRS)، شاخص های ایمنی شامل ایمنوگلوبین M یا (IgM) فعالیت لیزوزوم یا (LA) شاخص های بیوشیمیایی شامل فعالیت آنزیم های آسپارات ترانس آمیناز (AST)، آلانین ترانس آمیناز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، پروتئین کل و گلوکز پلاسمای خون و میزان باکتری های اسیدلاکتیک بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان در مقایسه با گروه شاهد (فاقد پروبیوتیک) تعیین گردید. همچنین در پایان آزمایش ۱۰ قطعه بچه ماهی از هر تیمار و گروه های شاهد برای سنجش مواجهه سازی با باکتری بیماریزا یرسینیا راکری اقدام شد. نتایج این پژوهش نشان داد اگرچه با افزودن باکتری های اختصاصی به جیره غذایی بچه قزل آلائی رنگین کمان، اختلاف معنی داری در شاخص های رشد نظیر ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و افزایش وزن مابین تیمارها مشاهده شد اما در ضریب چاقی، بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود نداشت. تیمار A نسبت به سایر تیمارهای پروبیوتیک و تیمار شاهد نتایج بهتری داشت. نتایج شاخص های آنزیمی کبدی AST و ALP و LDH نشان داد کمترین و بیشترین مقدار این شاخص ها با اختلاف معنی دار به ترتیب در تیمارهای A و شاهد مشاهده شد ($p<0/05$). بیشترین و کمترین مقادیر ایمنوگلوبین M، و لیزوزیم نیز با اختلاف معنی دار به ترتیب در

¹ Bio-Aqua

تیمارهای A و شاهد مشاهده گردید. اما بیشترین مقدار گلوکز پلاسمای خون در تیمارهای A و شاهد بوده است و میزان پروتئین در تیمار A کمتر از سایر تیمارها بوده است. بیشترین میزان لنفوسیت، گلبول قرمز و هموگلوبین در تیمار A بوده است کمترین میزان در تیمار کنترل بوده است میزان MCHC, MCV, MCH نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونوسیت و گلبول سفید در تیمارها باهم اختلاف معنی دار نداشتند. نتایج شمارش باکتریایی نشان داد بیشترین تعداد باکتری‌های هتروتروف روده در تیمار A,D بچه قزل آلای رنگین کمان با اختلاف معنی دار مشاهده شد. همچنین تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک روده در بچه قزل آلای رنگین کمان در تیمار A بوده است و پس از دو هفته از قطع پروبیوتیک اختلاف معنی داری در تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمارهای غذایی شده با پروبیوتیک نداشته است ولی با تیمار شاهد اختلاف معنی دار بود. بعد از مواجهه سازی با یرسینیا راکری، ایمونوگلوبولین M در تیمارها D, A, C | اختلاف معنی دار نیست ولی با کنترل مثبت اختلاف معنی داری داشتند. کمترین میزان آنزیم ها ALP, AST, ALT در تیمار A بوده است. LDH کمترین میزان در تیمار B بوده است و بیشترین میزان در تیمار کنترل مثبت است. MCHC, MCH, ائوزینوفیل، مونوسیت و نوتروفیل در کلیه تیمارها پس از مواجهه با یرسینیا راکری (*Yersinia ruckeri*) اختلاف معنی داری دیده نشد. میزان گلبول سفید در تمامی تیمارها باهم اختلاف معنی داری داشتند کمترین میزان در تیمار کنترل منفی بود. بیشترین میزان تلفات در تیمار کنترل مثبت (۶۰٪) و کمترین میزان تلفات (F=۰٪) بود میزان تلفات در تیمار C در طی ۱۴ روز ۴۰٪ و در بقیه تیمارها بجز تیمار c میزان تلفات (۳۰٪) بوده است. تیمار c (۴۰٪) نتایج نشان داد که جیره های غذایی حاوی پروبیوتیک توانایی بهبود شاخص های ایمنی، آنزیمی و باکتریایی روده، شاخص های رشد و میزان بقا بالاتر در زمان مواجهه سازی با باکتری بیماری زا در بچه ماهی قزل آلا را دارد. تراکم مناسب کلنی های پروبیوتیک مورد استفاده در جیره غذایی بچه قزل آلا، برای بهبود شاخص های ذکر شده، ۳۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم (تیمار A) می باشد.

کلمات کلیدی: قزل آلای رنگین کمان، پروبیوتیک های اختصاصی، شاخص های رشد، پارامترهای ایمنی، بیوشیمیایی و آنزیمی، باکتری های اسیدلاکتیک