

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

عنوان:

بررسی اثرات پروبیوتیک‌های بومی بر
شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی و ایمنی
ازون‌برون (*Acipenser Stellatus*) جوان پرورشی

مجری:

جلیل جلیل‌پور رودکلی

شماره ثبت

۶۲۱۶۱

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

عنوان طرح/پروژه: بررسی اثرات پروبیوتیک های بومی بر شاخص های رشد، بیوشیمیایی و ایمنی ازون برون

(*Acipenser Stellatus*) جوان پرورشی

کد مصوب: ۹۹۰۰۰۱-۹۶۰۳۱-۰۰۱-۱۲-۳۲-۱۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: جلیل جلیل پور رودکلی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرح های ملی و مشترک دارد): -

نام و نام خانوادگی مجری: جلیل جلیل پور رودکلی

نام و نام خانوادگی همکار(ان): مهتاب یار محمدی، مجید پورصفر طبالوندانی، رضوان اله کاظمی، مهدی

علیزاده رودپشتی، هوشنگ یگانه، سهیل بازاری مقدم، علی حسین پور زنتی، ایوب یوسفی جوردھی، علیرضا

شناور ماسوله، مهدی معصوم زاده، علی حلاجیان، علیرضا علیپور، محمود فلاح شجاعی، سجاد قاسمیان، بهاره

یونس حقیقی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -

محل اجرا: استان گیلان

تاریخ شروع: ۱۳۹۹/۰۵/۰۱

مدت اجرا: ۱ سال و ۶ ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۱

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 پروبیوتیک های بومی بر شاخص های رشد، بیوشیمیایی و ایمنی ازون برون (*Acipenser Stellatus*) جوان پرورشی

کد مصوب: ۹۹۰۰۰۱-۹۶۰۳۱-۰۰۱-۱۲-۳۲-۱۲

شماره ثبت (فروست): ۶۲۱۶۱ تاریخ: ۱۴۰۱/۶/۱۹

با مسئولیت اجرایی جناب آقای جلیل جلیل پور رودکلی دارای مدرک تحصیلی کارشناسی ارشد در رشته شیلات می باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبریان در تاریخ ۱۴۰۱/۵/۲۴ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد پژوهشکده مرکز ایستگاه

با سمت محقق غیر هیأت علمی در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده		۱
۱- مقدمه		۳
۱-۱- تاسماهیان		۴
۱-۱-۱- رژیم غذایی و دستگاه گوارش تاسماهیان		۶
۱-۱-۲- ازون برون <i>Acipenser stellatus Pallas</i>		۶
۱-۱-۲-۱- ریخت شناسی		۶
۱-۱-۲-۱-۱- پراکنندگی		۷
۱-۱-۲-۱-۲- مهاجرت		۷
۱-۱-۲-۱-۳- بلوغ جنسی		۷
۱-۱-۲-۱-۴- ارزش اقتصادی		۸
۲-۱- پروبیوتیک ها		۸
۱-۲-۱- ضرورت استفاده از پروبیوتیک ها در آبی پروری		۹
۱-۲-۲- خطرات مصرف آنتی بیوتیک ها		۱۱
۱-۳-۲-۱- تولید ترکیبات ممانعت کننده (Inhibitory Component)		۱۱
۱-۳-۲-۲- رقابت بر سر مکان های اتصال		۱۲
۱-۳-۲-۳- رقابت جهت جذب و مصرف مواد مغذی		۱۲
۱-۴-۲-۱- معیارها و روشهای انتخاب پروبیوتیک		۱۳
۱-۴-۲-۱- جمع آوری اطلاعات زمینه ای		۱۴
۱-۴-۲-۲- تهیه پروبیوتیک		۱۴
۲-۴-۳-۱- ارزیابی توان پروبیوتیک در در بازدارندگی از رشد عوامل بیماریزا		۱۴
۲-۴-۴-۱- ارزیابی امکان بیماریزایی پروبیوتیک		۱۴
۲-۴-۵-۱- ارزیابی اثر پروبیوتیک بر میزان		۱۵
۲-۴-۶-۱- تولید انبوه، ارزیابی سود اقتصادی		۱۵
۲-۴-۷-۱- پروبیوتیک های مورد استفاده در این مطالعه		۱۶
۳-۱- مروری بر منابع		۱۸
۴-۱- اهداف پروژه		۲۵
۲- مواد و روشها		۲۶
۱-۲- استخراج و تولید پروبیوتیک اختصاصی تاسماهی ازون برون		۲۶
۲-۲- نحوه آماده سازی تیمارها و تهیه جیره های غذایی		۲۶
۳-۲- اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب		۲۸

- ۲-۴- محاسبه شاخص های رشد ۲۹
- ۲-۵- ارزیابی شاخص های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی ۳۰
- ۲-۵-۱- خون گیری و تهیه سرم ۳۰
- ۲-۵-۲- شمارش گلبول های قرمز (RBC)، گلبول های سفید (WBC) و اندازه گیری هماتوکریت ۳۱
- ۲-۵-۳- اندازه گیری هموگلوبین ۳۱
- ۲-۵-۴- شاخص های گلبول قرمز ۳۱
- ۲-۵-۵- تشخیص افتراقی گلبول های سفید ۳۲
- ۲-۵-۶- تعیین میزان گلوکز ۳۲
- ۲-۵-۷- توتال پروتئین ۳۲
- ۲-۵-۸- اندازه گیری آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز ۳۳
- ۲-۵-۹- اندازه گیری آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) ۳۳
- ۲-۵-۱۰- اندازه گیری LDH ۳۳
- ۲-۵-۱۱- اندازه گیری ایمنوگلوبولین M (IgM) ۳۳
- ۲-۵-۱۲- اندازه گیری فعالیت لیزوزیم (Lysozyme) ۳۴
- ۲-۵-۱۳- لیپید کل سرم (Total lipid) ۳۴
- ۲-۵-۱۴- کلسترول (cholesterol) ۳۴
- ۲-۵-۱۵- فعالیت آلترناتیو کمپلمان (ACH₅₀) ۳۴
- ۲-۶- آزمایشهای میکروبی ۳۵
- ۲-۶-۱- آمادسازی محیطهای کشت ۳۵
- ۲-۶-۲- آمادسازی رفتهای محلول روده و خوراک ۳۵
- ۲-۶-۳- کشت اولیه ۳۶
- ۲-۶-۴- کشت باکترهای اسی لاکتیک ۳۶
- ۲-۷- مطالعات بافت شناسی ۳۶
- ۲-۸- روش های آماری ۳۷
- ۳- نتایج ۳۸
- ۳-۱- شاخصهای فیزیکی و شیمیایی ۳۸
- ۳-۲- شاخصهای رشد ۳۸
- ۳-۲-۱- وزن اولیه ۳۸
- ۳-۲-۲- وزن نهایی ۳۹
- ۳-۲-۳- طول اولیه ۴۰
- ۳-۲-۴- طول نهایی ۴۰

- ۴۱..... ۳-۲-۵- ضریب چاقی
- ۴۱..... ۳-۲-۶- ضریب تبدیل غذایی
- ۴۲..... ۳-۲-۷- بیومس اولیه
- ۴۲..... ۳-۲-۸- بیومس نهایی
- ۴۳..... ۳-۲-۹- میزان تولید
- ۴۴..... ۳-۲-۱۰- درصد افزایش وزن
- ۴۴..... ۳-۲-۱۱- میانگین رشد روزانه
- ۴۵..... ۳-۲-۱۲- نرخ رشد ویژه
- ۴۶..... ۳-۲-۱۳- افزایش وزن ماهی
- ۴۷..... ۳-۳- شاخص های خون شناسی
- ۴۷..... ۳-۳-۱- گلبول های سفید خون (WBC)
- ۴۷..... ۳-۳-۲- گلبول های قرمز خون (RBC)
- ۴۸..... ۳-۳-۳- هموگلوبین
- ۴۸..... ۳-۳-۴- هماتوکریت
- ۴۹..... ۳-۳-۵- متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)
- ۴۹..... ۳-۳-۶- متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH)
- ۵۰..... ۳-۳-۷- غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز (MCHC)
- ۵۱..... ۳-۳-۸- نوتروفیل
- ۵۱..... ۳-۳-۹- لیمفوسیت
- ۵۲..... ۳-۳-۱۰- مونوسیت
- ۵۲..... ۳-۳-۱۱- ائوزینوفیل
- ۵۳..... ۳-۴- شاخص های بیوشیمیایی خون
- ۵۳..... ۳-۴-۱- گلوکز
- ۵۴..... ۳-۴-۲- توتال پروتئین
- ۵۵..... ۳-۴-۳- ALP
- ۵۵..... ۳-۴-۴- ALT
- ۵۶..... ۳-۴-۵- AST
- ۵۶..... ۳-۴-۶- کلسترول
- ۵۷..... ۳-۴-۷- LDH
- ۵۸..... ۳-۴-۸- لیپید کل
- ۵۹..... ۳-۵- ارزیابی شاخص های ایمنی

۵۹ IgM - ۱-۵-۳
۵۹ لیزوزیم - ۲-۵-۳
۶۰ ACH ₅₀ - ۳-۵-۳
۶۱ مطالعات باکتری شناسی - ۶-۳
۶۱ شمارش کلی باکتریهای روده - ۱-۶-۳
۶۱ شمارش کلی باکتریهای اسید لاکتیک روده - ۲-۶-۳
۶۲ بافتشناسی روده - ۷-۳
۶۲ تیمار ۱ (بدون پروبیوتیک) - ۱-۷-۳
۶۴ تیمار ۲ ($1/5 \times 10^9$ CFUg ⁻¹) - ۲-۷-۳
۶۵ تیمار ۳ (3×10^9 CFUg ⁻¹) - ۳-۷-۳
۶۷ تیمار ۴ ($4/5 \times 10^9$ CFUg ⁻¹) - ۴-۷-۳
۷۰ طول متوسط چین های روده - ۸-۳
۷۱ اندازه متوسط پرز های روده ای (میکروویلی) - ۹-۳
۷۲ بحث - ۴
۷۲ بررسی تاثیر پروبیوتیک بر برخی شاخص های رشد تاسماهی ازون برون - ۱-۴
۷۴ بررسی تاثیر پروبیوتیک بر شاخص های خون شناسی تاسماهی ازون برون - ۲-۴
۷۶ بررسی تاثیر پروبیوتیک بر شاخص های بیوشیمیایی خون تاسماهی ازون برون - ۳-۴
۷۹ بررسی تاثیر پروبیوتیک بر شاخص های ایمنی خون تاسماهی ازون برون - ۴-۴
۸۱ تاثیر بر باکتریهای روده - ۵-۴
۸۳ بافت شناسی - ۶-۴
۸۶ نتیجه گیری نهایی - ۵
۸۸ منابع - ۵
۱۰۶ چکیده انگلیسی - ۵

چکیده

با توسعه پرورش ماهیان خاویاری در کشور، امکان بروز و افزایش انواع بیماری های عفونی در مزارع پرورشی می توان انتظار داشت و در این راستا مصرف پروبیوتیک های بومی و اختصاصی در ارتقای سلامت این ماهیان حائز اهمیت خواهد بود.

در این مطالعه ترکیبی از گونه های باکتری های پروبیوتیکی *Lactobacillus curvatus*، *Lactobacillus brevis* و *sakei* *Lactobacillus* اختصاصی تاسماهی ازون برون با نسبت های برابر در غذای مصرفی تاسماهی ازون برون استفاده شد.

در این بررسی ۱۴۴ قطعه تاسماهی ازون برون در مرحله جوان با میانگین وزنی $0.22 \pm 64/94$ 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 فایرگلاس (۱۲ عدد) ۵۰۰ لیتری (با حجم آبگیری ۳۵۰ لیتر) به مدت ۸ هفته پرورش داده شدند. شاخص های 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 آسپاراتات ترانس آمیناز (AST)، آلانین ترانس آمیناز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) لاکتات دهیدروژناز (LDH)، پروتئین کل، کلسترول و گلوکز) سرم خون و ساختار بافتی روده تاسماهی ازون برون جوان در مقایسه با گروه شاهد (فاقد پروبیوتیک) سنجش و مقایسه شدند.

نتایج نشان داد علیرغم عدم مشاهده اختلاف معنی دار آماری بین تیمار های تغذیه شده با پروبیوتیک در شاخص های رشد در مقایسه با گروه شاهد ($p < 0.05$) اما ضریب چاقی، ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه و رشد روزانه و درصد افزایش وزن در تیمار های استفاده شده از پروبیوتیک بهبود یافته بودند. شاخص های خون شناسی و بیوشیمیایی در تیمار های مورد تغذیه با پروبیوتیک (WBC، نوتروفیل، مونوسیت، توتال پروتئین، کلسترول و گلوکز)، در مقایسه با گروه شاهد دارای افزایش معنی داری بودند ($P < 0.05$). در بررسی انجام گرفته بر روی شاخص ایمنی اختصاصی (IgM) و کمپلمان ACH50 نتایج بدست آمده نشان داد که بین تمام تیمار های تغذیه شده با پروبیوتیک، این شاخص ها افزایش معنی داری نسبت به شاهد داشتند ($P < 0.05$). 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 ($P < 0.05$).

بر اساس نتایج اختلاف معنی دار آماری بین میزان شمارش کل باکتریایی در روده در محیط کشت TSA بین تیمارها با شاهد مشاهده نگردید ($p > 0.05$). اما شمارش باکتری های اسید لاکتیک در محیط کشت MRS نشان داد که میزان این نوع باکتری ها در تیمارها روند افزایشی داشته است و بیشترین مقدار در تیمار ۲ و ۳ مشاهده گردید ($P < 0.05$).

با توجه به عدم مشاهده اختلاف معنی دار آماری در اندازه طولی چین‌ها و پرز‌های روده‌ای در قسمت‌های خلفی، قدامی و میانی در تیمارها، نسبت آن به گروه شاهد افزایش نشان داد و نتایج بافتی بخش‌های مختلف روده نشان داد که عوارض آسیبی مشاهده شده در روده تاسماهی ازون برون در تیمار ۲ و ۳ نسبت به سایر تیمارها در وضعیت مناسب‌تری قرار داشت. در مجموع و با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق می‌توان اذعان نمود که دوز بهینه مصرفی پروبیوتیک‌های اختصاصی تاسماهی ازون برون در مرحله جوان مربوط به تیمار (۲) با مقدار ۳۰۰ میلی گرم پروبیوتیک به ازای هر کیلوگرم غذای مصرفی می‌باشد.

کلمات کلیدی: تاسماهی ازون برون، پروبیوتیک اختصاصی، شاخص‌های رشد، خون‌شناسی، شاخص‌های

ایمنی