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

عنوان:

بررسی اثرات پروبیوتیک‌های اختصاصی بر شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی و ایمنی تاسماهیان پرورشی (بچه‌ماهی و جوان)

مجری مسئول:
رضوان‌اله کاظمی

شماره ثبت
۶۲۲۳۹

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

عنوان طرح/پروژه: بررسی اثرات پروبیوتیک‌های اختصاصی بر شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی و ایمنی تاسماهیان پرورشی (بچه‌ماهی و جوان)
کد مصوب: ۹۶۰۳۱-۰۰۶-۱۲-۳۲-۰۱
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: رضوان‌اله کاظمی
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : رضوان‌اله کاظمی
نام و نام خانوادگی مجری: رضوان‌اله کاظمی
نام و نام خانوادگی همکار(ان): -
نام و نام خانوادگی مشاور(ان):-
نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -
محل اجرا: استان گیلان
تاریخ شروع: ۱۳۹۶/۰۲/۰۱
مدت اجرا: ٤ سال و ۱۰ ماه
ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار: سال ۱٤۰۱
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 پروبیوتیک‌های اختصاصی بر شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی و ایمنی تاسماهیان پرورشی (بچه‌ماهی و جوان)

کد مصوب : ۹۶۰۳۱-۰۰۶-۱۲-۳۲-۰۱

شماره ثبت (فروست) : ۶۲۲۳۹ تاریخ : ۱۴۰۱/۷/۹

با مسئولیت اجرایی جناب آقای رضوان‌اله کاظمی دارای مدرک تحصیلی دکتری در رشته شیلات می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح‌نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در تاریخ ۱۴۰۱/۶/۲۸ 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 بین‌المللی ماهیان خاویاری مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۳
۱-۱- ویژگی‌ها و مفاهیم عمومی ۵
۱-۲- مروری بر منابع ۸
۱-۳- اهداف ۱۲
۲- مواد و روش‌ها ۱۳
۲-۱- مکان، زمان و تیمارهای آزمایش ۱۳
۲-۲- تهیه باکتری‌های اسید لاکتیک ۱۵
۲-۳- نمونه‌برداری و جداسازی باکتری‌های اسید لاکتیک ۱۵
۲-۴- نمونه‌برداری خون ۱۷
۲-۵- سنجش شاخص‌های رشد ۱۸
۲-۶- سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی ۱۸
۲-۶-۱- آلانین ترانس آمیناز (ALT) و آسپارتات ترانس آمیناز (AST) ۱۹
۲-۶-۲- آلکالین فسفاتاز (ALP) ۱۹
۲-۶-۳- لاکتات دی هیدروژناز (LDH) ۱۹
۲-۶-۴- ایمنوگلوبولین M (IgM) ۱۹
۲-۶-۵- فعالیت لیزوزیم (LA) ۱۹
۲-۶-۶- پروتئین کل ۱۹
۲-۶-۷- گلوکز ۲۰
۲-۷- آزمایش‌های میکروبی ۲۰
۲-۷-۱- آماده‌سازی محیط‌های کشت ۲۰
۲-۷-۲- آماده‌سازی رقت‌های محلول روده ۲۰
۲-۷-۳- کشت اولیه ۲۱
۲-۷-۴-کشت باکتریایی ۲۱
۲-۸- سنجش یون‌های شاخص تنش شوری و اسمولاریته ۲۱
۲-۹- تهیه مقاطع بافتی روده، آبشش و کلیه ۲۲

۲-۹-۱- آبگیری (جایگزینی الکل به جای آب در بافت)..... ۲۲
۲-۹-۲- شفاف‌سازی..... ۲۲
۲-۹-۳- پارافینه (جهت نرم شدن بافت)..... ۲۳
۲-۹-۴- قالب گیری..... ۲۳
۲-۹-۵- برش..... ۲۳
۲-۹-۶- رنگ‌آمیزی (به روش هماتوکسیلن – ائوزین)..... ۲۳
۲-۹-۷- عکس‌برداری..... ۲۳
۲-۱۰- روش‌های آماری..... ۲۴
۳- نتایج..... ۲۵
۳-۱- نتایج پروژه بچه تاسماهی ایرانی..... ۲۵
۳-۱-۱- شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب..... ۲۵
۳-۱-۲- شاخص‌های رشد..... ۲۵
۳-۱-۳- شاخص‌های ایمنی و بیوشیمیایی..... ۲۹
۳-۱-۴- شاخص‌های باکتریایی روده..... ۳۰
۳-۱-۵- شاخص‌های تنش شوری..... ۳۱
۳-۱-۶- بافت‌شناسی..... ۳۳
۳-۲- نتایج پروژه تاسماهی ایرانی جوان..... ۳۸
۳-۲-۱- شاخص‌های رشد..... ۳۸
۳-۲-۲- شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی..... ۳۹
۳-۲-۳- شاخص‌های تنش شوری..... ۴۰
۳-۲-۴- شاخص‌های باکتریایی روده..... ۴۱
۳-۲-۵- بافت‌شناسی..... ۴۲
۳-۳- نتایج پروژه بچه فیل‌ماهی..... ۴۹
۳-۳-۱-شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب..... ۴۹
۳-۳-۲- شاخص‌های رشد..... ۴۹
۳-۳-۳- شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی..... ۵۰
۳-۳-۴- بافت‌شناسی..... ۵۱
۳-۳-۵- شاخص‌های باکتریایی روده..... ۵۳

۳-۴- نتایج پروژه فیل‌ماهی جوان ۵۴
۳-۴-۱- شاخص‌های رشد ۵۴
۳-۴-۲- شاخص‌های ایمنی ۵۴
۳-۴-۳- شاخص‌های بیوشیمیایی ۵۵
۳-۴-۴- شاخص‌های باکتریایی روده ۵۶
۳-۴-۵- شاخص طولی چین‌های روده ۵۶
۳-۵- نتایج پروژه بچه‌تاسماهی سیبری ۵۷
۳-۵-۱- شاخص‌های رشد ۵۷
۳-۵-۲-شاخص‌های ایمنی ۶۱
۳-۵-۳- شاخص‌های بیوشیمیایی ۶۱
۳-۵-۴- شاخص‌های تنش شوری ۶۴
۳-۵-۵- شاخص‌های باکتریایی روده ۶۵
۳-۵-۶- بافت شناسی ۶۵
۳-۶- نتایج پروژه تاسماهی سیبری جوان ۶۸
۳-۶-۱- شاخص‌های رشد ۶۸
۳-۶-۲- شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی ۶۸
۳-۶-۳- شاخص‌های تنش شوری ۷۰
۳-۶-۴- شاخص‌های باکتریایی روده ۷۱
۳-۶-۵- بافت‌شناسی ۷۲
۳-۷- نتایج پروژه بچه‌ماهی ازون‌برون ۷۹
۳-۷-۱- شاخص‌های رشد ۷۹
۲-۷-۳- شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی ۸۰
۳-۷-۳- شاخص طولی چین‌های روده‌ای ۸۱
۳-۷-۴- بافت‌شناسی ۸۲
۳-۷-۵- شاخص‌های باکتریایی روده ۸۵
۳-۸-۱- شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب ۸۶
۳-۸-۲- شاخص‌های رشد ۸۶
۳-۸-۳- شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی ۸۷

۳-۸-۴- شاخص‌های باکتریایی روده ۸۹
۳-۸-۵- بافت‌شناسی ۸۹
۴- بحث ۹۳
۴-۱- شاخص‌های رشد ۹۳
۴-۲- شاخص‌های آنزیمی، ایمنی و بیوشیمیایی ۹۵
۴-۲-۱- IgM ۹۵
۴-۲-۲- فعالیت آنزیم لیزوزیم ۹۶
۴-۲-۳-آنزیم‌های کبدی و LDH ۹۷
۴-۲-۴- پروتئین کل و گلوکز ۹۸
۴-۳- شاخص باکتریایی روده ۹۹
۴-۴- ساختار بافتی روده، کبد و آبشش ۱۰۲
۴-۵- شاخص‌های تنش شوری ۱۰۵
۶- نتیجه‌گیری ۱۰۷
منابع ۱۰۸
چکیده انگلیسی ۱۱۸

چکیده

این طرح با هشت پروژه و در دو گروه بچه‌ماهی و ماهی جوان از چهار گونه؛ تاسماهی ایرانی، فیل‌ماهی، تاسماهی سیبری و ازون‌برون پرورشی از سال ۱۳۹۶ تا ۱۴۰۰ خورشیدی به مدت ۵ سال در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری به انجام رسید. برای انجام این آزمایش از هر گونه در گروه بچه‌ماهی ۴۸۰ و در گروه جوان ۳۰۰ قطعه به صورت تصادفی به ۱۲ وان فایبرگلاس با حجم کلی هر وان ۵۰۰ لیتر و حجم آبگیری ۳۰۰ لیتر (به ترتیب ۴۰ و ۲۵ قطعه برای هر تکرار) معرفی شدند. ماهیان با ۳ تیمار غذایی (هر تیمار با ۳ تکرار) ۱۵۰ میلی‌گرم یا $۱/۵\times۱۰^{۹}$ واحد تشکیل دهنده کلنی ($CFU\ g^{-1}$)، ۳۰۰ میلی‌گرم یا ۳×۱۰^{۹} واحد تشکیل دهنده کلنی ($CFU\ g^{-1}$) و ۴۵۰ میلی‌گرم یا $۴/۵\times۱۰^{۹}$ واحد تشکیل دهنده کلنی ($CFU\ g^{-1}$) به ازای هر کیلوگرم غذا و گروه شاهد (جیره پایه بدون باکتری‌های پروبیوتیک) به مدت ۲ ماه تغذیه شدند. در این مطالعات، به ترتیب در جیره غذایی تاسماهی ایرانی از چهار گونه باکتری *Lactococcus lactis*، *Pediococcus pentosaceus*، *Weissella cibaria* و *Enterococcus faecalis* ، در فیل‌ماهی و تاسماهی سیبری از دوگونه باکتری *Lactococcus lactis* و *Weissella confusa* و در ازون‌برون از چهار گونه باکتری *Lactobacillus curvatus*، *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus sakei*، *Lactobacillus plantarum* از گروه باکتری‌های اسید لاکتیک (با درصد برابر) جدا شده از روده آنها استفاده شد. در پایان دوره آزمایش، شاخص‌های رشد (وزن کسب شده WG، نرخ رشد ویژه SGR، ضریب چاقی CF، درصد افزایش وزن بدن BWI و ضریب تبدیل غذا FCR)، فلور باکتریایی هوازی و بی‌هوازی اختیاری و باکتری‌های اسید لاکتیک روده، شاخص‌های ایمنی (ایمنوگلوبین M یا IgM، فعالیت لیزوزیم یا LA)، شاخص‌های بیوشیمیایی (فعالیت آنزیم‌های آسپارتات ترانس آمیناز (AST)، آلانین ترانس آمیناز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، پروتئین کل و گلوکز) پلاسمای خون و ساختار بافتی روده ماهیان تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد اندازگیری شد. در پایان آزمایش برای سنجش مقاومت ماهی با شوری در دو گونه تاسماهی ایرانی و تاسماهی سیبری، ۱۰ ماهی از هر تیمار و گروه شاهد به طور مستقیم به آب با شوری ۱۰ در هزار معرفی شدند. اندازه‌گیری شاخص‌های اسمولاریته و یون‌های سدیم، پتاسیم، منیزیوم، کلر و کلسیم پلاسمای خون در ساعات ۰، ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ پس از معرفی و نمونه‌برداری از بافت‌های آبشش و کلیه انجام شد. نتایج نشان داد با افزودن باکتری‌های اختصاصی در غلظت‌های مختلف به جیره غذایی همه گونه‌های مورد مطالعه در هر دو گروه بچه‌ماهی و جوان، شاخص‌های رشد از قبیل ضریب چاقی، ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن و نیز شاخص‌های آنزیمی کبدی (AST، ALT و ALP) و آنزیم LDH در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد، بهبود یافته بودند. همچنین نتایج نشان داد که شاخص‌های ایمنی اختصاصی (IgM) و غیراختصاصی (لیزوزیم)، پروتئین کل و گلوکز نیز در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پروبیوتیک از مقادیر بالاتری برخوردار بودند ($P<۰/۰۵$). نتایج شمارش باکتریایی نیز نشان داد که بیشترین و کمترین میزان شمارش کل باکتریایی در روده با اختلاف معنی‌دار به ترتیب در تیمارهای شاهد

و تیمارهای حاوی پروبیوتیک بود. همچنین شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک نیز نشان داد که بیشترین وکمترین تعداد به ترتیب در ماهیان تیمارهای حاوی پروبیوتیک و گروه شاهد مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). نتایج بافتی بخش‌های مختلف روده نشان داد که آسیب‌های بافتی روده در ماهیان تغذیه شده با جیره پروبیوتیک در مقایسه با ماهیان گروه شاهد کمتر بود. نتایج تنش شوری نشان داد تغییرات شاخص‌های تنظیم اسمزی بویژه اسمولاریته و یون سدیم در ساعات مختلف آزمایش و ساختار بافتی آبشش و کلیه در ماهیان تیمارهای پروبیوتیکی، بهترین عملکرد در تنظیم اسمزی و سازگاری با شوری را داشتند. در مجموع و با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق می‌توان گفت که بهینه غلظت پروبیوتیک‌های اختصاصی در جیره غذایی برای بهبود شاخص‌های رشد، ایمنی و سازگاری تاسماهی ایرانی در مراحل بچه‌ماهی و جوان به ترتیب ۱۵۰ میلی‌گرم یا $۱/۵\times۱۰^{۹}$ و ۳۰۰ میلی‌گرم یا ۳×۱۰^{۹} واحد تشکیل دهنده کلنی ($CFU\ g^{-1}$) در هر کیلوگرم جیره بود. غلظت بهینه پروبیوتیک‌های اختصاصی در جیره غذایی گروه بچه فیل‌ماهی، بچه‌تاسماهی سیبری و جوان، ۳۰۰ میلی‌گرم یا ۳×۱۰^{۹} واحد تشکیل دهنده کلنی ($CFU\ g^{-1}$) در هر کیلوگرم جیره بود. همچنین این غلظت به ترتیب برای فیل‌ماهی جوان و بچه‌ماهی ازون‌برون، ۱۵۰ میلی‌گرم یا $۱/۵\times۱۰^{۹}$ و برای ازون‌برون جوان، ۳۰۰ میلی‌گرم یا ۳×۱۰^{۹} واحد تشکیل دهنده کلنی ($CFU\ g^{-1}$) در هر کیلوگرم جیره ثبت گردید. بنابراین بکارگیری پروبیوتیک‌ها بر اساس نتایج این تحقیق به جیره غذایی ماهیان خاویاری توصیه می‌گردد.

کلمات کلیدی: ماهیان خاویاری، پروبیوتیک‌های اختصاصی، شاخص‌های رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی، تنش شوری، ساختار بافتی روده