

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

عنوان:

مطالعه اثر پروبیوتیک بومی تک سل بر بیان
ژن‌های وابسته به سیستم ایمنی لارو
میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

مجری مسئول:

مریم میربخش

شماره ثبت

۶۸۰۷۴

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - پژوهشکده میگوی کشور

عنوان طرح/پروژه: مطالعه اثر پروبیوتیک بومی تک سل بر بیان ژن های وابسته به سیستم ایمنی لارو میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

کد مصوب: ۰۰۱۲۰۰-۰۰۰۴۷-۰۹۵-۱۲-۱۲-۱۴۷

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: مریم میربخش

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

نام و نام خانوادگی مجری: شاپور کاکولکی

نام و نام خانوادگی همکار(ان): عقیل دشتیان نسب، محمدخلیل پذیر، بابک قائدینا، محمد علی نظاری، احترام

محمدی، مهدی گلشن، فریبرز احتشامی، ابوالفضل سپهداری، محمدرضا سیاح

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -

محل اجرا: استان بوشهر

تاریخ شروع: ۱۴۰۰/۱۲/۰۱

مدت اجرا: ۲ سال و ۶ ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۴

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: مطالعه اثر پروبیوتیک بومی تک سل بر بیان ژن های وابسته به سیستم ایمنی لارو میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

کد مصوب: ۰۰۱۲۰۰-۰۰۰۴۷-۰۹۵-۱۲-۱۲-۱۴۷

شماره ثبت (فروست): ۶۸۰۷۴ تاریخ: ۱۴۰۴/۷/۱۶

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم مریم میربخش دارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته زیست شناسی است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماری های آبزیان در

تاریخ ۱۴۰۴/۰۶/۳۰ مورد ارزیابی و بارتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد ■ پژوهشکده □ مرکز □ ایستگاه □

با سمت عضو هیئت علمی در موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

(ستاد- تهران) مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده		۱
۱- مقدمه		۲
۱-۱ اهمیت میگو در صنعت آبزی پروری		۲
۱-۲-۱ چالش ها و مشکلات موجود		۲
۱-۳-۱ پروبیوتیک ها: تعاریف و انواع		۴
۱-۳-۱-۱ تعریف پروبیوتیک		۴
۱-۳-۲-۱ انواع پروبیوتیک های مورد استفاده در صنعت آبزی پروری		۵
۱-۳-۲-۱-۱ باکتری های فتوسنتز کننده		۶
۱-۳-۲-۲-۱ باکتری های دارای فعالیت آنتاگونیستی		۷
۱-۳-۲-۳-۱ باکتری های بهبود دهنده کیفیت آب		۸
۱-۳-۲-۴-۱ باسیلوس ها		۱۰
۱-۴-۱ اثرات پروبیوتیک		۱۰
۱-۴-۱-۱ رقابت با باکتری ها و عوامل بیماریزا		۱۲
۱-۴-۲-۱ بهبود تغذیه میزبان: هضم آنزیمی		۱۳
۱-۵-۱ سیستم ایمنی میگو		۱۵
۱-۵-۱-۱ ساختار سیستم ایمنی میگو		۱۵
۱-۵-۱-۱-۱ سلول های هیالین		۱۷
۱-۵-۱-۲-۱ سلول های نیمه گرانولار		۱۷
۱-۵-۱-۳-۱ سلول های گرانولار		۱۷
۱-۶-۱ سدهای فیزیکی		۱۷
۱-۷-۱ ایمنی سلولی		۱۷
۱-۷-۱-۱ فاگوسیتوز		۱۷
۱-۷-۲-۱ تشکیل ندول		۱۸
۱-۷-۳-۱ تشکیل کپسول		۱۸
۱-۷-۴-۱ واکنش مسمومیت سلولی		۱۸
۱-۷-۵-۱ واکنش انعقادی		۱۸
۱-۸-۱ ایمنی هومورال		۱۹

۱۹	۱-۸-۱-لکترین ها
۱۹	۱-۸-۲-پیتیدهای ضد میکروبی
۱۹	۱-۸-۳-مولکول های پروتئینی شناساگر
۱۹	۱-۸-۴-سیستم پروفنل اکسیداز
۲۰	۱-۸-۵-مکانیسم عمل
۲۰	۱-۹-۹-عوامل موثر بر سیستم ایمنی میگو
۲۰	۱-۹-۱-ژن های کلیدی در سیستم ایمنی میگو
۲۱	۱-۱۰-۱-مروری بر مطالعات و پژوهش ها
۲۳	۱-۱۰-۱-آغاز استفاده از پروبیوتیک در تکثیر و پرورش میگو
۲۴	۱-۱۰-۲-برخی مطالعات انجام شده در خصوص استفاده از پروبیوتیک در تکثیر و پرورش میگو در خارج از کشور
۲۹	۱-۱۰-۳-برخی مطالعات انجام شده در خصوص استفاده از پروبیوتیک در تکثیر و پرورش میگو در ایران
۳۴	۲-مواد و روش ها
۳۴	۲-۱-تأثیر پروبیوتیک تک سل بر بیان ژن های سیستم ایمنی میگوی سفید غربی
۳۵	۲-۲-تأثیر پروبیوتیک تک سل در پیشگیری از بروز ویبریوزیس در مرحله لاروی میگو
۳۵	۲-۲-۱-آماده سازی باکتری ویبریو هاروی بیماری زا و مواجهه
۳۵	۲-۳-مراحل انجام و بررسی میزان بیان ژن های Prophenoloxidase و Proxinectin
۳۵	۲-۳-۱-مراحل استخراج RNA
۳۶	۲-۳-۲-بررسی کیفیت و کمیت RNA استخراج شده
۳۶	۲-۳-۳-واکنش نسخه برداری معکوس (سنتز cDNA)
۳۷	۲-۳-۳-۱-الکتروفورز محصول PCR
۳۷	۲-۳-۴-آغازگر ژن های پروفنل اکسیداز، پروکسی نکتین و β -Actin برای واکنش Real Time PCR
۳۷	۲-۳-۴-۱-آماده سازی نمونه ها برای Real Time PCR
۳۸	۲-۳-۴-۲-برنامه حرارتی Real Time PCR
۳۸	۲-۳-۴-۳-بررسی کیفیت RNA استخراج شده
۳۹	۲-۳-۴-۴-تعیین غلظت نمونه ها
۳۹	۲-۳-۴-۵-سنتز cDNA و بررسی کیفیت cDNA سنتز شده

۳۹	۲-۴- روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها
۴۰	۳- نتایج
۴۰	۳-۱- تأثیر پروبیوتیک انتخابی بر بیان ژن های سیستم ایمنی میگوی سفید غربی
۴۳	۳-۲- تأثیر پروبیوتیک تک سل در پیشگیری از بروز ویبریزیس
۴۵	۴- بحث
۴۸	۵- نتیجه گیری
۴۹	پیشنهادها
۵۱	منابع
۵۸	چکیده انگلیسی

چکیده

استفاده از پروبیوتیک ها، به عنوان یکی از راهکارهای کاهش مصرف آنتی بیوتیک ها در آبی پروری مورد توجه قرار گرفته است. پروبیوتیک ها میکروارگانیسم هایی هستند که علاوه بر افزایش رشد، اثرات سودمندی بر سیستم ایمنی میزبان و ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری زا دارد، پروبیوتیک تک سل حاوی باکتری مفید جداسازی شده از دستگاه گوارش میگو است که دستیابی به دانش فنی آن توسط پژوهشگران موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور صورت گرفته است. با توجه به پیشینه پژوهشی و اثر مثبت این پروبیوتیک بر شاخص های رشد، آنزیم های گوارشی و سیستم ایمنی میگوی سفید غربی در مرحله پرورش و رفع مشکلات مراکز تکثیر با ارتقای کیفیت لارو و تولید لارو قوی تر، در این پژوهش اثر پروبیوتیک تک سل بعد از مواجهه پست لارو میگوهای سفید غربی با دُزهای 10^6 ، 10^7 و 10^8 (CFU ml⁻¹) بر سیستم ایمنی مراحل لاروی سیستم ایمنی میگوی سفید غربی در مقایسه با تیمار کنترل از طریق ارزیابی بیان ژن های سیستم ایمنی و میزان مرگ و میر تجمعی پست لارهای میگو پس از مواجهه با باکتری ویریو هاروی مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش از دو پرایمر اختصاصی (Pro و Pe (Peroxinectin) و بتا اکتین به عنوان ژن خانه نگه دار با استفاده از روش مولکولی Real-Time PCR به منظور تشخیص بیان ژن های مرتبط با ایمنی استفاده شد. میانگین نسبت بیان ژن های Pro و Pe در همه تیمارهای پروبیوتیکی در مقایسه با تیمار کنترل بالاتر بوده و دارای اختلاف معنی داری بودند ($P < 0.05$). همچنین میزان مرگ و میر تجمعی پس از مواجهه با باکتری ویریو هاروی، در تیمارهای پروبیوتیک با کنترل اختلاف معنی داری داشت، بیشترین میزان مرگ و میر در تیمار T2 (کنترل منفی) و کمترین آن در تیمار T5 (10^8 CFU ml⁻¹) پروبیوتیک تک سل) بود.

کلمات کلیدی: میگوی سفید غربی، پروبیوتیک، تک سل، پست لارو، ژن سیستم ایمنی، ویریوزیس