

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

عنوان:

**ارزیابی تأثیر کنسرسیوم میکروارگانیسم‌های
پروبیوتیک بومی بر پاسخ‌های ایمنی و وضعیت تغذیه‌ای
میگو سفید غربی (*Penaeus vannamei*)**

مجری:

سجاد پورمظفر

شماره ثبت

۶۴۸۷۹

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

عنوان طرح/پروژه: ارزیابی تأثیر کنسرسیوم میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک بومی بر پاسخ‌های ایمنی و وضعیت تغذیه‌ای میگو سفید غربی (*Penaeus vannamei*)

کد مصوب: ۰۰۰۰۰۶-۰۰۳-۱۲-۷۵-۲۴

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: سجاد پورمظفر

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه‌ها و طرح‌های ملی و مشترک دارد): -

نام و نام خانوادگی مجری: سجاد پورمظفر

نام و نام خانوادگی همکار(ان): محسن گذری، سعید تمدنی جهرمی، رقیه خاوند، شهرام صیدمرادی، کوروش خواجه‌نوری، مجید نوروزی، رامین کریم زاده، مریم معزی، حجت‌الله فروغی فرد، کیومرث روحانی قادیکلایی، حسین رامشی، محمدرضا زاهدی، شهرام صیدمرادی، عیسی عبدالعلیان، شاپور کاکولکی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): فریبرز احتشامی

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -

محل اجرا: استان هرمزگان

تاریخ شروع: ۱۴۰۰/۰۴/۰۱

مدت اجرا: ۲ سال و ۵ ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۲

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

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: ارزیابی تأثیر کنسرسیون میکروارگانسیم‌های پروبیوتیک
بومی بر پاسخ‌های ایمنی و وضعیت تغذیه‌ای میگو سفید غربی
(*Penaeus vannamei*)

کد مصوب: ۲۴-۷۵-۱۲-۰۰۳-۰۰۰۰۰۰۶

شماره ثبت (فروست): ۶۴۸۷۹ تاریخ: ۱۴۰۲/۱۱/۱۸

با مسئولیت اجرایی جناب آقای سجاد پورمظفر دارای مدرک
تحصیلی دکتری تخصصی در رشته شیلات است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان در

تاریخ ۱۴۰۲/۱۱/۱ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد ☐ پژوهشکده ☒ مرکز ☐ ایستگاه ☐

با سمت عضو هیئت علمی / محقق غیر هیئت علمی در پژوهشکده

اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده.....		۱
۱-مقدمه.....		۳
۱-۱- پروبیوتیک.....		۳
۱-۱-۱- کنسرسیوم پروبیوتیک.....		۵
۱-۲- میگوی وانامی.....		۶
۱-۲-۱- پتیدهای ضد میکروبی.....		۷
۱-۲-۲-۱- لیزوزیم.....		۸
۱-۲-۲-۲-۱- کراستین.....		۹
۱-۳- ضرورت انجام تحقیق.....		۹
۱-۴- سوالات تحقیق.....		۱۰
۱-۵- اهداف پروژه.....		۱۰
۱-۶- فرضیه‌های تحقیق.....		۱۰
۲- پیشینه تحقیق.....		۱۱
۲-۱- مروری بر مطالعات داخلی.....		۱۱
۲-۲- مروری بر مطالعات انجام گرفته در خارج از کشور.....		۱۲
۳- مواد و روش‌ها.....		۱۶
۳-۱- تهیه میگو و سازگاری به شرایط آزمایشگاهی.....		۱۶
۳-۲- تهیه غذا، فرموله کردن با کنسرسیوم پروبیوتیک و غذادهی.....		۱۷
۳-۳- سنجش بیان نسبی ژن‌های لیزوزیم و کراستین.....		۱۹
۳-۳-۱- نمونه‌برداری جهت مطالعات بیان ژن.....		۱۹
۳-۳-۲- استخراج RNA.....		۱۹
۳-۳-۳- ارزیابی کیفیت RNA استخراج شده.....		۲۱
۳-۴-۳- ارزیابی کمی (تعیین غلظت) RNA.....		۲۱
۳-۵-۳- حذف DNA.....		۲۱
۳-۶-۳- سنتز cDNA.....		۲۲
۳-۷-۳- طراحی پرایمر برای ژن‌های لیزوزیم و کراستین.....		۲۲

۲۳	۳-۳-۸- انجام PCR برای تست cDNA و پرایمرها
۲۳	۳-۳-۹- Real time PCR
۲۳	۳-۳-۱۰- ارزیابی عملکرد آغازگرهای به کار رفته با استفاده از منحنی استاندارد
۲۴	۳-۴- بافت‌شناسی هپاتوپانکراس
۲۴	۳-۵- استخراج همولنف
۲۵	۳-۵-۱- اندازه‌گیری گلوکز
۲۵	۳-۵-۲- اندازه‌گیری تری‌گلیسیرید
۲۵	۳-۵-۳- اندازه‌گیری کلسترول
۲۵	۳-۵-۴- سنجش غلظت پروتئین
۲۶	۳-۵-۵- اندازه‌گیری آلبومین
۲۶	۳-۵-۶- شمارش سلول‌های هموسیت کل
۲۶	۳-۵-۷- شمارش تفریقی هموسیت‌ها
۲۷	۳-۶- آنالیز آماری
۲۸	۴- نتایج
۲۸	۴-۱- بیان ژن‌های کراستین و لیزوزیم
۳۰	۴-۲- گلوکز
۳۱	۴-۳- تری‌گلیسیرید
۳۲	۴-۴- کلسترول
۳۲	۴-۵- پروتئین
۳۳	۴-۶- آلبومین
۳۴	۴-۷- شمارش کل و افتراقی هموسیت‌ها
۳۶	۴-۸- شمارش سلول ترشحی
۳۸	۵- بحث
۴۵	۶- نتیجه‌گیری
۴۶	۷- پیشنهادها
۴۶	۷-۱- پیشنهاد پژوهشی
۴۶	۷-۲- پیشنهاد تجاری سازی محصول

منابع ۴۷

چکیده انگلیسی ۵۶

چکیدہ

هدف از این مطالعه، بررسی اثر کنسرسیوم باکتریایی جدا شده از بافت میگوی وانامی بر شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف، بیان ژن‌های لیزوزیم و کراستین و یکپارچگی هیپاتوپانکراس در میگوی وانامی می‌باشد. میگوها با میانگین اولیه $0/01 \pm 0/11$ گرم با رژیم غذایی حاوی کنسرسیوم باکتریایی تغذیه شدند. میگوها (۳۰ قطعه میگو در هر تانک) در تانک‌های پلی اتیلن ۳۰۰ لیتری به مدت ۳۰ روز ذخیره‌سازی شدند. بازه زمانی انجام این پروژه تیرماه ۱۴۰۰ تا آذر ۱۴۰۱ بود. فرمولاسیون‌های مختلف کنسرسیوم پروبیوتیک (تیمار ۱ تا ۸) استفاده شد. کنسرسیوم باکتریایی در تیمارها شامل:

تیمار ۱: *Bacillus velezensis* (strain H)، *Bacillus safensis*، *Bacillus subtilis* (strain NT 73)، *Bacillus velezensis* (strain NT 8)

تیمار ۲: *B. velezensis* (strain)، *B. safensis* (strain H 303)، *B. subtilis* (strain NT 73)، *B. velezensis* (strain NT 8)

تیمار ۳: *B. velezensis* (strain)، *Alteromonas macleodii* (strain ST 85)، *Pseudomonas celery* (strain NT 72)، *Virgibacillus salaries* (strain NT 8)، *B. subtilis* (strain NT 73)، *B. safensis* (strain H 303)، *B. velezensis* (strain H 331)

تیمار ۴: *Aeromonas media* (strain B 1083)، *Virgibacillus salaries* (strain NT 12)، *B. subtilis* (strain NT 73)، *B. velezensis* (strain NT 8)

تیمار ۵: *Ps. celer* (strain NT 72)، *Vir. salarius* (strain NT 12)، *B. velezensis* (strain H 331)، *B. safensis* (strain H 303)

تیمار ۶: *Alteromonas macleodii* (strain ST 85)، *salarius* (strain NT 12)، *B. subtilis* (strain NT 73)، *B. velezensis* (strain NT 8)

تیمار ۷: *stutzeri* (strain NT 107)، *B. safensis* (strain H 303)، *B. subtilis* (strain NT 73)، *B. velezensis* (strain NT 8)

تیمار ۸: *P. stutzeri* (strain NT 107)، *Ps. celer* (strain NT 72)، *B. velezensis* (strain H 331)

تیمارهای ۷ و ۸ نیز به آب اضافه شدند. تیمار شاهد فاقد کنسرسیوم پروبیوتیکی بود. این پروژه دارای ۹ تیمار آزمایشی و سه تکرار بود. در پایان دوره از همولنف و هیپاتوپانکراس میگوها نمونه‌برداری شد. نتایج نشان داد که میزان گلوکز به جز در تیمار ۸ روندی کاهشی داشت به طوری که در تیمارهای ۴ و ۵ کمترین میزان گلوکز مشاهده شد ($P < 0/05$). میزان تری گلیسیرید در تیمارهای ۳، ۴، ۵، ۷ و ۸ کاهش معنی داری داشت ($P < 0.05$). میزان کلسترول در تیمارهای ۴ تا ۸، نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی داری داشت ($P < 0.05$). تفاوت معنی دار در میزان پروتئین همولنف و تعداد سلول‌های ترشحی هیپاتوپانکراس میان تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$).

تیمار ۵ کمترین میزان آلبومین در مقایسه با سایر تیمارها داشت. به علاوه، میزان آلبومین در تیمارهای ۴، ۷ و ۸ کاهش معنی داری نسبت به تیمار شاهد داشت ($P < 0.05$). تعداد کل هموسیت ها و سلول های گرانولار بزرگ در تیمارهای ۲ تا ۶ افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد داشت ($P < 0.05$). به علاوه بیشترین میزان سلول های هیالینی و نیمه گرانولار در تیمار ۴ مشاهده شد ($P < 0.05$). افزایش معنی دار در بیان ژن لیزوزیم در تمام تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به تیمار شاهد وجود داشت ($P < 0.001$). همچنین افزایش معنی دار در بیان ژن کراستین در تیمارهای ۲، ۳، ۵، ۷ و ۸ مشاهده شد ($P < 0.05$).

0.001). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کنسرسیوم پروبیوتیکی اثر مثبت و سودمند بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه داشت. براساس نتایج به دست آمده، تیمارهای ۵ و ۶ بهترین تیمار پروبیوتیکی بود. لذا این کنسرسیوم می‌تواند به طور موثر در مزارع پرورش میگو برای تقویت سیستم ایمنی میگوی وانامی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: کنسرسیوم پروبیوتیک، میگوی وانامی، شاخص‌های فیزیولوژیک، بیان ژن