

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

عنوان:

**اثرات پروبیوتیک‌های (*Lactobacillus* sp.) و (*B. cereus*) و**

***Bacillus thuringiensis* در جیره غذایی بر عملکرد**

**رشد و مقاومت در برابر باکتری ویبریو هاروی (*Vibrio harveyi*)**

**در ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*)**

مجری مسئول:

منصور طرفی موزان زاده

شماره ثبت

۶۳۵۸۲

وزارت جهاد کشاورزی  
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی  
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - دانشگاه شهید چمران اهواز - پژوهشکده آبی پروری جنوب  
کشور

عنوان طرح/پروژه: اثرات پروبیوتیک های (*Lactobacillus sp.*) و (*B. cereus* و *Bacillus thuringiensis*) در  
جیره ی غذایی بر عملکرد رشد و مقاومت در برابر باکتری ویبریو هاروی (*Vibrio harveyi*) در ماهی باس  
دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*)

کد مصوب: ۰۰۰۶۹۵-۰۰۴۷-۱۲۵۱-۳-۷۴

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: منصور طرفی موزان زاده

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرح های ملی و مشترک دارد): منصور طرفی  
موزان زاده

نام و نام خانوادگی مجری استانی: تکاور محمدیان

نام و نام خانوادگی همکار(ان): مینا آهنگر زاده، حسین هوشمند، مجتبی ذبایح نجف آبادی، عبدالرحیم

اصولی، حمید سقاوی، جواد منعم، شاپور مهرجویان، الهام اسروش، مصیب سیدی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): ابوالفضل سپهداری، مریم میربخش

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -

محل اجرا: استان های تهران و خوزستان

تاریخ شروع: ۱۴۰۰/۹/۱

مدت اجرا: ۱ سال

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۲

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: اثرات پروبیوتیک های (*Lactobacillus sp.*) و (*B. cereus* و *Bacillus thuringiensis*) در جیره ی غذایی بر عملکرد رشد و مقاومت در برابر باکتری ویبریو هاروی (*Vibrio harveyi*) در

ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*)

کد مصوب: ۰۰۰۰۶۹۵-۰۴۷-۱۲۵۱-۳-۷۴

شماره ثبت (فروست): ۶۳۵۸۷ تاریخ: ۱۴۰۲/۳/۲۰

با مسئولیت اجرایی جناب آقای منصور طرفی موزان زاده دارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته شیلات است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش

آبزیان در تاریخ ۱۴۰۲/۲/۲۵ مورد ارزیابی و بارتبه عالی تأیید

گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد  پژوهشکده  مرکز  ایستگاه

با سمت عضو هیئت علمی در پژوهشکده آبزی پروری جنوب

کشور مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده	.....	۱
۱-مقدمه	.....	۲
۱-۲- ماهی باس دریایی آسیایی	.....	۴
۱-۲-۱- جایگاه سیستماتیک	.....	۵
۱-۳- پروبیوتیک‌ها	.....	۸
۱-۳-۱- مکانیزم عمل پروبیوتیک‌ها	.....	۹
۱-۳-۲- تولید ترکیبات باز دارنده	.....	۱۰
۱-۴- رقابت برای محل اتصال	.....	۱۰
۱-۵- رقابت برای بدست آوردن مواد شیمیایی و انرژی قابل دسترس	.....	۱۰
۱-۶- بهبود کیفیت آب	.....	۱۱
۱-۷- رقابت برای بدست آوردن آهن	.....	۱۱
۱-۸- لاکتوباسیلوس‌ها	.....	۱۲
۱-۹- گونه‌های باسیلوس	.....	۱۲
۱-۱۰- مکانیسم درک حد نصاب	.....	۱۳
۱-۱۱- باکتری‌های بیماری‌زای جنس ویبریو	.....	۱۴
۱-۱۱-۱- ویبریو هاروی ( <i>V. harveyi</i> )	.....	۱۵
۱-۱۲- اهداف	.....	۱۷
۱-۱۳- سوالات و فرضیات تحقیق	.....	۱۷
۲- سابقه تحقیق	.....	۱۸
۲-۱- منابع داخل کشور	.....	۱۸
۲-۲- منابع خارج کشور	.....	۲۰
۳- مواد و روش‌ها	.....	۲۳
۳-۱- وسایل مورد استفاده	.....	۲۳
۳-۲- مواد مورد استفاده	.....	۲۳
۳-۳- محل انجام مطالعه	.....	۲۳
۳-۴- تأمین بچه ماهیان لازم	.....	۲۴
۳-۵- تهیه باکتری‌های باسیلوس با توان پروبیوتیکی	.....	۲۴
۳-۶- تهیه جیره غذایی حاوی باکتری‌های پروبیوتیک انتخابی	.....	۲۵

- ۲۶ ..... ۳-۷- استراتژی های تغذیه
- ۲۶ ..... ۳-۸- جمع آوری نمونه ها
- ۲۸ ..... ۳-۹- اندازه گیری شاخص های رشد
- ۲۸ ..... ۳-۱۰- ارزیابی برخی از شاخص های مرتبط با ایمنی ذاتی
- ۲۸ ..... ۳-۱۰-۱- اندازه گیری میزان فعالیت کمپلمان پلاسما
- ۲۹ ..... ۳-۱۰-۲- اندازه گیری فعالیت لیزوزیم پلاسما
- ۲۹ ..... ۳-۱۰-۳- اندازه گیری گلوبولین پلاسما
- ۲۹ ..... ۳-۱۰-۴- اندازه گیری فعالیت انفجار تنفسی (احیا NBT)
- ۲۹ ..... ۳-۱۱- سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی
- ۳۰ ..... ۳-۱۱-۱- سنجش آنزیم کاتالاز
- ۳۰ ..... ۳-۱۱-۲- اندازه گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)
- ۳۱ ..... ۳-۱۱-۳- اندازه گیری میزان گلو تاتیون (GSH):
- ۳۱ ..... ۳-۱۲- ارزیابی آنزیم های گوارشی
- ۳۲ ..... ۳-۱۲-۱- تعیین فعالیت آنزیم های گوارشی
- ۳۲ ..... ۳-۱۲-۲- سنجش غلظت پروتئین محلول نمونه های هموژن شده
- ۳۳ ..... ۳-۱۲-۳- سنجش فعالیت آنزیم تریپسین
- ۳۳ ..... ۳-۱۲-۴- سنجش فعالیت آنزیم کیموتریپسین
- ۳۴ ..... ۳-۱۲-۵- سنجش فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز
- ۳۵ ..... ۳-۱۲-۶- سنجش فعالیت آنزیم لیپاز
- ۳۶ ..... ۳-۱۲-۷- سنجش فعالیت فسفاتاز قلیایی
- ۳۶ ..... ۳-۱۲-۸- سنجش فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز کل
- ۳۶ ..... ۳-۱۳- آنالیز فاکتورهای بیوشیمیایی و هماتولوژی خون
- ۳۷ ..... ۳-۱۳-۱- رنگ آمیزی و بررسی گسترش های خونی
- ۳۷ ..... ۳-۱۳-۲- تعیین میزان هماتوکریت
- ۳۷ ..... ۳-۱۳-۳- تعیین مقدار هموگلوبین
- ۳۷ ..... ۳-۱۳-۴- شمارش گلبول های قرمز (RBC)
- ۳۸ ..... ۳-۱۳-۵- شمارش گلبول های سفید (WBC)
- ۳۸ ..... ۳-۱۴- اندازه گیری آنزیم های کبدی

۳۸	..... بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی
۳۹	..... محاسبه غلظت کشنده (LC50) و چالش باکتریایی
۴۰	..... چالش با دو برابر LD 50
۴۰	..... تجزیه و تحلیل آماری
۴۲	..... نتایج
۴۲	..... ۱-۴ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر شاخص‌های رشد و تغذیه ماهی باس دریایی آسیایی
۴۳	..... ۲-۴ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر آنزیم‌های گوارشی ماهی باس دریایی آسیایی
۴۳	..... ۳-۴ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی کبد و سرم
۴۵	..... ۴-۴ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر آنزیم‌های کبدی پلاسما در ماهی باس دریایی آسیایی
۴۵	..... ۵-۴ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر بازماندگی بعد از چالش با ویبریو هاروی در ماهی باس دریایی آسیایی
۴۶	..... ۶-۴ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر شاخص‌های خونی قبل و بعد از چالش با ویبریو هاروی در ماهی باس دریایی آسیایی
۴۶	..... ۷-۴ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر شاخص‌های ایمنی مایعی قبل و بعد از چالش با ویبریو هاروی در ماهی باس دریایی آسیایی
۴۷	..... ۸-۴ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر شاخص‌های مرتبط با ایمنی در ماهی باس دریایی آسیایی
۵۰	..... ۵- بحث و نتیجه‌گیری
۵۰	..... ۱-۵ اثر مکمل مخلوط پروبیوتیک‌ها بر رشد
۵۱	..... ۲-۵ اثر مکمل مخلوط پروبیوتیک‌ها بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی
۵۱	..... ۳-۵ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی کبد و سرم
۵۲	..... ۴-۵ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر آنزیم‌های کبدی
۵۴	..... ۵-۵ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر بازماندگی ماهیان پس از چالش باکتریایی
۵۵	..... ۶-۵ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر شاخص‌های خونی
۵۵	..... ۷-۵ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر شاخص‌های ایمنی
۵۶	..... ۸-۵ اثرات پروبیوتیک‌ها و استراتژی تغذیه بر بیان ژن‌های ایمنی
۵۸	..... ۶- نتیجه‌گیری کلی
۵۹	..... منابع
۶۷	..... چکیده انگلیسی

## چکیده

در مطالعه حاضر اثرات مخلوط‌های پروبیوتیک‌های مختلف بر عملکرد رشد، خون‌شناسی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماهیان باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) (۳۰ گرم) انجام شد. در این تحقیق از سه مخلوط باکتریایی جداسازی شده از گونه‌های آبی بومی خوزستان و جنوب کشور استفاده شد که عبارتند از: سویه‌های مختلف لاکتوباسیلوس پلانٹاروم، گروه دوم شامل *L. plantarum* با مخلوط *L. bulgaricus*، *L. acidophilus* و *L. rhamnosus* و گروه سوم شامل مخلوط باکتری‌های گروه اول و دوم به همراه مخلوط *B. cereus* و *B. thuringiensis* که از طریق ویژگی ضد درک حد نصاب در برابر باکتری ویبریو هاروی شناسایی و از ماهی باس آسیایی جدا شدند. چهار تیمار با اسپری مخلوط باکتریایی مختلف روی جیره پایه، که شامل جیره (۱) گروه شاهد بود، که در آن فقط سرم فیزیولوژی استریل روی جیره غذایی اسپری شد، جیره (۲) که روی آن مخلوط باکتری‌های گروه اول روی جیره اسپری شد، جیره (۳) که مخلوط باکتری‌های گروه دوم روی آن اسپری شد و جیره (۴) که مخلوط همه‌ی باکتری‌ها روی آن اسپری شد. سه تیمار دیگر هم به صورت دو هفته در میان با جیره‌های شماره ۲، ۳ و چهار به ماهیان خورانده شدند و تیمارهای ۵، ۶ و ۷ را تشکیل دادند. ماهی‌ها با جیره‌های آزمایشی چهار بار در روز تا سیر شدن در دمای ۳۰/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰۰ روز تغذیه شدند. در این مطالعه، ماهی‌هایی که با جیره‌های ۲، ۳ و ۴ تغذیه شدند، رشد بیشتری نسبت به شاهد داشتند که با بهبود ضریب تبدیل غذایی همراه بود ( $P < 0.05$ ). ماهیانی که به صورت دو هفته در میان با جیره‌های حاوی مخلوط پروبیوتیک‌ها تغذیه شده بودند، دارای رشد حد واسط بوده اما تیمار شماره ۵ رشد کمتری نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد. فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهیان تغذیه شده با پروبیوتیک‌ها نسبت به جیره‌ی شاهد نسبتاً افزایش را نشان داد. شاخص‌های خونی، آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های کبدی در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مخلوط پروبیوتیک‌ها بهبود یافت. در طول یک هفته چالش با باکتری ویبریو هاروی، ماهیان تیمار ۴ که به طور پیوسته با مخلوط تمامی پروبیوتیک‌ها تغذیه شده بودند دارای بیشترین بازماندگی (۵۰٪) بودند. تیمار ۴ پروتئین تام پلاسما و آلبومین بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشت. بیان ژنهای اینترلوکین-۱۰ و فاکتور محرک تشکیل کولونی‌های گرانولوسیت‌ها در تیمار ۴ بیشتر از سایر تیمارها بود. همچنین ماهیانی که به طور پیوسته با مخلوط‌های پروبیوتیکی تغذیه شدند دارای بیان نسبی بیشتری در ژنهای یاد شده نسبت به ماهیانی که دو هفته یکبار با مخلوط‌های پروبیوتیکی تغذیه شدند، بودند. در مجموع، استفاده از مخلوطی از پروبیوتیک‌های مختلف به صورت پیوسته باعث افزایش رشد در ماهی باس دریایی آسیایی شد که با بهبود شاخص‌های سلامتی در این گونه همراه بود.

**کلمات کلیدی:** پروبیوتیک، ماهیان دریایی، ضریب تبدیل غذایی، هموگلوبین، سوپر اکسید دیسموتاز