

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

عنوان:

**اثرات تغذیه پلی فنول خالص برگ زیتون بر روی  
شاخص های رشد، ایمنی غیر اختصاصی،  
فعالیت آنتی اکسیدانی، بیان ژن ایمنی روده‌ای و  
افزایش مقاومت در برابر استرس آمونیاکی در  
بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)**

مجری:

رودابه روفچائی

شماره ثبت

۶۶۱۳۹

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

عنوان طرح/پروژه: اثرات تغذیه پلی فنول خالص برگ زیتون بر روی شاخص های رشد، ایمنی غیر اختصاصی  
فعالیت آنتی اکسیدانی، بیان ژن ایمنی روده ای و افزایش مقاومت در برابر استرس آمونیاکی در بچه ماهی  
قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

کد مصوب: ۰۰۰۷۹۱-۰۵۸-۱۲-۷۳-۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: رودابه روفچائی

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

نام و نام خانوادگی مجری: رودابه روفچائی

نام و نام خانوادگی همکار(ان): صاحبعلی قربانی، محمدرضا رضانی مامودانی، سیدمحمد صلواتیان، محدث  
قاسمی، علی عابدینی، ابوالفضل سپهداری، شیوا ندائی، رقيه صفري، امید ایمنی تملي، محمد صیاد بورانی،  
سیدمهدی عباس محمدی، عادل حسین جانی، سیدحسین حسینی فر، حجت اله محسن پور آبکنار  
نام و نام خانوادگی مشاور(ان):

محل اجرا: استان گیلان

تاریخ شروع: ۱۴۰۰/۱۰/۰۱

مدت اجرا: ۱ سال و شش ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۳

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 تغذیه پلی فنول خالص برگ زیتون بر روی شاخص های رشد، ایمنی غیراختصاصی فعالیت آنتی اکسیدانی، بیان ژن ایمنی روده ای و افزایش مقاومت در برابر استرس آمونیاکی در

بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان

کد مصوب: ۰۰۰۷۹۱-۰۵۸-۱۲-۷۳-۲

شماره ثبت (فروست): ۶۶۱۳۹ تاریخ: ۱۴۰۳/۷/۲۳

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم رودابه روفچاهی دارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته مهندسی منابع طبیعی است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در

تاریخ ۱۴۰۳/۷/۸ مورد ارزیابی و با رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد  پژوهشکده  مرکز  ایستگاه

با سمت محقق غیر هیئت علمی در پژوهشکده آبی پروری آبهای

داخلی مشغول بوده است.

| صفحه | عنوان  | «فهرست مندرجات» |
|------|--|-----------------|
| ۱    | چکیده  | ۱               |
| ۲    | ۱- مقدمه   | ۲               |
| ۳    | ۱-۱- محرک‌های سیستم ایمنی  | ۳               |
| ۳    | ۲-۱- انواع محرک‌های سیستم ایمنی  | ۳               |
| ۴    | ۳-۱- محرک‌های رشد  | ۴               |
| ۵    | ۴-۱- پلی فنول برگ درخت زیتون (POL)   | ۵               |
| ۷    | ۵-۱- اهمیت پرورش ماهی قزل آلا  | ۷               |
| ۸    | ۶-۱- سیستم ایمنی ذاتی در ماهی  | ۸               |
| ۸    | ۷-۱- موکوس پوست ماهی   | ۸               |
| ۱۰   | ۱-۷-۱- لیزوزیم   | ۱۰              |
| ۱۰   | ۲-۷-۱- ایمونوگلوبولین  | ۱۰              |
| ۱۰   | ۸-۱- سوالات محوری، فرضیه‌ها و اهداف تحقیق  | ۱۰              |
| ۱۱   | ۹-۱- فرضیه‌ها  | ۱۱              |
| ۱۱   | ۱۰-۱- اهداف  | ۱۱              |
| ۱۲   | ۲- مواد و روش‌ها   | ۱۲              |
| ۱۲   | ۱-۲- محل اجرای تحقیق   | ۱۲              |
| ۱۲   | ۲-۲- تهیه مخازن پرورش و ذخیره‌سازی بچه‌ماهی‌ها   | ۱۲              |
|      | ۲-۲-۱- مکمل تغذیه ای فایتوبیوتیکی و تهیه جیره و نحوه‌ی افزودن عصاره برگ درخت زیتون (POL) به غذای مصرفی | ۱۲              |
| ۱۳   | ۲-۲-۲- تغذیه بچه ماهی‌ها با تیمارهای آزمایشی   | ۱۳              |
| ۱۳   | ۳-۲-۲- بررسی کیفی بچه‌ماهی‌ها در طول دوره آزمایش   | ۱۳              |
| ۱۳   | ۳-۲-۳- کنترل کمی و کیفی محیط پرورش بچه‌ماهی‌ها   | ۱۳              |
| ۱۳   | ۱-۳-۲- کنترل کمی   | ۱۳              |
| ۱۳   | ۲-۳-۲- کنترل کیفی  | ۱۳              |
| ۱۴   | ۴-۲- زیست‌سنجی   | ۱۴              |
| ۱۴   | ۵-۲- شاخص‌های رشد  | ۱۴              |

- ۱۴ ..... ۲-۵-۱- محاسبه برخی از شاخص های رشد بچه ماهیان قزل الا
- ۱۵ ..... ۲-۵-۲- نرخ رشد ویژه (Hevroy et al., 2005)
- ۱۵ ..... ۲-۵-۳- ضریب تبدیل غذایی (Hevroy et al., 2005)
- ۱۵ ..... ۲-۵-۴- محاسبه درصد بقاء (Ai et al., 2006)
- ۱۵ ..... ۲-۶-۶- خون گیری و جمع آوری سرم
- ۱۶ ..... ۲-۶-۱- شمارش گلبول های سفید
- ۱۶ ..... ۲-۶-۲- شمارش گلبول قرمز
- ۱۶ ..... ۲-۶-۳- اندازه گیری هماتوکریت
- ۱۷ ..... ۲-۶-۴- اندازه گیری میزان هموگلوبین
- ۱۷ ..... ۲-۶-۵- تعیین اندیس های خونی
- ۱۸ ..... ۲-۷-۷- بررسی شاخص های ایمنی
- ۱۸ ..... ۲-۷-۱- شاخص های سرمی
- ۱۸ ..... ۲-۷-۱-۱- سنجش فعالیت آنزیم لیزوزیم سرم
- ۱۸ ..... ۲-۷-۱-۲- سنجش میزان ایمونوگلوبولین کل سرم خون
- ۱۸ ..... ۲-۷-۲- شاخص های موکوسی
- ۱۸ ..... ۲-۷-۱-۲- جمع آوری موکوس
- ۱۹ ..... ۲-۷-۲-۲- سنجش فعالیت آنزیم لیزوزیم
- ۱۹ ..... ۲-۷-۲-۳- ایمونوگلوبولین کل موکوس
- ۱۹ ..... ۲-۸-۸- سنجش میزان درصد فعالیت آنتی اکسیدان کل سرم خون
- ۲۰ ..... ۲-۹-۹- بیان ژن
- ۲۰ ..... ۲-۹-۱- نمونه برداری
- ۲۰ ..... ۲-۹-۲- استخراج RNA
- ۲۰ ..... ۲-۹-۳- ارزیابی RNA
- ۲۰ ..... ۲-۹-۴- سنتز cDNA
- ۲۱ ..... ۲-۹-۵- انجام Real-time PCR
- ۲۱ ..... ۲-۱۰-۱- روش کار بررسی استرس آمونیاکی
- ۲۲ ..... ۲-۱۱-۱۱- روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها

|   |    |
|---|----|
| ۳- نتایج  | ۲۳ |
| ۳-۱- اثرات پلی فنولی برگ درخت زیتون خوراکی (POL) بر شاخص های رشد و بقاء                         | ۲۳ |
| ۳-۲- اثرات (POL) بر پارامترهای خون شناسی  | ۲۳ |
| ۳-۳- شاخص های ایمنی   | ۲۴ |
| ۳-۳-۱- اثرات استفاده از (POL) بر ایمونوگلوبولین سرم و موکوس                                     | ۲۴ |
| ۳-۳-۲- اثرات استفاده از (POL) بر فعالیت لیزوزیم سرم و موکوس                                     | ۲۵ |
| ۳-۳-۳- اثرات استفاده از (POL) بر درصد فعالیت آنتی اکسیدانی کل                                   | ۲۷ |
| ۳-۴- اثرات استفاده از (POL) بر بیان نسبی برخی ژن های ایمنی روده ای (تایت جانکشن)                | ۲۸ |
| ۳-۵- اثر تغذیه POL بر مسمومیت آمونیاکی  | ۳۰ |
| ۳-۶- درصد بقا بعد چالش آمونیاکی   | ۳۱ |
| ۴- بحث  | ۳۳ |
| ۴-۱- تاثیر تغذیه (POL) بر شاخص های رشد بچه ماهی قزل آلا   | ۳۳ |
| ۴-۲- تاثیر تغذیه (POL) بر شاخص های خون شناسی بچه ماهی قزل آلا                                   | ۳۴ |
| ۴-۳- تاثیر تغذیه (POL) بر برخی شاخص های ایمنی غیر اختصاصی سرم و موکوس ماهی قزل آلا ی رنگین کمان | ۳۵ |
| ۴-۴- تاثیر تغذیه (POL) بر فعالیت آنتی اکسیدانی سرم بچه ماهی قزل آلا                             | ۳۶ |
| ۴-۵- تاثیر تغذیه (POL) بر بیان نسبی ژن های مربوط به ایمنی ماهی قزل آلا ی رنگین کمان             | ۳۷ |
| ۴-۶- تاثیر تغذیه (POL) در چالش آمونیاکی   | ۳۸ |
| ۵- نتیجه گیری   | ۳۹ |
| منابع   | ۴۰ |
| چکیده انگلیسی   | ۴۵ |

## چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثرات عصاره پلی فنولی درخت زیتون (POL)<sup>۱</sup> در جیره بر عملکرد رشد، برخی از شاخص های ایمنی غیراختصاصی و الگوی پروتئینی موکوس در بچه ماهی قزل آلا بود. بدین منظور بچه ماهی های قزل آلا به مدت ۸ هفته با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱، ۲ گرم بر کیلوگرم پلی فنل مستخرج از برگ درخت زیتون (POL) تغذیه شدند. به منظور بررسی ها خون شناسی و بررسی شاخص های ایمنی سرم، عملیات خون گیری از ساقه دمی تیمارها به صورت کاملاً تصادفی انجام گردید. برای سنجش شاخص های ایمنی موکوس، نمونه برداری و جمع آوری موکوس از تمامی تیمارها به صورت کاملاً تصادفی صورت گرفت برای بررسی بیان ژن های دخیل در ایمنی دستگاه گوارش از بافت های روده نمونه برداری انجام شد. جهت بررسی افزایش مقاومت در انتهای پرورش ماهیان ۲۴ ساعت در معرض ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر آمونیاک یونیزه قرار گرفتن. بررسی های شاخص های رشد موید افزایش معنی دار در ماهی های تغذیه شده با POL در مقایسه با گروه شاهد بود ( $P < 0/05$ ). همچنین این نتایج نشان داد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در ماهیان تغذیه شده با جیره های حاوی عصاره برگ درخت زیتون افزایش معنی داری داشته است ( $P < 0/05$ ). علاوه بر این، ضریب تبدیل غذایی ماهیان تیمار شده با عصاره پلی فنول درخت زیتون در مقایسه با گروه شاهد به صورت معنی داری کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). در مورد شاخص های خون شناسی در پایان آزمایش اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و تیمارهای مختلف در شمارش گلبول های قرمز، حجم متوسط گلبولی (MCV)، وزن متوسط هموگلوبین گبولی (MCH) و گلبول های سفید معنی دار برآورد گردید ( $P < 0/05$ ). این اختلاف در مورد ایمونوگلوبولین و لیزوزیم کل سرم و موکوس در تیمار آزمایشی ۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش قابل توجهی از خود نشان داد. ( $P < 0/05$ ). بیان نسبی ژن های ایمنی روده ای تیمارهای تغذیه ای ۱ و ۲ گرم بطور معنی داری نسبت به شاهد افزایش نشان داد ( $P < 0/05$ ) افزایش غلظت آمونیوم سرمی پس از چالش آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد کمتر بوده و درصد بقای بیشتری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). استفاده ۲ گرم در کیلوگرم پلی فنل برگ درخت زیتون بر عملکرد رشد، ایمنی و افزایش مقاومت بچه ماهی قزل آلا اثر گذار است.

**کلمات کلیدی:** پلی فنول، برگ درخت زیتون، عملکرد رشد، شاخص های خون شناسی، بچه ماهی قزل آلا

<sup>۱</sup>POL: Polyphenol olive leaf