

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده شیلات، محیط زیست، مرتع و آبخیزداری

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد (M. Sc.) در رشته
مهندسی شیلات گرایش تکثیر و پرورش آبزیان

اثر سطوح مختلف کلم بروکلی (*Brassica oleracea var. gemmifera L.*) در
جیره غذایی بر روی شاخص‌های هماتولوژی، ضد باکتریایموکوسو رشد ماهی کپور
معمولی (*Cyprinus carpio*)

پژوهش و نگارش:

حمیدرضا نادری فارسانی

استاد راهنما:

دکتر وحید تقی زاده

دکتر عبدالمجید حاجی مرادلو

استاد مشاور:

دکتر محمدرضا ایمانیپور

تابستان ۱۳۹۳

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه‌های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود؛ بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

قبل از چاپ پایان نامه خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.

قبل از چاپ پایان نامه در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.
انتشار نتایج پایان نامه باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب حمیدرضا نادری فارسانی دانشجوی رشته مهندسی شیلات- تکثیر و پرورش آبزیان مقطع کارشناسی ارشد تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

تقدیم بہ مادر م:

تقدیم بہ پدر م:

بشكر و قدر دانی

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف کلم بروکلی (*Brassica oleracea var. gemmifera L*) (۰، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ درصد) بر پارامترهای پروتئین کل، آلکالین فسفاتاز، فعالیت ضدباکتریایی موکوس و پارامترهای رشد مانند: شاخص وزن بدن (BWI)، ضریب تبدیل غذا (FCR) و نرخ رشد ویژه (SGR) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام شد. در این تحقیق ۳۰۰ ماهی کپور معمولی در ۱۲ تشت فایبرگلاس ۴۰۰ لیتری (هر تشت شامل ۲۵ ماهی) با وزن متوسط اولیه $24 \pm 2/11$ گرم به مدت ۸ هفته به میزان روزانه ۳ درصد از وزن بدن مورد تغذیه قرار داده شدند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که میزان پروتئین کل موکوس در تیمار تغذیه شده با ۱ درصد کلم بروکلی نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0/05$). همچنین میزان آلکالین فسفاتاز (ALP) موکوس نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0/05$). همچنین برای تعیین سطح فعالیت ضدباکتریایی موکوس در پایان دوره، رقابتی بین موکوس و ۴ باکتری *Micrococcus luteus*, *Streptococcus faecium*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* انجام شد. نتایج این رقابت نشان می‌دهد که، در تیمار با سطح ۱ درصد کلم بروکلی بیشترین قطر هاله عدم رشد را در هر ۴ رقابت نسبت به گروه شاهد ایجاد کرد اما این میزان به صورت معنی‌داری نبود ($P > 0/05$). همچنین نتایج در ارتباط با تاثیر سطوح مختلف این گیاه بر رشد ماهی نشان داد که میزان نرخ تبدیل غذا (FCR) و شاخص وزن بدن (BWI) در همه تیمارهای تحت تاثیر کلم بروکلی نسبت به گروه شاهد به ترتیب کمتر و بیشتر بود اما این اختلاف به صورت معنی‌داری نبود ($P > 0/05$). نرخ رشد ویژه (SGR) در تیمار با ۰/۲ درصد کلم بروکلی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). در پایان می‌توان نتیجه گرفت که به نظر می‌رسد، میزان ۰/۵ تا ۱ درصد کلم بروکلی در جیره غذایی کپور معمولی باعث تقویت سیستم ایمنی می‌گردد.

واژگان کلیدی:

کلم بروکلی، شاخص‌های موکوس، کپور معمولی

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۱.....	فصول
۱.....	مقدمه کلیات.....
۲.....	۱-۱- کلیات.....
۵.....	۲-۱- فرضیه‌ها.....
۶.....	۳-۱- اهداف.....
۷.....	فصل دوم.....
۷.....	سابقه تحقیق.....
۸.....	۱-۲- کلمبرو کلی.....
۱۲.....	۲-۲- موکوس.....
۱۸.....	فصل سوم.....
۱۸.....	مواد و روش‌ها.....
۱۹.....	۱-۳- تهیه مایوسازگار بی‌هشرا بطاً آزما بيشگاهی.....
۱۹.....	۲-۳- تهیه غذا.....
۲۰.....	۳-۳- زیست‌سنجی.....
۲۰.....	۴-۳- اندازه‌گیری پشاخصها بر شد.....
۲۱.....	۵-۳- اندازه‌گیری بیارامترها یخون نشناختیوبیوشیمیا یخون.....
۲۳.....	۶-۳- نمونه‌برداری موکوس:.....
۲۴.....	۷-۳- اندازه‌گیری پیر و تئینمحلوموکوس:.....
۲۵.....	۸-۳- سنجش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلبی (ALP).....
۲۶.....	۹-۳- بررسی خواص ضدباکتری یا بیموکوس.....
۲۶.....	۳-۹-۱- آماد هسازیسویهها بیاکتریا بی.....
۲۷.....	۳-۹-۲- فعالیت ضدباکتریایی.....

۲۸	۳-۱۰- روش‌آمار یوتجز یهو تحلیل داده‌ها
۲۹	فصل چهارم
۲۹	نتایج و بحث
۳۰	۴-۱- شاخصها بر شد
۳۱	۴-۲- پارامترها یخونشناختی و بیوشیمیایی خون
۳۴	۴-۳- پروتئین
۳۴	۴-۴- آلکالینفسفاتاز
۳۵	۴-۵- خواص ضدباکتریایی
۳۸	فصل پنجم
۳۸	بحث و نتیجه‌گیری
۳۹	۵-۱- ویتامین C , E
۴۵	۵-۲- آهن
۴۶	۵-۳- مس
۴۸	۵-۴- منگنز
۵۰	۵-۵- روی
۵۱	۵-۶- سلنیوم
۵۴	۵-۷- ید
۵۵	۵-۸- دیگر ترکیبات معدنی
۵۶	۵-۹- نتیجه‌گیری کلی:
۵۷	۵-۱۰- پیشنهادات:
۵۷	۵-۱۰-۱- پیشنهادات پژوهشی
۵۷	۵-۱۰-۲- پیشنهادات اجرایی
۵۸	منابع
۷۱	fisheries

فهرست جدول‌ها

صفحه

عنوان

فهرست شکل‌ها

صفحه

عنوان

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱- کلیات

استفاده از انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد دارویی شیمیایی در سال‌های اخیر توسعه یافته است. استفاده بیش از اندازه از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث افزایش مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، تخریب محیط زیست، عوارض جانبی این داروها بر بدن ماهی و به تبع بر سلامت انسان می‌گردد (ایواما و ناکانیشی^۱، ۱۹۹۶؛ هاریکری شانان^۲ و همکاران، ۲۰۰۳)؛ بنابراین باید مطالعاتی صورت گیرد تا بتوان جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان معرفی نمود.

بعضی از این مطالعات، تاثیر پروبیوتیک‌ها (شریف الزمان و آستین^۳، ۲۰۰۹؛ نیاک^۴، ۲۰۱۰)، ویتامین‌ها (ساهو و مخرجت^۵، ۲۰۰۲ a,b؛ آی و همکاران، ۲۰۰۶)، گیاهان دارویی (وین^۶ و همکاران، ۲۰۰۹؛ ژنگ^۸ و همکاران، ۲۰۱۰) را در افزایش ایمنی بدن مورد بررسی قرار داده‌اند. اما امروزه داروهای گیاهیو طبیعی به دلیل عوارض و مسمومیت‌ها و همچنین بهبود نتایج آن‌ها و کم بودن عوارض

^۱ Iwamaand Nakanishi

^۲ Harikrishanan

^۳ Sharifuzzamanand Austin

^۴ Nayak

^۵ Shaoand Mukherjeet

^۶ Ai

^۷ Yin

^۸ Zhang

جانبی در مقایسه با داروهای شیمیایی، منجر شده تا این منابع ارزشمند دارویی از ارزش و جایگاه خاصی در درمان برخوردار باشند (قاسمی پیربلوطی^۱، ۲۰۰۹).

یکی از این گیاهان که به دلیل داشتن مقادیر بالایی از مواد معدنی، آلی و ویتامین ها ارزش دارویی بالایی دارد، کلم بروکلیمی باشد. ترکیبات کلم بروکلی شامل: آمینواسیدها (آرژنین، سیستئین، متیونین، هیستیدین، ایزولوسین، لوسین، لیزین، فنیل آنالین، تیروزین، ترونین، تریپتوفان، والین)، چربی، فیبر، خاکستر، سیلیسیم، بور، سولفور، کلسیم، فسفر، سدیم، پتاسیم، منیزیم، کلر، فلور، برم، ید، روی، آلومینیوم، منگنز، آهن، مس، ملیبدن، آلفاتوکوفرول، بتاکاروتن، سلنیوم، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، پیریدوکسین، کلسیم پانتوتنیک، اسید فولیک، بیوتین، کولین کلراید و اینوزیتول می باشد (کالووی و مانسون^۲، ۱۹۶۱).

این گیاه همچنین دارای مقدار زیاد فیبر، کاروتنوئید، کلسیم، گلوکوزینولات، فلاونوئید، سلنیوم، ویتامین های C, E, B1, A, K است (کوهن^۳ و همکاران، ۲۰۰۰؛ جفری^۴ و همکاران، ۲۰۰۳؛ مورنو^۵ و همکاران، ۲۰۰۶؛ بروسکی^۶ و همکاران، ۲۰۰۸؛ جفری و همکاران، ۲۰۰۹). میزان جذب کلسیم کلم بروکلی را می توان با کلسیم شیر مقایسه کرد (فینک و شرمن^۷، ۱۹۳۵؛ کاوا^۸ و همکاران، ۱۹۳۸؛ کونگ^۹ و همکاران، ۱۹۳۹). همچنین می توان کلم بروکلی را به عنوان

^۱ Ghasemi Pirbalouti

^۲ callowayandMunson

^۳ Cohen

^۴ Jeffery

^۵ Moreno

^۶ Borowski

^۷ FinckeandSherman

یک آنتی‌اکسیدان قوی و منبع سرشار از کلروفیل و پروتئین معرفی کرد (کوسکیوارا^۳ و همکاران، ۱۹۹۱؛ ژنگ^۴ و همکاران، ۲۰۰۵، یوک^۵ و همکاران، ۲۰۰۷؛ مونیروزمان^۶ و همکاران، ۲۰۰۷).

در این تحقیق برای بررسی اثر گیاه کلم بروکلی بر تقویت سیستم ایمنی ماهی کپور معمولی، فاکتورهای خون‌شناسی، بیوشیمیایی خون و همچنین برخی شاخص‌های موکوس مورد مطالعه قرار گرفت.

در ارتباط با موکوس پوست ماهی می‌توان بیان کرد که هرگونه اختلال در ویژگی‌های ترش‌حی و فیزیولوژیکی پوست موجب گسترش بیماری‌های پوستی می‌گردد که بخش قابل ملاحظه‌ای از بیماری‌ها و مرگ و میر در بین آبزیان را باعث می‌گردد (فونتونت، ۲۰۰۴)؛ لذا سلامت پوست به عنوان اولین مکان ارتباط با محیط زیست می‌تواند یکی از شاخص‌های اصلی برای بررسی وضعیت بهداشت و بیماری‌های ماهی باشد. موکوس پوست ماهیان به عنوان اولین خط دفاعی بدن در برابر عوامل بیماری‌زا نقش مهمی را در سیستم ایمنی ذاتی ماهیان دارد. علاوه بر نقش محافظتی بسیار مهم موکوس پوست ماهیان که به علت ترشح و جایگزینی مداوم، مانع از تثبیت انگل‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها بر سطح خارجی بدن جاندار می‌شود مطالعات اندکی در ارتباط با خواص ضدباکتریایی آن صورت گرفته است.

^۱ Kao

^۲ Kung

^۳ Koskivaara

^۴ Zhang

^۵ Yuk

^۶ Moniruzzaman

از سوی دیگر شاخص‌های خون‌شناسی نیز می‌تواند به عنوان پارامتری برای تعیین سطح سیستم ایمنی بیان گردد. همچنین با خون‌گیری از ماهی و تعیین پارامترهای خونی و مقایسه کردن آنها با شرایط محیط طبیعی، می‌توان از آن به عنوان یک ابزار پاراکلینیکی در تشخیص سلامت و درمان بیماری‌ها استفاده کرد (ماسون و فرناندس^۱، ۲۰۰۳؛ نولس^۲ و همکاران، ۲۰۰۶). از جمله عواملی فیزیکی و شیمیایی محیطی که تاثیر بسیاری بر روی فاکتورها، آنزیم‌ها و شاخص‌های پلاسما و سرم خون می‌گذارد شامل: دما، pH، شوری، قلیائیت، سن، گونه، جنس، سیکل تولیدمثل، کیفیت و کمیت غذا و همچنین عوامل بیماری‌زای عفونی را نیز می‌توان ذکر کرد (استینهاگن^۳، ۱۹۹۰؛ ماسون و فرناندس، ۲۰۰۳). بررسی سلول‌های خونی، بیوشیمیایی خون و هورمون‌ها می‌تواند برای تشخیص بیماری‌ها و آگاهی از وضعیت فیزیولوژیکی ماهی مورد استفاده قرار گیرد (استاسکوف^۴، ۱۹۹۳). لذا تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر کلم بروکلی بر برخی فاکتورهای موکوس، پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون و همچنین شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی صورت گرفته است.

۱-۲- فرضیه‌ها

- ۱- کلم بروکلی بر خاصیت ضد باکتریایی و پروتئین تام موکوس به عنوان یکی از فاکتورهای ایمنیو رشد ماهی کپور معمولی تاثیرگذار می‌باشد
- ۲- کلم بروکلی بر ویژگی‌های خون‌شناختی ماهی کپور معمولی تاثیرگذار می‌باشد

^۱Mason and Fernandes

^۲Knowles et al

^۳Steinhagen

^۴Stoskopf

۳- کلم بروکلی بر شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی تاثیرگذار می‌باشد

۳-۱- اهداف

- ۱- اثر میزان سطوح مختلف کلم بروکلی بر خاصیت ضد باکتریایی و پروتئین تام موکوس به عنوان یکی از فاکتورهای ایمنی و رشد ماهی کپور معمولی
- ۲- میزان سطوح مختلف کلم بروکلی بر ویژگی‌های خون‌شناختی ماهی کپور معمولی
- ۳- میزان سطوح مختلف کلم بروکلی بر شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی

فصل دوم

سابقہ تحقیق

۲-۱- کلم بروکلی

کلمبرو کلیکیا از سبزیها یبار ز شوسر شار از مواد مغذی میباشد که فواید بسیار یار تقایسلا متیانساندارد . کلمبرو کلیدار ایمادها یبهنامسولفور فاناستکه تعداد، انداز هو تکثیر نومور هایسر طانیر ابهنحو چشمگیر یکاهش میدهد؛ در نتیجه از ابتلا انسان به سرطان، بخصوص

سرطانهای سینه، معده، رود هبزر گور یهجلوگیر می کند (یولداس^۱ و همکاران، ۲۰۰۴). اینسبزی بهمچنیندارای مقدار زیاد فیبر، کاروتنوئید، ویتامین C، ویتامین K، ویتامین A است که برای جلوگیری از افزایش فشار خون و ابتلا به سرطان دستگاو شامفید است (کوهن^۲ و همکاران، ۲۰۰۰). برو کلیکانتی اکسیدانقویاست و کلسیم موجود در آن بهانداز هکلسیم موجود در شیر است؛ به همین دلیل مصر فآنبرای افراد یکهدچار پوکیاستخوانیا کمبود کلسیم هستند، بسیار مفید است (شکری واحد، ۱۳۸۸).

خانواد هبراسیکا از سبزیجات، دارای خواص مهم پیشگیریکننده از سرطان میباشند. نقش محافظتکننده بالقوه کلمها و اجزای فعال موجود در اینسبزیجات، مانند ایزوتیوسیوانا توایندول^۳ - کربینول، بهطور گسترده در شرایط آزمایشگاهی در مدلها یسرطان داخلیدنمورد مطالعه قرار گرفته است. مطالعات نشان داده است که افراد یکه کلم امصر فمیکنند اغلب کمتر در معرض خطر ابتلا به انواع اسرطانها، از جمله سرطانروده بزرگ، معده و یه میباشند.

^۱ Yoldas

^۲ Cohen

کو^۱ و همکاران در سال (۲۰۰۰) و همچنین هیملر^۲ و همکاران در سال (۲۰۰۶) بیان کردند که عصاره کلم در شرایط آزمایشگاهی باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و اثرات آنتیاکسیدان پلیفنلها در غشاء گلبول قرمز میگردد.

در آزمایشی دیگر توسط داکنویس^۳ و همکاران در سال (۲۰۱۲) به منظور برآورد اثرات عصاره هپلی فنلسبزیجات کلم (کلم بروکسل و کلم قرمز) بر غشاء گلبول قرمز تحت میز انغلظت نرمال و بالای از کلسترول خون، بیان گردید که استخراج فنلاز سبزی کلم در کاهش معنیدار در غلظت کلسترول و گلبولها یقرمز در هنگام میکه کلسترول خون بالا میباشد تاثیر گذار میباشد. همچنین

هایقرمز، بدون کاهش قابلیت توجهی از سطح کلسترول برای بهره دو عصاره مشاهده شد. کاهش در شدت پراکسیداسیون لیپیدها در هنگام میکه کلسترول خون بالا بود نیز مشاهده شد. هیچ تغییری در سیالیته غشاء و فرآیندهای یغشا یببرای بهره دو عصاره برای گلبولها یقرمز در زمانیکه کلسترول خون به صورت نرمال یا بالا بود مشاهده نشد. فعالیت ATP آزاد در شرایط طبیعی و کلسترول خون بالا با عصاره کلمبر و کلیکاهشیافت. نتایج آنها نشان داد که هپلی فنول -

ها از کلم قرمز و کلمبر و کسل به طور مستقیم ممکن است خواص غشاء گلبول قرمز را تحت تاثیر قرار دهند.

با توجه به بررسی منابع در ارتباط با تاثیر گیاه کلم بروکلی بر سیستم ایمنی ماهی، مطالعه ای پیدا نشد؛ اما کارهای زیادی در ارتباط با تاثیر گیاهان دارویی دیگر بر سیستم ایمنی آبزیان به خصوص ماهی در سالهای اخیر صورت گرفته است. داگنسی^۴ و همکاران در سال ۲۰۰۳ در بررسی

^۱Chu

^۲Heimler

^۳Duchnowicz

^۴Dugenci