Archive of SID

تاثیر مکمل غذایی عصاره آب داغ جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium* بر روی برخی از شاخص‌های ایمنی همولنف در میگوی پاسفید غربی *Penaeus vannamei*

فاطمه عیدی قلعه قاضی[1]، احمد نوری*[1]، سید حسین حسینی‌فر[2]

[1]گروه شیلات، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

[2]گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

*نویسنده مسئول: nooryahmad@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۹/۹/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۱۴

چکیده

در مطالعه حاضر تاثیرات مکمل غذایی عصاره آب داغ جلبک *Sargassum ilicifolium* (SHWE)، بر پارامترهای ایمنی و آنتی‌اکسیدانی همولنف میگوی پاسفید غربی (*Penaeus vannamei*) ارزیابی شد. این آزمایش در ۳ تیمار شامل ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد SHWE و یک گروه شاهد در سه تکرار انجام شد. ۱۲۰ عدد میگو (میانگین وزن ۰/۰۸±۴/۶۷ گرم) به‌طور تصادفی در گروه‌ها توزیع گردید. در پایان ۶۶ روز آزمایش، برخی شاخص‌های ایمنی و آنتی‌اکسیدانی و تعداد هموسیت‌ها در بین گروه‌های تیماری و شاهد سنجش گردید. نتایج نشان داد که میزان آلکالین فسفاتاز در گروه تیماری تغذیه شده با ۰/۲۵ درصد SHWE افزایش یافت. مقدار گلوتاتیون پراکسیداز در تمام تیمارهای تغذیه شده با SHWE افزایش نشان داد. هرچند، سطوح گلوتاتیون، در تیمارهای ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری ($P<0.05$) داشت. بیشترین مقدار سطوح گلوتاتیون اس-ترانسفراز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در تیمار تغذیه شده با ۰/۵ درصد SHWE ثبت گردید. درحالی‌که مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در تمام تیمارهای تغذیه‌ای با گروه شاهد تفاوتی را نشان نداد ($P>0.05$). دو شاخص اسید فسفاتاز و فنل اکسیداز در هیچ کدام از گروه‌های تیماری تغییر نداشتند. لیزوزیم در گروه تیماری ۰/۲۵ درصد به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($P<0.05$)، در حالی‌که با سایر گروه‌های تیماری تفاوت معنی‌دار نداشت ($P>0.05$). تعداد هموسیت‌های کل، سلول‌های گرانوله، سلول‌های نیمه گرانوله و سلول‌های هیالین در تیمار ۰/۵ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری ($P<0.05$) نشان داد، و در تیمار ۰/۲۵ درصد، تنها تعداد هموسیت‌های کل و سلول‌های نیمه گرانوله افزایش معنی‌دار ($P<0.05$) با گروه شاهد داشت. نتایج نشان داد که عصاره آب داغ جلبک سارگاسوم از طریق تغذیه و با هدف افزایش پارامترهای آنتی‌اکسیدانی و همچنین فاکتورهای ایمنی همولنف در میگوی پاسفید غربی موثر و مفید می‌باشد.

واژگان کلیدی: عصاره آب داغ، جلبک قهوه‌ای، همولنف، فاکتورهای ایمنی، فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی.

مقدمه

میگوی پاسفید غربی، *Penaeus vannamei*، یکی از مهمترین گونه‌های میگوی پرورشی به شمار می‌رود که در سراسر دنیا و در سیستم‌های مختلف پرورشی از جمله سیستم‌های گسترده، نیمه متراکم و متراکم پرورش داده می‌شود (FAO, 2018). همراستا با گسترش و توسعه صنعت پرورش میگو در جهان، خصوصاً پرورش به روش متراکم، فاکتورهای متعدد محدود کننده تولید، نظیر افزایش ریسک وقوع بیماری نیز افزایش یافته است (Lightner and Redman, 1998; Kautsky *et al*., 2000). آنتی بیوتیک‌ها به طور متداول با هدف‌های مختلف نظیر درمان بیماری‌ها و همچنین به عنوان عامل پیشگیری، در صنعت پرورش میگو استفاده می‌شوند (Holmström *et al*., 2003; Le *et al*., 2005). باقی ماندن اثرات ترکیبات آنتی‌بیوتیک در آب و رسوبات استخرهای پرورشی، نه تنها سبب ایجاد و تکامل مقاومت به آنتی‌بیوتیک در باکتری‌های بیماری‌زا شده، بلکه حضور بقایای این ترکیبات در بدن خود میگو نیز مخاطراتی را برای مصارف انسانی در پی خواهد داشت (Khachatourians, 1998; Wegener *et al*., 1999; Willis, 2000; Rhodes *et al*., 2000; Santos and Ramos, 2018). از این‌رو، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت

www.SID.ir

Archive of SID

آبزی‌پروری، در بسیاری از کشورهای دنیا به شدت محدود شده و قوانین جاری به منظور جلوگیری و عدم استفاده از این ترکیبات به طور متداول وضع شده است. در نتیجه، به منظور بر طرف کردن این نقاط ضعف و خطرات ناشی از استفاده از این مواد می‌تواند راه حل در استفاده و جایگزین کردن ترکیبات آنتی‌بیوتیک با مواد و ترکیبات امن و دوستدار محیط زیست می‌باشد تا علاوه بر دوری از مضرات کاربرد آنتی‌بیوتیک، باعث افزایش سطح مقاومت میگو و موثر در توسعه پایدار این صنعت آبزی‌پروری گردد.

تحقیقات نشان می‌دهد که جلبک‌ها و عصاره‌های استخراجی از آن‌ها به عنوان ترکیبات بالقوه جهت جایگزین شدن آنتی‌بیوتیک‌ها در رژیم غذایی ماهیان و میگوها را دارد (Van Doan *et al*., 2019). تاثیرات محرک برخی از جلبک‌های سبز، قرمز و قهوه‌ای بر شاخص‌های ایمنی و آنتی اکسیدانی ماهیان و نیز سخت‌پوستان بررسی شده است (Kanjana *et al*., 2011; Sirirustananun *et al*., 2011; Akbary and Aminikhoei, 2018b; Sudaryono *et al*., 2018; Suleman *et al*., 2018; Wang *et al*., 2019). در بسیاری از این مطالعات، کاربرد جلبک‌های دریایی به روش‌های مختلف، سبب تحریک و افزایش پاسخ‌های ایمنی و تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های آبزی مورد مطالعه شده است.

با وجود این‌که مطالعات صورت گرفته بر روی جلبک‌های قهوه‌ای بیش از سایر جلبک‌ها می‌باشد، اما اطلاعات در مورد تاثیرات جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium* بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و ایمنی میگو بسیار محدود بوده و اطلاعات اندکی در این مورد در دسترس می‌باشد. کارهای انجام شده بر روی خصوصیات و ویژگی‌های محرکی ایمنی این جلبک و یا ترکیبات استخراج شده از آن بسیار محدود می‌باشد. در یک مطالعه، آرد جلبک *S. ilicifolium* به عنوان منبع پروتئین غذای میگو پاسفید غربی، افزایش رشد معنی‌داری را نشان نداد (Hafezieh *et al*., 2014) و نشان داد که میگوهای تغذیه شده با آرد این جلبک هیچ‌گونه افزایش رشد معنی‌داری نداشتند. در مطالعه‌ای دیگر، تاثیر استفاده از این جلبک از طریق غذا بر روی پارامترهای رشد و ایمنی فیل ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت (Yeganeh and Adel, 2019). نتایج بیانگر تاثیرات مثبت این جلبک بر روی برخی از پارامترهای رشد و پاسخ ایمنی ماهیان تغذیه شده بود. با در نظر گرفتن اهمیت استفاده از عصاره استخراج شده از جلبک‌های دریایی و همچنین با توجه به محدود بودن اطلاعات در مورد تاثیرات محرک ایمنی جلبک قهوه‌ای *S. ilicifolium*، مطالعه حاضر به منظور بررسی و ارزیابی تاثیرات عصاره آب داغ جلبک *S. ilicifolium* بر پارامترهای ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی همولنف میگوی پاسفید غربی، *P. vannamei*، انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری جلبک *S. ilicifolium* و تهیه عصاره آب داغ: جلبک قهوه‌ای *S. ilicifolium* از منطقه ساحلی روستای کانی واقع در جزیره قشم جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده به خوبی شسته شده و سپس به منظور تهیه عصاره، به آزمایشگاه دانشگاه هرمزگان منتقل شد. در ابتدا جلبک‌ها در دمای اتاق خشک و سپس آسیاب شدند. پودر حاصل توسط توری با سایز ۰/۶ میلی‌متر الک شده و به منظور استخراج عصاره مورد استفاده قرار گرفت. عصاره آب داغ به روش Fujiki و همکاران (۱۹۹۲) تهیه شد. به طور خلاصه، به ازای هر ۱۰ گرم پودر تهیه شده از جلبک، ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۳ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده و سپس محلول حاصل توسط توری با سایز ۰/۵ میلی‌متر فیلتر و محلول صاف شده به روش لیوفلیزه خشک گردید. عصاره به دست آمده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ - ترکیبات غذای تجاری مورد استفاده.

ترکیبات	آنالیز
پروتئین	۴۱-۴۳ درصد
لیپید	۷-۱۰ درصد
فیبر	۴-۲ درصد
خاکستر	۸-۱۳ درصد
رطوبت	۱۰-۵ درصد
فسفر	۱/۵- ۱/۲۴ درصد
انرژی قابل‌هضم	۴- ۳/۹۵ کیلوکالری بر گرم

سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

طراحی و اجرای آزمایش: تعداد ۱۲۰ عدد میگوی پاسفید غربی با میانگین وزن ۰/۰۸±۴/۶۷ گرم، بعد از یک هفته سازگاری با شرایط آزمایش، در ۱۲ عدد تانک فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری توزیع شدند. آزمایش به صورت ۳ گروه تیماری و یک گروه شاهد، با ۳ تکرار اجرا گردید. گروه شاهد تنها با جیره غذای پایه (جدول ۱) و بدون اضافه کردن عصاره تغذیه شد. سه گروه تیماری به ترتیب با ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد عصاره اضافه شده به جیره پایه تغذیه شدند. جهت اضافه نمودن عصاره به غذا، ابتدا میزان مورد نیاز عصاره به ازای هر کیلوگرم غذا وزن شد. سپس غذای هر تیمار به طور جداگانه با مقداری آب مخلوط و به صورت خمیر در آمد. مقدار عصاره مشخص شده برای هر تیمار در مقداری آب مقطر حل شد و به خمیر حاصل اضافه گردید. سپس مجدداً غذا به صورت پلت در آمده و در آون خشک شد. همین روند برای گروه شاهد نیز بدون اضافه نمودن عصاره انجام شد. غذادهی ۲ بار در روز و بر اساس جدول غذادهی ارائه شده توسط شرکت تولید کننده غذا (۳ تا ۵ درصد وزن بدن) صورت گرفت. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل شوری (۴۱ تا ۴۳ قسمت در هزار)، درجه حرارت آب (۲۴ تا ۳۲ درجه سانتی‌گراد) (از مهر تا دی ۹۷)، اکسیژن محلول (۷/۶ تا ۸/۷۵ قسمت در میلیون) و pH (۷ تا ۷/۵) به صورت روزانه اندازه و ثبت گردید. دوره آزمایش نیز ۶۶ روز به طول انجامید.

نمونه‌برداری از تیمارها: در انتهای دوره آزمایش، از هر تیمار ۹ عدد میگو به طور تصادفی نمونه‌برداری شد. نمونه همولنف هر میگو به طور جداگانه و توسط یک سرنگ استریل ۱ میلی‌لیتری از سینوس شکمی گرفته شد. سپس به میزان ۹ برابر با محلول ضد انعقاد شامل سیترات سدیم ۳۰ میلی‌مول، کلرید سدیم ۳۸۸ میلی‌مول، گلوکز ۱۱۵ میلی‌مول، اتیلن دی آمین ترا استیک اسید ۱۰ میلی‌مول، رقیق گردید (Javahery *et al*., 2019). همولنف رقیق شده به دو قسمت تقسیم گردید. یک بخش به منظور شمارش هموسیت‌ها مورد استفاده قرار گرفت و بخش دوم بعد از سانتریفیوژ با دور ۴۶۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه و جداسازی بخش فوقانی، به منظور آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی همولنف، در دمار ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سنجش پارامترهای ایمنی همولنف: جهت شمارش تعداد هموسیت‌های کل، سلول‌های هیالین، سلول‌های نیمه گرانوله و سلول‌های گرانوله از لام نئوبار استفاده شد. تعداد هر کدام از سلول‌ها به صورت سلول به ازای میلی‌لیتر همولنف بیان گردید (Nedaei *et al*., 2019). برای سنجش فعالیت آلکالین فسفاتاز از روش انکوباسیون نمونه همولنف با ۵۰ میکرولیتر ρ-نیتروفنیل فسفات به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد و استفاده از محلول ۳ نرمال سود به عنوان خاتمه دهنده استفاده شد. در نهایت میزان اسید فسفاتاز به روش رنگ سنجی در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانده شد (Gonzalez *et al*., 1994). جهت سنجش اسید فسفاتاز، به نمونه همولنف، ۱۰۰ میکرولیتر ρ-

www.SID.ir

Archive of SID

نیتروفنیل فسفات ۱۲ میلی‌مولار در بافر استات ۰/۲ نرمال اضافه شد. سپس دی‌اتیل تترااستیک اسید ۰/۰۱ نرمال و سود ۰/۱ نرمال به میزان ۵۰ میکرولیتر به محلول اضافه و رنگ سنجی در طول موج ۴۱۰ نانومتر صورت گرفت (Meng *et al*., 2003). برای سنجش فنل اکسیداز، به ۵۰ میکرولیتر همولنف، ۵۰ میکرولیتر سوبسترای آنزیمی دی هیدرو کسی- فنیل آلانین (L-DOPA) اضافه شد و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. فنل اکسیداز به روش رنگ سنجی با شکل‌گیری رنگ‌دانه‌ی قرمز DOPA- کروم بعد از اکسید شدن L-DOPA در طول موج ۴۹۰ نانومتر محاسبه شد (Perazzolo and Barracco, 1997). به منظور اندازه‌گیری میزان لیزوزیم، ۱/۹ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری گرم مثبت میکروکوکوس آماده شده در بافرفسفات ۰/۵ مولار به ۱۰۰ میکرولیتر همولنف اضافه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس میزان فعالیت لیزوزیم به روش کدورت سنجی در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر تعیین گردید (Ellis, 1990).

سنجش میزان فاکتورهای آنتی‌اکسیدان همولنف: به منظور تعیین میزان گلوتاتیون پراکسیداز، از روش تبدیل گلوتاتیون به گلوتاتیون دی سولفید و اندازه‌گیری در طول موج ۴۱۲ نانومتر استفاده گردید (Paglia and Valentine, 1967). برای تعیین میزان سوپراکسید دیسموتاز، از روش تبدیل آنیون‌های سوپراکسید به هیدروژن پراکسید و اکسیژن تحت اثر فعالیت آنزیمی و سنجش در طول موج ۴۲۰ نانومتر استفاده شد (Bolann and Ulvik, 1991). جهت اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی‌اکسیدان‌ها، از روش رنگ‌سنجی با استفاده از کیت تجاری (ZellBio، آلمان) در طول موج ۴۹۰ نانومتر استفاده گردید (Wang *et al*., 2015). اندازه‌گیری کاتالاز بر اساس روش تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن و سنجش به روش رنگ سنجی در طول موج ۴۰۵ نانومتر صورت گرفت (Góth, 1991). سنجش گلوتاتیون اس-ترانسفراز بر پایه روش استفاده از NADPH و قرائت میزان جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر صورت گرفت (Habig *et al*., 1974). اندازه‌گیری میزان گلوتاتیون نیز بر اساس واکنش آن با دی تیوبیس نیتروبنزوئیک اسید (DTNB) و تولید رنگ زرد در محیط و اندازه‌گیری میزان جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر صورت گرفت (Hoguet and Key, 2007).

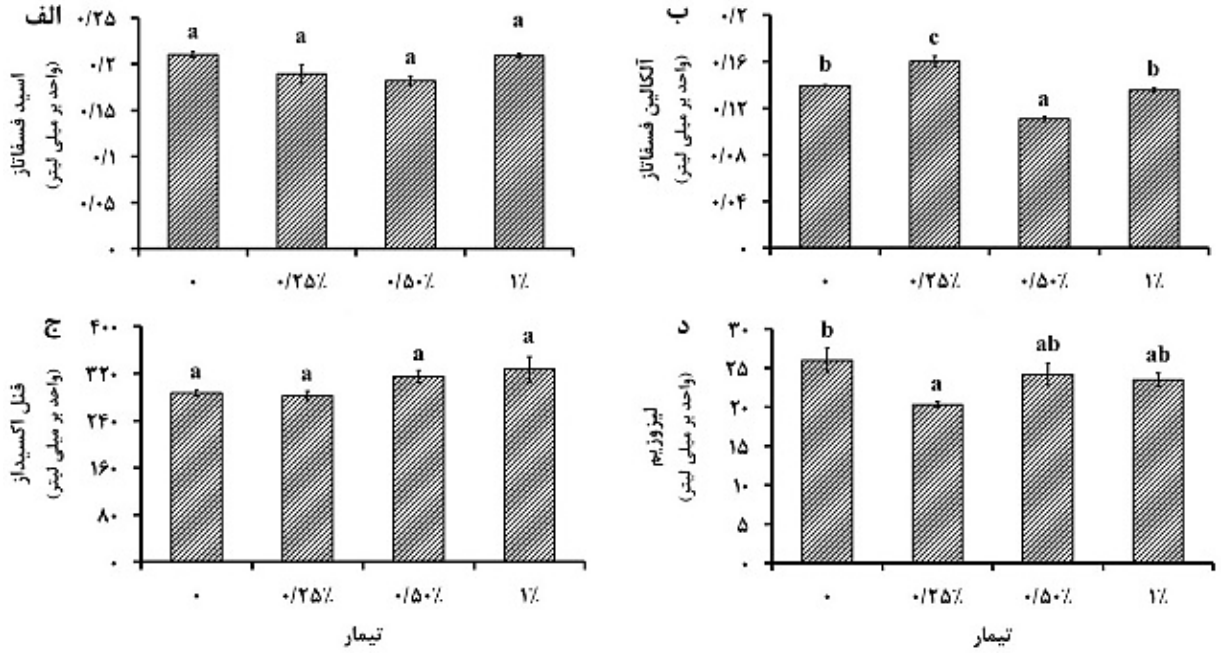
آنالیز آماری: با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk نرمال بودن داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از آزمون Levene همگن بودن واریانس داده‌ها نیز مورد آنالیز قرار گرفت. در صورت وجود شروط آزمون پارامتریک ANOVA، به منظور مقایسه میانگین پارامترهای مورد نظر از آزمون One-Way ANOVA به همراه آزمون Tukey استفاده شد. در صورت نداشتن شروط آزمون‌های پارامتریک، از آزمون Kruskal-Wallis و Mann-Whitney، معادل ناپارامتریک آن آزمون‌ها، استفاده و در نهایت داده‌ها به صورت میانگین به همراه خطای میانگین نمایش و نتایج تفسیر شد. آنالیزهای آماری در سطح معنی داری ۹۵٪ و با استفاده از نرم افزار SPSS اجرا گردید.

نتایج

پارامترهای ایمنی همولنف: پارامترهای ایمنی همولنف در میگوهای تغذیه شده با مقادیر مختلف عصاره در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای تغذیه‌ای از نظر فعالیت اسید فسفاتاز و فنل اکسیداز می‌باشد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه تیماری تغذیه شده با ۰/۲۵ درصد عصاره دیده شد و کمترین سطح در گروه تیماری تغذیه شده با ۰/۵ درصد عصاره به دست آمد. فعالیت آنزیم لیزوزیم در گروه تیماری ۰/۲۵ درصد عصاره به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود، اما بین گروه‌های تیماری تغذیه شده با ۰/۵ و ۱ درصد عصاره SHWE تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد ثبت نگردید (P>۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱ – میانگین پارامترهای ایمنی همولنف در میگوی پاسفید غربی، *Penaeus vannamei*، تغذیه شده با مقادیر مختلف عصاره آب داغ جلبک *Sargassum ilicifolium*. هر ستون بیانگر میانگین به همراه خطای استاندارد می‌باشد. حروف متفاوت در بالای ستون‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد. آنالیز آماری با دقت ۹۵ درصد بیان شده است.

پارامترهای آنتی‌اکسیدانی همولنف: نتایج پارامترهای آنتی‌اکسیدانی همولنف در میگوهای تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره و روند تغییرات آن‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است. سطح گلوتاتیون پراکسیداز در تمام تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره SHWE در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) داشت. سطوح گلوتاتیون و سوپراکسید دیسموتاز به طور معنی‌دار در دو گروه تیماری ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره SHWE افزایش معنی‌دار با سایر تیمارهای مورد بررسی داشت ($P<۰/۰۵$)، در حالی‌که گروه تیماری تغذیه شده با ۱ درصد عصاره تغییر معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ($P>۰/۰۵$). در مورد سطوح گلوتاتیون اس-ترانسفراز و کاتالاز، هر دو آنزیم در گروه تیماری ۰/۵ درصد عصاره بیشترین فعالیت را نشان دادند، هر چند در مورد شاخص کاتالاز تیمار ۰/۲۵ با تیمار ۱ درصد تفاوت آماری نشان نداد ($P>۰/۰۵$). سطح آنتی‌اکسیدان کل نیز در هیچ کدام از گروه‌های تیماری تفاوت معنی‌دار نداشت ($P>۰/۰۵$).

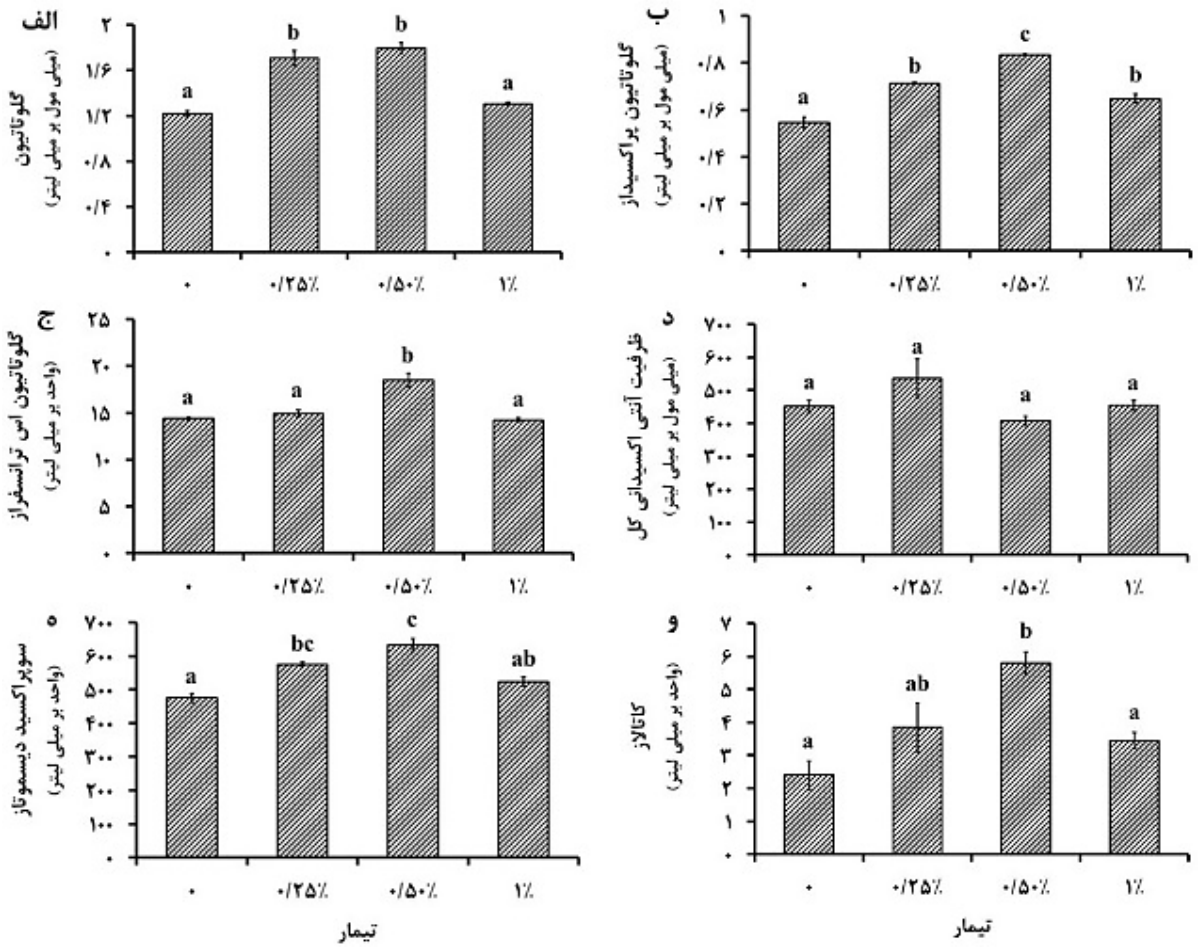
تعداد افتراقی هموسیت‌ها: استفاده از عصاره SHWE در سطوح مختلف باعث بروز تغییرات معنی‌دار در تعداد افتراقی سلول‌های همولنف شد که در شکل ۳ نشان داده شده است. تعداد کل هموسیت‌ها در دو گروه ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره SHWE به طور معنی‌دار افزایش یافت ($P<۰/۰۵$)، در حالی‌که گروه تیماری ۱ درصد عصاره، کاهش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد را نشان داد ($P<۰/۰۵$). تعداد سلول‌های نیمه گرانوله نیز در دو گروه ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره SHWE نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$)، اما در گروه تیماری ۱ درصد عصاره SHWE تغییر معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). بیشترین تعداد سلول‌های گرانوله و هیالین نیز در گروه تیماری ۰/۵ درصد عصاره SHWE محاسبه شد.

بحث

پژوهش حاضر نشان می‌دهد که استفاده از عصاره آب داغ جلبک *S. ilicifolium* در جیره غذایی میگوی *P. vannamei* باعث افزایش پارامترهای آنتی‌اکسیدانی و تغییرات مثبت و افزایشی در

www.SID.ir

Archive of SID



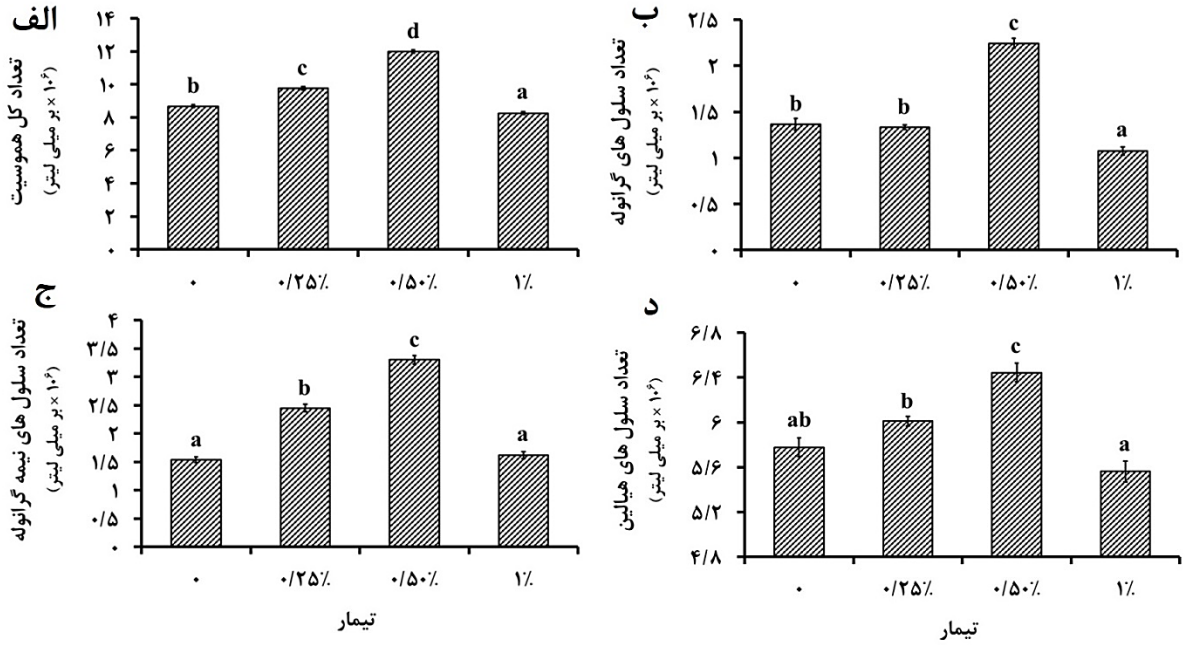
شکل ۲ – میانگین پارامترهای آنتی‌اکسیدانی موجود در همولنف میگوی پاسفید غربی، *Penaeus vannamei*، تغذیه شده با مقادیر مختلف عصاره آب داغ جلبک *Sargassum ilicifolium*. هر ستون بیانگر میانگین به همراه خطای استاندارد می‌باشد. حروف متفاوت در بالای ستون‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد. آنالیز آماری با دقت ۹۵ درصد بیان شده است.

سلول‌های همولنف می‌شود. همچنین پارامترهای ایمنی به جز آلکالین فسفاتاز و لیزوزیم که تنها در تیمار تغذیه شده با ۰/۲۵ درصد عصاره افزایش یافت، تحت تاثیر تغذیه با مقادیر مختلف این عصاره نمی‌باشد.

در همولنف میگوهای تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره SHWE، پارامترهای آنتی‌اکسیدانی شامل گلوتاتیون، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون اس-ترانسفراز و کاتالاز بعد از تغذیه روند افزایشی را نشان دادند. بسیاری از مطالعات نقش تحریکی و مثبت جلبک‌های دریایی را بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجودات آبزی نشان می‌دهند (Liu *et al*., 2008; Sinurat *et al*., 2016; Yang *et al*., 2014; Ying, 2008). در تحقیقی که به بررسی اثر عصاره *S. wightii* بر میگوی *Penaeus monodon* پرداخته شد، استفاده از این عصاره به طور معنی‌دار سبب افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز همولنف شد (Immanuel *et al*., 2012). همچنین استفاده از عصاره جلبک *Gracilaria tenuistipitata* باعث افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در میگوی *P. vannamei* شد (Liu *et al*., 2019; Sirirustananun *et al*., 2011). همراستا با این نتایج، استفاده از عصاره آب داغ *Spirulina platensis* به عنوان مکمل غذایی، سبب افزایش معنی‌دار سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در میگوی *P. vannamei* شد (Tayag *et al*., 2010). در مطالعه دیگر، میگوهای پاسفید غربی که عصاره پلی‌ساکاریدی استخراج شده از

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳ – شمارش افتراقی سلول‌های همولنف در میگوی پاسفید غربی، *Penaeus vannamei*، تغذیه شده با مقادیر مختلف عصاره آب داغ جلبک *Sargassum ilicifolium*. هر ستون بیانگر میانگین به همراه خطای استاندارد می‌باشد. حروف متفاوت در بالای ستون‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد. آنالیز آماری با دقت ۹۵ درصد بیان شده است.

جلبک *Ulva rigida* را دریافت کرده بودند، سطوح بالاتری از کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز را نسبت به گروه شاهد نشان دادند (Akbary and Aminikhoei, 2018a). در مطالعه حاضر نیز استفاده از عصاره SHWE سبب تحریک و افزایش میزان گلوتاتیون اس-ترانسفراز و کاتالاز در تیمار ۰/۵ درصد عصاره شد. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی نظیر کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی نظیر گلوتاتیون، هر دو از اجزاء بسیار مهم فیزیولوژی سیستم ایمنی موجودات هستند که در برابر اکسیداسیون چربی‌ها و رادیکال‌های آزاد مقابله می‌کنند. این آنتی‌اکسیدان‌های فیزیولوژیک می‌توانند تحت تاثیر برخی از مواد مصرفی نظیر پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از جلبک‌ها، تحریک شوند (Liu *et al*., 1999). دراین رابطه استفاده از عصاره آب داغ جلبک *S. horneri* و عصاره جلبک *S. oligocystum* در میگوی *P. vannamei* به ترتیب سبب افزایش بیان ژن مرتبط با تنظیم آنتی‌اکسیدان‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز (Lee *et al*., 2020) و افزایش معنی‌داری سطوح سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسید (Baleta *et al*., 2013) گردید. همچنین استفاده از فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *S. wightii* به صورت مکمل غذایی نیز سبب افزایش معنی‌دار سطح سوپراکسید دیسموتاز در میگوی *P. monodon* گردید (Immanuel *et al*., 2012). احتمالاً این تاثیرات تحریکی و مثبت به دلیل نقش زیست فعال پلی‌ساکاریدها و عملکرد آن‌ها به عنوان یک القاء کننده آنتی‌اکسیدانی در موجودات می‌باشد. در مطالعه حاضر، با وجود این‌که سطح آنتی‌اکسیدانی و مقدار لیپوپلی‌ساکاریدهای موجود در عصاره آب داغ جلبک *S. ilicifolium* مورد سنجش قرار نگرفت، اما با تکیه بر مطالعات قبلی (Deng *et al*., 2015; Dore *et al*., 2013; Rocha de Souza *et al*., 2007) می‌توان این گونه فرض نمود که افزایش سطح پارامترهای آنتی‌اکسیدانی در میگوهای تغذیه شده با غذای حاوی این عصاره احتمالاً مرتبط با وجود ترکیبات زیست فعال نظیر پلی‌ساکاریدها در این عصاره می‌باشد (Palanisamy *et al*., 2017; Shao

www.SID.ir

Archive of SID

et al., 2014).

در سخت‌پوستان، همولنف به واسطه دارا بودن پارامترهایی از جمله اسید فسفاتاز، آلکالین فسفاتاز و لیزوزیم، نقش مهمی در سیستم ایمنی موجود بر عهده دارد. این ترکیبات همگی به دلیل دارا بودن خاصیت سمیت سلولی، در سیستم ایمنی غیر اختصاصی موجود ایفای نقش می نمایند (Aguirre-Guzman *et al*., 2009; van de Braak, 2002). اسید فسفاتاز و آلکالین فسفاتاز هر دو در تنظیم پروسه‌های بیولوژیک مرتبط با فسفوریلاسیون و دفسفوریلاسیون نقش دارند (Wang *et al*., 2014). این آنزیم‌ها نه تنها به عنوان نشانگر زیستی جهت ارزیابی شرایط زیست محیطی و استرسی کاربرد دارند (Liu *et al*., 2004) بلکه به عنوان نشانگرهای مناسب به منظور ارزیابی شرایط ایمنی و فیزیولوژیک در جانوران از جمله سخت‌پوستان نیز مدنظر می‌باشند (Xue and Renault, 2000). میگوهای مورد مطالعه در این تحقیق، بعد از تغذیه با مقادیر متفاوت از عصاره آب داغ جلبک *S. ilicifolium*، تغییرات معنی‌داری در سطوح اسید فسفاتاز و فنل اکسیداز همولنف نشان ندادند، هرچند در میزان لیزوزیم و آلکالین فسفاتاز تغییراتی مشاهده شد. در تحقیقی که به بررسی تاثیرات کاربرد آلجینیک اسید و فوکوئیدان بر ماهی کاد، *Gadus morhua*، انجام شد، بعد از کاربرد این مواد تغییری در سطوح آلکالین فسفاتاز و اسید فسفاتاز ماهیان مشاهده نشد (Caipang *et al*., 2011). در یک بررسی دیگر، بعد از استفاده از لامینارین، سطح آلکالین فسفاتاز در خون ماهی *Epinephelus coioides* کاهش معنی‌دار یافت (Yin *et al*., 2014a). در میگوی *P. vannamei* تزریق پلی‌ساکاریدهای محرک ایمنی تنها باعث افزایش سطوح اسید فسفاتاز و آلکالین فسفاتاز در هپاتوپانکراس میگوها شد ولی تغییری در سطوح این آنزیم‌ها در همولنف دیده نشد (Chen *et al*., 2004). پلی‌ساکاریدهای استحصالی از *Enteromorpha prolifera* باعث افزایش آلکالین فسفاتاز در خیار دریایی *Apostichopus japonicas* نشدند، اما سطح اسید فسفاتاز را افزایش دادند (Wei *et al*., 2015). در مقابل، برخی از مطالعات نشان می‌دهند که آلکالین فسفاتاز و اسید فسفاتاز بعد از تزریق ترکیبات محرک ایمنی افزایش می‌یابند (Liu *et al*., 1999, 2011; Wang *et al*., 2017; Yin *et al*., 2014b). عدم تغییر سطوح این آنزیم‌ها در میگوهای تغذیه شده با مقادیر مختلف عصاره آب داغ جلبک *S. ilicifolium* نشان می‌دهد که این ترکیبات فاقد تاثیرات معنی‌دار القایی بر برخی از پارامترهای ایمنی در این گونه می‌باشد. تضاد در نتایج حاصل از این تحقیق با سایر مطالعات، احتمالاً مرتبط با تفاوت‌های موجود در گونه، نوع عصاره استخراج شده از جلبک، مقدار مصرف و یا روش به کارگیری و مصرف عصاره می‌باشد.

در سخت‌پوستان، فنل اکسیداز جزیی از سیستم ایمنی موجود به شمار رفته و سنجش این پارامتر با هدف ارزیابی سلامت جانور کاربرد دارد (Vargas-Albores *et al*., 1998). افزایش درصد عصاره اضافه شده به غذا، باعث افزایش فعالیت فنل اکسیداز در همولنف میگوهای نشد. در تایید نتایج این تحقیق، تزریق لیپوپلی ساکاریدها به میگوی *P. vannamei* (Okumura, 2007) و *Homarus gammarus* (Hauton *et al*., 2005) تاثیری بر میزان پروفنل اکسیداز نداشت. در مطالعه‌ای دیگر، کاربرد هر یک از ترکیبات لیپوپلی‌ساکارید، بتا ۱-۳ گلوکان، آلجینات، کاراجینان، فوکوییدان، لامینارین، عصاره آب داغ جلبک *G. tenuistipitata* و عصاره آب داغ جلبک *S. duplicatum* به تنهایی، تاثیری بر فعالیت فنل اکسیداز در میگوی *P. vannamei* نداشت. استفاده از مقادیر بالا از عصاره *G. verrucosa* تاثیری بر سطوح فعالیت فنل اکسیداز در میگوی *P. vannamei* نداشت (Zahra *et al*., 2017). نتایج حاصل ممکن است مرتبط با نوع عصاره جلبکی مورد استفاده که به عنوان مولکول موثر در تشخیص مرتبط با عامل بیماری‌زایی عمل می‌کند، و همچنین

www.SID.ir

Archive of SID

پاسخ اختصاص گونه‌ای پروتئین‌های تشخیصی به ترکیبات مختلف به منظور فعال کردن سیستم پروفنل اکسیداز باشد.

در سخت‌پوستان، تعداد هموسیت‌های مختلف نقش اصلی در سیستم ایمنی موجود را به عهده دارد (Jiravanichpaisal *et al*., 2006). تعداد این سلول‌های در حال گردش در همولنف که محل ذخیره مولکول‌های موثر و لازم در سیستم دفاعی جانور نظیر اجزاء فعال کننده فنل اکسیداز هستند، در پاسخ به مولکول‌ها و ترکیبات مختلف غیر خودی تغییر می‌کنند (Sequeira *et al*., 1996; van de Braak *et al*., 2002). در مطالعه حاضر، استفاده از عصاره آب داغ جلبک *S. ilicifolium* باعث افزایش تعداد هموسیت‌های کل، سلول‌های نیمه گرانوله، گرانوله و هیالین شد. هرچند، حداکثر این افزایش در تیمار تغذیه شده با ۰/۵ درصد عصاره مشاهده شد. نتایج بسیاری از مطالعات صورت گرفته بر روی تاثیرات محرک جلبک‌ها تایید کننده یافته‌های این پژوهش می‌باشند (Fu *et al*., 2007; Tayag *et al*., 2010; Yeh *et al*., 2010; Sudaryono *et al*., 2018). هموسیت‌های میگوی *F. indicus* بعد از استفاده از عصاره آب داغ *S. glaucescens* افزایش یافت (Ghaednia *et al*., 2011b)، درحالی که استفاده از عصاره آب داغ جلبک *Padina boergesenii* تاثیرات اندکی بر تعداد هموسیت‌های میگوی *F. indicus* نشان داد (Ghaednia *et al*., 2011a). افزایش تعداد هموسیت‌ها در بسیاری از این مطالعات مرتبط با تاثیرات میتوژنیک آنتی‌اکسیدان‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدها می‌باشد (Fan *et al*., 2017; Cheng, 2019; Su *et al*., 2020). هرچند، همان طور که در مطالعه حاضر سطح و نوع ترکیبات موجود در عصاره آب داغ جلبک *S. ilicifolium* بررسی و آنالیز نشده است، تعیین دقیق مکانیسم اثر این عصاره آبی بر تعداد سلول‌های همولنف نیازمند مطالعات تکمیلی می‌باشد.

به طور کلی، می‌توان این گونه نتیجه گرفت که عصاره آب داغ جلبک *S. ilicifolium* به عنوان مکمل غذایی در تغذیه میگوی پاسفید غربی دارای نقش موثر و تحریکی بر پارامترهای ایمنی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. با توجه به نتایج می‌توان بیان نمود که عصاره آب داغ جلبک *S. ilicifolium* نه تنها می‌تواند در تغذیه میگوها با هدف تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به طور عملی مورد استفاده قرار گیرد، بلکه بر افزایش تعداد سلول‌های همولنف که خود جهت تقویت سیستم ایمنی میگو موثر می‌باشد، نیز تاثیرات واضح و مثبتی دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مدیریت و پرسنل مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان خلیج فارس – کلاهی استان هرمزگان، خصوصاً جناب آقای مهندس موسی درویشی به دلیل حمایت‌ها و کمک‌های خود در انجام این مطالعه کمال تشکر و قدردانی را دارند. همچنین از تیم داوری این مقاله به واسطه نظرات سازنده خود کمال سپاسگزاری به عمل می‌آید.

منابع

Aguirre-Guzman G., Sanchez-Martinez J.G., Campa-Cordova A.I., Luna-Gonzalez A., Ascencio F. 2009. Penaeid shrimp immune system. *The Thai Journal of Veterinary Medicine* 39, 205-215.

Akbary P., Aminikhoei Z. 2018a. Effect of polysaccharides extracts of algae *Ulva rigida* on growth, antioxidant, immune response and resistance of shrimp, *Litopenaeus vannamei* against *Photobacterium damselae*. *Aquaculture Research* 49, 2503-2510.

Akbary P., Aminikhoei Z. 2018b. Effect of water-soluble polysaccharide extract from the green alga *Ulva rigida* on growth performance, antioxidant enzyme activity, and immune stimulation of grey mullet *Mugil cephalus*. *Journal of Applied Phycology* 30, 1345-1353.

Baleta F.N., Lin Y., Chen Y., Chen J.-C., Yeh S.-T., Putra D.F., Huang C.-L. 2013. Efficacy of *Sargassum oligocystum* extract on the innate immunity of white shrimp

www.SID.ir

Archive of SID

Kyushu University (Japan) 47, 137-141.

Fu Y.-W., Hou W.-Y., Yeh S.-T., Li C.-H., Chen J.-C. 2007. The immunostimulatory effects of hot-water extract of *Gelidium amansii* via immersion, injection and dietary administrations on white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology* 22, 673-685.

Ghaednia B., Mehrabi M.R., Mirbakhsh M., Yeganeh V., Nasab A.D. 2011a. Administration of hot-water extract of *Padina boergesenii* via immersion route to enhance haemolymph-immune responses of *Fenneropenaeus indicus* (Edwards). *Aquaculture Research* 42, 1350-1358.

Ghaednia B., Mehrabi M., Mirbakhsh M., Yeganeh V., Hoseinkhezri P., Garibi G., Ghaffar Jabbari A. 2011b. Effect of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum glaucescens* via immersion route on immune responses of *Fenneropenaeus indicus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 10, 616-630.

Gonzalez F., Fárez-Vidal M.E., Arias J., Montoya E. 1994. Partial purification and biochemical properties of acid and alkaline phosphatases from *Myxococcus coralloides* D. *Journal of Applied Microbiology* 77, 567-573.

Góth L. 1991. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta* 196, 143-151.

Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. 1974. Glutathione S-Transferases: The First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation. *Journal of Biological Chemistry* 249, 7130-7139.

Hafezieh M., Ajdari D., Ajdehakosh Por A., Hosseini S. 2014. Using Oman Sea *Sargassum illicifolium* meal for feeding white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 13, 73-80.

Hauton C., Hammond J.A., Smith V.J. 2005. Real-time PCR quantification of the in vitro effects of crustacean immunostimulants on gene expression in lobster (*Homarus gammarus*) granular haemocytes. *Developmental and Comparative Immunology* 29, 33-42.

Hoguet J., Key P.B. 2007. Activities of biomarkers in multiple life stages of the model crustacean, *Palaemonetes pugio*. *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Journal of the Fisheries Society of Taiwan* 40, 241-256.

Bolann B., Ulvik R. 1991. Improvement of a direct spectrophotometric assay for routine determination of superoxide dismutase activity. *Clinical Chemistry* 37, 1993-1999.

Caipang C.M.A., Lazado C.C., Berg I., Brinchmann M.F., Kiron V. 2011. Influence of alginic acid and fucoidan on the immune responses of head kidney leukocytes in cod. *Fish Physiology and Biochemistry* 37, 603-612.

Chen C., Yao J., Chen X., Li Z., Chen C., Liang Y. 2004. Effect of immunopolysaccharide (yeast cell wall) on the enzymes related to immune in penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*. *Journal Huazhong (Central China) Agricultural University* 23, 551-554.

Cheng Y. 2019. The growth performance and nonspecific immunity of red swamp crayfish *Procambarus clarkia* affected by dietary *Rhodiola rosea* polysaccharide. *Fish & Shellfish Immunology* 93, 796-800.

Deng B., Wang Z.P., Tao W.J., Li W.F., Wang C., Wang M.Q., Ye S.S., Du Y.J., Wu X.X., Wu D. 2015. Effects of polysaccharides from mycelia of *Cordyceps sinensis* on growth performance, immunity and antioxidant indicators of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition* 21, 173-179.

Dore C.M.P.G., Faustino Alves M.G.d.C., Pofírio Will L.S.E., Costa T.G., Sabry D.A., de Souza Rêgo L.A.R., Accardo C.M., Rocha H.A.O., Filgueira L.G.A., Leite E.L. 2013. A sulfated polysaccharide, fucans, isolated from brown algae *Sargassum vulgare* with anticoagulant, antithrombotic, antioxidant and anti-inflammatory effects. *Carbohydrate Polymers* 91, 467-475.

Ellis A.E. 1990. Lysozyme assays. *Techniques in Fish Immunology* 1, 101-103.

FAO, 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 227 p.

Fujiki K., Matsuyama H., Yano T. 1992. Effect of hot-water extracts from marine algae on resistance of carp and yellowtail against bacterial infections. *Science Bulletin of the Faculty of Agriculture-*

www.SID.ir

Archive of SID

diseases and current diagnostic methods. *Aquaculture* 164, 201-220.

Liu P.-C., Lin P.-W., Huang C.-L ,.Hsu C.-H., Chen J.-C. 2019. Long-term administration of diets containing *Gracilaria tenuistipitata* extract induce the expression of immune-related genes and increase the immune response and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Gene Reports* 15, 100378.

Liu S.-Q., Jiang X.-L., Mou H.-J., Wang H.-M., Guan H.-S. 1999. Effects of immunopoiysaccharide on LSZ, ALP, ACP and POD activities of *Penaeus chinensis* serum. *Oceanologia et Limnologia Sinica* 30, 278-283.

Liu S., Jiang X., Hu X., Gong J., Hwang H., Mai K. 2004. Effects of temperature on non-specific immune parameters in two scallop species: *Argopecten irradians* (Lamarck 1819) and *Chlamys farreri* (Jones & Preston 1904). *Aquaculture Research* 35, 678-682.

Liu X.-L., Xi Q.-Y., Yang L., Li H.-Y., Jiang Q.-Y., Shu G., Wang S.-B., Gao P., Zhu X.-T., Zhang Y.-L. 2011. The effect of dietary *Panax ginseng* polysaccharide extract on the immune responses in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology* 30, 495-500.

Liu Y., Kong W., Jiang G., Wu Z. 2008. Effects of two kinds of immunopolysaccharide on the activities of immunoenzymes in sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. *Journal of fishery Sciences of China* 15, 787-793.

Meng Z., Shao J., Xiang L. 2003. CpG oligodeoxynucleotides activate grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) macrophages. *Developmental and Comparative Immunology* 27, 313-321.

Nedaei S., Noori A., Valipour A., Khanipour A.A., Hoseinifar S.H. 2019. Effects of dietary galactooligosaccharide enriched commercial prebiotic on growth performance ,innate immune response, stress resistance, intestinal microbiota and digestive enzyme activity in Narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823). *Aquaculture* 499, 80-89.

Okumura T. 2007. Effects of lipopolysaccharide on gene expression of antimicrobial peptides (penaeidins and crustin), serine proteinase and *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 353, 235-244.

Holmström K., Gräslund S., Wahlström A., Poungshompoo S., Bengtsson B.E., Kautsky N. 2003. Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health. *International Journal of Food Science and Technology* 38, 255-266.

Immanuel G., Sivagnanavelmurugan M., Marudhupandi T., Radhakrishnan S., Palavesam A. 2012. The effect of fucoidan from brown seaweed *Sargassum wightii* on WSSV resistance and immune activity in shrimp *Penaeus monodon* (Fab). *Fish and Shellfish Immunology* 32, 551-564.

Javahery S., Noori A., Hoseinifar S.H. 2019. Growth performance, immune response, and digestive enzyme activity in Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* Boone, 1931, fed dietary microbial lysozyme. *Fish and Shellfish Immunology* 92, 528-535.

Jiravanichpaisal P., Lee B.L., Söderhäll K. 2006. Cell-mediated immunity in arthropods: hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization. *Immunobiology* 211, 213-236.

Kanjana K., Radtanatip T., Asuvapongpatana S., Withyachumnarnkul B., Wongprasert K. 2011 .Solvent extracts of the red seaweed *Gracilaria fisheri* prevent Vibrio harveyi infections in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Fish and Shellfish Immunology* 30, 389-396.

Kautsky N., Rönnbäck P., Tedengren M., Troell M. 2000. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture* 191, 145-161.

Khachatourians G.G. 1998. Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *Canadian Medical Association Journal* 159, 1129-1136.

Le T.X., Munekage Y., Kato S.-i. 2005. Antibiotic resistance in bacteria from shrimp farming in mangrove areas. *Science of the Total Environment* 349, 95-105.

Lee P.-T., Quan Tran H.T., Huang H.-T., Nan F.-H., Lee M.-C. 2020. *Sargassum horneri* extracts stimulate innate immunity, enhance growth performance ,and upregulate immune genes in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology* 102, 276-285.

Lightner D.V., Redman R.M. 1998. Shrimp

www.SID.ir

Archive of SID

Chiew S.L. 2011. Dietary administration of a *Gracilaria tenuistipitata* extract enhances the immune response and resistance against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology* 31, 848-855.

Su C., Fan D., Pan L., Lu Y., Wang Y., Zhang M. 2020. Effects of Yu-Ping-Feng polysaccharides (YPS) on the immune response, intestinal microbiota, disease resistance and growth performance of *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology* 105, 104-116.

Sudaryono A., Chilmawati D., Susilowati T. 2018. Oral Administration of Hot-water Extract of Tropical Brown Seaweed, *Sargassum cristaefolium*, to Enhance Immune Response, Stress Tolerance, and Resistance of White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, to *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 49, 877-888.

Suleman S., Andayani S., Yuniarti A. 2018. The Effect of *Ulva lactuta* Polysaccharide Extract on Total Haemocyte Count and Phagocytic Activity of *L. vannamei*. *Research Journal of Life Science* 5, 156-162.

Tayag C.M., Lin Y.-C., Li C.-C., Liou C.-H., Chen J.-C. 2010. Administration of the hot-water extract of *Spirulina platensis* enhanced the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology* 28, 764-773.

van de Braak C.B.T., Botterblom M.H.A., Taverne N., van Muiswinkel W.B., Rombout J.H.W.M., van der Knaap W.P.W. 2002. The roles of haemocytes and the lymphoid organ in the clearance of injected *Vibrio* bacteria in *Penaeus monodon* shrimp. *Fish and Shellfish Immunology* 13, 293-309.

van de Braak K., 2002. Haemocytic defence in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), Wageningen Institute of Animal Science. Wageningen University, The Netherlands, 159 p.

Van Doan H., Hoseinifar S.H., Esteban M.Á., Dadar M., Thu T.T.N. 2019. Chapter 2-Mushrooms, Seaweed, and Their Derivatives as Functional Feed Additives for Aquaculture: An Updated View. In : Atta ur, R. (Ed.), Studies in Natural prophenoloxidase in haemocytes of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology* 22, 68-76.

Paglia D.E., Valentine W.N. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 70, 158-169.

Palanisamy S., Vinosha M., Marudhupandi T., Rajasekar P., Prabhu N.M. 2017. In vitro antioxidant and antibacterial activity of sulfated polysaccharides isolated from *Spatoglossum asperum*. *Carbohydrate Polymers* 170, 296-304.

Perazzolo L.M., Barracco M.A. 1997. The prophenoloxidase activating system of the shrimp *Penaeus paulensis* and associated factors. *Developmental and Comparative Immunology* 21, 385-395.

Rhodes G., Huys G., Swings J., Mcgann P., Hiney M., Smith P., Pickup R.W. 2000. Distribution of Oxytetracycline Resistance Plasmids between Aeromonads in Hospital and Aquaculture Environments: Implication of Tn*1721* in Dissemination of the Tetracycline Resistance Determinant Tet A. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 3883-3890.

Rocha de Souza M.C., Marques C.T., Guerra Dore C.M., Ferreira da Silva F.R., Oliveira Rocha H.A., Leite E.L. 2007. Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *Journal of Applied Phycology* 19, 153-160.

Santos L., Ramos F. 2018. Antimicrobial resistance in aquaculture: Current knowledge and alternatives to tackle the problem. *International Journal of Antimicrobial Agents* 52, 135-143.

Sequeira T., Tavares D., Arala-Chaves M. 1996. Evidence for circulating hemocyte proliferation in the shrimp *Penaeus japonicus*. *Developmental & Comparative Immunology* 20, 97-104.

Sinurat E., Saefudin E., Peranginangin R., Pws S.H. 2016. Immunostimulatory activity of brown seaweed-derived fucoidans at different molecular weights and purity levels towards white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 6, 82-91.

Sirirustananun N., Chen J.-C., Lin Y.-C., Yeh S.-T., Liou C.-H., Chen L.-L., Sim S.S.,

www.SID.ir

Archive of SID

Yang Q., Yang R., Li M., Zhou Q., Liang X., Elmada Z.C. 2014. Effects of dietary fucoidan on the blood constituents, anti-oxidation and innate immunity of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Fish and Shellfish Immunology* 41, 264-270.

Yeganeh S., Adel M. 2019. Effects of dietary algae (*Sargassum ilicifolium*) as immunomodulator and growth promoter of juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758). *Journal of Applied Phycology* 31, 2093-2102.

Yeh S.-T., Lin Y.-C ,.Huang C.-L., Chen J.-C. 2010. White shrimp *Litopenaeus vannamei* that received the hot-water extract of *Gracilaria tenuistipitata* showed protective innate immunity and up-regulation of gene expressions after low-salinity stress. *Fish and Shellfish Immunology* 28, 887-894.

Yin G., Li W., Lin Q., Lin X., Lin J., Zhu Q., Jiang H., Huang Z. 2014a. Dietary administration of laminarin improves the growth performance and immune responses in *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology* 41, 402-406.

Yin X.-L., Li Z.-J., Yang K., Lin H.-Z., Guo Z.-X. 2014b. Effect of guava leaves on growth and the non-specific immune response of *Penaeus monodon*. *Fish & Shellfish Immunology* 40, 190-196.

Ying H. 2008. Immunoregulation Effect of *Sargassum* Polysaccharides on White-leg Shrimp. *Journal of Anhui Agricultural Sciences* 31.

Zahra A., Sukenda S., Wahjuningrum D. 2017. Extract of seaweed *Gracilaria verrucosa* as immunostimulant to controlling white spot disease in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 16, 174-183.

Products Chemistry. Elsevier, pp. 41-90.

Vargas-Albores F., Hinojosa-Baltazar P., Portillo-Clark G., Magallon-Barajas F. 1998. Influence of temperature and salinity on the yellowleg shrimp, *Penaeus californieinsis* Holmes, prophenoloxidase system. *Aquaculture Research* 29, 549-553.

Wang C., Hu W., Wang L., Qiao H., Wu H., Xu Z. 2019. Effects of dietary supplementation with *Sargassum horneri* meal on growth performance, body composition, and immune response of juvenile turbot. *Journal of Applied Phycology* 31, 771-778.

Wang X., Wang L., Che J., Li X., Li J., Wang J., Xu Y. 2014. In vitro non-specific immunostimulatory effect of alginate oligosaccharides with different molecular weights and compositions on sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) coelomocytes. *Aquaculture* 434, 434-441.

Wang Y., Li Z., Li J., Duan Y.-F., Niu J., Wang J., Huang Z., Lin H.-Z. 2015. Effects of dietary chlorogenic acid on growth performance, antioxidant capacity of white shrimp Litopenaeus vannamei under normal condition and combined stress of low-salinity and nitrite. *Fish and Shellfish Immunology* 43, 337-345.

Wang Y., Xu W., Zuo R., Zhou H., Bai Y., Mai K., Wang D., Ai Q. 2017. Effect of dietary chitosan oligosaccharide complex with Ce (IV) on growth, immunity and disease resistance against *Vibrio splendidus* of sea cucumber, *Apostichopus japonicas*. *Aquaculture Research* 48,1158-1167.

Wegener H.C., Aarestrup F.M., Gerner-Smidt P., Bager F. 1999. Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man. *Acta Veterinaria Scandinavica. Supplementum* 92, 51-57.

Wei J., Wang S., Pei D., Liu Y., Liu Y., Di D. 2015. Polysaccharide from *Enteromorpha prolifera* enhances non-specific immune responses and protection against *Vibrio splendidus* infection of sea cucumber. *Aquaculture International* 23, 661-670.

Willis C. 2000. Antibiotics in the food chain: their impact on the consumer. *Reviews in Medical Microbiology* 11, 153-160.

Xue Q., Renault T. 2000. Enzymatic Activities in European Flat Oyster, *Ostrea edulis*, and Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*, Hemolymph. *Journal of Invertebrate Pathology* 76, 155-163.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of water-borne genistein as a natural source of phenolic compounds on hematological parameters of common carp (*Cyprinus carpio*)

Fatemeh Eidi Ghaleghazi[1], Ahmad Noori[*1], Seyyed Hossein Hoseinifar[2]

[1]Department of Fisheries Science, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
[2]Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
*Corresponding author: nooryahmad@gmail.com
Received: 2020/11/30 Accepted: 2021/2/2

Abstract

This study was designed to evaluate the haemolymph immunological and antioxidant parameters in *Penaeus vannamei* fed on *Sargassum ilicifolium* hot-water extract (SHWE) supplemented diets. Three experimental groups including 0.25, 0.5, and 1% SHWE, and one control (without SHWE inclusion), each with three replicates, were applied. A totsl of 120 shrimps (4.67±0.08 g) were randomly distributed into 12 experimental tanks. At the end of a 66-day feeding trial, haemolymph immunological and antioxidant parameters were measured. The results indicated that alkaline phosphatase increased significantly in 0.25% SHWE fed treatment ($P<0.05$). Glutathione peroxidase significantly increased in all the treatments fed the SHWE supplemented diets ($P<0.05$). However, the levels of glutathione significantly increased in the groups fed by 0.25 and 0.5% SHWE supplemented diets ($P<0.05$). The levels of glutathione s-transferase, superoxide dismutase, and catalase significantly increased in the treatment fed 0.5% SHWE supplemented diet ($P<0.05$), whereas the total antioxidant capacity levels remained unchanged among the treatments ($P>0.05$). Both acid phosphatase and phenoloxidase did not influenced by dietary treatments ($P>0.05$). The levels of lysozyme were significantly lower in the treatment fed 0.25% SHWE supplementary ($P<0.05$), whereas this experimental group did not show any difference with the others ($P>0.05$). The numbers of THC, GC, SGC, and HC significantly increased in the treatment fed 0.5% SHWE supplemented diet ($P<0.05$). However, the fish fed 0.25% SHWE supplemented diet exhibited significantly higher THC and SGC levels, compared to the control group (P>0.05). The present results indicate that SHWE can be applied practically via a dietary route to boost the haemolymph antioxidant status as well as the cellular immunity of Pacific white shrimp.

Keywords: Hot-water extract, Brown seaweed, Haemolymph, Immune parameters, Antioxidant.

www.SID.ir