مجله علوم وفنون دریایی، فصل نامه ی علمی پژوهشی

دوره ۲۱، شماره ۴ ،زمستان ۱۴۰۱، صفحات ۴۱ تا ۵۴

مقاله پژوهشی

Available Online: *http://jmst.kmsu.ac.ir*

بررسی عملکرد رشد و پارامترهای بیوشیمیایی میگوی پاسفید غربی *Litopenaus vanname* (Boone, 1931) تغذیه‌شده با جیره غذایی غنی‌شده با فوکوئیدان

راضیه صالح پور [۱]، نرگس امراللهی بیوکی [۱،۲*]، مهدی محمدی [۳]، عقیل دشتیان نسب [۴]، پدرام ابراهیم نژاد [۵]، سید احمد قاسمی [۳]

۱. گروه زیست‌شناسی دریایی، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
۲. گروه فناوری های نوین، پژوهشکده منطقه ای جنگل های حرا، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
۳. گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده خلیج‌فارس، دانشگاه خلیج‌فارس، بوشهر، ایران.
۴. پژوهشکده میگوی کشور، سازمان تحقیقات علوم شیلات ایران، سازمان آموزش و ترویج تحقیقات کشاورزی، بوشهر، ایران.
۵. گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مازندران، ساری، ایران.

نویسنده مسئول، پست الکترونیک: amrollahi@hormozgan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۱ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۰/۰۳/۱۲ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۰/۰۳/۲۴

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22113/JMST.2021.268814.2412

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی سطوح مختلف فوکوئیدان جیره غذایی بر روی عملکرد رشد، زنده‌مانی و پارامترهای بیوشیمیایی میگو پاسفید غربی (*Litopenaus vannamei*) انجام گرفت. میگوها با متوسط وزن اولیه حدود ۸ گرم با چهار جیره غذایی مختلف که حاوی چهار سطح فوکوئیدان (صفر، ۰/۱ ٪، ۰/۲ ٪ و ۰/۴ ٪) به مدت ۳۰ روز در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد تغذیه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که عملکرد رشد (وزن انتهایی، وزن به‌دست‌آمده، ضریب تبدیل غذایی و ضریب رشد ویژه) میگوهای تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی فوکوئیدان به‌طور معنی‌داری ($p < ۰/۰۱$) نسبت به میگوهای تغذیه‌شده با جیره غذایی شاهد بهبود یافت. بهترین عملکرد رشد در میگوهای تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی ۰/۴ ٪ فوکوئیدان مشاهده شد. زنده‌مانی در بین گروه‌های تغذیه‌شده با مکمل فوکوئیدان و شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($p < ۰/۰۵$). پارامترهای بیوشیمیایی همولنف از جمله گلوکز، تری گلیسرید و کلسترول به‌طور معنی‌داری در میگوهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فوکوئیدان در مقایسه با گروه شاهد کاهش داشته است. اما میزان پروتئین در گروه‌های تغذیه‌شده با مکمل فوکوئیدان نسبت به شاهد افزایش نشان داد. فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز در همولنف میگوهای شاهد نسبت به میگوهای تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی فوکوئیدان بالاتر بود. به‌طورکلی، نتایج تحقیق حاضر آشکار ساخت که جیره غذایی حاوی سطوح مختلف فوکوئیدان به‌ویژه ۰/۴٪ منجر به افزایش شاخص‌های رشد و بهبود پارامترهای بیوشیمیایی همولنف و درنتیجه بهبود وضعیت سلامت میگو گردیده است.

واژگان کلیدی: فوکوئیدان، آنزیم‌های همولنف، *Litopenaus vannamei* ، پارامترهای رشد.

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons. org/licenses/ by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

۱. مقدمه

صنعت آبزی‌پروری در سال‌های اخیر به‌عنوان مهم‌ترین بخش تولید مواد غذایی با سریع‌ترین میزان رشد تکامل‌یافته است که نقش قابل‌توجهی در امنیت غذایی جهان ایفا می‌کند (Hoseinifar et al., 2017). سخت‌پوستان به‌عنوان گروه مهمی از گونه‌های آبزی-پروری بعد از ماهی‌های استخوانی در نظر گرفته‌شده‌اند. در میان گونه‌های مختلف سخت‌پوستان، میگوی پا سفید (*Litopenaeus vannamei*) در بسیاری از کشورهای آسیایی، آمریکای شمالی، آمریکای جنوبی و جزایر اقیانوس‌های آرام در مقیاس صنعتی پرورش داده می‌شود. به‌طوری‌که دلیل اصلی استفاده از این‌گونه میگو، ویژگی بقای بالاتر، رشد سریع در سیستم پرورش فشرده و تحمل بیماری‌ها است (Briggs et al., 2004). امروزه یکی از دغدغه‌های اصلی پرورش‌دهندگان میگو، بالاتر بردن نرخ رشد و همچنین کاهش شیوع پاتوژن های بیماری‌زا می‌باشد (Niu et al., 2011). شرایط محیطی استرس‌زا مانند تغییرات در دما و شوری، اکسیژن محلول پائین، در معرض قرارگیری با آمونیاک، نمونه‌برداری مکرر، در دسترس بودن غذا و غیره، حساسیت را نسبت به پاتوژن‌های مختلف که عمدتاً به دلیل کاهش ظرفیت پاسخ ایمنی است، افزایش می‌دهد (Racotta and Palacios, 1998; Liu and Chen, 2004; Cheng et al., 2005; Li et al., 2006; Vaseeharan et al., 2013).

شرایط استرس‌زا به‌طور معمول در بسیاری از گونه‌ها با بررسی شاخص‌های متابولیکی مانند گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین و آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز که پاسخ استرس فیزیولوژی را تائید می‌کند، تشخیص داده می‌شود. برای مثال پارامترهای بیوشیمیایی ذکرشده در شرایط استرس‌زا مانند عفونت‌های بیماری‌زا، نمونه‌برداری مکرر، آزار و اذیت و غیره در همولنف میگو افزایش می‌یابد (Racotta and Palacios, 1998; Aparicio-Simón et al., 2010; Ynske et al., 2010; Medina-Félix et al., 2014).

بنابراین، یک رژیم غذایی مصنوعی که به‌طور کامل نیازهای غذایی و ایمنی میگو را برآورده سازد باید توسعه یابد که به‌تبع موجب افزایش بازدهی تولید در این صنعت گردد. تاکنون، تعداد زیادی استراتژی برای پیشگیری یا کنترل بیماری و بهبود رشد ازجمله استفاده از محرک‌های ایمنی با منشأ طبیعی و دریایی در آبزی‌پروری میگو پیشنهاد و اعمال‌شده است (Qi et al., 2009; Immanuel et al., 2012; Lee et al., 2020).

از میان این محرک‌های ایمنی، پلی‌ساکاریدهای سولفاته مشتق شده از جلبک‌های قهوه‌ای به‌ویژه فوکوئیدان به‌طور گسترده‌ای برای بهبود پاسخ ایمنی و عملکرد رشد به کار گرفته‌شده است که نتایج مثبتی گزارش‌شده است (Chotigeat et al., 2004; Immanuel et al., 2012; Sivagnanavelmurugan et al., 2012).

Traiflgar et al. (2009، 2013) گزارش کردند که فوکوئیدان مشتق شده از جلبک *Undaria pinnatifida* عملکرد رشد و مقاومت در برابر عفونت ویبریو را در میگو *Penaeus monodon* و *P. japonicus* بهبود می‌بخشد. از طرف دیگر، Immanuel et al. (2012) نشان دادند که فوکوئیدان مشتق‌شده از جلبک *Sargassum wightii* می‌تواند باعث کاهش عفونت WSSV (White spot syndrome virus) در میگو *P. monodon* شود. همچنین Sivagnanavelmurugan et al. (2014) نشان دادند که فوکوئیدان استخراج‌شده از *S. wightii* باعث افزایش پارامترهای ایمنی و مقاومت در برابر *Vibrio parahaemolyticus* و همچنین عملکرد رشد *P. monodon* می‌گردد. با توجه به موارد فوق‌الذکر، پژوهش حاضر برای اولین بار در ایران به دنبال بررسی کارایی پلی ساکارید فوکوئیدان استخراج‌شده از جلبک دریایی خلیج‌فارس بر بهبود و ارتقاء شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی میگوی وانامی می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

گونه موردنظر ماکرو جلبک قهوه‌ای *Cystoseira. trinodis* از نواحی بین جزر و مدی خلیج‌فارس در فصل بهار سال ۱۳۹۷ از سواحل نیروگاه انرژی اتمی بوشهر به‌صورت پیمایش میدانی و تصادفی جمع‌آوری شد. ماکرو جلبک‌های دریایی جمع‌آوری‌شده با آب دریا شست‌وشو داده‌شده تا باقی‌مانده‌های شن و ماسه و غیره زدوده شود. سپس نمونه‌ها با کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه زیست‌فناوری پژوهشکده خلیج‌فارس بوشهر انتقال داده شد و با آب شهری شستشو شدند تا دیگر باقی‌مانده‌های نمکی از بین بروند. در پایان نمونه‌ها در شرایط سایه‌خشک شده و سپس با آسیاب برقی خرد و پودر شدند.

جهت استخراج ترکیب زیست فعال فوکوئیدان از ماکرو جلبک قهوه‌ای *C. trinodis*، ۲۰ گرم پودر خشک جلبک را در یک لیتر اتانول ۸۵٪ حل کرده (که در درون آن شیکر مغناطیسی است) و برای حذف پروتئین‌ها و رنگ‌دانه‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. بعد از شست‌وشو با استون، در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۵۰۰۰ rpm قرار گرفت. سپس محلول به‌دست‌آمده در دمای اتاق خشک شد. ۵ گرم از بیومس خشک را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر روی شیکرحل کرده و در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. دوباره استخراج انجام‌گرفته و سپس عصاره در دور ۱۵۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت با ۱٪ $CaCl_2$ مخلوط شده و محلول به مدت یک‌شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای رسوب آلژینات قرار

داده شد. محلول سپس در دور rpm ۱۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سوپرناتانت جمع‌آوری شد. سوپرناتانت به‌طور کامل با اتانول ۹۹٪ مخلوط تا غلظت نهایی اتانول به ۳۰٪ برسد و سپس محلول به مدت ۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. محلول به‌دست‌آمده سپس در دور rpm ۱۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. به سوپرناتانت اتانول ۹۹٪ اضافه شد تا غلظت نهایی اتانول به ۷۰٪ برسد و سپس محلول به مدت یک‌شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. فوکوئیدان از طریق فیلتر کردن محلول با غشا نیلون (۴۵/ میکرومتر) به دست آمد و محصول با اتانول ۹۹٪ و استون شست‌وشو داده شد(Yang et al., 2008). درصد بازدهی فوکوئیدان به‌وسیله فرمول (۱) محاسبه شد (Sivagnanavelmurugan et al., 2012).

برای خالص‌سازی فوکوئیدان ۲۵۰ میلی‌گرم فوکوئیدان استخراج‌شده را در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و در رفلاکس با ۷۵/ میلی‌لیتر HCl ۳ مولار به مدت ۳ ساعت گرم شد. بعد از سرد شدن، این مخلوط در دور g ۳۰۰۰ سانتریفیوژ و محلول سوپرناتانت با NaOH ۱ مولار خنثی و در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ریخته شد. سپس رسوب در آب مقطر حل و خشک شد (Immanuel et al., 2012).

برای هیدرولیز فوکوئیدان به منظور تبدیل پلی ساکاریدها به منوساکاریدها، فوکوئیدان خالص‌شده برای هیدرولیز مورد آزمایش قرار گرفت. برای این کار، ۲۰ میلی‌گرم فوکوئیدان خالص‌شده با H2SO4 ۲ مولار در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه هیدرولیز شد. ماده هیدرولیز شده با NaOH ۶ مولار خنثی‌شده و سپس برای آنالیزهای بیشتر فریز درایر شد (Immanuel et al., 2012).

مواد لازم برای ساخت جیره از کارخانه هوواراش واقع در بوشهر تهیه و شامل پودر ماهی (۲۲ درصد)، گلوتن گندم (۳۰ درصد)، آرد گندم (۲۵ درصد)، روغن سویا (۲/۵ درصد)، روغن ماهی (۲/۵ درصد)، فسفولیپیدهای سویا (۲ درصد)، ژلاتین (۲ درصد)، مکمل ویتامینی (۱ درصد)، مکمل معدنی (۱ درصد)، کولین کلراید (۱ درصد) و سلولز (۶–۱۷/۱۸ درصد) است. مواد اولیه مورداستفاده با آسیاب برقی آسیاب و از الک با چشمه ۵۰ میکرومتر عبور داده شد. برای آماده‌سازی جیره غذایی، ابتدا مواد جامد را باهم مخلوط کرده و سپس با روغن ماهی مخلوط شده و درنهایت آب اضافه کرده تا خمیر یکدستی به دست آید. به‌منظور تهیه جیره‌های آزمایشی فوکوئیدان با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۰/۱٪، ۰/۲ ٪ و ۰/۴٪ به جیره غذایی پایه فرموله شده افزوده و به‌صورت یکنواخت مخلوط گردید و همچنین با افزایش غلظت فوکوئیدان میزان سلولز در جیره غذایی کاهش یافت (Chang *et al.*, 2018). پس از ساخت جیره غذایی، با دستگاه پلت سازی به پلت متناسب با دهان میگو (۲mm) تبدیل گردید. سپس جیره غذایی پلیتی درآون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و بعد از خشک شدن، آن‌ها در ظروف پلاستیکی قرار داده شدند و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگه‌داری شدند.

برای اعمال تیمارهای جیره غذایی فوکوئیدان، تعداد ۵۰۰ میگوی وانامی جوان ۸ گرمی از مزرعه پرورش میگو واقع در دلوار بوشهر تهیه شد. ابتدا میگوها به ۵ تانک ۱ تنی پلی‌اتیلن انتقال داده شدند و پس از طی مراحل سازگاری (به مدت دو هفته) با شرایط سوله تحقیقاتی آبزیان دریایی پژوهشکده خلیج‌فارس، میگوها به‌صورت طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با یک فاکتور فوکوئیدان با چهار سطوح در سه تکرار قرار گرفتند. قابل‌ذکر است که این تیمارها در ۱۲ تانک (۳۰ میگو در هر تانک) ۳۰۰ لیتری پلی‌اتیلنی با حجم ۲۵۰ لیتر توزیع شدند. آب موردنیاز تانک‌های پرورشی از آب دریا پمپاژ و پس از طی فرایند فیلتراسیون و استریل مورداستفاده قرار گرفت. هر روز صبح ۱ ساعت بعد از غذادهی، ۵۰ درصد از آب تانک‌های آزمایشی از طریق سیفون کردن تعویض شد. هوادهی هر مخزن با دو سنگ هوا انجام شد. دوره نوری نیز تحت شرایط طبیعی قرار داشت (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ روشنایی). خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب ازجمله دما (۳۱–۲۷ درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن (۰/۰۵ ± ۵ میلی‌گرم در لیتر)، شوری (ppt ۴۰–۴۳) (اندازه‌گیری با شوری سنج چشمی)، pH (۰/۰۲ ±۸/۷) هرروز در طول دوره پرورش اندازه‌گیری شد. فوکوئیدان مستخرج از ماکرو جلبک *C. trinodis* برای میگوهای جوان با متوسط وزنی ۸ گرم با مقادیر صفر (برای کنترل) ، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ ٪ غذاهای پلتی، غذادهی به‌صورت دستی و بر اساس وزن بدن (Van Wyk et al., 1999) روزانه ۳ وعده در ساعات ۶، ۱۴و ۱۸ به ترتیب با ۳۰، ۳۰ و ۴۰٪ غذای پلتی انجام گرفت Sivagnanavelmurugan *et al.*, (2014). موقع غذادهی نیز یک ساعت قبل از غذادهی، غذا از یخچال برای مصرف میگوها بیرون آورده شد.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد و میزان زنده‌مانی به این شکل است که در ابتدای آزمایش تا روز ۳۰ام بعد از تغذیه با جیره غذایی حاوی مکمل فوکوئیدان، هر ۱۰ روز میگوها بیومتری شدند. برای کاهش خطای اندازه‌گیری قبل زیست‌سنجی، میگوها با حوله تمیز خشک شدند و شاخص‌های رشد و کارآیی تغذیه ازجمله وزن نهایی (FW)، افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و درصد بقا مورد ارزیابی قرار گرفت (Prabu et al., 2016). نحوه محاسبه شاخص‌های رشد در فرمول‌های (۲)، (۳)،(۴) و (۵) آورده شده است .

معادله (۱) $\text{بازدهی فوکوئیدان } (\%) = \frac{\text{وزن فوکوئیدان}}{\text{وزن پودر خشک}} \times 100$

معادله (۲) $\text{وزن به دست آمده } (WG)(\%) = \frac{\text{وزن ابتدایی} - \text{وزن نهایی}}{\text{وزن ابتدایی}} \times 100$

معادله (۳) $\text{ضریب تبدیل غذایی } (FCR) = \frac{\text{غذا خورده شده (گرم)}}{\text{افزایش وزن (گرم)}} \times 100$

معادله (۴) $\text{ضریب رشد ویژه } (SGR) = \frac{\text{لگاریتم نپرین وزن اولیه} - \text{لگاریتم نپرین وزن نهایی}}{\text{تعداد روزهای پرورش}} \times 100$

معادله (۵) $\text{درصد بازماندگی} = \frac{\text{تعداد میگوهای نهایی}}{\text{تعداد میگوهای اولیه}} \times 100$

قبل از نمونه‌برداری، میگوها به مدت ۲۴ ساعت غذادهی نشدند و سپس هم‌ولنف به‌طور جداگانه از ۹ میگو هر تیمار (شاهد و ۳ گروه تغذیه‌شده با رژی غذایی غنی‌شده با فوکوئیدان) به‌صورت جداگانه از سینوس شکمی واقع در قاعده اولین قسمت شکمی به‌وسیله سرنگ انسولین استریل یک میلی‌لیتری با سرسوزن شماره ۲۵ که حاوی محلول ضد انعقاد (۳۰ میلی مولار تری سدیم سیترات ، ۰/۳۴ مولار کلراید سدیم، ۱۰ میلی مولار EDTA با pH 7.55 و اسمولالیته ۷۸۰mOsm kg^{-1}) کشیده شد. هم‌ولنف کشیده شده به دو قسمت تقسیم شد: از یک قسمت برای شمارش هموست کل، سلول‌های گرانولار و هیالین استفاده شد. باقیمانده در دور g ۴۶۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و سپس مایع رویی و پلیت در یک لوله استریل جداگانه جمع‌آوری و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد تا برخی از پارامترهای بیوشیمیایی هم‌ولنف اندازه‌گیری شود.

غلظت پروتئین کل پلاسما با استفاده از روش Bradford (1976) و آلبومین سرم گاوی به‌عنوان استاندارد در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. دیگر پارامترهای بیوشیمیایی مانند گلوکز، تری گلیسیرید،کلسترول و فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل U-2000 Hitachi (Tokyo, Japan) و کیت‌های تجاری (Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd, Tokyo, Japan) بر اساس دستورالعمل تولیدکننده اندازه‌گیری شد.

برای بررسی آماری داده‌ها ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط Kolmogorov-Smirnov Test ارزیابی شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها جهت تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. مقایسه میانگین تیمارها به کمک آزمون Tukey HSD انجام شد که وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد مشخص گردید.

۳. نتایج

با توجه به فرمول درصد بازدهی فوکوئیدان، میزان فوکوئیدان استخراج‌شده از ماکرو جلبک قهوه‌ای *C. trinodis* حدود ۶ درصد تعیین شد.

نتایج تجزیه واریانس یک‌طرفه در این تحقیق نشان داد که سطوح مختلف فوکوئیدان اثر معنی‌داری بر پارامترهای رشد میگو در سطح آماری ۱ درصد و ۵ درصد داشته است (جدول ۱).

نتایج به‌دست‌آمده تحقیق حاضر از شاخص‌های رشد در طی ۳۰ روز دوره تغذیه شامل: وزن اولیه، وزن نهایی، وزن به‌دست‌آمده، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و درصد زنده‌مانی می‌باشد که در تیمارهای مختلف غذایی حاوی سطوح مختلف فوکوئیدان در جدول ۲ نشان داده‌شده است. همان‌طور که در جدول۲ نشان داده‌شده است میزان زنده‌مانی حدود ۹۴-۹۱ درصد بوده و هیچ تفاوت معنی‌داری ($p > ۰/۰۵$) بین گروه‌های تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی غلظت‌های مختلف فوکوئیدان و شاهد وجود نداشت (جدول ۲). وزن اولیه میگوها به‌طور متوسط ۸ گرم بود، درحالی‌که وزن به‌دست‌آمده در میگوهای تغذیه‌شده روی جیره غذایی شاهد (بدون فوکوئیدان) بعد از ۳۰ روز دوره تغذیه، ۲۹/۰۷ درصد بود. اما گروه‌های تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی فوکوئیدان وزن به‌دست‌آمده بالاتری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند. میگوهای تغذیه‌شده با پایین‌ترین غلظت فوکوئیدان (۰/۱ ٪) دارای وزن به‌دست‌آمده ۳۱/۶ درصد بودند. زمانی که غلظت فوکوئیدان افزایش یافت عملکرد رشد نیز به‌طور معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) افزایش یافت. گروه‌های تغذیه‌شده در بالاترین غلظت‌ها یعنی ۰/۲ و ۰/۴ درصد فوکوئیدان، وزن به‌دست‌آمده ۴۰/۳۸ و ۶۳/۲۱ درصد را به ترتیب نشان دادند.

ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های تغذیه‌شده با فوکوئیدان به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش داشت که پایین‌ترین و بالاترین مقدار این پارامتر به ترتیب در گروه تغذیه‌شده با جیره غذایی ۰/۴ درصد (۱/۹۷) و گروه شاهد (۳/۹۲) مشاهده شد. ضریب رشد ویژه گروه شاهد ۰/۸۵ درصد روز بود. ضریب رشد ویژه در میگوهای تغذیه‌شده با پایین‌ترین غلظت فوکوئیدان (۰/۱ درصد)، ۰/۹۱ درصد روز بود، درحالی‌که آن در غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ درصد فوکوئیدان به ترتیب ۱/۱۲ و ۱/۶۳ درصد روز به‌دست‌آمد (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس یک‌طرفه در این تحقیق نشان داد که سطوح مختلف فوکوئیدان اثر معنی‌داری بر پارامترهای بیوشیمیایی هم‌ولنف میگو در سطح آماری ۱ درصد و ۵ درصد داشته است (جدول ۱).

بعد از ۳۰ روز دوره تغذیه آزمایشی، مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی در هملونف میگوهای تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی غلظت‌های مختلف فوکوئیدان ازجمله پروتئین، گلوکز، تری گلیسیرید و کلسترول و همچنین فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز در شکل‌های ۱ تا ۶ نشان داده‌شده است. مقادیر گلوکز، تری گلیسیرید ، کلسترول و فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات امینوترانسفراز در هملونف میگوهای تغذیه‌شده با مکمل فوکوئیدان به‌طور معنی‌داری($p < ۰/۰۵$) نسبت به گروه شاهد کاهش یافت.

جدول ۱- تجزیه واریانس یک‌طرفه سطوح مختلف فوکوئیدان بر پارامترهای رشد و بیوشیمیایی میگوی وانامی

Table 1- One-way variance analysis of different levels of fucoidan on growth and biochemical parameters of Vanami shrimp.

پارامترهای رشد	تجزیه واریانس یک‌طرفه			
	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی‌داری
بازماندگی	۳	۳/۶۶	۳/۳۸	۰/۰۷
وزن ابتدایی	۳	۰/۱۶۳	۰/۵۶۲	۰/۶۵
وزن انتهایی	۳	۶/۱۴	۱۳/۷۴	۰/۰۰
درصد افزایش وزن بدن	۳	۶۰۹/۹۶	۲۷/۰۹	۰/۰۰
نرخ رشد ویژه	۳	۰/۳۰۸	۲۸/۵۵	۰/۰۰
ضریب تبدیل غذایی	۳	۱/۳۸	۳۱/۴۹	۰/۰۰
پارامترهای بیوشیمیایی	**تجزیه واریانس یک‌طرفه**			
	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی‌داری
گلوکز	۳	۱۹۰/۳	۲۱/۷۴	۰/۰۰
تری گلیسیرید	۳	۳۱/۹۲	۴/۷۹	۰/۰۳
کلسترول	۳	۶۶/۳۳	۴۸/۵۳	۰/۰۰
پروتئین	۳	۲۷۰۷/۸۱	۴۸/۳۱	۰/۰۰
آلانین آمینوترانسفراز	۳	۶۴۶/۲۶	۱۷/۷۶	۰/۰۰
آسپارتات آمینوترانسفراز	۳	۱۷۱۰/۸۸	۴۳/۴	۰/۰۰

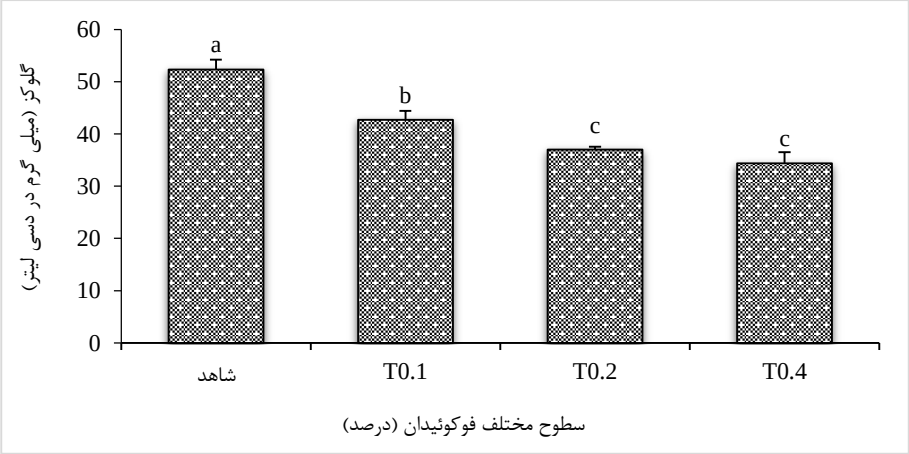
جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات سطوح مختلف فوکوئیدان بر شاخص‌های رشد میگو

Table 2- Comparison of the average effects of different fucoidan levels on shrimp growth indicators

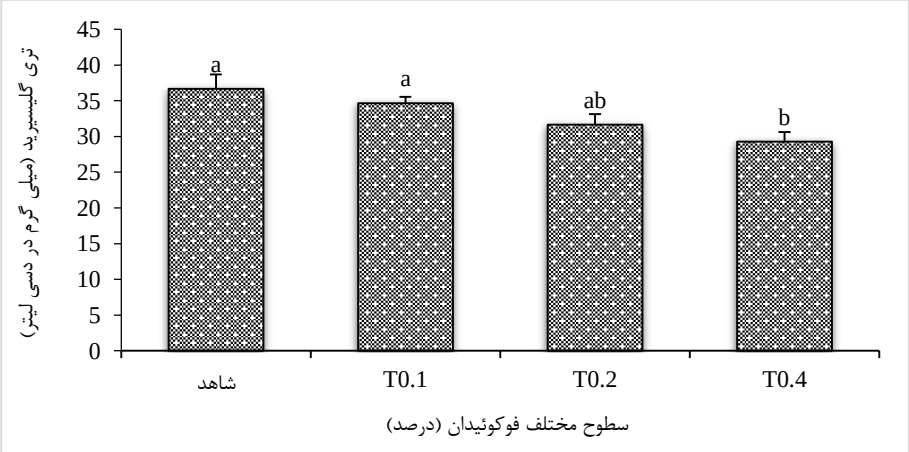
سطوح مختلف فوکوئیدان	شاخص‌های رشد					
	بازماندگی (درصد)	وزن ابتدایی (گرم)	وزن انتهایی (گرم)	درصد افزایش وزن بدن (درصد)	نرخ رشد ویژه (درصد روز)	ضریب تبدیل غذایی
شاهد	۹۱/۳۳±۰/۶۶ a	±۱۵/۸ ۰/۳۵a	۱۱ ± ۰/۴۳b	۳۴/۹۰ ± ۰/۵۸ b	۰/۹۹ ± ۰/۰۱ b	۳/۲۶ ± ۰/۰۵ ab
۰/۱ درصد	۹۳±۰/۵۷ a	۸/۵۷ ± ۰/۲۷a	۱۱/۲۸ ± ۰/۲۸ b	۳۱/۶ ± ۰/۸۴ b	۰/۹۱ ± ۰/۰۲ b	۳/۵۲ ± ۰/۰۲ a
۰/۲ درصد	۹۳±۰/۵۷ a	۸/۳۳ ± ۰/۱۹ a	۱۱/۶۸ ± ۰/۱۲ b	۴۰/۳۸ ± ۳/۵۶ b	۱/۱۲ ± ۰/۰۸ b	۲/۹۳ ± ۰/۲۱ b
۰/۴ درصد	۹۴±۰/۵۷ a	۸/۶۶ ± ۰/۳۸ a	۱۴/۱۳ ± ۰/۵۵ a	۶۳/۲۱ ± ۴/۰۲ a	۱/۶۳ ± ۰/۰۸ a	۱/۹۷ ± ۰/۰۸ c

مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان‌شده‌اند و وجود حروف غیر همسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون توکی است ($p < ۰/۰۵$).

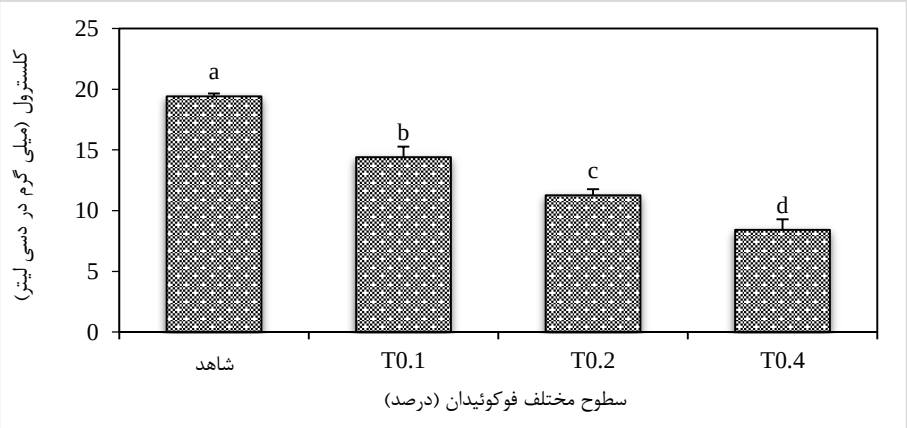
قابل‌ذکر است که پایین‌ترین و بالاترین مقادیر پارامترهای ذکرشده به ترتیب مربوط به میگوهای تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی ۰/۴ درصد فوکوئیدان و گروه شاهد می‌باشد. مقادیر گلوکز، تری گلیسیرید، کلسترول در تیمار ۰/۴ درصد به ترتیب برابر با ۳۴/۳۳، ۲۹/۲۶ و ۸/۴۳ میلی‌گرم در دسی لیتر و فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات امینوترانسفراز به ترتیب ۵۷/۶۷ و ۶۳/۶۶ واحد در لیتر است درحالی‌که در گروه شاهد این مقادیر برابر با ۵۲/۳۳، ۳۶/۶۶ و ۱۹/۴۱ میلی‌گرم در دسی لیتر و ۹۰/۳۳ و ۱۱۷ است. اما میزان پروتئین به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای ($P < ۰/۰۵$) در گروه‌های تغذیه‌شده با مکمل فوکوئیدان بالاتر از گروه شاهد بود که مقادیر بالاتر آن در جیره غذایی حاوی غلظت‌های بالاتر فوکوئیدان مشاهده شد. میزان پروتئین در میگوهای تغذیه‌شده با پایین‌ترین غلظت فوکوئیدان (۰/۱ درصد)، ۹۴/۷۱ میلی‌گرم، درحالی‌که آن در غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ درصد فوکوئیدان به ترتیب ۱۲۷/۱ و ۱۴۴/۷۴ میلی‌گرم مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۱- میزان گلوکز در میگوهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فوکوئیدان در جیره غذایی
Fig 1- Glucose levels in shrimps fed with different levels of fucoidan in the diet

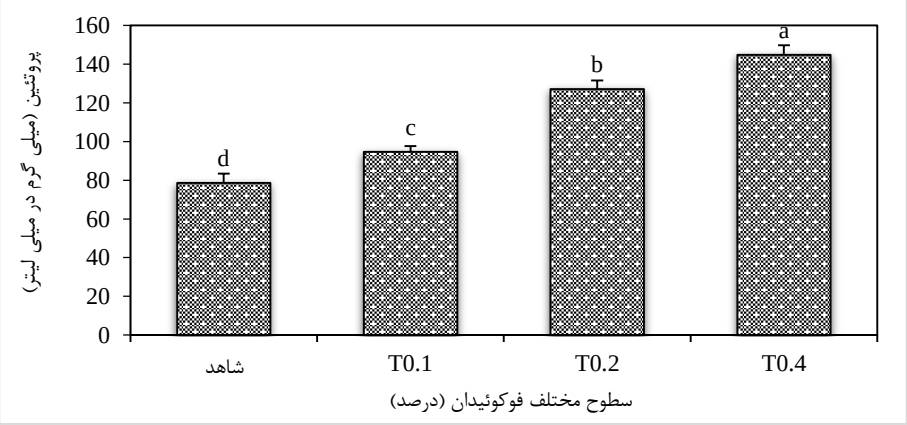


شکل ۲- میزان تری گلیسیرید در میگوهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فوکوئیدان در جیره غذایی
Fig 2- The amount of triglycerides in shrimps fed with different levels of fucoidan in the diet



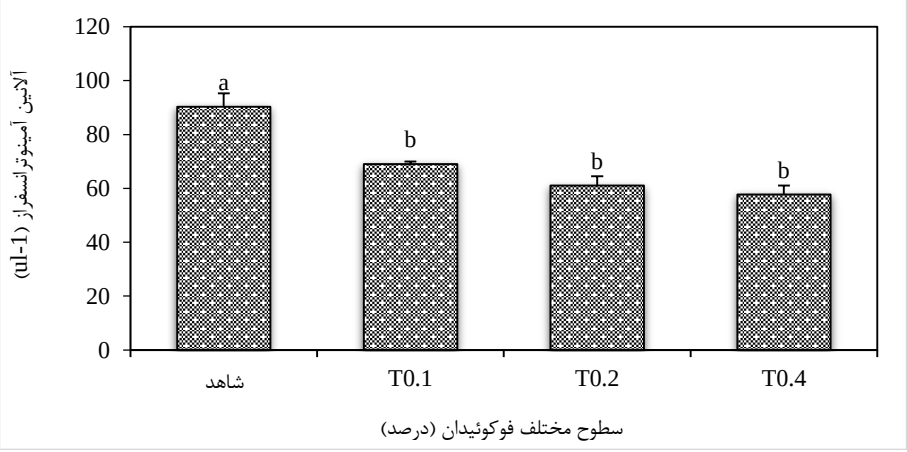
شکل ۳- میزان کلسترول در میگوهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فوکوئیدان در جیره غذایی

Fig. 3- Cholesterol levels in shrimps fed with different levels of fucoidan in the diet



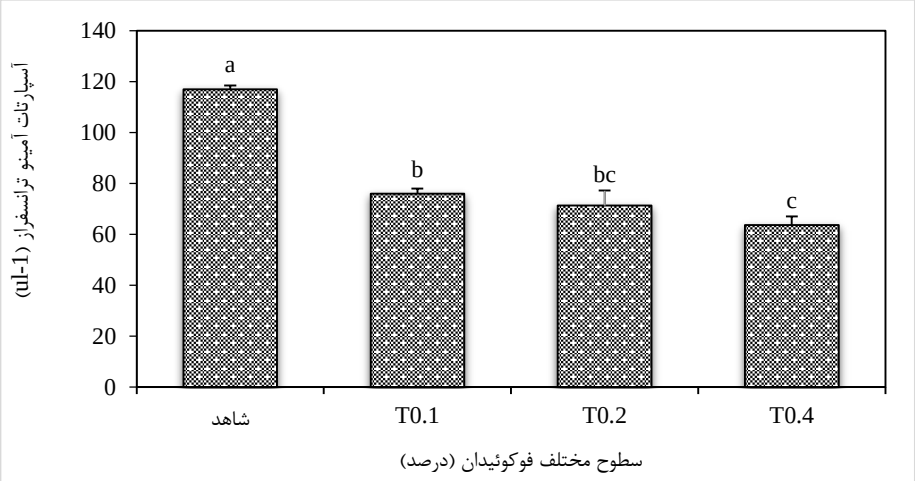
شکل٤- میزان پروتئین در میگوهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فوکوئیدان در جیره غذایی

Fig. 4- The amount of protein in shrimps fed with different levels of fucoidan in the diet



شکل ٥- فعالیت آلانین آمینوترانسفراز در میگوهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فوکوئیدان در جیره غذایی

Fig. 5- Alanine aminotransferase activity in shrimps fed with different levels of fucoidan in the diet



شکل ٦- فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز در میگوهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فوکوئیدان در جیره غذایی

Fig. 6- Aspartate aminotransferase activity in shrimps fed with different levels of fucoidan in the diet

٤. بحث و نتیجه‌گیری

جلبک‌های دریایی قهوه‌ای حاوی ترکیبات زیست فعال فراوانی ازجمله فوکوئیدان هستند که دارای اثرات ضدویروسی، آنتی‌اکسیدان، ضد انعقادی، ایمنی سازی، ضدالتهاب، ضد باکتری و کاهش‌دهنده لیپیدهای خونی و همچنین بهبوددهنده رشد در میگو است (Sivagnanavelmurugan *et al*., 2014; Choi *et al*., 2005; Cumashi *et al*., 2007; Wu *et al*., 2007; Hayashi *et al*., 2008; Wang *et al*., 2008). فوکوئیدان یک پلی‌ساکارید سولفاته پیچیده است که عمدتاً در دیواره سلولی جلبک‌های دریایی قهوه‌ای و بی‌مهرگان دریایی یافت می‌شود (Ale *et al*., 2011).

در این تحقیق، بازدهی فوکوئیدان استخراج‌شده از *C. trinodis* حدود ۶ درصد بود. Thuy et al. (2015) نشان دادند که بازدهی فوکوئیدان استخراج‌شده از *S. mcclurei* ۲/۱ درصد است. بازدهی فوکوئیدان به‌طور گسترده‌ای مربوط به گونه جلبکی، شرایط رشد، مراحل استخراج و روش‌های تحلیلی دارد (Thuy *et al*., 2015).

نتایج پژوهش حاضر در ارتباط با میزان زنده‌مانی نشان داد که هیچ تفاوت معنی‌داری ($P > ۰/۰۵$) بین گروه‌های تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی غلظت‌های مختلف فوکوئیدان و شاهد وجود نداشت که این بیانگر عدم اثر منفی این ترکیب و سمیت آن برای میگو است که این یافته در توافق با مطالعات Immanuel et al. (2012) و Trifalgar et al. (2009) در مورد اثر غلظت‌های مختلف فوکوئیدان بر زنده‌مانی میگو می‌باشد.

در تحقیق حاضر، نتایج نشان داد که فوکوئیدان جیره غذایی به‌طور معنی‌داری شاخص‌های رشد از جمله وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی را در میگوهای تیمارشده نسبت به گروه شاهد بهبود بخشیده است و بهترین عملکرد رشد در میگوهای تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی ۰/۴ درصد فوکوئیدان مشاهده شد. در توافق با نتایج پژوهش حاضر، اثرات مثبت فوکوئیدان مشتق شده از گونه‌های مختلف جلبکی مانند *U. pinnatifida* و *S. wightii* روی عملکرد رشد مانند افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی در گونه‌های مختلف میگوها از جمله *P. monodon* و *Marsupenaeus japonicas* گزارش‌شده است (Trifalgar et al., 2009, 2010; Sivagnanavelmurugan et al., 2015).

قابل‌ذکر است که تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثر فوکوئیدان استخراج‌شده از گونه جلبک دریایی *C. trinodis* و کارایی آن روی میگو گزارش نشده است. بنابراین، بهبود عملکرد رشد مشاهده‌شده در مطالعه حاضر در گروه‌های تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی غلظت‌های مختلف فوکوئیدان نسبت به گروه شاهد ممکن است به‌دلیل تأثیر فوکوئیدان به‌عنوان یک ترکیب محرک رشد باشد که به هضم و جذب مواد مغذی در جیره غذایی میگو از طریق افزایش فعالیت فاگوسیت‌های ترشح‌کننده آنزیم‌های هیدرولیتیک موجود در غده هضمی هپاتوپانکراس کمک می‌کند (Azad et al., 2005). چندین مکانیسم دیگر هم ممکن است وجود داشته باشد که می‌تواند اثر فوکوئیدان را به‌عنوان یک ترکیب محرک رشد توضیح دهد که از جمله به بهبود وضعیت سلامت و ساختار روده از طریق اثر بر طول، عرض و سطح میکروویلی‌های روده و سلول‌های اپیتلیال، و تسهیل ترشح آنزیم‌های گوارشی برای هضم و جذب مواد مغذی و همچنین افزایش عملکرد سیستم ایمنی روده به‌وسیله کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا و افزایش جمعیت باکتری‌های مفید برای هضم وجذب غذا در روده اشاره کرد (Duan et al., 2017; Liu et al., 2019, 2020). بااین‌حال، نویسندگان در تحقیق

حاضر، فعالیت آنزیم‌های گوارشی هپاتوپانکراس و روده و ساختار آن ها را بررسی نکرده و این نحوه‌ی عملکرد نیاز به مطالعات گسترده-تری دارد.

پارامترهای بیوشیمیایی مختلفی وجود دارد که معمولاً به-عنوان پاسخ فیزیولوژی در میگوها ارزیابی می‌شود. پارامترهای متابولیتی پلاسما (به‌عنوان‌مثال، گلوکز، تری گلیسیرید، کلسترول و پروتئین کل) تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرند که شامل غذا، شرایط استرس، بیماری و پارامترهای کیفیت آب هستند (Gaxiola and Rosas, 2003; Pascual et al., 2003, 2006; Yu et al., 2008). در پژوهش حاضر، سطح گلوکز پلاسما در میگوهای تغذیه‌شده با غلظت‌های مختلف فوکوئیدان نسبت به گروه شاهد کمتر بود. گلوکز پلاسما یکی از شاخص‌های استرس است که سطح پائین آن در میگوهای تغذیه‌شده با فوکوئیدان احتمالاً نشان‌دهنده مقاومت بالاتر آن‌ها در برابر استرس-های شایع در شرایط آزمایشگاهی و شرایط مناسب فیزیولوژی آن‌ها است (Kilby, 1976; Meshkini and Tafi, 2016; Barton, 2002). همچنین Yoganandhan et al. (2003) نشان دادند که مقدار گلوکز به‌طور ناگهانی در شرایط استرس و عفونت افزایش می‌یابد. پروتئین بالای پلاسما با پاسخ ایمنی ذاتی مرتبط است و در ارزیابی وضعیت سلامت جانوران مهم است زیرا بر تنظیم واکنش‌های التهابی و پاسخ به عفونت‌ها عمل می‌کند (Ballow, 1997, 2011). نتایج ما سطح بالایی از پروتئین کل پلاسما را در میگوهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فوکوئیدان نشان داد. میگوها مانند سایر سخت‌پوستان به سیستم ایمنی ذاتی وابسته است که عمدتاً شامل پروتئین‌ها و اجزای آنزیمی است (Pascual et al., 2006; Aguirre -Guzman et al., 2009).

L. vannamei تغذیه‌شده با بتا ۱،۳ گلوکان و ویتامین C، میزان بالاتری از پروتئین پلاسما را نشان داد (Lopez et al., 2003). همچنین Chen et al. (2014) گزارش کردند که پروتئین پلاسما به‌طور قابل‌توجهی در میگوی پا سفید غوطه‌ور شده در کاراژینان نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. افزایش پروتئین کل در میگوهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فوکوئیدان احتمالاً با بهبود رشد از طریق تجمع پروتئین در ارتباط است. از طرف دیگر، ازآنجاکه سیستم ایمنی میگو بر اساس پروتئین‌های مختلف سازمان‌یافته است، بنابراین، افزایش پروتئین کل پلاسما نشان‌دهنده تأثیر مثبت فوکوئیدان جیره غذایی بر وضعیت ایمنی *L. vannamei* است (Yu et al., 2008).

در مطالعه ما، مقدار کلسترول و تری گلیسیرید در میگوهای شاهد نسبت به گروه‌های تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی سطوح مختلف فوکوئیدان افزایش یافت که احتمالاً به علت مصرف آن‌ها به‌عنوان منبع انرژی در شرایط استرس‌زا محیط آزمایشگاهی بوده است (Galván-Álvarez, 2012).

در سخت‌پوستان، کلسترول به‌عنوان اجزای تشکیل‌دهنده غشای سلولی، ساختارهای زیر سلولی و به‌عنوان پیش ماده هورمون‌های استروئیدی و هورمون‌های محرک پوست‌اندازی مانند اکدیزون است (Bonilla-Gómez et al., 2012). مقادیر مختلف فوکوئیدان در جیره غذایی باعث کاهش روند کلسترول پلاسما در میگوها می‌شود که به‌عنوان یک جنبه غذایی مثبت در نظر گرفته می‌شود. ازآنجاکه میگوها به‌طور طبیعی سرشار از کلسترول هستند و کلسترول اضافی موجود در مواد غذایی عاملی برای ابتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی در مصرف‌کنندگان است (Pires et al., 2018). در توافق با نتایج ما Niu et al. (2015) نشان دادند که جیره غذایی حاوی کیتوزان مقادیر کلسترول و تری گلیسیرید را در میگوی *P. monodon* کاهش می‌دهد. همچنین نتایج مطالعه ما نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز در میگوهای تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی غلظت‌های مختلف فوکوئیدان نسبت به گروه شاهد کاهش یافتند که این نشان‌دهنده تأثیر مثبت فوکوئیدان در جیره غذایی است که می‌تواند عملکرد هپاتوپانکراس میگو را تحت تاثیر قرار دهد. هپاتوپانکراس در سخت‌پوستان نقش مهمی در وقایع مهم متابولیکی از جمله ترشح آنزیم، جذب و ذخیره مواد مغذی، پوست اندازی و ویتلوژنز دارد (Chanson and Spray, 1992). آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز آنزیم‌های مهمی در طی فرآیندهای متابولیک اسیدهای آمینه هستند که در انتقال گروه‌های آمینه از یک اسید آمینه خاص به دیگری نقش دارند که معمولا در غشای سلول، سیتوپلاسم و میتوکندری وجود دارند و به عنوان شاخص عمومی عملکرد هپاتوپانکراس میگو استفاده می‌شوند که معادل کبد و پانکراس مهره‌داران است (Chaplin et al., 1967; Yamamoto, 1981). از طرفی دیگر، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز ممکن است به‌طور غیرمستقیم با متابولیت-های اکسیدان مرتبط باشند، بنابراین آن‌ها به‌عنوان شاخص‌های وضعیت اکسیداتیو عمل می‌کنند (Chien et al., 2003).

تغییر در فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز که مختص هپاتوپانکراس است و به عنوان ابزاری برای مطالعه زیست‌پذیری سلول‌ها و تغییرات در نفوذپذیری غشای سلولی در نظر گرفته شده است و فعالیت زیاد این آنزیم‌ها در خون بیانگر ترشح این آنزیم‌های سلولی در جریان خون است که نشان-دهنده تغییر نفوذپذیری غشا هپاتوسیت‌ها و نکروزه‌شدن بالقوه هپاتوپانکراس است (Zeng et al., 2016) و همچنین، مقادیر بالاتر آن ها بیانگر انتقال بیشتر گروه‌های آمینه یا هدر رفتن متابولیکی اسیدهای آمینه در بافت است. Cheng et al. (2005) پی بردند؛ زمانی‌که غشای سلول در میگو دچار آسیب شود، آنزیم-های مهم متابولیکی مانند آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز از سلول‌ها آزاد می‌شوند و فعالیت این آنزیم‌ها در سرم افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر، فعالیت بالای آنزیم‌های آلانین

آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز در همولنف میگوهای تغذیه‌شده با جیره غذایی شاهد نسبت به گروه‌های تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی فوکوئیدان نشان‌دهنده این است که شرایط آزمایشگاهی استرس‌زا از جمله نوسانات دما، اکسیژن، تغذیه و غیره ممکن است عملکرد هپاتوپانکراس را در اثر تغییر در نفوذپذیری غشا در گروه شاهد تحت تاثیر قرار داده است. از طرفی فوکوئیدان جیره غذایی باعث افزایش مقاومت میگوها در برابر استرس‌های موجود در شرایط آزمایشگاهی شده است و در نتیجه شدت آسیب بافتی در هپاتوپانکراس کاسته‌شده و بنابراین مقدار این آنزیم ها در همولنف میگوها کاهش یافته است و نشان‌دهنده این است که میگوها در وضعیت فیزیولوژی و هپاتوپانکراس بهینه قرار دارند (Chien et al., 2003; Ray et al., 2020).

در توافق با نتایج ما Niu et al. (2015) نشان دادند که جیره غذایی حاوی کیتوزان فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز را در میگوی *P. monodon* کاهش می‌دهد. به‌طورکلی، آزمایش رشد و پاسخ‌های بیوشیمیایی همولنف میگو به غلظت‌های مختلف مکمل فوکوئیدان استخراج‌شده از جلبک دریایی خلیج‌فارس *C. trinodis* نشان داد که فوکوئیدان در همه سطوح جیره غذایی باعث بهبود عملکرد رشد و پارامترهای بیوشیمیایی شده و درنتیجه وضعیت سلامت میگو را افزایش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله صمیمانه، از همکاری و حمایت مالی شرکت شهرک‌های صنعتی استان بوشهر از پروژه تحقیقاتی شماره ۷۲۹۴، همچنین دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه هرمزگان و پژوهشکده خلیج فارس تشکر و قدردانی می‌کنند.

Refrences

Aguirre-Guzman, G., Sanchez-Martinez, J.G., Campa-Cordova, A.I., Luna-Gonzalez, A. and Ascencio, F., 2009. Penaeid shrimp immune system. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, *39*(3), pp.205-215.

Ale, M.T., Maruyama, H., Tamauchi, H., Mikkelsen, J.D. and Meyer, A.S., 2011. Fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds inhibit proliferation of melanoma cells and induce apoptosis by activation of caspase-3 in vitro. *Marine Drugs*, *9*(12), pp.2605-2621.

Aparicio-Simón, B., Piñón, M., Racotta, R. and Racotta, I.S., 2010. Neuroendocrine and metabolic responses of Pacific whiteleg shrimp Litopenaeus vannamei exposed to acute handling stress. *Aquaculture*, *298*(3-4), pp.308-314.

Azad, I.S., Panigrahi, A., Gopal, C., Paulpandi, S., Mahima, C. and Ravichandran, P., 2005. Routes of immunostimulation vis-a-vis survival and growth of Penaeus monodon postlarvae. *Aquaculture*, *248*(1-4), pp.227-234.

Ballow, M., 1997. Mechanisms of action of intravenous immune serum globulin in autoimmune and inflammatory diseases. *Journal of allergy and clinical immunology*, *100*(2), pp.151-157.

Ballow, M., 2011. The IgG molecule as a biological immune response modifier: mechanisms of action of intravenous immune serum globulin in autoimmune and inflammatory disorders. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *127*(2), pp.315-323.

Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and comparative biology*, *42*(3), pp.517-525.

Bonilla-Gómez, J.L., Chiappa-Carrara, X., Galindo, C., Jeronimo, G., Cuzon, G. and Gaxiola, G., 2012. Physiological and biochemical changes of wild and cultivated juvenile pink shrimp Farfantepenaeus duorarum (Crustacea: Penaeidae) during molt cycle. *Journal of Crustacean Biology*, *32*(4), pp.597-606.

Briggs, M., Funge-Smith, S., Subasinghe, R. and Phillips, M., 2004. Introductions and movement of Penaeus vannamei and Penaeus stylirostris in Asia and the Pacific. *RAP publication*, *10*(2004), p.92.

Chang, Z.Q., Ge, Q.Q., Sun, M., Wang, Q., Lv, H.Y. and Li, J., 2018. Immune responses by dietary supplement with Astragalus polysaccharides in the Pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei. *Aquaculture nutrition*, *24*(2), pp.702-711.

Chanson, M. and Spray, D.C., 1992. Gating and single channel properties of gap junction channels in hepatopancreatic cells of Procambarus clarkii. *The Biological bulletin*, *183*(2), pp.341-342.

Chen, Y.Y., Chen, J.C., Lin, Y.C., Putra, D.F., Kitikiew, S., Li, C.C., Hsieh, J.F., Liou, C.H. and Yeh, S.T., 2014. Shrimp that have received carrageenan via immersion and diet exhibit immunocompetence in phagocytosis despite a post-plateau in immune parameters. *Fish & Shellfish Immunology*, *36*(2), pp.352-366.

Cheng, W., Wang, L.U. and Chen, J.C., 2005. Effect of water temperature on the immune response of white shrimp Litopenaeus vannamei to Vibrio alginolyticus. *Aquaculture*, *250*(3-4), pp.592-601.

Cheng, W., Liu, C.H., Kuo, C.M. and Chen, J.C., 2005. Dietary administration of sodium alginate enhances the immune ability of white shrimp Litopenaeus vannamei and its resistance against Vibrio alginolyticus. *Fish & Shellfish Immunology*, *18*(1), pp.1-12.

Chien, Y.H., Pan, C.H. and Hunter, B., 2003. The resistance to physical stresses by Penaeus monodon juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. *Aquaculture*, *216*(1-4), pp.177-191.

Choi, E.M., Kim, A.J., Kim, Y.O. and Hwang, J.K., 2005. Immunomodulating activity of arabinogalactan and fucoidan in vitro. *Journal of medicinal food*, *8*(4), pp.446-453.

Chotigeat, W., Tongsupa, S., Supamataya, K. and Phongdara, A., 2004. Effect of fucoidan on disease resistance of black tiger shrimp. *Aquaculture*, *233*(1-4), pp.23-30.

Cumashi, A., Ushakova, N.A., Preobrazhenskaya, M.E., D'Incecco, A., Piccoli, A., Totani, L., Tinari, N., Morozevich, G.E., Berman, A.E., Bilan, M.I. and Usov, A.I., 2007. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, *17*(5), pp.541-552.

Duan, Y., Zhang, Y., Dong, H., Wang, Y., Zheng, X. and Zhang, J., 2017. Effect of dietary Clostridium butyricum on growth, intestine health status and resistance to ammonia stress in Pacific white shrimp Litopenaeus vannamei. *Fish & shellfish immunology*, *65*, pp.25-33.

Gibson, R., 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanogr. Mar. Biol. Ass. Rev.*, *17*, pp.289-294.

Hayashi, K., Nakano, T., Hashimoto, M., Kanekiyo, K. and Hayashi, T., 2008. Defensive effects of a fucoidan from brown alga Undaria pinnatifida against herpes simplex virus infection. *International immunopharmacology*, *8*(1), pp.109-116.

Hoseinifar, S.H., Dadar, M. and Ringø, E., 2017. Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: the functional feed additives scenario. *Aquaculture Research*, *48*(8), pp.3987-4000.

Immanuel, G., Sivagnanavelmurugan, M., Marudhupandi, T., Radhakrishnan, S. and Palavesam, A., 2012. The effect of fucoidan from brown seaweed Sargassum wightii on WSSV resistance and immune activity in shrimp Penaeus monodon (Fab). *Fish & shellfish immunology*, *32*(4), pp.551-564.

Kilby, B.A., 1976. Biochemistry, the molecular basis of cell structure and function: Albert L. Lehninger. 1975. Worth Publishers, Inc., New York.

Lee, P.T., Tran, H.T.Q., Huang, H.T., Nan, F.H. and 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*, pp.276-285.

Li, Y., Li, J. and Wang, Q., 2006. The effects of dissolved oxygen concentration and stocking density on growth and non-specific immunity factors in Chinese shrimp, Fenneropenaeus chinensis. *Aquaculture*, *256*(1-4), pp.608-616.

Lin, S., Pan, Y., Luo, L. and Luo, L., 2011. Effects of dietary β-1, 3-glucan, chitosan or raffinose on the growth, innate immunity and resistance of koi (Cyprinus carpio koi). *Fish & shellfish immunology*, *31*(6), pp.788-794.

Liu, C.H. and Chen, J.C., 2004. Effect of ammonia on the immune response of white shrimpLitopenaeus vannamei and its susceptibility to Vibrio alginolyticus. *Fish & shellfish immunology*, *16*(3), pp.321-334.

Liu, W., Yuan, Y., Sun, C., Balasubramanian, B., Zhao, Z. and An, L., 2019. Effects of dietary betaine on growth performance, digestive function, carcass traits, and meat quality in indigenous yellow-feathered broilers under long-term heat stress. *Animals*, *9*(8), p.506.

Liu, W.C., Zhou, S.H., Balasubramanian, B., Zeng, F.Y., Sun, C.B. and Pang, H.Y., 2020. Dietary seaweed (Enteromorpha) polysaccharides improves growth performance involved in regulation of immune responses, intestinal morphology and microbial community in banana shrimp Fenneropenaeus merguiensis. *Fish & shellfish immunology*, *104*, pp.202-212.

López, N., Cuzon, G., Gaxiola, G., Taboada, G., Valenzuela, M., Pascual, C., Sánchez, A. and Rosas, C., 2003. Physiological, nutritional, and immunological role of dietary β 1-3 glucan and ascorbic acid 2-monophosphate in Litopenaeus vannamei juveniles. *Aquaculture*, *224*(1-4), pp.223-243.

Medina-Félix, D., López-Elías, J.A., Martínez-Córdova, L.R., López-Torres, M.A., Hernández-López, J., Rivas-Vega, M.E. and Mendoza-Cano, F., 2014. Evaluation of the productive and physiological responses of Litopenaeus vannamei infected with WSSV and fed diets enriched with Dunaliella sp. *Journal of invertebrate pathology*, *117*, pp.9-12.

Meshkini S. and Tafi AA 2016. Presentation and usage of immunostimulators in aquaculture, *Agricultural and Natural Resources Engineering*, *46*(12), pp. 50-55 (In Persian)

Niu, J., Liu, Y.J., Lin, H.Z., Mai, K.S., Yang, H.J., Liang, G.Y. and TIAN, L.X., 2011. Effects of dietary chitosan on growth, survival and stress tolerance of postlarval shrimp, Litopenaeus vannamei. *Aquaculture Nutrition*, *17*(2), pp. e406-e412.

Niu, J., Li, C.H., Tian, L.X., Liu, Y.J., Chen, X., Wu, K.C., Jun, W., Huang, Z., Wang, Y. and Lin, H.Z., 2015. Suitable dietary chitosan improves the growth performance, survival and immune function of tiger shrimp, P enaeus monodon. *Aquaculture Research*, *46*(7), pp.1668-1678.

Pascual, C., Gaxiola, G. and Rosas, C., 2003. Blood metabolites and hemocyanin of the white shrimp, Litopenaeus vannamei: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. *Marine biology*, *142*(4), pp.735-745.

Pascual, C., Sánchez, A., Zenteno, E., Cuzon, G., Gabriela, G., Brito, R., Gelabert, R., Hidalgo, E. and Rosas, C., 2006. Biochemical, physiological, and immunological changes during starvation in juveniles of Litopenaeus vannamei. *Aquaculture*, *251*(2-4), pp.416-429.

Pires, D.R., De Morais, A.C.N., Coelho, C.C.S., Marinho, A.F., Góes, L.C.D.S.A., Augusta, I.M., Ferreira, F.S. and Saldanha, T., 2018. Nutritional composition, fatty acids and cholesterol levels in Atlantic white shrimp (Litopenaeus schimitti). *International Food Research Journal*, *25*(1), pp.151-157.

Prabu, D.L., Sahu, N.P., Pal, A.K., Dasgupta, S. and Narendra, A., 2016. Immunomodulation and interferon gamma gene expression in sutchi cat fish, Pangasianodon hypophthalmus: effect of dietary fucoidan rich seaweed extract (FRSE) on pre and post challenge period. *Aquaculture research*, *47*(1), pp.199-218.

Qi, Z., Zhang, X.H., Boon, N. and Bossier, P., 2009. Probiotics in aquaculture of China—current state, problems and prospect. *Aquaculture*, *290*(1-2), pp.15-21.

Racotta, I.S. and Palacios, E., 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in Penaeus vannamei. *Journal of the World Aquaculture Society*, *29*(3), pp.351-356.

Ray, G.W., Liang, D., Yang, Q., Tan, B., Dong, X., Chi, S., Liu, H., Zhang, S. and Rimei, L., 2020. Effects of replacing fishmeal with dietary soybean protein concentrate (SPC) on growth, serum biochemical indices, and antioxidative functions for juvenile shrimp Litopenaeus vannamei. *Aquaculture*, *516*, p.734630.

Sivagnanavelmurugan, M., Marudhupandi, T., Palavesam, A. and Immanuel, G., 2012. Antiviral effect of fucoidan extracted from the brown seaweed, Sargassum wightii, on shrimp Penaeus monodon postlarvae against white spot syndrome virus. *Journal of the World Aquaculture Society*, *43*(5), pp.697-706.

Sivagnanavelmurugan, M., Thaddaeus, B.J., Palavesam, A. and Immanuel, G., 2014. Dietary effect of Sargassum wightii fucoidan to enhance growth, prophenoloxidase gene expression of Penaeus monodon and immune resistance to Vibrio parahaemolyticus. *Fish & Shellfish Immunology*, *39*(2), pp.439-449.

Sivagnanavelmurugan, M., Karthik Ramnath, G., Jude Thaddaeus, B., Palavesam, A. and Immanuel, G., 2015. Effect of Sargassum

wightii fucoidan on growth and disease resistance to Vibrio parahaemolyticus in Penaeus monodon post-larvae. *Aquaculture nutrition*, *21*(6), pp.960-969.

Thuy, T.T.T., Ly, B.M., Van, T.T.T., Van Quang, N., Tu, H.C., Zheng, Y., Seguin-Devaux, C., Mi, B. and Ai, U., 2015. Anti-HIV activity of fucoidans from three brown seaweed species. *Carbohydrate polymers*, *115*, pp.122-128.

Traifalgar, R.F., Kira, H., Thanh Tung, H.A., Raafat Michael, F., Laining, A., Yokoyama, S., IShikawa, M., Koshio, S., Serrano, A.E. and Corre, V., 2010. Influence of dietary fucoidan supplementation on growth and immunological response of juvenile Marsupenaeus japonicus. *Journal of the World Aquaculture Society*, *41*, pp.235-244.

Traifalgar, R.F., Serrano, A.E., CoRRE, V., Kira, H., TuNG, H.T., Michael, F.R., Kader, M.A., Laining, A., Yokoyama, S., Ishikawa, M. and Koshio, S., 2009. Evaluation of dietary fucoidan supplementation effects on growth performance and vibriosis resistance of Penaeus monodon postlarvae. *Aquaculture Science*, *57*(2), pp.167-174.

Traifalgar, R.F.M., Corre, V.L. and Serrano, A.E., 2013. Efficacy of dietary immunostimulants to enhance the immunological responses and Vibriosis resistance of juvenile Penaeus monodon. *J. Fish. Aquat. Sci*, *8*(2), pp.340-354.

Van Wyk, P., Davis-Hodgkins, M., Laramore, R., Main, K.L., Mountain, J. and Scarpa, J., 1999. *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems* (Vol. 7, pp. 125-140). Ft. Pierce, FL: Harbor Branch Oceanographic Institution.

Vaseeharan, B., Ramasamy, P., Wesley, S.G. and Chen, J.C., 2013. Influence of acute salinity changes on biochemical, hematological and immune characteristics of Fenneropenaeus indicus during white spot syndrome virus challenge. *Microbiology and immunology*, *57*(6), pp.463-469.

Wang, J., Zhang, Q., Zhang, Z. and Li, Z., 2008. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from Laminaria japonica. *International journal of biological macromolecules*, *42*(2), pp.127-132.

WU, Q., Rong, X., Xing, Y. and LI, S., 2000. Regulatory mechanism of fucoidan for disorder of lipid metabolism in rats. *Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology*.

Yamamoto, Y., 1981. Determination of toxicity by biochemical method. *Fishes as laboratory*, pp.568-574.

Yang, C., Chung, D. and You, S., 2008. Determination of physicochemical properties of sulphated fucans from sporophyll of Undaria pinnatifida using light scattering technique. *Food Chemistry*, *111*(2), pp.503-507.

Yoganandhan, K., Thirupathi, S. and Hameed, A.S., 2003. Biochemical, physiological and hematological changes in white spot syndrome virus-infected shrimp, Penaeus indicus. *Aquaculture*, *221*(1-4), pp.1-11.

Yu, M.C., Li, Z.J., Lin, H.Z., Wen, G.L. and Ma, S., 2008. Effects of dietary Bacillus and medicinal herbs on the growth, digestive enzyme activity, and serum biochemical parameters of the shrimp Litopenaeus vannamei. *Aquaculture international*, *16*, pp.471-480.

Zeng, S.L., Long, W.Q., Tian, L.X., Xie, S.W., Chen, Y.J., Yang, H.J., Liang, G.Y. and Liu, Y.J., 2016. Effects of dietary aflatoxin B1 on growth performance, body composition, haematological parameters and histopathology of juvenile Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei). *Aquaculture Nutrition*, *22*(5), pp.1152-1159.

Journal of Marine Science and Technology

Winter 2022, Vol. 21, No.4, pp. 41-54

Available Online: *http://jmst.kmsu.ac.ir*

Original Article

Evaluation of growth performance and biochemical parameters of western white leg shrimp, *Litopenaus vannamei* (Boone, 1931) fed with fucoidan enriched diet

Razieh Salehpour [1], Narges Amrollahi Biuki [1,2*], Mehdi Mohammadi [3], Aghil Dashtiannasab [4], Pedram Ebrahimnejad [5], Seyed Ahmad Ghasemi [3]

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
2. Department, of Modern Technologies, Mangrove Forest Research Center, Univerity of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
3. Department of Biotechnology, Faculty of Persian Gulf Research Institute, University of Persian Gulf, Bushehr, Iran.
4. Iran Shrimp Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Bushehr, Iran
5. Department of pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

***Corresponding Author E-mail:** amrollahi@hormozgan.ac.ir

Received:30 January 2021 **Revise Date:** 02 June 2021 **Accepted:** 14 June 2021

DOI: 10.22113/JMST.2021.268814.2412

Abstract

The aim of this study was to investigate the different levels of dietary fucoidan on growth performance, survival and biochemical parameters of *Litopenaus vannamei*. Shrimps with a mean initial weight about 8 g were fed with four different diets containing four levels of fucoidan (0, 0.1%, 0.2% and 0.4%) for 30 days in a completely randomized design with triplicates. The results showed that the growth performance (final weight, weight gain, feed conversion ratio and specific growth rate) of shrimp fed with diet containing fucoidan was significantly ($P < 0.01$) improved compared to shrimps fed with control diet. The best growth performance was observed in shrimps fed diet containing 0.4% fucoidan. Survival did not show a significant difference between the groups fed with fucoidan supplementation and control ($P > 0.05$). The biochemical parameters of hemolymph including glucose, triglyceride and cholesterol were significantly reduced in shrimps fed with different levels of fucoidan compared to the control group. However, the amount of protein in the groups fed with fucoidan supplementation increased compared to the control. The activity of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase enzymes in hemolymph of control shrimp was higher than shrimps fed with fucoidan diet. In general, the results of the present study revealed that diets containing different levels of fucoidan, especially 0.4%, led to the increment of growth indices and the improvement of hemolymph biochemical parameters, thus improving of the health status of shrimp.

Keywords: Fucoidan, Hemolymph enzymes, *Litopenaus vannamei* and Growth parameters

Copyrights:
Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons. org/licenses/ by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.