مقایسه تاثیرخوراکی جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا (*Gracilaria corticata*) و مخمر ساکارومایسیس سروزیه (*Saccharomyces cervesia*) بر شاخص‌های ایمنی میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

مهرداد محمدی‌دوست[1]، محمد افشارنسب[2]، شاپور کاکولکی[3]، مینا آهنگرزاده[1]، حسین هوشمند[1]، لفته محسنی‌نژاد*[1]

[1]پژوهشکده آبزی‌پروری جنوب کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.
[2]بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان ، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
[3]مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
*نویسنده مسئول: l.mohsenenejad@areeo.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۹/۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۹/۸/۲۲

چکیده

در این مطالعه به میگوهای وانامی جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا (*Gracilaria corticata*) و مخمر ساکارومایسیس سروزیه (*Saccharomyces cervesia*) به صورت خوراکی داده شد و سپس تغییر شاخص هایی ایمنی میگو بررسی شدند. بدین منظور ۱۸۰۰ قطعه میگوی ۵ گرمی را انتخاب و پس از سازگاری در ۹ مخزن ۱۰ تنی ذخیره‌سازی شدند. به یک گروه از جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا به میزان ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا داده شد و به گروه دیگر مخمر ساکارومایسیس سروزیه به میزان یک گرم در یک کیلوگرم غذا به مدت ۲۵ روز استفاده شد. روزهای ۱، ۳، ۹، ۱۸ و ۲۵ از هملونف میگوها نمونه‌برداری شد. شاخص‌های ایمنی شامل هموسیت کل، پروتئین کل، آنزیم پراکسیداز، آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و آنزیم فنول اکسیداز این دو گروه با گروه شاهد مقایسه شدند. نتایج نشان داد هر دو تیمار شاخص‌های ایمنی نسبت به گروه شاهد نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$). همچنین شاخص-های ایمنی در تیمار یک افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار مخمر نشان داد ($P<۰/۰۵$).

واژگان کلیدی: جلبک، گراسیلاریا، میگوی پا سفید، مخمر، ساکارومایسیس سروزیه.

مقدمه

میگو یکی از مهم‌ترین و سالم‌ترین منابع غذایی دریایی قابل پرورش در سراسر دنیا و از جمله ایران است. این گونه دارای کیفیت و ارزش غذایی بالایی بوده و طرفداران زیادی دارد. امروزه صنعت پرورش میگو به منظور تأمین بخش از منابع غذایی مورد نیاز انسان در بیشتر نقاط جهان توسعه چشمگیری یافته است (Mohseninejad *et al.*, 2018).

بر طبق اعلام سازمان FAO، تولید جهانی میگو در سال ۲۰۱۷ بین ۲/۹ تا ۳/۵ میلیون تن است. تقریباً ۸۰-۷۵ درصد تولید در آسیا و منطقه اقیانوس آرام انجام شده است (FAO, 2018). بروز بیماری لکه سفید در صنعت تکثیر و پرورش میگو از سال ۱۹۹۲ مشاهده شد و سپس به کلیه کشورهای آسیایی سرایت نمود. بعد از همه‌گیری این بیماری، پرورش‌دهندگان آسیایی مایل به استفاده از گونه وانامی شدند زیرا به نظر می‌رسد گونه وانامی در مقابل بیماری‌های میگو به خصوص بیماری لکه سفید مقاومت بیشتری دارد (Briggs *et al.*, 2004). با ورود گونه وانامی به صنعت تکثیر و پرورش میگو، تکثیر و تولید آن به‌شدت توسعه یافت، به طوری که امروزه بیش از ۹۰ درصد تولیدات میگوی پرورشی جهان به گونه وانامی اختصاص‌یافته است.

در سال‌های اخیر تلاش بسیاری از پژوهشگران در راستای تقویت میگوهای پرورشی در برابر بیماری، معطوف به تقویت و تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی میگوها بوده است (Rámos-Carreño *et al.*, 2014). یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر

توانایی آبزی برای مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا وضعیت تغذیه است. بیماری‌ها معمولاً در مواقعی که آبزی تحت تأثیر عوامل تنش‌زای مختلف نظیر تغذیه نامناسب قرار دارد شیوع پیدا می‌کنند. از این‌رو برای بهبود وضعیت سلامتی و جلوگیری از شیوع بیماری‌ها در فعالیت‌های آبزی‌پروری، جیره‌های غذایی مناسب مورد نیاز است (El-Banna and Atallah, 2009). بنابراین ویژگی‌های تغذیه‌ای و فیزیکی مناسب جیره‌های غذایی می‌توانند حساسیت آبزی نسبت به عوامل بیماری‌زا را کاهش دهند (Lall *et al.*, 2002). همچنین استفاده از مکمل‌های افزودنی در جیره غذایی می‌تواند منجر به رشد مطلوب آبزی و کاهش حساسیت نسبت به عوامل بیماری‌زا شود (Lara-Flores *et al.*, 2003).

اثرات مثبت تغذیه از جلبک‌ها به‌دلیل وجود فیبر، کاروتنوئیدها، جذب‌کننده‌های شیمیایی غذا، ویتامین‌ها، مواد معدنی، اثرات ترکیبی با ویتامین‌ها، جلوگیری از فرایند تجزیه شدن ویتامین‌ها و خاصیت آنتی‌اکسیدانی است (Mustafa *et al.*, 1997). یکی از راه‌های افزایش ایمنی، کاربرد تحریک‌کننده‌های سیستم ایمنی غیراختصاصی نظیر بتاگلوکان است که از ترکیبات سازنده دیواره سلولی باکتری‌ها و مخمر است. ترکیب DV Aqua از جمله محصولات تجاری است که از متابولیک‌های حاصل از مخمر تولید شده و اثر آن در آبزیان به صورت افزایش قدرت ایمنی در مقابل بیماری‌ها به تأیید رسیده است (Tewary and Patra, 2011). مخمر ساکارومایسیس سروزیه (*Saccharomyces cervesia*) منبع مناسبی از پروتئین، اسیدهای آمینه ضروری و بسیاری از عناصر معدنی و غیر معدنی و نیز غنی از ویتامین‌های گروه B است (Ebrahim and Abou-seif, 2008). این مخمر، با تولید متابولیت‌های مختلف موجب افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی و بهبود هضم مواد غذایی، تحریک سیستم ایمنی، افزایش نرخ بقا و نهایتاً افزایش رشد را به دنبال دارد (He *et al.*, 2011; Kafilzadeh *et al.*, 2013). بنابراین با توجه به مطالب فوق، این مطالعه با هدف بررسی شاخص‌های ایمنی میگوی پاسفید غربی پس از تغذیه با جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا (*Gracilaria corticata*) و مخمر ساکارومیسیس سروزیه به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در مرکز تکثیر میگوی بندر امام خمینی (ره) متعلق به اداره کل شیلات خوزستان انجام شد. میگوهای پاسفید غربی مورد نیاز از مرکز آموزش شهید کیانی تهیه و به ایستگاه بندر امام خمینی (ره) منتقل شدند و برای سازگاری با محیط به‌مدت ۳ تا ۵ روز در شرایط آزمایشگاهی نگه داری شدند. بعد از مرحله سازگاری، نسبت به غربالگری میگوها برای عدم وجود ویروس‌های (WSSV, TSV, MBV, HPV, YHV, BP, IHHNV, IMNV) و باکتری‌های ویبریو با استفاده از PCR اقدام شد (Lightner, 2002). پارامترهای دما، pH و اکسیژن محلول آب روزانه در دو نوبت صبح و عصر و شوری آب یک‌بار در روز در نوبت صبح، به‌وسیله دستگاه مولتی پارامتر (مارک WTW) و با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری و ثبت شد. دوره نوری در داخل سالن‌های پرورش به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم شد. روزانه سه وعده غذا به میزان ۵ درصد زی توده داده شد و غذا دهی در ساعت‌های ۸ صبح، ۲ ظهر و ۱۰ شب انجام شد.

برای انجام این آزمایش از ۹ مخزن بتونی به ظرفیت ۱۰ تن استفاده شد که حجم آبگیری مفید در هر یک از این مخازن ۱۰۰۰۰ لیتر بود. در هر مخزن ۲۰۰ قطعه میگوی ۵ گرمی با شرایط یکسان ذخیره‌سازی شد. در تیمار ۱ از جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا خشک شده به میزان ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و تیمار ۲ از مخمر ساکارومایسیس سروزیه به میزان یک گرم در کیلوگرم غذا استفاده شد. مدت غذادهی ۲۵روز بود و این مطالعه با دو تیمار و یک گروه شاهد، هرکدام با سه تکرار اجرا شد.

جهت بررسی تغییرات شاخص‌های ایمنی شامل

فاکتورهای خونی هموسیت کل (THC)، پروتئین کل (TPP)، آنزیم پراکسیداز (POD)، آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و آنزیم فنول اکسیداز (PO) از همولنف میگوها نمونه‌برداری گردید. همولنف‌گیری با استفاده از سرنگ‌های انسولین با گیج ۲۵ حاوی ۰/۶ میلی لیتر ماده ضد انعقاد السیور (Elsever) از طریق سینوس شکمی (بعد از پنجمین پای قدم زن) به میزان ۰/۴ میلی‌لیتر از همولنف میگو نمونه‌برداری شد. نمونه‌برداری در روزهای ۱، ۳، ۹، ۱۸ و ۲۵ بعد از شروع تغذیه با جلبک و مخمر انجام شد.

سنجش شاخص‌های ایمنی: تعیین تعداد هموسیت‌ها با استفاده از لام هموسیتومتر انجام شد. در ابتدا ۵۰ میکرولیتر از مخلوط همولنف - ماده ضد انعقاد با ۵۰ میکرولیتر از محلول بافر فرمالین خنثی ۱۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط و نگه داشته شد؛ سپس ۲۰ میکرولیتر از مخلوط برداشته شد و در شیار H لام نئوبار زیر لامل تخلیه گردید. بعد از گذشت ۱ دقیقه برای تعیین تعداد هموسیت‌ها از ۲۵ خانه وسط ۵ خانه به‌صورت تصادفی شمارش و میانگین آن‌ها در عدد 10^4 و رقت ($2.5 = \frac{1}{0.4}$) ضرب شد (Kakoolaki *et al.*, 2010). میزان پروتئین کل پلاسما براساس روش برادفورد با استفاده آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان یک منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. برای سنجش میزان فعالیت آنزیم پروکسیداز، مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول اصلی واکنشی (۴۶ میکرولیتر محلول بافر + ۲ میکرولیتر Fluorescent Peroxidase + ۲ میکرولیتر H_2O_2 ۱۲/۵Mm) را در چاهک هر نمونه و شاهد مثبت ریخته شد و با کمک حرکت افقی و پیپت، به خوبی مخلوط شد. سپس پلت چاهک را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد. در روش رنگ سنجی، میزان جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و در روش فلورومتریک به شرح زیر عمل شد:

$$FLU_{initial} \lambda ex=535/\lambda em=585\ nm$$

برای سنجش میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز، ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه، در دو ظرف نمونه برداری اسپکتوفتومتر و بلانک ۲ ریخته شد و مقدار ۲۰ میکرولیتر آب به هر کدام از بلنک ۱ و ۳ افزوده و به خوبی مخلوط شد. بعد از آن، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از WST به هر یک از محلول‌ها افزوده و مخلوط شد. در مرحله بعد، مقدار ۲۰ میکرولیتر از محلول رقیق‌شده بافر، به هر یک از بلانک‌های ۲ و ۳ اضافه و مخلوط شد. سپس مقدار ۲۰ میکرولیتر محلول آنزیم به بلانک ۱ نمونه اضافه و کاملاً مخلوط گردید. در آخر ظروف نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد و در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد و مقدار SOD فعال (براساس درصد بازماندگی) با کمک فرمول زیر محاسبه شد (Kakoolaki *et al.*, 2010).

$$\text{SOD Activity} \quad \frac{(Ablank1-Ablank3)-(Asample-Ablsnk2)}{(Ablank1-Ablank3)}$$

جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم فنول اکسیداز از روش Huang و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از ترتیب که ۲۰ میلی‌لیتر از پلاسما در چاهک اسپکتروفتومتر به عنوان یک نمونه ناشناخته و ۲۰ میلی‌لیتر ماده ضد انعقاد Strewed در چاهک دیگر به عنوان شاهد قرار داده و پس از ۱ دقیقه، ۸۸۰ میلی‌لیتر محلول L-DOPA به هر دو چاهک اضافه شد. میزان جذب در طول موج ۴۹۰ نانومتر، هر ۱۰ ثانیه تا ۱۲۰ ثانیه ثبت شد. هر یک واحد فعالیت آنزیم معادل تغییر در جذب ۰/۰۰۱ در هر دقیقه در هر میلی‌لیتر همولنف است (Huang *et al.*, 2008).

تحلیل آماری: آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها با آزمون آماری اسمیرنوف کولموگراف و همگنی واریانس‌ها به وسیله آزمون Leven تست شد. جهت آنالیز داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. سپس تفکیک میانگین‌های دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ($P\leq$۰/۰۵) به کمک پس آزمون Duncan، انجام شد. برای تجزیه و

جدول ۱ - نتایج بررسی تأثیر جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا و مخمر ساکارومایسیس سروزیه بر شاخص‌های ایمنی میگوهای پا سفید.

فاکتورهای ایمنی / روز	۱	۳	۹	۱۸	۲۵
تیمار ۱ (جلبک)					
هموسیت ($\times10^5$cell/ml)	۲۵/۰±۰۹/۶۸ a	۲۶/۱±۳۸/۲۵ a	۵۰/۳۸±۱/۲۱b	۶۱/۵۴±۳/۹۷b	۱۱۷/۷۱±۱۱/۹۷c
پروتئین کل (mg/ml)	۳۸/۱۵±۰/۱۵b	۳۸/۰±۸۰/۷۲a	٥٤/٦٠±٠/٨١b	۶۸/۰±۰۳/۶۷c	۷۷/۰±۴۵/۸۵d
آنزیم پروکسیداز ($nmol/min^{-1}ml^{-1}$)	۶/۰±۰۵/۰۲a	۶/۰±۱۲/۰۳a	۶/۰±۲۲/۰۲b	۶/۰±۴۰/۰۱c	۶/۰±۷۹/۰۴d
سوپراکسیددیسموتاز ($Activity\ Uml^{-1}$)	۱۰۱۷/۲±۴۵/۸۰a	۱۱۱۶/۶۰±۶۷/۰۹a	۱۶۵۰/۷۶±۰۰/۳۸b	۱۹۴۳/۸۰±۳۳/۹c	۲۴۶۶/۸۸±۶۷/۱۹d
آنزیم فنول اکسیداز ($U\ min^{-1}ml^{-1}$)	۴۰۵/۱±۰۹/۳۲ a	۴۰۹/۱±۶۷/۷۶a	۴۵۶/۰±۶۷/۸۸b	۵۰۴/۲±۳۳/۰۳c	۵۹۷/۲±۳۳/۶۰d
تیمار ۲ (مخمر)					
هموسیت ($\times10^5$cell/ml)	۲۴/۰±۲۹/۶۱a	۲۴/۱±۵۸/۲۳a	۴۵/۲±۹۰/۰۷b	۵۸/۳±۶۳/۴۸c	۱۱۲/۱±۲۱/۹۶d
پروتئین کل (mg/ml)	۳۷/۰±۶۵/۱۵a	۳۸/۰±۰۷/۷۶a	۵۳/۲±۷۷/۶۹b	۶۷/۰±۵۷/۲۸c	۷۶/۲±۵۰/۱۰d
آنزیم پروکسیداز ($nmol/min^{-1}ml^{-1}$)	۶/۰±۰۲/۰۳a	۶/۰±۰۹/۰۲ab	۶/۰±۱۹/۰۲b	۶/۰±۳۷/۰۵c	۶/۰±۷۵/۰۹d
سوپراکسیددیسموتاز ($Activity\ Uml^{-1}$)	۹۹۶/۱±۵۵/۶۹a	۱۰۵۳/۴±۳۳/۵۰a	۱۵۷۶/۱۸۱±۶۷/۱۴b	۱۸۶۶/۱۲۰±۶۷/۱۹b	۲۳۷۳/۹۳±۳۳/۳۳c
آنزیم فنول اکسیداز ($U\ min^{-1}ml^{-1}$)	۳۹۳/۲±۴۲/۱۹a	۳۳۹/۲±۰۰/۰۸a	۴۴۶/۲±۰۰/۳۱b	۴۹۵/۲±۶۷/۰۳c	۵۷۷/۳±۰۰/۶۱d
تیمار ۳ (شاهد)					
هموسیت ($\times10^5$cell/ml)	۱۹/۰±۵۳/۱۳a	۱۹/۰±۷۹/۹۷a	۱۹/۰±۱۷/۳۲a	۱۹/۰±۶۲/۵۸a	۱۹/۰±۰۰/۸۶a
پروتئین کل (mg/ml)	۳۳/۰±۷۰/۲۰a	۳۳/۲±۹۵/۶۵a	۳۴/۰±۳۵/۸۵a	۳۳/۱±۲۰/۶۰a	۳۶/۲±۱۰/۸۰a
آنزیم پروکسیداز ($nmol/min^{-1}ml^{-1}$)	۵۰/۰±۹۰/۰۲a	۵/۰±۷۴/۲۱a	۵/۰±۸۰/۲۸a	۵/۰±۶۹/۴۲a	۵/۰±۸۰/۳۵a
سوپراکسیددیسموتاز ($Activity\ Uml^{-1}$)	۵۰۳/۲±۹۷/۹۱a	۵۱۰/۳۲±۰۰/۱۵a	۴۹۵/۱۵±۰۰/۰۰a	۴۹۹/۲۱±۵۰/۵۰a	۴۹۶/۵±۰۰/۰۰a
آنزیم فنول اکسیداز ($U\ min^{-1}ml^{-1}$)	۳۸۶/۰±۵۵/۷۹a	۳۹۰/۱±۰۰/۷۳a	۳۸۱/۲۳±۳۳/۹۲a	۳۷۴/۹±۰۰/۶۴a	۴۱۹/۶۶±۳۳/۲۳a

تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS19 استفاده شد.

نتایج

فاکتورهای ایمنی: براساس جدول ۱ افزایش فاکتورهای ایمنی در روزهای آزمایش از روز اول تا ۲۵ مشاهده شد. بیش‌ترین میزان فاکتورهای ایمنی THC، TPP، SOD، POD و PO در تیمار ۱ در روز ۲۵ آزمایش بود. این وضعیت در تیمار ۲ نیز صادق بود. ولی میزان آن به نسبت تیمار ۱ به طور معنی‌داری کمتر بود.

هموسیت کل (THC): براساس نتایج میزان هموسیت کل برای تیمارهای مختلف از روز اول آزمایش روند صعودی داشته و بیش‌ترین میزان آن مربوط با تیمار ۱ و در روز ۲۵ بود. میزان THC در روزهای مختلف در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$) و کمترین THC در تیمار ۳ مشاهده گردید.

پروتئین کل (TPP): پروتئین کل نیز در کلیه تیمارها روند افزایشی داشته و بیش‌ترین میزان در تیمار ۱ مشاهده شد (جدول ۱). کمترین میزان TPP در تیمار ۳ مشاهده شد و میزان TPP بین تیمارهای ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<۰/۰۵$).

آنزیم پراکسیداز (POD): بر اساس نتایج، آنزیم در تیمارها افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) داشت و بیش‌ترین میزان در تیمار ۱ و کمترین مقدار در تیمار ۳ سنجش شد. همچنین میزان POD در تیمار T3 طی روزهای ۱، ۳ و ۹ اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$) ولی با روز ۱۸ اختلاف معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$) و میزان POD افزایش نشان داده و تا ۲۵ روز ادامه داشت.

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD): براساس نتایج میزان این آنزیم در تیمارهای ۱و ۲ در مقایسه با تیمار کنترل به‌شدت افزایش و اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۵$).

آنزیم فنول اکسیداز (PO): روند افزایشی آنزیم در تیمارهای ۱ و ۲ در مقایسه با شاهد کاملاً معنی‌دار و اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$) (جدول ۱).

بحث

در مطالعه حاضر با مصرف جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا افزایش شاخص‌های ایمنی (THC، TPP، SOD، POD و PO) از روز اول تا ۲۵ مشاهده شد و بیش‌ترین میزان فاکتورهای ایمنی در تیمار ۱ در روز ۲۵ مشاهده شد. این وضعیت برای تیمار ۲ نیز صادق بوده ولی میزان آن به نسبت تیمار ۱ کمتر بود. در مجموع کلیه شاخص‌های ایمنی نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد. همچنین با مصرف آن تا روز ۲۵ افزایش به صورت صعودی ادامه داشت. خاصیت ضدویروسی جلبک‌ها را می‌توان به ترکیبات پلی‌ساکاریدی، تانن، فلاونید، فنل، بروموفنل و کارتینوئیدها مرتبط دانست (Rodriguez *et al*., 2010, Rajasekar *et al*., 2012). از جمله جلبک‌های دارای خواص ضدویروسی علیه ویروس لکه‌سفید: *Momordica charantia*، *Lantana camara*، *Cynodon dactylon*، *Aegle marmelos*، *Phyllanthus amarus* می‌باشند، همچنین استفاده از جلبک گراسیلاریا برای محافظت در برابر ویروس لکه سفید در میگوی پاسفید موجب بقای بیشتر و افزایش فاکتورهای ایمنی می‌گردد (Balasubramanian *et al*., 2007; Lin *et al*., 2011).

مکانیسم‌های مختلفی ممکن است در خاصیت ضدویروسی جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا نقش داشته باشند. مهم‌ترین راه‌های ورود ویروس لکه سفید به میگو سلول‌های اپتلیال روده جلویی، آبشش و کوتیکول (Chang *et al*., 2003) و روده میانی (Di Leonardo *et al*., 2005) می‌باشد. به نظر می‌رسد که ترکیبات پلی‌ساکارید موجود در جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا با ویروس لکه سفید رقابت نموده و در این رقابت ویروس نمی‌تواند وارد سلول‌های میگو گردد. همچنین رسپتورهای گیرنده سطح سلول‌های میگو ممکن است به‌وسیله ترکیبات موجود در جلبک گراسیلاریا پوشیده شده و اجازه ندهد که ویروس‌ها به سطح سلول‌های میگو بچسبند (Verbruggen *et al*., 2016).

در مطالعه حاضر میزان POD در زمان مصرف میگوها با جیره جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا و مخمر ساکارومایسیس سروزیه از طریق تشکیل ROS و تولید DO، تولید بالایی از POD شد. این نتایج با نتایج Lin و همکاران (۲۰۱۱) و Wen-Ying و همکاران (۲۰۰۷) همخوانی دارد. Lin و همکاران (۲۰۱۱) مشخص نمودند 1mg/ml بتا گلوکان موجب تحریک ۶ آنزیم شامل POD، SOD، ALP و PO می‌گردد. براساس Aimanianda و همکاران (۲۰۰۹) پلی‌ساکارید دیواره سلولی مخمر ساکارومایسیس سروزیه از دو نوع گلوکان تشکیل شده است که بتا-۱-۳ گلوکان (۵۰ تا ۶۰٪) و بتا-۱-۶ گلوکان (۱۰ تا ۱۵٪) درصد تشکیل دهنده دیواره سلولی می‌باشد. Cheng و همکاران (۲۰۰۴) گزارش نموده‌اند پلی‌ساکاریدها شبیه گلوکان موجود در دیواره قارچ‌ها، مخمرها و آلژینات سدیم دارای تأثیرات مثبت در پیشگیری از بیماری‌های ویبرویوسیس و لکه سفید در میگو را دارد. نتایج این تحقیق با تحقیقات Chotikachinda و همکاران (۲۰۰۸) و Bai و همکاران (۲۰۱۴) همخوانی داشت. آن‌ها نشان دادند که غذای حاوی بتا گلوکان و مشتقات آن‌ها به‌طور معنی‌داری سیستم ایمنی میگو را متأثر و موجب مقاومت علیه بیماری لکه سفید می‌گردد. در مطالعه حاضر میگوهای تغذیه‌شده با ساکارومایسیس سروزیه دارای شاخص ایمنی بالاتری در مقایسه با میگوهای تغذیه شده با غذای تجاری در پایان آزمایش بودند که با یافته‌های Song و همکاران (۲۰۰۳)، Yoganandhan و همکاران (۲۰۰۳) همخوانی دارد.

به طورکلی می‌توان بیان داشت که میگوهای تغذیه شده با مخمر ساکارومایسیس سروزیه و جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا افزایش فاکتورهای ایمنی در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. به نظر می‌رسد مواد تحریک‌کننده سیستم ایمنی در جلبک بیشتر از مخمر بوده است. با توجه به ضعف سیستم ایمنی در میگوها همچنین تهیه و مصرف این مخمر و جلبک

ساده و کم هزینه بوده توصیه می‌شود به صورت خوراکی در دستور کار پرورش‌دهندگان میگوی کشور به خصوص مناطقی که ریسک بروز بیماری‌ها بیشتر قرار گیرد.

منابع

Aimanianda V., Clavaud C., Simenel C., Fontaine T., Delepierre M., Latge J.P. 2009. Cell Wall β-(1,6)-Glucan of *Saccharomyces cerevisiae*, Structural Characterization and in Situ Synthesis. *Journal of Biological Chemistry* 13401-13412.

Balasubramanian G., Sarathi M., Rajesh Kumar S., Sahul Hameed A.S. 2007. Screening the antiviral activity of Indian medicinal plants against white spot syndrome virus in shrimp. *Aquaculture* 263, 15-19.

Bai N., Gu M., Zhang W., Xu W., Mai K. 2014. Effects of β-glucan derivatives on the immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against white spot syndrome virus infection. *Aquaculture* 426–427.

Briggs M., Funge-Smith S., Subasinghe R., Phillips M. 2004. Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific. RAP publication 2004/10. Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok, 2004. 70 p.

Chang C.-F., Su M.-S., Chen H.-Y., Liao I.-C. 2003. Dietary β-1, 3-glucan effectively improves immunity and survival of *Penaeus monodon* challenged with white spot syndrome virus. *Fish and shellfish Immunology* 15, 297-310.

Cheng W., Liu C.H., Yeh S.T., Chen J.C. 2004. The immune stimulatory effect of sodium alginate on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against Vibrio alginolyticus. *Fish and Shellfish Immunology* 17, 41-51.

Chotikachinda R., Lapjatupon W., Chaisilapasung S., Sangsue D., Tantikitti C. 2008. Effect of inactive yeast cell wall on growth performance, survival rate and immune parameters in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Science and Technology* 30(6), 687-692.

Di Leonardo V.A., Bonnichon V., Roch P., Parrinello N., Bonami J.R. 2005. Comparative WSSV infection routes in the shrimp genera Marsupenaeus and Palaemon. *Journal of Fish Diseases*, 28, 565-569.

Ebrahim M., Abou-Seif R. 2008. Fish meal replacement by yeast protein (*Saccharomyces cerevisiae*) supplemented with biogenic L-carintine as a source of methionine plus lysine mixture in feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. 8th international symposium on Tilapia in aquaculture. Central Laboratory for Aquaculture Research, Agriculture Research Center, Cairo, Egypt.

El-Banna S., Atallah S. 2009. Study the Role of Feed Additives in Prevention of Fish Diseases Incidence in *Oreochromis niloticus* and Common Carp Fish and Its Economic Importance. *Journal of the Arabian Aquaculture Society* 4(2), 121-140.

FAO 2018. Fisheries and aquaculture.FAO Fisheries and Aquaculture Department. Technical Paper. 500/1, Rome. 105 p.

He W., Cui J., Yue Y., Zhang X., Xia X., Liu H., Lui S. 2011. High-performance TiO_2 from Baker's yeast. *Journal of Colloid and Interface Science* 354, 109-115.

Huang P.Y., Kang S.T., Chen W.Y., Hsu T. C., Lo C.F., Liu K.F., Chen L.L. 2008. Identification of the small heat shock protein, HSP21, of shrimp *Penaeusmonodon* and the gene expression of HSP21 is inactivated after white spot syndrome virus (WSSV) infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 25, 250-257.

Kafilzadeh F., Farhangdoost M.-S., Tahery Y. 2013. Isolation and identification of phenol degrading bacteria from Lake Parishan and their growth kinetic assay. *African Journal of Biotechnology* 9, 6721-6726.

Kakoolaki S., Sharifpour I., Soltani M., Ebrahimzadeh Mousavi H., Mirzargar S., Rostami M. 2010. Selected morpho-chemical features of hemocytes in farmed shrimp, *Fenneropenaeusindicus* in Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 9, 219-232.

Lall S.P. 2002. The minerals. Fish nutrition 3, pp: 259-308.

Lara-Flores M., Olvera-Novoa M.A., Guzmán-Méndez B.Z.E., López-Madrid W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium*

Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption. Food Chem, 121, 634-638

Song Y., Yu L., Lien C.I., Huang T.W., Lin M.N. 2003. Haemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with Taura syndrome virus. *Fish and Shellfish Immunology* 14(4), 317-31**.**

Verbruggen B., Bickley L.K., Van Aerle R., Bateman K.S., Stentiford G.D., Santos E. M., Tyler C.R. 2016. Molecular Mechanisms of White Spot Syndrome Virus Infection and Perspectives on Treatments. *Viruses* 8(23), 1-29**.**

Yoganandhan K., Narayanan R.B., Sahul Hameed A.S. 2003a. Larvae and early post-larvae of *Penaeus monodon* (Fabricius) experimentally infected with white spot syndrome virus (WSSV) show no significant mortality. *Journal of Fish Diseases* 26, 385-391**.**

Wen-Ying S., Hui-Jun Y., Hui-Feng K.E., Lan Q.I. 2007. Effect of β-glucan on Enzyme Activity of Immunity in Pacific White Leg Shrimp *Litopenaeus vannmei*. *Fisheries Science* 2007-07.

and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 216, 193-201.

Lightner D.V. 2012. A handbook of pathology and diagnostic procedures for diseases of penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.

Lin T., Xing J., Jiang J., Tang X., Zhan W. 2011.β-glucan-stimulated activation of six enzymes in the haemocytes of the scallop Chlamysfarreri at different water temperatures. *Aquaculture* 315, 213-221**.**

Lin Y.C., Yeh S.T., Li C.C., Chen L.L., Cheng A.C., Chen J.C. 2011 An immersion of Gracilariatenuistipitata extract improves the immunity and survival of white shrimp *Litopenaeusvannamei* challenged with white spot syndrome virus. *Fish and Shellfish Immunology* 31, 1239-1246**.**

Mohseninejad L., Houshmand H., Ahangarzadeh M., Mohammadidoust M., Ismaili Far J. 2018. The effect of Nutrition diets containing probiotics in shrimp industry, The first National Conference on Recent Advances in Engineering and Modern Sciences of Tehran, Iran. pp: 502-506

Mustafa M.G., Umino T., Nakagawa H. 1997. Limited synergistic effect of dietary Spirulina on vitamin C nutrition of red sea bream *Pagrus major*. *Journal of Marine Biotechnology* 5, 129-132.

Rajasekar T., Deivasigamani B., Kumaran S., Sakthivel M., Balamurugan S., Jothi E.G., Priyadharshini P. 2012. Antibacterial Activity of Cultivated Marine Seaweeds against Fish pathogenic bacteria Vibrio harvey. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1-5**.**

Ramos-Carreño S., Valencia-Yáñez R., Correa-Sandoval F., Ruíz-García N., Díaz-Herrera F., Giffard-Mena I. 2014. White spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp (*Litopenaeusvannamei*) exposed to low and high salinity. *Archives of Virology* 159, 2213-2222.

Tewary P., Patra B., 2011. Oral administration of baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, acts as a growth promoter and immunomodulator in *Labeo rohita* (Ham.). *Journal of Aquaculture Research and Development* 1-7.

Rodriguez-Bernaldo De Quiros, A., Lage-Yusty, M. & Lopez-Hernandez, J. 2010.

Comparison of the oral administration of *Gracilaria corticata* and *Saccharomyces cervesia* on immunity indicators of *Litopenaeus vannamei*

Mehrdad Mohammadidust[1], Mohammad Afsharnasab[2], Shapoor Kakoulaki[3], Mina Ahangarzadeh[1], Hossein Houshmand[1], Lefteh Mohseninejad[*1]

[1]Aquaculture Research Center-South of Iran, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ahvaz, Iran.
[2]Department of Health, Aquatic Animal Health and Disease, Faculty of Specialized Veterinary Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[3]Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.
*Corresponding author: l.mohsenenejad@areeo.ac.ir
Received: 2020/4/2 Accepted: 2020/11/12

Abstract

In this study, Vanami shrimp were fed *Gracilaria corticata* alga and *Saccharomyces cervesia* yeast, then their immunity indicators were studied. A total of 1800 shrimp with 5 gr after adaptation storage were were selected and after adaptation were introduced into nine 10-tons tanks. The first they were tested for disease. Shrimp did not have any bacterial viral diseases. A group was fed Gracelaria corticata as 1500 mg / kg and another tretment with *Saccharomyces cerevisiae* as 1 g / kg for 25 days. The hemolymph of shrimps was sampled on days 1, 3, 9, 18, and 25. Then, immunity indicators, including THC, TPP, SOD, POD and PO were compared. The results showed that in both treatments, the immunity indicators were significant increased compared to the control group (P<0.05). In addition, the immunity indicators in the algae treatment showed a higher increase compared to the yeast one (P<0.05).

Keywords: Algae, *Gracilaria*, *Litopenaeus vannamei*, Yeast, *Saccharomyces cervesia*.