

Research Article

Effect of microalgae extract of *Cyanothece* sp. As a dietary supplement on the physiological characteristics of young western white-legged shrimp *Litopenaeus vannamei*

Elnaz Erfanifar ^{*1}, Seyed Abbas Hosseini ¹, Zahra Amini Khoei ², Sajjad Pourmozafar ³, Seyed Ali Akbar Hedayati ¹, Ashkan Ajdari ²

¹ Department of Aquatic Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

² Off-shore Fisheries Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Chabahar, Iran

³ Persian Gulf Mollusks Research Station, Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bandar Lengeh, Iran

Key Words

Western white foot shrimp
Microalgae
Cyanothece sp.
Antioxidant
Safety index

Abstract

Introduction: The aim of this study was to evaluate the effect of consumption of different levels of salt-loving microalgae extract of *Cyanothece* sp. As a dietary supplement on the activity of antioxidant enzymes and blood parameters of young white-legged shrimp (*Litopenaeus vannamei*).

Materials & Methods: For this purpose, 240 young shrimps with an average weight of about 3.03 17 0.17 g were stored in 12 70-liter tanks with a density of 20 in each tank, then different levels of 0 (control), 100 (treatment 1), 200 (treatment 2) and 300 (treatment 3) mg/kg microalgae extract of *Cyanothece* sp. It was added to their diet as a supplement for 60 days. At the end of the experiment, different shrimp treatments were sampled and safety indices including glucose, total protein, superoxide dismutase, and catalase were compared with the control group.

Results: The results showed that the number of antioxidant enzymes in all three groups was significant compared to the control group ($P < 0.05$). The highest activity was observed in the treatment of 200 mg/kg. Also, no significant change was observed in protein and glucose levels of the three treatment groups ($P < 0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that the use of 200 mg of microalgae aqueous extract per kg of diet used in the diet of Western white shrimp will have a significant effect on increasing immunity by increasing the activity of antioxidant enzymes and their consumption. Recommended for nutrition and safety management in Western White Shrimp.

Article info

* Corresponding Author's email:
elnaz.erfanifar@gau.ac.ir

Received: 25 February 2024

Reviewed: 26 March 2024

Revised: 7 June 2024

Accepted: 1 July 2024

مقاله علمی - پژوهشی

تأثیر عصاره ریز جلبک *Cyanothece* sp. به عنوان مکمل در جیره غذایی بر شاخص‌هایفیزیولوژیکی میگوی جوان پا سفید غربی *Litopenaeus vannamei*الناز عرفانی‌فر^{*}، سیدعباس حسینی^۱، زهرا امینی‌خوئی^۲، سجاد پورمظفر^۳، سیدعلی اکبر هدایتی^۱، اشکان اژدری^۲^۱ گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران^۲ مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران^۳ ایستگاه تحقیقات نرم‌تنان خلیج فارس، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرلنگه، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر مصرف سطوح مختلف عصاره ریز جلبک نمک‌دوست *Cyanothece* sp. به عنوان مکمل غذایی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و فراسنجه‌های خونی میگوی جوان پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) صورت گرفت.

میگوی پا سفید غربی
ریز جلبک *Cyanothece* sp.
آنتی‌اکسیدان
شاخص ایمنی

مواد و روش‌ها: بدین منظور ۲۴۰ قطعه میگوی جوان با میانگین وزنی حدود $3/03 \pm 0/17$ گرم در ۱۲ مخزن ۷۰ لیتری با تراکم ۲۰ عدد در هر مخزن ذخیره‌سازی شدند سپس سطوح مختلف ۰ (شاهد)، ۱۰۰ (تیمار ۱)، ۲۰۰ (تیمار ۲) و ۳۰۰ (تیمار ۳) میلی گرم بر کیلوگرم عصاره ریز جلبک *Cyanothece* sp. به شکل مکمل به مدت ۶۰ روز به جیره غذایی آن‌ها افزوده شد. در پایان دوره آزمایش، از تیمارهای مختلف میگو نمونه‌برداری صورت گرفته و شاخص‌های ایمنی شامل گلوکز، پروتئین کل، آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و آنزیم کاتالاز این سه گروه با گروه شاهد مقایسه شدند.

نتایج: نتایج نشان داد میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در هر سه گروه نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ($P < 0/05$) و بالاترین میزان فعالیت در تیمار ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. هم‌چنین در میزان پروتئین و گلوکز سه گروه تیمار با گروه شاهد تغییر معنی‌داری مشاهده نگردید ($P > 0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که به کار بردن ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی ریز جلبک در هر کیلوگرم جیره مورد استفاده در تغذیه میگوی پاسفید غربی تأثیر معنی‌داری در افزایش ایمنی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ایجاد خواهد کرد و مصرف آن برای مدیریت تغذیه و ایمنی در میگو پا سفید غربی توصیه می‌گردد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
elnaz.erfanifar@gau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۶ اسفند ۱۴۰۲

تاریخ داوری: ۷ فروردین ۱۴۰۳

تاریخ اصلاح: ۱۸ خرداد ۱۴۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۱ تیر ۱۴۰۳

مقدمه

سنجی استفاده از این میکروارگانیسم‌ها به عنوان مکمل غذایی در جیره میگوی پرورشی در کشورمان صورت نگرفته است. ریزجلبک *Cyanothece sp.* یکی از گونه‌های سیانوباکتر است از شاخه *Cyanobacteria*، کلاس *Cyanophyceae*، رده *Oscillatoriales* و خانواده *Cyanothecaceae* است. با توجه به تجمع اگزوپلی ساکارید (EPS: Extracellular Eolymeric Substances) در سیانوباکترها و نقش آن در ایمنی سلولی و این که حاوی متابولیت‌های ثانویه آلکالوئیدی است که دارای فعالیت ضدباکتریایی و مهاری در مقابل باکتری‌ها می‌باشند دارای اهمیت بالایی است. همچنین حاوی مقدار زیادی پروتئین، اسیدهای چرب ضروری (گاما-لینولنیک اسید)، پلی ساکاریدها، فیکوبیلی پروتئین‌ها، کارتنوئید، ویتامین‌ها و موادمعدنی است که پتانسیل مناسبی برای استفاده در صنایع مختلف به ویژه آبی پروری دارد (۸، ۹). لذا در این تحقیق سعی شده است تا تاثیر عصاره ریزجلبک سبزآبی نمک دوست بومی تالاب لیپار (سواحل چابهار) با نام علمی *Cyanothece sp.* به عنوان مکمل غذایی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و فراسنجه‌های خونی میگوی جوان پا سفید غربی *L. vannamei* مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

کشت ریزجلبک و تهیه عصاره خام: در گام نخست این تحقیق ریزجلبک سبز آبی نمک دوست *Cyanothece sp.* که از کشتان پشته سدی لیپار (سواحل چابهار، دریای عمان) جداسازی و به روش سریال رقت و کشت روی آگار ۱۵ درصد در پتری دیش در آزمایشگاه کشت جلبک مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور چابهار وابسته به موسسه علوم شیلاتی کشور خالص‌سازی شد (۱۰). سپس سوبه مورد نظر در محیط کشت F2 تغییر یافته (بدون سلیس) کشت داده شد. پس از رشد به میزان کافی بیومس آن از محیط مایع جدا و برداشت شد. بیومس تولید شده پس از آبگیری و خشک کردن، آسیاب شده و به پودر ریز همگن تبدیل شد. در مرحله بعد عصاره‌گیری از ریزجلبک *Cyanothece sp.* در حلال آبی صورت گرفت به طوری که ۵ گرم پودر جلبک به ظروف شیشه‌ای درب‌دار منتقل شد، سپس ۲۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه دوبار تقطیر به آن اضافه شد (نسبت آب به نمونه ۱ به ۵۰)، در دستگاه فراصوت اولتراسوند با فرکانس ۵۰ هرتز به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۶۶ درجه سانتی‌گراد، pH (۷) استخراج عصاره انجام شد (۱۱، ۱۲). فاز روئی محلول استخراج توسط سانتریفوژ با دور ۹۰۰۰ بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد. عصاره به دست آمده با روتاری با حجم ۷۰-۶۰ میلی‌لیتر تغلیظ و به روش لیوفلیزه خشک گردید. عصاره‌گیری انجام

در سال‌های اخیر، توسعه و تولید میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در سرتاسر جهان به دلیل شیوع بیماری‌های ویروسی و باکتریایی با محدودیت‌های جدی مواجه شده است. لذا برای درمان یا پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های جدید از ترکیبات شیمیایی و آنتی‌بیوتیکی‌های مصنوعی در این صنعت استفاده فراوانی شده است (۱، ۲). این در حالی است که مصرف ترکیبات شیمیایی اثرات زیان‌باری بر سلامت مصرف‌کنندگان میگو و همچنین محیط زیست پیرامونی آن‌ها داشته است (۳). بنابراین در راستای حفظ سلامت میگوی پرورشی و ارتقاء کیفیت آن محققین و بهره‌برداران در پی یافتن مکمل‌های تغذیه‌ای مناسب مشتق از ترکیبات طبیعی هستند تا بتوانند محصول ایمن‌تر و عاری از هر گونه ترکیبات شیمیایی مضر تولید کنند. در این میان استفاده از ریزجلبک‌ها به عنوان منابع غنی از ترکیبات فراسودمند در جیره غذایی میگوهای پرورشی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (۳، ۴). دلایل منطقی و قابل قبولی برای مصرف ریزجلبک‌ها در جیره غذایی آبزیان وجود دارد از جمله آن که ریزجلبک‌ها به طور طبیعی بخشی از زنجیره غذایی میگوهای دریایی هستند و مصرف آن‌ها در حالت عادی و طبیعی کاملاً قابل قبول و برای آن‌ها هضم‌پذیر می‌باشد (۵). از طرف دیگر ریزجلبک‌ها حاوی مقادیر قابل توجهی پروتئین، اسیدهای چرب ضروری، اسیدهای آمینه و ویتامین‌ها می‌باشند که ارزش غذایی بسیار بالایی برای میگوهای پرورشی دارند و تحقیقات متعدد نشان داده است که مصرف ریزجلبک‌ها تاثیر قابل ملاحظه‌ای در افزایش سلامت و ایمنی میگوهای پرورشی داشته است (۶) از نظر ارزش زیستی در میان انواع متعدد ریزجلبک‌ها، آن دسته از آن‌ها که شورپسند بوده و در اکوسیستم‌های فوق اشباع نمک ساکن هستند ظرفیت زیستی و اقتصادی نسبتاً بالاتری دارند، زیرا به طور طبیعی این گروه توانایی سازگاری و تحمل نوسان دما، نوسان میزان آب در دسترس و خشکی، حضور پرتوهای فرابنفش، کمبود منابع غذایی را در خود توسعه داده‌اند (۶). بنابراین به طور طبیعی‌حاوی متابولیت‌های ثانویه منحصر به فردی هستند که در سایر ریزجلبک‌های ساکن در اکوسیستم‌های معمولی مانند آب دریا یافت نمی‌شوند. مطالعات بر روی ریزجلبک‌های شورپسند نشان داده است که عصاره خام و یا مواد جداشونده (Fraction) اختصاصی آن‌ها فعالیت‌های زیستی قابل توجهی در شرایط آزمایشگاهی و یا بالینی از خود نشان داده است (۷). با وجود ارزش زیستی قابل ملاحظه ریزجلبک‌های سبز-آبی نمک‌دوست و امکان دسترسی آسان به آن‌ها در تالاب‌های فوق شور نمک در کشورمان تاکنون مطالعه جامعی در مورد امکان

شد و پس از خشک شدن در مجاورت هوا تا زمان مصرف در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید و سپس به ازای هر کیلوگرم غذا در چهار تیمار با چهار میزان عصاره جلبکی به غذا اسپری شد (۱۳).

طراحی و اجرای آزمایش

آماده‌سازی شرایط آزمایشگاهی: تعداد ۲۴۰ قطعه میگوی وانامی با میانگین وزنی $3/0 \pm 0/17$ گرم از مجتمع پرورش میگو شهید صنعتی گواتر- چابهار تأمین و به بخش آبی‌پروری مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور چابهار منتقل شد. میگوها بعد از ۱۵ روز سازگاری با شرایط آزمایش (۱۴)، در ۱۲ عدد تانک ۷۰ لیتری به‌عنوان واحدهای آزمایشی توزین شدند. آزمایش به‌صورت ۳ گروه تیماری و یک گروه شاهد، با ۳ تکرار اجرا گردید.

آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی: گروه شاهد تنها با غذای کنسانتره ساخت شرکت فردانه (جدول ۲) و بدون اضافه کردن عصاره ریزجلبک تغذیه شد. سه گروه تیماری به‌ترتیب با ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره اضافه شده به جیره پایه تغذیه شدند. سپس به جیره‌های آزمایشی مورد نظر ترکیب عصاره‌ای مشخص ریزجلبک *Cyanothece* sp. اسپری شد، جیره پایه تهیه شده به‌صورت پلت بوده و مکمل ریزجلبک *Cyanothece* sp. به کمک محلول ژلاتین ۵ درصد به‌صورت اسپری با غذا مخلوط شد (۱۴). در جدول ۱ آنالیز شیمیایی و مشخصات خوراک میگوی تجاری نشان داده شده است.

جدول ۱: آنالیز شیمیایی و مشخصات خوراک میگوی پاسبید غربی

ترکیبات غذا	میزان (درصد)
پروتئین خام	۳۹-۴۱
چربی خام	۷-۱۱
رطوبت	۵-۱۰
فیبر خام	۲-۴
خاکستر	۸-۱۳

* براساس آنالیز غذایی شرکت (شرکت فردانه).

سنجش پارامترهای فیزیکی و شیمیایی: شاخص‌های کیفی آب شامل شوری توسط دستگاه شوری سنج (Atago ساخت ژاپن)، دما، اکسیژن توسط دستگاه Hach آمریکا و pH توسط دستگاه WTW آلمان در طول دوره ۶۰ روزه به‌صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت گردید.

همولنف‌گیری از میگو: جهت بررسی فراسنجه‌های خونی، در پایان دوره آزمایش، از هر تکرار ۱۰ عدد میگو به‌صورت تصادفی نمونه برداری شده و همولنف با استفاده از سرنگ انسولین یک

میلی‌لیتری با سر سرنگ ۲۵ (Needle) جدا شونده از سینوس شکمی نمونه گرفته شد. سپس جهت جلوگیری از منعقد شدن همولنف به‌داخل هر سرنگ ۰/۹ میلی‌لیتر از محلول ضدانعقاد آماده شده کشیده شده و سرم آن توسط سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه جدا و تا زمان انجام آزمایش در یخچال ۲۰- نگه‌داری شد. (۱۵). همولنف از زیر اولین پای قدم زن از سینوس شکمی در اولین قطعه شکمی به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر گرفته شد و به آرامی با محلول ضدانعقاد آلسرور (۳۰ میلی‌مول تری سدیم سیترات، ۳۸۸ میلی‌مول سدیم کلراید، ۱۱۵ میلی‌مول گلوکز و ۱۰ میلی‌مول اتیلن دی آمین تترا استیک اسید) مخلوط گردید و باافاصله به میکروتیوپ شماره‌گذاری شده منتقل گردید و پس از کمی مخلوط کردن آرام، میکروتیوپ بر روی یخ قرار داده شد (۱۶، ۱۷). سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و فاز بالایی جهت سنجش فراسنجه‌های خونی استفاده گردید.

سنجش فراسنجه‌های همولنف

اندازه‌گیری گلوکز همولنف: اندازه‌گیری گلوکز همولنف با روش فتومتر و طبق پروتکل پیشنهادی شرکت سازنده کیت تجاری پارس آزمون و در طول موج ۵۴۶ نانومتر صورت گرفت.

اندازه‌گیری میزان پروتئین همولنف: سنجش میزان پروتئین همولنف براساس روش لوری (Lowry) با استفاده از سرم آلبومین گاوی به‌عنوان نمونه استاندارد و در طول موج ۷۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۱۸).

اندازه‌گیری آنتی اکسیدان

کاتالاز: اندازه‌گیری آنزیم آنتی اکسیدانی کاتالاز در همولنف (پلاسما) براساس کیت‌های شرکت طب پژوهان رازی در طول موج ۵۴۰ نانومتر با دستگاه پلیت ریدر DANA مدل DA3200 اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری کاتالاز بر اساس روش تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن و سنجش به‌روش رنگ‌سنجی در طول موج نانومتر صورت گرفت.

سوپراکسید دیسماتاز (SOD): اندازه‌گیری آنزیم آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسماتاز در همولنف (پلاسما) براساس کیت‌های شرکت طب پژوهان رازی به‌ترتیب در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه پلیت ریدر DANA مدل DA3200 اندازه‌گیری شد. برای سنجش میزان فعالیت سوپراکسید دیسماتاز، ۱۰ میکرولیتر از نمونه و شاهد ۲، در چاهک‌های پلیت ریخته شد و مقدار ۱۰ میکرولیتر آب مقطر به هر کدام از شاهد‌های ۱ و ۳ افزوده و به‌خوبی مخلوط شد. بعد از آن، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محلول ورک WST به هر یک از چاهک‌ها

نتایج

اثرات عصاره ریزجلبک *Cyanotheca* sp. مصرف شده بر

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی میگوی پا سفید غربی: جهت بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میگوهای تغذیه شده با عصاره ریزجلبک در پایان دوره آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز ارزیابی گردید و نتایج مربوط به آن در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. درخصوص میزان فعالیت کاتالاز بیش‌ترین میزان فعالیت مربوط به گروه‌های تغذیه شده با سطح ۲۰۰ mg/kg عصاره ریزجلبک بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P < 0.05$).

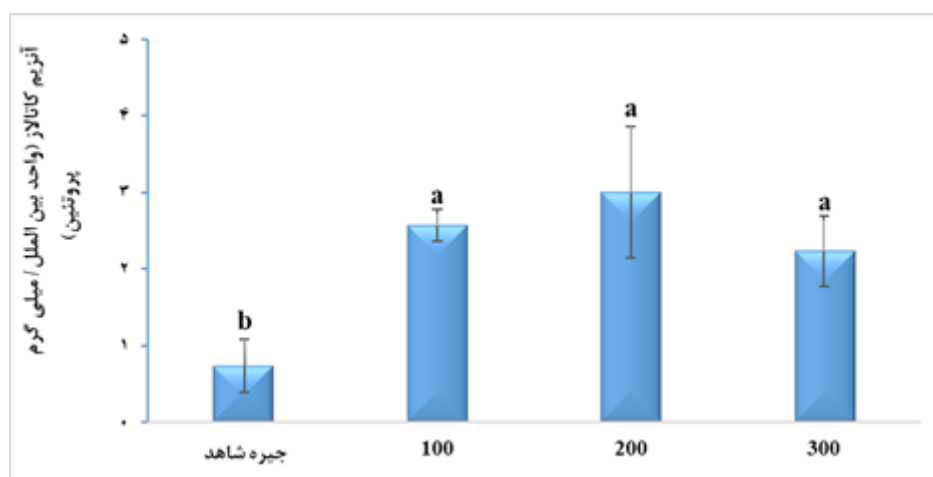
افزوده و مخلوط شد. در مرحله بعد، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده بافر، به هر یک از بلانک‌های ۲ و ۳ اضافه و مخلوط شد. سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر محلول آنزیم به بلانک ۱ و نمونه اضافه و کاملاً مخلوط گردید. در آخر پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و در طول موج ۴۵۰ نانومتر SOD

قرائت شد و مقدار آن با کمک فرمول زیر محاسبه شد (۱۵)

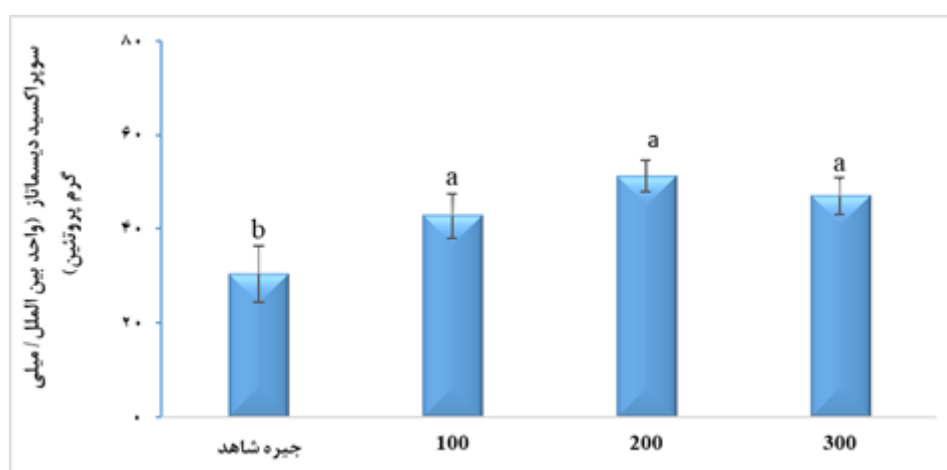
$$\text{SOD Activity} = \frac{(\text{Ablank1} - \text{Ablank3}) - (\text{Asample} - \text{Ablank2})}{(\text{Ablank1} - \text{Ablank3})} \times 100$$
 (inhibition rate %)
 A = Absorbance

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های به دست آمده با نرم‌افزار

EXCEL-2016 و نرم‌افزار آماری SPSS-22 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در SPSS از آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA با استفاده از آزمون دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید.



شکل ۱: نمودار اثر عصاره ریزجلبک *Cyanotheca* sp. بر فعالیت کاتالاز میگوی پا سفید غربی



شکل ۲: نمودار اثر عصاره ریزجلبک *Cyanotheca* sp. بر فعالیت SOD میگوی پا سفید غربی

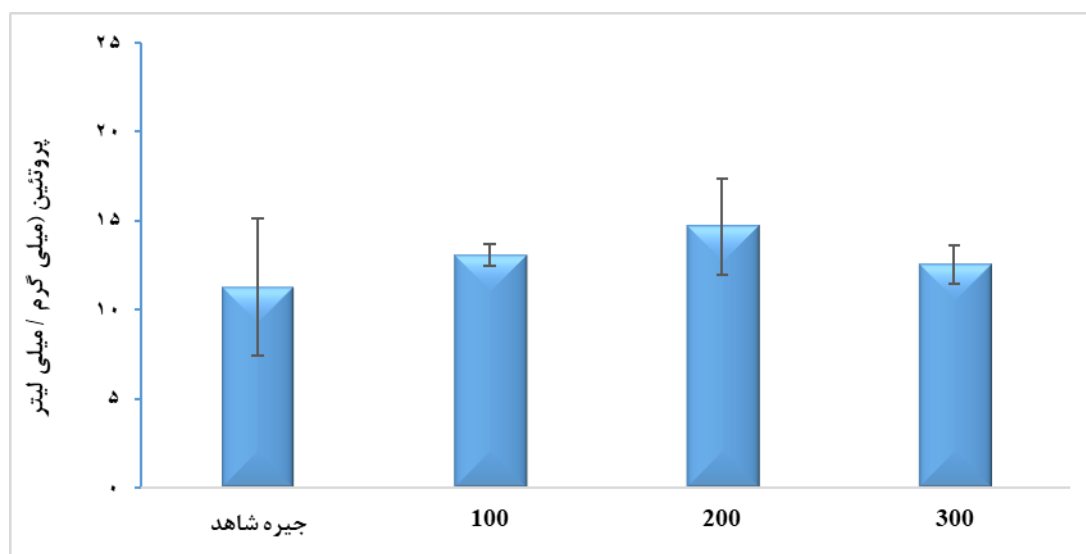
مربوط به گروه‌های تغذیه شده با سطح ۲۰۰ mg/kg عصاره ریزجلبک بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P < 0.05$).

بررسی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز همانند آن‌چه که درخصوص آنزیم کاتالاز مشاهده شد، بیش‌ترین میزان فعالیت

عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. قرار نگرفته است به طوری که اختلاف معنی‌داری بین میزان پروتئین در گروه‌های تغذیه شده با عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. و گروه شاهد مشاهده نشد ($P>0/05$). بیش‌ترین میزان پروتئین مربوط به گروه تغذیه شده با سطح عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین گروه مذکور با سایر تیمارها و هم‌چنین گروه شاهد مشاهده نشد.

تأثیر عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. بر فاکتورهای

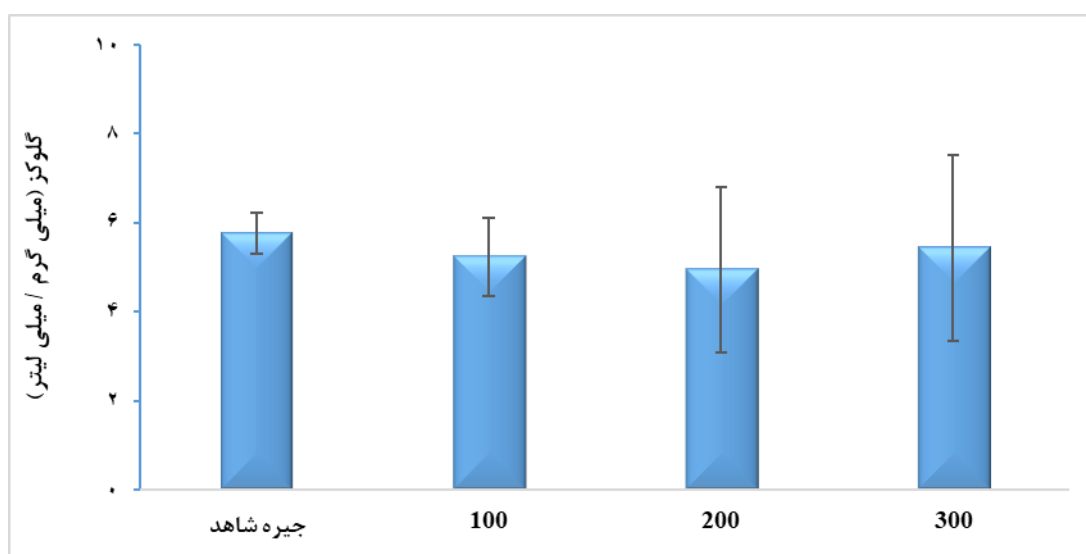
بیوشیمیای سرم میگوی پا سفید غربی: نتایج حاصل از بررسی تأثیر عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. در جیره میگوی پا سفید غربی بر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم نظیر میزان گلوکز و پروتئین در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی میزان پروتئین سرم در میگوهای تغذیه شده با عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. نشان داد که میزان پروتئین سرم تحت تأثیر مصرف



شکل ۳: نمودار تأثیر عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. بر میزان پروتئین سرم میگوی پا سفید غربی

نگرفته است به طوری که اختلاف معنی‌داری بین سطح گلوکز در گروه‌های تغذیه شده با عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. و گروه شاهد مشاهده نشد ($P>0/05$).

بررسی میزان گلوکز در سرم میگوهای تغذیه شده با عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. در پایان دوره نشان داد که میزان گلوکز سرم تحت تأثیر مصرف عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. قرار



شکل ۴: نمودار اثر عصاره ریزجلبک *Cyanothece* sp. بر میزان گلوکز سرم میگوی پا سفید غربی

بحث

یکی از راهکارهای ارتقاء سلامت و مدیریت تغذیه در آبی پروری استفاده از مکمل‌های غذایی طبیعی در جیره غذایی آبزیان پرورشی است. لذا این مطالعه با هدف بررسی تاثیر عصاره ریز جلبک نمک دوست *Cyanothece* sp. به عنوان مکمل طبیعی بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و فراسنجه‌های خونی همولنف میگو پرورشی با سفید غربی صورت گرفت. یافته‌های این تحقیق نشان داد که استفاده از ۲۰۰ میلی گرم عصاره آبی ریز جلبک *Cyanothece* sp. در هر کیلوگرم از جیره غذایی میگوی پا سفید غربی به عنوان مکمل تغذیه‌ای تاثیر معنی داری بر فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در میگوهای مورد آزمایش با میانگین وزنی ۳/۰۳ گرم داشته است. بهبود آنتی اکسیدانی در میگوی پا سفید غربی با به کارگیری انواع ریز جلبک‌ها در جیره غذایی توسط سایر محققین نیز گزارش شده است. برای مثال Guimarães و همکاران، دریافتند که افزودن ریز جلبک *Nannochloropsis* spp. به میزان ۲ درصد به جیره میگوی پا سفید غربی سبب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی شده و در نتیجه سبب افزایش ایمنی آن گردیده است (۳). هم چنین افزودن ۶-۸ درصد ریز جلبک *Chlorella vulgaris* به جیره غذایی میگوی *Macrobrachium rosenbergii* سبب بهبود پاسخ ایمنی (فعالیت پروفنول اکسیداز و تعداد کل هموسیت‌ها) و بقا در برابر عفونت آئروموناس هیدروفیل‌اشد (۱۹). در مطالعه Madhumathi و Rengasamy نیز مشخص شد که با افزودن *D. salina* فعالیت آنتی اکسیدانی آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در میگوی *P. monodon* آلوده به سندرم لکه سفید افزایش یافته است (۲۳). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و ایمنی در میگوهای پرورشی را می‌توان مرتبط با وجود ترکیبات آنتی اکسیدان بالا در مکمل‌های ریز جلبکی دانست. در مورد وجود متابولیت‌های زیستی فعال در ریز جلبک نمک دوست *Cyanothece* sp. که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت، گزارشات متعددی وجود دارد. پیش از این حضور رنگدانه‌های کاروتنوئیدی که فعالیت آنتی اکسیدانی بسیار بالایی دارند در این سویه توسط Amini khoei و همکاران، گزارش شده است (۲۰). هم چنین در مطالعه Su و همکاران، مشخص شد که سویه *Cyanothece* sp. 113 قادر به تولید ترکیبات اگزوپلی ساکارید به میزان ۱۸/۴ گرم در هر لیتر در هر ۱۲ ساعت است که این ترکیب به عنوان محرک ایمنی در حیوانات شناخته شده است. پلی ساکاریدهای موجود در این جنس از نوع خارج سلولی و محلول در آب بوده که به راحتی قابل بازیابی از محیط مایع می‌باشند (۲۱). Schneegurt و همکاران، با آنالیز ترکیبات سویه *Cyanothece* sp. ATCC 5 1142

دریافتند این سویه دارای محتوای پروتئین بالا (۶۰-۵۰ درصد) و توانایی سنتز ویتامین B می‌باشد (۲۲). آنالیز اسیدهای آمینه این سویه هم چنین نشان داد که *Cyanothece* sp. یک منبع پروتئین متعادل است و اسیدهای چرب از نوع ۱۸: n-3 نیز به طور قابل توجه در آن وجود داشته است. با توجه به ظرفیت زیستی بالا در سویه نمک دوست مورد مطالعه *Cyanothece* sp. به نظر می‌رسد بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در میگوی پرورشی ناشی از تاثیر مثبت عصاره این ریز جلبک در جیره غذایی آن باشد. نتایج این تحقیق هم چنان نشان داد که غلظت خاصی از مکمل ریز جلبک می‌تواند بیش ترین ظرفیت ایمنی‌زایی در تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را ایجاد کند به طوری که با افزایش مصرف مکمل از ۱۰۰ میلی گرم تا ۲۰۰ میلی گرم افزایش در فعالیت آنزیمی مشاهده شد در صورتی که با مصرف مقدار بالاتر یعنی ۳۰۰ میلی گرم کاهش معنی داری در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که برای ایجاد شرایط مطلوب و ایجاد حداکثر میزان توان آنتی اکسیدانی غلظت‌های دقیق و موثری از عصاره بایستی مورد مصرف قرار گیرد و با تنظیم مقادیر مصرفی هم در هزینه‌های مصرف مکمل صرفه جویی خواهد شد و هم اثربخشی بیش تری اتفاق خواهد افتاد. نتایج این تحقیق با آنالیز پلاسما میگوهای مورد آزمایش نشان داد که افزودن مکمل ریز جلبک *Cyanothece* sp. تاثیر معنی داری بر میزان پروتئین کل و گلوگز نداشته است. مشابه داده‌های این تحقیق در مطالعه Guimarães و همکاران، نیز گزارش شد به طوری که افزودن عصاره ریز جلبک نانوکروپسیس باعث ایجاد تغییر معنی داری در میزان پروتئین نشد (۳). عدم تغییر در مقدار پروتئین را می‌توان به عدم وجود شرایط استرس‌زا نسبت داد. از آنجا که تغییر در شرایط و ایجاد محرک‌های استرس‌زا معمولاً در اولین قدم فاکتورهای پلاسما را تحت تاثیر قرار می‌دهند. به نظر می‌رسد مصرف مکمل ریز جلبک باعث ایجاد شرایط غیرمعمول و یا استرس‌زا در میگوهای مورد آزمایش نشده است. بر اساس نتایج این مطالعه به کار بردن ۲۰۰ میلی گرم عصاره آبی ریز جلبک در هر کیلوگرم جیره مورد استفاده در تغذیه میگوی پاسفید غربی تاثیر معنی داری در افزایش ایمنی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ایجاد خواهد کرد. از طرفی مصرف این مکمل هیچ گونه تغییری در میزان پروتئین و گلوگز پلاسما نخواهد شد بنابراین مصرف آن برای مدیریت تغذیه و ایمنی در میگو پا سفید غربی توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از همکاری بی دریغ ریاست و پرسنل بخش آبی‌پروری مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور چابهار، به دلیل حمایت‌ها و کمک‌های خود در انجام این مطالعه کمال تشکر و قدردانی می‌گردد. نتایج برگرفته از رساله دکتری رشته شیلات در علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان می‌باشد. در نهایت این اثر را اگر شایسته باشد به روح پاک مشاور مرحوم جناب آقای دکتر عبدالرضا جهانبخشی تقدیم می‌شود.

منابع

1. Farzanfar, A., 2006. The use of probiotics in shrimp aquaculture. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 48(2): 149-158. doi: 10.1111/j.1574-695X.2006.00116.x
2. Yilmaz, S., Ergün, S. and Türk, N., 2012. Effects of cumin-supplemented diets on growth and disease (*Streptococcus iniae*) resistance of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *The Israeli Journal of Aquaculture Bamideh*. 64: 764-768. https://doi.org/10.46989/001c.20626
3. Guimarães, A.M., Guertler, C., do Vale Pereira, G., da Rosa Coelho, J., Costa Rezende, P., Nóbrega, R.O. and do Nascimento Vieira, F., 2021. *Nannochloropsis* spp. as Feed Additive for the Pacific White Shrimp: Effect on Midgut Microbiology, Thermal Shock Resistance and Immunology. *Animals*. 11(1): 150. doi: 10.3390/ani11010150
4. Iba, W.A., Rice, M.A. and Wikfors, G.H., 2014. Microalgae in eastern pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) hatcheries: a review on roles and culture environments. *Asian Fisheries Science*. 27(3): 212-233. https://doi.org/10.33997/j.afs.2014.27.3.005
5. Huang, C., Luo, Y., Zeng, G., Zhang, P., Peng, R., Jiang, X. and Jiang, M., 2022. Effect of adding microalgae to whiteleg shrimp culture on water quality, shrimp development and yield. *Aquaculture Reports*. 22: 100916. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100916
6. Nagappan, S., Das, P., AbdulQuadir, M., Thaher, M., Khan, S., Mahata, C., Al-Jabri, H., Vatland, A.K. and Kumar, G., 2021. Potential of microalgae as a sustainable feed ingredient for aquaculture. *Journal of Biotechnology*. 341: 1-20. doi: 10.1016/j.jbiotec.2021.09.003
7. Borovkov, A.B., Gudvilovich, I.N. and Avsiyan, A.L., 2020. Scale-up of *Dunaliella salina* cultivation: from strain selection to open ponds. *Journal of Applied Phycology*. 32(3): 1545-1558. doi: 10.1007/s10811-020-02104-5
8. Amini khoei, A., Erfanifar, E., Ajdari, A. and Abir, S., 2021. Investigation of the effects of different salinities on the amount of valuable pigments of *Cyanothece* sp salt loving microalgae identified from tides behind Lipar dam (Chabahar) in laboratory conditions. *Iranian Journal of Fisheries*. 33(5): 121-133. doi: 10.22092/ISFJ.2021.125503 (In Persian)
9. Erfanifar, E., Hosseini, S.A., Amini khoei, A., Pourmozaffar, S., Hedayati, A.A. and Ajdari, A., 2022. Effect of aqueous extract of *Cyanothece* sp. In the diet on growth indices, survival and feed conversion ratio of young western white leg shrimp *L. vannamei*. *Journal of Aquatic Sciences*. 10(17): 10-22. (Translated in Persian)
10. Kaushik, B.D., 1987. Laboratory methods for blue-green algae, Associated Publishing Company. doi:org/10.22092/BOTANY.2016.105984
11. Tabarsa, M., Shin, I.S., Lee, J.H., Surayot, U., Park, W. and You, S., 2015. An immune-enhancing water-soluble α -glucan from *Chlorella vulgaris* and structural characteristics. *Food science and biotechnology*. 24(6): 1933-1941. doi: 10.1007/s10068-015-0255-0; Corpus ID: 88693773.
12. Tabarsa, M., You, S., Dabaghian, E.H. and Surayot, U., 2018. Water-soluble polysaccharides from *Ulva intestinalis*: Molecular properties, structural elucidation and immunomodulatory activities. *Journal of food and drug analysis*. 26(2): 599-608. https://doi.org/10.1016/j.jfda.017.07.016.
13. Supamattaya, K., Kiriratnikom, S., Boonyaratpalin, M. and Borowitzka, L., 2005. Effect of a *Dunaliella* extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*. 248: 207-216. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.04.014
14. Adine, H. and Harcig, M., 2018. The effect of different levels of bioflak on water quality, growth performance and survival Vanami Shrimp *Litopenaeus vannamei* Larvae Post. *Journal of Veterinary Research*. 73(4): 401-393. doi: 10.22059/jvr.2019.227254.2584 (In Persian)
15. Kakoolaki, S., Sharifpour, I., Soltani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H., Mirzargar, S. and Rostami, M., 2010. Selected morphochemical features of hemocytes in farmed shrimp, *Fennero penaeus indicus* in Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 9(2): 219-232. doi: 10.1001.1.15622916.2010.9.2.3.7
16. Da Silva, B.C., Do Nascimento Vieira, F., Mourão, J.L.P., Ferreira, G.S. and Seiffert, W.Q., 2013. Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. *Aquaculture*. 384: 104-110. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.12.017
17. Liu, Z. and Lin, H., 1993. A species of microalgal with useful and developable prospects- *Aphanothece halophytica*. *Sea-lake Salt & Chemical Industry*. 22: 16-19.
18. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*. 193(1): 265-275.
19. Maliwat, G.C., Velasquez, S., Robil, J.L., Chan, M., Traifalgar, R.F., Tayamen, M. and Ragaza, J.A., 2016. Growth and immune response of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) postlarvae fed diets containing *Chlorella vulgaris* (Beijerinck). *Aquaculture Research*. 48(4): 1666-1676. doi: 10.1111/are.13004
20. Amini khoei, A., Erfanifar, E., Dlokiav, A., Jadgal, S. and Sofimoghdam, A.R., 2019. Production of single celled microalgae biomass of *Aphanothece halophytica* isolated from the waters of the Oman Sea coast and its introduction for exploitation in the aquaculture industry. *Proceedings of the First National Conference on Science, Marine Industries and Sustainable Development of*

- Makran Coast, Chabahar, Chabahar University of Maritime and Marine Sciences. (In Persian)
21. **Su, C., Chi, Z. and Lu, W., 2007.** Optimization of medium and cultivation conditions for enhanced exopolysaccharide yield by marine *Cyanothece* sp. 113. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 25(4): 411-417. doi: 10.1007/s00343-007-0411-3
 22. **Schneegurt M.A., Arieli B., McKeehen J.D., Stephens S.D., Nielsen S.S., Saha P.R., Trumbo P.R. and Sherman L.A., 1995.** Compositional and toxicological evaluation of the diazotrophic cyanobacterium, *Cyanothece* sp. Strain ATCC 51142. *Aquaculture*. 134 (3-4): 339-349. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)00054-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)00054-6)
 23. **Madhumathi, M. and Rengasamy, R., 2011.** Antioxidant status of *Penaeus monodon* fed with *Dunaliella salina* supplemented diet and resistance against WSSV. *International journal of engineering science and technology*. 3(10): 7249-7259. Corpus ID: 56019214.