دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۰
۶۳-۷۳
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2020.18505.1558

مقاله کامل علمی- پژوهشی

اثرات سطوح مختلف پکتین در جیره غذایی بر برخی شاخص‌های ایمنی، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

حمیدرضا نصیری[۱]، ولی‌اله جعفری*[۲]، سید حسین حسینی‌فر[۲]، محمد مازندرانی[۲] و Hien Van Doan[۳]

[۱]دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۲]دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[3]Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۷

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات پکتین استخراج شده از پوست پرتقال به عنوان یک پربیوتیک طبیعی بر شاخص‌های همولنف، شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، گوارشی میگوی پا سفید غربی *Llitopenaeus vannamei* بود. بدین‌منظور میگوی پا سفید غربی با میانگین وزنی ۳ گرم و در چهار تیمار؛ شاهد (بدون پکتین)، و سه تیمار ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد پکتین مورد بررسی قرار گرفتند. میگوها به مدت ۲ ماه با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. مصرف پکتین سبب بهبود تعداد هموسیت کل در همه گروه‌های تغذیه شده با پکتین، هموسیت هیالینه در گروه تغذیه شده با پکتین ۱ درصد و هموسیت گرانولار بزرگ در گروه تغذیه شده با سطح ۱/۵ درصد پکتین نیز گردید (P<۰/۰۵). ولی بر بازماندگی میگوها و میزان لیزوزیم، پروتئین کل و گلوکز اثر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). بررسی‌های آنزیمی در پژوهش حاضر نشان‌دهنده افزایش فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای ۰/۵ و ۱/۵ درصد پکتین بود. از نظر آماری، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار با پکتین ۱ درصد و تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵). بیش‌ترین میزان فعالیت فنول اکسیداز، مربوط به گروه تغذیه شده با پکتین ۱ درصد بود. اما میزان فعالیت این آنزیم در دو تیمار ۰/۵ و ۱/۵ درصد تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشتند (P>۰/۰۵). نتایج نشان داد، با افزودن پکتین به جیره غذایی ایمنی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی میگوی پا سفید غربی بهبود یافته و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و فنول پراکسیداز) به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، ایمنی، پکتین، جیره غذایی، میگوی پا سفید غربی

* مسئول مکاتبه: vjafari110@yahoo.com

مقدمه

با افزایش جمعیت کره زمین، نیاز به پروتئین حیوانی برای مصرف انسان نیز در حال افزایش است آبزی‌پروری یکی از منابع مهم تامین پروتئین حیوانی به‌شمار می‌رود (وانگ، ۲۰۰۷). علاوه بر این در نتیجه افزایش فرهنگ مصرف میگو پرورشی، این آبزی طی چند دهه گذشته به یک صنعت مهم در سراسر جهان تبدیل شده است (ژنگ و وانک، ۲۰۱۷). در این میان میگوی پا سفید غربی با توجه به سازگاری با طیف وسیعی از شرایط محیطی، رشد سریع و ارزش اقتصادی بالا از گونه‌های با ارزش پرورشی به حساب می‌آید (وانگ و همکاران، ۲۰۱۵). این صنعت همواره با چالش‌های مختلفی مواجه بوده است هزینه خوراک یکی از عمده‌ترین چالش‌ها در پرورش میگو است که به‌طور معمول بیش از ۷۰٪ هزینه تولید را تشکیل می‌دهد هم‌چنین مشکل مصرف کم غذا در میگو باعث بروز خسارت اقتصادی جدی در سراسر جهان شده است (مارتینز-کوردووا و همکاران، ۲۰۰۲). بنابراین، از اهداف مهم صنعت آبزی‌پروری و پژوهشگران این حوزه افزایش عملکرد رشد میگو و بهبود استفاده از خوراک است. پژوهش‌های متعددی تأیید کردند که استفاده از افزودنی‌های غذایی مانند پربیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها به ابزاری برای بهبود عملکرد رشد، استفاده از خوراک و هضم مواد غذایی در جیره میگو تبدیل شده است (کنگنیوم و هنگپاتاراکری، ۲۰۱۲؛ دنگ و همکاران، ۲۰۱۳؛ نیو و همکاران، ۲۰۱٤). در این زمینه علاوه‌بر پربیوتیک‌های شناخته‌شده مانند فروکتوالیگوساکاریدها و گالاکتوالیگوساکاریدها ترکیباتی مانند پکتین، آرابینوزایلان و پلی‌فنول نیز به‌عنوان پربیوتیک مطرح هستند. پکتین یک هترو پلی‌ساکارید پیچیده است و از پلی‌مرهای غنی از D- گالاکتورونیک اسید (GalA) تشکیل شده و حاوی مقادیر قابل‌توجهی از L- رامنوز (Rha)، D- آرابینوز (Ara) و D-گالاکتوز و ۱۳ مونوساکارید بلند زنجیره می‌باشد (فیسور و همکاران، ۲۰۱۱؛ ویکن و همکاران، ۲۰۰۳). به دلیل دارا بودن ویژگی‌های ساختاری از جمله توده مولر، محتوای قند طبیعی، تناسب درجه متیلاسیون و استیلاسیون (DM و DA) کاربردهای مختلفی دارد (سیلا و همکاران، ۲۰۱۱؛ ویلاتس و همکاران، ۲۰۰٦). گزارش‌های موجود بیانگر تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (SCFA) در نتیجه تجزیه الیگوساکاریدهای استخراج شده از پکتین توسط گروهی از باکتری‌ها می‌باشد (قولن و همکاران، ۲۰۱۳). SCFA اثرات مثبتی بر سلامت از جمله کاهش تکثیر باکتری‌های مضر دارند (جون و همکاران، ۲۰۰٦). پوست مرکبات، پالپ سیب منابع عمده پکتین هستند هم‌چنین به فراوانی در فراورده‌های زراعی مانند پالپ چغندر قند، پوست هلو یا پالپ انگور و کدو تنبل یافت می‌شود. به میزان کم‌تر نیز از محصولات جانبی تولید نشاسته از سیب‌زمینی و تولید روغن از آفتابگردان استخراج می‌گردد (اوودوف، ۲۰۰۹). اخیراً ثابت شد، که پکتین و مشتقات آن به عنوان یک پربیوتیک بالقوه با خواص بهبود یافته مطرح است (قومز و همکاران، ۲۰۱۳).

مطالعات انجام شده در خصوص به‌کارگیری پکتین به عنوان یک پربیوتیک طبیعی در آبزیان به‌ویژه میگو محدود بوده و مد نظر قرار دادن این محدودیت در مطالعات آتی بسیار دارای اهمیت می‌باشد. اگرچه اثرات به‌کارگیری مکمل‌های غذایی در مطالعات انجام شده مورد تأیید قرار گرفته اما پژوهش‌ها در زمینه اثرات پربیوتیکی پکتین مشتق شده از مرکبات در زمینه آبزی‌پروری در ابتدای راه خود قرار دارد و بسیاری از جنبه‌های عملی استفاده از آن به عنوان پربیوتیک طبیعی در آبزی‌پروری ناشناخته باقی مانده است.

با توجه به موارد ذکر شده و اهمیت افزودنی‌های غذایی از جمله پکتین، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات این افزودنی استخراج شده از پوست پرتقال به‌عنوان پربیوتیک طبیعی بر عملکرد بر شاخص‌های همولنف، شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، گوارشی میگوی پا سفید غربی انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش: به‌منظور انجام پژوهش حاضر میگوهای وانامی به کارگاه آبزی‌پروری مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور چابهار منتقل شدند. میگوها به‌منظور سازش با موقعیت جدید به مدت ٤٨ ساعت نگهداری گردیدند. جهت تغذیه میگوها از غذای رشد (با کد ٤٠٠٣ و ٤٠٠٤) از شرکت فرادانه استفاده گردید.

استخراج پکتین: پوست پرتقال در دمای ٦٠ درجه به‌مدت ٤٨ ساعت خشک گردید سپس با استفاده از آسیاب پودر و با الک با مش ٤٠ غربال گردید. استخراج پکتین طبق روش ماران و همکاران (٢٠١٣) در کشور تایلند انجام شده و تامین گردید.

تأمین میگوها و طراحی آزمایش: تعداد ١٨٠ قطعه میگو با میانگین وزنی ٣ گرم از مجتمع پرورش میگو شهید صنعتی گواتر- چابهار تأمین و به یکی از بخش‌های کارگاه آبزی‌پروری مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور چابهار منتقل گردید. میگوها به مدت ٢ روز قبل از شروع آزمایش جهت سازگاری با شرایط جدید نگهداری شدند. در طی دوره سازگاری میگوها با استفاده از غذای شاهد، ٢ وعده در روز تغذیه شدند. غذادهی به میگوها به‌صورت دستی با چهار تیمار غذایی شامل تیمار شاهد (فاقد پکتین)، تیمار محتوی سطوح مختلف پکتین به جیره پایه ٠/٥، ١ و ١/٥ درصد که بر اساس میانگین وزن بدن در دو، سه و چهار نوبت صورت گرفت.

پارامترهای کیفی آب: پارامترهای کیفی آب در طول دوره ٦٠ روزه به‌صورت روزانه بررسی و ثبت می‌گردید میانگین شوری آب در طول دوره ٠/٦٢ ± ٣٧/٢٣ قسمت در هزار، غلظت اکسیژن محلول ٠/٢٠ ± ٥/٥٢ میلی‌لیتر در لیتر، دمای آب ٠/٣٩ ± ٢٩/٠٨ درجه سانتی‌گراد و pH آب نیز ٠/١٢± ٨/٣٤ بود.

کنترل کمی و کیفی محیط پرورش: به منظور تأمین کیفیت مطلوب در محیط پرورش میگوها، فاکتورهای آب نظیر دما، شوری، pH و اکسیژن محلول آب به‌طور مستمر و منظم سنجش و ثبت می‌گردید. هوادهی آب وان‌ها از طریق سنگ هوا متصل به کمپرسور مرکزی انجام می‌شد. برای جلوگیری از آلودگی و کاهش کیفیت آب، به‌صورت مستمر دیواره‌های داخلی و کف وان‌ها سیفون و رسوب زدایی می‌شدند. به‌علاوه برای خارج شدن فضولات، هر دو روز یکبار آب وان‌ها به میزان ٣٠ تا ٥٠ درصد تعویض آب انجام می‌شد.

نمونه‌برداری همولنف: پس از پایان مدت ٦٠ روزه پروژه، یک روز قبل از نمونه‌برداری غذادهی تمامی تیمارها قطع گردید. جهت بررسی پارامترهای همولنف و ایمنی، در پایان آزمایش، از هر تکرار ١٠ عدد میگو به صورت تصادفی نمونه‌برداری شده و همولنف با استفاده از سرنگ یک میلی‌لیتری از سینوس شکمی گرفته شد (شکل ١). نمونه‌ها به دو دسته تقسیم شدند و سپس در میکروتیوپ‌های کوچک که حاوی ٠/٤ میلی‌لیتر از محلول ضد انعقادی آلسرور (Alsever) (٣٠ میلی‌مول تری سدیم سیترات، ٣٨٨ میلی‌مول سدیم کلراید، ١١٥ میلی‌مول گلوکز و ١٠ میلی‌مول اتیلن دی آمین تترا استیک اسید- EDTA) که از این نمونه‌ها جهت شمارش هموسیت کل (TH) و شمارش افتراقی هموسیت‌ها (DHC)

استفاده گردید و بقیه همولنف در میکروتیوب‌های غیرهپارینه جهت بررسی آنزیم‌ها ریخته شدند. و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۷۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و فاز بالایی جهت بررسی میزان آنزیم‌ها و فاکتورهای ایمنی استفاده گردید (جیانگ و همکاران، ۲۰۰٤).

شکل ۱- همولنف‌گیری از سینوس شکمی میگو.

سنجش پارامترهای همولنف (شمارش هموسیت کل و شمارش افتراقی هموسیت)

شمارش هموسیت کل: ۵۰ میکرولیتر همولنف – ماده ضد انعقادی بر روی لام هموسیتومتر ریخته و تعداد هموسیت‌ها در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی X 400 شمارش گردید.

شمارش افتراقی هموسیت: به‌منظور تعیین تابلوی هموسیتی یا شمارش افتراقی هموسیت‌ها، پس از تهیه گسترش همولنف و خشک شدن کامل گسترش‌ها در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، به مدت ۳۰ ثانیه الی ۱ دقیقه در متانول فیکس گردیده و سپس به روش می-گرانوالد-گیمسا رنگ‌آمیزی شد و توسط میکروسکوپ نوری، تعداد ۲۰۰ سلول هموسیت شمارش گردید و تعداد هموسیت‌های دانه‌دار، نیمه‌دانه‌دار و هیالین تعیین گردید (پوستی و ادیب مرادی، ۲۰۰٤).

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (فنل اکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز): سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با استفاده از کیت‌های تولید شده توسط شرکت زول بیو آلمان به روش فتومتری (ویجایاباسکار و همکاران، ۲۰۱۲) و طبق روشکار پیشنهاد شده توسط شرکت تولیدکننده کیت انجام شد.

سنجش فعالیت آنزیم لیزوزیم: به روش کدورت‌سنجی انجام گرفت. بدین‌منظور، ۲۵ میکرولیتر همولنف داخل میکرو پلیت‌های ۹٦ خانه‌ای ریخته شد. سپس ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون mg/L2/0 باکتری *Micrococcus lysodeikticus* به همراه بافر ۰/۵ مولار سدیم فسفات به آن اضافه گردید. جذب نوری نمونه در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد در زمان‌های ۱ و ۵ دقیقه پس از مخلوط‌سازی در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت لیزوزیم سرم با توجه به منحنی استاندارد مربوط به لیزوزیم سفیده

تخم‌مرغ تعیین گردید. فعالیت ویژه آنزیمی بر حسب واحد در هر میلی‌لیتر پلاسما بیان شد (الیس، ۱۹۹۰).

سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی: اندازه‌گیری پروتئین کل و گلوکز همولنف از روش بیورت (Biuret) آزمایشگاه تشخیص طبی (شی و همکاران، ۲۰۰۶) با استفاده از کیت تجاری شرکت پارس آزمون و با استفاده از روش فتومتری و طبق پروتکل پیشنهادی شرکت سازنده صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA انجام شد. لازم به ذکر است که داده‌هایی که به شکل درصدی بودند پیش از انجام آنالیز به‌صورت آرک سینوس (ARC sin) در آورده شدند. جهت مقایسه میانگین بین تیمارها و نیز تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال (P<۰/۰۵) از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده گردید. همه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۳)، و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel, 2007 در محیط ویندوز انجام گردید.

نتایج

اثرات مصرف پکتین بر برخی شاخص‌های خونی میگوی پاسفید غربی: در پایان دوره آزمایش نسبت به بررسی شاخص‌های خونی میگو نظیر هموسیت کل و شمارش افتراقی هموسیت‌ها اقدام گردید. مصرف پکتین منجر به بهبود تعداد هموسیت کل گردید که این افزایش از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را در گروه‌های تغذیه شده با پکتین در مقایسه با گروه شاهد نشان می‌داد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان هموسیت کل مربوط به گروه تغذیه شده با پکتین ۱ درصد بود اما اختلاف معنی‌داری بین گروه مذکور و سایر گروه‌های تغذیه شده با پکتین مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

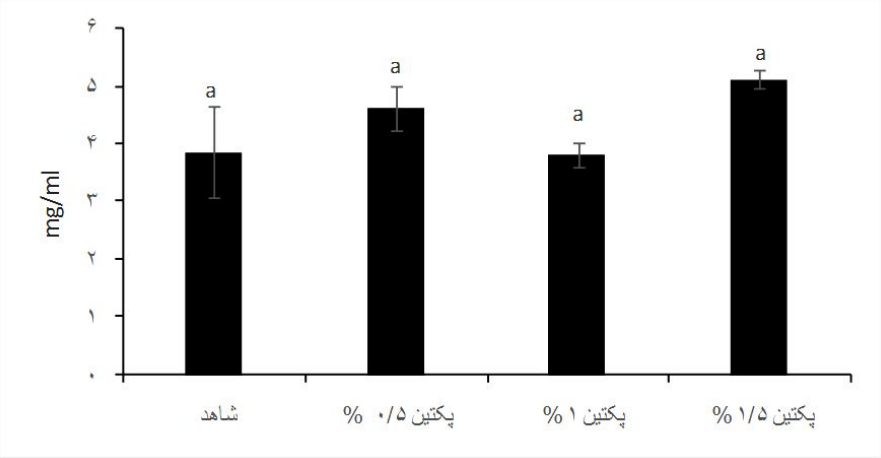
جهت بررسی تعداد هموسیت‌های کوچک بدون دانه یا هیالینه (HC) و هموسیت‌های گرانولار کوچک (SGC) و گرانولار بزرگ (LGC) شمارش افتراقی صورت گرفت که نتایج در جدول ۱ آورده شده و بیانگر این است که بیش‌ترین تعداد هموسیت‌های بدون دانه هیالینه در گروه تغذیه شده با ۱ درصد پکتین مشاهده شد که با گروه شاهد و گروه تغذیه شده با پکتین ۱/۵ درصد اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). بیش‌ترین تعداد هموسیت‌های دانه‌دار بزرگ نیز در گروه تغذیه شده با ۱/۵ درصد پکتین مشاهده شد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد و سایر گروه‌های تغذیه شده با پکتین داشت (P<۰/۰۵). در حالی که دو گروه تغذیه شده با سطوح ۰/۵ و ۱ درصد پکتین از نقطه نظر تعداد هموسیت‌های دانه‌دار بزرگ تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشتند (P>۰/۰۵). کم‌ترین تعداد هموسیت دانه‌دار کوچک نیز در گروه تغذیه شده با سطح ۱ درصد پکتین مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد و سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). بیش‌ترین تعداد نیز مربوط به گروه تغذیه شده با سطح ۱ درصد پکتین بود که تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۱- مقایسه برخی شاخص‌های همولنف میگوی پا سفید غربی در تیمارهای مختلف.

شاخص‌های همولنف (۱۰^۶ × سلول در میلی‌لیتر) / تیمارها	شاهد	پکتین ۰/۵ درصد	پکتین ۱ درصد	پکتین ۱/۵ درصد
هیالینه (HC)	۱۷/۶۶ ± ۱/۵۳ b	۱۹/۶۷ ± ۱/۵۳ ab	۲۱/۶۷ ± ۱/۵۳ a	۱۷/۶۷ ± ۱/۵۳ b
گرانولار بزرگ (LGC)	۳۸/۶۷ ± ۰/۵۸ b	۳۸/۳۳ ± ۱/۵۲ b	۳۹/۰۰ ± ۱/۰۰ b	۴۱/۶۷ ± ۱/۵۲ a
گرانولار کوچک (SGC)	۴۲/۶۷ ± ۰/۵۶ a	۴۳/۳۳ ± ۰/۵۷ a	۳۹/۰۰ ± ۱/۰۰ b	۴۲/۰۰ ± ۲/۰۰ a
هموسیت کل (THC)	۱۰/۹۳ ± ۰/۳۱ b	۱۴/۸۳ ± ۰/۳۱ a	۱۵/۲۳ ± ۰/۲۵ a	۱۴/۱۳ ± ۰/۱۵ a

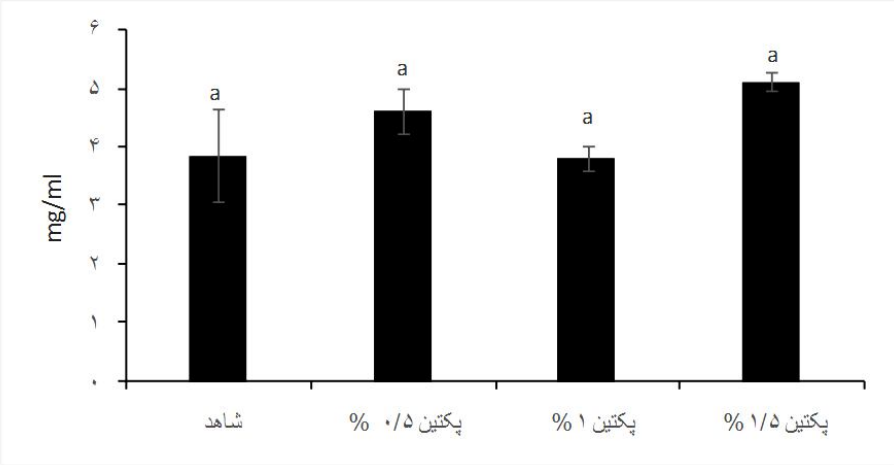
اعداد (SD ± میانگین) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

اثرات پکتین بر شاخص‌های ایمنی غیراختصاص میگوی پا سفید غربی: بررسی میزان فعالیت لیزوزیم میگوی پا سفید غربی در انتهای دوره بیانگر این بود که اگرچه مصرف پکتین به میزان محدودی بر فعالیت لیزوزیم اثر داشت اما این تأثیر از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت (P>۰/۰۵). به‌گونه‌ای که بیش‌ترین میزان فعالیت لیزوزیم در گروه تغذیه شده با پکتین ۰/۵ درصد بود اما اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و سایر تیمارها نداشت (P>۰/۰۵) (شکل ۲).



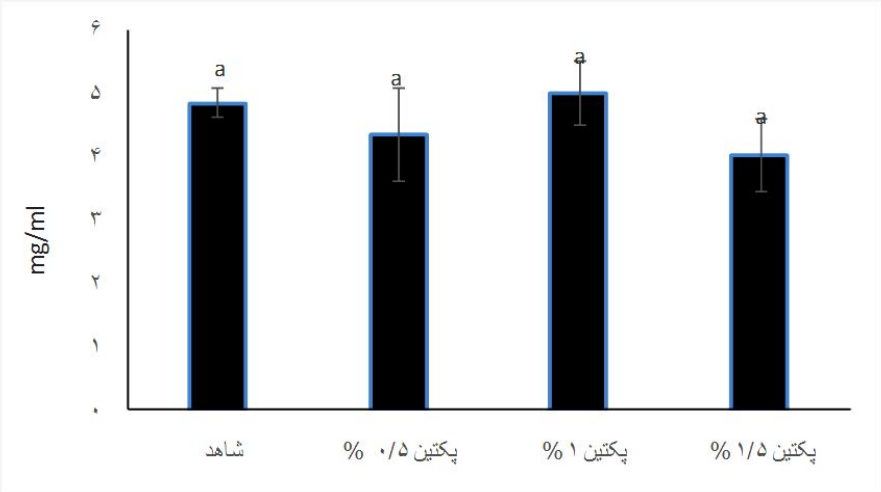
شکل ۲- اثر پکتین بر فعالیت لیزوزیم میگوی پا سفید غربی.

اثرات پکتین بر فاکتورهای بیوشیمیای سرم میگوی پا سفید غربی: نتایج حاصل از بررسی میزان پروتئین سرم در میگوهای تغذیه شده با پکتین نشان داد که میزان پروتئین سرم تحت‌تأثیر مصرف پکتین قرار نگرفت به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری بین میزان پروتئین در گروه‌های تغذیه شده با پکتین و گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵). اگرچه بیش‌ترین میزان پروتئین مربوط به گروه تغذیه شده با سطح پکتین ۱/۵ درصد بود اما از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین گروه مذکور با سایر تیمارها و گروه شاهد مشاهده نگردید (شکل ۳).



شکل ۳- اثر پکتین بر میزان پروتئین میگوی پا سفید غربی.

بررسی میزان گلوکز در سرم میگوهای تغذیه شده با پکتین در پایان دوره نشان داد که میزان گلوکز نیز همانند آن‌چه در خصوص میزان پروتئین مشاهده شد تحت‌تأثیر مصرف پکتین قرار نگرفت و اختلاف معنی‌داری از نظر میزان گلوکز بین گروه‌های تغذیه شده با پکتین و گروه شاهد مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$) (شکل ٤).



شکل ٤- اثر پکتین بر میزان گلوکز میگوی پا سفید غربی.

بحث

اثرات پکتین مصرف شده بر شاخص‌های همولنف:

در میگو نیز مانند سایر سخت‌پوستان سلول‌های هیالینه مسئول روند فاگوسیتوز هستند. سلول‌های کوچک دانه‌دار نیز در روند کپسوله کردن میکرو ارگانیسم‌های بیگانه شرکت دارند و سلول‌های بزرگ دانه‌دار به‌عنوان ذخیره‌گاه اصلی در فعالیت‌های سیستم پروفنل اکسیداز عمل می‌کنند. هم‌چنین مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که سلول‌های بزرگ و کوچک دانه‌دار در پاسخ به عوامل بیماری‌زا از جمله عوامل مولکولی مانند پپتیدوگلیکان‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدهای موجود در دیواره‌های باکتریایی با

آزاد کردن ترکیبات سیستم پروفنل اکسیداز آمین در واکنش‌های هموورال نقش ایفا می‌کنند (گیلسپی و همکاران، ۱۹۹۷).

در پژوهش حاضر نتایج در خصوص شمارش افتراقی هموسیت‌ها بیانگر تأثیر مثبت پکتین مصرف شده به عنوان یک پربیوتیک طبیعی بود به گونه‌ای که تغذیه با سطح ۱ و ۱/۵ درصد پکتین به ترتیب منجر بهبود در تعداد هموسیت‌های کوچک بدون دانه هیالینه و هموسیت‌های دانه‌دار بزرگ گردید. در حالی‌که تعداد هموسیت دانه‌دار کوچک در گروه تغذیه شده با پکتین ۱ درصد کاهش یافته بود اما سایر تیمارها تحت‌تأثیر مصرف پکتین قرار نگرفته بود. هموسیت کل در گروه‌های تغذیه شده با پکتین به‌میزان قابل‌توجهی افزایش یافته بود. در خصوص تأثیر مصرف پربیوتیک‌ها بر شاخص‌های هموسیت نتایج مختلفی ارائه شده است در پژوهشی گزارش شد که استفاده از پربیوتیک تجاری Previda® در جیره میگوی پا سفید غربی منجر به افزایش هموسیت‌های هیالینه و نیمه دانه‌دار گردید در حالی‌که تأثیری بر تعداد سلول‌های دانه‌دار و هموسیت کل نداشت (آنوتا و همکاران، ۲۰۱۶). لی و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش کردند که استفاده از فروکتوالیگوساکاریدهای زنجیره کوتاه در میگوی پا سفید غربی منجر به افزایش هموسیت کل گردید. اختلاف در نتایج در خصوص تعداد هموسیت‌ها در نتیجه مصرف پربیوتیک به‌دلیل تفاوت در شرایط محیطی، نوع مکمل میکروبی، تغذیه، گونه مورد مطالعه، سن و اندازه می‌باشد. افزایش میزان هموسیت‌ها تحت‌تأثیر مصرف پکتین نیز به احتمالی به‌دلیل نقش آن به عنوان یک پربیوتیک طبیعی در تحریک سیستم ایمنی می‌باشد.

اثرات پکتین مصرف‌شده بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: زمانی که واکنش دفاع سلولی آغاز می‌گردد، تولید رنگدانه رخ می‌دهد. آنزیم فنل اکسیداز که در تولید رنگدانه ملانین نقش دارد، در ابتدا به‌صورت غیر فعال تحت عنوان پروفنول اکسیداز در داخل همولنف وجود دارد. سرین پروتئاز نیز باعث تبدیل پروفنول‌اکسیداز غیر فعال به فنول اکسیداز که آنزیمی حیاتی برای سیستم ایمنی است، می‌شود. آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز دو آنزیم کلیدی دفاع آنتی‌اکسیدانی در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌باشند (سانگ، ۲۰۱۰). به طور کلی آن‌ها تحت‌تأثیر عواملی مختلفی از جمله تغذیه، عوامل محیطی و غیره قرار می‌گیرند. بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در پژوهش حاضر نشان‌دهنده افزایش فعالیت کاتالاز در گروه‌های تغذیه شده با سطوح ۰/۵ و ۱/۵ درصد پکتین بود در حالی‌که میزان فعالیت این آنزیم در گروه تغذیه شده با پکتین ۱ درصد تنها با دو گروه دیگر دارای تفاوت معنی‌دار بود اما با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نیز همانند آن‌چه که در خصوص آنزیم کاتالاز مشاهده شد، افزایش میزان فعالیت آنزیم مذکور در میگوهای تغذیه شده با سطوح ۰/۵ و ۱/۵ درصد پکتین بود. در حالی‌که میزان فعالیت آنزیم مذکور در گروه تغذیه شده با پکتین ۱ درصد و تیمار شاهد از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. در بررسی میزان فعالیت فنول اکسیداز نیز بیش‌ترین میزان فعالیت مربوط به گروه تغذیه شده با پکتین ۱ درصد بود. در حالی‌که میزان فعالیت این آنزیم در دو گروه از میگوهای تغذیه شده با سطوح ۰/۵ و ۱/۵ درصد تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشتند. همراستا با پژوهش حاضر در مطالعات بسیاری گزارش‌هایی مبتنی بر بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارائه شده است به‌گونه‌ای که جیا و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که استفاده از پربیوتیک فروکتوالیگوساکارید منجر به بهبود فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و کاهش MDA یا مالون‌دی‌آلدهید در خرچنگ

Ericheir sinensis گردید. هم‌چنین در مطالعه‌ای که در میگوی پا سفیدغربی انجام شد، گزارش گردید که مصرف بتاگلوکان باعث افزایش فعالیت آنزیم فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گردید (بای و همکاران، ۲۰۱٤). چوتیکاچیندا و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای دیگر نیزگزارش کردند که استفاده از پربیوتیک مانان‌الیگوساکارید در جیره میگوی پا سفید غربی منجر به بهبود فعالیت فنول‌اکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز گردید. که این نتایج بیانگر بهبود سیستم ایمنی در نتیجه مصرف پربیوتیک می‌باشد.

این امکان وجود دارد که مصرف پربیوتیک منجر به افزایش ROS جهت از بین بردن باکتری‌ها گردد. و به دنبال آن نیز میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جهت حذف ROS داخلی افزایش یافته و به این طریق از بروز اکسیداسیون اسیدهای چرب و اثرات سمی آن ممانعت کرده و متعاقباً موجود را از آسیب اکسیداتیو محافظت کند (هرمس-لیما و همکاران، ۱۹۹۸).

در بررسی انجام شده مشاهده گردید که با افزودن پکتین در سطوح مختلف به جیره غذایی ایمنی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی میگوی پا سفید غربی را بهبود بخشید، در مجموع و با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان بیان داشت. اگر چه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) با مصرف پکتین (در سطوح ۰/۵ و ۱/۵ درصد) و فنول پراکسیداز (در سطح ۱ درصد) بیش‌ترین تأثیر را داشته‌اند در جیره غذیی میگو پکتین ۱ درصد را به‌عنوان پربیوتیک طبیعی در جیره این آبزی به‌کارگیری کرد.

منابع

Anuta, J.D., Buentello, A., Patnaik, S., Hume, M.E., Mustafa, A., Gatlin III, D.M., and Lawrence, A.L. 2016. Effects of dietary supplementation of a commercial prebiotic P revida® on survival, growth, immune responses and gut microbiota of P acific white shrimp, L itopenaeus vannamei. *Aquaculture nutrition*, 22: 2. 410-418.

Bai, N., Gu, M., Zhang, W., Xu, W., and 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: 66-73.

Chiu, Ch.H., Guu, Y.K., Liu, Ch.H., Pan, T.M., and Cheng, W. 2007. Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced *by Lactobacillus plantarum*. Fish & shellfish immunology no. 23: 2. 364-377. Doi:10.1016/j.fsi.2006.11.010.

Chotikachinda, R., Lapjatupon, W., Chaisilapasung, S., and Sangsue, D. 2008. Effect of mannanoligosaccharides (MOS) on growth performance, survival rate and some immune parameters in pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. world aquaculture conference. Busan, Korea. 131p.

Cuong, D.B., Dung, V.K., Hien, N.T.T., and Thu, D.T. 2013. Prebiotic evaluation of copra-derived mannooligosaccharides in white-leg shrimps. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 4: 188. Doi: 10.4172/2155-9546.1000188

Dong, H.B., Su, Y.Q., Mao, Y., You, X.X., Ding, S.X., and Wang, J. 2013. Dietary supplementation with Bacillus can improve the growth and survival of the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* in high-temperature environments. Aquac Int. 22: 607-617. Doi:10.1007/ s10499-013-9688-8.

Fissore, E.N., Rojas, A.M., and Gerschenson, L.N. 2012. Rheological performance of pectinenriched products isolated from red beet (*Beta vulgaris* L.

var. *conditiva*) through alkaline and enzymatic treatments. *Food Hydrocolloids*. 26: 249-260. Doi:10.1016/j.foodhyd. 2011.06.004

Gillespie, J.P., Kanost, M.R., and Trenczek, T. 1997. Biological mediators of insect immunity. Annual Review of Entomology, 42: 611-643.

Gómez, B., Gullón, B., Yáñez, R., Parajó, J.C., and Alonso, J.L. 2013. Pectin oligosaccharides from lemon peel wastes: Production, purification, and chemical characterization. Journal of agricultural and food chemistry, 61: 42. 10043-10053. Doi:10.1021/jf402559p.

Gullón, B., Gómez, B., Martínez-Sabajanes, M., Yáñez, R., Parajó, J.C., and Alonso, J.L. 2013. Pectic oligosaccharides: Manufacture and functional properties. Trends of Food Science & Technology. 30: 153-161. Doi:10.1016/j.tifs. 2013. 01.006.

Hermes-Lima, M., Storey, J.M., and Storey, K.B. 1998. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. Comparative Biochemistery Physiology B: Biochemistry & Molecular. Biol. 120: 437-4.

Jia, E., Li, Z., Xue, Y., Jiang, G., Li, X., Liu, W., and Zhang, D. 2017. Effects of dietary fructooligosaccharide on the growth, antioxidants, immunity and disease resistance of Chinese mitten crab. *Aquaculture*, 481: 154-161.

Jiang, G., Yua, R., and Zhoua, M. 2004. Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of Penaeus japonicus to virulence of white spot syndrome virus. Aquaculture. 241: 61-75.

Jun, H.I., Lee, C.H., Song, G.S., and Kim, Y.S. 2006. Characterization of the pectic polysaccharides from pumpkin peel. LWT- Food Science and Technology. 39: 554-561. Doi:10.1016/j.lwt.2005. 03.004.

Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. in: techniques in fish immunology. Stolen, J.S., T.C. Fletcher, D.P. Anderson and W.B. van Muiswinkel (Eds.). Vol. 1, SOS Publications, USA., pp. 101-103. 17.Fuller, R. (1989).

Li, P., Burr, G.S., Gatlin III, D.M., Hume, M.E., Patnaik, S., Castille, F.L., and Lawrence, A.L. 2007. Dietary supplementation of short-chain fructooligosaccharides influences gastrointestinal microbiota composition and immunity characteristics of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in a recirculating system. *The Journal of nutrition*, 137: 12. 2763-2768. Doi:10.1093/jn/137.12.2763.

Maran, J.P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., and Sridhar, R. 2013. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. Carbohydrate polymers, 97: 2. 703-709. Doi:10.1016/ j.carbpol.2013.05.052.

Martinez-Cordova, L.R., Campaña-Torres, A., and Porchas-Cornejo, M.A. 2002. The effects of variation in feed protein level on the culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) in low-water exchange experimental ponds. Aquac. Res. 33: 995-998. Doi:10.1046/ j.1365-2109.2002.00752.x.

Niu, Y., Defoirdt, T., Baruah, K., Van de Wiele, T., Dong, S., and Bossier, P. 2014. Bacillus sp. LT3 improves the survival of gnotobiotic brine shrimp (*Artemia franciscana*) larvae challenged with Vibrio campbellii by enhancing the innate immune response and by decreasing the activity of shrimp-associated vibrios. Vet. Microbiol. 173: 279-288. Doi:10.1016/ j.vetmic. 2014.08.007.

Ovodov, Y.S. 2009. Current views on pectin substances. Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 35: 269-284. Doi:10.1134/S1068162009030017.

Pusty, A., and Adib Moradi, M. 2003. Comparative histology and histotechnics, University of Tehran Press, fourth edition with revision, 610p. (Persian source).

Sang, H.M., and Fotedar, R. 2010. Effects of mannan oligosaccharide dietary supplementation on performances of the tropical spiny lobsters juvenile (*Panulirus ornatus*, Fabricius 1798). Fish & Shellfish Immunology, 28: 3. 483-489.

Shen, W.Y., Fu, L.L., Li, W.F., and Zhu, Y.R. 2010. Effect of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* on the growth, performance, immune response and antioxidant activities of the shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture Research no. 41: 11. 1691-1698. Doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02554.x.

Shi, X., Li, D., Zhuang, P., Nie, F., and Long, L. 2006.Comparative blood biochemistry of amur sturgeon, acipenser schrenchii, and Chinese sturgeon, acipenser sinesis; fish physiology and biochemistry, 32: 63-66.

Sila, D.N., Van Buggenhout, S., Duvetter, T., Fraeye, I., De Roeck, A., Van Loey, A., and Hendrickx, M. 2009. Pectins in processed fruits and vegetables: Part II-structurefunction relationships. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 8: 2. 86-104. Doi:10.1111/j.1541-4337.2009.00071.x.

Vijayabaskar, P., Vaseela, N., and Thirumaran, G. 2012. Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. *CJNM*. 10, 0421-0428.

Vincken, J.P., Schols, H.A., Oomen, R.J.F.J., McCann, M.C., Ulvskov, P., and Voragen, A.G.J. 2003. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology*. 132: 1781-1789. DOI:10.1104/ pp.103. 022350

Wang, Y.B. 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp Penaeus vannamei. Aquaculture, 269: 1-4. 259-264. Doi:10.1016/j.aquaculture.2007.05.035.

Wang, Y., Li, Z., Li, J., Duan, Y.F., Niu, J., and Wang, J. 2015. Effects of dietary chlorogenic acid on growth performance, antioxidant capacity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and combined stress of low-salinity and nitrite. Fish Shellfish Immunology. 43: 337-345. Doi:10.1016/j.fsi.2015.01.008.

Willats, W.G.T., Knox, P., and Mikkelsen, J.D. 2006. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science and Technology*. 17: 97-104. Doi:10.1016/j.tifs.2005.10.008

Zheng, C.N., and Wang, W. 2017. Effects of Lactobacillus pentosus on the growth performance, digestive enzyme and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Aquaculture Research, 48: 6. 2767-2777. Doi:10.1111/are.13110.