

## تأثیر فوکوییدان بر اینمنی غیر اختصاصی و فعالیت ضد باکتریایی سرم ماهی (*Oncorhynchus Mykiss*)

فریده قالبی حاجیوند<sup>۱</sup>، امیر حسین اسماعیلی<sup>۱\*</sup>، عبدالرحمان عابدیان<sup>۱</sup>

\*Amirh.smiley@modares.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۷

### چکیده

فوکوییدان یک هتروپلی‌ساکارید محلول در آب است که حاوی قند فوکوز و گرووهای سولفاته می‌باشد و در دیواره سلولی جلبک‌های قهقهه‌ای و برخی بی‌مهره‌گان یافت می‌شود. در این مطالعه اثر سطوح مختلف آن بر اینمنی غیر اختصاصی و فعالیت ضد باکتریایی سرم خون قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی  $0.70 \pm 0.74$  گرم به مدت ۸ هفته مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش شامل سطوح صفر (شاهد)،  $0/1$ ،  $0/5$  و  $2$  درصد فوکوییدان در هر کیلوگرم جیره بود و در قالب پنج تیمار با سه تکرار در تانک‌های  $100 \times 100 \times 50$  لیتری آغاز شد. در این مطالعه شاخص‌های مربوط به گلوبول قرمز از قبیل: تعداد گلوبول قرمز (RBC)، مقدار هموگلوبین (HB)، هماتوکریت (HCT)، حجم گلوبول‌های قرمز (MCV)، متوسط غلظت هموگلوبین (MCHC) و میانگین هموگلوبین (MCH)، در بین تیمارهای دارای اختلاف معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). در صورتیکه تعداد گلوبول سفید (WBC) در بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان پروتئین تام و HDL در تیمار  $1/1$  درصد فوکوییدان مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) و گروه شاهد بیشترین میزان LDL را نشان داد ( $p < 0.05$ ) و میزان گلوكز در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری را در برابر نداشت ( $p > 0.05$ ). میزان لیزوژیم، فعالیت کل کمپلمان (ACH50) و میزان پروتئین‌های  $C_3$  و  $C_4$  در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین و کمترین فعالیت لیزوژیم، ACH50 و میزان  $C_3$  و  $C_4$  بترتیب مربوط به تیمار  $1/1$  درصد فوکوییدان و شاهد بود. فعالیت ضد باکتری سرم در تیمارها در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). بالاترین و کمترین فعالیت سرم بترتیب در دوز  $1/1$  درصد و  $2$  درصد فوکوییدان مشاهده شد. بر طبق نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که فوکوییدان در کمترین دوز سبب تحریک سیستم اینمنی ذاتی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود.

**لغات کلیدی:** قزل‌آلای رنگین‌کمان، اینمنی ذاتی، فوکوییدان، فعالیت ضد باکتری سرم

\*نویسنده مسئول

**مقدمه**

قبيل: بتا گلوکان، کيتین، کيتوزان، آلزینات، آرگوسان، کارژینان و فوکوئیدان گزارش شده است. در گزارش Bagni و همکاران (۲۰۰۵) مشخص شد که بتاگلوکان سبب افزایش تولید آنتی‌بادی، افزایش فعالیت کمپلمان، لیزوزیم، فاگوسیتوزی و انفجار تنفسی در ماهی قزلآلای رنگین‌کمان می‌شود. کارژینان پلی‌ساکاریدی است که از جلبک‌های دریابی قرمز بدست می‌آید و سبب افزایش فعالیت ماکروفازها و مقاومت در برابر عفونت‌های باکتریابی می‌شود (Fujiki *et al.*, 1997). تزریق داخل صفاقی سدیم آلزینات به قزلآلای رنگین‌کمان سبب تحریک مهاجرت لوکوسیت‌ها به داخل حفره صفاقی، افزایش تعداد نوتروفیل‌ها و در نتیجه افزایش فعالیت فاگوسیتوزی و بیان برخی از سیتوکین‌هایی مانند اینتر لوکین ۸ (IL-8) و فاکتور نکروز کننده تومور (TNF) می‌شود (Gioacchini *et al.*, 2010). اگرچه تأثیرات زیستی پلی‌ساکاریدهای سولفاته مختلف بر موجودات خشکی‌زی مورد مطالعه قرار گرفته است، اما بررسی این اثرات بر آبزیان در مراحل ابتدایی است (Traifalgar *et al.*, 2010). و در میان پلی‌ساکاریدهای سولفاته مطالعات انجام شده در زمینه تأثیرات فوکوییدان در گونه‌های مختلف ماهی کم است (Prabu *et al.*, 2016). فوکییدان اصطلاحی است که برای پلی‌ساکاریدهای سولفاته غنی از قند فوکوز که در دیواره سلولی جلبک‌های قهقهه‌ای از رده فائقفتا و برخی بی‌مهرگان (توتیا و خیار دریابی) یافت می‌شود، بکار می‌رود (Ale *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2008). طی مطالعات انجام شده بر فوکوییدان‌های استخراج شده از گونه‌های مختلف جلبکی، فعالیت‌های زیستی متفاوتی از قبیل: خواص ضد ویروسی، ضد سرطانی، سهمزدایی فلزات سنگین، کاهنده چربی خون، اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریابی، ضد انعقاد، ادجوانت مؤثر برای واکسن‌ها و Hoshino *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2010; Davis *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2010; Immanuel *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2015; Teruya *et al.*, 2010 با توجه به اینکه بیماری‌های ویروسی و باکتریابی، از معضلات و چالش‌های صنعت تکثیر و پرورش آبزیان

طبق آمار و اطلاعات فائو تولیدات جهانی آبزی‌پروری در سال ۲۰۱۵ به ۱۰۶ میلیون تن رسید که ارزش آن بالغ بر ۱۶۳ بیلیون دلار بود (FAO, 2016). هدف نهایی در آبزی‌پروری به حداکثر رساندن راندمان تولید است که با این هدف مقدار تولید در واحد حجم یا واحد سطح افزایش داده می‌شود، اما افزایش تراکم، ماهیان را از نظر فیزیولوژیک ضعیف می‌نماید و باعث افزایش حساسیت ماهی به عوامل بیماری‌زا می‌شود (مشکینی، ۱۳۹۳). آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی ضد عفونی کننده به منظور درمان بیماری‌ها در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Marlowe, 2011)، اما در سال‌های اخیر استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها موجب بوجود آمدن سویه‌های مقاوم میکرووارگانیسم و افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیک در سراسر جهان شده است (پیمانی و همکاران، ۱۳۹۲). با در نظر گرفتن عوارض جانبی آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از رویکردهای غیر دارویی برای کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها در دراز مدت در صنعت آبزی‌پروری می‌توانند سودمند باشد. از سویی، رویکردهای غیر دارویی سازگار با محیط‌زیست هستند و همچنین می‌توانند برای سلامتی انسان نیز مفید باشند. از جمله رویکردهای غیر دارویی که به منظور پیشگیری و کنترل بیماری‌ها استفاده می‌شوند، می‌توان به محرک‌های اینمنی اشاره کرد (Wang *et al.*, 2017). تحقیقات در زمینه یافتن مواد محرک اینمنی در ماهیان در حال افزایش است و هم اکنون تعدادی زیادی از ترکیبات مختلف در صنعت آبزی‌پروری به عنوان مواد محرک اینمنی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Wang *et al.*, 2017). محرک‌های اینمنی را می‌توان به فرآوردهای میکروبی (FCA، LPS، MDP) و واکسن‌ها، داروهای اینمنی زا (لومامیزول، ایسوپرینوزین و فلوروکینولون)، سیتوکین‌ها (اینترفرون، اینترلوکین ۲ و فاکتور نکروز کننده تومور)، عصاره‌های گیاهی (لکتین‌ها) و حیوانی (کیتوزان از میگو)، مواد مغذی (ویتامین‌ها، چربی‌ها، کاروتینوئیدها، سلنیوم) و پلی‌ساکاریدها تقسیم‌بندی کرد (Barman *et al.*, 2013). اثر تحریک کنندگی سیستم اینمنی ماهیان توسط پلی‌ساکاریدهای از

می گرفت. فوکوپیدان مصرفی جهت استفاده در تیمارهای تعریف شده از شرکت مارینوای استرالیا (Marinova, Hobart, Tasmania) خریداری شد. سپس با توجه به تیمارهای تعیین شده در ۴ سطح  $0, 1, 2, 5\%$  درصد به جیره پایه اضافه گردید. جهت ساخت جیره ابتدا مواد خشک با مواد معدنی و ویتامینه به مقدار لازم مخلوط شدند و با استفاده از مخلوط کن با هم میکس شدند. در مرحله بعد روغن به ترکیب فوق اضافه گردید و مجدداً با هم مخلوط شدند. فوکوپیدان مورد نیاز برای هر تیمار به دقت با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت  $0.01\text{ g}$  وزن شد و به آب اضافه گردید، سپس به مخلوط فوق اضافه شد. غذای مخلوط شده با چرخ‌گوشت پلت شد، پلت‌ها در دمای  $42^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $24$  ساعت در خشک‌کن نگهداری گردید تا خشک شوند و تا زمان استفاده در فریزر  $-20^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از انتهای دوره پرورش، برای تهیه سرم خون در انتهای آزمایش از هر تکرار  $3$  عدد ماهی جدا و خون ماهیان پس از بیهودی با سرنگ  $3\text{ mL}$  لیتر غیرهپارینه استحصلال شد. سطوح لیزوزیم سرم، به روش کدورت سنجی بر اساس روش Elis (۱۹۹۰) با کمی تغییرات صورت پذیرفت. میزان ACH<sub>50</sub> بر اساس روش Yano (۱۹۹۲) و همولیز گلbulهای قرمز خرگوش (RaRBC) انجام شد. برای اندازه‌گیری سطوح سرمی کمپلمان‌های C<sub>3</sub> و C<sub>4</sub> از کیت مخصوص موسسه زیست فناوری Nanjing و C<sub>4</sub> از کیت مخصوص موسسه زیست فناوری چین و روش کدروت سنجی اینمی استفاده شد. برای سنجش فعالیت ضدباکتری سرم، گونه باکتری استفاده شده در این مطالعه *Aeromonas hydrophila* در PBS محیط کشت بلاد آگار کشت داده شد و سپس با مخلوط شد. رقت این سوسپانسیون طوری تنظیم شد که در طول موج  $564\text{ nm}$  جذب  $0.5\text{ / }0.05\text{ g}$  را نشان دهد. سپس این سوسپانسیون به صورت سریالی به میزان  $1:10$  پنج بار رقیق شد. از هر پنج رقت برای انجام این آزمایش استفاده شد. میزان  $450\text{ }\mu\text{l}$  میکرولیتر از سوسپانسیون با  $50\text{ }\mu\text{l}$  میکرولیتر سرم خون ترکیب و به مدت  $1$  ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از انکوباسیون،  $100\text{ }\mu\text{l}$  میکرولیتر از این ترکیب در پلیت‌های نوترینت آگار کشت داده شد و بعد از  $24$  ساعت، تعداد کلنی‌های رشد کرده بر پلیت‌ها شمارش شد (*Rao et al., 2006*). برای تعیین مقدار توtal پروتئین و گلوکز از روش رنگ سنجی و

هستند که در مورد اول، هنوز هیچ درمانی وجود ندارد و در مورد دومی نیز با چالش خطرناک تر بازماندگی آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت باکتریایی روپرسوت، افزایش اینمی غیر اختصاصی می‌تواند از مهمترین رویکردهای مبارزه با این چالش باشد و از سویی، در میان پلی ساکاریدهای سولفاته مطالعات انجام شده در مورد اثرات فوکوپیدان در ماهیان محدود است. بنابراین، در این تحقیق از فوکوپیدان به عنوان ماده محرک اینمی با هدف بالا بردن اینمی ذاتی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که به دلیل شرایط بوم‌شناختی و سازگار با شرایط زیست محیطی و رشد سریع، یکی از مهمترین گونه‌های پرورشی در ایران است (راستیان نسب و همکاران، ۱۳۹۵).

## مواد و روش کار

این تحقیق در زمستان سال ۹۶ در کارگاه تحقیقات آبزیان دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. بدین منظور  $250$  عدد ماهی از گارگاه یاس واقع در شهرستان آمل تهیه و به مدت  $2$  هفته به منظور سازگاری با شرایط در تانک‌های  $300\text{ L}$  لیتری نگهداری شدند و عوامل کیفی آب همچون اکسیژن و pH به صورت هفتگی و دمای آب به صورت روزانه اندازه گیری می‌شد، که میزان دمای آب، اکسیژن محلول، pH بترتیب  $15-17^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد و  $8-9\text{ mL/L}$  میلی گرم در لیتر و  $4/7-4/8$  اندازه گیری شد و در این مدت غذای ساخته شده برای شاهد به عنوان جیره استفاده شد. پس از انجام مرحله سازگاری، ماهیان با استفاده از گل میخک به غلظت  $6$  گرم در  $15\text{ L}$  آب بیهودشند و زیست سنجی اولیه انجام گرفت.  $150$  عدد ماهی با میانگین وزن  $18/74\pm 0/70\text{ g}$  که از لحاظ وزنی در یک اندازه بودند، به طور تصادفی انتخاب شدند و در  $15$  تانک فایبرگلاس با حجم آب  $100\text{ L}$  لیتر و تراکم  $10$  عدد در هر تانک توزیع گردیدند. غذادهی ماهیان بر اساس درصد وزن بدن، اشتهاهای ماهی و دمای آب سه وعده در روز  $14/8$  و  $18/1$  انجام گرفت. آزمایش در یک سالن سر پوشیده با دوره نوری  $12$  ساعت تاریکی  $12$  ساعت روشنایی انجام گرفت. آب مخازن به طور دائم هوادهی می‌شد و تعویض آب (به طور میانگین  $70\text{ mL}$  درصد آب به صورت روزانه با آب تازه جایگزین می‌شد) و سیفون کردن روزانه صورت

برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون‌های پارامتری (دانکن) در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت  $ME \pm SD$  گزارش شدند و ارزیابی‌ها در ۳ تکرار صورت گرفت. از نرمافزار SPSS (version 23) برای آنالیز آماری و از نرمافزار Excel2013 برای رسم نمودار و جداول استفاده شد.

### نتایج

اثرات سطوح مختلف فوکوئیدان (ماریوت) بر شاخص‌های خونی قزل آلای رنگین‌کمان در جدول ۱ به نمایش گذاشته شده است. در این مطالعه شاخص‌های مربوط به گلوبول قرمز از قبیل: RBC، HCT، HB، MCV، HCT و MCHC در بین تیمارهای مختلف دارای اثر معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). در صورتیکه WBC در بین تیمارهای مختلف اثر معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). بررسی و مقایسه نتایج بیوشیمیابی خون تفاوت معنی‌داری را در میزان HDL، LDL و پروتئین‌های خون نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ، اما از لحاظ میزان گلوکز تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ).

LDL و HDL از روش آنژیمی و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون اندازه گیری شد. گلوبول‌های سفید و قرمز با استفاده از لام نئوبار و محلول رقیق کننده نات و هر یک بر اساس روش بولیس شمارش شدند. میزان هموگلوبین خون بر اساس روش سیانومت‌هموگلوبین با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۴۰ nm بر اساس روش داربیکین انجام گرفت. درصد هماتوکریت با روش میکروهماتوکریت و خطکش مخصوص سنجیده و شد. شاخص‌های گلوبولی از جمله MCV و MCHC مبرابر با اساس روابط ۱ الی ۳ محاسبه شدند.

$$MCV = TCH / RBC \times 100 \quad (\text{رابطه ۱})$$

: MCV میانگین حجم گلوبول‌های قرمز، TCH هماتوکریت، RBC تعداد گلوبول قرمز

$$MCH = HB / RBC \times 100 \quad (\text{رابطه ۲})$$

: MCH متوسط هموگلوبین گلوبولی، HB هموگلوبین MCHC = HB / TCH × 100  $\quad (\text{رابطه ۳})$

MCHC متوسط هموگلوبین در گلوبول‌های قرمز طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌های اینمنی، با آزمون پاییش واریانس یک طرفه (one Way ANOVA) انجام شد و

جدول ۱: اثرات سطوح مختلف فوکوئیدان ( $0.05$ ،  $0.1$  و  $0.2$ ) در جیره غذایی رنگین‌کمان بر فاکتورهای بیوشیمیابی خونی

**Table 1: Effects of different Levels of Fucoidan (0.1, 0.5, 1 and 2) in rainbow trout diet on blood biochemical factors.**

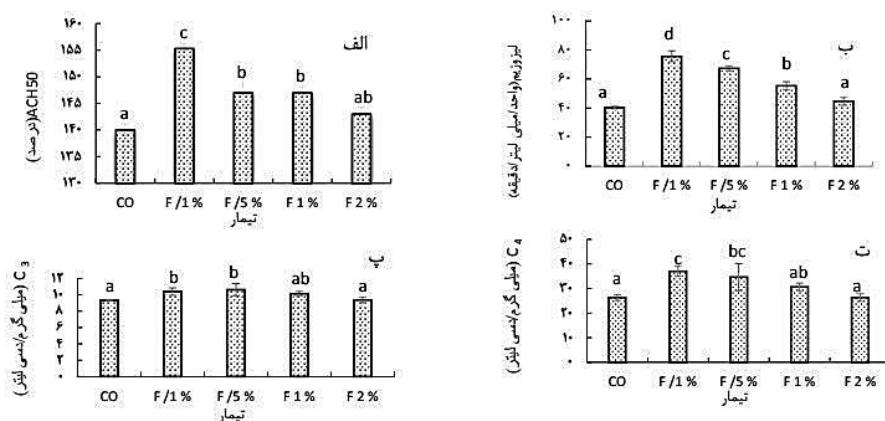
| سطح مختلف فوکوئیدان (گرم در کیلوگرم غذا) |                            |                            |                           |                             |                              |                            |
|--|----------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| ۲  | ۱                          | ۰/۵                        | ۰/۱                       | صفر                         | پارامتر                      | خون                        |
| ۳/۳۰ ± ۰/۶۶ <sup>a</sup>                 | ۳/۵۲ ± ۱ <sup>a</sup>      | ۶/۶۱ ± ۰/۳۸ <sup>b</sup>   | ۶/۶۰ ± ۰/۶۶ <sup>b</sup>  | ۶/۶۰ ± ۰/۶۶ <sup>b</sup>    | (۱) WBC (سلول/متر مکعب)      | (۱) (سلول/متر مکعب)        |
| ۱/۰۷ ± ۰/۰۲                              | ۱/۰۴ ± ۰/۱۷                | ۱/۹۳ ± ۰/۱۴                | ۱/۱۰۷ ± ۰/۱۱              | ۱/۹۱ ± ۰/۱۷                 | (۰) RBC (سلول/متر مکعب)      | (۰) (سلول/متر مکعب)        |
| ۴/۳۳ ± ۰/۶۶                              | ۵/۰۲ ± ۰/۸۰                | ۵/۴۲ ± ۱/۶۹                | ۳/۹۷ ± ۰/۵۵               | ۵/۰۵ ± ۱/۰۲                 | (۰) HB (گرم/دیسی لیتر)       | (۰) (گرم/دیسی لیتر)        |
| ۲۲/۴۷ ± ۲/۴                              | ۲۲/۱۸ ± ۱/۶۳               | ۲۴/۱۱ ± ۳/۸                | ۲۲/۱۳ ± ۲/۰۳              | ۲۶/۱۷ ± ۱/۶۰                | (۰) HCT (درصد)               | (۰) (درصد)                 |
| ۲۴۰/۷۸ ± ۲۷/۳۴                           | ۲۴۳/۷۹ ± ۵۴/۵۳             | ۲۲۹/۷۸ ± ۷۲/۴۶             | ۲۵۹/۲۱ ± ۴۴/۳۹            | ۲۳۸/۹۱ ± ۵۵/۱۶              | (۰) MCV (فیکومتر لیتر)       | (۰) (فیکومتر لیتر)         |
| ۴۶/۴۲ ± ۷/۸۷                             | ۵۷/۱۵ ± ۹/۵۱               | ۳۸/۵۲ ± ۲۴/۳۹              | ۴۲/۹۵ ± ۱۰/۲۵             | ۵۱/۲۱ ± ۱۹/۳۶               | (۰) MCH (پیکومتر/گرم)        | (۰) (پیکومتر/گرم)          |
| ۱۹/۲۰ ± ۱/۱۵                             | ۲۳/۹۰ ± ۴/۰۳               | ۲۲/۱۵ ± ۳/۶۵               | ۱۶/۴۷ ± ۱/۷۸              | ۲۱/۳۴ ± ۶/۹۹                | (۰) MCHC (درصد)              | (۰) (درصد)                 |
| سرم                                      |                            |                            |                           |                             |                              |                            |
| ۲۰۰ ± ۹/۸۹ <sup>b</sup>                  | ۲۰۱/۳۳ ± ۴/۷۲ <sup>b</sup> | ۲۱۸/۰۰ ± ۸/۸۸ <sup>c</sup> | ۲۲۷/۰۰ ± ۸ <sup>c</sup>   | ۱۷۸/۰۰ ± ۱۰/۸۱ <sup>a</sup> | (۰) HDL (میلی گرم/دیسی لیتر) | (۰) (میلی گرم/دیسی لیتر)   |
| ۷۳/۰۰ ± ۲/۸۲ <sup>a</sup>                | ۷۴/۶۶ ± ۴/۰۰ <sup>a</sup>  | ۶۳/۰۰ ± ۴/۰۰ <sup>b</sup>  | ۵۹/۶۶ ± ۶/۸۰ <sup>b</sup> | ۷۲/۶۶ ± ۴/۰۰ <sup>a</sup>   | (۰) LDL (میلی گرم/دیسی لیتر) | (۰) (میلی گرم/دیسی لیتر)   |
| ۳/۹۴ ± ۰/۴ <sup>a</sup>                  | ۴/۱۶ ± ۰/۸ <sup>b</sup>    | ۴/۲۹ ± ۰/۲ <sup>bc</sup>   | ۴/۳۱ ± ۰/۸ <sup>c</sup>   | ۳/۸۲ ± ۰/۸ <sup>a</sup>     | (۰) TP (گرم/دیسی لیتر)       | (۰) (گرم/دیسی لیتر)        |
| ۳۶/۵۰ ± ۲/۱۲                             | ۳۴/۶۶ ± ۱/۸۵               | ۳۵/۶۶ ± ۳/۲۱               | ۴۲ ± ۴/۳۵                 | ۳۲/۶۶ ± ۶/۶۵                | گلوکز (میلی گرم/دیسی لیتر)   | گلوکز (میلی گرم/دیسی لیتر) |

داده‌ها به صورت  $ME \pm SD$  بیان شده‌اند. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌هاست.

ACH50 و لیزوژیم بترتیب مربوط به تیمار ۰/۱ درصد فوکوییدان و شاهد می‌باشد.

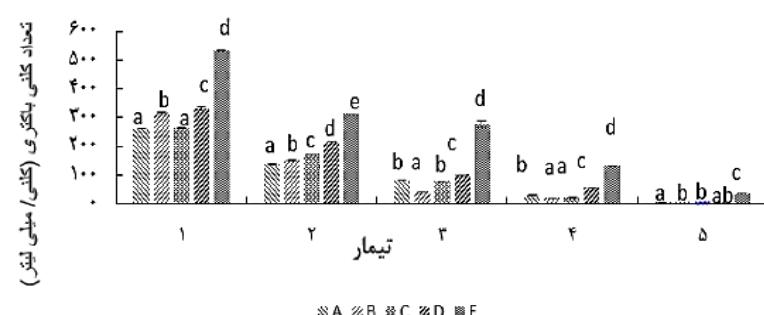
نتایج مربوط به فعالیت باکتری کشی سرم در شکل ۲ ارائه داده شده است. فعالیت ضد باکتری سرم در تیمارها در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد ( $P<0.05$ ). بالاترین و کمترین فعالیت سرم بترتیب در دوز ۰/۱ درصد و ۲ درصد فوکوییدان مشاهده شد.

نتایج مربوط به پارامترهای ایمنی غیر اختصاصی در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج این مطالعه افودن فوکوییدان به جireه غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اثر مثبت بر ایمنی غیراختصاصی داشته است، بطوریکه میزان لیزوژیم، ACH50 و میزان پروتئین‌های  $C_3$  و  $C_4$  در بین تیمارهای مختلف اثر معنی‌داری داشته است ( $p<0.05$ ). بیشترین و کمترین میزان پروتئین‌های  $C_4$  و  $C_3$



شکل ۱: اثرات سطوح مختلف فوکوییدان (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۲) در جireه غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر ایمنی غیر اختصاصی الف: فعالیت همولیتیک کمپلمان، ب: فعالیت لیزوژیم، پ: میزان  $C_3$  و ت: میزان  $C_4$   
شاهد، ۰/۱ درصد فوکوییدان، ۰/۵ درصد فوکوییدان، ۱: درصد فوکوییدان، ۲: درصد فوکوییدان

Figure 1: Effects of different Levels of Fucoidan (0.1, 0.5, 1 and 2) in rainbow trout diet on non-specific immunity A: complement hemolytic activity, B: lysozyme activity, P: C3 and T: C4.



شکل ۲: اثرات سطوح مختلف فوکوییدان (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۲) در جireه غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر فعالیت باکتری کشی سرم

Figure 2: Effects of different Levels of Fucoidan (0.1, 0.5, 1 and 2) in rainbow trout diet on Serum bactericidal activity

A: شاهد، B: ۰/۱ درصد فوکوییدان، C: ۰/۵ درصد فوکوییدان، D: ۱ درصد فوکوییدان، E: ۲ درصد فوکوییدان

۱: غلظت  $10^{-1}$ ، ۲: غلظت  $10^{-2}$ ، ۳: غلظت  $10^{-3}$ ، ۴: غلظت  $10^{-4}$ ، ۵: غلظت  $10^{-5}$

## بحث

سلول‌های اینمنی ذاتی و برقراری ارتباط بین اینمنی ذاتی با اینمنی اکتسابی از موجودات حفاظت می‌کند (Klettner, 2016). Blondin و همکاران (۱۹۹۶) فوکوپیدان را به عنوان یک مولکول ضد کمپلمان معرفی کردند و علاوه بر آن گزارش شده است که فوکوپیدان با اتصال با  $C_4$  و  $C_{q1}$ ، مانع از فعال‌سازی سیستم کمپلمان از مسیر کلاسیک می‌شود، در حالیکه این قابلیت مهاری فوکوپیدان از مسیر آلترناتیو کمتر است (Tissot *et al.*, 2003). با این وجود تاکنون گزارشی مبنی بر تأثیر مستقیم فوکوپیدان بر سیستم کمپلمان ماهی وجود ندارد. در تحقیق حاضر بیشترین مقدار،  $ACH_{50}$ ،  $C_3$  و  $C_4$  در تیمارهای  $1/0$  و  $5/0$  مشاهده شده است، شاید دلیل این نتیجه را این طور بتوان تفسیر کرد که با توجه به اینکه برخلاف مهره داران خونگرم در ماهیان فعال‌سازی سیستم کمپلمان از مسیر آلترناتیو بیشتر از مسیر کلاسیک است و طبق یافته‌های مطالعات مختلف اثر مهاری فوکوپیدان در مسیر آلترناتیو کمتر است (Tissot *et al.*, 2003). علاوه، یکی از خصوصیات غیر معمول و مهم سیستم کمپلمان در ماهیان استخوانی این است که ترکیب کلیدی آن یعنی  $C_3$  در ایزوفرم های مختلف وجود دارد که از نظر عملی فعال و محصول چندین زن هستند (خارا و همکاران، ۱۳۹۲). امانی نژاد و همکاران (۱۳۸۳) با افروزن جلبک *Salina dunaliella* غذایی ماهی قزلآلای رنگین کمان مشاهده کردند که با افزایش سطح این جلبک میزان  $C_3$  و  $C_4$  نیز افزایش یافت و با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افروزن سطوح مختلف عصاره فوکوپیدان (ماریوت) به جیره ماهی قزلآلای رنگین کمان اثرات معنی‌داری بر تعداد گلبول‌های سفید خون داشته است، بطوریکه با افزایش دوز فوکوپیدان تعداد گلبول سفید کاهش یافته است. در تحقیق Yang و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده شد که فوکوپیدان اثر معنی‌داری بر تعداد گلبول‌های سفید ندارد. در پژوهشی، El-Boshy و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که مقدار لوکوپیت‌ها به طور معنی‌داری در ماهی تیلاپیایی که سیستم اینمنی آن با کادمیوم سرکوب

لیزوزیم یک آنزیم باکتریولیتیک است که توسط ارگانیسم‌های مختلف مانند باکتری‌ها، باکتریوفاژها، قارچ‌ها، گیاهان و حیوانات مختلف تولید می‌شود (Jolles, 1969) که پیوند بین N-استیل گلوکز آمین و N-استیل مورامیک اسید را در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مشبت هیدرولیز می‌کند و منجر به شکستن سلول‌های باکتریایی می‌شود (Saurabh *et al.*, 2008). در ماهیان لیزوزیم بوسیله نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها تولید می‌شود (Sakai, 1999). فعالیت لیزوزیم در انتهای آزمایش در تیمار  $0/1$  از بالاترین میزان برخوردار بود، بطوریکه با افزایش دوز فوکوپیدان فعالیت لیزوزیم بتدریج کاهش یافت و کمترین فعالیت مربوط به دوز شاهد و  $2/0$  درصد فوکوپیدان بود. در پژوهش Huang و همکاران (۲۰۰۶) اثر عصاره پلی‌ساقاریدی جلبک *Sargassum fusiforme* در میگوی چینی بررسی کردند و پس از دوره پرورش مشاهده کردند که میزان فعالیت لیزوزیم در تیمارهای  $0/1$  و  $5/0$  در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است. از دیگر تحقیقات در این زمینه، می‌توان به تحقیق Yang و همکاران (۲۰۱۴) اشاره کرد که تأثیر فوکوپیدان را بر فاکتورهای بیوشیمیایی خونی، اثرات آنتی‌اکسیدانی و پاسخ اینمنی ذاتی گربه ماهی مطالعه کردند که بیان نمودند دوز  $0/2$  درصد فوکوپیدان سبب افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم می‌شود. در تحقیقی Mir و همکاران (۲۰۱۷)، به تأثیر هم‌افزایی فوکوپیدان و متیونین بر رشد، پاسخ اینمنی ذاتی ماهی روهو (*Labeo rohita*) پرداختند و گزارش کردند که این پلی‌ساقارید سبب افزایش فعالیت لیزوزیم می‌شود. علاوه بر این، گزارش شده است که فوکوپیدان با فعال‌سازی ماکروفاژها سبب افزایش فعالیت لیزوزیم و فاگوسیتوزی در ماکروفاژها می‌شود و همچنین تحقیقات مذکور نتایج پژوهش حاضر را تأیید می‌کنند. سیستم کمپلمان مجموعه‌ای مشتمل بر بیش از ۳۵ نوع بروتئین سرمی است که ارتباط بسیار نزدیک و کنترل شده‌ای با یکدیگر و سایر مولکول‌های سیستم اینمنی دارند (Sunyer *et al.*, 1999). سیستم کمپلمان توسط تسهیل فاگوسیتوز، از بین بردن سلول‌های بیگانه، فعال‌سازی

نهایت باعث مرگ سلولی می‌شود (He *et al.*, 2010). به علت ویژگی بارز پلی ساکاریدهای سولفاته ممکن است از طریق به دام انداختن مواد مغذی در محیط کشت، امکان دسترسی بیولوژیک به مواد مغذی کاهش یابد در نتیجه رشد باکتری مهار می‌شود (Yamashita *et al.*, 2001). در تحقیق حاضر فعالیت باکتری کشی سرم در غلظت‌های مختلف بررسی شد که میزان فعالیت باکتری کشی سرم معنی داری بوده است. بالاترین فعالیت در دوز ۰/۵ و ۱/۰ درصد مشاهده شد با وجود اینکه تعداد گلbul های سفید در این دو تیمار هیچ تفاوت معنی داری با گروه شاهد نداشته است، احتمال می‌رود که فوکوییدان علاوه بر تأثیر غیر مستقیم (تحریک سیستم ایمنی) به شکل مستقیم سبب مهار تکثیر و رشد باکتری نیز شده است. مطالعات Mir و همکاران (۲۰۱۷)، Prabu و همکاران (۲۰۱۶)، Yang و همکاران (۲۰۱۴) تأثیر فوکوییدان جیره را بر پاسخ ایمنی در برابر باکتری بررسی کردند. بسیاری از محرك‌های ایمنی که تأثیر خود را در بر سیستم ایمنی ماهیان در مقادیر پائین بر جای می‌گذارند، در مقادیر بالا چندان نتایج مطلوبی را ارائه نداده‌اند (Harikrishnan *et al.*, 2011). با توجه به رشد روز افزون صنعت آبری‌پروری، و محدودیت‌های بوجود آمده از جمله بیماری‌ها و شرایط استرس‌زا و همچنین بهره‌وری و تولید، یافتن رویکردهای ایمن و قابل اطمینان برای جامعه هدف انسانی امری ضروری می‌باشد. لذا، در این راستا یافتن مواد و عناصر بدون ضرر که بتوانند مصرف مواد غیر ایمن از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها را کاهش دهد، می‌بایست در اولویت قرار گیرند. عصاره جلبکی فوکوییدان به عنوان محرك ایمنی تاکنون اثرات تحریک کنند آن بر قزل آلای رنگین کمان بررسی نشده است، مطرح می‌باشد. لذا، در این تحقیق برای اولین بار، تأثیر آن در جیره غذایی قزل آلای رنگین کمان بررسی شد و با توجه به نتایج حاصله عصاره این ماده در جیره قزل آلای رنگین کمان در دوز پائین برای بالا بردن ایمنی بدون اثر منفی موثر می‌باشد.

### منابع

امانی نژاد، پ.، عمادی، ح.، امتیازجو، م.، حسین زاده Salina، ۵.، ۱۳۸۸. بررسی اثر جلبک

شده بود، کاهش یافته است که با نتایج این تحقیق مشابهت دارد. با توجه به اینکه گزارش‌های زیادی پیشنهاد کردند که فوکوییدان یک مهار کننده تقسیمات سلولی با پتانسیل بالا در موجودات مختلف است (Religa *et al.*, 2000; Yoshimoto *et al.*, 2015) که احتمال کاهش میزان گلbul‌های سفید در ماهیان تیمار شده با این پلی‌ساکارید، به دلیل جلوگیری از تقسیم گلbul‌های سفید بوسیله این پلی‌ساکارید است. فاکتورهای سرمی مانند گلوكز، لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) و پروتئین کل نقش مهمی را در سلامت بدن ایفاء می‌کنند (Hui *et al.*, 2012). در این پژوهش میزان HDL و توتال پروتئین به شکل معنی داری در تیمار ۱/۰ در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است و میزان LDL در تیمار ۰/۱ به طور معنی داری در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته است. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که فوکوییدان نقش مهمی در کاهش کلسترول، چربی و قند خون دارد (Yang *et al.*, 2014). در گزارش Yang و همکاران (۲۰۱۴) که فوکوییدان را به دو شکل تجاری و عصاره تهیه کرده بودند و در گریه ماهی مورد آزمایش قرار دادند، عنوان شد که هر دو شکل فوکوییدان موجب کاهش LDL و HDL و گلوكز می‌شود. فوکوییدان با بهبود بیان گیرنده‌های لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) و فعال‌سازی آنزیم‌های لیپاز، لیپاز کبدی و لستین کلسترول آسیل ترانسفراز می‌تواند لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) را کاهش دهد (Wu *et al.*, 2007). قدرت باکتری کشی سرم بیشتر تحت تأثیر مواد ضد میکروبی سرم، لیزوزیم، کمپلمان و سایر مواد موثر در تخریب دیواره سلولی باکتریایی است. فعالیت ضد باکتریایی پلی ساکاریدهای سولفاته توجه بسیاری از محققین را بخود جلب کرده است (Liu *et al.*, 2017). اگرچه اطلاعات در مورد مکانیسم ضد باکتری پلی ساکارید سولفات هنوز بسیار محدود است، ولی دو احتمال برای فعالیت ضد باکتریایی پلی‌ساکاریدهای سولفاته وجود دارد: ۱) اتصال پلی‌ساکاریدهای سولفاته به غشاء سلولی که منجر به از بین رفتن پروتئین‌ها و مواد مغذی ضروری می‌شود و در

- (*Dicentrarchus labrax*). *Fish and Shellfish Immunology*, 18(4), 311-325. DOI:10.1016/j.fsi.2004.08.003.
- Barman, D., Nen, P., Mandal, S.C. and Kumar, V., 2013.** Immunostimulants for aquaculture health management. *J Marine Sci Res Dev*, 3(3). 3 Doi.org/10.4172/2155-9910.1000134. DOI: 10.4172/2155-9910.1000134.
- Blondin, C., Chaubet, F., Nardella, A., Sinquin, C. and Jozefonvicz, J., 1996.** Relationships between chemical characteristics and anticomplementary activity of fucans. *Biomaterials*, 17(6), 597-603.
- Davis, T.A., Volesky, B. and Mucci, A., 2003.** A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water research, Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture*, 172(1-2), 63-92. DOI:10.1016/S0043-1354(03)00293-8.
- El-Boshy, M., El-Ashram, A., Risha, E., Abdelhamid, F., Zahran, E. and Gab-Alla, A., 2014.** Dietary fucoidan enhance the non-specific immune response and disease resistance in African catfish, *Clarias gariepinus*, and immunosuppressed by cadmium chloride. *Veterinary immunology and immunopathology*, 162(3-4), 168-173. DOI: 10.1016/j.vetimm.2014.10.001.
- Ellis, A.E., 1990.** Lysozyme assay, Techniques in Fish Immunology. Fair Haven, USA. 103p.
- dunaliella بر تغییرات شاخص های ایمنی (کمپلمان و پراکسیداز (در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*mykiss*) (*Oncorhynchus mykiss*) (Oncorhynchus دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، ۱، ۳-۲۰: (۴).
- پیمانی، ج، قرایی، ا، غفاری، م، طاهری، ع.. ۱۳۹۲ بررسی فعالیت ضد باکتری عصاره آبی و اتانولی جلبک (Sargassum glaucescens). مجله علمی شیلات ایران. ۱۰(۴): ۲۲.
- خارا، ح.. محمدزاده، و، قیاسی، م.. رهبر م. ۱۳۹۲ بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیابی و سرمی خون ماهیان قزل آلای رنگین کمان فاقد و واجد عفونت باکتریابی (در مزارع پرورشی استان مازندران). مجله توسعه آبزی پروری، سال هفتم، شماره دوم، تابستان.
- راستیان نسب، ا.. موسوی، م.. ذوالقرنین، ح.. صحافی زاده، ۵.. ۱۳۹۵ بررسی پروپویوانزیم بر بیان زن های وابسته به ایمنی و کنترل بیماری دهان قرمز (yersiniosis) در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*oncorhynchus mykiss*) ایران. ۲۶(۱) ۱۵۳-۱۶۶.
- مشکینی. س، و طافی ع.. ۱۳۹۳. محرک های ایمنی و اهمیت آنها در آبزی پروری، فصلنامه نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی، سال دوازدهم (۴۶): ۴۸.
- Ale, M.T., Mikkelsen, J.D. and Meyer, A.S., 2011.** Important determinants for fucoidan bioactivity: A critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Marine Drugs*, 9(10):2130-2116. DOI: 10.3390/md9102106.
- Bagni, M., Romano, N., Finoia, M.G., Abelli, L., Scapigliati, G., Tiscar, P.G. and Marino, G., 2005.** Short-and long-term effects of a dietary yeast  $\beta$ -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass

- FAO, 2016.** The Status of the World Fisheries and Aquaculture, FAO, Rome, Italy.
- Fujiki, K., Shin, D.H., Nakao, M. and Yanot, T., 1997.** Effects of  $\kappa$ -carrageenan on the non-specific defense system of carp *Cyprinus carpio*. *Fisheries Science*, 63(6), 934-938. DOI :10.2331/fishsci.63.934.
- Gioacchini, G., Lombardo, F., Avella, M.A., Olivotto, I. and Carnevali, O., 2010.** Welfare improvement using alginic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Chemistry and Ecology*, 26(2), 111-121. DOI: 10.1080/02757541003627738.
- Harikrishnan, R., Kim, J.S., Kim, M.C., Balasundaram, C. and Heo, M.S., 2011.** *Prunella vulgaris* enhances the non-specific immune response and disease resistance of *Paralichthys olivaceus* against Uronema marinum. *Aquaculture*, 318(1-2): 61-66.
- He, F., Yang, Y., Yang, G. and Yu, L., 2010.** Studies on antibacterial activity and antibacterial mechanism of a novel polysaccharide from *Streptomyces virginia* H03. *Food Control*, 21(9), 1257-1262. DOI:10.1016/j.foodcont.2010.02.013.
- Hoshino, T., Hayashi, T., Hayashi, K., Hamada, J., Lee, J.B. and Sankawa, U., 1998.** An antivirally active sulfated polysaccharide from *Sargassum horneri* (TURNER) C. AGARDH. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 21(7): 730-734. DOI :10.1248/bpb.21.730.
- Huang, X., Zhou, H. and Zhang, H. 2006.** The effect of *Sargassum fusiforme* polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Fish and Shellfish Immunology*, 20(5), 750-757. Doi.org/10.1016/j.fsi.2005.09.008.
- Hui, F.U., Wang, Q.K., Yun-Hai, H.E. and Ren, D.D., 2012.** Functional effect of dietary fiber from seaweed *Costaria costata* residues on reduce in serum lipids in mice. *Journal of Dalian Ocean University*, 27, 200-204.
- Immanuel, G., Sivagnanavelmurugan, M., Balasubramanian, V. and Palavesam, A., 2010.** Effect of hot water extracts of brown seaweeds *Sargassum spp.* on growth and resistance to white spot syndrome virus in shrimp *Penaeus monodon* postlarvae. *Aquaculture Research*, 41(10), e545-e553 DOI:10.1016/j.fsi.2012.01.003.
- Jolles, P., 1969.** Lysozymes: a chapter of molecular biology. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 8(4), 227-239. Doi.org/10.1002/anie.19690.
- Kim, E.J., Park, S.Y., Lee, J.Y. and Park, J.H.Y., 2010.** Fucoidan present in brown algae induces apoptosis of human colon cancer cells. *BMC Gastroenterology*, 10(1): 96. Doi.org/10.1186/1471-230X-10-96.
- Klettner, A., 2016.** Fucoidan as a potential therapeutic for major blinding diseases—a hypothesis. *Marine Drugs*, 14(2), 31. DOI:10.3390/md14020031.
- Li, B., Lu, F., Wei, X. and Zhao, R., 2008.** Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules*, 13(8), 1671-1695. DOI: 10.3390/molecules13081671.

- Liu, M., Liu, Y., Cao, M. J., Liu, G. M., Chen, Q., Sun, L. and Chen, H., 2017.** Antibacterial activity and mechanisms of depolymerized fucoidans isolated from *Laminaria japonica*. *Carbohydrate Polymers*, 172, 294-305. DOI:10.1016/j.carbpol.2017.05.060.
- Marlowe, C., 2011.** Influence of alginic acid and fucoidan on the immune responses of head kidney leukocytes in cod. *Fish Physiol Biochem*, 37 (3): 603–612. DOI: 10.1007/s10695-010-9462-z.
- Mir, I.N., Sahu, N.P., Pal, A.K. and Makesh, M., 2017.** Synergistic effect of l-methionine and fucoidan rich extract in eliciting growth and non-specific immune response of *Labeo rohita* fingerlings against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 479, 396-403. DOI:10.1016/j.aquaculture.2017.06.001.
- 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), 199-218. DOI:10.1111/are.12482.
- Rao, V.Y., Das, B.K., Jyotirmavee, P. and Chakrabarti, R., 2006.** Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 20, 263–273. DOI: 10.1016/j.fsi.2005.04.006.
- Religa., P., Kazi, M., Thyberg, J., Gaciong, Z., Swedenborg, J. and Hedin U., 2000.** Fucoidan inhibits smooth muscle cell proliferation and reduces mitogen-activated protein kinase activity. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 20:419–426. DOI:10.1053/ejvs.2000.1220.
- Sakai, M., 1999.** Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172(1-2), 63-92.
- Saurabh, S. and Sahoo, P.K., 2008.** Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, 39(3), 223-239.
- Sunyer Herbomel, P., Thisse, B. and Thisse, C., 1999.** Ontogeny and behaviour of early macrophages in the zebrafish embryo. *Development*, 126(17): 3735-3745.
- Teruya, T., Takeda, S., Tamaki, Y. and Tako, M., 2010.** Fucoidan isolated from *Laminaria angustata* var. *longissima* induced macrophage activation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74(9): 1960-1962. DOI:10.1271/bbb.100294.
- Tissot, B., Montdargent, B., Chevrolot, L., Varenne, A., Descroix, S., Gareil, P. and Daniel, R., 2003.** Interaction of fucoidan with the proteins of the complement classical pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1651(1-2), 5-16. DOI: 10.1016/S1570-9639(03)00230-9.
- Traifalgar, R. F., Kira, H., Thanh Tung, H., Raafat Michael, F., Laining, A., Yokoyama, S. 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, 235-244.
- Wang, J., Zhang, Q., Zhang, Z., Song, H. and Li, P., 2010.** Potential antioxidant and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(1): 6-12. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2009.10.015.
- Wang, W., Sun, J., Liu, C. and Xue, Z. 2017.** Application of immunostimulants in aquaculture: current knowledge and future perspectives. *Aquaculture Research*, 48(1), 1-23. DOI:10.1111/are.13161.
- Wu, Q.H., Xing, Y.H., Rong, X.L. and Huang, P. 2007.** Influence of FPS on the expression of LDL-R mRNA in the liver tissues of hyperlipidemic rats. Zhong yao cai. Zhongyaocai. *Journal of Chinese medicinal materials*, 30(8), 968-970.
- Yamashita, S., Sugita-Konishi, Y. and Shimizu, M., 2001.** In vitro bacteriostatic effects on dietary polysaccharides. *Food Science and Technology Research*, 7(3), 262–264. DOI: 10.3136/fstr.7.262.
- Yang, Q., Yang, R., Li, M., Zhou, Q., Liang, X. and Elmada, Z.C., 2014.** Effects of dietary fucoidan on the blood constituents, anti-oxidation and innate immunity of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Fish and Shellfish Immunology*, 41(2), 264-270.
- Yano, T., 1992.** Assays of hemolytic complement activity. Techniques in fish immunology, 131-141.
- Yoshimoto, M., Higaki, K., Nanba, E. and Ikeguchi, M., 2015** Anti-proliferation activity of fucoidan in MKN45 gastric cancer cells and downregulation of phosphorylated ASK1, a cell cycle-regulated kinase. *Yogana Acta Medica*, 58:1-7.
- Zhang, W., Oda, T., Yu, Q. and Jin, J.O., 2015.** Fucoidan from *Macrocystis pyrifera* has powerful immune-modulatory effects compared to three other fucoidans. *Marine Drugs*, 13(3): 1084-1104. DOI: 10.3390/ md13031084.

**Effect of fucoidan (MariVet) supplementation on the non-specific immune response and antibacterial activity of serum in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**

Ghalebi Hajivand F.<sup>1</sup>; Smiley A.H.<sup>1</sup>; Abedian A.<sup>1</sup>

\*Amirh.smiley@modares.ac.ir

1- Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Nour, Iran

**Abstract**

Fucoidan, a water-soluble heteropolysaccharide that contains fucose and sulfate groups which found in the cellular wall of brown algae which in this study, the effects of its various levels on the non-specific immune response, blood biochemical factors and antibacterial activity of serum in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), with mean weight of  $74.8 \pm 70$  g for 8 weeks were investigated. The treatments consisted of 0 (control), 0.1, 0.5, 1 and 2% of fucoidan per kg of diet in the form of five treatments, three replications were performed in 100 liters tanks. Based on the findings of this study, there were no significant different among different groups of RBC indices such as RBC, HB, HCT, MCV, MCHC and MCH ( $p > 0.05$ ), while the number of WBC was significantly different among different groups ( $p < 0.05$ ). TP, HDL-C, LDL-C were significantly affected by diets containing fucoidan ( $p < 0.05$ ). There was no significant difference in the level of glucose between treatments ( $p > 0.05$ ). The serum lysozyme (LZM) activities, Complement system, C3 and C4 had a significant effect on different treatments ( $p < 0.05$ ). The highest and lowest activity of lysozyme, total Complement system (ACH50), and the level of C4 and C3 proteins, were observed in treatment /1 F diet and control, respectively. Antibacterial activity of serum was significantly different in control group with experimental groups ( $p < 0.05$ ). The highest and lowest levels of antibacterial serum were observed in 0.1 F diet and 2, respectively. According to the results of this study, it can be concluded that fucoidan stimulates the innate immune system of rainbow trout.

**Keywords:** Rainbow trout, Non-specific immune response, Antibacterial activity, fucoidan (MariVet)

---

\*Corresponding author