

## اثرات استفاده از پودر و عصاره برگ گیاه مورینگا *Moringa oleifera* بر عملکرد فاکتورهای همولنف میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در مواجهه با استرس شوری

سیده یلدا بنی اسماعیلی<sup>۱</sup>، آرش اکبرزاده<sup>۱\*</sup>، غلامحسین ریاضی<sup>۲</sup>، فرزین عبداللهی<sup>۳</sup>، محمد نیرومند<sup>۱</sup>

۱. گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲. تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، تهران، ایران

۳. گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

### چکیده

### نوع مقاله

#### مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۱/۰۹/۳۰

\*نویسنده مسئول:

akbarzadeh@hormozgan.ac.ir

در این تحقیق تاثیر پودر و عصاره برگ مورینگا *Moringa oleifera* بر فاکتورهای همولنف میگوی سفید غربی *Litopenaeus vannamei* در مواجهه با استرس شوری ارزیابی شد. بعد از ۸ هفته غذاهای با پودر (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ g/kg) و عصاره (۰/۵، ۰/۲۵ و ۱/۰ g/kg) برگ مورینگا و تیمار شاهد بدون مورینگا، کلیه تیمارها تحت استرس شوری کوتاه مدت به میزان ۵ و ۵۵ ppt قرار گرفتند. در شمارش کل و افتراقی هموسیت ها در تیمارهای مختلف در هر سه حالت نرمال و استرس شوری ۵ و ۵۵ ppt اختلاف معنی دار مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در شرایط عادی و شوری بالا میگوهای تغذیه شده با عصاره برگ مورینگا تعداد هموسیت های بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشتند. در شرایط بدون استرس تعداد سلول های سمی گرانولار در تیمارهای پودر و عصاره بیشتر از گروه شاهد بود. در شوری ۵ ppt تیمارهای پودر مورینگا میزان سمی گرانولارهای بیشتری داشتند و در شوری ۵۵ ppt گروه پودر برگ ۱۰۰ g/kg و عصاره برگ ۰/۲۵ g/kg به ترتیب بالاترین مقدار این سلول ها را داشتند. در مجموع نتایج این تحقیق اثرات مثبت استفاده از پودر و عصاره برگ گیاه مورینگا بر عملکرد سیستم ایمنی و مواجهه با استرس شوری در میگو را نشان داد.

**کلید واژه ها:** *Moringa oleifera*، استرس، همولنف، هموسیت، میگوی سفید غربی

### مقدمه

در دهه های گذشته پرورش میگو در سطح جهانی توسعه سریعی را تجربه کرده است که این روند افزایشی می تواند در برآوردن تقاضای فزاینده غذای جمعیت رو به رشد کمک شایانی نماید (۱). تولید جهانی میگو در سال ۲۰۲۰ به ۵/۰۳ میلیون تن رسید و انتظار می رود تا سال ۲۰۲۵ با نرخ رشد مرکب سالانه (CAGR) ۶/۱ درصد از سال ۲۰۲۰ تا ۲۰۲۵ ۷/۲۸ میلیون تن افزایش یابد (۲). از جمله دلایل افزایش سریع تولید و پرورش میگوی سفید غربی می توان به مقاومت بالای این میگو در برابر طیف گسترده ای از تغییرات شوری (۷۸-۰/۵ ppt)، رشد سریع، مقاومت در برابر بیماری ها و سازگاری آن با تکنیکهای نوین آبی پروری متراکم اشاره کرد (۳). شایان ذکر است کل تولید میگوی جهان عمدتاً شامل *Litopenaeus vannamei* می باشد که در میان ۲۰ محصول برتر محصولات آبی پروری قرار دارند (۴).

استرس های محیطی نظیر pH، شوری و دما می تواند باعث ایجاد یک سری تغییرات فیزیولوژیکی در سخت پوستان شوند. همچنین ممکن است هموستازی میگو را مختل کرده و بر رشد، نمو و حتی بقا نیز تأثیر بگذارند که در نتیجه زیان اقتصادی زیادی در پرورش میگو به همراه خواهند داشت (۵). از بین فاکتورهای محیطی ذکر شده، شوری یک عامل محیطی کلیدی است که می تواند به عنوان یکی از مهم ترین موضوعات آبی پروری و مطالعات زیست شناسی استرس مطرح گردد (۶). علیرغم اینکه میگوها به خوبی با تغییرات محیطی مانند شوری، دما، اکسیژن محلول و تغییرات pH سازگار می شوند (۷) ولی همچنان این تغییرات برای میگوها استرس زا هستند و رادیکال های ایجاد شده از استرس حاد ممکن است

منجر به استرس اکسیداتیو یا حتی مرگ و میر آنها شود (۸). با توجه به تحمل بالای میگوی وانامی که یک گونه دریایی گرمسیری است از آن به عنوان یک گونه مدل جهت مطالعه مکانیسم تنظیم اسبزی تغییرات شوری از ۱ تا ۵۰ واحد شوری عملی (psu) استفاده شده است (۹). اکثر مطالعات در مورد تأثیر شوری کم بر روی میگو متمرکز شده اند (۱۰) و مطالعات نسبتاً کمی در ارتباط با اثر شوری بالا گزارش شده است (۱۱). مطالعاتی مبنی بر اینکه تغییرات شوری امکان ضرر برای میگوی *L. vannamei* از طریق افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) دارد و در نتیجه آن سبب ایجاد استرس اکسیداتیو می شود، صورت گرفته است (۱۲). سه مشکل عمده در پرورش طولانی مدت با شوری پایین وجود دارد که عبارتند از: کاهش رشد (۵)، کاهش نرخ بازماندگی (۵) و حساسیت بالا به عوامل بیماریزا (۱۳).

یکی از گیاهان مهمی که در طی سالیان متمادی در آبی پروری شناخته شده است، مورینگا *Moringa oleifera* متعلق به خانواده Moringaceae می باشد. پر استفاده ترین قسمت این درخت برگ های آن می باشد که دارای تعداد زیادی ترکیبات زیست فعال از جمله پلی فنول ها (اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها) و کاروتنوئیدها می باشد. برگهای این درخت سرشار از کاروتنوئیدها، ویتامین A و C، پتاسیم و پروتئین هستند (۱۴).

مطالعات متعددی فعالیت های مفید مورینگا را در بدن حیوانات آبی مشخص کرده اند (۱۵). مطالعات گذشته نشان داد که استفاده از ۵/۰ درصد عصاره برگ مورینگا می تواند اثرات مثبتی بر عملکرد رشد، فیزیولوژیک و ایمنی بدن میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) بگذارد و همچنین از استرس حاد استرس آمونیاکی بکاهد (۱۶). همچنین پودر برگ مورینگا تا ۱۰ درصد جایگزین پودر ماهی در رژیم غذایی بچه ماهیان گربه ماهی *Clarias gariepinus* شد بدون اینکه اثرات نامطلوبی بر بقا و عملکرد رشد داشته باشد. در حالی که سطوح جایگزینی بالاتر در جیره ها به طور معنی داری باعث کاهش پارامترهای رشد و آداپته شدن با خوراک شد (۱۷). همچنین خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی به دست آمده از ساقه، برگ، گل، غلاف و بذر مورینگا در شرایط آزمایشگاهی علیه گونه های *Vibrio* در میگوی آمازون *M. amazonicum* پتانسیل بالای آن را برای کنترل گونه های *Vibrio* نشان داد. (۱۸). در گربه ماهی آفریقایی *C. gariepinus* جیره غذایی حاوی ۱۰ درصد برگ مورینگا عملکرد موثری بر رشد و کیفیت لاشه داشت (۱۹). افزودن ۵٪ پودر برگ مورینگا در رژیم غذایی عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی را در تیلاپپای نیل به طور قابل توجهی بهبود داد (۲۰).

تحقیق حاضر با هدف ارزیابی اثر سطوح مختلف پودر و عصاره برگ مکمل غذایی مورینگا بر شاخص های ایمنی همولف میگوی سفید غربی در مواجهه با استرس شوری کوتاه مدت انجام گرفت، با این فرض که خواص و متابولیت های ثانویه این گیاه می تواند شاخص های ایمنی همولف میگوی سفید غربی در مواجهه با استرس شوری را بهبود ببخشد.

## روش کار

### تهیه جیره

برگ گیاه مورینگا مورد استفاده در جیره‌ها که به صورت پودر و عصاره ساخته شد، از استان هرمزگان جمع آوری گردید. پس از تهیه و آماده سازی پودر و عصاره اتانولی (به روش ماسیراسیون) از برگ درخت مورینگا، هفت جیره غذایی در سطوح پودر و عصاره برگ مورینگا صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم در کیلوگرم پودر برگ (۲۱) و جیره های حاوی ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم در کیلوگرم عصاره برگ مورینگا (۲۲) تنظیم گردید. برای تنظیم جیره های مورد آزمایش نرم افزار Lindo1/6(USA) با جایگزین کردن سطوح مختلف پودر و عصاره برگ مورینگا مورد استفاده قرار گرفت (جدول شماره ۱). کلیه مراحل ساخت جیره ها در آزمایشگاه کارگاه آموزش و بازسازی ذخایر آبزیان کلاهی انجام شد. جهت تهیه مخلوط همگن، مواد اولیه پس از همزدن کامل و افزودن روغن ماهی و روغن سویا از چرخ گوشت با چشمه ۳ میلی‌متر عبور داده شدند. رشته‌های حاصله پس از خشک شدن بر اساس شماره تیمار به کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار منتقل و در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. شایان ذکر است کلیه مراحل ساخت جیره در سالنی خشک و خنک انجام شد (۲۳).

جدول ۱. اجزاء جیره های غذایی و ترکیبات شیمیایی آنها

عصاره برگ مورینگا (g/kg) ۱/۰	عصاره برگ مورینگا (g/kg) ۰/۵	عصاره برگ مورینگا (g/kg) ۰/۲۵	پودر برگ مورینگا (g/kg) ۱۰۰	پودر برگ مورینگا (g/kg) ۵۰	پودر برگ مورینگا (g/kg) ۲۵	شاهد	اجزاء جیره (g/kg)
۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	۱۶۴	۱۴۷	۱۳۸	۱۳۰	پودر ماهی ساردین
۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	پودر ماهی موتو
۱۹۰	۱۹۰	۱۹۰	۱۹۰	۱۹۰	۱۹۰	۱۹۰	آرد سویا
۱۹۷/۰	۱۹۸/۵	۱۹۹/۲	۱۴۲/۰	۱۷۰/۰	۱۸۵/۵	۲۰۰/۰	آرد گندم
۹۶	۹۶	۹۶	۹۶	۹۶	۹۶	۹۶	گلوتن گندم
۱۳۷/۰	۱۳۰/۵	۱۳۲/۳	۶۴/۰	۹۹/۰	۱۱۶/۵	۱۳۴/۰	گلوتن ذرت
۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	بنتونیت
۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	همبند
۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	پرمیکس (ویتامین و مواد معدنی) <sup>۱</sup>
۴۰	۴۰	۴۰	۳۶	۳۸/۷	۳۹/۳	۴۰	روغن ماهی
۲۰	۲۰	۲۰	۱۸	۱۹/۳	۱۹/۷	۲۰	روغن سویا
-	-	-	۱۰۰	۵۰	۲۵	-	پودر برگ مورینگا
۱۰	۵	۲/۵	-	-	-	-	عصاره برگ مورینگا
							ترکیبات شیمیایی جیره (g/kg)
۴۲۳/۲	۴۳۰/۳	۴۳۳/۹	۴۲۰/۲	۴۳۲/۲	۴۰۷/۵	۴۲۴/۸	پروتئین
۸۱/۷	۸۰/۲	۸۱/۵	۸۲/۳	۸۸/۰	۹۵/۹	۸۱/۸	چربی
۲۷۱/۹	۲۷۴/۳	۲۶۶/۴	۲۶۰/۶	۲۷۶/۱	۲۹۸/۷	۲۸۱/۰	کربوهیدرات
۱۱۱/۲	۱۰۴/۹	۱۰۱/۴	۱۱۶/۷	۱۰۰/۳	۹۷/۱	۱۰۶/۶	خاکستر
۸۸۸/۰	۸۸۹/۷	۸۸۳/۲	۸۷۹/۸	۸۹۶/۶	۸۹۹/۲	۸۹۴/۲	ماده خشک (%)
۱۱۲/۰	۱۱۰/۳	۱۱۶/۸	۱۲۰/۲	۱۰۳/۴	۱۰۰/۸	۱۰۵/۸	رطوبت (%)
۱۷۸۹/۴	۱۸۰۴/۹	۱۸۰۴/۴	۱۷۶۹/۹	۱۸۲۳/۸	۱۸۵۴/۷	۱۸۰۸۹/۶	انرژی (kcal kg <sup>-1</sup> )

۱. پرمیکس (۲٪ کنسانتره خوراک میگو شرکت Creve Tec): پروتئین گندم، حداقل مقدار ویتامین ها: (اینوزیتول، بیوتین، اسید فولیک، اسید نیکوتینیک، اسید پانتوتینیک، ویتامین B2 (ریبوفلاوین)، ویتامین B1 (تیامین)، ویتامین B6 (پیریدوکسین)، ویتامین B12 (سیانوکوبالامین)، ویتامین A1000، ویتامین D3، ویتامین K، ویتامین C (اسید اسکوربیک)، کولین، مواد معدنی کمیاب آلی: (آهن، مس، منگنز، روی، سلنیوم، ید)، فسفات ها، تقویت کننده هضم، کلسترول.

### شرایط آزمایش

این تحقیق در خردادماه سال ۱۳۹۹ با انتقال ۱۰۰۰ عدد میگوی وانامی از مرکز پرورش میگوی حاتمی، به کارگاه آموزش و بازسازی ذخایر آبزیان کلاهی وابسته به اداره کل شیلات استان هرمزگان آغاز گردید. این مرکز در ۱۴۰ کیلومتری شهرستان بندرعباس و ۳۰ کیلومتری شهرستان میناب واقع شده است. میگوها طی ۲ هفته سازگاری (آداپتاسیون) در حوضچه بتونی ۱۰۰۰ لیتری ذخیره سازی و با غذای تجاری خوراک آبزیان حاتمی تغذیه شدند. پس از سپری شدن دوره سازگاری، ۸۴۰ عدد میگوی سالم با وزن اولیه  $0.2 \pm 0.02$  گرم، طول اولیه  $0.1 \pm 0.01$  سانتی متر و طول کاراپاس  $0.1 \pm 0.02$  سانتی متر در ۲۱ مخزن گرد پلی اتیلنی ۳۰۰ لیتری (با قطر ۸۰ سانتیمتر و ارتفاع ۶۰ سانتیمتر) حاوی ۲۸۰ لیتر آب فیلتر شده دریا به تعداد ۴۰ عدد میگو در قالب ۷ تیمار و هر تیمار شامل سه تکرار بصورت کاملاً تصادفی ذخیره سازی شدند. در طول دوره آزمایش، یک روز در میان ده درصد از آب مخازن قبل از غذادهی نوبت صبح سیفون می شد تا مدفوع و باقیمانده های غذایی از تانکها خارج گردد. بطور میانگین آب مخازن در طول دوره پرورش دارای شوری  $0.5 \pm 0.5$  ppt،  $3.6/5$  pH،  $7/8-8/5$  اکسیژن محلول  $0.4 \pm 0.5/5$  و دمای  $22 \pm 30-32$  درجه سانتیگراد بود. میگوها در طول ۶۰ روز دوره پرورش روزانه به میزان تقریباً ۶ درصد وزن بدن و در سه وعده ( $3:00-8:00$ ،  $14:30-14:00$  و  $18:30-18:00$ ) غذادهی شدند. پس از سپری شدن دوره ی مورد نظر، میگوهای هر یک از تیمارها به طور جداگانه در مواجهه با استرس شوری پایین (۵ ppt) و شوری بالا (۵۵ ppt) قرار گرفتند (۲۴). برای هر آزمایش ده میگو با میانگین وزنی (گرم)  $0.16 \pm 0.09$  از هر تانک به طور تصادفی انتخاب شدند. پس از تنظیم شوری مورد نظر، این تست در دو تکرار برای هر یک از تیمارها صورت گرفت. برای دستیابی به شوری های مورد نظر آب شیرین از آب شهر تأمین و توسط هوادهی کلرزدایی شد و آب شور نیز با اضافه کردن نمک (NaCl)

در مخازن ذخیره آب شور و شیرین ذخیره گردید و به تدریج به تانک‌های هر تیمار اضافه شد و میگوها به مدت ۲۴ ساعت در معرض این شوری ها قرار گرفتند. میزان تلفات و بقای میگوهای مورد آزمایش در طول این مدت ثبت و در نهایت درصد بازماندگی با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد بازماندگی} = \frac{\text{تعداد اولیه میگوهای مواجه شده با استرس در هر تانک} - \text{تعداد میگوهای تلف شده در طول دوره مواجه با استرس در هر تانک}}{\text{تعداد اولیه میگوهای مواجه شده با استرس در هر تانک}} \times 100$$

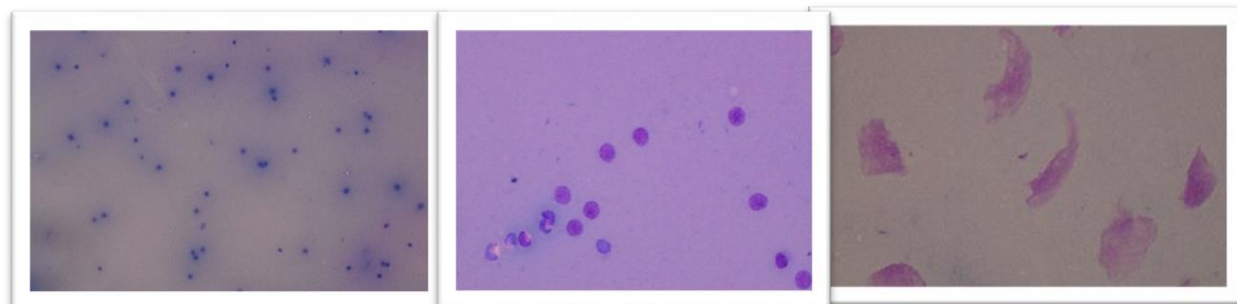
### نمونه برداری همولنف و اندازه گیری سنجش فاکتورهای ایمنی

برای همولنف گیری از سرنگ انسولین یک میلی لیتری و حاوی ۰/۲ میلی لیتر ماده ضد انعقاد (شامل ۱۰ میلی مول Tris-HCl، ۲۵۰ میلی مول ساکارز و ۱۰۰ میلی مول سیترات سدیم) با pH=۷/۶ و دمای ۴ درجه سانتی گراد استفاده شد. سپس به میزان ۰/۲ میلی لیتر همولنف (به نسبت ۱:۱ همولنف با محلول ضدانعقاد) از هر میگو (از هر تیمار ۳ نمونه همولنف) گرفته شد. رنگ ترکیب همولنف با ماده ضد انعقاد در مجاورت هوا، از حالت بیرنگ به رنگ آبی آسمانی تغییر کرد (۲۲). محتویات سرنگ جهت انتقال به آزمایشگاه شیلات دانشگاه هرمزگان، بلافاصله به داخل یک ویال ۱/۵ میلی لیتری استریل منتقل و برای محاسبه شمارش کل (THC) و افتراقی هموسیت ها (DHC) قبل از قرار دادن محلول حاوی ماده ضد انعقاد و همولنف در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد، میزان ۱۰۰ میکرولیتر توسط سمپلر برداشته شده و داخل میکروتیوب دیگری که حاوی ۱۰۰ میکرولیتر بافر فرمالین ۱۰ درصد بود قرار داده شد. پس از ۳۰ دقیقه همولنف فیکس شده قابلیت نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد را برای مدت کوتاهی (حداکثر ۲۴ ساعت) دارد.

برای شمارش کل هموسیت‌ها، از هر نمونه مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول ماده ضد انعقاد و همولنف برداشته و بوسیله لام نئوبار و لامل سنگی توسط میکروسکپ الکترونی مدل Nikon ECLIPSE E200 با بزرگنمایی ۴۰X شمارش صورت گرفت. پس از شمارش قسمت های مشخص شده در لام نئوبار تعداد هموسیت کل با استفاده از فرمول ذیل و احتساب ضریب رقت که در این آزمایش ۱۰<sup>۴</sup> بود، برآورد گردید. به این ترتیب تعداد هموسیت ها در یک میلی لیتر یا یک سی سی از نمونه به دست آورده شد (۲۵).

$$\text{تعداد هموسیت کل} = \left( \frac{\text{تعداد سلول های شمارش شده}}{\left( \frac{\text{نسبت خانه های شمارش شده}}{\text{حجم رقت نمونه}} \right) \left( \frac{\text{حجم مخلوط اصلی نمونه}}{\text{حجم رقت نمونه}} \right)} \right)$$

جهت شمارش افتراقی هموسیت ها که شامل شمارش سلول های هیالینه، سمی گرانولار و لارج گرانولار می باشد (شکل ۱) ابتدا ۳۰ میکرولیتر از نمونه همولنف و ماده ضد انعقاد روی لام قرار داده شد. سپس با کمک لام دیگر با زاویه ۴۵ درجه گسترش تهیه گردید. پس از خشک شدن گسترش، لام به مدت ۳۰ ثانیه جهت فیکس شدن داخل متانول خالص قرار داده شد. در نهایت لام ها پس از خشک شدن به روش می گرانوالد گیمسا رنگ آمیزی شدند (۲۶). سپس تعیین درصد هموسیت های میگو با توجه به اندازه، تعداد گرانول های موجود در سیتوپلاسم، نسبت هسته به سیتوپلاسم و نوع رنگ بندی سیتوپلاسم سلولها استفاده محاسبه گردید (۲۵).



شکل ۱- الف: سلول های هیالینه، ب: سلول های سمی گرانولار ج: سلول های لارج گرانولار

جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولوموگروف اسمیرنوف استفاده گردید و پس از آن جهت بررسی همگنی واریانسها از آزمون لون استفاده شد. سپس از آزمون واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) و تست توکی در سطح اعتماد ۹۵ درصد، جهت مقایسه میانگین‌ها و از نرم‌افزار SPSS (24) برای آنالیز آماری استفاده شد و نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (S.D.) بیان شدند.

## نتایج

شمارش کل و افتراقی هموسیت های همولنف میگوهای سفید غربی که با جیره های حاوی سطوح مختلف پودر و عصاره برگ درخت مورینگا غذایی شده بودند در سه حالت نرمال و تحت استرس شوری ۵ و ۵۵ ppt مورد سنجش قرار گرفت و در جداول شماره ۲ و ۳ بیان شده است. شمارش افتراقی هموسیت ها شامل سلول های هیالینه، سمی گرانولار و لارج گرانولار بود. شمارش کل هموسیت های همولنف بین گروه شاهد و سایر تیمارها در هر سه حالت نرمال و تحت استرس شوری اختلاف معنی دار آماری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). در شوری نرمال پرورش، تعداد هموسیت های کل همولنف میگوی سفید غربی در تیمار عصاره برگ مورینگا ۰/۵ (g/kg) به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود ( $p < 0.05$ ). همچنین در شرایط استرس شوری پایین و در استرس شوری بالا بیشترین میزان هموسیت کل به ترتیب در تیمارهای گروه کنترل و عصاره برگ مورینگا ۱/۰ (g/kg) دیده شد که به طور معنی داری از سایر تیمارها بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). همچنین میزان هموسیت کل در شرایط استرس شوری پایین در تمامی تیمارهای تغذیه ای به طور معنی داری کمتر از سایر تیمارها بیشتر بود ( $p < 0.05$ ). نتایج شمارش افتراقی هموسیت های میگوهای سفید غربی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر و عصاره برگ درخت مورینگا نشان داد که تعداد سلول های هیالینه در شرایط شوری عادی و شوری ۵ ppt بین گروه کنترل و سایر تیمارهای تغذیه ای دارای اختلاف معنی دار آماری بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین تعداد این سلول ها در شرایط شوری نرمال مربوط به تیمار عصاره برگ مورینگا ۱/۰ (g/kg) و در شرایط استرس شوری پایین مربوط به گروه کنترل بود. همچنین در تمامی تیمارها تعداد سلول های هیالینه در استرس شوری بالا به طور معنی داری کمتر از شرایط شوری عادی و شوری ۵ ppt بود ( $p < 0.05$ ).

جدول ۲- شمارش کل (THC) هموسیت های میگوی وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر و عصاره برگ مورینگا اولیفرای در حالت طبیعی پرورش و تحت استرس شوری. از آزمون واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) برای آنالیز داده ها استفاده شد (Mean  $\pm$  SD; n=3). حروف کوچک لاتین غیرمشابه بالای اعداد هر ستون نشانه معنی دار بودن تفاوت بین تیمارها در هر شوری می باشد ( $p < 0.05$ ). حروف بزرگ لاتین غیرمشابه بالای اعداد هر ردیف نشانه معنی دار بودن تفاوت بین شوری ها در هر تیمار می باشد ( $p < 0.05$ ).

تیمارها	شوری نرمال	شوری ppt5	شوری ppt55
شاهد	۳۲۵۳۳۳۳ $\pm$ ۱۸۹۶ <sup>cd</sup>	۱۹۰۰۰۰۰ $\pm$ ۴۸۵۰۷۷ <sup>a</sup>	۳۵۴۶۶۶۶ $\pm$ ۱۳۵ <sup>b</sup>
پودر برگ مورینگا ۲۵ (g/kg)	A ۳۳۸۶۶۶۶ $\pm$ ۶۰۶ <sup>cd</sup>	B ۷۲۰۰۰۰ $\pm$ ۲۲۵۱۶۶ <sup>b</sup>	A ۲۳۳۳۳۳۳ $\pm$ ۳۰۰ <sup>bc</sup>
پودر برگ مورینگا ۵۰ (g/kg)	A ۵۷۱۳۳۳۳ $\pm$ ۲۵۰ <sup>bc</sup>	B ۷۴۰۰۰۰ $\pm$ ۱۹۰۷۸۷ <sup>b</sup>	B ۱۲۲۰۰۰۰ $\pm$ ۱۲۳ <sup>d</sup>
پودر برگ مورینگا ۱۰۰ (g/kg)	A ۶۴۱۳۳۳۳ $\pm$ ۱۱۷ <sup>b</sup>	B ۸۳۰۰۰۰ $\pm$ ۳۹۸۳۷۱ <sup>b</sup>	B ۱۸۶۳۳۳۳ $\pm$ ۱۰۱ <sup>cd</sup>
عصاره برگ مورینگا ۰/۲۵ (g/kg)	A ۶۶۴۳۳۳۳ $\pm$ ۹۸۷ <sup>b</sup>	B ۶۵۰۰۰۰ $\pm$ ۲۰۲۹۷۷ <sup>bc</sup>	B ۷۹۳۳۳۳ $\pm$ ۲۰۵ <sup>d</sup>
عصاره برگ مورینگا ۰/۵ (g/kg)	B ۹۹۵۳۳۳۳ $\pm$ ۱۵۴ <sup>a</sup>	C ۱۷۰۰۰۰ $\pm$ ۶۵۵۷۴ <sup>c</sup>	A ۱۷۷۰۰۰۰ $\pm$ ۲۷۵ <sup>cd</sup>
عصاره برگ مورینگا ۱/۰ (g/kg)	B ۳۱۱۶۶۶۶ $\pm$ ۷۷۴ <sup>d</sup>	C ۹۴۳۳۳۳ $\pm$ ۳۰۵۶۶۸ <sup>b</sup>	A ۷۴۸۳۳۳۳ $\pm$ ۵۷۵ <sup>a</sup>

تعداد سلول های سمی گرانولار دارای اختلاف معنی دار آماری بین گروه های مختلف تغذیه شده با برگ گیاه مورینگا در تمامی شرایط پرورش اعم از شوری عادی و تحت استرس شوری بالا و پایین بود ( $p < 0.05$ ). تعداد سلول های سمی گرانولار در شرایط شوری عادی به طور معنی داری از سایر تیمارها کمتر بود ( $p < 0.05$ ). در شرایط استرس شوری پایین، بیشترین تعداد سلول های سمی گرانولار در تیمارهای حاوی پودر برگ مورینگا و تیمار عصاره برگ مورینگا ۰/۵ (g/kg) مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در شوری ppt ۵۵ تیمارهای حاوی ۱۰۰ (g/kg) پودر برگ مورینگا و ۰/۵ (g/kg) عصاره برگ مورینگا به طور معنی داری دارای بیشترین تعداد سلول های سمی گرانولار بودند ( $p < 0.05$ ). تعداد سلول های لارج گرانولار بین گروه های مختلف تغذیه ای در تیمارهای مختلف شوری دارای اختلاف معنی دار آماری بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین تعداد سلول های لارج گرانولار در شرایط شوری نرمال و شوری پایین در گروه کنترل و بیشترین تعداد این سلول ها در حالت استرس شوری بالا در تیمار عصاره برگ مورینگا ۰/۵ (g/kg) مشاهده شد ( $p < 0.05$ ).

## بحث

در دهپایان، تعداد هماتوسیت ها می تواند توسط پارامترهای محیطی از جمله دما، شوری، اکسیژن محلول، pH و آمونیاک تغییر کند. همچنین نوسانات عوامل محیطی طبیعی بر رشد و بقای میگوها تأثیر می گذارد (۲۷). در محیط پرورش، شوری یکی از مهمترین عوامل مؤثر بر رشد، بقاء، فیزیولوژی، ایمنولوژی و مصرف غذای میگو است (۲۸). سطح استرس و سازگاری فیزیولوژیکی میگوهای خانواده پنائیده به شوری های مختلف را می توان از طریق ظرفیت تنظیم اسمزی آنها بررسی کرد که نشان دهنده تفاوت بین همولنف و اسمولالیتیه متوسط است (۲۹). برگ درخت *M. oleifera* دارای ترکیبات فعال زیستی فراوانی می باشد و از این رو پتانسیل بالایی جهت استفاده به عنوان مکمل غذایی در آبی پروری دارد. در این تحقیق اثرات سطوح مختلف پودر و عصاره برگ این گیاه بر عملکرد فاکتورهای ایمنی همولنف میگوی سفید غربی *L. vannamei* در مواجهه با استرس شوری ارزیابی شد.

در تحقیق حاضر در شرایط شوری نرمال و همچنین استرس شوری بالا، سطوح مختلف پودر و عصاره برگ گیاه *M. oleifera* باعث افزایش معنی دار تعداد هموسیت های کل همولنف میگوی سفید غربی شد. به طوریکه در شرایط شوری نرمال و همچنین استرس شوری بالا تیمارهای

حاوی سطوح مختلف پودر و عصاره برگ عصاره ۰/۵ و ۱/۰ (g/kg) برگ *M. oleifera* دارای بیشترین تعداد هموسیت کل بودند. در تحقیقی که در مورد تأثیر کاهش تدریجی شوری بر روی پارامترهای همولنف میگوی سفید غربی بالغ صورت گرفت، سطح THC با کاهش شوری از ppt۴۰ به ppt۳۰ کاهش یافت، در شوری ppt۲۵ افزایش و در شوری های ppt۲۰ ppt۱۵ و ppt۱۰ به سطوح اولیه رسید (۳۰). افزایش قابل توجه در سطح THC در شوری ppt ۲۵ ممکن است به دلیل نرخ تکثیر هموسیت ها، یا مهاجرت THC از سایر بافت ها به مایعات گردش خون یا تعادل اسمز بین همولنف و محیط باشد (۳۱). در بررسی دیگری در میگوی *F. paulensis*، کاهش شوری از ppt۳۰ به ppt ۱۵ در کوتاه مدت (۱۰ ساعت) اگرچه سطوح THC را از ۳۴ به ۲۲ درصد کاهش داد، اما سطح THC پس از ۷ روز مجدداً افزایش یافت (۳۲). تحقیقات همچنین نشان داده است که تعداد کل هموسیت های میگو به روشی وابسته به زمان با کاهش شوری کاهش می یابد که می تواند باعث ضعیف شدن سیستم ایمنی و کاهش مقاومت میگو در برابر عفونت ها شود (۳۳). همچنین تغییرات شوری (افزایش یا کاهش شوری) می تواند باعث تغییر فعالیت های THC و PO در میگوی *Marsupenaeus japonicus* شود (۲۱). شوری از عوامل محیطی مهمی می باشد که بر پاسخ های ایمنی در *M. japonicus* تأثیر می گذارد. هرچه *M. japonicus* از شوری اولیه حفظ شود، پاسخ های ایمنی میگوها ضعیف تر است. نتیجه مطالعه حاضر هم سو با نتایج تحقیقات صورت گرفته نشان داد که تغییرات شوری در تیمارهای شاهد و حاوی پودر و عصاره برگ گیاه *M. oleifera* باعث کاهش میزان هموسیت کل شد.

در مطالعه دیگری، کنسانتره پروتئین ذرت تخمیری (FCPC) علیرغم اینکه باعث افزایش بقاء میگوها در مواجهه با استرس شوری، اثر معنی داری بر تعداد THC در میگوی سفید غربی نداشت (۳۴). همچنین در میگوی سفید غربی تغذیه شده با رژیم های غذایی حاوی مکمل آستاگزانتین که با آب شوری کم سازگار شدند، غلظت گلوکز، لاکتات، هموسیانین و تعداد کل هموسیت های همولنف میگو به طور قابل توجهی در تیمار حاوی ۸۰ میلی گرم در کیلوگرم مکمل آستاگزانتین در مقایسه با سایر جیره ها افزایش یافت (۳۵).

در مطالعه حاضر پودر و عصاره برگ مورینگا سبب افزایش تعداد سلول های هیالین در شرایط شوری نرمال و استرس شوری بالا شد. انواع هموسیت ها، به ویژه سلول های هیالین، در بین گونه های مختلف سخت پوستان، از نظر ریختی، تعداد و عملکرد با هم تفاوت دارند (۳۶). به عنوان مثال در میگوی *P. japonicus* تعداد سلول های هیالین کمتر از سایر ده پایان می باشد (۳۷). سلول های هیالین در میگوی *M. rosenbergii* بر خلاف میگوهای خانواده پناپیده ۷۰ درصد از کل هموسیت ها را تشکیل می دهند (۳۸). در تحقیق حاضر کمترین تعداد سلول های سمی گرانولار در حالت شوری نرمال در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین پودر و عصاره برگ *M. oleifera* در هر دو حالت استرس شوری بالا و پایین موجب افزایش تعداد سلول های سمی گرانولار شد. این نتایج نشان دهنده تأثیر مثبت پودر و عصاره برگ *M. oleifera* بر میزان سلول های سمی گرانولار و احتمالاً سیستم ایمنی میگو در شرایط شوری نرمال و استرس شوری می باشد. میزان سمی گرانولارها در *Homarus americanus* و خرچنگ، *Loxorhynchus grandis* همانند *P. indicus* بالاترین مقدار است که به بیش از ۶۰٪ از تعداد کل سلول می رسد (۳۹). سمی گرانولارها با محتوای بالای پروتئین، آنزیم و گرانول ها، به عنوان یک فعال کننده اولیه سیستم ایمنی در میگوی سفید غربی عمل می کنند. در تحقیقی که اثر بتاگلوکان را در نسبت های ۰/۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد بر سیستم ایمنی و هموسیت های میگوی سفید غربی مورد مطالعه قرار دادند، مشخص شد که جیره حاوی بتاگلوکان باعث افزایش معنی داری تعداد هموسیت کل و سلول های سمی گرانولار گردید که این افزایش بیانگر این بود که بتاگلوکان یک محرک ایمنی قوی و موثر برای میگو می باشد (۲۲). در نتیجه بالا بودن میزان سلول های سمی گرانولار در میگوهای مورد آزمایش در این مطالعه می تواند نشان دهنده عملکرد بهتر سیستم ایمنی ذاتی میگو باشد (۴۰).

نتیجه گیری کلی

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از پودر و عصاره برگ گیاه *M. oleifera* اثرات مثبتی بر عملکرد فاکتورهای ایمنی همولنف میگوی سفید غربی در مواجهه با استرس شوری دارد و می توان آن را به عنوان یک مکمل مناسب برای بهینه سازی رژیم غذایی میگوی سفید غربی پرورشی پیشنهاد کرد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از جناب مهندس رضازاده مسؤل باغبانی دانشگاه هرمزگان جهت حمایت همه جانبه ایشان در تهیه نمودن برگ درخت مورینگا، جناب آقای علی حاتمی، مدیریت محترم کارخانه خوراک آبزیان و مزارع پرورش میگوی حاتمی و سرکار خانم دکتر مقدم جهت همکاری بی دریغ و هماهنگی های لازم در خصوص در اختیار قرار دادن اجزاء جیره غذایی و تهیه لارو مورد نیاز این تحقیق و در نهایت از جناب آقایان مهندس سیرپور و مهندس درویشی مدیریت و معاونت کارگاه آموزش و بازسازی ذخایر آبزیان کلاهی جهت فراهم نمودن بستر لازم در مدت اجرای تحقیق ابراز مینمایند.

**تاییدیه های اخلاقی:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

**تعارض منافع:** موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

**منابع مالی/حمایت ها:** این پژوهش با حمایت های مالی دانشگاه هرمزگان صورت پذیرفته است.

### منابع

1. Dorber M, Verones F, Nakaoka M, Sudo K. Can we locate shrimp aquaculture areas from space?—A case study for Thailand. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*. 2020;20:100416.
2. IMARC. Shrimp Market: Global Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity, and Forecast 2020–2025. 2020.
3. Li N, Zhao Y, Wang R, Shen M, Li Y. Effects of high salinity on digestive and immunity-related enzymes in *Litopenaeus vannamei*. *Acta Ecologica Sinica*. 2018;38(4):1411.
4. FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2019. Contributing to Food Security and Nutrition for All 2019 (Rome: FAO):(p. 56, p. 72).
5. Li E, Chen L, Zeng C, Chen X, Yu N, Lai Q. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture*. 2007;265(1-4):385-90.
6. Chen K, Li E, Xu C, Wang X, Li H, Qin J. Growth and metabolomic responses of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to different dietary fatty acid sources and salinity levels. *Aquaculture*. 2019;499:329-40.
7. Zhang P, Zhang X, Li J, Gao T. Effect of salinity on survival, growth, oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture research*. 2009;40(12):1419-27.
8. Liu Y, Wang W, Wang A, Wang J, Sun R. Effects of dietary vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) exposed to acute salinity changes. *Aquaculture*. 2007;265(1-4):351.
9. Pante MJR. Influence of environmental stress on the heritability of molting frequency and growth rate of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*: University of Houston-Clear Lake; 1990.
10. Li H, Xu C, Zhou L, Dong Y, Su Y, Wang X. Beneficial effects of dietary  $\beta$ -glucan on growth and health status of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity. *Fish & shellfish immunology*. 2019;91:315-24.



11. Shen M, Cui Y, Wang R, Dong T, Ye H, Wang S. Acute response of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to high-salinity reductions in osmosis, metabolism, and immune-related enzyme activities. *Aquaculture International*. 2020;28(1):31-9.
12. Choi C, An K, An M. Molecular characterization and mRNA expression of glutathione peroxidase and glutathione S-transferase during osmotic stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2008;149(3):330-7.
13. Wang F, Chen J. Effect of salinity on the immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*. *Fish & Shellfish Immunology*. 2006;20(5):671-81.
14. Adedapo A, Falayi O, Oyagbemi A. Evaluation of the analgesic, anti-inflammatory, anti-oxidant, phytochemical and toxicological properties of the methanolic leaf extract of commercially processed *Moringa oleifera* in some laboratory animals. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*. 2015;26(5):491-9.
15. Shourbela R, El-Hawarry W, Am A, Abo-Kora S. Potentiality of *Moringa oleifera* aqueous extract as a growth modulator and antistress in acute hypoxic Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2020;19(1):67-84.
16. Kaleo IV, Gao Q, Liu B, Sun C, Zhou Q, Zhang H. Effects of *Moringa oleifera* leaf extract on growth performance, physiological and immune response, and related immune gene expression of *Macrobrachium rosenbergii* with *Vibrio anguillarum* and ammonia stress. *Fish & shellfish immunology*. 2019;89:603-13.
17. Adewumi A. *Moringa oleifera* (Lam) as a Protein Supplement in *Clarias gariepinus* Diet. *Advances in Research*. 2014;2(11):580-9.
18. Brilhante RSN, Sales JA, De Souza Sampaio CA, Barbosa FG, De Araoju Neto Paiva M, De Melo Guedes GM. *et al.* *Vibrio* spp. from *Macrobrachium amazonicum* prawn farming are inhibited by *Moringa oleifera* extracts. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 2015;8(11):919-22.
19. David-Oku E, Anani E, Ntaji O, Edide R, Obiajunwa J, Ene-Obong H. Growth performance and nutritional impacts of *Moringa oleifera* leaf and shrimp meals supplemented diets on *Clarias gariepinus* (African catfish). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 2018;6(5):23-30.
20. El-Kassas S, Abdo S, Abosheasha W, Mohamed R, Moustafa E, Helal M. Growth performance, serum lipid profile, intestinal morphometry, and growth and lipid indicator gene expression analysis of mono-sex Nile tilapia fed *Moringa oleifera* leaf powder. *Aquaculture Reports*. 2020;18:100422.
21. Yu Z, Li C, Guan Y. Effect of salinity on the immune responses and outbreak of white spot syndrome in the shrimp *Marsupenaeus japonicus*. *Ophelia*. 2003;57(2):99-106.
22. Yang C, Chen S, Lu C, Chen S, Lai K, Liao W. Effect of mushroom beta glucan (MBG) on immune and haemocyte response in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Research and Development*. 2014;5(6).
23. Arshadi M, Attard T, Lukasik R, Brncic M, Da Costa Lopes A, Finell M. Pre-treatment and extraction techniques for recovery of added value compounds from wastes throughout the agri-food chain. *Green Chemistry*. 2016;18(23):6160-204.
24. Akbarzadeh A, Pakravan S, Karimi K, Abkenar K, Nimvari M, Niroomand M. Utilization of date seed meal in the diet of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*): growth performance, body and fatty acid composition, biochemical parameters, and tolerance of salinity stress. *Aquaculture International*. 2019;27(3):647-61.
25. Song Y, Yu C, Lien T, Huang C, Lin M. Haemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with Taura syndrome virus. *Fish & Shellfish Immunology*. 2003;14(4):317-31.
26. Kakoolaki S, Sharifpour I, Soltani M, Ebrahimzadeh M, Mirzargar S, Rostami M. Selected morphochemical features of hemocytes in farmed shrimp, *Fenneropenaeus indicus* in Iran. 2010; 219-232.

27. Verghese B, Radhakrishnan E, Padhi A. Effect of environmental parameters on immune response of the Indian spiny lobster, *Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758). *Fish & Shellfish Immunology*. 2007;23(5):928-36.
28. Lu P, Ling J, Jing M. Effects of salinity and pH on immune parameters of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Shellfish Research*. 2005;24(4):1223-7.
29. Sang H, Fotedar R. Growth, survival, haemolymph osmolality and organosomatic indices of the western king prawn (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896) reared at different salinities. *Aquaculture*. 2004;234(1-4):601-14.
30. Pazir M, Ajdari A, Ghawampour A. The effect of gradually decline of salinity on haemolymph parameters of adult shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*. 2020;6(1):19-28.
31. Vargas F, Hinojosa P, Portillo G, Magallon F. Influence of temperature and salinity on the yellowleg shrimp, *Penaeus californiensis* Holmes, prophenoloxidase system. *Aquaculture Research*. 1998;29(8):549-53.
32. Perazzolo L, Gargioni R, Ogliari P, Barracco M. Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress. *Aquaculture*. 2002;214(1-4):19-33.
33. Esparza-Leal H, Ponce-Palafox J, Cervantes C, Valenzuela-Quiñónez W, Luna-González A, López-Álvarez E. Effects of low salinity exposure on immunological, physiological and growth performance in *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*. 2019;50(3):944-50.
34. Novriadi R, Herawati V, Prayitno S, Windarto S, Mertz K, Nguyen H. Effect of fermented corn protein concentrate on growth performance, haemocyte counts, histological structure of hepatopancreas and intestinal condition of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture, Fish and Fisheries*. 2022 Apr;2(2):82-93.
35. Flores M, Díaz F, Medina R, Re Ad, Licea A. Physiological, metabolic and haematological responses in white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles fed diets supplemented with astaxanthin acclimated to low-salinity water. *Aquaculture research*. 2007;38(7):740-7.
36. Bachère E, Mialhe E, Rodriguez J. Identification of defence effectors in the haemolymph of crustaceans with particular reference to the shrimp *Penaeus japonicus* (Bate): prospects and applications. *Fish & Shellfish Immunology*. 1995;5(8):597-612.
37. Tsing A, Arcier J, Brehélin M. Hemocytes of penaeid and palaemonid shrimps: morphology, cytochemistry, and hemograms. *Journal of Invertebrate Pathology*. 1989;53(1):64-77.
38. Vázquez L, Pérez A, Millán D, Agundis C, Martin G, Cooper E. Morphology of hemocytes from the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Morphology*. 1997;234(2):147-53.
39. Hose J, Martin G, Gerard A. A decapod hemocyte classification scheme integrating morphology, cytochemistry, and function. *The Biological Bulletin*. 1990;178(1):33-45.
40. Cerenius L, Jiravanichpaisal P, Liu H, Soderhall I. Crustacean immunity. *Invertebrate immunity*. 2010:239-59.

## Effects of *Moringa oleifera* leaf powder and extract on the performance of hemolymph factors of *Litopenaeus vannamei* in the face of salinity stress

Seyedeh Yalda Baniesmaeili<sup>1</sup>, Arash Akbarzadeh<sup>1\*</sup>, Gholamhossein Riazi<sup>2</sup>, Farzin Abdollahi<sup>3</sup>, Mohammad Niroomand<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

<sup>2</sup>Institute Biochemistry and Biophysics (IBB), University of Tehran, Tehran, Iran.

<sup>3</sup>Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

### ABSTRACT

In this study, the effects of powder and leaf extract of *Moringa oleifera* on hemolymph factors of *Litopenaeus vannamei* in response to salinity stress were evaluated. After 8 weeks of feeding with powder (25, 50 and 100g / kg) and extract (0.25, 0.5 and 0.1 g/kg) leaves of Moringa and control treatment without Moringa, all treatments were exposed to short-term salinity stress (5 and 55 ppt). There was a statistically significant difference in total and differential count of homocytes in different dietary treatments in all three normal conditions and under salinity stress of 5 and 55 pp ( $p < 0.05$ ). Under normal conditions and high salinity, shrimps fed with Moringa leaf extract showed higher number of homocytes than other treatments. In stress-free conditions, the number of semi-granular cells in powder and extract treatments was higher than the control group. At 5 ppt, Moringa powder treatments had higher semi-granular and at 55 ppt salinity, the leaf powder group (100 g/kg) and the leaf extract (0.25 g/kg) showed the highest values, respectively. Overall, the results of this study showed the positive effects of using Moringa leaf powder and extract on innate immune system function and exposure to salinity stress in shrimp.

**KEYWORDS:** *Moringa oleifera*, Stress, Hemolymph, Hemocyte, *Litopenaeus vannamei*

### ARTICLE TYPE

Original Research

### ARTICLE HISTORY

Received: 01 Sept 2022

Accepted: 06 Dec 2022

ePublished: 21 Dec 2022

\* Corresponding Author:

Email address: akbarzadeh@hormozgan.ac.ir

© Published by Tarbiat Modares University

eISSN: 2476-6887

pISSN: 2322-5513