مقاله علمی – پژوهشی:

تأثیر عصاره الکلی برگ درخت چندل (*Rhizophora mucronata*) بر عملکرد رشد، بازماندگی، ترکیبات بیوشیمیایی میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

جمشید اسلامی[۱]، علیرضا سالارزاده*[۱]، مازیار یحیوی[۱]، فلورا محمدی‌زاده[۱]

*reza1375bandar@yahoo.com

۱- گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱٤۰۳ تاریخ پذیرش: مرداد ۱٤۰۳

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی مقایسه‌ای اثرات عصاره الکلی برگ درخت چندل (*Rhizophora mucronata*) در جیره غذایی بر عملکرد رشد، بازماندگی، ترکیبات بیوشیمیایی میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) صورت پذیرفت. آزمایش با استفاده از ۶۰۰ عدد میگو (۲ گرم) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار و ۵۰ عدد میگو در هر تکرار و به مدت ۶۰ روز انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره پایه (کنترل)، ۲- جیره پایه + ۱ میلی گرم عصاره اتانولی برگ چندل، ۳- جیره پایه + ۲/۵ میلی گرم عصاره اتانولی برگ چندل و ۴- جیره پایه + ۵ میلی گرم عصاره اتانولی برگ چندل بودند. در پایان دوره آزمایش برخی شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی و بقاء سنجش گردید. بر اساس نتایج حاصله، افزایش وزن بدن، افزایش رشد روزانه و ضریب رشد ویژه در تیمارهای حاوی ۱، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره اتانولی برگ چندل نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۵). بیشترین طول کاراپاس به صورت معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌های آزمایش در تیمار ۲/۵ میلی‌گرم سنجش گردید (P<۰/۰۵). همچنین درصد بقاء در همه تیمارهای عصاره نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). بیشترین میزان پروتئین خام لاشه و کم ترین میزان رطوبت در ۲/۵ میلی گرم مشاهده شد. کمترین میزان لایزوزیم در تیمار شاهد وبیشترین میزان لایزوزیم در تیمار ۵ میلی‌گرم و سپس در تیمار ۱ و ۲/۵ میلی‌گرم مشاهده گردید (P<۰/۰۵). بیشترین میزان فنول‌اکسیداز در تیمار ۱ میلی‌گرم مشاهده گردید (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج بدست آمده بیشترین میزان پروتئین و آلبومین در تیمار ۲/۵ و ۵ میلی گرم و کم ترین میزان آن در تیمار شاهد و ۱ میلی‌گرم مشاهده گردید (P<۰/۰۵). در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار ۲/۵ میلی گرم عصاره برگ چندل در جیره تاثیر مثبتی بر برخی از شاخص های رشد، بیوشیمیایی و بقاء میگوی پاسفید داشت.

لغات کلیدی: درخت چندل، میگوی پاسفید غربی، رشد، کیفیت لاشه، بیوشیمیایی همولنف

*نویسنده مسئول

Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

مقدمه

صنعت آبزی‌پروری دارای نقش مهمی در اقتصاد ایران است و طی سال‌های اخیر رشد سریعی نشان داده است و میگوی پرورشی ایران از گونه‌های با ارزش صنعت صادرات است. در اواسط دهه ۱۹۷۰ همگام با رشد صنعت آبزی‌پروری و افزایش تقاضا در بازار بین‌المللی، در ایران نیز صنعت پرورش میگو از اواخر دهه شصت و عمدتاً در نواحی جنوب کشور گسترش یافت (Abdulhai *et al.*, 2019). از میان گونه‌های مهم صنعت میگو، گونه پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) با ویژگی‌های مناسب برای سیستم‌های آبزی پروری متراکم و نیمه متراکم، مهم‌ترین گونه خانواده Penaeidae است که در بسیاری از نقاط پرورش می‌یابد (Khanjani *et al.*, 2016, Chen *et al.*, 2018). همچنین در حال حاضر، تن‌ها گونه پرورشی در ایران است.

یکی از عمده چالش‌هایی که صنعت میگوی در ایران در سال‌های اخیر با آن مواجه بوده، بیماری است. افزایش تراکم و کاهش کیفیت آب باعث گسترش عوامل بیماری‌زا و وقوع بیماری‌های مختلف از جمله بیماری لکه سفید و سندرم مرگ زودرس شده که باعث ایجاد تلفات گسترده و خسارات اقتصادی فراوانی به این صنعت شده است (Abdulhai *et al.*, 2019). همچنین در کنار خساراتی که عوامل بیماری‌زا بر آبزیان برجای می‌گذارند، استرس‌های محیطی همچون دمای آب، شوری، اکسیژن و pH نیز فیزیولوژی میگو را تحت تاثیر قرار می‌دهد و می‌تواند مشکلات جدی از جمله بیماری را به‌دنبال داشته باشد (Chen *et al.*, 2015). معمولاً در آبزی پروری برای پیشگیری و درمان بیماری از داروهای شیمیایی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌گردد که منجر به تجمع در عضله حیوانات تجاری و توسعه سویه‌های مقاوم می‌گردد. همچنین استفاده از واکسن چون میگو فاقد ایمنی اکتسابی بوده، در این گونه ناکارآمد است (Reverter *et al.*, 2020). بنابراین، از جمله راهکارها به منظور پیشگیری از بروز بیماری در کنار امنیت زیستی و رعایت اصول بهداشتی و جلوگیری از ورود یا انتقال عوامل بیماری‌زا به مراکز تکثیر و مزارع پرورش، تقویت سیستم ایمنی و تغذیه مناسب برای مقابله با چالش‌های محیطی و عوامل بیماری‌زاست (Dawood, 2021). در سال‌های اخیر، گیاهان دارویی و ترکیبات زیست فعال آنها از افزودنی‌های رایج در خوراک آبزیان برای تأمین سلامت و بهبود رشد و پاسخ ایمنی است. این ترکیبات طبیعی گیاهی به عنوان محرک‌های رشد غیر آنتی‌بیوتیک و محرک های ایمنی طبیعی، به جای آنتی بیوتیک ها و مواد شیمیایی عمل می‌کنند (Reverter *et al.*, 2017, Giri *et al.*, 2019, Alagawany *et al.*, 2021, Tadese *et al.*, 2022).

درختان مانگرو به عنوان بخش جدایی‌ناپذیر از اکوسیستم‌های حاشیه ساحلی، نقشی حیاتی در حفظ تعادل محیط زیست ایفاء می‌کنند. برگ‌های این درختان علاوه بر تامین غذا و پناهگاه برای موجودات دریایی، به‌واسطه دارا بودن ترکیبات مغذی و فیتوشیمیایی، کاربردهای متعددی در آبزی‌پروری سنتی یافته‌اند. یکی از این کاربردها، استفاده از عصاره برگ مانگرو به عنوان مکمل غذایی برای ارتقاء سلامت و رشد میگوست. گیاهان مانگرو در آبهای جزر و مدی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری با تقریباً ۱۲ خانواده و ۵۰ جنس حضور دارند (Shelar *et al.*, 2012). جنگل‌های مانگرو در ایران در سواحل خلیج فارس و دریای عمان در کرانه استان‌های سیستان و بلوچستان، هرمزگان و بوشهر از خلیج گواتر در چابهار تا خلیج نایبند و دیر در بوشهر گسترش یافته‌اند (Kamrani *et al.*, 2009). چندل (*Rhizopora mucronate*) یکی از انواع مانگرو و متعلق به خانواده Rhizophoraceae بوده که دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی است. آنها دارای متابولیت‌های فعال با برخی ساختارهای شیمیایی جدید بوده که متعلق به گروه‌های شیمیایی متنوعی مانند آلکالوئیدها، فنل ها، استروئیدها، ترپنوئیدها، تانن ها و ... هستند. فلاونوئیدها، فنول‌ها و تانن‌ها ترکیبات متابولیت ثانویه‌ای بوده که اعتقاد بر این است که مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Batool *et al.*, 2014, Gurudeeban *et al.*, 2015, Syaputra *et al.*, 2019, Beulah *et al.*, 2022).

تحقیقات علمی متعددی، تاثیر مثبت عصاره برگ مانگرو را بر سلامت و ترکیبات بیوشیمیایی میگو به‌اثبات رسانده‌اند. در مطالعه Babanjad Abkanar و همکاران (۲۰۱۹) افزودن عصاره برگ حرا (*Avicennia marina*) به غذای

میگو، منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، بهبود جذب مواد مغذی و ارتقاء رشد و عملکرد میگو گردید. Es-haghi Nimvari و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی اثرات ضد التهابی و ضد میکروبی عصاره برگ حرا بر میگوی پا سفید غربی پرداختند و نتایج نشان داد که عصاره مانگرو قادر به کاهش التهاب و تقویت سیستم ایمنی میگو در برابر بیماری‌های عفونی گردید. در مطالعه Avenido و Serrano (۲۰۱۲) در بررسی اثرات عصاره برگ مانگرو (*Sonneratia caseolaris*) بر رشد، قابلیت جذب مواد مغذی و فعالیت های آنزیم‌های هضمی پست لاروهای میگوی ببری سیاه، نتایج نشان داد که میگوهای مورد مطالعه در مقایسه با گروه شاهد از وضعیت مطلوب‌تری برخوردار بودند. Ikhwanuddin و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که تانن موجود در برگ حرا و وجود مواد ضد قارچی در آن می‌تواند باعث عملکرد بهتر رشد در آبزیان از جمله میگو شود. در مطالعه Patel و همکاران (۲۰۱۰) اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی موجود در ترکیبات گیاه حرا باعث کاهش جمعیت میکروبی مضر دستگاه گوارش شده و ضمن کمک به ارتقاء سلامتی و ایمنی، باعث بهبود عملکرد رشد گردید. طبق بررسی‌های صورت گرفته در ارتباط با اثر مثبت عصاره برگ درخت چندل در جیره غذایی میگوهای آب شور، Kadriah (۲۰۲۰) و Saptiani و همکاران (۲۰۱۹) گزارش نمودند که اثر عصاره برگ چندل باعث بهبود میزان بقاء میگوی ببری سیاه در برابر پاتوژن‌ها خواهد گردید. مطالعات بیشتر در خصوص تاثیر عصاره برگ درختان مانگرو عمدتاً بر ماهی انجام شده است (Andriani *et al*., 2018, Dhayanithi *et al*., 2020, Beulah *et al*., 2022). بنابراین، با توجه به مطالعات انجام نشده بر تاثیر گونه چندل بر میگوی پاسفید غربی، مطالعه حاضر به تاثیر استفاده از عصاره برگ درخت مذکور در جیره غذایی میگوی پا سفید غربی بر عملکرد رشد و بازماندگی، ترکیبات بیوشیمیایی بدن، پرداخته است.

مواد و روش کار

این پژوهش در کارگاه آموزش و باز سازی ذخایر آبزیان خلیج فارس بندر کلاهی وابسته به اداره کل شیلات استان هرمزگان به مدت ۶۰ روز انجام گردید. جیره‌های غذایی در قالب ۴ تیمار شامل: یک تیمار کنترل (فاقد عصاره برگ درخت چندل) و سه تیمار تغذیه‌ای (۱، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در هرکیلوگرم غذا) حاوی عصاره گرفته شده با اتانول و بر اساس مطالعه Kannappan و همکاران (۲۰۲۱) تعیین گردید. عصاره اتانولی تهیه شده به خوراک پیش رشد میگوی وانامی (خوراک استاندارد مرحله پیش رشد شرکت فرادانه) که تجزیه‌وتحلیل آن در جدول ۱ ارائه شده است، اسپری گردید و سپس اجازه داده شد تا غذا مجدداً در دمای اتاق خشک گردد. بعد از خشک شدن کامل جیره‌ها، به منظور جلوگیری از آبشویی جیره‌های حاوی عصاره، روغن آفتابگردان بر آنها اسپری شده و بر اساس تیمارهای آزمایشی به صورت جداگانه در ظروف پلاستیکی دربسته بسته بندی شده و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند.

جدول ۱: تجزیه‌وتحلیل شیمیایی و مشخصات خوراک پیش رشد *Litopenaeus vannamei* (شرکت تولیدی غذای آبزیان فرادانه)

Table 1: Chemical analysis and characteristics of *Litopenaeus vannamei* pre-growth feed (Faradaneh Aquafeed Manufacturing Company)

Chemical analysis and characteristics of feed								
Moisture (٪)	Ash (%)	Crude fiber (%)	Crude fat (%)	Crude protein (%)	Feed diameter (mm)	Feed length (mm)	Feed form	Type of feed
10-5	13-8	4-2	11-7	41-39	1.5	2-4	Pellet/extruded	4003

آماده‌سازی عصاره برگ درخت چندل

پس از تأیید اداره کشاورزی مبنی بر جنس درخت چندل، برای تهیه عصاره برگ درخت چندل ابتدا گیاه مورد نظر از سطح منطقه رویشی این درخت در خورآذینی سیریک جمع‌آوری، با آب مقطر شستشو و سپس در محیط کارگاه کلاهی میناب خشک شد. گیاهان خشک‌شده به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس انتقال داده شده و سپس در اون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰

دقیقه مجدداً خشک شده و پس از خشک شدن کامل، با خرد کن آسیاب گردید. نمونه‌های پودر شده از الک ۵۰ میکرون عبور داده شده، سپس پودر برگ درخت چندل جهت عصاره‌گیری به نسبت ۱ قسمت گیاه و ۱۰ قسمت الکل اتانول ۹۶ درصد (نسبت ۱:۱۰)، مخلوط شدند. در نهایت، مخلوط مورد نظر در دمای اتاق به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شده تا عصاره برگ درخت از آن جدا گردد. در طول این مدت روزی یک مرتبه با میله شیشه‌ای مخلوط بهم زده شد. بعد از ۷۲ ساعت مخلوط را از فیلتر کاغذی واتمن شماره ۱ عبور داده تا عصاره استخراج گردد. بعد از استخراج عصاره آن را در بشر قرار داده و اجازه داده شد تا ۲۴ ساعت الکل اضافی زیر هود آزمایشگاه از عصاره تبخیر و جدا گردد. عصاره مورد نظر در دمای یخچال تا زمان اضافه شدن به جیره‌های غذایی در ظروف شیشه‌ای تیره نگهداری گردید. وزن میگوهای مورد استفاده جهت این مطالعه ۲±۰/۲ گرم بود که قبل از شروع آزمایش به مدت دو هفته در شرایط آزمایشگاهی در مخازن فایبرگلاسی ۱۰۰۰۰ لیتری نگهداری و با جیره مخصوص میگو های وانامی مورد تغذیه قرار گرفتند. سپس بعد از تطابق با شرایط آزمایش در مخازن ۳۰۰ لیتری به تعداد ۵۰ قطعه میگو سالم ذخیره سازی شدند (برای هر تیمار سه تکرار منظور گردید). تمامی شرایط زیستی از نظر شوری، درجه حرارت، اکسیژن محلول و نیز اسیدیته در طول آزمایش سنجش گردید (شوری ۳۷±۰/۴ گرم در لیتر، اسیدیته ۷/۹±۰/۲، اکسیژن محلول ۶/۸±۰/۳ میلی گرم بر لیتر و دمای آب ۲۷±۰/۵ درجه سانتی‌گراد). آب مورد استفاده از دریا ابتدا به مخازن بتونی رسوب‌گیر (۱۰۰ متر مکعب) پمپ شده، پس از ترسیب مواد معلق از فیلتر شنی عبور داده و پیش از توزیع بین مخازن پرورشی در مخزن ۳۰۰ لیتری ذخیره گردید. روزانه ۲۵ درصد آب مخازن آزمایشی از طریق سیفون کردن برای برداشت مدفوع و مواد باقی‌مانده تعویض شد. جهت هوادهی از طریق هواده مرکزی و سنگ هوا تأمین گردید. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به مدت ۶۰ روز انجام شده، غذادهی نیز به میزان ۳ درصد وزن بدن و ۳ بار در روز در ساعت‌های ۸، ۱۶ و ۲۴ انجام گردید.

ارزیابی عملکرد رشد و درصد بقاء

برای ارزیابی عملکرد رشد میگوها، در پایان دوره ۶۰ روزه آزمایش بیومتری شدند. همچنین هر پانزده روز در حین آزمایش برای تعیین میزان خوراک نیز بیومتری صورت گرفت (Immanuel *et al*., 2001) و در انتها با استفاده از فرمول‌های رشد ذیل عملکرد رشد ارزیابی گردید:

افزایش وزن بدن (گرم) (WG)[1]= وزن نهایی- وزن اولیه

ضریب رشد ویژه (درصد بر روز) (SGR)[2]= ((وزن نهایی Ln- وزن اولیه Ln)/روزهای پرورش)×۱۰۰

میانگین افزایش طول بدن (میلی‌متر) (TL)[3]= طول نهایی-طول اولیه

افزایش طول کاراپاس (میلی‌متر) (CL)[4]=طول نهایی کارپاس-طول اولیه کارپاس

افزایش عرض کارپاس (میلی‌متر) (CW)[5]= عرض نهایی کارپاس- عرض اولیه کارپاس

میانگین رشد روزانه (درصد) (ADG)[6]=((وزن نهایی-وزن اولیه)/وزن اولیه)/ روزهای پرورش×۱۰۰

بقاء (درصد)=(تعداد نهایی میگوها/تعداد اولیه میگوها) ×۱۰۰

[1] Weight Gain
[2] Specific Growth Rate
[3] Total Length
[4] Carapace Length
[5] Carapace Width
[6] Average Daily Growth

ترکیبات شیمیایی لاشه

در انتهای دوره آزمایش تعداد ۵ عدد میگو از هر تکرار برای آزمایش‌های بیوشیمیایی بدن شامل پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت برداشته، پس از تمیز کردن و بر داشتن سر، دم و پوست تا زمان تجزیه‌وتحلیل لاشه بلافاصله به فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد (Esco Lexicon، A ۶۶۸-۱ UUS، تورنتو، کانادا) منتقل گردید. ترکیبات لاشه در آزمایشگاه با استفاده از روش استاندارد انجام شد (AOAC, 1995). اندازه‌گیری پروتئین خام با استفاده از دستگاه کلدال (اصفهان، شرکت جهان شیمی گستر، مدل PDU 500S)، چربی خام به روش سوکسله با روش استاندارد با کمک دستگاه مدل PSU 500S (اصفهان، شرکت جهان شیمی گستر)، رطوبت با استفاده از آون (Apeldoorn, Memmert UNB400 Oven, Netherlands) در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت و مقدار خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی (تهران، شرکت فن آزما گستر، مدل TPA 13258) در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت صورت پذیرفت.

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف

در پایان دوره آزمایش یک روز قبل از نمونه برداری، تغذیه میگوها متوقف شد. در ابتدا میگوهای گرفته شده به محل نمونه برداری منتقل شده و با آب یخ بیهوش شدند. همولنف‌گیری با سرنگ انسولین از ناحیه شکمی انجام شده و نمونه‌های همولنف در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری شده و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سرم جمع‌آوری شد. نمونه‌های سرم در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تجزیه‌وتحلیل همولنف نگهداری شدند.

سنجش میزان کورتیزول به روش الایزا به وسیله کیت (Monobind, AccuBind ELISA، Illinois، آمریکا) و دستگاه خوانشگر الایزا (BioTek، مدل TM۸۰۰ELx، Vermont، آمریکا) در طول موج ۴۵۰ نانومتر بر حسب ناومتر بر میلی‌لیتر انجام گرفت. گلوکز با استفاده از روش رنگ‌سنجی آنزیمی (GOD-PAP) و با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون (شرکت پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری گردید. کلسترول و تری‌گلیسیرید از طریق روش‌های آنزیمی استاندارد با استفاده از کیت های تجاری پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفتند. پروتئین کل سرم (TP) و آلبومین (ALB) با استفاده از روش بیوره و بروموکرزول گرین تعیین شد (Doumas *et al*., 1971) و در نهایت فعالیت فنل اکسیداز (PO) از طریق تشکیل رنگدانه قرمز DOPA-کروم، پس از اکسیداسیون سوبسترای آنزیمی L-دی هیدروکسی فنیل آلانین به روش فتومتریک اندازه‌گیری شد، برای تعیین مقادیر این شاخص‌ها از فتومتر (AE-600، ERMA، Japan) استفاده شد (Perazzolo and Barracco, 1997).

سنجش فعالیت لایزوزیم همولنف

لایزوزیم با استفاده از سنجش کدورت و بر اساس روش توصیه شده از Ellis (۱۹۹۰) سنجش شد. لایزوزیم سفیده تخم مرغ به عنوان استاندارد استفاده شد (Ellis, 1990). ۱۷۵ میکرولیتر سوسپانسیون *Micrococcus lysodeikticus* در ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۵ مولار با pH ۶/۲ با ۲۵ میکرولیتر نمونه همولنف در پلیت‌های ۹۶ چاهکی، مخلوط شده و جذب نوری پس از ۱ و ۵ دقیقه با استفاده از دستگاه الایزا در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. بافرفسفات خالی به عنوان بلانک استفاده شد.

تجزیه‌وتحلیل آنزیم‌های همولنف

آلکالین فسفاتاز سرم (ALP) با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۴۰۵ نانومتر بر اساس تبدیل P-Nitrophenylphosphate به فسفات و P-Nitrophenol اندازه‌گیری شد (Kind and King, 1954). آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) بر اساس تبدیل آسپارتات به گلوتامات و در نهایت به مالات اندازه‌گیری شد. آلانین ترانس آمیناز (ALT) به روش اسپکتروفتومتری در ۳۴۰ نانومتر بر اساس تبدیل آلانین به گلوتامات و پیروات و در نهایت به لاکتات تعیین شد (Reitman and Frankel, 1957).

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

برای تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها، نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگروف–اسمیرنف بررسی شد. داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 26 مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. جهت تحلیل شاخص‌های مورد بررسی از روش تجزیه‌وتحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده گردید. مقایسه میانگین بین تیمارها نیز از طریق آزمـون دانکـن در سطح اطمینان ٪ ۹۵ صورت گرفت. جداول و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2016 رسم شدند.

نتایج

شاخص‌های رشد

شاخص‌های مرتبط با رشد در مطالعه حاضر نشان داد که افزایش وزن بدن، افزایش رشد روزانه و ضریب رشد ویژه در تیمارهای ۱، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم اختلاف معنی‌داری نداشته، اما نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌داری بیشتر است (P<۰/۰۵). بیشترین میانگین طول بدن در تیمار ۱ و ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و کمترین میانگین طول بدن در تیمار شاهد مشاهده گردید (P<۰/۰۵). در بین داده‌های حاصل از اندازه‌گیری عرض کاراپاس، اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. بیشترین طول کاراپاس هم به صورت معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌های آزمایش در تیمار ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم است (P<۰/۰۵). همچنین درصد بقاء در همه تیمارهای عصاره نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار دارد (P<۰/۰۵) (جدول ۲). در شکل ۱ اختلاف معنی‌دار میزان بقاء بین تیمارهای مختلف آزمایشی نشان داده شده است (P<۰/۰۵) و بین تیمارها، سطوح ۱، ۲ و ۰/۵ درصد نسبت به سایر تیمارها بیشترین میزان پارامتر مذکور را به‌خود اختصاص داده‌اند.

جدول ۲: مقایسه میانگین (± انحراف معیار) شاخص‌های مختلف رشد میگوهای وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره الکلی برگ درخت چندل (*Rhizophora mucronata*) پس از ۶۰ روز آزمایش

Table 2: Comparison of the mean (± standard deviation) in various growth indices of *Litopenaeus vannamei* fed with different levels of ethanol extract of *Rhizophora mucronata* leaves after a 60-day experiment

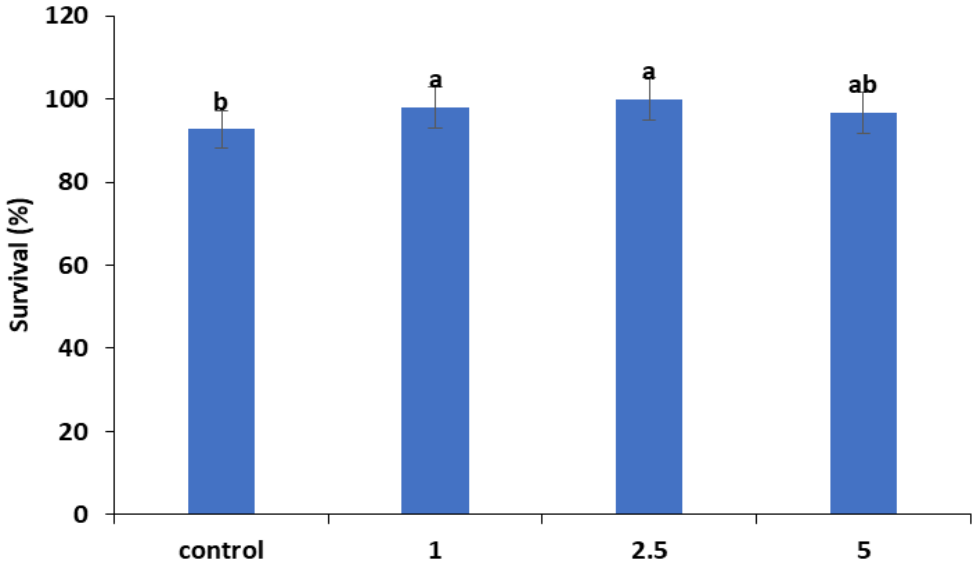
Growth Parameter	Treatment			
	Control	1 mg	2.5 mg	5 mg
Body Weight Gain (g)	2.76 ± 0.13[b]	3.91 ± 0.22[a]	3.84 ± 0.16[a]	3.71 ± 0.18[a]
Average Daily Growth (%)	4.59 ± 0.22[b]	6.52 ± 0.36[a]	6.41 ± 0.27[a]	6.19 ± 0.30[a]
Specific Growth Rate (%/day)	1.53 ± 0.08[b]	1.91 ± 0.10[a]	1.88 ± 0.06[a]	1.87 ± 0.08[a]
Total Length Gain (mm)	16.07 ± 0.95[c]	21.60 ± 1.24[ab]	23.10 ± 0.87[a]	19.43 ± 1.05[b]
Carapace Length Gain (mm)	8.27 ± 0.54[b]	9.57 ± 0.54[b]	11.23 ± 0.40[a]	9.17 ± 0.53[b]
Carapace Width Gain (mm)	3.70 ± 0.24[a]	4.07 ± 0.30[a]	3.93 ± 0.17[a]	3.57 ± 0.24[a]
Survival (%)	92.67 ± 1.76[b]	98.00 ± 1.15[a]	100.00 ± 0.00[a]	96.67 ± 1.33[ab]

حروف غیر همنام در هر سطر نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود (P<0.05)

Different lowercase letters in the same row indicate statistically significant differences (P<0.05)

نتایج شاخص‌های شیمیایی لاشه

بر اساس نتایج به‌دست آمده در جدول ۳، بیشترین میزان پروتئین خام لاشه و کم‌ترین میزان رطوبت در ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده شد (P<۰/۰۵) و بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (P<۰/۰۵). همچنین کم‌ترین میزان چربی لاشه در تیمار ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده شد (P<۰/۰۵). در مقایسه با گروه شاهد، میزان خاکستر در تیمارهای ۱، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بالاتر بوده و تیمار ۱ و ۲/۵ میلی‌گرم نسبت به تیمار ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نیز افزایش بیشتری داشته است (P<۰/۰۵).



شکل ۱: میزان بقای میگو وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره‌های مختلف برگ درخت چندل را پس از ۶۰ روز

Figure 1: survival rate of Litopenaeus vannamei ed with different levels of ethanol extract of Rhizophora mucronata leaves after a 60-day experiment

جدول ۳: مقایسه میانگین (± انحراف معیار) شاخص‌های مختلف بیوشیمیایی بدن میگوهای وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره الکلی برگ درخت چندل (*Rhizophora mucronata*) پس از ۶۰ روز آزمایش

Table 3: Comparison of the mean (± standard deviation) of various Biochemical Indices in *Litopenaeus vannamei* fed with different levels of ethanol extract of *Rhizophora mucronata* leaves after a 60-day experiment

Parameter	Treatment			
	Control	1 mg	2.5 mg	5 mg
Crude Protein (%)	20.07 ± 0.02[b]	20.18 ± 0.02[b]	20.52 ± 0.03[a]	19.98 ± 0.01[b]
Crude Lipid (%)	0.14 ± 0.01[a]	0.15 ± 0.01[a]	0.13 ± 0.01[b]	0.15 ± 0.08[a]
Moisture (%)	77.94 ± 0.01[a]	77.26 ± 0.03[a]	76.95 ± 0.04[b]	77.80 ± 0.02[a]
Ash (%)	1.44 ± 0.01[c]	1.55 ± 0.02[a]	1.54 ± 0.03[a]	1.51 ± 0.02[b]

حروف غیر همنام در هر سطر نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود (P<0.05)

Different lowercase letters in the same row indicate statistically significant differences (P<0.05)

تجزیه‌وتحلیل شاخص‌های همولنف

تجزیه‌وتحلیل برخی از شاخص‌های همولنف میگو در ارتباط با ایمنی و سلامت در جدول ۴ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، شاخص‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آمینوترنسفراز (AST) و تری‌گلیسرید بین گروه‌های مختلف فاقد اختلاف است. کمترین میزان لایزوزیم در تیمار شاهد، بیشترین میزان لایزوزیم در تیمار ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و در تیمار ۱ و ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده‌گردید (P<۰/۰۵). بیشترین میزان فنول‌اکسیداز در تیمار ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده گردید و بین سایر تیمارهای اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج به‌دست آمده، بیشترین میزان پروتئین و آلبومین در تیمار ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و کم‌ترین میزان آن در تیمار شاهد و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده گردید (P<۰/۰۵). همچنین بیشترین مقدار گلوکز و کلسترول مربوط به تیمار شاهد است (P<۰/۰۵).

جدول ۴: مقایسه میانگین (± انحراف معیار) پارامترهای مختلف همولنف میگوهای وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره الکلی برگ درخت چندل (*Rhizophora mucronata*) در شرایط قبل از استرس پس از ۶۰ روز آزمایش

Table 4: Comparison of the mean (± standard deviation) of various hemolymph parameters of *Litopenaeus vannamei* fed with ethanol extract of *Rhizophora mucronata* leaves under pre-stress conditions after a 60-day experiment

Parameter	Treatment			
	Control	1 mg	2.5 mg	5 mg
Total Protein (g\l)	6.14±0.06[b]	5.96±0.87[b]	6.37±0.02[a]	6.27±0.13[b]
Albumin (g/dl)	5.43±0.01[c]	5.49±0.01[c]	6.13±0.00[a]	6.14±0.02[a]
Lysozyme (U/ml/min)	8.35±0.11[c]	8.91±0.02[b]	8.80±0.01[b]	9.22±0.02[a]
Phenol oxidase (U/min/mg protein)	3.92±0.08[b]	4.03±0.01[a]	3.89±0.11[b]	3.93±0.06[b]
Alkaline Phosphatase (U/l)	73.39±1.94[a]	73.60±1.66[a]	72.39±1.29[a]	72.29±1.98[a]
Amino transferase (U/l)	83.09±0.05[a]	83.59±0.32[a]	83.49±0.33[a]	84.62±0.33[a]
Glucose (mg/dL)	52.77±0.12[a]	47.51±0.30[b]	46.71±0.27[c]	47.39±0.34[b]
Cholesterol (mg/dL)	46.32±0.31[a]	43.34±0.66[b]	42.98±0.06[b]	43.49±0.80[b]
Triglycerides (mg/dL)	158.58±2.41[a]	155.33±2.37[a]	159.36±3.33[a]	156.56±2.46[a]
Cortisol (ng/ml)	42.33±2.21[a]	28.01±1.51[b]	19.32±1.45[d]	32.11±2.31[c]

حروف غیر همنام در هر سطر نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود (P<0.05)

Different lowercase letters in the same row indicate statistically significant differences (P<0.05)

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن ۱، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره بر درخت چندل باعث افزایش وزن بدن، افزایش رشد روزانه و ضریب رشد ویژه می‌گردد. همچنین افزایش طول در تیمار ۱ و ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم قابل مشاهده است. براساس نتایج تجزیه‌وتحلیل لاشه، بیشترین میزان پروتئین خام لاشه و کمترین میزان رطوبت و میزان چربی لاشه در تیمار ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده شد.

بر اساس بررسی‌ها، مطالعه‌ای در خصوص بررسی اثرعصاره گیاه چندل بر رشد میگو یافت نشد. اما در مطالعه Dhayanithi و همکاران (۲۰۲۰) افزایش WG و SGR را در دلقک ماهیان (*Amphiprion sebae*) تحت تاثیر ۱۰-۵ گرم عصاره گیاه چندل در هر کیلو غذا را پس از ۴ و ۸ هفته مشاهده کردند (Dhayanithi *et al*., 2020). هرچند در همین مقادی،ر FCR نیز دارای افزایش بود. در مطالعه Andriani و همکاران (۲۰۱۸) بر درصد بهینه استفاده از برگ درخت چندل به صورت تخمیری در تغذیه و رشد ماهی تیلاپیا، عدم تفاوت معنی‌دار بر کیفیت غذایی، سرعت رشد روزانه، راندمان تغذیه و بقاء گزارش شده است. همچنین به رغم این تفاوت معنی‌دار، حرا را می‌توان در تغذیه ماهی بدون ایجاد اثرات منفی بر رشد ماهی استفاده نمود. به‌نظر می‌رسد، اثر مثبت تانن موجود در برگ حرا و وجود مواد ضد قارچی در آن می‌تواند باعث عملکرد بهتر رشد در آبزیان از جمله میگو شود (Ikhwanuddin *et al*., 2014). اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی موجود در ترکیبات گیاه حرا می‌تواند باعث کاهش جمعیت میکروبی مضر دستگاه گوارش شده و ضمن کمک به ارتقاء سلامتی و ایمنی، باعث بهبود عملکرد رشد شود (Patel *et al*., 2010). در مطالعه Alam و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردید، تجزیه برگ حرا، مواد مغذی را آزاد می کند که بر کیفیت آب، رشد و بقاء لاروهای میگو تأثیر می‌گذارد (Alam *et al*., 2021). Nga و همکاران (۲۰۰۶) اثر غلظت‌های مختلف از تجزیه برگ حرا *Rhizophora apiculata* را بر لارو میگوی *Penaeus monodon* مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند که مقدار متوسط غلظت برگ حرا شامل ۵ و ۱۰ گرم بر لیتر، اثرات مثبت بر رشد و بقاء میگو دارد (Nga *et al*., 2006).

در ارتباط با افزیش بقاء در تیمارهای عصاره برگ درخت چندل که در مطالعه حاضر مشاهده گردید، در مطالعه Kannappan و همکاران (۲۰۲۱) بر اثر ضد باکتریایی عصاره چندل در آب مرحله لاروی میگوی ببری سیاه، کاهش مرگ و میر را در برابر ویبریو گزارش کردند. همچنین نتایج مشابهی در مطالعات Mulyani و همکاران (۲۰۲۰)، Saptiani و همکاران (۲۰۱۹) و Dhayanithi و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده گردید. به‌علاوه، Andriani و همکاران

(۲۰۱۸) نیز در ماهی تیلاپیا تغذیه شده با محصول تخمیری چندل عدم تفاوت معنی‌دار را گزارش نمودند. افزایش بقاء در تیمارهای عصاره احتمالاً در ارتباط با ترکیبات زیست‌فعال موجود در آن بوده که با ارتقاء سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی منجر به افزایش بقاء گردیده است. آنزیم‌های متابولیک (ALP، AST و ALT) منعکس‌کننده وضعیت سلامتی و آسیب بافتی در حیوانات آبزی هستند. هنگامی که فعالیت کبدی پانکراس میگو آسیب می‌بینند، این شاخص‌ها افزایش می یابد (Yu *et al*., 2016). آنزیم‌های ALT و AST موجود در میگو، به متابولیسم اسید آمینه کمک می‌کنند و اغلب به عنوان ابزار تشخیصی برای آسیب کبدی استفاده می‌شوند. علاوه‌بر این، آلکالین فسفاتاز (ALP) به عنوان یک آنزیم لیزوزومی معمولی نقش مهمی در پاسخ ایمنی میگو ایفاء می‌کند (Jahromi *et al*., 2021). بر اساس نتایج حاصله، میزان ALP و AST در پایان دوره آزمایش عدم تفاوت معنی‌دار را نشان داد. عدم تفاوت معنی‌دار در این شاخص‌ها می‌تواند نشان‌دهنده عدم تاثیر منفی عصاره چندل بر سلامت میگوی پاسفید باشد.

فنول اکسیداز، پروتئین کل و لایزوزیم از جمله اجزاء اصلی سیستم ایمنی ذاتی میگو هستند (Moghadam *et al*., 2021). فنول اکسیداز مواد ضد میکروبی را وارد سرم می‌کند تا فاگوسیتوز را در هموسیت های میگو افزایش دهد. پروتئین کل سرم که از ALB و گلوبولین تشکیل شده است، اغلب به عنوان یک شاخص مرتبط با سلامت و وضعیت ایمنی در حیوانات آبزی اندازه‌گیری می‌شود و افزایش آن نشانگر وضعیت ایمنی ذاتی قوی‌تری است. همچنین لایزوزیم یکی از عوامل ایمنی غیر اختصاصی بسیار ضروری در ماهی و میگو بوده و دارای فعالیت باکتریولیتیک است و در خون و مخاط ترشح می‌شود (Saurabh and Sahoo, 2008). لایزوزیم یک آنزیم کاتیونی است که پپتیدوگلیکان دیواره سلولی باکتری را تجزیه می‌کند و قادر است تا برخی از باکتری‌های گرم مثبت و حتی برخی از باکتری‌های گرم منفی را لیز کند (Saurabh and Sahoo, 2008, Dhayanithi *et al*., 2020). نتایج در پایان دوره آزمایش، افزایش فعالیت لایزوزیم در تیمار ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و سپس در تیمار ۲/۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم را نسبت به شاهد نشان می‌دهد که نشان‌دهنده تاثیر مثبت عصاره برگ درخت چندل بر افزایش فعالیت این آنزیم است. همچنین نتایج Dhayanithi و همکاران (۲۰۲۰) افزایش فعالیت لایزوزیم در دلقک ماهی را تحت تاثیر عصاره برگ *Rhizophora apiculata* گزارش کردند و در نهایت فعالیت فنول اکسیداز افزایش معنی‌داری را در تیمار ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم نسبت به سایر تیمارها نشان داد (Dhayanithi *et al*., 2020).

در تیمارهای ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، افزایش فعالیت پروتئین کل و آلبومین مشاهده گردید. غلظت آلبومین نشان‌دهنده عملکرد خوب کبد و سلامت حیوانات است. علاوه‌براین، ترکیب رژیم غذایی به‌شدت بر سطح آلبومین تأثیر می‌گذارد. همچنین پروتئین کل پلاسما به طور گسترده‌ای به عنوان شاخص شرایط فیزیولوژیک و ایمنی در مطالعات تغذیه استفاده می‌شود (Jahromi *et al*., 2021). اگرچه مطالعه‌ای در خصوص اثر چندل بر ایمنی میگو پاسفید انجام نگردیده است، اما Saptiani و همکاران (۲۰۱۹) مقاومت میگوهای ببری سیاه را در برابر پاتوژن، Baskaran و همکاران (۲۰۱۲) اثر ضد باکتریایی بر ویبریو و Dhayanithi همکاران (۲۰۲۰) افزایش فعالیت لایزوزیم را در دلقک ماهیان آلوده و غیرآلوده به ویبریو در هفته چهارم و هشتم آزمایش در تیمارهای تغذیه شده با عصاره چندل، مشاهده کردند (Baskaran *et al*., 2012, Saptiani *et al*., 2019, Dhayanithi *et al*., 2020).

متابولیت‌های همولنف از جمله کلسترول، تری‌گلیسرید و گلوکز منعکس‌کننده وضعیت تغذیه‌ای، فیزیولوژیک و ایمنی سخت‌پوستان است. تغییرات در این شاخص‌ها می‌تواند با شرایط استرس مرتبط باشد و برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک میگو استفاده شود (Jahromi *et al*., 2021, Moghadam *et al*., 2021).

در حیوانات آبزی، گلوکز یک محصول واسطه متابولیسم است و افزایش آن برای تامین انرژی بیشتر در پاسخ به عوامل استرس‌زا نیاز به افزایش گلیکومتابولیسم دارد (Long *et al*., 2021). همچنین کلسترول یک ماده اصلی سلولی و پیش‌ساز هورمون‌های استروئیدی مانند کورتیزول است (Yong *et al*., 2020). به‌نظر می‌رسد، افزایش این

متابولیت در همولنف میگو به دلیل نیاز به تولید انرژی کافی و افزایش عرضه انرژی در شرایط مختلف و برای ساخت کورتیزول باشد (Martínez-Porchas *et al*., 2009). بنابراین، روند کاهشی در سطح گلوکز و کلسترول در تیمارهای عصاره نسبت به شاهد نشان‌دهنده خواص تعدیل‌کننده ایمنی و آنتی‌اکسیدانی مفید عصاره چندل است. همچنین وجود ترکیباتی همچون فنولیک‌ها، تانن، فلاونوئیدها و آلکالوئیدها در عصاره برگ درخت چندل باعث کاهش کلسترول و گلوکز می‌گردد (Aljaghthmi *et al*., 2017).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان‌دهنده اثر مثبت عصاره برگ درخت چندل بر رشد، بقاء و برخی شاخص‌های بیوشیمی همولنف میگوی پاسفیدغربی است که این اثرات مثبت می‌توان در ارتباط با ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره این گیاه باشد. با توجه به نتایج حاصله و اثر آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدانی عصاره این گیاه بر میگوی پاسفید غربی، به‌کارگیری ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ درخت چندل در جیره غذایی میگوی پاسفید غربی پیشنهاد می‌گردد.

منابع

Abdulhai, H.A., Minani, W., Nourouzi, S. and Hajj Nadez, K., 2019. Shrimp farming in Iran and the future prospects of industry. *Shrimp and Crustacean Promotion*, 1(2):4-8. (In Persian)

Alagawany, M., Farag, M.R., Abdelnour, S.A., Dawood, M.A., Elnesr, S.S. and Dhama, K., 2021. Curcumin and its different forms: A review on fish nutrition. *Aquaculture*, 532:736030. DOI:10.1016/j.aquaculture.2020.736030

Alam, M.I., Debrot, A.O., Ahmed, M.U., Ahsan, M.N. and Verdegem, M., 2021. Synergistic effects of mangrove leaf litter and supplemental feed on water quality, growth and survival of shrimp (*Penaeus monodon*, Fabricius, 1798) post larvae. *Aquaculture*, 545:737237. DOI:10.1016/j.aquaculture.2021.737237

Aljaghthmi, O., Heba, H. and Zeid, I.A., 2017. Antihyperglycemic properties of mangrove plants (*Rhizophora mucronata* and *Avicennia marina*): an overview. *Advances in Biological Research*, 11(4):161-170. DOI:10.1016/j.pathophys.2018.09.002

Andriani, Y., Nurfalah, F., Yustiati, A., Iskandar, I. and Zidni, I., 2018. Utilization of fermented Mangrove propagules (*Rhizophora mucronata*) as feeding material for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *World Scientific News*, 111(4):74-86.

AOAC, 1995. *Official Methods of Analysis*. (16th ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA. DOI:10.1016/0924-2244(95)90022-5

Avenido, P. and Serrano, A.E.J., 2012. Effects of the apple mangrove (*Sonneratia caseolaris*) on growth,nutrient utilization and digestive enzyme activities of the Black tiger shrimp *Penaeus monodon* postlarvae. *European Journal of Experimental Biology*, 2(5):1603-1608.

Babanjad Abkanar, K., Akbarzadeh, A. and Sourinejad, I., 2019. The effect of mangrove leaf powder (*Avecina marina*) on the growth performance and survival of young western Pacific shrimp (*Penaeus vannamei*). *Journal of Aquatic Ecology*, 9(1):77-86. (In Persian)

Baskaran, R., Mohan, P., Sivakumar, K., Ragavan, P. and Sachithanandam, V., 2012. Phyllosphere microbial populations of

ten true mangrove species of the Andaman Island. *International Journal of Microbiology Research,* 3(2):124-127. DOI:10.5829/idosi.ijmr.2012.3.2.6221

Batool, N., Ilyas, N. and Shahzad, A., 2014. Asiatic mangrove (*Rhizophora mucronata*)-An overview. *European Academic Research,* 2(3): 3348-3363.

Beulah, G., Deepthimahanthi, D., Simhachalam, G., Chintagunta, A.D., Sravya, M.V.N. and Kumar, N.S.S., 2022. Purification and characterisation of phytochemicals extracted from *Rhizophora mucronata*: their efficacy against *Pseudomonas aeruginosa* infection in Catla catla. *Reviews in Analytical Chemistry,* 41(1):275-286. DOI:10.1515/revac-2022-0050

Chen, S., Guo, Y., Espe, M., Yang, F., Fang, W., Wan, M., Niu, J., Liu, Y. and Tian, L., 2018. Growth performance, haematological parameters, antioxidant status and salinity stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed different levels of dietary myo-inositol. *Aquaculture Nutrition,* 24(5):1527-1539. DOI:10.1111/anu.12690

Chen, Y.Y., Chen, J.C., Tseng, K.C., Lin, Y.C. and Huang, C.L., 2015. Activation of immunity, immune response, antioxidant ability, and resistance against *Vibrio alginolyticus* in white shrimp *Litopenaeus vannamei* decrease under long-term culture at low pH. *Fish and Shellfish Immunology,* 46(2):192-199. DOI:10.1016/j.fsi.2015.05.055

Dawood, M.A., 2021. Nutritional immunity of fish intestines: Important insights for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture,* 13(1):642-663. DOI:10.1111/raq.12492

Dhayanithi, N., Kumar, T., Balasundaram, C., Devi, G. and Ramasamy, H., 2020. Immuno-antioxidant Defense of Partially Purified *Rhizophora mucronata* in Clownfish (*Amphiprion sebae*) against Vibrio alginolyticus. *Cellular and Molecular Biology*. 4(1):100009.

Doumas, B.T., Watson, W.A. and Biggs, H.G., 1971. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. *Clinica Chimica Acta,* 31(1):87-96. DOI:10.1016/s0009-8981(96)06447-9

Ellis, A., 1990. Lysozyme Assays: In Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS, Van Muiswinkel WB, editors. Techniques in: Fish Immunology. Fair Haven. *NJ: SOS Publications,* 101:103.

Es-haghi Nimvari, M., Akbarzadeh, A. and Sourinejad, I., 2019. Improvement of hemolymph immune indices of western Pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by feeding mangrove leaf powder (*Avicennia marina*) under low temperature stress conditions. *Journal of Aquatic Ecology,* 8(4):11-21. (In Persian)

Giri, S.S., Sukumaran, V. and Park, S.C., 2019. Effects of bioactive substance from turmeric on growth, skin mucosal immunity and antioxidant factors in common carp, *Cyprinus carpio*. *Fish and shellfish*

Kadriah, I.A.K., 2020. The effect of several types of mangrove exctracs on tiger shrimp *Penaeus monodon* survival rate challenged with White Spot Syndrome Virus (WSSV). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020. IOP Publishing, 012054. DOI:10.1088/1755-1315/564/1/012054

Kamrani, E., Karafshin, S., Beitullah, M. and Takizadeh, A.R., 2009. Examination of the dispersion and mixing of mangrove communities in the Sirik - Hormozgan province habitat. *Iranian forest Journal*, 1(1):25-34. (In persian).

Kannappan, S., Sivakumar, K., Jithendran, K.P., Sivamani, B. and Praveena, E., 2021. Effect of Asiatic mangrove plant (*Rhizophora mucronata*) extract on the growth and virulence of Vibrio harveyi causing bioluminescence disease in *Penaeus monodon* larviculture. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 19(3):e0506. DOI:10.5424/sjar/2021193-17044

Khanjani, M., Mm Sajjadi, M., Alizadeh, M. and Sourinejad, I., 2016. Study on nursery growth performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) under different feeding levels in zero water exchange system. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*,15(4). DOI:20.1001.1.15622916.2016.15.4.22.2

Kind, P. and King, E., 1954. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. *Journal of Clinical Pathology*, 7(4):322. DOI:10.1136/jcp.7.4.322

immunology, 92(2):612-620. DOI:10.1016/j.fsi.2019.06.053

Gurudeeban, S., Ramanathan, T. and Satyavani, K., 2015. Antimicrobial and radical scavenging effects of alkaloid extracts from *Rhizophora mucronata*. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 49(1): 34-37. DOI:10.1007/s11094-013-0895-4

Ikhwanuddin, M., Moh, J.H., Hidayah, M., Noor-Hidayati, A.B., Aina-Lyana, N.M. and Juneta, A.S., 2014. Effect of Indian almond, *Terminalia catappa* leaves water extract on the survival rate and growth performance of black tiger shrimp, *Penaeus monodon* post larvae. *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation*, 7(2):85-93.

Immanuel, G., Palavesam, A. and Petermarian, M., 2001. Effects of feeding lipid enriched Artemia nauplii on survival, growth, fatty acids and stress resistance of postlarvae *Penaeus indicus*. *Asian Fisheries Science*, 14(4):145-152. DOI:10.33997/j.afs.2001.14.4.003

Jahromi, S.T., Pourmozaffar, S., Jahanbakhshi, A., Rameshi, H., Gozari, M., Khodadadi, M., Sohrabipour, J., Behzadi, S., Barzkar, N. and Nahavandi, R., 2021. Effect of different levels of dietary *Sargassum cristaefolium* on growth performance, hematological parameters, histological structure of hepatopancreas and intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 533:736130. DOI:10.1016/j.aquaculture.2020.736130

Long, J., Cui, Y., Wang, R., Chen, Y., Zhao, N., Wang, C., Wang, Z. and Li, Y., 2021. Combined effects of high salinity and ammonia-N exposure on the energy metabolism, immune response, oxidative resistance and ammonia metabolism of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports,* 20(4):100648. DOI:10.1016/j.aqrep.2021.100648

Martínez-PORCHAS, M., Martínez-Córdova, L.R. and Ramos-Enriquez, R., 2009. Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 4(2):158-178.

Moghadam, H., Sourinejad, I. and Johari, S.A., 2021. Growth performance, haemato-immunological responses and antioxidant status of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* fed with turmeric powder, curcumin and curcumin nanomicelles. *Aquaculture Nutrition,* 27(6):2294-2306. DOI:10.1111/anu.13363

Mulyani, Y., Haetami, K., Baeha, L.K., Arsad, S. and Prasetiya, F.S., 2020. In vivo test of *Rhizophora mucronata* mangrove extract from pangandaran coast towards Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* infected by *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture and Fish Health,* 9(2):131-142. DOI:10.20473/jafh.v9i2.16211

Nga, B., Roijackers, R., Nghia, T., Ut, V. and Scheffer, M., 2006. Effects of decomposing *Rhizophora apiculata* leaves on larvae of the shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture International,* 14(5): 467-477. DOI:10.1007/s10499-006-9049-y

Patel, N.T., Gupta, A. and Pandey, A.N., 2010. Salinity tolerance of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. from Gujarat coasts of India. *Aquatic Botany,* 93(1):9-16. DOI:10.1016/j.aquabot.2010.02.002

Perazzolo, L.M. and Barracco, M.A., 1997. The prophenoloxidase activating system of the shrimp *Penaeus paulensis* and associated factors. *Developmental and Comparative Immunology,* 21(3):385-395. DOI:10.1016/s0145-305x(97)00022-0

Reitman, S. and Frankel, S., 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American journal of clinical pathology,* 28(1):56-63. DOI:10.1093/ajcp/28.1.56

Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Sasal, P. and Saulnier, D., 2017. Use of medicinal plants in aquaculture. *Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish,* 42(2):223-261. DOI:10.1002/9781119152125.ch9

Reverter, M., Sarter, S., Caruso, D., Avarre, J.C., Combe, M., Pepey, E., Pouyaud, L., Vega-Heredía, S., De Verdal, H. and Gozlan, R.E., 2020. Aquaculture at the crossroads of global warming and antimicrobial resistance. *Nature communications,* 11(1):1870. DOI:10.1038/s41467-020-15735-6

Saptian I, G., Asikin, A., Ardhani, F. and Hardi, E., 2019. The potential of *Rhizophora mucronata* extracts to protect tiger prawn from pathogenenic infections. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019. IOP Publishing, 012049.

Saurabh, S. and Sahoo, P., 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture research*, 39(3):223-239. DOI:10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x

Shelar, P.S., Reddy, S., Shelar, G. and Reddy, G., 2012. Medicinal value of mangroves and its antimicrobial properties-a review. *Continental Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 3(2):215-222. DOI:10.5281/zenodo.3526448.svg

Syaputra, N., Dewi, K., Lili, W. and Agung, M., 2019. Total phenolic, flavonoid content and antioxidant capacity of stem bark, root, and leaves methanolic extract of *Rhizophora mucronata* Lam. *World News of Natural Sciences*, 26(1):118-127.

Tadese, D.A., Song, C., Sun, C., Liu, B., Zhou, Q., Xu, P., Ge, X., Liu, M. and Xu, X., 2022. The role of currently used medicinal plants in aquaculture and their action mechanisms: A review. *Reviews in Aquaculture*, 14(2):816-847. DOI:10.1111/raq.12626

Yong, A.S. K., Mok, W.Y., Tamrin, M.L.M., Shapawi, R. and Kim, Y.S., 2020. Effects of dietary nucleotides on growth, survival and metabolic response in whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* against ammonia stress condition. *Aquaculture Research*, 51(6):2252-2260. DOI:10.1111/are.14570

Yu, Y.Y., Chen, W.D., Liu, Y.J., Niu, J., Chen, M. and Tian, L.X., 2016. Effect of different dietary levels of *Gracilaria lemaneiformis* dry power on growth performance, hematological parameters and intestinal structure of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 450:356-362. DOI:10.1016/j.aquaculture.2015.07.037

Effect of an alcoholic extract of loop-root mangrove (*Rhizophora mucronata*) leaf on growth, survival, and biochemical components in western white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

Eslamei J.[1]; Salarzadeh A.R.[1*]; Yahyavi M.[1]; Mohammadi Zadeh F.[1]

*reza1375bandar@yahoo.com

1-Department of Fishery, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of dietary ethanol extract of *Rhizophora mucronata* leaves on the growth performance, survival, and biochemical composition of *Litopenaeus vannamei*. The experiment was conducted using 600 shrimp juveniles (2 g) in a completely randomized design with four treatments and three replicates, with 50 shrimp per replicate for a duration of 60 days. The experimental treatments included: 1- Basal diet (control), 2- Basal diet + 1 mg ethanol extract of mangrove leaves, 3- Basal diet + 2.5 mg ethanol extract of mangrove leaves, and 4- Basal diet + 5 mg ethanol extract of mangrove leaves. At the end of the experimental period, various growth, biochemical, and survival parameters were measured. The results showed that body weight gain, daily growth rate, and specific growth rate were significantly higher in the 1, 2.5, and 5 mg/kg ethanol extract of mangrove leaves compared to the control group ($P<0.05$). The highest carapace length was mesured in 2.5 mg/kg compared to the other experimental groups ($P<0.05$). Besides, the survival rate was significantly increased in all extract treatments compared to the control group ($P<0.05$). The highest crude protein content of the carcass and the lowest moisture content were observed in 2.5 mg/kg ($P<0.05$). The control group showed the lowest lysozyme activity, while the 5 mg treatment exhibited the highest lysozyme activity, followed by the 1 mg and 2.5 mg treatments ($P<0.05$). The 1 mg treatment showed the highest phenoloxidase activity ($P<0.05$). Based on the results, the 2.5 mg and 5 mg treatments were associated with the highest protein and albumin contents, while the control and 1 mg treatments had the lowest contents ($P<0.05$). Overall, it can be concluded that the inclusion of 2.5 mg/kg of mangrove leaf extract in the diet had positive effects on the growth, biochemical composition, and survival of whiteleg shrimp.

Keywords: Loop-root mangrove, Pacific whiteleg shrimp, Growth, Carcass quality, Hemolymph biochemistry

*Corresponding author