

مقاله پژوهشی

مطالعه مقایسه‌ای هموسیت‌های سیستم ایمنی و هیاتوپانکراس میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) در فصول سرد و گرم

زهرا بصیر^{۱*}، محمد علی سالاری علی‌آبادی^۲

تاریخ پذیرش: فروردین ۹۸

تاریخ دریافت: دی ۹۷

چکیده

با توجه به این که میگوی ببری سبز دارای اهمیت بالای شیلاتی و اقتصادی در منطقه خلیج فارس است، درک سیستم ایمنی و مکانیسم دفاعی آن به بهبود مدیریت بیماری در این گونه منجر خواهد شد. در این پژوهش هموسیت‌های سیستم ایمنی و هیاتوپانکراس میگوی ببری سبز در فصول سرد و گرم به صورت مقایسه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور مجموعاً ۵۰ قطعه میگوی ببری سبز با طول متوسط 19 ± 1 سانتی‌متر و وزن متوسط 25 ± 0.5 گرم در دو فصل سرد و گرم تهیه شد. سپس یک میلی‌لیتر نمونه همولنف با یک میلی‌لیتر ماده ضدانعقاد ترکیب شد و تعداد و نوع هموسیت‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین برای مطالعات بافت‌شناسی از هیاتوپانکراس تمامی میگوها نمونه‌برداری و با روش معمول برش‌های بافتی از آن‌ها تهیه شد. نتایج نشان داد که در فصل سرد بر تعداد همه انواع هموسیت افزوده شد. در هر دو فصل هموسیت‌های دانه‌دار کوچک بدون تغییر غالب بیشترین تعداد و هموسیت‌های هیالین کمترین تعداد را داشتند. همچنین مطالعه ساختاری هیاتوپانکراس در هر دو فصل سرد و گرم نشان داد که این اندام به صورت توبولار بود و بیشترین تعداد سلول‌ها مربوط به سلول‌های رشته‌ای و کمترین مقدار مربوط به سلول‌های میوآپیتلیال گزارش شد. همچنین بین سلول‌های جذبی - ذخیره‌ای، کیسه‌ای شکل و رشته‌ای اختلاف معنی‌دار در دو فصل گرم و سرد گزارش شد ($P < 0.05$). نتایج به دست آمده از این پژوهش با گزارش‌های ارائه شده برای سایر گونه‌های مشابه همخوانی دارد و به دلیل تحریک و برانگیختگی سیستم ایمنی به ویژه در فصل سرد می‌تواند در موارد واکسیناسیون مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: هموسیت، سیستم ایمنی، هیاتوپانکراس، میگوی ببری سبز.

۱- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

* نویسنده مسئول: z.basir@scu.ac.ir

مقدمه

مولکول‌های خودی از بیگانه و از بین بردن یا بی‌خطر کردن آن‌ها است (Cerenius et al., 2008). بدن جانداران با دو روش دفاع غیراختصاصی و دفاع اختصاصی عوامل بیماری‌زا و بیگانه را از بین می‌برد و مانع از بروز بیماری می‌شود (Abdel-Salam, 2013). بر اساس مطالعات مشخص شده است که هموسیت‌ها در سخت‌پوستان نقش مهمی را در پاسخ‌های ایمنی جانور ایفا می‌کنند (Zilli et al., 2003). این اجزا از بافت هماتوپوئیتیک منشا می‌گیرند (Yuniarti et al., 2013) و براساس اندازه، شکل و میزان گرانول‌های داخل سیتوپلاسم به سه دسته اصلی سلول‌های هیالین (HC) یا هیالین هموسیت‌ها (HH)، سلول‌های نیمه‌دانه‌دار (SGC) یا هموسیت‌های دانه‌دار کوچک (SGH) و سلول‌های دانه‌دار (GC) یا هموسیت‌های دانه‌دار بزرگ (LGH) تقسیم می‌شوند (Sanchez-Paz et al., 2007; Balasubramanian et al., 2008).

سلول‌های هیالین به اشکال بیضی و کوچک هستند که به طور معمول ذرات دانه‌ای شکل و به تعداد محدود در سیتوپلاسم آن‌ها وجود دارد و وظیفه آن‌ها ادامه روند فاگوسیتوز

خلیج فارس یکی از دریا‌های بزرگ ایران محسوب می‌شود که در آن انواع میگوهای دریایی به صورت طبیعی در حال زندگی هستند. میگو ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) از خانواده سخت‌پوستان است و در آب‌های شور دریایی از جمله خلیج فارس و دریای عمان در اعماق کم تا زیاد زندگی می‌کند و از جمله اهمیت آن تامین یک منبع غذایی برای موجودات دریایی است (Peraza-Gomez et al., 2009). این گونه حاوی مقادیر زیادی از ویتامین‌های مختلف و همچنین سرشار از امگا ۳ و پروتئین است (Flegel, 2012). مهم‌ترین گونه‌های میگوی خلیج فارس را میگوهای خانواده Penaeidae تشکیل می‌دهند و یکی از گونه‌های مهم این خانواده، میگوی ببری سبز است که هر ساله مقدار زیادی از آن در آب‌های استان بوشهر، هرمزگان و خوزستان صید می‌شود. به علت ارزش اقتصادی و بازارپسندی بالا، این گونه به شدت مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات آماری نشان دهنده کاهش شدید ذخیره این آبی در خلیج فارس است.

سیستم ایمنی بخشی از بدن جانداران است که وظیفه آن شناسایی سلول‌ها و

دانشمندان بر این باور هستند که هموسیت‌ها و هپاتونکراس در سیستم ایمنی سخت‌پوستان نقش بسیار مهمی دارد و با تولید مولکول‌های تشخیصی نقش اساسی در سیستم ایمنی، واکنش‌های هومورال و سلولار از طریق تولید برخی سلول‌های خاص و فاگوسیتوز ایفا می‌کنند (Mohajeri et al., 2011). در پژوهش حاضر، میزان هموسیت‌ها، فراوانی انواع مختلف سلول‌های دفاعی هموسیت و تغییرات سلولی هپاتوپانکراس در سیستم ایمنی میگوی ببری سبز در فصول گرم و سرد به دلیل عدم وجود مطالعات مشابه بر روی این جانور، به صورت مقایسه‌ای مورد بررسی قرار گرفت تا پاسخگوی نیازهای مراکز تکثیر و پرورش بر روی گونه مورد نظر و گونه‌های مشابه، به ویژه تعیین بهترین زمان برای انجام واکسیناسیون و مدیریت بهداشت و بیماری باشد.

مواد و روش‌ها

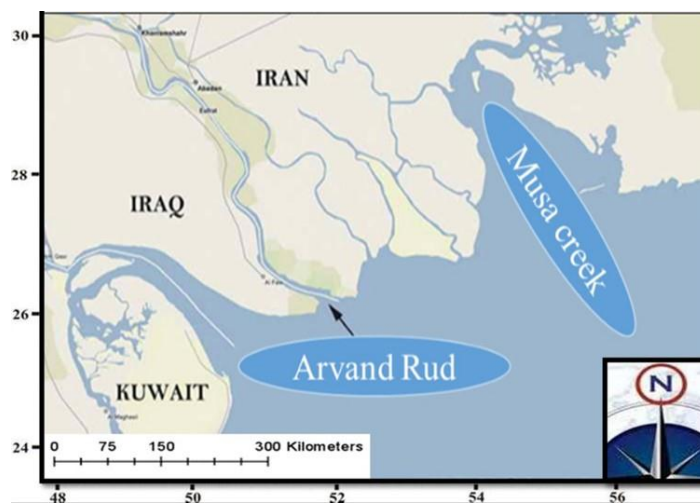
برای انجام این پژوهش مجموعاً ۵۰ قطعه - میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) بالغ در سال ۱۳۹۷ و در فصول سرد و گرم در ماه‌های شهریور و بهمن به تعداد مساوی با طول متوسط 1 ± 19 سانتی‌متر و وزن متوسط 0.25 ± 0.05 گرم از

است. دسته دوم یا سلول‌های نیمه‌دانه‌دار دارای گرانول‌های اتوزینوفیلی کوچک در سیتوپلاسم خود هستند و در روند کپسوله شدن شرکت می‌کنند. دسته سوم یا سلول‌های دانه‌دار دارای میزان زیادی از گرانول‌های ترشحی اتوزینوفیلی در سیتوپلاسم خود هستند و به عنوان سلول‌های اصلی ذخیره در فعالیت‌های سیستم پروفنل اکسیداز عمل می‌کنند (Traifalgar et al., 2010).

هپاتوپانکراس یک اندام بسیار حیاتی و مهم در سخت‌پوستان از جمله میگوها است که وظایف کبد، لوزالمعده و سیستم ایمنی را با هم انجام می‌دهد. کارکرد این اندام در طول دوره زندگی میگو دستخوش تغییراتی می‌شود که در ساختار بافت‌شناسی آن تاثیر مستقیم و مشهود می‌گذارد، به طوری که عملکرد مناسب سلول‌های آن و میزان ذخیره چربی و گلیکوژن در این بافت شاخص سلامت، تغذیه و مرحله زندگی این جانور است (Michiels et al., 2013). در ساختار این بافت سلول‌های اصلی شامل سلول جذبی- ذخیره‌ای یا R-cell، سلول کیسه‌ای یا B-cell، سلول جنینی یا E-cell، سلول روده‌ای یا M-cell، سلول رشته‌ای یا F-cell و سلول میوپیتلیال در دیواره آن گزارش شده است (Zilli et al., 2007).

صیادان بندر امام خمینی از خور موسی به طور زنده تهیه شد (شکل ۱). شاخص‌های فیزیوشیمیایی شامل شوری، دما، اکسیژن محلول و pH در ایستگاه نمونه‌برداری اندازه‌گیری شد (U-10, Horiba, ژاپن) که نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است. به منظور مطالعه هموسیت‌ها، مقدار یک میلی‌لیتر همولنف از سینوس دومین بند شکمی با استفاده از سرنگ‌های استریل چهار

میلی‌لیتری با سرسوزن گیج چهار برداشت (Elliott and Owens, 2015; Nandan, 2017) و با یک میلی‌لیتر ماده ضدانعقاد شامل اسید سیتریک ۲۶ میلی‌مول، تری سدیم سیترات ۳۰ میلی‌مول، اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید ۱۰ میلی‌مول و pH ۵/۴ برای جلوگیری از انعقاد، ترکیب شد (Rexi et al., 2015).



شکل ۱: مشخصات و نقشه جغرافیایی منطقه نمونه‌برداری در خور موسی در ناحیه جنوب ایران

جدول ۱: مشخصات فیزیکوشیمیایی ایستگاه نمونه‌برداری در خور موسی

شاخص	فصل گرم	فصل سرد
شوری (ppt)	۴۱/۶	۴۰/۱۵
دما (°C)	۲۷/۲۸	۱۶/۱۴
اکسیژن محلول (mL/L)	۶/۲۵	۷/۲۸
pH	۹/۷	۹/۱

هیاتوپانکراس، از تمامی میگوها برای بافت‌شناسی نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها توسط تکنیک‌های معمول بافت‌شناسی آماده‌سازی شدند (Savari et al., 2013). سپس از آن‌ها برش‌های ۴-۶ میکرونی به کمک میکروتوم (Leica، آلمان) تهیه و به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شد. در نهایت نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری (Olympus، ژاپن) مجهز به لنز دیجیتال (Dino-Lite، تایوان) متصل به رایانه بررسی و توسط نرم‌افزار Dino-Capture عکس‌برداری شدند. شمارش تعداد سلول‌های تشکیل دهنده توپول‌ها در نمونه‌های مربوط به فصل‌های سرد و گرم در پنج میدان میکروسکوپی مربوط به هر نمونه انجام شد (Qiu et al., 2017). تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ با استفاده از آزمون T-test در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) انجام شد.

نمونه‌های همولنف پس از دریافت از میگوهای صید شده توسط صیادان محلی در ناحیه خورموسی در کنار یخ به یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه زیست‌شناسی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل شد. به منظور شمارش هموسیت‌ها، یک قطره از مخلوط همولنف و ماده ضدانعقاد به لام هموسیتومتر انتقال داده شد و با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus، ژاپن) اقدام به شمارش زیگزاگ آن‌ها در ۲۵ خانه وسط (در خانه بزرگ وسط) شد. در نهایت به منظور محاسبه تعداد هموسیت‌ها در ۱ میلی‌متر مکعب، تعداد سلول‌ها در ۲۵ خانه وسط لام در 10^4 ضرب شد. همچنین همزمان شناسایی و شمارش تفکیکی انواع مختلف سلول‌های دفاعی هموسیت انجام و درصد تقریبی آن‌ها محاسبه شد (Ahkam et al., 2018). همچنین به منظور مطالعه بر روی

نتایج

سطح داخلی توبول‌ها توسط یک لایه از بافت پوششی استوانه‌ای ساده مفروش شده بود. در تصاویر میکروسکوپی این بافت متشکل از سلول‌های متعدد شامل سلول‌های جنینی (E-cells) فاقد مجرا به سمت داخلی توبول و در ناحیه قاعده‌ای، سلول‌های میوآپیتلیال (Myo-cells) که به صورت کشیده و چسبیده به غشای پایه که وظیفه انقباض و ترشح سلول‌های ترشح کننده را بر عهده دارند (شکل ۳)، سلول‌های رشته‌ای (F-cell) به شکل استوانه‌ای بلند و به شدت بازوفیل، سلول‌های کیسه‌ای شکل با هسته قاعده‌ای (B-cells) (شکل ۴)، سلول‌های روده‌ایی (M-cells) و سلول‌های جذبی-ذخیره‌ای (R-cell) به شکل استوانه‌ای کوتاه بودند (شکل ۵). با شمارش تعداد سلول‌های تشکیل دهنده توبول‌ها در نمونه‌های مربوط به فصل‌های سرد و گرم مشخص شد که در هر دو فصل بیشترین تعداد سلول‌ها مربوط به سلول‌های رشته‌ای و کمترین مقدار مربوط به سلول‌های میوآپیتلیال گزارش شد. همچنین بین سلول‌های جذبی-ذخیره‌ای، کیسه‌ای شکل و رشته‌ای اختلاف معنی‌دار در دو فصل گرم و سرد گزارش شد ($P \leq 0.05$; جدول ۳).

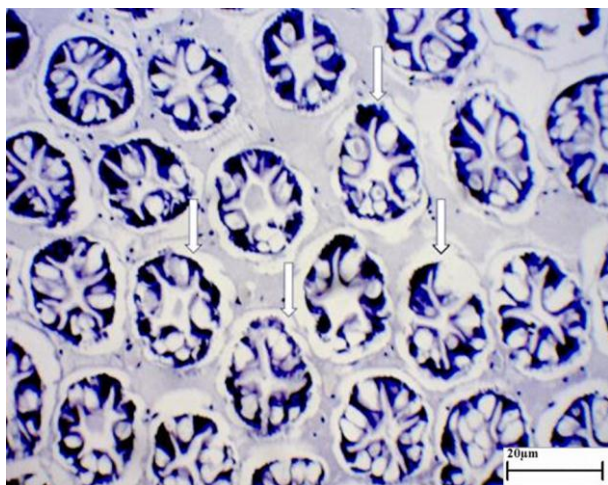
یافته‌های به دست آمده از این پژوهش نشان داد که از میان انواع سلول‌های هموسیت در میگوی ببری سبز، هموسیت‌های دانه‌دار کوچک بیشترین (۶۰ درصد) و هیالین هموسیت‌ها کمترین (۹ درصد) تعداد را در هر دو فصل داشتند. همچنین سلول‌های دانه‌دار بزرگ در نمای میکروسکوپی بیشتر به اشکال بیضوی و سلول‌های دانه‌دار کوچک بیشتر به اشکال کروی مشاهده شدند. هیالین هموسیت‌ها نیز بیشتر به شکل بیضوی تا گرد مشاهده شدند، به طوری که هیچ نوع دانه‌ای در سیتوپلاسم این سلول‌ها مشاهده نشد. همچنین در فصل سرد نسبت به فصل گرم در شمارش افتراقی هموسیت‌ها با افزایش معنی‌دار در تمامی سلول‌ها همراه بود ($P \leq 0.05$; جدول ۲).

در مطالعات مربوط به ریخت‌شناسی هیاتوپانکراس در هر دو فصل مشخص شد که این اندام در نمای میکروسکوپی به صورت توبولار متشکل از چندین لوله به هم چسبیده در کنار یکدیگر بود. همچنین مجرای توبول‌ها اشکال نامنظم داشت و در بسیاری از موارد به صورت ستاره‌ای شکل مشاهده شد (شکل ۲).

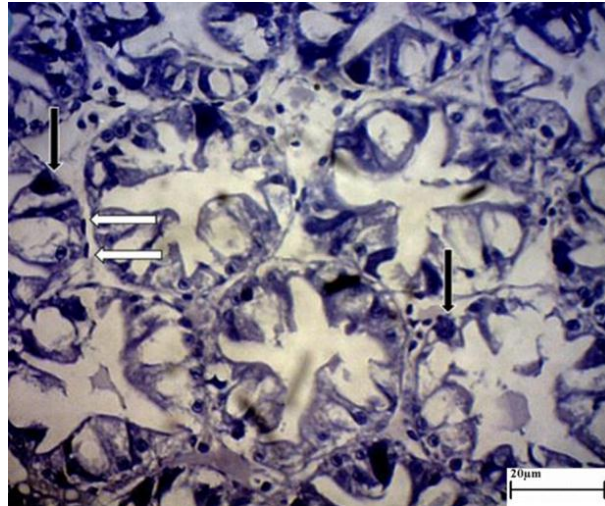
جدول ۲: مقادیر انواع هموسیت‌های میگوی ببری سبز در فصل سرد و گرم

فصل سرد		فصل گرم		نوع هموسیت (CFU mL ⁻¹)
کمینه	بیشینه	کمینه	بیشینه	
۱۱	۱۷	۸	۱۰	هیالین هموسیت‌ها
۶۱	۶۶	۵۸	۶۳	هموسیت‌های دانه‌دار کوچک
۳۴	۳۷	۲۹	۳۳	هموسیت‌های دانه‌دار بزرگ

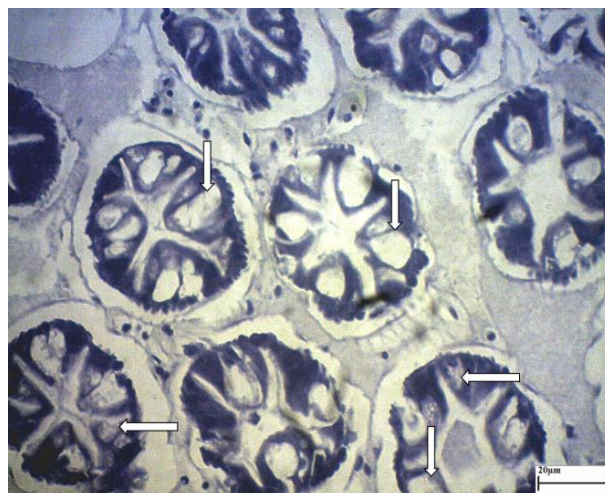
حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P \leq 0.05$).



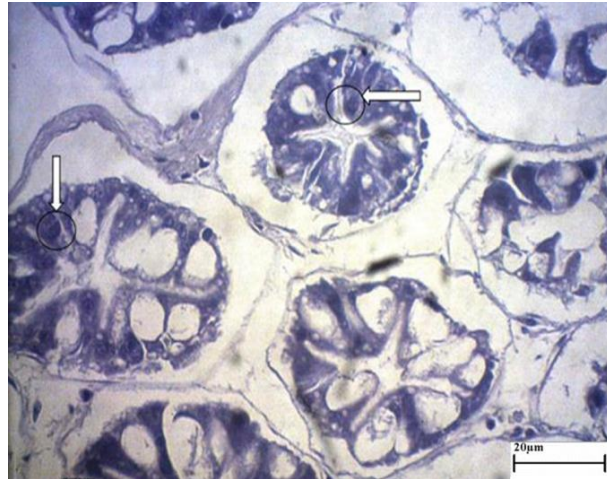
شکل ۲: بافت هپاتوپانکراس میگوی ببری سبز در فصل گرم. در این تصویر هپاتوپانکراس به صورت اندامی توبولار متشکل از چندین لوله به هم چسبیده در کنار یکدیگر و مجرای توبول‌ها که در بسیاری از موارد اشکال نامنظم و گاهی ستاره‌ای دارند (پیکان‌ها) مشاهده می‌شود (H&E).



شکل ۳: بافت هپاتوپانکراس میگوی ببری سبز در فصل گرم. در این تصویر سلول‌های جنینی (E-cells) در ناحیه قاعده‌ای توبول‌ها (پیکان‌های عمودی) و سلول‌های میوآپیتلیال (Myo-cells) در دیواره خارجی توبول‌ها (پیکان‌های افقی) نشان داده شده است (H&E).



شکل ۴: بافت هپاتوپانکراس میگوی ببری سبز در فصل سرد. در این تصویر سلول‌های رشته‌ای (F-cell) به شکل استوانه‌ای بلند و بازوفیل (پیکان‌های افقی) و سلول‌های کیسه‌ای شکل با هسته قاعده‌ای (B-cells) (پیکان‌های عمودی) نشان داده شده است (H&E).



شکل ۵: بافت هیپاتوپانکراس میگوی ببری سبز در فصل سرد. در این تصویر سلول‌های روده‌ای (M-cells) (پیکان افقی) و سلول‌های جذبی - ذخیره‌ای (R-cell) (پیکان عمودی) به شکل استوانه‌ای کوتاه نشان داده شده است (H&E).

جدول ۳: مقادیر انواع سلول‌ها در هیپاتوپانکراس در میگوی ببری سبز در فصول سرد و گرم

فصل سرد		فصل گرم		نوع سلول		
کمینه	بیشینه	میانگین \pm خطای استاندارد	کمینه	بیشینه	میانگین \pm خطای استاندارد	(میکرومتر مربع)
۲۵	۲۶	$25/21 \pm 1/36^b$	۲۳	۲۵	$23/15 \pm 1/44^a$	جذبی - ذخیره‌ای
۲۵	۲۹	$27/15 \pm 1/29^b$	۲۴	۲۷	$25/33 \pm 1/43^a$	کیسه‌ای شکل
۱۴	۱۶	$15/76 \pm 1/82^a$	۱۳	۱۵	$14/19 \pm 1/47^a$	جنینی
۵	۹	$8/37 \pm 0/26^a$	۶	۹	$8/13 \pm 0/45^a$	روده‌ای
۴	۷	$6/15 \pm 0/19^a$	۵	۷	$6/17 \pm 0/23^a$	میواپیتلیال
۲۹	۳۵	$33/30 \pm 1/13^b$	۲۶	۳۰	$29/16 \pm 1/23^a$	رشته‌ای

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P \leq 0/05$).

است. زیرا این جانوران تقریباً در تمامی زیستگاه‌های موجود بر روی زمین زندگی می‌کنند و قادر به ادامه حیات و مبارزه با

بحث

پژوهشگران بر این باور هستند که سیستم ایمنی در بی‌مهرگان بسیار پیچیده و کارآمد

شده بود هم‌خوانی دارد. این مطالعات نشان داده‌اند که دما دارای تاثیر کمتری بر روی سلول‌های هیالین و دانه‌دار بزرگ نسبت به سلول‌های دانه‌دار کوچک است (Danya and Jagadish, 2014). دمای بالا با اختلال در سیستم ایمنی در این موجود باعث کاهش توانایی سیستم ایمنی بدن در فصل گرما می‌شود. (Danya and Jagadish, 2014; Ahkam et al., 2018). برخی از پژوهشگران دو گروه سلولی را در برخی سخت‌پوستان (Kakoolaki et al., 2010) به اتفاق سه تیپ اصلی سلولی (Harikrishnan et al., 2011) در خرچنگ‌های دراز آب شیرین و میگوها گزارش کرده‌اند. همچنین حضور سلول‌های رشته‌ای، سلول‌های جذبی- ذخیره‌ای، سلول‌های کیسه‌ای شکل، سلول‌های جنینی، سلول‌های روده‌ای و سلول‌های میوآپیتلیال که در مطالعه حاضر در هپاتوپانکراس میگوی ببری سبز گزارش شد در مطالعات متعددی توسط سایر پژوهشگران بر روی بی‌مهره‌گان دیگر نیز گزارش شده بود (Masson et al., 2017; Qiu et al., 2012). در مطالعه حاضر میزان انواع هموسیت‌ها، سلول‌های جذبی- ذخیره‌ای، کیسه‌ای شکل و رشته‌ای هپاتوپانکراس در میگوی ببری سبز

عوامل بیماری‌زا و نامساعد محیط زیست اطراف خود هستند (Sanchez-Paz et al., 2007). مطالعه بر روی این سیستم در بی‌مهرگان از جمله میگوها باعث شناسایی انواع مختلف سلول بر اساس ریخت‌شناسی و عملکرد هر سلول شده است (Medina-Beltran et al., 2012). در این جانور پوشش سخت کوتیکولی اولین سد دفاعی را در برابر میکروارگانیسم‌ها تشکیل می‌دهد و برای دفاع درون بافتی هموسیت‌ها (Devi et al., 2015) و هپاتوپانکراس (Ahkam et al., 2018) دارای نقش بسیار اساسی هستند. اولین و مهم‌ترین فرآیند در دفاع درون‌بافتی شناسایی میکروارگانیسم‌های مهاجر است که توسط هموسیت‌ها و سلول‌های مختلف موجود در هپاتوپانکراس انجام می‌گیرد (Wang and Chen, 2006).

در مطالعه حاضر، در میگوی ببری سبز در هر دو فصل گرم و سرد، سه نوع هموسیت در همولنف شناسایی شد که شامل سلول‌های هیالین، دانه‌دار کوچک و دانه‌دار بزرگ بود. بیشترین تعداد هموسیت مربوط به سلول‌های دانه‌دار کوچک بود. این یافته با مطالعات انجام گرفته توسط سایر پژوهشگران بر روی گونه‌های دیگر که در سایر نقاط جهان گزارش

دارای یک روند صعودی به ویژه در فصل سرد بود. به نظر می‌رسد این تغییرات با توجه به محدوده دمایی مناسب آب و با گذشت زمان متغیر باشد و دستخوش تغییرات محیط قرار گیرد که احتمالاً ناشی از تغییرات سیستم بدنی و هورمونی جانور باشد و از یک روند طبیعی پیروی می‌کند (Niu et al., 2013). پژوهش‌های مختلف نشان داده است که درجه حرارت مناسب باعث می‌شود تا سیستم دفاعی میگو چندان دستخوش تغییر قرار نگیرد و در نتیجه باعث تحرک و تغذیه مناسب شود که در نهایت تلفات اندکی به همراه خواهد داشت. همچنین در مطالعه‌ای که به وسیله Mohajeri و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی میگوی ببری سبز در مواجهه با باکتری بیماری‌زای *Vibrio harveyi* انجام گرفت، تغییرات معنی‌داری در میزان هموسیت‌های کل همولنف و پروفایل بافتی به ویژه در برخی سلول‌های هپاتوپانکراس با گذشت زمان در گروه‌های تحت تاثیر دیده شد (Mohajeri et al., 2011). علاوه بر این‌ها در سخت‌پوستان مانند میگو مشخص شده است که در دمای پایین به ویژه در فصل سرد هموسیت‌های دانه‌دار که مسئول دفاع میزبان در برابر عوامل میکروبی هستند، بر فعالیت آن‌ها افزوده می‌شود، به طوری که با تولید پپتیدهای ضد میکروبی به عنوان اولین سد دفاعی میزبان در ایمنی ذاتی معرفی شده‌اند (Harikrishnan et al., 2011).

مطالعات انجام گرفته نشان از پاسخ ایمنی سلولی و همورال دارد که خود شامل ملانیزه شدن، انعقاد همولنف، تولید پپتیدهای ضد میکروبی، فاگوسیتوز و کپسوله شدن میکروارگانیزم‌ها به وسیله هموسیت‌ها و افزایش برخی شاخص‌های ایمنی سلولی به ویژه در ساختار سلولی هپاتوپانکراس است که در نهایت باعث افزایش پاسخ ایمنی در برابر عوامل بیماری‌زا و به ویژه در کاهش دمای محیط زندگی جانور می‌شود (Norfaadila et al., 2013). کاهش تعداد سلول‌ها، ممکن است به دلیل توقف تقسیمات میتوزی به دلیل شرایط محیط زندگی جانور باشد (Panakorn, 2012). در سخت‌پوستان به ویژه میگوها، هپاتوپانکراس همچنین از مهم‌ترین منابع ذخیره انرژی است که در مواقع ضروری مانند استرس، گرسنگی و تغییر دمای محیط جانور از آن استفاده می‌کند. در مطالعات دیگری مشخص شده است که میگوها مانند سایر سخت‌پوستان، هنگام پوست‌اندازی غذا نمی‌خورند و در معرض گرسنگی قرار می‌گیرند

را وفق دهد. بنابراین با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر و بر اساس نظر سایر پژوهشگران عوامل محیطی مانند درجه حرارت می‌تواند بر روی فعالیت سیستم ایمنی تاثیر بگذارد. عامل مهم ساز و کار ایمنی وجود خاطره ایمنولوژیکی است که سبب غنی‌سازی و تقویت سیستم ایمنی بعد از رویارویی اولیه با پاتوژن یا آنتی‌ژن مشابه می‌شود. این ساز و کار سیستم ایمنی به عنوان یک پاسخ ذاتی و ارثی خواهد بود و در نتیجه حضور سلول‌های خاطره‌ای ایمنولوژیکی اتفاق می‌افتد. به هر حال این مکانیسم در سخت‌پوستان مانند مهره‌داران پیشرفته نیست و اطلاعات در این زمینه در حال تکمیل شدن است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز با شماره پژوهانه SCU.vB98.103 انجام پذیرفت. بدین وسیله نویسندگان از همکاری و مساعدت بی‌دریغ ایشان و تمامی عزیزانی که در مراحل انجام کار ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

که باعث بروز تغییرات فیزیولوژیکی، متابولیستی و رفتاری در آن‌ها می‌شود. به نظر می‌رسد اندازه هپاتوپانکراس، شکل و تعداد انواع سلول‌های آن تحت تاثیر شاخص‌های محیطی مثل دما و عوامل داخلی یا فیزیولوژیک قرار می‌گیرد (Pinoni et al., 2013). مطالعات نشان داد که سلول‌های هیالین به دنبال عوامل بیماری‌زای میکروبی و مرگ سلول‌ها در نتیجه از بین رفتن فعالیت فاگوسیتوز تولید می‌شوند. در مطالعه حاضر با توجه به عدم مواجهه میگوها با شرایط استرس‌زا و عوامل بیماری‌زا، میزان سلول‌های هیالین تغییرات اندکی نسبت به سایر سلول‌ها در تغییر فصل نشان داد. به طور کلی با توجه به نقش مهم سیستم ایمنی و سلول‌های هموسیت موجود در همولنف و ساختار سلولی هپاتوپانکراس در سازگاری و ایجاد تعادل میگوها در مواجهه با تغییرات محیطی، عوامل استرس‌زا و بیماری‌زا، هر گونه تغییر در میزان این شاخص‌ها می‌تواند ناشی از عوامل محیطی همانند افزایش تراکم، درجه حرارت محیط، اکسیژن، تغذیه نامناسب و یا عواملی بیماری‌زا مانند باکتری، قارچ و انگل باشد که میگو با تغییر در شکل، اندازه و تعداد سلول‌های اندام‌های دخیل می‌تواند با شرایط جدید خود

منابع

- Abdel-Salam H. 2013.** Evaluation of nutritional quality of commercially cultured Indian white shrimp, *Penaeus indicus*. International Journal of Nutrition and Food Science, 2: 160–166.
- Ahkam M., El-Gendy F., Neveen H. and Ghada S.A. 2018.** Evaluation of nutritional quality of green tiger prawn, *Penaeus semisulcatus* from land fisheries (Alexandria) and market (India). The Egyptian Journal of Hospital Medicine, 70(6): 924–934.
- Balasubramanian G., Sarathi M., Venkatesan C., Thomas J. and Hameed A.S. 2008.** Studies on the immunomodulatory effect of extract of *Cyanodon dactylon* in shrimp, *Penaeus monodon* and its efficacy to protect the shrimp from white spot syndrome virus (WSSV). Fish and Shellfish Immunology, 25: 820–828.
- Cerenius L., Lee B.L. and Soderhall K. 2008.** The proPO-system: Pros and cons for its role in invertebrate immunity. Trends Immunology, 29: 263–271.
- Danya B.R. and Jagadish N.M. 2014.** Growth of cultured white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) of brackish water culture system in summer season with artificial diet. Advances in Applied Science Research, 5: 25–28.
- Devi D., Hareesh K. and Srinivasulu R. 2015.** Studies on the proximate composition of tropical freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 3(1): 329–336.
- Elliott L. and Owens L. 2015.** CART analysis of environmental factors, biomarkers and gill associated virus to predict production outcomes for farmed *Penaeus monodon*. Aquaculture, 448: 298–305.
- Flegel T.W. 2012.** Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. Journal of Invertebrate Pathology, 110: 166–173.
- Harikrishnan R., Balasundaram C., Jawahar S. and Heo M.S. 2011.** *Solanum nigrum* enhancement of the immune response and disease resistance of tiger shrimp, *Penaeus monodon* against *Vibrio harveyi*. Aquaculture, 318: 67–73.
- Kakoolaki S., Sharifpour I., Soltani M., Mousavi H.A.E., Mirzargar S. and Rostami M. 2010.** Selected morpho-chemical features of hemocytes in farmed shrimp. *Fenneropenaeus indicus*

- in Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 9(2): 219–232.
- Masson I., Diaz A.C. and Petriella A.M. 2012.** Effect of salinity changes on the midgut gland of *Artemesia longinaris* (Decapoda, Penaeidae). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40(2): 358–366.
- Medina-Beltran V., Luna-Gonzalez A., Fierro-Coronado J.A., Campa-Cardova A.I., Peraza-Gomez V., Flores-Miranda M.D.C. and Gutierrez Rivera J.N. 2012.** *Echinacea purpurea* and *Uncaria tomentosa* reduce the prevalence of WSSV in white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured under laboratory conditions. *Aquaculture*, 358: 164–169.
- Michiels M.S., Valle J.C. and Lopez Mananes A.A. 2013.** Effect of environmental salinity and dopamine injections on key digestive enzymes in hepatopancreas of the euryhaline crab *Cyrtograpsus angulatus* (Decapoda: Brachyura: Varunidae). *Scientia Marina*, 77(1): 129–136.
- Mohajeri J., Afsharnasab M., Jalali B., Kakoolaki S., Sharifrohani M. and Haghghi A. 2011.** Immunological and histopathological changes in *Penaeus semisulcatus* challenged with *Vibrio harveyi*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(2): 254–265.
- Nandan S. 2017.** Comparative study on biochemical composition of some selected shellfishes on nutritive aspects. *International Journal of Informative and Futuristic Research*, 4: 7721–7725.
- Niu J., Lin H.Z., Jiang S.G., Chen X., Liu Y.J., Wang S. and Tian L.X. 2013.** Comparison of effect of chitin, chitosan oligosaccharide and N-acetyl-D-glucosamine on growth performance, antioxidant defenses and oxidative stress status of *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 372–375.
- Norfaadila M., Harivaindaran K., Tajul A. and Yang R. 2013.** Biochemical and texture property changes during molting process of tiger prawn, *Penaeus monodon*. *International Food Research Journal*, 20(2): 751–758.
- Panakorn S. 2012.** Opinion article: More on early mortality syndrome in shrimp. *Aquaculture Asia Pacific*, 8: 8–10.
- Peraza-Gomez V., Luna-Gonzalez A., Campa-Cordova A.I., Lopez-Meyer M., Fierro-Coronado J.A. and Alvarez-Ruiz P. 2009.** Probiotic microorganisms and antiviral plants reduce mortality and prevalence of WSSV in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured under laboratory

- conditions. *Aquaculture Research*, 40: 1481–1489.
- Pinoni S.A., Michiels M.S. and Lopez Mananes A.A. 2013.** Phenotypic flexibility in response to environmental salinity in the euryhaline crab *Neohelice granulata* from the mudflat and the saltmarsh of a SW coastal lagoon. *Marine Biology*, 160: 2647–2661.
- Qiu L., Chen M.M., Wan X.Y., Zhang Q.L., Wang R.Y., Cheng D.Y., Dong X., Yang B., Wang X.H., Xiang J.H. and Huang J. 2017.** Characterization of a new member of Iridoviridae, shrimp hemocyte iridescent virus (SHIV), found in 19 White leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Science Report*, 7: 118–129.
- Rexi P., Manoharam J. and Priya P. 2015.** Comparison of approximate composition of fresh and cooked muscles of some prawn. *International Journal Informative Futuristic Research*, 2: 3537–3541.
- Sanchez-Paz A., Garcia-Carreno F., Hernandez-Lopez J., Muhlia-Almazian A. and Yepiz-Plascencia G. 2007.** Effect of short-term starvation on hepatopancreas and plasma energy reserves of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 340(2): 184–193.
- Savari S., Safahieh A., Archangi B., Savari A. and Abdi R. 2013.** Brain anatomy and histology of orange spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Journal of the Persian Gulf*, 4: 1–13.
- Traifalgar R.F., Kira H., Tung H.T., Michael F.R., Laining A., Yokoyama S., Ishikawa M., Koshio S., Serrano A.E. 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 F.I. and J.C. Chen 2006.** The immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* under temperature stress. *Aquaculture*, 258: 34–41.
- Yuniarti A., Guntoro D.A., Maftuch M. and Hariati M.A. 2013.** Response of indigenous *Bacillus megaterium* supplementation on the growth of *Litopenaeus vannamei* (Boone), a new target species for shrimp culture in East Java of Indonesia. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 3(1): 747–754.
- Zilli L., Schiavone R., Scordella G., Zonna V., Verri T., Storelli C. and Vilella S. 2003.** Changes in cell type composition and

enzymatic activities in the hepatopancreas of *Marsupenaeus japonicas* during the moulting cycle. *Journal of Comparative Physiology B*, 173(4): 355–363.

Zilli L., Schiavone R., Storelli C. and Vilella S. 2007. Analysis of

calcium fluctuation in hepatopancreatic R-cells of *Marsupenaeus japonicas* during the moulting cycle. *Biology Bulletin*, 212: 161–168.



Research Paper

Comparative study of hemocytes of immune system and hepatopancreas of green tiger prawn, *Penaeus semisulcatus* in cold and warm seasons

Zahra Basir^{1*}, Mohammad Ali Salari Aliabadi²

Received: January 2019

Accepted: April 2019

Abstract

Considering that green tiger prawn is important for fisheries and economic in the Persian Gulf region, understanding of the immune system and defense mechanism will lead to improved disease management in this species. In this study, hemocytes of the immune system and hepatopancreas in green tiger shrimp were compared in cold and warm seasons. For this purpose in total, 50 specimens of green tiger shrimp with a mean length of 19 ± 1 cm and a mean weight of 25 ± 0.5 g were prepared. Then 1 mL of hemolymph combined with 1 mL of anticoagulant and number and type of hemocytes were studied. Also for histological study, hepatopancreas was sampled from all shrimps and histological sections were prepared in usual methods. The results of this study indicated that in the cold season, the amount of all hemocytes increased. In both seasons, small granular hemocytes, without predominant change, were the highest in number and hyaline hemocytes were the lowest. In addition, a structural study of the hepatopancreas in both seasons showed that this organ was tubular, with the highest number of filamentary cells and the lowest amount of myoepithelial cells. There was a significant difference between absorptive-storage, bag and filamentary cells in both cold and warm seasons. Results of this study are consistent with the reports on other species and may be considered in vaccination cases due to stimulate and excite the immune system, especially during the cold season.

Key words: *Hemocyte, Immune System, Hepatopancreas, Penaeus semisulcatus*.

1- Assistant Professor in Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2- Associate Professor in Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

*Corresponding Author: z.basir@scu.ac.ir

