Journal of Aquaculture Sciences 13(24): 1-14 (2025)
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

نشریه علوم آبزی‌پروری
دوره ۱۳، شماره ۲۴: ۱-۱۴ (۱۴۰۴)

تأثیرعصاره الکلی بره موم زنبورعسل پرتوتابی شده با اشعه گاما بر فاکتورهای رشد و ایمنی میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

طیبه دهاز[۱]، کامران رضایی توابع[۱*]، مرضیه حیدریه[۲]، علیرضا میرواقفی[۱]

[۱]گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
[۲]پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۲ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۰۶**

چکیده

این مطالعه به بررسی تأثیر عصاره الکلی بره موم زنبورعسل پرتوتابی شده با اشعه گاما بر برخی پارامترهای رشد و همولنف میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) پرداخت. آزمایش به‌صورت کاملاً تصادفی و در قالب ۷ تیمار با ۳ تکرار طی یک دوره ۴۲ روزه انجام شد. تعداد ۱۰۵۰ پست لارو میگو با وزن اولیه ۱-۰/۵ گرم تیماربندی شده و با سطوح مختلف عصاره الکلی بره موم در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۵ و ۱ درصد در هر کیلوگرم جیره غذایی، پرتوتابی شده با دوزهای ۵، ۱۰ و ۳۰ کیلوگری اشعه گاما تغذیه شدند. در آغاز و پایان دوره، از هر تکرار ۵ قطعه میگو به‌طور تصادفی صید و پارامترهای مختلف از جمله وزن متوسط، افزایش وزن بدن (GR)، درصد افزایش وزن (WG)، ضریب رشد ویژه (SGR) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) محاسبه شد. همولنف نیز به‌منظور بررسی تعداد و نوع هموسیت‌ها از حفره پریکاردیال جمع‌آوری گردید. نتایج نشان داد که استفاده از عصاره بره موم پرتوتابی شده با اشعه گاما به‌طور معنی‌دار موجب افزایش نرخ بازماندگی میگوی وانامی در شرایط آزمایشگاهی شد ($P<۰/۰۵$). شاخص‌های وزن نهایی و به‌تبع آن GR و BWI در تیمارهای ۳ (غلظت ۰/۵ ٪ با دوز ۱۰ کیلوگری) و ۴ (غلظت ۱٪ با دوز ۱۰ کیلوگری) و همچنین تیمار ۶ (غلظت ۱٪ با دوز ۳۰ کیلوگری) به‌طور معنی‌دار نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). شاخص FCR تنها در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. بررسی همولنف نشان داد که بین میزان هموسیت کل در گروه شاهد و تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$). با این حال، بیشترین مقدار سلول‌های دانه‌دار بزرگ و سلول‌های نیمه‌دار در تیمار ۴ مشاهده شد که از نظر آماری با گروه شاهد تفاوت داشت ($P<۰/۰۵$). همچنین، بیشترین میزان سلول‌های هیالین در گروه شاهد مشاهده گردید که از نظر آماری با تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری نداشت. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مناسب‌ترین غلظت عصاره الکلی بره موم در جیره برای تحریک فاکتورهای رشد و ایمنی میگوی پا سفید غربی، غلظت ۱٪ پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما می‌باشد.

کلید واژگان: عصاره الکلی، بره موم، پرتو گاما، رشد، همولنف، میگوی پا سفید غربی

*نویسنده مسئول krtavabe@ut.ac.ir

مقدمه

افزایش تقاضای غذا از محصولات دریایی از یک‌سو و محدودیت منابع، آلودگی آب‌ها، تغییرات اقلیم، و صید بی‌رویه از سوی دیگر باعث گردیده که صید و صیادی پاسخگوی نیاز جامعه بشری امروزه نباشد. بنابراین صنعت آبزی‌پروری به‌طور کلی و آبزی‌پروری میگو به‌طور خاص به‌عنوان یکی از مهمترین منابع جایگزین مطرح شده است که می‌تواند به رفع کمبود مواد غذایی و کاهش فشار صید بر ذخایر آبزیان کمک کند (Nakajima *et al*., 2019; N'Souvi *et al*., 2024). براساس گزارش سازمان خواربار کشاورزی ملل متحد تولید آبزیان در سال ۲۰۲۲ به رکورد ۲۲۳/۲ میلیون تن در سال رسیده است که شامل ۱۸۵/۴میلیون تن جانور آبزی و ۳۷/۸ میلیون تن جلبک است، که از این مقدار، ۱۳۰/۹ میلیون تن متعلق به محصولات آبزی‌پروری به ارزش ۳۱۲/۸ میلیارد دلار آمریکا می‌باشد که عمدتاً به‌دلیل رشد آبزی‌پروری به‌ویژه در قاره آسیا می باشد (FAO, 2024). افزایش پرورش میگو در چند دهه اخیر به‌دلیل افزایش تقاضا و کیفیت تغذیه‌ای میگو است. طی دهه‌های اخیر، صنعت تولید میگو به‌عنوان یکی از مهمترین صنایع آبزی‌پروری در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری در جهان محسوب می‌شود (FAO, 2022) که آسیای شرقی با ۸۳/۴٪ از تولیدات، به ارزش تقریباً ۴۰ میلیارد دلار و آمریکای لاتین با ۱۶/۳٪، سهام‌داران اصلی تولید میگو هستند. گونه پا سفید غربی (*L. vannamei*) به‌عنوان مهم‌ترین گونه میگوی پرورشی در جهان شناخته شده است (Wongsasak *et al*., 2014; Suriya *et al*., 2016). با توجه به گزارش فائو، تولید این گونه از ۲/۶۵ میلیون تن در سال ۲۰۱۰ به ۶/۸ میلیون تن در سال ۲۰۲۲ رسیده و رتبه اول را در بین کل گونه‌های پرورشی جهان به خود اختصاص داده است (FAO, 2024). برای رسیدن به این سطح از تولید، این صنعت متحمل استراتژی‌های مختلف اعم از تبدیل سیستم‌های نیمه‌فشرده به سیستم‌های فوق فشرده با افزایش تراکم ذخیره‌سازی (بیش از ۱۵۰ میگو در متر مربع)، افزایش سرمایه‌گذاری در زیرساخت‌های سیستم‌های کشاورزی، استفاده از فناوری پیشرفته و غیره می‌گردد. با این حال، افزایش تولید در واحد سطح معمولاً با ایجاد و شیوع بیماری به‌دلیل تخریب محیطی، شرایط استرس‌زا و ظهور ژن‌های مقاوم ضد میکروبی همراه است. (Hoa *et al*., 2024). بنابراین صنعت آبزی‌پروری برای توسعه خود تا حد زیادی به استفاده روزافزون از ترکیبات شیمیایی، برای کنترل ارگانیسم‌های عفونی، وابسته است. مواد شیمیایی مورد استفاده در این صنعت به‌دلیل سمیت زیست‌محیطی خود، بر محیطزیست و سلامت حیوانات/انسان تأثیر منفی می‌گذارند. در نتیجه، نیاز فزاینده ای به جایگزینی این ترکیبات شیمیایی با محصولات طبیعی برای کاربرد آنها در آبزی‌پروری وجود دارد تا خطرات و عوارض جانبی محصولات مصنوعی را به حداقل برساند. استفاده از محصولات طبیعی در آبزی‌پروری به‌عنوان ضد عفونی کننده، علف‌کش، آفت‌کش، آنتی‌بیوتیک و مکمل‌های غذایی در مقالات متعدد گزارش شده است، که بره موم به‌دلیل خاصیت ضد عفونی کننده، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و باکتریواستاتیک، برجسته می‌باشد (De la Cruz-Cervantes *et al*., 2018). بره موم یک ماده چسبنده صمغی پیچیده است که توسط زنبور عسل با جمع‌آوری جوانه و صمغ گیاهان و ترکیب آن با بزاق، تولید می‌شود (Alishahi *et al*., 2018). بره موم را می‌توان برای بهبود عملکرد رشد و جذب غذا استفاده کرد، همچنین کاهش فعالیت میکروبی، بهبود پاسخ‌های ایمنی و مقاومت در برابر بیماری گونه‌های مختلف ماهیان پرورشی، به ما این امکان را می‌دهد که این ماده را به‌عنوان یک افزودنی طبیعی کاربردی معرفی کنیم. بره موم باعث سلامت بهتر ماهی و افزایش بهره‌وری می‌شود، و در نهایت ممکن است برای مصرف‌کنندگان ماهی نیز مزایایی داشته باشد. در نتیجه توانایی زیادی برای استفاده در صنعت آبزی‌پروری دارد (De la Cruz-Cervantes *et al*., 2018). بره موم یک افزودنی طبیعی است که اخیراً به‌عنوان یک محرک رشد بالقوه در رژیم غذایی طیور (Mahmoud *et al*., 2016; Saeed *et al*., 2017; Abd EL-Ghany *et al*., 2024) و نشخوارکنندگان (Soltan *et al*., 2016; Soltan *et al*., 2020; Morsy *et al*., 2021) در تحقیقات متعدد مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفته است، اما استفاده از این ماده در رژیم غذایی آبزیان (Dend *et al*., 2011; Alishahi *et al*., 2018; Santos *et al*., 2023) خصوصاً میگو کمتر مورد توجه قرار گرفته است. پرتو تابی با اشعه گاما یک روش نوین و مؤثر در فرآوری و بهبود خواص عصاره‌های به‌دست آمده از منابع طبیعی است. تابش گاما می‌تواند به بهبود

جدول ۱- آنالیز تقریبی غذای تجاری میگوی پا سفید غربی-شرکت دانه طلایی کمیجان

نوع خوراک / ماده مغذی (٪)	آغازین			رشد	
	MS1 Crumble ۰/۰-۵/۸ mm	MS2 Crumble ۰/۱-۸ mm	MS3 Pellet ۱-۱/۵ mm	MG1 Pellet ۱/۱-۵/۸ mm	MG2 Pellet ۱/۲-۸/۲ mm
پروتئین خام (حداقل)	۲±۴۱	۲±۴۱	۲±۴۰	۲±۳۹	۲±۳۸
چربی خام (حداقل)	۱±۸	۱±۸	۱±۸	۱±۸	۱±۸
فیبر خام (حداکثر)	۳	۳	۴	۴	۴
خاکستر (حداکثر)	۱۴	۱۴	۱۴	۱۲	۱۲
رطوبت (حداکثر)	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰

ترکیبات فعالِ زیستی موجود در عصاره کمک کند و اثرات زیستی آن را افزایش دهد. استفاده از تابش گاما به‌عنوان یک روش نوین در استخراج ترکیبات فعالِ زیستی، می‌تواند به بهبود کیفیت، ماندگاری و ایمنی عصاره کمک کند. این تابش می‌تواند با تخریب میکروارگانیسم‌ها و کاهش بار میکروبی، به استرلیزاسیون و افزایش ماندگاری این محصول طبیعی منجر شود. اثر تابش گاما بر خواص آنتی‌اکسیدانی بره‌موم نیز از اهمیت بالایی برخوردار است. این تابش قادر است ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را آزاد و فعال کند، که به نوبه خود می‌تواند در مقابله با رادیکال‌های آزاد مؤثر باشد (Heidarieh *et al.*, 2023). در سال‌های اخیر، مطالعات زیادی بر روی بره موم، با اثرات دارویی مختلف انجام شده است اما مطالعات کمی بر روی تأثیر بره مومِ پرتوتابی شده، بر گونه‌های آبزی خصوصاً میگوها انجام شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات عصاره الکلی بره موم زنبور عسل پرتوتابی شده با اشعه گاما بر عملکرد رشد و همولنف میگوی پا سفید غربی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مکان و زمان انجام آزمایش: مطالعه حاضر در قالب یک تحقیق میدانی در مزرعه دریا میگوی ساحل لیان واقع در سایت دلوار یک، شهرستان تنگستان، استان بوشهر از تاریخ ۴ تیرماه تا ۱۵ مرداد ۱۴۰۳ طی یک دوره پرورش ۴۲ روزه انجام شد. سنجش شاخص‌های رشد و تغذیه در مزرعه مذکور؛ تهیه بره موم از مزرعه زنبور عسل مرودشت، فارس؛ عصاره‌گیری و پرتودهی عصاره بره موم در دانشکده تحقیقات کشاورزی هسته‌ای، موسسه تحقیقات علوم و فناوری هسته‌ای، کرج؛ بررسی بافت‌شناسی دستگاه گوارش میگو در پژوهشکده میگوی کشور و تهیه تصاویر بافت‌شناسی در دانشگاه خلیج فارس بوشهر صورت گرفت.

شاخص‌های کیفی آب: در طی دوره آزمایش، روزانه ۲۰ درصد حجم آب مخازن پرورش، با آب دریا ضدعفونی شده با هیپوکلریت کلسیم تعویض شد. پارامترهای کیفی آب در دوره نگهداری پست‌لاروهای وانامی و زمان آزمایش‌ها شامل: دما، pH، و اکسیژن محلول آب با دستگاه‌های دیجیتالی شرکت اکسی گارد (Oxyguard) ساخت کشور دانمارک، و شوری با دستگاه شوری سنج آتاگو (Atago) ژاپن روزانه در دو نوبت صبح و عصر و در سه نقطه از استخر شامل اطراف دریچه ورودی، وسط و نزدیکی دریچه خروجی اندازه‌گیری و ثبت شد که به‌ترتیب به میزان ۱/۲±۳۱/۵ درجه سانتی‌گراد، ۰/۵±۸، ۱/۴۷±۸/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر و ۱/۵±۴۰ گرم بر لیتر بود.

میگوها، سازگاری و تثبیت نمونه‌ها: پست‌لاروهای ۲۵ روزه (PLs_{25}) میگوی پاسفید غربی *L. vannamei* در تیرماه ۱۴۰۳ از مرکز تکثیر زارعی شهرستان تنگستان استان بوشهر تهیه و به مزرعه دریا میگوی ساحل لیان واقع در سایت دلوار یک منتقل شدند. بچه میگوها به‌مدت دو هفته به‌منظور سازگاری با شرایط آزمایشگاه در مخازن حاوی آب شور با ظرفیت ۲۰۰۰ لیتر نگهداری شدند (آب هوادهی شده با دمای ۳۳-۳۰ درجه سانتی‌گراد). در این مدت غذادهی به‌صورت ۴ بار در روز بوده و از خوراک پلیت شرکت دانه طلایی کمیجان (جدول ۱) استفاده شد. بچه میگوهایی که در این پژوهش مورد آزمایش قرار گرفتند، دارای وزنی در حدود ۰/۵-۱گرم بودند.

تهیه عصاره اتانولی بره موم: بره موم به‌صورت دستی و با استفاده از روش خراش در کندوی زنبور عسل زنبورستان مرودشت، فارس، ایران جمع‌آوری شد. همه نمونه‌ها تمیز شده و قبل از استخراج با نیتروژن مایع خشک شده و آسیاب

شکل ۱- عصاره‌گیری از بره موم با استفاده از اتانول و تغلیظ توسط دستگاه تبخیر دوار (Rotary evaporator)

جدول ۲- تیماربندی نمونه‌ها

تیمار	توصیف
تیمار C (گروه شاهد)	میگو تغذیه شده با جیره پایه بدون استفاده از مکمل بره موم پرتوتابی شده.
تیمار T1	میگو تغذیه شده با جیره پایه حاوی غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما
تیمار T2	میگو تغذیه شده با جیره پایه حاوی غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما
تیمار T3	میگو تغذیه شده با جیره پایه حاوی غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما
تیمار T4	میگو تغذیه شده با جیره پایه حاوی غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما
تیمار T5	میگو تغذیه شده با جیره پایه حاوی غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما
تیمار T6	میگو تغذیه شده با جیره پایه حاوی غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما

شدند. عصاره‌های اتانولی بره موم طبق توصیف دنگ و همکاران (۲۰۱۱) تهیه شد. حدود نیم کیلوگرم بره موم خام در ۹۵٪ (v/v) الکل اتیلیک در ظرف شیشه‌ای بسته شده به مدت ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، با استفاده از دستگاه شیکر استخراج شد. عصاره اتانول از طریق یک کاغذ فیلتر واتمن شماره ۴ فیلتر شد و اتانول باقی مانده در خلاء تبخیر گردید. پودر خشک شده در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در یک ظرف بسته نگهداری و در برابر نور محافظت شد و در معرض تابش گاما قرار گرفت (شکل ۱).

پرتودهی عصاره بره موم توسط اشعه گاما: پرتوتابی عصاره اتانولی بره موم با استفاده از سلول گاما مدل PX-30 (روسیه) با میزان دوز ۰/۰۲ گری بر ثانیه (GY/S عبارتست از انرژی معادل ۱ ژول ناشی از انواع پرتوها که به ۱ کیلوگرم از ماده در یک ثانیه منتقل می‌شود) در دانشکده تحقیقات کشاورزی هسته‌ای، موسسه تحقیقات علوم و فناوری هسته‌ای، کرج، ایران تابش گردید. دوزهای ۵، ۱۰ و ۳۰ کیلوگری برای تابش عصاره اتانولی بره موم (Ethanol Extracts of Propolis) در نظر گرفته شد. پس از تابش، نمونه‌ها برای آزمایش‌های بیشتر در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تیماربندی نمونه‌ها: پس از طی دوره سازگاری، آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی شامل ۷ تیمار با ۳ تکرار در یک دوره پرورش ۴۲ روزه انجام شد. تیمارها شامل گروه هایی با سطوح مختلف عصاره الکلی بره موم در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۵ درصد و ۱ درصد در هر کیلوگرم جیره غذایی، پرتوتابی شده با دوزهای ۵، ۱۰ و ۳۰ کیلوگری اشعه گاما، به شرح جدول ۲ می‌باشد.

عصاره بره موم با شش گروه سطوح مختلف و گروه شاهد در سه تکرار با میزان مشخص شده در حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر آب و ۴ گرم ژلاتین حل شده در آن، بر روی جیره غذایی اسپری گردید و سپس تا زمان خشک شدن جیره غذایی در معرض هوای آزاد قرارگرفت و در داخل کیسه‌های پلاستیک در یخچال نگهداری شد. تمام مراحل ساخت غذا در مورد جیره گروه شاهد نیز انجام شد و فقط عصاره الکلی بره موم به غذای گروه شاهد اضافه نگردید.

تعداد ۱۰۵۰ قطعه بچه میگو به‌صورت تصادفی در ۲۱ مخزن طبق طرح آزمایش وارد شدند و به‌مدت ۶ هفته در تیماربندی مورد نظر، در سالن پرورش نگهداری شدند. هوادهی مخزن‌ها با استفاده از سنگ هوای متصل به هواده صورت گرفت. میگوها روزانه ۴ بار در ساعت‌های ۷، ۱۲، ۱۹ و ۲۴ به میزان ۵ درصد وزن بدن در روز با جیره پایه تغذیه شدند. هر روز صبح، قبل از شروع غذادهی، غذاهای خورده

نشده و مدفوع خارج گردید. همچنین در طی این مدت روزانه ۵ درصد آب مخازن با آب فیلتر شده دریا، تعویض شد. در طول دوره غذادهی، فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب به‌صورت روزانه اندازه‌گیری گردید.

تعیین شاخص‌های عملکرد رشد و بازماندگی

شاخص‌های رشد: در ابتدا و انتهای دوره از هر تکرار ۵ قطعه میگو (تعداد ۱۵ قطعه به‌ازای هر تیمار) به‌طور تصادفی صید و وزن آنها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری و وزن متوسط، میزان رشد روزانه، درصد افزایش وزن (WG)، ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Maccari *et al*., 2021; Alrashada *et al*., 2023). لازم به ذکر است به‌منظور جلوگیری از بروز استرس و تلفات احتمالی، تغذیه میگوها ۲۴ ساعت قبل و بعد از انجام عملیات زیست‌سنجی قطع شد.

افزایش وزن بدن:

افزایش وزن بدن= وزن نهایی – وزن اولیه

ضریب تبدیل غذایی:

ضریب تبدیل غذایی= میزان غذای مصرف شده در طول دوره/اختلاف وزن نهایی و وزن اولیه

نرخ رشد ویژه:

نرخ رشد ویژه= اختلاف وزن نهایی و اولیه/ زمان (روز)

درصد افزایش وزن بدن:

$BWI\% = [(BWF - BWi) / BWi] \times 100$

BWi= متوسط وزن اولیه در هر تانک

BWF= متوسط وزن نهایی در هر تانک

بازماندگی: جهت بررسی نرخ بقاء از ابتدای دوره تا انتهای آن تلفات به‌طور روزانه ثبت و در انتها درصد تلفات درتیمارهای مختلف با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Maccari *et al*., 2023; Hoa *et al*., 2024).

100×تعداد میگو ابتدایی/ (تعداد میگو مرده– تعداد میگو ابتدایی) =نرخ بقاء

نمونه‌گیری از همولنف: در پایان دوره پرورش، نمونه‌گیری ازهمولنف میگوهای مورد آزمایش به‌عمل آمد. برای این منظور، برای جلوگیری از بروز استرس، ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌گیری غذادهی به میگوها قطع شد. سپس ۵ قطعه میگو به‌ازای هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب و با سرم فیزیولوژی (کلرید سدیم ۰/۸۷ درصد) شستشو و ضدعفونی گردیدند. همولنف با استفاده از یک سرنگ استریل ۱ میلی‌لیتری و سر سوزن شماره ۲۱ حاوی ۰/۴ میلی لیتر محلول خنک ضد انعقاد آلزویر (تری سدیم‌سیترات ۳۰ میلی مولار، کلرید سدیم ۳۴۰ میلی مولار، EDTA ۱۰ میلی‌مولار و گلوکز ۱۲۰ میلی مولار در pH=۷/۵۵) به نسبت ۱:۱ از حفره پریکاردیال (بین سفالوتوراکس و اولین بند شکمی) جمع‌آوری و برای اندازه‌گیری تعداد هموسیت کل و شمارش افتراقی هموسیت‌ها مورد استفاده قرار گرفت (Jiang *et al*., 2004).

شاخص‌های سلولی همولنف

سنجش میزان هموسیت کل (THC): به‌منظور شمارش تعداد کل هموسیت‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر نمونه همولنف حاوی ماده ضد انعقاد با حجم برابر از فرمالین ۱۰ درصد به‌مدت ۳۰ دقیقه فیکس گردید. سپس از همولنف ِفیکس شده با استفاده از بافر فسفات سالین (PBS, 20 mM, pH 7.2) رقت‌های متوالی (۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ مرتبه) تهیه و با کمک لام نئوبار (هموسیتومتر) و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 100 x شمارش هموسیت‌ها انجام شد. میزان هموسیت کل با استفاده از فرمول زیر و احتساب ضریب رقت برآورد گردید (Song *et al*., 2003).

هموسیت کل= (تعداد سلول‌های شمارش شده × ضریب رقیق‌سازی ×۱۰۰۰) / حجم اتاقک لام نئوبار ($0/1\ mm^3$)

شمارش افتراقی هموسیت‌ها (DHC): شمارش افتراقی سلول‌ها طبق روش Tsing و همکاران (۱۹۸۹) انجام شد، پس از تهیه گسترش از نمونه‌های همولنف حاوی ماده ضد انعقاد، لام‌ها با استفاده از متانول خالص به‌مدت۳۰ ثانیه فیکس و با محلول گیمسا ۱۰٪ به‌مدت ۱۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند. سپس تعداد ۲۵۰–۳۰۰ سلول هموسیت با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی 100 x شمارش و تعداد هموسیت‌های دانه‌دار بزرگ، نیمه دانه‌دار و هیالین بر اساس نسبت هسته به سیتوپلاسم، تعداد گرانول‌ها، نوع رنگ و اندازه هموسیت‌ها تعیین گردید. تعداد سلول‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

شمارش افتراقی هموسیت‌ها= (تعداد انواع سلول‌های هموسیتی مختلف/تعداد کل هموسیت شمارش شده) ×۱۰۰

آنالیز داده‌ها: قبل از انجام آزمون‌های آماری، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک بررسی گردید. پس

جدول ۳- تأثیر افزودن عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با اشعه گاما به جیره غذایی بر عملکرد رشد و نرخ بازماندگی میگوی وانامی در پایان دوره پرورش ۴۲ روزه

شاخص / تیمار	C	T1	T2	T3	T4	T5	T6
وزن اولیه (گرم)	۰/۰±۶۳۸/۰۱۸	۰/۰±۶۲۳/۰۱۷	۰/۰±۶۲۳/۰۱۴	۰/۰±۶۲۷/۰۱۶	۰/۰±۶۳۳/۰۱۷	۰/۰±۶۳۵/۰۱۷	۰/۰±۶۳۰/۰۱۴
وزن نهایی (گرم)	۵/۰±۸۳۱/۱۲۰	۶/۰±۳۱۶/۱۷۰	۶/۱±۲۹۱/۲۴۳	۶/۰±۴۲۸/۲۰۲	۶/۰±۵۶۱/۱۲۱	۶/۰±۲۴۳/۲۵۱	۶/۰±۳۳۴/۱۹۵
افزایش وزن (گرم)	۵/۰±۱۹۳/۱۰۹ b	۵/۰±۶۸۴/۱۶۳ ab	۵/۰±۶۶۸/۲۷۸ ab	۵/۰±۸۰۲/۱۹۴ a	۵/۰±۹۲۸/۱۱۲ a	۵/۰±۶۰۷/۲۳۶ ab	۵/۰±۷۷۵/۱۸۳ a
ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۰±۱۲۴/۰۰۳ b	۰/۰±۱۳۵/۰۰۴ ab	۰/۰±۱۳۵/۰۰۷ ab	۰/۰±۱۳۸/۰۰۵ a	۰/۰±۱۴۱/۰۰۳ a	۰/۰±۱۳۴/۰۰۶ ab	۰/۰±۱۳۸/۰۰۴ a
افزایش وزن بدن (٪)	۸۱۴/۱۹±۱۰۸/۰۸	۸۹۹/۲۳±۴۷۷/۱۲۳	۹۰۹/۱۷±۵۲۷/۳۱۲	۹۲۵/۱۸±۹۹۶/۲۱۵	۹۳۶/۱۹±۳۷۳/۰۲۵	۸۸۲/۲۱±۵۴۱/۳۲۵	۹۱۶/۱۸±۱۹۳/۲۱۲
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰±۱۷۱/۰۲۶ a	۱/۰±۰۷۷/۰۳۱ ab	۱/۰±۱۱۴/ ۰۶۴ ab	۱/۰±۰۵۸/۰۳۳ ab	۱/۰±۰۲۲/۰۲۰ b	۱/۰±۱۳۳/۰۵۸ ab	۱/۰±۰۶۷/۰۳۳ ab
نرخ بازماندگی (درصد)	۷۴/۴±۶۶/۱۵	۲±۷۶/۲۶	۷۶/۳±۲۱/۸۳	۷۶/۳±۵/۷۸	۸۱/۳±۶/۲۷	۷۸/۳±۵/۲۳	۷۹/۲±۲/۴۵

مقادیر به‌صورت میانگین± انحراف معیار بیان شده‌اند (**n**=۱۰). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (***P***>۰/۰۵).

C: گروه شاهد، **T1:** تغذیه شده با ۰/۵ درصد عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلو گری اشعه گاما، **T2:** تغذیه شده با ۱ درصد عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با دور ۵ کیلو گری، **T3**: تغذیه شده با ۰/۵ درصد عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلو گری اشعه گاما، **T4:** تغذیه شده با ۱ درصد عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با دور ۱۰ کیلو گری، **T5**: تغذیه شده با ۰/۵ درصد عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلو گری اشعه گاما، **T6**: تغذیه شده با ۱ درصد عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با دور ۳۰ کیلو گری

از حصول اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه‌وتحلیل نتایج با استفاده از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت. نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار (Mean±Standard deviation) بیان شد. تمام آنالیزها به کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2019 انجام شد.

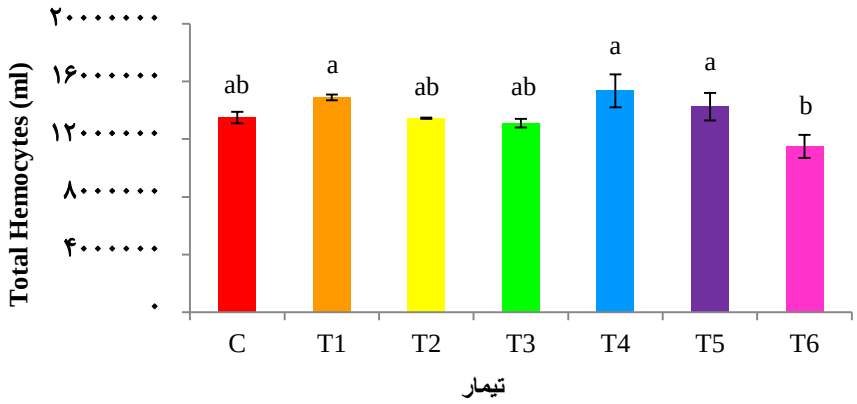
نتایج

تأثیر عصاره بره موم پرتوتابی شده با اشعه گاما بر عملکرد رشد و نرخ بازماندگی: نتایج تأثیر افزودن عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با اشعه گاما به جیره غذایی میگوی پاسفید غربی بر نرخ بازماندگی و پارامترهای رشد شامل وزن نهایی، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، و ضریب تبدیل غذایی در طی دوره پرورش ۴۲ روزه در جدول ۳ ارائه شده است. به‌طور کلی نتایج حاصل نشان داد که استفاده از عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با اشعه گاما در رژیم غذایی به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش نرخ بازماندگی میگوی وانامی در شرایط آزمایشگاهی شد (P<۰/۰۵). شاخص وزن نهایی و به‌تبع آن افزایش وزن بدن (GR) و درصد افزایش وزن بدن (BWI) در تیمارهای T3، T4 (تغذیه شده با غلظت ۰/۵ و ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما) و T6 (تغذیه شده با غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵). در حالی‌که در تیمارهای تغذیه شده با عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). ضریب رشد ویژه (SGR) در تمامی تیمارها به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی (FCR) تنها در تیمار ۴ (تغذیه شده با غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما) در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵) (جدول ۳).

شاخص های سلولی هملنف

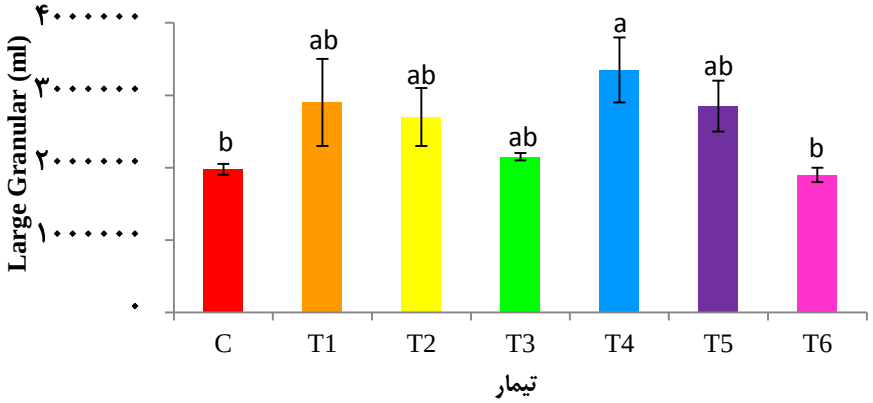
هموسیت کل: نتایج مربوط به مقادیر اندازه‌گیری شده هموسیت کل نشان داد که بین میزان هموسیت کل در گروه شاهد با تیمارهای مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). بیشترین مقدار هموسیت کل در میگوهای تغذیه شده با غلظت ۱ درصد عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما (تیمار ۴) مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها (به‌جز تیمار ۶) نداشت (P>۰/۰۵). کمترین مقدار هموسیت کل در میگوهای تغذیه شده با غلظت ۱ درصد عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما (تیمار ۶) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای ۱، ۴ و ۵ داشت (P<۰/۰۵) (شکل ۲).

سلول‌های دانه دار بزرگ: نتایج مربوط به مقادیر اندازه‌گیری شده سلول‌های دانه‌دار بزرگ نشان داد که بین میزان سلول‌های دانه‌دار بزرگ در گروه شاهد با تیمارهای مورد آزمایش، به‌جز تیمار ۴، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). بیشترین مقدار سلول‌های دانه‌دار بزرگ در تیمار ۴ (غلظت ۱ درصد عصاره بره مومِ پرتوتابی شده با



شکل ۲- مقایسه میزان هموسیت کل در همولنف تیمارهای تغذیه شده با دوزهای مختلف عصاره بره موم پرتوتابی شده با اشعه گاما (حروف متفاوت در بالای هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ($P<۰/۰۵$))

(C: گروه شاهد، T1: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما، T2: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما، T3: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما، T4: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما، T5: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما، T6: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما)

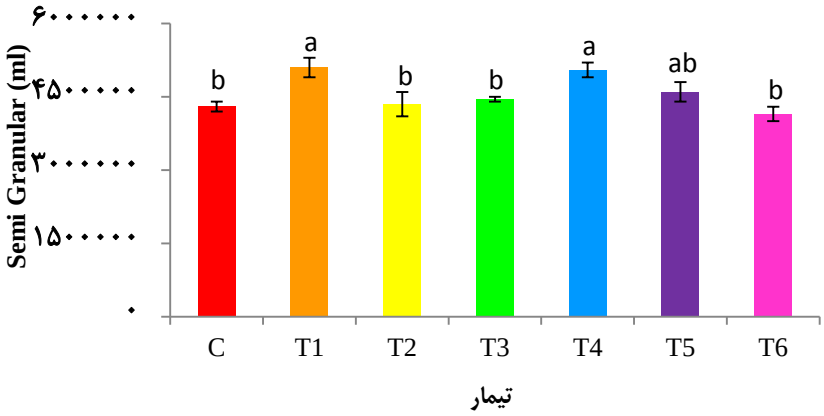


شکل ۳- مقایسه میزان سلول‌های دانه‌دار بزرگ در همولنف تیمارهای تغذیه شده با دوزهای مختلف عصاره بره موم پرتوتابی شده با اشعه گاما (حروف متفاوت در بالای هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می باشد ($P<۰/۰۵$))

(C: گروه شاهد، T1: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما، T2: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما، T3: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما، T4: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما، T5: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما، T6: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما)

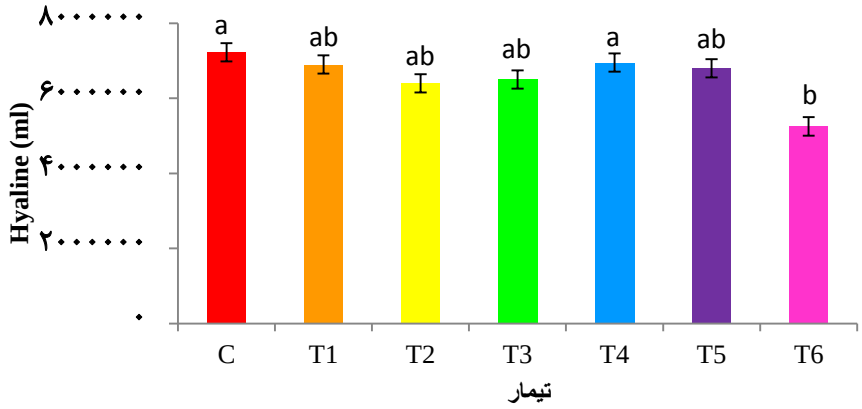
غلظت ۱۰ کیلوگری اشعه گاما) مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P<۰/۰۵$). همچنین بین تیمارهای تغذیه شده با غلظت ۱ درصد عصاره بره موم، در تابش‌های ۱۰ و ۳۰ کیلوگری اشعه گاما (تیمار ۴ و ۶) اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<۰/۰۵$)، که در تیمار ۶ به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار ۴ بود اما بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$) (شکل ۳).

سلول‌های نیمه دانه‌دار: نتایج مربوط به مقادیر اندازه‌گیری شده سلول‌های نیمه دانه‌دار نشان داد که میزان این سلول‌ها در تیمارهای شماره ۱ و ۴ اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P<۰/۰۵$). بیشترین مقدار سلول‌های نیمه دانه‌دار در تیمار ۱ (میگوهای تغذیه شده با غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما) و تیمار ۴ (میگوهای تغذیه شده با غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما)، و کمترین مقدار سلول‌های نیمه دانه‌دار در تیمار ۶ (میگوهای تغذیه شده با غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما) مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ($P>۰/۰۵$) (شکل ۴).



شکل ٤- مقایسه میزان سلول‌های نیمه دانه‌دار در همولنف تیمارهای تغذیه شده با دوزهای مختلف بره موم پرتوتابی شده با اشعه گاما (حروف متفاوت در بالای هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می باشد ($P<۰/۰۵$))

(C: گروه شاهد، T1: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما، T2: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما، T3: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما، T4: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما، T5: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما، T6: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما)

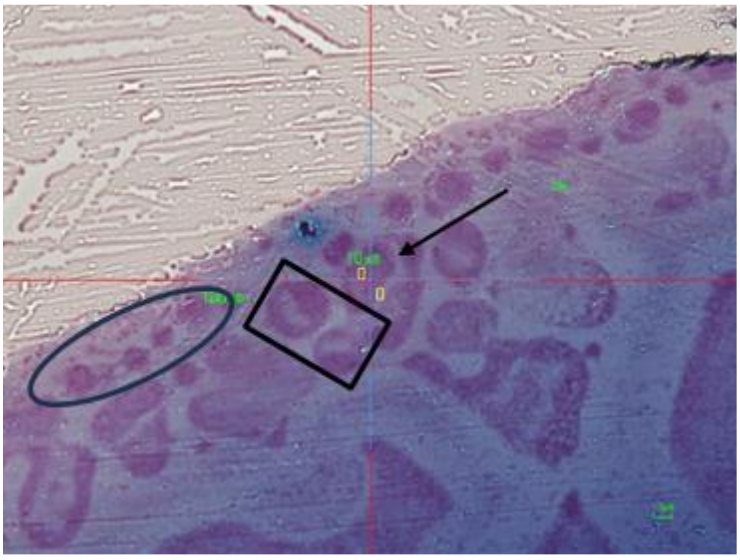


۵- مقایسه میزان سلول‌های هیالین در همولنف تیمارهای تغذیه شده با دوزهای مختلف بره موم پرتوتابی شده با اشعه گاما (حروف متفاوت در بالای هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ($P<۰/۰۵$))

(C: گروه شاهد، T1: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما، T2: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۵ کیلوگری اشعه گاما، T3: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما، T4: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما، T5: غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما، T6: غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما)

سلول‌های هیالین: بیشترین میزان سلول‌ها در همولنف میگوی پاسفید غربی را شامل می‌شوند. نتایج مربوط به مقادیر اندازه‌گیری شده سلول‌های هیالین نشان داد که بین میزان این سلول‌ها در گروه شاهد با تیمارهای مورد آزمایش، به‌جز تیمار ۶، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$). بیشترین مقدار این سلول‌ها در گروه شاهد و به‌دنبال آن تیمار ۴ (تغذیه شده با غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما) مشاهده گردید و کمترین مقدار این سلول‌ها در تیمار ۶ (میگوهای تغذیه شده با غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و تیمار ۴ داشت ($P<۰/۰۵$)، اما بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$) (شکل ۵).

در مجموع بیشترین میزان سلول‌ها در همولنف میگوی وانامی در تمامی تیمارها، متعلق به سلول‌های هیالین و کمترین سلول‌ها متعلق به سلول‌های دانه‌دار بزرگ می‌باشد (شکل ۶). بیشترین میزان هموسیت کل در تیمار ۴ مشاهده گردید که از نظر آماری اختلافی با سایر تیمارها نداشت و فقط تیمار ۶ به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. بیشترین میزان سلول‌های دانه‌دار بزرگ در تیمار ۴ مشاهده



شکل ٦- سلول‌های هیالین (بیضی)؛ سلول‌های دانه‌دار بزرگ (فلش)؛ سلول‌های نیمه دانه‌دار (مربع)

گردید که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نشان داد. بیشترین میزان سلول‌های نیمه دانه‌دار در تیمار ۱ و به‌دنبال آن تیمار ۴ مشاهده گردید که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت. بیشترین میزان سلول‌های هیالین در گروه شاهد و به‌دنبال آن تیمار ۴ مشاهده گردید که از نظر آماری اختلافی بین این دو تیمار با سایر تیمارها وجود نداشت و فقط تیمار ۶ به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود.

بحث

بی‌مهرگان فاقد سیستم‌های ایمنی تطابقی هستند و تنها بر پاسخ‌های ایمنی ذاتی خود تکیه می‌کنند (Li *et al*., 2019). محرک‌های ایمنی مانند ویتامین‌ها، مواد با منشاء میکروبی، عصاره‌های به‌دست آمده از منابع حیوانی و گیاهی و محصولات فرعی سایر صنایع مانند کیتوزان و بره موم، نقش امیدوارکننده‌ای در افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها در آبزی‌پروری ماهی و میگو ایفا می‌کنند (Sforcin, 2007; Alishahi *et al*., 2018). در سال‌های اخیر، گنجاندن محصولات زنبور عسل در جیره غذایی آبزیان به‌دلیل هزینه کم و تأثیرات زیست‌محیطی اندک، مورد توجه قرار گرفته است. یکی از این محصولات بره موم است که حاوی اسانس، موم و رزین گیاهی می‌باشد. این ترکیب شامل بیش از ۲۰۰ ماده فعال زیستی، از جمله ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، ترکیبات معطر، مواد معدنی و ویتامین‌های A، E و B-complex است (Alrashada *et al*., 2023; Gholamine *et al*., 2023).

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از عصاره بره موم پرتوتابی شده با اشعه گاما در رژیم غذایی به‌طور معنی‌داری نرخ بازماندگی میگوی وانامی را در شرایط آزمایشگاهی افزایش داد. بررسی اثرات مکمل‌های غذایی غنی‌شده با عصاره بره موم بر سایر آبزیان، مانند ماهی تیلاپیا نیل آلوده به باکتری ادواردزیلا تاردا (*Edwardsiella tarda*) (Edrees *et al*., 2025) و باکتری آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) (Dotta *et al*., 2018) نشان داد که گروه تغذیه‌شده با جیره‌های مکمل حاوی بره موم، وزن بدن بیشتر، فاکتور وضعیت، سرعت رشد ویژه، مصرف خوراک و بازده مصرف خوراک بالاتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

علاوه بر این، Alishahi و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که تلفات تجمعی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه‌شده با رژیم غذایی حاوی ۰/۵ درصد عصاره الکلی بره موم پس از چالش باکتریایی، به‌طور قابل توجهی نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. در مطالعه حاضر، بیشترین میزان بازماندگی در غلظت ۱ درصد عصاره الکلی بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما مشاهده گردید. تحقیقات Heidarieh و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که عصاره اتانولی بره موم ایرانی پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد و قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را نسبت به گروه‌های دیگر نشان دهد. همچنین، EEP تابش شده با اشعه گاما در دوز ۱۰

کیلوگری دارای محتوای فنلی کل بالاتری در مقایسه با EEPتابش شده با دوزهای ۳۰، ۴۰ و ۵۰ کیلوگری و EEP بدون تابش بود.

ترکیبات فلاونوئید، همان‌طور که توسط تجزیه‌وتحلیل NMR C-13نشان داده شد، در EEP تابش شده با اشعه گاما در دوز ۱۰ کیلوگری در مقایسه با گروه‌های دیگر بالاتر بود. در نتیجه، عصاره اتانولی بره موم پردازش‌شده با پرتو گاما در دوز ۱۰ کیلوگری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی و فلاونوئیدی بالایی را نشان می‌دهد که به‌دنبال آن نرخ زنده‌مانی ارگانیسم را افزایش می‌دهد. نتایج این تحقیق در راستای تحقیق حاضر نشان می‌دهد که پرتوتابی عصاره اتانولی بره موم با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما بهترین عملکرد را برای این عصاره به‌دنبال خواهد داشت. شاخص وزن نهایی و به‌تبع آن افزایش وزن بدن (GR) و درصد افزایش وزن بدن (BWI) در تیمارهای T3 و T4 (تیمارهای تغذیه‌شده با مکمل حاوی غلظت ۰/۵ و ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما) و T6 (تیمار تغذیه‌شده با مکمل حاوی غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۳۰ کیلوگری اشعه گاما) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت.

تحقیقات Tukmechi و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که اثر مکمل غذایی بره موم ایرانی بر رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بهبود عملکرد رشد و برخی پارامترهای ایمنی را نشان می‌دهد. نرخ رشد ویژه (SGR) به‌عنوان یک شاخص کلیدی برای ارزیابی کارایی رشد آبزیان، در این مطالعه به‌طور معنی‌داری در تمامی تیمارها نسبت به گروه شاهد افزایش یافت.

Deng و همکاران نیز در (۲۰۱۱) به بررسی اثر عصاره اتانولی بره موم (EEP) بر عملکرد رشد و پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند و نشان دادند که مکمل غذایی EEP بدون در نظر گرفتن سطح گنجاندن، به‌طور قابل توجهی نرخ رشد ویژه ماهی را بهبود بخشید. این افزایش احتمالاً ناشی از ترکیبات زیست‌فعال بره موم (مانند فلاونوئیدها و ترپنوئیدها) است که پس از پرتوتابی با اشعه گاما، فعالیت زیستی بالاتری پیدا کرده و متابولیسم را در میگوها تنظیم می‌کنند. همچنین، خاصیت ضدالتهابی بره موم ممکن است با کاهش استرس اکسیداتیو در روده، جذب ریزمغذی‌ها را بهبود بخشد. ضریب تبدیل غذایی (FCR) معیاری برای سنجش کارایی تبدیل خوراک به زیست‌توده است. در این تحقیق، ضریب تبدیل غذایی تنها در تیمار ۴ (تغذیه‌شده با ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما) نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

بره موم به‌دلیل داشتن ترکیبات فنولی نقش مهمی در کاهش التهاب و تعدیل فلور میکروبی روده دارد. داده‌های پیش بالینی و بالینی نشان می‌دهند که پلی‌فنل‌ها دارای خواص پری‌بیوتیکی هستند و فعالیت‌های ضدمیکروبی علیه فلور میکروبی (GM) بیماری‌زا اعمال می‌کنند و توانایی تعدیل ترکیب و عملکرد GM، نفوذپذیری غشاء، و همچنین حساس کردن باکتری‌ها به زنوبیوتیک‌ها را نشان داده‌اند. علاوه بر این، می‌توانند بر متابولیسم روده و ایمنی تأثیر بگذارند و خواص ضدالتهابی داشته باشند (Singh *et al*., 2019). همچنین، اسید کافئیک موجود در بره موم با مهار آنزیم‌های لیپوکسیژناز و سیکلواکسیژناز، پاسخ التهابی را کاهش می‌دهد (Gholamine *et al*., 2023). این امر سطح جذب مواد مغذی را افزایش می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که بره موم با افزایش جمعیت باکتری‌های مفید (مانند لاکتوباسیلوس)، هضم پلی‌ساکاریدهای پیچیده را تسهیل می‌کند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بره موم با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، نیاز به ترمیم بافتی را کاهش داده و انرژی ذخیره‌شده را به سمت رشد هدایت می‌کنند.

همان‌طور که عنوان شد، بی‌مهرگان فاقد سیستم‌های ایمنی تطابقی هستند و تنها بر پاسخ‌های ایمنی ذاتی خود تکیه می‌کنند (Li *et al*., 2019). یکی از مکانیسم‌های دفاعی رایج در این جانوران در برابر عوامل خارجی، ایجاد هموسیت‌ها است که سلول‌های محافظ همولنف هستند. این هموسیت‌ها مسئول فاگوسیتوز هستند که شامل جذب پاتوژن‌ها و مواد خارجی می‌شود. علاوه بر این، آنها در فرآیند انعقاد و ترشح آنزیم‌ها نقش دارند. هدف این فرآیندها در مجموع حذف و از بین بردن عوامل مهاجم است (Jastaniah *et al*., 2023).

هموسیت‌ها مرتبط با ایمنی هومورال بوده و نقش مهمی در سیستم دفاعی ایمنی دارند. بنابراین، هموسیت‌ها را می‌توان برای بازتاب پاسخ ایمنی میگوها در نظر گرفت که ابتلای میگوها به عوامل بیماری‌زای عفونی یا استرس محیطی را کاهش می‌دهند و در نتیجه خطر ابتلا به بیماری

را کاهش می‌دهند (Liang *et al*., 2020). در تحقیق حاضر، بیشترین میزان سلول‌ها در همولنف میگوی وانامی در تمامی تیمارها متعلق به سلول‌های هیالین و کمترین سلول‌ها متعلق به سلول‌های دانه‌دار بزرگ بود. گرانولوسیت‌ها همانند سلول‌های هیالین در سیستم ایمنی نقش دارند. با این حال، به‌نظر می‌رسد سلول‌های هیالین واکنش‌هایی مانند تشکیل لخته را آغاز می‌کنند (Kakoolaki *et al*., 2010). بیشترین میزان سلول‌های دانه‌دار بزرگ در تیمار ۴ (غلظت ٪۱ با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما) مشاهده گردید که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نشان داد. همچنین، بیشترین میزان سلول‌های نیمه‌دانه‌دار در تیمار ۱ و به‌دنبال آن تیمار ۴ مشاهده گردید که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت. بنابراین می‌توان گفت بره موم با القای فعالیت فاگوسیتیک و ایمنی سلولی، سیستم ایمنی بدن را تقویت می‌کند (Gholamine *et al*., 2023). این ترکیب ایمنی غیراختصاصی را از طریق فعال شدن ماکروفاژها، اثر بر لنفوسیت‌ها و تولید آنتی‌بادی فعال می‌کند. بره موم با فعال‌سازی ماکروفاژها، عملکرد قارچ‌کشی و باکتری‌کشی آنها را افزایش می‌دهد (Sforcin, 2007).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده تأثیر مثبت افزودن عصاره بره موم پرتوتابی شده با اشعه گاما به جیره غذایی میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) بر نرخ بازماندگی و پارامترهای رشد این گونه می‌باشد. به‌طور خاص، استفاده از این عصاره منجر به افزایش قابل توجه در وزن نهایی، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، و ضریب رشد ویژه در مقایسه با گروه شاهد شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که عصاره بره موم می‌تواند به‌عنوان یک مکمل غذایی مؤثر در آبزی‌پروری به‌کار رود. علاوه بر این، نتایج نشان داد که ضریب تبدیل غذایی (FCR) در برخی تیمارها به‌طور معنی‌داری بهبود یافته است، که این موضوع بیانگر کارایی بالاتر جذب و تبدیل خوراک به زیست‌توده است. این بهبود در کارایی غذایی می‌تواند به کاهش هزینه‌های تولید و افزایش سودآوری در آبزی‌پروری منجر شود.

تحقیقات مربوط به همولنف نشان داد که میزان هموسیت کل و نوع سلول‌های ایمنی در میگوهای تغذیه شده با عصاره بره موم تحت تأثیر قرار گرفته است. افزایش میزان هموسیت‌ها، به‌ویژه سلول‌های دانه‌دار بزرگ و نیمه‌دانه‌دار، نشان‌دهنده تقویت پاسخ ایمنی و افزایش قدرت دفاعی میگوها در برابر عوامل بیماری‌زا است. همچنین، نتایج نشان داد که سلول‌های هیالین، که به‌عنوان مهم‌ترین نوع سلول‌های ایمنی در همولنف میگوها شناخته می‌شوند، در اثر مصرف عصاره بره موم به‌طور قابل توجهی افزایش یافته‌اند. به‌طور خاص، تیمار حاوی غلظت ۱ درصد عصاره بره موم پرتوتابی شده با دوز ۱۰ کیلوگری اشعه گاما بهترین نتایج را در بهبود پارامترهای رشد و وضعیت ایمنی میگوها به‌همراه داشت. این نتایج نشان می‌دهد که این ترکیب در غلظت و دوز مناسب می‌تواند به‌عنوان یک محرک طبیعی و مؤثر در بهبود سلامت و رشد میگوی پاسفید غربی شناسایی شود. به‌طور کلی، این مطالعه بر اهمیت استفاده از عصاره‌های طبیعی مانند بره موم در تغذیه آبزیان تأکید می‌کند و می‌تواند راه را برای تحقیقات بیشتر در زمینه کاربرد ترکیبات طبیعی در بهبود کیفیت و سلامت آبزیان هموار سازد. این رویکرد نه تنها به بهبود عملکرد تولید کمک می‌کند، بلکه می‌تواند به توسعه روش‌های پایدار و سازگار با محیط‌زیست در صنعت آبزی‌پروری منجر شود.

منابع

Abd El-Ghany W.A. 2024. Propolis (bee glue): a promising natural feed additive for poultry and rabbits–a review. *Annals of Animal Science* pp. 1051-1064.

Alishahi M., Dezfuly Z.T., Mesbah M. 2018. Effects of alcoholic and aqueous extract of propolis on growth performance, hemato-immunological parameters and disease resistance of common carp (Cyprinus carpio). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 18(11), 1245 1254 .

Alrashada Y.N., Hassanien H.A., Abbas A.O., Alkhamis S.A., Alkobaby A.I. 2023. Dietary propolis improves the growth performance, redox status, and immune response of Nile tilapia upon a cold-stress challenge. *Plos one* 18(11), e0293727 .

De la Cruz-Cervantes J.A., Benavides-González F., Sánchez-Martínez J.G., Vázquez-Sauceda M.D.L.L., Ruiz-Uribe A.J. 2018. Propolis in aquaculture: a review of its potential. *Reviews in*

Fisheries Science & Aquaculture 26(3), 337-349.

Deng J., An Q., Wang Q., Kong L., Tao L., Zhang X. 2011. Effect of ethanolic extract of propolis on growth performance and plasma biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 37, 959-967.

Dotta G., de Andrade J.I.A., Garcia P., Jesus G.F.A., Mouriño J.L.P., Mattos J.J., Afonso Celso D.B., Martins M.L. 2018. Antioxidant enzymes, hematology and histology of spleen in Nile tilapia fed supplemented diet with natural extracts challenged with Aeromonas hydrophila. *Fish & Shellfish Immunology* 79, 175-180.

Edrees A., Abdel-Daim A.S., Shaban N.S., Shehata O., Ibrahim R.E. 2025. Dietary intervention of propolis and/or turmeric boosted growth, hematology, biochemical profile, and antioxidant-immune responses and their associated gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged with Edwardsiella tarda. *Aquaculture International* 33(1), 46.

FAO., 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO.

FAO., 2024. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024 – Blue Transformation in action. Rome.

Gholamine B., Alwaily E.R., Fakri Mustafa Y., Habash R.T., Naghdi N., Jalalvand M., Papi S., Khodaei S.M. 2023. An overview of the uses of propolis for oral health. *Advancements in Life Sciences*

Heidarieh M., Nabipour Chakoli A., Shahbazi S., Shawrang P., Zhang B. 2021. Effect of gamma irradiation processing on total phenol and antioxidant capacities of the Iranian extract of propolis. *Radiochimica Acta* 109(8), 635-641.

Heidarieh M., Naeimi S., Resae A., Heidarieh T. 2023. Changes in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth performance, digestive enzyme activity, hematological profile and serum biochemical markers after dietary administration of γ-irradiated cinnamon (*Cinnamomum verum*) ethanolic extract. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 23(6).

Hoa T.T.T., Fagnon M.S., Duyen T.T.M., Chabrillat T., Kerros S. 2024. Dietary effect of botanical blend (Phyto AquaNity™) on growth, immunity and survival of Pacific White shrimps challenged against WSSV. *Aquaculture Reports* 34, 101914 .

Jastaniah S.D., Alaidaroos B.A., Shafi M.E., Aljarari R.M., Abd El-Aziz Y.M., Munir M.B., Moaheda, E.H.E., Ammar AL-Farga El-Sayed H.E., Said R.M. 2024. Dietary Pediococcus acidilactici improved the growth performance, feed utilization, gut microbiota, and disease resistance against Fusarium solani in Pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei. *Aquaculture International* 32(3), 3195-3215.

Jiang G., Yu R., Zhou, M. 2004. Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of Penaeus japonicus to virulence of white spot syndrome virus. *Aquaculture* 241(1-4), 61-75.

Kakoolaki S., Sharifpour I., Soltani M., Ebrahimzadeh M.H., Mirzargar S., 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

Li M., Ma C., Zhu P., Yang Y., Lei A., Chen X., Liang W., Chen M., Xiong J., Li C. 2019. A new crustin is involved in the innate immune response of shrimp Litopenaeus vannamei. *Fish & Shellfish Immunology* 94, 398-406 .

Liang F., Li C., Hou T., Wen C., Kong S., Ma D., Chengbo S., Li S. 2020. Effects of chitosan–gentamicin conjugate supplement on non-specific immunity, aquaculture water, intestinal histology and microbiota of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Marine Drugs* 18(8), 419.

Mahmoud U.T., Cheng H.W., Applegate T.J. 2016. Functions of propolis as a natural feed additive in poultry. *World's Poultry Science Journal* 72(1), 37-48.

Maccari G.M., Damasceno D.Z., Lins-Rodrigues M., Bittencourt F., Bruschi M.L., Toledo L.A., Feiden A. 2021. Hematological parameters, liver integrity and growth of Nile tilapia fingerlings fed diets supplemented with propolis extract. *Spanish Journal of Agricultural Research* 19(4), e0612-e0612.

Morsy A.S., Soltan Y.A., El-Zaiat H.M., Alencar S.M.D., Abdalla A.L. 2021. Bee propolis extract as a phytogenic feed additive to enhance diet digestibility, rumen microbial biosynthesis, mitigating methane formation and health status of late pregnant ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 273, 114834.

N'Souvi K., Sun C., Che B., Vodounon A. 2024. Shrimp industry in China: overview of the trends in the production, imports and exports during the last two decades, challenges, and outlook. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 7, 1287034 .

Nakajima T., Hudson M.J., Uchiyama J., Makibayashi K., Zhang J. 2019. Common carp aquaculture in Neolithic China dates back 8,000 years. *Nature Ecology & Evolution* 3(10), 1415-1418.

Saeed M., Arain M.A., Kamboh A.A., Memon S.A., Umar M., Rashid M., Babazadeh D., Eabd El-hac, M., KAlagawany M. 2017. Raw propolis as a promising feed additive in poultry nutrition: trends and advances. *Journal of Animal Health and Production* 5(4), 132-142.

Santos E.L., Barbosa J.M., Porto-Neto F.F., Ludke J.V., Silva T.J., Lima M.R., Ludke M.C.M.M. 2023. Propolis extract as a feed additive of the Nile tilapia juveniles. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 75(4), 744-752.

Sforcin J.M. 2007. Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology* 113(1), 1-14.

Singh K.A., Cabral C., Kumar R., Ganguly R., Kumar Rana H., Gupta A., Rosaria Lauro M., Carbone C., Reis F., Pandey A.K. 2019. Beneficial effects of dietary polyphenols on gut microbiota and strategies to improve delivery efficiency. *Nutrients* 11(9), 2216.

Soltan Y.A., Morsy A.S., Sallam S.M.A., Hashem N.M., Abdalla A.L. 2016. Propolis as a natural feed additive in ruminant diets; can propolis affect the ruminants performance?: A review. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds* 19(1), 73-79.

Song Y.L., Yu C.I., Lien T.W., Huang C.C., Lin M.N. 2003. Haemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with Taura syndrome virus. *Fish & Shellfish Immunology* 14(4), 317-331.

Suriya M., Shanmugasundaram S., Mayavu P. 2016. Stocking density, survival rate and growth performance of *Litopenaeus vannamei* (Boon, 1931) in different cultured shrimp farms. *International Journal of Current Research in Biology and Medicine* 1(5), 26-32.

Tukmechi A., Karimi Rad F., Farrokhi F., Agh N., Jalili R. 2014. The effects of short-and long-term diet supplementation with Iranian propolis on the growth and immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Veterinary Research* 15(3), 250-255.

Wongsasak U., Chaijamrus S., Kumkhong S., Boonanuntanasarn S. 2014. Effects of dietary supplementation with β-glucan and synbiotics on immune gene expression and immune parameters under ammonia stress in Pacific white shrimp. *Aquaculture* 436, 179-187.

Journal of Aquaculture Sciences Vol. 13, No 24, 1-14
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

The effect of gamma-irradiated bee propolis alcoholic extract on growth and immune factors of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

Tayyebe Dahaz[1], Kamran Rezaei Tavabe*[1], Marzieh Heidarieh[2], Alireza Mirvaghefi[1]

[1]Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
[2]Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran.

*Corresponding author: krtavabe@ut.ac.ir

Received: 31.Jan.2025 **Accepted: 26.Apr.2025**

Abstract

This study investigated the effect of alcoholic propolis extract, irradiated with gamma rays, on growth parameters and hemolymph of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). The experiment was conducted in a completely randomized design with 7 treatments and 3 replications over a period of 42 days. A total of 1,050 post-larval shrimp with an initial weight of 0.5-1 grams were assigned to treatments with different levels of alcoholic propolis extract at concentrations of 0% (control), 0.5%, and 1% per kilogram of feed, irradiated with doses of 5, 10, and 30 kilograys of gamma rays. At the beginning and end of the experiment, 5 shrimp were randomly sampled from each replication to measure various parameters, including average weight, growth rate (GR), percentage weight gain (WG), specific growth rate (SGR), and feed conversion ratio (FCR). Hemolymph was collected from the pericardial cavity to assess the number and type of hemocytes. The results indicated that the use of gamma-irradiated propolis extract significantly increased the survival rate of vannamei shrimp under laboratory conditions ($P<0.05$). Final weight indices, and consequently GR and body weight increase (BWI), were significantly higher in treatments 3 (0.5% concentration with 10 kilogray dose), 4 (1% concentration with 10 kilogray dose), and treatment 6 (1% concentration with 30 kilogray dose) compared to the control group ($P<0.05$). FCR was significantly lower only in treatment 4 compared to the control group. Hemolymph analysis showed no significant difference in total hemocyte count between the control and experimental treatments ($P>0.05$). However, the highest levels of large granular cells and semi-granular cells were observed in treatment 4, showing a significant difference from the control group ($P<0.05$). The highest amount of hyaline cells was found in the control group, with no significant difference from other treatments. Based on the obtained results, it can be concluded that the most suitable concentration of alcoholic propolis extract in the diet for stimulating growth and immune factors in Pacific white shrimp is 1% irradiated with a 10 kilogray gamma dose.

Keywords: Alcoholic extract, Propolis, Gamma radiation, Growth, Hemolymph, Pacific white shrimp