Journal of Animal Biology, Spring 2025; 17(3):65-76

ISSN: 1735-9724

Research Article

Hemolymph Biochemical and Immune Indices of Green Tiger Shrimp (*Penaeus semisulcatus)* in a Biofloc Aquaculture System: Influenced By Different Feeding Levels

Mohammad Hossein Khanjani*

Department of Fisheries Sciences and Engineering, Faculty of Natural Resources, University of Jiroft, Jiroft, Kerman, Iran

*Corresponding author: M.h.khanjani@ujiroft.ac.ir

Received: 28 February 2025 Accepted: 20 April 2025

DOI: 10.60833/ascij.2025.1200709

Abstract

The effect of different feeding levels on the biochemical indicators and immunity of green tiger shrimp in a biofloc aquaculture system was investigated. The experiment was conducted for 45 days with shrimps with an average weight of 2.85 g. Rearing tanks was filled with 150 liters of filtered water with a sand filter, and then 53 individual shrimps were stored in each tank. 7 experimental groups were considered for this research, which included three control groups with different feeding levels in terms of body weight, 6% (CW6), 4% (CW4) and 2% of body weight (CW2), and four biofloc treatments of 6% (BFT6), 4% (BFT4), 2% (BFT2) and 0% (BFT0). The results showed that the highest levels of triglyceride (175.0 mg/dl) and cholesterol (142 mg/dl) were observed in the CW2 treatment. The highest amount of glucose (47 mg/dl) was obtained in BFT0 treatment and the lowest amount was 35.66 and 36.35 in BFT6 and BFT4 treatments, which showed a significant difference with other treatments ($p < 0.05$). The highest value of lysozyme activity was obtained in BFT6 and BFT4 treatments (24.6 and 24.3 u/ml/min), respectively, and the lowest value was obtained in BFT0 treatment (15 u/ml/min), which showed a significant difference with other treatments ($p > 0.05$). The highest amount of phenol oxidase activity was the highest in BFT6 (0.74 u/ml) and BFT4 (0.75 u/ml) treatments, and the lowest value was obtained in BFT0 treatment (0.37 u/ml). In general, the results showed that different feed levels affect the biochemical activities and immunity of green tiger shrimp hemolymph. Feeding with food levels of 6 and 4% in biofloc system leads to improvement of lysozyme, total immunoglobulin and phenol oxidase activities in green tiger shrimp.

Keywords: Green tiger shrimp, Biofloc, Immunity, Hemolymph.

زیست‌شناسی جانوری، سال هفدهم، شماره سوم، بهار ۱٤۰٤، صفحات ۷٦-٦٥

ISSN:۱۷۳٥-۹۷۲٤

مقاله پژوهشی

شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی همولنف میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) در سیستم آبزی‌پروری بیوفلوک: تحت تاثیر سطوح مختلف غذایی

محمدحسین خانجانی*

گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، کرمان، ایران

*مسئول مکاتبات: m.h.khanjani@ujiroft.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱٤۰۳/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱٤۰٤/۰۱/۳۱

DOI: 10.60833/ascij.2025.1200709

چکیده

تأثیر سطوح مختلف غذایی بر شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی میگوی ببری سبز در سیستم آبزی‌پروری بیوفلوک موردبررسی قرار گرفت. آزمایش به مدت ٤٥ روز با میگوهای با میانگین وزن ۲/۸٥ گرم انجام شد. مخازن پرورش با ۱٥۰ لیتر آب تصفیه شده با فیلتر شنی پر شدند و سپس تعداد ٥۳ قطعه میگو در هر مخزن ذخیره‌سازی شد. ۷ گروه آزمایشی برای تحقیق حاضر در نظر گرفته شد که شامل سه گروه کنترل با سطوح مختلف غذایی بر حسب درصد وزن بدن، ٦ درصد (CW6)، ٤ درصد (CW4) و ۲ درصد (CW2) و چهار تیمار بیوفلوک ٦ درصد (BFT6)، ٤ درصد (BFT4)، ۲ درصد (BFT2) و ۰ درصد (BFT0) بود. نتایج نشان داد، بالاترین میزان تری‌گلیسرید (۱۷٥/۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) و کلسترول (۱٤۲ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در تیمار CW2 بدست آمد. بالاترین میزان گلوکز (٤۷ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در تیمار BFT0 و کمترین مقدار آن ۳٥/٦٦ و ۳٦/۳٥ به ترتیب در تیمارهای BFT6 و BFT4 مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد ($p < ۰/۰٥$). بالاترین مقدار فعالیت لیزوزیم در تیمارهای BFT6 و BFT4 به ترتیب ۲٤/٦ و ۲٤/۳ واحد/میلی‌لیتر/دقیقه و کمترین مقدار آن در تیمار BFT0 (۱٥ واحد/میلی‌لیتر/دقیقه) بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد ($p <۰/۰٥$). بالاترین میزان فعالیت فنول اکسیداز در در تیمارهای BFT6 (۰/۷٤ واحد/میلی‌لیتر) و BFT4 (۰/۷٥ واحد/میلی‌لیتر) بالاترین بود و کمترین مقدار آن در تیمار BFT0 (۰/۳۷ u/ml) (واحد/میلی‌لیتر) بدست آمد. نتایج نشان داد، سطوح مختلف غذایی بر فعالیت‌های بیوشیمیایی و ایمنی همولنف میگوی ببری سبز تاثیر می‌گذارد. تغذیه با سطوح غذایی ٦ و ٤ درصد در سیستم بیوفلوک منجر به بهبود فعالیت‌های لیزوزیم، ایمنوگلوبولین کل و فنول اکسیداز در میگوی ببری سبز می‌شود.

کلمات کلیدی: میگوی ببری سبز، بیوفلوک، ایمنی، همولنف.

مقدمه

پرورش میگو به صورت متراکم و فوق متراکم در دنیا در حال گسترش است. با توسعه آبزی‌پروری میگو، چالش‌های نظیر کاهش کیفت آب، گسترش عوامل بیماری‌زا و پاتوژن‌ها رخ می‌دهد. در دهه‌های اخیر انواع آنتی‌بیوتیک‌ها جهت مدیریت بیماری‌ها و بهبود عملکرد رشد مورد استفاده قرار گرفته است، با این حال گسترش پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک گزارش شده است (۱). شیوع بیماری‌ها، کیفیت پست لارو، مدیریت محیط زیست مزرعه پرورش، کیفیت غذا و مدیریت غذادهی از فاکتورهای مهم در تولید

میگو می‌باشد. از فاکتورهای محدود کننده تولید میگو، بیماری‌های باکتریایی و ویروسی، ترکیبات سمی در آب، شرایط آب و هوایی نامساعد، کمبود خوراک مناسب، تجمع مواد آلی و یوتریفسکاسیون می‌باشد (۲، ۳). تکنولوژی بایوفلاک، تکنولوژی جدیدی است که چالش‌های آبزی‌پروری سنتی را ندارد. تولید بالاتر، بازیافت پروتئین خوراک، بهبود کیفیت آب و کنترل عوامل بیماری‌زا از ویژگی‌های برجسته این تکنولوژی می‌باشد (٤). همچنین در این سیستم با تنظیم نسبت کربن به نیتروژن، باکتری‌های هتروتروف موجود در آب فعال شده و ترکیبات زائد نیتروژن دار را مصرف کرده ومنجر به بهبود کیفیت آب می‌شود. در سال‌های اخیر تکنولوژی بایوفلاک در آبزی‌پروری میگو شامل *Peneaus vannamei* (٥)، *Peneaus monodon* (٦)، *Fenneropenaeus merguiensis* (۷)، *Penaeus semisulcatus* (۸) به طور گسترده استفاده شده است. میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) از خانواده پنائیده و یکی از گونه های مهم و تجاری خلیج فارس و دریای عمان می‌باشد (۹). این گونه تقاضای بازار بالایی در مناطق پراکنش طبیعی دارد و صیادان با صید و خرید و فرورش این گونه به کسب درآمد می پردازند (۸). در محیط طبیعی رفتار تغذیه‌ای میگوی ببری سبز مطالعه شده و نشان می-دهد این گونه بیشتر از کرم‌ها، خرچنگ‌ها، نرم‌تنان، روزنه‌داران، کرم‌های پرتار، دیاتومه‌ها، دینوفلاژله‌ها و سخت‌پوستان تغذیه می‌کنند (۹). یک استراتژی خوب تغذیه‌ای در پرورش میگو با کارایی بالای خوراک و تاثیر کمتر بر کیفیت آب منجر به بهبود عملکرد تولید می‌شود (۸). در آبزی‌پروری مهم است که اپتیمم سطح غذادهی را بر حسب وزن بدن برای بهبود تولید و سوددهی بهتر محاسبه کنیم. سطوح مختلف غذادهی بر کیفیت آب، عملکرد رشد، فعالیت‌های ایمنی و آنتی‌اکسیدانتی آبزی پرورش یافته تاثیر می گذارد (۱۰). در تولید تجاری میگو، پرورش دهنده سطح غذادهی را بر اساس وزن هفتگی، شرایط محیطی پرورش، آلودگی آب و ضریب تبدیل غذایی خوراک تعیین می‌کند (۱۱). میگوها فاقد سیستم ایمنی خاص و سازگار هستند و با استفاده از مکانیسم‌های ایمنی ذاتی مانند سلولی (فاگوسیتوز) و پاسخ هومورال (پپتید ضد میکروبی و لیزوزیم) به عوامل بیماری زا مانند ویروس‌ها و باکتری‌ها پاسخ می‌دهند (۱۲). در آبزی‌پروری میگو، کاهش ایمنی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی می‌تواند منجر به بدتر شدن مقاومت در برابر بیماری شود که می‌تواند منجر به زیان اقتصادی گسترده به دلیل مرگ‌ومیر انبوه و شیوع بیماری شود (۱۳). بیوفلوک‌ها باکتری‌های مفیدی هستند که با تشکیل جامعه میکروبی روده، ایمنی میگو را تقویت می‌کنند و سیستم ایمنی غیر اختصاصی میگو را تحریک می‌کنند، زیرا سرشار از مواد فعال زیستی از جمله بروموفنول‌ها، فیتواستروها، ویتامین‌ها، گلوتاتیون، قندهای آمینه، کاروتنوئیدها و ترکیبات ضد باکتری هستند (١٤). سیستم بایوفلاک علاوه بر بهبود کیفیت آب، خوراک مکمل برای آبزی پرورش یافته در ٢٤ ساعت شبانه روز فراهم می‌کند (١٥). در مطالعه حاضر تاثیر سطوح مختلف غذادهی بر پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی همولنف میگوی ببری سبز در سیستم بیوفلوک مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش، شرایط و جیره ها: پست لاروهای میگوی ببری سبز از مرکز تکثیر میگو در جاسک، هرمزگان تهیه و به مدت ٤٥ روز در مرکز تکثیر بندر کلاهی، میناب، هرمزگان در استخرهای ۱۵۰ مترمربعی نگهداری شدند تا به وزن مناسب برای آزمایش رسیدند. آزمایش به مدت ٤٥ روز با میگوهای ببری سبز با میانگین وزن ۲/۸۵ گرم انجام شد. ۲۱ تانک

مدور پلی اتیلن برای این آزمایش در نظر گرفته شد. هر یک از مخازن با ۱۵۰ لیتر آب تصفیه شده با فیلتر شنی پر شدند و سپس تعداد ۵۳ قطعه میگو (تقریبا ۱ گرم در لیتر) در هر تانک ذخیره سازی شد. ۷ گروه آزمایشی برای تحقیق حاضر در نظر گرفته شد که شامل سه گروه کنترل با سطوح مختلف غذایی بر حسب درصد وزن بدن، ٦ درصد (CW6)، ٤ درصد (CW4) و ۲ درصد وزن بدن (CW2) که روزانه ۳۵ تا ۵۰ درصد آب داخل مخزن پرورش با آب تازه با شوری یکسان قبل از غذادهی تعویض می شد. چهار تیمار بایوفلاک ٦ درصد (BFT6)، ٤ درصد (BFT4)، ۲ درصد (BFT2) و درصد۰ (BFT0) که روزانه ۰/۵ تا ۱ درصد آب داخل مخزن پرورش تعویض می شد (جدول ۱). غذادهی بر حسب درصد وزن بدن به ترتیب ٦، ٤ و ۲ در ابتدای دوره آزمایش در نظر گرفته شد و کاهش میزان غذادهی در هر تیمار در طول دوره پرورش متناسب با افزایش رشد به نسبت یکسان انجام شد (جدول ۱). در تیمارهای بدون تعویض آب، قبل از ذخیره سازی میگو، نیم میلی لیتر فلاک به ازای هر لیتر به عنوان استوک اولیه به مخازن اضافه شد. غذادهی ۳ مرتبه در روز (۸ صبح، ١٤ عصر، ۲۰ شب) با نسبت های مختلف با جیره حاوی ۳۸ درصد پروتئین انجام شد در تانک های ۲۰۰۰ لیتری ۲۰ روز قبل از شروع آمایش تولید بایوفلاک برای استفاده در تانک های پرورش شروع شد. از ماده کربن دار ملاس (۵۵/۱۸ درصد ماده خشک، ٤٦/۲۵ درصد کربوهیدرات) جهت تنظیم نسبت کربن (۱۵) به نیتروژن (۱) استفاده شد (١٦).

آنالیز بیوشیمیایی همولنف: در انتهای آزمایش، از همولنف میگوهای پرورش یافته در تیمارهای مختلف نمونه برداری صورت گرفت. در ابتدا بعد از قطع غذادهی به مدت زمان ٢٤ ساعت، از هر تانک بطور تصادفی ۱۰ میگو انتخاب و به مدت ۱۵ دقیقه در داخل تشت حاوی یخ با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد (به منظور جلوگیری از بروز استرس و کاهش تحرک میگوها) قرار داده شد. از یک سرنگ انسولین استریل یک میلی لیتری دارای سر سوزن شماره G26 که درون سرنگ جهت جلوگیری از انعقاد با ۰/٤ میلی‌لیتر محلول ضد انعقاد آلزور (سدیم سیترات ۲۷ میلی‌مول، کلرید سدیم۳۳٦ میلی‌مول، EDTA ۹ میلی‌مول، گلوکز ۱۱۵ میلی‌مول با PH ۷) ریخته شده بود (۱۷) برای تهیه همولنف استفاده شد. همولنف از ناحیه سینوس شکمی (پاهای اول و دوم شنا در کنار طناب عصبی شکمی) جمع آوری شد (۱۲). نوک سوزن سرنگ با زاویه مورب ٤۵ درجه در زیر لایه قشری پوسته به آرامی فرو گردید و از هر میگو (حدود ۰/۳ میلی‌لیتر) گرفته شد و پس از آن سرنگ‌های نمونه-گیری، تکان داده شد تا همولنف میگو با محلول ضدانعقاد مخلوط گردد. نمونه‌های همولنف گرفته شده تا مرحله آنالیز نمونه‌ها، در میکروتیوب‌های جداگانه و در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. میکروتیوب های حاوی نمونه پس از انتقال از فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد به محل آزمایشگاه با دمای اتاق (۲۷ درجه سانتی‌گراد) عمل یخ‌زدایی صورت گرفت و سپس با کمک دستگاه ورتکس در مدت زمان ۳۰ ثانیه نمونه ها همگن و برای انجام آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گرفت (۱۸و۱۹). برای اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی همولنف، نمونه ها جهت جداسازی پلاسما در دستگاه سانترفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ (در دقیقه) در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس مایع بالایی جدا و برای آنالیز پارامترها مورد استفاده قرار گرفت. گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید با استفاده از اسپکتوفتومتر به روش رنگ‌سنجی با استفاده از کیت‌های تشخیص تجاری (پارس آزمون، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده مورد

سنجش قرار گرفتند. میزان فعالیت لیزوزیم با روش کدورت‌سنجی و با استفاده از باکتری *Micrococcus lysodeikticus* به عنوان سوبسترا و لیزوزیم سفیده تخم مرغ به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (۲۰، ۲۱). میزان فعالیت فنول اکسیداز با استفاده از روش کدورت‌سنجی، پس از اکسیداسیون سوبسترا L-DOPA (Sigma) تعیین شد (۲۲). میزان ایمنوگلوبولین کل با استفاده از پلی اتیلن گلیکول ۱۲٪ جهت تفریق و ته نشست ایمنوگلوبولین از پروتئین کل تعیین شد (۲۳).

تجزیه‌وتحلیل آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ آنالیز گردید. به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov- Smirnov) استفاده شد. سپس برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن (Duncan's multiple range) در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده گردید. از نرم‌افزارهای مایکروسافت آفیس (ورد و اکسل، نسخه ۲۰۱۳) برای رسم نمودن نمودارها استفاده شد.

جدول ۱- سطوح مختلف غذایی و تیمارهای آزمایش

Table 1. Different feeding levels and experimental treatments

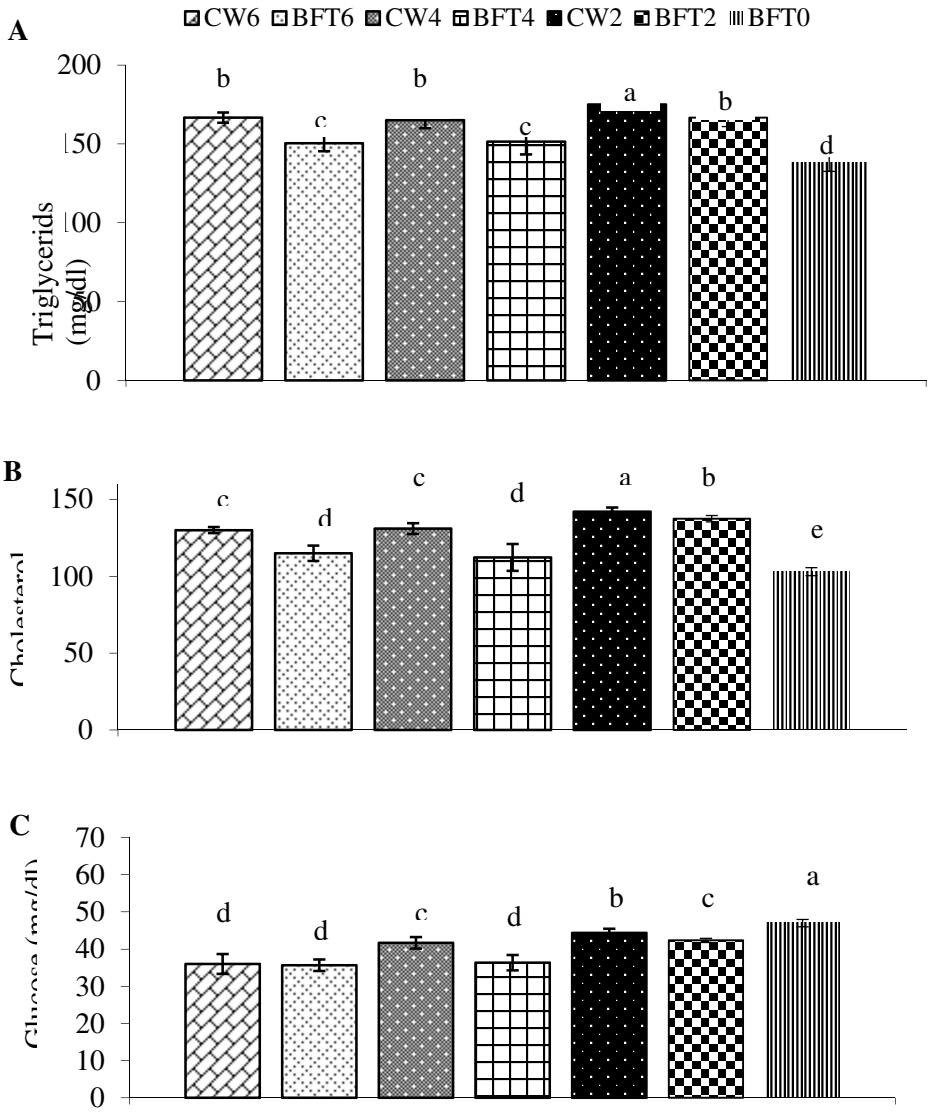
DTD	1-10	11-20	21-30	31-45	WE (daily)	AN
	6				35-50%	CW6
	6				0.5-1%	BFT6
	4				35-50%	CW4
	4				0.5-1%	BFT4
	2				35-50%	CW2
	2				0.5-1%	BFT2
	0 (Biofloc only, 5 to 10 ml/l				0.5-1%	BFT0

Abbreviation: DTD: different test days, WE: Water exchange, AN: Abbreviated number

نتایج

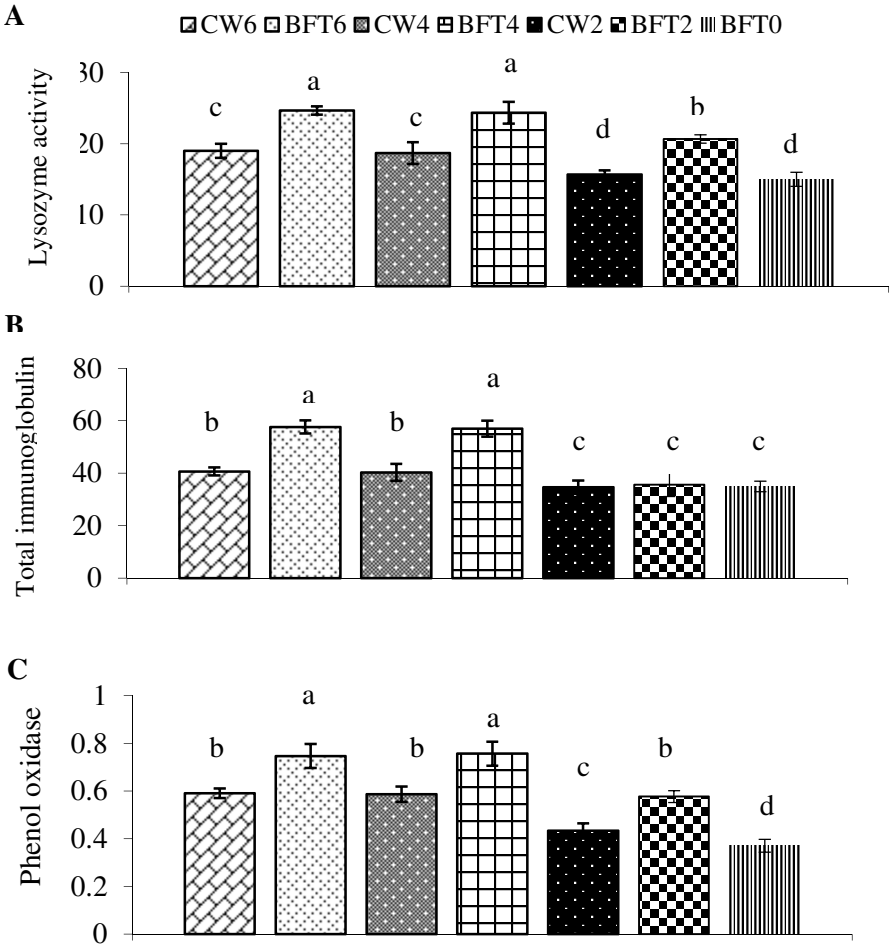
نتایج حاصل از مقادیر پارامترهای مختلف بیوشیمیایی همولنف میگوی ببری سبز در شکل ۱ ارائه شده است. طبق نتایج بالاترین میزان تری‌گلیسرید (۱۷۵/۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در تیمار CW2 (گروه کنترل، تغذیه با ۲ درصد وزن بدن) مشاهده شد و کمترین مقادیر آن (۱۳۸/۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در تیمار BFT0 (تغذیه بدون جیره تجاری، در سیستم بیوفلوک) بدست آمد، که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد ($p < ۰/۰۵$) (شکل ۱، A). بالاترین میزان کلسترول (۱۴۲ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در تیمار CW2 و کمترین مقدار آن (۱۰۳ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در تیمار BFT0 مشاهده شد (شکل ۱، B). بالاترین میزان گلوکز (۴۷ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در تیمار BFT0 و کمترین مقدار آن ۳۵/۶۶ و ۳۶/۳۵ به ترتیب در تیمارهای BFT6 و BFT4 بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد ($p <۰/۰۵$) (شکل ۱، C). بطور کلی نتایج بیوشیمیایی همولنف میگوی ببری سبز نشان داد که در سیستم بیوفلوک مقادیر تری‌گلیسرید و کلسترول نسبت به گروه‌های کنترل کاهش می‌یابد. تغذیه بدون جیره تجاری در سیستم بیوفلوک منجر به افزایش مقادیر گلوکز در میگوی ببری سبز می‌شود. نتایج بدست آمده از فعالیت‌های ایمنی، همولنف میگوی ببری سبز در شکل ۲ ارائه شده است. طبق نتایج بالاترین مقدار فعالیت لیزوزیم در تیمارهای BFT6 و BFT4 به ترتیب ۲۴/۶ و ۲۴/۳ واحد/میلی‌لیتر/دقیقه و کمترین مقدار آن در تیمار BFT0 (۱۵ واحد/میلی‌لیتر/دقیقه) بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها

نشان داد ($p < ۰/۰۵$) (شکل ۲، A). بالاترین میزان ایمنوگلوبولین کل در تیمارهای BFT6 و BFT4 به ترتیب ۵۷/٦ و ۵۷ میلی‌گرم/میلی‌لیتر مشاهده شد (شکل ۲، B)، همچنین فعالیت فنول اکسیداز در در تیمارهای BFT6 (۰/۷٤ واحد/میلی‌لیتر) و BFT4 (۰/۷۵ واحد/میلی‌لیتر) بالاترین بود و کمترین مقدار آن در تیمار BFT0 (۰/۳۷ واحد/میلی‌لیتر) بدست آمد (شکل ۲، C). بطور کلی نتایج فعالیت‌های ایمنی همولنف نشان داد که تغذیه با سطوح غذایی ٦ و ٤ درصد در سیستم بیوفلوک منجر به بهبود فعالیت‌های لیزوزیم، ایمنوگلوبولین کل و فنول اکسیداز در میگوی ببری سبز می‌شود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها دارد.



شکل ۱- تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف میگوی ببری سبز تحت تاثیر تیمارهای مختلف در سیستم آبزی‌پروری بیوفلوک

Fig. 1. Changes in hemolymph biochemical indices of green tiger shrimp under the influence of different treatments in a biofloc aquaculture system



شکل ۲- تغییرات شاخص‌های ایمنی همولنف میگوی ببری سبز تحت تاثیر تیمارهای مختلف در سیستم آبزی‌پروری بیوفلوک

Fig. 2. Changes in hemolymph immunity indices of green tiger shrimp under the influence of different treatments in a biofloc aquaculture system

بحث

در مطالعه حاضر کمترین میزان تری‌گلیسرید همولنف در تیمار BFT0 (بدون تغذیه با جیره غذایی) مشاهده گردید (شکل ۱، A). در مطالعه Guemez-Sorhouet و همکاران (۲۰۱۹) مقدار تری‌گلیسرید همولنف در تیمارهای بیوفلوک با گروه‌های کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد، در تیمارهای بیوفلوک مقدار تری‌گلیسیرید ۳٦/۱، ۳٦/٦ و ۳۲/۸ میلی‌گرم/دسی‌لیتر به ترتیب در تراکم‌های ۳۰۰، ٦۰۰ و ۹۰۰ پست لارو بر متر مکعب مشاهده شد (۲٤). با افزایش میزان استرس، سطح تری‌گلیسیرید همولنف میگوی سفید غربی کاهش می‌یابد (۲۵). میگوی ببری سبز در محیطی با کمبود خوراک، استرس زیادی به میگو وارد می‌کند و باعث کاهش میزان تری‌گلیسرید همولنف می‌گردد. کلسترول موجود در میگو جزئی از غشای سلولی و ساختارهای درون سلولی است و به عنوان پیش‌ساز هورمون‌های استروئیدی و هورمون‌های پوست‌اندازی مانند اکدیسون (Ecdysone) عمل می‌کند. غلظت کلسترول شاخصی برای ارزیابی سطح متابولیسم لیپید (کاتابولیسم و اکسیداسیون) در میگو است، زیرا لیپیدها توسط همولنف منتقل می‌شوند (۲٦). در مطالعه Martinez-Porchas و همکاران (۲۰۲۰) کاهش قابل توجهی در کلسترول همولنف

میگوی سفید غربی با بیوفلوک گزارش شد (۲۷)، درحالی‌که Hussain و همکاران (۲۰۲۱) افزایش قابل توجهی در همولنف میگوی سفید غربی با بیوفلوک گزارش کردند (۲۸). در مطالعه حاضر، کمترین میزان کلسترول در تیمار بدون تغذیه با جیره تجاری مشاهده شد (شکل ۱، B)، که نشان دهنده این است تغذیه فقط با بیوفلوک منجر به افزایش کلسترول همولنف نمی‌شود. میگو و باکتری نمی‌توانند کلسترول جدید را سنتز کنند، در حالی که برخی از جلبک‌ها می‌توانند مقداری استرول (دموسترول) تولید کنند، درحالی‌که باکتری‌ها هوپانوئیدها (hopanoids) را به عنوان آنالوگ‌های عملکردی کلسترول سنتز می‌کنند (۲۹)، در مطالعه حاضر میزان کلسترول در تیمارهای بیوفلوک کمتر از گروه‌های کنترل مشاهده شد (شکل ۱) که با نتایج محققین دیگر مطابقت دارد (۲۷). در مطالعه Martinez-Porchas و همکاران (۲۰۲۰) مقدار کلسترول در همولنف میگوی سفید غربی در گروه کنترل (۱۱۹/۷) بیشتر از تیمارهای بیوفلوک هتروترفیک (٦ /٤۸) و فتواتوتروفیک (۲۹/۳ میلی-گرم/دسی‌لیتر) بدست آمد (۲۷). میگو تحت شرایط تنش زا جهت تامین انرژی از کلسترول و تری‌گلیسرید استفاده می‌کند (۳۰)، بنابراین علت کاهش سطح کلسترول و تری‌گلسیرید همولنف در تیمار BFT0 (بدون تغذیه با جیره غذایی) قابل توجیه می‌باشد. گلوکز از طریق فرآیند گلیکوژنولیز به پلاسما می‌رسد، که عمدتاً در هپاتوپانکراس، ماهیچه-ها و سلول‌های خونی اتفاق می افتد، تغییرات گلوکز در همولنف میگو زمانی مشاهده می‌شود که میگو تحت استرس قرار می‌گیرند (۳۱). در بسیاری از مطالعات، محیط بیوفلوک تحت شرایط مختلف هیچ تغییر قابل توجهی در گلوکز میگو نشان نداد، اما در برخی شرایط افزایش یا کاهش قابل توجهی نیز مشاهده شد (٦، ۲٤، ۲۷). در مطالعه Kumar و همکاران (۲۰۱۷) مشخص شد، منابع مختلف کربن و سطوح مختلف پروتئین در سیستم بیوفلوک بر مقادیر گلوکز در همولنف میگوی سفید غربی تاثیر می‌گذارد، حضور بیوفلوک منجر به افزایش سطح گلوکز در سرم میگوی سفید غربی نسبت به گروهای کنترل می‌شود (٦). در مطالعه حاضر تغذیه بدون جیره تجاری منجر به افزایش سطح گلوکز همولنف میگوی ببری سبز شد (شکل ۱، C)، که احتمالا نشان‌دهنده این است که میگو تحت استرس غذایی قرار گرفته است. سیستم ایمنی در عملکردهای فیزیولوژیکی برای حفظ سلامت و دستیابی به رشد بالا در آبزی‌پروری میگو در برابر تنش‌های مختلف مانند تغییرات محیطی/ آلودگی و عوامل بیماری زا ضروری است (۳۲). مهره داران از فعالیت لیزوزیم به عنوان یک مکانیسم دفاعی استفاده می‌کنند. لیزوزیم نقش مهمی در ایمنی ذاتی ایفا می‌کند و فاگوسیتوز را تحریک می‌کند. لیزوزیم به دلیل توانایی آن در برهم زدن دیواره سلولی پاتوژن، یک آنتاگونیست طبیعی برای انگل‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها است (٤). در مطالعه حاضر بالاترین میزان فعالیت لیزوزیم در تیمارهای BFT4 و BFT6 بدست آمد (شکل ۲، A) که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد. در مطالعه Long و همکاران (۲۰۲۳)، در سیستم بیوفلوک در شوری‌های ۵-۱۵ درصد مقدار لیزوزیم همولنف میگوی سفید غربی ۰/۹۵- ۰/۷۵ واحد/میلی‌لیتر گزارش شد (۳۳). سیستم‌های آبزی‌پروری مبتنی بر بیوفلوک می‌توانند فعالیت لیزوزیم را در گونه‌های آبزی پرورش‌یافته افزایش دهند (۳۳، ۳٤، ۳۵، ۳٦). در مطالعه حاضر بالاترین مقدار ایمنوگلوبولین کل در تیمارهای BFT6 (۵۷/٦) و BFT4 (۵۷/۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد (شکل ۲، B). در مطالعه Lee و همکاران (۲۰۱۷)، ایمنوگلوبولین کل در همولنف میگوی سفید غربی

۳۱/۲، ٤٤/۹، ۳۰/٦، ۳۸/۱، ۳۹/٦، ٤۳/٦ و ۳۷/٤ میلی-گرم/میلی‌لیتر به ترتیب در گروه کنترل و گروه‌های بیوفلوک جایگزین شده در جیره تجاری (۰/٥، ۱، ۲، ٤، ٦ و ۸ درصد) گزارش شد، که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۳۷). در سیستم بیوفلوک فعالیت ایمنوگلوبولین همولنف افزایش می‌یابد. مطالعات نشان داده جوامع میکروبی حاوی ترکیبات زیست‌فعال (از قبیل پلی‌ساکاریدها و کاروتنوئیدها) در بیوفلوک وجود دارند، زمانی که میگو بطور پیوسته از آنها تغذیه می‌کند منجر به تحریک ایمنی میگو می‌گردد (۳۸). فنول‌اکسیداز و لیزوزیم از جمله مهم‌ترین شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی سخت‌پوستان محسوب می‌گردد که تاثیر قابل توجهی بر از بین بردن باکتری‌ها ایفا می‌کند و میزان فعالیت این آنزیم‌ها نشانه‌ای از عملکرد مناسب ایمنی و سلامت این آبزیان به شمار می‌آید (۳۹). افزایش سطوح فعالیت این آنزیم‌ها بیانگر نقش موثر بیوفلوک بر روی قابلیت ایمنی غیراختصاصی میگوی ببری سبز می‌باشد. سیستم بیوفلوک قادر است ایمنی غیراختصاصی میگو را تقویت کند (۱۲، ٤۰). فنول‌اکسیداز یک آنزیم اصلی مکانیسم دفاعی در ایمنی میگو است و از انتشار مواد خارجی در سراسر بدن با ملانیزاسیون و غیرفعال شدن سلول‌های خارجی جلوگیری می‌کند، که عموماً توسط اجزای دیواره سلولی میکروبی (مانند لیپوپلی-ساکاریدها و بتا ۱،۳ گلوکان) به عنوان یک محرک برای سیستم پروفنولاکسیداز فعال می‌شود (٤۱). فنول‌اکسیداز به عنوان یک فرآیند گام‌به‌گام تحت فعال شدن یک پاتوژن مهاجم تحریک می‌شود که منجر به محصور شدن پاتوژن توسط ملانوژنز می‌گردد (٤۲). فنول‌اکسیداز در کنترل بار باکتریایی همولنف (٤۳)، شناسایی عوامل غیرخودی و حفاظت در برابر باکتری‌های بیماری زا (٤٤) نقش محوری دارد. فعالیت فنول اکسیداز می‌تواند به عنوان شاخص سلامت مطرح باشد، زیرا تغییرات این فاکتور به طور مستقیم به وضعیت بیماری و تغییرات محیطی وابسته می‌باشد. در مطالعه حاضر مقادیر بالاتر فنول‌اکسیداز در تیمارهای تغذیه شده با ٤ و ٦ درصد وزن بدن در سیستم بیوفلوک مشاهده شد (شکل ۲، C)، که با نتایج سایر محققین مشابهت دارد (٤٥، ٤٦). افزایش فعالیت فنول اکسیداز در جهت اثر تحریکی بیوفلوک مصرف شده است (٤٥). میگوها در سیستم‌های بیوفلوک در مخازن پرورش بیوفلوک را در ۲٤ ساعت شبانه روز مصرف می‌کنند (۱٥). مطالعه حاضر در رابطه با بهبود ایمنی ناشی از بیوفلوک با مطالعات قبلی مطابقت دارد (٤٥، ٤٦، ٤۷). سیستم ایمنی میگو عمدتاً توسط مواد دیواره سلولی میکروبی متشکل از پپتیدوگلیکان، لیپوپلی‌ساکاریدها و بتا ۱ و ۳ گلوکان‌ها فعال می‌شود (٤۸، ٤۹). محیط‌های پرورش با بیوفلوک حاوی محرک‌های ایمنی مثل پپتیدوگلیکان‌ها، بتاگلوکان‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدها هستند که می‌توانند به عنوان پروبیوتیک در سیستم عمل کنند. ترکیب پلی-بتاهیدروکسی‌بوتیرات با بیوفلوک می‌تواند اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه با خواص و کارایی پروبیوتیک تولید کند و پاسخ ایمنی ماهیان پرورشی را بیشتر تقویت کند (٥۰، ٥۱).

نتیجه‌گیری

در پرورش میگوی ببری سبز، سطوح مختلف غذایی در سیستم بیوفلوک منجر به تغییرات معناداری در سطوح ترکیبات بیوشیمیایی (تری‌گلیسرید، کلسترول و گلوکز) و فعالیت‌های ایمنی همولنف (فنل‌اکسیداز، لیزوزیم و ایمنوگلوبوبین کل) می‌شود. در سیستم بیوفلوک مقادیر تری‌گلیسرید و کلسترول نسبت به گروه‌های کنترل کاهش می‌یابد. تغذیه با سطوح مختلف غذایی ٦ و ٤ درصد وزن بدن در سیستم بیوفلوک منجر به بهبود فعالیت‌های لیزوزیم،

ایمنوگلوبولین کل و فنول‌اکسیداز می‌شود که نشان-دهنده این است که با استفاده از سیستم بیوفلوک می‌توان ایمنی و سلامت کلی میگوی ببری سبز را بهبود بخشید.

منابع

1. Yuan X, Lv Z, Zhang Z, Han Y, Liu Z, Zhang H. A review of antibiotics, antibiotic resistant bacteria, and resistance genes in aquaculture: qccurrence, contamination, and transmission. Toxics. 2023;11(5):420.

2. Lee D, Yu YB, Choi JH, Jo AH, Hong SM, Kang JC, Kim JH. Viral shrimp diseases listed by the OIE: A review. Viruses, 2022;14(3):585.

3. Yu YB, Choi JH, Kang JC, Kim HJ, Kim JH. Shrimp bacterial and parasitic disease listed in the OIE: A review. Microb Pathog. 2022;166:105545.

4. Khanjani MH, Sharifinia M, Emerenciano MGC. A detailed look at the impacts of biofloc on immunological and hematological parameters and improving resistance to diseases. Fish Shellfish Immunol. 2023;137:108796.

5. Khanjani MH, Eslami J, Emerenciano MGC. Wheat flour as carbon source on water quality, growth performance, hemolymph biochemical and immune parameters of Pacific white shrimp (Penaeus vannamei) juveniles in biofloc technology (BFT). Aquac Rep. 2025;40:102623.

6. Kumar S, Anand PS, De D, Deo AD, Ghoshal TK, Sundaray JK, et al. Effects of biofloc under different carbon sources and protein levels on water quality, growth performance and immune responses in black tiger shrimp Penaeus monodon (Fabricius, 1978). Aquac Res. 2017;48:1168-1182.

7. Khanjani MH, Sharifinia M. Biofloc as a food source for Banana shrimp (Fenneropenaeus merguiensis) postlarvae. North Am J Aquac. 2022;45(4):469-479.

8. Kaya D, Genc E, Genc MA, Aktas M, Eroldogan OT, Guroy D. Biofloc technology in recirculating aquaculture system as a culture model for green tiger shrimp, Penaeus semisulcatus: Effects of different feeding rates and stocking densities. Aquaculture. 2020;528:735526.

9. Mohammad Moradi S, Safaei M, Saraji F. Feeding habits of green tiger prawn, Penaeus semisulcatus (De Hann, 1848) in the coastal waters of the Persian Gulf (Hormozgan Province). Iran Fish Sci J. 2023;32(1):73-83. (In Persion)

10. Sarsangi Aliabad H, Naji A, Mortezaei SRS, Sourinejad I, Akbarzadeh A. Effects of restricted feeding levels and stocking densities on water quality, growth performance, body composition and mucosal innate immunity of Nile tilapia (Oreochromis niloticus) fry in a biofloc system. Aquaculture. 2022;546:737320.

11. Ullman C, Rhodes MA, Allen Davis D. Feed management and the use of automatic feeders in the pond production of Pacific white shrimp Litopenaeus vannamei. Aquaculture. 2019;498:44-49.

12. Xu WJ, Pan LQ. Enhancement of immune response and antioxidant status of Litopenaeus vannamei juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. Aquaculture. 2013;412:117-124.

13. Liu G, Zhu S, Liu D, Guo X, Ye Z. Effects of stocking density of the white shrimp Litopenaeus vannamei (Boone) on immunities, antioxidant status, and resistance against Vibrio harveyi in a biofloc system. Fish Shellfish Immunol. 2017;67:19-26.

14. Chen J, Ren Y, Wang G, Xia B, Li Y. Dietary supplementation of biofloc influences growth performance, physiological stress, antioxidant status and immune response of juvenile sea cucumber Apostichopus japonicus (Selenka). Fish Shellfish Immunol. 2018;72:143-152.

15. Khanjani MH, Sharifinia M, Emerenciano MGC. Biofloc technology (BFT) in aquaculture: what goes right, what goes wrong? a scientific-based snapshot. Aquac Nutr. 2024; 2024:7496572.

16. Avnimelech Y. Biofloc Technology-A Practical Guide Book, 2nd ed.; The World Aquaculture Society: Baton Rouge, LA, USA, 2015; 268p.

17. Jones CM, Ng WK, King M. Alsever's solution: a review of its history, chemistry,

Litopenaeus vannamei, with different ammonia-N tolerances. Comp Biochem Physiol C. 2019; 221:73-81.

27. Martinez-Porchas M, Ezquerra-Brauer M, Mendoza-Cano F, Higuera JEC, Vargas-Albores F, Martinez-Cordova LR. Effect of supplementing heterotrophic and photoautotrophic biofloc, on the production response, physiological condition and post-harvest quality of the whiteleg shrimp, Litopenaeus vannamei. Aquac Rep. 2020;16:100257.

28. Hussain AS, Mohammad DA, Sallam WS, Shoukry NM, Davis DA. Effects of culturing the Pacific white shrimp Penaeus vannamei in biofloc vs synbiotic systems on the growth and immune system. Aquaculture, 2021;542:736905.

29. Kannenberg EL, Poralla K. Hopanoid biosynthesis and function in bacteria. Naturwissenschaften. 1999;86(4):168-176

30. Annies J, Rosamma P. Acute salinity stress alters the haemolymph metabolic profile of Penaeus monodon and reduces immune competence to white spot syndrome virus infection. Aquaculture. 2007;272: 87-97.

31. Yong ASK, Mok WY, Tamrin MLM, Shapawi R, Kim YS. Effects of dietary nucleotides on growth, survival and metabolic response in whiteleg shrimp, Litopenaeus vannamei against ammonia stress condition. Aquac Res. 2020;51:2252-2260.

32. Xu WJ, Pan LQ. Evaluation of dietary protein level on selected parameters of immune and antioxidant systems, and growth performance of juvenile Litopenaeus vannamei reared in zero-water exchange biofloc-based culture tanks. Aquaculture. 2014;426:181-188.

33. Long L, Liu H, Lu S. Effects of Low Salinity on Growth, Digestive Enzyme Activity, Antioxidant and Immune Status, and the Microbial Community of Litopenaeus vannamei in biofloc technology aquaculture systems. J Mai Sci Eng. 2023;11:2076.

34. Outama P, Xuan CL, Wannavijit S, Lumsangkul C, Linh NV, Montha N, et al. Modulation of growth, immune response, and immune antioxidant related gene expression of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared and production. Transfus Med Rev. 2010;24:259-267.

18. Liu T, Zhang G, Feng Y, Kong C, Ayisi CL, Huang X, Hua X. Dietary soybean antigen impairs growth and health through stress-induced non-specific immune responses in Pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei. Fish Shellfish Immunol. 2019;84:124-129

19. Xu Z, Guan W, Xie D, Lu W, Ren X, Yuan J, Mao L. Evaluation of immunological response in shrimp Penaeus vannamei submitted to low temperature and air exposure. Dev Comp Immunol. 2019;100:103413.

20. Ellis AE. Lysozyme Assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S. and Van Muiswinkel, W.B., Eds., Techniques in Fish Immunology, SOS Publications, Fair Haven, 1990;101-103.

21. Nayak B, Kumar S, Collins PL, Samal SK. Molecular characterization and complete genome sequence of avian paramyxovirus type 4 prototype strain duck/Hong Kong/D3/75. Virol J. 2008;5:24.

22. Söderhäll K, Hall L. Lipopolysaccharide-induced activation of prophenoloxidase activating system in crayfish haemocyte lysate. BBA-Bioenergetics, 1984;797:99-104.

23. Cuesta A, Meseguer J, Esteban MA. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.), Veterinary Immunol Immunopathol. 2004;101(3-4):203-210.

24. Guemez-Sorhouet E, Villarreal H, Racotta IS, Naranjo J, Mercier L. Zootechnical and physiological responses of whiteleg shrimp (Litopenaeus vannamei) postlarvae reared in bioflocs and subjected to stress conditions during nursery phase. Aquac Res. 2019;50:1198-1211.

25. Mercier L, Palacios E, Campa-Córdova A, Tovar-Ramírez D, Hernández-Herrera R, Racotta I. Metabolic and immune responses in Pacific whiteleg shrimp Litopenaeus vannamei exposed to a repeated handling stress. Aquaculture. 2006;258:633-640.

26. Shan H, Geng Z, Ma S, Wang T. Comparative study of the key enzymes and biochemical substances involved in the energy metabolism of Pacific white shrimp,

absence of prophenoloxidase. FEBS J. 2009; 276:5298-5306.

44. Amparyup P, Charoensapsri W, Tassanakajon A. Two prophenol oxidases are important for the survival of Vibrio harveyi challenged shrimp Penaeus monodon. Dev Comp Immunol. 2009; 33:247-256.

45. Panigrahi A, Sundaram M, Saranya C., Satish Kumar R, Syama Dayal J, Saraswathy R, et al. Influence of differential protein levels of feed on production performance and immune response of pacific white leg shrimp in a biofloc–based system. Aquaculture. 2019; 503:118-127.

46. Panigrahia A, Sundarama M, Saranya C, Swain S, Dash RR, Syama Dayal J. Carbohydrate sources deferentially influence growth performances, microbial dynamics and immunomodulation in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under biofloc system. Fish Shellfish Immunol. 2019;86:1207-1216.

47. Ekasari J, Azhar MH, Surawidjaja EH, Nuryati S, De Schryver P, Bossier P. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources, Fish Shellfish Immunol. 2014;41(2):332-339.

48. Rao XJ, Ling E, Yu XQ. The role of lysozyme in the prophenoloxidase activation system of Manduca sexta: an in vitro approach, Dev Comp Immunol. 2010; 34(3):264-271.

49. Amparyup P, Charoensapsri W, Tassanakajon A. Prophenoloxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens, Fish Shellfish Immunol. 2013;34(4):990-1001.

50. Qiao G, Chen P, Sun Q, Zhang M, Zhang J, Li Z, Li Q. Poly-βhydroxybutyrate (PHB) in bioflocs alters intestinal microbial community structure, immunerelated gene expression and early Cyprinid herpesvirus 2 replication in gibel carp (*Carassius auratus* gibelio), Fish Shellfish Immunol. 2020; 97:72-82.

51. Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for (*Macrobrachium rosenbergii*) postlarvae. Aquac Res. 2010; 41:559-567.

under biofloc system using mango peel powder, Fish Shellfish Immunol. 2022;131:1136-1143.

35. Haridas H, Verma AK, Rathore G, Prakash C, Sawant PB, Babitha Rani AM. Enhanced growth and immuno-physiological response of genetically improved farmed tilapia in indoor biofloc units at different stocking densities, Aquac Res. 2017;48:4346-4355,

36. Liu G, Ye Z, Liu D, Zhao J, Sivaramasamy E, Deng Y, Zhu S. Influence of stocking density on growth, digestive enzyme activities, immune responses, antioxidant of Oreochromis niloticus fingerlings in biofloc systems, Fish Shellfish Immunol. 2018;81:416-422.

37. Lee C, Kim S, Lim SJ, Lee KJ. Supplemental effects of biofloc powder on growth performance, innate immunity, and disease resistance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Fish Aquat Sci. 2017;20:15.

38. Ju ZY, Forster IP, Conquest L, Dominy W. Enhanced growth effects on shrimp (Litopenaeus vannamei) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. Aquac Nutr. 2008;14:533-43

39. Zhang J, Duan Y, Zhang Z, Dong H, Li Z. Research progress of intestinal microbial flora in shrimp. South China Fish Sci. 2015;11(6):114-119.

40. Kim SK, Pang Z, Seo HC, Cho YR, Samocha T, Jang I.K. Effect of bioflocs on growth and immune activity of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* postlarvae. Aquac Res. 2014;45(2):362-371.

41. Promthale P, Pongtippatee P, Withyachumnarnkul B, Wongprasert K. Bioflocs substituted fishmeal feed stimulates immune response and protects shrimp from Vibrio parahaemolyticus infection. Fish Shellfish Immunol. 2019;93: 1067–1075.

42. Fan T, Jing Z, Fan X, Yu M, Jiang G. Purification and characterization of phenoloxidase from brine shrimp Artemia sinica. Acta Biochim Biophys Sin. 2011; 43:722-728.

43. Fagutao FF, Koyama T, Kaizu A, Saito-Taki T, Kondo H, Aoki T, Hirono I. Increased bacterial load in shrimp hemolymph in the