

مقاله پژوهشی

تاثیر پری بیوتیک بتاگلوکان با منشا مخمر بر برخی شاخص های رشد و ایمنی
ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*)

صبا حسینی^۱، جمشید فولادی^{۲*}، مهدی سلطانی^۳، دارا باقری^۴، اسفندیار نجفی حاجیپور^۵

DOI: 10.22124/japb.2024.26680.1529

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۲

چکیده

افزایش جمعیت، تقاضا برای آبی پروری و محدود بودن منابع آبی سبب پرورش متراکم در صنعت آبی پروری شده است که این امر با شیوع بیماری و استفاده از آنتی بیوتیک برای درمان ارتباط مستقیم دارد. با توجه به عوارض جانبی آنتی بیوتیک ها استفاده از محرک های ایمنی غیردارویی که سبب افزایش تحمل نسبت به تنش های محیطی و مقاومت در برابر برخی بیماری های آبزیان شوند، در این صنعت از اهمیت بسزایی برخوردار است. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر بتاگلوکان بر برخی از شاخص های رشد و ایمنی ماهی باس دریایی آسیایی انجام گرفت. به این منظور، ماهیان باس دریایی آسیایی ۲۵ گرمی در سه تیمار (با دو تکرار) بررسی شدند. تیمار اول تنها با جیره پایه تهیه شده از شرکت فرادانه تغذیه شدند (شاهد)، تغذیه تیمار دوم با جیره پایه و ۲۵۰ میکرولیتر گلوکان تزریقی (دو بار در طول دوره) (تیمار ۱) و تغذیه تیمار سوم با جیره پایه و پری بیوتیک خوراکی حاوی ۱۵ درصد بتاگلوکان (با غلظت نهایی ۱ میلی گرم در گرم بتاگلوکان) (تیمار ۲) صورت گرفت. استفاده از مکمل پری بیوتیک خوراکی حاوی بتاگلوکان (تیمار ۲) تاثیر مثبت و معنی داری بر عملکرد رشد و شاخص های ایمنی ماهیان داشت ($P < 0/05$)، به طوری که با القا دفاع ایمنی غیراختصاصی، نشانگر قابلیت آن بر ایمنی زایی ماهی بود. تیمار ۲ نسبت به تیمارهای دیگر بهترین نتیجه را از نظر وزن نهایی (۸۲/۴۳ گرم)، نرخ رشد ویژه (۱/۹۶ درصد در روز)، درصد افزایش وزن (۲۲۴/۵۵ درصد)، فعالیت لیزوزوم (۳۹/۵ میکروگرم در میلی لیتر)، فعالیت کمپلمان (۱۲۸/۸ میکروگرم در میلی لیتر)، ایمنوگلوبولین کل (۱۶/۵۵ میلی گرم در میلی لیتر) و ایمنوگلوبولین M (۴/۹۶ میلی گرم در میلی لیتر) نشان داد ($P < 0/05$). در نتیجه استفاده از مکمل پری بیوتیک خوراکی حاوی بتاگلوکان در جیره غذایی ماهی باس دریایی آسیایی به علت اثرات مثبت آن بر شاخص های فیزیولوژیک و بهبود ایمنی این گونه توصیه می شود.

واژگان کلیدی: باس دریایی آسیایی، بتاگلوکان، ایمنی، لیزوزیم، کمپلمان.

- ۱- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی میکروبی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران.
- ۲- دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران.
- ۳- استاد گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۴- دانشیار گروه شیلات، دانشکده علوم و فناوری نانو و زیستی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.
- ۵- دکتری شیلات، متخصص شیلات واحد تحقیق و توسعه، شرکت تولید خوراک آبزیان فرادانه، شهرکرد، ایران.

* نویسنده مسئول: jfooladi@alzahra.ac.ir

مقدمه

میکروبی منجر به لطمه به ماهیان موجود در این محیط‌ها شوند (Sapkota et al., 2008). افزون بر این، آنتی‌بیوتیک‌ها در بدن آبزیان تجمع می‌کنند و همچنین سبب کشته شدن باکتری‌های مفید روده می‌شوند (Merrifield and Ringo, 2014). برای حل این مشکل، پرورش‌دهندگان ماهی تشویق شدند تا از روش‌های جایگزین در مدیریت سلامت گونه‌های آبزی پروری استفاده کنند. به کارگیری پری‌بیوتیک‌ها به یک رویکرد جدید در صنعت آبزی پروری برای حفظ آبزی پروری تبدیل شده است (Wee et al., 2024). استفاده از رویکردهای غیردارویی در دراز مدت می‌تواند سودمند باشد. رویکردهای غیردارویی با محیط زیست سازگار هستند و از سویی برای سلامتی انسان نیز می‌تواند مفید باشد (Denev et al., 2017; Wang et al., 2009). برای کاهش آسیب‌های ناشی از استرس در آبزی پروری استفاده از رژیم غذایی حاوی محرک‌های ایمنی و مواد آنتی‌اکسیدانی مورد توجه قرار گرفته است (Ciji and Akhtar, 2021). پژوهش برای یافتن ترکیبات محرک ایمنی در آبزی پروری در حال افزایش است و اینک تعداد زیادی از مواد مختلف در آبزی پروری به عنوان

آبزی پروری صنعتی چندین میلیارد دلاری است و بخش بسزایی از تجارت غذا را در دنیا به خود اختصاص داده است. امروزه با کاهش منابع طبیعی آبزیان، صنعت آبزی پروری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده است (FAO, 2014). افزایش جمعیت و تقاضا برای آبزیان و منابع آبی محدود باعث شده است که هدف آبزی پروری بالا بردن بازده تولید شود. به همین علت افزایش مقدار تولید در واحد سطح یا حجم و پرورش متراکم متداول شده است (Hassanpour et al., 2010). بزرگ‌ترین مانع توسعه در این صنعت مشکل بیماری است (Shinn et al., 2018; Wee et al., 2024). افزایش تراکم، باعث استرس‌های زیستی به ماهیان می‌شود. این استرس‌ها امکان ابتلا به انواع بیماری‌ها را در ماهی افزایش می‌دهد (Soltani et al., 2014). در سال‌های اخیر برای افزایش رشد و مدیریت بیماری در آبزیان به طور متداول از آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده شده است (Akrami et al., 2010; Marlowe, 2011). با توجه به این که گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها اثبات شده است، بیم آن می‌رود که از محیط پرورش آبزیان باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک وارد محیط‌های آبی شده، با تغییر در جوامع

- محرك ایمنی استفاده می‌شود (Barman et al., 2013; Wang et al., 2017).
- پری‌بیوتیک‌ها به عنوان محرك ایمنی، کربوهیدرات‌های پیچیده غیرقابل هضمی هستند که به علت نبود آنزیم‌های هیدرولیز کننده پیوندهای نوع بتا بین واحدهای منوساکاریدی در ماهیان، منحصرأ به وسیله بعضی از باکتری‌های بی‌هوازی (لاکتوباسیل‌ها، بسیاری از باکتری‌های اسید لاکتیک و بیفیدوباکترها) دستگاه گوارش قابل تجزیه شدن هستند (Merrifield and Ringo, 2014). بنابراین استفاده از این نوع کربوهیدرات‌ها در جیره غذایی ماهیان می‌تواند سبب ازدیاد جمعیت باکتری‌های مفید روده شود (Rohani et al., 2021; Tran and Li, 2022). همچنین تولید اسید، در شرایط تخمیر پلی‌ساکاریدها، سبب کاهش pH روده شده و از فعالیت عوامل بیماری‌زا و مضر روده جلوگیری می‌کند (Merrifield and Ringo, 2014). از این رو، پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند به طور انتخابی تعداد محدودی از گونه‌های باکتری روده را تقویت کنند (Hoseinifar et al., 2015) و به طور مستقیم برای سلامت میزبان و استفاده در خوراک مفید هستند (Gultepe et al., 2011; Ebrahimi et al., 2012; Wu et al., 2013).
- پلیمرهای طبیعی شامل فروکتان‌ها، گلوکان‌ها، مانان‌ها، کیتوزان، لیپوآرابینومانان، مورامیل دی‌پپتید، لیپوپلی‌ساکاریدها، ساپونین‌ها و ترهالوز دیمیکلات (Trehalose Dimycolate) هستند (Rao et al., 2006). برخی پلیمرها به عنوان الگوهای وابسته به عامل بیماری‌زا عمل می‌کنند و گیرنده‌های سیستم ایمنی آنها را شناسایی می‌کنند (Li and Wang, 2015). این پلیمرها با فعال کردن پاسخ ایمنی ذاتی، ایمنی‌زایی را افزایش می‌دهند (Nishiyama et al., 2006; Rawal et al., 2009). از آنجایی که مکمل‌های محرك ایمنی یکی از بهترین راه‌های کمتر شدن مشکل بیماری است، استفاده از گلوکان خوراکی به عنوان یک ماده طبیعی، ایمن و محرك ایمنی اقتصادی که می‌تواند پاسخ ایمنی را در جانوران آبی تحریک کند، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Rodrigues et al., 2020).
- گزارش شده است مکمل‌های پری‌بیوتیک رشد انواع مختلفی از گونه‌های ماهی را تقویت می‌کنند (Torrecillas et al., 2007, 2018; Sara et al., 2010; Soleimani et al., 2012; Guerreiro et al., 2018a). در همین حال، مطالعات دیگر اثرات مثبتی را بر عملکرد رشد ماهی نشان ندادند (Grisdale-Helland

al., 2020a,b; Yamamoto et al., 2020; Ciji et al., 2023).

باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) یکی از گونه های مهم آبی با بیشترین پراکنش در منطقه آسیا-اقیانوسیه است (Catacutan and Coloso, 1995; Boonyaratpalin et al., 1998). باس دریایی آسیایی در راسته سوفماهی شکلان (Perciformes)، زیر رده Percoidei و خانواده Centropomidae طبقه بندی می شود (Glencross, 2006). تکثیر و پرورش ماهی در ایران یک صنعت رو به رشد است و ماهی باس دریایی آسیایی یکی از گونه های مستعد پرورشی در جنوب ایران است. در این راستا هدف مورد نظر در این مطالعه ارزیابی اثرات رشد و ایمنولوژیکی مکمل بتاگلوکان روی ماهی باس دریایی آسیایی بوده است.

مواد و روش ها

این پژوهش در ایستگاه تحقیقات آبزیان دریایی پژوهشکده خلیج فارس (دانشگاه خلیج فارس بوشهر) انجام شد. ماهیان باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) از مرکز پرورش ماهی راموز تهیه شدند (ماهیان با وانت حامل مخزن حمل ماهی به دانشگاه منتقل شدند) و برای سازگاری با شرایط به مدت ۲ هفته در

et al., 2008; Rehulka et al., 2011; Serradell et al., 2020). این تفاوت ها عمدتاً

به نوع پری بیوتیک استفاده شده، مقدار و دوره مصرف مکمل و گونه ماهی مورد مطالعه بستگی دارد.

در پژوهش انجام شده توسط Zhang و همکاران (۲۰۲۲) در مورد تاثیر استفاده از مکمل بتاگلوکان در ماهی Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*) گزارش کردند که الگوی بیان ۱۲۴۵ ژن در ماهیان تغذیه شده با بتاگلوکان تغییر یافته بود که از این میزان ۱۰۹ ژن با بیان متفاوت مربوط به بیان ژن های ایمنی بوده است و همچنین تاثیر مثبتی در زندهمانی ماهی پس از چالش با *Aeromonas schubertii* داشت و افزایش فعالیت لیزوزوم را نیز گزارش کردند.

Rodrigues و همکاران (۲۰۲۰) تاثیر

مثبت بتاگلوکان بر زندهمانی ماهی پس از چالش به علت تاثیر بر فعالیت لیزوزیم گزارش کردند و همچنین بیان داشتند که بهبود رشد باکتری های مفید روده، اسیدی کردن شرایط روده و محدود کردن متابولیت های مضر در روده را سبب می شود. در مطالعات دیگری نیز تاثیر بتاگلوکان بر افزایش شاخص های ایمنی در ماهیان دیگر گزارش شده است (Dawood et

فارس (شوری ۴۰ گرم در لیتر) تامین شد. سطح شوری با استفاده از دستگاه شوری‌سنج (U10، WTW، آلمان)، اکسیژن یک بار در هفته با دستگاه اکسیژن‌متر (WTW، oxi320، آلمان)، pH آب یک بار در هفته با دستگاه pH (WTW، B3223، آلمان) و دمای آب روزانه با دماسنج جیوه‌ای اندازه‌گیری شد که مقادیر آنها به ترتیب ۴۰ گرم در لیتر، ۸۰ درصد اشباع، ۷/۴-۸/۳، ۲۷±۲ درجه سانتی‌گراد ثبت شد. غذادهی در دو نوبت به صورت دستی و در حد سیری در ساعت‌های ۸ و ۱۶ انجام شد. همچنین تعویض آب ماهیان هر دو روز یک بار انجام شد. به منظور محاسبه شاخص‌های رشد ماهیان شامل افزایش وزن بدن (WG)، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، میانگین رشد روزانه (ADG) و نرخ رشد ویژه (SGR) در طول دوره ۶۰ روزه از رابطه‌های ۱ تا ۴ استفاده شد (Ricker, 1979; Qinghui et al., 2004).

رابطه ۱:

$$WG(g) = W_f - W_i$$

W_i : وزن اولیه (گرم); W_f : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۲:

$$BWI(\%) = [(W_f - W_i) / W_i] \times 100$$

W_i : وزن اولیه (گرم); W_f : وزن نهایی (گرم).

وان‌های هزار لیتری با هوادهی مناسب نگهداری شدند. در طول این مدت ماهیان با جیره تجاری شرکت فرادانه غذا دهی انجام شد. دما، شوری و اکسیژن محلول آب و همچنین وضعیت سلامت ماهیان از جهت وضعیت ظاهری و تلفات روزانه کنترل می‌شد. سپس تیمار بندی به صورت تصادفی انجام شد. آزمایش با سه تیمار و هر تیمار با دو تکرار انجام شد. هر تیمار شامل ۳۰ قطعه ماهی باس دریایی آسیایی با وزن اولیه ۲۵/۱±۱/۲ گرم بود که در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت. در گروه اول (شاهد) ماهیان فقط با جیره پایه (فرادانه، ایران) تغذیه می‌شدند. در گروه دوم (تیمار ۱) ۲۵۰ میکرولیتر (۰/۰۱ وزن ماهی) مکمل بتاگلوکان ۲۰ درصد (۲ گرم مکمل ۲۰ درصد در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب؛ غلظت نهایی بتاگلوکان ۱ میلی‌گرم در ۲۵۰ میکرولیتر) با منشأ مخمر در روز ۱ و روز ۳۰ آزمایش به ماهیان تزریق شد و در گروه سوم (تیمار ۲) به جیره پایه ۷ گرم در کیلوگرم مکمل Prody 450 حاوی ۱۵ درصد بتاگلوکان با منشأ مخمر اضافه شد. غلظت نهایی گلوکان در تیمار خوراکی ۱ میلی‌گرم در گرم در نظر گرفته شد. شرایط نوری در طول آزمایش به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. آب مورد استفاده در این مطالعه از خلیج

رابطه ۳:

$$ADG (g\%/day) = [(W_f - W_i) / t] \times 100$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ t : طول دوره آزمایش (روز).

رابطه ۴:

$$SGR (\%/day) = [(\ln W_f - \ln W_i) / t] \times 100$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ t : طول دوره آزمایش (روز).

شاخص‌های ایمنی خون، نمونه‌های سرم در کرایوتیوپ با یونولیت حاوی یخ خشک به آزمایشگاه تخصصی ویرومد (گیلان، رشت) منتقل شد.

ایمنوگلوبولین کل به روش کدورت‌سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (-223337 UNICO, S2100 UV، آمریکا) محاسبه شد.

در این روش ابتدا میزان پروتئین کل سرم با استفاده از روش رنگ‌سنجی بردفورد اندازه‌گیری شد، بعد با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول ۱۲ درصد، آنتی‌بادی‌های سرم رسوب داده شد و مقدار پروتئین محلول رویی اندازه‌گیری شد. تفاوت بین مقدار پروتئین کل سرم با مقدار پروتئین محلول رویی، میزان آنتی‌بادی کل سرم را نشان داد (Reyes-Becerril et al., 2008).

میزان IgM سرم بر اساس روش الیزا و کدورت به دست آمده از اتصال ایمنوگلوبولین با آنتی‌بادی ضد آن (تهیه شده از سرم موش، Aquatic Diagnostics Ltd، اسکاتلند) سنجیده شد (Reyes-Becerril et al., 2008).

سنجش فعالیت لیزوزیم بر اساس روش Clerton و همکاران (۲۰۰۱) و با استفاده از لیز کردن باکتری گرم مثبت *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma Aldrich، آمریکا) که به آنزیم لیزوزیم حساس است، اندازه‌گیری شد.

به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی خون ماهیان، در روزهای ۱۵ و ۴۵ آزمایش نمونه‌برداری انجام شد. برای نمونه‌برداری از ۳ قطعه ماهی از هر تکرار (هر تیمار ۶ ماهی) استفاده شد. ماهیان قبل از خون‌گیری با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر پودر میخک بیهوش شدند و از ساقه دمی آنها خون‌گیری انجام شد. نمونه‌های خون در لوله‌های سرم‌شناسی فاقد ماده ضدانعقاد به مدت یک ساعت در یخچال نگهداری شدند و پس از ته‌نشینی لخته در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (5810R، Eppendorf، آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند تا سرم جدا شود. سرم تا زمان استفاده در میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری استریل در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Pathiratne and Rajapakshe, 1998). برای سنجش

K: مقداری از سرم که موجب ۵۰ درصد همولیز می‌شود (میلی‌لیتر)؛ D: ضریب رقت برابر ۰/۰۱ (چون سرم ۱۰۰ مرتبه رقیق شده بود).

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش نمونه‌برداری به صورت تصادفی بود. پراکنش نرمال داده‌ها توسط آزمون Shapiro-Wilk تایید شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) انجام شد. در مواردی که نتایج این آزمون معنی‌دار بود از پس‌آزمون (Post-hoc) توکی (Tukey) استفاده شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد و داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شدند. نمودارها نیز با استفاده از Microsoft Excel 2013 رسم شدند.

نتایج

نتایج به دست آمده از سنجش شاخص‌های رشد ماهیان باس دریایی آسیایی در تیمارهای مختلف بتاگلوکان در جدول ۱ آورده شده است.

منحنی استاندارد توسط لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ (۱ میلی‌گرم در لیتر لیزوزیم) رسم شد. مقدار ۲۵ میکرولیتر از سرم به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای الایزا افزوده شد و سپس ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی *M. lysodeikticus* در غلظت ۰/۲۰ میلی‌گرم در لیتر در بافر فسفات ۰/۵ مولار با pH ۶/۲ اضافه شد. جذب نوری اولیه در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد و پس از یک ساعت نگهداری در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد، دوباره جذب نوری اندازه‌گیری شد. فعالیت مسیر فرعی کمپلمان (ACH50) بر اساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش (RaRBC) و به کمک روش Yano (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. با استفاده از کاغذ شطرنجی (Log-Log Graph) منحنی لیزرسم شد. طبق تعریف حجمی از سرم که سبب ۵۰ درصد همولیز شود عبارت است از فعالیت کمپلمان نمونه که از رابطه ۵ محاسبه شد (Yano, 1996).

رابطه ۵:

$$\text{ACH50 (U/mL)} = K \times D \times 0.5$$

جدول ۱: شاخص‌های رشد بررسی شده در باس دریای آسیایی در تیمارهای مختلف
(میانگین $\pm$ انحراف معیار)

شاخص	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
وزن اولیه (گرم)	$25/3 \pm 0/55^a$	$25/1 \pm 0/7^a$	$25/4 \pm 0/85^a$
وزن نهایی (گرم)	$73/17 \pm 0/9^a$	$75/49 \pm 0/61^a$	$82/43 \pm 8^b$
افزایش وزن بدن (گرم)	$47/87 \pm 0/34^a$	$50/39 \pm 0/66^a$	$57/03 \pm 2^b$
درصد افزایش وزن بدن	$189/25 \pm 2/85^a$	$200/89 \pm 7/61^a$	$224/55 \pm 3/27^b$
میانگین رشد روزانه (گرم در روز)	$0/8 \pm 0/06^a$	$0/84 \pm 0/01^a$	$0/95 \pm 0/03^b$
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	$1/77 \pm 0/2^a$	$1/84 \pm 0/04^a$	$1/96 \pm 0/02^b$

شاهد: جیره پایه (شرکت فرادانه)؛ تیمار ۱: جیره پایه + ۲۵۰ میکرولیتر بتاگلوکان تزریقی (غلظت نهایی ۱ میلی گرم در ۲۵۰ میکرولیتر؛ دو بار تزریق در طول دوره)؛ تیمار ۲: جیره پایه + مکمل غذایی بتاگلوکان (غلظت نهایی ۱ میلی گرم در گرم).

در هر ردیف، وجود حروف غیرهمنام نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است ($P < 0/05$).

گروه شاهد بیشتر بودند (شکل ۱). در رابطه با مقدار ایمنوگلوبولین کل در روز ۱۵ آزمایش تیمار ۱ و ۲ با اختلاف معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود و در روز ۴۵ تیمار ۲ اختلاف معنی‌داری با دو گروه دیگر داشت ($P < 0/05$). میزان ایمنوگلوبولین M نیز در روز ۱۵ آزمایش تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P < 0/05$) و در روز ۴۵ تیمار ۲ نسبت به دو تیمار دیگر با اختلاف معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/05$). بهترین نتیجه در تیمار ۲ در روز ۴۵ آزمایش به دست آمد.

نتایج نشان دهنده اختلاف معنی‌دار شاخص‌های رشد مورد بررسی بین ماهیان تغذیه شده با مکمل خوراکی پری‌بیوتیک حاوی بتاگلوکان (تیمار ۲) و دو گروه دیگر بود. اختلاف معنی‌داری بین ماهیانی که دو بار در طول دوره مورد تزریق بتاگلوکان قرار گرفتند (تیمار ۱) و گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0/05$).

نتایج ایمنی‌شناسی بر اساس آنالیز سرم در گروه‌های مختلف در روزهای ۱۵ و ۴۵ آزمایش در جدول‌های ۲ و ۳ آمده است. فعالیت لیزوزیم و مسیر کمپلمان هم در روز ۱۵ و هم روز ۴۵ تیمار ۱ و ۲ با اختلاف معنی‌دار در مقایسه با

جدول ۲: شاخص‌های ایمنی سرم باس دریای آسیایی در تیمارهای مختلف در روز ۱۵ آزمایش
(میانگین $\pm$ انحراف معیار)

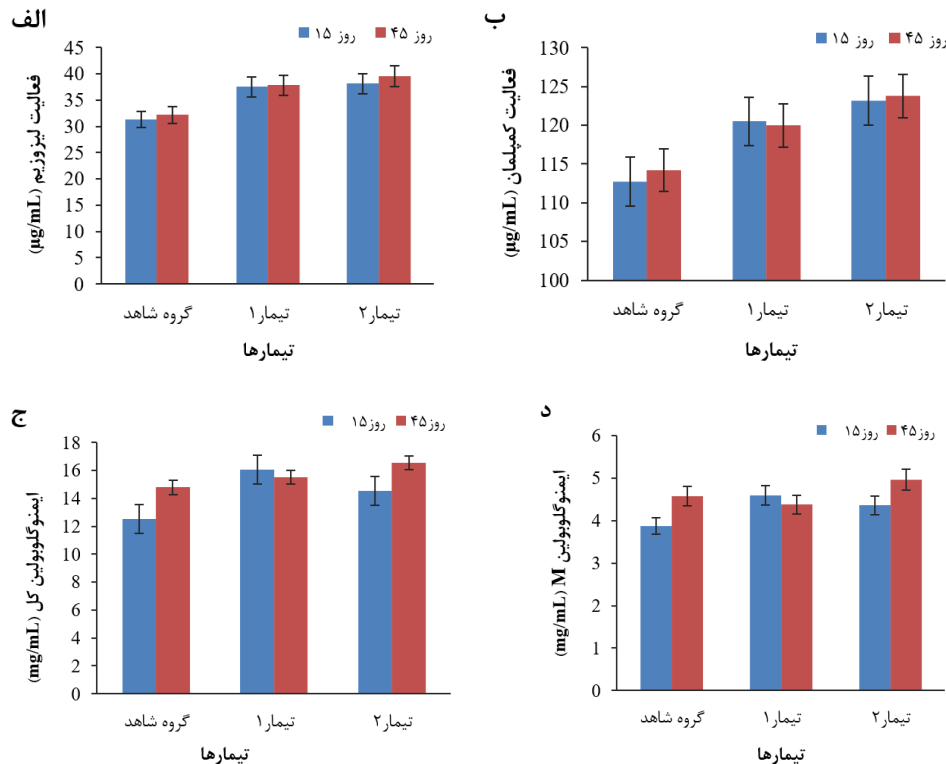
شاخص	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
لیزوزیم ($\mu\text{g/mL}$)	$31/30 \pm 0/76^a$	$37/5 \pm 1/28^b$	$38/1 \pm 1/44^b$
فعالیت مسیر فرعی کمپلمان ($\mu\text{g/mL}$)	$112/7 \pm 1/15^a$	$120/5 \pm 1/35^b$	$123/2 \pm 0/92^b$
ایمونوگلوبولین کل (mg/mL)	$12/05 \pm 0/4^a$	$16/07 \pm 0/26^c$	$14/54 \pm 0/5^b$
IgM (mg/mL)	$3/87 \pm 0/11^a$	$4/59 \pm 0/06^b$	$4/36 \pm 0/14^b$

شاهد: جیره پایه (شرکت فرادانه)؛ تیمار ۱: جیره پایه + ۲۵۰ میکرولیتر بتاگلوکان تزریقی (غلظت نهایی ۱ میلی گرم در ۲۵۰ میکرولیتر؛ دو بار تزریق در طول دوره)؛ تیمار ۲: جیره پایه + مکمل غذایی بتاگلوکان (غلظت نهایی ۱ میلی گرم در گرم).
در هر ردیف، وجود حروف غیرهمنام نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است ($P < 0/05$).

جدول ۳: شاخص‌های ایمنی سرم باس دریای آسیایی در تیمارهای مختلف در روز ۴۵ آزمایش
(میانگین $\pm$ انحراف معیار)

شاخص	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
لیزوزیم ($\mu\text{g/mL}$)	$32/2 \pm 0/36^a$	$37/8 \pm 1/13^b$	$39/5 \pm 2/01^b$
فعالیت مسیر فرعی کمپلمان ($\mu\text{g/mL}$)	$114/2 \pm 1/71^a$	$119/9 \pm 0/85^b$	$123/8 \pm 1/15^c$
ایمونوگلوبولین کل (mg/mL)	$14/79 \pm 0/35^a$	$15/51 \pm 0/44^a$	$16/55 \pm 0/33^b$
IgM (mg/mL)	$4/57 \pm 0/11^{ab}$	$4/38 \pm 0/17^a$	$4/96 \pm 0/2^b$

شاهد: جیره پایه (شرکت فرادانه)؛ تیمار ۱: جیره پایه + ۲۵۰ میکرولیتر بتاگلوکان تزریقی (غلظت نهایی ۱ میلی گرم در ۲۵۰ میکرولیتر؛ دو بار تزریق در طول دوره)؛ تیمار ۲: جیره پایه + مکمل غذایی بتاگلوکان (غلظت نهایی ۱ میلی گرم در گرم).
در هر ردیف، وجود حروف غیرهمنام نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است ($P < 0/05$).



شکل ۱: اثر مکمل بتاگلوکان تزریقی و خوراکی بر شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی ماهی باس در بایستیایی (میانگین $\pm$ انحراف معیار). الف) فعالیت لیزوزیم. ب) فعالیت کمپلمان. ج) میزان ایمنوگلوبولین کل. د) میزان ایمنوگلوبولین M.

بحث

(et al., 2016). لیزوزیم و کمپلمان دو بخش

حیاتی در سیستم ایمنی غیراختصاصی هستند (Zhang et al., 2013). لیزوزیم به پیوند گلیکوزیدی β -۱-۴ بین N-استیل مورامیک اسید و N-استیل گلوکز آمین در پپتیدوگلیکان دیواره سلولی باکتری حمله می‌کند و باکتری‌های گرم مثبت خاصی را لیز می‌کند

در ماهیان سیستم ایمنی غیراختصاصی در برابر عاملان بیماری و آلاینده‌های محیطی، اولین سیستم دفاعی است (Ahmadi et al., 2014). سیستم ایمنی در ماهیان استخوانی از سیستم ایمنی غیراختصاصی و سیستم ایمنی اختصاصی تشکیل شده است (Malmstrom

گزارش شده است (Fujiki et al., 1997; Bagni et al., 2005; Gioacchini et al., 2010). بتاگلوکان یکی از محرک‌های ایمنی امیدوار کننده است که با توجه به خواص تحریک کننده ایمنی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی آن در صنعت آبزی‌پروری به عنوان مکمل غذایی استفاده می‌شود (Akhtar et al., 2021). در این پژوهش به بررسی اثرات پری‌بیوتیک بتاگلوکان با منشا مخمر *Saccharomyces cerevisiae* به عنوان ماده محرک ایمنی با هدف بالا بردن ایمنی ذاتی ماهی‌ها و افزایش مقاومت آنها در برابر عوامل بیماری‌زا، بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی سرم ماهی باس دریایی آسیایی پرداخته شد و تاثیرات مثبت آن بر شاخص‌های رشد مشهود بود، به طوری که در تیمار ۲ اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد در تمام شاخص‌های مورد بررسی مشاهده شد و تاثیر مثبت آن بر وضعیت عمومی و رشد ماهی نیز مشاهده شد. در تیمار ۱ نیز نسبت به گروه شاهد افزایش مشاهده شد، ولی در هیچ یک از شاخص‌ها، اختلاف معنی‌دار نبود. این نتایج با نتایج پژوهش دیگری در مورد اثرات بتاگلوکان مخمر بر روی لاروهای *Turbot* (*Scophthalmus maximus*) مطابق است که در آن بتاگلوکان مخمر به وضوح پاسخ‌های

(Saurabh and Sahoo, 2008). سیستم کمپلمان از یک یا ترکیبی از سه مسیر (مسیر کلاسیک، جایگزین و مسیر لکتین) آغاز می‌شود. هر سه مسیر در یک مرحله ادغام می‌شوند و از طریق یک مسیر پایانی، منجر به تشکیل یک کمپلکس حمله غشایی می‌شوند، که می‌تواند مستقیماً سلول‌های بیماری‌زا را از بین ببرد، پیش می‌روند (Nakao et al., 2011). لیزوزیم در صورت ترکیب با کمپلمان حتی می‌تواند بعضی از باکتری‌های گرم منفی را هم از بین ببرد (Swain and Nayak, 2009). در رابطه با ایمنی اختصاصی، IgM اولین ایمنوگلوبولین کشف شده و اصلی‌ترین ایمنوگلوبولین در ماهیان استخوانی است که هم در ایمنی اکتسابی و هم در ایمنی ذاتی نقش دارد و به طور فعال بسیاری از عملکردهای موثر مانند تثبیت کمپلمان، آگلوتیناسیون، اتصال به مانوز-لکتین و به عنوان واسطه سمیت سلولی نقش دارد (Ye et al., 2013). پیوند ایمنوگلوبولین با آنتی‌ژن سبب انسداد بعضی از فعالیت‌های مهم آنتی‌ژنی می‌شود و باعث محافظت میزبان در برابر بیماری می‌شود (Ali Shahi, 2009). اثر تحریک کنندگی سیستم ایمنی ماهیان توسط پلی‌ساکاریدهایی مانند بتاگلوکان، آرگوسان، آلژینات، کارژینان، کیتین و کیتوزان

M ماهیان در روزهای ۱۵ و ۴۵ اندازه‌گیری شد که تاثیر مثبت و معنی‌دار آن بر شاخص‌های ایمنی مورد بررسی، مشاهده شد (شکل ۱) و بهترین نتیجه در تیمار ۲ در روز ۴۵ آزمایش به دست آمد. تیمار ۲ در روز ۱۵ آزمایش نیز اختلاف معنی‌داری را در شاخص‌های یاد شده با گروه شاهد نشان داد. در تیمار ۱ نیز در روز ۱۵ آزمایش، شاخص‌های ایمنی مورد بررسی با اختلاف معنی‌دار از گروه شاهد بیشتر بودند، اما در روز ۴۵ آزمایش، در مقدار ایمنोगلوبولین کل و ایمنोगلوبولین M اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد. Neamat-Allah و همکاران (۲۰۲۰) تاثیر قابل توجه بتاگلوکان روی تولید ایمنोगلوبولین را گزارش دادند که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر همخوانی دارد. از طرفی در مطالعه De Souza و همکاران (۲۰۲۰) عدم تاثیر استفاده از بتاگلوکان را به عنوان مکمل تغذیه‌ای در نشانگرهای ایمنی ذاتی مانند فعالیت لیزوزوم و غلظت پروتئین کل در ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) گزارش کردند که با نتایج به دست آمده از این مطالعه در تضاد است. همچنین در مطالعات دیگری نیز تاثیر مثبت بتاگلوکان بر فعالیت لیزوزوم گزارش شده است (Dawood et al., 2020a; Yamamoto et al., 2020

ایمنی را تعدیل می‌کند (Jiang et al., 2019). همچنین Gu و همکاران (۲۰۲۱) با تغذیه لارو ماهی *Scophthalmus maximus* با مکمل بتاگلوکان مخمر و کربوکسی‌متیل‌گلوکان گزارش کردند که عملکرد لیزوزیم، فعالیت کمپلمان و میزان ایمنोगلوبولین به میزان قابل توجهی افزایش داشت و به این وسیله اثرات نامطلوب تغذیه با کنجاله سویا بر ایمنی این ماهیان را بهبود بخشید.

تاثیر مثبت پری‌بیوتیک بر رشد و ایمنی ماهیان مشاهده شده است (Zhou et al., 2010; Akrami et al., 2013; Guerreiro et al., 2018b). گزارش شده است که پری‌بیوتیک‌ها عملکرد رشد را بهبود می‌بخشند (Li et al., 2019). همچنین باعث تقویت سیستم ایمنی (Li et al., 2021; Elumalai et al., 2022; Mohammadi et al., 2022; Rashidian et al., 2022) و تحریک مقاومت در برابر بیماری گونه‌های آبزی پروری می‌شوند (Abdel-Latif et al., 2022; Yilmaz et al., 2022) که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر همسو است.

چگونگی تاثیر روی سیستم ایمنی ماهی باس دریایی شاخص‌هایی چون فعالیت لیزوزیم، اثر کمپلمان، ایمنोगلوبولین کل و ایمنोगلوبولین

- که با نتایج به دست آمده از این مطالعه همسو است.
- Akhtar و همکاران (۲۰۲۱) نیز تاثیر استفاده از بتاگلوکان را بر کاهش اثرات نامطلوب استرس بر بچه ماهی در حال انقراض *Tor putitora* گزارش کردند. Guzman-Villanueva و همکاران (۲۰۱۴) دریافتند اضافه کردن بتاگلوکان به جیره غذایی، سبب افزایش ایمونوگلوبولین در سرم ماهی شانک سر طلایی (*Sparus aurata*) می شود. همچنین مطالعه ای درباره تاثیرات ۰/۴ درصدی الیگوساکارید مانان و بتاگلوکان در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) انجام شد که تاثیرات مثبت و بهبود شاخص های رشد و ایمنی را گزارش دادند (Jami et al., 2019).
- Bagni و همکاران (۲۰۰۵) دریافتند که بتاگلوکان سبب افزایش فعالیت لیزوزیم، کمپلمان و فاگوسیتوزی، افزایش تولید آنتی بادی و انفجار تنفسی در ماهی قزل آلاي رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) می شود. Chang و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند پری بیوتیک همانند بتاگلوکان در ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) افزایش فعالیت لیزوزیم را سبب می شود. همچنین Ciji و همکاران (۲۰۲۳) در مطالعه خود با تغذیه ماهی *Tor Golden Mahseer* با بتاگلوکان (*putitora*) در غلظت های ۰/۲۵ درصد تا ۰/۷۵ درصد دریافتند که غلظت ۰/۲۵ درصد بیشترین تاثیر را در درصد افزایش وزن و بیان ژن های *mch1*، *IL1B* و *IgL* داشت که با نتایج به دست آمده در این مطالعه همسو است. پژوهش ها نمایانگر اهمیت مسیر کمپلمان در پاسخ های ایمنی ماهیان استخوانی است (Yano, 1996). سیستم کمپلمان تحت تاثیر لیپوپلی ساکارید دیواره سلولی باکتری های بیماری زای گرم منفی فعال می شود و با متصل شدن به باکتری ها سبب افزایش سرعت عمل فاگوسیتوز می شود (Magnadottir et al., 2005). افزایش فعالیت کمپلمان نمایانگر فعال شدن سیستم ایمنی است (Panigrahi et al., 2005). در این مطالعه میزان فعالیت کمپلمان، لیزوزیم، ایمونوگلوبولین کل و ایمونوگلوبولین M با اختلاف معنی داری نسبت به گروه شاهد بالاتر بود که نمایانگر بالا رفتن سیستم ایمنی در ماهی باس دریایی آسیایی است.
- در مجموع، می توان اظهار داشت طبق نتایج به دست آمده از این آزمایش، تحت تاثیر استفاده از جیره های غذایی پری بیوتیک حاوی بتاگلوکان عملکرد رشد و همچنین ایمنی ذاتی ماهی باس دریایی آسیایی با اثر بر بعضی شاخص های

ایمنی بهبود پیدا کردند، در نتیجه استفاده از پری بیوتیک حاوی بتاگلوکان در جیره غذایی ماهی باس دریایی آسیایی توصیه می شود. جمهوری در قالب طرح با شماره ۹۹۰۲۰۴۰۱ و نیز حمایت شرکت تولید خوراک آبزیان فردانه انجام گرفته است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی بنیاد علم ایران (صندوق حمایت از پژوهشگران ریاست

منابع

- Abdel-Latif H.M.R., Yilmaz E., Dawood M.A.O., Ringo E., Ahmadifar E. and Yilmaz S. 2022.** Shrimp vibriosis and possible control measures using probiotics, postbiotics, prebiotics, and synbiotics: A review. *Aquaculture*, 551: 737951. doi: 10.1016/j.aquaculture.2022.737951
- Ahmadi K., Mirvaghefi A.R., Banaee M. and Vosoghei A.R. 2014.** Effects of long-term diazinon exposure on some immunological and haematological parameters in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 6(1): 1–7. doi: 10.1007/s13530-014-0181-1
- Akhtar M.S., Tripathi P.H., Pandey A., Ciji A. 2021.** β -glucan modulates non-specific immune gene expression, thermal tolerance and elicits disease resistance in endangered *Tor putitora* fry challenged with *Aeromonas salmonicida*. *Fish and Shellfish Immunology*, 119: 154–162. doi: 10.1016/j.fsi.2021.09.038
- Akrami R., Ghelichi A. and Gharaei A. 2010.** The use of prebiotics in aquaculture (In Persian). *Journal of Fisheries*, 4(1): 77–84.
- Akrami R., Iri Y., Rostami H.K. and Mansour M.R. 2013.** Effect of dietary supplementation of fructo-oligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, *Lactobacillus* bacterial population and hematoimmunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish and Shellfish Immunology*, 35(4): 1235–1239. doi: 10.1016/j.fsi.2013.07.039
- Ali Shahi M. 2009.** An Introduction to Aquatic Immunology (In Persian). Shahid Chamran University Press, Iran. 499P.
- Bagni M., Romano N., Finoia M.G., Abelli L., Scapigliati G., Tiscar P.G. and Marino G. 2005.** Short- and long-term effects of a dietary yeast β -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish and Shellfish Immunology*, 18(4): 311–325. doi: 10.1016/j.fsi.2004.08.003.
- Barman D., Nen P., Mandal S.C. and Kumar V. 2013.** Immunostimulants for aquaculture health management. *Journal of Marine Science: Research and Development*, 3(3): 12. doi: 10.4172/2155-9910.1000134
- Boonyaratpalin M., Suraneiranat P. and Tulpibal T. 1998.** Replacement of fish meal with various types of soybean products in diets for the Asian seabass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*, 161(1):

- 67–78. doi: 10.1016/S0044-8486(97)00257-3
- Catacutan M.R. and Coloso R.M. 1995.** Effect of dietary protein to energy ratios on growth, survival, and body composition of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*, 131(1): 125–133. doi: 10.1016/0044-8486(94)00358-U
- Chang C.S., Huang S.L., Chen S. and Chen S.N. 2013.** Innate immune responses and efficacy of using mushroom beta-glucan mixture (MBG) on orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, aquaculture. *Fish and Shellfish Immunology*, 35(1): 115–125. doi: 10.1016/j.fsi.2013.04.004
- Ciji A. and Akhtar M.S. 2021.** Stress management in aquaculture: A review of dietary interventions. *Reviews in Aquaculture*, 13: 2190–2247. doi: 10.1111/raq.12565
- Ciji A., Tripathi P.H., Pandey A. and Akhtar M.D.S. 2023.** Expression of genes encoding non-specific immunity, anti-oxidative status and aquaporins in β -glucan-fed golden mahseer (*Tor putitora*) juveniles under ammonia stress. *Fish and Shellfish Immunology Reports*, 4: 1–9 (100100) doi: 10.1016/j.fsirep.2023.100100
- Clerton P., Troutaud D., Verlhac V., Gabraudan J. and Deschaux P. 2001.** Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte function: Effect on gut and head kidney leucocyte. *Fish and Shellfish Immunology*, 11: 1–13. doi: 10.1006/fsim.2000.0287
- Dawood M.A., Abdo S.E., Gewaily M.S., Moustafa E.M., SaadAllah M.S., AbdEl-Kader M.F., Hamouda A.H., Omar A.A. and Alwakeel R.A. 2020a.** The influence of dietary β -glucan on immune, transcriptomic, inflammatory and histopathology disorders caused by deltamethrin toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 98: 301–311. doi: 10.1016/j.fsi.2020.01.035
- Dawood M.A.O., Moustafa E.M., Elbially Z.I., Farrag F., Lolo E.E., Abdel-Daim H.A., Abdel-Daim M.M. and Van Doan H. 2020b.** *Lactobacillus plantarum* 1-137 and/or β -glucan impacted the histopathological, antioxidant, immune-related genes and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. *Research in Veterinary Science*, 130: 212–221. doi: 10.1016/j.rvsc.2020.03.019
- De Souza F.P., De Lima E.C.S., Pandolfi V.C.F., Leite N.G., Furlan-Murari P.J., Leal C.N. S., Mainardi R.M., Suphoronski S.A., Favero L.M., Koch J.F.A., Pereira U.P. and Lopera-Barrero N.M. 2020.** Effect of β -glucan in water on growth performance, blood status and intestinal microbiota in tilapia

- under hypoxia. *Aquaculture Reports*, 17: 1–11 (100369). doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100369
- Denev S., Staykov Y., Moutafchieva R. and Beev G. 2009.** Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture: R. *International Aquatic Research*, 1: 1–29.
- Ebrahimi G.H., Ouraji H., Khalesi M.K., Sudagar M., Barari A., Zarei Dangesaraki M. and Jani Khalili K.H. 2012.** Effects of a prebiotic, Immunogen®, on feed utilization, body composition, immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus) fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96(4): 591–599. doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100369
- Elumalai P., Kurian A., Lakshmi S., Musthafa M.S., Ringo E. and Faggio C. 2022.** Effect of *Leucas aspera* against *Aeromonas hydrophila* in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*): Immunity and gene expression evaluation. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 22(2): 1–22. (19802). doi: 10.4194/TRJFAS19802
- FAO. 2014.** The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO, Rome. 243P.
- Fujiki K., Shin D.H., Nakao M. and Yanot T. 1997.** Effects of κ -carrageenan on the non-specific defense system of carp *Cyprinus carpio*. *Fisheries Science*, 63(6): 934–938. doi: 10.2331/fishsci.63.934
- Gioacchini G., Lombardo F., Avella M.A., Olivotto I. and Carnevali O. 2010.** Welfare improvement using alginic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Chemistry and Ecology*, 26(2): 111–121. doi: 10.1080/02757541003627738
- Glencross B. 2006.** The nutritional management of barramundi, *Lates calcarifer*- A review. *Aquaculture Nutrition*, 12(4): 291–309. doi: 10.1111/j.1365-2095.2006.00410.x
- Grisdale-Helland B., Helland S.J. and Gatlin D.M. 2008.** The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 283: 163–167. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.07.012
- Gu M., Pan S., Li Q., Qi Z., Deng W., Chen C. and Bai N. 2021.** Evaluation and compare of yeast β -glucan and carboxymethylglucan to improve the immunity and gut health of turbot fed diet containing 400gkg⁻¹ of soybean meal. *Aquaculture Reports*, 21: 1–8 (100882). doi: 10.1016/j.aqrep.2021.100882

- Guerreiro I., Oliva-Teles A. and Enes P. 2018a.** Prebiotics as functional ingredients: Focus on Mediterranean fish aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10(4): 800–832. doi: 10.1111/raq.12201
- Guerreiro I., Serra C.R., Pousao-Ferreira P., Oliva-Teles A. and Enes P. 2018b.** Prebiotics effect on growth performance, hepatic intermediary metabolism, gut microbiota and digestive enzymes of white sea bream (*Diplodus sargus*). *Aquaculture Nutrition*, 24(1): 1–11. doi: 10.1111/anu.12543
- Gultepe N., Salnur S., Hossu B. and Hisar O.L.C.A.Y. 2011.** Dietary supplementation with Mannan-oligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Nutrition*, 17(5): 482–487. doi: 10.1111/j.1365-2095.2010.00824.x
- Guzman-Villanueva L.T., Tovar-Ramirez D., Gisbert E., Cordero H., Guardiola F.A., Cuesta A., Meseguer J., Ascencio-Valle F. and Esteban M.A. 2014.** Dietary administration of β -1, 3/1, 6-glucan and probiotic strain *Shewanella putrefaciens*, single or combined, on gilthead seabream growth, immune responses and gene expression. *Fish and Shellfish Immunology*, 39(1): 34–41. doi: 10.1016/j.fsi.2014.04.024.
- Hassanpour B., Ismail M.M., Mohamed Z. and Kamarulzaman N.H. 2010.** An analysis of productivity growth and factors influencing it in the Iranian rainbow trout aquaculture. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(10): 5428–5440.
- Hoseinifar S.H., Mirvaghefi A., Amoozegar M.A., Sharifian M. and Esteban M.A. 2015.** Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding. *Fish and Shellfish Immunology*, 45(1): 27–32. doi: 10.1016/j.fsi.2015.03.029
- Jami M.J., Kenari A.A., Paknejad H. and Mohseni M. 2019.** Effects of dietary β glucan, mannan oligosaccharide, *Lactobacillus plantarum* and their combinations on growth performance, immunity and immune related gene expression of Caspian trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). *Fish and Shellfish Immunology*, 91: 202–208. doi: 10.1111/are.14212
- Jiang C., Wang P., Liu S., Wang Y., Li J. and Ji G., 2019.** Administration of yeast glucan on immunity of offspring in turbot *Scophthalmus maximus*: A trans-generational immune-enhancing effect. *Journal of Ocean University of China*, 18: 997–1003. doi: 10.1007/s11802-019-3767-z

- Li P. and Wang F. 2015.** Polysaccharides: Candidates of promising vaccine adjuvants. *Drug Discoveries and Therapeutics*, 9(2): 88–93. doi: 10.5582/ddt.2015.01025
- Li Y., Yuan W., Zhang Y., Liu H. and Dai X. 2021.** Single or combined effects of dietary arabinoxylan-oligosaccharide and inulin on growth performance, gut microbiota, and immune response in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Oceanology and Limnology*, 39(2): 741–754. doi: 10.1007/s00343-020-9083-z
- Li Z., Tran N.T., Ji P., Sun Z., Wen X. and Li S. 2019.** Effects of prebiotic mixtures on growth performance, intestinal microbiota and immune response in juvenile Chu's croaker, *Nibea coibor*. *Fish and Shellfish Immunology*, 89: 564–573. doi: 10.1016/j.fsi.2019.04.025
- Magnadottir B., Lange S., Gudmundsdottir S., Bogwald J. and Dalmo R.A. 2005.** Ontogeny of humoral immune parameters in fish. *Fish and Shellfish Immunology*, 19: 429–439. doi: 10.1016/j.fsi.2005.03.010
- Malmstrom M., Matschiner M., Tørresen O.K., Star B., Snipen L.G., Hansen T.F., Baalsrud H.T., Nederbragt A.J., Hanel R., Salzburger W., Stenseth N.C., Jakobsen K.S. and Jentoft S. 2016.** Evolution of the immune system influences speciation rates in teleost fishes. *Nature Genetics*, 48: 1204–1210. doi: 10.1038/ng.3645
- Marlowe C. 2011.** Influence of alginic acid and fucoidan on the immune responses of head kidney leukocytes in cod. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(3): 603–612. doi: 10.1007/s10695-010-9462-z
- Merrifield D.L. and Ringo E. 2014.** *Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics*. Wiley Blackwell, UK. 496P. doi: 10.1002/9781118897263
- Mohammadi G., Hafezieh M., Karimi A.A., Azra M.N., Doan H.V., Tapingkae W., Abdelrahman H.A. and Dawood M.A.O. 2022.** The synergistic effects of plant polysaccharide and *Pediococcus acidilactici* as a synbiotic additive on growth, antioxidant status, immune response, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 120: 304–313. doi: 10.1016/j.fsi.2021.11.028
- Nakao M., Tsujikura M., Ichiki S., Vo T.K. and Somamoto T. 2011.** The complement system in teleost fish: Progress of post-homolog-hunting researches. *Developmental and Comparative Immunology*, 35: 1296–1308. doi: 10.1016/j.dci.2011.03.003

- Neamat-Allah A.N.F, Mahsoub Y.H. and Mahmoud E.A. 2020.** The potential benefits of dietary β -glucan against growth retardation, immunosuppression, oxidative stress and expression of related genes and susceptibility to *Aeromonas hydrophila* challenge in *Oreochromis niloticus* induced by herbicide pendimethalin. *Aquaculture Research*, 518–528. doi: 10.1111/are.14910
- Nishiyama A., Tsuji S., Yamashita M., Henriksen R.A., Myrvik Q.N. and Shibata Y. 2006.** Phagocytosis of N-acetyl-D-glucosamine particles, a Th1 adjuvant, by RAW 264.7 cells results in MAPK activation and TNF-alpha, but not IL-10, production. *Cellular Immunology*, 239(2): 103–112. doi: 10.1016/j.cellimm.2006.04.003
- Panigrahi A., Kiron V., Puangkaew J., Kobayashi T., Satoh S. and Sugita H. 2005.** The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 243: 241–254. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.09.032
- Pathiratne A. and Rajapakshe W. 1998.** Hematological changes associated with epizootic ulcerative syndrome in the Asian Cichlid fish, *Etroplus suratensis*. *Asian Fisheries Science*, 11: 203–211. doi: 10.33997/j.afs.1998.11.3-4.003
- Qinghui A., Kangsen M., Chunxiao Z., Qingyuan D., Beiping T. and Zhiguo L. 2004.** Effect of dietary vitamin C on growth immune response of Japanese seabass, (*Lateolabrax japonicas*). *Aquaculture*, 242: 489–500. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.08.016
- Rao Y.Y., Das B.K., Iyotymayee P. and Chakrabarti R. 2006.** Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 20: 265–273. doi: 10.1016/j.fsi.2005.04.006. Epub 2005 Jun 14
- Rashidian G., Mahboub H.H., Fahim A., Hefny A.A., Prokic M.D., Rainis S., Boldaji J.T. and Faggio C. 2022.** Mooseer (*Allium hirtifolium*) boosts growth, general health status, and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Streptococcus iniae* infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 120: 360–368. doi: 10.1016/j.fsi.2021.12.012
- Rawal N., Rajagopalan R. and Salvi V.P. 2009.** Stringent regulation of complement lectin pathway C3/C5 convertase by C4b-binding protein (C4BP). *Molecular Immunology*, 46(15): 2902–2910. doi: 10.1016/j.molimm.2009.07.006
- Rehulka J., Minarik B., Cink D. and Zalak J. 2011.** Prebiotic effect of

- fructo oligosaccharides on growth and physiological state of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 59(5): 227–235. doi: 10.11118/actaun201159050227
- Reyes Becerril M., Tovar-Ramirez D., Ascencio Valle F., Civera Cerecedo R., Gracia Lopez V. and Barbosa Solomieu V. 2008.** Effects of dietary live yeast *Debaryomyces hansenii* on the immune and antioxidant system in juvenile leopard grouper *Mycteroperca rosacea* exposed to stress. *Aquaculture*, 280(1): 39–44. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.03.056
- Ricker W.E., 1979.** Growth rates and models. *Fish Physiology*, 8: 677–743.
- Rodrigues M.V., Zanuzzo F.S., Koch J.F.A., De Oliveira C.A.F., Sima P. and Vetvicka V. 2020.** Development of fish immunity and the role of b-glucan in immune responses. *Molecules*, 25(22): 1–33 (5378). doi: 10.3390/molecules25225378
- Rohani M.F., Islam S.M., Hossain M.K., Ferdous Z., Siddik M.A., Nuruzzaman M., Padeniya U., Brown C. and Shahjahan M. 2021.** Probiotics, prebiotics and synbiotics improved the functionality of aquafeed: Upgrading growth, reproduction, immunity and disease resistance in fish. *Fish and Shellfish Immunology*, 120: 569–589. doi: 10.1016/j.fsi.2021.12.037
- Sapkota A., Sapkota A.R., Kucharski M., Burke J., McKenzie S., Walker P. and Lawrence R. 2008.** Aquaculture practices and potential human health risks: Current knowledge and future priorities. *Environment International*, 34(8): 1215–1226. doi: 10.1016/j.envint.2008.04.009
- Sara A., Barbu A., Ani A. and Bentea M. 2010.** The effects of some additives on the bioproductive indices and meat quality of brook trout (*Salvelinus fontinalis* M.). *Journal of Animal Science and Biotechnologies*, 43(1): 94–99.
- Saurabh S. and Sahoo P.K. 2008.** Lysozyme: An important defense molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, 39: 223–239. doi: 10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x
- Serradell A., Torrecillas S., Makol A., Valdenegro V., Fernandez-Montero A., Acosta F., Izquierdo M.S. and Montero D. 2020.** Prebiotics and phytogenics functional additives in low fish meal and fish oil based diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Effects on stress and immune responses. *Fish and Shellfish Immunology*, 100: 219–229. doi: 10.1016/j.fsi.2020.03.016

- Shinn A., Pratoomyot J., Griffiths D., Trong T., Vu N., Jiravanichpaisal P. and Briggs M. 2018.** Asian shrimp production and the economic costs of disease. *Asian Fisheries Science*, 31: 29–58. doi: 10.33997/j.afs.2018.31.S1.003
- Soleimani N., Hoseinifar S.H., Merrifield D.L., Barati M. and Abadi Z.H. 2012.** Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish and Shellfish Immunology*, 32(2): 316–321. doi: 10.1016/j.fsi.2011.11.023.
- Soltani M., Shafiei S., Yosefi P., Mosavi S. and Mokhtari A. 2014.** Effect of Montanide™ IMS 1312 VG adjuvant on efficacy of *Yersinia ruckeri* vaccine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 37: 60–65. doi: 10.1016/j.fsi.2013.12.027
- Swain P. and Nayak S.K. 2009.** Role of maternally derived immunity in fish. *Fish and Shellfish Immunology*, 27: 89–99. doi: 10.1016/j.fsi.2009.04.008
- Torrecillas S., Makol A., Caballero M.J., Montero D., Robaina L., Real F., Sweetman J., Tort L. and Izquierdo M.S. 2007.** Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish and Shellfish Immunology*, 23: 969–981. doi: 10.1016/j.fsi.2007.03.007
- Torrecillas S., Rivero-Ramirez F., Izquierdo M.S., Caballero M.J., Makol A., Suarez-Bregua P., Fernandez-Montero A., Rotllant J. and Montero D. 2018.** Feeding European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles with a functional synbiotic additive (mannan oligosaccharides and *Pediococcus acidilactici*): An effective tool to reduce low fishmeal and fish oil gut health effects. *Fish and Shellfish Immunology*, 81: 10–20. doi: 10.1016/j.fsi.2018.07.007
- Tran N.T. and Li S. 2022.** Potential role of prebiotics and probiotics in conferring health benefits in economically important crabs. *Fish and Shellfish Immunology Reports*, 3: 1–8 (100041). doi: 10.1016/j.fsirep.2021.100041
- Wang W., Sun J., Liu C. and Xue Z. 2017.** Application of immune-stimulants in aquaculture: Current knowledge and future perspectives. *Aquaculture Research*, 48(1): 1–23. doi: 10.1111/are.13161
- Wee W., Abdul Hamid N.K., Mat K., Raja Khalif R.I.A., Rusli N.D., Rahman M.M., Kabir M.A. and Seong Wei L. 2024.** The effects of mixed prebiotics in aquaculture: A review.

- Aquaculture and Fisheries, 9: 28–34. doi: 10.1016/j.aaf.2022.02.005
- Wu Y., Liu W.B., Li H.Y., Xu W.N., He J.X., Li X.F. and Jiang G.Z. 2013.** Effects of dietary supplementation of fructooligo saccharide on growth performance, body composition, intestinal enzymes activities and histology of blunt snout bream (*Megalobrama blycephala*) fingerlings. Aquaculture Nutrition, 19(6): 886–894. doi: 10.1111/anu.12033
- Yamamoto F.Y., Castillo S., De Cruz C.R., Chen K., Hume M.E. and Gatlin III D.M. 2020.** Synergistic effects of the b-1,3 glucan paramylon and vitamin c on immunological responses of hybrid striped bass (*Morone chrysops*× *M. saxatilis*) were pronounced in vitro but more moderate in vivo. Aquaculture, 526: 1–9 (735394). doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735394
- Yano T. 1996.** The nonspecific immune system: Humoral defense. Fish Physiology, 15(3): 105–157. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60273-3
- Ye J.M., Kaattari I.M., Ma C.Y. and Kaattari S. 2013.** The teleost humoral immune response. Fish and Shellfish Immunology, 35: 1719–1728. doi: 10.1016/j.fsi.2013.10.015
- Yilmaz S., Yilmaz E., Dawood M.A., Ringo E., Ahmadifar E. and Abdel-Latif H.M.R. 2022.** Probiotics, prebiotics, and synbiotics used to control vibriosis in fish: A review. Aquaculture, 547: 737514. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737514
- Zhang S., Wang Z. and Wang H. 2013.** Maternal immunity in fish. Developmental and Comparative Immunology, 39: 72–78. doi: 10.1016/j.dci.2012.02.009
- Zhang Y., Guo M., Li N., Dong Z., Cai L., Wu B., Xie J., Liu L., Ren L. and Shi B. 2022.** New insights into bglucan- enhanced immunity in largemouth bass *Micropterus salmoides* by transcriptome and intestinal microbial composition. Frontiers in Immunology, 13: 1–15 (1086103). doi: 10.3389/fimmu.2022.1086103
- Zhou Q.C., Buentello J.A. and Gatlin III D.M. 2010.** Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture, 309(14): 253–257. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.09.003



Research Paper

The effect of beta-glucan prebiotic derived from yeast on some growth and immunity factors of Asian sea bass (*Lates calcarifer*)

Saba Hosseini¹, Jamshid Fooladi^{2*}, Mehdi Soltani³, Dara Bagheri⁴,
Esfandeyar Najafi Hajivar⁵

DOI: 10.22124/japb.2024.26680.1529

Received: February 2024

Accepted: March 2024

Abstract

The increase in populating, the demand for aquaculture and the limitation of water resources have caused compressed breeding in the aquaculture industry, which is directly related to the spread of the disease and the use of antibiotics for treatment. Considering the side effects of antibiotics, the use of immune stimulants that increases resistance to environmental stresses and infectious diseases is very important in this industry. The present study was conducted with the aim of investigating the effect of beta-glucan on some growth and immunity parameters on Asian sea bass. For this purpose, 25g Asian sea bass were examined in three treatments (with two replications). The first treatment was fed only with basic diet prepared by Faradaneh company (control). The second treatment was fed with basic diet and 250 microliters of injectable glucan, (twice during the breeding period) (treatment 1) and the third group was fed with basic diet with oral prebiotic containing 15% beta-glucan (with final concentration of 1mg/g beta-glucan) (treatment 2). The use of prebiotic supplement containing beta-glucan (treatment 2) had a positive and significant effect on growth performance and immune factors of fish ($P<0.05$). Indicating its capability to induce non-specific immune defense in the fish. Treatment 2 showed the best results in terms of final weight (82.43g), specific growth rate (1.96%/day), weight gain percentage (224.55%), lysosome activity (39.5 μ g/mL), complement activity (128.8 μ g/mL), total immunoglobulin (16.55mg/mL) and immunoglobulin M (4.96mg/mL) ($P<0.05$). As a result, the use of oral prebiotic supplement containing beta-glucan in sea bass diet is recommended due to its positive effects on physiological parameters and improvement of this species immunity.

Key words: Asian Sea Bass, Beta-glucan, Immunity, Lysosome, Complement.

1- Ph.D. Student in Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

2- Associate Professor in Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

3- Professor in Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

4- Associate Professor in Department of Fisheries, Faculty of Nano and Bio Science and Technology, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.

5- Ph.D. in Fisheries, Research and Development Unit, Faradaneh Aquatic Feed Producer, Shahrekord, Iran.

*Corresponding Author: jfooladi@alzahra.ac.ir