



## اثرات حفاظتی بکارگیری سین‌بیوتیک بر پاسخ ایمنی و استرس اکسیداتیو ماهی تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) در برابر استرس شوری

گل‌بهار زیتونلی<sup>۱</sup>، هادی رئیسی\*<sup>۲</sup>، حسین آدینه<sup>۳</sup>، محمد هرسیج<sup>۳</sup> و محمد فرهنگی<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران

۲. استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران

۳. دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران

### چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثرات حفاظتی سین‌بیوتیک (*Bacillus subtilis* IS02) و اینولین در جیره غذایی بر عملکرد فیزیولوژیکی ماهی تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از استرس شوری اجرا شد. آزمایش در دو مرحله اجرا شد؛ مرحله اول که ماهیان در ۱۲ مخزن جایابی شدند (۴ تیمار و هر یک با ۳ تکرار) و به مدت ۸ هفته با سطوح مختلف سین‌بیوتیک (مخلوط  $10^{11} \times 2/5$  کلنی/گرم پروبیوتیک باسیلوس سابتلیس و مقادیر ۲/۵، ۵ و ۱۰ گرم پری‌بیوتیک اینولین) در تیمارهای بترتیب (S1S، S2S و S3S) و تیمار شاهد بدون سین‌بیوتیک (S0S) تغذیه شدند. مرحله دوم همه ماهیان تذیه شده با سطوح مختلف سین‌بیوتیک تحت استرس شوری با غلظت ۱۵ گرم در لیتر به مدت ۲۱ روز قرار گرفتند. نمونه‌برداری از پلاسمای خون ماهی تیلایپای در پایان استرس شوری برای سنجش فاکتورهای ایمنی، شاخص‌های استرس و آنتی‌اکسیدانی انجام شد. نتایج نشان داد که فعالیت لیزوزیم و کمپلمان ۵۰ پلاسمای خون در تیمارهای S3S و S2S به طور معنی‌داری بیشتر از S0S بود. ایمونوگلوبولین کل در تیمار S3S ( $1/45 \pm 27/37$  میلی‌گرم/میلی‌لیتر) در مقایسه با تیمار شاهد ( $1/15 \pm 19/52$  میلی‌گرم/میلی‌لیتر) افزایش معنی‌داری داشت. شاخص‌های استرس (کورتیزول، گلوکز، ALT و AST) در تیمار شاهد نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار داشت. پس از استرس شوری، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز پلازما (SOD) افزایش در حالیکه آنزیم مالون دی‌آلدئید پلازما (MDA) در تیمار S3S کاهش معنی‌دار داشت. غلظت آنزیم کاتالاز بین تیمارهای آزمایشی تفاوت نداشت. بر اساس نتایج بدست آمده سین‌بیوتیک توانست اثرات حفاظتی در برابر استرس شوری نشان دهد بنابراین استفاده از مخلوط  $10^{11} \times 2/5$  کلنی/گرم باسیلوس سابتلیس و مقادیر ۵ و ۱۰ گرم اینولین (S2S و S3S) برای ماهی تیلایپای نیل توصیه می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** سین‌بیوتیک، شاخص‌های ایمنی خون، ماهی تیلایپای نیل، استرس شوری، استرس اکسیداتیو

### نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

### تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۶

پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۱

نویسنده مسئول مکاتبه:

هادی رئیسی، استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران

ایمیل:

[raeisi\\_hadi@yahoo.com](mailto:raeisi_hadi@yahoo.com)

### ۱ | مقدمه

طول دوره استرس، ماهیان از طریق آزادسازی گلوکز مقادیر انرژی مورد نیاز برای افزایش کارایی مغز، آبشش‌ها و دیگر اندام‌ها را تامین می‌کنند. این فرایند تا زمانیکه ماهی بتواند خود را با شرایط تطبیق دهد نیز ادامه خواهد داشت که این امر موجب آسیب‌های بیشتر به سیستم فیزیولوژیک می‌شود (Naserizadeh et al., 2013). شوری یکی از

در محیط زندگی آبی تغییر هر عامل زیستی می‌تواند منجر به بروز استرس شده و حیوان برای سازگاری با این شرایط دچار تغییرات فیزیولوژیکی می‌گردد از اینرو، استرس در محیط با تحریک و تولید هورمون‌های کورتیکواستروئیدی نظیر کورتیزول در بدن آبی اثرات خود را نشان می‌دهد (Chowdhury and Saikia, 2020).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ماهی تیلاپیا نیل تحت تنش شوری و رژیم غذایی حاوی سطوح مختلف ویتامین C (Caxico Vieira *et al.*, 2018)، بررسی کاهش استرس ناشی از شوری با افزودن پری‌بیوتیک اینولین با مقادیر (۰، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ درصد) در شوری ۱۶ گرم بر لیتر در ماهی تیلاپیای نیل (Zhou *et al.*, 2020)، بررسی عملکرد رشد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماهی تیلاپیای نیل در معرض آب شور با غلظت‌های ۰، ۱۰ و ۲۰ درصد (Dawood *et al.*, 2021)، بررسی تغییرات فیزیولوژیکی ایمنی و آنتی-اکسیدانی خون ماهی تیلاپیای نیل در ۳ گروه آب شیرین، آب با شوری کم حدود ۱۰ گرم در لیتر و آب با شوری بالا حدود ۱۵ گرم در لیتر (Mohamed *et al.*, 2021)، اختلالات عملکرد فیزیولوژیکی و پاسخ‌های تطبیقی در تیلاپیا نیل تحت تنش‌های مختلف شوری (Li *et al.*, 2024) اشاره کرد.

در مناطق گرمسیری ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) یکی از مهمترین گونه‌های تجاری برای تامین پروتئین محسوب می‌شود. با توجه به پایین بودن هزینه تولید این گونه در جهان بنابراین به عمومی‌ترین ماهی برای پرورش در دنیا تبدیل شده است. در سال ۲۰۲۰، تولید ماهی تیلاپیای نیل در صنعت آبی‌پروری به بیش از ۴/۴ میلیون تن (۹ درصد) رسید که آن را به سومین ماهی پر تولید بعد از کپور علفخوار و کپور نقره‌ای تبدیل کرد. این گونه در آبی‌پروری دریایی و ساحلی نیز با تولید ۱۰۷/۴ هزار تن (۱/۳ درصد) جایگاه سیزدهم فهرست پانزده گونه ماهی پر تولید دریایی را دارد (FAO, 2022). تولید جهانی آبی‌پروری این گونه سالانه ۸ درصد افزایش می‌یابد و درآمدزایی را برای پرورش دهندگان ماهی کوچک و بزرگ به ارمغان می‌آورد و به عنوان یک منبع پروتئین حیوانی حیاتی برای بسیاری از مصرف‌کنندگان عمل می‌کند (Prabu *et al.*, 2019). ماهی تیلاپیا به‌خاطر رشد سریع، پرورش آسان، و مقاومت به بیماری امکان پرورش متراکم و کاهش نیاز به تعویض آب را دارد. با این حال، کمبود آب شیرین چالش‌های بزرگی را برای آبی‌پروری مبتنی بر آب شیرین به همراه داشته است و توسعه رورش ماهی تیلاپیا در آب لب شور و آب شور به یک جایگزین حیاتی تبدیل شده است (Azevedo *et al.*, 2015). با توجه به اهمیت بهره‌برداری از آب‌های لب‌شور در صنعت آبی‌پروری بنابراین هدف از اجرای این پژوهش، بررسی تغییرات ایمنی

پارامترهای استرس‌زای زیست محیطی است که بر فیزیولوژی ماهی تاثیر می‌گذارد. بنابراین تطبیق‌پذیری با آب شور و حفظ هومئوستازی محیط داخلی بدن، مرحله‌ای حساس در حیات ماهیان است (Seale *et al.*, 2024)، که در نتیجه آن ترکیبات یونی، هورمون‌ها و ساختار بیوشیمیایی بدن دستخوش تغییرات عمده‌ای می‌گردند. استرس ناشی از تغییر شرایط زیستی منجر به تضعیف سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی می‌شود از اینرو افزایش کارایی سطوح دفاع آنتی‌اکسیدانی با استفاده از افزودن ترکیبات و محرک‌های ایمنی در جیره غذایی نقش موثری در افزایش توان فیزیولوژیکی آبی‌پروری دارد.

یکی از راهکارهای مقاوم‌سازی آبی‌پروری در برابر استرس‌های زیست محیطی، استفاده از مکمل‌های غذایی زیست‌پار همچون باکتری‌های پروبیوتیکی بویژه باسیلوس‌ها است (Nayak, 2021). از جمله ترکیبات پری‌بیوتیکی کاربردی در صنعت آبی‌پروری استفاده از مکمل اینولین است. اینولین به دلیل تاثیر مثبت آن بر سیستم ایمنی بدن و مقاومت در برابر استرس و بیماری‌ها یکی از رایج‌ترین پری-بیوتیک‌های مورد استفاده در پرورش ماهی تیلاپیا نیل است (Boonanuntanasarn *et al.*, 2018; Tiengtam *et al.*, 2024; Juárez *et al.*, 2015). اینولین توسط تعداد خاصی از باکتری‌های روده تخمیر می‌شود تا به‌طور انتخابی تعداد باکتری‌های مفید همچون پروبیوتیک‌ها را افزایش دهد یا اسیدهای چرب زنجیره کوتاه تولید کند که برای سلامت میزبان مفید است (Guerreiro *et al.*, 2018; Koh *et al.*, 2016). ترکیب پروبیوتیک و پری‌بیوتیک با یکدیگر سین‌بیوتیک اطلاق می‌شوند. سین‌بیوتیک‌ها اثرات سودمندی برای میزبان از طریق القاء مکمل‌های غذایی میکروبی زنده در دستگاه گوارش به واسطه تحریک انتخابی رشد و یا از طریق فعال کردن متابولیسم یک یا تعداد معدودی از باکتری‌های تقویت‌کننده سلامتی داشته، بنابراین منجر به بهبود سیستم ایمنی در نهایت سلامت میزبان می‌گردد (Hoseinifar *et al.*, 2020; Yilmaz *et al.*, 2022).

در ارتباط با تاثیر شوری بر عملکرد ایمنی و برخی فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی در ماهی تیلاپیای نیل مطالعاتی انجام شده که می‌توان تاثیر تنش شوری بر تغییرات سریع در کورتیزول پلاسما، اسمولالیت و تنفس در ماهی تیلاپیا (Kammerer *et al.*, 2010)، بیان ژن‌های مرتبط با

پروبیوتیک باسیلوس سابتلیس پودری (حسینی و همکاران، ۱۴۰۲) و مقادیر ۲/۵، ۵ و ۱۰ گرم پری‌بیوتیک اینولین (Cerezuela et al., 2008) بترتیب در تیمارهای S1S، S2S و S3S استفاده شد و تیمار شاهد بدون سین‌بیوتیک (S0S) بود (جدول ۱).

مرحله دوم (مواجهه ماهی تیلاپیا در برابر استرس شوری به مدت ۲۱ روز): در این مرحله همه ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف سین‌بیوتیک تحت استرس شوری با غلظت ۱۵ گرم در لیتر قرار گرفتند (Mohamed et al., 2021). بدین منظور، به هر یک از مخازن ۲ گرم در لیتر کلرید سدیم به تدریج در روز اضافه شد تا سطح شوری به ۱۵ گرم در لیتر برسد (Akinrotimi et al., 2012). پارامترهای کیفی آب مانند درجه حرارت آب، شوری، میزان اکسیژن محلول و پی‌اچ آب توسط دستگاه پورتابل (Hach, D40 model, USA) کیفیت سنج آب اندازه‌گیری شد. غلظت آمونیاک کل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر بر اساس استاندارد آزمایشگاه سنجش شد (APHA, 1998).

و آنتی‌اکسیدانی ماهی تیلاپیا تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل سین‌بیوتیک (ترکیب باسیلوس سابتلیس و مقادیر مختلف اینولین) در برابر استرس شوری بود.

## ۲ | مواد و روش‌ها

### طرح آزمایش

ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) از شهرستان شاهرود تهیه و به آزمایشگاه مهندسی آبزیان دانشگاه گنبد کاووس انتقال یافت. سین‌بیوتیک از پروبیوتیک *Bacillus subtilis* IS02 تهیه شده از شرکت تک ژن زیست تهیه که با سطوح مختلف پری‌بیوتیک اینولین که از شرکت بهبود شیمی هامون (فروتافیت هلند با ۹۹٪ درجه خلوص) تهیه شده بود نیز مورد استفاده قرار گرفت. ماهی تیلاپیا نیل در ۱۲ مخزن هر یک با حجم آبگیری ۶۰ لیتر جایابی شدند (۴ تیمار و هر یک با ۳ تکرار). آزمایش در دو مرحله اجرا شد؛ مرحله اول (تغذیه ماهی تیلاپیا با سین‌بیوتیک به مدت ۵۶ روز): بدین منظور از مخلوط  $10^{11} \times 2/5$  کلنی/گرم

جدول ۱- تیمارهای غذایی حاوی سین‌بیوتیک برای ماهی تیلاپیا نیل در شرایط نگهداری در محیط لب شور

تیمارهای آزمایشی	تغذیه با سین‌بیوتیک	
	پروبیوتیک (باسیلوس سابتلیس)	پری‌بیوتیک (اینولین)
S0S	-	-
S1S	$10^{11} \times 2/5$ کلنی/گرم	۲/۵ گرم
S2S	$10^{11} \times 2/5$ کلنی/گرم	۵ گرم
S3S	$10^{11} \times 2/5$ کلنی/گرم	۱۰ گرم

مقدار ۲۵ میکرولیتر از پلاسما به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل الایزا افزوده شد. سپس مقدار ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus Lysodeikticus*) در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر در ۰/۵ مولار بافر فسفات با پی‌اچ ۶/۲ اضافه شد. با استفاده از دستگاه الایزاریدر Bio-Tek آمریکا جذب نوری اولیه در طول موج ۵۳۰ nm قرائت و پس از یکساعت نگهداری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت لایزوزیم بر اساس کاهش جذب (۰/۰۱ در دقیقه) تعیین شد. میزان ایمنوگلوبولین توسط کیت به روش کدورت‌سنجی انجام شد (Siwicki, 1993). بدین منظور، ۰/۱ میلی‌لیتر از سرم نمونه با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۱۲ درصد

### نمونه‌برداری

پس از استرس شوری ماهیان به مدت ۲۴ قطع غذا و با عصاره گل میخک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شدند (Adineh et al., 2021). از هر تکرار تعداد ۳ قطعه ماهی بطور تصادفی صید و خون با سرنگ هیپارینه از ساقه دمی خارج گردید. نمونه خون هر تکرار در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ قرار داده و پلاسماي خون تا زمان سنجش فاکتورهای ایمنی، شاخص‌های استرس و آنتی‌اکسیدانی در دمای ۸۰- آزمایشگاه نگهداری شد.

### سنجش فاکتورهای ایمنی

برای تعیین میزان فعالیت لایزوزیم پلاسماي خون از روش ارائه شده توسط (ELLIS (۱۹۹۰) استفاده شد. بدین منظور

طبق دستورالعمل شرکت در طول موج ۵۳۵ نانومتر سنجش شد (Baluchnejadmojarad *et al.*, 2010). برای سنجش آنزیم کاتالاز (CAT)، پلاسماي خون نمونه‌ها با محلول پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق در مجاورت هم قرار گرفتند. سپس از محلول آمونیوم مولیبدات جهت توقف فرآیند اکسیداسیون جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده و سنجش با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر انجام شد (Goth, 1991).

#### تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا داده‌ها وارد محیط Excel و سپس نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ولیک در محیط SPSS بررسی شد. برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آنالیز واریانس یک-طرفه (One-Way ANOVA) و بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری از آزمون چند دامنه دانکن استفاده شد ( $P < 0.05$ ).

### ۳ | نتایج

اثرات استرس شوری بر پاسخ ایمنی خون ماهی تیلاپیا تغذیه شده با سین‌بیوتیک در جدول ۲ آورده شده است. ماهی تیلاپیا پس از ۵۶ روز تغذیه با سطوح مختلف سین-بیوتیک تحت استرس شوری با غلظت ۱۵ گرم در لیتر به مدت ۲۱ روز قرار گرفت. نتایج بدست آمده از پاسخ ایمنی پلاسماي خون ماهی نشان داد که غلظت ایمونوگلوبولین کل بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت بطوریکه بیشترین و کمترین آن بترتیب در تیمارهای S3S و S0S بدست آمد ( $P < 0.05$ ). شوری محیط نگهداری ماهی تیلاپیا توانست باعث افزایش معنی‌دار آماری مقادیر غلظت کمپلمان ۵۰ و فعالیت لیزوزیم پلاسماي خون در تیمارهای تغذیه با سین‌بیوتیک (S2S و S3S) شود ( $P < 0.05$ ).

مخلوط و در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت انکوباته شد. نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتیگراد با دور ۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان ایمونوگلوبولین کل سوسپانسیون از تفریق غلظت پروتئین در نمونه اولیه و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) محاسبه شد. فعالیت مکمل alternative (ACH<sub>50</sub>) به روش Sunyer و Tort (۱۹۹۵) تعیین شد، بدین منظور فعالیت مکمل بر اساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش اندازه‌گیری گردید. گلبول‌های قرمز خرگوش سه مرتبه با بافر اتیلن گلیکول تترا استیک اسید-منیزیم-ژلاتین ورنال شسته شده و تعداد سلول‌های آن به کمک لام نئوبار در هر میلی لیتر بافر ۱۰<sup>۸</sup> × ۲ سلول در میلی لیتر تنظیم شد. نمونه‌های آماده شده در ۱۶۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و جذب نوری محلول رویی در طول موج ۴۱۴ نانومتر قرائت گردید.

#### سنجش شاخص‌های استرس

سطوح کورتیزول پلاسما با استفاده از کیت آزمایشگاهی به روش الیزا تعیین شد (Hoseini *et al.*, 2018). میزان گلوکز پلاسما با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون، کرج، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و به روش رنگ‌سنجی تعیین گردید. فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) پلاسما با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون (کرج، ایران) تعیین شدند. سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

برای سنجش آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز (SOD)، ابتدا در حضور هیدروژن پراکساید (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) فرآیند اتواکسیداسیون پیروگالول بررسی شد. در طی این فرآیند از سطح آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز موجود در پلاسما کاسته شد، سپس سنجش با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر انجام شد (Marklund and Marklund, 1974). فعالیت مالانون دی آلدئید (MDA)

جدول ۲- پاسخ ایمنی پلاسماي خون ماهی تیلاپیا تغذیه شده با سین‌بیوتیک در برابر استرس شوری به مدت ۲۱ روز

استرس شوری	ایمونوگلوبولین کل (میلی گرم/میلی لیتر)	کمپلمان ۵۰ (واحد/میلی لیتر)	فعالیت لیزوزیم (واحد/میلی - لیتر)
S0S	۱۹/۵۲ ± ۱/۱۵c	۷۹/۰۶ ± ۲/۷۹b	۲۷/۳۲ ± ۲/۰۹b
S1S	۲۳/۵۰ ± ۰/۹۱b	۸۲/۷۸ ± ۳/۷۳b	۲۶/۰۵ ± ۱/۲۱b
S2S	۲۳/۳۰ ± ۰/۹۵b	۱۰۰/۲۲ ± ۵/۷۱a	۳۲/۳۷ ± ۱/۱۵a
S3S	۲۷/۳۷ ± ۱/۴۵a	۹۶/۰۰ ± ۳/۱۳a	۳۳/۶۳ ± ۲/۲۲a

وجود حروف غیر همسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $P < 0.05$ ).

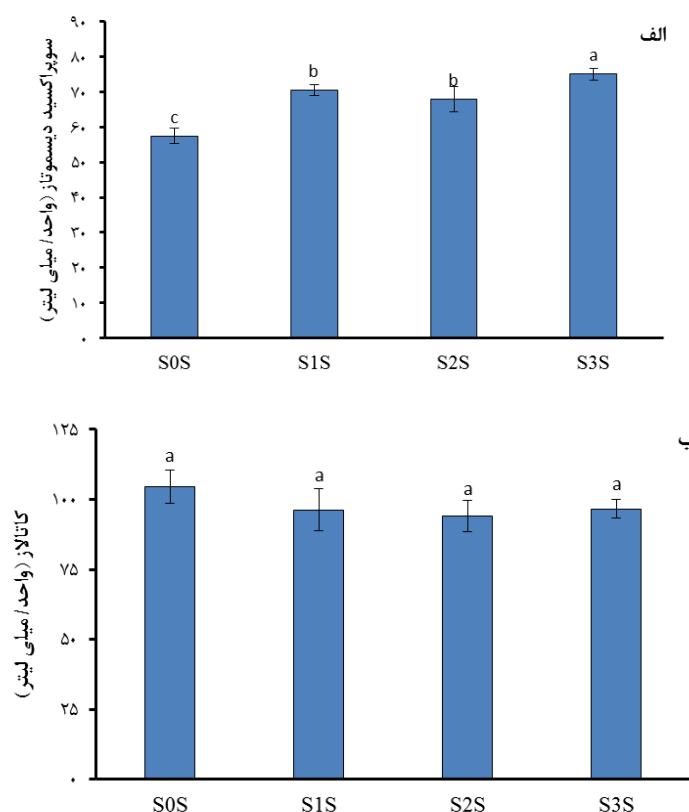
بدست آمد ( $P < 0/05$ ). با افزایش کورتیزول در تیمار شاهد غلظت گلوکز نیز در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). غلظت آنزیم‌های کبدی آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) پلاسمای خون در تیمار شاهد در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ( $P < 0/05$ ).

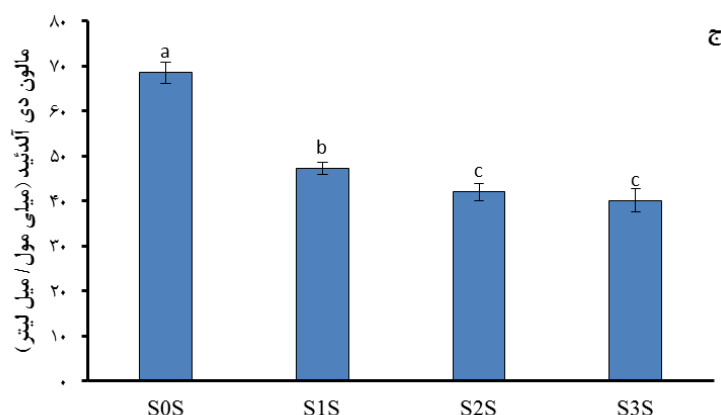
اثرات استرس شوری با غلظت ۱۵ گرم در لیتر بر تغییرات شاخص‌های استرس خون ماهی تیلاپیا تغذیه شده با سطوح مختلف سین‌بیوتیک در جدول ۳ آورده شده است. غلظت کورتیزول خون افزایش معنی‌داری در تیمار شاهد بدون سین‌بیوتیک (S0S) داشت و کمترین مقدار آن در تیمار تغذیه شده با  $10^{11} \times 2/5$  کلنی/گرم پروبیوتیک باسیلوس سابتلیس و ۵ گرم پری‌بیوتیک اینولین در تیمار (S2S)

جدول ۳- شاخص‌های استرس پلاسمای خون ماهی تیلاپیا تغذیه شده با سین‌بیوتیک در برابر استرس شوری

S3S	S2S	S1S	S0S	استرس شوری
79/81 ± 3/45bc	74/67 ± 2/87c	87/68 ± 3/94ab	90/49 ± 6/19a	کورتیزول (نانوگرم/میلی‌لیتر)
99/57 ± 6/97d	114/12 ± 4/75c	135/43 ± 3/40b	144/96 ± 1/89a	گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)
198/05 ± 5/04b	203/34 ± 6/58ab	201/59 ± 7/28b	213/19 ± 3/73a	AST (واحد/لیتر)
48/74 ± 1/23c	47/06 ± 1/51c	52/99 ± 1/02b	62/10 ± 1/01a	ALT (واحد/لیتر)

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $P < 0/05$ ).





شکل ۱- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (الف)، کاتالاز (ب) و مالون دی‌آلدئید (ج) پلاسماي خون ماهی تیلایا تغذیه شده با سین‌بیوتیک در برابر استرس شوری. وجود حروف غیرهمسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ( $p < 0.05$ ).

بیماری‌زا برای اتصال روی گیرنده‌ها در سیستم روده‌ای منجر به بهبود عملکرد فیزیولوژیکی آبیان می‌شوند (Hoseinifar *et al.*, 2020; Amenyogbe *et al.*, 2024). در تحقیق حاضر اثرات استرس شوری با غلظت ۱۵ گرم در لیتر بر پاسخ ایمنی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسماي خون ماهی تیلایا تغذیه شده با سین‌بیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده از تغییرات شاخص‌های ایمنی (ایمونوگلوبولین کل، فعالیت لیزوزیم و کمپلمان ۵۰) ماهی تیلایای نیل نشان داد که ماهیان تغذیه شده با مخلوط  $10^{11} \times 2/5$  کلنی/گرم پروبیوتیک باسیلوس سابتلیس و مقادیر ۵ و ۱۰ گرم پری‌بیوتیک اینولین توانستند در برابر استرس شوری وضعیت بهتری داشتند. در ارتباط با افزایش مقاومت فیزیولوژیکی ماهی تیلایا در برابر استرس شوری تحقیقات متعددی در خصوص افزودن انواع مکمل‌ها در جیره غذایی منتشر شده است. در این ارتباط گزارش شده است بکارگیری مقادیر ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم سین‌بیوتیک تجاری Synbiotic® Lactic Dry (ترکیبی از مخمر ساکارومايسس سرویزیه، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، استرپتوکوکوس فاسیوم، باسیلوس سوبتیلیس، مانان الیگوساکارید و گلوکان) در یک کیلوگرم جیره غذایی ماهی تیلایای نیل پرورش‌یافته در آب لب‌شور چاه زیرزمینی با شوری حدود ۱۰ گرم در لیتر منجر به بهبود و افزایش فعالیت لیزوزیم سرم خون شد (Magouz *et al.*, 2023). بر اساس نتایج حاصل از پژوهش، گزارش شده است که افزودن مکمل سین‌بیوتیک و پودر بیوفلوک به جیره غذایی ماهی تیلایا نیل یک

اثرات استرس شوری با غلظت ۱۵ گرم در لیتر بر تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون ماهی تیلایا تغذیه شده با سین‌بیوتیک در شکل ۱ آورده شده است. غلظت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت بطوریکه بیشترین و کمترین آن بترتیب در تیمارهای S3S و SOS بدست آمد ( $P < 0.05$ ). غلظت آنزیم کاتالاز بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری نداشت ( $P > 0.05$ ). آنزیم مالون دی‌آلدئید در تیمار شاهد در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌دار آماری داشت ( $P < 0.05$ ).

#### ۴ | بحث و نتیجه‌گیری

معمولاً همه گونه‌های ماهی تیلایا آب لب‌شور را تحمل می‌کنند که در بین گونه‌های معروف پرورشی، ماهی تیلایای نیل به‌عنوان گونه آب شیرین طبقه‌بندی شده (de Azevedo *et al.*, 2015) و کمترین دامنه تحمل را نسبت به شوری دارد اما تا شوری ۱۵ گرم در لیتر را به خوبی تحمل می‌کند (Durigon *et al.*, 2020) و در کشورهای که در با کمبود آب شیرین دچار هستند برای پرورش مناسب می‌باشد. از راهکارهای افزایش توان فیزیولوژیکی آبیان در برابر استرس‌های محیطی همچون شوری بکارگیری مخلوط ترکیبات پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به‌عنوان سین‌بیوتیک می‌باشد. سین‌بیوتیک‌ها از طریق فراهم کردن سوبسترا برای تخمیر باکتری‌ها، تولید مواد آنتی‌باکتریال، مداخله در سیستم ایمنی و رقابت با عوامل

است (Van der Oost *et al.*, 2003). آنزیم کاتالاز از ریبوزوم‌های آزاد درون سیتوزول ساخته می‌شود و آب اکسیژنه را به اکسیژن و آب تجزیه می‌کند. آنزیم کاتالاز در شرایط آزمایشی نتایج متفاوتی دارد بطوریکه در برخی مطالعات کاهش و در برخی دیگر افزایش را نشان می‌دهد اما بطور کلی افزایش فعالیت این آنزیم نشان‌دهنده پاسخ آنتی‌اکسیدانی در مقابله با آسیب استرس اکسیداتیو می‌باشد (Cao *et al.*, 2010). اگرچه در پژوهش حاضر آنزیم کاتالاز بین تیمارهای آزمایشی در معرض آب لب‌شور اختلاف آماری معنی‌داری نداشت، اما غلظت آن در تیمار شاهد بیشتر از تیمارهای آزمایشی حاوی سین بیوتیک بود. آنزیم مالود دی‌آلدئید (MDA) محصول نهایی پراکسیداسیون چربی است که به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی فرآیندهای سمی ناشی از رادیکال‌های آزاد بکار گرفته می‌شود. کاهش آنزیم مالود دی‌آلدئید (MDA) در خون نشان‌دهنده فعال شدن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و غلبه بر پراکسیداسیون لیپید می‌باشد (Rizzo, 2024) که بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق سطح پایین این آنزیم در تیمار S2S و S3S منعکس‌کننده اثرات محافظتی سین بیوتیک در برابر استرس آب لب‌شور برای ماهی تیلپای نیل می‌باشد. در این راستا گزارش شده است بکارگیری ۰/۴ درصد اینولین در جیره غذایی ماهی تیلپای باعث کاهش استرس اکسیداتیو در شوری ۱۶ گرم در لیتر است بنابراین دستکاری رژیم غذایی با استفاده از اینولین یک استراتژی امیدوارکننده برای بهبود سلامت ماهی در شرایط تنش شوری می‌باشد (Zhou *et al.*, 2020). علاوه بر این تحقیقات نشان داده است که، استفاده از پروبیوتیک باعث افزایش پاسخ ایمنی و مقاومت در برابر عوامل استرس‌زای زیستی و غیرزیستی می‌شود (Yilmaz *et al.*, 2022)، که در بین پروبیوتیک‌ها سویه باسیلوس سوبتیلیس بر روند تولید و پاسخ ایمنی و آنتی‌اکسیدانی ماهی تیلپای نیل عملکرد مثبت داشته است (El-Saadony *et al.*, 2021).

همانطور که در تحقیق ما پروبیوتیک *Bacillus subtilis* IS02 توانست اثرات مثبتی بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی در برای استرس شوری نشان دهد در همین راستا نیز گزارش شده است استفاده از پروبیوتیک *Bacillus subtilis* IS02 در جیره ماهی کپور دریایی در مواجهه با تنش اسمزی آب دریای خزر با شوری ۱۳ گرم در لیتر باعث

استراتژی مؤثر است که می‌تواند اثرات نامطلوب احتمالی شوری را کاهش دهد (Hersi *et al.*, 2023).

کورتیزول به‌عنوان شاخص‌های مناسب فیزیولوژیکی برای تشخیص وجود استرس در محیط پرورش حائز اهمیت است (Kühlwein *et al.*, 2014). در تحقیق حاضر، مقادیر بدست آمده از کورتیزول و گلوکز نشان داد که استفاده از سین بیوتیک در جیره غذایی ماهی تیلپای نیل می‌تواند از استرس ناشی از شوری بکاهد و وعیت فیزیولوژیکی ماهی را بهبود بخشد. تاثیر سطوح مختلف شوری (شاهد ۰، شوری پایین برابر ۱۰ و شوری بالا برابر ۱۵ گرم در لیتر) بر تغییرات غلظت کورتیزول سرم خون نشان داد که بعد از ۵ و ۱۰ روز ماهی تیلپای دچار تغییرات فیزیولوژیکی در برابر شوری و تخریب بافتی شد (Mohamed *et al.*, 2021). آنزیم‌های کبدی از مهمترین آنزیم‌های مورد بررسی وضعیت سلامت آبزی می‌باشد که می‌تواند تحت تاثیر نوع تغذیه، شرایط زیستی و استرس تغییر نماید (Dawood *et al.*, 2021)، در مطالعه حاضر کاهش غلظت آنزیم‌های کبدی در تیمارهای تغذیه با سین بیوتیک بیانگر اثرات حفاظتی سین بیوتیک در برابر استرس شوری می‌باشد. کاهش سطح فعالیت این آنزیم‌ها در پلاسما خون ماهیان تغذیه شده با ترکیبات حاوی پروبیوتیک و پری‌بیوتیک ممکن است بیانگر شرایط مناسب تغذیه و عملکرد خوب بافت کبد باشد (Hoseinifar *et al.*, 2020).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین خط دفاعی علیه مولکول‌های واکنش‌پذیر و رادیکال‌های آزاد (ROS) هستند که از مولکول اکسیژن مشتق شده است. اکسیژن‌های فعال در سلول‌های سالم و سلول‌های تحت استرس تولید می‌شود و تنفس میتوکندریایی یکی از دلایل اصلی تولید رادیکال آزاد هستند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با تبدیل O<sub>2</sub> به H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> می‌تواند سلول‌ها را از آسیب ناشی از ROS محافظت نماید (Mishra *et al.*, 2006). در مطالعه حاضر ماهیان در همه تیمارهای آزمایشی تحت استرس آب لب‌شور قرار گرفتند، بیشترین مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار تغذیه شده با سین بیوتیک (S3S) و کمترین آن در تیمار شاهد بدون مکمل سین بیوتیک بدست آمد از اینرو کاهش در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان شاخصی برای از بین رفتن رادیکال‌های آزاد استفاده می‌شود که نشان می‌دهد سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بوسیله ROS متلاشی شده

مخلوط  $10^{11} \times 2/5$  کلنی/اگرم باسیلوس سابتلیس و مقادیر ۵ و ۱۰ گرم اینولین (S2S و S3S) در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل پیشنهاد می‌گردد. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان اظهار داشت که سین‌بیوتیک فوق‌الذکر اثر حفاظتی در برابر استرس بالای شوری برای این گونه ماهی دارد.

افزایش فعالیت گلوکوتائین پراکسیداز و کاهش غلظت مالون دی آلدئید گردد (Hoseini et al., 2023).

### نتیجه‌گیری کلی

بطور کلی به‌منظور بهبود سیستم ایمنی ماهی تیلاپیا در برابر استرس شوری استفاده از مکمل سین‌بیوتیک حاوی

## REFERENCES

- Adineh, H., Naderi, M., Yousefi, M., Khademi Hamidi, M., Ahmadifar, E., Hoseini, S.M. 2021. Dietary licorice (*Glycyrrhiza glabra*) improves growth, lipid metabolism, antioxidant and immune responses, and resistance to crowding stress in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Nutrition*, 27(2): 417-426.
- Akinrotimi, O.A., Agokei, E. O., Aranyo, A.A. 2012. Changes in blood parameters of *Tilapia guineensis* exposed to different salinity levels. *Journal of Environmental Engineering and Technology*, 1(2): 4-12.
- Amenyogbe, E., Droepenu, E.K., Ayisi, C. L., Boamah, G.A., Duker, R.Q., Abarike, E.D., Huang, J.S. 2024. Impact of probiotics, prebiotics, and synbiotics on digestive enzymes, oxidative stress, and antioxidant defense in fish farming: current insights and future perspectives. *Frontiers in Marine Science*, 11: 1368436.
- American Public Health Association (APHA). 1998. In: Clescert, L., Greenberg, A., Eaton, A. (Eds.), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20<sup>th</sup> edition. Washington, USA.
- Azevedo, R., Oliveira, K., Flores-Lopes, F., Teixeira-Lanna, E., S.T., Braga, L. 2015. Responses of Nile tilapia to different levels of water salinity. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43: 828–835.
- Baluchnejadmojarad, T., Roghani, M., and Mafakheri, M. 2010. Neuroprotective effect of silymarin in 6-hydroxydopamine hemiparkinsonian rat: involvement of estrogen receptors and oxidative stress. *Neuroscience letters*. 480(3): 206-210.
- Boonanuntanasarn, S., Tiengtam, N., Pitaksong, T., Piromyou, P., Teaumroong, N. 2018. Effects of dietary inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) on intestinal microbiota community and morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 24(2): 712-722.
- Cao, L., Huang, W., Liu, J., Yin, X., Dou, S. 2010. Accumulation and oxidative stress biomarkers in Japanese flounder larvae and juveniles under chronic cadmium exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 151(3): 386-392.
- Caxico Vieira, C.A. S., Vieira, J.S., Bastos, M.S., Zancanela, V., Barbosa, L.T., Gasparino, E., Del Vesco, A.P. 2018. Expression of genes related to antioxidant activity in Nile tilapia kept under salinity stress and fed diets containing different levels of vitamin C. *Journal of toxicology and environmental health, part A*, 81(1-3): 20-30.
- Dawood, M. A., Noreldin, A. E., Sewilam, H. 2021. Long term salinity disrupts the hepatic function, intestinal health, and gills antioxidative status in Nile tilapia stressed with hypoxia. *Ecotoxicology and environmental safety*, 220: 112412.
- de Azevedo, R.V., de Oliveira, K.F., Flores-Lopes, F., Teixeira-Lanna, E.A., Takishita, S.S., Tavares-Braga, L.G. 2015. Responses of Nile tilapia to different levels of water salinity. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 43, 828–835
- Durigon, E.G., Lazzari, R., Uczay, J., Lopes, D.Ld.A., Jeronimo, G.T., Sgnaulin, T., Emerenciano, M.G.C. 2020. Biofloc technology (BFT): adjusting the levels of digestible protein and digestible energy in diets of Nile tilapia juveniles raised in brackish water. *Aquaculture and Fisheries*. 5: 42–51.
- Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel, publication. pp. 101-103. W.B. (eds.).

- Techniques in Fish Immunology. Fair Haven, NJ, USA: SOS.
- El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Patra, A. K., Kar, I., Tiwari, R., Dawood, M. A., Abdel-Latif, H. M. 2021. The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. *Fish & shellfish immunology*, 117: 36-52.
- FAO, 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture, 2021. Sustainability in action., Rome.
- Goth, L. 1991. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*. 196(2-3): 143-151.
- Guerreiro, I., Oliva- Teles, A., Enes, P. 2018. Prebiotics as functional ingredients: focus on Mediterranean fish aquaculture. *Reviews in aquaculture*, 10(4): 800-832.
- Hersi, M. A., Genc, E., Pipilos, A., Keskin, E. 2023. Effects of dietary synbiotics and biofloc meal on the growth, tissue histomorphology, whole-body composition and intestinal microbiota profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured at different salinities. *Aquaculture*, 570: 739391.
- Hoseini, S.M., Hoseinifar, S. H., Doan, H.V. 2018. Effect of dietary eucalyptol on stress markers, enzyme activities and immune indicators in serum and haematological characteristics of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to toxic concentration of ambient copper. *Aquaculture Research*, 49(9): 3045-3054.
- Hoseinifar, S. H., Yousefi, S., Van Doan, H., Ashouri, G., Gioacchini, G., Maradonna, F., Carnevali, O. 2020. Oxidative stress and antioxidant defense in fish: the implications of probiotic, prebiotic, and synbiotics. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 29(2): 198-217.
- Hoseinifar, S.H., Sun, Y.Z., Wang, A., Zhou, Z. 2018. Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives. *Frontiers in microbiology*, 9: 2429.
- Juárez, O.E., Galindo-Sánchez, C.E., la Cruz, F.L.D., Enciso, S., López-Landavery, E.A., Muñoz, C., Lazo, J.P. 2024. Physiological and transcriptomic effects of formulated diets including the prebiotics inulin,  $\beta$ -glucan, and chitosan on juveniles of *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture International*, 32(1): 61-85.
- Kammerer, B.D., Cech Jr, J.J., Kültz, D. 2010. Rapid changes in plasma cortisol, osmolality, and respiration in response to salinity stress in tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 157(3): 260-265.
- Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Bäckhed, F. 2016. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell*, 165(6): 1332-1345.
- Kühlwein, H., Merrifield, D.L., Rawling, M.D., Foey, A.D., Davies, S.J. 2014. Effects of dietary  $\beta$ - (1, 3)(1, 6)- D- glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and haemato-immunological profile of mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 98(2): 279-289.
- Li, P., Li, T., Xing, S., Liu, L., Li, Z.H. 2024. Physiological Function Disturbances and Adaptive Responses in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Under Different Salinity Stresses. *Fishes*, 9(12): 498.
- Magouz, F. I., Radwan, I. A., Soltan, H. O., El-Keredy, A. 2023. Synbiotic Lactic Dry enhanced the growth performance, growth-related genes, intestinal health, and immunity of Nile tilapia reared in inland brackish groundwater. *Annals of Animal Science*, 23(2): 495-504.
- Marklund, S., and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxyde anion radical in the auto oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxyde dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47: 469-474.
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Kumar, R., Seth, C.S., Gupta, D.K. 2006. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere*, 65(6): 1027-1039.
- Mohamed, N. A., Saad, M. F., Shukry, M., El-Keredy, A. M., Nasif, O., Van Doan, H., Dawood, M. A. 2021. Physiological and ion changes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under the effect of salinity stress. *Aquaculture reports*, 19: 100567.

- Naserizadeh, M., Nematollahi, M.A., Hosseini, S.V. 2013. The relationship between water quality parameters and response to density stress in Pacu fish (*Piaractus brachypomus*). International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 4(6): 1518-1523.
- Prabu, E., Rajagopalsamy, C.B.T., Ahilan, B., Jeevagan, I.J.M.A., Renuhadevi, M.J.A.R. 2019. Tilapia—an excellent candidate species for world aquaculture: a review. Annual Research & Review in Biology, 31(3): 1-14.
- Rizzo, M. 2024. Measurement of malondialdehyde as a biomarker of lipid oxidation in fish. American Journal of Analytical Chemistry, 15(9): 303-332.
- Siwicki, A.I. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and monocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. Fish Diseases Diagnosis and Prevention Methods.
- Sunyer, J.O., Tort, L. 1995. Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are affected by the alternative complement pathway. Veterinary Immunology and Immunopathology, 45: 333-345.
- Tientgam, N., Khempaka, S., Paengkoum, P., Boonanuntanasarn, S. 2015. Effects of inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) as prebiotic ingredients in the diet of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Animal Feed Science and Technology, 207: 120-129.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environmental toxicology and pharmacology, 13(2): 57-149.
- Yilmaz, S., Yilmaz, E., Dawood, M.A., Ringø, E., Ahmadifar, E., Abdel-Latif, H.M. 2022. Probiotics, prebiotics, and synbiotics used to control vibriosis in fish: A review. Aquaculture, 547: 737514.
- Zhou, L., Zhang, J., Yan, M., Tang, S., Wang, X., Qin, J.G., Li, E. 2020. Inulin alleviates hypersaline-stress induced oxidative stress and dysbiosis of gut microbiota in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 529: 735681.
- Cerezuela R, Cuesta A, Meseguer J, Esteban MA. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. Fish Shellfish Immunol 2008;24:663e8.
- Chowdhury, S., & Saikia, S. K. (2020). Oxidative stress in fish: a review. *Journal of Scientific Research*, 12(1), 145-160.
- Seale, A. P., Cao, K., Chang, R. J., Goodearly, T. R., Malintha, G. H. T., Merlo, R. S., ... & Reighard, J. R. (2024). Salinity tolerance of fishes: Experimental approaches and implications for aquaculture production. *Reviews in Aquaculture*, 16(3), 1351-1373.
- Nayak, S. K. (2021). Multifaceted applications of probiotic *Bacillus* species in aquaculture with special reference to *Bacillus subtilis*. *Reviews in Aquaculture*, 13(2), 862-906.
- Hoseini S M, Hoseinifar S H, Sharifpour I, Ghelichpour M, Aghaei Moghaddam A, Hafezieh M. The Effect of *Bacillus subtilis* (IS02) Supplementation in the Diet of Juvenile Wild Common Carp, *Cyprinus carpio*, on Survival, Antioxidant and Ionic Characteristics, and Tissue Histology under Sudden Salinity Stress. *JFST* 2023; 12 (3) :243-260

نحوه استناد به مقاله:

Zeitounli G., Raeisi H., Adineh H., Harsij H., Farhangi M. Protective effects of synbiotic application on immune response and oxidative stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against salinity stress. *Journal of Applied Ichthyological Research*, University of Gonbad Kavous. 2025, 13(2): 40-50.

۴۰



## Protective effects of synbiotic application on immune response and oxidative stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against salinity stress

Golbahar Zeitounli<sup>1</sup>, Hadi Raeisi<sup>\*2</sup>, Hossein Adineh<sup>3</sup>, Mohammad Harsij<sup>3</sup>, Mohammad Farhangi<sup>3</sup>

1. MSc. Student, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran.
3. Associate Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran.

<b>Type:</b> Original Research Paper	<b>Abstract</b> This study aimed to investigate the protective effects of synbiotic ( <i>Bacillus subtilis</i> IS02 and inulin) in the diet on the physiological performance of Nile tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) against oxidative stress caused by salinity stress. The experiment was conducted in two stages; in the first stage, fish were placed in 12 tanks (4 treatments, each with 3 replicates) and fed with different levels of synbiotic (mixture of $2.5 \times 10^{11}$ cfu/g of probiotic <i>Bacillus subtilis</i> and 2.5, 5 and 10 g of prebiotic inulin) for 8 weeks in treatments (S1S, S2S and S3S) and a control treatment without synbiotic (S0S), respectively. In the second stage, all fish fed with different levels of synbiotic were subjected to salinity stress at a concentration of 15 g/L for 21 days. Blood plasma samples of tilapia were collected at the end of salinity stress to measure immune factors, stress indices and antioxidant capacity. The results showed that the plasma lysozyme and complement activities were significantly higher in the S3S and S2S treatments than S0S. Total immunoglobulin significantly increased in the S3S treatment ( $27.37 \pm 1.45$ mg/ml) compared to the control treatment ( $19.52 \pm 1.15$ mg/ml). Stress indices (cortisol, glucose, AST and ALT) increased significantly in the control treatment compared to other experimental treatments. After salinity stress, plasma superoxide dismutase (SOD) increased, while plasma malondialdehyde (MDA) decreased significantly in S3S treatment. Catalase enzyme concentration did not differ between experimental treatments. Based on the results obtained, the synbiotic was able to show protective effects against salinity stress, therefore, the use of a mixture of $2.5 \times 10^{11}$ cfu/g of <i>Bacillus subtilis</i> and 5 and 10 g of inulin (S2S and S3S) is recommended for Nile tilapia.
<b>Paper History:</b> Received: 04-02-2025 Accepted: 01-03-2025	
<b>Corresponding author:</b> <b>Raeisi H.</b> Assistant Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran.  <b>Email:</b> <a href="mailto:raeisi_hadi@yahoo.com">raeisi_hadi@yahoo.com</a>	<b>Keywords:</b> Synbiotic, Blood immune indicators, Nile Tilapia, Salinity Stress, Oxidative Stress