



The Prebiotic Effects of *Lactobacillus plantarum*-Derived Exopolysaccharide on Intestinal Microbiota, Antioxidant System, and Digestive Enzyme Activity in Asian Sea Bass (*Lates calcarifer*)

Hesham Nezhadmatori^{1✉}, Laleh Roomiani^{2✉}

¹ Graduated from the Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

² Department of Fisheries, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

Received: ..., Reciver in revised from: ..., Accepted: ..., Available online: ...

doi: [10.22059/jvr.2025.400120.3534](https://doi.org/10.22059/jvr.2025.400120.3534)

J Vet Res, Volume 81, Number 3, 2026, ...

Abstract

BACKGROUND: Microbial exopolysaccharides (EPSs) are effective prebiotics produced by microorganisms with diverse functional groups. These compounds are biodegradable, safe, and cost-effective, and play a significant role in enhancing host health and immune function. EPSs are secreted outside the cell wall during bacterial growth and are composed of glycosidic linkages that form natural macromolecular polymers. Recent studies show that EPSs from LAB (Lactic Acid Bacteria) are effective stimulants for boosting fish development and defensive systems.

OBJECTIVES: This study aimed to evaluate the effects of exopolysaccharide derived from *Lactobacillus plantarum* (LP-EPS) on antioxidant enzyme activities, gut microbiota composition, and short-chain fatty acid (SCFAs) levels in Asian sea bass (*Lates calcarifer*).

METHODS: Fish were randomly divided into four groups: control (no EPS), treatment 1 (200 mg/kg EPS), treatment 2 (400 mg/kg EPS), and treatment 3 (800 mg/kg EPS). After 60 days of feeding, samples were collected to assess intestinal enzymatic activity, microbial composition, SCFAs content, immune indices, and antioxidant enzyme activities.

RESULTS: Dietary LP-EPS supplementation significantly enhanced intestinal immune and antioxidant enzyme activities compared with the control group. In addition, the abundance of pathogenic bacteria in the gut was reduced, and the microbial composition was positively modulated. Five microbial Phyla were identified: Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes, and Fusobacteria, with Firmicutes being the most dominant.

CONCLUSIONS: The findings suggest that LP-EPS can serve as an effective dietary supplement to improve growth performance, enhance immune responses, and modulate intestinal health in Asian seabass. Therefore, LP-EPS has promising potential as a functional feed additive in aquaculture for promoting fish health and productivity.

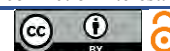
Keywords Asian sea bass, Exopolysaccharide, Intestinal microbiota, *Lactobacillus plantarum*, Prebiotic

Copyright © The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press

Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Laleh Roomiani, Tel/Fax: +9861-33329200 / +9861-33348421



How to cite this article:

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Exopolysaccharides (EPS) Compositions of *Lactobacillus plantarum* and Their Production Rate in 72 Hours and Molecular Weight (Mw), Molecular Mass (Mn), and Dispersion Index (PDI). Different lowercase letters in each row indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 2. Body Composition of Asian Sea Bass Fed Experimental Diets Containing Different Levels of Exopolysaccharide for 60 Days. Different lowercase letters in each row indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 3. Intestinal short-chain fatty acid (SCFAs) Concentrations ($\mu\text{g}/100\text{ g}$) of Young Asian Sea Bass Fed Diets Containing Different Levels of Exopolysaccharides (EPS) for 60 Days (mean $\pm$ SD, $n = 3$). Different lowercase letters in each row indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 4. Intestinal Biochemical Enzyme Activities of Asian Sea Bass Fed Diets Containing Different Levels of Exopolysaccharides (EPS) for 60 Days (mean $\pm$ SD, $n = 3$). Different lowercase letters in each row indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 5. Digestive Enzyme Activities of Young Asian Sea Bass Fed Diets Containing Different Levels of Exopolysaccharides (EPS) for 60 Days (mean $\pm$ SD, $n = 3$). Different lowercase letters in each row indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 6. Midgut Morphology of Asian Seabass Fed Diets Containing Different Levels of Exopolysaccharides (EPS) for 60 Days (mean $\pm$ SD, $n = 3$). Different lowercase letters in each row indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 7. Effect of Exopolysaccharides (EPS) on α -Diversity Indices of the Gut Microbiota of Asian Sea Bass Fed Diets Containing Different Levels of EPS for 60 Days (mean $\pm$ SD, $n = 3$). Different lowercase letters in each row indicate significant differences ($P < 0.05$).

Figure 1. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) Spectra of Exopolysaccharides (EPS) Fractions From *Lactobacillus plantarum* (a) Compared to Standard Dextran (b).

Figure 2. Effects of Different Levels of *Lactobacillus plantarum* Exopolysaccharides (EPS) on Intestinal Morphology of Asian Sea Bass.

a: control treatment, b: treatment 1, c: treatment 2, and d: treatment 3. Black arrows indicate pyknosis of the nuclei, and the cytoplasm is eosinophilic. Red arrows show occasional focal infiltration of lymphoid tissue in the lamina propria.

Figure 3. Composition of the Intestinal Microbial Flora of Asian Sea Bass Fed With Different Levels of *Lactobacillus plantarum* Exopolysaccharide: a) at the Phylum Level, b) at the Genus Level.



تأثیر پری بیوتیکی اگزوپلی ساکارید لاکتوباسیلوس پلانتاروم در تنظیم میکروبیوم روده و فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی و آنزیم های گوارشی سی باس آسیایی

هشام نژادمطوری^۱، لاله رومیانی^۲

^۱ دانش آموخته واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

^۲ گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ... تاریخ بازنگری: ... تاریخ پذیرش: ... تاریخ انتشار: ...

doi: 10.22059/jvr.2025.400120.3534

دوره ۸۱، شماره ۳، ۱۴۰۵، ...

چکیده

زمینه مطالعه: اگزوپلی ساکاریدهای میکروبی یکی از پری بیوتیک های مؤثر می باشند که توسط میکروارگانیسم ها با گروه های عملکردی مختلف تولید می شوند. این ترکیبات زیست تخریب پذیر، ایمن و مقرون به صرفه بوده و نقش مهمی در بهبود سلامت و عملکرد سیستم ایمنی میزبان دارند. اگزوپلی ساکاریدها در طول رشد باکتری ها از دیواره سلولی ترشح می شوند و از پیوندهای گلیکوزیدی تشکیل شده اند که پلیمرهای ماکرومولکولی طبیعی را تشکیل می دهند. مطالعات اخیر نشان می دهد اگزوپلی ساکاریدهای حاصل از باکتری های اسیدلاکتیک محرک های مؤثری برای تقویت رشد ماهی و سیستم های دفاعی آن می باشند.

هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات اگزوپلی ساکارید حاصل از باکتری *Lactobacillus plantarum* (LP-EPS) بر عملکرد فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدانی، ترکیب فلور میکروبی روده و میزان اسیدهای چرب زنجیره کوتاه روده سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) انجام گردید.

روش کار: ماهی ها به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (بدون افزودن EPS)، تیمار ۱ (۲۰۰ میلی گرم EPS در کیلوگرم غذا)، تیمار ۲ (۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) و تیمار ۳ (۸۰۰ میلی گرم در کیلوگرم). پس از ۶۰ روز تغذیه، نمونه برداری برای ارزیابی پارامترهای مورد نظر انجام شد که شامل فعالیت آنزیمی روده، ترکیب فلور میکروبی، میزان اسیدهای چرب زنجیره کوتاه، شاخص های ایمنی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی بود.

نتایج: مطابق یافته های مطالعه حاضر، تغذیه با LP-EPS به طور معنی داری باعث افزایش فعالیت آنزیم های گوارش و آنتی اکسیدانی در مقایسه با گروه کنترل شد. همچنین فراوانی باکتری های بیماری زا در روده کاهش یافته و ترکیب فلور میکروبی به طور مثبت تغییر یافت. پنج شاخه باکتری شامل *Proteobacteria*، *Firmicutes*، *Actinobacteria*، *Bacteroidetes* و *Fusobacteriota* شناسایی شدند که شاخه *Firmicutes* بیشترین فراوانی را داشت.

نتیجه گیری نهایی: نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد استفاده از LP-EPS به عنوان مکمل غذایی می تواند عملکرد رشد، وضعیت آنتی اکسیدانی و سلامت روده در سی باس آسیایی را بهبود بخشد؛ بنابراین LP-EPS یک افزودنی امیدوارکننده برای به کارگیری در صنعت آبی پروری به منظور ارتقای سلامت و افزایش بهره وری است.

کلمات کلیدی: اگزوپلی ساکارید، پری بیوتیک، سی باس دریایی آسیایی، فلور میکروبی روده لاکتوباسیلوس پلانتاروم

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

کپی رایت © نویسندگان.



نویسنده مسئول: لاله رومیانی، گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

مقدمه

مواد شیمیایی مختلف و آنتی بیوتیک ها مدت هاست که در پرورش ماهی برای افزایش ایمنی مورد استفاده قرار می گیرند. با این حال استفاده گسترده و طولانی مدت از مواد شیمیایی به مسائلی، مانند باقیمانده های دارویی، مقاومت دارویی و آلودگی آب منجر شده است که تهدیدی جدی برای پایداری صنعت پرورش آبزیان محسوب می گردد (۱). از طرف دیگر، شیوع بیماری های باکتریایی نوظهور با افزایش سیستم های فوق متراکم و متراکم پرورش آبزیان، به دلیل تقاضای زیاد پروتئین باکیفیت آبزیان و افزایش جمعیت جهان، در چند سال اخیر محققان را دچار چالش کرده است (۲، ۳)؛ بنابراین جست و جوی افزودنی های خوراکی با راندمان بالا و بدون اثر باقیمانده ضروری است تا بتوان به طور پیشگیرانه به چالش های دوگانه تولید محصولات آبی پروری و ایمنی مواد غذایی پرداخت.

اگزوپلی ساکاریدهای میکروبی (Microbial Exopolysaccharide) (EPS) یکی از پری بیوتیک های قوی ترشح شده توسط میکروارگانیسم ها می باشند که در پلی ساکاریدهای حیوانی و گیاهی یافت نمی شوند و همچنین به عنوان ترکیباتی مقرون به صرفه، ایمن و زیست تخریب پذیر در نظر گرفته می شوند (۳، ۴). EPS از جمله متابولیت های اصلی تولید شده توسط بسیاری از باکتری های اسید لاکتیک (LAB) است. علاوه بر این، EPS میکروبی را می توان تحت محدودیت های دقیق با پایداری بالا در دستگاه گوارش فرموله کرد تا کلونیزاسیون میکروارگانیسم های مفید (۵)، قابلیت عملکرد قوی و رشد را غنی سازی کند (۶، ۷). نکته قابل توجه این است که اگرچه EPS دارای فعالیت های بیولوژیکی، از جمله فعالیت های ضدباکتریایی، فعالیت های آنتی اکسیدانی و فعالیت های تعدیل کننده سیستم ایمنی (۸) است، اما کاربرد آن به عنوان عامل تعدیل کننده سیستم ایمنی و یا محرک سیستم ایمنی ماهی کمتر گزارش شده است. مطالعات بسیار محدودی در این زمینه انجام شده است. تأثیر اگزوپلی ساکارید پدیکوکوس اسیدی لاکتیسی بر افزایش رشد و فعالیت آنتی اکسیدانی ماهیان جوان *Scophthalmus maximus* توسط Hu و همکاران در سال ۲۰۲۵ مورد مطالعه قرار گرفت. یافته های آن ها نشان داد افزودن اگزوپلی ساکارید به رژیم غذایی ماهی های توربوت جوان می تواند رشد و نمو را تحریک کرده و ظرفیت ایمنی را افزایش دهد. در حالی که به طور فعال میکروبیوتای روده را مدیریت کرد (۱). استفاده از اگزوپلی ساکارید لاکتوکوکوس لاکتیس توانست متابولیسم چربی در ماهی کپور معمولی پرورش یافته با جیره غذایی پرچرب را بهبود بخشد (۲). جیره غذایی تخمیر شده با باکتری های اسید لاکتیک حاوی وزیکول های خارج سلولی باکتریایی، توانست مقاومت بیماری در ماهی *Oplegnathus fasciatus* را مهار کند (۹). تجویز اگزوپلی ساکارید باسیلوس سابتیلیس توانست رشد و ایمنی تیلپای نیل را تحت تأثیر قرار دهد (۱۰). از آنجایی که پری بیوتیک ها به عنوان استراتژی جایگزین برای حفظ سلامت آبزی پروری می باشند (۱۱)، خاصیت تعدیل کننده سیستم ایمنی و یا تحریک کننده سیستم ایمنی آبزیان را نشان داده اند (۱۲، ۱۳) و از طرف دیگر، دستکاری جمعیت میکروبی در دستگاه گوارش آبزیان با استفاده از پری بیوتیک ها، رویکردی نوین برای بهبود سلامت و رشد جانور است (۱۴). هدف از مطالعه حاضر، بررسی غلظت های متفاوت اگزوپلی ساکارید باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر تعدیل و بهبود فلور میکروبی دستگاه گوارش و سیستم ایمنی در ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) بود.

مواد و روش کار

تهیه باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم و استخراج اگزوپلی ساکارید آن: لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*plantarum Lactobacillus*) از مرکز کلکسیون ژنتیک و میکروارگانیسم ایران تهیه شد. به منظور رشد و احیای باکتری از فرم و حالت لیوفیلیزه، از محیط MRS براث استفاده شد. تلقیح باکتری در شرایط کاملاً استریل انجام و سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۳-۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه گذاری شد. با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار در دمای ۴ درجه سانتی گراد با ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۲ دقیقه، محیط کشت حذف و آنزیم ها غیرفعال شدند و با فیلتر ۰/۴۵ میکرون فیلتراسیون انجام و رسوب به دست آمده با ۲/۵ لیتر اتانول ۹۵ درصد سرد، شست و شو داده شد تا محلول سوپرناتانت رویی حاوی اگزوپلی ساکارید جدا و در طول شب رسوب شود. اگزوپلی ساکارید پس از ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ × گرم رسوب داده شد و ۲ بار با آب مقطر شسته شد. سپس به طور متوالی با اتانول مطلق، استون و اتر شست و شو داده شد و متعاقباً برای به دست آوردن پلی ساکارید خام لیوفیلیزه شد. پودر خام اگزوپلی ساکارید در آب دیونیزه شده با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر و با ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر DNaseI (شرکت سیگما) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت تیمار شد. پس از آن، ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر Pronase E (شرکت سیگما) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت تیمار شد. برای رسوب دادن پروتئین ها، اسیدتری کلرواستیک ۱۵ درصد اضافه شد و مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق هم زده شد. محلول در گرم × ۱۲۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ و مایع رویی جمع آوری شد. این مایع رویی در برابر آب دیونیزه (آب ۲ بار در روز تعویض می شد) در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ روز دیالیز شد و ماده احتباس شده در نهایت برای به دست آوردن پودر خالص اگزوپلی ساکارید برای آزمایش های بعدی فریز و خشک گردید. بازده اگزوپلی ساکارید با استفاده از روش فنل - اسیدسولفوریک محاسبه شد (۱۵).

جدول ۱. ترکیبات EPS لاکتوباسیلوس پلاتاروم و میزان تولید آن در ۷۲ ساعت و وزن مولکولی (Mw)، جرم مولکولی (Mn) و شاخص پراکندگی (PDI) (EPS).

نمونه	میانگین $\pm$ انحراف معیار / درصد			Mw (دالتون)	Mn (دالتون)	PDI	
	ترکیب						تولید
	هیدرات کربن	پروتئین	اسید نوکلئیک				
<i>L. plantarum</i> EPS	$410/21 \pm 7/85^a$ (۷۶/۶۰)	$16/61 \pm 0/51^c$ (۲/۳۰)	$110/95 \pm 5/73^b$ (۲۱/۱۰)	$2/51 \pm 0/21$	$8/21 \times 10^5$	$2/50$	

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشند ($P > 0/05$).

جدول ۲. ترکیب بدن سی باس آسیایی تغذیه شده با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف اگزوپلی ساکارید به مدت ۶۰ روز.

نوع ترکیب (واحد)	میانگین $\pm$ انحراف معیار			
	تیمار			
	کنترل	۱	۲	۳
پروتئین خام (درصد)	$14/16 \pm 0/13^a$	$14/82 \pm 0/14^b$	$15/44 \pm 0/12^b$	$14/86 \pm 0/16^b$
چربی خام (درصد)	$8/56 \pm 0/15^d$	$6/96 \pm 0/12^c$	$5/55 \pm 0/12^a$	$6/28 \pm 0/14^b$
خاکستر (درصد)	$2/10 \pm 0/10^a$	$2/21 \pm 0/09^a$	$1/98 \pm 0/07^a$	$2/97 \pm 0/06^b$
رطوبت (درصد)	$67/11 \pm 0/84^a$	$68/23 \pm 0/83^a$	$70/41 \pm 0/79^a$	$67/37 \pm 0/81^a$

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشند ($P > 0/05$).

طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (Fourier transform infrared spectroscopy) اگزوپلی ساکارید: طیف FTIR

اگزوپلی ساکارید باکتری با استفاده از دستگاه طیف سنج مدل IFS-48 ساخت کشور آلمان، (کمپانی سازنده Bruker) برای نشان دادن گروه های عاملی به دست آمد. به همین جهت ۱/۵ میلی گرم پودر اگزوپلی ساکارید همراه با پودر برمیدپتاسیم به نسبت ۱:۱۰۰ مخلوط و به شکل قرص ۱ میلی متری درآمد. سپس در دستگاه طیف سنج قرار گرفت. درصد نور عبور داده شده در محدوده فرکانس ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی متر محاسبه و نمودار حاصل از آن رسم گردید.

طرح آزمایش: برای انجام این طرح کاملاً تصادفی (CRD) (Completely Randomized Design)، ۱۸۰ قطعه ماهی

سی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) با میانگین وزنی $10/64 \pm 0/13$ گرم و میانگین طول $3/15 \pm 0/11$ سانتی متر، پس از کسب گواهی سلامت از اداره کل دامپزشکی استان بوشهر از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان دریایی راموز خریداری و درون کیسه های پلاستیکی با نسبت ۱ به ۵ آب به هوا، با حجم ۱۰ لیتر آب و شوری ۲۵ ppt قسمت در هزار و با تراکم ۱۰۰ عددی بسته بندی شدند و سپس با کامیون سردخانه دار مجهز به تنظیم کننده دما (-10 تا صفر درجه سانتی گراد) به مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزبان دانشگاه آزاد اسلامی اهواز منتقل شدند. در مرکز، ماهیان به مدت ۱۴ روز در مخازن ۲۰۰۰ لیتری که اشعه UV برای ضد عفونی کردن آب دریا (تهیه شده از بندر ماهشهر) در آن تعبیه شده بود، جهت سازگاری قرار گرفتند. پس از طی کردن این زمان، ماهیان در یک طرح کاملاً تصادفی به تانک های فایبرگلاس مدور ۳۰۰ لیتری توزیع شدند. در ۱۲ تانک ۱۵ قطعه ماهی توزیع گردید و حجم و ارتفاع آب (۸۰ سانتی متر) در تمام مخازن برابر بود و قابلیت کنترل وجود داشت. در هر تانک به منظور هوادهی یک سنگ هوا و یک هیتر گرمایی آکواریومی ۳۰۰ وات، جهت رسیدن به درجه حرارت ۲۰ درجه سانتی گراد تعبیه شد. تانک ها درون سوله قرار گرفتند تا کمترین تبادل حرارتی صورت گیرد. آب قبل از استفاده در مخازن فیلتر شد. ماهیان روزانه ۳ بار و ۲/۵ درصد وزن بدن به مدت ۸ هفته غذادهی شدند. سیکل غذادهی به صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. غذای استاندارد تجاری (خریداری شده از کیمیاگران تغذیه شهرکرد) شامل ۴۱۶ گرم بر کیلوگرم پروتئین خام، ۱۷۱/۲ گرم بر کیلوگرم چربی، ۱۴۶ گرم بر کیلوگرم خاکستر، ۹۷ گرم بر کیلوگرم رطوبت و ۳۰ گرم بر کیلوگرم فیبر بود. پارامترهای کیفی آب، مانند دما ۲۷-۲۹ درجه سانتی گراد، میزان اکسیژن محلول ۸-۹ قسمت در میلیون، $pH=7/31-8/1$ ، میزان نیترژن آمونیاکی (NH_3-N) کمتر از ۰/۰۵ قسمت در میلیون و میزان نیترات (NO_2-N) کمتر از ۰/۱ قسمت در میلیون در تمام دوره پرورش کنترل شد. روزانه تعویض آب به میزان ۵۰ درصد انجام شد. ۳ تیمار حاوی سطوح مختلف اگزوپلی ساکارید ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به جیره پایه ماهیان اضافه گردید. تیمار کنترل بدون افزودنی بود.

جدول ۳. میزان SCFAs روده (میکروگرم در ۱۰۰ گرم) سی‌باس جوان آسیایی تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی سطوح مختلف EPS به مدت ۶۰ روز (n=3).

فاکتور	میانگین $\pm$ انحراف معیار			
	تیمار			
	کنترل	۱	۲	۳
اسید پروپیونیک	۱۳۳/۲۴ $\pm$ ۶/۵ ^a	۱۸۳/۶۴ $\pm$ ۱۰/۰۵ ^a	۲۷۶/۲۳ $\pm$ ۱۶/۶۲ ^b	۲۹۳/۹۹ $\pm$ ۲۴/۹۴ ^b
اسید ایزوبوتیریک	۷/۰۴ $\pm$ ۰/۲۰ ^a	۱۱/۹۲ $\pm$ ۰/۲۷ ^a	۱۴/۳۶ $\pm$ ۰/۰۸ ^c	۱۷/۰۷ $\pm$ ۰/۱۹ ^d
ان-اسید بوتیریک	۶/۴۳ $\pm$ ۱/۰۵ ^a	۱۲/۱۹ $\pm$ ۰/۷۹ ^b	۱۳/۵۱ $\pm$ ۱/۲۵ ^b	۱۵/۱۱ $\pm$ ۰/۹۴ ^b
ان-اسید هگزانویک	۵/۳۳ $\pm$ ۰/۲۵ ^{ab}	۴/۶۰ $\pm$ ۰/۴۰ ^a	۶/۱۶ $\pm$ ۰/۲۹ ^b	۶/۱۰ $\pm$ ۰/۲۶ ^b
اسید استیک	۱۳۳/۲۲ $\pm$ ۸/۸۲ ^c	۱۴۱/۲۵ $\pm$ ۱۰/۶۴ ^a	۱۷۳/۶۲ $\pm$ ۱۴/۱۷ ^{ab}	۲۴۲/۹۳ $\pm$ ۱۴/۰۱ ^b
اسید ایزوالریک	۲/۱۳ $\pm$ ۰/۲۹ ^a	۵/۱۰ $\pm$ ۰/۴۱ ^b	۵/۴۱ $\pm$ ۰/۲۵ ^b	۷/۱۹ $\pm$ ۰/۳۰ ^c
ان-اسید والریک	۳/۱۳ $\pm$ ۰/۱۹ ^a	۳/۳۱ $\pm$ ۰/۴۰ ^a	۳/۳۵ $\pm$ ۰/۳۰ ^a	۲/۸۹ $\pm$ ۰/۴۳ ^a

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P > 0.05$).

جدول ۴. فعالیت آنزیم‌های بیوشیمیایی روده سی‌باس آسیایی تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی سطوح مختلف EPS به مدت ۶۰ روز (n=3).

فاکتور	میانگین $\pm$ انحراف معیار			
	تیمار			
	کنترل	۱	۲	۳
مالون دی‌آلدئید (واحد بر میلی گرم)	۳/۸۶ $\pm$ ۰/۰۸ ^c	۳/۳۳ $\pm$ ۰/۰۶ ^b	۲/۸۶ $\pm$ ۰/۰۶ ^a	۲/۹۲ $\pm$ ۰/۱۰ ^a
فعالیت لیزوزیم (واحد بر میلی لیتر)	۱۶/۴۴ $\pm$ ۰/۱۵ ^a	۱۷/۸۶ $\pm$ ۰/۲۲ ^b	۲۳/۹۸ $\pm$ ۰/۳۲ ^d	۲۲/۳۲ $\pm$ ۰/۲۳ ^c
سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر میلی گرم)	۲۱۱/۳۴ $\pm$ ۴/۰۷ ^a	۲۱۵/۱۳ $\pm$ ۷/۸۸ ^{ab}	۲۳۹/۱۰ $\pm$ ۹/۰۸ ^{ab}	۲۴۸/۶۰ $\pm$ ۷/۸۶ ^b
فعالیت کاتالاز (واحد بر میلی گرم)	۲۷/۲۳ $\pm$ ۰/۷۰ ^a	۶۳/۱۵ $\pm$ ۰/۷۷ ^b	۸۶/۱۱ $\pm$ ۱/۲۲ ^c	۸۳/۲۹ $\pm$ ۰/۶۵ ^c
مایلوپراکسیداز (OD _{450nm})	۲/۵۱ $\pm$ ۰/۰۸ ^a	۳/۸۶ $\pm$ ۰/۰۸ ^c	۳/۳۵ $\pm$ ۰/۱۰ ^b	۳/۲۳ $\pm$ ۰/۰۶ ^b
فعالیت انفجار تنفسی (OD _{450nm})	۰/۲۵ $\pm$ ۰/۰۰۰۵ ^a	۰/۵۱ $\pm$ ۰/۰۰۱ ^b	۰/۶۳ $\pm$ ۰/۰۰۵ ^d	۰/۶۱ $\pm$ ۰/۰۰۰۵ ^c
گلوتاتیون پراکسیداز (واحد بر میلی گرم)	۴۲۴/۹۱ $\pm$ ۱۲/۲۵ ^a	۴۴۵/۳۴ $\pm$ ۱۲/۷۰ ^{ab}	۴۶۳/۳۲ $\pm$ ۸/۷۹ ^{ab}	۴۸۱/۵۳ $\pm$ ۱۲/۲۲ ^b
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (میلی لیتر بر میلی گرم)	۱/۴۳ $\pm$ ۰/۰۰۰۵ ^a	۱/۶۱ $\pm$ ۰/۰۱ ^b	۲/۲۲ $\pm$ ۰/۰۲ ^c	۲/۲۰ $\pm$ ۰/۰۱ ^c
آلکالین فسفاتاز (واحد بر گرم)	۱۸/۷۳ $\pm$ ۰/۴۹ ^a	۱۱/۷۱ $\pm$ ۰/۰۸ ^a	۱۰/۴۳ $\pm$ ۰/۱۰ ^{ab}	۱۵/۵۷ $\pm$ ۰/۰۵ ^a
اسید فسفاتاز (واحد بر گرم)	۲۰/۴۱ $\pm$ ۰/۰۴ ^a	۱۳/۷۱ $\pm$ ۰/۰۵ ^b	۱۲/۷۶ $\pm$ ۰/۰۹ ^b	۱۶/۸۱ $\pm$ ۰/۲۱ ^b

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P > 0.05$).

آنالیز تقریبی ترکیبات لاشه: میزان رطوبت، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر در نمونه‌های سی‌باس برای هر تیمار طبق روش‌های استاندارد تعیین شد. روش‌های معمول تعیین ترکیبات ماهی به این شرح بود: برای تعیین مقدار رطوبت (GB/T 6435-2014)، خشک کردن نمونه فیله در فر در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت صورت گرفت. برای اندازه‌گیری پروتئین و مقدار پروتئین خام (GB/T 6432-2018) ($N \times 6.25$)، از روش نیمه‌خودکار کج‌دال استفاده گردید. مقدار چربی خام با استخراج اتر (GB/T 6433-2006) و میزان خاکستر خام با احتراق تا وزن ثابت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد (GB/T 6433-2006) تعیین شد.

تعیین فعالیت آنزیم‌های گوارشی و بیوشیمیایی دستگاه گوارش: در پایان ۸ هفته آزمایش، یک روز قبل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گوارشی غذادهی ماهیان قطع گردید. از هر تیمار ۳ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب، دستگاه گوارش آن‌ها جدا و در کیسه‌های استریل‌شده در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری گردید. جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، نمونه‌های هر تیمار باهم ادغام، وزن و همگن شدند. سپس در بافر سرد، شامل ترکیب بافر تریس - اسید کلریدریک، ۵۰ میلی‌مولار؛ کلرید کلسیم، ۲۰ میلی‌مولار و کلرید پتاسیم، ۵۰ میلی‌مولار در pH محدوده ۸/۵ به نسبت ۱ به ۹ کاملاً هموژن گردید (۹). در مرحله بعد، ترکیب هموژن‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سوپرناتانت یا مایع روبی جمع‌آوری شده و تا زمان انجام آزمایشات لازم در -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. با استفاده از پارا - نیتروفنیل مریستات اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیپاز انجام گردید. میزان جذب نوری مخلوط واکنش با استفاده از اسپکترومتر PerkinElmer 25 در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانده شد. میزان فعالیت آنزیم لیپاز بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین به دست آمد (۱۶).

جدول ۵. فعالیت آنزیم‌های گوارشی سی‌باس جوان آسیایی تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی سطوح مختلف EPS به مدت ۶۰ روز (n=3).

فاکتور	میانگین $\pm$ انحراف معیار			
	تیمار			
	کنترل	۱	۲	۳
کراتین کیناز (واحد بر میلی گرم)	۰/۶۱ $\pm$ ۰/۰۱ ^a	۰/۷۷ $\pm$ ۰/۰۰۵ ^b	۰/۹۱ $\pm$ ۰/۰۱ ^c	۱/۰۱ $\pm$ ۰/۰۳ ^d
α - آمیلاز (واحد بر میلی گرم)	۲۷/۳۷ $\pm$ ۵/۹۰ ^a	۳۹/۶۷ $\pm$ ۶/۴۷ ^{ab}	۶۱/۹۲ $\pm$ ۵/۲۸ ^b	۶۳/۶۶ $\pm$ ۴/۰۹ ^b
ATP سدیم - پتاسیم (واحد بر میلی گرم)	۰/۵۵ $\pm$ ۰/۰۳ ^a	۱/۲۱ $\pm$ ۰/۰۴ ^b	۱/۷۳ $\pm$ ۰/۰۱ ^c	۲/۱۱ $\pm$ ۰/۰۳ ^d
لیپاز (واحد بر میلی گرم)	۱/۲۳ $\pm$ ۰/۰۷ ^a	۱/۹۳ $\pm$ ۰/۰۶ ^b	۲/۶۹ $\pm$ ۰/۰۹ ^c	۲/۵۱ $\pm$ ۰/۰۸ ^c
تریپسین (واحد بر میلی گرم)	۲/۵۴ $\pm$ ۰/۰۸ ^a	۳/۲۱ $\pm$ ۰/۰۶ ^b	۴/۱۷ $\pm$ ۰/۰۹ ^c	۴/۱۱ $\pm$ ۰/۰۸ ^c

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P > 0.05$).

جدول ۶. مرفولوژی روده میانی سی‌باس آسیایی تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف EPS به مدت ۶۰ روز (n=3).

فاکتور	میانگین $\pm$ انحراف معیار			
	تیمار			
	کنترل	۱	۲	۳
طول پرز (میکرون)	۴۱۰/۱۶ $\pm$ ۸/۶۶ ^a	۵۵۰/۸۲ $\pm$ ۱۱/۱۱ ^b	۶۸۲/۴۴ $\pm$ ۱۴/۵۵ ^d	۶۲۰/۸۶ $\pm$ ۱۳/۴۴ ^c
ضخامت لایه مخاطی (میکرون)	۱۶۳/۵۶ $\pm$ ۲۱/۳۰ ^a	۱۸۶/۹۶ $\pm$ ۲۰/۳۲ ^a	۲۴۳/۵۵ $\pm$ ۱۹/۱۸ ^a	۲۰۱/۲۸ $\pm$ ۱۲/۸۴ ^a
طول پرز (میکرون)	۹۲/۰۱ $\pm$ ۴/۷۳ ^a	۱۲۴/۲۲ $\pm$ ۵/۲۹ ^b	۱۶۱/۹۸ $\pm$ ۳/۵۳ ^c	۱۴۱/۸۰ $\pm$ ۱/۷۹ ^b

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P > 0.05$).

برای اندازه‌گیری آنزیم پروتئاز از کازئین به عنوان سوبسترا استفاده شد (۱۷). یک میلی لیتر محلول کازئین ۱/۵۵ درصد در محیطی که pH آن در محدوده ۷/۲ بود، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد و ۱/۱ میلی لیتر سوپرناتانت به آن اضافه گردید. سپس به مدت ۱۲ دقیقه گرمخانه‌گذاری صورت گرفت و بعد ۲/۱ میلی لیتر اسیدتری کلرواستیک ۰/۴ مولار به آن اضافه و فیلتر گردید و ۲/۵ میلی لیتر کربنات سدیم ۰/۴ مولار و همچنین ۰/۵۱ میلی لیتر معرف فولین سیکالتو (Folin-Ciocalteu) به آن اضافه شد و میزان جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. فعالیت آنزیم آمیلاز با استفاده از روش استاندارد از طریق نشاسته محلول به عنوان سوبسترا و ترکیب کروموژن ۳ و ۵ اسیددی نیترو سالیسیلیک با روش فتومتریک آنزیمی / کالریمتری اندازه‌گیری شد (۱۸). کیت تشخیص کمی آلفا - آمیلاز از شرکت پارس آزمون خریداری و مقدار آن برحسب واحد بر گرم پروتئین به دست آمد. فعالیت آنزیم تریپسین با استفاده از محلول BAPNA به عنوان سوبسترا اندازه‌گیری شد. میزان جذب نوری در طول موج ۴۱۰ نانومتر قرائت گردید. آنزیم‌های بیوشیمیایی دستگاه گوارش، شامل فعالیت پراکسیداز از طریق روش رنگ‌سنجی A084-2، فعالیت لیزوزیم با روش کدورت‌سنجی A050 اندازه‌گیری گردید. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با روش هیدروکسیل آمین (۱۴) A001-1، فعالیت کاتالاز با روش نور مرئی A007-1، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل با روش رنگ‌سنجی A015، مایلوپراکسیداز با کیت شناسایی cat#A044-1-1 و آلکالین فسفاتاز با استفاده از روش نشان‌دارسازی میکروآنزیم A059 تعیین شد (۱). میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت گلوکاتین پراکسیداز با روش TBA A003-1 تعیین شد (۱۰). فعالیت انفجار تنفسی و آنزیم اسیدفسفاتاز با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (BT1500، ساخت کشور ایتالیا) و کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون (پارس آزمون، ایران) سنجش گردید.

سنجش اسیدهای چرب زنجیره کوتاه روده (Short-Chain Fatty Acids): غلظت اسیدهای چرب زنجیره کوتاه روده (SCFAs) با استفاده از GC-MS (کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنج جرمی) تعیین شد (۶). نمونه‌های بافت روده کامل از مری تا مقعد ماهیان سی‌باس آسیایی از ۴ ماهی وزن شدند. سپس ۲ میلی لیتر اسیدسولفوریک ۰/۵ مول بر لیتر به آن‌ها اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه با ارتعاش اولتراسونیک در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد، با ۳۵ کیلوهرتز استخراج شدند. ۱ میلی لیتر دی‌اتیل‌اتر به مخلوط اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری و به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ گرم سانتریفیوژ شدند. در نهایت، پس از حذف دی‌اتیل‌اتر، ۱۰۰ میکرولیتر استون برای GC-MS اضافه شد. از ستون‌های Agilent 7890A-5975C GC-MS و Agilent DB-WAX با اندازه ۰/۲۵ میلی متر $\times$ ۰/۲۵ میکرومتر $\times$ ۵۰ متر استفاده شد. شرایط GC به این شرح بود: دمای ورودی ۲۵۰ درجه سانتی گراد، سرعت جریان گاز حامل (هلیوم)، ۱/۵ میلی لیتر در دقیقه و مقدار تزریق نمونه ۱ میکرولیتر بود. برنامه دمایی GC به این

شرح بود: نگه داشتن در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، افزایش به دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه، نگه‌داشتن در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، افزایش به دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۸ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، نگه‌داشتن در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و افزایش به دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه. شرایط MS به این شرح بود: محفظه منبع یون در دمای ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد با دمای خط انتقال ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. انرژی الکترون ۷۰ الکترون ولت و اسکن کامل ۳۵ تا ۵۵۰ دالتون بود.

مرفولوژی روده: پس از ۸ هفته از دوره آزمایش، پس از اینکه روده‌های چهار نمونه ماهی مربوط به هر تیمار به مدت ۲۴ ساعت در محلول فرمالین ۱۰ درصد غوطه‌ور و به مدت ۹ ساعت با آب لوله‌کشی شست‌وشو داده شدند، بلوک‌های جاسازی‌شده به مدت یک شب در اتانول ۷۰ درصد قرار داده شدند و در پارافین جاسازی شدند. برش‌های بافتی انجام شد و ضخامت برش‌های بافتی نمونه در حدود ۵-۶ میکرومتر بود. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین برای مشاهده برش‌های رنگ‌آمیزی‌شده استفاده شد. پس از تصویربرداری، از نرم‌افزار Image-Pro Plus نسخه ۶،۰ برای اندازه‌گیری طول پرزهای روده، عرض پرزها و ضخامت استفاده شد. تغییرات پاتولوژیک مربوطه در بافت روده با استفاده از میکروسکوپ نوری مشاهده گردید.

ترکیب میکروبی روده: هدف از انجام این آزمایش، بررسی فلور میکروبی روده ماهیان و تعیین برخی از جنس‌های باکتری موجود در روده پس از تغذیه با غلظت‌های متفاوت اگزوپلی‌ساکارید لاکتوباسیلوس پلانتارم بود. نمونه‌های مدفوع ماهیان پس از بیهوش کردن با ۲- فنوکسی‌اتانول (۱/۰ میلی‌لیتر در لیتر) جمع‌آوری و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. DNA میکروبیوم روده ماهیان مورد مطالعه با استفاده از کیت استخراجی DNA (DNA Kit, Germany) از مدفوع، طبق دستورالعمل گفته‌شده در این کیت استخراج گردید. ۱۰۰ میلی‌گرم از مدفوع در یک تیوپ استریل که حاوی ۳۰۰ میکرولیتر بافر SDE1 و ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K بود، ریخته شد. بعد از استخراج DNA خلوص و غلظت آن با سنجش نسبت جذب A260/A280 نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری گردید. در صورتی که نسبت جذب بین ۱/۸ و ۲/۲ باشد، خلوص کافی DNA برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز کافی است. پس از استخراج، DNA در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. تکنیک PCR برای شناسایی و اندازه‌گیری تعداد کپی‌های ژن 16 S rRNA میکروبیوم روده ماهیان سی‌باس دریایی آسیایی از پرایمرهای اختصاصی با توالی نوکلئوتیدی (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTA-3') و 515F و (3'-GGACTACHVGGGTWTCTAA-5') 806R استفاده شد (۱). تکثیر DNA در حجم ۲۰ میکرولیتر با به‌کارگیری اجزای واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر از مسترمیکس، ۱۰ نانومولار از پرایمرها و ۲ میکرولیتر از DNA انجام شد. برنامه PCR به این شرح تنظیم شد: ۳ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن ۳۵ سیکل در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه. در نهایت واکنش به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد نگه‌داشته شد. پس از پیش‌پردازش داده‌های توالی‌یابی، تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک انجام شد. پروداکت‌ها توسط BMKCloud (www.biocloud.net) در Illumina NovaSeq توالی‌یابی شدند.

جدول ۷. تأثیر EPS بر شاخص‌های تنوع α میکروبیوتای روده سی‌باس آسیایی تغذیه‌شده با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف EPS به مدت ۶۰ روز (n=3).

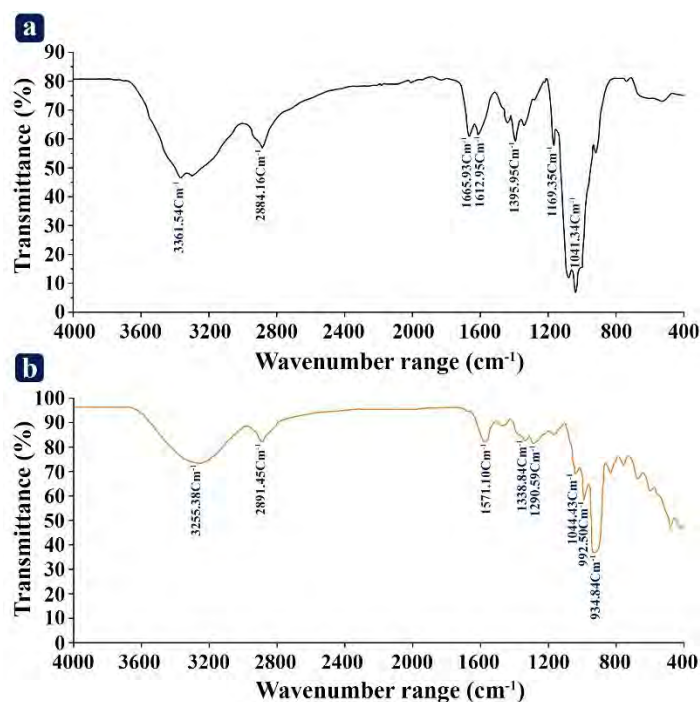
فاکتور	میانگین $\pm$ انحراف معیار			
	تیمار			
	کنترل	۱	۲	۳
Observed_Species	۶۳۴/۸۴ $\pm$ ۱۷/۴۱ ^a	۷۹۱/۶۳ $\pm$ ۲۰/۲۰ ^b	۸۹۴/۸۳ $\pm$ ۳۱/۴۶ ^b	۸۶۴/۲۹ $\pm$ ۲۳/۱۱ ^b
Shannon	۴/۰۳ $\pm$ ۰/۰۵ ^a	۵/۰۳ $\pm$ ۰/۳۹ ^a	۵/۷۸ $\pm$ ۰/۹۷ ^a	۶/۵۱ $\pm$ ۰/۷۰ ^a
Simpson	۰/۷۱ $\pm$ ۰/۱۵ ^a	۰/۷۲ $\pm$ ۰/۲۷ ^a	۰/۷۵ $\pm$ ۰/۲۵ ^a	۰/۷۸ $\pm$ ۰/۲۵ ^a
ACE	۵۷۴/۴۴ $\pm$ ۱۱/۸۴ ^a	۱۱۰۲/۰۳ $\pm$ ۳۸/۱۴ ^b	۱۲۱۲/۹۷ $\pm$ ۱۹/۰۳ ^c	۱۳۱۶/۹۷ $\pm$ ۱۷/۵۳ ^c
Chao	۸۴۶/۴۶ $\pm$ ۲۳/۲۲ ^a	۱۰۵۵/۵۱ $\pm$ ۲۶/۹۴ ^b	۱۱۹۳/۰۰ $\pm$ ۴۱/۹۵ ^b	۱۱۵۲/۳۹ $\pm$ ۳۰/۸۲ ^b
PD_Whole_Tree	۵۳/۹۶ $\pm$ ۱/۴۸ ^a	۶۷/۲۸ $\pm$ ۱/۷۱ ^b	۷۶/۰۶ $\pm$ ۲/۶۷ ^b	۷۹/۱۳ $\pm$ ۴/۲۸ ^b

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P > 0.05$).

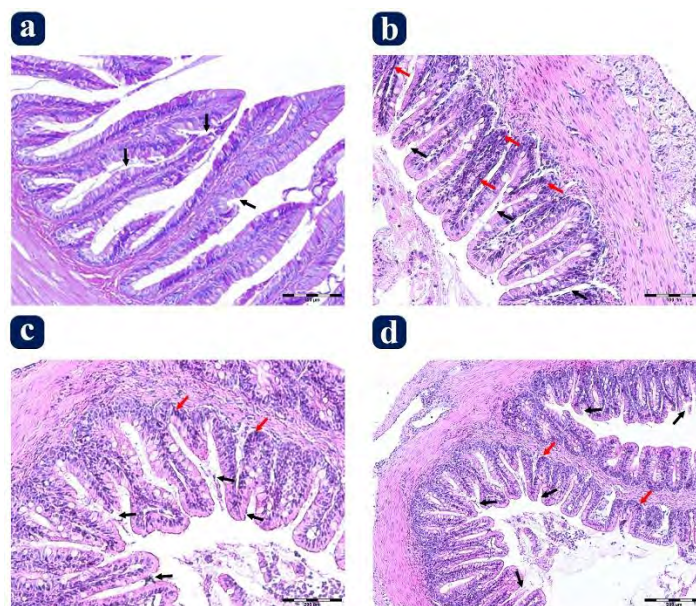
تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها پس از تأیید فرضیه نرمال بودن و همگنی واریانس، با استفاده از نرم‌افزار (SPSS Inc., Chicago, USA) نسخه ۲۷ تجزیه و تحلیل شدند. برای تعیین معنی‌دار بودن تغییرات، از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد ($P < 0.05$). برای مقایسه میانگین تیمارها، از آزمون چنددامنه‌ای توکی (Tukey's HSD test) استفاده شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین ($\text{Mean} \pm \text{SEM}$) ارائه شدند.

نتایج

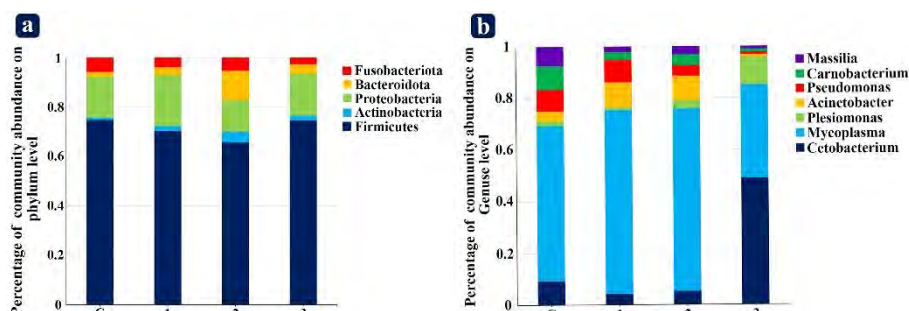
گروه‌های عاملی EPS و ترکیبات مونوساکارید آن: طیف EPS در محدوده ۴۰۰۰ تا ۴۰۰ بر سانتی‌متر شناسایی شد و پیک‌های متعددی را نشان داد. یک پیک جذب پهن مشاهده شده در محدوده ۳۴۲۴-۳۴۳۴ بر سانتی‌متر نشان‌دهنده وجود یک ترکیب پلی‌هیدروکسیلیک با باند جذبی بزرگ گروه‌های هیدروکسیل (O-H) بود که ماهیت پلی‌ساکاریدی را تأیید می‌کند. سیگنال‌ها در حدود ۱۶۴۵ و ۲۹۲۰ بر سانتی‌متر به کشش C-H نسبت داده شدند. علاوه بر این ارتعاش کششی گروه کربوکسیل (C=O) به عنوان یک پیک جذب در تقریباً ۱۶۰۰ بر سانتی‌متر مشاهده شد، در حالی که کشش متقارن COO- در حدود ۱۴۰۰ بر سانتی‌متر مشاهده شد. نوارهای جذبی اصلی که (6 $\rightarrow$ 1) α را توصیف می‌کردند، در محدوده ۱۰۵۸ بر سانتی‌متر شناسایی شدند و با ارتعاشات پیوند گلیکوزیدی C-O-C مرتبط بودند. در حالی که ۹۰۱ بر سانتی‌متر نشان‌دهنده ترکیب آلفای (α) این پیوند بود (۵). پیک ثبت شده در ۱۱۰۰-۱۳۰۰ بر سانتی‌متر عموماً با ارتعاشات تغییر شکل گروه‌های متیل و متیلن یا پیوندهای C-H در زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی مرتبط است. دکستران یک پلی‌ساکارید مبتنی بر گلوکز است که توسط LAB سنتز می‌شود و از یک زنجیره خطی از D-گلوکزهای متصل به پیوندهای (6 $\rightarrow$ 1) α تشکیل شده است که ممکن است شاخه‌هایی از D-گلوکز نیز داشته باشد (۱۹). وقوع نوار جذبی در ۱۰۲۰ بر سانتی‌متر انعطاف‌پذیری بالای زنجیره پلی‌ساکارید را نشان داد. علاوه بر این، یک باند ضعیف پذیرش در حدود ۵۰۰ بر سانتی‌متر وجود یک پیوند گلیکوزیدی (۵) برای گروه‌های پلی‌ساکاریدی بسیار شبیه به دکستران را با همبستگی ۹۲/۲۱ درصد نشان داد (تصویر B-۱).



تصویر ۱. طیف‌های FTIR بخش‌های EPS از لاکتوباسیلوس پلانتاروم (a) در مقایسه با دکستران استاندارد (b).



تصویر ۲. اثرات سطوح مختلف EPS لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر مرفولوژیک روده سی‌باس آسیایی. a: تیمار کنترل، b: تیمار ۱، c: تیمار ۲، d: تیمار ۳. پیکان‌های مشکی نشان‌دهنده سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک و پیکنوز هسته است و پیکان‌های قرمز وجود بافت لنفاوی در لامینا پروپریا است.



تصویر ۳. ترکیب فلور میکروبی روده ماهی سی‌باس آسیایی تغذیه‌شده با سطوح متفاوت اگزوپلی ساکارید لاکتوباسیلوس پلانتاروم: (a) در سطح شاخه (b) در سطح جنس.

باتوجه به تجزیه و تحلیل ترکیبات اگزوپلی ساکارید (میلی گرم بر گرم اگزوپلی ساکارید)، بالاترین میزان کربوهیدرات ۴۱۰/۲۱ میلی گرم بر گرم ثبت گردید که تفاوت معنی داری ($P < 0.05$) با میزان اسیدنوکلئیک (۱۱۰/۹۵ میلی گرم بر گرم با ۲۱/۱۰ درصد پروتئین) و میزان پروتئین (۶/۶۱ میلی گرم بر گرم با ۲/۳۰ درصد) داشت (جدول ۱). تولید اگزوپلی ساکارید (گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر) لاکتوباسیلوس پلانتاروم طی ۷۲ ساعت ۲/۵۱ گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر بود. وزن مولکولی اگزوپلی ساکارید استخراج شده $10^5 \times 8/21$ و نسبت Mw به Mn ۲/۵۰ به دست آمد (جدول ۱).

ترکیب لاشه بدن: تجزیه و تحلیل ترکیبات لاشه براساس روش‌های استاندارد، محتوای پروتئین بالاتری را در گروه‌های حاوی اگزوپلی ساکارید نشان داد که بیشترین میزان آن در تیمار دوم با ۱۵/۴۴ درصد مشاهده گردید. بیشترین میزان رطوبت، چربی و خاکستر به ترتیب ۷۰/۴۱ در تیمار دوم، ۸/۵۶ در تیمار کنترل و ۲/۹۷ درصد در تیمار سوم مشاهده شد (جدول ۲).

غلظت SCFAs روده ماهی سی‌باس آسیایی در جدول ۳ نشان داده شده است. محتوای اسیداستیک و اسید N-بوتیریک در گروه سوم به طور قابل توجهی بالاتر از گروه کنترل بود ($P < 0.05$). محتوای اسید پروپیونیک، اسید ایزوبوتیریک و اسید ایزوالریک در تیمارهای دوم و سوم به طور قابل توجهی بالاتر از تیمار کنترل بود ($P < 0.05$). تفاوت معنی داری در میزان اسید N-والریک بین گروه‌های آزمایشی وجود نداشت ($P > 0.05$). بیشترین میزان آن - هگزانویک اسید در تیمار دوم دیده شد (۶/۱۶ میکروگرم بر ۱۰۰ گرم).

اثرات EPS در جیره غذایی سی‌باس آسیایی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در **جدول ۴** ارائه شده است. فعالیت MDA در تیمارهای حاوی اگزوپلی ساکارید به‌طور قابل توجهی کمتر از گروه کنترل بود ($P < 0.05$). میزان فعالیت لیزوزیم و کاتالاز در تیمارهای ۱ تا ۳ دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار کنترل بود ($P < 0.05$) و مقادیر آن‌ها بیشتر از تیمار کنترل بود. میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز بین تیمارهای مختلف از تفاوت معنی‌دار آماری برخوردار نبود ($P > 0.05$) اما در تیمار ۳ از همه بیشتر بود. میزان فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز در تیمارهای حاوی EPS بیشتر از تیمار کنترل بود ($P < 0.05$). اثرات EPS در جیره غذایی سی‌باس آسیایی بر فعالیت‌های آنزیم‌های روده مشاهده شده در **جدول ۵** ارائه شده است. فعالیت‌های آمیلاز و کراتین کیناز در گروه‌های محتوی اگزوپلی ساکارید به‌طور قابل توجهی بیشتر از گروه کنترل بود ($P < 0.05$). فعالیت تریپسین در تیمار دوم بیشتر از گروه کنترل بود ($P < 0.05$). فعالیت‌های لیپاز و ATPase در تیمارهای حاوی EPS به‌طور قابل توجهی بیشتر از تیمار کنترل بود ($P < 0.05$). فعالیت گلوکاتامیل ترنسفرز در گروه سوم به‌طور قابل توجهی بیشتر از گروه کنترل بود و مقدار آن به $33/31$ واحد بر لیتر رسید ($P < 0.05$).

جدول ۶ اثرات EPS در جیره غذایی سی‌باس آسیایی را بر طول پرز، عرض پرزها و ضخامت ماهیچه روده نشان می‌دهد. طول و عرض پرزهای روده میانی در تیمارهای حاوی EPS به‌طور قابل توجهی بیشتر از تیمار کنترل بود ($P < 0.05$). ضخامت ماهیچه روده میانی در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ بیشتر از گروه کنترل بود، اما تفاوت معنی‌دار آماری نشان نداد ($P > 0.05$).

تصویر ۲ نشان می‌دهد در هر گروه آزمایشی، ساختار مخاط روده و لایه ماهیچه‌ای شفاف و محکم بود و لایه مخاطی غنی از پرز بود. افزایش ضخامت لایه مخاطی در تیمارهای حاوی اگزوپلی ساکارید مشاهده گردید. سلول‌های اپیتلیال پرزهای مخاطی به‌صورت شل قرار گرفته بودند. کاهش سلول‌های اپیتلیال مشاهده شد. هسته پیکنوز و سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک بود (پیکان مشکی). نفوذ کانونی بافت لنفاوی در لامینا پروپریا وجود داشت (پیکان قرمز). هیچ ناهنجاری آشکار دیگری مشاهده نشد. نتایج فلور میکروبی روده ماهیان سی‌باس آسیایی تیمار شده با EPS لاکتوباسیلوس پلانتاروم نشان داد در سطح شاخه، Firmicutes، Proteobacteria و Bacteroidota غالب بودند (**تصویر ۳**). در سطح جنس، مایکوپلاسما و ستوباکتریوم جنس غالب بودند (**تصویر ۳**). در مجموع 61152 تا 67179 توالی مؤثر از نمونه‌های روده سی‌باس آسیایی به دست آمد. شاخص‌های تنوع آلفا در **جدول ۷** ارائه شده است. در مقایسه با گروه کنترل، گونه‌های مشاهده شده، شاخص‌های ACE، Chao1، Shannon و PD به‌طور قابل توجهی در گروه‌های با سطوح بالاتر EPS افزایش یافتند ($P < 0.05$). بااین حال، تفاوت معنی‌داری در داده‌های سیمپسون بین سه تیمار حاوی اگزوپلی ساکارید باکتری با تیمار شاهد وجود نداشت ($P > 0.05$). نتایج نشان داد پری بیوتیک اگزوپلی ساکارید لاکتوباسیلوس پلانتاروم می‌تواند فراوانی و یکنواختی میکروارگانیسم‌ها در روده را بهبود بخشد.

بحث

تحقیقات نشان دادند وزن مولکولی EPS تولید شده توسط هر میکروارگانیسم بسته به سویه، نوع پلیمر و شرایط کشت متفاوت است. در مطالعه حاضر وزن مولکولی EPS به دست آمده از لاکتوباسیلوس پلانتاروم $10^5 \times 8/21$ دالتون به دست آمد. وزن مولکولی EPS تولید شده توسط *Lb. plantarum* C7 حدود 33 کیلودالتون بود که مشابه EPS تولید شده از *Lb. plantarum* EP56 (حدود 44 کیلودالتون) بود (**۲۰**)، اما کمتر از EPS تولید شده توسط *Lb. plantarum* C88 بود که 1150 کیلودالتون ثبت شد (**۲۱**). وزن مولکولی EPS به دست آمده از *Lb. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* 10^4 تا 10^6 دالتون به دست آمد (**۲۲**). شاخص پراکندگی (Mw/Mn) میزان ناهمگنی در طول زنجیره‌های پلیمری را نشان می‌دهد (**۳**). PDI بالاتر مشاهده شده در مطالعه حاضر، نشان‌دهنده طیف متنوعی از اندازه‌های زنجیره پلی ساکارید است که نشان می‌دهد EPS ممکن است از پلیمرهای متعددی تشکیل شده باشد که تغییرات در ترکیب مونومر و نسبت‌های جرم مولکولی را نشان می‌دهند. گزارش شده است میانگین جرم مولکولی برای هتروپلی ساکاریدها بین $10^4 \times 4$ تا $10^6 \times 6$ دالتون متغیر است (**۲۳**). در این مورد، EPS تولید شده از لاکتوباسیلوس پلانتاروم در مقایسه با سایر مطالعات، جرم مولکولی متوسطی را نشان داد.

بهبود ترکیبات لاشه، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی ممکن است به افزایش سطح اسیدهای چرب زنجیره کوتاه روده (SCFAs) ناشی از EPS نسبت داده شود. SCFAs به عنوان منبع اصلی انرژی برای سلول‌های اپیتلیال روده، نقش مهمی در تنظیم متابولیسم لیپید و حفظ سلامت روده در جانوران دارند (**۲۴**). براساس نوع اتم‌های کربن، SCFAs را می‌توان به SCFAs زنجیره مستقیم

(اسیدهای استات، پروپیونات، بوتیرات، والریک و هگزانوئیک) و SCFAs زنجیره شاخه‌دار (اسیدهای ایزوبوتیریک و ایزوالریک) تقسیم کرد. به‌طور کلی آن‌هایی که زنجیره مستقیم می‌باشند، محصول متابولیسم کربوهیدرات می‌باشند و اثرات مثبتی بر میزبان دارند و دسته دیگر محصول متابولیسم پروتئین می‌باشند و اثرات منفی بر میزبان دارند (۲۵). نتایج نشان داد بیشترین SCFAs شناسایی‌شده در روده ماهیان تغذیه‌شده تحت تأثیر اگزوپلیساکارید اسیدپروپیونیک و اسیداستیک بودند که با افزایش سطح اگزوپلی ساکارید میزان آن‌ها بیشتر شد. در ماهیان، اسیداستیک از مجرای روده به خون پورتال منتقل می‌شود و به‌عنوان منبع انرژی برای عضلات اسکلتی یا برای سنتز لیپید استفاده می‌شود (۲۶). مطالعات نشان می‌دهد مصرف EPS می‌تواند غلظت SCFAs، به‌ویژه اسیداستیک، اسیدپروپیونیک و اسیدبوتیریک را در دستگاه روده به‌طور قابل‌توجهی افزایش دهد. سطح اسیداستیک، اسیدپروپیونیک و اسیدبوتیریک در روده ماهی باس دهان بزرگ تحت تأثیر *Clostridium butyricum* افزایش یافت (۶).

در مقابل، غلظت بوتیرات بسیار پایین بود که در مطالعه حاضر نیز دیده شد. پری‌بیوتیک‌ها به‌دلیل افزایش تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه، که متابولیت‌های تخمیر باکتریایی می‌باشند و قادر به تحریک تکثیر سلول‌های اپیتلیال روده می‌باشند، می‌توانند سبب افزایش ارتفاع پرزهای روده شوند (۲۷). میکروبیوتای روده از طریق مکانیسم‌های متعدد نقش مهمی در سلامت میزبان و متابولیسم تغذیه‌ای ایفا می‌کند. متابولیسم میکروبی دخیل در تخمیر کربوهیدرات، کربوهیدرات‌های غذایی غیرقابل‌هضم را به اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه تبدیل می‌کند و در نتیجه بر فیزیولوژی میزبان تأثیر می‌گذارد (۲۸). SCFAs اسیدهای کربوکسیلیک با دنباله‌های آلیفاتیک (کمتر از ۶ کربن) می‌باشند و از هر دو نوع زنجیره مستقیم و شاخه‌دار تشکیل شده‌اند. در جانوران آبزی، غالب‌ترین SCFAs زنجیره مستقیم شامل اسیداستیک (C2)، اسید پروپیونیک (C3) و اسید بوتیریک (C4) می‌باشند. البته سطح اسیدوالراتیک، اسیدایزوبوتیریک و اسیدایزوالریک کم است، یعنی تنها ۲ تا ۹ درصد از کل تولید SCFAs را تشکیل می‌دهند (۲۹).

اسیدوالریک به‌دلیل نقشش در کمک به هضم مواد مغذی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا در آبزیان شناخته شده است (۲۸)، اما میزان آن در مطالعه حاضر کم بود. اسیدوالریک ممکن است به‌دلیل غلبه متابولیسم کربوهیدرات بر متابولیسم پروتئین در محیط روده، در مقادیر کمتری تولید شود. غلظت پایین‌تر اسیدوالریک همچنین می‌تواند منعکس‌کننده ترکیبات خاص پری‌بیوتیک مورد استفاده در مطالعه حاضر باشد که ممکن است تولید اسیدهای استیک و پروپیونیک را نسبت به اسیدوالریک ترجیح داده باشد. اختلاف در میزان SCFAs ممکن است به مسیرهای متابولیکی خاص میکروارگانیسم‌های روده‌ای دخیل در فرایند تخمیر نسبت داده شود (۳۰). در کپور علفخوار، همبستگی مثبتی بین سطح استات و تعداد کل باکتری‌ها مشاهده شد (۳۱). سطوح بالای استات، بوتیرات و پروپیونات در تاس‌ماهی سبیری تغذیه‌شده با آرابینوکسیلوالیگوساکارید (AXOS) به افزایش فراوانی نسبی یوباکتریوم، کلوستریدیوم، لاکتوباسیلوس، باسیلوس و لاکتوکوکوس موجود در انتهای روده تاس‌ماهی منجر شد (۳۲، ۳۳)؛ بنابراین رابطه مثبتی بین تنوع و ترکیب میکروبیوتای روده (به‌ویژه تولیدکنندگان SCFAs) و تولید SCFAs در آبزیان وجود دارد. باین حال هنوز دقیقاً مشخص نیست کدام گونه‌های میکروبی عمده‌تأثیر مسئول تولید SCFAs در ماهیان می‌باشند (۲۹).

ثابت شده است برخی از پری‌بیوتیک‌ها، از جمله آلفا - نشاسته، نشاسته ژلاتینی‌شده، اینولین، ذرت، جو، گندم، لاکتوساکاروز، AXOS و فروکتوالیگوساکارید همگی قادر به تأثیرگذاری بر تولید SCFAs در روده آبزیان می‌باشند. بسیاری از مطالعات نتایج خوبی در مورد اثرات مکمل‌های پری‌بیوتیک بر تولید SCFAs در روده آبزیان را گزارش کرده‌اند. در گونه‌های کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۳۴)، تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) و سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (۳۵) و تاس‌ماهی سبیری و گربه‌ماهی آفریقایی (۳۶) تولید بالایی از آن‌ها وجود داشته است. نتایج این مطالعات نشان داده است نوع سوبسترای پری‌بیوتیک و جمعیت‌های میکروبی مرتبط با این فرایند، به‌شدت بر ترکیب میکروفلور روده تأثیر می‌گذارند. مطالعات اخیر نشان داده است انتروکوکوس فکالیس تولید اسیدپروپیونیک و بوتیریک را در قسمت خلفی روده (*gonionotus Puntius*) افزایش داد (۳۷). رژیم غذایی حاوی *Clostridium butyricum* باعث افزایش تولید اسیداستیک، پروپیونیک و بوتیریک در میگوی پا سفید (*Litopenaeus vannamei*) شده است (۳۸). براساس نتایج Duan و همکاران در سال ۲۰۱۷ پیشنهاد کردند افزایش سطح SCFAs وابسته به نوع مکمل پری‌بیوتیک است. در مطالعه Asaduzzaman و همکاران در سال ۲۰۱۸ استات و بوتیرات به‌عنوان اسیدهای چرب فرار اصلی تولیدشده در دستگاه گوارش *T. tambroides* تحت تأثیر استفاده از پری‌بیوتیک‌ها شناسایی شدند. تولید استات به‌طور قابل‌توجهی در جیره غذایی حاوی

شد (۲۶). افزایش SCFAs سبب فراوانی و تنوع فلور میکروبی روده گربه‌ماهی زرد *Pelteobagrus fulvidraco* شد (۲۸). در میگوهای آب شیرین، افزودن ۰/۴ درصد فروکتوالیگوساکارید به افزایش سطح اسیداستیک و اسید پروپیونیک منجر شد (۳۹).

مطالعات متعددی شواهدی را ارائه داده‌اند که تأثیر پری‌بیوتیک‌ها مانند اگزوپلی ساکاریدها بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی بر ماهیان را نشان می‌دهد. تحقیقات انجام‌شده بر روی گونه‌های مختلف ماهی، از جمله تیلاپیا و قزل‌آلای رنگین‌کمان، نشان داده است مکمل‌های غذایی با پری‌بیوتیک‌ها می‌توانند فعالیت لیپاز را در دستگاه گوارش افزایش دهند. افزایش فعالیت لیپاز به تعدیل میکروبیوتای روده و تولید متابولیت‌های میکروبی که بر ترشح آنزیم تأثیر مثبت می‌گذارند، نسبت داده می‌شود. مطالعات بر روی ماهی‌های گوشت‌خوار، مانند ماهی سالمون، نشان داده است مکمل‌های پری‌بیوتیک می‌توانند بر فعالیت پروتئاز در معده و روده تأثیر بگذارند (۴۰). تحریک فعالیت پروتئاز اغلب با تغییرات در ترکیب میکروبیوتای روده و آزادسازی آنزیم‌های میکروبی مرتبط است (۴۱). پری‌بیوتیک‌ها، به‌ویژه آن‌هایی که ساختار مبتنی بر کربوهیدرات دارند، با افزایش فعالیت کربوهیدراز در ماهی مرتبط بوده‌اند. این اثر اغلب در گونه‌های گیاه‌خوار و همه‌چیزخوار مشاهده می‌شود. تصور می‌شود بهبود فعالیت کربوهیدراز ناشی از تخمیر پری‌بیوتیک‌ها باشد که به تولید SCFAs منجر می‌شود که ترشح آنزیم‌های گوارشی را تحریک می‌کنند (۴۲).

EPS یا محصولات بیولوژیکی دفع‌شده توسط LAB، ذاتاً غیرسمی و شامل انواع ساختارهای شیمیایی و عملکردهای بیولوژیکی می‌باشند. استرس اکسیداتیو می‌تواند گونه‌های فعال اکسیژن تولید کند که واکنش‌پذیری بالایی دارند و پتانسیل حمله به مولکول‌های زیستی مختلف در مجاورت خود، از جمله پروتئین‌ها و لیپیدها را دارند. واکنش بین لیپیدها و گونه‌های فعال اکسیژن به تولید مالون‌دی‌آلدئید (MDA) منجر می‌شود (۴۳). افزایش MDA به تغییر در خواص بیوشیمیایی مولکول‌های زیستی و تجمع آن منجر می‌شود، بنابراین آن را به‌عنوان قابل‌اعتمادترین ماده برای ارزیابی استرس اکسیداتیو تبدیل می‌کند. ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌ها و مواد آنتی‌اکسیدانی مختلفی است که می‌توانند به‌طور مؤثر آنیون‌های سوپراکسید را از بین ببرند و در نتیجه سلول‌ها و ارگانیسم را در برابر آسیب استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن محافظت کنند (۴۴). مطالعات نشان داده‌اند گنجاندن EPS در رژیم غذایی آبزیان می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها را افزایش داده و سطح مالون‌دی‌آلدئید را در میگو *Marsupenaeus japonicus* (۳۸) و تیلاپیا (۴۵) به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد. اگزوپلی ساکارید *Clostridium butyricum* به‌طور قابل‌توجهی فعالیت T-AOC، SOD، CAT، POD و GSH-Px روده ماهی باس دهان‌گشاد را افزایش داد. درحالی‌که محتوای MDA روده را کاهش داد (۶) که با مطالعه حاضر همخوانی داشت. لیزوزیم که عمدتاً در سرم جانوران و بافت‌های لنفاوی وجود دارد، می‌تواند به‌طور مؤثر باکتری‌های گرم مثبت را از بین ببرد. این ماده نقش مهمی در ایمنی غیراختصاصی حیوانات ایفا می‌کند. اجزای قلیایی از اجزای مهم لیزوزوم‌ها می‌باشند و به‌طور گسترده در تمام بافت‌ها، سلول‌ها و مایعات بدن حیوانات توزیع شده‌اند (۴۶).

در مطالعه حاضر، افزودن EPS به‌طور قابل‌توجهی سطح لیزوزیم روده و آلکالین فسفاتاز را افزایش داد که نشان می‌دهد EPS می‌تواند به‌طور مؤثر ایمنی غیراختصاصی ماهی سی‌باس آسیایی را افزایش دهد. تجزیه و تحلیل نشان می‌دهد اسیدبوتریک، یک محصول جانبی لاکتوباسیلوس پلانتاروم، پتانسیل فعال کردن سیستم ایمنی بدن، تولید فاکتورهای ایمنی مختلف و تحریک بهبود فعالیت‌های لیزوزیم روده و آلکالین فسفاتاز را دارد. تجویز EPS به افزایش عملکرد ایمنی، محافظت در برابر آسیب روده و حفظ سلامت روده در سی‌باس آسیایی منجر شد. استفاده از مکمل‌های EPS باکتریایی برای تقویت استرس اکسیداتیو ماهی در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. افزودن ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم EPS تولیدشده توسط *Lactiplantibacillus plantarum*، فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو (*Scophthalmus maximus*) در مقایسه با گروه کنترل را افزایش داد (۴۷). EPS حاصل از *Lactiplantibacillus plantarum* HS-07 ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در هیاتوپانکراس کپور معمولی را افزایش داد (۴۸) و EPS تولیدشده توسط *Porphyridium sordidum* فعالیت سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و سیتوکروم P450 مونواکسیژناز را افزایش داد (۴۹). فعالیت آنزیم‌های ایمنی ماهی می‌تواند تحت تأثیر شرایط تغذیه قرار گیرد. پاسخ ایمنی به دو آنزیم کلیدی تنظیم‌کننده متابولیک در بدن وابسته است: آلکالین فسفاتاز و اسیدفسفاتاز که هر دو ارتباط قوی با رشد حیات آبری دارند. افزایش قابل‌توجه در فعالیت‌های آنزیم‌های وابسته به ایمنی زمانی مشاهده شد که به تیلاپیا قرمز *S. frigiimarina* با دُز ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اگزوپلی ساکارید داده شد (۵۰). نتایج مطالعه حاضر نشان داد شاخه غالب در میکروبیوتای روده سی‌باس آسیایی، Firmicutes و Proteobacteria می‌باشند که با سایر گونه‌های ماهی، مانند سی‌باس

اروپایی (*Dicentrarchus labrax*)، باس دهان گشاد (*Micropterus salmoides*)، کاراس (*Carassius carassius*)، گربه‌ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مطابقت دارد (۲۸، ۵۱-۵۳). Firmicutes باکتری‌های ضدالتهاب مفیدی می‌باشند که می‌توانند هم در درمان و هم در پیشگیری از کولیت اولسراتیو کمک کنند (۵۴) و در استفاده از فیبر و متابولیسم کربوهیدرات نقش داشته باشند تا راندمان استفاده از انرژی میزبان را بهبود بخشند (۵۵). علاوه بر این آن‌ها نوع اصلی باکتری‌های مسئول تولید بوتیرات می‌باشند (۵۶). در مقابل، پروتئوباکتری‌ها شامل تعداد زیادی از باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشند که افزایش فراوانی آن‌ها ممکن است پاسخ التهابی بالاتری را در میزبان ایجاد کند و اثرات نامطلوبی بر متابولیسم کلی و سلامت میزبان داشته باشد (۵۷، ۵۸).

مطالعه حاضر نشان داد تجویز اگزوپلی‌ساکارید باکتری فراوانی Firmicutes را افزایش داد. درحالی‌که فراوانی پروتئوباکتری‌ها را کاهش داد. در تیمار دوم بیشترین میزان Firmicutes و کمترین میزان پروتئوباکتری‌ها مشاهده گردید. دلیل آن می‌تواند افزایش تولید SCFAs در ماهیان تغذیه‌شده با EPS باشد. Fusobacteria می‌توانند توانایی ایمنی و متابولیکی بدن را بهبود بخشند (۵۴) که این امر همچنین به استات تولیدشده توسط EPS مربوط می‌شود. این امر ممکن است به بهبود فعالیت متابولیسم مواد مغذی و افزایش متابولیسم روده و فعالیت ایمنی نسبت داده شود. به‌طور هم‌زمان، فوزوباکتری‌ها و پروتئوباکتری‌ها قادر به شرکت در متابولیسم ویتامین و تقویت عملکرد ایمنی می‌باشند (۵۱-۵۵). در نتایج مطالعه حاضر، نسبت پروتئوباکتری‌ها در هر گروه آزمایشی تقریباً ثابت ماند و تغییر قابل‌توجهی مشاهده نشد. این یافته‌ها نشان می‌دهد اگزوپلی‌ساکارید لاکتوباسیلوس پلانتاروم می‌تواند به‌طور مؤثر فلور روده‌ای سالم و مغذی را حفظ کند.

نتیجه‌گیری نهایی: تجویز خوراکی اگزوپلی‌ساکارید لاکتوباسیلوس پلانتاروم در دُزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در رژیم غذایی ماهی سی‌باس آسیایی به افزایش بهبود عملکرد آنزیم‌های روده و فلور میکروبی آن و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی منجر شد. پری‌بیوتیک اگزوپلی‌ساکارید باکتری توانست با افزایش غلظت SCFAs در روده، افزایش فعالیت لیزوزیم در روده و همچنین بهبود ساختار و غنای میکروبیوتای روده، عملکرد روده را ارتقا دهد و از دستگاه گوارش محافظت کند.

ملاحظات اخلاقی

کد اخلاق IR.IAU.AHVAVZ.REC.1403.331 کد اخلاق توسط کمیته اخلاق وابسته به دانشکده پزشکی و پرستاری-مامایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز اخذ گردیده است.

حامی مالی

مطالعه حاضر با حمایت حوزه پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز انجام و از پایان‌نامه کارشناسی ارشد استخراج شده است.

سپاسگزاری

از حوزه پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافعی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

- Hu G, Aziz T, Yang Z, Naseeb J, Sarwar A, Khan AA. *Pediococcus acidilactici* BCB1H exopolysaccharide enhances growth, antioxidant activity, and gut health in juvenile turbot. J Appl Ani Resea. 2025;53 (1): 222-231. doi: 10.1080/09712119.2025.2482190
- Hou R, Liu X, Cui W, Zhang J, Yan X, Feng J. Regulatory effects and mechanisms of exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* Z-2 on lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*) fed a high-fat diet. Int J Biol Macromol. 2025;319: 145528. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.145528 PMID: 40571025

3. Wang W, Ju Y, Liu N, Shi S, Hao L. Structural characteristics of microbial exopolysaccharides in association with their biological activities: A review. *Chem Biol Technol Agric*. 2023;10: 137. [doi: 10.1186/s40538-023-00515-3](https://doi.org/10.1186/s40538-023-00515-3)
4. Taherpour M, Roomiani L, Rajabi Islami H, Shamsaei Mehrgan M. Application of *Bacillus licheniformis* probiotic vesicles as a natural antibacterial to improve the quality and safety of rainbow trout fillets. *Fisheries*. 2023;76(3):409-421. [doi: 10.22059/jfisheries.2023.345860.1339](https://doi.org/10.22059/jfisheries.2023.345860.1339)
5. Sutthi N, Wangkahart E, Panase P, Karirat T, Deeseenthum S, Ma NL, Luang-In V. Dietary administration effects of exopolysaccharide produced by *Bacillus tequilensis* PS21 using riceberry broken rice, and soybean meal on growth performance, immunity and resistance to *Streptococcus agalactiae* of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals*. 2023;13:3262. [doi: 10.3390/ani13203262](https://doi.org/10.3390/ani13203262) PMID: 37893987
6. Chen X, Li P, Hou D, Li M, Chen B, Peng K, Huang W, Cao J, Hongxia Z. Probiotic breakthrough: *Clostridium butyricum* improved the intestinal SCFAs content, digestive enzymes and antioxidant activities, gut morphology and microbiota composition of largemouth bass. *Aqua Rep*. 2024;36:102090. [doi: 10.1016/j.aqrep.2024.102090](https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102090)
7. Zhang J, Hu T, Ma Y, Ma Y, Sun Q. Characterisation and bioactivity analysis of exopolysaccharides from *Lactiplantibacillus plantarum* L3. *Carbo Poly Technol Appl*. 2025;10:100830. [doi: 10.1016/j.carpta.2025.100830](https://doi.org/10.1016/j.carpta.2025.100830)
8. Alwaili MA, Alshehri MA, Abdulrahman TR, Albaqami FMK, Alghamdi A, Albureikan MOA, Shamrani T, Albelasih A, El-Nablaway M, Selim S, Gharee A. Broad-spectrum bioactivities of a sulfated heteropolysaccharide from *Bacillus tequilensis* MYG163: antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antimicrobial, and antibiofilm properties. *J Taibah Uni Sci*. 2025;19(1):2447151. [doi: 10.1080/16583655.2024.2447151](https://doi.org/10.1080/16583655.2024.2447151)
9. Lee BH, Hu YF, Chu YT, Wu YS, Hsu WH, Nan FH. Lactic acid bacteria-fermented diet containing bacterial extracellular vesicles inhibited pathogenic bacteria in striped beakfish (*Oplegnathus fasciatus*). *Fermentation*. 2024;10:49. [doi: 10.3390/fermentation10010049](https://doi.org/10.3390/fermentation10010049)
10. Bunkaew K, Yenraksa A, Pewhom A, Kiriratnikom S, Sewaka M, Lertworapreecha M, Chanasit W. Dietary administration effects of microbial exopolysaccharide from *Bacillus subtilis* P1 on growth performance and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Micro Res*. 2024;15:2210–2231. [doi: 10.3390/microbiolres15040148](https://doi.org/10.3390/microbiolres15040148)
11. Ali SSR, Ambasankar K, Nandakumar S, Praveena PE, Syamadaya J. Effect of dietary prebiotic inulin on growth, body composition and gut microbiota of Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Animal Feed Sci Technol*. 2016;217:87-94. [doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.04.011](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.04.011)
12. Bakky MAH, Yi P, Tran N, Sun Q, Zhang M, Zhang Y, Li Sh. Polysaccharide-Induced Immunoregulation, Signaling Pathways, and Stress Mitigation in Aquaculture Animals: A Review. *Rew Aquac*. 2025;17;2025-70008. [doi: 10.1111/raq.70008](https://doi.org/10.1111/raq.70008)
13. Luo L, Meng X, Wang Sh, Zhang R, Guo K, Wang W, Zhao Z. Hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bunge) polysaccharide improves the adaptability of crucian carp (*Carassius auratus*) to high alkalinity by regulating immunity, intestinal microbiota, and intestinal metabolomics. *Int J Biol Macromol*. 2025;320(4):146088. [doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.146088](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.146088) PMID: 40683484
14. Marcharla E, Vishnuprasadh A, Gnanasekaran L, Vinayagam S, Sundaram T, Ganesan S. The role of functional feed in modulating fish gut microbiome to enhance resistance against aquaculture pathogens. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2025;18:3010-3039. [doi: 10.1007/s12602-025-10660-w](https://doi.org/10.1007/s12602-025-10660-w) PMID: 40694305
15. Feng JC, Cai ZL, Chen YY, Zhu HY, Chang XL, Wang XF, Liu Z, Zhang JX, Nie GX. Effects of an exopolysaccharide from *Lactococcus lactis* Z-2 on innate immune response, antioxidant activity, and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in *Cyprinus carpio* L. *Fish Shellfish Immun*. 2020;98:324–333. [doi: 10.1016/j.fsi.2020.01.037](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.037) PMID: 31981775

16. Tietz NW, Fiereck EA. A specific method for serum lipase determination. Clin Chim Acta. 1966;13(3):352-8. [doi: 10.1016/0009-8981\(66\)90215-4](https://doi.org/10.1016/0009-8981(66)90215-4) PMID: 5943826
17. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976;7(72):248-54. [doi: 10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3) Get rights and content PMID: 942051
18. Bernfeld P. Amylase α and β . Methods Enzymol. 1955;1:149-158. [doi: 10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](https://doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5)
19. Lee MG, Joeng H, Kim S, Lee C, Song Y, Lee BH, Park HG, Lee TH, Jiang HH, Han YS, Lee BG, Lee HJ, Park MJ, Jun YJ, Park YS. Potential probiotic properties of exopolysaccharide-producing *Lactocaseibacillus paracasei* EPS DA-BACS and prebiotic activity of its exopolysaccharide. Microorganisms. 2022;10(12):2431. [doi: 10.3390/microorganisms10122431](https://doi.org/10.3390/microorganisms10122431) PMID: 36557684
20. Tallon R, Bressollier P, Urdaci MC. Isolation and characterization of two exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. Res Microbiol. 2003;154(10):705-712. [doi: 10.1016/j.resmic.2003.09.006](https://doi.org/10.1016/j.resmic.2003.09.006) PMID: 14643409
21. Zhang L, Liu C, Li D, Zhao Y, Zhang X, Zeng X, Yang Z, Li, S. Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. Int J Biol Macromol. 2013;54:270-275. [doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.12.037](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.12.037) PMID: 23274679
22. Jurášková D, Ribeiro SC, Silva CC. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: From biosynthesis to health-promoting properties. Foods. 2022;11(2):156. [doi: 10.3390/foods11020156](https://doi.org/10.3390/foods11020156) PMID: 35053888
23. Netrusov AI, Liyaskina EV, Kurgaeva IV, Liyaskina AU, Yang G, Revin VV. Exopolysaccharides Producing Bacteria: A Review. Microorganisms. 2023;11(6):1541. [doi: 10.3390/microorganisms11061541](https://doi.org/10.3390/microorganisms11061541) PMID: 37375041
24. Macfarlane S, Macfarlane GT. Regulation of short-chain fatty acid production. Proc Nutr Soc. 2003;62(1):67-72. [doi: 10.1079/PNS2002207](https://doi.org/10.1079/PNS2002207) PMID: 1274006
25. Yao CK, Muir JG, Gibson PR. Review article: insights into colonic protein fermentation, its modulation and potential health implications. Aliment Pharmacol. 2016;43(2):181–196. [doi: 10.1111/apt.13456](https://doi.org/10.1111/apt.13456) PMID: 26527169
26. Asaduzzaman M, Iehata S, Akter S, Kader MA, Ghosh SK, Khan MNA, Abol-Munafi ABA. Effects of host gut-derived probiotic bacteria on gut morphology, microbiota composition and volatile short chain fatty acids production of Malaysian Mahseer *Tor tambroides*. Aquac Rep. 2018;9:53–61. [doi: 10.1016/j.aqrep.2017.12.003](https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.12.003)
27. Ichikawa H, Kuroiwa T, Inagaki A, Shineha R, Nishihira T, Satomi S, Sakata T. Probiotic bacteria stimulate gut epithelial cell proliferation in rat. Dig Dis Sci. 1999;44:2119–2123. [doi: 10.1023/A:1026647024077](https://doi.org/10.1023/A:1026647024077) PMID: 10548366
28. Li Z, Wang S, Li X, Zhang M, Qian Y, Li M. Effects of three short-chain fatty acids on growth, intestinal microbiota composition, and ammonia tolerance of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. Aquac Rep. 2024;36:102066. [doi: 10.1016/j.aqrep.2024.102066](https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102066)
29. Tran NT, Li Z, Ma H, Zhang Y, Zheng H, Gong Y, Li S. *Clostridium butyricum*: a promising probiotic confers positive health benefits in aquatic animals. Rev Aquac. 2020;12:2573–2589. [doi: 10.1016/j.fsirep.2023.100088](https://doi.org/10.1016/j.fsirep.2023.100088)
30. Pantoja-Feliciano IG, Karl JP, Perisin M. In vitro gut microbiome response to carbohydrate supplementation is acutely affected by a sudden change in diet. BMC Microbiol. 2023;23:32. [doi: 10.1186/s12866-023-02776-2](https://doi.org/10.1186/s12866-023-02776-2)

31. Hao YT, Wu SG, Xiong F, Tran NT, Jakovli I, Zou H, Li WX, Wang GT. Succession and fermentation products of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) hindgut microbiota in response to an extreme dietary shift. *Front Microbiol.* 2017a;8:1585. [doi: 10.1002/mbo3.677](https://doi.org/10.1002/mbo3.677)
32. Geraylou Z, Souffreau C, Rurangwa E, D'Hondt S, Callewaert L, Courtin CM, Delcour JA, Buyse J, Ollevier F. Effects of arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) on juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) performance, immune responses, and gastrointestinal microbial community. *Fish Shellfish Immunol.* 2012;33:718–724. [doi: 10.1016/j.fsi.2012.06.010](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.06.010) PMID: 22796425
33. Geraylou Z, Souffreau C, Rurangwa E, Maes GE, Spanier KI, Courtin CM, Delcour JA, Buyse J, Ollevier F. Prebiotic effects of arabinoxylan oligosaccharides on juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) with emphasis on the modulation of the gut microbiota using 454 pyrosequencing. *FEMS Microbiol Ecol.* 2013;86(2):357–371. [doi: 10.1111/1574-6941.12169](https://doi.org/10.1111/1574-6941.12169) PMID: 23786549
34. Kihara M, Sakata T. Production of short-chain fatty acids and gas from various oligosaccharides by gut microbes of carp (*Cyprinus carpio* L.) in micro-scale batch culture. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2002;132:333–340. [doi: 10.1016/S1095-6433\(02\)00029-6](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00029-6) PMID: 12020649
35. Leenhouwers JI, Pellikaan WF, Huizing HFA, Coolen ROM, Verreth JAJ, Schrama JW. Fermentability of carbohydrates in an in vitro batch culture method using inocula from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Nutrition.* 2008;14:523–532. [doi: 10.1111/j.1365-2095.2007.00558.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00558.x)
36. Geraylou Z, Rurangwa E, Wiele TVD, Courtin CM, Delcour JA, Buyse J, Ollevier F. Fermentation of arabinoxylan-oligosaccharides, oligofructose and their monomeric sugars by hindgut bacteria from Siberian sturgeon and African catfish in batch culture in vitro. *J Aquac Res Development.* 2014;5:3. [doi: 10.4172/2155-9546.1000230](https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000230)
37. Allameh SK, Ringø E, Yusoff FM, Daud HM, Ideris A. Dietary supplement of *Enterococcus faecalis* on digestive enzyme activities, short-chain fatty acid production, immune system response and disease resistance of Javanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850). *Aquaculture Nutrition.* 2017;23:331–338. [doi: 10.1111/anu.12397](https://doi.org/10.1111/anu.12397)
38. Duan Y, Zhang Y, Dong H, Wang Y, Zheng X, Zhang J. Effect of dietary *Clostridium butyricum* on growth, intestine health status and resistance to ammonia stress in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol.* 2017;65:25–33. [doi: 10.1016/j.fsi.2017.03.048](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.048) PMID: 28359948
39. Fernández J, Redondo-Blanco S, Gutiérrez-del-Río I, Miguélez EM, Villar CJ, Lombó F. Colon microbiota fermentation of dietary prebiotics towards short-chain fatty acids and their roles as anti-inflammatory and antitumour agents: A review. *J Func Foods.* 2016;25:511–522. [doi: 10.1016/j.jff.2016.06.032](https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.032)
40. Hoseinifar SH, Mirvaghefi A, Amoozegar MA, Merrifield DL, Ringo E. In vitro selection of a synbiotic and in vivo evaluation on intestinal microbiota, performance and physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Aquaculture Nutrition.* 2017;23(1):111–118. [doi: 10.1111/anu.12373](https://doi.org/10.1111/anu.12373)
41. Munir MB, Hashim R, Manaf MSA, Nor SAM. Dietary prebiotics and probiotics influence the growth performance, feed utilisation, and body indices of snakehead (*Channa striata*) fingerlings. *Trop Life Sci Res.* 2016;27:111–125. [doi: 10.21315/tlsr2016.27.2.9](https://doi.org/10.21315/tlsr2016.27.2.9) PMID: 27688855
42. Amenyogbe E, Droepenu EK, Ayisi CL, Boamah GA, Duker RQ, Abarike ED and Huang JS. Impact of probiotics, prebiotics, and synbiotics on digestive enzymes, oxidative stress, and antioxidant defense in fish farming: current insights and future perspectives. *Front Mar Sci.* 2024;11:1368436. [doi: 10.3389/fmars.2024.1368436](https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1368436)
43. Pizzimenti S, Ciamporcerio E, Daga M, Pettazzoni P, Arcaro A, Cetrangolo G, Minelli R, Dianzani C, Lepore A, Gentile F. Interaction of aldehydes derived from lipid peroxidation and membrane proteins. *Front Physiol.* 2013;4:242. [doi: 10.3389/fphys.2013.00242](https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00242) PMID: 24027536

44. Gupta S, Finelli R, Agarwal A, Henkel R. Total antioxidant capacity—Relevance, methods and clinical implications. *Andrologia*. 2021;53(2):e13624. [doi: 10.1111/and.13624](https://doi.org/10.1111/and.13624) PMID: 32400041
45. Li H, Zhou Y, Ling H, Luo L, Qi D, Feng L. The effect of dietary supplementation with *Clostridium butyricum* on the growth performance, immunity, intestinal microbiota and disease resistance of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *PLoS One*. 2019;14(12):e0223428. [doi: 10.1371/journal.pone.0223428](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223428) PMID: 31815958
46. Ackerman PA, Iwama GK, Thornton JC. Physiological and immunological effects of adjuvanted *Aeromonas salmonicida* vaccines on juvenile *Rainbow trout*. *J Aquat Anim Health*. 2000;12:157–164. [doi: 10.1577/1548-8667\(200006\)012<0157:PAIEOA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(200006)012<0157:PAIEOA>2.0.CO;2)
47. Hu G, Wang Y, Xue R, Liu T, Zhou Z, Yang Z. Effects of the exopolysaccharide from *Lactiplantibacillus plantarum* HMX2 on the growth performance, immune response, and intestinal microbiota of juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*. *Foods*. 2023;12:2051. [doi: 10.3390/foods12102051](https://doi.org/10.3390/foods12102051) PMID: 37238869
48. Chen YY, Feng JC, Li M, Liu S, Cai ZL, Huang MY, Chang XL, Zhang JX. Probiotic effect of fish-derived *Lactobacillus plantarum* HS-07 exo-polysaccharide in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *J Fish Sci China*. 2021b;28:591–601. [doi: 10.12264/JFSC2020-0331](https://doi.org/10.12264/JFSC2020-0331)
49. Drira M, Elleuch J, Ben Hlima H, Hentati F, Gardarin C, Rihouey C, Le Cerf D, Michaud P, Abdelkafi S, Fendri I. Optimization of exopolysaccharides production by *Porphyridium sordidum* and their potential to induce defense responses in *Arabidopsis thaliana* against *Fusarium oxysporum*. *Biomolecules*. 2021;11:282. [doi: 10.3390/biom11020282](https://doi.org/10.3390/biom11020282) PMID: 336873
50. Chen Y, Gao P, Tang X, Xu C. Characterisation and bioactivities of an exopolysaccharide from an Antarctic bacterium *Shewanella frigidimarina* W32-2. *Aquaculture*. 2021a;530:735760. [doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735760](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735760)
51. Tao L, Chai J, Liu H, Huang W, Zou Y, Wu M, Peng B, Wang Q, Tang K. Characterization and dynamics of the gut microbiota in rice fishes at different developmental stages in rice-fish coculture systems. *Microorganisms*. 2022;10. [doi: 10.3390/microorganisms10122373](https://doi.org/10.3390/microorganisms10122373) PMID: 36557627
52. Perez-Pascual D, Estelle J, Dutto G, Rodde C, Bernardet JF, Marchand Y, Duchaud E, Przybyla C, Ghigo JM. Growth performance and adaptability of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) gut microbiota to alternative diets free of fish products. *Microorganisms*. 2020;8. [doi: 10.3390/microorganisms8091346](https://doi.org/10.3390/microorganisms8091346) PMID: 32899237
53. He G, Sun H, Liao R, Wei Y, Zhang T, Chen Y, Lin S. Effects of herbal extracts (*Foeniculum vulgare* and *Artemisia annua*) on growth, liver antioxidant capacity, intestinal morphology and microorganism of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Aquac Rep*. 2022;23:101081. [doi: 10.1016/j.aqrep.2022.101081](https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101081)
54. Natividad JM, Pinto-Sanchez MI, Galipeau HJ, Jury J, Jordana M, Reinisch W, Collins SM, Bercik P, Surette MG, Allen-Vercoe E, Verdu EF. Ecobiotherapy rich in firmicutes decreases susceptibility to colitis in a humanized gnotobiotic mouse model. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21:1883–1893. [doi: 10.1097/MIB.0000000000000422](https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000422) PMID: 26060932
55. Li LP, Peng KL, Xue MY, Zhu SL, Liu JX, Sun HZ. An age effect of rumen microbiome in dairy buffaloes revealed by metagenomics. *Microorganisms*. 2022a;10(8):1491. [doi: 10.3390/microorganisms10081491](https://doi.org/10.3390/microorganisms10081491)
56. Polansky O, Sekelova Z, Faldynova M, Sebkova A, Sisak F, Rychlik I. Important metabolic pathways and biological processes expressed by chicken cecal microbiota. *Appl Environ Microbiol*. 2016;82:1569–1576. [doi: 10.1128/AEM.03473-15](https://doi.org/10.1128/AEM.03473-15)

57. Moon CD, Young W, Maclean PH, Cookson AL, Bermingham EN. Metagenomic insights into the roles of Proteobacteria in the gastrointestinal microbiomes of healthy dogs and cats. *Microbiologyopen*. 2018;7(5):e00677. [doi: 10.1002/mbo3.677](https://doi.org/10.1002/mbo3.677) PMID: 29911322
58. Azizian A, Roomiani L, Shamsaie Mehrgan, Hosseini Shekarabi SP. Advancing fish health: systematic and bibliometric insights into functional feed additives for common carp and Rainbow trout. *Probiotics Antimicrob Proteins* 2026;41824189. [doi: 10.1007/s12602-026-10946-7](https://doi.org/10.1007/s12602-026-10946-7)