



A Review of the Use of Paraprobiotics in Aquaculture

Younes Abdollahzadeh ¹, Sajjad Pourmozaffar ^{2*}

¹ Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

² Persian Gulf Mollusks Research Station, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar-e- Lengeh, Iran

Received: 14 August 2022 Accepted: 31 December 2022

Abstract

Complications caused by the use of chemical drugs such as antibiotics in aquaculture raise the necessity of using antimicrobial compounds that are compatible with the environment. Probiotics are live bacteria that have a significant impact on host health due to their ability to control infectious diseases. Due to the possible transmission of risks from live microbial strains to the host, the use of non-living microbial counterparts has been suggested. The non-living microbial part (paraprobiotic) like its living counterpart is used as a suitable substitute orally or by injection due to its beneficial effects on the host. Therefore, the use of paraprobiotic compounds, despite their high ability in comprehensive host microbial modulation, still needs to be evaluated more carefully. In this review study, the concept of paraprobiotics, the preparation of paraprobiotics and the evaluation of health indicators of paraprobiotics in order to modulate biological reactions are described.

Keywords: Paraprobiotic, Heat-killed probiotics, Immune system, Resistance to pathogens

*Corresponding author: Sajjad Pourmozaffar, Email: Sajjad5550@gmail.com

Address: Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar-e- Lengeh, Iran.

مروری بر استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها در آبی‌پروری

یونس عبدالله‌زاده^۱، سجاد پورمظفر^{۲*}

^۱ گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، گرگان، ایران
^۲ ایستگاه تحقیقات نرمتنان خلیج فارس، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرلنگه، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۰۵/۲۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۱۰/۱۰

چکیده

عوارض ناشی از مصرف داروهای شیمیایی نظیر آنتی بیوتیک‌ها در آبی‌پروری، ضرورت استفاده از ترکیبات ضد میکروبی که سازگار با محیط زیست هستند را مطرح می‌کند. پروبیوتیک‌ها باکتری‌های زنده هستند که به دلیل توانایی در کنترل بیماری‌های عفونی تأثیر چشمگیر بر سلامت میزبان دارند. به دلیل وجود انتقال خطرات احتمالی از سویه‌های زنده میکروبی به میزبان، استفاده از همتای غیرزنده میکروبی مطرح شده است. بخش غیرزنده میکروبی (پاراپروبیوتیک) مانند همتای زنده خود به دلیل تأثیرات مفید بر میزبان به عنوان یک جایگزین مناسب به صورت خوراکی یا تزریقی استفاده می‌شود. بنابراین استفاده از ترکیبات پاراپروبیوتیکی با وجود قابلیت بالای آنها در تعدیل جامع میکروبی میزبان هنوز نیاز به ارزیابی دقیق‌تر دارند. در این مطالعه مروری، مفهوم پاراپروبیوتیک‌ها، آماده‌سازی پاراپروبیوتیک‌ها و ارزیابی شاخص‌های سلامت پاراپروبیوتیک‌ها به منظور تعدیل واکنش‌های زیستی شرح داده شده است.

کلیدواژه‌ها: پاراپروبیوتیک، پروبیوتیک‌های غیرفعال شده با حرارت، سیستم ایمنی، مقاومت در برابر پاتوژن‌ها

* نویسنده مسئول: سجاد پورمظفر. پست الکترونیک: Sajjad5550@gmail.com

آدرس: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرلنگه، ایران.

مقدمه

هر ساله، به دلیل رشد جمعیت و افزایش تقاضا برای منابع غذایی پروتئینی، افزایش قابل توجهی در تولید محصولات دریایی در سراسر جهان وجود دارد که برای پاسخگویی به نیازهای آبی پروری گسترش پیدا کرده است (۱). آمار FAO در سال ۲۰۲۲ نشان می‌دهد تولید آبی پروری در دهه گذشته در مسیر گسترش بوده و از حدود ۸۵ میلیون تن در سال ۲۰۱۰ به حدود ۱۱۰ میلیون تن در سال ۲۰۱۸ افزایش یافته است (۲). در راستای گسترش آبی پروری، زمینه ورود انواع عوامل بیماری‌زا به مزارع آبی پروری باز شده است و پرورش‌دهندگان خسارت‌های زیادی را متحمل شده‌اند (۳-۵). برای مقابله با بیماری‌ها در مراکز آبی پروری از شیمی درمانی نظیر آنتی بیوتیک‌ها استفاده می‌شود (۶،۷). به دلیل عوارض ناشی از مصرف داروهای شیمیایی استفاده از ترکیبات پروبیوتیکی که سازگار با محیط زیست هستند مطرح می‌شود (۱۱-۸). مکمل‌های پروبیوتیکی سلول‌های زنده باکتریایی هستند که اگر به میزان کافی استفاده شوند ایمنی میزبان را بهبود می‌بخشد (۱۲). از طرفی با وجود شواهد علمی گوناگون برخی نگرانی‌ها نظیر انتقال افقی ژن‌های بیماری‌زا به محیط آبی، زنده‌مانی سویه در روده میزبان، سازگار با محیط زندگی میزبان و انتخاب سویه مناسب برای ذخیره و تجویز مطرح شده است (۱۳-۱۵). در یک بازنگری مجدد مطالعات اخیر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌های غیرزنده (پاراپروبیوتیک) نیز مانند همتای زنده خود به دلیل اثرات سلامتی بخش آنها به عنوان یک جایگزین مناسب معرفی می‌شوند (۱۶،۱۷). مطالعات نشان داده است که موجودات آبی با مصرف باکتری‌های پاراپروبیوتیک علاوه بر بازماندگی، شاخص‌های ایمنی نیز در آنها افزایش پیدا کرده است و در مقابل عوامل بیماری‌زا مقاوم شده‌اند (۱۸-۲۲). هدف از این مطالعه مروری بررسی مفهوم پاراپروبیوتیک‌ها، آماده سازی پاراپروبیوتیک‌ها و همچنین ارزیابی شاخص‌های مرتبط با سلامت نظیر رشد، ایمنی و مقاومت در برابر عوامل عفونی در آبی پروری است.

موانع استفاده از میکروب‌های زنده در آبی پروری

سویه‌های پروبیوتیکی که برای حیوانات خشکی‌زی استفاده می‌شوند متفاوت از حیوانات آبی هستند و برای انتخاب سویه موردنظر باید یک سری معیارهای خاص نظیر ایمنی، سازگاری، کلونی سازی و ماندگاری در روده، در نظر گرفته شود (۲۳،۲۴). کاربرد میکروب‌های زنده باکتریایی در محیط آبی با وجود اثرات مفید دچار یکسری موانع هست که ایده استفاده از میکروب‌های غیرزنده باکتریایی مطرح می‌شود (۲۵،۲۶). مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از سویه‌های باکتریایی به صورت طولانی مدت یا کوتاه مدت در هنگام چالش با عوامل بیماری‌زا ممکن است تأثیر منفی بر گونه آبی داشته باشد (۲۷،۲۸). مقدار تجویز سویه پروبیوتیکی نیز یک عامل مهم در تعیین اثربخشی پروبیوتیک‌ها است (۲۹).

تعلیق تجویز سویه باکتریایی ممکن است منجر به دیسبیوز روده شود و حساسیت پاتوژن نسبت به گونه آبی را افزایش دهد (۳۳-۳۰). همچنین ادعا می‌شود که ممکن است سویه پروبیوتیکی توانایی کلونی سازی را در دستگاه گوارش نداشته باشد و در برابر عامل بیماری‌زا ایمنی ایجاد نکند (۳۴،۳۳). گزارش شده که اثرات آنتاگونیستی سویه میکروبی زنده عملکرد عوامل بیماری‌زا را در مقابله با میزبان تقویت می‌کند (۳۵). علاوه بر این استفاده از برخی از میکروب‌های زنده منجر به انتقال افقی ژن‌های بیماری‌زا به حیوانات آبی شده است (۳۶،۳۷).

مفهوم و کارایی پاراپروبیوتیک‌ها

de Almada و همکاران ادعا کرده‌اند که پاراپروبیوتیک‌ها میکروب‌های غیر زنده‌ای هستند که به صورت عصاره‌های سلولی خام یا سلول‌های غیرفعال (پاره شده یا دست نخورده) تعریف می‌شوند که با تجویز به اندازه کافی اثرات سلامتی بخش بر میزبان می‌گذارند (۳۸). در اصطلاح پاراپروبیوتیک پیشوند "پارا" ریشه یونانی دارد که به معنای "غیرمعمول"، یا "در کنار" به کار می‌رود و به طور غیرمستقیم با همتای زنده خود مقایسه می‌شود (۳۹). در برخی موارد، پاراپروبیوتیک‌ها ممکن است به عنوان postbiotics (پس از بیوتیک) در نظر گرفته شوند که اشاره به اثربخشی سلول‌های میکروبی پس از مرگ دارد و تا حدودی با معنای پاراپروبیوتیک‌ها همخوانی دارند (۴۰،۱۶). پاراپروبیوتیک‌ها شامل سلول‌های میکروبی و اجزای ساختاری سلول هستند که از طریق غیرفعالسازی به واسطه طیف وسیعی از درمان‌های فیزیکی و شیمیایی تشکیل می‌شوند (۴۱،۱۲). استدلال می‌شود که زنده ماندن باکتری‌ها یک نیاز ضروری برای ارائه مزایای سلامتی نیست و باکتری‌های غیرفعال به عنوان یک اصلاح‌کننده پاسخ‌های بیولوژیکی هستند (۴۲،۴۱). بنابراین به عنوان یک ابزار جدید برای کنترل بیماری و بهبود کیفیت آب در آبی پروری استفاده شده‌اند (۴۳،۴۴).

تهیه پاراپروبیوتیک‌ها

برای تولید پاراپروبیوتیک‌ها عمدتاً سویه‌های باکتریایی با روش‌های فیزیکی (تیمار حرارتی، تیمار فرمالین، تابش فرابنفش، تابش ماورابنفش، اختلال در فشار هیدرواستاتیک، آبیگری و استفاده از صوت) و شیمیایی (تیمار اسیدی، فرمالین) مختل می‌شوند (۴۸-۴۵).

استفاده از روش تیمار حرارتی برای غیرفعال کردن مکمل‌های پروبیوتیکی در صنعت آبی پروری از نظر اقتصادی باصرفه است و روند غیرفعالسازی آن پیچیده نیست (۵۲-۴۹). روش‌های غیرفعالسازی پروبیوتیک به عوامل مختلفی نظیر سویه باکتریایی، مرحله رشد و محیط کشت بستگی دارد (۴۰،۱۷). از آنجایی که پاراپروبیوتیک‌ها سلول‌های غیرزنده

غیرفعال شده باعث تقویت ایمنی تیلپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) در برابر عفونت استریپتوکوکوس شدند (۶۳). با وجود اینکه که تزریق فرمالین به صورت درون صفاقی برای ایمن سازی ماهی بهتر از روش غوطه‌وری بود با این حال، روش غوطه‌وری نیز به عنوان یک استراتژی جایگزین برای غیرفعالسازی معرفی شد (۶۳).

ارزیابی شاخص‌های سلامتی پاراپروبیوتیک‌ها شاخص رشد

استفاده از الگوهای مناسب به منظور کاهش هزینه‌های تولید از اهداف مدیریتی در آبی‌پروری می‌باشد (۶۴). باکتری‌های پروبیوتیکی با اصلاح جامعه میکروبی کارایی هضم را در دستگاه گوارش میزبان افزایش دادند و در نهایت باعث افزایش رشد و اثرات سلامت‌بخش بر دستگاه گوارش میزبان شدند (۶۵). در همین راستا مطالعات متعددی در خصوص استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی پرورشی بر شاخص‌های رشد گزارش شده است. مطالعات نشان داد که ماهیان شانک سیاه (*Acanthopagrus schlegelii*) که با جیره‌های حاوی سویه *L. plantarum* غیرفعال شده با حرارت تغذیه شدند، شاخص‌های رشد در آنها بهبود پیدا کرد (۶۶-۶۷). در مطالعاتی دیگر مشاهده شد که استفاده از مقدار مناسب سویه باکتریایی *L. plantarum* غیرفعال شده در جیره غذایی، کارایی رشد را در تیلپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) و تیلپیا قرمز (*Oreochromis sp.*) بهبود بخشید (۵۶۸،۶۹). Duc و همکاران دریافتند که با افزودن مکمل پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس پلنتاریوم غیرفعال شده با گرما به جیره غذایی گربه ماهی راه‌راه (*Pangasianodon hypophthalmus*) عملکرد رشد در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت (۷۰). در همین راستا مصرف این مکمل میکروبی در گربه ماهی سربرگ (*Clarias macrocephalus*) نیز مؤثر بود (۲۰). همچنین، ماهی سرماری راه‌راه (*Channa striata*) که به روش هاپا کشت شده بود با مصرف غذای حاوی مکمل پاراپروبیوتیکی لاکتوباسیلوس پلنتاریوم (HK L-137) شاخص‌های بقا و رشد در آنها بهبود پیدا کرد (۷۱). Zheng و همکاران نشان دادند که مکمل‌های لاکتوباسیلی غیرفعال شده با فراصوت و حرارت موجب اصلاح جامعه میکروبی در روده میزبان شد و کارایی رشد را بهبود بخشید (۴۹). در مطالعاتی دیگر نیز ادعا شد که مصرف ترکیبی لاکتوباسیلوس پلنتاریوم (HK L-137) با باسیلوس sp (BSJ-10) و لاکتوباسیلوس پلنتاریوم با GH35A و GH35B در جیره غذایی آبزیان تأثیر مثبت بر عملکرد میکروبیوتای روده و شاخص‌های رشد دارد (۷۲،۷۳).

تقویت سیستم ایمنی

سیستم ایمنی آبزیان تحت تأثیر عوامل استرس‌زا در محیط مختل می‌شود و منجر به بروز انواع بیماری‌ها و در نتیجه محدودیت

هستند تشخیص آنها در روده میزبان دشوار است و با تکنیک‌های سنتی نمی‌توان آنها را جداسازی و خالص سازی کرد (۱۶). بنابراین برای شمارش آنها از روش‌های دقیق مولکولی مانند PCR و فلوسیتومتری (برای ارزیابی تغییرات ریخت شناسی و فیزیولوژیکی) استفاده می‌شود (۵۳،۴۱،۵۴). Li و همکاران فهرستی از سویه‌های باکتریایی در دمای مختلف از ۱۲۱-۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰-۱۲۰ دقیقه که به وسیله تیمار حرارتی غیرفعال شده‌اند را گزارش کرد. در روش پرتو فرابنفش که یک اشعه غیریونیزه‌کننده است در طیف گسترده‌ای از امواج الکترومغناطیسی (۴۰۰-۲۰۰ نانومتر) در پروتئین و DNA باکتری اختلال ایجاد کرد و تاثیرات قابل توجهی بر عملکرد سویه باکتریایی گذاشت (۱۶).

مطالعات نشان داد که سلول‌های میکروبی حاوی لاکتوباسیلوس کارئی (*Lactocaseibacillus casei* BL23. Mbio)، لاکتوباسیلوس پلنتاریوم (*L. plantarum*) و باسیلوس سابتیلیس (*B. subtilis*) به مدت ۲/۵ ساعت تحت تابش فرابنفش غیرفعال شدند (۵۵-۵۷).

روش صوت، یک روش فیزیکی است که با تابش امواج صدادر به سویه‌های باکتریایی منجر به آسیب دیدن و پارگی دیواره سلولی و DNA در آنها می‌شود و در نهایت سلول‌های باکتریایی غیرفعال می‌شوند (۱۷). مطالعات محدودی برای استفاده از امواج صوت در آبی‌پروری انجام شده است. مطالعات نشان می‌دهد که افزودن سویه غیرفعال انتروکوک آویوم (*Enterococcus avium*) به خوراک رشد و ایمنی را بهبود بخشید. همچنین استفاده از سویه غیرفعال شده رودوکوکوس کراپ سدتی (*Rhodococcus kroppenstedtii*) به عنوان یک ترکیب زیست فعال کیفیت آب را بهبود بخشید و در برابر عفونت *Pseudomonas aeruginosa* و *Vibrio harveyi* ایمنی ایجاد کرد (۵۸،۵۹). علاوه بر این روش‌های فیزیکی، استفاده از فرمالین به عنوان یک راهکار درمانی شیمیایی برای از بین بردن عوامل عفونی در آبی‌پروری مرسوم است (۴۱،۱۷). استفاده از فرمالین به صورت غوطه‌وری حمام یا تزریق درون صفاقی صورت می‌گیرد (۶۰). ماده فرمالین سویه‌های میکروبی را بسته به زمان و دمای مورد استفاده از طریق تعامل با اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک غیر فعال می‌کند (۶۱). مطالعه Nunez Ortiz و همکاران نشان داد که تزریق درون صفاقی فرمالین در جهت غیرفعال کردن سویه باکتریایی VERV (جدا شده ۲۸۳،۲۰۰۹ RGNNV) باعث ایجاد ایمنی در برابر عفونت بتانوداویروس (*Betanodavirus*) در ماهی سی‌ب‌اس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) شد ولی در حالی که غوطه‌وری در حمام فرمالین مؤثر نبود (۶۲). با تزریق ۳ درصد فرمالین به صورت درون صفاقی، ۲۴ ساعت طول کشید که سویه‌های باکتریایی E. faecalis (BFTS22 و BFF1B1)، E. HIRAE (BFTS29) و E. faecium (BFTS31) غیرفعال شدند و سپس سویه‌های

محیط زیست به صورت بیولوژیکی و مصنوعی می‌توانند با فعال کردن مستقیم سلول‌های ایمنی پاسخ‌های ایمنی ذاتی غیراختصاصی را تقویت کنند (۷۴). مطالعات انجام شده نشان داد که استفاده از لاکتوباسیلوس پلنتاریوم (*L.plantarum* I-137) کشته شده با حرارت منجر به مقاومت در برابر عفونت *Aeromonas hydrophila* در گربه ماهی سرگنده (*Clarias macrocephalus*) شد (۲۰). همچنین با افزودن لاکتوباسیلوس پلناریوم به جیره غذایی بچه گربه ماهی راه راه (*Pangasianodon hypophthalmus*) باعث ایجاد مقاومت در برابر عفونت *Edwardsiella ictalurid* شد و مرگ و میر را کاهش داد (۷۰). در همین راستا مطالعه Van Nguyen و همکاران نیز نشان داد که استفاده از این مکمل پاراپروبیوتیکی باعث غلبه بر عفونت *Streptococcus agalactiae* در تیلپایا نیل (*Oreochromis niloticus*) شد و ایمنی را بهبود بخشید (۶۸). علاوه بر این، مصرف مکمل پروبیوتیکی غیرفعال شده با حرارت در جیره غذایی کفشک زیتونی (*Clarias macrocephalus*) باعث ایجاد تلفات کمتری در مواجهه با عفونت *A. hydrophila* شد (۸۹). استفاده از مکمل پاراپروبیوتیکی باسیلوس *Bacillus sp. NP5* در تغذیه تیلپایا نیل (*O. niloticus*) منجر به کنترل عفونت *S. agalactiae* شد و درصد بقای بالاتری نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد (۸۵،۹۰). استفاده از مکمل‌های پروبیوتیکی غیرفعال شده با حرارت و فراصوت SWF@ (عمدتاً شامل باسیلوس سوبتیلیس، لاکتوکوکس لاکتیس و ستوباکتریوم سامرا) و GWF@ (متشکل از ساکارومایسس سرویزیه، باسیلوس آمیلولیکوفاسینس و ستوباکتریوم سامرا) باعث بهبود سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری *Aeromonas veronii* (*A. veronii* Hm091) در ماهی خاویاری هیبریدی (*Acipenser baerii* x *Acipenser schrenckii*) شد (۱۸،۸۲).

استفاده از مکمل پروبیوتیکی *Pseudoalteromonas piscicida* 2515 که با حرارت کشته شده بود، ایمنی غیراختصاصی روده را بهبود بخشید و از کفشک زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) در برابر عفونت *Vibrio anguillarum* محافظت کرد (۹۱). Giri و همکاران مشاهده کردند که با اضافه کردن سویه پروبیوتیکی کشته شده با حرارت به جیره غذایی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) باعث بهبود پارامترهای ایمنی و افزایش مقاومت در برابر عفونت *P. aeruginosa* VSG2 (*Pseudomonas aeruginosa*) شد (۸۶).

سخت پوستان دارای سیستم ایمنی ذاتی کارآمدی هستند که با فعال کردن ایمنی سلولی و هومورال با عوامل بیماری زا مبارزه می‌کنند (۹۲،۹۳). در سخت پوستان هموسیت‌های در گردش نقش مهمی در پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال دارند (۹۴). افزودن مکمل پروبیوتیکی کلستریدیوم بوتیریکوم CBG01

در آبی پروری می‌شود. استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها می‌تواند یکی از راهکارهای مفید برای مقابله با عوامل استرس زای محیطی و سلامت آبزیان باشد. در همین راستا مطالعات متعددی به منظور استفاده از پروبیوتیک‌های کشته شده برای بهبود سیستم ایمنی آبزیان انجام گرفته است. مکمل‌های پاراپروبیوتیکی با تأثیر بر سیستم ایمنی منجر به تنظیم ژن‌های مرتبط با ایمنی سلولی (*IL-1β*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, *IL-12*, *TNF-α*, *COX-2*, *SAA*, *gp96*, *hsp90ab*, *cd3*، *cd4*، *cd8*، *cd96*)، سیتوکین‌های التهابی (*IFN-γ*، *IFN-1α*) و سایر سیتوکین‌های مرتبط با ایمنی در لکوسیت قدامی ماهی‌ها در محیط آزمایشگاهی و غیر آزمایشگاهی شد (۷۴-۸۴). استفاد از مکمل‌های پاراپروبیوتیکی حاوی سویه‌های باکتریایی متعدد در جیره غذایی ماهیان خاویاری هیبریدی (*Acipenser baerii* x *Acipenser schrenckii*) بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی غیر اختصاصی (*C3a*، *DEFBL-1* و لیزوزیم) را در ماهیان خاویاری هیبریدی افزایش داد (۸۲،۱۸). استفاده از سویه‌های باکتریایی غیرفعال شده با حرارت در جیره غذایی ماهی‌ها باعث تعدیل شاخص‌های مرتبط با ایمنی لکوسیت‌ها نظیر لیزوزیم، فعالیت فاگوسیتی، تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، اریتروسین کل، هموتوکریت، هموگلوبین، انفجار تنفسی و لکوسیت کل شد (۷۴،۷۶،۸۵،۶۸،۷۰،۶۹،۷۱).

در همین راستا استفاده از مکمل‌های پاراپروبیوتیکی باعث تقویت واکنش‌های ایمنی سلولی و هومورال نظیر لیزوزیم، ایمونوگلوبین M، آلکالین فسفاتاز، محتوای پروتئین کل، سطح میلوپراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتیون پراکسیداز و تریپسین شد (۸۳،۸۶،۶۶). علاوه بر این استفاده از پاراپروبیوتیک در سخت‌پوستان نیز بی‌تأثیر نبوده است. مصرف مکمل‌های پروبیوتیکی غیرفعال شده با حرارت و فراصوت در سخت پوستان باعث تنظیم ژن‌های مرتبط با ایمنی (*LGBP*، *proPO*، *LZM*، *IF4E1α*، *E-BP4*، *TOR*، *Relish*، *Toll*، *Imd*، *HSP70*، *ferritin*، *lectin-c*، *hsp60*، *thioredoxin* و *penaeidin-3*) شد و شاخص‌های مرتبط با ایمنی (فعالیت فاگوسیتی، تعداد کل هموسیت‌ها، آلکالین فسفاتاز، اسید فسفاتاز، نیتریک اکساید سنتاز، لیزوزیم، پراکسیداز، فعالیت‌های سوپراکسید دیسموتاز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، پلی فنل اکسیداز و محتوای فنونول اکسیداز) را در سرم و هپاتوپانکراس بهبود بخشید (۵۷،۷۲،۲۲،۸۷).

مقاومت در برابر عوامل بیماری زا

استفاده از محرک‌های ایمنی نظیر پروبیوتیک‌ها در آبی پروری با کنترل عفونت‌های بیماری‌زا باعث گسترش ژن‌های مقاومت باکتریایی می‌شوند و به عنوان جایگزین‌های عملی برای آنتی بیوتیک‌ها هستند (۸۸،۴۴). این محرک‌های ایمنی سازگار با

زمان مشخص توانست تاثیرات قابل توجهی بر رشد، بازماندگی و ایمنی موجودات آبی بگذارد و آنها را در مقابل عفونت‌های بیماری‌زا محافظت کند (۶۳). واکسیناسیون یکی از مناسب‌ترین و مؤثرترین روش‌هایی است که در حال حاضر در دسترس صنعت آبی پروری برای جلوگیری از بیماری‌های عفونی استفاده می‌شود (۹۶). استفاده از سویه‌های پاراپروبیوتیکی به صورت تزریقی (درون صفاقی) و خوراکی در کنار واکسن‌ها در اصلاح میکروب‌های زیستی و تقویت سیستم ایمنی آبزیان امیدبخش بوده است. بنابراین توسعه پاراپروبیوتیک‌ها در نقش حامل واکسن ایمنی نیازمند ارزیابی دقیق و مطالعات بیشتری می‌باشد.

تشکر و قدردانی: از همه اساتیدی که در غنای مطالب حاضر باری‌رسان بودند، نهایت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Mustapha UF, Alhassan AW, Jiang DN, Li GL. Sustainable aquaculture development: a review on the roles of cloud computing, internet of things and artificial intelligence (CIA). *Reviews in Aquaculture*. 2021; 13(4):2076-91. doi:10.1111/raq.12559
2. FAO (access time 2022)
3. Rathore G, Lekshmi N, Swaminathan TR. Antimicrobial resistance in aquaculture and fisheries-Status and way forward. *Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunology and Infectious Diseases*. 2022;43(1):58-65. doi:10.5958/0974-0147.2022.00008.3
4. Mugimba KK, Byarugaba DK, Mutoloki S, Evensen Ø, Munang'andu HM. Challenges and solutions to viral diseases of finfish in marine aquaculture. *Pathogens*. 2021;10(6):673. doi:10.3390/pathogens10060673
5. Dawood MA, Koshio S, Abdel-Daim MM, Van Doan H. Probiotic application for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. 2019;11 (3): 907-24. doi:10.1111/raq.12272
6. Silva CP, Louros V, Silva V, Otero M, Lima DL. Antibiotics in Aquaculture Wastewater: Is It Feasible to Use a Photodegradation-Based Treatment for Their Removal?. *Toxics*. 2021;9(8):194. doi:10.3390/toxics9080194
7. Chowdhury S, Rheman S, Debnath N, Delamare-Deboutteville J, Akhtar Z, Ghosh S, et al. Antibiotics usage practices in aquaculture in Bangladesh and their associated factors. *One Health*. 2022;15: 100445. doi:10.1016/j.onehlt.2022.100445

(Clostridium Butylicum) غیرفعال شده با فراصوت در بهبود عملکرد ایمنی مؤثر بود و از میگو پاشفید غربی (*litoPenaeus*) در برابر عفونت *Vibrio parahaemolyticus* محافظت کرد (۷۰). همچنین Dash و همکاران مشاهده کردند که افزودن مکمل *L. plantarum* کشته شده با گرما به جیره غذایی به طور قابل توجهی میزان بقای میگو بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) را پس از چالش با *A. hydrophila* بهبود بخشید (۹۵).

نتیجه گیری

استفاده مکرر از آنتی‌بیوتیک‌ها، عوامل شیمی درمانی و واکسن‌ها برای کاهش بیماری‌های عفونی اخیراً به دلیل خطرات برای آبی پروری و سلامت عمومی مورد انتقاد قرار گرفته است. بنابراین، جایگزین‌های ارزان و مؤثر نظیر ترکیبات ضد میکروبی که سازگار با محیط زیست هستند مورد نیاز است (۹۲). پروبیوتیک‌ها به عنوان یک جایگزین میکروبی زنده برای کنترل بیماری و بهبود کیفیت آب در نظر گرفته می‌شود (۴۳،۴۴). مطالعات نشان داد که طیف وسیعی از سویه‌های باکتریایی گرم مثبت و منفی که غیرفعال شده بودند به صورت تک یا ترکیبی به عنوان پاراپروبیوتیک در نظر گرفته شدند (۴۱). استفاده از ترکیبات پاراپروبیوتیکی در مقدار و

8. Pérez-Sánchez T, Mora-Sánchez B, Balcázar JL. Biological approaches for disease control in aquaculture: advantages, limitations and challenges. *Trends in microbiology*. 2018;26(11):896-903. doi:10.1016/j.tim.2018.05.002
9. Pushparaj K, Kuchi Bhotla H, Pappuswamy M, Issara U, Balasubramanian B, Al-Dhabi NA, et al. Perspectives and Implications of Probiotics as Beneficial Mediators in Aquaculture Industry. In *Aquaculture Science and Engineering 2022* (pp. 79-97). Springer, Singapore. doi:10.1007/978-981-19-0817-0_3
10. Van Doan H, Hoseinifar SH, Sringarm K, Jaturasitha S, Khamlor T, Dawood MA, et al. Effects of elephant's foot (*Elephantopus scaber*) extract on growth performance, immune response, and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology*. 2019; 93: 328-35. doi:10.1016/j.fsi.2019.07.061
11. Lieke T, Meinelt T, Hoseinifar SH, Pan B, Straus DL, Steinberg CE. Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases. *Reviews in Aquaculture*. 2020;12(2):943-65. doi:10.1111/raq.12365
12. Parvarei MM, Khorshidian N, Fazeli MR, Mortazavian AM, Nezhad SS, Mortazavi SA. Comparative effect of probiotic and paraprobiotic addition on physicochemical, chemometric and microstructural properties of yogurt. *LWT*. 2021; 144: 111177. doi:10.1016/j.lwt.2021.111177

13. Hoseinifar SH, Sun YZ, Wang A, Zhou Z. Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives. *Frontiers in microbiology*. 2018; 9:2429. doi:10.3389/fmicb.2018.02429
14. Goh JX, Tan LT, Law JW, Ser HL, Khaw KY, Letchumanan V, et al. Harnessing the potentialities of probiotics, prebiotics, synbiotics, paraprobiotics, and postbiotics for shrimp farming. *Reviews in Aquaculture*. 2022;14(3):1478-557. doi:10.1111/raq.12659
15. Wang A, Ran C, Wang Y, Zhang Z, Ding Q, Yang Y, et al. Use of probiotics in aquaculture of China-a review of the past decade. *Fish & shellfish immunology*. 2019;86:734-55. doi:10.1016/j.fsi.2018.12.026
16. Li S, Tran NT. Paraprobiotics in Aquaculture. In *Probiotics in Aquaculture* (pp. 131-164). Springer, Cham. 2022. doi:10.1007/978-3-030-98621-6_7
17. Choudhury TG, Kamilya D. Paraprobiotics: An aquaculture perspective. *Reviews in Aquaculture*. 2019; 11(4): 1258-1270. doi:10.1111/raq.12290
18. Wu X, Teame T, Hao Q, Ding Q, Liu H, Ran C, et al. Use of a paraprobiotic and postbiotic feed supplement (HWF™) improves the growth performance, composition and function of gut microbiota in hybrid sturgeon (*Acipenser baerii* x *Acipenser schrenckii*). *Fish & Shellfish Immunology*. 2020;104:36-45. doi:10.1016/j.fsi.2020.05.054
19. Van Doan H, Hoseinifar SH, Ringø E, Ángeles Esteban M, Dadar M, et al. Host-associated probiotics: a key factor in sustainable aquaculture. *Reviews in fisheries science & aquaculture*. 2020; 28(1):16-42. doi:10.1080/23308249.2019.1643288
20. Hien TT, Hoa TT, Liem PT, Onoda S, Duc PM. Effects of dietary supplementation of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 on growth performance and immune response of bighead catfish (*Clarias macrocephalus*). *Aquaculture Reports*. 2021; 20: 100741. doi:10.1016/j.aqrep.2021.100741
21. Duc PM. Dietary supplementation with heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 improves growth, immune response, and disease resistance of snakehead (*Channa striata*). *AACL Bioflux*. 2021; 14(4).
22. Tapaamorndech S, Chantarasakha K, Kingcha Y, Chaiyapechara S, Phromson M, Sriariyanun M, et al. Effects of *Bacillus aryabhattai* TBRC8450 on vibriosis resistance and immune enhancement in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*. 2019;86:4-13. doi:10.1016/j.fsi.2018.11.010
23. El-Saadony MT, Alagawany M, Patra AK, Kar I, Tiwari R, Dawood MA, et al. The functionality of probiotics in aquaculture: an overview. *Fish & Shellfish Immunology*. 2021;117:36-52. doi:10.1016/j.fsi.2021.07.007
24. Akter MN, Parvez I, Patwary ZP. Beneficial effects of probiotics in aquaculture. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 2016; 4(5): 494-9.
25. Wang A, Ran C, Wang Y, Zhang Z, Ding Q, Yang Y, et al. Use of probiotics in aquaculture of China-a review of the past decade. *Fish & shellfish immunology*. 2019; 86:734-55. doi:10.1016/j.fsi.2018.12.026
26. Cai X, Wen JS, Long H, Ren W, Zhang X, Huang AY, Xie ZY. The probiotic effects, dose, and duration of lactic acid bacteria on disease resistance in *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*. 2022; 26:101299. doi:10.1016/j.aqrep.2022.101299
27. Nedaei S, Noori A, Valipour A, Khanipour AA, Hoseinifar SH. Effects of dietary galactooligosaccharide enriched commercial prebiotic on growth performance, innate immune response, stress resistance, intestinal microbiota and digestive enzyme activity in Narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823). *Aquaculture*. 2019;499:80-9. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.08.076
28. Austin B, Sharifuzzaman SM. Probiotics in aquaculture.
29. Sharifuzzaman SM, Austin B. Development of protection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Vibrio anguillarum* following use of the probiotic *Kocuria* SM. *Fish & Shellfish Immunology*. 2010;29(2):212-6. doi:10.1016/j.fsi.2010.03.008
30. Huang Z, Zeng S, Xiong J, Hou D, Zhou R, Xing C, et al. Microecological Koch's postulates reveal that intestinal microbiota dysbiosis contributes to shrimp white feces syndrome. *Microbiome*. 2020; 8(1):1-3. doi:10.1186/s40168-020-00802-3
31. He RP, Feng J, Tian XL, Dong SL, Wen B. Effects of dietary supplementation of probiotics on the growth, activities of digestive and non-specific immune enzymes in hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* *Epinephelus fuscoguttatus*). *Aquaculture Research*. 2017;48(12):5782-90. doi:10.1111/are.13401
32. El-Salam MH, Hippen AR, Goma MM, Assem FM, Abbas H, El-Aziz MA, et al. Preparation and properties of probiotic brined soft cheese (Tallaga) of high level of conjugated linoleic acid. *Egyptian Journal of Dairy Science*. 2011; 39(1):111-25.
33. Rendueles O, Ferrières L, Frétau M, Bégaud E, Herbomel P, Levraud JP, et al. A new zebrafish model of oro-intestinal pathogen colonization reveals a key role for adhesion in protection by probiotic bacteria. *PLoS pathogens*. 2012;8(7):e1002815. doi:10.1371/journal.ppat.1002815
34. Valenzuela MJ, Caruffo M, Herrera Y, Medina DA, Coronado M, Feijóo CG, et al. Evaluating the capacity of human gut microorganisms to colonize the zebrafish larvae (*Danio rerio*). *Frontiers in microbiology*. 2018;9:1032. doi:10.3389/fmicb.2018.01032
35. Ran C. Isolation and Characterization of *Bacillus* spp. as Potential Probiotics for Channel Catfish, *Ictalurus punctatus* (Doctoral dissertation).
36. Egervärn M, Lindmark H, Olsson J, Roos S. Transferability of a tetracycline resistance gene from probiotic *Lactobacillus reuteri* to bacteria in the gastrointestinal tract of humans. *Antonie Van*

- Leeuwenhoek. 2010;97(2):189-200. doi:10.1007/s10482-009-9401-0
37. Cohen PA. Probiotic safety-no guarantees. JAMA internal medicine. 2018;178(12):1577-8. doi:10.1001/jamainternmed.2018.5403
38. de Almada CN, Almada CN, Martinez RC, Sant'Ana AS. Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. Trends in food science & technology. 2016; 58:96-114. doi:10.1016/j.tifs.2016.09.011
39. Siciliano RA, Reale A, Mazzeo MF, Morandi S, Silvetti T, Brasca M. Paraprobiotics: A new perspective for functional foods and nutraceuticals. Nutrients. 2021;13(4):1225. doi:10.3390/nu13041225
40. Goh JX, Tan LT, Law JW, Ser HL, Khaw KY, Letchumanan V, et al. Harnessing the potentialities of probiotics, prebiotics, synbiotics, paraprobiotics, and postbiotics for shrimp farming. Reviews in Aquaculture. 2022;14(3):1478-557. doi:10.1111/raq.12659
41. Barros CP, Guimaraes JT, Esmerino EA, Duarte MC, Silva MC, Silva R, et al. Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products. Current Opinion in Food Science. 2020;32:1-8. doi:10.1016/j.cofs.2019.12.003
42. González R, González D, Stambuk F, Ramírez F, Guzmán F, Mercado L, et al. A g-type lysozyme from the scallop *Argopecten purpuratus* participates in the immune response and in the stability of the hemolymph microbiota. Fish & Shellfish Immunology. 2022;123:324-34. doi:10.1016/j.fsi.2022.03.015
43. Chauhan A, Singh R. Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative approach. Symbiosis. 2019;77(2):99-113. doi:10.1007/s13199-018-0580-1
44. Ringø E, Van Doan H, Lee SH, Soltani M, Hoseinifar SH, Harikrishnan R, et al. Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. Journal of applied microbiology. 2020;129(1):116-36. doi:10.1111/jam.14628
45. Aguilar-Toalá JE, Garcia-Varela R, Garcia HS, Mata-Haro V, González-Córdova AF, Vallejo-Cordoba B, et al. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. Trends in Food Science & Technology. 2018;75:105-14. doi:10.1016/j.tifs.2018.03.009
46. Tran NT, Yang W, Nguyen XT, Zhang M, Ma H, Zheng H, et al. Application of heat-killed probiotics in aquaculture. Aquaculture. 2022;548:737700. doi:10.1016/j.aquaculture.2021.737700
47. Choudhury TG, Kamilya D. Paraprobiotics: An aquaculture perspective. Reviews in Aquaculture. 2019;11(4):1258-70. doi:10.1111/raq.12290
48. Yeşilyurt N, Yılmaz B, Ağagündüz D, Capasso R. Involvement of probiotics and postbiotics in the immune system modulation. Biologics. 2021;1(2): 89-110. doi:10.3390/biologics1020006
49. Zheng X, Duan Y, Dong H, Zhang J. The effect of *Lactobacillus plantarum* administration on the intestinal microbiota of whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture. 2020 Sep 15;526:735331. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.735331
50. Cerezo IM, Domínguez-Maqueda M, Carmen Balebóna M, Martínez-Manzanares E, Arijo S. Application Methods of Probiotics and Options. In: Probiotics in Aquaculture 2022 (pp. 25-52). Springer, Cham. doi:10.1007/978-3-030-98621-6_3
51. Chizhayeva A, Amangeldi A, Oleinikova Y, Alybaeva A, Sadanov A. Lactic acid bacteria as probiotics in sustainable development of aquaculture. Aquatic Living Resources. 2022;35:10. doi:10.1051/alr/2022011
52. Almada CN, Almada-Erix CN, Roquette AR, Santos-Junior VA, Cabral L, Noronha MF, et al. Paraprobiotics obtained by six different inactivation processes: Impacts on the biochemical parameters and intestinal microbiota of Wistar male rats. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 2021; 72(8):1057-70. doi:10.1080/09637486.2021.1906211
53. Abdel-Karim SA, El-Ganiny AM, El-Sayed MA, Abbas HA. Promising FDA-approved drugs with efflux pump inhibitory activities against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. Plos one. 2022 Jul 29;17(7):e0272417. doi:10.1371/journal.pone.0272417
54. Chen Y, Zhou J, Wan X, Gao S. Establishment of a multiplex PCR and an investigation of co-infection rate of WSSV and IHHNV in *Penaeus vannamei* in northern of Jiangsu. Journal of Animal and Veterinary Advances. 2012;11(2):181-5. doi:10.3923/javaa.2012.181.185
55. Azhdari SM, Tavabe KR, Pournaki SK, Hosseini SV, Bagheri D, Javanmardi S, et al. Effects of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum* probiotics on the *Litopenaeus vannamei* growth performance, hemolymph factors, and physicochemical parameters.
56. da Silva Barreira D, Lapaquette P, Novion Ducassou J, Couté Y, et al. Spontaneous prophage induction contributes to the production of membrane vesicles by the gram-positive bacterium *Lactococcus casei* BL23. Mbio. 2022; 13 (5): e02375-22. doi:10.1128/mbio.02375-22
57. Luo K, Tian X, Wang B, Wei C, Wang L, Zhang S, et al. Evaluation of paraprobiotic applicability of *Clostridium butyricum* CBG01 in improving the growth performance, immune responses and disease resistance in Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. Aquaculture. 2021; 544:737041. doi:10.1016/j.aquaculture.2021.737041
58. Chu TW, Chen CN, Pan CY. Antimicrobial status of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed *Enterococcus avium* originally isolated from goldfish intestine. Aquaculture Reports. 2020;17:100397. doi:10.1016/j.aqrep.2020.100397
59. Kulkarni R, Deobagkar D, Zinjarde S. Nanoparticles derived from *Rhodococcus kroppenstedtii* as bioactive agents for controlling aquaculture associated bacterial pathogens. Aquaculture. 2022;547:737538. doi:10.1016/j.aquaculture.2021.737538

60. Sughra F, Hafeez-ur-Rehman M, Abbas F, Altaf I, Aslam S, Ali A, et al. Evaluation of oil-based inactivated vaccine against *Aeromonas hydrophila* administered to *Labeo rohita*, *Cirrhinus mrigala* and *Ctenopharyngodon idella* at different concentrations: Immune response, immersion challenge, growth performance and histopathology. *Aquaculture Reports*. 2021;21: 100885. doi:10.1016/j.aqrep.2021.100885
61. Leal JF, Neves MG, Santos EB, Esteves VI. Use of formalin in intensive aquaculture: properties, application and effects on fish and water quality. *Reviews in Aquaculture*. 2018;10(2):281-95. doi:10.1111/raq.12160
62. Nuñez-Ortiz N, Pascoli F, Picchietti S, Buonocore F, Bernini C, Toson M, et al. A formalin-inactivated immunogen against viral encephalopathy and retinopathy (VER) disease in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Immunological and protection effects. *Veterinary research*. 2016;47(1):1-1. doi:10.1186/s13567-016-0376-3
63. Akter T, Ehsan R, Paul SI, Ador MA, Rahman A, Haque MN, et al. Development of formalin killed vaccine candidate against streptococcosis caused by *Enterococcus* sp. in Nile tilapia. *Aquaculture Reports*. 2022;27:101371. doi:10.1016/j.aqrep.2022.101371
64. Wang C, Chuprom J, Wang Y, Fu L. Beneficial bacteria for aquaculture: nutrition, bacteriostasis and immunoregulation. *Journal of Applied Microbiology*. 2020;128(1):28-40. doi:10.1111/jam.14383
65. Dawood MA, Koshio S, Ishikawa M, Yokoyama S. Interaction effects of dietary supplementation of heat-killed *Lactobacillus plantarum* and β -glucan on growth performance, digestibility and immune response of juvenile red sea bream, *Pagrus major*. *Fish & shellfish immunology*. 2015;45(1):33-42. doi:10.1016/j.fsi.2015.01.033
66. Sagada G, Gray N, Wang L, Xu B, Zheng L, Zhong Z, et al. Effect of dietary inactivated *Lactobacillus plantarum* on growth performance, antioxidative capacity, and intestinal integrity of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) fingerlings. *Aquaculture*. 2021;535:736370. doi:10.1016/j.aquaculture.2021.736370
67. Sagada G, Wang L, Xu B, Tegomo FA, Chen K, Zheng L, et al. Synergistic Effect of Dietary Inactivated *Lactobacillus plantarum* and Berberine Supplementation on Growth Performance, Antioxidant Capacity, and Immune Function of Juvenile Black Sea Bream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Aquaculture Nutrition*. 2022. doi:10.1155/2022/3053724
68. Van Nguyen N, Onoda S, Van Khanh T, Hai PD, Trung NT, Hoang L, et al. Evaluation of dietary Heat-killed *Lactobacillus plantarum* strain L-137 supplementation on growth performance, immunity and stress resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 2019;498:371-9. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.08.081
69. Duc PM, Tu TL, Anh CT, Tuan TN, Onoda S, Hien TT. Effects of Heat-Killed *Lactobacillus plantarum* L-137 on Growth Performance, Feed Utilization, Immune Response, and Survival Rate in Red Tilapia (*Oreochromis* sp.). *Science & Technology Asia*. 2022:199-208.
70. Duc PM, Myo HN, Hoa TT, Liem PT, Onoda S, Hien TT. Effects of heat killed *Lactobacillus plantarum* (HK L-137) supplemental diets on growth, survival and health of juvenile striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 2020;10(3):761-7. doi:10.29322/IJSRP.10.03.2020.p9993
71. Hien TT, Anh CT, Onoda S, Duc PM. Dietary supplementation with heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 improves growth, survival rate, and immune response of snakehead (*Channa striata*) in practical Hapa culture. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*. 2022;15(3):1133-40.
72. Ren X, Han Y, Zeng F, Rabbi MH, Li Z, Cui S, Wu L, Chan Q, Li M, Ren T. Effects of dietary heat-killed *Lactobacillus plantarum* and compound probiotics on the growth performance, antioxidative capacity, intestinal morphology and microbiota of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*. 2022;53(9):3516-30. doi:10.1111/are.15857
73. Back SJ, Park SJ, Moon JS, Lee SB, Jo SJ, Nam TJ, Bai SC, Kong IS, Lee KJ, Lee BJ, Hur SW. The effects of dietary heat-killed probiotics bacteria additives in low-fishmeal feed on growth performance, immune responses, and intestinal morphology in juvenile olive flounder *paralichthys olivaceus*. *Aquaculture Reports*. 2020;18:100415. doi:10.1016/j.aqrep.2020.100415
74. Santos RA, Mariz-Ponte N, Martins N, Magalhães R, Jerusik R, Saavedra MJ, et al. In vitro modulation of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leukocytes by *Bacillus* spp. extracellular molecules upon bacterial challenge. *Fish & Shellfish Immunology*. 2022; 121:285-94. doi:10.1016/j.fsi.2022.01.002
75. Wang J, Feng J, Liu S, Cai Z, Song D, Yang L, Nie G. The probiotic properties of different preparations using *Lactococcus lactis* Z-2 on intestinal tract, blood and hepatopancreas in *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*. 2021;543: 736911. doi:10.1016/j.aquaculture.2021.736911
76. Muñoz C, González-Lorca J, Parra M, Soto S, Valdes N, Sandino AM, Vargas R, González A, Tello M. *Lactococcus lactis* Expressing Type I Interferon From Atlantic Salmon Enhances the Innate Antiviral Immune Response In Vivo and In Vitro. *Frontiers in immunology*. 2021;12. doi:10.3389/fimmu.2021.696781
77. Lin-Zhao Z, Tong-Yang B, Yi-Xuan Y, Ning-Guo S, Xing-Zhang D, Nan-Ji S, et al. Construction and immune efficacy of recombinant *Lactobacillus casei* expressing OmpAI of *Aeromonas veronii* C5-I as molecular adjuvant. *Microbial Pathogenesis*. 2021;156: 104827. doi:10.1016/j.micpath.2021.104827
78. Santibañez A, Paine D, Parra M, Muñoz C, Valdes N, Zapata C, et al. Oral administration of *Lactococcus lactis* producing interferon type ii, enhances the immune response against bacterial

- pathogens in rainbow trout. *Frontiers in immunology*. 2021; 12:2487. doi:10.3389/fimmu.2021.696803
79. Kahyani F, Piralı-Kheirabadi E, Shafiei S, Shenavar Masouleh A. Effect of dietary supplementation of potential probiotic *Weissella confusa* on innate immunity, immune-related genes expression, intestinal microbiota and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*. 2021;27(5):1411-20. doi:10.1111/anu.13279
80. Xie M, Xie Y, Li Y, Zhou W, Zhang Z, Yang Y, Olsen RE, Ringø E, Ran C, Zhou Z. Stabilized fermentation product of *Cetobacterium somerae* improves gut and liver health and antiviral immunity of zebrafish. *Fish & Shellfish Immunology*. 2022; 120: 56-66. doi:10.1016/j.fsi.2021.11.017
81. Domínguez-Maqueda M, Cerezo IM, Tapiapaniagua ST, De La Banda IG, Moreno-Ventas X, Morínigo MÁ, et al. A tentative study of the effects of heat-inactivation of the probiotic strain *Shewanella putrefaciens* Ppd11 on Senegalese sole (*Solea senegalensis*) intestinal microbiota and immune response. *Microorganisms*. 2021;9(4):808. doi:10.3390/microorganisms9040808
82. Teame T, Wang A, Xie M, Zhang Z, Yang Y, Ding Q, et al. Paraprobiotics and postbiotics of probiotic lactobacilli, their positive effects on the host and action mechanisms: a review. *Frontiers in nutrition*. 2020;7:570344. doi:10.3389/fnut.2020.570344
83. Yassine T, Khalafalla MM, Mamdouh M, Elbialy ZI, Salah AS, Ahmedou A, et al. The enhancement of the growth rate, intestinal health, expression of immune-related genes, and resistance against suboptimal water temperature in common carp (*Cyprinus carpio*) by dietary paraprobiotics. *Aquaculture Reports*. 2021;20: 100729. doi:10.1016/j.aqrep.2021.100729
84. Yun S, Jun JW, Giri SS, Kim HJ, Chi C, Kim SG, et al. Immunostimulation of *Cyprinus carpio* using phage lysate of *Aeromonas hydrophila*. *Fish & shellfish immunology*. 2019;86:680-7. doi:10.1016/j.fsi.2018.11.076
85. Mulyadin A, Widanarni W, Yuhana M, Wahjuningrum D. Growth performance, immune response, and resistance of Nile tilapia fed paraprobiotic *Bacillus* sp. NP5 against *Streptococcus agalactiae* infection. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 2021;20(1):34-46. doi:10.19027/jai.20.1.34-46
86. Giri SS, Jun JW, Yun S, Kim HJ, Kim SG, Kim SW, et al. Effects of dietary heat-killed *Pseudomonas aeruginosa* strain VSG2 on immune functions, antioxidant efficacy, and disease resistance in *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*. 2020;514:734489. doi:10.1016/j.aquaculture.2019.734489
87. Yang W, Tran NT, Zhu C, Zhang M, Yao D, Aweya JJ, et al. Enhanced immune responses and protection against the secondary infection in mud crab (*Scylla paramamosain*) primed with formalin-killed *Vibrio parahemolyticus*. *Aquaculture*. 2020; 529:735671. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.735671
88. Pereira WA, Mendonça CM, Urquiza AV, Marteinsson VP, LeBlanc JG, Cotter PD, et al. Use of Probiotic Bacteria and Bacteriocins as an Alternative to Antibiotics in Aquaculture. *Microorganisms*. 2022;10(9):1705. doi:10.3390/microorganisms10091705
89. Hasan MT, Jang WJ, Lee BJ, Kim KW, Hur SW, Lim SG, et al. Heat-killed *Bacillus* sp. SJ-10 probiotic acts as a growth and humoral innate immunity response enhancer in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish & shellfish immunology*. 2019;88:424-31. doi:10.1016/j.fsi.2019.03.018
90. Anggraeni AA, Maharani RB, Mulyadin A, Yuhana M. Different dosage applications of *Bacillus* sp. NP5 para-probiotic on the growth performance and resistance of Nile tilapia against *Streptococcus agalactiae* infection. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 2022;21(2):186-97. doi:10.19027/jai.21.2.186-197
91. Wang A, Meng D, Hao Q, Xia R, Zhang Q, Ran C, et al. Effect of supplementation of solid-state fermentation product of *Bacillus subtilis* HGcc-1 to high-fat diet on growth, hepatic lipid metabolism, epidermal mucus, gut and liver health and gut microbiota of zebrafish. *Aquaculture*. 2022; 560: 738542. doi:10.1016/j.aquaculture.2022.738542
92. Elayaraja S, Mabrok M, Rodkhum C. The Potential Use of Functional Ingredients with Probiotics as Immunostimulants. In *Probiotics in Aquaculture 2022* (pp. 213-237). Springer, Cham. doi:10.1007/978-3-030-98621-6_11
93. Tran NT, Kong T, Zhang M, Li S. Pattern recognition receptors and their roles on the innate immune system of mud crab (*Scylla paramamosain*). *Developmental & Comparative Immunology*. 2020; 102:103469. doi:10.1016/j.dci.2019.103469
94. Liu S, Zheng SC, Li YL, Li J, Liu HP. Hemocyte-mediated phagocytosis in crustaceans. *Frontiers in Immunology*. 2020;11: 268. doi:10.3389/fimmu.2020.00268
95. Dash G, Raman RP, Prasad KP, Makesh M, Pradeep MA, Sen S. Evaluation of paraprobiotic applicability of *Lactobacillus plantarum* in improving the immune response and disease protection in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Fish & shellfish immunology*. 2015;43(1):167-74. doi:10.1016/j.fsi.2014.12.007
96. Kamilya D, Singh M. Probiotics as Vaccine Adjuvants. In *Probiotics in Aquaculture 2022* (pp. 203-212). Springer, Cham. doi:10.1007/978-3-030-98621-6_10