

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy

EFFECTS OF MICROALGAE *Chlorella pyrenoidosa* ON GROWTH, BODY COMPOSITION, INTESTINAL HEALTH AND INNATE IMMUNE RESPONSE IN HYBRID GROUPER, *Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ JUVENILES

ZHANG WENHUI

DEC 2024

Main Supervisor: Mok Wen Jye, Ph.D

Co-Supervisor 1: Professor Yeong Yik Sung, Ph.D

Co-Supervisor 2: Professor Zhou Wenli, Ph.D

School/Institute: Institute of Climate Adaptation and Marine Biotechnology

The present study was conducted to investigate the short- and long-term culturing effects and molecular mechanism of dietary supplement of *C. pyrenoidosa* and *C. pyrenoidosa* green water on growth performance, innate immune and gut health of the hybrid grouper (*E. lanceolatus*♂ × *E. fuscoguttatus*♀). Feeding trials with durations of 15-d and 60-d were conducted on three experimental groups (n=3) as follows: (T1) grouper fed with basal pellets and reared in filtered seawater; (T2) grouper fed with basal pellets and reared in *C. pyrenoidosa* green water (CGW); and (T3) grouper fed with *C. pyrenoidosa* pellets (DSC) and reared in filtered seawater. The findings revealed that dietary supplement of *C. pyrenoidosa* and *C. pyrenoidosa* green water did not have a negative impact on growth in hybrid groupers. Higher enzymes activities related to immunity and higher survival against *V. harveyi* were observed both in T2-15d and T3-15d, indicating immunity induced. Histology profiles revealed that the innate immunity was enhanced in T2-15d and T3-15d, with more mucus cells covering the gill secondary lamellae and the formation of melano-macrophage centers (MMCs) in the spleen. These findings were aligned with the

transcriptomic analysis which indicated that the expression of innate immune, anti-inflammatory, and apoptosis-inhibitory genes of groupers were regulated in T2-15d and T3-15d. The immune responses declined in the T2-60d and T3-60d groups. Gastritis, enteritis, and lipid malabsorption syndrome were observed in T3-15d and T3-60d, likely due to a higher intake of omega-6 to omega-3 fatty acid ratio in groupers raised both in T3-15d and T3-60d. The occurrence of these intestinal inflammation symptoms might be caused by the addition of *C. pyrenoidosa* powder as feed supplement. The anti-inflammatory activities were reduced in T3-60d, possibly indicating that the groupers were gradually recovering from inflammation. In general, *C. pyrenoidos* green water and dietary supplement of *C. pyrenoidos* powder enhanced the innate immunity of hybrid groupers in 15-d group. *C. pyrenoidos* green water was beneficial to the overall gut health, while dietary supplement of *C. pyrenoidos* powder led to poor digestion. The application of *C. pyrenoidos* green water is suggested to be a more environmental sustainable approach for grouper production.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Doktor Falsafah

KESAN MIKROALGA *Chlorella pyrenoidosa* TERHADAP PERTUMBUHAN, KOMPOSISI TUBUH, KESIHATAN USUS DAN RESPONS IMUN SEMULA JADI KERAPU HIBRID JUVANA, *Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus*

ZHANG WENHUI

DEC 2024

Penyelia: Mok Wen Jye, Ph.D

Penyelia Bersama 1: Professor Yeong Yik Sung, Ph.D

Penyelia Bersama 2: Professor Zhou Wenli, Ph.D

Pusat Pengajian/Institut: Institute of Climate Adaptation and Marine Biotechnology

Kajian ini dijalankan untuk menyiasat kesan pengkulturan jangka pendek dan jangka panjang serta mekanisme molekul bagi suplemen pemakanan *C. pyrenoidosa* dan air hijau *C. pyrenoidosa* terhadap prestasi pertumbuhan, imun semula jadi dan kesihatan usus kerapu hibrid (*E. lanceolatus*♂) × *E. fuscoguttatus*♀). Kajian pengkulturan kerapu hibrid dengan pemberian makanan tempoh 15-d (jangka pendek) dan 60-d (jangka panjang) telah dijalankan ke atas tiga kumpulan eksperimen (n=3) seperti berikut: (T1) kerapu diberi makanan pelet basal dan diternak dalam air laut yang ditapis; (T2) kerapu diberi makanan pelet basal dan diternak dalam air hijau *C. pyrenoidosa* (CGW); dan (T3) kerapu yang diberi makanan pelet *C. pyrenoidosa* (DSC) dan diternak dalam air laut yang ditapis. Penemuan mendedahkan bahawa makanan tambahan *C. pyrenoidosa* dan *C. pyrenoidosa* air hijau tidak mempunyai kesan negatif terhadap pertumbuhan kerapu hibrid. Aktiviti enzim yang lebih tinggi berkaitan dengan imuniti dan kemandirian yang lebih tinggi terhadap *V. harveyi* telah diperhatikan dalam kedua-dua T2-15d dan T3-15d menunjukkan imuniti telah

dirangsang. Profil histologi mendedahkan bahawa imuniti semula jadi telah dipertingkatkan dalam T2-15d dan T3-15d, dengan lebih banyak sel mukus meliputi lamella sekunder insang dan pembentukan pusat melano-makrofaj (MMC) dalam limpa. Penemuan ini diselaraskan dengan analisis transkriptik yang menunjukkan bahawa ekspresi gen imun, anti-radang, dan perencatan apoptosis semula jadi ikan kerapu dikawal dalam T2-15d dan T3-15d. Tindak balas imun merosot dalam kumpulan T2-60d dan T3-60d. Gastritis, enteritis, dan sindrom malabsorpsi lipid diperhatikan dalam T3-15d dan T3-60d, berkemungkinan disebabkan oleh nisbah pengambilan asid lemak omega-6 lebih tinggi daripada omega-3 pada kerapu dalam T3-15d dan T3-60d. Kejadian gejala keradangan usus ini mungkin disebabkan oleh penambahan serbuk *C. pyrenoidosa* sebagai makanan tambahan. Aktiviti anti-radang telah berkurang dalam T3-60d, mungkin disebabkan bahawa kerapu beransur pulih daripada keradangan. Secara amnya, air hijau *C. pyrenoidos* dan suplemen pemakanan serbuk *C. pyrenoidos* meningkatkan imuniti semula jadi kerapu hibrid dalam kumpulan 15-d. Air hijau *C. pyrenoidos* bermanfaat untuk kesihatan usus secara keseluruhan, manakala makanan tambahan serbuk *C. pyrenoidos* menyebabkan penghadaman yang lemah. Aplikasi air hijau *C. pyrenoidos* dicadangkan sebagai cara pengkulturan kerapu yang lebih mampan pada alam sekitar.