

بررسی اثر ویسلا کانفوسا (*Weissella confusa*) بر ساختار روده ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

فاطمه کهیانی^۱، شفیق شفیعی^{۲*}، اسماعیل پیرعلی خیرآبادی^۱

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۲. گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.

دریافت: ۲۵ اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۱ پذیرش: ۲۹ خردادماه ۱۴۰۱

چکیده

مطالعات متعددی در سال‌های اخیر در باره ارزیابی اثرات پروبیوتیک‌ها در ماهیان صورت گرفته است و اثرات مثبت آن‌ها بر شاخص‌های مختلف ماهیان گزارش شده است. در این پژوهش اثر رژیم خوراکی حاوی باکتری ویسلا کانفوسا (*Weissella confusa*) بر ساختار روده ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی گردید. بدین منظور ماهیان با میانگین وزنی 115 ± 2 گرم به طور کاملا تصادفی در یک گروه شاهد و یک گروه تیمار با سه تکرار در مخازن توزیع شده و به ترتیب با دو جیره آزمایشی حاوی صفر و ۳ گرم پودر باکتری ویسلا کانفوسا به ازای هر ۱۰ کیلوگرم غذا (شمارش باکتریایی 3×10^7 CFU در گرم جیره غذایی) به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش، نمونه‌های بافتی از قسمت‌های مختلف روده برداشت و در فرمالین ۱۰ درصد ثابت شد، پس از آماده سازی بافتی، رنگ آمیزی مقاطع به کمک هماتوکسیلین-ئوزین صورت گرفت. نتایج نشان داد که شاخص‌های مورفولوژی نظیر طول و عرض پرز در روده قدامی و خلفی گروه تیمار نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری داشته است ($P < 0.05$). براساس نتایج بدست آمده پروبیوتیک ویسلا کانفوسا می‌تواند تاثیرات مثبت روی بافت روده داشته و منجر به افزایش سطح جذب آن در ماهی قزل آلی رنگین کمان گردد.

واژه‌های کلیدی: ویسلا کانفوسا، مورفولوژی، روده، قزل آلی رنگین کمان.

مقدمه

مکانیسم‌های مختلف از جمله ظرفیت کلونیزاسیون، فعالیت آنتاگونیستی، تعامل با سلول‌های ایمنی میزبان و بهبود کیفیت آب اعمال می‌کنند (۱۱ و ۲۶). مطالعات زیادی درباره ارزیابی اثرات پروبیوتیک‌ها در ماهیان صورت گرفته است که می‌توان به مطالعه اثرات پروبیوتیک‌ها در مقابل عوامل پاتوژن، سیستم دفاعی، عملکرد تولید مثلی و بهبود تغذیه‌ای اشاره کرد (۲۶). با این وجود در مقایسه با مطالعات مذکور، مطالعات کمتری درباره تأثیر پروبیوتیک‌ها بر مورفولوژی روده وجود دارد، از سویی انواع مختلفی از پروبیوتیک‌های مرتبط با میزبان یا حاصل از منابع خشک زی در ماهیان به کار گرفته شده‌اند که در این بین استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک مورد توجه زیادی قرار گرفته است (۲۵). باکتری ویسلا کانفوسا (*Weissella confusa*) از جمله باکتری‌های اسید لاکتیک

بر اساس تعاریف موجود پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که زمانی که به مقدار مناسب تجویز گردند، اثر مفیدی بر سلامت میزبان دارند (۱۴). با این حال، کاربرد پروبیوتیک‌ها در آبزیان با پروبیوتیک‌های حیوانی و انسان متفاوت است. عامل کلیدی که به این تفاوت کمک می‌کند، رابطه پیچیده آبزیان با محیط است. براساس تعریف پیشنهادی از سوی Verschuerه و همکاران در سال ۲۰۰۰، پروبیوتیک‌ها برای آبزیان به عنوان مکمل‌های میکروبی زنده هستند که با تغییر جامعه میکروبی میزبان یا محیط، استفاده بهینه از غذا یا افزایش ارزش تغذیه‌ای آن، افزایش پاسخ میزبان به بیماری و یا بهبود کیفیت محیط اثر مفیدی بر میزبان دارند (۳۲). پروبیوتیک‌ها این تغییرات را از طریق



ویسلاکانفوسا با مشخصات بانک ژنی KU531468 که خاصیت پروبیوتیکی آن قبلاً بررسی گردیده بود، به صورت پودر و به میزان ۳ گرم در ۱۰ کیلوگرم غذا (شمارش باکتریایی 3×10^7 CFU در گرم جیره غذایی) به عنوان تیمار در نظر گرفته شد (۱۷). به منظور غنی‌سازی غذای ماهیان، مقادیر مدنظر از پودر باکتری در زیر هود در ظروف پلاستیکی استریل توزین شد و سپس ۵۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل به آن اضافه و از آن جهت اسپری به ازای هر کیلوگرم از غذا استفاده گردید.

۸ هفته پس از دوره پرورش، ماهی‌ها به مدت ۲۴ ساعت قطع غذا و از هر تکرار تعداد ۳ ماهی به صورت تصادفی برداشته شد. ماهی‌ها با استفاده از پودر گل میخک (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در مجاورت هواده بی‌هوش شدند و سپس نمونه‌های روده استخراج و نمونه‌های بافتی به طول دوسانتی‌متر از هر قسمت روده (روده قدامی و روده خلفی) برش داده شد. در ادامه نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و مراحل آب‌گیری بافت‌ها، شفاف‌سازی و تهیه بلوک‌های پارافینه انجام شد، سپس از بلوک‌های پارافینی حاصل برش‌های ۵ میکرومتری تهیه و رنگ‌آمیزی با استفاده از رنگ هماتوکسیلین-ئوزین صورت گرفت. در نهایت بررسی نمونه‌ها با میکروسوپ نوری مجهز به دوربین عکس‌برداری (از هر نمونه ۱۰ عکس) صورت گرفت و با نرم افزار Image J آنالیز و میانگین به عنوان عدد مد نظر برای هر نمونه ثبت شد. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS 22 و آزمون آماری تی (T test) غیر وابسته استفاده گردید و میزان سطح معنی‌دار بودن در این بررسی $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

است که به عنوان فلور طبیعی در بدن جانداران مختلف از جمله آبزیان یافت می‌شوند و اثرات مثبت آن بر فاکتورهای رشد و ایمنی در آبزیان نشان داده شده است (۱۰، ۱۷، ۲۱ و ۳۵). با این وجود تاکنون اثر آن روی ساختار روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی قرار نشده است. با توجه به مطالب عنوان شده، در این مطالعه تأثیر باکتری ویسلا کانفوسا روی ساختار روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی بررسی شد.

مواد و روش کار

ابتدا ۵۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی 115 ± 2 گرم از مرکز پرورش ماهی تهیه گردید. ماهیان، در مخازن ضدعفونی شده، ذخیره‌سازی و قبل از شروع آزمایش، به مدت یک هفته با شرایط سازگار شدند. برای ارزیابی اثرات باکتری ویسلا کانفوسا بر ماهی قزل‌آلا، یک تیمار غذایی و یک گروه شاهد (سه تکرار برای هر کدام) در نظر گرفته شد و در مجموع ۶ مخزن استفاده شد، سپس ماهیان به مدت ۸ هفته با جیره‌های تهیه شده به میزان ۲٪ وزن بدن غذادهی شدند. با توجه به این که شرایط کیفیت آب در زمان انجام این مطالعات حائز اهمیت است، لذا برخی از شاخص‌های کیفی آب شامل دما، اکسیژن محلول و pH در طول دوره اندازه‌گیری گردید؛ به طوری که میانگین فاکتورهای یاد شده به ترتیب $12 \pm 1/20$ درجه سانتی‌گراد، $10 \pm 0/07$ میلی‌گرم در لیتر و $7/64 \pm 0/11$ ثبت شد.

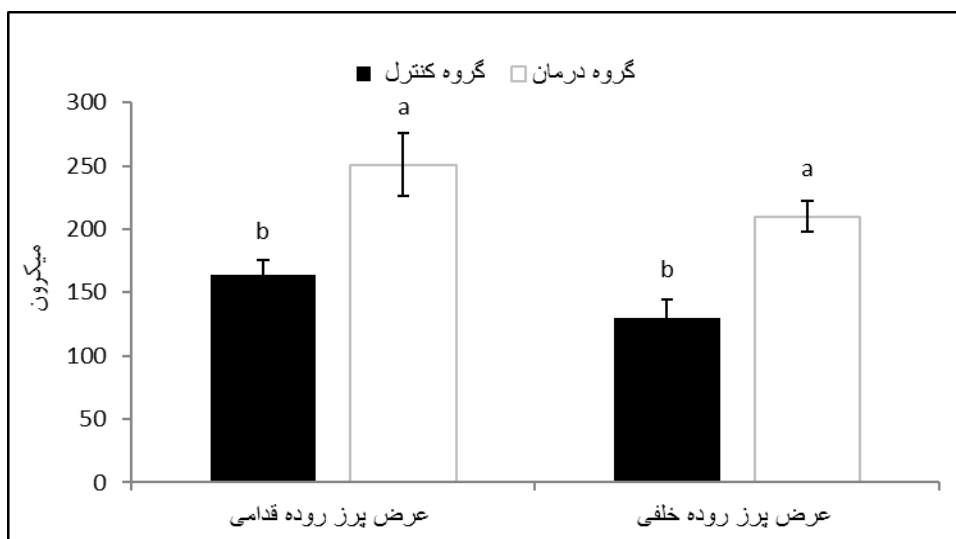
در این مطالعه از باکتری ویسلا کانفوسا در ترکیب با جیره غذایی استفاده شد. برای این منظور از غذای تجاری (جدول یک) برای جیره پایه (شاهد) و باکتری

جدول ۱- ترکیب تقریبی غذای استفاده شده در مطالعه

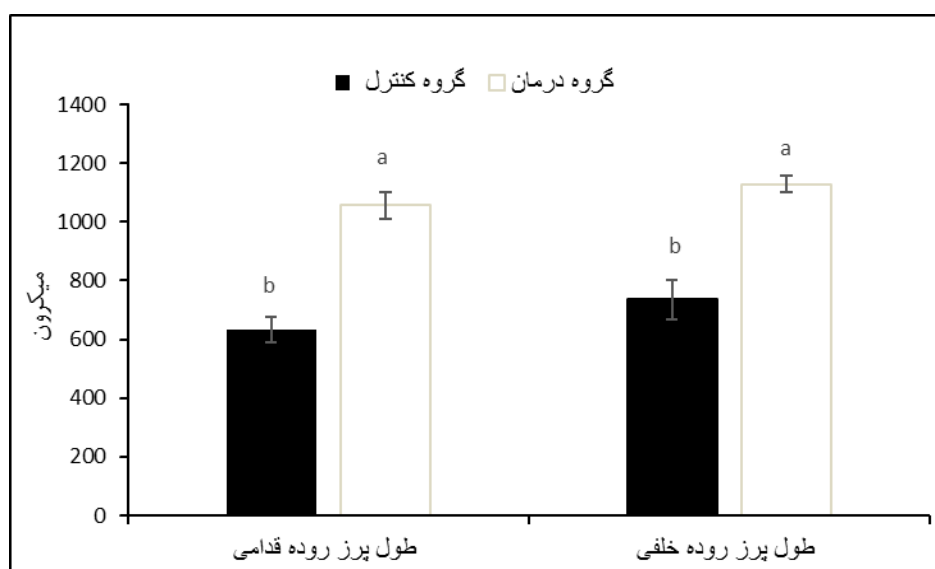
مقدار (%)	مشخصات شیمیایی
۴۴/۳	پروتئین
۹/۷۸	خاکستر
۱۴/۹	چربی
۲/۴۴	فیبر
۹/۲۴	رطوبت

نتایج

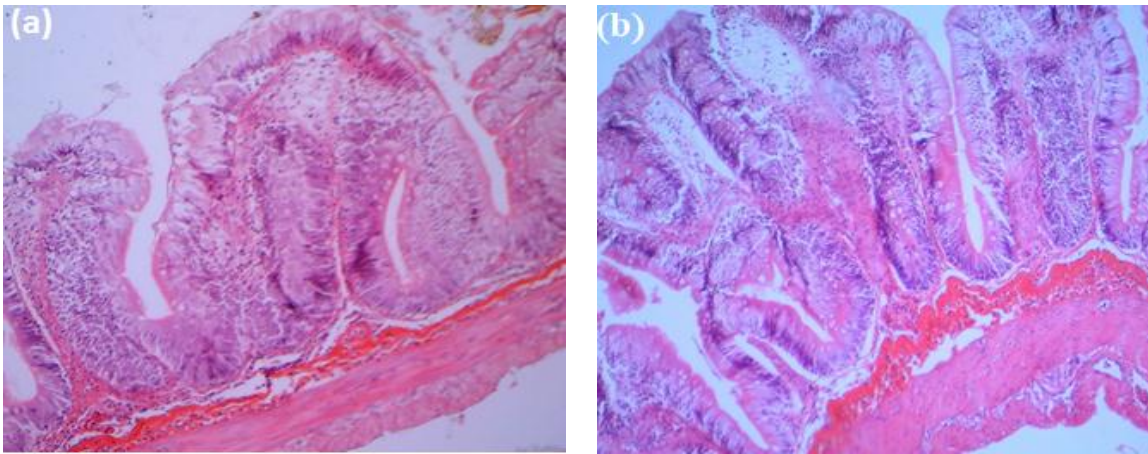
نتایج حاصل از تاثیر پروبیوتیک ویسلا کانفوسا بر ساختار روده قزل‌آلای رنگین کمان در شکل‌های ۱-۵ نشان داده شده است. بر این اساس عرض پرز در روده‌های قدامی و خلفی ماهی‌های مطالعه شده تحت تاثیر پروبیوتیک ویسلا کانفوسا قرار گرفت؛ به طوری که عرض پرز در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ویسلا کانفوسا افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد یافت ($P < 0.05$) (شکل ۱ و ۳). مقایسه طول پرز در قسمت‌های مختلف روده نشان داد که این شاخص نیز در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشته‌است ($P < 0.05$) (شکل‌های ۲، ۴ و ۵).



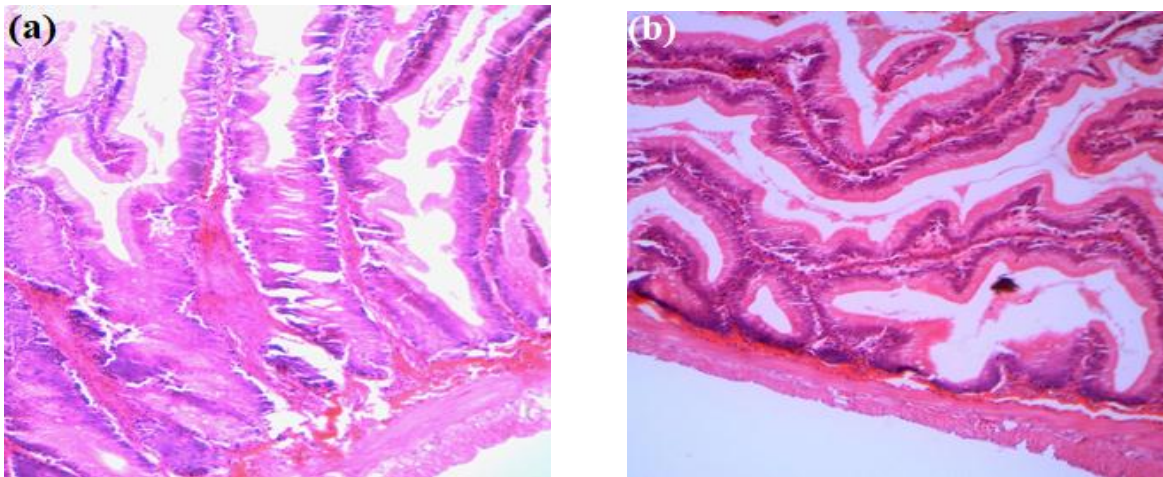
شکل ۱- تاثیر تجویز خوراکی باکتری ویسلا کانفوسا بر عرض پرز قسمت‌های مختلف روده قزل‌آلای رنگین کمان، جیره غذایی گروه تیمار شامل ۳ گرم باکتری به ازای هر کیلوگرم جیره و گروه کنترل فاقد باکتری است.^{a,b} حروف غیر مشابه نمایانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $P < 0.05$ است.



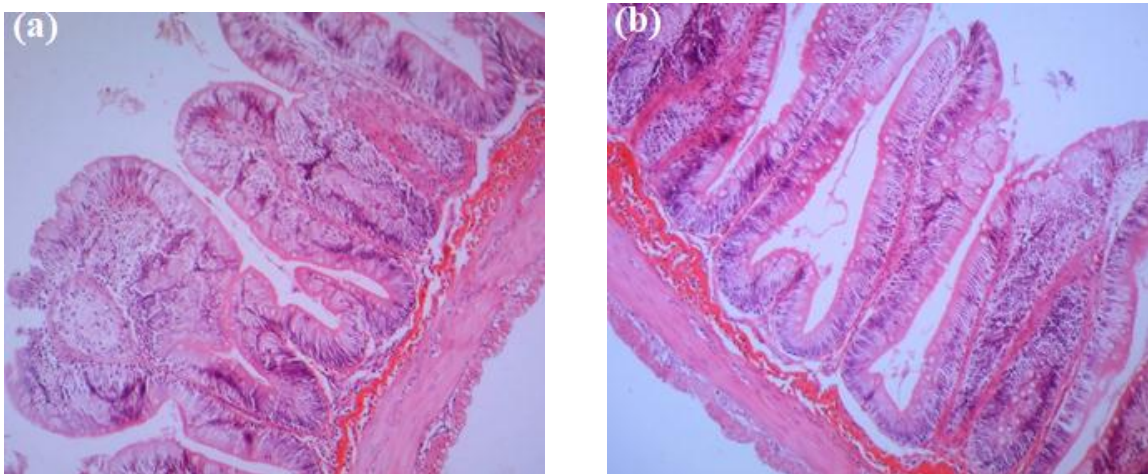
شکل ۲- تاثیر تجویز خوراکی باکتری ویسلا کانفوسا بر طول پرز قسمت‌های مختلف روده قزل‌آلای رنگین کمان، جیره غذایی گروه تیمار شامل ۳ گرم باکتری به ازای هر ۱۰ کیلوگرم جیره و گروه کنترل فاقد باکتری است.^{a,b} حروف غیر مشابه نمایانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $P < 0.05$ است.



شکل ۳- مقطع عرضی روده قدامی قزل آلی رنگین کمان (هماتوکسیلین-ائوزین)، عرض پرزها در گروه شاهد (a) و گروه تیمار (b)



شکل ۴- مقطع عرضی روده قدامی قزل آلی رنگین کمان (هماتوکسیلین-ائوزین)، طول پرزها در گروه شاهد (a) و گروه تیمار (b)



شکل ۵- مقطع عرضی روده خلفی قزل آلی رنگین کمان (هماتوکسیلین-ائوزین)، طول پرزها در گروه شاهد (a) و گروه تیمار (b)

بحث

مطالعه Yeganeh و همکاران در سال ۲۰۲۱ نیز متعاقب تجویز خوراکی جیره غذایی حاوی ویسلاکانفوسا در فیل ماهی (*Huso huso*) افزایش ارتفاع پرزها مشاهده گردید (۳۵). افزون بر این افزایش معنی‌دار طول و عرض پرز روده متعاقب تجویز خوراکی جیره غذایی حاوی ویسلا سیبریا (*Weissella cibaria*) در گربه ماهی (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *P. corruscans*) نیز گزارش گردیده است (۱۶). مطالعات متعددی بیانگر تاثیر مشابه دیگر پروبیوتیک‌های باکتریایی بر ساختار روده ماهیان در گونه‌های مختلف ماهی شامل قزل‌آلای رنگین کمان (۳)، تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (۶، ۸، ۱۵، ۲۲ و ۲۹)، سیم دریایی (*Sparus aurata*) (۷) و گربه ماهی کوسه (*Pangasianodon hypophthalmus*) (۱۳) بوده‌اند. بر این اساس پروبیوتیک‌ها از جمله مکمل‌های غذایی میکروبی هستند که می‌توانند جذب ذرات غذایی را از طریق تغییر شاخص‌های ساختاری روده مانند افزایش طول و عرض پرز افزایش دهند (۳۴)؛ با این وجود براساس مطالعات صورت گرفته، دیگر باکتری‌های پروبیوتیک دارای اثرات مورفولوژیک متفاوت در ماهیان بوده‌اند. برای مثال مغایر با یافته‌های مطالعه حاضر، در مطالعه Ramos و همکاران در سال ۲۰۱۵ تاثیر پروبیوتیک تجاری حاوی لاکتوباسیلوس، انتروکوکوس، پدیوکوکوس و باسیلوس در روده قدامی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بررسی و نتایج بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار طول پرزها در تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد بوده است (۲۳). همچنین در مطالعه Han و همکاران در سال ۲۰۱۵ متعاقب تجویز خوراکی ماهی تیلاپیای نیل با باسیلوس لیچنیفورمیس (*Bacillus licheniformis*) تفاوت معنی‌داری در ارتباط با طول پرزها در مقایسه با گروه شاهد گزارش نگردید (۱۲). در مطالعه Merrifield و همکاران در سال ۲۰۱۰b نیز در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تجویز خوراکی باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*)، باسیلوس لیچنیفورمیس و انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium*) تفاوت معنی‌داری در ارتباط با طول پرزها در روده ابتدایی بین تیمارهای مذکور و گروه شاهد مشاهده نگردید. به علاوه در مطالعه محمدی و همکاران در سال ۱۳۹۸ متعاقب تجویز خوراکی کلوستات باسیلوس سابتیلیس تفاوت معنی‌داری در

اگرچه هضم و جذب مواد غذایی مهم‌ترین عملکرد مربوط به روده است و تغییرات بافت شناسی آن می‌تواند اطلاعات مفیدی در ارتباط با وضعیت تغذیه‌ای و سوخت و ساز بدن ماهی ارائه دهد (۳۳)، اما این اندام به عنوان سد دفاعی اولیه در برابر عوامل بیماری‌زا ماهیان نیز محسوب می‌شود (۲۸). از این رو مطالعه مورفولوژی روده برای ارزیابی عملکرد پروبیوتیک‌ها به‌ویژه انتخاب باکتری‌های اسیدلاکتیک در ماهیان حائز اهمیت است (۲۴). از سویی ارزیابی مورفولوژی روده با میکروسکوپ نوری از جمله فاکتورهای تعیین کننده در استفاده از پروبیوتیک‌ها به شمار می‌آید (۲۷). سطح روده دارای پرزهای فراوانی است که منجر به افزایش سطح جذبی می‌گردد و حرکت غذا در روده را تسهیل می‌کند. با توجه به نقش پرزها در گوارش و جذب مواد مغذی بررسی روند تغییرات در آن حایز اهمیت است؛ به طوری که در مطالعات مربوط به آزیان، مشخصات پرزهای روده و چین‌های مخاطی شاخص‌هایی برای توانایی جذب به شمار می‌آیند (۳۴). براساس جست‌وجوی نویسندگان تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با تاثیر باکتری ویسلاکانفوسا به عنوان عامل پروبیوتیک روی ساختار روده قزل‌آلای رنگین کمان صورت نگرفته است و پژوهش حاضر اولین پژوهشی است که در این زمینه صورت می‌گیرد. در این مطالعه طول و عرض پرز در قسمت‌های قدامی و خلفی روده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در گروه تغذیه شده با جیره غذایی حاوی پروبیوتیک ویسلاکانفوسا نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. این یافته بیانگر پاسخ تطبیقی ماهی برای افزایش توان جذب مواد مغذی در داخل روده است؛ زیرا روده ماهی نقش اساسی در هضم و جذب مواد مغذی مهم مانند پروتئین، لیپید و کربوهیدرات‌ها دارد و هرگونه تغییر در جیره غذایی موجب بروز تغییرات در ساختار بافتی آن می‌گردد (۱۵). افزایش طول و عرض پرزها با افزایش سطح روده منجر به افزایش جذب مواد مغذی و افزایش بارده آن و در نهایت رشد ماهی می‌گردند (۹، ۲۲ و ۳۴) که با نتایج حاصل از دیگر مطالعه انجام شده از سوی نویسندگان که بیانگر تاثیر مثبت باکتری ویسلاکانفوسا روی فاکتورهای رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بود، نیز سازگار است (۱۷). هم راستا با نتایج به دست آمده در این پژوهش، در



کوتاه و دیگر اسیدهای آلی به عنوان یک منبع مهم انرژی که مورد استفاده سلول‌های روده قرار می‌گیرد، می‌تواند نقش مهمی در افزایش طول و عرض پرز داشته باشند (۲۲)، همچنین افزایش مورفومتری روده ممکن است با توانایی پروبیوتیک در ارتباط با مهار چسبندگی باکتری‌های بیماری‌زا به اپیتلیوم روده، تولید دیگر مواد مغذی سلول‌های مخاطی روده، کاهش تولید آمونیاک، کمک به حذف آمین‌های بی‌هضمی سمی، بهبود جذب و فراهمی زیستی مواد معدنی مانند کلسیم و آهن و محافظت از پرزها در برابر سموم تولید شده توسط میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا باشد (۱۶ و ۳۱).

با توجه به یافته‌های حاصل از این پژوهش می‌توان گفت باکتری ویسلا کانفوسا در ماهی قزل آلی رنگین کمان منجر به بروز تغییراتی در راستای بهبود ساختار بافتی لوله گوارشی می‌شود. مطالعات تکمیلی در خصوص سنجش سایر عوامل پس از استفاده از این نوع پروبیوتیک باید مدنظر قرار گیرد.

منابع

۱- سپهرفر، دل آرا؛ سروی مغاللو، کوروش؛ حسینی فر، سید حسین؛ پاک نژاد، حامد و جعفرنوده، علی؛ تأثیر استفاده مجزا و تلفیقی پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* و پودر *Agaricus bisporus* بر شاخصهای ایمنی موکوس و هیستومورفولوژی روده در بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*)؛ فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری؛ ۱۳۹۷؛ دوره ۴۱؛ شماره ۱۱؛ صفحه: ۲۷-۳۶.

۲- عطایی، خدیجه؛ جلالی، سید محمد علی؛ یداللهی، فرود و همت زاده، آذر؛ اثرات پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر هماتولوژی فراسنجه‌های خونی و هیستوپاتولوژی روده ماهی قزل آلی رنگین کمان. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری؛ ۱۳۹۷؛ دوره ۴۳؛ شماره ۴؛ صفحه: ۲۷-۳۵.

۳- صادقی نژاد، جواد؛ ابوالقاسمی، سیدجواد؛ ماسوله، علیرضا شناور و زادسر، نرگس؛ مطالعه اثر پدیوکوکوس پنتوساسئوس (*Pediococcus pentosaceus*) بر ساختار هیستومورفومتری روده

ارتباط با عرض پرزهای روده ماهی قزل آلی رنگین کمان مشاهده نشد (۴). در مطالعه عطایی و همکاران در سال ۱۳۹۷ نیز اگر چه متعاقب تغذیه ماهی قزل آلی رنگین کمان با باکتری پدیوکوکوس/سید لاکتیک عرض پرز روده افزایش معنی‌دار یافت، اما طول پرز روده ماهی‌ها تحت تاثیر پروبیوتیک قرار نگرفت (۲)، همچنین عدم تفاوت معنی‌داری فاکتورهای مورفولوژی روده مانند ارتفاع و قطر پرزها بین گروه‌های تیمار و شاهد متعاقب تجویز خوراکی باکتری پدیوکوکوس/سید لاکتیک در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) گزارش شده است (۱). افزون بر این به تبع استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) در ماهی صیبتی (*Sparidentex hasta*)، علی‌رغم تفاوت معنی‌داری طول پرز روده، تفاوت معناداری در ارتباط با عرض پرز روده تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد گزارش نگردید (۵). تناقض در نتایج در مطالعات مختلف ممکن است به دلیل نوع و میزان پروبیوتیک، نوع جیره غذایی، طول دوره پرورش، شرایط محیطی، گونه ماهی و سن آن باشد (۱۹).

شاخص‌های مورفولوژی روده علاوه بر این که می‌تواند بر فیزیولوژی و متابولیسم جذب مواد مغذی تاثیر داشته باشند، از شاخص‌های سلامت روده در ماهی نیز به شمار می‌آیند (۱۲). در این زمینه افزایش طول و عرض پرزهای روده بیانگر وضعیت سالم روده میزبان است که بر سلامتی گونه پرورشی تأثیر می‌گذارد (۱۸). علاوه بر این افزایش شاخص‌های ساختاری روده همچون طول و عرض پرز منجر به افزایش ترشح موکوس و برخی مواد ایمونولوژیک می‌گردد که متعاقباً منجر به حفاظت مستقیم یا غیر مستقیم ماهی در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شود (۲۹ و ۳۰). از این رو می‌توان بیان کرد که تجویز خوراکی پروبیوتیک ویسلا کانفوسا می‌تواند منجر به ارتقای سلامت و ایمنی ماهی قزل آلی رنگین کمان در برابر عوامل بیماری‌زا گردد. با این وجود این موضوع نیازمند مطالعه بیشتر است.

ساختار ژنتیکی گونه ماهی، نوع تغذیه و ترکیب مواد غذایی از جمله عوامل موثر در ریخت شناسی روده و شکل‌گیری پرز از لحاظ طول و عرض آن هستند (۱). بر این اساس می‌توان اذعان کرد که باکتری‌های پروبیوتیک پس از انتقال به روده با تولید اسیدهای چرب با زنجیره

- growth performance, immune indices, and intestinal flora of juvenile great sturgeon (*Huso huso*). Iran. J. Fish. Sci; 2021; 20 (4):1206-1217.
- 11-Hai, N. V; The use of probiotics in aquaculture. J. Appl. Microbiol; 2015; 119(4): 917-935.
- 12-Han, B; Long, W.Q; He, J.Y; Liu, Y.J; Si, Y.Q. and Tian, L.X; Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunological parameters, intestinal morphology and resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. Fish Shellfish Immunol; 2015; 46: 225-231.
- 13-Haque, M.M; Hasan, N.A; Eltholth, M.M; Saha, P; Mely, S.S; Rahman, T. and Murray, F.J; Assessing the impacts of in-feed probiotic on the growth performance and health condition of pangasius (*Pangasianodon hypophthalmus*) in a farm trial. Aquac. Rep; 2021; 20: 100699.
- 14-Hill, C; Guarner, F.; Reid, G.; Gibson, G. R; Merenstein, D. J; Pot, B; Morelli, L; Canani, R. B; Flint, H. J; Salminen, S; Calder, P. C. and Sanders, M. E; Expert consensus document: the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol; 2014; 11: 506-514.
- 15-Islam, S.M.M; Rohani, M.F and Shahjahan, M; Probiotic yeast enhances growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) through morphological modifications of intestine, Aquac. Rep; 2021; 21:100800.
- 16-Jesus, G; Vieira, F; Silva, B; Junior, M; Ushizima, T; Schmidt, E. and Martins, M; Probiotic bacteria may prevent hemorrhagic septicemia by maturing intestinal host defenses in Brazilian native surubins. Aquac. Nutr; 2016; 23: 484-491.
- 17-Kahyani, F; Pirali-Kheirabadi, E; Shafiei, S. and 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*). Aquac. Nutr; 2021; 00:1-10.
- 18-Khojasteh, S.M.B; The morphology of the post-gastric alimentary canal in teleost fishes: a brief review. Int. j. aquatic sci; 2012; 3: 71-88.
- 19-Merrifield, D.L; Dimitroglou, A; Foey, A; Davies, S.J; Baker, R.T.M; Bogwald, J; Castex, M. and Ringo, E; The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. Aquaculture; 2010a; 302: 1-18.
- 20-Merrifield, D.L; Harper, G; Dimitroglou, A; Ringo, E. and Davies S.J; Possible influence of probiotics adhesion to intestinal mucosa on the بچه ماهی قزل آالی رنگین کمان. مجله تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک؛ ۱۳۹۶؛ دوره ۳؛ شماره ۱۶؛ صفحه: ۲۳۲-۲۴۵.
- ۴- محمدی، مهرزاد؛ پور مظفر، سجاد و گذری، محسن؛ بررسی اثر پروبیوتیک کلوستات (*Bacillus subtilis*) بر روی برخی از شاخص‌های رشد، خونی و بافت روده ماهی قزل آالی رنگین کمان؛ فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری؛ ۱۳۹۸؛ دوره ۴۸؛ شماره ۱۴؛ صفحه ۸۵-۹۶.
- ۵- مرشدی، وحید؛ آق، ناصر؛ نوری، فرزانه؛ حامدی، شیرین و جعفری، فاطمه؛ اثرات مصرف جداگانه پروبیوتیک و ترکیب با پریبیوتیک جیره بر ساختار بافت شناسی روده و پارامترهای بیوشیمیایی خون بچه ماهی صیبتی (*Sparidentex hasta*)؛ نشریه علوم آبی پروری؛ ۱۴۰۰؛ دوره ۹؛ شماره ۱۶؛ صفحه: ۵-۱۲.
- 6-Abdel-Aziz, M; Bessat, M; Fadel, A. and Elblehi, S; Responses of dietary supplementation of probiotic effective microorganisms (EMs) in *Oreochromis niloticus* on growth, hematological, intestinal histopathological, and antiparasitic activities. Aquac. Int; 2020; 283 (28): 947-963.
- 7-Cerezuela, R; Fumanal, M; Tapia-Paniagua, S. T; Meseguer, J; Moriniño, M. Á. and Esteban, M. Á; Changes in intestinal morphology and microbiota caused by dietary administration of inulin and *Bacillus subtilis* in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) specimens. Fish Shellfish Immunol; 2013; 34(5): 1063-1070.
- 8-Elsabagh, M; Mohamed, R; Moustafa, E.M; Hamza, A; Farrag, F; Decamp, O. and Eltholth, M; Assessing the impact of *Bacillus* strains mixture probiotic on water quality, growth performance, blood profile and intestinal morphology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquac. Nutr; 2018; 24 (6): 1613-1622.
- 9-Ferguson, R.M.W; Merrifield, D.L; Harper, G.M; Rawling, M.D; Mustafa, S; Picchietti, S; Balczar, J.L. and Davies, S.J; The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Appl. Microbiol; 2010; 109: 851-862.
- 10-Ghorbani Vaghei, R; Shenavar Masoule, A; Kazemi, R; Jalilpour, J; Hoseinpour, A; Sayed Hassani, M. and Alizadeh Rudposhti, M; Effects of adding two native bacterial strains (*Lactococcus lactis* and *Weissella confusa*) on

- activity and morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) enterocytes. *Aquac. Res.*; 2010b; 41: 1268-1272.
- 21-Muñoz-Atienza, E; Araújo, C; Magadán, S; Hernández, P. E; Herranz, C; Santos, Y. and Cintas, L. M; In vitro and in vivo evaluation of lactic acid bacteria of aquatic origin as probiotics for turbot (*Scophthalmus maximus* L.) farming. *Fish Shellfish Immunol.*; 2014; 41(2): 570-580.
- 22-Pirarat, N; Pinpimai, K; Endo, M; Katagiri, T; Ponpornpisit, A; Chansue, N. and Maita, M; Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Res. Vet. Sci.*; 2011; 91: e92-e97.
- 23-Ramos, M.A; Gonçalves, J.F; Batista, S; Costas, B; Pires, M.A; Rema, P. and Ozório, R.O; Growth, immune responses and intestinal morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) supplemented with commercial probiotics. *Fish Shellfish Immunol.*; 2015; 45(1): 19-26.
- 24-Ringø, E; Salinas, I; Olsen, R.E; Nyhaug, A; Myklebust, R. and Mayhew, T.M; Histological changes in intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following in vitro exposure to pathogenic and probiotic bacterial strains. *Cell Tissue Res.*; 2007; 328: 109- 116.
- 25-Ringø, E; Van Doan, H; Lee, S. H; Soltani, M; Hoseinifar, S. H; Harikrishnan, R. and Song, S. K. Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: Interesting supplementation for aquaculture. *J. Appl. Microbiol.*; 2020; 129(1): 116-136.
- 26-Rohani, M.F; Islam, S.M; Hossain, M.K; Ferdous, Z; Siddik, M.A; Nuruzzaman, M; Padeniya, U; Brown, C. and Shahjahan, M; Probiotics, prebiotics and synbiotics improved the functionality of aquafeed: Upgrading growth, reproduction, immunity and disease resistance in fish. *Fish Shellfish Immunol.*; 2022; 120: 569-589.
- 27-Salma, W; Zhou, Z; Wang, W; Askarian, F; Kousha, A; Ebrahimi, M; Myklebust R. and Ringo, E; Histological and bacteriological changes in intestine of beluga (*Huso huso*) following ex vivo exposure to bacterial strains. *Aquaculture.*; 2011; 314: 24-33.
- 28-Scombes, C.J. and Ellis, A.E; The immunology of teleosts. In: Roberts, R.J. (Ed.), *Fish Pathology*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 2012; pp. 144-166.
- 29-Tabassum, T; Mahamud, A.G.M.S.U; Acharjee, T.K; Hassan, R; Snigdha, T.A; Islam, T; Alam, R; Khoiam, Md.U; Akter, F; Azad, Md.R; Mahamud, Md.A; Ahmed, G.U. and Rahman, T; Probiotic supplementations improve growth, water quality, hematology, gut microbiota and intestinal morphology of Nile tilapia. *Aquac. Rep.*; 2021; 21: 100972.
- 30-Tsutsui, S; Tasumi, S; Suetake, H; Kikuchi, K. and Suzuki, Y; Demonstration of the mucosal lectins in the epithelial cells of internal and external body surface tissues in pufferfish (*Fugu rubripes*). *Dev. Comp. Immunol.*; 2005; 29 (3): 243-253.
- 31-Ukena, S.N; Singh, A; Dringenberg, U; Engelhardt, R; Seidler, U; Hansen, W; Bleich, A; Bruder, D; Franzke, A; Rogler, G; Suerbaum, S; Buer, J; Gunzer, F. and Westendorf, A; Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 inhibits leaky gut by enhancing mucosal integrity. *PLoS One.*; 2007; 2: 1-9.
- 32-Verschuere, L; Rombaut, G; Sorgeloos, P. and Verstraete, W; Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*; 2000; 64(4): 655-671.
- 33-Wilson, J.M. and Castro, L.F.C; Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In: Grosell, M; Farrell, A; Brauner, C. (Eds.), *Fish Physiology: The Multifunctional Gut of Fish*. Academic Press, 2010; pp. 1-55.
- 34-Won, S; Hamidoghli, A; Choi, W; Park, Y; Jang, W. J; Kong, I. S. and Bai, S. C; Effects of *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactococcus lactis* on Growth, Immune Responses, Histology and Gene Expression in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Microorganisms.*; 2020; 8(67): 1-15.
- 35-Yeganeh Rastekenari, H; Kazami, R; Shenavar Masouleh, A; Banavreh, A; Najjar Lashgari, S; Sayed Hassani, M.H; Ghorbani Vaghei, R; Alizadeh Roudposhti, M. and Hallajian, A; Autochthonous probiotics *Lactococcus lactis* and *Weissella confusa* in the diet of fingerlings great sturgeon, *Huso huso*: effects on growth performance, feed efficiency, haematological parameters, immune status and intestinal morphology. *Aquac. Res.*; 2021; 00: 1-9.

The Effect of *Weissella Confusa* on the Intestinal Structure of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*)

Fatemeh Kahyani¹; Shafigh Shafiei^{2*}; Esmaeil Pirali-Kheirabadi¹

1. Department of Fisheries Science, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
2. Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.

Summary

Received: 15 May 2022

Accepted: 19 June 2022

In recent decades, several studies have been performed on the evaluation of probiotics in fish and their positive has been reported on different species. In this study, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with 115 ± 2 g average initial weight were randomly assigned to tanks and fed with different levels of *Weissella confusa* (0 [control] and 3 g *W. confuca* powder per 10 Kg diet [3×10^7 CFU/g count]) for 8 weeks. At the end of the experiment, tissue samples were taken from different parts of the intestine and fixed in 10% formalin. After tissue preparation, sections were stained with hematoxylin-eosin. The results showed that morphology parameters including villi length and width in the anterior and posterior intestines of the treatment group were significantly increased compared to the control group ($P < 0.05$). According to the results, *W. confusa* probiotic can have positive effects on intestinal morphology and its absorptive surface area in rainbow trout.

Keywords: *Weissella confusa*, Morphology, Intestine, *Oncorhynchus mykiss*.

*Corresponding Author Email: sshafiei@sku.ac.ir