

اثر طول دوره روشنایی - تاریکی بر بار باکتریایی روده ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) در مرحله نوزادی

محمد رضا قمی^{۱*}، زهیر حشمتی پور^۲، مهدی سهراب نژاد^۳ و موسی زارعی^۴

(۱) گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

(۲) گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

(۳) گروه شیلات، دانشگاه تربیت مدرس، نور

(۴) کارگاه تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری

mghomi@tonekabon.iau.ac.ir

* نویسنده مسئول مکاتبات

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۲/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۱/۳۰

چکیده

در این پژوهش، اثر فتوپریود روی باکتریهای روده ای بچه ماهی سفید و همچنین ارتباط همزمان بین ساعات روشنایی تنظیم شده و بار باکتریایی لاکتوباسیلوس در فاکتورهای رشد و تلفات در سال ۱۳۸۸ مورد مقایسه واقع گردید. تیمارهای نوری- تاریکی شامل: شرایط نوری طبیعی کارگاه (شاهد)، ۲۴ ساعت روشنایی کامل، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی، ۲۴ ساعت تاریکی کامل بودند. رابطه معنی داری بین ساعات روشنایی برای تیمارهای قابل تنظیم دوم تا ششم با لگاریتم تعداد باکتریهای لاکتوباسیلوس ($P=0/956$) و لگاریتم شمارش کل باکتریایی ($P=0/079$) دیده نشد. ضریب تعیین بالایی بین ساعات روشنایی و فراوانی باکتریهای لاکتوباسیلوس روده ای با میزان تلفات ماهیان مورد آزمایش دیده می شود ($R^2=0/72$)، ولی رابطه معنی داری بین آنها وجود ندارد ($P=0/272$).

واژگان کلیدی: دوره های نوری- تاریکی، باکتریهای روده ای، بچه ماهی سفید، لاکتوباسیلوس

مقدمه

نوری را در ریتم روزانه ملاتوفین و هورمونهای تکثیر در ماهی باس دریایی مطالعه کردند. تنظیم رسیدگی جنسی و هورمونهای استروئیدی در ماهی کاد آقینوس اطلس بر اساس فتوپریود توسط Norberga و همکاران (۲۰۰۴) مطالعه گردید. Taylor و همکاران (۲۰۰۶) بر روی اثر افزایش رشد و کارایی تغذیه‌ای قزل آلاهی رنگین کمان با فتوپریود مطالعه کردند. اثر فتوپریود بر اریتروسیت خون قزل آلاهی رنگین کمان توسط Valenzuela و همکاران (۲۰۰۶) مطالعه شد. Ruchin (۲۰۰۷) اثر فتوپریود بر رشد، فیزیولوژی و فاکتورهای خونی ماهی جوان خاویاری سیبری را مطالعه کرد. Ghomi و همکاران (۲۰۱۰, a, b) اثر دوره نوری در فاکتورهای رشد و خونی فیل ماهی را ارزیابی نمودند.

مطابق منابع مرور شده در فوق، بررسی اثر دوره های نوری- تاریکی بر روی بار باکتریهای روده برای اولین بار بر روی ماهی انجام می گیرد که بدلیل نیاز به دانش در زمینه باکتریهای روده ای ماهی در افزایش کارایی پرورش ماهی سفید تا مرحله رها سازی به دریا، انجام این تحقیق را ضروری می نماید. در این تحقیق، اثر فتوپریود در باکتریهای (شمارش کل باکتریایی و لاکتوباسیلوس) روده ای بچه ماهی سفید و همچنین ارتباط همزمان بین ساعات روشنایی تنظیم شده و بار باکتریایی لاکتوباسیلوس در فاکتورهای رشد و تلفات مورد مقایسه واقع گردید.

مواد و روش ها

در این مطالعه، تعداد ۲۰۰ قطعه بچه ماهی سفید ۳ ماهه (با میانگین وزن اولیه 0.09 ± 0.01 گرم، از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی رجایی ساری) در ۳ تکرار برای ۶ تیمار نوری-

تنظیم شرایط مطلوب فیزیکوشیمیایی آب (دوره نوری، دوره دمایی مناسب)، شرایط مطلوب تغذیه‌ای، عدم وجود استرس، شرایط مطلوب مدیریتی و غیره از الزامات پرورش بهینه ماهی سفید و هر ماهی پرورشی دیگری محسوب می شود. مطالعه جنبه‌های مختلف عوامل مذکور، در ارائه بالاترین کارایی آبرزی پروری در این گونه ماهی از اهمیت بالایی برخوردار است. از طرف دیگر، تاکنون تلاشهای زیادی جهت دستیابی به سویه های بومی میکروارگانیسم هایی که قادر به کلنی سازی در بافت پوششی معده، روده کوچک و یا روده بزرگ حیوان میزبان باشند، صورت گرفته است (Savage, 1989). برخی از باکتریها از جمله ویبریوها، لاکتوباسیلها، باسیل ها و مخمرها و غیره از آن جمله می باشند (Ringo and Birkbeck, 1999) که شناخت بار میکروبی آنها بعنوان باکتری های مفید لاکتوباسیلوس و نسبت آنها در شمارش کل باکتریایی بسیار حائز اهمیت می باشد.

ماهی سفید از جمله ماهیان بومی دریای خزر است و از جمله ماهیان مهم اقتصادی مورد صید در این دریا بشمار می رود. تکثیر ماهی سفید در انحصار شرکت شیلات ایران بوده که بطور معمول ماهیان سفید را با اوزان متفاوت از ۰/۵ تا ۳ گرم پرورش داده و سپس در دریا رها سازی می نماید. میزان تولید بچه ماهیان سفید به منظور رها سازی در دریا در سال ۲۰۰۸ به میزان ۱۸۷/۱ میلیون قطعه و میزان صید این ماهی در همان سال ۱۴۸۳۵ تن بوده است (Abdolhay *et al.*, 2010).

اثر دوره نوری (دوره نوری تاریکی) بر روی خصوصیات رشد و سایر متغیرها در ماهیان مختلف مورد بررسی واقع شده است. Bayarri و همکاران (۲۰۰۴) اثر دستکاری دوره

تعداد ۱۰ قطعه ماهی در روز ۳۰ ام و انتهای دوره آزمایش (پایان تحقیق= روز ۶۰ ام) از هر تیمار به آزمایشگاه میکروبیولوژی انتقال یافت و میزان ۱ گرم از روده (هموژنیزه) آنها در شرایط استاندارد آزمایشگاهی مورد سنجش بار باکتریایی واقع گردید تا تفاوت‌های بین تیمارهای نوری- تاریکی را روشن کند. در این حالت شمارش کل باکتریایی روده و باکتریهای لاکتوباسیلوس بر اساس واحد Log cfu/g شمارش شدند. برای شمارش باکتری های کل از محیط پلیت کانت آگار (Plate Count Agar= PCA) (Merck, Germany) استفاده شده و برای شمارش باکتریهای لاکتوباسیلوس از محیط MRS آگار (De Man, Rogosa, Sharpe agar) (Merck, Germany) مطابق روشهای استاندارد استفاده شد. جهت تشخیص باکتریهای لاکتوباسیلوس، از روش فرمانتاسیون کربوهیدرات با استفاده از کیت تشخیصی API-50 CH (BioMérieux, marcy l'Etoile, France) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد استفاده شد.

محاسبه وزن اولیه و وزن نهایی ماهیان (جهت محاسبه فاکتورهای رشد) در روزهای ۳۰ و انتهای دوره تحقیق با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۱ گرم محاسبه گردید. اندازه گیری اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه اکسیژن متر دیجیتال (WalkLab) از شرکت Trans Instrument با دقت ۰/۱ میلی گرم در لیتر و اندازه گیری pH و درجه حرارت نیز با استفاده از دستگاه pH متر مدل 55 pH از شرکت Milwaukee با دقت ۰/۱ واحد در نیروها بطور روزانه اندازه گیری گردید. میزان pH در محدوده ۷/۸ تا ۸/۳، اکسیژن محلول همیشه فراتر از ۶/۵ پی پی ام و دما در محدوده ۱۹ تا ۲۴ درجه قرار داشت. همچنین اندازه گیری فاکتورهای آمونیاک، نیتريت و نیترات با تست کیت‌های

تاریکی در سال ۱۳۸۸ انتخاب شد. ماهیان مورد استفاده ابتدا به مدت ۱ هفته به شرایط آزمایش سازگار شدند. براساس ۶ تیمار موجود در این تحقیق، تعداد ۳×۶ واحد آزمایش (ونیرو) انتخاب گردید که کلاً ۱۸×۲۰۰ قطعه ماهی را در بر می گرفت. ونیروها با ابعاد ۲×۲ متر و به ارتفاع ۴۰ cm و با چرخش آب در حدود ۱۰ لیتر در دقیقه برای پرورش به مدت ۶۰ روز تنظیم شدند. تیمارهای نوری- تاریکی شامل: (۱) شرایط نوری طبیعی کارگاه (شاهد)، (۲) ۲۴ ساعت روشنایی کامل، (۳) ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، (۴) ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، (۵) ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی، (۶) ۲۴ ساعت تاریکی کامل بودند. بر روی ونیروها پوشش پلاستیکی ضد نور در ۵ تیمار (دوم تا ششم) تعبیه شده و با نصب یک لامپ آفتابایی ۲۰ وات (کم مصرف) در ارتفاع ۱ متری ونیرو، تنظیم ساعات روشنایی و تاریکی توسط ۳ تایمر دیجیتالی (Everflourish Electrical Co, China) بطور دقیق صورت گرفت. غذادهی در طی ۳ بار در روز غذادهی بر اساس ۱۰٪ وزن بدن با غذای کنستانتره شرکت اصفهان مکمل با ۴۰٪ پروتئین، ۱۶٪ چربی، ۱۲٪ خاکستر، ۳٪ فیبر، و ۱۱٪ رطوبت بطور یکسان و بشکل خمیری برای کلیه تیمارها انجام شد. در طی غذادهی موقتاً برای ۳ بار در روز و در طی حدوداً ۱ دقیقه، بخشی از پوشش‌های کناری تیمارهای دوم تا ششم برداشته می شدند و سریعاً جایگزین می گردیدند. سایر شرایط مطلوب پرورش از جمله ورود و خروج آب، شستشوی ونیرو (هر ۵ روز یکبار)، مراقبت‌های بهداشتی ماهیان، عدم دستکاری و غیره در طی مدت زمان آزمایش (۶۰ روز) بطور یکسان بر روی همه تیمارها اعمال شد.

روشنایی برای تیمارهای قابل تنظیم دوم تا ششم با لگاریتم تعداد باکتریهای لاکتوباسیلوس ($P=0/956$) و لگاریتم شمارش کل باکتریایی ($P=0/079$) دیده نمی شود. تنها نتیجه مشخص از این آزمونهای تعیین رابطه (شکل ۲)، بالاتر بودن میزان همبستگی معکوس ($r=-0/58$) بین ساعات روشنایی و لگاریتم شمارش کل باکتریایی ماهیان است که بطور مشخص با افزایش ساعات روشنایی، میزان بار باکتریایی کاهش یافته است.

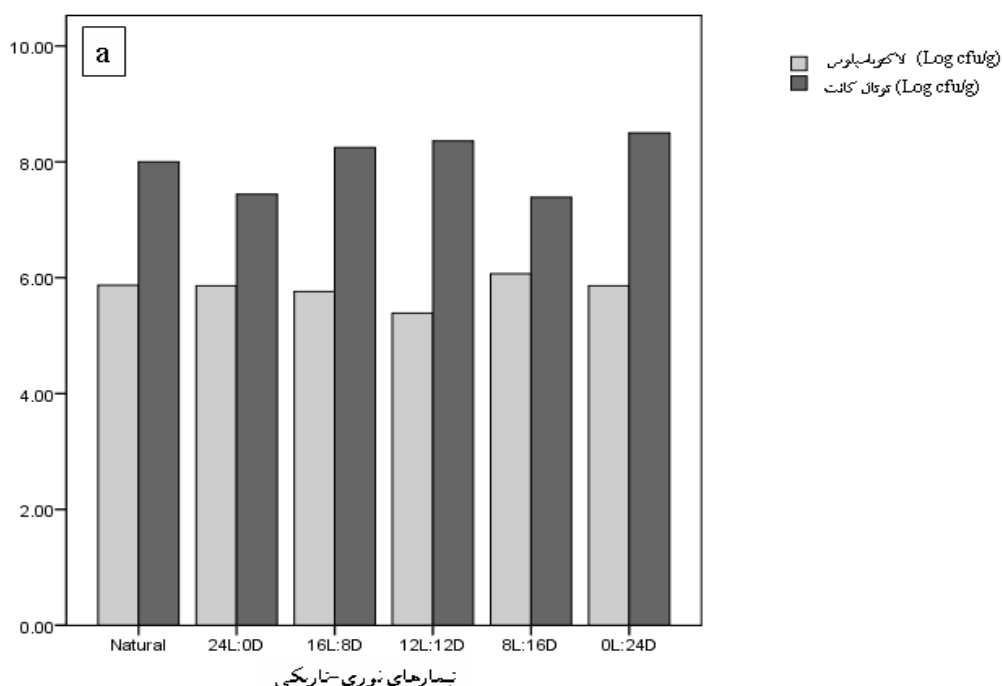
رگرسیون چند متغیره برای بررسی رابطه بین ساعات روشنایی (از ۰ تا ۲۴ ساعت، X_1) و لگاریتم فراوانی باکتریهای لاکتوباسیلوس روده ای (X_2) در متغیرهای وابسته تلفات، ضریب رشد ویژه، و ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای دوم تا ششم در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس جدول ۲، باکتریهای لاکتوباسیلوس حاضر در روده ماهیان مورد مطالعه با استفاده از کیت API-50 CH (جدول ۳) در تیمارهای مختلف نوری - تاریکی مورد بررسی و شناسایی واقع شده است.

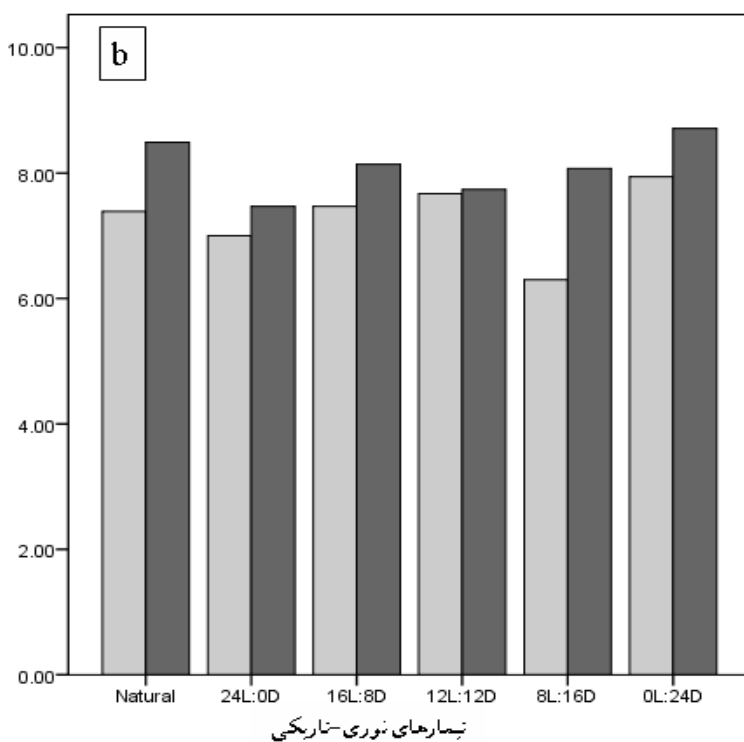
شرکت Hach و توسط دستگاه فتومتر DR-890 بطور هفتگی مورد سنجش واقع می شد.

داده‌های حاصل از این تحقیق با استفاده از روش همبستگی ساده و چند متغیره پیرسون در $P < 0/05$ مورد تحلیل آماری قرار گرفت و از نرم افزار SPSS 16 جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

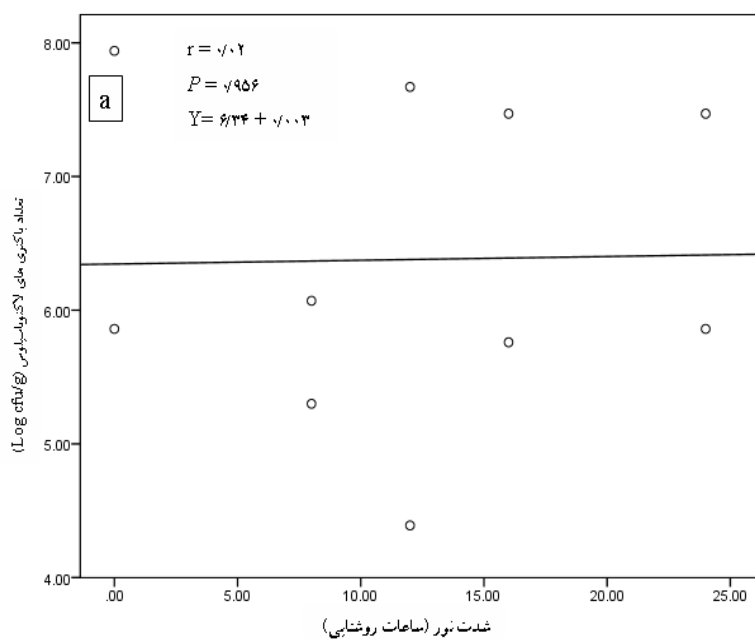
نتایج

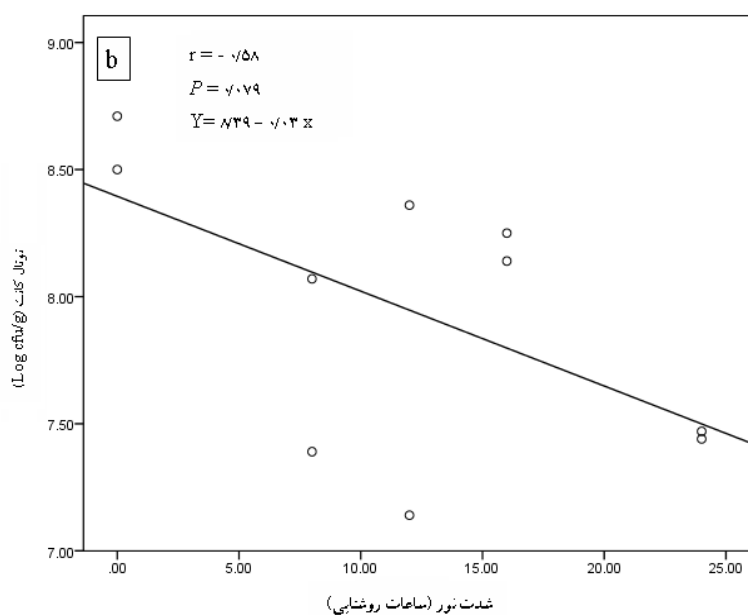
شمارش باکتریهای لاکتوباسیلوس (یا لاکتیک اسید باکتریها) و شمارش کل باکتریایی در روده ماهیان مورد آزمایش در طی روزهای ۳۰ (میانی) و ۶۰ (پایانی) آزمایش برای تمامی رژیمهای نوری - تاریکی در شکل ۱ ارائه شده است. بر اساس این شکل، شمارش کل باکتریایی تغییرات اندکی را در روزهای ۳۰ و ۶۰ آزمایش نشان می دهد ولی تعداد باکتریهای لاکتوباسیلوس در حدود تقریبی ۱ لگاریتم از روز ۳۰ به ۶۰ در بیشتر تیمارها افزایش نشان می دهد. همچنین بر اساس شکل ۲، رابطه معنی داری بین ساعات





شکل ۱: شمارش باکتریهای لاکتوباسیلوس و توتال کانت در روده ماهیان مورد مطالعه در روز ۳۰ (a) و روز ۶۰ (b) در سال مورد بررسی (۱۳۸۸)





شکل ۲: رابطه بین ساعات روشنایی با شمارش باکتریهای لاکتوباسیلوس (a) و توتال کانت (b) در روده ماهیان مورد مطالعه

جدول ۱: رگرسیون چند متغیره در بررسی رابطه بین ساعات روشنایی (از ۰ تا ۲۴ ساعت، X_1) و لگاریتم فراوانی باکتریهای لاکتوباسیلوس روده ای (X_2) در ۳ متغیر وابسته (تلفات، ضریب رشد ویژه، و ضریب تبدیل غذایی) در تیمارهای دوم تا ششم در سال مورد بررسی (۱۳۸۸)

تلفات (y)	ضریب رشد ویژه (SGR) (y)	ضریب تبدیل غذایی (FCR) (y)	
$y = -7.78 + 0.13 X_1 + 3.96 X_2$	$y = 0.435 - 0.008 X_1 + 0.08 X_2$	$y = 5.30 + 0.02 X_1 - 0.44 X_2$	فرمول رگرسیون
۰/۷۲	۰/۶۵	۰/۵۹	R^2 (ضریب تعیین)
۰/۲۷۲	۰/۳۴۷	۰/۴۰	P

جدول ۲: باکتریهای لاکتوباسیلوس حاضر در روده ماهیان مورد مطالعه با استفاده از کیت API-50 CH در تیمارهای مختلف نوری - تاریکی در سال مورد بررسی (۱۳۸۸)

<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	تیمارهای نوری - تاریکی
-	+	+	+	تیمار ۱ (شرایط طبیعی)
-	+	+	+	تیمار ۲ (۲۴ ساعت روشنایی)
+	-	+	+	تیمار ۳ (۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی)

				تاریکی)
+	-	-	+	تیمار ۴ (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی)
-	+	-	+	تیمار ۵ (۸ ساعت روشنایی، ۱۶ ساعت تاریکی)
+	+	+	+	تیمار ۶ (۲۴ ساعت تاریکی)

جدول ۳: تشخیص گروههای باکتریهای لاکتوباسیلوس روده ای ماهیان مورد مطالعه با استفاده از کیت API-50 CH در سال مورد بررسی (۱۳۸۸)

گروههای لاکتوباسیلوس روده ای				
D	C	B	A	
-	-	-	-*	0
-	-	-	-	Glycerol
-	-	-	-	Erythritol
-	-	-	-	D-arabinose
+	+	+	+	L-arabinose
+	+	+	+	D-ribose
-	-	-	-	D-xylose
-	-	-	-	L-xylose
-	-	-	-	D-adonitol
-	-	-	-	Methyl-βD-xylopyranoside
+	+	+	+	D-galactose
+	+	+	+	D-glucose
+	+	+	+	D-fructose
+	+	+	+	D-mannose
-	-	-	-	L-sorbose
-	-	-	-	L-rhamnose
-	+	-	-	Dulcitol
-	-	-	-	Inositol
-	-	+	-	D-mannitol
-	-	-	-	D-sorbitol
-	+	+	-	Methyl-αD-mannopyranoside
-	-	-	-	Methyl-αD-glucopyranoside
+	+	+	+	N-acetylglucosamine
+	+	-	+	Amygdalin
+	+	+	+	Arbutin
+	+	+	+	Esculin
+	+	+	+	Salicin
+	+	+	+	D-cellobiose
+	+	+	+	D-maltose

-	+	+	+	D-lactose
+	+	+	+	D-melibiose
+	+	+	+	D-saccharose
+	+	-	+	D-trehalose
+	-	-	+	Inulin
-	-	-	-	D-melezitose
+	-	-	+	D-raffinose
-	-	-	-	Amidon
-	-	-	-	Glycogen
-	-	-	-	Xylitol
+	+	+	+	Gentiobiose
-	-	-	-	D-turanose
-	-	-	-	D-lyxose
-	+	+	-	D-tagatose
-	-	-	-	D-fucose
-	-	-	-	L-fucose
-	-	-	-	D-arabitol
-	-	-	-	L-arabitol
-	-	-	-	Gluconate
-	-	-	+	2- ketogluconate
-	-	-	-	5-ketogluconate
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	گونه باکتری
%۹۹	%۹۷	%۹۹	%۷۸	سطح اعتماد

* (-): واکنش منفی، (+): واکنش مثبت

Vibrio anguillarum morhua که در معرض بیماری

قرار گرفته بود، باکتریهای لاکتوباسیلوس در روده ماهی برتری یافتند و موجب دفع بیماری شدند (Gildberg et al., 1997). تعداد زیاد باکتریهای لاکتوباسیلوس (از گونه های *Lactobacillus plantarum*, *L. lactis*, *L. fermentum*) موجب عدم بروز علائم بیماری فرونکلوزیس در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان گردید (Balcázar et al., 2007). افزایش ایمنی و بقای ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (Nikoskelainen et al., 2003) و ماهی *Sparus auratus* (Salinas et al., 2005) توسط استفاده از باکتریهای لاکتوباسیلوس گزارش گردید.

بحث و نتیجه گیری

مطابق جدول ۱، ضریب تعیین بالایی بین ساعات روشنایی و فراوانی باکتریهای لاکتوباسیلوس روده ای با میزان تلفات ماهیان مورد آزمایش دیده می شود (۰/۷۲ = R²). اثرات مفید باکتریهای لاکتوباسیلوس در افزایش مقاومت در ماهیان بخوبی مطالعه شده است. باکتریهای لاکتوباسیلوس بعنوان معروفترین گروههای عمده باکتریهای پروبیوتیکی می باشند (Rolfe, 2000) که بطور مشخص در دستگاه گوارش جانداران حضور دارند (Nielsen et al., 2003). باکتریهای لاکتوباسیلوس موجب کاهش بروز باکتریهای بیماری زا در ماهی ها می شوند (Balcázar et al., 2008). در ماهی *Gadus*

Pediococcus و *plantarum*, *L. lactis* و *pentosaceus* با سطح اطمینان بین ۷۸ تا ۹۹ درصد بوده است (جداول ۲ و ۳). بر اساس جدول ۲ گونه *Pediococcus pentosaceus* بالاترین میزان شیوع را در روده ماهیان در بین باکتریهای شناسایی شده از خود نشان داد. بر اساس یافته های *Junganurakkun* و همکاران (۲۰۰۸) اثرات مفید باکتری *Pediococcus pentosaceus* در تحریک سیستم ایمنی اثبات گردیده است. Bailey و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که فلور میکروبی روده موش همستر (*Phodopus sungorus*) متأثر از تغییرات فتوپریودی بر روی بدن این موجود و میزان چربی است. آنها همچنین عنوان نمودند که افزایش طول روز موجب افزایش قابل توجه باکتریهای از شاخه *Proteobacteria* و خصوصاً جنس های *Citrobacter* در روده گردید. از آنجاییکه تحقیق حاضر بعنوان اولین پژوهش به مطالعه اثر دوره های نوری- تاریکی در میزان بار میکروبی و بررسی تنوع باکتریهای لاکتوباسیلوس حاضر در روده بچه ماهیان سفید می پردازد، بررسی اثرات مفید باکتریها و خصوصاً باکتریهای لاکتوباسیلوسی در سیستم ایمنی ماهیان (با انجام مطالعات خون شناسی) بر اساس رژیمهای مختلف نوری- تاریکی در تحقیقات آینده قابل بررسی می باشد.

عدم وجود رابطه معنی دار برای متغیرهای وابسته دیگر از جمله ضریب رشد ویژه (SGR, $P= ۰/۳۴۷$) و ضریب تبدیل غذایی (FCR, $P= ۰/۴۰$) نیز نشاندهنده این موضوع است که اثر توأم ساعات روشنایی (از ۰ تا ۲۴ ساعت برای تیمارهای دوم تا ششم) و فراوانی باکتریهای لاکتوباسیلوس روده ای در میزان متغیرهای مذکور غیر مرتبط است (جدول ۱). باکتریهای لاکتوباسیلوسی موجب افزایش اثرات مفید فرایند هضم در موجودات آبی می گردد. Lara-Flores و همکاران (۲۰۰۳) رشد بهتر ماهی تیلاپیا *Oreochromis niloticus* را در ازای مصرف باکتریهای مفید لاکتوباسیلوسی و سایر باکتریهای پروبیوتیکی نسبت به تیمارهای شاهد بیان داشتند. Yanbo and Zirong (۲۰۰۶) در تحقیقی بر روی افزودن مکملهای باکتریایی مفید در ماهی کپور معمولی دریافتند که با افزایش دامنه فعالیت آنزیمی روده ماهی بواسطه حضور باکتریها، هضم ترکیبات پروتئینی افزایش می یابد. Hai and Fotedar (۲۰۰۹) در تحقیق مشابهی در استفاده از باکتریهای مفید در *Penaeus latisulcatus* اشاره داشتند که جذب مواد غذایی افزایش داشت و ضریب تبدیل غذایی کاهش یافت.

در این مطالعه، بر اساس کیت تشخیصی API 50 CHL، گونه های لاکتوباسیلوس شناسایی شده در روده ماهیان شامل باکتریهای *Lactobacillus brevis*.

منابع

- south of Caspian Sea. Rev. Fish Biol. Fish. Doi: 10.1007/s11160-010-9163-9.
2. Bailey, M.T., Walton, J.C., Dowd, S.E., Weil, Z.M. and Nelson, R.J., 2010. Photoperiod modulates gut bacteria composition in male Siberian
1. Abdolhay, H.A., Daud, S.K., Rezvani Ghilkolahi, S., Pourkazemi, M., Siraj, S.S. and Abdul Satar, M.K., 2010. Fingerling production and stock enhancement of Mahisefid (*Rutilus frisii kutum*) lessons for others in the

- beluga sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758). *Comp. Clin. Pathol.* DOI 10.1007/s00580-010-1051-0.
- 8. Gildberg, A., Mikkelsen, H., Sandaker, E. and Ringø, E., 1997.** Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of atlantic cod (*Gadus morhua*). *Hydrobiologia* 352: 279-285.
- 9. Hai, N.V. and Fotedar, R., 2009.** Comparison of the effects of the prebiotics (Bio-Mos® and β -1, 3-D-glucan) and the customised probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *P. aeruginosa*) on the culture of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). *Aquaculture* 289: 310-316.
- 10. Junganurakkun, B., Wang, Q., Xu S.H., Tada U., Minamida, K., Yasokawa, D., Sugi, M., Hara, H. and Asano, K., 2008.** *Pediococcus pentosaceus* NB-17 for probiotic use. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 106(1): 69-73.
- 11. Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzmán-Méndez, B.E. and López-Madrid, W., 2003.** Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 216: 193-201.
- 12. Nielsen, D.S., Møller, P.L., Rosenfeldt, V., Paerregaard, A., Michaelsen, K.F. and Jakobsen, M., 2003.** Case study of the distribution of mucosa-associated Bifidobacterium species, Lactobacillus species, and other lactic acid bacteria in the human colon. hamsters (*Phodopus sungorus*). *Brain Behavior Immunol.* 24(4): 577-584.
- 3. Balcázar, J.L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Vendrell, D., Calvo, A.C., Marquez, I. and Girones, J.L., 2007.** Changes in intestinal microbiota and humoral immune response following probiotic administration in brown trout (*Salmo trutta*). *British J. Nutr.* 97: 522-527.
- 4. Balcázar, J.L., Vendrell, D., de Blas, J., Ruiz-Zarzuola, I., Maquíz, J.L. and Girones, O., 2008.** Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from intestinal microbiota of fish. *Aquaculture* 278: 188-191.
- 5. Bayarri, M.J., Rodriguez, L., Zanuy, S., Madrid, J.A., Sanchez-Vazquez, F.J., Kagawa, H., Okuzawa, K. and Carrillob, M., 2004.** Effect of photoperiod manipulation on the daily rhythms of melatonin and reproductive hormones in caged European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 136: 72-81.
- 6. Ghomi, M.R., Nazari, R.M., Sohrabnejad, M., Ovissipour, M., Zarei, M., Esmaili Mola, A., Makhdoomi, C., Rahimian, A., Noori, H. and Naghavi, A., 2010a.** Manipulation of photoperiod in growth factors of beluga sturgeon *Huso huso*. *African J. Biotech.* 9(13): 1978-1981.
- 7. Ghomi, M.R., Nazari, R.M., Poorbagher, H., Sohrabnejad, M., Jamalzadeh, H.R., Ovissipour, M., Esmaili Mola, A. and Zarei, M., 2010b.** Effect of photoperiod on blood parameters of on-growing

2005. Dietary administration of *Lactobacillus delbrueckii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses. *Fish Shellfish Immunol.* 19: 67-77.
19. **Savage, D.C., 1989.** The normal human microflora composition. PP.3-18. In: T.Grubb, T.Midtvedt and E.Norin (Eds.). *The Regulatory and protective Role of The Normal Microflora.* The Macmillan press Ltd., Houndsmills.
20. **Taylor, J.F., North, B.P., Porter, M.J.R., Bromage, N.R. and Migaud, H., 2006.** Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 256: 216–234.
21. **Valenzuela, A.E., Silva, V.M. and Klempau, A.E., 2006.** Qualitative and quantitative effects of constant light photoperiod on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) peripheral blood erythrocytes. *Aquaculture* 251: 596–602.
22. **Yanbo, W. and Zirong, X., 2006.** Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Anim. Feed Sci. Technol.* 127: 283-292.
- Appl. *Envir. Microbiol.* 69(12): 7545-7548.
13. **Nikoskelainen, S., Ouwehand, A.C., Bylund, S., Salminen, S. and Lilius, E., 2003.** Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). *Fish Shellfish Immunol.* 15: 443-452.
14. **Norberga, B., Brown, C.L., Halldorsson, O., Stensland, K. and Bjornsson, B.T., 2004.** Photoperiod regulates the timing of sexual maturation, spawning, sex steroid and thyroid hormone profiles in the Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 229: 451–467.
15. **Ringo, E. and Birkbeck, T.H., 1999.** Intestinal microflora of fish and fry. *Aqua. Res.* 30: 73 - 93.
16. **Rolfe, R.D., 2000.** The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.* 130: 396S–402S.
17. **Ruchin, A.B., 2007.** Effect of Photoperiod on Growth, Physiological and Hematological Indices of Juvenile Siberian Sturgeon *Acipenser baerii*. *Biol. Bull.* 34(6): 583–589.
18. **Salinas, I., Cuesta, A., Angeles Esteban, M. and Meseguer, J.,**

The effect of photoperiod on gut bacterial load in (*Rutilus frisii kutum*) in juvenile stage

M.R. Ghomi^{1*}, Z. Heshmatipour², M. Sohrabnejad³ and M. Zarei⁴

1) Department of Fisheries, Islamic Azad University of Tonekabon, 46817, Tonekabon, Iran

2) Department of Microbiology, Islamic Azad University of Tonekabon, 46817, Tonekabon, Iran

3) Department of Fisheries, Tarbiat Moddares University, Noor, Iran

4) Shahid Rajaei Fish Farm, Sari, Iran

*Corresponding author

mghomi@tonekabon.iau.ac.ir

Received date:19/02/2010

Reception date:20/03/2010

Abstract

In this study, the effect of photoperiod on the gut bacterial load in *Rutilus frisii kutum* and also the simultaneous relation between regulated light levels and LAB bacteria load on the growth and mortality were evaluated. Fish were received six photoperiod regimes: natural photoperiod, 24L:0D, 16L:8D, 12L:12D, 8L:16D and 0L:24D. There was no significant relation between light hours and LAB ($P = 0.956$) and total viable counts ($P = 0.079$) in following treatments 2-6. There was a high determination coefficient ($R^2 = 0.72$) among light hours and intestinal LAB counts with mortality, but no significant difference was observed ($P = 0.272$).

Keywords: Photoperiod, *Rutilus frisii kutum*, Gut bacterial load, LAB.