

## حصر وتعريف أنواع الجنس الفيبريو *Vibrio sp.* من الروبيان البحري

### *Penaeus indicus* ومياه استزراعها من مزرعتين في غرب المملكة العربية السعودية

عالية عبد الباقي أحمد شعيب\*، نوف بنت محمد العنزي

قسم النبات والأحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة الملك سعود

ص.ب. ٢٤٥٥، الرياض، ١١٤٥١، المملكة العربية السعودية

E-mail: alia@ksu.edu.sa

alishoeib7@yahoo.com

Website: <http://faculty.ksu.edu.sa/shoeib>

(قدم للنشر في ٢٥/١/١٤٢٩هـ؛ وقبل للنشر في ٢٤/٢/١٤٢٩هـ)

الكلمات المرشدة: الروبيان، بكتيريا، الفيبريو، مياه الأحواض، السطح الخارجي، الخياشيم، الجهاز الهضمي، السعودية.

**ملخص البحث.** دُرست الفلورا الطبيعية المتمثلة في جنس الفيبريو للروبيان الأبيض *Penaeus indicus* البحري المستزرع، وذلك من مزرعتين، أحدهما مزرعة الوطنية بالليث، والأخرى مزرعة البحر الأحمر التابعة للشركة السعودية للأسماك بالحريضة. قُدرت أعداد خلايا الفيبريو في مياه أحواض الاستزراع، بالإضافة إلى السطح الخارجي والخياشيم والجهاز الهضمي للروبيان في الطور البافع juvenile. أظهرت نتائج العد معنوية في أجزاء الروبيان المدروسة، وبينتها المائية. فوجد أن أعلى نسبة حمل بكتيري في الجهاز الهضمي، يليه الخياشيم، يتبعه السطح الخارجي للروبيان، وأخيرا مياه الأحواض. أسفرت عمليات العزل والتعريف عن عزل الأنواع التالية *Vibrio* H *Valginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. splendidus* H هذه الدراسة هو أول تسجيل لها في الروبيان الأبيض المستزرع في المملكة العربية السعودية.

\* قسم أمراض النبات، كلية الزراعة، جامعة الإسكندرية، جمهورية مصر العربية

## مقدمة

في الروبيان المستزرع، لذا اختير هذا الموضوع للبحث، وتعد الدراسة مرجعية هامة كونها الأولى من نوعها في المملكة العربية السعودية.

## طرق العمل

تم الحصول على ٧٥ روبيانة من نوع الروبيان الأبيض *Penaeus indicus* ، في الطور اليافع juveniles (٤٠، ٣٦٠، إلى ١٣٢، ٦ جرام/ حبة)، من مزرعتين تستزرع الروبيان في المياه المالحة، أحدهما المزرعة الوطنية، والتي تقع بالليث على بعد ٢٠٠ كم جنوباً من مدينة جدة على ساحل البحر الأحمر- والأخرى هي مزرعة البحر الأحمر التابعة للشركة السعودية للأسماك، بالخریضة بمنطقة عسير، بالمملكة العربية السعودية، وذلك في الفترة من شهر صفر ١٤٢٣هـ إلى رجب ١٤٢٤هـ.

جمع ٥٠ و ٢٥ روبيانة، من عشر وخمس أحواض مختلفة عشوائياً، من المزرعة الأولى والثانية على التوالي، وذلك بمعدل خمس روبيانات/ حوض، ونُقلت حية من المزارع إلى المختبر في أكياس بلاستيكية معقمة محتوية على مياه بحر مزودة بالأوكسجين، مع وضع قطعة من البلاستيك على الجزء الحاد في منطقة الرأس *Rostrum*، وذلك لضمان عدم ثقب الكيس البلاستيكي.

- أتبع طريقة (Mathew, 1996) لتحضيرات العينات للعدّ والعزل البكتيريولوجي، وذلك عن طريق وضع كل خمس روبيانات مُجمعت من حوض واحد، ووزنهم، أما أن تكون الروبيانات كاملة (في حالة العزل من السطح الخارجي) أو أجزاء منها (في حالة العزل من الخياشيم والجهاز الهضمي)، ثم أتبع الخطوات التالية:

اهتمت الدراسات السابقة بالفلورا السائدة في الروبيان، حيث تم التعرف على سلالات من البكتيريا الهوائية، واللاهوائية وبكتيريا غير ذاتية التغذية منها: *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Photobacterium*, *Pseudomonas*, *Neisseria* (Chang et al, 1996, Gomez-Gil et al, 1998, Oxley et al, 2002). الجنس *Vibrio* sp سائد كفلورا طبيعية في الروبيان (Vanderzant et al, 1971; Christopher et al, 1978; Singh et al, 1989; Hameed, 1993). وقد تم دراسة محتوى الجهاز الهضمي للروبيان الأبيض *P.indicus* وخاصة الأمعاء، ولوحظ أن أمعاء الأطوار البالغة واليرقات تحتوي على عدد كبير من الفيريو، والتي تمد الروبيان بالبيئة المناسبة للنمو (Yasuda and Kitao, 1980; Palaniappan, 1982; Colomi, 1985; Mitra, 1987; Ninawe and Banik, 1987).

يتميز الجنس *Vibrio* sp بقدرته على تحمل مدى واسع من الملوحة، ويتبع هذا الجنس ٤٦ نوع، يمكن عزله من المياه العذبة والمالحة. وهناك أنواع ممرضة للإنسان وأخرى للحيوانات البحرية. وبعض أنواعه يُمثل الفلورا التكافلية للأسماك والقشريات (Baumann et al., 1984; Austin and Lee, 1992).

على الرغم لما يمثله هذا الكائن من أهمية غذائية واقتصادية، في ظل تزايد السكان واحتياجهم المستمرة للغذاء، ومع تطور زراعة الروبيان بشكل كبير في المملكة، حتى أصبحت من الدول العشر الأولى المنتجة للروبيان، إلا أن الدراسات السابقة في المملكة، لم تتعرض لبحث يُعرف الأنواع السائدة لجنس *Vibrio*

لتحليل الإحصائي لنتائج الدراسة المتحصل عليها. أخضعت المستعمرات النقية النامية على بيئة TCBS، إلى فحص الشكل المظهري، والفحص الميكروسكوبي لشرائح مصبوعة بصبغة جرام، وكذلك التجارب البيوكيميائية باستخدام نظام BioMerieux API-20E لتعريف الأنواع البكتيرية، والتفريق بينهم وفقاً للطرق المتبعة في (West and Colwell, 1984, Austin and Austin, 2000, Lightner, 1996, Afifi, 1989/1999)؛ (أبو الدهب وآخرون، ١٩٩٧).

### النتائج

أثبتت نتائج التحليل الإحصائي (الجدولين رقمي ١، ٢) تماثل الأعداد البكتيرية للفيريو المعزولة من مصادر العزل في كل من المزرعة الأولى والثانية، في حين دلت النتائج على اختلاف مصادر العزل بمعنوية (P)  $\leq 0.05$  في حملها لخلايا الفيريو فقد وجد أعلى تعداد في الجهاز الهضمي ويليه الخياشيم ثم الفلورا السطحية وأخيراً مياه أحواض الاستزراع والتي تمثل أقل قيمة لأعداد خلايا الفيريو كمتوسط عام للمزرعة.

وجد أن أعلى تعداد للفيريو في المزرعة الأولى (الجدول رقم ١)، كان في الحوض رقم (٧) وبمعنوية (P)  $\leq 0.05$  عن الحوض رقم (٢) الذي يليه في التعداد ومن ثم تدرجت بقية الأحواض من حيث العدد البكتيري حتى الحوض رقم (٣) والذي يمثل أقل متوسط عام لعدد خلايا الفيريو المعزولة من مياه الأحواض والفلورا السطحية والخياشيم والجهاز الهضمي ككل. دلت النتائج الإحصائية في الجدول رقم (٢) الخاص بالمزرعة الثانية إن الحوض رقم (٤) أظهر معنوية (P)  $\leq 0.05$  في زيادة أعداد خلايا الفيريو المعزولة من مصادر

- إضافة تسعة مل ماء بحرقم/ ١ جرام من الروبيان أو أجزاء محل الدراسة، للحصول على التخفيف  $10^{-1}$ .

- حُركت الدوارق باتجاه عقارب الساعة وعكس عقارب الساعة لمدة ٣-٢ دقائق باستخدام جهاز الهز، وذلك لإزالة الخلايا البكتيرية الموجودة على السطح الخارجي للروبيان.

- وضعت الخياشيم في أنبوبة اختبار معقمة، ثم خلطت بجهاز Homogenizer عند سرعة ١٥٠٠ لفة/ دقيقة للتجانس.

- غمر الروبيان بعد إزالة الخياشيم في كحول ٧٠٪ مع التحريك لمدة دقيقة باستخدام جهاز الهز. الغسل عدة مرات بماء مقطر معقم، ثم وضع الروبيان على ورق ترشيع معقم ليتمص الماء الزائد. للحصول على الجهاز الهضمي (البكرياسي والأمعاء)، يزال الرأس، فيظهر البنكرياس، ومن ثم يشق الظهر طولياً للحصول على الأمعاء المرتبطة به. وزن الجهاز الهضمي، وخلطه بجهاز Homogenizer على ١٥٠٠ لفة/ دقيقة حتى التجانس.

- قُدرت أعداد الخلايا (وحدة تكوين مستعمرة/ مل) التابعة للجنس محل الدراسة، سواء من مصادر العزل المختلفة أو من مياه استزراعه، بالزرع على بيئة tcbs الانتخابية لجنس *Vibrio*.

- حُضنت الأطباق عند درجة حرارة  $(30 \pm 30)^\circ\text{C}$  لمدة ٢٤ ساعة ونُقيت الأنواع بزراعتها على أطباق Marine HIMEDIA - 2216 agar (Marine Agar ZoBell's)، وللحفظ نُقلت إلى أجار مانل من بيئة TSA (OXOID) (Tryptone Soya Agar) مع إضافة 2.5% NaCl.

- تم استخدام برنامجي (SPSS, 2001)؛ (SAS, 1995)

الجدول رقم (١). المتوسط والانحرافات المعيارية وتحليل التباين لأعداد بكتيرة *Vibrio* sp. المعزولة من الروبيان ومياه استزراعها في المزرعة الأولى.

أحواض الاستزراع		المصادر المختلفة			
الانحراف المعياري	المتوسط	الأحواض	الانحراف المعياري	المتوسط	المصادر
<sup>a</sup> ١.٠٣,٢	<sup>c</sup> ١.٠٣,٢	١	<sup>a</sup> ١.٠٠,١	<sup>d</sup> ١.٠٠,٥	ماء الأحواض
<sup>a</sup> ١.٠٣,٤	<sup>b</sup> ١.٠٤,٩	٢	<sup>a</sup> ١.٠١,١	<sup>e</sup> ١.٠٢,٩	الفلورا السطحية
<sup>a</sup> ١.٠٢,٠	<sup>f</sup> ١.٠٢,٨	٣	<sup>a</sup> ١.٠١,١	<sup>b</sup> ١.٠٤,٣	الخبثيم
<sup>a</sup> ١.٠٣,٠	<sup>e</sup> ١.٠٣,٣	٤	<sup>a</sup> ١.٠١,٣	<sup>a</sup> ١.٠٨,٥	الجهاز الهضمي
<sup>a</sup> ١.٠٣,٣	<sup>d</sup> ١.٠٤,٢	٥	<sup>a</sup> ١.٠٣,١	<sup>a</sup> ١.٠٤,١	لكلي
<sup>a</sup> ١.٠٣,٢	<sup>e</sup> ١.٠٤,٦	٦			
<sup>a</sup> ١.٠٣,٤	<sup>a</sup> ١.٠٥,٢	٧			
<sup>a</sup> ١.٠٣,٢	<sup>d</sup> ١.٠٤,٣	٨			
<sup>a</sup> ١.٠٣,١	<sup>e</sup> ١.٠٣,٤	٩			
<sup>a</sup> ١.٠٢,٩	<sup>cd</sup> ١.٠٤,٥	١٠			
<sup>a</sup> ١.٠٣,١	<sup>a</sup> ١.٠٤,١	لكلي			

### تحليل التباين

المعوية	متوسط مجموع مربع الانحرافات	درجات الحرية	مصادر الاختلاف
****	٣٣٥٧٠.٠٠٠٠٠٠٠	٣	المصادر (م)
****	٧٨٠.٦٢٧٦٢٩٦٣	٩	أحواض الاستزراع (أ)
****	١٥٨٣٦٦٢٢٢٢٢	٢٧	م × أ
	٨٦٢٩٥٨٣٣٣	٨٠	الخطأ العشوائي

المتوسطات التي لا تحمل حرف مشترك تكون مختلفة معويًا عند احتمال (P ≤ 0.05)

\*\*\*\* دالة عند مستوى معوية (P ≤ 0.0001)

الجدول رقم (٢). المتوسط والانحرافات المعيارية وتحليل التباين لأعداد بكتيرة *Vibrio* sp. المعزولة من الروبيان ومياه استزراعها في المزرعة الثانية.

أحواض الاستزراع			المصادر المختلفة		
الانحراف المعياري	المتوسط	الأحواض	الانحراف المعياري	المتوسط	المصادر
<sup>a</sup> ١.٠×٢.٠	<sup>d</sup> ١.٠×٢.٩	١	<sup>a</sup> ١.٠×٠.٢	<sup>d</sup> ١.٠×٠.٥	ماء الأحواض
<sup>a</sup> ١.٠×٣.٣	<sup>c</sup> ١.٠×٣.٨	٢	<sup>a</sup> ١.٠×١.٠	<sup>c</sup> ١.٠×٢.٧	الفلورا السطحية
<sup>a</sup> ١.٠×٢.٤	<sup>d</sup> ١.٠×٢.٩	٣	<sup>a</sup> ١.٠×١.٢	<sup>b</sup> ١.٠×٤.٠	الخبثايم
<sup>a</sup> ١.٠×٣.٥	<sup>a</sup> ١.٠×٥.٠	٤	<sup>a</sup> ١.٠×١.٨	<sup>a</sup> ١.٠×٧.٩	الجهاز الهضمي
<sup>a</sup> ١.٠×٣.٤	<sup>b</sup> ١.٠×٤.٢	٥	<sup>a</sup> ١.٠× ٣.٠	<sup>a</sup> ١.٠× ٣.٨	الكلي
<sup>a</sup> ١.٠×٣.٠	<sup>a</sup> ١.٠× ٣.٨	الكلي			

## تحليل التباين

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	متوسط مجموع مربع الانحرافات	المعوية
المصادر (٥)	٣	١٤٧٧٤٠٠٠٠٠٠٠	****
أحواض الاستزراع (١)	٤	٩٧٩٩١٤٤١٦٦٧	****
م × أ	١٢	٣١٨٧٦٤٩٧٢٢٢٢	****
خطأ العشوائي	٤٠	٧٩٤١٣٣٣٣٣	

\*\*\*\* دالة عند مستوى معنوية (0.0001)  $(P \leq)$  للموسطات التي لا تحمل حرف مشترك تكون مختلفة معنوية عند احتمال (0.05)  $(P \leq)$

وهذا ينطبق على كلا من المزرعة الأولى والثانية في تعداد خلايا الفيبريو. في حين أوضحت نتائج التفاعل بين مصادر العزل المختلفة والمزرعة الواحدة عدم وجود فروق معنوية لعدد خلايا الفيبريو (الجدول رقم ٣).

طبقاً للاختبارات المورفولوجية والفيسيولوجية والبيوكيميائية (الجدول أرقام ٤، ٥، ٦)، تم عزل وتعريف أنواع الفيبريو التالية: *V. vulnificus*، *V. alginolyticus*، *V. anguillarum*، *V. parahaemolyticus*، *V. fluvialis*، *V. splendidus II*، من السطح الخارجي والخبثايم والجهاز الهضمي للروبيان من كلا المزرعتين.

أظهرت النتائج أن هناك اختلاف في تعداد أنواع الفيبريو المعزولة من الفلورا السطحية، يختلف من حوض إلى آخر. فأظهرت بعض الأحواض تعداداً لأنواع معينة من الفيبريو تزيد عن  $10^6$  وحدة تكوين مستعمرة/ جرام،

العزل كمتوسط عام، يليه الحوض رقم (٥) ثم الحوض رقم (٢) ثم الحوضان رقم (١، ٣) اللذان يمثلان أقل تعداداً للخلايا البكتيرية.

بدراسة الصورة العامة للحمل البكتيري لخلايا الفيبريو للروبيان الأبيض المستزرع في المملكة العربية السعودية إحصائياً، أظهرت النتائج المدونة في الجدول رقم (٣)، أن هناك معنوية بين مصادر العزل بعضها البعض في عدد خلايا الفيبريو فكان الجهاز الهضمي أكثر المصادر تعداداً، يليه الخبثايم، ثم الفلورا السطحية، ثم مياه الأحواض، حيث سجلت الأخيرة أقل تعداداً للخلايا. كما يتضح أنه لا توجد فروق معنوية بين المزرعة الأولى والمزرعة الثانية في التعداد.

أظهر التحليل الإحصائي أن هناك معنوية  $(P \leq 0.0001)$  بين المزرعة الواحدة وأحواض الاستزراع بها،

وذلك كما في حالة النوع *V.alginolyticus* في الأحواض أرقام (١٠،٧،٦،٥،٢) للمزرعة الأولى، والأحواض (١،٤) للمزرعة الثانية، والنوع *V.auguillarum* في الأحواض أرقام (٨،٧،٢) في المزرعة الأولى وأحواض (٤،٥) في المزرعة الثانية. بينما ظهر النوع *V.paraheamolyticus* في الحوض رقم (١٠) للمزرعة الأولى فقط. كما أوضحت نتائج العزل سلبية الحصول على الأنواع *V.vulnificus*، *V.fluviialis*، *V.splendidus II* في بعض أحواض الاستزراع سواء في المزرعة الأولى أو الثانية (الجدول رقم ٧).

### المناقشة

تعد أنواع جنس الـ *Vibrio* من البكتيريا السائدة، والمصنفة كفلورا طبيعية، تعيش في أمعاء القشريات البحرية خاصة الروبيان، إلا أن وجودها سلاح ذو حدين أوله دورها الهام في عملية الهضم (Dempsey 1989; Dempsey and Kitting, 1997) أما الجانب الآخر فإنها من البكتيريا الانتهازية الضارة والممرضة للروبيان (Pizarro and Nash, 1990; Lightner, 1977; Alfaro 1994, Verschuere et al, 2000). وخاصة عند اختلال الجهاز المناعي عند اختلال العوامل البيئية، وتبأت الظروف المساعدة لاختلال التوازن الحيوي والطبيعي لهذه البيئة (Kaneko and Colwell, 1973; Varga, 1984; West and Lee, 1984 and Hirtle, 1975). عندئذ يُعرف المرض الناتج عن بكتيرة الفيبريو بمرض الفيبريوزس *Vibriosis* وهو مرض ذات صلة بالإجهاد، الحالات التي تنشأ في الكائنات الحية نتيجة للتغيرات البيئية والتي لا يستطيع معها الكائن السيطرة على استقرار التفاعلات الحيوية بداخله (برانية وآخرون (De la Pena et al, 1996)، (الجدول رقم ٨).

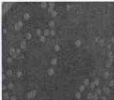





أثبتت نتائج عزل أنواع الفيبريو من الجهاز الهضمي (الجدول رقم ٩) تواجد النوعين *V.alginolyticus* و *V.auguillarum* في جميع أحواض الاستزراع للمزعتين، بتعداد يزيد عن  $10^6$  وحدة تكوين مستعمرة/ جرام أيضا اظهر النوع *V.paraheamolyticus* زيادة عددية في نسبة كبيرة من أحواض المزرتين. ومن الجهة الثانية

الجدول رقم (٣) - المتوسط والأحزاب العنبرية وتخليب النسيان لإعداد بحكمة *Wistar* طليبا المول من المصادر المختلفة البروتين وجماء أحماض الأسترواح والبروتية.

أحماض الأسترواح في البروتية الثانية		أحماض الأسترواح في البروتية الأولى		البروتية		المصدر	
الأحزاب العنبرية	المتوسط	المتوسط	الأحزاب العنبرية	المتوسط	الأحزاب العنبرية	البروتية	المتوسط
١	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣	١	١٠٠٣٠٣	١	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣
٢	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣	٢	١٠٠٣٠٣	٢	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣
٣	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣	٣	١٠٠٣٠٣	٣	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣
٤	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣	٤	١٠٠٣٠٣	٤	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣
٥	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣	٥	١٠٠٣٠٣	٥	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣
٦	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣	٦	١٠٠٣٠٣	٦	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣
٧	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣	٧	١٠٠٣٠٣	٧	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣
٨	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣	٨	١٠٠٣٠٣	٨	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣
٩	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣	٩	١٠٠٣٠٣	٩	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣
١٠	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣	١٠	١٠٠٣٠٣	١٠	١٠٠٣٠٣	١٠٠٣٠٣
تخليب النسيان							
المتوسط				متوسط جميع أنواع الأحمال			
$P \leq 0.0001$				$P \leq 0.0001$			
N.S - غير معنوي				N.S - غير معنوي			
$P \leq 0.0001$				$P \leq 0.0001$			
N.S - غير معنوي				N.S - غير معنوي			
$P \leq 0.05$				$P \leq 0.05$			

البيانات التي لا تحمل حرف مشترك تكون مختلفة معنوية عند الحصول  $P \leq 0.05$

الجدول رقم (٤). الصفات المزرعية لأنواع الفيريو المعزولة من الروبيان الأبيض على بيئة TCBS .

صورة للمستعمرات	الصفات المزرعية	وجه المقارنة أنواع الفيريو
	<p>مستعمرات خضراء، دائرية، لامعة، قطرها ٢ ملم، كاملة الحافة، سطحها ناعم، قوامها لزج، محدبة والارتفاع طفيف جداً عن سطح البيئة، لا تغير لون بيئة TCBS</p>	<b><i>V.vulnificus</i></b>
	<p>مستعمرات صفراء، دائرية، لامعة، قطرها ٣ ملم، كاملة الحافة، سطحها ناعم، قوامها لزج، محدبة والارتفاع طفيف جداً عن سطح البيئة، مركز المستعمرة قائم والحواف نصف شفافة، تغير لون بيئة TCBS من اللون الأخضر إلى اللون الأصفر.</p>	<b><i>V.alginolyticus</i></b>
	<p>مستعمرات صفراء فاتحة، دائرية، لامعة، قطرها ٥ ملم، كاملة الحافة، سطحها ناعم، قوامها لزج، محدبة ذات ارتفاع بسيط عن سطح البيئة، مركز المستعمرة قائم والحافة ضيقة و نصف شفافة، تغير من لون بيئة TCBS من اللون الأخضر إلى اللون الأصفر.</p>	<b><i>V.anguillarum</i></b>
	<p>مستعمرات خضراء، دائرية، لامعة، قطرها ٣ ملم، كاملة الحافة، سطحها ناعم، قوامها لزج، محدبة والارتفاع طفيف جداً عن سطح البيئة، لا تغير لون بيئة TCBS.</p>	<b><i>V.parahaemolyticus</i></b>
	<p>مستعمرات صفراء غامقة، دائرية، لامعة، قطرها ٢-٣ ملم، كاملة الحافة، سطحها ناعم، قوامها لزج، محدبة والارتفاع بسيط جداً عن سطح البيئة، مركز المستعمرة قائم بينما الحواف واسعة و نصف شفافة، تغير لون بيئة TCBS من اللون الأخضر إلى اللون الأصفر.</p>	<b><i>V.fluvialis</i></b>
	<p>مستعمرات خضراء، دائرية، لامعة، قطرها ١-٢ ملم، كاملة الحافة، سطحها ناعم، قوامها لزج، محدبة والارتفاع طفيف جداً عن سطح البيئة، مركز المستعمرة قائم والحواف نصف شفافة، لا تغير لون بيئة TCBS</p>	<b><i>V.splendidus II</i></b>

الجدول رقم (٥) نتائج الاختبارات البيوكيميائية لأبواغ جنس *Vibrio* المعزولة من المصايد المختلفة من الرعيان البحري ونباه السيزبانه باستخدام خريطة الـ API 20E.

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP	CEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<i>Vibrio</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>V. vulnificus</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i>	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>V. fischeri</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>V. splendidus II</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

ONPG: Ortho-nitrophenyl-galactosidase (β-galactosidase)    ADH: Arginine Dihydrase    LDC: Lysine Decarboxylase    ODC: Ornithine Decarboxylase    CT: Casein Utilization    H<sub>2</sub>S: H<sub>2</sub>S Production    URE: Urease    TDA: Tryptophan Decarboxylase    IND: Indol Production    VP: Voges Proskauer    GEL: Gelatinase    GLU: Glucose    MAN: Mannitol    INO: Inositol    SOR: Sorbitol    RHA: Raffinose    SAC: Sacrose    MEL: Methylase    AMY: Amygdalin    ARA: Arabinose

الجدول رقم (١٦). نتائج الاختبارات التفرقة بين أنواع جنس *Vibrio* الموزعة من المصادر المختلفة من الرومان البحري وبها استزرعه وتمربها وفقاً لرجح West and

(Cowell 1984)

Tests*	<i>Vibrio</i> sp.	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. splendidus</i> II
Cytochrome Oxidase	+	+	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	10 µg	+	+	+	+	-	+
	150 µg	+	+	+	+	+	+
	** 0/129 sensitivity	+	+	+	+	+	+
Luminescence	-	-	-	-	-	-	-
Thorley's Arginine dihydrolase*	-	-	-	+	-	+	-
Lysine decarboxylase*	+	+	+	-	+	-	-
Ornithine decarboxylase*	0%	+	+	-	+	-	-
	3%	+	+	+	+	+	+
	6%	+	+	+	+	+	+
	8%	-	+	+	+	+	-
	10%	-	+	-	-	-	-
Growth at % NaCl							

عالية عبد الباقي أحد شعيب، نوف بنت محمد العنزي : حصر وتعريف أنواع الجنس.....

تاج المطول رقم (١) نتائج الاختبارات الفيزيائية بين النوع جسس الـ *Vibrio* الموزعة العوزة من المصادر المختلفة من الرزبان البحري ونبه اسرئاره وبعرفها وقتا لبربح (West and Colwell, 1984).

Growth at 42° C	+	+	+	-	+	-	-	-
Voges - Proskauer reaction <sup>†</sup>	-	-	+	+	+	-	+	-
L-arabinose <sup>‡</sup>	-	-	-	+	+	+	+	-
M-inositol <sup>‡</sup>	-	-	-	+	-	-	-	-
Sucrose <sup>‡</sup>	-	+	+	+	+	+	+	-
Alginate	-	-	-	-	-	-	-	-
Amylase	+	+	+	+	+	+	+	+
Gelatinase <sup>‡</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+
Lipase	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	+	-	-	+	-	+	+	+
L-citrulline	-	-	-	-	-	+	+	-
Ethanol	-	+	+	-	+	+	+	-
L-leucine	-	+	+	-	+	-	-	-
Sucrose	-	+	+	+	-	+	+	-
D - xylose	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>†</sup> Tests in bold are in API-20E system.  
<sup>‡</sup> Sensitivity to the vibriostatic agent 0/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropyl pteridine)

عالية عبد الباقي أحد شعيب، نوف بنت محمد العنزي : حصر وتعريف أنواع الجنس.....

الجداول رقم (٧). متوسط أعداد اخلايا البكتيرية للأنواع المختلفة من الـ *Vibrio sp.* (وحدة تكوين مستعمرة/أجرام) على بيئة TCBS للفلورا السطحية للروبيان الأبيض المستزرع في المزرعة الأولى والثانية.

						أنواع الـ <i>Vibrio sp.</i> أحواض الاستزراع	
<i>V. splendidus II</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>		
—	'١٠ × ٢	'١٠ × ٦	'١٠ × ٥	'١٠ × ٦	—	١	
'١٠ × ٢	'١٠ × ٤	'١٠ × ٥	'١٠ × ١	'١٠ × ١,٦	'١٠ × ٥	٢	
—	—	'١٠ × ٤	'١٠ × ٦	'١٠ × ٥	'١٠ × ٢	٣	
'١٠ × ٢	—	'١٠ × ٢	'١٠ × ٣	'١٠ × ٥	'١٠ × ٦	٤	
'١٠ × ٢	'١٠ × ٣	'١٠ × ٧	'١٠ × ٩	'١٠ × ١,١	'١٠ × ٤	٥	
—	'١٠ × ٤	'١٠ × ٦	'١٠ × ٩	'١٠ × ١,١	'١٠ × ٣	٦	
'١٠ × ٢	'١٠ × ٣	'١٠ × ٦	'١٠ × ١,١	'١٠ × ١,٨	'١٠ × ٤	٧	
'١٠ × ١	'١٠ × ٢	'١٠ × ٥	'١٠ × ١	'١٠ × ٨	'١٠ × ٣	٨	
—	—	'١٠ × ٢	'١٠ × ٥	'١٠ × ٨	—	٩	
'١٠ × ٥	'١٠ × ٣	'١٠ × ١,٢	'١٠ × ٩	'١٠ × ١	—	١٠	
'١٠ × ١	'١٠ × ٢	'١٠ × ٦	'١٠ × ٨	'١٠ × ١,١	'١٠ × ٣	١	
'١٠ × ١	'١٠ × ١	'١٠ × ٥	'١٠ × ٦	'١٠ × ٨	'١٠ × ٢	٢	
—	—	'١٠ × ٢	'١٠ × ٣	'١٠ × ٤	'١٠ × ٣	٣	
'١٠ × ٤	—	'١٠ × ٧	'١٠ × ١,٥	'١٠ × ١	'١٠ × ٥	٤	
'١٠ × ٣	'١٠ × ٣	'١٠ × ٢	'١٠ × ١,٣	'١٠ × ٦	—	٥	
'١٠ × ١,٥	'١٠ × ١,٨	'١٠ × ٥,١	'١٠ × ٨,١	'١٠ × ٩,١	'١٠ × ٢,٧	المتوسط	
% ٥,٤	% ٦,٣	% ١٨,١	% ٢٨,٦	% ٣٢,٢	% ٩,٤	%	

المزرعة الأولى

المزرعة الثانية

الجدول رقم (٨). متوسط أعداد الخلايا البكتيرية للأصناف المختلفة من الـ *Vibrio sp.* (وحدة تكوين مستعمرة/جرام) على بيئة TCBS لحياضم الروبيان الأبيض المستزرع في المزرعة الأولى والثانية.

أنواع الـ <i>Vibrio sp.</i>						أحواض الاستزراع
<i>V. splendidus II</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	
—	—	$10 \times 5,0$	$10 \times 8,3$	$10 \times 7,2$	$10 \times 3,0$	١
—	—	$10 \times 1,1$	$10 \times 1,4$	$10 \times 1,9$	$10 \times 6,2$	٢
—	—	$10 \times 8,8$	$10 \times 1,1$	$10 \times 1,2$	$10 \times 5$	٣
—	—	$10 \times 6,8$	$10 \times 1$	$10 \times 1,1$	$10 \times 5$	٤
—	—	$10 \times 8,9$	$10 \times 1,2$	$10 \times 1,3$	$10 \times 5,3$	٥
—	—	$10 \times 1,3$	$10 \times 1,7$	$10 \times 1,8$	$10 \times 8,1$	٦
—	—	$10 \times 1,3$	$10 \times 1,8$	$10 \times 2,1$	$10 \times 7,8$	٧
—	—	$10 \times 1,1$	$10 \times 1,5$	$10 \times 1,6$	$10 \times 7,1$	٨
—	—	$10 \times 7,7$	$10 \times 1$	$10 \times 1,1$	$10 \times 5$	٩
—	—	$10 \times 1,2$	$10 \times 1,6$	$10 \times 1,7$	$10 \times 6,9$	١٠
—	—	$10 \times 5,3$	$10 \times 6,8$	$10 \times 7,5$	$10 \times 3$	١
—	—	$10 \times 8,6$	$10 \times 1,2$	$10 \times 1,3$	$10 \times 5,6$	٢
—	—	$10 \times 9,6$	$10 \times 1,3$	$10 \times 1,4$	$10 \times 6,1$	٣
—	—	$10 \times 1,4$	$10 \times 1,9$	$10 \times 1,7$	$10 \times 7,6$	٤
—	—	$10 \times 8,4$	$10 \times 1,4$	$10 \times 1,2$	$10 \times 4,9$	٥
—	—	$10 \times 9,5$	$10 \times 1,3$	$10 \times 1,4$	$10 \times 5,8$	المتوسط
% ٠,٠	% ٠,٠	% ٢٤,٥	% ٣٠,٩	% ٣٢,٨	% ١٣,٨	%

المزرعة الأولى

المزرعة الثانية

عالية عبدالباقى أحمد شعيب، نوف بنت محمد العتزي : حصر وتعريف أنواع الجنس.....

الجدول رقم (٩). متوسط أعداد الخلايا البكتيرية للأنواع المختلفة من الـ *Vibrio sp.* (وحدة تكوين مستعمرة/جرام) على بيئة TCBS في الجهاز المنضى للروبيان الأبيض المستزرع في المزرعة الأولى والثانية.

<i>V. splendidus II</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	أنواع الـ <i>Vibrio sp.</i> أحواض الاستزراع
١٠. × ٣,٨	١٠. × ٦,٤	١٠. × ١,٧	١٠. × ٢,٣	١٠. × ٢,٤	١٠. × ٩	١
١٠. × ١,٤	١٠. × ٤,٣	١٠. × ١,٢	١٠. × ٢,٣	١٠. × ٥,٢	١٠. × ٤,٣	٢
١٠. × ٢,٤	١٠. × ٤,٨	١٠. × ٩,٦	١٠. × ١,٥	١٠. × ١,٦	١٠. × ٦	٣
—	١٠. × ٦,٥	١٠. × ٦,٥	١٠. × ١,٤	١٠. × ٣,١	١٠. × ٢,١	٤
١٠. × ٣,٥	١٠. × ٨,٢	١٠. × ١,٩	١٠. × ٢,٦	١٠. × ٢,٧	١٠. × ١,١	٥
١٠. × ٤,٨	١٠. × ٧,٢	١٠. × ١,٧	١٠. × ٢,٤	١٠. × ٢,٧	١٠. × ٩,٦	٦
١٠. × ٢,٧	١٠. × ٢,٧	١٠. × ٨,٢	١٠. × ٢,٣	١٠. × ٥,٦	١٠. × ٤,١	٧
١٠. × ٣,٨	١٠. × ٧,٦	١٠. × ١,٨	١٠. × ٢,٤	١٠. × ٢,٥	١٠. × ١	٨
١٠. × ٣	١٠. × ٧,٥	١٠. × ١,٦	١٠. × ٢,٢	١٠. × ٢,٤	١٠. × ٩	٩
—	١٠. × ١,٤	١٠. × ٢,٩	١٠. × ٢,٣	١٠. × ١,٦	١٠. × ٢,٣	١٠
١٠. × ٢,٢	١٠. × ٤,٣	١٠. × ١,١	١٠. × ١,٥	١٠. × ١,٩	١٠. × ٦,٥	١١
١٠. × ٦	١٠. × ٧,١	١٠. × ١,٤	١٠. × ٢,٤	١٠. × ٢,٦	١٠. × ٩,٥	١٢
١٠. × ٢,٦	١٠. × ٥,٣	١٠. × ١,٢	١٠. × ١,٦	١٠. × ١,٧	١٠. × ٦,٦	١٣
١٠. × ١,١	—	١٠. × ٣,٨	١٠. × ٤,٢	١٠. × ٢,٩	١٠. × ١,١	١٤
١٠. × ٧,٣	١٠. × ١,٨	١٠. × ٨,٥	١٠. × ٣,٤	١٠. × ١,٥	١٠. × ١,٢	١٥
١٠. × ٣,٧	١٠. × ٦,٩	١٠. × ١,٣	١٠. × ٢,٣	١٠. × ٢,٧	١٠. × ٨,٨	المتوسط
% ٤,٤	% ٨,٤	% ١٦,١	% ٢٨	% ٣٢,٥	% ١٠,٦	%

المزرعة الأولى

المزرعة الثانية

المملكة العربية السعودية. ولقد توافقت نتائج عزل أنواع الفيبريو في المملكة العربية السعودية مع ما تم عزله من أنواع مختلفة من الروبيان التابع لجنس *Penaeus* في مناطق مختلفة من العالم: من نوع *P.chinensis* في تايوان (Chang et al, 1996)، ومن الروبيان العملاق (النمر) P.monodon في الفلبين (Leano et al, 1998)، وفي Tamil Nadu (Felix, 2000)، وفي الهند (Mathew, 1996).

أوضحت نتائج البحث الحالية تواجد أنواع الفيبريو الثانية المعرفة في كل من الفلورا السطحية، والجهاز الهضمي، بينما لم يستدل على وجود النوعين *V.fluvialis* و *V.splendidus* في الخياشيم. كما دلت الدراسة على سيادة عزل النوعين *V.alginolyticus* و *V.anguillarum*، في حين كان أقل الأعداد المعزولة، النوعان *V.fluvialis* و *V.splendidus* II.

بناءً على نتائج الدراسة الحالية ومرجعية الدراسات السابقة، من عزل الفيبريو بأعداد مختلفة من الروبيان ومن مياه أحواض استزراعها، بالإضافة إلى تعدد أنواع الـ *Vibrio* المعزولة والمسجلة كمرضات انتهازية كما في النوع *V.vulnificus* (Tangtrongsripiros, et al., 1992, Song, et al., 1998) و *V.alginolyticus* (Balebona, et al., 1998 and Vandenbergh, et al., 1999, Aguirre-Guzmán, et al., 2001, Liu, et al., 2004) و *V.splendidus* II (Baticados et al., 1990 and Lavilla-Pitogo et al., 1990, Roch, et al., 2008) و *V.parahaemolyticus* (Balcázar, et al., 2007) و *V.anguillarum* (Vaseeharan and Ramasamy, 2003) والنوع *V.fluvialis* (Alavandi, et al., 2004, Elhadí, et al., 2004).

وبأعداد مختلفة من السطح الخارجي، الخياشيم،

مياه أحواض الاستزراع تحت الدراسة، وجد أن متوسط أعداد الخلايا (٢، ١٠×٢<sup>-١</sup> - ٨، ١٠×٢<sup>-١</sup>) وحدة تكوين مستعمرة/مل) تزيد عن الأعداد المتحصل عليها من مياه أحواض الاستزراع بالنيزيا (٢٤، ١٠×١<sup>-٣</sup>) وحدة تكوين مستعمرة/مل) (Shariff et al., 2001).

تمثلت متوسطات أعداد خلايا الفيبريو سواء من الفلورا السطحية، الخياشيم أو من الجهاز الهضمي للروبيان، حيث وجد أنها تنحصر في حدود ١٠ وحدة تكوين مستعمرة/جرام، وفي نفس الوقت حصل (Guerra-Flores et al., 1997) على هذا المتوسط، ولكن كحد أعلى لأعداد الفيبريو المعزولة من الروبيان في المكسيك (٥، ١٠×٣<sup>-١</sup> - ١٠×١<sup>-٥</sup>)، ومن الجهة الأخرى قُدرت أعداد الفيبريو المعزولة من الروبيان المستزرع في الهند ١٠<sup>-١</sup> - ١٠<sup>-١</sup> وحدة تكوين مستعمرة/جرام (Otta et al., 1999).

وفي مجال تعريف أنواع جنس الفيبريو المعزولة من الروبيان الأبيض *P.indicus* المستزرع والسليم مظهرياً، وبالرجوع إلى جدول الصفات المزرعية للأنواع المعزولة على بيئة TCBS، وجد أن المستعمرات قد اتخذت لونين على هذه البيئة فقد كانت صفراء اللون في حالة *V.fluvialis* و *V.alginolyticus*، *V.anguillarum* و *V.parahaemolyticus*، *V.splendidus*، واللون في حالة *V.vulnificus*، ويرجع اللون الأصفر إلى قدرتها على تخمر السكريات، بينما تكون سالبة لتخمر السكريات في أنواع الفيبريو ذات المستعمرات خضراء اللون (Collier et al., 1998). وتعتبر أنواع الـ *Vibrio* المعزولة من الروبيان الأبيض *P.indicus* المستزرع في الدراسة الحالية، أول تسجيل لعزل وتعريف هذه الأنواع في

- Austin, B. and Austin, D. A.** *Methods for the Microbiological Examination of Fish and Shellfish*. England: Ellis Horwood Limited, 1989.
- Austin, B. and Austin, D. A.** *Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish*, 3<sup>rd</sup> ed. UK: Praxis Publishing Ltd, 1999.
- Austin, B. and Lee, J. V.** *Aeromonadaceae and Vibrionaceae*. In: *Identification Methods in Applied and Environmental Microbiology* (ed. by Board, R. G., Jones, D., and Skinner, E. A.), Oxford: Blackwells, 1992, 163-182.
- Balcázar JL, Rojas-Luna T, Cunningham DP.** "Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)". *Journal of Invertebrate Pathology*, 96 (2), (2007), 147-50.
- Balebona, M. C. A., Manuel, J., Bordas, M. A., Zorrilla, I. M., Miguel, A. and Borrego, J. J.** "Pathogenicity of *Vibrio alginolyticus* for cultured gilt-head seabream (*Sparus Aurata* L.)". *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (11), (1998), 4269 – 4275.
- Baticados, M. C. L., Lavilla-Pitogo, C. R. De la Pena, L. D., and Sunaz, N. A.** "Studies on the chemical control of luminous bacteria *Vharveyi* and *V.splendidus* isolated from diseases *Penaeus monodon* larvae and rearing water". *Diseases of Aquatic Organisms*, 9, (1990), 133-139.
- Baumann, P., Furniss, A. L. and Lee, J. V.** *Genus Vibrio Pacini*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Baltimore: Williams and Wilkins, vol.1, 1984, 518-538.
- Chang, C., Chung, H. and Kou, G. H.** "Numerical taxonomy of bacteria isolated from the hepatopancrease of Giant tiger prawn, *Penaeus monodon*, fleshy prawn, *Penaeus chinensis* and their culture water". *Journal of the Fisheries Society of Taiwan*. 23 (2), (1996), 117-136.
- Christopher, F. M., Vanderzant, C., Parker, J. D. and Conte, F. S.** "Microbial flora of pond-reared shrimp (*Penaeus stylirostris*, *Penaeus vennamei* and *Penaeus setiferus*)". *Journal of Food Protection*, 41(1), (1978), 20-23.
- Collier, L., Balows, A. and Sussman M.** *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*,

والجهاز الهضمي للروبيان السليم مظهرياً، فإن ذلك مؤثر لاختلاف خصائص المياه الفيزيائية والكيميائية الملائمة لبيئة الروبيان المستزرع، ومن ثم تعرضة للإجهاد في بعض الأحواض دون الأخرى. فلهذا يستدعي الأمر أهمية إزالة عوامل الإجهاد المختلفة التي قد يتعرض لها الروبيان في المزارع، وذلك بهدف تحسين المناعة لديه، وذلك بالفحص الدوري لخصائص المياه الفيزيائية والكيميائية الملائمة لبيئة الروبيان، وعليه يستلزم إجراء المزيد من الدراسات البحثية المتعلقة بالروبيان المستزرع بالملكة العربية السعودية لخطورة طبيعة الأنواع المعزولة من الـ *Vibrio* ذات الطبيعة الانتهازية، من ثم تحويلها من فلورا مفيدة للكائن إلى ممرضة له.

#### المراجع العربية

- أبو الذهب، مصطفى كمال؛ الكثير، حسين محمد؛ القزاز، سيد أحمد وشعيب، عالية عبد الباقي. علم البكتيريا التمارين العملية الأساسية، الجزء الثاني. القاهرة: دار المعارف، ١٩٩٧.

#### المراجع الأجنبية

- Affi, S. H.** "Possible cause (s) of black colouration in the black tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius) collected from the red sea at Saudi Arabia". *Assiut Veterinary Medical Journal*, 42 (84), (2000), 156-165.
- Aguirre-Guzmán G, Vázquez-Juárez R, Ascencio F.** "Differences in the susceptibility of American white shrimp larval substages (*Litopenaeus vannamei*) to four *Vibrio* species". *Journal of Invertebrate Pathology*, 78 (4), (2001), 215-9.
- Alavandi SV, Vijayan KK, Santiago TC, Pournima M, Jithendran KP, Ali SA, Rajan JJ.** "Evaluation of *Pseudomonas* sp. PM 11 and *Vibrio fluvialis* PM 17 on immune indices of tiger shrimp, *Penaeus monodon*". *Fish and Shellfish Immunology*, 17 (2), (2004), 115-20.

- of *Bacteriology*, 113, (1973), 24-32.
- Lavilla-Pitogo, C. R., Baticados, C. L., Cruz-Lacierda, E. and De La Pena, L.D.** "Occurrence of luminous disease of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines". *Aquaculture*, 91 (1990), 1-13.
- Leano, E. M., Lavilla-Pitogo, C. R. and Paner, M. G.** "Bacterial flora in the hepatopancreas of pond-reared *Penaeus monodon* juveniles with luminous vibriosis". *Aquaculture* 164, (1998), 367-374.
- Lightner, D. V.** *Vibrio disease of shrimps. In: Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture* (ed. by Sindermann, C. J.), Amsterdam: Elsevier, 1977, 19-26.
- Lightner, D. V.** *A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp*. Section 4. World Aquaculture Society, USA: Baton Rouge, Louisiana, 1996.
- Liu CH, Cheng W, Hsu JP, Chen JC.** "Vibrio algolyticus infection in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* confirmed by polymerase chain reaction and 16S rDNA sequencing". *Dis Aquat Organ.* 61 (1-2), (2004), 169-74.
- Mathew, S. J.** *Studies on Vibrio spp. in juveniles of Penaeus indicus in culture systems*. Ph.D. Thesis. India: Cochin University of Science and Technology, 1996.
- Mitra, T.** "Intestinal micro flora of penaeid prawn *Penaeus monodon* Fabricius". *Indian Journal of Microbiology*, 27, (1987), 85-86.
- Nash, G. L.** *Penaeus monodon grow-out disease. In: Technical and Economic Aspects of Shrimp Farming* (ed. by New, M. B., Saram, H. and Singh, T.), Proc. Aquatech: 90 Confer. Malaysia: Kaulalumpur, 1990, 172-190.
- Ninawe, A. and Banik, S.** "Chitinolytic bacteria in *Penaeus indicus*". *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 2 (2), (1987), 89-92.
- Otta, S. K., Karunasagar, I. and Karunasagar, E.** "Bacterial flora associated with shrimp culture ponds growing *Penaeus monodon* in India". *Journal of Aquaculture in the Tropics* 14(4), (1999), 309-318.
- Oxley, A., Shipton, W., Owen, S. L. and 9th ed., vol.2. Systematic Bacteriology.** Great Britain: Arnold, 1998.
- Colorni, A.** "A study on the bacterial flora of Giant prawn *Macrobrachium rosenbergii*, larvae fed with *Artemia salina* nauplii". *Aquaculture*. 49, (1985), 1-10.
- Colwell, R. R.** *Vibrios in the environment. In: Vibrios in the Environment*, John Wiley and Sons, NY, 1984, 1-12.
- De La Pena, L. D., Momoyama, K., Nakai, T., and Muroga, K.** "Detection of the causative bacterium of vibriosis in Kuruma prawn *Penaeus japonicus*". *Fish Pathology* 27(4), (1992), 223-228.
- Dempsey, A. C. and Kitting, C. L.** "Characteristics of bacteria isolated from penaeid shrimp". *Crustaceana*, 52(1), (1997), 90-94.
- Dempsey, A. C., Kitting, C. L. and Rosson, R. A.** "Bacterial variability among individual penaeid shrimp digestive tract". *Crustaceana* 56, (1989), 267-278.
- Elhadi N, Radu S, Chen CH, Nishibuchi M.** "Prevalence of potentially pathogenic *Vibrio* species in the seafood marketed in Malaysia". *Journal of Food Protection*. 67 No.(7), (2004), 1469-75.
- Felix, S.** "Occurrence of pathogenic bacteria in shrimp farming systems of Tamil Nadu". *Journal of Aquaculture in the Tropics* 15 (4), (2000), 365-369.
- Gomez-Gil, B., RonMayed, L., Umbull, J. F., Inglis, V. and GuerraFlores, A. L.** "Species of vibrios isolated from hepatopancreas, haemolymph, and digestive tract of a population of healthy juvenile *Penaeus vannamei*". *Aquaculture*, 163, (1998), 1-9.
- Guerra-Flores, A. L., Abreu-Grobois A. and Gomez-Gil B.** "A Comparison between total viable count by spread plating and AquaPlak® for enumeration of bacteria in water from a shrimp farm". *Journal of Microbiological Methods*, 30, (1997), 217-220.
- Hameed, A. S. S.** "A study of the aerobic heterotrophic bacterial flora of hatchery reared eggs, larvae and post-larvae of *Penaeus indicus*". *Aquaculture*. 117, (1993), 195-204.
- Kaneko, T. and Colwell, R. R.** "Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay". *Journal*

- R., Rivera, G., Bolland, A., Balladares, M., Gomez-Gil, B., Calderon, J., Sorgeloos, P. and Swings, J. "Vibrios associated with *Litopenaeus vannamei* larvae, postlarvae, broodstock, and hatchery probionts". *Applied and Environmental Microbiology*, 65(6), (1999), 2592-2597.
- Vanderzant, C. R., Nickelson, R. and Judkins, P. W. "Microbial flora of pond-reared Brown shrimp (*Penaeus aztecus*)". *Applied Microbiology* 21(5), (1971), 916-921.
- Varga, S. and Hirtle, W. A. "Incidence of *V. parahaemolyticus* in fish, shellfish, mud, water and fish products in Canadian Maritime region". *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32, (1975), 541-544.
- Vaseeharan B, Ramasamy P. "Abundance of potentially pathogenic micro-organisms in *Penaeus monodon* larvae rearing systems in India". *Microbiological Research*, 158 (4), (2003), 299-308.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. and Verstraete, W. "Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4), (2000), 655-671.
- West, P. A. And Colwell, R. R. *Identification and classification of Vibrionaceae-an over view*. In: *Vibrios in the Environment*, New York: John Wiley and Sons, 1984, 285-362.
- West, P. A. and Lee, J. V. *Distribution and growth of V.cholera in a natural brackishwater system*. In: *Vibrios in the Environment*., New York: John Wiley and Sons, 1984, 451-461.
- Yasuda, K. and Kitao, T. "Bacterial flora in the digestive tract of prawns, *Penaeus japonicas*". *Aquaculture*, 19, (1980), 229-234.
- McKay, D. "Bacterial flora from the gut of the wild and cultured banana prawn, *Penaeus merguensis*". *Journal of Applied Microbiology* 93(2), (2002), 214-223.
- Palaniappan, R. *Studies on the microflora of prawn Penaeus indicus with reference to its digestive system*. Ph.D. Thesis, Annamalai Univ., India, 1982.
- Pizarro, F. and Alfaro, J. "Reproductive performance of *Penaeus stylirostris* females injected with heat killed *Vibrio alginolyticus*". *Journal of the World Aquaculture Society*. 25 (4), (1994), 576-578.
- Roch P, Yang Y, Toubiana M, Aumelas A. "NMR structure of mussel mytilin, and antiviral-antibacterial activities of derived synthetic peptides". *Developmental and Comparative Immunology*, 32 (3), (2008), 227-38. Epub 2007 Jun 26.
- SAS, *Institute, SAS User's Guide. Statistics*. USA: Inc., Cary NC, 1995.
- Shariff, M., Yusoff, F. M., Devaraja, T. N. and Srinivasa Rao, P. S. "The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), Ponds". *Aquaculture Research*, 32 (3), (2001), 181-187.
- Singh, I. S. B., Lakshmanperumalsamy, P. and Chandramohan, D. *Bacteriology of the egg and larvae of Penaeus indicus in hatchery*. Proc.Kerala Sci. Congr., Feb, 1989, India: Cochin, 1989, 95-107.
- Song, Y. L. Liu, J. J. Chan, L. C. Sung, H. H. "Glucan-induced disease resistance in tiger shrimp (*Penaeus monodon*)". *Developments in Biological Standardization*, 90 (1997), 413-21.
- SPSS. *Statistical Package for Social Science*, Version 10, USA: SPSS Inc, 2001.
- Tangtrongpiros, J., Panukchoklap, S. and Ayutthaya, N.I. "Study of black splint disease in *penaeus monodon* by inducing *Vibrio vulnificus* in 1, 2, 3 and 4 month old shrimps". *Journal of Aquatic Animal Diseases*, 13(1), (1992), 31-44.
- Vandenbergh, J., Verdonck, L., Robles-Arozarena,

## Survey and Identification of Isolated *Vibrio* Species from Marine Shrimp «*Penaeus indicus*», and its aquatic environment In The West of Saudi Arabia

Alia A. Shoeib\* and Nouf Mohammed Al-Onazi

Botany and Microbiology Department, College of Science  
King Saud University  
P.O.Box 2455, Riyadh, 11451, Saudi Arabia

E-mail: alia@ksu.edu.sa

alishoeib7@yahoo.com

Website: <http://faculty.ksu.edu.sa/shoeib>

(Received 25/1/1429H.; accepted for publication 24/2/1429H.)

**Keywords:** shrimp, *Penaeus indicus*, Bacteria, *Vibrio* sp., cultured tanks, exoskeleton, gills, digestive system, Saudi.

**Abstract.** The normal flora of the marine white shrimp, *Penaeus indicus* particularly *Vibrio* sp., was studied in two different farms representing prawn production in the Kingdom of Saudi Arabia. The National Prawn Company, which is located at El-Lith area and the Red Sea farm belong to Saudi Fisheries Company, at Herida, were selected for the study.

Bacterial cell count of *Vibrio* spp. was estimated in the water of cultured tanks, exoskeleton, gills, and the digestive system of juvenile *P. indicus*. The study showed significant difference in the selected organs of shrimp and its aquatic environment. The highest bacterial load was observed in the digestive system, gills, exoskeleton, and the water of cultured tanks, respectively.

Bacterial isolation and identification showed the following species: *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum* and *V. splendidus* II., which were considered as the first record of isolated *Vibrios* in the cultured *P. indicus* in the Kingdom of Saudi Arabia.

\*Plant Pathology Department, Faculty of Agriculture, Alexandria University, Egypt