مجلة جامعة الملك سعود، م٢١، العلوم (١)، ص ص ٢٧-٤٥، الرياض (١٤٢٩هـ/ ٢٠٠٨م)

حصر وتعريف أنواع الجنس الفبريو *Vibrio* sp. من الروبيان البحري *Penaeus indicus* ومياه استزراعه 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

aliashoeib7@yahoo.com

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

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

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

ملخص البحث. دُرست الفلورا الطبيعية المتمثلة في جنس الفبريو للروبيان الأبيض Penaeus indicus البحري المستزرع، وذلك من مزرعتين، احدهما مزرعة الوطنية بالليث، والأخرى مزرعة البحر الأحمر التابعة للشركة السعودية للأسماك بالخريضة. قُدرت أعداد خلايا الفبريو في مياه أحواض الاستزراع، بالإضافة إلى السطح الخارجي والخياشيم والجهاز الهضمي للروبيان في الطور اليافع juvenile. أظهرت نتائج العد معنوية في أجزاء الروبيان المدروسة، وبيئتها 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 *Valginolyticus, V. vulnificus, V fluvialis, V parahaemolyticus, V. anguillarum, V. splendidus* II. وتعتبر أنواع الـ *Vibrio* المعزولة في 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

اهتمت الدراسات السابقة بالفلورا السائدة في الروبيان، حيث تم التعرف على سلالات من البكتيرات الهوائية، واللاهوائية وبكتيرات 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 الفيبريو، والتي تمد الروبيان بالبيئة المناسبة للنمو (Yasuda and Kitao,1980; Palaniappan, 1982; Colorni,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 يُمثله هذا الكائن من أهمية غذائية واقتصادية، في ظل تزايد السكان واحتياجاتهم 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 الـ *Vibrio* في الروبيان المستزرع، لذا اختير هذا الموضوع للبحث، وتعد الدراسة مرجعية هامة كونها الأولى من نوعها في المملكة العربية السعودية.

طـرق العـمل

تم الحصول على ٧٥ روبيانة من نوع الروبيان الأبيض Penaeus indicus ، في الطور اليافع juveniles (٤,٣٦٠ إلى ٦,١٣٢ 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، بالحريضة بمنطقة عسير، بالمملكة العربية السعودية، وذلك في الفترة من شهر صفر ١٤٢٣هـ إلى رجب ١٤٢٤هـ.

جمع ٥٠ و٢٥ 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.

- أُتبعت طريقة (Mathew,1996) لتحضيرات العينات للعدّ والعزل البكتيريولوجي، وذلك عن طريق وضع كل خمس روبيانات جُمعت 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 أُتبعت الخطوات التالية:

- إضافة تسعة مل ماء بحر معقم/ ١ جرام من الرويبان أو أجزاءه محل الدراسة، للحصول على التخفيف 10^{-1}.
- حُركت الدوارق باتجاه عقارب الساعة وعكس عقارب الساعة لمدة٢-٣ دقائق باستخدام جهاز الهزّ، وذلك لإزالة الخلايا البكتيرية الموجودة على **السطح الخارجي للرويبان**.
- وضعت **الخياشيم** في أنبوبة اختبار معقمة، ثم حُللت بجهاز Homogenizer عند سرعة ١٥٠٠ لفه/ دقيقة للتجانس.
- غمر الرويبان بعد إزالة الخياشيم في كحول ٧٠٪ مع التحريك لمدة دقيقة باستخدام جهاز الهزّ. الغسل عدة مرات بماء مقطر معقم، ثم وضع الرويبان على ورق ترشيح معقم ليمتص الماء الزائد. للحصول على الجهاز الهضمي(البنكرياسي والأمعاء)، يزال الرأس، فيظهر البنكرياس، ومن ثم يشق الظهر طولياً للحصول على الأمعاء المرتبطة به. وزن **الجهاز الهضمي**، وخلطه بجهاز Homogenizer على ١٥٠٠ لفه/ 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 بيئةTCBS ((Thiosulphate citrate bile Salt Sucrose-OXOID الانتخابية لجنس *Vibrio*.
- حُضنت الأطباق عند درجة حرارة (٣٠ ± ٢°م) لمدة ٢٤ ساعة ونُقيت الأنواع بزراعتها على أطباقMarine agar (Marine Agar 2216 – HIMEDIA ,(ZoBell>، وللحفظ نُقلت إلى آجار مائل من بيئة- TSA (OXOID (Tryptone Soya Agar مع إضافة2.5% NaCl .
- تم استخدام برنامجي (SAS, 1995 ; SPSS, 2001) لتحليل الإحصائي لنتائج الدراسة المتحصل عليها.

أخضعت المستعمرات النقية النامية على بيئةTCBS، إلى فحص الشكل المظهري، والفحص الميكروسكوبي لشرائح مصبوغة 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,) ; (1989;1999, Lightner, 1996, Afifi, 2000 (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 معنويا (P ≤ 0.05) في حملها لخلايا الفيبريو فقد وجد أعلى تعداد في الجهاز الهضمي ويليه الخياشيم ثم الفلورا السطحية وأخيرا مياه أحواض الاستزراع والتي تمثل اقل قيمة لأعداد خلايا الفيبريو كمتوسط عام للمزرعة.

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

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

المصادر المختلفة			أحواض الاستزراع		
المصادر	المتوسط	الانحراف المعياري	الأحواض	المتوسط	الانحراف المعياري
ماء الأحواض	$10^{d} \times 0,0,0$	$10^{e} \times 0,1$	١	$10^{e} \times 3,2$	$10^{e} \times 3,2$
القلورا السطحية	$10^{cf} \times 2,9$	$10^{e} \times 1,1$	٢	$10^{b} \times 4,9$	$10^{e} \times 3,4$
الخياشيم	$10^{b} \times 4,3$	$10^{e} \times 1,1$	٣	$10^{f} \times 2,8$	$10^{e} \times 2,0$
الجهاز الهضمي	$10^{a} \times 8,5$	$10^{e} \times 1,3$	٤	$10^{e} \times 3,3$	$10^{e} \times 3,0$
الكلي	$10^{e} \times 4,1$	$10^{e} \times 3,1$	٥	$10^{d} \times 4,3$	$10^{e} \times 3,3$
			٦	$10^{c} \times 4,6$	$10^{e} \times 3,2$
			٧	$10^{a} \times 5,2$	$10^{e} \times 3,4$
			٨	$10^{d} \times 4,3$	$10^{e} \times 3,2$
			٩	$10^{e} \times 3,4$	$10^{e} \times 3,1$
			١٠	$10^{cd} \times 4,5$	$10^{e} \times 2,9$
			الكلي	$10^{e} \times 4,1$	$10^{e} \times 3,1$

تحليل التباين

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	متوسط مجموع مربع الانحرافات	المعنوية
المصادر (م)	٣	٣٣٥٧٧٠٠٠٠٠٠٠	****
أحواض الاستزراع (أ)	٩	٧٨٠٦٢٧٦٢٩٦٣	****
م × أ	٢٧	١٥٨٣٦٦٢٢٢٢٢	****
الخطأ العشوائي	٨٠	٨٦٢٩٥٨٣٣٣	

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

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

المصادر المختلفة			أحواض الاستزراع		
المصادر	المتوسط	الانحراف المعياري	الأحواض	المتوسط	الانحراف المعياري
ماء الأحواض	10×0.5^{de}	10×0.2^{f}	١	10×2.9^{de}	10×2.0^{f}
الفلورا السطحية	10×2.7^{cf}	10×1.0^{f}	٢	10×3.8^{cf}	10×3.3^{f}
الخياشيم	10×4.0^{bf}	10×1.2^{f}	٣	10×2.9^{de}	10×2.4^{f}
الجهاز الهضمي	10×7.9^{af}	10×1.8^{f}	٤	10×5.0^{af}	10×3.5^{f}
الكلي	10×3.8^{f}	10×3.0^{f}	٥	10×4.2^{bf}	10×3.4^{f}
			الكلي	10×3.8^{f}	10×3.0^{f}

تحليل التباين

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

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

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

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

اظهر التحليل الإحصائي أن هناك معنوية $P \leq 0.0001$) بين المزرعة الواحدة وأحواض الاستزراع بها، وهذا ينطبق على كلا من المزرعة الأولى والثانية في تعداد خلايا الفيريو. في حين أوضحت نتائج التفاعل بين مصادر العزل المختلفة والمزرعة الواحدة عدم وجود فروق معنوية لعدد خلايا الفيريو (الجدول رقم ٣).

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

أظهرت النتائج أن هناك اختلاف في تعداد أنواع الفيريو المعزولة من **الفلورا السطحية**، يختلف من حوض إلى آخر. فأظهرت بعض الأحواض تعداد لأنواع معينة من الفيريو تزيد عن 10^{5} وحدة تكوين مستعمرة/ جرام،

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

أوضحت نتائج تعداد أنواع الفيبريو المعزولة من **الخياشيم** زيادة أعداد النوعين V.alginolyticus وV.anguillarum، عن ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرة/ جرام في جميع أحواض المزرعتين، ماعدا حوض الاستزراع رقم (١) في المزرعة الأولى وحوض الاستزراع رقم (١) في المزرعة الثانية. في حين تباينت أعداد النوع V.parahaemolyticus في أحواض المزرعتين فأظهرت بعض أحواض المزرعة الأولى أرقام (٢،٦،٧،٨،١٠) والمزرعة الثانية (٤) زيادة عددية تفوق ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرة/ جرام. كما تم الحصول على نتائج سلبية لتواجد النوعين *V.fluvialis*، *V.splendidus II* في خياشيم الرويبان لكل من المزرعتين تحت الدراسة (الجدول رقم ٨).

أثبتت نتائج عزل أنواع الفيبريو من **الجهاز الهضمي** (الجدول رقم ٩) تواجد النوعين *V.alginolyticus* و*V.anguillarum* في جميع أحواض الاستزراع للمزرعتين، بتعداد يزيد عن ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرة/ جرام أيضا اظهر النوع *V.parahaemolyticus* زيادة عددية في نسبة كبيرة من أحواض المزرعتين. ومن الجهة الثانية تواجدت الأنواع *V.vulnificus*، *V.fluvialis*، *V.splendidus* II وبزيادة عددية ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرة/ جرام في بعض أحواض المزرعتين، وهذا لم يظهر في العزل من الفلورا السطحية والخياشيم من قبل، علاوة على سلبية عزل كل من النوع *V.fluvialis* في حوض رقم (٤) في المزرعة الثانية والنوع *V.splendidus II* في الحوضين (٤،١٠) من المزرعة الأولى.

المناقشة

تعد أنواع جنس الـ *Vibrio* من البكتيريات السائدة، والمصنفة كفلورا طبيعية، تعيش في أمعاء القشريات البحرية خاصة الرويبان، إلا أن وجودها سلاح ذو حدين أوله دورها الهام في عملية الهضم (Dempsey *et al*.,1989; Dempsey and Kitting, 1997) أما الجانب الآخر فإنها من البكتيرات الانتهازية الضارة والممرضة للرويبان(Lightner,1977; Nash, 1990; Pizarro and Alfaro 1994, Verschuere *et al*, 2000) ، وخاصة عند اختلال الجهاز المناعي عند اختلال العوامل البيئية، وتهيأت الظروف المساعدة لاختلال التوازن الحيوي والطبيعي لهذه البيئة (Kaneko and Colwell, 1973; Varga and Hirtle ,1975 ;Colwell, 1984; West and Lee,1984) 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 ١٩٩٦)، (De la Pena *et al*, 1992).

في **مجال دراسة أعداد خلايا الفيبريو المعزولة** من

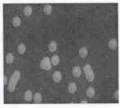
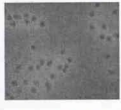
الجدول رقم (٣). المتوسط والانحرافات المعيارية وتحليل التباين لأعداد بكتيرة *Vibrio* sp. طبقا للعزل من المصادر المختلفة للروبيان ومياه أحواض الاستزراع والمزرعة.

المصادر			المزرعة			أحواض الاستزراع في المزرعة الأولى			أحواض الاستزراع في المزرعة الثانية		
المصادر	المتوسط	الانحراف المعياري	المزرعة	المتوسط	الانحراف المعياري	الحوض	المتوسط	الانحراف المعياري	الحوض	المتوسط	الانحراف المعياري
ماء الأحواض	١٠×٥,٠ ^{de}	١٠×٠,٢ *	١	١٠×٣,٨ *	١٠×٣,٠ *	١	١٠×٣,٢ **	١٠×٣,٢ *	١	١٠×٢,٩ ^{ds}	١٠×٢,٠ *
الفلورا السطحية	١٠×٢,٨ ^{cf}	١٠×١,١ *	٢	١٠×٤,١ *	١٠×٣,١ *	٢	١٠×٤,٩ ^{bs}	١٠×٣,٤ *	٢	١٠×٣,٨ ^{cs}	١٠×٣,٣ *
الجراثيم	١٠×٤,٢ ^{bs}	١٠×١,١ *	الكلي	١٠×٣,٠ *	١٠×٣,٠ *	٣	١٠×٢,٨ ^{fs}	١٠×٢,٠ *	٣	١٠×٢,٩ ^{ds}	١٠×٢,٤ *
الجهاز الهضمي	١٠×٨,٣ **	١٠×١,٥ *				٤	١٠×٣,٣ ^{es}	١٠×٣,٠ *	٤	١٠×٥,٠ ^{as}	١٠×٣,٥ *
الكلي	١٠×٤,٠ *	١٠×٣,٠ *				٥	١٠×٤,٣ ^{ds}	١٠×٣,٤ *	٥	١٠×٤,٢ ^{bs}	١٠×٣,٤ *
						٦	١٠×٤,٦ ^{cs}	١٠×٣,٢ *	الكلي	١٠×٣,٨ *	١٠×٣,٠ *
						٧	١٠×٥,٢ **	١٠×٣,٤ *			
						٨	١٠×٤,٣ ^{ds}	١٠×٣,٢ *			
						٩	١٠×٣,٤ **	١٠×٣,١ *			
						١٠	١٠×٤,٥ ^{cds}	١٠×٢,٩ *			
						الكلي	١٠ × ٤,٠٥ *	١٠×٣,١ *			

تحليل التباين

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	متوسط مجموع مربع الانحرافات	المعنوية
المصادر	٣	٤٢٠٣٩٠٠٠٠٠٠٠	**** دالة عند مستوى معنوية ($P \leq 0.0001$)
المزرعة	١	٣١٩٢٢٠٠٠٠٠٠	NS = غير معنوي
الأحواض/المزرعة	١٣	٨٤١٩٥٠٠٠٠٠٠	**** دالة عند مستوى معنوية ($P \leq 0.0001$)
المصادر × المزرعة	٣	٤٣٥١٣٠٠٠٠٠٠	NS = غير معنوي
الخطأ العشوائي	١٥٩	٥٧٢٩٠٠٠٠٠٠	المتوسطات التي لا تحمل حرف مشترك تكون مختلفة معنويا عند احتمال ($P \leq 0.05$)

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

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

الجدول رقم (٥). نتائج الاختبارات البيوكيميائية لأنواع جنس الـ *Vibrio* المعزولة من المصادر المختلفة من الرويان البحري ومياه استزراعه باستخدام شريط الـ API-20E.

Tests / *Vibrio* sp.	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
V. vulnificus	+	–	+	+	–	–	–	–	+	–	+	+	+	–	–	–	–	–	+	–
V. alginolyticus	–	–	+	+	+	–	–	–	+	–	+	+	+	–	–	–	+	–	–	–
V. anguillarum	+	+	–	–	+	–	–	–	+	+	+	+	+	–	+	–	+	–	+	+
V. parahaemolytios	–	–	+	+	+	–	–	–	+	–	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+
V. fluvialis	+	+	–	–	–	–	–	–	+	–	+	+	+	–	–	–	+	–	–	+
V. splendidus II	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–

ONPG: Ortho-nitropheryl-galactosidase (βeta-galactosidase) **ADH:** Arginine Dihydrolase **LDC:** Lysine Decarboxylase **ODC:** Ornithine Decarboxylase **CIT:** Citrate Utilization **H_2S:** H_2S Production **URE:** Urease **TDA:** Tryptophan Deaminase **IND:** Indol Production **VP:** Voges Proskauer **GEL:** Gelatinase **GLU:** Glucose **MAN:** Mannitol **INO:** Inositol **SOR:** Sorbitol **RHA:** Rhamnose **SAC:** Sucrose **MEL:** Melibiose **AMY:** Amygdalin **ARA:** Arabinose

الجدول رقم (٦). نتائج الاختبارات التفريقية بين أنواع جنس الـ Vibrio المعزولة من المصادر المختلفة من الروبيان البحري ومياه استزراعه وتعريفها وفقاً لمرجع (West and (Colwell1984

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

تابع الجدول رقم (٦). نتائج الاختبارات التفريقية بين أنواع جنس الـ *Vibrio* المعزولة من المصادر المختلفة من الروبيان البحري ومياه استزراعه وتعريفها وفقاً لمرجع (West and Colwell, 1984).

Growth at 42° C		+	+	–	+	–	–
Voges – Proskauer reaction*		–	+	+	–	–	–
Fermentation to acid	**L-arabinose***	–	–	+	+	+	–
	M-inositol*	–	–	+	–	–	–
	Sucrose*	–	+	+	–	+	–
Enzyme production	Alginase	–	–	–	–	–	–
	Amylase	+	+	+	+	+	+
	Gelatinase*	+	+	+	+	+	+
	Lipase	+	+	+	+	+	+
	Cellobiose	+	–	+	–	+	+
Utilization as sole source of carbon	L-citrulline	–	–	–	–	+	–
	Ethanol	–	+	–	+	+	–
	L-leucine	–	+	–	+	–	–
	Sucrose	–	+	+	–	+	–
	D – xylose	–	–	–	–	–	–

* Tests in **bold** are in API-20E system.

**Sensitivity to the vibriostatic agent 0/129 (2, 4-diamino-6, 7-disopropylpteridine)

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

أنواع الـ *Vibrio* sp. / أحواض الاستزراع	*V. vulnificus*	*V. alginolyticus*	*V. anguillarum*	*V. parahaemolyticus*	*V. fluvialis*	*V. splendidus II*	
١	—	$^{٦}١٠ \times ٦$	$^{٥}١٠ \times ٥$	$^{٦}١٠ \times ٦$	$^{٢}١٠ \times ٢$	—	المزرعة الأولى
٢	$^{٥}١٠ \times ٥$	$^{٦}١٠ \times ١,٦$	$^{١}١٠ \times ١$	$^{٥}١٠ \times ٥$	$^{٤}١٠ \times ٤$	$^{٢}١٠ \times ٢$	
٣	$^{٢}١٠ \times ٢$	$^{٥}١٠ \times ٥$	$^{٦}١٠ \times ٦$	$^{٤}١٠ \times ٤$	—	—	
٤	$^{٦}١٠ \times ٦$	$^{٥}١٠ \times ٥$	$^{٣}١٠ \times ٣$	$^{٢}١٠ \times ٢$	—	$^{٢}١٠ \times ٢$	
٥	$^{٤}١٠ \times ٤$	$^{١}١٠ \times ١,١$	$^{٩}١٠ \times ٩$	$^{٧}١٠ \times ٧$	$^{٣}١٠ \times ٣$	$^{٢}١٠ \times ٢$	
٦	$^{٣}١٠ \times ٣$	$^{١}١٠ \times ١,١$	$^{٩}١٠ \times ٩$	$^{٦}١٠ \times ٦$	$^{٤}١٠ \times ٤$	—	
٧	$^{٤}١٠ \times ٤$	$^{١}١٠ \times ١,٨$	$^{١}١٠ \times ١,١$	$^{٦}١٠ \times ٦$	$^{٣}١٠ \times ٣$	$^{٢}١٠ \times ٢$	
٨	$^{٣}١٠ \times ٣$	$^{٨}١٠ \times ٨$	$^{١}١٠ \times ١$	$^{٥}١٠ \times ٥$	$^{٢}١٠ \times ٢$	$^{١}١٠ \times ١$	
٩	—	$^{٨}١٠ \times ٨$	$^{٥}١٠ \times ٥$	$^{٢}١٠ \times ٢$	—	—	
١٠	$^{١}١٠ \times ١$	$^{٩}١٠ \times ٩$	$^{٩}١٠ \times ٩$	$^{٢}١٠ \times ١,٢$	$^{٣}١٠ \times ٣$	$^{٥}١٠ \times ٥$	
١	$^{٣}١٠ \times ٣$	$^{١}١٠ \times ١,١$	$^{٨}١٠ \times ٨$	$^{٦}١٠ \times ٦$	$^{٢}١٠ \times ٢$	$^{١}١٠ \times ١$	
٢	$^{٢}١٠ \times ٢$	$^{٨}١٠ \times ٨$	$^{٦}١٠ \times ٦$	$^{٥}١٠ \times ٥$	$^{١}١٠ \times ١$	$^{١}١٠ \times ١$	المزرعة الثانية
٣	$^{٣}١٠ \times ٣$	$^{٤}١٠ \times ٤$	$^{٣}١٠ \times ٣$	$^{٢}١٠ \times ٢$	—	—	
٤	$^{٥}١٠ \times ٥$	$^{١}١٠ \times ١$	$^{٥}١٠ \times ١,٥$	$^{٧}١٠ \times ٧$	—	$^{٤}١٠ \times ٤$	
٥	—	$^{٦}١٠ \times ٦$	$^{٢}١٠ \times ١,٣$	$^{٢}١٠ \times ٢$	$^{٣}١٠ \times ٣$	$^{٣}١٠ \times ٣$	
المتوسط	$^{٧}١٠ \times ٢,٧$	$^{١}١٠ \times ٩,١$	$^{١}١٠ \times ٨,١$	$^{١}١٠ \times ٥,١$	$^{٨}١٠ \times ١,٨$	$^{٥}١٠ \times ١,٥$	
٪	٪ ٩,٤	٪ ٣٢,٢	٪ ٢٨,٦	٪ ١٨,١	٪ ٦,٣	٪ ٥,٤	

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

أنواع الـ *Vibrio* sp. / أحواض الاستزراع	*V. vulnificus*	*V. alginolyticus*	*V. anguillarum*	*V. parahaemolyticus*	*V. fluvialis*	*V. splendidus II*	
١	$^{٤}١٠ \times ٣,٥$	$^{٤}١٠ \times ٧,٢$	$^{٤}١٠ \times ٨,٣$	$^{٤}١٠ \times ٥,٥$	—	—	المزرعة الأولى
٢	$^{٤}١٠ \times ٦,٢$	$^{٤}١٠ \times ١,٩$	$^{٤}١٠ \times ١,٤$	$^{٤}١٠ \times ١,١$	—	—	
٣	$^{٤}١٠ \times ٥$	$^{٤}١٠ \times ١,٢$	$^{٤}١٠ \times ١,١$	$^{٤}١٠ \times ٨,٨$	—	—	
٤	$^{٤}١٠ \times ٥$	$^{٤}١٠ \times ١,١$	$^{٤}١٠ \times ١$	$^{٤}١٠ \times ٦,٨$	—	—	
٥	$^{٤}١٠ \times ٥,٣$	$^{٤}١٠ \times ١,٣$	$^{٤}١٠ \times ١,٢$	$^{٤}١٠ \times ٨,٩$	—	—	
٦	$^{٤}١٠ \times ٨,١$	$^{٤}١٠ \times ١,٨$	$^{٤}١٠ \times ١,٧$	$^{٤}١٠ \times ١,٣$	—	—	
٧	$^{٤}١٠ \times ٧,٨$	$^{٤}١٠ \times ٢,١$	$^{٤}١٠ \times ١,٨$	$^{٤}١٠ \times ١,٣$	—	—	
٨	$^{٤}١٠ \times ٧,١$	$^{٤}١٠ \times ١,٦$	$^{٤}١٠ \times ١,٥$	$^{٤}١٠ \times ١,١$	—	—	
٩	$^{٤}١٠ \times ٥$	$^{٤}١٠ \times ١,١$	$^{٤}١٠ \times ١$	$^{٤}١٠ \times ٧,٧$	—	—	
١٠	$^{٤}١٠ \times ٦,٩$	$^{٤}١٠ \times ١,٧$	$^{٤}١٠ \times ١,٦$	$^{٤}١٠ \times ١,٢$	—	—	
١	$^{٤}١٠ \times ٣$	$^{٤}١٠ \times ٧,٥$	$^{٤}١٠ \times ٦,٨$	$^{٤}١٠ \times ٥,٣$	—	—	المزرعة الثانية
٢	$^{٤}١٠ \times ٥,٦$	$^{٤}١٠ \times ١,٣$	$^{٤}١٠ \times ١,٢$	$^{٤}١٠ \times ٨,٦$	—	—	
٣	$^{٤}١٠ \times ٦,١$	$^{٤}١٠ \times ١,٤$	$^{٤}١٠ \times ١,٣$	$^{٤}١٠ \times ٩,٦$	—	—	
٤	$^{٤}١٠ \times ٧,٦$	$^{٤}١٠ \times ١,٧$	$^{٤}١٠ \times ١,٩$	$^{٤}١٠ \times ١,٤$	—	—	
٥	$^{٤}١٠ \times ٤,٩$	$^{٤}١٠ \times ١,٢$	$^{٤}١٠ \times ١,٤$	$^{٤}١٠ \times ٨,٤$	—	—	
المتوسط	$^{٤}١٠ \times ٥,٨$	$^{٤}١٠ \times ١,٤$	$^{٤}١٠ \times ١,٣$	$^{٤}١٠ \times ٩,٥$	—	—	
٪	٪ ١٣,٨	٪ ٣٢,٨	٪ ٣٠,٩	٪ ٢٢,٥	٪ ٠,٠	٪ ٠,٠	

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

أنواع الـ *Vibrio* sp. / أحواض الاستزراع	*V. vulnificus*	*V. alginolyticus*	*V. anguillarum*	*V. parahaemolyticus*	*V. fluvialis*	*V. splendidus II*
المزرعة الأولى ١	$^{٥}١٠ \times ٩$	$^{٥}١٠ \times ٢,٤$	$^{٥}١٠ \times ٢,٣$	$^{٥}١٠ \times ١,٧$	$^{٥}١٠ \times ٦,٤$	$^{٥}١٠ \times ٣,٨$
٢	$^{٥}١٠ \times ٤,٣$	$^{٥}١٠ \times ٥,٢$	$^{٥}١٠ \times ٢,٣$	$^{٥}١٠ \times ١,٢$	$^{٥}١٠ \times ٤,٣$	$^{٥}١٠ \times ١,٤$
٣	$^{٥}١٠ \times ٦$	$^{٥}١٠ \times ١,٦$	$^{٥}١٠ \times ١,٥$	$^{٥}١٠ \times ٩,٦$	$^{٥}١٠ \times ٤,٨$	$^{٥}١٠ \times ٢,٤$
٤	$^{٥}١٠ \times ٢,١$	$^{٥}١٠ \times ٣,١$	$^{٥}١٠ \times ١,٤$	$^{٥}١٠ \times ٦,٥$	$^{٥}١٠ \times ٦,٥$	—
٥	$^{٥}١٠ \times ١,١$	$^{٥}١٠ \times ٢,٧$	$^{٥}١٠ \times ٢,٦$	$^{٥}١٠ \times ١,٩$	$^{٥}١٠ \times ٨,٢$	$^{٥}١٠ \times ٣,٥$
٦	$^{٥}١٠ \times ٩,٦$	$^{٥}١٠ \times ٢,٧$	$^{٥}١٠ \times ٢,٤$	$^{٥}١٠ \times ١,٧$	$^{٥}١٠ \times ٧,٢$	$^{٥}١٠ \times ٤,٨$
٧	$^{٥}١٠ \times ٤,١$	$^{٥}١٠ \times ٥,٦$	$^{٥}١٠ \times ٢,٣$	$^{٥}١٠ \times ٨,٢$	$^{٥}١٠ \times ٢,٧$	$^{٥}١٠ \times ٢,٧$
٨	$^{٥}١٠ \times ١$	$^{٥}١٠ \times ٢,٥$	$^{٥}١٠ \times ٢,٤$	$^{٥}١٠ \times ١,٨$	$^{٥}١٠ \times ٧,٦$	$^{٥}١٠ \times ٣,٨$
٩	$^{٥}١٠ \times ٩$	$^{٥}١٠ \times ٢,٤$	$^{٥}١٠ \times ٢,٢$	$^{٥}١٠ \times ١,٦$	$^{٥}١٠ \times ٧,٥$	$^{٥}١٠ \times ٣$
١٠	$^{٥}١٠ \times ٢,٣$	$^{٥}١٠ \times ١,٦$	$^{٥}١٠ \times ٢,٣$	$^{٥}١٠ \times ٢,٩$	$^{٥}١٠ \times ١,٤$	—
١	$^{٥}١٠ \times ٦,٥$	$^{٥}١٠ \times ١,٩$	$^{٥}١٠ \times ١,٥$	$^{٥}١٠ \times ١,١$	$^{٥}١٠ \times ٤,٣$	$^{٥}١٠ \times ٢,٢$
المزرعة الثانية ٢	$^{٥}١٠ \times ٩,٥$	$^{٥}١٠ \times ٢,٦$	$^{٥}١٠ \times ٢,٤$	$^{٥}١٠ \times ١,٤$	$^{٥}١٠ \times ٧,١$	$^{٥}١٠ \times ٦$
٣	$^{٥}١٠ \times ٦,٦$	$^{٥}١٠ \times ١,٧$	$^{٥}١٠ \times ١,٦$	$^{٥}١٠ \times ١,٢$	$^{٥}١٠ \times ٥,٣$	$^{٥}١٠ \times ٢,٦$
٤	$^{٥}١٠ \times ١,١$	$^{٥}١٠ \times ٢,٩$	$^{٥}١٠ \times ٤,٢$	$^{٥}١٠ \times ٣,٨$	—	$^{٥}١٠ \times ١,١$
٥	$^{٥}١٠ \times ١,٢$	$^{٥}١٠ \times ١,٥$	$^{٥}١٠ \times ٣,٤$	$^{٥}١٠ \times ٨,٥$	$^{٥}١٠ \times ١,٨$	$^{٥}١٠ \times ٧,٣$
المتوسط	$^{٥}١٠ \times ٨,٨$	$^{٥}١٠ \times ٢,٧$	$^{٥}١٠ \times ٢,٣$	$^{٥}١٠ \times ١,٣$	$^{٥}١٠ \times ٦,٩$	$^{٥}١٠ \times ٣,٧$
٪	٪ ١٠,٦	٪ ٣٢,٥	٪ ٢٨	٪ ١٦,١	٪ ٨,٤	٪ ٤,٤

مياه أحواض الأستزارع تحت الدراسة، وجد أن متوسط أعداد الخلايا(٢,٢×١٠^٤ — ٨,٨×١٠^٤ وحدة تكوين مستعمرة/ مل) تزيد عن الأعداد المتحصل عليها من مياه أحواض الاستزراع بإليزيا (٢٤,١×١٠^٣ وحدة تكوين مستعمرة/ مل) (Shariff *et al.*, 2001).

تماثلت متوسطات أعداد خلايا الفيبريو سواء من الفلورا السطحية، الخياشيم أو من الجهاز الهضمي للروبيان، حيث وجد أنها تنحصر في حدود١٠^٥ 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 (٥,٣×١٠^٣ — ١×١٠^٥)، ومن الجهة الأخرى قُدرت أعداد الفيبريو المعزولة من الروبيان المستزرع في الهند بـ ١٠^٣ — ١٠^٤ 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*, *V.alginolyticus, V. anguillarum* في حين كانت خضراء اللون في حالة*V.parahaemolyticus, V.splendidus*، ويرجع اللون الاصفراء 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 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 الثمانية المعرفة في كل من الفلورا السطحية، والجهاز الهضمي، بينما لم يستدل على وجود النوعين *V.fluvialis* و*V.splendidus* في الخياشيم. كما دَلت الدراسة على سيادة عزل النوعين *V.anguillarum* ،*V.alginolyticus*، في حين كان أقل الأعداد المعزولة، النوعان *V.fluvialis*، *V.splendidus II*.

بناءً على نتائج الدراسة الحالية ومرجعية الدراسات السابقة، من عزل الفبريو بأعداد مختلفة من الروبيان ومن مياه احواض استزراعه، بالإضافة إلى تعدد أنواع الـ*Vibrio* المعزولة والمسجلة كممرضات انتهازية كما في النوع *V.vulnificus* (Tangtrongpiros, *et al.*,1992, Song et al., 1997)،V.alginolyticus (Balebona, *et al.*, 1998 and Vandenberghe *et al.*, 1999, Aguirre-Guzmán,et *al.*2001 ,Liu, *et al.*,2004) V.splendidus II ((Baticados *et al.*,1990 and Lavilla-Pitogo *et al.*,1990, Roch, *et al.*,2008) ، V.parahaemolyticus (Balcázar, *et al.*, 2007)، ((*V. anguillarum* Vaseeharan and Ramasamy, 2003 والنوع *V.fluvialis* (Alavandi, *et al.*, 2004, Elhadi, *et al.*,2004).

وبأعداد مختلفة من السطح الخارجي، الخياشيم،

والجهاز الهضمي للروبيان السليم مظهرياً، فإن ذلك مؤشر 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 بالمملكة العربية السعودية لخطورة طبيعة الأنواع المعزولة من الـ *Vibrio* ذات الطبيعة الانتهازية، من ثم تحولها من فلورا مفيدة للكائن إلى ممرضة له.

المراجع العربية

أبو الدهب، مصطفى كمال؛ الكشير، حسين محمد؛ القزاز، سيد أحمد وشعيب، عالية عبد الباقي. علم البكتيرات التارين المعملية الأساسية، الجزء الثاني. القاهرة: دار المعارف، ١٩٩٧.

المراجع الأجنبية

Afifi, 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, Poornima 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.

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,* 3rd ed. UK: Praxis Publishing Ltd, 1999.

Austin, B. and Lee, J. V. *Aeromonadaceae and Vibrionancae. 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 *V.harveyi 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 Mannual 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*,

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 Phillippines". *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.), Amesterdam: 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 alginolyticus 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* Favricius". *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 vibrioosis in Kuruma prawn *Penaeus japonicas*". *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 merguiensis*. *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., Lakshmamperumalsamy, P. and Chandramohan, D. *Bacteriology of the egg and larvae of Penaeus indicus in hatchery*. Proc.Kerala Sci. Congrs., Feb, 1989, India: Cochin, 1989, 95-107.

Song, Y. L. Liu, J. J. Chan, L. C. Sung, H. H. "Glucan-induced disease resistace 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.

Vandenberghe, J., Verdonck, L., Robles-Arozarena,

Survey and Identification of Isolated Vibrio Spices from Marine Shrimp «Penaeus indicus», and its aquatic environment In The West of Saudia 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

aliashoeib7@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