جداسازی و ارزیابی باکتری‌های ویبریو از برخی مزارع پرورش میگوی پرورشی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در سایت دلوار بوشهر

مهران آوخ کیسمی [1*]
عباسعلی رضائیان [2]
مریم مقاتلی [3]

۱. گروه شیلات و آبزیان، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
۲. گروه میکروبیولوژی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران.
۳. بخش کنترل کیفی آبزیان، اداره کل دامپزشکی استان بوشهر، بوشهر، ایران.

* **نویسنده مسئول مکاتبات**
dr.keysami@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۴

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

چکیده

ویبریوها تلفات و خسارات قابل‌توجهی از ۵۰ تا ۱۰۰ درصد را در کارگاه‌های پرورش میگو ایجاد می‌نمایند. با مشاهده برخی علائم بیماری‌ها و تلفات در میگوهای پرورشی منطقه دلوار بوشهر اقدام به جداسازی و ارزیابی عوامل باکتریایی جنس ویبریو در میگوهای پرورشی سفید غربی این منطقه گردید. از ۳۰۰ عدد میگوی پرورشی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) نمونه‌برداری گردید. پس از کشت میکربی روی محیط‌های عمومی و اختصاصی (TCBS, TSA) با آزمایش‌های بیوشیمیایی اختصاصی گونه‌های ویبریو جداسازی و شناسایی گردید. آزمایش ویبریواستاتیک (O/۱۲۹) جهت تفکیک جنس ویبریو از آئروموناس و بسیاری از سایر گونه‌های گرم منفی انجام شد. آزمایش آنتی‌بیوگرام به روش انتشار در دیسک با دیسک‌های حاوی مقادیر مشخص از آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، اکسی تتراسایکلین وکلرامفنیکل و سفالوتین انجام گرفت. خصوصیات فیزیولوژیکی باکتری‌های جداسازی شده با بررسی اثرات درجه حرارت و شوری و pH روی رشد باکتری‌ها تعیین گردید. از ۱۷۹ باکتری جنس ویبریو (*Vibrio* sp.) که از میگوهای پرورشی سفید غربی جداسازی گردید. ۵۶ نمونه آن *Vibrio* parahaemolyticus، ۴۸ نمونه V.harveyi، ۳۱ نمونه *V. alginolyticus*، ۲۱ نمونه *V. anguillarum* و ۲۳ نمونه دیگر متعلق به *Vibrio* spp. بوده است. نتیجه آزمایش آنتی‌بیوگرام گونه‌های باکتری جداسازی شده نسبت به ۵ آنتی‌بیوتیک نشان داد که باکتری‌های جداسازی شده در برابر کلرامفنیکل به میزان ۲۶/۴±۰/۳-۲۱/۲±۰/۱ میلی‌متر و اکسی‌تتراسایکلین به میزان ۱۳/۸۵±۰/۲-۱۱/۹۵±۰/۱ میلی‌متر و سفالوتین به میزان ۱۲/۴±۰/۱-۹/۵۶±۰/۳ میلی‌متر حساس و نسبت به آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین مقاوم بودند. از آنجاکه خصوصیات فیزیولوژیکی باکتری‌های جداسازی شده با شرایط فیزیکوشیمیایی مزارع نمونه‌برداری یکسان بود، این باکتری‌ها که فلور طبیعی بدن میگوها هستند، در صورت وجود استرس و تحلیل سیستم ایمنی بدن میگوها، به‌عنوان عوامل فرصت‌طلب و ثانویه بیماری‌زا مطرح گردیده و نقش مهمی در کاهش تولید میگوی پرورشی به عهده دارند. بنابراین به‌منظور پیشگیری و کنترل بیماری علاوه بر کاهش عوامل استرس‌زا می‌توان از آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر در این مطالعه به عنوان گزینه‌های درمانی بالقوه، پس از تشخیص قطعی و تحت نظارت دامپزشک بهره گرفت.

واژگان کلیدی: ویبریو، میگوی سفید غربی، دلوار بوشهر، آنتی‌بیوگرام.

مقدمه

با توجه به اهمیت جهانی و منطقه‌ای صنعت تکثیر و پرورش میگو و توسعه روزافزون این صنعت در کشور و جهان، ضرورت شناخت و حل مشکلات بهداشتی و بیماری‌های آن هرچه بیشتر احساس می‌گردد. در این میان عوامل عفونی باکتریایی به‌ویژه عوامل مولد ویبریوزیس (Vibriosis) در سنین لاروی، پست لاروی، جوانی و بلوغ میگوهای penaeidae دیده می‌شوند (Anaya-Rosas *et al*., 2019). ویبریوزیس یکی از مهم‌ترین و جدیدترین بیماری‌های باکتریایی است که تلفات و خسارات قابل‌توجهی از ۱۰۰ — ۵۰ درصد در کارگاه‌های تکثیر و پرورش میگو ایجاد می‌کند (López-León *et al*., 2016).

عوامل مولد این بیماری ارگانیسم‌های جنس ویبریو *Vibrio* شامل یک گروه از باکتری‌های گرم منفی و اکسیداز مثبت و با اندازه ۳/۵ -۱-۱ - ۰/۳ میکرون هستند که به اشکال میله‌ای خمیده و یا مستقیم دیده می‌شوند که در محیط‌های آبی وجود دارند و حتی به عنوان فلور میکروبی آبزیان مانند میگو و ماهیان دریایی به فراوانی دیده می‌شوند (López-León *et al*., 2016). از گونه‌های جنس ویبریو *V. anguillarum*، *V. parahaemolyticus*، *V. splendidus*، *V. vulnificus*، *V. harveyi*، *V. alginolyticus*، *V. mimicus*،

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

V. fluvialis و برخی گونه‌های دیگر از میگوهای بیمار، تلف‌شده و حتی میگوهای به‌ظاهر سالم جداسازی شده است (Hong *et al*., 2020). ارگانیزم‌های جنس ویبریو غیر اسپورزا و از طریق یک یا چند تاژک قطبی غلاف دار متحرک می‌باشند. همه این ارگانیزم‌ها هوازی اختیاری وکموارگانوتروفیک بوده و اکسیداز مثبت هستند. اکثر گونه‌ها به‌خوبی روی محیط‌های حاوی آب دریا رشد کرده و یون‌های سدیم موجب تحریک رشد همه گونه‌ها شده و برای رشد بسیاری از گونه‌ها ضروری است. ویبریوها باکتری‌های همه‌جا حاضرند به‌ویژه در جایی که میزان مواد آلی بالا باشد. تا کنون مشخص‌شده که تعدادی از گونه‌های این جنس برای میگوها بیماری‌زا می‌باشند. در حالی‌که نژادهای مشخصی در داخل یک گونه شدیداً بیماری‌زا هستند، سایر نژادها ممکن است غیربیماری‌زا باشند. ویبریوهای دریایی بیشتر در آب‌های راکد حاوی کف‌زیان همراه با میزان بالای مواد آلی حضور دارند. تراکم این باکتری‌ها در سواحل و سواحل حاوی آب‌های با هوادهی خوب به میزان زیادی کاهش می‌یابد. این بیماری تاکنون از تعداد زیادی از مزارع پرورش میگو گزارش گردیده است و در بعضی کشورها مثل تایلند موجب تلفات قابل‌توجهی گردیده است (Cheng *et al*., 2021). ویبریوها از فلور باکتریایی طبیعی میگو محسوب گردیده و روی سطح بدن و دستگاه گوارش جانوران دریایی نیز به‌وفور یافت می‌شوند. ویبریو اغلب به‌صورت یک عامل بیماری‌زای فرصت‌طلب و یا ثانویه در جمعیت‌های تحت استرس عمل می‌نماید (Krummenauer *et al*., 2014).

به طور کلی ویبریوهای بیماری‌زا که از میگوهای پرورشی بیمار جداسازی شده شامل: *V. parahaemolyticus*، *alginolyticus*، *V. anguillarum*، *V. vulnificus*، *V. damsela*، *V. harveyi* بوده است (Nguyen *et al*., 2021). نتایج تحقیقات انجام‌شده نشان می‌دهد که از بین گونه‌های ویبریو، گونه‌های *V. alginolyticus*، *V. anguillarum*، *V. parahaemolyticus* و *V. harveyi*، مهم‌ترین عوامل تلفات ناشی از بیماری ویبریوزیس هستند (Cheng *et al*., 2021). در تحقیقات مشابهی در بوشهر در نمونه‌برداری از میگوی سفید هندی (*penaeus indicus*) و ببری سبز (*penaeus semisulcatus*) کارگاه‌های میگوی حله بوشهر، ویبریو پاراهمولیتیکوس، ویبریو هاروه‌ای، ویبریوآلجینولیتیکوس و ویبریو آنگوئیلاروم جداسازی گردید (Soltani *et al*., 2000). در تحقیق دیگری از میگوی ببری سبز و آب خلیج‌فارس در بوشهر ویبریو آلجینولیتکوس، ویبریو هارویی، ویبریو ناتریجنس (*V. natriegens*) ، ویبریو نرئیس (*V. nereis*) ، ویبریو فلوویالیس و یک مورد از ویبریو متشینکوی (*V. metschnikovii*) و ویبریو کامپبلی (*V. campbellii*) جداسازی و گزارش گردید (Haghighi *et al*., 2003). دو باکتری بیماری‌زای میگو *V. harveyi* و *V. alginolyticus* که عامل تلفات میگو در مراکز تکثیر میگوی بوشهر بودند. از سه مرکز تکثیر میگو در استان بوشهر جداسازی شدند (Moghimi *et al*., 2014).

واژه ویبریوزیس به انواع عفونت‌هایی که توسط باکتری‌های جنس ویبریو به‌وجود می‌آیند اطلاق می‌گردد. عفونت‌های گونه‌های ویبریو یکی از معمول‌ترین شکل بیماری‌های باکتریایی در میگوهای پرورشی است که علت آن فرصت‌طلب بودن عفونت‌های گونه‌های ویبریو است. ویبریوها از عدم سلامت میگوها که به هر دلیل ممکن اتفاق می‌افتد استفاده کرده و نتیجه این روند تلف شدن میگو است. با این وجود توانایی باکتری‌های جنس ویبریو در آسیب زدن به میگوها متغیر است. همواره ایجاد اثرات پاتولوژی متفاوت تعیین گونه‌های آسیب‌رسان ویبریو کاری بسیار مشکل است. برخی گونه‌های ویبریو مهاجم‌تر هستند و در شرایطی که حداقل استرس وجود دارد، بیماری به وجود می‌آورند (Hossain *et al*., 2020). با مشاهده برخی علائم و نشانه‌های بیماری‌ها و تلفات قابل‌توجه در میگوهای پرورشی منطقه دلوار بوشهر، ازجمله مشاهدهٔ میگوهای بیمار در حواشی استخر و درخشندگی آن‌ها در شب‌های تاریک، به‌منظور نیل به پیشگیری و کاهش عفونت‌های میکروبی، شناسایی و تشخیص به‌موقع آن‌ها امری ضروری به نظر می‌رسید؛ بنابراین هدف از این مطالعه نیز ارزیابی و شناسایی عوامل باکتریایی ویبریوزیس در میگوهای پرورشی (*Litopenaeus vannamei*) این منطقه به‌ویژه در میگوهای بیمار و تلف شده بود.

مواد و روش‌ها

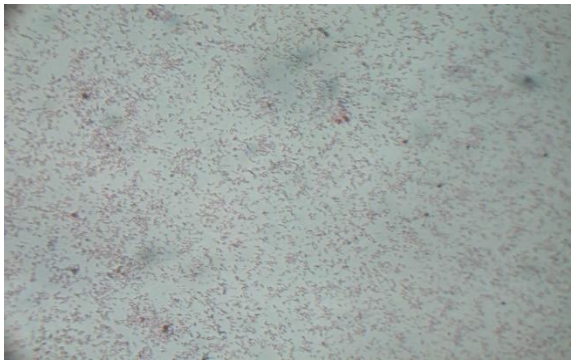
سایت دلوار ۱۴ شامل ۱۴ مزرعه ۱۰ هکتاری در ۱ کیلومتری جنوب شرق شهر دلوار و ۳۵ کیلومتری شهر بوشهر قرار دارد. نمونه‌برداری از میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) با میانگین وزن بدن (۰/۷۹ ± ۷/۶۹) گرم و طول کل (۲/۶۸ ± ۷/۳۳) سانتی‌متر به صورت تصادفی از ۶ مزرعه ۱۰ هکتاری در سایت دلوار ۱۴ که از کانال‌بندی مشترکی برخوردار بودند، به ترتیب با شماره ۶-۱ که شامل ۱۰ استخر واجد تلفات

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

بود (۷-۱۵ عدد در روز) انجام شد. برای نمونه‌برداری از استخرهای پرورش میگو از سینی غذادهی، سالیک و جمع‌آوری تلفات حاشیه دیواره‌ها و خروجی استفاده گردید. نمونه‌برداری هر ۱۰ روز یک‌بار و هم‌زمان با زیست‌سنجی میگوها انجام گرفت و در این فاصله ۱۰ روز که هر روز جهت ثبت عوامل دما، شوری و pH و ملاحظات مدیریتی اقدام گردید. میگوها به صورت زنده نمونه‌برداری گردید. قبل از نمونه‌برداری تاریخ و زمان نمونه‌برداری، شرایط مدیریتی استخر و عوامل محیطی درجه حرارت و pH به‌وسیله یک دستگاه pH متر و درجه حرارت‌سنج YSI اندازه‌گیری شد. اکسیژن محلول نیز با اکسیژن متر YSI، مدل V5 (USA) و آمونیاک با استفاده از آمونیاک سنج هانا، (HI 93715 Taiwan) اندازه‌گیری گردید. شفافیت آب و وضعیت ظاهر میگوها و کلیه عوامل مزاحم و شکارچی استخر از جمله خرچنگ، ماهی و جلبک بررسی و ثبت گردید. در ارسال نمونه به آزمایشگاه نمونه‌های میگوی زنده با کیسه‌های پلاستیکی محتوی آب‌وهوا منتقل گردید.

نمونه‌ها به‌صورت انفرادی جهت کشت میکربی به کار رفت. برای این منظور سطح بدنِ میگو با پنبه آغشته به الکل ۷۰ درصد ضدعفونی گردید. سپس با آب دریای استریل شده شستشو گردید. نمونه‌ها وزن و با آب مقطر استریل یکدست گردید و تا ۱۰ برابر رقیق‌سازی صورت گرفت. ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقیق‌سازی در سه تکرار روی پلیت‌های محیط کشت پخش شد. چند نوع محیط باکتری‌شناسی برای جداسازی اولیه و اختصاصی شامل TSA (Tryptic Soy Agar)، TSB (Tryptic Soy Broth)، TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar) در این تحقیق استفاده شد. محیط کشت TSA برای جداسازی باکتری‌های هتروتروفیک غیرانتخابی،TCBS برای تفکیک جنس ویبریو و آئروموناس و NB وTSB برای کشت اولیه باکتری‌ها و انبوه‌سازی آماده شدند. سپس از بخش‌های همولنف، آبشش، هپاتوپانکراس و عضله شکمی میگوها کشت میکربی تهیه گردید. به‌وسیله پیپت پاستور یا لوپ از راه قلب یا سینوس شکمی بالای پاهای حرکتی و بریدن آنتن میگوها، نمونه همولنف و به‌وسیله تیغ جراحی و لوپ از بند ششم شکمی میگو نمونه عضله دمی تهیه و جهت انجام کشت میکربی استفاده گردید. بلیت‌ها و لوله‌های آزمایش کشت شده به گرمخانه منتقل گردیده و به مدت ۷۲ ساعت در ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. رشد باکتری با کدر شدن محیط کشت مایع و ظهور پرگنه بر روی محیط کشت جامد مشخص شد (شکل ۱). پس از کشت اولیه و ثانویه و جداسازی و خالص‌سازی باکتریایی رشد یافته ابتدا به‌منظور بررسی وضع مرفولوژی باکتری‌ها اقدام به تهیه گسترش میکربی و رنگ‌آمیزی‌گرم نموده و پس از مشاهده مرفولوژی باکتری‌ها کلیه نمونه‌های گرم مثبت حذف گردید (شکل ۲).

شکل ۱: ظهور پرگنه گونه‌های مختلف ویبریو بر روی محیط کشت جامد.



شکل ۲: تصویر میکروسکپی باکتری ویبریو (گرم منفی و اکسیداز مثبت و با اندازه ۳/۵ – ۱ تا ۱ – ۰/۳ میکرون).

در مرحله بعدی با انجام آزمایش اکسیداز و ویبریو استاتیک ۱۵۰ µg کلیه نمونه‌های اکسیداز منفی و مقاوم به ویبریو استاتیک ۱۵۰ µg نیز از رده خارج و سایر آزمایش‌های بیوشیمیایی بر روی نمونه‌های گرم‌منفی، اکسیداز مثبت و حساس به ویبریو استاتیک انجام شد. آزمایش‌های بیوشیمیایی شامل آزمایش اکسیداز، آزمایش کاتالاز، آزمایش MR/VP، تولید اندول، آزمایش حرکت، آزمایش اکسیداتیو – تخمیری O/F، آزمایش‌های تخمیرکننده که شامل محیط‌های گلوکز، اینوزیتول، مانیتول، رامینوز، سوکروز، سوربتیول آرابینوز، فروکتوز با معرف فنل رد، آزمایش ONPG (بتاگالاکتوزیداز) یا مصرف لاکتوز، آزمایش‌های هیدرولیز کننده شامل ژلاتین و اوره، آزمایش‌های دکربوکسیله کننده شامل

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

محیط‌های ارنتین، لیزین، آزمایش سیترات و نیترات، تولید SH_2 و نمک مورد نیاز برای رشد باکتری‌ها (Nacl required for growth) به روش Kolb و همکاران (۲۰۱۹) انجام شد.

آزمایش ویبریواستاتیک (O/۱۲۹) جهت تفکیک جنس ویبریو از آئروموناس و بسیاری از سایر گونه‌های گرم‌منفی بود. برای انجام این آزمایش ابتدا دیسک‌های ۱۰ و ۱۵۰ میکروگرمی از این ماده در آزمایشگاه تهیه و سپس به روش آنتی‌بیوگرام میزان حساسیت نمونه‌های باکتریایی موردمطالعه قرار گرفت. برای تهیه دیسک‌های آنتی‌بیوگرام ابتدا مقداری از ماده شیمیایی توزین و سپس در استن (حلال) حل گردید و با استفاده از مقادیر مورد نیاز از هر محلول درروی دیسک‌ها ریخته شد، به‌طوری‌که هر دیسک حاوی ۱۰ یا ۱۵۰ میکروگرم از دارو باشد. دیسک‌ها در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت نیم ساعت در داخل پتری دیش شیشه‌ای خشک‌شده و سپس تا موقع استفاده داخل یخچال نگهداری شد (Alsina and Blanch, 1994).

برای انجام آزمایش آنتی‌بیوگرام از روش استاندارد شده Kirby – Bauer استفاده شد. برای انجام این آزمایش از روش دیسک (Agar disc diffusion) استفاده گردید. ابتدا باکتری‌ها در محیط TSA حاوی ۲-۱ درصد نمک طعام به روش سوآب کردن کشت گردید به‌طوری‌که تمام سطح پلیت را فرا گرفت و سپس دیسک‌های mm ۶ حاوی مقادیر مشخص از آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰µg)، آمپی‌سیلین (۱۰µg)، اکسی‌تتراسایکلین (۳۰µg) وکلرامفنیکل (۳۰µg) و سفالوتین (۳۰µg) روی پلیت قرار گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از این مدت با مشاهده و اندازه‌گیری قطر هاله ممانعت‌کنندگی میزان حساسیت باکتری به آنتی‌بیوتیک از روی جدول استاندارد آنتی‌بیوگرام CLSI (2020) (Clinical and Laboratory Standards Institute) مشخص گردید (Lu *et al.,* 2020; Naheed *et al.,* 2023). جدول‌های CLSI (2020) شامل دستورالعمل‌ها و معیارهایی بود که برای تعیین مقاومت، حساسیت، یا حد واسط بودن یک میکروارگانیسم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از آن‌ها استفاده گردید.

به‌منظور اطلاع از شرایط فیزیولوژیکی باکتری‌های جداسازی شده به مطالعه اثرات درجه حرارت و شوری و pH روی رشد باکتری اقدام گردید. ابتدا باکتری‌ها روی محیط جامد TSA حاوی ۲-۱ درصد نمک طعام در ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت رشد داده شد و سپس رقت‌های مساوی از پرگنه‌های رشد یافته در لوله‌های آزمایش حاوی میزان‌های مساوی از محیط مایع TSB (Tryptic soya broth) حاوی ۲-۱ درصد نمک طعام کشت گردید. سپس کشت‌های مایع در درجه حرارت‌های ۴، ۱۵، ۳۶ و ۴۰ به مدت ۹۶-۴۸ ساعت پرورش داده شد (Avakh Keysami *et al.,* 2025). به‌منظور بررسی اثر شوری نیز اقدام به کشت باکتری‌ها در درجه شوری‌های متفاوت شامل شوری ۰/۵، ۱ و ۴ و ۵ درصد نمک طعام یعنی آب دریا با شوری‌های ۱۲ و ۲۴ و ۳۶ ppt گردید و لوله‌های کشت در درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۶-۴۸ ساعت قرار گرفت. برای مطالعه اثر pH با استفاده از NaoH و یا Hcl ۰/۱ نرمال اقدام به تهیه محیط‌های کشت با pHهای ۵، ۹، ۱۰ و ۱۱ در داخل لوله آزمایش گردید و پس از کشت باکتری‌ها به پرورش آنها در درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۶-۴۸ ساعت اقدام شد (Kolb *et al.*, 2019).

جهت شناسایی گونه‌های ویبریوی جداسازی شده پس از انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژی نتایج حاصله با جداول ارائه شده توسط Avakh Keysami و همکاران (۲۰۲۵): Bryant و Lee (۱۹۸۶)؛ Alsina و Blanch (۱۹۹۴) مقایسه گردید. شناسایی و طبقه‌بندی باکتری‌ها در سطح گونه انجام شد. سپس به‌منظور بررسی صحت و سقم شناسایی بیوشیمیایی، نمونه‌ها با استفاده از کیت و نرم‌افزار Biolog - soft ware - micrologدر دانشگاه پوترای مالزی در حد گونه شناسایی شد. مقایسه میانگین داده‌های متغیرهای کیفیت آب، میانگین تعداد باکتری‌های ویبریو در نمونه‌ها و تکرارها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری α=۰/۰۵ انجام شد. مقایسه داده‌های حاصل از نتایج بر اساس میانگین با محاسبه میزان انحراف استاندارد (انحراف استاندارد ± میانگین) ارائه شد. تجزیه‌وتحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد.

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

نتایج

در بررسی مدیریت کیفیت آب مواردی از پارگی توری دریچه‌های ورودی آب استخر پرورشی مشاهده شد. فیلتر شنی مورد استفاده در کنترل ورودی آب استخرهای پرورشی اغلب آلوده و از یک‌لایه ماسه یکدست و یک اندازه تشکیل‌شده و کارآیی لازم در جلوگیری از ورود تخم ماهی و عوامل زنده ناخواسته به مزرعه پرورشی را نداشت. نتیجه نمونه‌برداری از استخر با تور سالیک و سینی غذادهی و جمع‌آوری از حاشیه استخر حضور عوامل رقیب غذایی میگو و شکارچی در استخر را نشان داد. به‌طور متوسط در هر بار توراندازی با تور سالیک ۱۰-۵ درصد صید را ماهیان هرز که گونه غالب آن ماهی شورت (Silagilidae) تشکیل می‌داد و خرچنگ آبی به میزان محدود و ماهیان گل‌خورک به وفور در استخرها صید گردید. پس از برداشت میگو از استخرها در پایان دوره پرورش تولیدات عوامل خارجی رقیب و شکارچی شامل ماهی و خرچنگ به طور متوسط ۱۱۰ کیلوگرم در هکتار را شامل گردید. همچنین به دلیل تعویض آب بالا که جهت رفع درخشان بودن سطح آب استخر انجام گردید شفافیت آب استخر بالا بود. اگرچه از غذای کنسانتره تجاری مورد استفاده ساخت کارخانه هوواش بوشهر مصرف شد اما انبار مناسبی ازنظر کنترل درجه حرارت و رطوبت جهت نگهداری غذای اضافی وجود نداشت. به دلیل کمبود غذای کنسانتره، گاهی غذاهای مورد استفاده ازنظر اندازه و شماره در زمان مناسب مصرف نمی‌گردید.

در بررسی متغیرهای فیزیکوشیمیایی آب مزارع نمونه‌برداری شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>0/05$) به‌طوری‌که دما از ۲۵/۰±۳۳/۶۸ الی ۳۱/۰±۲۷/۲۳ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول از ۰/۴±۵/۴ الی ۰/۳±۵/۸ میلی‌گرم در لیتر، pH از ۰/۳۱±۸/۶ الی ۲۲/۰±۸/۵ و آمونیاک از ۰/۰۰۴±۰/۰۱۲ الی ۰/۰۰۸±۰/۰۲ شوری ۱±۴۵ در نوسان بود.

در بررسی‌های مقدماتی و مشاهده استخرها سطح آب و میگوهای آنها در شب می‌درخشیدند. برخی از میگوها در سطح آب استخر و کناره‌ها و به‌ویژه در شب و صبح زود قابل مشاهده بود. میگوهای مرده و بی‌حال در حواشی استخرها و یا در مرکز استخرها و در محل هواده جمع‌آوری گردید. بر اساس مشاهدات بالینی میگوهای بیمار دارای رنگ‌های متفاوت سبز روشن و خاکستری و گاهی شفاف و براق و گاهی کدر و تیره بودند. میگوهای با لوله گوارش خالی، قرمزرنگ، آبشش‌های زرد و صورتی، پاهای قرمز، پوسته نرم و متمایل به آبی، لکه‌های قرمز و سیاه در بدن، هپاتوپانکراس قهوه‌ای قرمز و شیری، نیز دیده شد. سایر مشاهدات شامل وجود لکه‌های قهوه‌ای و سیاه بر سطح بدن میگوها، خم شدن عضله شکمی در بند سوم و پیچ خوردن آن، لق شدن کاراپاس، دم خورده شده و ریش ریش شده، آلودگی با اجرام خارجی شامل رسوبات لجن در آبشش دیده شد. در ۶ مورد جلبک و بارناکل به میگو چسبیده بود. میگوهای بی‌حال به راحتی در حواشی استخرها قابل جمع‌آوری بودند.

از مجموع ۳۰۰ نمونه میگوی نمونه‌برداری شده پس از انجام کشت میکروبی، ۱۷۹ نمونه گرم منفی، اکسیداز مثبت، میله‌ای، حساس به عوامل ویبریو استاتیک(O/۱۲۹) از همولنف، هپاتوپانکراس و برانش و عضله شکمی یا جراحت میگوهای بیمار و تازه تلف شده جداسازی گردید. پس از انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی براساس مقایسه نتایج با سوابق منتشر شده در منابع، برخی ویژگی‌های مشترک باکتری‌های جداسازی شده را در جنس ویبریو طبقه‌بندی نمود (جدول ۱). بر اساس ویژگی‌های مختلف بیوشیمیایی (جدول ۲) چهار گونه باکتریایی از جنس ویبریو تشخیص داده شد که شامل *V.Parahaemolyticus* ۵۶ نمونه، *V.alginolyticus* ۳۱ نمونه، *ویبریو هاروه‌ای* ۴۸ نمونه *V.anguillarum* ۲۱ نمونه و سایر نمونه‌های ویبریوی ناشناخته ۲۳ نمونه آن را تشکیل داد. همچنین تفاوت معنی‌داری در فراوانی گونه‌های باکتری یا الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بین ایستگاه‌های مختلف یا زمان‌های مختلف نمونه‌برداری دیده نشد. *V.Parahaemolyticus* گونه غالب جداسازی‌شده با ۳۱/۲۸ درصد از مجموع نمونه‌های باکتریایی جداسازی شده، *V. alginolyticus* با ۱۷/۳۲ و *V. harveyi* با ۲۶/۸۱ درصد به عنوان گونه دوم و *V. anguillarum* با ۱۱/۷۳ درصد کمترین درصد فراوانی را به خود اختصاص داد (جدول ۳).

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

جدول ۱: ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مشترک جداسازی شده از میگوی سفید غربی (L. vannamei) پرورشی.

ویژگی‌های بیوشیمیایی مشترک		ویژگی‌های فیزیولوژیکی	
آزمایش	نتیجه	آزمایش	نتیجه
شکل میله‌ای	+	رشد در درجه حرارت:	
رنگ‌آمیزی گرم	−	۴C	−
حرکت	+	۱۵C	+
سیترات	+	۳۰C	+
اکسیداز	+	۳۶C	+
کاتالاز	+	۴۰C	+
تولید گاز از گلوکز	−	رشد در pH:	
تولید اسید از گلوکز	+	۵	−
اینوزیتول	−	۹	+
اندول	+	۱۰	+
ژلاتین	+	۱۱	+
سوکروز	+	رشد در NaCl(٪)	
مانیتول	+	٪۰	−
حساسیت به‌ویبریواستات۰/۱۲۹(۱۵۰gμ)	+	٪۰/۵	−
آزمایش اکسیداتیو – تخمیری (OF)	+	٪۱	+
		٪۴	+
		٪۵	+
		رشد در آب دریا (ppt)	
		۱۲	+
		۲۴	+
		۳۶	+

جدول ۲: ویژگی‌های بیوشیمیایی اختصاصی ویبریوهای جداسازی‌شده از میگوهای سفید غربی (*L. vannamei*) پرورشی.

ویژگی‌های بیوشیمیایی‌مختلف	*VP*	*VAl*	*VH*	VAN	*VP*
رشد پرگنه و رنگ آن روی TCBS	سبز	زرد	سبز و زرد	زرد	**V**
	+	+	+	+	+
هیدرولیز آرژنین	+	−	−	+	+
دکربوکسیلازلیزین	−	+	−	−	−
دکربوکسیلازارنیتین	−	−	−	−	−
اوره‌آز	−	−	−	+	−
وگس پروسکوئر	−	−	−	−	+
متیل رد	−	+	−	−	+
تبدیل نیترات به نیتریت	+	+	+	+	−
بتا–گالاکتوسیداز	+	−	**V**	−	**V**
اسیداز آرابینوز	−	−	−	−	−
SH2	−	−	+	−	−

متغیر =*VP: Vibrio* sp/ VAN: *V. anguillarum/ VH: V. harveyi/ VAl: V. alginolyticus VP: V. Parahaemolyticus, V*

جدول ۳: تعداد باکتری‌های ویبریوی جداسازی شده از اندام‌های مختلف بدن میگوهای پرورشی.

گونه باکتریایی	هملونف	هپاتوپانکراس	آبشش	عضله شکمی و جراحات پوستی	جمع کل	درصد
V.alginolyticus	۸	۱۲	۵	۶	۳۱	۱۷/۳۲
V.Parahaemolyticus	۲۰	۱۷	۱۲	۷	۵۶	۳۱/۲۸
V.anguillarum	۵	۶	۷	۳	۲۱	۱۱/۷۳

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

V.harveyi	۱۷	۱۶	۹	۶	۴۸	۲۶/۸۱
Vibrio sp.	۳	۵	۹	۶	۲۳	۱۲/۸۵
جمع کل	۵۳	۵۶	۴۲	۲۸	۱۷۹	۱۰۰

نتیجه آزمایش آنتی‌بیوگرام گونه‌های باکتری جداسازی شده نسبت به ۵ آنتی‌بیوتیک نشان داد که باکتری‌های جداسازی شده در برابر کلرامفنیکل به میزان ۰/۳±۲۶/۴-۰/۱±۲۱/۲ میلی‌متر و اکسی تتراسایکلین به میزان ۰/۲±۱۳/۸۵-۰/۱±۱۱/۹۵ میلی‌متر و سفالوتین به میزان ۰/۱±۱۲/۴-۰/۳±۹/۵۶ میلی‌متر حساس و نسبت به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین مقاوم بودند (جدول۴).

جدول ۴: نتایج آزمایش‌های آنتی‌بیوگرام بر روی گونه‌های باکتریایی ویبریوی جداسازی شده از میگوهای پرورشی

گونه باکتریایی / آنتی‌بیوتیک	اکسی‌تتراسایکلین (۳۰gμ)	پنی‌سیلین (۱۰gμ)	آمپی‌سیلین (۱۰gμ)	کلرامفنیکل (۳۰gμ)	سفالوتین (۳۰gμ)
V.alginolyticus	۱۱/۹۵±۰/۱	۰	۰	۲۶/۴±۰/۳	۱۱/۴±۰/۲
V.Parahaemolyticus	۱۳/۸۵±۰/۲	۰	۰	۲۴/۴±۰/۲	۱۲/۴±۰/۱
V.anguillarum	۱۲/۹۵±۰/۳	۰	۰	۲۳/۴±۰/۳	۹/۵۶±۰/۳
V.harveyi	۱۲/۹۵±۰/۲	۰	۰	۲۱/۲±۰/۱	۱۰/۳۱±۰/۳

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب استخرهای نمونه‌برداری شده نشان داد که اختلاف معنی‌دار آماری بین متغیرهای فیزیکی و شیمیایی استخرهای نمونه‌برداری شده وجود ندارد (p>۰/۰۵). شرایط فیزیکیوشیمیایی به‌دست آمده از مزارع در حدود شرایط فیزیکوشیمیایی مطلوب مورد نیاز برای کشت و پرورش میگوی سفید غربی بود (Avakh Keysami *et al*., 2022). این مهم می‌تواند به کیفیت آب محیط پرورش آبزی مربوط باشد. به طوری‌که در صورت تراکم بالای پرورش آبزی و در شرایط pH بالاتر و کیفیت نامناسب آب محیط پرورش، تراکم باکتری‌های گرم منفی بالاتر می‌رود (Li *et al*., 2012).

باکتری‌های روده‌ای آبزیان با فلور باکتریایی محیط‌زیست آنها به‌واسطه تغذیه آن‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Nguyen *et al*., 2021). با توجه به این‌که زیستگاه میگو در آب و رسوبات استخر است، جمعیت غالب باکتری‌های دستگاه گوارش میگو فلور باکتریایی آب و رسوبات استخر پرورش میگو است (Rahman *et al*., 2010). به‌عبارت دیگر، انواع مشابه باکتری‌هایی که از دستگاه گوارش آبزی و آب محیط پرورش آنها جداسازی گردیده و فلور میکروبی آبزی را تشکیل می‌دهد از طریق تغذیه وارد دستگاه گوارش آبزی شده‌اند (Nguyen *et al*., 2021) جریان آب تأثیر محیط اطراف را روی فلور میکروبی آبزیان افزایش می‌دهد (Avakh Keysami *et al*., 2022).

ویبریو پاراهمولیتیکوس تاکنون توسط محققین مختلفی در دنیا از میگوهای پرورشی جداسازی گردیده است (Chandrakala and Priya, 2017، Goarant *et al*., 2006). ویبریوزیس به دو حالت حاد و مزمن ظاهر می‌شود. البته برخی اشکال و حالت‌های همه‌گیر اسم ویژه‌ای دارند. مثلاً سندروم مرگ‌ومیر میگوی یک ماهه و عفونت‌هایی که مربوط به خراب شدن شرایط محیط استخر می‌باشند که ایجاد زخم‌های پوسته‌ای و عفونت‌های عمومی می‌نماید. شیار سیاه (Black splinter) درواقع زخم ملانیزه مزمن در عضلات ناحیه شکمی است. سندروم (bolitos syndrome) بولیتوس که به حضور اشکال کروی کوچک و زنگوله‌ای مخلوط گِل و سلول‌های اپتیلیال پوسته پوسته در روده میگو اشاره دارد و در آمریکای شمالی اتفاق افتاده است. سندروم مرغ دریایی به جذب مرغ‌های دریایی به میگوهای مرده استخر اشاره دارد (Kumar and Wang, 2020).

نوعی‌ویبریوزیس نیز وجود دارد که به نکروز هپاتوپانکراس شناخته‌شده و منجر به انهدام بخش بزرگی از هپاتوپانکراس می‌شود که در آن اندازه هپاتوپانکراس میگو کوچک و رنگ آن تیره می‌شود (Zhang *et al*., 2016). عفونت عمومی (Systemic infection) زمانی به وجود می‌آید که باکتری درون بدن میگو پراکنده می‌شود که در شرایط استرس شدید و حدت بالای باکتری و بیماری‌زایی شدید تعداد

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

زیادی از میگوها در یک دوره زمانی کوتاه، بدون اینکه میگوها علائمی از خود نشان دهند تلف می‌شوند. به هرحال در عفونت‌های حاد میگوهای مبتلا علائم تغییر رفتاری از خود نشان داده و در حالی‌که بی‌حال می‌باشند در کناره‌ها و سطح آب استخر جمع می‌شوند. این‌گونه میگوها فاقد اشتها بوده و گاهی به رنگ‌های قرمز و آبی تغییر رنگ می‌دهند؛ اما اگر میگوها بعد از عفونت حاد، تلف شوند ممکن است باکتری‌ها از بدن میگو حذف شوند و یا اینکه بیماری مزمن شود. عفونت‌های مزمن در بافت‌های مختلف گره‌های تیره‌ای ایجاد می‌کند که امکان تشخیص آن فقط با آزمایش‌های آسیب‌شناسی به‌وجود می‌آید (Luo *et al*., 2017). در تایلند ویبریو پاراهمولیتیکوس عامل تلفات دسته‌جمعی میگوی مونودون پرورشی (*Penaeus monodon*) گزارش گردید. Aguirre-Guzmán و همکاران (۲۰۱۰)، Soto-Rodriguez (۲۰۱۵) و Chandrakala و Priya (۲۰۱۷) نیز طی مطالعات آزمایشگاهی بیماری‌زایی این‌گونه را تأیید نمودند. در تحقیقات تجربی مشابهی Zhang و همکاران (۲۰۱۶) نیز این نوع تلفات را گزارش نمودند. Avakh Keysami و همکاران (۲۰۲۲) با تزریق دو گونه *V. parahaemolyticus* و *V. harveyi* به میگوهای سفید غربی پرورشی بیماری ویبریوزیس ایجاد نمودند (Avakh Keysami *et al*., 2022). در جداسازی و شناسایی باکتری تزریق‌شده که قبلاً از مزارع میگوی بوشهر جداسازی شده بود، علائم بالینی و ظاهری میگوهای بیمار مشابه با علائم گزارش‌شده از مزارع پرورشی در این تحقیق بود (Avakh Keysami *et al*., 2022). تلفات (۹۰-۵۰) درصد میگو، ضایعات هپاتوپانکراس و عضله که با حضور و تهاجم این باکتری‌ها به این اندام‌ها روبه‌رو بود (Khimmakthong and Sukkarun, 2017) نشان می‌دهد که *V. parahaemolyticus* که از مزارع پرورشی جداسازی گردیده در شرایط مناسب و در صورت بروز استرس قادر به ایجاد بیماری و تلفات در میگوی سفید غربی بوده و می‌تواند یکی از علل ایجاد عفونت ویبریوزیس و یک عامل بیماری‌زا در میگوهای سفید غربی پرورشی قلمداد کرد (Nguyen *et al*., 2021). غالب گونه‌های ویبریوی جداسازی شده در این تحقیق قبلاً از میگوهای پرورشی سفید هندی در سایت حله بوشهر و در چوئیبده آبادان نیز جداسازی شده بود (Avakh Keysami *et al*., 2022). گونه‌های باکتریایی ویبریو در محیط آب به عنوان فلور باکتریایی دستگاه گوارش و سطح بدن آبزیان پرورشی و وحشی به‌شمار می‌رود همچنین این باکتری‌ها از ماهیان دریایی اسکوئید و خرچنگ جداسازی شده است (Kumar *et al*., 2014). ویبریو در مواردی که از ضایعات و مازاد ماهیان دریایی به‌منظور غذادهی استفاده شده بود نیز در استخرهای پرورشی شیوع پیدا کرد (Nguyen *et al*., 2021). این عوامل باکتریایی که از عوامل فوق در مزارع پرورشی گسترش می‌یابند، به‌صورت ثانویه و به دنبال شرایط نامساعد مدیریتی ازجمله شوری، نوسانات درجه حرارت به‌ویژه دمای بالا و تراکم بالا و سوءتغذیه و جراحات ناشی از صدمات مکانیکی حمل‌ونقل و همجنس‌خواری و عوامل بیولوژیک مزاحم ازجمله خرچنگ، جلبک، ماهی و میگوهای هرز وحشی که باعث ایجاد استرس در میگوها می‌شوند (Austin and Zhang, 2006 و Farrokhbin *et al*., 2012).

اشکال مختلف ویبریوزیس از تایلند، تایوان، مالزی، اکوادور، ونزوئلا، چین، فیلیپین که مزارع پرورش میگو را مورد تهدید جدی قرار داده بود گزارش گردیده است که گونه‌های *V. parahaemolyticus* و *V. anguillarum* و *V. alginolyticus* و*V. vulnificus* و *V. fluvialis*از نمونه‌های بیمار جداسازی گردید. جداسازی ویبریو هاروه‌ای نیز از آب، سطح بدن و معده ماهی و میگو، در مراحل و پست‌لاروی میگوهای پرورشی از محققین مختلفی در جهان گزارش گردیده است (Chrisolite *et al*., 2008). در صورت شیوع ویبریوزیس ناشی از ویبریو هاروه‌ای نقاط درخشنده در سطح آب و بدن میگو را می‌پوشانند و میگوهای درخشان در کناره استخرها سرگردان هستند و در زمان تکثیر نیز در تراکم بالایی در آب سایه می‌گسترانند (Chrisolite *et al*., 2008).

Cheng (۲۰۲۱) از ۳۵۷ باکتری جداسازی شده از هپاتوپانکراس میگوی پرورشی تایوان چهار گونه *V. parahaemolyticus* و *V. anguillarum* و *V. alginolyticus* و *V. vulnificus* را شناسایی نموده و گونه غالب جداسازی شده ویبریو پاراهمولیتیکوس بود. در این تحقیق نیز از ۱۷۹ نمونه باکتریایی ویبریوی جداسازی شده از میگوهای پرورشی دلوار گونه غالب ویبریو پاراهمولیتیکوس بوده است و پس از آن ویبریو هاروه‌ای و ویبریو الجینولیتیکوس رده‌های بعدی را تشکیل داده‌اند. در تحقیقات مشابهی در بوشهر در نمونه‌برداری از تعداد ۲۱۵ نمونه میگوی سفید هندی (*penaeus indicus*) و ببری سبز (*penaeus semisulcatus*) بیمار یا تازه تلف شده کارگاه‌های میگو حله بوشهر، ۲۹/۲۰ درصد ویبریو پاراهمولیتیکوس،۲۱/۹ درصد ویبریو هاروی و ویبریو آلجینولیتیکوس، ۹/۷۵ درصد ویبریو آنگوئیلاروم و ۱۷

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

درصد دیگر متعلق به گونه‌های ناشناخته‌ای از این جنس جداسازی گردید (Soltani *et al*., 2000). از ۵۹ سویه ویبریویی جدا شده از میگوی ببری سبز و آب خلیج‌فارس در بوشهر ۱۷ مورد مربوط به ویبریو آلجینولیتکوس، ۵ مورد ویبریو هارویی، ۹ مورد ویبریو ناتریجنس، ۶ مورد ویبریو نرئیس، ۸ مورد ویبریو فلوویالیس و یک مورد از هر کدام از ویبریو متشینکوی و ویبریو کامپبلی بود. یکی از سویه‌های جدا شده ویبریویی به عنوان ویبریوی ناشناخته قلمداد گردید (Haghighi *et al*., 2003).

مطالعه خواص شیمیایی و فیزیولوژی باکتری‌های جداسازی شده از کارگاه پرورش میگوی دلوار مؤید این نکته است که این باکتری‌ها در کارگاه‌های کشور وجود دارند. در میان گونه‌های باکتریایی شناسایی‌شده ویبریو پاراهمولیتیکوس و ویبریو هاروه‌ای می‌توانند به‌عنوان عفونت‌های تهدیدکننده مطرح باشند (Avakh Keysami *et al.,* 2022; Khimmakthong and Sukkarun, 2017). بنابراین بخشی از تلفات کارگاه‌های پرورش میگوی دلوار بوشهر می‌تواند ناشی از ویبریو پاراهمولیتیکوس و ویبریو هاروه‌ای باشد. نتایج گزارش بررسی وضعیت بهداشتی نشان داد که بروز پدیده درخشان بودن آب استخر باعث افزایش درصد تعویض آب و درنتیجه بالا رفتن شفافیت آب استخر به ۸۰-۷۰ سانتی‌متر بود و تابش آفتاب به‌عنوان یک عامل استرس‌زا می‌تواند مطرح باشد، به‌علاوه کیفیت مواد غذایی مورد استفاده در این کارگاه‌ها که از نظر انبارداری مناسب نبود نیز می‌تواند یک عامل استرس‌زا باشد (Rahman *et al*., 2010) در ایستگاه‌های نمونه‌برداری با تراکم میگوی پرورشی بالاتر تعداد ویبریوی جداسازی شده بیشتر بود و به‌علاوه با توجه به میزان برداشت میگو نسبت به میزان ذخیره‌سازی، تلفات در ایستگاه‌های با تراکم بالا بیشتر بوده است. علاوه بر موارد مذکور استرس ناشی از دست‌کاری و زیست‌سنجی، صدمه مکانیکی صید و حمل‌ونقل و هم‌نوع‌خواری و وجود ماهی، خرچنگ و پرنده در مزرعه، شوری و درجه حرارت نامطلوب، صدای هواده، کمبود اکسیژن، pH نامطلوب عوامل استرس‌زایی بودند که با توجه به ویژگی‌های فیزیولوژیک باکتری‌های جداسازی شده مناسب برای رشد و تکثیر و افزایش حدت باکتری و برعکس تحلیل سیستم ایمنی بدن میگوها به‌شمار می‌روند و بروز بیماری ویبریوزیس در استخرها را امکان‌پذیر می‌سازند (Nguyen *et al*., 2021).

بر اساس گزارش‌ها Flegel (2012) اکثر تلفات وارده بر مزارع میگو در تایلند ناشی از عوامل باکتریایی بوده است و در میان باکتری‌های جداسازی شده گونه‌های جنس ویبریو غالب بوده‌اند. میزان مقاومت این باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها بالا است، امّا گونه‌های ویبریو به اکسولوینک اسید، فلمکوئین و سولفونامیدها و کلرامفنیکل کمترین مقاومت را داشتند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های ویبریو جداشده در این مطالعه نیز، نشان داد که اکثر نمونه‌های ویبریو به‌دست آمده به اکسی‌تتراسایکلین وکلرامفنیکل و نیز سفالوتین حساس ولی به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین مقاوم بودند. Moghimi و همکاران (2014) نیز پس از جداسازی و شناسایی دو گونه از باکتری‌های بیماری‌زا از سه مرکز تکثیر میگو در استان بوشهر، گونه‌های باکتری‌های جداسازی شده را در تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین، استرپتومایسین، اکسی‌تتراسایکلین و تری‌میتوپریم به روش انتشار در دیسک مورد آزمایش قرار دادند. نتایج نشان داد که این باکتری‌ها به اکسی‌تتراسایکلین و تری‌متیوپریم حساس و به استرپتومایسین مقاوم بودند. این دو باکتری بیماری‌زای میگو *V. harveyi* و *V. alginolyticus* عامل تلفات میگو در مراکز تکثیر میگوی بوشهر بودند. آنتی‌بیوگرام برای باکتری‌های گرم مثبت به دلیل اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند پنی‌سیلین و وانکومایسین علیه دیواره سلولی این باکتری‌ها غالباً مثبت می‌شود. در ارتباط با مقاومت ویبریوهای جداسازی شده در این تحقیق به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین مطالعات متعدد بیان نموده‌اند که باکتری‌های گرم منفی در برابر برخی آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند که می‌تواند ناشی از وجود دیواره سلولی و سطح هیدروفیلی غشای خارجی غنی از مولکول‌های لیپوپلی‌ساکارید در باکتری‌های گرم منفی باشد (Sanchooli and Rigi, 2015).

در تحقیق مشابهی باکتری‌های ویبریوی جداسازی شده بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نسبت به استرپتومایسین و اریترومایسین نشان دادند (Moghimi *et al*., 2014)؛ بنابراین با توجه به اینکه این دو آنتی‌بیوتیک و آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین در این تحقیق مصرف انسانی و دامی زیادی دارند، به‌نظر می‌رسد ورود باکتری‌های انسانی و دامی مقاوم به این دو آنتی‌بیوتیک از طریق فاضلاب‌ها و روان آب‌ها به دریا و انتقال پلاسمید مقاومت به آنتی‌بیوتیک به ویبریوها می‌تواند عامل مقاومت ویبریوها در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. در مجموع در این تحقیق چهار گونه باکتریایی از جنس ویبریو شامل *V. parahaemolyticus*، *V. anguillarum*، *V. alginolyticus* و

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

V. harveyi و سایر نمونه‌های ویبریوی ناشناخته از میگوهای پرورشی سفید غربی برخی مزارع منطقه دلوار بوشهر جداسازی گردید. به منظور پیشگیری و کنترل بیماری باید نسبت به کاهش عوامل استرس‌زا از طریق تأمین کیفیت مطلوب آب، ضدعفونی لاروها در هنگام ذخیره‌سازی، مواد غذایی کافی و متناسب با گونه پرورشی، تعویض آب مناسب، از بین بردن عوامل مزاحم و شکاری، تراکم مناسب ذخیره‌سازی، کاهش صدمات ناشی از صید به‌منظور حمل‌ونقل و زیست‌سنجی و کاهش صدمات ناشی از هم‌نوع‌خواری از طریق تغذیه مناسب اقدام نمود؛ اما در صورت عدم انجام اقدامات پیشگیری و کنترلی در صورت تشخیص به موقع عفونت‌های ویبریو به ویژه در زمان بروز استرس شدید درمان خوراکی آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین، کلرامفنیکل، سفالوتین و نیتروفورازان فقط در زمانی که میگوها هنوز اشتهای خود را از دست نداده باشند میسر است. البته این مطالعه نشان داد که کنترل عوامل استرس‌زای ارزان قیمت (مانند جلوگیری از ورود ماهیان هرز، عوامل زیستی مزاحم، شکارچی و تأمین غذای کافی و متناسب) حتی از درمان آنتی‌بیوتیکی نیز در پیشگیری از ویبریوزیس اهمیت بیشتری دارد.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم بود. از همکاری و مساعدت دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، آزمایشگاه مرکز آموزش علوم و صنایع شیلاتی خلیج‌فارس بوشهر، اداره کل دامپزشکی استان بوشهر و آزمایشگاه پروفسور قمر سیجام دانشگاه پوترا مالزی در انجام تحقیق و نگارش این مقاله قدردانی می‌گردد.

منابع

Aguirre-Guzmán G., Sánchez-Martínez JG., Pérez-Castañeda R., Palacios-Monzón A, Trujillo-Rodríguez T. and dela Cruz-Hernández NI. 2010. Pathogenicity and infection route of Vibrio parahaemolyticus in American white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Journal of the world aquaculture society, 41(3):464.

Alsina M. and Blanch. 1994. A set of key biochemical identification of environmental *Vibrio* sp. Journal of Applied Bacteriology, 76: 79-85.

Anaya-Rosas RE., Rivas-Vega ME., Miranda-Baeza A., Piña-Valdez P. and Nieves-Soto M. 2019.Effects of a co-culture of marine algae and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on the growth, survival and immune response of shrimp infected with Vibrio parahaemolyticus and white spot virus (WSSV). Fish & shellfish immunology, 87:136-43.

Austin B. and Zhang XH. 2006. Vibrio harveyi: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. Letters in applied microbiology,43(2):119-24.

Avakh Keysami M., Mohammadpour A., Rahanandeh M. and Zoghi Shalmani A.2025. Isolation and identification of bacterial flora in water and sediment of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) culture ponds. World of Microbes, 17(61): 43-49. (In Persian).

Avakh Keysami M., Sharifpour I., Zoughi Shalmani A. and Tizkar B. 2022.Pathogenicity of *vibrio parahaemolitycus* in farmed juvenile white leg shrimp (*Litopeneaeus vannameri*). Journal of Marine Biology, 14 (1):13-22. (In Persian)

Chandrakala N. and Priya S. 2017. Vibriosis in shrimp aquaculture a review. International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology, 3(2):27-33.

Cheng Y., Ge C. and Li W. and Yao H. 2021. The Intestinal Bacterial Community and Functional Potential of *Litopenaeus vannamei* in the Coastal Areas of China. Microorganisms, 9(9):1793. doi: 10.3390/microorganisms 9091793. PMID: 34576689.

Chrisolite B., Thiyagarajan S., Alavandi SV., Abhilash EC., Kalaimani N., Vijayan KK. and Santiago TC. 2008. Distribution of luminescent *Vibrio harveyi* and their bacteriophages in a commercial shrimp hatchery in South India. Aquaculture, 275(1-4):13-9.

Farrokhbin Sh., Taherizadeh M R., Avakh Keysami M. and Kamrani E.2012. Investigation of the benthic fauna of shrimp farming ponds at Delvar site in Bushehr and its relationship with shrimp production. Fisheries (New Technologies in Aquaculture Development, 6(3): 45-54. (In Persian)

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

Flegel TW. 2012. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. Journal of invertebrate pathology, 110(2):166-73.

Goarant C., Reynaud Y., Ansquer D., De Decker S., Saulnier D. and Le Roux F. 2006. Molecular epidemiology of *Vibrio nigripulchritudo*, a pathogen of cultured penaeid shrimp (Litopenaeus stylirostris) in New Caledonia. Systematic and applied microbiology, 29(7):570-80.

Haghighi M. A., Haghighi L A., Nabipour I., Jafari S. M. and Ajron E. 2003. Isolation of Vibrios from the intestine and hepatopancreas of Persian Gulf Penaeus shrimp. Journal of Southern Medicine, 11(2): 112-117. (In Persian)

Hong To TT., Yanagawa H., Khanh Thuan N., Hiep DM., Cuong DV., Khai LT., Taniguchi T., Kubo R. and Hayashidani H. 2020. Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease of shrimp in shrimp, molluscan shellfish and water samples in the Mekong Delta, Vietnam. Biology, 9(10):312. doi: 10.3390/biology9100312. PMID: 32992682 Free PMC article.

Hossain MM., Uddin MI., Islam H., Fardoush J., Rupom MA., Hossain MM., Farjana N., Afroz R., Roy HS., Shehab MA. and Rahman MA.2020. Diagnosis, genetic variations, virulence, and toxicity of AHPND-positive *Vibrio parahaemolyticus* in Penaeus monodon. Aquaculture International, 28(6):2531-46. doi: 10.1007/s10499-020-00607-z. Epub 2020 Sep 28. PMID: 33013009 Free PMC article.

Khimmakthong U. and Sukkarun P. 2017. The spread of *Vibrio parahaemolyticus* in tissues of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* analyzed by PCR and histopathology. Microbial pathogenesis, 113:107-12. doi: 10.1016/j.micpath.2017.

Kolb SA., O'Loughlin EJ. and Gsell TC. 2019. Characterization of phthalate-degrading bacteria from Asian carp microbiomes and riverine sediments. International Biodeterioration & Biodegradation, 143: 104727.

Krummenauer D., Samocha T., Poersch L., Lara G. and Wasielesky Jr W.2014. The reuse of water on the culture of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT system. Journal of the World Aquaculture Society, 45(1):3-14.

Kumar BK., Deekshit VK., Raj JR., Rai P., Shivanagowda BM., Karunasagar I. and Karunasagar I. 2020. Diversity of *Vibrio parahaemolyticus* associated with disease outbreak among cultured *Litopenaeus vannamei* (Pacific white shrimp) in India. Aquaculture, 433:247-51.

Li X., Yu Y., Feng W., Yan Q. and Gong Y.2012. Host species as a strong determinant of the intestinal microbiota of fish larvae. The Journal of Microbiology, 50(1): 29-37.

López-León P., Luna-González A., Escamilla-Montes R., del Carmen Flores-Miranda M., Fierro-Coronado JA., Álvarez-Ruiz P. and Diarte-Plata G. 2016. Isolation and characterization of infectious *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of AHPND, from the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Latin American Journal of Aquatic Research, 44(3):470-9.

Naheed S, Din IU, Qamar MU, Rasool N, Ahmad M, Bilal M, Khalid A, Ahmad G, Al-Hussain SA. and Zaki ME. 2023. Synthesis, anti-bacterial and molecular docking studies of arylated butyl 2-bromoisonicotinate against clinical isolates of ESBL-producing Escherichia coli ST405 and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Infection and Drug Resistance. 31:5295-308.

Lu Y., Yang L., Meng J., Zhao Y., Song Y., Zhu Y., Ou J., Pan Y. and Liu H. 2020. Microevolution of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from clinical, acute hepatopancreatic necrosis disease infecting shrimps, and aquatic production in China. Microbes and environments, 35(2):ME19095. doi: 10.1264/jsme2.ME19095. PMID: 32201414 Free PMC article.

Luo C., Yi C., Ni L. and Guo L. 2017. Characterization of dominant and cellulolytic bacterial communities along the gut of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during cyanobacterial blooms. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 35: 624–633.

Moghimi A., Afsharnasab M., Dashtiannsab A., Mesbah M. and Yeganeh V. 2014. Evaluation of antibiotic resistance among isolated pathogenic bacteria from shrimp hatcheries in Bushehr province. Iran South Med J, 16 (6): 467-478.URL: http://ismj.bpums.ac.ir/article-1-477-fa.html. (In Persian)

Nguyen TV., Alfaro A., Arroyo BB., Leon JA. and Sonnenholzner S. 2021. Metabolic responses of penaeid shrimp to acute hepatopancreatic necrosis disease caused by *Vibrio parahaemolyticus*. Aquaculture, 533:736174.

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

Rahman S., Khan SN., Naser MN. and Karim MM.2010. Isolation of Vibrio spp. From penaeid shrimp hatcheries and coastal waters of cox's bazar, Bangladesh. Asian J. Exp. Biol. Sci.,1(2):288-93.

Sanchooli N. and Rigi M. 2015. The effect of plant extracts *Prosopis farcta*, *Datura stramunium* and *Calotropis procera* against three species of fish pathogenic bacteria. J Vet Res., 70(4): 455-462. (In Persian)

Soltani M., Kakulki Sh. and Avakh Keysami, M. 2000. Isolation and identification of dominant Vibrio species in farmed shrimp from a number of Bushehr Halle shrimp farming farm, Journal of Veterinary Research, 55(2): 29-32. (In Persian)

Soto-Rodriguez SA., Gomez-Gil B., Lozano-Olvera R., Betancourt-Lozano M. and Morales-Covarrubias MS. 2015. Field and experimental evidence of *Vibrio parahaemolyticus* as the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease of cultured shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico. Applied and environmental microbiology, 81(5):1689-99. Doi: 10.1128/AEM.03610-14. Epub 2014 Dec 29.

Zhang X., Song X. and Huang J.2016. Impact of *Vibrio parahaemolyticus* and white spot syndrome virus (WSSV) co-infection on survival of penaeid shrimp Litopenaeus vannamei. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 34(6):1278-86.

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]

Isolation and Evaluation of Vibrio Bacteria from Some Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Farms in the Delvar Bushehr Site

Mehran Avakh Keysami [1*]
Abbasali Rezaian[2]
Maryam Moghateli[3]

1. Department of Fisheries and Aquatics, Agricultural Research and Education Center and Natural Resources of Guilan Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran.
2. Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran.
3. Department of Aquatic Quality Control, General Veterinary Directorate of Bushehr Province, Bushehr, Iran.

[*]**Corresponding author:**
dr.keysami@gmail.com

Received date: **September/22/ 2025**
Accepted date: **December/15/2025**

Abstract

Vibrio species cause significant losses and damages, ranging from 50% to 100%, in shrimp farming facilities. Following the observation of certain disease symptoms and mortalities in cultured shrimp in the Delvar region of Bushehr, an investigation was conducted to isolate and evaluate Vibrio bacterial agents in the Whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured in this area. Sampling was performed on 300 Whiteleg shrimp. After microbial culture on general and selective media (TCBS, TSA), Vibrio species were isolated and identified using specific biochemical tests. The vibriostatic test (O/ 0.129) was conducted to differentiate the Vibrio genus from Aeromonas and many other Gram-negative species. The antibiogram test was performed using the disk diffusion method with disks containing specified amounts of the antibiotics Penicillin, Ampicillin, Oxytetracycline, Chloramphenicol, and Cephalothin. The physiological characteristics of the isolated bacteria were determined by examining the effects of temperature, salinity, and pH on their growth.Out of the 179 Vibrio sp. bacteria isolated from the cultured Whiteleg shrimp, 56 isolates were *Vibrio parahaemolyticus*, 48 were *V. harveyi*, 31 were *V. alginolyticus*, 21 were V. anguillarum, and 23 were related to other Vibrio spp. The results of the antibiogram test for the isolated bacterial species against the five antibiotics showed that the isolated bacteria were sensitive to Chloramphenicol, with inhibition zone diameters of 21.2 ± 0.3 to 26.4 ± 0.1 mm, Oxytetracycline, with diameters of 11.95 ± 0.1 to 13.85 ± 0.2 mm, and Cephalothin, with diameters of 9.56 ± 0.3 to 12.4 ± 0.1 mm, while they were resistant to Ampicillin and Penicillin. Since the physiological characteristics of the islated bacteria were consistent with the physicochemical conditions of the sampled farms, these bacteria, which are part of the shrimp's natural flora, become opportunistic and secondary pathogens in the presence of stress and compromised immune systems. They play a significant role in reducing cultured shrimp production. Therefore, in addition to reducing stressors for disease prevention and control, the effective antibiotics identified in this study can be used as potential therapeutic options, following definitive diagnosis and under veterinary supervision.

Keywords: Vibrio, Whiteleg shrimp, Delvar Bushehr, Antibiogram.

[Downloaded from jweb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-26]