مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

شناسایی و آنالیز فیلوژنتیکی سویه های *Vibrio harveyi* جداشده از میگو های پرورشی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) – منطقه تیاب– هرمزگان

محمد رضا صادقی[۱]، سعید تمدنی جهرمی[۱]، امیرهوشنگ بحری[۲]، محسن گذری*[۱]

[۱]پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

[۲] دانشکده منابع طبیعی ، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس ، بندرعباس

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۴/۱۱/۱۵
اصلاح: ۹۵/۰۸/۲۳
پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۴

کلمات کلیدی:
آنالیز فیلوژنتیک
شناسایی ژنتیکی
هپاتوپانکراس
Vibrio harveyi

چکیده

در مطالعه حاضر باکتری‌های *Vibrio harveyi* از هپاتوپانکراس میگوهای پرورشی سفید غربی *Litopenaeus vannamei* جمع آوری شده از منطقه تیاب جداسازی و شناسایی گردیدند. نمونه های میگو از دو مزرعه شامل ۵ استخر در سایت‌های تیاب شمالی و جنوبی جمع آوری شدند. مرحله جداسازی با رقیق سازی و تلقیح نمونه های هپاتوپانکراس با استفاده از محیط تیوسولفات سیترات بایل سوکروز آگار انجام گرفت. پس از خالص سازی، شناسایی فنوتیپی ایزوله های به دست آمده بر اساس خصوصیات مورفولوژیک، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک انجام شد. به دنبال آن ۵ سویه منتخب *Vibrio harveyi* پس از استخراج DNA و تکثیر ژن 16S rRNA مورد شناسایی ژنتیکی قرار گرفتند. مقایسه توالی ژن 16S rRNA تکثیر شده از جدایه های منتخب با توالی های ثبت شده در بانک ژن NCBI با استفاده از نرم افزار Megablast ضمن تایید تعلق سویه های جدا شده به *Vibrio harveyi* بیانگر تشابه بالای سویه های جدا شده با سویه *Vibrio harveyi* ATCC BAA-1116 بود. مطالعات آنالیز فیلوژنتیک با استفاده از نرم افزار MEGA6 بر اساس روش Neighbour Joining نشان داد سویه های مورد بررسی دارای منشا منوفیلتیک یکسانی بودند. نتایج این مطالعه حضور گونه های *Vibrio harveyi* در هپاتوپانکراس میگوهای پرورشی سفید غربی منطقه تیاب را تایید نمود.

مقدمــه

صنعت پرورش میگو یکی از مهم ترین فعالیت های آبزی پروری در ایران و جهان است که با سرعتی شتابان در حال توسعه می باشد. این صنعت نقش مهمی در تامین امنیت و تنوع مواد غذایی دارد. از میان نژادهای مختلف میگو گونه سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) به دلیل ویژگیهایی مانند مقاومت به بیماری ها و رشد سریع، گونه غالب میگوی پرورشی در ایران و جهان محسوب می شود (Briggs *et al.*, 2004). بزرگترین چالش توسعه صنعت پرورش میگو بیماریهای میکروبی می باشد که خسارات متعددی را در کشورهای تولید کننده ایجاد نموده اند (Valderrama and Anderson, 2011). بیماری ویبریوزیس

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: m_gozari@yahoo.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.6.3]

از مهمترین بیماریهای باکتریایی آبزیان می باشد که عمدتا توسط باکتریهای متعلق به جنس *Vibrio* ایجاد می‌شود (Thitamadee *et al.*, 2016). شیوع این بیماری باعث ایجاد تلفات گسترده ای در استخرهای تکثیر و پرورش میگو در سرتاسر دنیا گردیده است (Won and Park, 2008). اخیرا حضور گونه های ویبریو و در مواردی شیوع بیماری ویبریوزیس در استخرهای تکثیر و پرورش میگو در جنوب ایران طی چندین مطالعه گزارش شده است (Gozari, 2010; Gozari *et al.*, 2016; Mirbakhsh, 2014Soltani *et al.*, 2000;). باکتریهای خانواده *Vibrionaceae* باکتریهای گرم منفی ، بی هوازی اختیاری می باشند که در محیط های دریایی حضور گسترده ای دارند. این گروه از باکتریها تقریباً تمام مراحل پرورش میگو از مرحله لاروی تا بلوغ را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Carson *et al.*, 2008). از عوامل اصلی بیماری ویبریوز می توان به *Vibrio harveyi*، *V. parahaemolyticus V. alginolyticus, V. anguillarum* اشاره نمود (Rattanama *et al.*, 2009). در میان گونه های مذکور *V. harveyi* به عنوان یک بیماریزای فرصت طلب در صنعت آبزی پروری محسوب می شود (Cheng *et al.*, 2010). گونه های بیماریزای این باکتری بوسیله عواملی شامل اگزوتوکسین، همولیزین،پروتئاز، فسفولیپاز، ماده شبه باکتریوسین و سیستم کروم سنسینگ در بیماریزایی نقش ایفا می نمایند (Defoirdt *et al.*, 2008). شناسایی گونه های ویبریو جداشده از محیط آبزی پروری با روشهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک فرایندی وقت گیر و فاقد دقت کافی می باشد (Vandenberghe *et al.*, 2003). بدلیل پیچیدگی و گستردگی خانواده ویبریوناسه تاکسونومی آن همواره با مشکلاتی همراه بوده است. با ظهور روشهای ژنتیک ملکولی تحول شگرفی در این زمینه ایجاد گردید. این روشها تکرارپذیری بالاتری نسبت به آزمون‌های فنوتیپی دارند و با تشخیص اختلاف توالی نوکلئوتیدی ژن مورد نظر ارزیابی دقیقی از ماهیت و تاکسونومی گونه فراهم می نمایند(Persing *et al.*, 2016). آنالیز توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA از روشهای ژنتیکی شناسایی ژنتیکی باکتریها می باشد (Srinivasan *et al.*, 2015). با توجه به حضور نواحی حفاظت شده بر روی این ژن می توان علاوه بر شناسایی دقیق سویه های ویبریو مطالعات تکاملی را نیز صورت داد(Kumar *et al.*, 2007). همچنین این تکنیک در ارتباط با شناسایی باکتری‌های غیرقابل کشت نیز مورد استفاده قرار می گیرد(DeSantis *et al.*, 2006). هدف از این مطالعه جداسازی و شناسایی ژنتیکی سویه های *Vibrio harveyi* از میگوهای پرورشی سفید غربی سایت تیاب استان هرمزگان و بررسی رابطه فیلوژنتیک این سویه ها با سویه های بیماریزا بود.

مواد و روش‌ها

از دو مزرعه پرورش میگو شامل ۵ استخر در سایت های تیاب شمالی و جنوبی شهرستان میناب در شهریورماه و مهر ماه ۱۳۹۱ نمونه برداری انجام شد. از هر استخر پرورش تعداد ۱۰ نمونه میگو دارای برخی علائم ظاهری بیماری ویبریوزیس شامل رشد کم، وجود لکه های سیاه روی کوتیکول و شنای نامنظم با استفاده از سینی غذا دهی جمع آوری شد و به صورت زنده به آزمایشگاه منتقل گردید (Austin *et al.*, 2012). از هپاتوپانکراس میگوهای جمع آوری شده با استفاده از سواپ استریل نمونه گیری انجام شد و پس از تهیه سریال رقت در محیط کشت TCBS تلقیح گردید. محیط کشت های تلقیح شده به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ^{oc} ۳۰ گرماگذاری گردیدند (Thompson *et al.*, 2006). از هر نمونه ده کلونی انتخاب شد و بر روی محیط آگار مغذی حاوی دو درصد کلرید سدیم کشت و خالص سازی گردیدند. ایزوله های خالص شده بر اساس ویژگی های مورفولوژیک میکروسکوپی و ماکروسکوپی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک متداول مورد شناسایی قرار گرفتند. آزمونهای بیوشیمیایی شامل مصرف منابع کربن و نیتروژن و تولید انزیم های ژلاتیناز، اکسیداز، کاتالاز، ردوکتاز و آزمون IMVIC انجام شد. همچنین ازمونهای فیزیولوژیک رشد در دما و شوری های متفاوت انجام گرفت(Brenner *et al.*, 2005). بر اساس نتایج بدست آمده ۵ سویه متعلق به *V. harveyi* از نمونه های مختلف جهت شناسایی ملکولی انتخاب شدند. سویه های منتخب در محیط کشت آب پپتونه قلیایی حاوی دو درصد کلرید سدیم تلقیح شده و پس از گرماگذاری به مدت ۱۸ ساعت در ^{oc} ۳۰ به تیوب ml ۱/۵ منتقل شده و با دور rpm ۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس مایع رویی خارج شده و به بیومس ته نشین شده µl ۱۰۰ آب مقطر استریل افزوده شد و ۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد. به دنبال آن سوسپانسیون موجود با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و مایع رویی به میکروتیوب جدید انتقال یافت (Hara-Kudo *et al.*, 2003). کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز مورد بررسی قرار گرفت. تکثیر

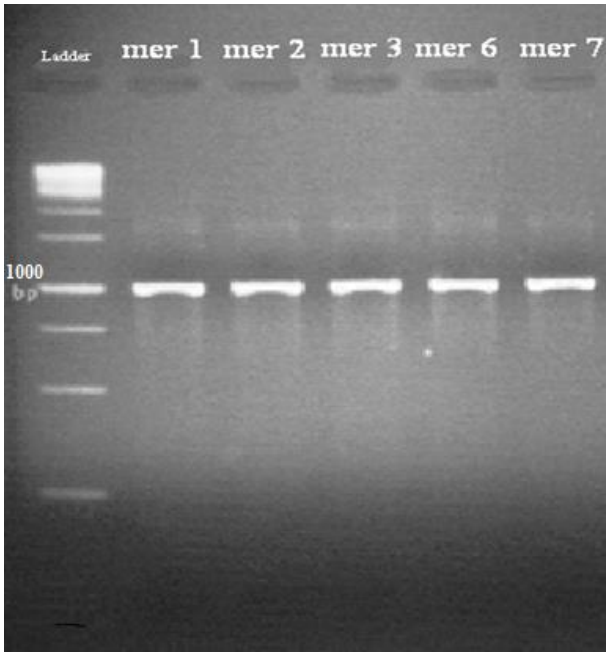
[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.6.3]

ژن 16S rRNA سویه های منتخب به وسیله واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از یک جفت پرایمر عمومی باکتریها به نام‌های TEHF (5'-CAGCAGCCGCGGTAA- 3') و TEHR (5'- ACGGTTACCTTGTTACGACTTC-3') انجام شد(Sadighian and Pourmand, 2009). ترکیب واکنش PCR شامل ۳ µl کلرید منیزیم ۵۰ mM ، ۵ µl کلرید منیزیم ۱۰ X ،۰,۵ µl dNTPs ۰,۳، ۲۰ mM Taq ۵ u/µl پلیمراز پس از رساندن حجم به۵۰ µl به میزان ۱۰۰ ng DNA الگو افزوده شد. شرایط واکنش PCR شامل واسرشت سازی اولیه بمدت ۴ دقیقه در ۹۴ °c بدنبال آن ۳۰ چرخه شامل واسرشت سازی ۹۴ °c بمدت ۴۵ ثانیه، اتصال آغازگرها ۶۰ °c بمدت ۳۰ ثانیه ، گسترش ۷۲ °c بمدت ۹۰ دقیقه و گسترش نهایی ۷۲ °c بمدت ۵ دقیقه بود. توالی تکثیر شده ژن 16S rRNA بعد از ارزیابی کیفی توسط الکتروفورز ژل آگاروز جهت تعیین توالی با روش Dideoxynucleotide chain termination به شرکت Promega کره جنوبی ارسال گردید. میزان تطابق توالی های بدست آمده با استفاده از نرم افزار Megablast با سایر توالی های ثبت شده در بانک ژن NCBI مورد آنالیز قرار گرفت. توالی های ژن 16S rRNA پس از همتراز شدن با استفاده از نرم افزار MEGA 6 مورد آنالیز قرار گرفت و درخت فیلوژنتیک بر اساس مدل از روش اتصال مجاور (Neighbour Joining) رسم گردید (Tamura *et al.*, 2013).

نتایـج

بدنبال جداسازی و خالص سازی ایزوله های جدا شده شناسایی ایزوله های منتخب بر اساس روشهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مورفولوژیک انجام شد. نتایج نشان داد سویه های *V. harveyi* قادر به تولید آنزیم لیزین دکربوکسیلاز و اورنیتین دکربوکسیلاز بوده در حالیکه آنزیم آرژینین دهیدرولاز را تولید نکردند. تخمیر قندهای گلوکز، سوکروز و مانیتول از دیگر خصوصیات شاخص این سویه ها بود. این ایزوله ها قادر به احیا نیترات بوده و در غلظت ۸ درصد کلرید سدیم رشد نمودند (جدول ۱). بقیه آزمون های انجام شده با اعضای جنس ویبریو کاملا منطبق بود. بر اساس نتایج بدست آمده ۵ سویه متعلق به *V. harveyi* از نمونه های استخرهای مختلف جهت شناسایی ژنتیکی بر اساس توالی ژن 16S rRNA انتخاب گردیدند. بدنبال استخراج DNA ژنومی و تکثیر ژن 16S rRNA با استفاده از واکنش نجیره ای پلیمراز توالی حدود 1Kbp تولید شد (شکل ۱). توالی های ژن مزبور با شماره های دستیابی KF154982، KF154983، KF154987 ، KC631410 و KF154986در بانک ژن NCBI ثبت گردید. بررسی میزان تطابق ژنتیکی ژن های تکثیر شده با سویه های موجود در بانک ژن NCBI بیانگر تشابه بالای سویه های بومی جدا شده با سویه های ثبت شده بیماریزا بود (جدول ۲). به منظور درک رابطه فیلوژنتیک سویه های موجود با سایر سویه های ثبت شده در بانک ژن درخت فیلوژنتیک و جدول فاصله ژنتیکی ترسیم گردید (شکل ۲).



شکل ۱. الکتروفورز محصولات PCR حاصل از تکثیر ژن 16S rRNA سویه های منتخب *V. harveyi* . در چاهک اول ladder بارگذاری شده است.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.6.3]

جدول ۱. ویژگیهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ایزوله های *V. harveyi*

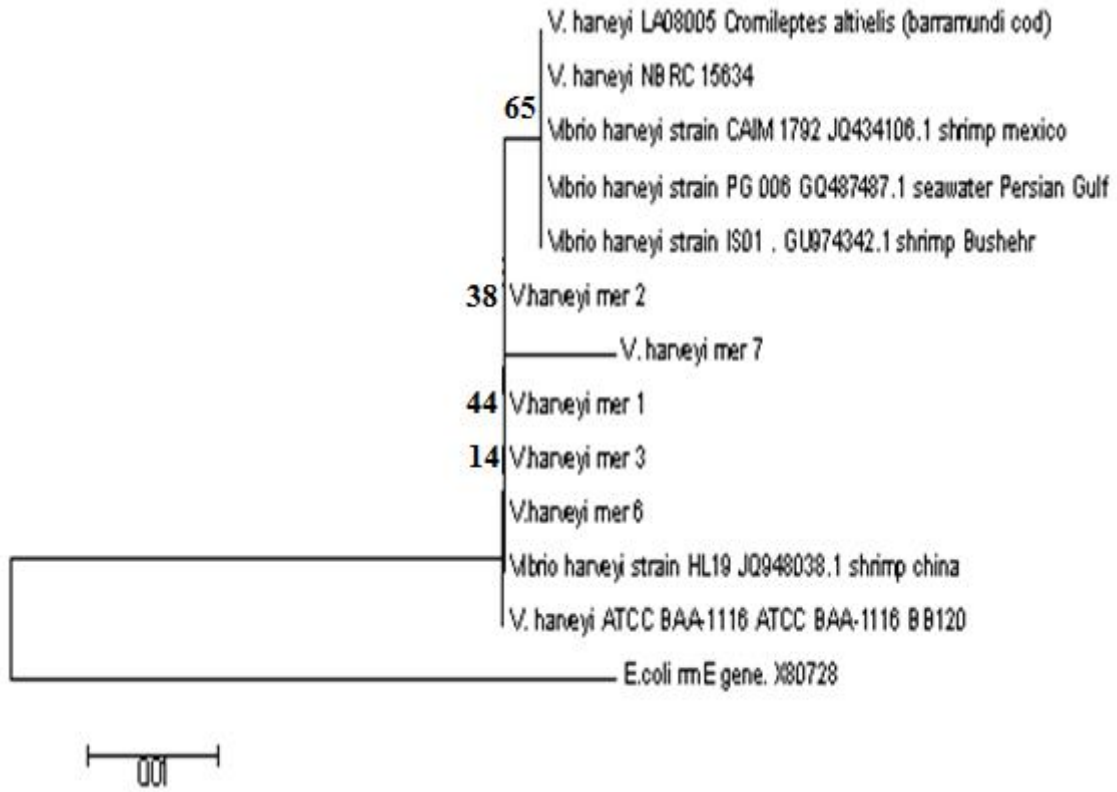
مشخصه	نتیجه	مشخصه	نتیجه
واکنش گرم	-	اورنیتین دکربوکسیلاز	+
شکل میکروسکوپی	میله ای خمیده	لیزین دکربوکسیلاز	+
رنگ کلونی در TCBS	سبز	تخمیر قندهای:	
حرکت	+	سوکروز	+
اکسیداز	+	لاکتوز	-
اکسیداسیون تخمیر	+/+	گلوکز	+
کاتالاز	+	آرابینوز	-
متیل رد	+	مانیتول	+
اندول	+	رشد در حضور کلرید سدیم	
سولفید هیدروژن	-	٪۰	-
اوره آز	-	٪۳	+
احیا نیترات	+	٪۶	+
وژ-پروسکوئر	-	٪۸	+
ONPG	-	رشد در دمای:	
ژلاتین	+	۲۰ °C	+
سیترات	+	۳۰ °C	+
آرژینین دهیدرولاز	-	۴۰ °C	+

جدول ۲ . میزان ترادف ژن 16S rRNA سویه های منتخب با نزدیک ترین گونه موجود در NCBI

نام سویه	درصد تشابه	نزدیک ترین سویه
Mer 1	100%	*Vibrio harveyi* ATCC BAA-1116
Mer 2	99%	*Vibrio harveyi* ATCC BAA-1116
Mer 3	99%	*Vibrio harveyi* ATCC BAA-1116
Mer 6	99%	*Vibrio harveyi* ATCC BAA-1116
Mer 7	99%	*Vibrio harveyi* ATCC BAA-1116

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.6.3]



شکل ۲. درخت فیلوژنی براساس آنالیز توالی ژن 16S rRNA با استفاده از روش Neighbour-joining بر طبق فواصل تکاملی ایجاد شده است. توالی *E. coli* نیز به عنوان گروه بیرونی مورد استفاده قرار گرفت. اعداد نشان داده شده در کنار گره ها بیانگر میزان Bootstrap است. نوار مقیاس بیانگر جایگزینی یک نوکلئوتید در ۱۰۰ نوکلئوتید می باشد.

بحث

پایش های دوره ای و شناسایی عوامل بیماریزا بخش مهمی از مدیریت بهینه آبزی پروری می باشد. در این میان شناسایی باکتری های ویبریو بویژه *V. Harveyi* به دلیل احتمال ایجاد بیماری در آبزیان پرورشی از اهمیت فوق العاده ای برخوردار است. علیرغم اهمیت روشهای فنوتیپی در شناسایی باکتریهای ویبریو این روشها وقت گیر بوده و بدلیل عدم دقت مناسب تایید نتایج آنها با روشهای ملکولی ضروری می باشد (Gopal *et al.*, 2005). در این مطالعه ژن 16S rRNA به عنوان عمومی ترین مارکر ژنتیکی حفاظت شده در شناسایی ملکولی و آنالیز فیلوژنتیک باکتری ها مورد آنالیز قرارگرفت. حفاظت شدگی یا واگرایی در توالی این ژن، بازتاب روند تکامل باکتری مورد مطالعه است (Janda and Abbott, 2007). نتایج آزمون‌های فنوتیپی در مطالعه حاضر بیانگر تعلق تمامی سویه های مورد بررسی به گونه *V. harveyi* بود (جدول ۱). تطابق توالی ژن 16S rRNA سویه های بدست آمده با سویه های موجود در بانک ژن NCBI بیانگر تشابه ۹۹ تا ۱۰۰ درصدی آنها با سویه *V. harveyi* ATCC BAA-1116 بود (جدول۲). بررسی دقیق تر نشان داد سویه مذکور یک سویه بیماریزای فرصت طلب بوده که از محیط آبی جداسازی شده است. نتایج یک مطالعه در استخرهای پرورش میگو در تایلند نشان داد در ۸۳ ٪ میگوهای پرورشی مورد بررسی دو گونه *V. harveyi V. parahaemolyticus* به عنوان عامل فرصت طلب عامل مرگ و میر میگوهای پرورشی بودند (Fulks and Main, 1992). در مطالعه دیگری حضور *V. harveyi* در لاروهای میگوی سفید غربی در هچری متعلق به مرکز تحقیقات میگوی ایران واقع در بوشهر بر اساس آنالیز ژن 16S rRNA تایید گردید (Mirbakhsh *et al.*, 2014). از عوامل اصلی انتشار *V. harveyi* در مزارع تکثیر و پرورش میگو بالا بودن میزان شوری آب می باشد. عامل شوری نسبت به عواملی چون اکسیژن، درجه حرارت و pH نقش بیشتری در انتشار این باکتری دارد

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.6.3]

(Sivasankar, 1995). بنابراین پیش بینی می شود با توجه به شوری کمتر آب در منطقه تیاب نسبت به استان بوشهر *V. harveyi* انتشار کمتری داشته باشد (Akbar Zadeh *et al.*, 2004; Kianersi *et al.*, 2013). آنالیز فیلوژنتیک توالی ژن 16S rRNA سویه های ویبریو جداشده با استفاده از روش اتصال مجاور (Neighbour Joining) و رسم درخت فیلوژنتیک نشان داد سویه های جدا شده در این مطالعه و سویه های جدا شده از میگو در چین و سویه بیماریزای *V. harveyi* ATCC BAA-1116 در یک کلاستر قرار گرفته و منشاء منوفیلتیک یکسان دارند در نتیجه جهش ها و ایندل های زیادی را متحمل نشده اند. این در حالیست که سویه های جدا شده از لارو های هچری بوشهر و جدا شده از خلیج قارس در یک کلاستر جداگانه قرار گرفته اند اگرچه هر دو کلاستر دارای یک جد مشترک می باشند. در میان سویه های جدا شده در این تحقیق سویه *V. harveyi* mer 7 نسبت به سایر سویه ها فاصله ژنتیکی بیشتر و قدمت تکاملی کمتری دارد. فواصل ژنتیکی بین سویه های مختلف موجود در درخت فیلوژنتیک حاضر بدلیل وجود جهش در ژن 16S rRNA می باشد. تغییر پذیری و انعطاف در میان ژنوم گونه های ویبریو می تواند بدلیل پدیده انتقال افقی ژنها باشد. این پدیده با ایجاد تنوع در جمعیت ویبریوها باعث سازش آنها با تغییرات اقلیمی محیط و ایجاد روابط اکولوژیک گسترده می‌گردد (Hazen *et al.*, 2010; Lipp *et al.*, 2002). در این مطالعه حضور گونه های *V. harveyi* از هپاتوپانکراس میگوی سفید غربی پرورشی از منطقه تیاب با آنالیز توالی ژن 16S rRNA تایید گردید. قرابت فیلوژنتیک سویه های جدا شده در مطالعه حاضر با سویه های بیماریزای ویبریو می تواند پیش آگهی جدی برای صنعت پرورش میگو در منطقه تیاب باشد. بنابراین استفاده از فراورده های تنظیم کننده فلور باکتریایی سیستم گوارشی میگوهای پرورشی از قبیل پروبیوتیک ها در کنار رعایت ملاجظات بهداشتی پیشنهاد می گردد.

منابـع

Akbar Zadeh, G., Ejlali, K., Ruhani, K., Malakuti, M., Aqajari, N., Jukar, K., Saraji, F., Salimi Zadeh, M., Mortazavi, M.S., Rostami, D. 2004. A survey on environmental effects of shrimp pondculture effluents in Tiab area (Hormozgan Province).

Austin, B., Austin, D.A., Austin, B., Austin, D.A. 2012. Bacterial fish pathogens. Springer.

Brenner, D.J., Krieg, N., Staley, J. 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol 2: The Proteobacteria. NY: Springer.

Briggs, M., Funge-Smith, S., Subasinghe, R., Phillips, M. 2004. Introductions and movement of Penaeus vannamei and Penaeus stylirostris in Asia and the Pacific. RAP publication. 10: 92.

Carson, J., Higgins, M., Wilson, T., Gudkovs, N., Bryant, T. 2008. Identification of Vibrionaceae from Australian aquatic animals using phenotypic and PCR procedures. Australian New Zealand Standard Diagnostic Procedures. Sub-Committee on Animal Health Laboratory Standards. Published by: Commonwealth of Australia, Canberra.

Cheng, S., Zhang, W.-w., Zhang, M., Sun, L. 2010. Evaluation of the vaccine potential of a cytotoxic protease and a protective immunogen from a pathogenic Vibrio harveyi strain. Vaccine. 28(4): 1041-1047.

Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W., Bossier, P. 2008. Quorum sensing and quorum quenching in Vibrio harveyi: lessons learned from in vivo work. The ISME journal. 2(1): 19-26.

DeSantis, T.Z., Hugenholtz, P., Larsen, N., Rojas, M., Brodie, E.L., Keller, K., Huber, T., Dalevi, D., Hu, P., Andersen, G.L. 2006. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. Applied and environmental microbiology. 72(7): 5069-5072.

Fulks, W., Main, K.L. 1992. Diseases of cultured penaeid shrimp in Asia and the United States. Oceanic Institute.

Gopal, S., Otta, S.K., Kumar, S., Karunasagar, I., Nishibuchi, M., Karunasagar, I. 2005. The occurrence of Vibrio species in tropical shrimp culture environments; implications for food safety. International Journal of Food Microbiology. 102(2): 151-159.

Gozari, M. 2010. isolation and identification of dominant Vibrio species in farmed prawn of Tiab Port-Hormozgan province-Iran. 1st Mediterranean Microbiology Congress.

Gozari, M., Mortazavi, M., Bahador, N., Rabbaniha, M. 2016. Isolation and screening of antibacterial and enzyme producing marine actinobacteria to approach probiotics against some pathogenic vibrios in shrimp Litopenaeus vannamei. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 15(2): 630-644.

Hara-Kudo, Y., Sugiyama, K., Nishibuchi, M., Chowdhury, A., Yatsuyanagi, J., Ohtomo, Y., Saito, A., Nagano, H., Nishina, T., Nakagawa, H. 2003. Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.6.3]

producing Vibrio parahaemolyticus O3: K6 in seafood and the coastal environment in Japan. Applied and Environmental Microbiology. 69(7): 3883-3891.
Hazen, T.H., Pan, L., Gu, J.-D., Sobecky, P.A. 2010. The contribution of mobile genetic elements to the evolution and ecology of Vibrios. FEMS Microbiology Ecology. 74(3): 485-499.
Janda, J.M., Abbott, S.L. 2007. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. Journal of clinical microbiology. 45(9): 2761-2764.
Kianersi, F., Mazravei, M., Dehghan, S., Zarshenas, G., Farokhi Moghadam, S. 2013. Changes in some physical and chemical parameters of shrimp (Litopenaeus vannamei) farms in Bahmanshir River and outlet of farms. ISFJ. 21(2): 115-124.
Kumar, S., George, M.R., John, K.R., Jeyaseelan, M.P. 2007. Molecular typing of bacteria Vibrio harveyi and V. alginolyticus from shrimp farming systems. Indian Journal of Marine Sciences. 36(1): 43-50.
Lipp, E.K., Huq, A., Colwell, R.R. 2002. Effects of global climate on infectious disease: the cholera model. Clinical microbiology reviews. 15(4): 757-770.
Mirbakhsh, M. 2014. Molecular Identification of Vibrio harveyi From Larval Stage of Pacific White Shrimp (Litopenaeus vannamei) Boone (Crustacea: Decapoda) By Polymerase Chain Reaction and 16S rDNA Sequencing. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 13(2): 384-393.
Persing, D.H., Tenover, F.C., Hayden, R., Ieven, M., Miller, M., Nolte, F., Tang, Y.-W., Belkum, A.v. 2016. Molecular microbiology: diagnostic principles and practice. American Society for Microbiology (ASM).
Rattanama, P., Srinitiwarawong, K., Thompson, J.R., Pomwised, R., Supamattaya, K., Vuddhakul, V. 2009. Shrimp pathogenicity, hemolysis, and the presence of hemolysin and TTSS genes in Vibrio harveyi isolated from Thailand. Diseases of Aquatic Organisms. 86(2): 113-122.
Sadighian, H., Pourmand, M. 2009. Molecular Detection of Common Bacterial Pathogens Causing Meningitis. Iranian Journal of Public Health. 38(1): 60-68.
Sivasankar, N., Jayabalan,N. 1995. Distribution of lumniscent bacterium Vibrio harveyi in Netravathi Estuary,Mangalore. Journal of the Marine Biological Association of India. 36(1-2): 251-259.
Soltani, M., Kakoolaki, S., Kisami, M. 2000. Isolation and identification of dominant Vibrio species in farmed prawn of Heleh station, Bushehr. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. 55(2): 29-32.
Srinivasan, R., Karaoz, U., Volegova, M., MacKichan, J., Kato-Maeda, M., Miller, S., Nadarajan, R., Brodie, E.L., Lynch, S.V. 2015. Use of 16S rRNA gene for identification of a broad range of clinically relevant bacterial pathogens. PloS one. 10(2): e0117617.
Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular biology and evolution. 30(12): 2725-2729.
Thitamadee, S., Prachumwat, A., Srisala, J., Jaroenlak, P., Salachan, P.V., Sritunyalucksana, K., Flegel, T.W., Itsathitphaisarn, O. 2016. Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. Aquaculture. 452: 69-87.
Thompson, F.L., Austin, B., Swings, J. 2006. The biology of vibrios. ASM press.
Valderrama, D., Anderson, J.L. 2011. Shrimp production review. Food and Resource Economics Department, University of Florida, USA.
Vandenberghe, J., Thompson, F.L., Gomez-Gil, B., Swings, J. 2003. Phenotypic diversity amongst Vibrio isolates from marine aquaculture systems. Aquaculture. 219(1): 9-20.
Won, K.M., Park, S.I. 2008. Pathogenicity of Vibrio harveyi to cultured marine fishes in Korea. Aquaculture. 285(1): 8-13.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.6.3]