

تأثیر پرورش توام میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) و ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) بر تنوع و شیوع گونه‌های باکتری جنس ویبریو در مزارع پرورش میگو

سید حسین حسینی آغوزبنی^۱، سعید حاجی رضائی*^۲

۱- بخش آبی پروری، مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور، چابهار، ایران، صندوق پستی: ۴۱۷۸

۲- گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، صندوق پستی: ۴۳۱۴-۳۱۵۸۵

تاریخ پذیرش: ۱۱ دی ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۹ شهریور ۱۳۹۳

چکیده

تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر پرورش توام میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) و ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) بر تنوع و شیوع باکتری‌های بیماری‌زای جنس ویبریو در استخرهای خاکی پرورش میگو طی چهار ماه پرورش انجام شد. بدین منظور تعداد نه استخر ۶۰۰ متر مربعی در قالب سه تیمار پرورشی و هر کدام با سه تکرار آماده‌سازی، آبیگری و با تراکم ۲۰ پست لارو (میانگین وزنی 0.01 ± 0.007 گرم) در هر متر مربع ذخیره‌سازی شدند. چهل روز پس از ذخیره‌سازی میگو، بچه ماهیان کفال خاکستری (میانگین وزنی $5/5 \pm 35$ گرم) با تراکم‌های ۰ قطعه (گروه کنترل)، ۲ قطعه (تیمار ۱) و ۴ قطعه (تیمار ۲) در هر ۱۰۰ متر مربع استخرها رهاسازی شدند. جهت شناسایی آلودگی باکتریایی، هر ماه از هر استخر ۱۰ قطعه میگو به صورت تصادفی صید و سپس توسط ظروف استریل همراه با هواده به صورت زنده به آزمایشگاه مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور منتقل شدند. در آزمایشگاه از بافت‌های آبشش، هپاتوپانکراس و همولف نمونه‌برداری و نمونه‌ها در محیط‌های کشت مخصوص کشت شدند. طبق نتایج کشت باکتریایی، در مجموع شش گونه ویبریو شامل ویبریو آلیجینولیتیکوس (*Vibrio alginoliticus*)، ویبریو فلویالیس (*Vibrio fluvialis*)، ویبریو کاستیکولا (*Vibrio costicula*)، ویبریو اسپلندیدوس (*Vibrio splendidus*)، ویبریو نرتس (*Vibrio nerets*)، ویبریو ناتریجنز (*Vibrio natrigenes*) شناسایی شدند. درصد شیوع آلودگی باکتریایی در میگوهای تیمار ۱ (۲/۴۶٪) و ۲ (۳/۷٪) به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل (۲۳/۴۷٪) بود ($P < 0.05$). همچنین گونه‌های ویبریو شناسایی شده در هر گروه آزمایشی عبارت بودند از: (گروه کنترل): ویبریو آلیجینولیتیکوس، ویبریو فلویالیس، ویبریو کاستیکولا، ویبریو اسپلندیدوس، ویبریو نرتس، ویبریو ناتریجنز، (تیمار ۱): ویبریو آلیجینولیتیکوس، ویبریو فلویالیس (تیمار ۲): ویبریو ناتریجنز. در مجموع نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که ماهی کفال خاکستری به عنوان یک گونه پرورشی ثانویه می‌تواند تأثیر مثبتی در کنترل بیماری‌های ناشی از باکتری ویبریو میگوی سفید غربی داشته باشد. احتمالاً این تأثیر به صورت غیرمستقیم و از طریق کاهش بار مواد آلی آب و بهبود کیفیت آب محیط پرورش می‌باشد.

کلمات کلیدی: پرورش توام، میگوی سفید غربی، کفال خاکستری، باکتری ویبریو.

مقدمه

در طول دهه اخیر، صنعت پرورش میگو به سرعت در سراسر جهان گسترش یافته است ولی با این حال، وجود برخی مشکلات و مسائل نظیر همه گیری انواع بیماری‌ها، هزینه‌های بالای تولید، نوسانات قیمتی بازار و تاثیرات زیست-محیطی، این صنعت را با محدودیت‌هایی مواجه کرده است. عموماً محیط پرورش میگو به خصوص در سیستم‌های متراکم، محیطی غنی از مواد مغذی بوده که این محیط برای رشد و تکثیر انواع عوامل بیماری‌زا بخصوص باکتری‌ها بسیار مساعد می‌باشد (Thomas *et al.*, 2011; Iwanowicz, 2010). برخی مطالعات نشان داده‌اند که پرورش توام میگو با برخی گونه‌های ماهی مانند خرگوش ماهی طلایی، تیلایپای قرمز، می‌تواند به عنوان یک راه کار ساده و کارآ برای کاهش مشکلاتی نظیر پایین بودن کیفیت آب و بیماری‌های مزارع پرورش میگو مطرح باشد (Martinez-Porchas *et al.*, 2014; Luong *et al.*, 2010; Yuan *et al.*, 2010). به عنوان مثال، پرورش توام میگوی سفید غربی با ماهی تیلایپای قرمز منجر به بهبود کیفیت آب شد. بهبود کیفیت آب توسط گونه‌های همه چیز خوار مانند تیلایپا به توانایی این ماهی در استفاده غذایی از مواد آلی غیر زنده و زی شناوران تک سلولی جانوری و جلبکی نسبت داده شده است. همچنین گزارش شده که ماهیانی مانند تیلایپا، سی بس، صافی و سرخو توانایی و قابلیت ممانعت از رشد و تکثیر باکتری ویبریو هاروی (*Vibrio harveyi*) را در مزارع پرورش میگو دارند و لذا باعث افزایش بازماندگی میگوهای پرورشی می‌شوند (Tendencia *et al.*, 2006a, 2006b, 2006c). ماهی کفال خاکستری *Mugil cephalus* با اهمیت‌ترین گونه

ماهی خانواده کفال ماهیان از نظر شیلاتی بوده که به دلیل خصوصیات مناسب بیولوژیک مانند مقاومت زیاد در برابر دامنه وسیعی از دما و شوری (Thomson, 1963)، ضریب رشد قابل قبول، تغذیه از سطوح پائین هرم غذایی، ضریب تبدیل غذایی مناسب و بازار پسنندی عالی می‌توان آن را به صورت تک گونه‌ای و به صورت توام با گونه‌های دیگری مانند میگو، خامه ماهی، تیلایپا و کپور ماهیان چینی پرورش داد (Saleh, 2006). این ماهی مهاجر کرانه‌ای و کفزی خوار بوده و دارای یک معده نسبتاً عضلانی می‌باشد که برای تغذیه از دیتریتهای بستر مناسب است (Zismann, 1981). همچنین این ماهی را می‌توان در یک استخر حاصلخیز با بستر غنی از مواد آلی ذخیره‌سازی کرد (Saleh, 2006). بنابراین کفال با مصرف مواد آلی غیر زنده استخرهای پرورش کیفیت آب و بستر را بهبود داده که این می‌تواند به صورت غیر مستقیم بر شیوع و شدت عوامل بیماری‌زای فرصت طلب که حیات آن‌ها وابسته به وجود مواد آلی است تاثیر داشته باشد. با این پیش فرض، در مطالعه حاضر ما تاثیر پرورش توام میگوی سفید غربی (به عنوان گونه اصلی) و ماهی کفال خاکستری (به عنوان گونه ثانویه) را بر تنوع و شیوع باکتری‌های بیماری‌زای جنس ویبریو و نیز میزان مواد آلی بستر استخر در مزارع پرورش میگو مورد بررسی قرار دادیم. باکتری‌های جنس ویبریو از جمله مهمترین عوامل بیماری‌زا بوده که سالانه خسارات قابل توجهی به صنعت پرورش میگو در جهان وارد می‌کنند (Lightner and Lewis, 1975; Adams, 1991; Lightner *et al.*, 1992; Lavilla-Pitogo *et al.*, 1996; Lavilla-Pitogo *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2000).

مواد و روش‌ها

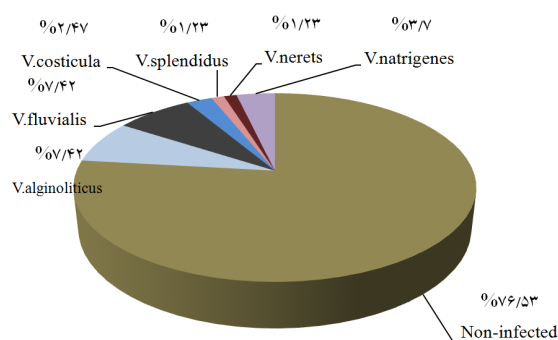
این تحقیق در سایت پرورش میگوی گواتر (شکل ۱)، در نه استخر ۶۰۰ متر مربعی از استخرهای تحقیقاتی واقع در سایت شمالی فاز ۲ مزرعه ۹ انجام شد. پیش از ذخیره‌سازی پست لاروها در استخرهای خاکی پرورش میگو، عملیات آماده‌سازی استخرها از قبیل شخم‌زنی، آهک پاشی، کودپاشی و آبگیری انجام پذیرفت. پس از تایید سلامت پست لاروها توسط اداره کل دامپزشکی، پست لاروها در اوایل شب در تانک‌های ۳۰۰ لیتری همراه با هواده و پس از رفع استرس و عملیات تطابق دما، شوری و pH در استخرهای ۶۰۰ مترمربعی با تراکم ۲۰ قطعه در متر مربع و با متوسط وزن $0/001 \pm 0/007$ گرم ذخیره‌سازی شدند. بچه ماهیان کفال خاکستری با متوسط وزن $5/5 \pm 35$ گرم توسط تورپره (کیسه‌ای) با چشمه یک سانتی‌متر از خور گواتر صید و پس از جمع آوری در مخازن ۳۰۰ لیتری پلی اتیلن که با اکسیژن هواده می شدند به مزرعه انتقال و توسط فرمالین با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ضد عفونی و در روز چهارم پرورش با تراکم‌های ۰ (گروه کنترل) ۲ (تیمار ۱) و ۴ (تیمار ۲) قطعه در هر ۱۰۰ متر مربع با سه تکرار ذخیره‌سازی شدند. جهت تغذیه میگوها در طول چهار ماه پرورش در استخرهای خاکی، از غذای کنسانتره شرکت هووراش با سایزهای مختلف (۴۰۰۶ - ۴۰۰۱) استفاده شد. تغذیه میگوها در مراحل مختلف سنی، با توجه به وزن توده زنده و شرایط محیطی در طول دوره پرورش بر اساس جدول استاندارد، محاسبه و مورد مصرف قرار می گرفت. در طول دوره پرورش برخی فاکتورهای کیفی آب شامل شوری توسط دستگاه شوری سنچ مدل WTW-320 در یک نوبت، pH توسط دستگاه pH متر دیجیتالی مدل

WTW-330i در دو نوبت (صبح و عصر)، اکسیژن محلول آب و درجه حرارت آب توسط دستگاه اکسیژن متر مدل Oxyguard در دو نوبت (صبح و عصر) به صورت روزانه اندازه گیری و ثبت گردید. همچنین میزان مواد آلی رسوبات کف استخر با استفاده از روش Holme و McIntyr (۱۹۸۴) اندازه گیری شد.

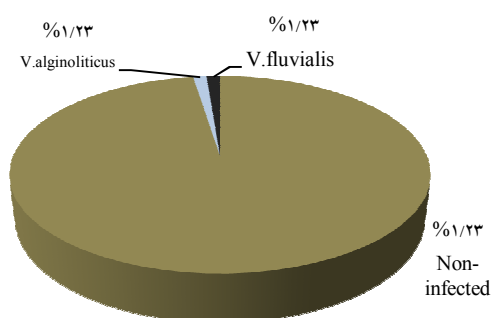
جهت بررسی‌های باکتریایی، هر ماه از هر استخر ۱۰ قطعه میگو به صورت تصادفی صید و سپس توسط ظروف استریل همراه با هواده به صورت زنده به آزمایشگاه مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور منتقل شدند. در آزمایشگاه از بافت‌های آبشش و هپاتوپانکراس به وسیله آنس و همولنف به وسیله سرنگ انسولین نمونه‌برداری و سپس نمونه‌ها در محیط‌های کشت مخصوص (TCBS (Thiosolphate) Agar (Citrate Bile Salt) کشت شدند. محیط‌های کشت که داخل پتری دیش قرار داشتند کد گذاری شده و پس از طی ۳۰ ساعت دوره انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، نتیجه رشد یا توقف رشد باکتری در محیط کشت ثبت می گردید. سپس نسبت به خالص سازی کلنی‌ها اقدام و آزمایشات تشخیصی تفریقی بر روی آن‌ها جهت شناسایی گونه‌های باکتری و بی‌ریو انجام شد. در نهایت بر اساس جداول تشخیصی و کلیدهای شناسایی جنس و گونه‌های باکتریایی مشخص شدند (شکل ۲).

در طول چهار ماه پرورش، کلیه اطلاعات جمع‌آوری شده جهت تجزیه و تحلیل و رسم جداول نمودارها وارد برنامه رایانه ای Excel گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS تحت ویندوز استفاده شد. بعد از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، از آزمون تجزیه

(شکل ۳) و تیمار ۱ با دو گونه (شامل ویبریو آلجینولیتیکوس، ویبریو فلویالیس) (شکل ۴) و تیمار ۲ با یک گونه (شامل ویبریو ناتریجنز) (شکل ۵) در رتبه بعدی از این حیث قرار داشتند. همچنین درصد شیوع آلودگی با ویبریو در میگوهای تیمار ۱ (۲/۴۶٪) و ۲ (۳/۷٪) به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل (۲۳/۴۷٪) (شکل ۶) بود ($P < 0/05$). همچنین نتایج آنالیز میزان مواد آلی بستر نشان داد که میزان این مواد در تیمار پرورش توام به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل می باشد (شکل ۷) ($P < 0/05$).



شکل ۳: تنوع جنس باکتری ویبریو و میانگین درصد آلودگی گروه کنترل در پایان دوره پرورش



شکل ۴: تنوع جنس باکتری ویبریو و میانگین درصد آلودگی تیمار ۱ در پایان دوره پرورش

واریانس یکطرفه (one-way analysis of variance) برای مقایسه میانگین ها استفاده شد.



شکل ۱: مجتمع پرورش میگوی غرب باهو کلات - گوآتر

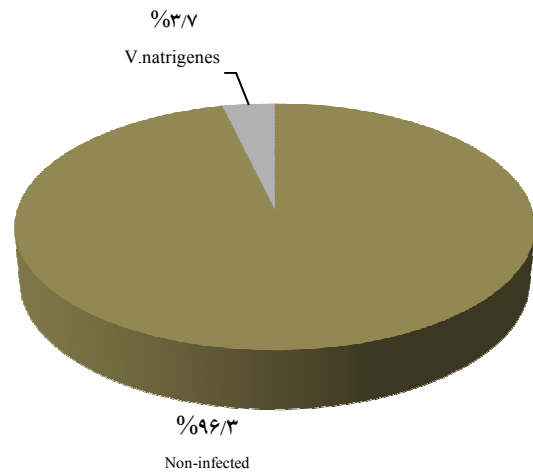


شکل ۲: کلنی های ویبریو رشد یافته بر روی محیط کشت TCBS

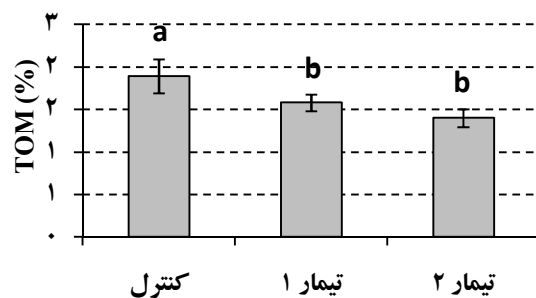
نتایج

طبق نتایج کشت باکتریایی، در مجموع شش گونه ویبریو شامل ویبریو آلجینولیتیکوس، ویبریو فلویالیس، ویبریو کاستیکولا، ویبریو اسپلندیدوس، ویبریو نرتس، ویبریو ناتریجنز در نمونه های جمع آوری شده از تمام گروه های آزمایشی شناسایی شدند. بالاترین تنوع گونه ای ویبریو با شش گونه (شامل ویبریو آلجینولیتیکوس، ویبریو فلویالیس، ویبریو کاستیکولا، ویبریو اسپلندیدوس، ویبریو نرتس، ویبریو ناتریجنز) برای نمونه های متعلق به گروه کنترل بود

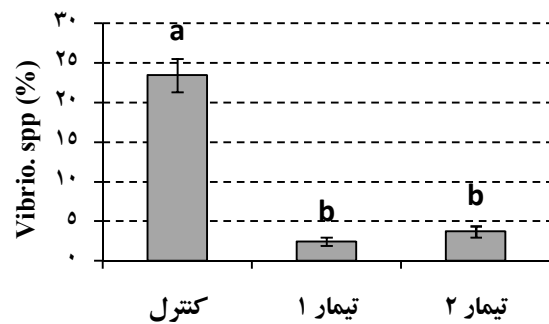
بیماری‌های باکتریایی میگو، اگرچه بیماری‌های ناشی از باکتری‌های جنس ویبریو مهمترین نقش را در ایجاد تلفات و مرگ و میر در مزارع پرورش میگو دارند ولی در مواردی تأثیر ممانعت‌کنندگی برخی گونه‌های ویبریو بر گونه‌های دیگر این جنس نیز گزارش شده است. به عنوان مثال گونه ویبریو آلجینولیتیکوس به عنوان عاملی بیماری‌زا (Lavilla-Pitogo *et al.*, 1998; Karunasagar *et al.*, 2004) در میگو شناخته می‌شود ولی نقش آن به عنوان پروبیوتیک برای میگو نیز گزارش شده است (Vandenbergh *et al.*, 2003; Direkbusaram *et al.*, 1998). در مطالعه حاضر، در مجموع شش گونه ویبریو شامل ویبریو آلجینولیتیکوس، ویبریو فلویالیس، ویبریو کاستیکولا، ویبریو اسپلندیدوس، ویبریو نرتس، ویبریو ناتریجنز از تمام گروه‌های آزمایشی شناسایی شد. طبق مطالعات انجام شده، بیماری‌زایی گونه‌های کاستیکولا، آلجینولیتیکوس، اسپلندیدوس در میگو تأیید و در مورد سایر گونه‌ها شامل نرتس، ناتریجنز، فلویالیس تنها به اشاراتی مبنی بر توانایی بالقوه آن‌ها در ایجاد بیماری پسند شده است (Panchayuthapani, 1997; Lavilla-Pitogo *et al.*, 1998; Karunasagar *et al.*, 2004). همچنین دو گونه ویبریو فلویالیس و ویبریو کاستیکولا به عنوان عوامل بیماری‌زا در انسان نیز مطرح می‌باشند (Ramamurthy *et al.*, 2014). به طور کلی از علائم ناشی از گونه‌های بیماری‌زای ویبریو در میگو می‌توان به سستی سمی، عفونت‌های موضعی، تشکیل نودول در برخی اندام‌ها مانند قلب، آبشش، اپی درم، هپاتوپانکراس و سیستم لنفاوی اشاره کرد (Panchayuthapani, 1997). در سال‌های اخیر، تمایل نسبت به روش‌های سالم و ایمن جهت کنترل عوامل



شکل ۵: تنوع جنس باکتری ویبریو و میانگین درصد آلودگی تیمار ۲ در پایان دوره پرورش پرورش



شکل ۶: میانگین درصد مواد آلی رسوبات کف استخر گروه‌های آزمایشی در پایان دوره پرورش



شکل ۷: میانگین درصد شیوع آلودگی میگوها در گروه‌های آزمایشی با گونه‌های جنس ویبریو در پایان دوره پرورش

بحث

در حال حاضر یکی از مهمترین عوامل تهدیدکننده صنعت پرورش میگو در جهان عوامل بیماری‌زا شامل برخی ویروس‌ها و باکتری‌ها می‌باشند. در بین

بیماری زای میگو و ماهی به جای استفاده از مواد ضد عفونی کننده و آنتی بیوتیک ها افزایش یافته است. در این خصوص سیستم پرورش توام میگو و ماهی به عنوان یکی از این روش ها معرفی شده است (Martínez-Porchas *et al.*, 2010; Yuan *et al.*, 2010; Luong *et al.*, 2014). در سیستم پرورش توام، بازچرخ مواد ریز مغذی به خوبی اتفاق می افتد (Yuan *et al.*, 2010) که این پدیده می تواند با کاهش بار مواد آلی غیر زنده در این سیستم ها به طور غیر مستقیم بر شیوع و فراوانی عوامل بیماری زا به خصوص عوامل فرصت طلب تاثیر داشته باشد. در مطالعه ما، تنوع جنس و درصد شیوع آلودگی و بیرویو در میگوهای پرورش یافته با ماهی کفال به طور معنی داری کمتر از پرورش تک گونه میگو بود. ماهی کفال گونه ای دتریت خوار بوده و قابلیت تغذیه از مواد آلی محیط پرورش را دارد. در این رابطه، پایین بودن مواد آلی کل رسوبات کف در تیمار پرورش توام نسبت به گروه کنترل می تواند تصدیق کننده این مطلب باشد. به طور کلی استخرهای پرورش میگو به واسطه بار بالای مواد آلی و نوسانات میزان اکسیژن محلول محیط هایی پر تنش بوده که این زمینه را برای بروز و شیوع انواع بیماری های باکتریایی فراهم می سازد (Barbieri *et al.*, 1999; Pfeffer *et al.*, 2003; Williams and Larock, 1985). با توجه نتایج این مطالعه، می توان احتمال داد که ماهی کفال در سیستم پرورش توام با مصرف و کاهش مواد آلی کف استخر نقش مثبتی در کاهش تنوع جنس و درصد شیوع آلودگی و بیرویو دارد. خصوصاً اینکه تمام جنس های ثبت شده از باکتری و بیرویو در این مطالعه از نوع باکتری های فرصت طلب بوده که فراوانی و

بیماری زای آن ها وابستگی زیادی به کیفیت آب محیط پرورش بخصوص بار مواد آلی دارد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

1. Adams, A., 1991. Response of penaeid shrimp to exposure to *Vibrio* species. *Fish and Shellfish Immunology*, 1, 59-70.
2. Barbieri, E., Falzano, L., Fiorentini, C., Pianetti, A., Matarrese, P., Casiere, A., Katouli, M., Kühn, I., Möllby, R., Bruscolini, F., Donelli, G., 1999. Occurrence, Diversity, and Pathogenicity of Halophilic *Vibrio* spp. and Non-O1 *Vibrio cholerae* from Estuarine Waters along the Italian Adriatic Coast. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 2748-2753.
3. Chen, F.R., Liu, P.C., Lee, K.K., 2000. Lethal attribute of serine protease secreted by *Vibrio alginolyticus* strains in Kurama Prawn *Penaeus japonicus*. *Zool Naturforsch*, 94, 55-99.
4. Direkbusaram, S., Yoshimizu, M., Ezura, Y., Ruangpan, L., Danayadol, Y., 1998. *Vibrio* spp., the dominant flora in shrimp hatchery against some fish pathogenic viruses. *Short Communication. Journal of Marine Biotechnology*, 6, 266-267.
5. Holme, N.A. and McIntyre, D.A. (Editors), 1984. *Methods for the study of marine benthos*. IBP Handbook No. 16 (2nd ed). Oxford: Blackwell Scientific Publications, 387.
6. Iwanowicz D.D., 2011. Overview on the Effects of Parasites on Fish Health. In R.C. Cipriano, A.W. Bruckner, & I.S. Shchelkunov (Eds.), *Bridging America and Russia with Shared Perspectives on Aquatic Animal Health* (pp. 176-184). Proceedings of the Third Bilateral Conference between Russia and the United States, 12-20 July, 2009, held in Shepherdstown, West Virginia. Landover, Maryland, USA. Khaled bin Sultan Living Oceans Foundation.
7. Karunasagar, I., Karunasagar, I, Umesha, R.K., 2004. Microbial diseases in shrimp aquaculture. In: Ramaiah N (ed) *Marine*

17. Saleh, M.A., 2006. Cultured Aquatic Species Information Programme (CASIP). Mugil cephalus. FAO Fisheries and Aquaculture Department; FAO: Rome, Italy, 2006. Available online: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil_cephalus/en (accessed on 15 December 2014). [Google Scholar].
18. Tendencia, E.A., Dela Pena, M.R., Choresca Jr.CH., 2006a. Presence of snapper, seabass, and siganid inhibits growth of luminous bacteria in a simulated shrimp culture system. *Aquaculture*, 260, 54-60.
19. Tendencia, E.A., Fermin, A.C., dela Pena, M.R., Choresca, Jr .CH., 2006b. Effect of *Epinephelus coioides*, *Chanos chanos*, and GIFT tilapia in polyculture with *Penaeus monodon* on the growth of the luminous bacteria *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*, 253, 48-56.
20. Tendencia, E.A., dela Pena, M.R., Choresca, Jr. C.H., 2006c. Effect of shrimp biomass and feeding on the anti-*Vibrio harveyi* activity of *Tilapia* sp. in a simulated shrimp-tilapia polyculture system. *Aquaculture*, 253, 154-162.
21. Thomson, J.M., 1963. Synopsis of biological data on the gray mullet *Mugil cephalus* Linnaeus 1758. CSIRO Fish. Oceanogr., Fish.Synop.1 .Melbourne, Australia, 72p.
22. Thomas, Y., Courties, C., Helwe, E.Y., Herbland, A., Lemonnier, H., 2010. Spatial and temporal extension of eutrophication associated with shrimp farm wastewater discharges in the New Caledonia lagoon. *Marine Pollution Bulletin*, 61, 387-398.
23. Vandenberghe, J., Thompson, F.L., Gomez-Gill, B., Swings, J., 2003. Phenotypic diversity amongst *Vibrio* isolates from marine aquaculture systems. *Aquaculture*, 219, 9-20.
24. Williams, L., LaRock, P., 1985. Temporal Occurrence of *Vibrio* Species and *Aeromonas hydrophila* in Estuarine Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 50, 1490-1495.
25. Yuan, D., Yi, Y., Yakupitiyage, A., Firzimmers, K., Diana, J.S., 2010. Effects of addition of red tilapia (*Oreochromis* spp.) at different densities and sizes on production, water quality and nutrient recovery of intensive culture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in cement tanks. *Aquaculture*, 298, 226-238.
26. Zismann, L., 1981. Means of identification of grey mullet fry for culture. In: *Aquaculture of Grey Mulletts* (O.H.Oren, Ed.). Cambridge University press, New York, 17- 63.
- Microbiology: facets and opportunities. National Institute of Oceanography, Goa, 121-134.
8. Lavilla-Pitogo, C.R., Leano, E.M., Paner, M.G., 1996. Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent bacteria, *Vibrio harveyi* in the rearing environment. SICCPPS book of abstracts, SEAFDEC, Iloilo City, Philippines, 40 p.
9. Lavilla-Pitogo, C.R., Leano, E.M., Paner, M.G., 1998. Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp *Penaeus monodon* associated with dominance of luminescent vibrios in the rearing environment. *Aquaculture*, 164, 337-349.
10. Lightner, D.V., Lewis, D.H., 1975. A septicemic bacterial disease syndrome of penaeid shrimp. *Marine Fisheries Review*, 37, 25-28.
11. Lightner, D.V., Bell, T.A., Redman, R.M., Mohny, L.L., Natividad, J.M., Rukyani, A., Poernomo, A., 1992. A review of some major diseases of economic significance in penaeid shrimps/shrimps of the Americas and Indo-Pacific. In: M. Shariff, R. Subasinghe and J.R. Arthur (eds.) *Proceedings 1st Symposium on Diseases in Asian Aquaculture*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 57-80.
12. Luong, T.C., Hochard, S., Royer, F., Lemonnier, H., Letourneur, Y., 2014. Feasibility of polyculture of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* and goldlined rabbitfish *Siganus lineatus* in a mesocosm system. *Aquaculture*, 433, 340-347.
13. Martínez-Porchas, M., Martínez-Córdova, L.R., Porchas-Cornejo, M.A., López-Elías, J.A., 2010. Shrimp polyculture: a potentially profitable, sustainable, but uncommon aquacultural practice. *Reviews in Aquaculture*, 2, 73-85.
14. Panchayuthapani, D., 1997. A survey of shrimp diseases in India. In: T.W. Flegel and I.H. MacRae (eds.). *Diseases in Asian Aquaculture III*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila.
15. Pfeffer, C.S., Hite, F.M., Oliver, J.D., 2003. Ecology of *Vibrio vulnificus* in Estuarine Waters of Eastern North Carolina. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 3526-3531.
16. Ramamurthy, T., Chowdhury, G., Pazhani, G.P., Shinoda, S., 2014. *Vibrio fluvialis*: an emerging human pathogen. *Frontiers in Microbiology*, 5: 91.