نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی
دوره هجدهم، شماره دوم، پاییز و زمستان ۱۴۰۱،
پیاپی ۴۵ : ۱۰-۱

JVM Journal of Veterinary Microbiology

مقاله پژوهشی

ردیابی ویروس لکه سفید در منابع وحشی سایت پرورش میگوی بویرات استان بوشهر

رضا موسائی[1]، رضا سلیقه زاده[2]*، بهنام پدرام[2]

۱- دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

۲-استادیار، گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۴

چکیده

بیماری های میگو یکی از محدودیت های عمده برای افزایش تولید میگو هستند و عامل بیماری لکه سفید مهم ترین ویروس بیماری‌زا در میگوها می باشد که سبب بروز خسارت جبران ناپذیری به صنعت پرورش میگو شده است. از این رو هدف از انجام مطالعه حاضر، ردیابی ویروس لکه سفید در منابع وحشی سایت پرورش میگوی بویرات استان بوشهر بود. مطالعه حاضر در مجتمع پرورش میگوی بویرات استان بوشهر با نمونه برداری از منابع وحشی در مراحل آماده سازی، پرورش و برداشت از استخرها انجام شد. از ۲۰ نمونه منبع وحشی جمع آوری شده شامل سه نمونه میگوی هرز، یک نمونه ماهی حسون، یک نمونه ماهی گمگام، ده نمونه خرچنگ گلی، دو نمونه خرچنگ آبی و دو نمونه پست لارو میگوی وانامی استخراج DNA صورت پذیرفت و تشخیص ویروس لکه سفید با آزمایش PCR انجام گردید. نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر حاکی از آن بود که بیشترین موارد مثبت به ترتیب مربوط به مرحله پرورش (۸۳/۳ درصد) و مرحله برداشت (۲۸/۶ درصد) بود و در مرحله آماده سازی فراوانی بیماری صفر درصد بود. در مجموع ۳۵ درصد موارد (میگوی هرز، خرچنگ آبی کوچک و خرچنگ گلی کوچک) به بیماری لکه سفید آلوده بودند. بیشترین فراوانی آلودگی به ویروس مذکور به ترتیب در میگوی هرز (۱۰۰ درصد)، خرچنگ آبی کوچک (۱۰۰ درصد)، و خرچنگ گلی کوچک (۳۳/۳ درصد) بود. در مجموع بین تمامی گونه های مورد مطالعه، ۲۵ درصد آلودگی به بیماری لکه سفید مشاهده شد. با توجه به نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، جهت جلوگیری از آلودگی در استخرهای پرورش میگو استفاده از روش های مدیریتی مختلف جهت جلوگیری از ورود منابع وحشی به استخرها توصیه می شود.

کلید واژه ها: بیماری لکه سفید، میگوی وانامی، بویرات، منابع وحشی، واکنش زنجیره ای پلیمراز.

*نویسنده مسئول : رضا سلیقه زاده

آدرس: گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

پست الکترونیک: rezasalighehzadeh@yahoo.com

مقدمه

از اوایل دهه ۱۹۹۰ میلادی که صنعت آبزی پروری در بخش تکثیر و پرورش میگو به دوران شکوفایی خود رسید تا کنون بروز بیماری های ویروسی با ایجاد خسارات هنگفت موجب به چالش کشیدن آن گردیده است (۲۸). با توسعه پرورش میگو و استفاده از شیوه های بسته و سیستم های پرورش با تراکم بالا در دو دهه گذشته، رخداد همه گیری بیماری های میگو افزایش یافته است. عوامل عفونی مختلف مانند ویروس ها، باکتری ها، انگل ها و قارچ ها صنعت پرورش میگو را تحت تاثیر خود قرار داده اند. در بین این عوامل عفونی، ویروس ها بیشترین سهم را به خود اختصاص داده اند و برآورد خسارات اقتصادی ناشی از ویروس لکه سفید، ۱۰ میلیارد دلار و ویروس سندروم تورا ۱,۵ تا ۳ میلیارد دلار تا سال ۲۰۱۰ بوده است (۵، ۱۷، ۲۳). ویروس بیماری لکه سفید (WSSV) یکی از مهم ترین ویروس های شناخته شده در گونه های میگو به شمار می آید که به طور گسترده ای منتشر شده است (۲۶). این بیماری با توجه به بیماری زایی و ماهیت همه گیری، به طور مستمر توسط OIE بررسی و اطلاع رسانی می گردد. ویروس لکه سفید در سه ردیف اول لیست OIE قرار دارد که جزو ویروس های مضر میگو به شمار می آید. این بیماری یکی از عوامل مهم شناخته شده در کاهش جمعیت های میگو است (۱۰).

مطالعات متعددی در دنیا برای شناخت عوامل خطر بیماری لکه سفید انجام شده است. از جمله عواملی که در کاهش خطر بیماری لکه سفید مؤثر است به رعایت امنیت زیستی در استخرها، به کارگیری ویتامین ها و برخی از مکمل ها اشاره شده است (۲۴). مشاهده گردیده که شیوع بیماری در مواردی که پست لاروهای آلوده حضور داشتند، بیشتر بوده است. همچنین استرس عامل شروع کننده برای رخداد بیماری بوده است، عوامل استرس زا با تضعیف سیستم دفاعی میگو خطر وقوع بیماری لکه سفید را افزایش می دهند (۳۰). غذاهای تجاری نیز مورد بررسی قرار گرفته اند. در مطالعه دیگری نسبت زیادی از نمونه های غذایی مورد آزمایش حاوی ویروس لکه سفید بودند (۱۳)، به علاوه استفاده از کود شیمیایی باعث کاهش خطر وقوع بیماری لکه سفید شده است. کودهی باعث شکوفایی رشد پلانکتون ها و سایر ارگانیسم های مغذی در استخر می شود. احتمالا تغذیه میگوها با غذاهای طبیعی باعث کاهش هم نوع خواری آنها می شود و شانس انتقال بیماری را کاهش می دهد (۲۹). در مطالعه دیگری مشخص شده است که میگوهایی که از سلامتی کاملی برخوردار نیستند، در معرض خطر بیشتری قرار دارند (۱۸). در مورد تأثیر تراکم بر بروز بیماری نیز تحقیق شده است و تراکم بالا در برخی از سیستم های پرورش به عنوان عامل خطر برای وقوع بیماری لکه سفید مطرح شده است (۲۷). همچنین تأثیر تغییرات شدید شوری آب نیز بررسی شده و مشخص گردیده است که با افزایش نوسانات شوری آب، پاسخ سیستم ایمنی میگو ضعیف تر می گردد (۲۱). غلظت اکسیژن آب نیز از جمله عواملی است که میزان مرگ و میر ناشی از بیماری ها را تحت تأثیر قرار می دهد. هوادهی بیشتر به استخرها باعث افزایش اکسیژن آب و کاهش تلفات ناشی از بیماری لکه سفید شده است (۱۹). ویروس لکه سفید می تواند طیف وسیعی از سخت پوستان پرورشی و وحشی مانند میگوهای آب شور، خرچنگ ها و شاه میگوی دراز آب شیرین را در همه سنین آلوده نماید (۸). از دیگر عوامل خطر در بروز بیماری لکه سفید حضور سخت پوستان است، خرچنگ ها ممکن است

برای مدت طولانی حامل ویروس لکه سفید باشند اما علائم بالینی را نشان ندهند (۲۲). در این خصوص مطالعاتی توسط صیدی و همکاران (۱۳۸۸)، قره وی و همکاران (۱۳۸۸)، غلامحسینی و همکاران (۱۳۹۷)، Chakraborty و همکاران (2002)، East و همکاران (2004)، Xu و همکاران (2020) انجام شده است و نتایج مختلفی را بیان کردند (۲۸،۱۱ ،۶ ،۳-۱).

شرایط خاص آب و هوایی کشور و گرمای شدید هوا در مناطق جنوبی، تبخیر زیاد آب استخرها، سیستم های خاص پرورش میگو و پرورش در آب شور و نوسانات شدید دما در بعضی مناطق، شرایط منحصر به فردی را در پرورش میگو در کشور ایجاد نموده است. با توجه به عدم کنترل بیماری لکه سفید در سواحل جنوبی کشور این فرضیه مطرح می شود که بسیاری از عوامل خطر در بروز بیماری لکه سفید در کشور ما نیز مؤثر باشند. از این رو هدف از انجام مطالعه حاضر، ردیابی ویروس لکه سفید در منابع وحشی سایت پرورش میگوی بویرات استان بوشهر بود.

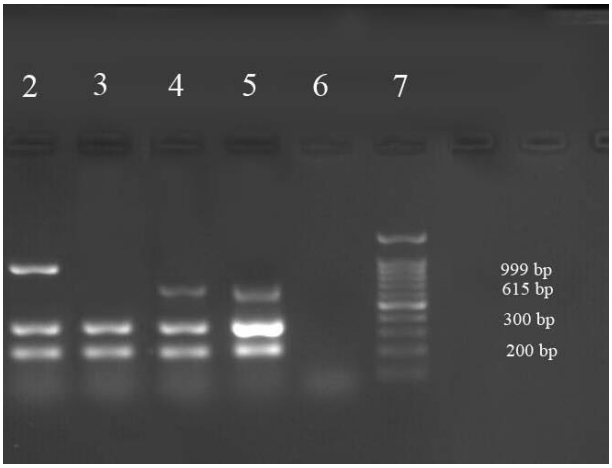
مواد و روش کار

مطالعه حاضر در مجتمع پرورش میگوی بویرات استان بوشهر و به شیوه مقطعی انجام پذیرفت. گونه پرورشی، میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) بود. آماده سازی تمامی استخرها طبق دستورالعمل های فنی و بهداشتی سازمان دامپزشکی و شیلات انجام شد و تنها استخرهایی مورد ذخیره سازی قرار گرفتند که مجوزهای مربوطه را اخذ نموده بودند. انتقال آب دریا توسط کانالی به طول ۲۷۰۰ متر به ۵۰ مزرعه سایت پرورشی که از ۶۴۲ استخر ۱,۲ هکتاری تشکیل شده بود انجام می شد. جهت جلوگیری از ورود موجودات هرز به استخرهای پرورش میگو از فیلتر شنی استفاده شد. استخرها در آغاز دوره پرورش با پست لاروهایی که از ۲۳ مرکز تکثیر میگوی وانامی واقع در استان بوشهر تهیه شده بودند و از نظر بیماری لکه سفید منفی بودند، ذخیره سازی شدند. نمونه گیری از منابع وحشی شامل: خرچنگ، میگو و ماهی در سه مرحله قبل از شروع فصل پرورش، در طول دوره پرورش و در انتهای دوره پرورش از قسمت های مورد نظر مجتمع پرورش میگو شامل کانال ورودی، کانال خروجی و استخرهای پرورشی (دریچه ورودی، دریچه خروجی و سینی های غذادهی) صورت پذیرفت.

استخراج ماده ژنتیکی DNA نمونه‌ها بر اساس دستورالعمل کیت شرکت پیشگامان زیستی پارسه صورت پذیرفته شد. جهت بررسی عملکرد پرایمرهای طراحی شده 146F1 (ACTACTAACTTCAGCCTATCTAG) و 146R1 (TAATGCGGGTGTAATGTTCTTACGA)، 146F2 (GTAACTGCCCCTTCCATCTCCA) و 146R2 (TACGGCAGCTGCTGCACCTTGT)، 146F3 (TGCCTTATCAGCTNTCGATTGTAG) و 146R3 (TTCAGNTTTGCAACCATACTTCCC) تکثیر قطعات هدف بر روی DNA نمونه‌های مختلف استخراج شده هم بصورت تکی و هم بصورت همزمان انجام شد (۱۶). در تمامی واکنش‌ها به منظور بررسی صحت نتایج از نمونه‌های کنترل مثبت تهیه شده از پژوهشکده میگوی کشور و کنترل منفی (t-RNA مخمر) استفاده گردید. برنامه PCR با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر PCR MAX و Corrbet PCRt نیز به ترتیب شامل ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتیگراد (واسرشته سازی اولیه)، ۲۸ سیکل (دور) واسرشته سازی هر دور

به مدت ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی گراد، اتصال هر دور به مدت ۲۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتیگراد، بسط اولیه هر دور به مدت ۲۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتیگراد و بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد بود. به منظور بررسی کیفیت محصول PCR از ژل آگارز ۲ درصد استفاده شد. در ادامه بعد از تزریق ۵ میکرولیتر محصول به درون چاهک‌های ایجاد شده بر روی ژل آگارز همراه با نشانگر استاندارد ۳۰۰۰-۱۰۰ جفت باز و ران نمودن دستگاه الکتروفورز افقی به مدت ۴۵ دقیقه یا ولتاژ ۹۰-۸۰ ولت با استفاده از دستگاه مستند سازی با تابش اشعه ماوراء بنفش طول هر باند با توجه به طول نشانگر استاندارد (شکل ۱) محاسبه شد (۱۶).

اطلاعات حاصله به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ آنالیز و با استفاده از شاخص های آمار توصیفی و رسم جداول فراوانی جهت به دست آوردن درصد آلودگی منابع وحشی به ویروس لکه سفید ارائه شدند. آزمون مجذور کای (X^2) جهت ارتباط بین نمونه ها، مراحل نمونه برداری و بیماری مورد استفاده قرار گرفت ($P<۰,۰۵$).



شکل ۱. دستورالعمل شناسایی ویروس لکه سفید بر اساس طول باندهای تشکیل شده (لاین ۱: نمونه های منفی بیماری لکه سفید (۹۹۹ bp)، لاین ۲: نمونه مثبت بیماری لکه سفید متوسط (۲۰۰, ۳۰۰ و ۹۹۹ bp)، لاین ۳: نمونه مثبت بیماری لکه سفید خفیف (۲۰۰ و ۳۰۰ bp)، لاین ۴: نمونه مثبت بیماری لکه سفید شدید (۲۰۰, ۳۰۰ و ۶۱۵ bp)، لاین ۵: کنترل مثبت استاندارد، لاین ۶: کنترل منفی، لاین ۷: نردبان ژنی ۳۰۰۰-۱۰۰ (bp)

نتایج

مشخصات، تعداد و درصد فراوانی منابع وحشی صید شده در طی مراحل مختلف نمونه برداری از استخرهای پرورش میگوی سایت بویرات استان بوشهر در جدول ۱ نشان داده شده است. در مرحله آماده سازی و برداشت ۱۴ نمونه، در مرحله پرورش ۶ نمونه و در مجموع ۲۰ نمونه از منابع وحشی شامل خرچنگ، میگو و ماهی جمع آوری شد. خرچنگ گلی کوچک با ۷ قطعه و خرچنگ آبی بزرگ، ماهی حسون و ماهی گمگام هر کدام با ۱ قطعه بیشترین و کمترین فراوانی را داشتند. با این وجود ارتباط معنی داری بین فراوانی تعداد نمونه ها در مراحل مختلف نمونه برداری وجود نداشت ($P>۰,۰۵$).

جدول ۱. مشخصات، تعداد و درصد فراوانی منابع وحشی صید شده در طی مراحل مختلف نمونه برداری از استخرهای پرورش میگوی سایت بویرات استان بوشهر.

نمونه	مرحله نمونه برداری	تعداد	درصد فراوانی
خرچنگ گلی کوچک	آماده سازی	٤	۲۰
پست لارو میگو وانامی	آماده سازی	۲	۱۰

خرچنگ گلی متوسط	آماده سازی	۱	۵
خرچنگ آبی کوچک	پرورش	۲	۱۰
خرچنگ گلی کوچک	پرورش	۳	۱۵
میگوی هرز	پرورش	۱	۵
میگوی هرز	برداشت	۲	۱۰
ماهی حسون	برداشت	۱	۵
ماهی گمگام	برداشت	۱	۵
خرچنگ گلی متوسط	برداشت	۲	۱۰
خرچنگ آبی بزرگ	برداشت	۱	۵
		۲۰	۱۰۰

فراوانی آلودگی بیماری لکه سفید در طی مراحل مختلف نمونه برداری از استخرهای پرورش میگوی سایت بویرات استان بوشهر در جدول ۲ نشان داده شده است. بیشترین و کمترین میزان شیوع آلودگی ویروس لکه سفید به ترتیب در مراحل پرورش و آماده سازی بودند. در مرحله پرورش ۵ نمونه مثبت و در مرحله برداشت ۲ نمونه مثبت مشاهده گردید. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که ارتباط معنی داری بین فراوانی آلودگی بیماری لکه سفید در مراحل مختلف نمونه برداری وجود داشت ($P<0,05$).

جدول ۲. فراوانی آلودگی بیماری لکه سفید در طی مراحل مختلف نمونه برداری از استخرهای پرورش میگوی سایت بویرات استان بوشهر.

مرحله نمونه برداری	تعداد نمونه	مثبت	منفی
آماده سازی	۷	-	۷ (۱۰۰ ٪)
پرورش	٦	۵ (۸۳,۳ ٪)	۱ (۱٦,۷ ٪)
برداشت	۷	۲ (۲۸,٦ ٪)	۵ (۷۱,٤ ٪)
مجموع	۲۰	۷ (۳۵ ٪)	۱۳ (٦۵ ٪)

فراوانی آلودگی بیماری لکه سفید در منابع وحشی نمونه برداری شده از استخرهای پرورش میگوی سایت بویرات استان بوشهر در جدول ۳ نشان داده شده است. در این مطالعه تعداد ۷ نمونه مثبت و ۱۳ نمونه منفی مشاهده گردید. بیشترین فراوانی آلودگی در میگوی هرز و کمترین فراوانی آلودگی در پست لارو میگوی وانامی، ماهی حسون، ماهی گمگام، خرچنگ گلی متوسط و خرچنگ آبی بزرگ وجود داشت. نتایج آماری نشان داد که ارتباط معنی داری بین فراوانی آلودگی بیماری لکه سفید در منابع وحشی وجود نداشت ($P>0,05$).

جدول ۳. فراوانی آلودگی بیماری لکه سفید در منابع وحشی نمونه برداری شده از استخرهای پرورش میگوی سایت بویرات استان بوشهر.

نمونه	تعداد	مثبت	منفی
میگوی هرز	۳	۳ (۱۰۰ ٪)	-
ماهی حسون	۱	-	۱ (۱۰۰ ٪)
ماهی گمگام	۱	-	۱ (۱۰۰ ٪)
خرچنگ گلی متوسط	۳	-	۳ (۱۰۰ ٪)
خرچنگ گلی کوچک	۷	۲ (۳۳,۳ ٪)	۵ (٦٦,۷ ٪)
پست لارو میگو وانامی	۲	-	۲ (۱۰۰ ٪)
خرچنگ آبی بزرگ	۱	-	۱ (۱۰۰ ٪)
خرچنگ آبی کوچک	۲	۲ (۱۰۰ ٪)	-
مجموع	۲۰	۷ (۳۵ ٪)	۱۳ (٦۵ ٪)

بحث

بیماریهای میگو یکی از محدودیت های عمده برای افزایش تولید میگو هستند. Flegel و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که بیماریهای میگو منجر به کاهش ۲۲٪ تولیدات جهانی آن شده که در حدود ۱ بیلیون دلار ارزش آن بوده است و در صورتی که این میزان ثابت باشد در حدود ۱۵ بیلیون دلار تا ۱۵ سال آینده خواهد شد. بیماری لکه سفید میگو از مهمترین بیماری های خسارت زا در این صنعت معرفی شده است که هر ساله موجب دهها میلیون دلار خسارت در دنیا می شود و سالانه بین ۳۰۰ تا ۴۰۰ هزار تن میگو در جهان بر اثر بیماری لکه سفید میگو تلف می شود (۱۴). اولین شیوع بیماری لکه سفید در سال ۱۹۹۳ در ژاپن در گونه *P. japonicas* به وجود آمد و علت آن محموله آلوده‌ی کشور چین بود (۲۰)، چنانچه که در مطالعه حاضر مشاهده شد ۱۰۰ درصد میگوهای هرز به این ویروس آلوده بودند.

صیدی و همکاران (۱۳۸۸) در مطالعه ای وجود ویروس بیماری لکه سفید در منابع وحشی استان بوشهر را بررسی کردند و بیان داشتند که تمامی نمونه ها عاری از ویروس بودند (۱). قره وی و همکاران (۱۳۸۸) وجود بیماری لکه سفید در میگوهای وحشی سفید هندی آب های ساحلی هرمزگان در ایران را مورد بررسی قرار دادند و بیان داشتند که نتایج حاصل از آزمایشات مولکولی و آسیب شناسی بافتی در طی مدت آزمایش منفی بودند (۳). در مطالعه ای دیگر، غلامحسینی و همکاران (۱۳۹۷) در مطالعه ای با شناسایی بیماری لکه سفید در میگوی وحشی سفید هندی استان سیستان و بلوچستان بیان نمودند که از مجموع ۴۵۱ نمونه، ۲۵ نمونه به روش مولکولی و ۴ نمونه به روش هیستوپاتولوژی مثبت تشخیص داده شدند (۲). Hasan و همکاران (2022) در کشور بنگلادش، میزان آلودگی به ویروس لکه سفید را در میگوها و خرچنگ های پرورشی مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند که میزان شیوع در مناطق مختلف از ۸/۴۰ – ۱۰/۴۸ درصد متفاوت بود (۱۵). در مطالعه Vaseeharan و همکاران (2003) شیوع ویروس لکه سفید در سخت پوستان صید شده وحشی از سواحل جنوب غربی و جنوب شرقی هند، ۲۳ درصد گزارش شد (۲۵). در مطالعه De la Peña و همکاران (2007) شیوع ویروس سندرم لکه سفید در میگوی وحشی *Penaeus monodon* در فیلیپین مورد بررسی قرار داده شد و گزارش شد که تمامی سایت های نمونه برداری به این ویروس آلوده بودند (۹).

در مطالعه ای که توسط East و همکاران (2004) با استفاده از روش تشخیصی PCR بر روی ۳۰۵۱ نمونه از سخت پوستان دریایی مثل خرچنگ و میگو از ۶۴ محل نمونه برداری از سراسر اطراف استرالیا صورت گرفت هیچ گونه مورد مثبتی در میان جمعیت سخت پوستان یاد شده مشاهده نگردید و جمعیت سخت پوستان استرالیایی را عاری از ویروس یاد شده عنوان کرد (۱۱)، در صورتیکه در تحقیق حاضر از ۲۰ نمونه منبع وحشی جمع آوری شده ۷ قطعه (۳۵ درصد) از لحاظ بیماری لکه سفید مثبت بودند که نشان دهنده شیوع بالای این بیماری در منابع وحشی منطقه بود. Chapman و همکاران (2004) تحقیقی بر روی ارزیابی بیماری لکه سفید در میگوهای مهم تجاری دریای اتلانتیک انجام دادند. در این تحقیق مجموعا ۱۱۵۰ قطعه میگو مورد آزمایش قرار گرفتند. از این تعداد ۳۲ قطعه (۸/۲ درصد) از میگوها از لحاظ بیماری لکه سفید میگو مثبت بودند. تمام این مطالعات بیانگر آن است که سخت پوستان وحشی (میگو و خرچنگ)

می توانند به عنوان حاملین بیماری عمل نموده و تهدیدی برای سیستم های پرورشی باشند با این حال، اگر چه بیماری لکه سفید در زیستگاه های طبیعی میگوی آسیا یافت شده اما آثار خود بیماری بر ذخایر میگوی وحشی نا مشخص است (۱۲، ۷). در تحقیق حاضر از ۲۰ نمونه منبع وحشی جمع آوری شده ۷ قطعه (۳۵ درصد) از لحاظ بیماری لکه سفید مثبت بودند که نشان دهنده شیوع بالای این بیماری در منابع وحشی منطقه می باشد. به نظر می رسد که واردات پست لارو و مولدین زنده برای مراکز تکثیر و نیز میگوهای حاصل از صید از مناطق آلوده مهمترین راه های انتقال و ورود بیماری به مناطق دیگر می باشند، از طرف دیگر با توجه به دامنه میزبانی وسیع بیماری در طبیعت و نیز مخازن فراوان آن احتمال وجود عامل بیماری در بسیاری از مناطق دنیا از جمله ایران وجود دارد. (۴).

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین موارد آلودگی منابع وحشی به ویروس لکه سفید در مرحله پرورش و مرحله برداشت بودند. در مجموع ۳۵ درصد نمونه های گرفته شده به بیماری لکه سفید آلوده بودند. بیشترین فراوانی آلودگی به ویروس مذکور به ترتیب در میگوی هرز، خرچنگ آبی کوچک و خرچنگ گلی کوچک بود. در مجموع بین تمامی گونه های مورد مطالعه، ۲۵ درصد آلودگی به بیماری لکه سفید مشاهده شد. با توجه به نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، جهت جلوگیری از آلودگی در استخرهای پرورش میگو استفاده از روش های مدیریتی مختلف جهت جلوگیری از ورود منابع وحشی به استخرها توصیه می شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از پایان نامه دکتری عمومی رشته ی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر می باشد. بدین وسیله از زحمات آقایان دکتر بحرانی، دکتر قاجاری و دکتر پذیر که با سعه ی صدر ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، سپاسگزاری می نماییم.

منابع

۱_صیدی، آ. سیمرونی، م.م. گرامی نیا، ا. (۱۳۸۸). بررسی ویروس بیماری لکه سفید(WSSV) در منابع وحشی استان بوشهر به وسیله PCR. اولین کنگره ملی علوم آزمایشگاهی دامپزشکی، تهران، ۱۳۸۸. /https://civilica.com/doc/921785

۲-غلامحسینی، ا. محمدی، ع. اکبری، س. اخلاقی، م. احمدی، ن. (۱۳۹۷). شناسایی بیماری لکه سفید در میگوی وحشی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) استان سیستان و بلوچستان. علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران، دوره ۱۲، شماره ۱، صفحات ۱۰۹-۱۰۱.

۳-قره وی، ب. افشارنسب، م. آفتابسوار، ی. صادقی، م.م. رادخواه، ک. (۱۳۸۸). بیماری لکه سفید میگو در میگو های وحشی سفید هندی آب‌های ساحلی هرمزگان در ایران. تحقیقات دامپزشکی و فرآوردههای بیولوژیک، دوره ۲۲، شماره ۴، صفحات ۲۸-۲۲.

4. Bell, T.A.L .Bell, D.V.T.A. Lightner, D.V. (1988). A handbook of normal penaeid shrimp histology. 1th Edition. Louisiana: **21:**5.

5. Budi, Y.P. Lin, L.C. Chung, C.H. Chen, L.L. Jiang, Y.F. (2022). Three-dimensional investigations of virus-associated structures in the nuclei with white spot syndrome virus (WSSV) infection in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Animals (Basel)* **12:**1730.

6. Chakraborty, A. Otta, S. Joseph, B. Kumar, S. Hossain, M.S. Karunasagar, I. Venugopal, M. Karunasagar, I. (2002). Prevalence of white spot syndrome virus in wild crustaceans along

Manual of diagnostic tests for aquatic animals. Office international des épizooties.
17. Li, D.L. Yang, M.H. Liu, L.K. Meng, C. Li, M.Q. Liu, H.P. (2022). Invasion and propagation of white spot syndrome virus: hijacking of the cytoskeleton, intracellular transport machinery, and nuclear import transporters. *Journal of Virology* **96:**e0220521.
18. Madhavi, R. Janakiram, P. Jayasree, L. Murthy, P.S.N. (2002). Occurrence of concurrent infections with multiple viruses in *Penaeus monodon* from culture ponds of north coastal Andhra Pradesh. *Current Science* **82:**1397-1400.
19. Mondal, D. Mandal, N. (2020). Ecological perspective of disease-resistance prevalence in *Penaeus monodon*. *Transboundary and Emerging Diseases* **67:**3049-3055.
20. Nakano, H. Koube, H. Umezawa, S. Momoyama, K. Hiraoka, M. Inouye, K. Oseko, N. (1994). Mass mortalities of cultures kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: epizootiological survey and infection trials. *Fish Pathology* **29:**135-139.
21. Rozenberg, A. Brand, P. Rivera, N. Leese, F. Schubart, C.D. (2015). Characterization of fossilized relatives of the white spot syndrome virus in genomes of decapod crustaceans. *BMC Ecology and Evolution* **15:**142.
22. Takahashi, Y. Itami, T. Kondo, M. Maeda, M. Fujii, R. Tomonaga, S. Supamattaya, K. Boonyaratppalin, S. (1994). Electron microscopic evidence of bacilliform virus infection in kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*). *Fish Pathology* **29:**121-125.
23. Tang, K.F.J., Navarro, S.A., Pantoja, C.R., Aranguren, F.L., Lightner, D.V. (2012). New genotypes of white spot syndrome virus (WSSV) and taura syndrome virus (TSV) from the Kingdom of Saudi Arabia. *Diseases of Aquatic Organisms* **99:**179–185.
24. Tendencia, E.A. Bosma, R.H. Verreth, J.A.J. (2011). White spot syndrome virus (WSSV) risk factors associated with shrimp farming practices in polyculture and monoculture farms in the Philippines. *Aquaculture* **311:**87-93.
25. Vaseeharan, B. Jayakumar, R. Ramasamy, P. (2003). PCR-based detection of white spot syndrome virus in cultured and captured crustaceans in India. *Letters in Applied Microbiology* **37:**443–447.
the coast of India. *Current Science* **82:**1392-1397.
7. Chapman, R.W. Browdy, C.L. Savin, S. Prior, S. Wenner, E. (2004). Sampling and evaluation of white spot syndrome virus in commercially important Atlantic penaeid shrimp stocks. *Diseases of Aquatic Organisms* **59:**179-158.
8. Chou, H. Huang, C. Lo, C. Kou, G. (1998). Studies on transmission of white spot syndrome associated baculovirus (WSBV) in *Penaeus monodon* and *P. japonicus* via waterborne contact and oral ingestion. *Aquaculture* **164:**263-276.
9. De la Peña, L.D. Lavilla-Pitogo, C.R. Villar, C.B. Paner, M.G. Sombito, C.D. Capulos G,C. (2007). Prevalence of white spot syndrome virus (WSSV) in wild shrimp *Penaeus monodon* in the Philippines. *Diseases of Aquatic Organisms* **77:**175-179.
10. Dhar, A.K. Cowley, J.A. Hasson, K.W. Walker, P.J. (2004). Genomic organization, biology, and diagnosis of Taura syndrome virus and yellowhead virus of penaeid shrimp. *Advances in Virus Research* **63:**353.
11. East, I.J. Black, P.F. McColl, K.A. Hodgson, R.A.J. Bernoth, E.M. (2004). Survey for the presence of white spot syndrome virus in Australian crustaceans. *Australian veterinary journal* **82:**236-240.
12. FAO. (2004). Health management and biosecurity maintenance in white shrimp (*Penaeus vannamei*) Hatcheries in Latin America. FAO Fisheries Technical Paper. No. 450. Rome: 58.
13-Flegel, T.W. Itsathitphaisarn, O. (2016). Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. *Aquaculture* **452:**69-87.
14. Flegel, T.W. Lightner, D.V. Lo, C.F. Owens, L. (2008). Shrimp disease control: past, present and future. Diseases in Asian Aquaculture VI. *Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines*, **505:**355-378.
15. Hasan, M.M. Hoque, M.N. Ahmed, F. Haque, M.I. Sultana, M. Hossain, M.A. (2022). Circulating phylotypes of white spot syndrome virus in Bangladesh and their virulence. *Microorganisms* **10:**191.
16-International Office of Epizootics. Aquatic Animal Health Standards Commission. (2019).

26. Walker, P.J. Winton, J.R. (2010). Emerging viral diseases of fish and shrimp. *Veterinary Research* **41:**51.
27. Wang, W.J. (2020). Evaluation and ecological safety of the proliferation and release of Chinese shrimp. Section 4 Analysis and evaluation of the effect of artificial proliferation and release on pathogen microbial transmission. Beijing: China Agricultural Press: **120:**30.
28. Xu, T. Shan, X. Li, Y. Yang, T. Teng, G. Wu, Q. Wang, C. Tang, K.F. Zhang, Q. Jin, X. (2020). Investigation of white spot syndrome virus (WSSV) infection in wild crustaceans in the Bohai Sea. *bioRxiv* **12:**1-15.
29. Zhang, Q.L. Xu, T.T. Wan, X.Y. Liu, S. Wang, X.H. Li, X.P. Dong, X. Yang, B. Huang J. (2017). Prevalence and distribution of covert mortality nodavirus (CMNV) in cultured crustacean. *Virus Research* **2:**113-119.
30. Zhu, F. Twan, W.H. Tseng, L.C. Peng, S.H. Hwang, J.S. (2019). First detection of white spot syndrome virus (WSSV) in the mud shrimp *Austinogebia edulis* in Taiwan. *Scientific Reports* **9:**18572.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 18, Issue 2, Autumn & Winter 2023

Detection of White Spot Virus in Wild Sources of Boyrat Shrimp Breeding Site in Bushehr Province

Reza Mousaei[1], Reza Salighehzadeh[1*], Behnam Pedram[1]

1. Graduate of Veterinary medicine, Department of Veterinary, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

2. Assistant Professor, Department of Veterinary, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

Received: 14 March 2023 *Accepted: 14 June 2023*

Abstract

Shrimp diseases are one of the major limitations for increasing shrimp production, and the cause of white spot disease is the most important pathogenic virus in shrimps, which causes irreparable damage to the shrimp farming industry. Therefore, the purpose of the present study was to trace the white spot virus in wild sources at the Boyrat shrimp breeding site in Bushehr province. The present study was performed in Boyrat shrimp breeding complex of Bushehr province by sampling of wild resources. DNA was extracted from 20 samples of wild resources collected included: three samples of Metapenaeus ensis, one sample of Saurida tumbil, one sample of Terapon puta, ten samples of mud crab, two samples of blue crab and two samples of Litopenaus vannamei post larvae during preparation, grow out and harvesting from ponds and white spot virus was detected with PCR test. The results obtained in the present study indicated that the most positive cases are related to grow out stage (83.3 %) and harvesting stage (28.6 %) and in the preparation phase, the frequency of the disease was 0%. In total, 35% of cases (Metapenaeus ensis, small blue crab and small mud crab) were infected with white spot disease in all cases. The highest frequency of infection with the mentioned virus was in Metapenaeus ensis (100 %), small blue crab (100 %), and small mud crab (33.3 %), respectively. In total, among all studied species, 25% infection with white spot disease was observed. According to the results obtained in the present study, in order to prevent pollution in shrimp ponds, it is recommended to use different management methods to prevent wild sources from entering the ponds.

Keywords: White Spot Disease, Litopenaus vannamei, Boyrat, wild sources, PCR

**Corresponding author: Reza Salighehzadeh*
Address: Department of Veterinary, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran
E. mail: rezasalighehzadeh@yahoo.com