magiran.com



# بررسی میزان شیوع ویروس بیماری لکه سفید (WSDV) در مراکز تکثیر و مزارع پرورش میگوی پاسفید پرورشی (*Litopenaeus vannamei*) استان بوشهر

امراله قاجاری[1] *؛ آذر صیدی[2]؛ کامران آبسالان فرد [3]؛ حسین یاوری[4] و مجید کوثری[5]

١ و ٤- دفتر بهداشت و مبارزه با بیماریهای آبزیان، سازمان دامپزشکی کشور، تهران

صندوق پستی ٦٣٤٩-١٤١٥٥

٣،٢ و٥ – اداره کل دامپزشکی استان بوشهر

تاریخ دریافت: اسفند ١٣٨٦ تاریخ پذیرش: دی ١٣٨٨

## چکیده

این مطالعه به منظور بررسی میزان شیوع ویروس بیماری لکه سفید (WSDV) white spot disease virus در میگوهای پاسفید پرورشی (*Litopenaeus vannamei*) در استان بوشهر با فرض ۲ درصد شیوع ویروس در جمعیت هدف در دو فاز جداگانه از خرداد ماه تا مهرماه سال ۱۳۸۵ صورت گرفت. در فاز اول در مزارع تکثیر تعداد ۲۰۰ نمونه که هر نمونه حاوی ۱۵۰ عدد پست لارو با میانگین سن ۷ روزگی بود از ۳ مزرعه تکثیر فعال استان جمع‌آوری و به آزمایشگاه ارسال گردید. در آزمایشگاه، به منظور افزایش شانس ردیابی ویروس هر نمونه به ۳-۴ قسمت ۵۰-۴۰ قطعه‌ای تقسیم و به روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز دومرحله‌ای (Nested PCR) با استفاده از کیت تجاری IQ2000 مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج حاصله همگی منفی و نشانگر عاری بودن پست لاروهای ذخیره شده به ویروس لکه سفید بود. متعاقباً در فاز دوم تعداد ۲۶۸ نمونه از میگوهای موجود در ۴۱۸ استخر موجود در ۵ مجتمع پرورشی فعال به صورت تصادفی جمع‌آوری و به روش فوق مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج بدست آمده نشاندهندهٔ عاری بودن نمونه‌ها به ویروس لکه سفید بودند. با توجه به روش نمونه‌برداری، حساسیت و اختصاصیت روش آزمایش می‌توان نتیجه‌گیری کرد که میگوهای پاسفید پرورشی استان بوشهر تا پایان دوره پرورشی فاقد ویروس بودند.

**لغات کلیدی:** میگو، *Litopenaeus vannamei* پیشگیری، واکنش پلی مراز زنجیره‌ای

*نویسندهٔ مسئول: amrellahghajari@yahoo.com

magiran.com



## مقدمه

پرورش میگوهای دریایی دارای حداقل یک قرن سابقه در اغلب کشورهای شرق آسیا می‌باشد ولی تا دهه ۸۰ میلادی، کشت میگو عمدتاً به عنوان کشت ثانویه در مزارع پرورش ماهی به حساب می‌آمد (Kungvankij, 1984). پرورش میگو از سال ۱۹۸۰ به بعد به طور قابل ملاحظه‌ای در سراسر دنیا گسترش پیدا نمود و امروزه رشد سالانه تولیدات میگوهای پرورشی بین ۲۰-۱۵ درصد تخمین زده می‌شود (Rosenberry, 2003). در دهه اخیر، بدلیل شیوع بیماریهای ویروسی میگو، پرورش‌دهندگان متحمل خسارات قابل ملاحظه‌ای شده‌اند. در قاره آسیا (نیمکره شرقی) مرگ و میر میگوهای پرورشی ناشی از ویروس سندرم لکه سفید (WSSV) و ویروس کله زرد (Yellow Head Virus) باعث خسارات اقتصادی هنگفتی شده است. بعلاوه ویروس سندرم تورا (Taura Syndrome Virus) نیز اخیراً وارد این قاره شده است (Flegel & Alday-Sanz, 1998). به همین صورت در نیمکره غربی ویروس لکه سفید و ویروس سندرم تورا باعث خسارت قابل توجه‌ای به پرورش‌دهندگان میگو شده است (Lightner, 2003). عمده این خسارت‌ها ناشی از دست رفتن محصول، بیکار شدن کارگران و از دست رفتن منافع تجاری حاصل از صادرات میگو می‌باشد. براساس برآوردهای صورت گرفته خسارت ناشی از این بیماری ها تاکنون بیش از ۱۰ میلیارد دلار ارزیابی می شود (Lightner & Pantoja, 2005). ویروس لکه سفید یکی از مسری ترین ویروسهای عفونی میگوهای خانواده پنائیده می‌باشد (Vaseeharan *et al.*, 2003).

اولین رخداد بیماری لکه سفید WSSD در سال ۱۹۹۲ در تایوان گزارش گردید (Chou *et al.*, 1995). بلافاصله در ژاپن در سال ۱۹۹۳ یک بیماری حاد ویروسی در میگوهای kurama پرورشی رخ داد (Nakano *et al.*, 1994). پست لاروهای میگوهای ذکر شده از چین وارد شده بودند. این بیماری تحت عنوان ویرمی حاد پنائیده (Penaeid Acute Viremia) و ویروس عامل ایجاد کننده آن تحت عنوان ویروس میله‌ای شکل DNAدار پنائیده [Penaeid Rod-shaped DNA virus (PRDV)] گزارش گردید (Inouya *et al.*, 1996). بیماری WSSD همچنین در سال ۱۹۹۳ از کره گزارش شد (Park *et al.*, 1998). سپس بیماری به کشور تایلند گسترش یافته و در سال ۱۹۹۴ از آنجا گزارش گردید (Wongteerasupaya *et al.*, 1995). بعلاوه بیماری در همین سال در هند نیز گزارش گردید (Karunasgar & Otta, 1997) و نهایتاً در سال ۱۹۹۹ بیماری در مزارع پرورش میگو فیلیپین در فاصله بسیار دورتری از سایر کشورهای شرق و جنوب شرق آسیا گزارش گردید (Magbanua *et al.*, 2000). اخیراً این بیماری بطور وسیعی در سراسر دنیا گسترش پیدا کرده و نه تنها در کشورهای آسیایی بلکه در کشورهای آمریکایی از جمله ایالات متحده امریکا (Lightner, 1996) آمریکای مرکزی و آمریکای جنوبی نیز گزارش گردیده است (O.I.E., 2006). در ایران، برای اولین بار در سال ۱۳۸۱، تلفات میگوهای پرورشی سفید هندی (*Penaes indicus*) ناشی از این بیماری در منطقه چوئبده آبادان گزارش گردید (افشارنسب و تمجیدی، ۱۳۸۲). متعاقباً در سال ۱۳۸۴، طبق گزارش ادارهٔ کل دامپزشکی استان بوشهر، بیماری در ۱۵۸۰ استخر متعلق به ۵ مجتمع پرورشی استان بوشهر بروز کرد و باعث تلفات گسترده و از بین رفتن بیش از ۵۰۰۰ تن میگو گردید. به منظور کنترل و پیشگیری از بیماری اقداماتی از جمله معدوم و ضدعفونی کردن استخرهای درگیر، واردات مولدین میگوی پاسفید غربی به صورت مولدین عاری از بیماری (SPF) و مقاوم به بیماری (SPR)، افزایش اقدامات امنیت زیستی در مزارع تکثیر و پرورش صورت گرفت.

هدف از این تحقیق، بررسی وجود ویروس در میگوهای پاسفید در مزارع تکثیر و پرورش استان بوشهر به منظور حصول اطمینان از اثر بخشی اقدامات فوق می‌باشد.

## مواد و روش کار

به منظور بررسی وجود ویروس لکه سفید در میگوهای پرورشی پاسفید غربی به دست آمده از مولدین وارداتی، عملیات نمونه برداری در دو فاز جداگانه (فاز اول در مراکز تکثیر از فروردین لغایت تیرماه و فاز دوم در مزارع پرورشی از خرداد لغایت مهرماه سال ۱۳۸۵) صورت گرفت. نمونه های جمع آوری شده در یخ یا الکل اتانول ۷۰ درجه به آزمایشگاه منتقل شدند و آزمایش PCR دو مرحله‌ای بر روی آنها صورت گرفت. در هنگام نمونه‌برداری تانکها و استخرها از لحاظ هر گونه حالت غیرطبیعی مورد بررسی قرار گرفتند.

در فاز اول، نمونه‌برداری روی پست لاروهای ۵ روزه به بالا (میانگین سن ۷ روزه) تولید شده در ۳ مرکز تکثیر فعال استان بوشهر صورت گرفت (جدول ۱).

magiran.com



**جدول ۱ : تعداد کل پست لاروهای تولید شده در استان بوشهر به تفکیک مراکز تکثیر و نمونه‌های گرفته شده از فروردین تا تیرماه سال ۱۳۸۵**

| مرکز تکثیر | تعداد بچه میگو تولید شده | تعداد نمونه گرفته شده |
|---|---|---|
| زادآوری مند میگو | ۵۷۰۰۰۰۰۰ | ۱۱۵ |
| میگو ارغوانی | ۳۰۰۰۰۰۰۰ | ۵۲ |
| لاروپروران جنوب | ۱٦۰۰۰۰۰۰ | ۳۳ |
| جمع کل | ۱۰۳۰۰۰۰۰۰ | ۲۰۰ |

عملیات نمونه‌برداری با استفاده از جدول Wedemeyer و Ossiander و با فرض شیوع ۲ درصد و حد اطمینان ۹۵ درصد و وجود بیش از ۱۰۰۰۰۰ عدد پست لارو میگو در هر تانک صورت گرفت (O.I.E., 2006 ;Bondad-Reantaso *et al.*, 2001). بدین ترتیب از ۵ نقطه هر تانک موجود در مراکز تکثیر تعداد ۱۰۰۰ عدد پست لارو جمع‌آوری و در یک تشت ریخته و خوب بهم زده، سپس از وسط تشت تعداد ۱۵۰ عدد پست لارو برداشته و به عنوان یک نمونه در ظروف پلاستیکی تازه و دربدار با رعایت مراقبت کافی جهت کاهش آلودگی جانبی و در محیط نگهدارنده اتانول ۷۰ درصد یا به صورت تازه در آب و در مجاورت یخ بسته‌بندی و به آزمایشگاه مرکز تشخیص میگو منتقل گردیدند. به منظور افزایش دقت بررسی، نمونه‌های ارسال شده که شامل ۱۵۰ عدد پست لارو بود به ۴-۳ قسمت کوچکتر ۴۰ - ۵۰ قطعه‌ای تقسیم شدند.

فاز دوم نمونه‌برداری در مزارع پرورشی، ۳۰ روز پس از ذخیره‌سازی پست لاروها آغاز گردید. با توجه به تعداد استخرهای ذخیره‌سازی شده، در این مرحله کل ۴۱۸ استخر موجود در ۵ مجتمع پرورشی استان، به عنوان جمعیت هدف فرض شده و با فرض شیوع ۲ درصد براساس جدول Wedemeyer و Ossiander از ۱۲۷ استخر نمونه‌برداری شد. در هر استخر نمونه‌ها از چهار نقطه مختلف استخر و از سینی‌های غذادهی جمع‌آوری شدند و به روش فوق به آزمایشگاه ارسال و مورد آزمایش قرار گرفتند. از طرفی استخرها به صورت هفتگی بازدید و در صورت مشاهده هر گونه مشکلی اعم از تلفات، بی اشتهایی، بی حالی، شنای غیرطبیعی و... نمونه‌برداری صورت گرفت که جمعاً تعداد ۱۴۱ نمونه از استخرهای دارای مشکل بهداشتی جمع‌آوری شدند (جدول ۲).

در آزمایش روی پست لاروها، هر واکنش PCR شامل ۴۰-۵۰ پست لارو با میانگین سن ۷ روزه و در آزمایش بر روی میگوهای در حال رشد هر واکنش شامل ۲ قطعه پای شنا یا تکه‌ای از آبشش به وزن تقریبی ۲۰ میلی‌گرم بود.

**جدول ۲ : مجتمع‌های پرورشی فعال استان بوشهر در سال ۱۳۸۵ به تفکیک تعداد مزرعه و تعداد استخر فعال و نمونه‌های گرفته شده از هر کدام**

| ردیف | نام سایت | تعداد مزرعه | تعداد استخر | تعداد نمونه گرفته شده براساس جدول نمونه‌برداری | تعداد نمونه‌های مشکوک ارجاع شده | جمع کل نمونه‌های گرفته شده |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | حله | ۱۲ | ۱٦۵ | ۳۸ | ۲٦ | ٦٤ |
| ۲ | دلوار | ۷ | ۵۷ | ۳٤ | ۲۱ | ۵۵ |
| ۳ | مند | ۷ | ۹۱ | ۲۳ | ٦۳ | ۸٦ |
| ٤ | بندر ریگ | ۵ | ۸۳ | ۱۸ | ۰ | ۱۸ |
| ۵ | شیف | ۲ | ۲۲ | ۱٤ | ۳۱ | ٤۵ |
| | جمع | ۳۳ | ٤۱۸ | ۱۲۷ | ۱٤۱ | ۲٦۸ |

magiran.com



DNA نمونه‌های مذکور به روش CTAB –DTAB یا روش Lysis Buffer براساس دستورالعمل کیت IQ2000 ساخت شرکت .Farming IntelliGene Tech.corp کشور تایوان استخراج و مورد آزمایش Nested PCR جهت ردیابی ویروس لکه سفید میگو قرار گرفتند.

در واکنش PCR پرایمرهای مورد استفاده در آزمایش توسط شرکت سازنده کیت، طراحی و در مرحله اول باعث تولید قطعه DNA با وزن ۵۵۰bp می‌گردد ودر مرحله دوم PCR، پرایمرهای طراحی شده باعث تولید قطعه DNA به وزن۲۹۶bp می‌گردند.

بعد از اتمام واکنش‌ها نمونه‌ها را در ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز وارد نموده و با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و با استفاده از نور UV نتایج قرائت گردید.

## نتایج

با توجه به دستورالعمل کیت IQ2000 مشاهده باندهای شکل گرفته بدین ترتیب است که در نمونه‌های منفی فقط باند ۸۴۸bp مشاهده می‌گردد و در نمونه‌های مثبت باندها ۲۹۶bp یا ۵۵۰bp شکل می‌گیرد. بر این اساس در نمونه‌های آزمایش شده هیچگونه باندی در ۲۹۶bp و ۵۵۰bp مشاهده نگردید و فقط باند در ۸۴۸bp مشاهده گردید (شکل ۱). شکل گیری باندهای کنترل مثبت، شکل‌گیری باند کنترل داخلی و عدم شکل‌گیری باند در ستون کنترل منفی نشاندهندهٔ آن است که کلیه مراحل PCR به خوبی انجام شده است. از آنجائیکه در این روش حداقل سطح ردیابی ۱۰ کپی ژنوم ویروس بازای هر واکنش است می‌توان نتیجه‌گیری کرد نمونه‌ها با این سطح ردیابی فاقد DNA ویروس بوده و میگوهای مورد آزمایش عاری از ویروس لکه سفید بودند. نتایج حاصل بر روی نمونه‌های ارسال شده در جداول ۳ و ۴ آورده شده است. بعلاوه در مشاهدات بالینی نیز هیچگونه نشانه‌ای از بیماری لکه سفید گزارش نگردید. علامت شاخص بیماری، وجود و بروز لکه‌های سفید بر روی پوسته و مرگ و میر بالا مورد نظر بود.

**جدول ۳: تعداد نمونه‌های ارسال شده و تعداد آزمایشات انجام شده و نتایج حاصله به تفکیک مراکز**

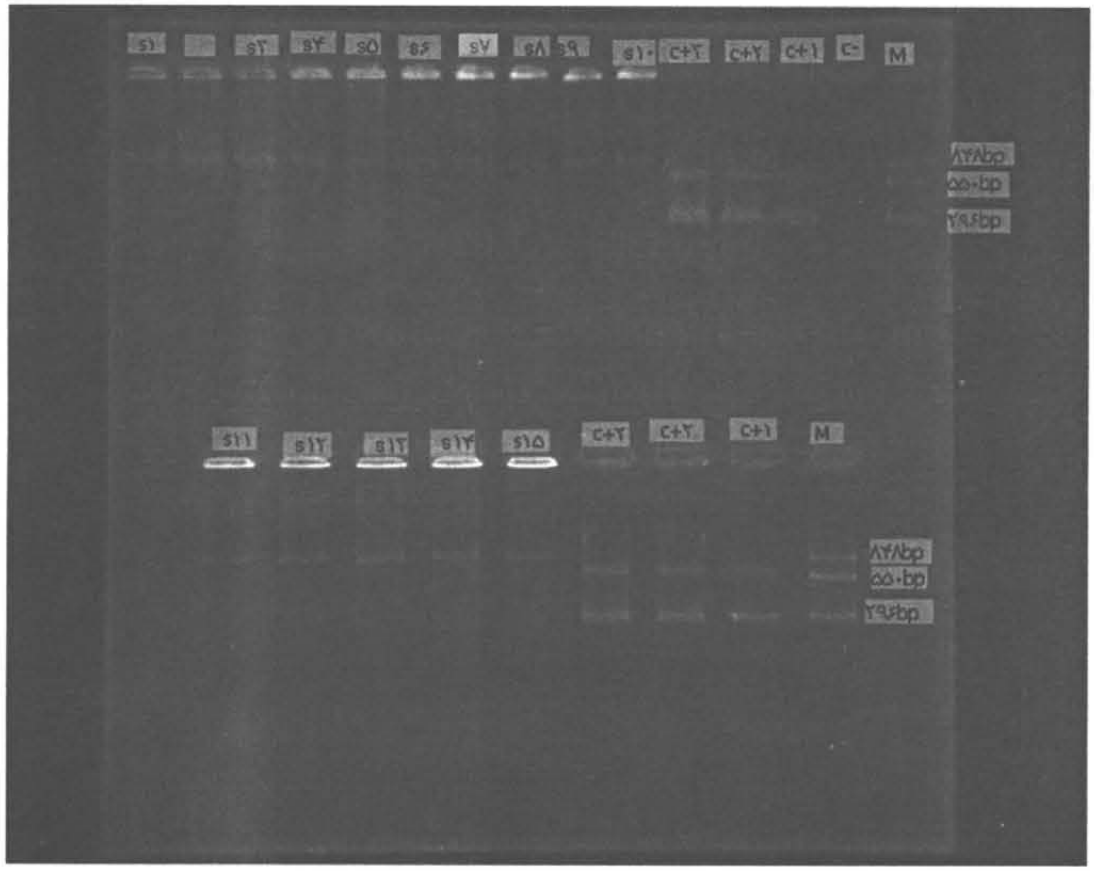
| مرکز تکثیر | تعداد نمونه‌های ارسال شده | تعداد آزمایشات PCR انجام شده | نتیجه آزمایش | وضعیت ظاهری |
|---|---|---|---|---|
| زادآوری مند میگو | ۱۱۵ | ٤٤٥ | منفی | فاقد علائم کلینیکی لکه سفید |
| میگوی ارغوانی | ۵۲ | ۱٦۲ | منفی | فاقد علائم کلینیکی لکه سفید |
| لاروپروران جنوب | ۳۳ | ٤۹ | منفی | فاقد علائم کلینیکی لکه سفید |
| جمع کل | ۲۰۰ | ٦۵٦ | منفی | فاقد علائم کلینیکی لکه سفید |

**جدول ٤ : تعداد نمونه‌ها و آزمایشات انجام شده مزارع پرورشی و نتایج حاصله**

| نام سایت | نوع نمونه | تعداد نمونه | نتیجه آزمایش | وضعیت ظاهری |
|---|---|---|---|---|
| مند | میگو پرورشی | ۸٦ | منفی | فاقد علائم کلینیکی لکه سفید |
| دلوار ۱۸ | میگو پرورشی | ۵۵ | منفی | فاقد علائم کلینیکی لکه سفید |
| حله | میگو پرورشی | ٦٤ | منفی | فاقد علائم کلینیکی لکه سفید |
| بندر ریگ | میگو پرورشی | ۱۸ | منفی | فاقد علائم کلینیکی لکه سفید |
| شیف | میگو پرورشی | ٤۵ | منفی | فاقد علائم کلینیکی لکه سفید |
| جمع کل | | ۲٦۸ | منفی | |

magiran.com






**شکل ۱: محصول Nested PCR و وجود باندهای رسوبی ۸٤۸bp نشانگر حضور ژنوم میگو بوده و عملکرد صحیح آزمون (کنترل داخلی) و عدم وجود باند رسوبی در ۵۵۰bp و ۲۹٦bp نشانگر عدم حضور ژنوم ویروس لکه سفید می‌باشد.**

**M: نشانگر وزن مولکولی ، ۸۴۸bp، ۶۳۰bp، ۳۳۳bp؛ ۳ +C: استاندارد کنترل مثبت با ۲۰۰۰ کپی / واکنش؛۲ +C : استاندارد کنترل مثبت با ۲۰۰ کپی/واکنش؛ ۱ +C : استاندارد کنترل مثبت با ۲۰ کپی/واکنش؛ -C: کنترل منفی: tRNA مخمر یاddH2O و S1-S15 : نمونه‌های شماره ۱۵-۱ از پست لاروهای مورد آزمایش**

## بحث

در بررسی‌های میدانی هیچگونه علائمی دال بر بیماری لکه سفید مشاهده نگردید. اگرچه در ۱۴۱ نمونه مشکوک ارجاع شده علائمی نظیر کم اشتهایی، بی‌حالی، شنای غیرمعمول، تجمع دور استخر و مرگ و میر پایین مشاهده شد ولی بروز لکه‌های سفید بر روی کوتیکول به عنوان یکی از شاخص‌های کلینیکی بیماری در هیچ کدام ظاهر نگردید. از طرفی همانگونه که از نتایج آزمایشگاهی بر می‌آید با توجه به نوع طراحی نمونه‌برداری و نوع آزمایشات مورد استفاده با ۹۵ درصد اطمینان می‌توان گفت که میگوهای پرورشی پاسفید در مراکز تکثیر و استخرهای پرورشی استان بوشهر تا زمان برداشت فاقد ویروس بودند. با بررسی نتایج حاصل از مشاهدات بالینی می‌توان بیان نمود که نتایج آزمایشگاهی با نتایج بالینی کاملاً منطبق بوده و در این بررسی ویروس یا علائم کلینیکی مشابه بیماری لکه سفید در میگوهای پاسفید ردیابی نشد. از سال ۱۳۸۴ تاکنون حضور ویروس در مزارع تکثیر گزارش نگردیده است. به نظر می‌رسد مهمترین علت پاک بودن پست لاروهای مراکز تکثیر و میگوهای استخرهای پرورشی، استفاده از مولدین عاری از بیماری (Specific Pathogen Free) می‌باشد. استفاده از میگوهای عاری از عوامل بیماریزای خاص بخشی از یک طرح بزرگ برای کاهش مخاطرات بیماریها در پرورش میگوست. از آنجائیکه پست لاروها یکی از منابع اصلی ورود این عوامل به مزارع هستند، با تولید پست لارو از سویه‌های عاری از آن، از انتقال عوامل

magiran.com



بیماریزا کاسته می‌شود (Briggs *et al.*, 2004). استفاده از مولدین عاری از عوامل بیماری زای خاص نقش بسیار مهمی در جلوگیری از ورود ویروس به میگوها دارد (Lightner & Pantoja, 2005). سایر عوامل موثر در منفی بودن نتایج، ضدعفونی و استفاده از روشهای ریشه‌کنی به منظور کنترل شیوع بیماری، آماده‌سازی مناسب استخرها قبل از ذخیره‌سازی، فیلتر کردن آب ورودی در مراحل مختلف بخصوص با توری‌های ۵۰۰ میکرون، افزایش اقدامات امنیت زیستی در مزارع تکثیر و پرورش، غربالگری بچه میگوها قبل از ذخیره‌سازی با استفاده از آزمایش PCR، ارتقاء مدیریت مزارع جهت جلوگیری از بروز هر گونه استرس و تغییرات شدید محیطی و پایش منظم استخرها به منظور ردیابی ویروس می‌باشد (Lightner, 2003). انجام اقدامات سریع و صحیح بایستی به عنوان اصلی‌ترین هدف پس از شیوع بیماری در نظر گرفته شود تا باعث جلوگیری از گسترش ویروس به سایر استخرهای یک مزرعه یا به سایر مزارع در یک ناحیه و به محیط آبی سواحل شود (Mohan *et al.*, 2005). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق به نظر می‌رسد اقدامات صورت گرفته باعث حذف و جلوگیری از ورود ویروس به مراکز تکثیر و پرورش گردد و می‌تواند به عنوان یک الگوی مناسب در صورت شیوع بیماریهای ویروسی در سایر استانها بکار گرفته شود.

## منابع

**افشارنسب، م. و تمجیدی ،ب. ، ۱۳۸۲.** علائم ظاهری و آسیب شناسی بیماری لکه سفید (White spot disease) در میگوی پرورشی سفید هندی (*Penause indicus*) در استان خوزستان. مجله علمی شیلات ایران، سال دوازدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۲، صفحات ۱۵ تا ۲۸.

**Bondad-Reantaso M.G., McGladdery S.E., East I. and Subasinghe R.P. (eds.), 2001.** Asia diagnostic guide to aquatic animal disease. FAO Fisheries Technical Paper, No.402, supplement 2, FAO. Rome, Italy. 240P.

**Briggs M., Funge-Smith S., Subasinghe R. and Phillips M., 2004.** Introduction and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific. RAP publication, Bangkok. Thailand. 79P.

**Chou H.Y., Huang C.Y., Wang C.H., Chiang H.C. and Lo C.F., 1995.** Pathogeneicity of a baculovirus infection causing White Spot Syndrome in cultured Penaeid shrimp in Taiwan. Disease of Aquatic Organism. 23:165-173.

**Flegel T.W. and Alday-Sanz V., 1998.** The crisis in Asian shrimp aquaculture, current status and future needs. Journal of Applied Ichthyology. No. 14, pp.269–273.

**Inouye K., Yamano K., Ikeda N., Kimura T., Nakano H., Momoyama K., Kobayashi J. and Miyajima S., 1996.** The Penaeid Rod-shaped DNA virus (PRDV) which causes penaeid acute viremia (PAV). Fish Pathology, 31:39-45.

**IQ2000, 2006.** Instruction manual of WSSV detection and prevention system. Farming IntelliGene. Tech. Corp. Taiwan. 19P.

**Karunasagar I. and Otta S.K., 1997.** Histopathological and bacteriological study of White Spot Syndrome of *Penaeus monodon* along the west coast of India. Aquaculture, 153:9-13.

**Kungvankij P., 1984.** Overview of penaeid shrimp culture in Asia. Paper presented at the 1st International Conference on shrimp/prawn culture. Dec. 1984. Iloilo, Philippines.

**Lightner D.V. and Pantoja C.P., 2005.** Methods for improving shrimp farming in Central America. Biosecurity in shrimp farming. pp.123-165.

**Lightner D.V. (ed.), 1996a.** A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 304P.

magiran.com



**Lightner D.V., 2003**. Exclusion of specific pathogens for disease prevention in a penaeid shrimp biosecurity program. *In*: C.-S. Lee and P.J. O'Bryen (eds.). Biosecurity in Aquaculture Production Systems: Exclusion of Pathogens and Other Undesirables. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. pp.81-116.

**Lo C.F., Leu J.H., Chen C.H., Peng S.E., Chen Y.T., Chou C.M., Yeh P.Y., Huang C.J., Chou H.Y., Wang C.H. and Kou G.H., 1996.** Detection of baculovirus associated with White Spot Syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. Disease of Aquatic Organism, 25:133-141.

**Magbanua F.O., Natividad K.T., Migo V.P., Alfafara C.G., de la Pena F.O., Miranda R.O., Albaladejo J.D., Nadala Jr. E.C.B., Loh P.C. and Mahilum-Tapay L., 2000.** White Spot Syndrome Virus (WSSV) in cultured *Penaeus monodon* in the Philippines. Disease of Aquatic Organism, 42:77-82.

**Mohan C.V., Corsin F. and Padiyar P.A., 2005**. Farm–level biosecurity and White Spot Disease (WSD) of shrimp. Aquaculture Health International. Issue 3, November 2005, pp.16-20.

**Nakano H., Koube H., Umezawa S., Momoyama K., Hiraoka M., Inouye K. and Oseko N., 1994.** Mass mortalities of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: Epizootiological survey and infection trials. Fish Pathology, 29:135-139.

**O.I.E., 2006.** Diagnostic manual for aquatic animal diseases. 4th Edition. Office International des Epizooties (OIE). Paris, France. 358P.

**Park J.H., Lee Y.S., Lee S. and Lee Y., 1998.** An infectious viral disease of penaeid shrimp newly found in Korea. Disease of Aquatic Organism, 23:165-173.

**Pinij K., 1984.** Overview of penaeid shrimp culture in Asia, FAO/ NACA/WP/84/11 Project reports (not in a Series), No. 11, 29P.

**Rosenberry B., 2003.** World Shrimp Farming 2003. Published by Shrimp News International, San Diego and CA. 276P.

**Vaseeharan B., Jayakumar R. and Ramasamy P., 2003.** PCR-based detection of white spot syndrome virus in cultured and captured crustaceans in India. Applied Microbiology, 37:443–447.

**Wongteerasupaya C., Vickers J.E., Sriurairatana S., Nash G.L., Alarajamorn A., Boonsaeng V., Panyim S., Tassanakajon A., Withyachumnarkul B. and Flegel T.W., 1995.** A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. Disease of Aquatic Organism, 21:69-77.

magiran.com

Iranian Scientific Fisheries Journal Vol. 18, No. 4, Winter 2010

# Prevalence rate of white spot syndrome virus (WSSV) in farmed white leg shrimp *(Litopenaeus vannamei)* in Bushehr province

**Ghajari A.[(1)*]; Saidy A.[(2)]; Absalanfard K.[(3)]; Yavari H.[(4)] and Kosari M.[(5)]**

1, 4- Iran Veterinary Organization, P.O.Box: 14155-6349 Tehran, Iran

2, 3 & 5- Veterinary Main Office of Bushehr Province

Received: February 2008 Accepted: January 2010

**Keywords:** Shrimp, *Litopenaeuse vannamei*, Prevention, Nested PCR

## Abstract

We surveyed presence of white spot syndrome virus (WSSV) in farmed white leg shrimp in Bushehr province with assumed a prevalence of 2% of virus in target population. Hence, 468 samples were collected in two separate phases from May to October 2006. In the first phase, 200 samples (each sample was 150 pieces of post larvae with average age 7 days) were taken from 3 active hatcheries and in the second phase, 268 samples from 418 ponds in 5 sites were collected. Samples were tested by "Nested PCR" for detection of WSSV with IQ2000 commercial kits. Results were negative and with respect to sampling method and sensitivity and specifity of Nested PCR we concluded that cultured shrimps were free of WSSV in 2006 in Bushehr province.

* Corresponding author: amrellahghajari@yahoo.com