

بررسی بیماریزایی ویروس سندرم لکه سفید (White Spot Syndrome Virus) در میگوی پاسفید (*Litopenaeus vannamei*)

محمد افشار نسب^{(۱)*}؛ عقیل دشتیان نسب^(۲) و وحید یگانه^(۳)

mafsharnasab@yahoo.com

۱- موسسه تحقیقات شیلات، تهران صندوق پستی ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵
۲ و ۳- مرکز تحقیقات میگوی کشور، بوشهر صندوق پستی: ۱۳۷۴
تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۵

چکیده

بیماریزایی ویروس لکه سفید (WSSV) در میگوی پاسفید با در معرض قرار دادن یکصد عدد میگوی چهل روزه عاری از بیماری در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. در میگوهای مورد آزمایش با انجام Polymerase Chain Reaction (PCR) با کیت تشخیص بیماری لکه سفید (White Spot Disease) بنام Shrimp PC₂R_e Simplex و مشاهده علائم بالینی، از عدم وجود ویروس در آنها اطمینان حاصل شد. این ویروس با استفاده از بافت میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) که علائم مشخص بیماری لکه سفید را نشان داده بود (با PCR نیز وجود ویروس در آنها تایید شده بود)، بصورت خوراکی و به مدت ۲۴ ساعت به میگوهای سالم داده شد. نتایج آزمایش نشان داد که میگوهای پاسفید بعد از سه روز علائم بالینی بیماری لکه سفید را نشان داده که با PCR بیماری در آنها تایید گردید. کلیه میگوهای مورد آزمایش بعد از ده روز از بین رفتند. در میگوهای پاسفید شاهد که در معرض ویروس قرار نگرفته بودند هیچگونه علائمی از بیماری و مرگ و میر مشاهده نگردید.

کلمات کلیدی: میگوی پاسفید، *Litopenaeus vannamei*، بیماری لکه سفید، ویروس سندرم لکه سفید (WSSV)

مقدمه

بیماری لکه سفید (WSD) یکی از مهمترین بیماریهای میگو می‌باشد و سالیانه باعث تلفات سنگینی در میگوهای پرورشی دنیا می‌گردد (افشارنسب و همکاران، ۱۳۸۴؛ Chou *et al.*, 1995؛ Fiegel, 1997). در ایران طی سالهای ۱۳۸۱ و ۱۳۸۴ این بیماری باعث تلفات سنگینی در میگوهای پرورشی سفید هندی در استانهای بوشهر و خوزستان گردید (تخم افشان و تمجیدی، ۱۳۸۲؛ افشارنسب و اکبری، ۱۳۸۴؛ افشارنسب و همکاران، ۱۳۸۴؛ Tokhmafshan *et al.*, 2004).

به منظور ایجاد تنوع گونه‌ای و معرفی میگوهایی که مقاومت بیشتری به بیماری لکه سفید داشته باشند، موسسه تحقیقات شیلات ایران تعداد ۸۰ جفت میگوی مولد پاسفید (*Litopenaeus vannamei*) را از کشور آمریکا وارد و نسبت به تکثیر و پرورش آنها اقدام نمود.

میگوی پاسفید از سال ۱۹۷۰ به کشورهای آمریکای لاتین از جمله مکزیک، اکوادور و کشور آمریکا معرفی گردیده و از سال ۱۹۷۸ به کشورهای آسیا از جمله چین و تایلند معرفی شده است (Briggs *et al.*, 2004). ویژگیهای این گونه از جمله رشد سریع، مقاومت در برابر بعضی بیماریها، تحمل درجه حرارت‌های بین ۱۵ تا ۴۰ درجه سانتیگراد، تحمل شوری‌های مختلف از ۰/۵ تا ۴۵ ppt، جیره غذایی با پروتئین گیاهی و امکان ذخیره‌سازی ۶۰ تا ۱۵۰ عدد پست لارو باعث گردیده است که پرورش آن در آسیا و سایر کشورها روز به روز گسترش یافته و در حال حاضر بعنوان اولین گونه از نظر میزان تولید در آسیا شناخته شود (Briggs *et al.*, 2004).

بنابه اظهار نظر Wyben و Sweeny (۱۹۹۱) میگوی پاسفید نسبت به پاره‌ای از بیماریهای ویروسی در مقایسه با میگوی سفید (*Litopenaeus setiferus*) مقاوم می‌باشد. در حالیکه براساس گزارش Rosenberry (۲۰۰۲) این میگو نیز به تعدادی از ویروسها از جمله ویروس لکه سفید (WSSV)، ویروس Taura Syndrome (TSV) حساس است و می‌تواند ناقل ویروس Infection Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHNV) و ویروس Lymphoid Organ Vaculization Virus (LOVV) باشد (Rosenberry, 2002). با این وجود تعدادی از پرورش‌دهندگان در آسیا از جمله در کشورهای چین و تایلند بر این اعتقادند که میگوی پاسفید به بیماریهای لکه سفید (WSD) و بیماری کله

زرد (YHD) yellow head disease مقاوم بوده و نسبت به پرورش و تجارت این گونه اقدام می‌نمایند (Briggs *et al.*, 2004).

تزیق ویروس لکه سفید (WSSV) در شرایط آزمایشگاهی به میگوی پاسفید نشان داده است که این میگو به ویروس حساس و ۱۰۰ درصد مرگ و میر طی ۲ تا ۴ روز بعد از تزریق ویروس اتفاق می‌افتد و مشخص می‌گردد که بیماریزایی این ویروس در این میگو مشابه میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) و میگوی ژاپونیکوس (*Penaeus japonicus*) می‌باشد (Tapay *et al.*, 1997).

همچنین Lightner و همکاران در سال ۱۹۹۸ به صورت آزمایشگاهی نسبت به ایجاد بیماری لکه سفید (WSD) و بیماری (YHD) در چهار گونه میگو از جمله میگوی پاسفید اقدام و مشاهده نمودند ۱۰۰ درصد مرگ و میر در این میگو ایجاد می‌شود (Lightner *et al.*, 1998). با این وجود تا به امروز در شرایط طبیعی در کشورهای آسیایی بویژه چین و تایلند مرگ و میری ناشی از بیماری لکه سفید (WSD) و بیماری کله زرد (YHD) در میگوی پاسفید گزارش نگردیده است. در حالیکه این ویروسها در محیط نیز وجود داشته‌اند و معمولاً میزان بازماندگی در این مزارع به ۸۰ تا ۹۰ درصد می‌رسد و در مواردی نیز که تلفاتی در این گونه گزارش گردیده، از ناحیه ویروس (TSV) بوده است (Briggs *et al.*, 2004).

با توجه به تلفات ناشی از ویروس لکه سفید در ایران طی سالهای ۱۳۸۱ و ۱۳۸۴ موسسه تحقیقات شیلات به منظور تنوع گونه‌ای و معرفی گونه‌هایی که به بیماری لکه سفید مقاومت بیشتری داشته باشند، نسبت به انتقال، تکثیر و پرورش میگوی پاسفید که به صورت میگوهای عاری از پاتوژن Specific Pathogen Free بودند، اقدام و نتایج ارزنده‌ای حاصل گردید. هدف از اجرای این تحقیق بررسی بیماریزایی ویروس بیماری لکه سفید در شرایط آب و هوایی ایران در میگوی پاسفید و تعیین میزان مقاومت و حساسیت این گونه میگو به ویروس می‌باشد.

مواد و روش کار

برای انجام تحقیق، ۱۰۰ عدد میگوی جوان ۴۰ روزه به وزن ۳ گرم و با اندازه ۳ سانتیمتر را به چهار گروه تقسیم نموده و هر گروه در یک آکواریوم ۱۰۰ لیتری قرار داده شدند. میگوهای

قسمت در هزار، pH بین ۷/۵ تا ۸ و اکسیژن بین ۶ تا ۶/۵ میلی گرم در لیتر با هوادهی که در آکواریومها نصب بود تنظیم گردید.

به مدت ۱۰ روز در هر آکواریوم تعداد میگوهای سالم و میگوهای تلف شده ثبت و میگوهای تلف شده بعد از ثبت علائم بالینی (وجود لکه سفید و قرمز شدن دست و پا) در الکل ۹۵ درصد جهت انجام آزمایش PCR نگهداری شدند. همچنین میگوهایی که در آکواریومها بی حال بودند نیز از جمع میگوهای سالم جدا شدند و در الکل جهت آزمایش PCR قرار گرفتند.

نتایج

نتایج حاصل از در معرض قرار گرفتن میگوهای پاسبید در برابر ویروس بیماری لکه سفید (WSSV) در جدول (۱) نشان داده شده است. همانگونه که از جدول (۱) مشاهده می شود میگوهای پاسبید از روز اول تا روز سوم تلفاتی نداشته و فاقد علائم بالینی بیماری از جمله بروز لکه های سفید و قرمز شدن بدن بودند. ولی آزمایش PCR از نمونه ها در روز دوم مثبت بوده و نشان از آلوده شدن میگوهای پاسبید به ویروس بیماری لکه سفید داشتند. از روز چهارم، مرگ و میر در میگوهای پاسبید شروع و علائم مشخص بیماری از جمله وجود لکه های سفید و قرمز شدن بدن (شکل ۱) کاملاً در نمونه های مرده مشاهده گردید. نتایج آزمایش PCR نمونه ها نیز در روز چهارم به صورت شدید، آلودگی به ویروس لکه سفید را نشان داد (جدول ۱ و شکل ۲). بطوریکه تا روز دهم کلیه میگوها در آکواریومها تلف شده و از بین رفتند و علائم بالینی و نتیجه PCR کلیه نمونه های مورد آزمایش مثبت بود.

نتایج آزمایش در خصوص میگوهای پاسبید شاهد (میگوهای) که در معرض ویروس قرار نگرفتند) نشان داد که مرگ و میری در این گروه اتفاق نیافتاده و نتیجه PCR منفی و فاقد علائم بالینی بیماری لکه سفید بودند (شکل ۲).

میزان مرگ و میر در میگوهای سفید هندی که برای مقایسه در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند مشخص نمود که علائم بالینی از روز دوم بروز کرده و آزمایش PCR نمونه ها نیز از روز اول مثبت و از روز دوم تا روز هفتم شدت بیماری افزایش داشت و کلیه میگوها با علائم بارز و مشخص بیماری تلف شدند (شکل ۲ و جدول ۲).

مورد استفاده قبل از آزمایش با مشاهده بالینی و انجام آزمایش (One step-PCR با کیت تشخیص بیماری لکه سفید White spot disease) Shrimp PC_R Simplex از شرکت DiagXotic® کنترل شدند و از عدم وجود ویروس لکه سفید در آنها اطمینان حاصل شد. هر دسته از میگوها قبل از اینکه در معرض ویروس لکه سفید قرار گیرند، به مدت ۲۴ ساعت در آکواریوم در آب تمیز و عاری از آلودگی قرار داده شدند تا نسبت به عدم آلودگی اطمینان حاصل شود.

به منظور در معرض قرار دادن میگوها با ویروس بیماری لکه سفید، پنج عدد میگوی سفید هندی از میگوهایی که در سال ۱۳۸۴ بیماری در آنها بروز کرده بود و علائم بالینی بیماری لکه سفید در آنها مشخص بود و با آزمایش One step-PCR در آزمایشگاه بهداشت و بیماری مرکز تحقیقات میگوی کشور نیز وجود ویروس در آنها تأیید شد، بعنوان منبع ویروس مورد استفاده قرار گرفتند.

عضلات و اندامهای مختلف میگوهای سفید هندی آلوده با استفاده از هاون ضد عفونی شده، کاملاً خرد شد و بجای غذا به میگوهای پاسبید خوراندند. عمل تغذیه میگوهای پاسبید با بافتهای آلوده میگوی سفید هندی بجای غذا به مدت ۴ بار (هر ۶ ساعت یکبار) تکرار گردید و از دادن هر غذای دیگری به میگوهای پاسبید در این مدت خودداری شد.

بعد از ۲۴ ساعت میگوهای پاسبید از آکواریوم خارج شدند و در آکواریوم دیگری که آب آنها قبلاً ضد عفونی شده بود قرار گرفتند و روزانه با غذای دستی پلت تغذیه گردیدند. روزانه آب آکواریومها را تعویض نموده و به منظور جلوگیری از هر نوع آلودگی وسایل مورد استفاده در هر آکواریوم جداگانه استفاده و ضد عفونی گردید.

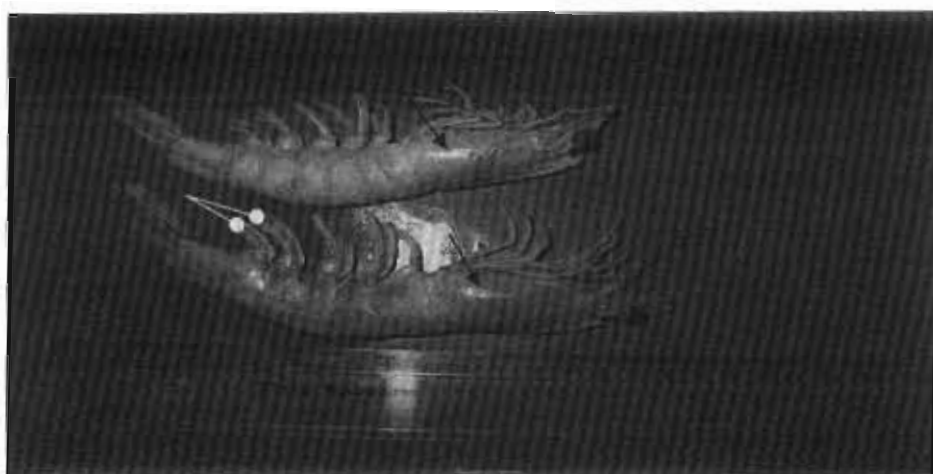
به منظور کنترل مثبت آزمایش، ۲۵ عدد میگوی سفید هندی که عاری از بیماری بود نیز در آکواریوم جداگانه ای و با همین روش در معرض ویروس لکه سفید قرار گرفتند.

کنترل منفی را با قراردادن میگوهای پاسبید و میگوی سفید هندی در آکواریومهای جداگانه و عدم استفاده از گوشت میگوی سفید هندی آلوده و با شرایط یکسان طی دوره آزمایش در محیطی مجزا مورد بررسی قرار داده و به منظور اطمینان از تکرارپذیری پاسخ آزمونها کلیه آزمایشها دوبار تکرار گردید.

کلیه میگوها روزانه با غذای دستی پلت تولید شده از شرکت هوراش تغذیه شدند. شوری آب آکواریومها بین ۳۵ تا ۳۷

جدول ۱: میزان مرگ و میر، علائم بالینی و آزمایش PCR در میگوهای پسفید مورد آزمایش و شاهد

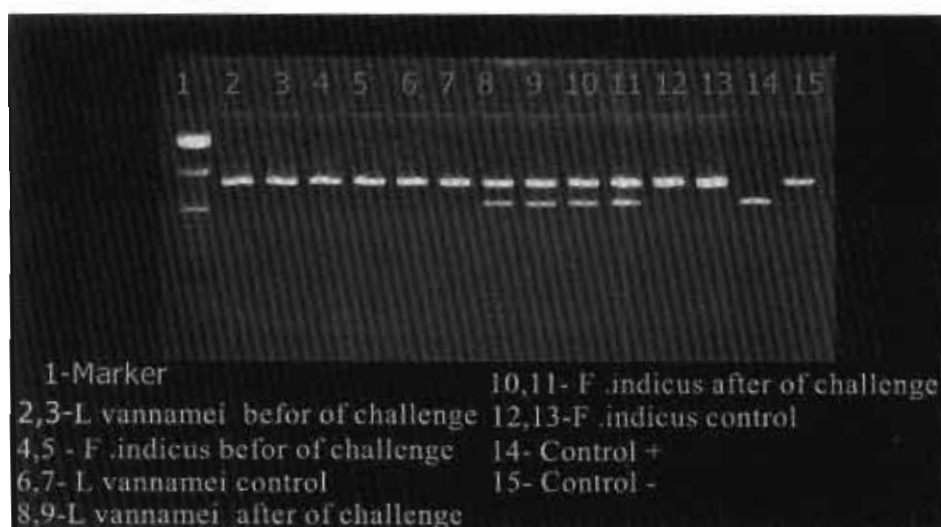
| روزهای آزمایش | میزان مرگ و میر و درصد آن در میگوهای پسفید در معرض ویروس | علائم بالینی | PCR | میزان مرگ و میر و درصد آن در میگوهای پسفید کنترل |
|---------------|--|---|-----|--|
| ۱ | ۰ | - | - | ۰ |
| ۲ | ۰ | - | + | ۰ |
| ۳ | ۰ | - | + | ۰ |
| ۴ | ۴(۸) | بروز لکه سفید در کاراپاس و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۵ | ۶(۲۰) | بروز لکه سفید در کاراپاس و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۶ | ۱۰(۴۰) | بروز لکه سفید در کاراپاس و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۷ | ۱۸(۵۶) | بروز لکه سفید در کاراپاس و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۸ | ۸(۷۲) | بروز لکه سفید در کاراپاس و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۹ | ۲(۹۶) | بروز لکه سفید در کاراپاس و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۱۰ | ۲(۱۰۰) | بروز لکه سفید در کاراپاس و قرمز شدن بدن | + | ۰ |



شکل ۱: بروز لکه‌های سفید (فلش سیاه) و قرمز شدن بدن (فلش سفید) از مشخصات بیماری لکه سفید

جدول ۲: میزان مرگ و میر، علائم بالینی و آزمایش PCR در میگوهای سفید هندی مورد آزمایش و شاهد

| روزهای آزمایش | میزان مرگ و میر و درصد آن در میگوهای سفید هندی در معرض ویروس | علائم بالینی | PCR | میزان مرگ و میر و درصد آن در میگوهای سفید هندی کنترل |
|---------------|--|------------------------------|-----|--|
| ۱ | (۰)۰ | - | + | ۰ |
| ۲ | (۱۶)۴ | بروز لکه سفید و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۳ | (۴۰)۶ | بروز لکه سفید و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۴ | (۵۶)۴ | بروز لکه سفید و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۵ | (۶۸)۳ | بروز لکه سفید و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۶ | (۸۸)۵ | بروز لکه سفید و قرمز شدن بدن | + | ۰ |
| ۷ | (۱۰۰)۳ | بروز لکه سفید و قرمز شدن بدن | + | ۰ |



شکل ۲: نتایج آزمایش PCR نمونه‌های میگوی پاسبید (*L. vannamei*) و میگوی سفید هندی (*F. indicus*) آلوده به ویروس و گروه کنترل

بحث

و پرورش ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد و شدیداً به ویروس لکه سفید حساس است، می‌تواند گزینه مناسبتری باشد. در بررسی نتایج حاصل از این تحقیق مشخص گردید که میگوهای پاسبید هر چند در شرایط آزمایشگاهی به ویروس لکه سفید حساس بوده و علائم بیماری را از خود نشان می‌دهند ولی براساس گزارشات موسسه تحقیقات شیلات ایران، تکثیر و پرورش این گونه در سایتهایی که آلودگی داشته و موجب تلفات سنگینی به میزان ۱۰۰ درصد در میگوی سفید هندی گردیده است، گونه پاسبید فاقد علائم بیماری بوده و مرگ و میری در این گونه مشاهده نشد و حتی آزمایش PCR نیز برای نمونه‌هایی که در سایت حله بوشهر پرورش یافته‌اند منفی بود. این نتایج با نتایج حاصله از بررسی Lightner و همکاران (۱۹۹۸) و Tapay و همکاران (۱۹۹۷) مطابقت داشته و آنها نیز گزارش نموده‌اند که میگوی پاسبید در شرایط آزمایشگاهی حساس به ویروس لکه سفید می‌باشد، اما در شرایط طبیعی تاکنون پرورش دهندگان آسیایی بویژه در چین و تایلند گزارشی از بیماری لکه سفید در میگوی پاسبید اعلام ننموده‌اند. به نظر می‌رسد بعضی از شرایط محیطی که امکان ایجاد آن در شرایط آزمایشگاه میسر نمی‌باشد با حضور بعضی از پاتوژنهای دیگر مانعی در گیرنده‌های ویروس لکه سفید در میگوی پاسبید ایجاد نموده و مانع از بیمار شدن میگو در شرایط طبیعی می‌شوند. این نظریه با اظهارات Briggs و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت دارد که اعلام داشته‌اند برخی عوامل محیطی در کشورهای آسیایی از جمله درجه حرارت محیط مانع از افزایش تلفات ناشی از ویروس لکه سفید در میگوی پاسبید شده است.

هر چند در این تحقیق در یک درجه حرارت مشخص عملیات آزمایشگاهی انجام گردید ولی به منظور کنترل و پیشگیری از بیماری لکه سفید در گونه‌های سفید هندی و پاسبید پیشنهاد می‌شود نسبت به انجام آزمایش و تحقیق در شرایط مختلف محیطی از جمله درجه حرارتهای مختلف، شوری‌ها و تراکمهای مختلف، بیماریزایی ویروس لکه سفید در میگوی سفید مطالعه گردد.

تشکر و قدردانی

مراتب تقدیر و تشکر نگارندگان از جناب آقای مهندس سامانی سرپرست محترم مرکز تحقیقات میگوی کشور در بوشهر که همکاری صمیمانه‌ای در اجرای این تحقیق داشتند اعلام و از همکاری آقای عیسی کشتکار نیز تشکر و قدردانی می‌شود.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که دوره کمون بیماری لکه سفید در میگوی پاسبید از زمان معرفی ویروس به میگو تا بروز علائم بیماری بین ۱ تا ۳ روز طول می‌کشد. بعد از سه روز، تکثیر ویروسهای معرفی شده در بدن میگوهای پاسبید به حدی می‌رسد که بیماریزایی آغاز و علائم بیماری بطور مشخص قابل رویت می‌گردد. براساس گزارش Lightner (۱۹۹۶) دوره کمون این بیماری نیز در گونه‌های مختلف متفاوت و بین ۱ تا ۳ روز بسته به مقاومت ایمنی میگوها متفاوت است. نتایج بدست آمده از شواهد بالینی در این تحقیق، مشخص نمود که میگوهای پاسبید و میگوهای سفید هندی با سویه فوق حاد ویروس WSSV آلوده شده بودند. بطوریکه در میگوهای پاسبید علائم بالینی و مرگ و میر بعد از روز سوم و در میگوهای سفید هندی بعد از روز دوم مشاهده می‌شود.

نتایج حاصل از این بررسی همچنین نشان داد که مرگ و میر ناشی از ویروس لکه سفید در میگوهای پاسبید در مقایسه با میگوی سفید هندی با شدت کمتری همراه است. این موضوع بیانگر آن است که مقاومت میگوی پاسبید در مقایسه با میگوی سفید هندی بیشتر می‌باشد. Briggs و همکاران (۲۰۰۴) گزارش نموده‌اند که مقاومت میگوی پاسبید در مقابل بیماری لکه سفید (WSD) در مقایسه با سایر گونه‌های میگو بیشتر است. سازمان خواربار و کشاورزی جهانی (FAO) نیز در سال ۲۰۰۳ گزارش نموده است میگوی پاسبید در مقابل بیماری لکه سفید (WSD) در مقایسه با سایر گونه‌های وحشی و پرورشی مقاومت بیشتری از خود نشان می‌دهد و توصیه نمود که در توسعه صنعت تکثیر و پرورش میگو از این گونه استفاده گردد (FAO, 2003).

افزایش مقاومت میگوی پاسبید در مقایسه با سایر گونه‌ها در مقابل ویروس لکه سفید به سیستم دفاعی ضد ویروس این گونه بستگی دارد. طبق نظر Robalino و همکاران (۲۰۰۴) مقاومت میگوی پاسبید و ایجاد ایمنی ضد ویروس این میگو در مقابله با دو نوع ویروس لکه سفید (WSSV) و ویروس Taura (TSV) بستگی به پدیده اینترفرون در این میگو دارد. همچنین Aubert و Jerome (۲۰۰۳) اعلام نموده‌اند که مقاومت بیشتر این گونه به پدیده خودکشی سلول (Apoptosis) ارتباط دارد که این پدیده در تکثیر ویروسها محدودیت ایجاد نموده و مانع پراکنش ویروسها در اندامهای میگوی پاسبید می‌شود. هر چند در این تحقیق مشخص گردید که میگوی پاسبید نیز در مقابل این ویروس حساسیت دارد و از خود آلودگی نشان می‌دهد ولی در مقایسه با گونه سفید هندی که در شرایط فعلی در صنعت تکثیر

منابع

- (*Penaeus monodon*) in Thailand. World J. Microbiol Biotech. Vol. 13, pp.433-442.
- Lightner, D.V.; Hasson, K.W.; White, B.L. and Redman, R.M. , 1998. Experimental infection of western hemisphere penaeid shrimp with Asian white spot syndrome virus and Asian yellow head virus. Journal of Aquatic Animal Health. Vol. 10, No. 3, pp.271-281.
- Lightner, D.V. , 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured penaeid shrimp. Baton Rouge, Louisiana: World Aquaculture Society. Section 3, pp.1-14.
- Robalino, J.; Browdy, C.L.; Prior, S.; Metze, A.; Parnell, P.; Gross, P. and Warr, G. , 2004. Induction of antiviral immunity by double – standard RNA in marine invertebrate. Journal of Virology. Vol. 78, pp. 10442-10448.
- Rosenberry, B. , 2002. World shrimp farming. Shrimp News International. pp.25-50.
- Tapay, L.M.; Lu, Y.; Gose, R.B.; Brock, J.A. and Loh, P.C., 1997. Infection of white spot baculovirus- like virus (WSBV) in two species of penaeid shrimp *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei*. In: T.W. Felgel and I.H MacRae, eds. Disease in Asian Aquaculture III. Fish Health Section, Manila Asian Fisheries Society. pp.297-302.
- Tokhmafshan, M.; Akbari, S.; Tamjidi, B.; Laloi, F. and Soltan, M. , 2004. Occurrence of white spot syndrome disease in farmed *Penaeus indicus* in Iran. Applied Fisheries & Aquaculture. Vol. IV, No. 1, pp.42-47.
- Wyben, J.A. and Sweeny, J.N. , 1991. Intensive shrimp production technology. High Health Aquaculture Inc., Hawaii, 185P.
- افشارنسب، م.؛ لالونی، ف. و رضوانی، س.، ۱۳۸۴. شناسایی بیماری لکه سفید (White spot disease) با روش Chain Polymerase Reaction در میگوی سفید هندی در ایران. مجله علمی شیلات ایران، سال چهاردهم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۴، صفحات ۱ تا ۱۲.
- افشارنسب، م. و اکبری، س.، ۱۳۸۴. شناسایی ویروس ایجاد کننده بیماری لکه سفید (WSD) در میگوی سفید هندی (*Penaeus indicus*) با استفاده از میکروسکوپ. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۶۶، بهار ۱۳۸۴، صفحات ۸ تا ۱۳.
- تخم افشان، م. و تمجیدی، ب.، ۱۳۸۲. علائم ظاهری و آسیب شناسی بیماری لکه سفید (White spot disease) در میگوی پرورشی سفید هندی (*Penaeus indicus*) در استان خوزستان. مجله علمی شیلات ایران، سال دوازدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۲، صفحات ۱۵ تا ۲۸.
- Aubert, M. and Jerome, K.R. , 2003. Apoptosis prevention as a mechanism of immune envision. Inter Rev Immunol. Vol. 22, pp.361-371.
- Briggs , M.; Funge-smite, S.; Subasinghe, R. and Phillips, M. , 2004. Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and Pacific. FAO, RAP Publication. Thailand. pp.20-45.
- Chou, H.Y.; Huang, C.Y.; Wang, C.H.; Chang, H.C. and Lo, C.F. , 1995. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. Dis. Aquat. Org. Vol. 23, pp.165-173.
- FAO Fisheries Technical Paper , 2003. Health management and biosecurity maintenance in white shrimp (*Penaeus vannamei*) hatcheries in Latin America. FAO, Rome, Italy. No, 450. 133P.
- Flegel, T.W. , 1997. Special topic review: major viral diseases of the black tiger prawn

**Assessing pathogenesis of the
white spot syndrome virus (WSSV)
in the whitelegged shrimp (*Litopenaeus vannamei*)**

Afsharnasab M.^{(1)*}; Dashtyannasab A.⁽²⁾ and Yeganeh V.⁽³⁾

mafsharnasab@yahoo.com

1- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box:14155-6116 Tehran, Iran

2,3- Iran Shrimp Research Center, P.O.Box: 1379 Bushehr, Iran

Received: March 2006

Accepted: January 2007

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, White Spot Disease, White Spot Syndrome Virus

Abstract

The pathogenesis of the white spot syndrome virus (WSSV) was studied experimentally with challenge exposure of one hundred post larvae *Litopenaeus vannamei* each aged 40 days. The shrimp *L. vannamei* larvae were first examined with Shrimp PC_aR_e Simplex detection kit and found to be free of WSSV. The *Fenneropenaeus indicus* tissues that showed the clinical signs and were PCR positive for the white spot disease (WSD) were used as the source of WSSV. The challenge exposure was accomplished by feeding minced tissue of the *F. indicus* to *L. vannamei* for 24 hours. Based on the results, the *L. vannamei* revealed the clinical sign of WSD after three days, the PCR was positive and all the shrimp specimens were died after ten days. The control group of the shrimp did not show any sign of WSD and their PCR was negative during the experiment.

* Corresponding author