

ایمنی زیستی در کارگاه های تکثیر میگو جهت نگهداری مولدین عاری از بیماری (SPF)، با هدف تولید پست لارو با سلامت بالا در استان هرمزگان

محمدرضا زاهدی^{۱*}، حجت اله فروغی فرد^۱، کیومرث روحانی قادیکلانی^۱، سجاد پور مظفر^۲، مریم معزی^۱، عبدالرسول دریایی^۳، سیده یلدا بنی اسماعیلی^۴، سعید مغفوری سرکمی^۴

Zahedi_persica@yahoo.com

۱. پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO) - بندرعباس، ایران
۲. مرکز تحقیقات نرم تنان خلیج فارس، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)
۳. معاونت آبی پروری، اداره کل شیلات هرمزگان
۴. کارشناس ارشد آبی پروری شرکت جامعه سازان ساحل جنوب

چکیده

کلمات کلیدی: میگوی پاسفید، مولدین، عاری از بیماری، کارگاه تکثیر، استان هرمزگان

مقدمه

برای تولید پایدار در صنعت پرورش میگو در استان هرمزگان تهیه بچه میگوی با سلامت بالا (High Health) یکی از ارکان اساسی محسوب می گردد. برای تهیه میگوی با سلامت بالا در اختیار داشتن میگوهای عاری از بیماری (SPF) نیاز اولیه است. میگوی SPF در واقع به میگوی اطلاق می گردد که فرایندهای غربالگری را در طی چند نسل گذرانده باشد و در شرایط قرنطینه ای از بیماری های مشخص مصون بوده است (Wyban, 2013). این مولدین دارای صفات مقاومت به بیماری نیستند، اما امکان توسعه و گسترش این صفات در آنها وجود دارد و الزاما برنامه های ژنتیکی در خصوص بهبود رشد در آنها اجرا نشده است (Barman et al., 2012). این مولدین باید دارای گواهینامه SPF بوده که از طرف مراجع ذیصلاح مورد تأیید باشند. این تکنولوژی در ابتدا در اوایل دهه ۱۹۹۰ در آمریکا آغاز گردید (Wyban et al., 1993). تولید تجاری میگو در سالهای ۱۹۹۰ باعث

پرورش میگو از فعالیت های اصلی آبی پروری در جنوب کشور و بخصوص استان هرمزگان است. تولید پایدار میگو مستلزم استفاده از پست لاروهای با کیفیت مناسب است. با توجه به شیوع برخی بیماری ها بخصوص بیماری ویروسی لکه سفید در ایران، اهمیت استفاده از پست لاروهای عاری از بیماری بیش از پیش مورد توجه است. تامین پست لاروهای با سلامت بالا نیازمند دسترسی به مولدین عاری از بیماری (SPF) است. هم اکنون مراکز بسیاری در دنیا اقدام به تهیه پست لاروهای عاری از بیماری می کنند. واردات و نگهداری مولدین از دیگر کشورها نیازمند استفاده از مراکز اختصاصی تکثیر و نگهداری مولدین در طی دوره مولد سازی و تخم گیری است، در غیر اینصورت برنامه های استفاده از مولدین عاری از بیماری کارایی نخواهد داشت از این رو در این مقاله سعی شده است الزامات مراکز تکثیر برای نگهداری مولدین SPF در مراکز تکثیر در استان هرمزگان تشریح گردد. این الزامات شامل انتخاب محل مناسب، مولدین، آب دریا، پرسنل و تغذیه می باشد.

میگوی SPF در واقع به میگوی اطلاق می گردد که فرایندهای غربالگری را در طی چند نسل گذرانده باشد و در شرایط قرنطینه ای از بیماری های مشخص مصون بوده است.



محیط های طبیعی جمع آوری و در استخرها ذخیره سازی می گردید، در این دوران هر منطقه گونه بومی خود را استفاده می کرد مثلا در آمریکا میگوی پاسبید و در آسیا بیشتر میگوی ببری سبز تولید می گردید.

۲. دوران رشد کارگاه های تکثیر: در این دوران مولدین وحشی از طبیعت جمع آوری و در محیط های کارگاهی تکثیر گردید در این دوران نیز هر منطقه گونه بومی خود را استفاده می کرد مثلا در آمریکا میگوی پاسبید و در آسیا بیشتر میگوی ببری سبز تولید می گردید.

۳. دوران میگوی SPF پاسبید: در این دوران که از سال ۱۹۹۶ به بعد می باشد تقریباً همه کشورها به استفاده از میگوی عاری از بیماری پاسبید روی آوردند (Wyban, 2009).

در دوران دوم به دلیل وجود بیماری های میگو، روند افزایش تولید با چالش جدی مواجه شد و مهمترین دلیل آن را می توان عدم توجه تکثیرکنندگان میگو به استفاده از مولدین سالم و تولید پست لاروهای ضعیف (Lightner, 1996) و محدودیت دسترسی به مولدین آماده تخم ریزی از دریا عنوان کرد. در استان هرمزگان نیز دسترسی به مولدین وحشی و آماده تخم ریزی، چالش اصلی کارگاه های تکثیر بود. بعضاً عدم دسترسی به موقع به این مولدین برنامه های تولید را مختل می نمود و هزینه های انتقال و تحویل مولدین از صیادان محلی بسیار بالا بود. امروزه مراکز زیادی جهت تولید مولدین SPF در دنیا وجود دارد (Panigrahi et al., 2019).

تولید میگوی SPF و گسترش آن

در اواخر دهه ۱۹۸۰ میگوی پاسبید، گونه ای بود که پرورش دهندگان در آمریکا، علاقه زیادی به پرورش آن داشتند، اما بروز بیماری های مختلف باعث رنج بسیاری برای پرورش دهندگان میگو بود، برای کاهش این مشکلات آمریکا اقدام به تهیه میگوی SPF نمود (Wyban et al., 1993). این کار توسط بخش دولتی انجام گردید. در ابتدا مولدین وحشی سالم پس از غربالگری های بسیار سختگیرانه انتخاب شدند (Alday-Sanz et al., 2018) و پروتکل تولید میگوی SPF برای تولید پست لاروهای با سلامت

شد بسیاری از کشورهای آسیایی به واردات این نوع میگو از هاوایی اقدام نمایند و واردات این مولدین باعث شد میزان تولید در آسیا از سال ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۹ به بیش از ۳ برابر برسد، که این افزایش تولید بیشتر مرهون تولید پست لاروهای با سلامت بالا از این مولدین بوده است (Wyban, 2013). تولید پست لاروهای با سلامت بالا نیازمند استفاده از کارگاههای تکثیر با رعایت مسائل ایمنی زیستی (Biosecurity) مناسب است و اگر در طی تولید پست لاروها در کارگاه تکثیر، موازین و شرایط ایمنی زیستی رعایت نگردد، اجرای برنامه های نگهداری مولدین SPF بی فایده خواهد بود. میگوی مقاوم به بیماری (SPR) به میگوی اطلاق می شود که در برابر یک یا چند بیماری مشخص مقاومت بالایی دارند و میگوی (SPT) نیز به میگوهای گفته می شود که عمداً در شرایط چندین بیماری پرورش داده شده باشند تا مقاومت بدن را بهبود بخشند و این دو نباید با مفهوم میگوی SPF اشتباه گرفته شود (Barman et al., 2012).

تولید میگوی پرورشی ابتدا بوسیله جمع آوری پست لاروها از محیط طبیعی آغاز گردید (Wyban, 2009) و پس از آن برای اولین بار Hudinaga در سال ۱۹۴۲ در ژاپن موفق شد چرخه زندگی میگو را تشریح کند، که این کار اساس شروع تکثیر میگو در دنیا گردید (Wyban, 2013). در ابتدای آغاز به کار تکثیر میگو، مولدین از محیط های طبیعی جمع آوری شده و هر منطقه گونه بومی همان منطقه را پرورش می داد، مثلاً در آمریکا میگوی پاسبید (P.Vannamei)، در آسیای جنوب شرقی بیشتر میگوی ببری سیاه (P.Monodon) و در استان هرمزگان در گذشته گونه سفید هندی (P.Indicus) پرورش داده می شد. البته در گذشته در استان هرمزگان تلاش هایی برای پرورش میگوی موزی، ببری سبز و سفید هندی نیز صورت گرفت که نهایتاً گونه سفید هندی به عنوان گونه مناسب جهت پرورش تعیین گردید.

بطور کلی پرورش میگو را می توان به ۳ دوره به شرح زیر تقسیم کرد.

۱. مرحله شروع و یا آغاز دوره: بچه میگوها از

برای اولین بار
در Hudinaga
سال ۱۹۴۲ در
ژاپن موفق شد
چرخه زندگی
میگو را تشریح
کند، که این کار
اساس شروع
تکثیر میگو در
دنیا گردید.



دارای آب با کیفیت بالا صادر گردد. با توجه به احداث مزارع زیاد در نوار ساحلی استان هرمزگان از شرق جاسک تا غربی ترین مناطق استان، شاید بهترین مراکز قابل احداث به دلیل دوری از مزارع پرورش و کیفیت آب مناسب در جزایر هرمز، هنگام و هندورابی باشد.

۲. مولدین:

تایید یک مرکز معتبر تشخیص بیماری های میگو برای مولدین SPF کلید اصلی تولید پست لارو میگو با سلامت (HH) بالا است. مثلا در هاوایی برنامه نظارت و صدور گواهینامه میگو (SSCP) توسط وزارت کشاورزی صادر می شود و غربالگری و ارائه گواهینامه سلامت نیز توسط نهاد معتبر سوم و منطبق با دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی حیوانات (OIE) صادر می گردد (Wyban, 2013). برنامه اصلی این فرایند شامل:

تست PCR بصورت سالانه ۲ بار سایت ها باید به مدت ۲ سال متوالی، عاری از بیماری های مورد نظر در لیست OIE باشند آزمایش PCR توسط آزمایشگاه های معتبر مانند USDA و OIE برای بیماری سخت

پوستان صورت گیرد گواهینامه SPF فقط برای همان سایت صادر می گردد تست PCR برای بیماری های لکه سفید، کله زرد، سندرم تور، IHNV, MBV, BP, IMNV, HPV, NHP صورت گیرد. آزمایش های ذکر شده در کل تاسیسات و سایت مورد نظر باید بصورت مداوم (سالانه ۲ بار) منفی گزارش گردد.

نمونه برداری از تمام مراحل زندگی میگو از ناپلیوس تا مولدین تحت نظارت دولت و توسط نهاد معتبر سوم آزمایش گردد (Wyban, 2013).

۳. آب دریا:

آب دریا نیز یکی از عوامل اصلی انتقال انواع بیماری به میگوها در مراکز تکثیر و نگهداری میگوی SPF است. اگر این مراکز در نزدیکی

بالا تدوین گردید (Jaenike et al., 1992). در این مرحله بیش از ۵۰ میلیون پست لارو تولید و بصورت مقایسه ای بین مزارع پرورش میگو توزیع شد که با مشاهده تولید ۲ برابری میگو در این مزارع، در سال ۱۹۹۲ تقریبا همه مزارع به استفاده از این پست لاروها روی آوردند (Wyban, 2013). تداوم این برنامه ها نیازمند اجرای برنامه های مناسب ایمنی زیستی است که در واقع اطمینان حاصل گردد که عامل بیماری به مولدین میگو در کارگاه های تکثیر سرایت نخواهد کرد.

ایمنی زیستی در کارگاه های تکثیر میگو

ایمنی زیستی در کارگاه های تکثیر میگو می بایست شامل برنامه های مدونی باشد که به کارگاه تکثیر این اطمینان را بدهد که مولدین از نظر سلامت در شرایط کاملا مناسبی هستند و قادرند بوسیله این مولدین پست لاروهای با سلامت بالا تولید کنند. این کار باید بصورت همه جانبه بررسی شده و قوانین سختی برای آن متصور بود و نقاط بحرانی و حساس انتقال بیماری را کاملا کنترل نمود که شامل موارد ذیل است:

۱. موقعیت کارگاه:

معمولا مکان یکی از عوامل اصلی و بسیار مهم در نگهداری میگوی SPF و تولید پست لارو سالم است. کارگاه تکثیر باید دسترسی مناسبی به آب با کیفیت بالا داشته باشد. این آب باید از آلودگی های شهری، صنعتی و مزارع پرورش میگو دور باشد. در برخی از کشورهایی که از مراکز قدیمی تکثیر برای اجرای برنامه های نگهداری و تولید میگوی SPF استفاده شده است موفقیت خوبی حاصل نشده است (Wyban, 2013). با توجه به موقعیت استان هرمزگان، به جز معدودی از کارگاه های تکثیر، بسیاری از آن ها بدلیل دسترسی مناسب پرورش دهندگان به پست لارو مورد نیاز در نزدیکی مزارع پرورش میگو و تعدادی از این مراکز نیز در نزدیکی اسکله ها و بنادر صیادی جانمایی گردیده است. شاید بهتر باشد در این استان برای اجرای برنامه های نگهداری مولدین SPF مجوزهای جداگانه ای در مناطق بکر و

ایمنی زیستی در کارگاه های تکثیر میگو می بایست شامل برنامه های مدونی باشد که به کارگاه تکثیر این اطمینان را بدهد که مولدین از نظر سلامت در شرایط کاملا مناسبی هستند و قادرند بوسیله این مولدین پست لاروهای با سلامت بالا تولید کنند.



صورت نیاز از تیوسولفات سدیم برای خنثی سازی کلر استفاده گردد. پس از آماده سازی آب می بایست آب به مخازن جداگانه ای در سالن تکثیر ارسال گردد و آماده سازی دما برای هر بخش (مولدین دمای ۲۷-۲۸ و لاروی دمای ۳۰-۳۲ درجه سانتیگراد) جداگانه صورت گیرد (Wyban, 2013).

۴. افراد و پرسنل کارگاه:

افراد خطر زیادی برای ایمنی کارگاه های تکثیر میگو SPF محسوب می گردند زیرا آنها بصورت روزانه در حال تردد هستند، پس ورود و خروج آن ها باید کنترل شده باشد. لباس و کفش های مخصوص کارگاه باید برای کارکنان در کارگاه تهیه گردد و پرسنل مرتبا دستها را با آب گرم و صابون شست و شو دهند. هیچ غذایی از بیرون توسط پرسنل به کارگاه حمل نگردد و غذاخوری کاملا بهداشتی برای همه پرسنل و عدم استفاده از سخت پوستان در برنامه غذایی باید در دستور کار قرار گیرد. از تجهیزات صید نباید در کارگاه های تکثیر استفاده کرد و برای احداث کارگاه های جدید حتما از وسایل جدید استفاده گردد (Wyban, 2013).

۵. غذا و تغذیه:

غذا ریسک بالایی در انتقال بیماری ها در مزارع تکثیر دارد، اما هیچ غذای پلیت شده مناسبی وجود ندارد که بتوان بوسیله آن ناپلیوس با کیفیت و با مقدار دلخواه تولید نمود، به همین دلیل نیاز به کرم های پرتار، اسکوئید و صدف ها جهت تغذیه مولدین الزامی است. هرچند کرم های پرتار نیز عامل بالقوه انتقال ویروس لکه سفید هستند (Vijayan et al., 2005). ایجاد یک شرایط محیطی مناسب و تغذیه خوب کلید اصلی تکثیر مولدین میگو است (Panigrahi et al., 2019). هرچند سخت پوستان یکی از عوامل اصلی انتقال ویروس لکه سفید هستند اما برای انتقال بیماری لکه سفید از طریق سیستم آرتیمیا مدارک قابل قبولی در دسترس نیست (Chang et al., 2002). غذایی بوسیله غذای تر به مولدین، به دلیل خطر

و مجاورت مراکز پرورش باشند ممکن است، بیماری بصورت بالقوه در آب ورودی نیز وجود داشته باشد. بطور کلی اطلاعات دقیقی از میزان زنده مانی ویروس در آب وجود ندارد اما گزارش هایی مبنی بر زنده ماندن ویروس WSSV در آب دریایی که در تاریکی و دمای بالای ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری شده است وجود دارد که این آب توانسته عامل عفونت را تا ۳۰ روز زنده نگه دارد (Nakano and UneZaea, 1994). برخی میزان زنده مانی ویروس را ۳ - ۴ روز در آب (Flegel, 1997) و برخی ۴۸ ساعته را عنوان نموده اند (Liu et al., 2002). البته بررسی های کلی نشان داده است که احتمال انتقال ویروس از طریق آب بسیار کمتر از زمانی است که میگوی آلوده مصرف گردد (Soto and Lotz, 2001). بهترین منبع آب برای این کارگاه ها آب چاهی است که در کناره سواحل شنی احداث شده باشد و آبگیری نیز بصورت پمپ از سطح چاه گیرد، در این روش بسیاری از عوامل توسط لایه های خاک حذف خواهند شد و بعید است آلودگی از طرف میگوی زنده و یا مرده با این آب ها منتقل گردد (Wyban, 2013). در استان هرمزگان برخی از مراکز تکثیر میگو در سواحل شنی احداث گردیده است که با قابلیت تراوش و آبگیری مناسب در این سواحل، امکان احداث چاهک در آنها وجود دارد. در کارگاه های با ظرفیت بالا و مصرف بالای ۳۰۰۰ مترمکعب در روز، آب دریا باید ابتدا در مخازن ذخیره نگهداری شود. این مخازن باید به نحوی طراحی گردد که آبی از سمت بیرون به داخل نشت نکند، همچنین هوادهی به خوبی جهت مخلوط سازی مواد ضد عفونی صورت گیرد و بوسیله تورهایی از ورود خرچنگ و سایر موجودات محافظت شود. فیلترگذاری صحیح باید به گونه ای صورت گیرد که آب از فیلترهای ۲۵۰ میکرونی و یا کمتر عبور داده شود. همچنین استفاده از ۵ میلی گرم در لیتر کلر و مخلوط سازی آن باید مد نظر باشد. پس از خنثی شدن کلر با استفاده از تست اورتوتلوئیدن میزان کلر باقیمانده اندازه گیری شده و در

افراد خطر زیادی
برای ایمنی کارگاه
های تکثیر میگو
SPF محسوب
می گردند زیرا
آنها بصورت
روزانه در حال
تردد هستند،
پس ورود و خروج
آن ها باید کنترل
شده باشد.



به هم منتقل کنند. کنترل و مدیریت هوای سالن نیز جهت تولید و نگهداری مولدین SPF اهمیت دارد (Wyban, 2013).

توصیه های ترویجی:

در صورت نیاز به واردات مولدین می بایست حتما مولدین از مراکز معتبر تامین گردد، و برای این مولدین، مراکز مجزا و مجهزی نیز جهت ذخیره مولدین و قرنطینه در نظر گرفته شود. پس از انتقال به کارگاه تکثیر کلیه موارد ایمنی زیستی مانند فیلتراسیون و ضد عفونی آب دریا، تغذیه مناسب و ضد عفونی شده، آموزش پرسنل و ایمنی در برابر موجودات ناخواسته رعایت گردد. همچنین آزمایش های منظم سلامت لارو از مرحله تخم ریزی مولدین، ناپلیوس و مراحل دیگر میگو انجام گیرد تا بتوان میگوی با سلامت بالا در استان تولید نمود.

منابع

1. ALDAY-SANZ, V., BROCK, J., FLEGEL, T. W., MCINTOSH, R., BONDAD-REANTASO, M. G., SALAZAR, M. & SUBASINGHE, R. 2018. Facts, truths and myths about SPF shrimp in Aquaculture. Reviews in Aquaculture.
2. BARMAN, D., KUMAR, V., ROY, S. & MANDAL, S. C. 2012. Specific pathogen free shrimps: Their scope in aquaculture. World Aquaculture, 43, 67.
3. CHANG, Y.-S., LO, C.-F., PENG, S.-E., LIU, K.-F., WANG, C.-H. & KOU, G.-H. 2002. White spot syndrome virus (WSSV) PCR-positive Artemia cysts yield PCR-negative nauplii that fail to transmit WSSV when fed to shrimp postlarvae. Diseases of aquatic organisms, 49, 1-10.
4. FEGAN, D. & CLIFFORD III, H. C. Health management for viral diseases in shrimp farms. The New

انتقال بیماری ها بسیار خطرناک است اما این غذاها باید بسیار تازه باشند بطوریکه بتوان آنها را مصرف نمود برخی از شرکت ها از ید برای ضد عفونی غذای تر استفاده می کنند، که احتمال بروز استرس در اثر استفاده روزانه در غذا را افزایش خواهد داد مثلا برای غیر فعال کردن ویروس لکه سفید می توان از ید ۱۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۳۰ دقیقه استفاده کرد (Plan, 2013). برخی شرکت ها نیز غذای تازه را در آب دریای تصفیه شده با ازن شست و شو می دهند که به نظر می رسد گزینه بهتری است (Wyban, 2013).

۶. وسایل نقلیه:

وسایل نقلیه ای که به کارگاه تکثیر رفت و آمد می کنند نیز خطر بزرگی محسوب می شوند. کامیون ها ممکن است ذرات ویروسی را در گل و لای چرخ ماشین منتقل کرده و یا میگوهای مرده به کارگاه منتقل گردد. استفاده از یک حوضچه بتنی برای حمام تایرها و چرخ ماشین ضروری است. در این آب می توان از محلول پرمنگنات یا ید استفاده کرد. همچنین کامیون حمل پست لارو باید در بیرون کارگاه منتظر باشد و پس از تکمیل فرآیند بسته بندی، در مدت زمان کوتاه بارگیری در کارگاه حضور داشته باشد (Wyban, 2013).

۷. موجودات ناخواسته:

موجودات ناخواسته ممکن است وارد کارگاه شوند که مهمترین آنها خرچنگ ها هستند که می توانند حتی از سمت محل تخلیه آب کارگاه نیز وارد شوند. همچنین کارگاه باید از نظر تور ضد پرنده در همه جای آن مجهز باشد (Wyban, 2013)، زیرا پرندگان قادر خواهند بود بصورت بالقوه ای میگوهای مرده و یا بیمار را از مناطق دیگر به کارگاه منتقل نمایند (Fegan and Clifford III, 2001).

۸. ذرات معلق در هوا:

ذرات معلق در هوا نیز قادرند عفونت و بیماری را از مناطق دیگر بخصوص کارگاه های نزدیک مزارع پرورش و یا کارگاه های تکثیر نزدیک

کارگاه باید از نظر تور ضد پرنده در همه جای آن مجهز باشد، زیرا پرندگان قادر خواهند بود بصورت بالقوه ای میگوهای مرده و یا بیمار را از مناطق دیگر به کارگاه منتقل نمایند.



11. PLAN, A. A. V. E. 2013. Disease Strategy Piscirickettsiosis.
12. SOTO, M. A. & LOTZ, J. M. 2001. Epidemiological parameters of white spot syndrome virus infections in *Litopenaeus vannamei* and *L. setiferus*. *Journal of invertebrate pathology*, 78, 9-15.
13. VIJAYAN, K., RAJ, V. S., BALASUBRAMANIAN, C., ALAVANDI, S., SEKHAR, V. T. & SANTIAGO, T. 2005. Polychaete worms—a vector for white spot syndrome virus (WSSV). *Diseases of Aquatic Organisms*, 63, 107-111.
14. WYBAN, J. 2009. World shrimp farming revolution: industry impact of domestication, breeding and widespread use of specific pathogen free *Penaeus vannamei*. *Proceedings of the special session on sustainable shrimp farming*, *World Aquaculture*, 2009, 12-21.
15. WYBAN, J. 2013. Biosecurity measures in specific pathogen free (SPF) shrimp hatcheries. *Advances in Aquaculture Hatchery Technology*. Elsevier.
16. WYBAN, J. A., SWINGLE, J., SWEENEY, J. & PRUDER, G. 1993. Specific pathogen free *Penaeus vannamei*. *WORLD AQUACULTURE-BATON ROUGE-*, 24, 39-39.
- Wave, *Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture*, *Aquaculture*, 2001. The World Aquaculture Society, 168-198.
5. FLEGEL, T. W. 1997. Major viral diseases of the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 13, 433-442.
6. JAENIKE, F., GREGG, K. & HAMPER, L. 1992. Shrimp production in Texas using specific pathogen-free stocks. *Diseases of cultured penaeid shrimp in Asia and the United States*. *Oceanic Institute Honolulu, HI, USA*, 295-302.
7. LIGHTNER, D. V. 1996. A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp, *World Aquaculture Society Baton Rouge*.
8. LIU, W., WANG, Y., TIAN, D., YIN, Z. & KWANG, J. 2002. Detection of white spot syndrome virus (WSSV) of shrimp by means of monoclonal antibodies (MAbs) specific to an envelope protein (28 kDa). *Diseases of aquatic organisms*, 49, 11-18.
9. NAKANO, H. K. & UNEZAEA, H. 1994. S., Momoyama, K, HiraOka, M, InOuye, K. and OSeko, N. MaSS mortalies of cultured kurumashrimp in Japan in 1993: epizootiological Survey and infection trials. *Fish Pathol*, 29, 135-139.
10. PANIGRAHI, A., ESAKKIRAJ, P., JAYASHREE, S., SARANYA, C., DAS, R. R. & SUNDARAM, M. 2019. Colonization of enzymatic bacterial flora in biofloc grown shrimp *Penaeus vannamei* and evaluation of their beneficial effect. *Aquaculture International*, 1-12.