Archive of SID

شناسایی بیماری لکه سفید در میگوی وحشی سفید هندی استان سیستان و بلوچستان

امین غلامحسینی[۱]، علی محمدی[۲*]، سهراب اکبری[۳]، مصطفی اخلاقی[۴]، نصراله احمدی[۵]

۱.استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۲.دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۳.استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۴.استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۵.استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.

دریافت: ۳ مرداد ماه ۹۵ **پذیرش:** ۲۸ مرداد ماه ۹۵

چکیده

بیماری لکه سفید (WSSD) مهم‌ترین بیماری ویروسی عفونی پاتوژن در میگوهای خانواده پنائیده است لیکن تاکنون مطالعه‌ای روی مولدان وحشی گونه‌ی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) صیدگاه‌های استان سیستان و بلوچستان انجام نشده است. هدف از انجام این پژوهش، بررسی شیوع آلودگی این ویروس در صیدگاه‌های این استان، در فصول مختلف، به روش مولکولی و آسیب‌شناسی بافتی بود. از مجموع ۴۵۱ نمونه، ۲۵ نمونه به روش مولکولی و ۴ نمونه به روش هیستوپاتولوژی مثبت تشخیص داده شد. میزان آلودگی در فصل بهار به طور معنی‌داری نسبت به فصل پاییز بالاتر بود. میزان آلودگی به‌ترتیب در مناطق پسابندر، چابهار و گواتر به طور معنی‌داری افزایش داشت ($P<۰/۰۵$)؛ در حالیکه ارتباط معنی‌داری بین جنسیت و اندازه میگو با آلودگی به ویروس لکه سفید مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). گنجیدگی‌های بازوفیلیک درون هسته‌ای در سلول‌های پیلار ناحیه‌ی تیغه‌های ثانویه بافت آبشش مشاهده و شدت آلودگی، درجه دو تشخیص داده شد. میزان بالای آلودگی در منطقه‌ی گواتر می‌تواند به‌دلیل میگوهای آلوده‌ای باشد که از مزارع پرورش این منطقه وارد دریا شده‌اند؛ از سویی در منطقه‌ی چابهار به‌عنوان یکی از مناطق تجاری کشور شیوع بالای آلودگی می‌تواند ناشی از انتقال عفونت از طریق ارگانیسم‌های چسبنده و یا آب توازن کشتی‌های در رفت و آمد به این منطقه باشد، که موجب انتشار آلودگی می‌شوند. بنابراین توجه به منطقه‌ی جمع‌آوری و عدم جمع‌آوری مولدان در فصل بهار، به‌منظور پیش‌گیری از شیوع بیماری، امری ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: لکه سفید، میگوی سفید هندی، صیدگاه‌ها، سیستان و بلوچستان.

مقدمه

میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) یکی از گونه‌های بومی میگوی ایران است که از سال ۱۹۸۹ به‌صورت وسیع و تجاری در کشور پرورش داده شد و پراکنش این میگو عمدتاً در دریای عمان است. این گونه در ایران وکشورهای خاورمیانه نه‌تنها به خاطر بومی بودن بلکه به لحاظ قابلیت‌هایی مانند توانایی رشد در شوری بالا، سازگار شدن به شرایط مراکز تکثیر و راحت بودن چرخه تکثیر، ارجحیت داده شده و بنابر توصیه FAO (Food and Agriculture Organization) این کشورها توانمندی تولید بیشتر این گونه را دارند (۸).

بیماری‌های میگو یکی از محدودیت‌های عمده برای افزایش تولید میگو هستند. GAA (Global Aquaculture Alliance) در سال ۲۰۰۱ نشان داد که بیماری‌های میگو منجر به کاهش ۲۲٪ تولیدات جهانی آن شده که در حدود ۱ بیلیون دلار ارزش آن بوده است و

* پست الکترونیک نویسنده‌ی مسؤول: msmohamadi@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

در صورتی که این میزان ثابت باشد در حدود ۱۵ بیلیون دلار تا ۱۵ سال آینده خواهد شد. طبق برآورد GAA ۶۰٪ خسارات در اثر ویروس‌ها برآورد شده است (۲۱). حدود ۲۰ بیماری ویروسی در همه‌گیری‌های خانواده‌ی پنائیده گزارش گردید؛ که در میان این ویروس‌ها، بیماری لکه سفید مهم‌ترین ویروس عفونی پاتوژن در میگوهای خانواده پنائیده است (۱۳). اولین شیوع بیماری لکه سفید در سال ۱۹۹۳ در ژاپن در گونه‌ی *P. japonicus* به وجود آمد و علت آن محموله‌ی آلوده‌ای کشور چین بود (۱۷). در ایران اولین گزارش وجود بیماری لکه سفید در منابع پرورشی میگوی سفید هندی مربوط به منطقه چوئبده آبادان درتابستان ۲۰۰۲ بود. پس از آن در سال‌های ۲۰۰۳، ۲۰۰۴ و ۲۰۰۸ تلفات شدیدی در مزارع پرورش میگوی سفید هندی در استان بوشهر گزارش گردید؛ چنانچه افشار نسب و همکاران در سال ۲۰۰۵ شیوع بیماری لکه سفید در مزارع پرورش گونه‌ی میگوی سفید هندی استان بوشهر را به روش Nested PCR، ۹۲٪ گزارش کردند. در اواخر ۲۰۰۷، ۲۰۰۹ و ۲۰۱۱ در منطقه گواتر استان سیستان و بلوچستان تلفات شدیدی ناشی از بیماری لکه سفید گزارش شد (۲، ۳ و ۲۰).

این ویروس از گروه ویروس‌های DNA دو رشته‌ای، خانواده‌ی *Nimaviridae* و جنس *Whispovirus* است (۴ و ۹). با توجه به آنکه در مراحل پیشرفته این بیماری پلاک‌های سفید رنگی در قسمت کاراپاس میگو ایجاد می‌شود به نام بیماری لکه سفید خوانده می‌شود. میزان مرگ و میر در این بیماری به طور معمول بسیار بالاست و می‌تواند تا ۱۰۰٪ در طی ۳ تا ۱۰ روز بعد از دیدن اولین علایم بالینی برسد (۱۴).

مطالعات اندکی در مورد پراکنش آلودگی در میگوی خانواده پنائیده وحشی وجود دارد. با توجه به اینکه استفاده از مولدان وحشی در مراکز تکثیر به منظور تولید پست لارو یکی از مهم‌ترین بخش‌های این صنعت محسوب می‌گردد؛ این مولدان می‌توانند حامل ویروس لکه سفید باشند و آلودگی را از طریق انتقال عمودی به پست لاروها منتقل کنند. از این‌رو بررسی مولدان وحشی در صیدگاه‌ها از نظر آلودگی به ویروس لکه سفید میگو اهمیت بالایی دارد؛ در همین راستا مطالعه در خصوص بررسی و شناسایی این ویروس در میگوهای مولد در راستای پیشگیری از ورود این عامل به چرخه‌ی تکثیر و پرورش، امری لازم به نظر می‌رسد. هدف از انجام این پژوهش بررسی آلودگی بیماری ویروسی لکه سفید با ارزیابی علایم بالینی، آزمون مولکولی و آسیب‌شناسی در صیدگاه‌های میگوی وحشی سفید هندی استان سیستان و بلوچستان بود.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری در دو فصل (پاییز۱۳۹۴ و بهار۱۳۹۵) از سه منطقه‌ی استان سیستان و بلوچستان (چابهار 25°18'59.5"N 60°32'10.9"E)، پسابندر (25°04'13.2"N 61°25'10.5"E) و گواتر (25°08'29.3"N 61°29'19.8"E) با تور ترال صورت گرفت. در مجموع ۴۵۱ نمونه جمع‌آوری گردید؛ که براساس وزن(در فصل بهار ۴/۱ ± ۳۳/۳ و در فصل پاییز ۱/۱ ± ۳۵/۳ گرم) و جنسیت بررسی شد. اندام‌های نمونه‌برداری پاهای شنا (پلئوپود) و آبشش‌ها بود، به طوری که در شرایط استریل پاهای شنا برای آزمایش‌های مولکولی در الکل اتیلیک ۹۵ درجه نگه‌داری شده و بافت آبشش برای مقاصد آسیب‌شناسی بافتی ابتدا در محلول دیویدسون(Davidson's fixative) تثبیت و بعد از ۴۸-۲۴ ساعت به الکل ۷۰ درجه منتقل شد.

به‌منظور استخراج DNA ابتدا بافت پلئوپود هر یک از نمونه‌ها هموژن گردید، سپس DNA با کیت (Genet Bio,cheonon, Korea) استخراج شد. DNA استخراجی تا زمان انجام آنالیز مولکولی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. به‌منظور اطمینان از کیفیت DNA استخراج یافته و صحت واکنش زنجیره

www.SID.ir

Archive of SID

پلی‌مراز از پرایمر دکاپود با توالی Dec143F (5’-TGC-CTT-ATC-AGCTNT-CGA-TTG-3’) و Dec145R (5’- TTC-AGN-TTT-GCA-ACC-ATA-CTT-CCC-3’) استفاده شد (۱۸). روش Nested PCR حساسیت و اختصاصیت را در ردیابی توالی هدف افزایش می‌دهد و متشکل از دو مرحله است. در مرحله اول یک واکنش PCR استاندارد انجام شده و در مرحله دوم محصول PCR واکنش مرحله اول به‌عنوان نمونه استفاده می‌شود. در مرحله اول پرایمرهای 146F1(5’-ACT-ACT-AAC-TTC-AGC-CTA-TCTAG-3’) و 146R1(5’-TAA-TGC-GGG-TGT-AAT-GTT-CTT-ACG-A-3’) تولید باند ۱۴۴۱ می‌کنند و در مرحله دوم پرایمرهای Nested 146F2(5’-GTA-ACT-GCC-CCT-TCC-ATC-TCC-A-3’) و 146R2(5’-TAC-GGC-AGC-TGC-TGC-ACC-TTG-T-3’) تولید باند ۹۴۱ می‌کنند (۱۸). واکنش PCR مرحله اول شامل ۵ میکرولیتر DNA (حاوی ۰/۱ تا ۰/۳ میکروگرم DNA) است که به تیوب‌های PCR حاوی ۲۰ میکرولیتر مخلوط واکنش (۲ میکرولیتر بافر PCR، ۰/۶ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۲۰ میکرومولار dNTP و ۱۰ پیکومول از هرکدام از پرایمرها و ۰/۲ میکرولیتر از Taq DNA polymerase) اضافه می‌گردد. اجزای واکنش مرحله دوم مانند مرحله اول است؛ بجز این‌که ۵ میکرولیتر از محصول مرحله اول به مخلوط مرحله دوم اضافه می‌گردد و همچنین در مرحله دوم نیز از پرایمرهای Nested استفاده می‌گردد. چرخه‌های حرارتی استفاده شده در هر دو مرحله PCR شامل، یک سیکل با دمای ۹۴ درجه به مدت ۴ دقیقه به‌عنوان واسرشت اولیه، ۳۹ سیکل که سه مرحله‌ی واسرشت‌سازی (۹۴ درجه، ۱ دقیقه)، الحاق (۵۵ درجه، ۱ دقیقه) و بسط (۷۲ درجه، ۲ دقیقه) را شامل می‌شود، به دنبال هم تکرار می‌شود و در نهایت بسط نهایی با دمای ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه انجام می‌گیرد. برای بررسی نتایج Nested PCR، ۶ میکرولیتر از PCR مرحله دوم در ژل آگارز ۱٪ حاوی Safe stain ریخته شد و بعد از انجام الکتروفورز باندهای موجود در ژل تحت نور UV بررسی شدند. کنترل مثبت ویروس لکه سفید از پژوهشکده‌ی میگوی کشور گرفته شد.

به‌منظور سنجش آسیب شناسی پس از آماده‌سازی نمونه‌ها با دستگاه اتوتکنیکون (Tissue processor) و قالب‌گیری با پارافین، برش‌های با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه گردید. مقاطع میکروسکوپی تهیه شده به روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. به منظور ارزیابی شیوع بیماری در سایت‌های مختلف در فصول مختلف از تست آماری Chi square و Fisher's exact test و به برای ارزیابی شیوع بیماری در جنس‌های مختلف و سایزهای مختلف از تست آماری *t*-test با استفاده از نرم‌افزار Spss ویرایش ۱۰/۰ استفاده شد.

نتایج

میانگین وزنی میگوها در فصل بهار ۴/۱ ± ۳۳/۳ و در فصل پاییز ۱/۱ ± ۳۵/۳ گرم بوده و اختلاف معنی‌داری بین وزن در دو فصل با یکدیگر مشاهده نگردید (۰/۰۵ <P). اطلاعات مربوط به میزان آلودگی در فصول مختلف صیدگاه‌ها در جدول ۱ آورده شده است؛

میانگین آلودگی در همه‌ی مناطق در فصل بهار ۸/۷±۴/۷ درصد و در فصل پاییز ۲/۰۳±۲/۴ درصد شد که به طور معنی‌داری میزان آلودگی در فصل بهار بیش از فصل پاییز مشاهده گردید (P<۰/۰۵). در مناطق چابهار، پسابندر و گواتر میانگین آلودگی به‌ترتیب ۴/۹±۴/۹، ۲/۱±۲/۹ و ۹/۲±۶/۳ درصد مشاهده گردید. لازم به ذکر است که در منطقه‌ی پسابندر در فصل پاییز هیچ‌گونه آلودگی مشاهده نشد. از لحاظ آماری، اختلاف معنی‌داری بین آلودگی به ویروس لکه سفید در صیدگاه‌های مختلف

www.SID.ir

Archive of SID

مشاهده شد (P<۰/۰۵)؛ به طوری که بیشترین میزان آلودگی در منطقه‌ی گواتر و در منطقه‌ی پسابندر، کمترین میزان آلودگی مشاهده گردید.

جدول ۱- فراوانی (درصد) آلودگی بیماری لکه سفید در مناطق و فصول مختلف

مناطق مورد مطالعه	فصل پاییز (٪)	فصل بهار (٪)	میانگین (٪)
چابهار	۱/۷۰ (۱/۴)	۶/۷۱ (۸/۴)	۴/۹[a]
پسابندر	۰/۷۵ (۰)	۳/۷۰ (۴/۲)	۲[a]
گواتر	۴/۸۵ (۴/۷)	۱۱/۸۰ (۱۳/۷)	۹[b]
مجموع	۵/۲۳۰(۲/۱)[A]	۲۰/۲۲۱(۹)[B]	۵/۵

حروف کوچک متفاوت (a، b و c) ستون‌ها نشانه‌ی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه است (P<۰/۰۵).
حروف بزرگ متفاوت (A و B) ردیف‌ها نشانه‌ی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه است (P<۰/۰۵).

(P> ۰/۰۵). جدول ۳ میزان آلودگی در اندازه‌های مختلف میگو را نشان می‌دهد که شیوع آلودگی ویروس لکه سفید میگو با اندازه کوچک در فصل بهار و پاییز (به‌ترتیب ۱۰/۵٪ و ۲/۷٪) بیشتر از شیوع آن در میگو با اندازه بزرگ (به‌ترتیب ۶/۱٪ و ۱/۱٪) است با این وجود تفاوت آماری معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نگردید (P> ۰/۰۵).

در جدول ۲ اطلاعات مربوط به میزان شیوع بیماری در دو جنس نر و ماده در فصول مختلف به تفصیل آورده شده است. میانگین آلودگی در هر دو جنس (نر و ماده) در فصل بهار (به‌ترتیب ۷/۳٪ و ۱۰/۳٪) بالاتر از فصل پاییز (به‌ترتیب ۰/۹٪ و ۳/۲٪) است؛ در حالیکه ارتباط معنی‌داری بین شیوع بیماری در دو جنس یافت نگردید

جدول ۲- میزان آلودگی بیماری لکه سفید به تفکیک جنسیت در مناطق و فصول مختلف

منطقه	پاییز		بهار	
	ماده (٪)	نر (٪)	ماده (٪)	نر (٪)
چابهار	۱/۳۶ (۲/۷)	۰/۳۴ (۰)	۴/۴۰ (۱۰)	۲/۳۱ (۶/۴)
پسابندر	۰/۴۴ (۰)	۰/۳۱ (۰)	۳/۳۹ (۶/۷)	۰/۳۱ (۰)
گواتر	۳/۴۵ (۶/۶)	۱/۴۰ (۲/۵)	۶/۴۷ (۱۲)	۵/۳۳ (۱۵)
مجموع	۴/۱۲۵ (۳/۲)	۱/۱۰۵ (۰/۹)	۱۳/۱۲۶ (۱۰/۳)	۷/۹۵ (۷/۳)

جدول ۳- فراوانی (درصد) آلودگی بیماری لکه سفید در اندازه‌های مختلف میگوی سفید هندی (بین ۱۰ تا ۳۰ گرم اندازه کوچک و بین ۳۱ تا ۷۰ گرم اندازه بزرگ در نظر گرفته شد)

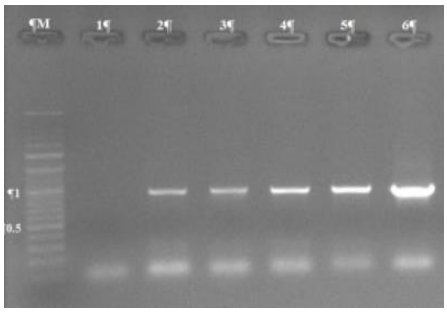
منطقه	پاییز		بهار	
	کوچک (٪)	بزرگ (٪)	کوچک (٪)	بزرگ (٪)
چابهار	۱/۵۳ (۱/۸)	۰/۱۷ (۰)	۵/۴۸ (۱۰/۴)	۱/۲۳ (۴/۳)
پسابندر	۰/۴۲ (۰)	۰/۳۳ (۰)	۱/۳۹ (۲/۵)	۲/۴۱ (۴/۸)
گواتر	۳/۴۸ (۶/۲)	۱/۳۷ (۲/۷)	۸/۴۶ (۱۷/۳)	۳/۳۴ (۸/۸)
مجموع	۴/۱۴۳ (۲/۷)	۱/۸۷ (۱/۱)	۱۴/۱۳۳ (۱۰/۵)	۶/۹۸ (۶/۱)

از تعداد ۲۳۰ و ۲۲۱ نمونه در فصل پاییز و بهار به‌ترتیب ۱و ۳ نمونه علایم آسیب‌شناسی در بافت آبشش داشتند؛ که این نمونه‌ها با روش Nested PCR نیز مثبت تشخیص داده شدند. این نمونه‌ها علایم بالینی

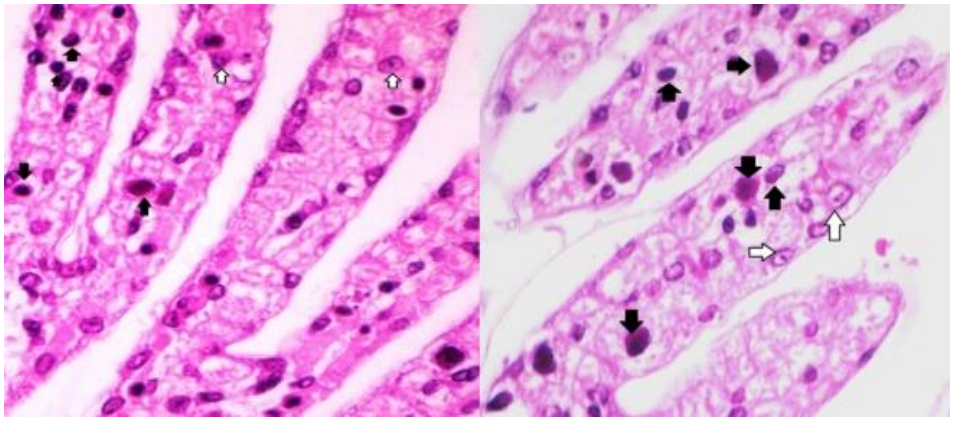
www.SID.ir

Archive of SID

نداشتند. گنجیدگی‌های بازوفیلیک درون هسته‌ای از نوع Cowdry type A در سلول‌های پیلار ناحیه‌ی تیغه‌های ثانویه بافت آبشش دیده شد، علاوه بر آن ادغام تیغه‌های ثانویه در بافت آبشش آلوده و همچنین هیپرتروفی هسته و واکوئله شدن سیتوپلاسم سلول‌ها در سلول‌های این ناحیه مشاهده گردید. در بعضی از نواحی دیگر سلول‌های آسیب دیده آبشش متورم و کروماتین در حاشیه سلول قرار گرفته بود (شکل ۲).



شکل ۱– نتایج آزمون مولکولی ویروس لکه سفید (M. نشان‌گر ۱. کنترل منفی (استفاده از آب) ۲. کنترل مثبت ۳ و ۴ نمونه‌های آلوده منطقه چابهار و ۵ و ۶ نمونه‌های آلوده منطقه گواتر)



شکل ۲– در این شکل بافت آبشش سلول‌های نرمال با فلش سفید و سلول‌های آلوده به گنجیدگی‌های ویروسی داخل هسته‌ای (Cowdry type A) بازوفیلیک با فلش سیاه مشخص شده‌اند. (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین بزرگ‌نمایی ۴۰۰)

بحث

توجه به علایم بالینی یکی از راه‌های تشخیصی سریع بیماری لکه سفید میگو است؛ که ممکن است با سایر بیماری‌ها اشتباه شود. بنابراین توجه به علایم آسیب شناسی و آزمون مولکولی از جمله روش‌های دقیق تشخیص این بیماری است(۵). در این مطالعه شیوع بیماری لکه سفید بوسیله Nested PCR بیش از روش هیستوپاتولوژی مشاهده گردید؛ این نتایج نشان دهنده‌ی این است که غربالگری این بیماری در صنعت پرورش میگو بهتر است با روش‌های مولکولی مانند Nested PCR که حساسیتی در حدود ۹۹٪ دارد، صورت گیرد. Kou و همکاران در سال ۱۹۹۸ روش PCR را به‌عنوان بهترین روش غربالگری نمونه‌های مربوط به میگو و سخت‌پوستان در بیماری لکه سفید گزارش کردند (۷). از سویی، نتایج این پژوهش نشان‌دهنده این است که نمونه‌هایی که با روش مولکولی مثبت تشخیص داده شده و فاقد علایم بالینی هستند، می‌توانند به‌عنوان حامل یا مخزن برای بیماری لکه سفید عمل کنند که این میگوها نقش مهمی در انتقال بیماری در مزارع تکثیر و پرورش میگو دارند. مطالعه‌ی Chakraborty و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داد که که میگوهای حامل آلوده به بیماری لکه سفید فاقد هر نوع علایم خارجی هستند و بهترین راه برای تشخیص آن‌ها، روش‌های مولکولی محسوب می‌شود (۶).

Gholamhoseini و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ای ۴ گونه از مهم‌ترین گونه‌های میگوی ایران- که

www.SID.ir

Archive of SID

به روش مولکولار آلوده به ویروس لکه سفید تشخیص داده شدند- را بر اساس شدت ضایعات آسیب‌شناسی به ۴ درجه تقسیم کردند (۱۰). بر اساس این مطالعه سطح آسیب دیدگی نوع ۲، گنجیدگی‌های درون هسته‌ای بازوفیلیک بزرگ بدون این‌که سلول‌ها دچار نکروز یا آسیب غشایی شده باشند، دیده می‌شود. با توجه به این مطالعه می‌توان شدت آلودگی در نمونه‌های به دست آمده از سیستان و بلوچستان را در درجه ۲ (G2) طبقه‌بندی کرد.

در طی این پژوهش شیوع بیماری لکه سفید در صیدگاه‌های میگوی سفید هندی وحشی استان سیستان و بلوچستان در فصل پاییز و بهار به‌ترتیب ۲/۱٪ و ۹٪ مشاهده گردید؛ این میزان شیوع می‌تواند هشداری برای مراکز تکثیر و پرورش این‌گونه باشد. در مطالعه‌ای که قروی و همکاران در طول سال‌های ۲۰۰۶-۲۰۰۸ به بررسی حضور این ویروس در ایران در گونه‌ی *P.indicus* وحشی در سواحل استان هرمزگان انجام دادند، هیچ‌گونه آلودگی تشخیص داده نشد (۱).

در مطالعه‌ای که در ژاپن در سال ۱۹۹۸ روی گونه‌ی *P. japonicas* وحشی انجام شد، میزان آلودگی به بیماری لکه سفید ۹٪ با روش nested PCR گزارش شد(۱۶). در تایوان Kou و همکاران در سال ۲۰۰۱ میزان شیوع بیماری لکه سفید را در مولدان *P. monodon* وحشی ۲۰ ٪ گزارش کردند (۱۱). درحالی‌که در تایلند میزان شیوع بیماری بین ۰ تا ۱۸ درصد در فصول مختلف گزارش شد (۲۲). Leobert و همکاران در سال ۲۰۰۷ شیوع بیماری لکه سفید را در گونه‌ی *P. monodon* وحشی در صیدگاه‌های فیلیپین به طور متوسط ۹/۶ درصد گزارش کردند (۱۲).

در مطالعه‌ی حاضر بین مولدان نر و ماده میگوی سفید هندی (*P. indicus*) در ارتباط با ابتلا به بیماری لکه سفید ارتباط معنی‌داری مشاهده نگردید؛ به طوری که فراوانی بیماری در جنس ماده (۶/۷۵٪) بیش از نر (۴/۲٪) بود. این در حالی است که میزان آلودگی در فصل بهار (۹٪) نسبت به فصل پاییز (۲/۱٪) به طور معنی‌داری بالاتر است ($P<0/05$). شیوع بالای بیماری در فصل بهار می‌تواند ناشی از استرس حاصل از تخم‌ریزی در مولدان باشد؛ که این فعالیت در اواخر زمستان رخ می‌دهد؛ همچنین علت پایین بودن میزان آلودگی در فصل پاییز می‌تواند به‌دلیل مرگ میگوهای آلوده به ویروس در فصل بهار باشد. Lo و همکاران در سال ۱۹۹۷ به طور تجربی نشان دادند که استرس متعاقب تخم‌ریزی در مولدان می‌تواند تکثیر ویروس لکه سفید را افزایش دهد و در نتیجه میگو به عفونت دچار شود و در نهایت منجر به مرگ میگو گردد (۱۵). Peng و همکاران در سال ۲۰۰۱ در مطالعه‌ای که در راستای شناسایی بیماری لکه سفید در میگوهای مولد مونودن آب‌های ساحلی جنوب تایوان انجام داده بودند به این نتیجه رسیدند که میزان شیوع بیماری پس از تخم ریزی بیشتر از میزان شیوع بیماری قبل از تخم‌ریزی بود (به‌ترتیب ۸۷٪ و ۵۵٪) (۱۹). نتایج این مطالعه (به مقتضای در نظر گرفتن فصل) با نتایج مربوط به کشورهای ژاپن، تایوان و فیلیپین مشابهت دارد؛ که در همه این مطالعات میزان آلودگی در فصل گرم سال بالاتر گزارش شده است (۱۱، ۱۲ و ۱۶)، این در حالی است که در مطالعه مربوط به کشور تایلند بیشترین شیوع آلودگی در فصل سرما بود (۲۲). در مطالعه‌ی حاضر ارتباط معنی‌داری بین آلودگی به ویروس لکه سفید و منطقه جمع‌آوری مولدان یافت شد؛ به طوری که به‌ترتیب پسابندر (۲٪)، چابهار (۴/۹٪) و گواتر (۹٪) میانگین فراوانی بیماری در آن‌ها افزایش می‌یابد. بالاتر بودن میزان آلودگی در منطقه‌ی گواتر را می‌توان به فعالیت‌های گسترده‌ی پرورش میگو در این منطقه نسبت داد. در واقع یکی از احتمالات شیوع بیماری لکه سفید در منطقه گواتر می‌تواند به‌دلیل فرار میگوهای آلوده‌ای باشد که از مزارع پرورشی به آب‌های ساحلی راه یافته و منجر به انتقال آلودگی به مولدان موجود در دریا شده‌اند، از سوی دیگر

www.SID.ir

Archive of SID

منطقه‌ی چابهار، یکی از بنادر تجاری معروف کشور محسوب می‌شود. با توجه به آن که فعالیت‌های پرورشی در این منطقه چشم‌گیر نیست، شیوع بالای آلودگی می‌تواند ناشی از انتقال عفونت از طریق ارگانیسم‌های چسبنده و یا آب توازن کشتی‌های در رفت و آمد به این منطقه باشد که باعث انتشار آلودگی می‌شوند. سطح پایین‌تر آلودگی در منطقه‌ی پسابندر می‌تواند به این دلیل باشد که این منطقه شرایط ذکر شده در مورد دو منطقه قبل را ندارد. در مطالعه‌ی انجام شده در کشور فیلیپین بیشترین میزان آلودگی در منطقه‌ی Palwan گزارش گردید که یکی از مناطق مهم تجاری این کشور محسوب می‌گردد (۱۲).

با توجه به نتایج به دست آمده هیچ ارتباط معنی‌داری بین آلودگی به ویروس لکه سفید در میگوهای کوچک و بزرگ مشاهده نگردید؛ لیکن با این وجود درصد آلودگی در میگوهای کوچک (۶/۶٪) نسبت به بزرگ (۳/۶٪) در هر دو فصل بیشتر است.

باید توجه داشت که ویروس لکه سفید توانایی انتقال عمودی از مولدان به پست لاروها را دارد. با توجه به آنکه این بیماری از جمله مهلک‌ترین بیماری‌های ویروسی میگوی سفید هندی محسوب می‌گردد، توجه به منطقه‌ی جمع آوری مولدان به منظور تکثیر و پرورش و نیز خودداری از جمع‌آوری میگوهای کوچک تا حد زیادی می‌تواند از شیوع بیماری جلوگیری کند؛ همچنین باید توجه داشت که فصل بهار یکی از زمان‌های پرخطر شیوع بیماری است و بهتر است در فصل پاییز نسبت به جمع‌آوری مولدان اقدام کرد.

میگوی سفید هندی یکی از مهم‌ترین گونه‌های سازگار با شرایط بومی ایران محسوب می‌شود؛ متأسفانه با ورود گونه‌ی غیر بومی میگوی پا سفید غربی نقش این میگو در صنعت پرورش میگو کم‌رنگ شده است. از این‌رو می‌توان به جای صرف هزینه‌های هنگفت در واردات مولدان غیر بومی در جدا سازی و کنترل آلودگی در مولدان وحشی بومی کشورمان گام برداشت. گونه سفید هندی در زمینه رشد و تراکم‌پذیری محدودیت دارد؛ بنابراین برای رفع این مشکل در گونه سفید هندی نیاز به مولد سازی و پرورش مولدهایی با ژنتیک مناسب و عاری از بیماری است. با توجه به مزایای میگوی سفید هندی و اهمیت بومی بودن آن و همچنین توصیه‌ی FAO در خصوص تولید SPF این گونه، شایسته است در این راستا قدم برداشته شود؛ که این پژوهش می‌تواند گامی در راستای شناسایی سایت‌های عاری از بیماری شایع ویروسی لکه سفید در آب‌های جنوب کشور به منظور برداشتِ میگوی مولد سفید هندی برای توسعه‌ی این گونه و تولید میگو با سلامتی بالا (High health) باشد (۸).

منابع

۱- قروی، بهروز؛ افشارنسب، محمد؛ آفتابسوار، یوسف؛ صادقی، محمدرضا و رادخواه، کورس؛ بیماری لکه سفید میگو در میگوهای وحشی سفید هندی آب‌های ساحلی هرمزگان در ایران؛ فصلنامه علمی پژوهش و سازندگی؛ ۱۳۸۸؛ ۸۵: ۲۲-۲۸.

2- Afsharnasab, M; Matinfar, A; Mohamadi, D.M; Ghavampour, A; Seyed, M.S; Sabz, A.S; Pazir, K; Faghih, G.H; Haghnejat, M. and Ghasemi, S; Growth and survival rates, food conversion ratio and total harvest in cultured shrimp *litopenaeus vannamei* in Iran. Iranian Sci Fisheries J; 2008; 17(3): 15-22.

3- Afsharnasab, M; Mortezaei, R; Yegane, V. and Kazemi, B; Gross sign, histopathology and polymerase chain reaction observations of white spot syndrome virus in shrimp

www.SID.ir

Archive of SID

specific pathogen free *Litopeneaus vannamei* in Iran. Asian J Anim Vet Adv; 2009; 4(6): 297-305.

4- Alavandi, S; Bharathi, R.A; Kumar, S.S; Dineshkumar, N; Saravanakumar, C. and Rajan, J.J.S; Tangential flow ultrafiltration for detection of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp pond water. J Virol Methods; 2015; 218: 7-13.

5- Bell, T.A.L; Bell, D.V.T.A. and Lightner, D.V; A handbook of normal penaeid shrimp histology; 1th.Ed., Louisiana, U.S.A., 1988; pp:21-25.

6- Chakraborty, A; Otta, S; Joseph, B; Kumar, S; Hossain, M.S; Karunasagar, I; Venugopal, M. and Karunasagar, I; Prevalence of White spot syndrome virus in Wild crustaceans along the coast of India. Current Sci; 2002; 82(11): 1392-1397.

7- Chou, H; Huang, C; Lo, C. and Kou, G; Studies on transmission of white spot syndrome associated baculovirus (WSBV) in *Penaeus monodon* and *P. japonicus* via waterborne contact and oral ingestion. Aquacult; 1998; 164(1): 263-276.

8- FAO, R., E.V; Cultured Aquatic Species Information Programme. *Penaeus indicus.* Culture Aquatic Species Information Program; 2007.

9- Fauquet, C.M; Mayo, M.A; Maniloff, J; Desselberger, U. and Ball, L; Virus taxonomy. Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses; 2004; 8: 455-465.

10- Gholamhoseini, B; Afsharnasab, M. and Motallebi, A; Rate (ROI) and severity (SOI) of infection of white spot disease in cultured and captured penaeid shrimps in the Persian Gulf using histopathology and polymerase chain reaction. Iranian J Fisheries Sci; 2013; 12(2): 335-347.

11- Kou, G; Chang, Y; Peng, S. and Lo, C; Viral infection of cultured shrimp in Taiwan. in Proceedings of the JSPSNRCT international symposium on sustainable shrimp culture and health management diseases and environment. Tokyo University of Fisheries, Tokyo. 2001 (pp. 221), 15-27.

12- Leobert, D; Lavilla-Pitogo, C.R; Villar, C.B.R; Paner, M.G; Sombito, C.D. and Capulos, G.C; Prevalence of white spot syndrome virus (WSSV) in wild shrimp *Penaeus monodon* in the Philippines. Dis Aquatic Org; 2007; 77(3): 175-179.

13- Lightner, D.V; Biosecurity in

www.SID.ir

Archive of SID

shrimp farming: pathogen exclusion through use of SPF stock and routine surveillance. J World Aquatic Soc; 2005; 36(3): 229-248.

14- Lightner, D.V; Redman, R; Pantoja, C; Tang, K; Noble, B; Schofield, P; Mohney, L; Nunan, L. and Navarro, S; Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. J Inv Pathol; 2012; 110(2): 174-183.

15- Lo, C.F; Ho, C.H; Chen, C.H; Liu, K; Chiu, Y; Yeh, P; Peng, S; Hsu, H; Liu, H. and Chang, C; Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of Penaeus monodon with a special emphasis on reproductive organs. Dis Aquatic Org; 1997; 30(1): 53-72.

16- Mushiake, K; Arimoto, M; Satoh, J. and Mori, K; Detection of PRDV (Penaeus Rod-shaped DNA Virus) from wild adult kuruma prawn (*Penaeus japonicus*). J Fish Dis (Japan); 1998; 33(5): 503-509.

17- Nakano, H; Koube, H; Umezawa, S; Momoyama, K; Hiraoka, M; Inouye, K. and Oseko, N; Mass mortalities of cultures kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: epizootiological survey and infection trials. J Fish Dis; 1994; 29(2): 135-139.

18- OIE, Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, White Spot Disease, Chapter 2.2.5; 2009: 121-131

19- Peng, S.E; Lo, C.F; Lin, S.C; Chen, L.L; Chang, Y.S; Liu, K.F; Su, M.S. and Kou, G.H; Performance of WSSV-infected and WSSV-negative *Penaeus monodon* postlarvae in culture ponds. Dis Aquatic Org; 2001; 46(3): 165-172.

20- Salehi, H; The economic impacts of WSSV on shrimp farming production and export in Iran. J Aquat Anim Health; 2010; 5(2): 29-31.

21- Timothy, W; Shrimp Disease Control: Past, Present and Future. Dis Asi Aquacult VI; 2008: 355-377.

22- Withyachumnarnkul, B; Boonsaeng, V; Chomsoong, R; Flegel, T.W; Muangsin, S. and Nash, G.L; Seasonal variation in white spot syndrome virus-positive samples in broodstock and post-larvae of *Penaeus monodon* in Thailand. Dis Aquatic Org; 2003; 53(2): 167-171.

www.SID.ir

Archive of SID

Identification of white spot disease (white spot disease) in wild Indian white shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) in Sistan and Baluchestan Province

Gholamhosseini, A.[1]; Mohammadi, A.[2*]; Sohrab, A.[3]; Akhlaghi, M.[4]; Ahmadi, N.[5]

1. Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.
2. Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.
3. Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.
4. Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.
5. Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.

Recieved: 25 July 2016 ***Accepted:*** 19 August 2016

Summary

White spot disease (WSD) is the most important viral diseases in shrimp *Penaeidae* family. However, no study has been done on wild Indian white shrimp brooder species (*Fenneropenaeus indicus*) in capture sites in Sistan-Baluchestan province, yet. The aim of this study was to evaluate the prevalence of WSSD in different seasons of captures in this province by molecular and pathologic methods. Out of 451 samples, 25 samples and 4 samples were found positive by molecular and histopathology respectively. The rate of infection in the spring was significantly higher than in autumn. Prevalence rate in Pasabandar, Chabahar and Gwadar significantly increased, whereas no significant relationship was observed between gender and the size of the shrimp with white spot infection. Basophilic nuclear inclusion bodies were seen within the pillar cells in the secondary gill lamellae tissue and the severity of the infection was diagnosed grade two. High levels of pollution in the region of Gwadar due to infected shrimps in this region farms which entered the sea, On the other hand in Chabahar, one of the country's commercial ports, high prevalence of WSSD is due to ships that carry fouling organisms and discharge ballast water sail to these areas. It seems that attention to capturing sites and lack of collecting broodstock in the spring season be necessary to prevent the spread of disease.

Keywords: White spot, Indian white shrimp, Capture sites, Sistan va Baluchestan.

* Corresponding Author E-mail: msmohamadi@yahoo.com

www.SID.ir