magiran.com

نقش جلبکهای دریایی *Laminaria digitata* و *Aschophylum nodossum* در پیشگیری و کنترل بیماری لکه سفید (WSD) در میگوی پا سفید (*Litopenaeus vannamei*)

عقیل دشتیان نسب [۱] *؛ محمد افشارنسب [۲] ؛ محمدرضا مهرابی [۳] و وحید یگانه [٤]

adashtiannasab@gmail.com

۱ و ٤ - پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر صندوق پستی: ۱۳۷٤

۲ و ۳ - موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ٦۱۱٦-۱٤۱٥٥

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸٦ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۸

چکیده

در این تحقیق از یک مکمل غذایی استخراج شده از جلبکهای دریایی ***Laminaria digitata*** و ***Ascophylum nodossum*** حاوی ۱ درصد اسید آلژینیک بعنوان محرک سیستم ایمنی در میگوها برای پیشگیری از ابتلاء به ویروس عامل بیماری لکه سفید (WSDV) استفاده شد. در جیره غذایی میگوهای پاسفید (***Litopenaeus vannamei***) گروه آزمایشی در مرحله لاروی از زوآ ۱ تا پست لارو ۱ (Z_1-PL_1) و در مرحله پست لاروی از PL_1 –PL_{10} و در مرحله جوانی از روز سی‌ام تا چهلم پرورش از مکمل فوق استفاده گردید. شرایط دوره لاروی، پست لاروی و پرورش میگوهای گروه آزمایش به جز دریافت مکمل غذایی با گروه شاهد یکسان بود. از میگوهای شاهد و مورد آزمایش در روز ۴۰ پرورش برای مشاهده ویروس بیماری لکه سفید (WSDV) نمونه‌برداری شد. پس از آلودگی خوراکی میگوها با ویروس، علائم کلینیکی و تلفات در ۱۰ روز ثبت شد و نتایج نشان داد بازماندگی در میگوهایی که از مکمل فوق دریافت کرده بودند بیشتر از گروه شاهد و این اختلاف معنی‌دار بود ($P<0.05$). تلفات در گروه دریافت کننده مکمل با ۴۸ ساعت تاخیر آغاز شد. این مطالعه می‌تواند افق تازه‌ایی در کنترل بیماری لکه سفید میگو باز نماید.

لغات کلیدی: جلبکهای دریایی، میگوی پاسفید، *Litopenaeus vannamei*، بیماری لکه سفید

* نویسندهٔ مسئول

magiran.com

مقدمه

صنعت پرورش میگو از سال ۱۹۸۰ بطور چشمگیری توسعه پیدا کرده است بطوریکه در سال ۲۰۰۴ تولید جهانی میگو به ۲/۵ میلیون تن رسید و برنامه تولید جهانی بنحوی است که هر سال ۱۲ تا ۱۵ درصد به این میزان افزوده می‌شود (FAO, 2006). اگرچه امروزه ۵۰ درصد تولید کل میگوی جهان از مزارع پرورشی بدست می‌آید ولی پرورش‌دهندگان میگو در دهۀ گذشته متحمل زیان‌های اقتصادی هنگفتی بدلیل بیماریهای میگو بخصوص بیماریهای ویروسی شده‌اند (Lightner, 2003). از میان ویروسهای عامل بیماری در میگوها، ویروس سندروم لکه سفید (WSDV) جدی‌ترین ویروسی است که گسترش جهانی پیدا کرده است(Tapay *et al.*, 1999 ;Wang *et al.*, 1999). از سال ۱۹۹۲ این ویروس باعث تلفات گسترده در آسیا شده و در سال ۱۹۹۵ از ایالات متحده گزارش شد و در سال ۱۹۹۹ بعنوان عامل خسارات اقتصادی و اجتماعی گسترده در آمریکای مرکزی و جنوبی شناخته شد (Jimenez *et al.*, 2000). ویروس سندروم لکه سفید قادر است گونه‌های مختلف میگو (Lightner, 1996; Chang *et al.*, 1998 ;Nunan *et al.*, 1998 ;Soto *et al.*, (Rajendran *et al.*, 1999 ;Hossain *et al.*, 2001 ;2001) و همینطور تعداد زیادی از گونه‌های خرچنگ (Chang *et al.*, 1998; Rajendran *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2000; Hameed *et al.*, 2003) و لابستر (Rajendran *et al.*, 1999 ;Huang *et al.*, 2001) را مبتلا کند. این ویروس پوشش‌دار بوده و دار DNA دو زنجیره‌ای است. شکل ویروس، باسیلی واجد یک ۰ دم مانند در یک طرف بدن بوده و طول آن ۲۷۰ نانومتر و غ آن ۱۲۰ نانومتر است (Van Hulten *et al.*, 2001). براساس اطلاعات ژنومیکی و آنالیزهای فیلوژنیکی زنجیره DNA، ویروس در خانواده جدید Wispoviridae قرار می‌گیرد (Van Hulten & Vlak, 2001). این ویروس باعث لکه‌های سفید بر روی کاراپاس میگوهای مبتلا شده، موجب بیحالی، توقف تغذیه و شنای نامنظم در اطراف استخر شده و تلفات در ۳ تا ۱۰ روز به ۱۰۰ درصد می‌رسد (Soto *et al.*, 2001). بیشترین تلفات در ۳۰ تا ۴۰ روز پس از ذخیره‌سازی اتفاق می‌افتد (Prez *et al.*, 2005).

به منظور پیشگیری و کنترل بیماری لکه سفید (WSD) تاکنون استراتژی‌های مختلفی بکار گرفته شده است:

الف) ذخیره‌سازی پست لاروهای عاری از بیماری (SPF) و مقاوم به بیماری (SPR) (Pruder *et al.*, 1995).

ب) تغییر دمای نرمال آب پرورشی میگوها (Vidal *et al.*, 2001; Guan *et al.*, 2003; Jiravanichpaical *et al.*, 2004).

ج) بکارگیری واکسن (Wittveldt *et al.*, 2004).

پ) استفاده از آنتی بادیها (Kim *et al.*, 2004).

ه) استفاده از محرکهای سیستم ایمنی.

برای مثال استفاده خوراکی پپتیدوگلیکان یا لیپوپلی ساکارید در میگوی کروما *Penaeus japonicus* (Itami *et al.*,1998; Takahashi *et al.*, 2000) و گلوکانها در میگوی ببری سیاه *Penaeus monodon* (Song *et al.*, 1997) چون سخت‌پوستان فاقد سیستم ایمنی اختصاصی وابسته به ایمنوگلوبولین‌ها هستند لذا اکثر مطالعات بر سیستم ایمنی غیراختصاصی آنها بنا شده است.

تحقیقات نشان می‌دهد که با تزریق یک مکمل غذایی حاصل از جلبکهای دریایی *Laminaria digitata* و *Ascophylum nodossum* که حاوی ۱ درصد اسید آلژینیک می‌باشد بداخل محوطه بطنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مهاجرت لکوسیتها به محوطه بطنی و عمل فاگوسیتوز افزایش یافته و ژنهای کلیدی ایمنی شامل Tumor Necrosis Factor alfa (TNF-a) و اینتر لوکین ۸ (IL-8) را بیدار می کند (Peddie *et al.*, 2002) و استفاده از آن به همراه غذا باعث کاهش شیوع سندروم بچه ماهی قزل آلا (RTFS) و به دنبال آن کاهش مرگ و میر ناشی از این سندروم می شود (ANON., 2006) و مطالعه دیگر افزودن ارگوسان به غذای ماهی Seebass باعث تحریک سطح لیزوزیم سیستم کمپلمان می‌شود (Bagni *et al.*, 2005). از طرفی استفاده خوراکی از این جلبکها در میگوی پا سفید *Litopenaeus vannamei* باعث افزایش رشد در مقایسه با گروه شاهد شده است (Montero *et al.*, 2006).

مطالعه حاضر اثرات کلینیکی مکمل غذایی حاوی جلبکهای دریایی *Laminaria digitata* و *Aschophylum nodossum* که حاوی ۱ درصد اسید آلژنیک می‌باشند را بعنوان محرکهای سیستم ایمنی غیراختصاصی میگو در پیشگیری و کاهش تلفات ناشی از ویروس بیماری لکه سفید (WSDV) در میگوی وانامی بررسی می‌کند.

مواد و روش کار

از میگوهای پاسفید (*Litopenaeus vannamei*) که قبلاً با استفاده از کیت تشخیص بیماری لکه سفید (IQ2000) به روش PCR عدم آلودگی آنها تایید شده بود استفاده گردید.

magiran.com

گرانولهای مکمل غذایی حاوی جلبک های دریایی *Laminaria digitata* و *Aschophylum nodossum* و اسید آلژینک ۱ درصد از شرکت داروگستر تهیه و پس از تبدیل آن به پودر مصرف شد. در مرکز تکثیر، غذادهی نوزاد میگوها مطابق روشهای معمول انجام می‌شد بعلاوه در گروه آزمایشی (A)، به آب تانکهای ۳۰۰ لیتری که نوزاد میگوها از مرحله Z_1-PL_{11} در آن نگهداری می‌شدند، پودر مکمل غذایی ۴ نوبت در هر روز با مقادیر مشروحه در جدول ۱ افزوده گردید. پس از آن پست لاروهای (PL_{12}) گروه آزمایش و شاهد (B) به مزرعه پرورش منتقل شدند. در مزرعه نیز غذادهی میگوها مطابق روشهای معمول انجام شد، بعلاوه در روزهای ۳۰ تا ۴۰ پرورش، گروه آزمایش (A)، همراه با غذای روزانه میگوها پودر مکمل غذایی به مقدار ۴ درصد وزن غذا مخلوط و مصرف گردید. میگوهای گروه شاهد (B) با شرایط یکسان در همان مرکز تکثیر و مزرعه، پرورش یافته ولی پودر مکمل غذایی را دریافت ننمودند.

از عضلات و سفالوتراکس منجمد (نگهداری شده در فریزر ۸۰-درجه سانتیگراد) میگوهای سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) که در سال ۱۳۸۴ پس از وقوع بیماری لکه سفید از سایت حله بوشهر جمع‌آوری شده بودند و بوسیله Nested PCR آلودگی آنها به WSDV محرز شده بود، بعنوان منبع آلودگی در آزمایشات مواجه (Challenge) استفاده شد (Prez *et al.*, 2005).

تعداد ۱۰۰ عدد میگوی PL_{52} از هر گروه (A ، B) به آزمایشگاه بهداشت و بیماریهای آبزیان پژوهشکده میگوی کشور منتقل شدند. در آزمایشگاه هر کدام از گروهها به دو زیر گروه (A_1,A_2,B_1,B_2) و هر زیر گروه به سه تکرار تقسیم شدند (جدول ۲).

هر تکرار شامل ۱۰ میگو با میانگین وزنی ۵/۲ گرم در آکواریوم پلاستیکی ۶۰ لیتری که از قبل آبگیری و هوادهی شده بودند ذخیره‌سازی شدند. به منظور کاهش استرس‌های محیطی سعی شد همه شرایط آزمایش شامل شوری، دما، pH و تغذیه مشابه مزرعه پرورشی باشد. قبل از شروع آزمایش به منظور اطمینان از عدم آلودگی میگوها به ویروسهای WSDV ,TSV و IHHNV با استفاده از کیتهای تشخیصی آزمایش PCR شدند.

میگوهای گروههای مختلف به مدت ۲۴ ساعت در شرایط گرسنگی قرار گرفتند. پس از این مدت میگوهای زیر گروههای A_1 و B_1 بوسیله عضله و سفالوتراکس میگوهای غیرآلوده (۰/۵ گرم در یک عدد میگو) و زیر گروههای A_2 و B_2 توسط عضله و سفالوتراکس میگوهای آلوده (۰/۵ گرم در یک عدد میگو) تغذیه شدند (Wang *et al.*, 1999). میگوها در گروههای مختلف در روزهای بعد ۲ نوبت در روز با غذای تجارتی شرکت هووراش تغذیه شده و هر ۱۲ ساعت میگوهای تلف شده و در حال مرگ جمع‌آوری و ثبت شد. بمنظور جلوگیری از انتقال آلودگی از آکواریومهای مختلف شرایط مراقبت ویژه‌ای اعمال شد.

میزان تلفات تجمعی گروههای مختلف طی ۱۰ روز بوسیله One way ANOVA و اختلاف آماری نتایج بصورت جداگانه از روش Tukey Honest Significant Difference (HSD) مورد ارزیابی قرار گرفت و $P<0.05$ بعنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱: برنامه روزانه مصرف جلبکها (مکمل غذایی) در نوزاد میگوهای گروه آزمایش

مرحله زوآ	مرحله مایسیس	مرحله پست لاروی	مرحله پست لاروی	مرحله پست لاروی	مرحله پست لاروی
Z_1- Z_3	M_1- M_3	PL_1-PL_3	PL_4-PL_6	PL_7-PL_8	PL_9-PL_{11}
۰/۰۳ گرم	۰/۰۶ گرم	۰/۰۸ گرم	۰/۱ گرم	۰/۱۲ گرم	۰/۱۵ گرم

جدول ۲: نحوه دریافت ویروس در تیمارهای مختلف

زیر گروه‌ها	مکمل غذایی	WSDV
A_1	+	-
A_2	+	+
B_1	-	-
B_2	-	+

(- نمایانگر عدم دریافت و + نمایانگر دریافت است)

magiran.com

نتایج

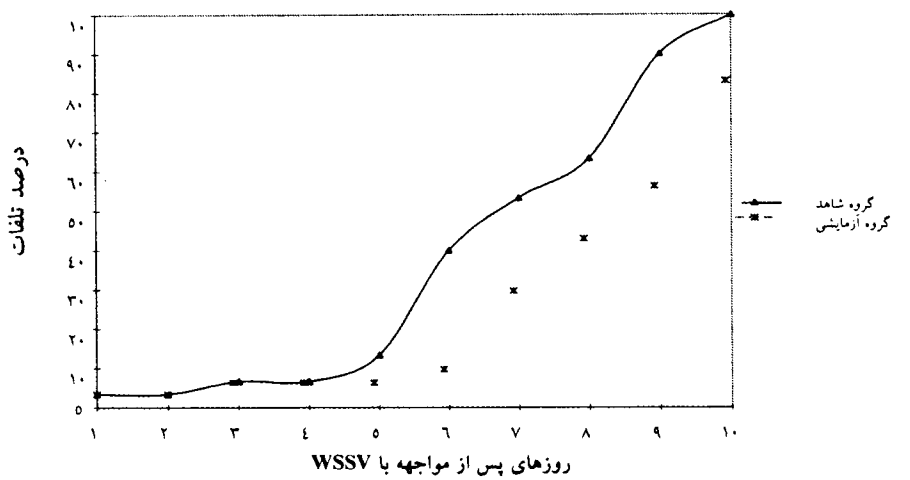
در دو زیر گروه A_1 و B_1 در مدت ۱۰ روز هیچ تلفاتی مشاهده نشد ولی در زیر گروههای A_2 و B_2 مرگ و میر مشاهده شد (جدول ۳) که در زیر گروه A_2 که در مرحله لاروی و پست لاروی مکمل غذایی دریافت کرده بودند بطور معنی‌داری کمتر بود ($P<0.05$).

تلفات در دو زیر گروه A_1 و B_1 که در معرض ویروس قرار نگرفته بودند نسبت به دو گروه A_2 و B_2 کمتر بود ($P<0.05$).

درصد تلفات تجمعی در دو گروه آزمایش و شاهد در روزهای پس از مواجه با ویروس بیماری لکه سفید نمایانگر یک فاز تاخیری در گروهی که مکمل غذایی دریافت کرده نسبت به گروه شاهد بود (نمودار ۱).

جدول ۳ : تلفات تجمعی در روزها و گروههای مختلف آزمایش و شاهد

گروه	روز صفر	روز ۱	روز ۲	روز ۳	روز ٤	روز ٥	روز ٦	روز ۷	روز ۸	روز ۹	روز ۱۰
A_1	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
A_2	۰	۱	۱	۲	۲	۲	۳	۹	۱۳	۱۷	۲۵
B_1	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
B_2	۰	۱	۱	۲	۲	٤	۱۲	۱٦	۱۹	۲۷	۳۰



نمودار ۱: تلفات تجمعی پس از مواجهه با WSDV در گروههای شاهد و آزمایش

بحث

در این مطالعه از مکمل غذایی حاصل از جلبکهای دریایی *Laminaria digitata* و *Aschophylum nodossum* که حاوی ۱ درصد اسید آلژنیک می‌باشد. برای تحریک سیستم ایمنی میگوها استفاده شد. نتایج آزمایشات نشان داد میگوهای *Litopenaeus vannamei* که مکمل غذائی دریافت کرده بودند در مدت ۱۰ روز پس از مواجهه با ویروس بیماری لکه سفید (WSDV) از بازماندگی بیشتری برخوردار بودند، همانطور که استفاده خوراکی از *Bifidobacterium termophylum* پپتیدوگلیکانهای حاصل از توانسته بود باعث افزایش بازماندگی میگوی کروما (*Marsupenaeus japonicus*) در مواجهه با WSDV شود (Itami *et al.*, 1998).

magiran.com

همچنین در این مطالعه مشخص شد که تلفات در میگوهایی که مکمل غذایی دریافت داشته‌اند با یک تاخیر ۴۸ ساعته شروع می‌شود که این می‌تواند در کنترل شیوع بیماری موثر باشد. قبلاً تزریق داروی ضد ویروسی Cidofovir در میگوی *Litopenaeus vannamei* در مواجهه با (WSDV) باعث ایجاد یک فاز تاخیری ۲۴ ساعته شده بود (Rahman *et al.*, 2006). به نظر می‌رسد جلبکهای دریایی فوق از طریق تغییر نسبت سلولهای خونی میگوی وانامی به نفع سلولهای گرانولار باعث افزایش بازماندگی نسبت به گروه شاهد می‌شود (Montero *et al.*, 2006).

سخت‌پوستان فاقد سیستم ایمنی اختصاصی شبیه آنچه که در مهره‌داران عالی دیده می‌شود، می‌باشند به همین خاطر افزایش سطح ایمنی در این موجودات با تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی انجام می‌شود. اثرات محرکهای سیستم ایمنی در بالا بردن قدرت دفاعی میگوها قبلاً نیز مشخص شده بود. Itamei و همکاران در سال ۱۹۹۸ گزارش کردند که تکنیکهای واکسیناسیون بصورت اسپری و غوطه‌وری در کنترل ویبریوزیس در مرحله لاروی و پست لاروی و مصرف خوراکی در سنین بالاتر مفید است. همچنین در مطالعه‌ای مقاومت میگوهایی که پپتیدوگلیکان دریافت کرده بودند در برابر ویبریو پنائیسیدا نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (Song *et al.*, 1994). استفاده خوراکی از بتا ۱ و۳ گلوکان هم باعث افزایش مقاومت میگوها در برابر بیماریها شده بود (Itami *et al.*, 1998).

با توجه به اهمیت کنترل بیماری لکه سفید در مزارع پرورش میگو و ضایعات اقتصادی ناشی از این بیماری بدون شک ارائه راهکارهایی که منجر به کاهش تلفات در مزارع گردد می‌تواند موجب افزایش درآمد پرورش‌دهندگان شود. استفاده از محرکهای سیستم ایمنی می‌تواند با بالا بردن سیستم دفاعی میگو یکی از رهیافت‌های کاهش شیوع بیماری لکه سفید (WSD) در میگوها باشد، اما تاکید می‌شود بیشترین توجه کماکان بر مدیریت بهداشتی استخرها، عدم ذخیره‌سازی پست لاروهای آلوده، انتخاب پست لاروهای با کیفیت بالا و رعایت موارد ایمنی زیستی (Biosecurity) متمرکز شود و استفاده موادی مثل جلبکهای دریایی در مواقعی که انتظار بروز استرسهای خاصی می‌رود یا در مواردی که با PCR دو مرحله‌ای (Nested PCR) مقدار بار آلودگی پایین نسبت به WSDV تشخیص داده شده است، پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی شرکت داروگستر و با نظارت سازمان دامپزشکی در پژوهشکده میگوی کشور انجام شد. بدینوسیله از مدیر عامل محترم شرکت داروگستر بدلیل حمایت مالی، آقای دکتر حقیقی (ناظر سازمان دامپزشکی) و آقایان مهندس سامانی و مهندس راستی سرپرست و معاون مالی اداری وقت پژوهشکده به خاطر زحمات بی‌شائبه تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

ANON, 2006. Clinical study: Reduction of mortality caused by rainbow trout fry syndrome (RTFS). www.thefishsite.com/22 Feb. 2006

Bagni M., Romano N., Finoia M.G., Abelli L., Scapigliati G., Tiscar P.G., Sarti M. and Marino G., 2005. Short and long-term effects of dietary yeast B-glucan (Macrogard) and Aliginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Fish & Shellfish Immunology, 18:311-325.

Chang P.S., Chen H.C. and Wang Y.C., 1998. Detection of white spot syndrome associated baculovirus in experimentally infected wild shrimp, crab and lobsters by in situ hybridization. Aquaculture, 164:233– 242.

Chen L.L., Lo C.F., Chiu Y.L., Chang C.G. and Kou, G.H., 2000. Natural and experimental infection of white spot syndrome virus (WSDV) in benthic larvae of mud crab *Scylla serrata*. Disease Aquatic Organisms, 40:157–161.

Guan Y., Yu Z. and Li C., 2003. The effects of temperature on white spot syndrome infection in *Marsupenaeus japonicus*. Journal of Invertebrate Pathology, 83:257–260.

magiran.com

FAO, 2006. The State of World Fisheries and Aquaculture. Part 1, Rome, Italy. No. 500, 134P.

Hameed A.S.S., Balasubremanian G., Musthaq S.S. and Yoganandhan K., 2003. Experimental infection of twenty species of Indian marine crabs with white spot syndrome virus (WSDV). Disease Aquatic Organisms, 57:157–161.

Hossain M.S., Chakraborty A., Joseph B., Otta S.K., Karunasagar I., and Karunasagar I., 2001. Detection of new hosts for white spot syndrome virus of shrimp using nested polimerase chain reaction. Aquaculture, 198:1–11.

Huang C.H., Zhang, L.R., Zhang J.H., Xiao L.C., Wu Q.J., Chen D.H., Li J.K.K., 2001. Purification and characterization of White Spot Syndrome Virus (WSDV) produced in an alternate host: crayfish, *Cambarus clarkii.* Virus Research, 76:115–125.

Itami T., Asano M., Tokushige K., Kubono K., Nakagawa A., Takeno N., Nishimura H., Kondo M. and Takahashi Y., 1998. Enhancement of disease resistance of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, after oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum.* Aquaculture, 164:277–288.

Jimenez R., Barniol R., Barniol L. and Machuca M., 2000. Periodic occurrence of epithelial viral necrosis outbreaks in *Penaeus vannamei* in Ecuador. Disease Aquatic Organism, 42:91– 99.

Jiravanichpaisal P., Söderhäll K. and Söderhäll I., 2004. Effect of water temperature on the immune response and infectivity pattern of the white spot syndrome virus (WSDV) in freshwater crayfish. Fish Shellfish Immunology, 17:265–275.

Kim D.K., Jang I., Seo H., Yang S. and Kim J., 2004. Shrimp protected from WSSV disease by treatment with egg yolk antibodies (IgY) against a truncated fusion protein derived from WSSV. Aquaculture, 237: 21-30.

Lightner D.V., 1996. A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for disease of cultured penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 304P.

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.). The World Biosecurity in Aquaculture Production Systems: Exclusion of pathogens and other undesirables. Aquaculture Society, Baton Rouge, USA. pp.81116.

Montero A., Mcinstosh D., Sanchez R. and Flores I., 2006. Immunostimulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following dietary administration of Ergosan.

Nunan L.M., Poulos B.T. and Lightner D.V., 1998. The detection of white spot syndrome virus (WSDV) and yellow head virus (YHV) in imported commodity shrimp. Aquaculture, 160:9–30.

Peddie S., Zou J. and Secombes C.J., 2002. Immunostimulation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following intraperitoneal administration of Ergosan. Veterinary Immunology and Immunopathology, 86: 101-113.

Prez F., Filip A., and Caldero J., 2005. Pathogenicity of white spot syndrome virus on postlarvae and juveniles of *Litopenaeus vannamei.* Aquaculture, 250:586–591.

magiran.com

Pruder G.D., Brown C.L., Sweeney J.N. and Carr W.H., 1995. High health shrimp systems: Supply–theory and practice. *In*: Swimming through troubled water, Proceedings seed of the special session on shrimp farming. (C.L. Browdy and J.S. Hopkins, eds.), World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. pp.40-52.

Rahman M., Bonilla C., Wille M., Alday Sanz V., Audoorn L., Neyts J., Pensaert M., Sorgeloos P. and Nauwynck H.J., 2006. Clinical effect of cidofovir and a diet supplemented with *Spirulina platensis* in white spot syndrome virus (WSDV) infected specific pathogen-free *Litopenaeus vannamei* juveniles. Aquaculture, 255:600-605.

Rajendran K.V., Vijayan K.K., Santiago T.C., and Krol R.M., 1999. Experimental host range and histopathology of white spot syndrome virus (WSDV) infection in shrimp, prawns, crabs and lobsters from India. Journal of Fish Diseases, 22:183–191.

Rosenberry B., 2003. World Shrimp Farming. Shrimp News International, San Diego, California, USA. www.shrimpnews.com/20 Feb. 2006.

Song Y.L., Liu J.J., Chan L.C., and Sung H.H., 1997. Glucan-induced disease resistance in tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *In*: Development Biology Standard. (K. Basel, R. Gooding, A. Lillehaug, P.J. Midtyling and F. Brown eds). 90:413-421.

Soto M.A., Shervette V.R. and Lotz J.M., 2001. Transmission of white spot syndrome (WSDV) to *Litopenaeus vannamei* from infected cephalothorax, abdomen, or whole shrimp cadaver. Disease Aquatic Organisms, 45:81–87.

Takahashi Y., Kondo M., Itami T., Honda T., Inagawa H., Nishizawa T., Soma G.I. and Yokomizo Y., 2000. Enhancement of disease resistance against penaeid acute viraemia and induction of virus-inactivating activity in haemolymph of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, by oral administration of *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide (LPS). Fish Shellfish Immunology, 10:555–558.

Tapay L., Nadala C., and Loh P., 1999. A polymerase chain reaction protocol for the detection of various geographical isolates of white spot virus. Journal of Virology Methods, 82:39–43.

Van Hulten M.C.W. and Vlak J.M., 2001. Identification and phylogeny of a protein kinase gene of white spot syndrome virus. Virus Genes, 22:201–207.

Van Hulten M.C.W., Witteveldt J., Peters S., Kloosterboer N., Tarchini R., Fiers M., Sandbrink H., Lankhorst R.K. and Vlak J.M., 2001. The white spot syndrome virus DNA genome sequence. Journal of Virology, 286:7–22.

Vidal O.M., Granja C.B., Aranguren F., Broca J.A., and Salazar M., 2001. A profound effect of hyperthermia on survival of *Litopenaeus vannamei* juveniles infected with white spot syndrome virus. Journal of World Aquaculture Society, 32:364– 372.

Wang Q., White B., Redman R. and Lightner D., 1999. Per of challenge of *Litopenaeus vannamei* postlarvae and *Farfantepenaeus duorarum* juveniles with six geographic isolates of white spot syndrome virus. Aquaculture, 170:179–194.

Witteveldt J., Valak M., Marielle C. and van Hulten, 2004. Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus using a WSSV subunit vaccine. Fish & Shellfish Immunology, 16:571-579.

magiran.com

Effects of *Laminaria digitata* and *Aschophylum nodossum* in controlling White Spot Disease (WSD) in (white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*)

Dashtian Nasab A.[1]*; Afsharnasab M.[2]; Mehrabi M.R.[3] and Yeganeh V.[4]

adashtiannasab@gmail.com

1 & 4- Iran Shrimp Research Center, P.O.Box: 1374 Bushehr, Iran

2 & 3- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

Received: December 2007 Accepted: July 2009

Keywords: Seeweed, *Litopenaeus vannamei*, White Spot Disease

Abstract

Complementary feedstuff extract from *Laminaria digitata* and *Ascophylum nodossum* containing 1% alginic acids as stimulator of immune system in *Litopenaeus vannamei* for controlling WSSV was used in this study. The test shrimps, *Litopenaeus vannamei*, in larvae stage (Z_1–PL_1), post larvae stage (PL_1 -PL_{10}) and juvenile (from day 30 to 40) were fed by complimentary feedstuff as the other test conditions in the test and control group were the same. Both groups were exposed to WSSV after 40 days by oral inoculation. The clinical signs and mortality were recorded for 10 days. The results showed the survival rate of the test group was higher than the control group and it was significant ($P<0.05$). The results also showed that the mortality in the test group occurred 48 hours later than the control group. This study can lead us to new methods for controlling White Spot Disease.

* Corresponding author