ایمنی زایی تزریق ویروس غیرفعال شده بیماری لکه سفید با اشعه بر شاخص‌های ایمنی و بازماندگی میگو پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

مهرداد محمدی دوست[۱]، محمد افشار نسب[۲]، شاپور کاکولکی[۳]، فرحناز معتمدی سده[٤]، حسین هوشمند[۱]، مینا آهنگر زاده[۱]، لفته محسنی نژاد*[۱]

۱- پژوهشکده آبزی‌پروری جنوب کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران

۲- بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی

۳- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۴- پژوهشکده تحقیقات کشاورزی هسته‌ای کشور، سازمان انرژی اتمی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۲۲

چکیده

این تحقیق جهت بررسی ایمنی زایی تزریق ویروس غیرفعال شده بیماری لکه سفید با اشعه بر شاخص‌های ایمنی و بازماندگی میگو پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) طراحی و اجرا گردید. مراحل عملی و اجرایی این آزمایش در مرکز تکثیر میگوی بندر امام (ره) و از ۱۳۹۲ شروع و در ۱۳۹۳ پایان پذیرفت. در این آزمایش میزان بازماندگی و فاکتورهای ایمنی میگوهای مواجهه شده با ویروس غیرفعال شده لکه سفید توسط اشعه در مقایسه با تیمار شاهد مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصله، میگوهای تغذیه شده با تزریق ویروس غیرفعال شده لکه سفید با اشعه در مقایسه با تیمار شاهد در مواجهه با ویروس لکه سفید، میزان بازماندگی بالاتری داشتند. همچنین تجزیه و تحلیل شاخص‌های ایمنی (هموسیت کل، میزان پروتئین کل، آنزیم پراکسیداز، آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، آنزیم فنل اکسید از) نشان داد که تیمار آزمایشی ایمنی زایی ویروس غیرفعال شده بیماری لکه سفید با اشعه توانسته تأثیر بسیار مثبتی درروند افزایش این شاخص‌ها ایجاد کند به‌طور یکه میزان آن‌ها طی دوره آزمایش از روز ۱ تا روز ۲۵ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بر اساس نتایج آزمایش می‌توان گفت که تیمار فوق در مقایسه با تیمار شاهد، سبب ارتقا ایمنی میگو و افزایش بازماندگی شده است.

کلمات کلیدی: میگو پا سفید غربی، واکسن لکه سفید، میزان بازماندگی، فاکتورهای ایمنی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). lmohseninejad @ yahoo.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

مقدمه

تولید جهانی آبزیان و عرضه فرآورده‌های آبزی در طی چند سال اخیر همواره روند رو به رشدی را داشته و نقش بسیار مهمی در امنیت غذایی مردم جهان ایفا می‌کند. پرورش آبزیان به منظور تولید و تأمین بخشی از پروتئین موردنیاز انسان‌ها هست و ۴۴ درصد مردم در طول سال از ماهی استفاده می‌کنند (محسنی نژاد و پیغان، ۱۳۹۴). بخش کشاورزی و منابع طبیعی ارتباط تنگاتنگی با محیط‌زیست دارد و نقش مهمی را در اقتصاد کشورها، به خصوص کشورهای درحال‌توسعه ایفا می‌نماید (مسرور رودسری و همکاران، ۱۳۹۱). یکی از مهم‌ترین فناوری‌های تولید غذاست افزایش تولید آبزیان مرهون افزایش تولید در زیر بخش آبزی‌پروری است (FAO, 2010). میگو از آبزیان باارزش اقتصادی بالا است که با توجه به رشد و توسعه بخش صیادی آن و با توجه به محدودیت ذخایر دریایی میگو انتظار افزایش کل صید چندانی را از آن نمی‌توان داشت. پرورش میگو در بدو پیدایش به شکل بسیار ساده انجام می‌گرفت و معمولاً به عنوان محصول جنبی در کنار ماهیان دریایی و حتی موجود ناخواسته در حوضچه‌های ساحلی پرورش می‌یافت ولی امروزه پرورش میگو در کشورهای درحال‌توسعه که دارای مناطق مناسب می‌باشند، در حال حاضر حدود ۹۷۱۰ هکتار استخر آماده بهره‌برداری در کشور وجود دارد، امکانات زیربنایی برای احداث ۱۶۱۵۲ هکتار استخر نیز فراهم‌شده است (یاراحمدی و همکاران، ۱۳۹۵) از چالش‌های اصلی صنعت آبزی‌پروری مسئله بهداشت و بیماری‌های آبزیان است. در آبزیان ابزار اندکی جهت تشخیص و پایش بیماری وجود دارد (خارا و همکاران، ۱۳۹۲). به طوری که سالیانه میلیون‌ها دلار به پرورش‌دهندگان ماهی و میگو خسارت وارد می‌سازد. اگر بناست صنعت پرورش میگو به رشد و پویایی خود ادامه دهد باید برای کنترل بیماری‌ها، جایگاه ویژه‌ای قائل بود. راهبرد مدیریتی کارآمد و نوآور و پرورش با تمهید ابزارهای خاص مدیریتی، نقش بسیار مهمی را در حصول این مهم ایفا می‌نماید. از دیدگاه مدیریتی، همواره پیشگیری از بیماری‌ها، بهتر از تلاش برای مبارزه و درمان آن‌ها پس از وقوع است. غالباً قصور در انجام پیشگیری‌های ساده برای جلوگیری از عوامل بیماری‌زا، سبب بروز فجایع و مشکلات لاینحل می‌شود (افشار نسب، ۱۳۸۶). با توجه به میزان برداشت میگوهای پرورشی در کل ایران و اشتغال‌زایی این صنعت و همچنین چشم‌انداز سال‌های آتی در مورد تأمین منابع غذایی، بررسی راهکارهایی برای بهداشت و بهبود شرایط زیستی و ایمنی میگوهای پرورشی ضروری می‌نماید، چراکه عوامل پاتوژن موجود در پیرامون میگوهای پرورشی، به عنوان یک استرس مهم محسوب می‌شود که می‌توان با بهبود کارایی سیستم ایمنی، میگوها را در برخورد با این عوامل نامطلوب کمک کرده و درواقع این استرس کم‌رنگ گردد.

با وجودی که سخت‌پوستان دارای پاسخ ایمنی هومورال از طریق تولید ایمونوگلوبولین نمی‌باشند، ولی پاسخ نیمه ایمنی با تولید مواد شبه ایمنوگلوبولینی بر ضد بیماری ویروسی در میگو از طریق سلول‌های ایمنی موجود در همولنف ازجمله سلول‌های هیالونوسیت، سمی‌گرانولار و گرانولار ثابت گردیده است (Rámos-Carreño *et al*., 2014).

مکانیسم‌های پاسخ‌های ایمنی در میگو شامل: فاگوسیتوز، ایجاد ندول، سایتوتوکسیسیتی (مسمومیت سلولی)، کپسول دار نمودن و سیستم پروفنل اکسید از

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

است؛ هنگام تجویز عوامل پاتوژن غیرفعال، محققین شاهد افزایش ایمنی در برابر آن بیماری خاص بودند که همین امر آن‌ها را بر آن داشت که محصولی را تحت عنوان واکسن تهیه کنند (Bachere, 2000). واکسن‌ها فرآورده‌های دارویی هستند که جهت پیشگیری از بیماری‌ها تولید و مورداستفاده قرارگرفته و دارای حداقل عوارض جانبی می‌باشند. استفاده از واکسن‌ها موجب تحریک سیستم ایمنی بدن بعد مواجهه با بیماری شده و پس از نابودی عوامل بیماری‌زا، موجب پیدایش ایمنی موقت یا پایدار در مقابل این عوامل بیماری‌زا می‌شود (Rámos-Carreño *et al.*, 2014). به علت فعالیت‌های شدید آبزی‌پروری، میگوها همواره در معرض درگیری با عوامل بیماری‌زایی ویروسی ازجمله ویروس لکه سفید بوده‌اند. ازاین‌رو راهکارهای متعددی ازجمله بهبود شرایط محیطی، ذخیره‌سازی پست لاروهای عاری از عوامل بیماری‌زا و مقاوم به عوامل بیماری‌زا، استفاده از محرک‌های سیستم ایمنی و استفاده از واکسن جهت مصون‌سازی میگوها به منظور کنترل و پیشگیری از بیماری لکه سفید ارائه‌شده است (Namikoshi *et al.*, 2004).

از انواع واکسن‌ها می‌توان به زنده یا تخفیف حدّت یافته، کشته یا غیرفعال و زیر واحدی و توکسوئید اشاره کرد. واکسن‌های زنده باعث ایجاد عفونت بدون علائم و خود محدودکننده می‌شوند؛ بنابراین سیتم ایمنی میزبان را مشابه با عفونت‌های طبیعی تحریک و سبب حفاظت طولانی مدت با کمترین میزان تجویز واکسن در میزبان می‌شوند. واکسن‌های زیر واحدی ایده آل شامل آنتی‌ژن‌های ضروری برای پاتوژن‌های میکروبی است که در القاء پاسخ‌های ایمنی حفاظتی مؤثرند و بیشتر آن‌ها آنتی‌ژن‌های خالص شده، پروتئین‌های نوترکیب و پروتئین‌های طبیعی میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. واکسن‌های غیرفعال‌شده شامل کل ارگانیسم غیرفعال شده که ایمونوژنیستی آن حفظ گردیده، می‌باشد؛ غیر فعال‌سازی و آزمون‌های تأیید سلامتی بحرانی‌ترین مرحله این واکسن‌هاست که با روش‌های حرارتی، مواد شیمیایی و پرتوها انجام می‌شود (صالحی، ۱۳۸۶). در مقایسه با مطالعات صورت گرفته روی محرک‌های سیستم ایمنی میگوها اطلاعات محدودی در رابطه با ایمن‌سازی میگوها وجود دارد. گفتنی است که سابقه تمامی این مطالعات به واکسیناسیون میگوها (سخت‌پوستان) به منظور محافظت و جلوگیری از مرگ‌ومیر میگوها بازمی‌گردد. در این مطالعات مشاهده شد که یک پاسخ شبه ایمنی در میگوهای مقاوم به ویروس‌های بیماری‌زا همانند ویروس بیماری لکه سفید ایجادشده بود که به دلیل وجود فاکتورهای خنثی‌کننده در همولنف میگوهای واکسینه شده، در مواجهه بعدی میگوها با ویروس به دلیل فعالیت سیستم شبه ایمنی، مقاومت میگوها در برابر بیماری افزایش یافت که درنتیجه آن مرگ‌ومیر میگوها با کاهش همراه شد (Johnsona *et al.*, 2008).

امروزه با استفاده از پروتئین‌های نوترکیب، می‌توان موجودات را با مقادیر بالایی از آنتی‌ژن‌های اختصاصی واکسینه کرد که در پی آن میزان رشد و بازماندگی‌های آن‌ها نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد، لذا با توجه به اینکه بیماری ویروسی لکه سفید همواره به عنوان یک خطر جدی برای صنعت پرورش میگوی کشور محسوب می‌گردد، سعی خواهد شد تا با به‌کارگیری شیوه‌های نوین در جهت ایمن‌سازی، مقاومت میگوها را نسبت به بیماری لکه سفید افزایش داد که در پی آن

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

میزان رشد و بازماندگی میگوها بهبود یابد (افشار نسب و همکاران، ۱۳۹۰).

در ایران اولین گزار ش مرتبط با تولید واکسن برای بیماری لکه سفید به گزار ش نهایی پروژه "بررسی امکان تهیه واکسن غیرفعال جهت پیشگیری از بیماری ویروسی لکه سفید با استفاده از روش‌های هسته‌ای و غیر هسته‌ای در میگوی سفید هندی" برمی‌گردد که توسط موسسه تحقیقات شیلات ایران و پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی سازمان انرژی هسته ائی به انجام رسید (Motamedi *et al*., 2012). در این پروژه مشخص گردید که ویروس لکه سفید پرتو داده‌شده با سه روش اشعه گاما، بیم الکترون و فرمالین دارای اثرات متفاوت بوده و بهترین تأثیر واکسن تهیه‌شده را می‌توان در پرتوهای تابیده به روش گاما مشاهده نمود؛ و درنهایت نتیجه‌گیری شد که اثر حفاظتی واکسن تولیدی با اشعه گاما اثر بهتری با واکسن حاصل از فرمالین و بیم الکترون دارد (Motamedi *et al*., 2012).

یکی از مهم‌ترین میگوهای پرورشی کشور، میگوی وانامی است که دارای توانایی متعددی ازجمله جزء سریع الرشدترین گونه‌های تجاری میگو، مقاوم به دامنه وسیعی از تغییرات دما و شوری، ماندگاری بالا در مراحل لاروی در هچری و در شرایط استخرهای پرورشی می‌باشد (Tamayo, 2006). لذا تحقیق حاضر به منظور افزایش سطح ایمنی میگوی پا سفید غربی و اثرات بررسی ایمنی زایی تزریق ویروس غیرفعال شده بیماری لکه سفید با اشعه بر شاخص‌های ایمنی و بازماندگی میگو پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) بر این‌گونه میگو طرح و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

مراحل عملی و اجرایی این آزمایش در مرکز تکثیر میگوی بندر امام خمینی (ره) متعلق به اداره کل شیلات خوزستان و از آبان ۱۳۹۲ شروع گردید و در بهمن ۱۳۹۳ پایان پذیرفت. ابتدا میگوهای پا سفید غربی موردنیاز تهیه و به ایستگاه بندر امام خمینی (ره) منتقل گردید. سپس میگوها به مدت ۳ تا ۵ روز در شرایط آزمایشگاهی آداپته شدند. بعد از مرحله آداپتاسیون، نسبت به غربالگری میگوها برای عدم وجود ویروس‌های (WSSV, TSV, MBV, HPV, YHV, BP, IHHNV, IMNV) و باکتری‌های ویبریو با استفاده از PCR اقدام شد.

تزریق ویروس غیرفعال شده بیماری لکه سفید با اشعه، با منفی شدن آزمایش‌ها فوق، جهت مواجهه میگوها با واکسن به ازا هر ۲۰ گرم میگو، واکسن با غلظت $LD50=1\times10^{5.4}.ml^{-1}$ مواجهه شد و با توجه به وزن میگوها میزان واکسن برای مواجهه محاسبه گردید. واکسیناسیون، به صورت تزریق داخل عضلانی با سرنگ انسولین در دو دز بافاصله ۱۴ روز انجام شد.

مدیریت سیستم آزمایشی، برای انجام آزمایش از تانک‌های بتنی با ظرفیت ۱۰ تنی که با ۳۰۰۰ لیتر آب، آبگیری شدند، استفاده گردید. برای هوادهی در هر یک از تانک‌ها، ۱۲ سنگ هواده؛ که در فواصل یکسان در تمام سطح آب به صورت یکسان هوادهی را انجام می‌دادند؛ بکار رفت. همچنین به‌طور روزانه، تعویض آب تانک‌ها به میزان ۱۰ الی ۱۵٪ انجام پذیرفت.

پارامترهای دما، pH و اکسیژن محلول آب روزانه در دو نوبت صبح و عصر و شوری آب یک‌بار در روز در نوبت صبح، به وسیله دستگاه مولتی پارامتر (مارک WTW) و با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری و ثبت گردید.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

دوره نوری در داخل سالن‌های پرورش به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم گردید. روزانه سه وعده غذا به میزان ۵ درصد بیوماس غذا دهی در ساعت‌های ۸ صبح، ۲ ظهر و ۱۰ شب انجام شد که برای هر تیمار و تکرار به صورت یکسان بود، انجام شد.

تیمارهای آزمایشی

به منظور بررسی اثرات واکسن ویروس لکه سفید بر فاکتورهای ایمنی و بازماندگی میگوهای پا سفید غربی، تیمارهای آزمایشی زیر طراحی و اجرا گردید.

جدول ۱: تیمارهای آزمایشی

T1 (تیمار ۱)	تیمار واکسن لکه سفید	۳ تکرار
T2 (تیمار ۲)	تیمار شاهد	۳ تکرار

نمونه‌برداری، جهت بررسی تغییرات شاخص‌های ایمنی (هموسیت کل، میزان پروتئین کل، آنزیم پراکسیداز، آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، آنزیم فنل اکسید از) از همولنف میگوها و برای آسیب‌شناسی بافتی، از مقاطع بافتی نمونه‌برداری گردید. برای همولنف گیری ابتدا سرنگ‌های انسولین با گیج ۲۵ به میزان ۰/۶m.l از ماده ضد انعقاد پر و سپس از طریق سینوس شکمی (بعد از پنجمین پای قدم زن) به میزان ۰/۴ ml از همولنف میگو نمونه‌برداری شد. لازم به ذکر است که نمونه‌برداری در روزهای ۱، ۳، ۹، ۱۸ و ۲۵ قبل و بعد از مواجهه با ویروس انجام گردید.

سنجش شاخص‌های ایمنی

شمارش هموسیت‌ها با استفاده از لام هموسیتومتر انجام شد. در ابتدا ۵۰ میکرو لیتر از مخلوط همولنف- ماده ضد انعقاد با ۵۰ میکرو لیتر از محلول بافر فرمالین خنثی ۱۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط و نگه داشته شد؛ سپس ۲۰ میکرو لیتر از مخلوط برداشته شد، سپس در شیار H لام نئوبار زیر لامل تخلیه گردید. در ادامه بعد از گذشت ۱ دقیقه شمارش هموسیت ها صورت گرفت. شمارش بدین صورت است که از ۲۵ خانه وسط ۵ خانه به صورت تصادفی شمارش‌شده، میانگین آن‌ها را گرفته و در عدد 10^4 و رقت ($2.5 = \frac{1}{0.4}$) همولنف موجود ضرب گردید (Kakoolaki *et al.*, 2010).

میزان پروتئین کل پلاسما بر اساس روش برادفورد با استفاده آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان یک منحنی استاندارد اندازه‌گیری شد (میلی‌گرم در لیتر).

جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم پروکسیداز، مقدار ۵۰ میکرو لیتر از محلول اصلی واکنشی (Master reaction mix) (۴۶ میکرو لیتر محلول بافر+ ۲ میکرو لیتر Fluorescent Peroxidase+ ۲ میکرو لیتر H_2O_2 12/5Mm) را در چاهک هر نمونه و کنترل مثبت ریخته شد و با کمک حرکت افقی و پیپت، به خوبی مخلوط شد. سپس پلت چاهک در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از ۳ دقیقه اندازه‌گیری گردید. برای روش رنگ سنجی، میزان جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و برای روش فلورومتریک به شرح زیر عمل گردید: $FLU_{initial}\lambda ex=535/\lambda em=585$ nm

برای میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز، ۲۰ میکرو لیتر از محلول نمونه، در دو ظرف و بلنک ۲ ریخته شد و مقدار ۲۰ میکرو لیتر آب به هر کدام از بلنک ۱ و ۳ افزوده و به خوبی مخلوط شد. بعدازآن، مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر از WST به هر یک از محلول‌ها افزوده و مخلوط شد. در مرحله بعد، مقدار ۲۰ میکرو لیتر از محلول رقیق‌شده بافر، به هر یک از بلانک‌های ۲ و ۳

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

اضافه و مخلوط شد. سپس مقدار ۲۰ میکرو لیتر محلول آنزیم به بلانک ۱ نمونه اضافه و کاملاً مخلوط گردید (ازآنجاکه سوپر اکسید بلافاصله بعد از افزودن آنزیم آزاد می‌شود بهتراست از multiple channel pipette استفاده کنید تا از تأخیر زمانی و غیر همزمانی واکنش‌ها جلوگیری شود). در آخر ظروف نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد، میکرو پلت ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر را قرائت گردید و مقدار SOD فعال (بر اساس درصد بازماندگی) با کمک فرمول زیر محاسبه کنید:

$$\text{SOD Activity} = \frac{(Ablank1-Ablank3)-(Asample-Ablsnk2)}{(Ablank1-Ablank3)}$$

جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم فنول اکسید از از روش Huang و همکاران در سال ۲۰۰۸ با استفاده از ترتیب که ۲۰ میلی‌لیتر از پلاسما در چاهک اسپکتروفتومتر به عنوان یک نمونه ناشناخته و ۲۰ میلی‌لیتر ماده ضد انعقاد //Strewed در چاهک دیگر به عنوان شاهد Strewed قرار داده و پس از ۱ دقیقه، ۸۸۰ میلی‌لیتر محلول L-DOPA به هر دو چاهک اضافه شد. میزان جذب در طول موج ۴۹۰ نانومتر، هر ۱۰ ثانیه تا ۱۲۰ ثانیه ثبت گردید. هر یک واحد فعالیت آنزیم معادل تغییر در جذب ۰/۰۰۱ در هر دقیقه در هر میلی‌لیتر همولنف تعریف گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها با آزمون آماری اسمیرنوف کولموگراف و همگنی واریانس‌ها به وسیله آزمون Leven تست شد. جهت آنالیز داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد، سپس وجود تفاوت معنی‌دار در داده‌های به‌دست‌آمده در سطح احتمال ($P\leq$۰/۰۵) به کمک پس آزمون Dancan، بررسی شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS19 و برای رسم شکلها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده شد.

نتایج

درصد بازماندگی

بر اساس جدول ۱ و شکل ۱ و ۲، میزان بقا در تیمار حاوی واکسن از ابتدا تا انتهای آزمایش، ۱۰۰ درصد بود؛ ولی در مورد تیمار شاهد این روند ۱۰۰ درصد بازماندگی، در روز ۲۵ به تقلیل یافت؛ ولی اختلاف معنی‌داری با تیمار ۱ نداشت.

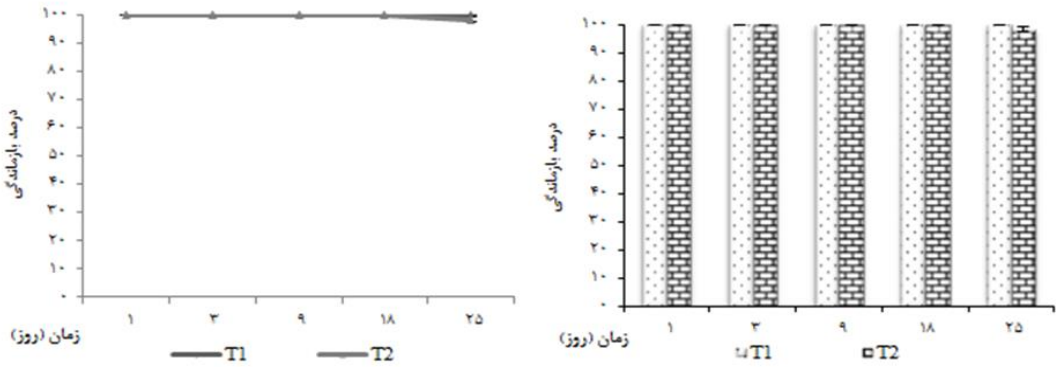
جدول ۲: نتایج حاصل از بررسی درصد بازماندگی میگوهای پا سفید

تیمار / روز	۱	۳	۹	۱۸	۲۵
T1 (واکسن)	۱۰۰±۰,۰۰	۱۰۰±۰,۰۰	۱۰۰±۰,۰۰	۱۰۰±۰,۰۰	۱۰۰±۰,۰۰
T2 (شاهد)	۱۰۰±۰,۰۰	۱۰۰±۰,۰۰	۱۰۰±۰,۰۰	۱۰۰±۰,۰۰	۹۸,۳۳±۰,۸۸

(میانگین ±خطای استاندارد) *حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی است (P<۰/۰۵).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]



شکل ۱ و ۲: مقایسه روند درصد بازماندگی و روند آن در تیمار آزمایشی شاهد و واکسن لکه سفید

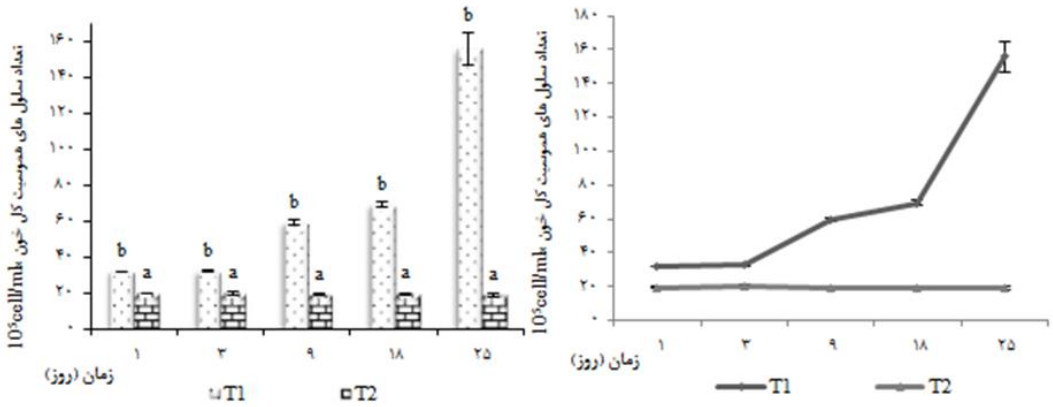
میزان هموسیت کل (THC)

بر اساس جدول ۳ و شکل ۳ و ۴؛ هموسیت کل در تیمار T1 به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بوده است (P<۰/۰۵).

جدول ۳: نتایج حاصل از بررسی تأثیر واکسن بیماری لکه سفید بر هموسیت کل (**10^5cell/ml**×) میگوهای پا سفید

تیمار / روز	۱	۳	۹	۱۸	۲۵
تیمار ۱ (واکسن)	۳۲,۰۳±۰,۰۷^{b}	۳۲,۴۱±۰,۶۸^{b}	۵۹,۲۶±۱,۰۴^{b}	۶۹,۳۰±۱,۶۰^{b}	۱۵۵,۹۰±۸,۹۸^{b}
تیمار ۲ (شاهد)	۱۹,۵۳±۰,۱۳^{a}	۱۹,۷۹±۰,۹۷^{a}	۱۹,۱۷±۰,۳۲^{a}	۱۹,۶۲±۰,۵۸^{a}	۱۹,۰۰±۰,۸۶^{a}

(میانگین ±خطای استاندارد) *حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی است (P<۰/۰۵).



شکل ۳ و ۴: مقایسه شاخص هموسیت کل و روند آن در تیمار آزمایشی شاهد و واکسن

میزان پروتئین کل (TPP)

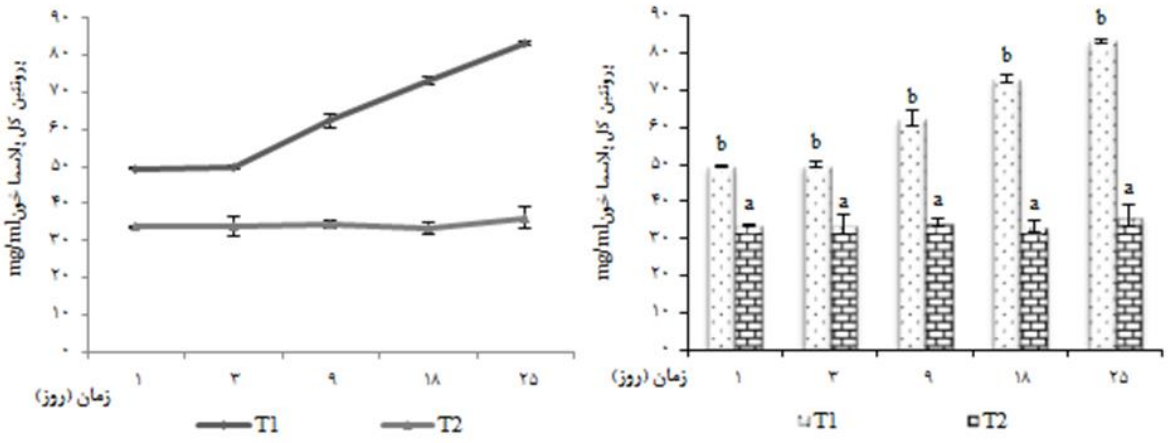
بر اساس جدول ۴ و شکل ۵ و ۶؛ پروتئین کل در تیمار T1 نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری، بیشتر بود (P<۰/۰۵).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

جدول ۴: نتایج حاصل از بررسی تأثیر واکسن بیماری لکه سفید بر پروتئین کل (**mg/ml**) میگوهای پا سفید

تیمار / روز	۱	۳	۹	۱۸	۲۵
تیمار ۱ (واکسن)	۴۹,۴۵±۰,۱۵^{b}	۴۹,۹۰±۰,۶۴^{b}	۶۲,۳۳±۲,۰۲^{b}	۷۳,۰۰±۰,۹۳^{b}	۸۳,۲۰±۰,۴۴^{b}
تیمار ۲ (شاهد)	۳۳,۷۰±۰,۲۰^{a}	۳۳,۹۵±۲,۶۵^{a}	۳۴,۳۵±۰,۸۵^{a}	۳۳,۲۰±۱,۶۰^{a}	۳۶,۱۰±۲,۸۰^{a}

(میانگین ±خطای استاندارد) *حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی است (P<۰/۰۵).



شکل ۵ و ۶: مقایسه شاخص میزان پروتئین کل و روند آن در تیمار آزمایشی شاهد و واکسن

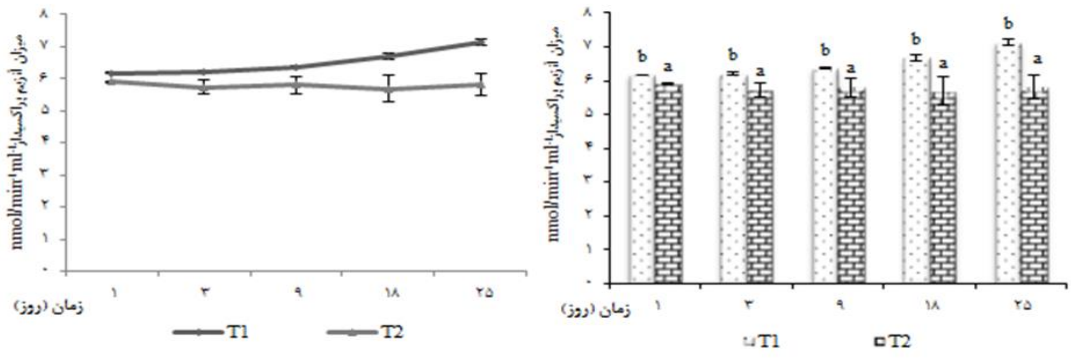
میزان آنزیم پراکسیداز (POD)

بر اساس جدول ۵ و شکل ۷ و ۸؛ آنزیم پروکسیداز در تیمار T1 نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری، بیشتر بود (P<۰/۰۵).

جدول ۵: نتایج حاصل از بررسی تأثیر واکسن بیماری لکه سفید بر آنزیم پروکسیداز ($nmol/min^{-1}ml^{-1}$) میگوهای پا سفید

تیمار / روز	۱	۳	۹	۱۸	۲۵
تیمار ۱ (واکسن)	۶,۱۸±۰,۰۰^{b}	۶,۲۱±۰,۰۴^{b}	۶,۳۷±۰,۰۲^{b}	۶,۶۸±۰,۰۹^{b}	۷,۱۴±۰,۰۸^{b}
تیمار ۲ (شاهد)	۵,۹۰±۰,۰۲a	۵,۷۴±۰,۲۱^{a}	۵,۸۰±۰,۲۸^{a}	۵,۶۹±۰,۴۲^{a}	۵,۸۰±۰,۳۵^{a}

(میانگین±خطای استاندارد) *حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی است (P<۰/۰۵).



شکل ۷ و ۸: مقایسه شاخص آنزیم پروکسیداز و روند آن در تیمار آزمایشی شاهد و واکسن

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

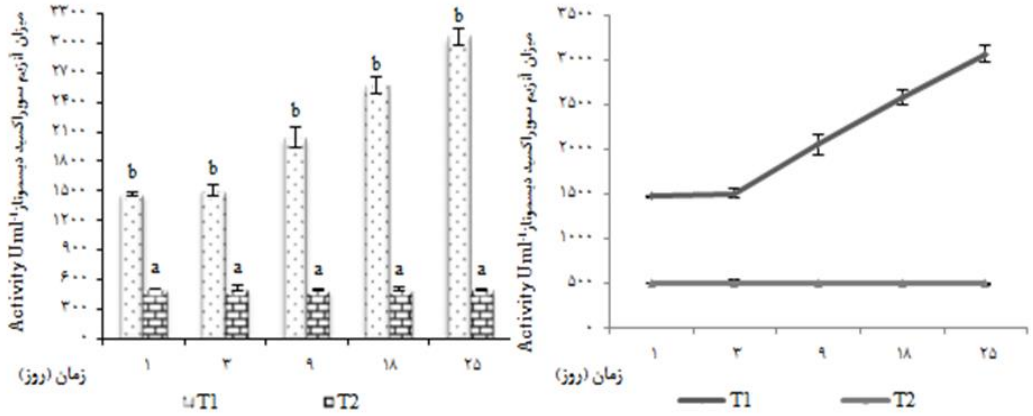
میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

بـر اسـاس جـدول ۶ و شـکل ۹ و ۱۰؛ آنـزیم سوپراکسیددیسموتاز در تیمـار T1 بـه‌طـور معنـی‌داری، بیشتر بود (P<۰/۰۵).

جدول ۶: نتایج حاصل از بررسی تأثیر واکسن بیماری لکه سفید بر آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (Activity Uml^{-1}) میگوهای پا سفید

تیمار / روز	۱	۳	۹	۱۸	۲۵
تیمار ۱ (واکسن)	۱۴۶۹,۰۸±۱۰,۳۷^{b}	۱۵۰۶,۶۷±۵۸,۱۲^{b}	۲۰۵۰,۰۰±۱۰۴,۰۸^{b}	۲۵۷۳,۳۳±۸۱,۹۲^{b}	۳۰۶۶,۶۷±۸۸,۱۹^{b}
تیمار ۲ (شاهد)	۵۰۳,۹۷±۲,۹۱^{a}	۵۱۰,۰۰±۳۲,۱۵^{a}	۴۹۵,۰۰±۱۵,۰۰^{a}	۴۹۹,۵۰±۲۱,۵۰^{a}	۴۹۶,۰۰±۵,۰۰^{a}

(میانگین ±خطای استاندارد) *حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی است (P<۰/۰۵).



شکل ۹ و ۱۰: مقایسه شاخص آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و روند آن در تیمار آزمایشی شاهد و واکسن

میزان آنزیم فنول اکسید از (PO)

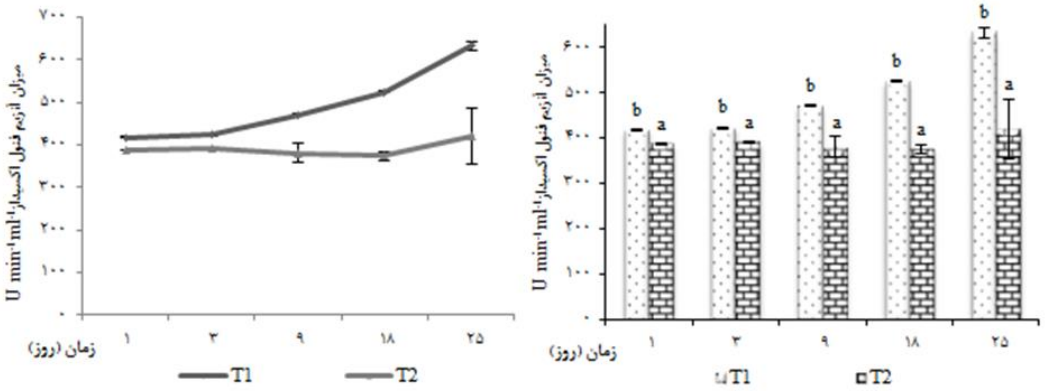
بر اساس جدول ۷ و شکل ۱۱ و ۱۲ آنزیم فنول اکسید از در تیمار T1 نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری، بیشتر بود (P<۰/۰۵).

جدول ۷: نتایج حاصل از بررسی تأثیر واکسن بیماری لکه سفید بر آنزیم فنول اکسید از (U min-1ml-1) میگوهای پا سفید

تیمار / روز	۱	۳	۹	۱۸	۲۵
تیمار ۱ (واکسن)	۴۱۸,۴۳±۲,۱۰^{b}	۴۲۳,۰۰±۱,۵۳^{b}	۴۷۱,۶۷±۲,۹۱^{b}	۵۲۵,۳۳±۲,۶۰b	۶۳۲,۶۷±۱۰,۲۷^{b}
تیمار ۲ (شاهد)	۳۸۶,۵۵±۰,۷۹^{a}	۳۹۰,۰۰±۱,۷۳^{a}	۳۸۱,۳۳±۲۳,۹۲^{a}	۳۷۴,۰۰±۹,۶۴^{a}	۴۱۹,۳۳±۶۶,۲۳^{a}

(میانگین ±خطای استاندارد) *حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی است (P<۰/۰۵)

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]



شکل ۱۱ و ۱۲: مقایسه شاخص آنزیم فنول اکسید از و روند آن در تیمار آزمایشی شاهد و واکسن

بحث

بر اساس نتایج حاصله، میگوهای تیمار ویروس غیرفعال شده بیماری لکه سفید با اشعه در مقایسه با میگوهای تیمار شاهد، به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) از بقا و درصد بازماندگی بیشتری برخوردار است؛ زیرا به دنبال واکسیناسیون پست لاروها و فعال شدن سیستم ایمنی میگوها و مراکز خو نساز در پست لاروهای واکسینه شده نسبت به پست لاروهای غیر واکسینه به دلیل افزایش تغذیه و صرف انرژی زیاد، بازماندگی آن‌ها افزایش‌یافته است. Witteveldt و همکاران (۲۰۰۹) عنوان نمودند که به دنبال واکسیناسیون میگوها توسط پروتئین‌های نوترکیب MBP-VP19 و HIS-VP28 علاوه بر تأخیر در ابتلا میگوها به بیماری یک کاهش محسوس در میزان تلفات در مواجهه مجدد با ویروس مشاهده می‌شود، به‌گونه‌ای که این اثرات در واکسن ساخته‌شده توسط MBP-VP19 و یا مخلوط MBP-VP19 و HIS-VP28 بیشتر بود؛ لذا واکسیناسیون با پروتئین‌های پوشش دار لکه سفید و نوترکیب می‌تواند سبب افزایش بازماندگی میگوها گردد؛ که این نتیجه، تأییدکننده نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر می‌باشد.

هموسیت‌ها، نقش مهمی در ایمنی میگو داشته و میزان آن‌ها در گردش خون، یکی از فاکتورهای تعیین‌کننده در سلامتی میگوها می‌باشد؛ در تحقیق حاضر، میزان THC میگوهای واکسینه شده در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود؛ و این افزایش ممکن است ناشی از فعالیت بالای بافت‌های همولنف ساز در میگوهای واکسینه شده باشد. بر اساس گزارش Chen and Cheng در سال2014 تغییر در میزان TPP به‌اندازه، سن، جنس، وضعیت تغذیه و شرایط محیطی بستگی دارد.

پروتئین کل پلاسما یکی از مهم‌ترین پارامترهای دفاعی در میگو بوده، زیرا تعداد زیادی از الگوهای شناسایی رسپتورها (PRRs) شبیه متصل‌کننده‌های پروتئین گرم منفی، لیپوپلی‌ساکارید یا متصل‌کننده‌های پروتئینی بتا ۱ و ۳ گلوکان، پروتئین حاوی تیواستر، پروتئین مرتبط با فیبرینوژن که در همولنف و هپاتوپانکراس یافت می‌شوند مرتبط با TPP هستند (Wang *et al*., 2012). به نظر می‌رسد افزایش میزان TPP در همولنف، ناشی از تأثیر مثبت واکسن بوده که می‌تواند در محافظت میگوها در مقابل با بیماری WSSV مؤثر باشند.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

در مطالعه حاضر، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار حاوی واکسن مشاهده گردید؛ آنزیم پراکسیداز (POD) فاکتور مؤثر دیگر موجود در پلاسما بوده که به‌شدت به مولکول‌های رادیکال آزاد اکسیژن (ROS) ارتباط داشته و در زمان فاگوسیتوز یکی از مهم‌ترین واکنش‌های دفاعی در برابر هجوم پارتیکل های خارجی می‌باشد. POD نقش بسیار مهمی در مسمومیت ناشی از اکسیژن و دفاع ایمنی در میگو دارد (Liu *et al.*, 2000) و ارگانل‌های پراکسیدزم حاوی رادیکال‌های آزاد اکسیژن،POD و کاتالاز بوده که می‌توانند موجب حفاظت سلول‌ها از تغییر مواد تغییردهنده سلول‌ها نظیر H_2O_2، آب غیر سمی و رادیکال‌های اکسیژن آزاد باشد (Wang *et al.*, 2012).

از دیگر آنزیم‌های مؤثر در واکنش‌های دفاعی و سیستم ایمنی میگوها، آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) بوده که به‌طور وسیعی در بافت‌های هوازی و غیر هوازی پدید می‌آید؛ این آنزیم در بررسی سلامتی میگوها مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. میزان SOD در تحقیق حاضر در تیمار T1 نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$).

نتایج تحقیق Pacheco و همکاران (۲۰۱۱) و Chang و همکاران (۲۰۰۹) با نتایج حاصل از تحقیق حاضر همخوانی داشته و نشان می‌دهد که مصرف محرک‌های سیستم ایمنی همچون واکسن، موجب افزایش SOD در میگوی ببری سیاه شده است.

آنزیم دیگری که در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفت، آنزیم فنل‌اکسیداز (PO) می‌باشد؛ سیستم پروفنل‌اکسیداز (proPO) یکی از اجزا سیستم دفاعی میگو می‌باشد؛ این سیستم بالأخص در شناسایی اجزا غیرخودی نقش بسیار اساسی دارد (Van de Braak, 2002). این آنزیم از مهم‌ترین آنزیم‌هایی است که در زمان فعال شدن سیستم proPO ایجاد گردیده و نقش اساسی در پروسه ملانیزه شدن ناشی از مواجهه با ذرات و یا پاتوژن‌های خارجی دارد (Hernhdez-Lopez *et al.*, 1996). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، میزان فعالیت این آنزیم در تیمار میگوهای واکسینه شده بسیار بالا گزارش‌شده است.

Choi و همکاران (۲۰۱۱)، عنوان نمودند که در میگوهای واکسینه شده در مقایسه با میگوهای غیر واکسینه یک تأخیر ۴ تا ۱۰ روزه در نسخه‌برداری از ژنوم ویروس ایجاد می‌شود؛ لیکن واکسیناسیون میگوها توسط پروتئین‌های ترکیبی علاوه بر فعال نمودن سیستم ایمنی میگوها مانع از ورود ویروس لکه سفید به داخل سلول نیز خواهند شد (Rámos-Carreño *et al.*, 2014). با توجه به نتایج مطالعه حاضر، میزان تلفات در تیمار واکسینه شده توسط ویروس غیرفعال شده لکه سفید نسبت به تیمار گروه شاهد کمتر بود؛ می‌توان گفت که واکسیناسیون پست لاروها می‌توان با فعال نمودن سیستم ایمنی میگوها و ایجاد یک پاسخ شبه ایمنی مانع از ابتلا آن‌ها به بیماری ویروسی لکه سفید شود (Huant *et al.*, 2010).

Witteveldt و همکاران (۲۰۰۹)، با استفاده از پروتئین‌های VP28 و VP 19 نسبت به محافظت از میگو در مقابل بیماری اقدام نمودند و نشان دادند با توجه به اینکه امکان استفاده از روش تزریقی امکان‌پذیر نیست؛ بهتر است از روش حمام استفاده گردد. در یک بررسی در محیط طبیعی از طریق روش خنثی‌سازی، واکسیناسیون میگوی ببری سیاه با استفاده از پروتئین VP28 از نوکلئو کپسید میگو انجام گردید و این پروتئین توانست نقش حفاظتی خوبی در برابر

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

ویروس لکه سفید در میگو داشته باشد (Witteveldt *et al.*, 2009). همچنین با استفاده از پروتئین VP19 فقط از طریق تزریقی موجب تحریک سیستم ایمنی شده و باعث تقویت میگو در برابر ویروس لکه سفید گردید (Witteveldt *et al.*, 2009). بررسی صورت گرفته توسط yan همکاران (۲۰۱۰) بر اساس خنثی‌سازی نسبت به تولید واکسن نوترکیب با استفاده از VP19 علیه ویروس لکه سفید ساخته‌شده است. بدین منظور یک قطعه از پروتئین VP19 به صورت Sf21 در سلول حشرات توسط سیستم باکیلوویروس و توسط پروتئین‌های متصل‌کننده با هیستون His-tag۶ باند گردید. سپس پلی کولونال آنتی سرم برعلیه rVP19 در خرگوش تولید گردی. مقدار ثابتی از ویروس لکه سفید رقیق‌شده در غلظت‌های مختلف انکوبه شده و سپس به میگوی چینی تزریق گردید. بعد از ۹ روز از تزریق نمونه‌های شاهد ۱۰۰٪ تلفات در میگوها گزارش گردید. میگوهای که با سرم‌های انکوبه تزریق‌شده بودند بعد از ۱۵ روزبه میزان ۸۵٪ تلفات در آن‌ها مشاهده شد. میگوهایی که به ترتیب با دوزهای ۱ میکرو لیتر، ۵ میکرو لیتر و ۱۰ میکرو لیتر تزریق‌شده بودند به ترتیب ۶۶/۶٪، ۴۰٪ و ۲۶/۶٪ بعد از ۱۵ روز تلفات دادند. این نتایج بیان می‌کند که افزایش میزان آنتی سرم موجب کاهش مرگ‌ومیر در میگوها می‌شود. در سال ۲۰۰۸ نیز yeh و همکاران با استفاده از VP26 و VP28 توانسته‌اند در میگوها علیه ویروس لکه سفید ایمنی ایجاد نمایند.

نتایج این تحقیق نشان داد میگوهای واکسینه شده نسبت به غیر واکسینه (تیمار شاهد)، سیستم ایمنی قوی‌تر و کاراتری دارند و سبب افزایش بازماندگی و فاکتورهای ایمنی آن‌ها شده است؛ بنابراین می‌توان با اطمینان خاطر در مراکز تکثیر از این واکسن به منظور افزایش سطح ایمنی زایی میگوها استفاده کرد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. افشار نسب، م.، ۱۳۸۶. بیماری ویروسی میگو. موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۲۱۰ صفحه.

۲. افشار نسب، م.، عارف زاده، ع.، مرتضایی، ر.، دشتیان نسب، ع.، جرفی، آ. ۱۳۹۰. مطالعه آسیب‌شناسی و مولکولی سندروم ویروس تورا در میگو پا سفید در ایران. مجله پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، ۸ (۱)، ۴۵۹-۴۶۶.

۳. خارا، ح.، محمد زاده و .، قیاسی، م.، رهبر ، م.، ۱۳۹۲. بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی و سرمی خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان فاقد و واجد عفونت باکتریایی (در مزارع پرورشی استان مازندران) . مجله توسعه آبزی پروری، ۷(۲)، ۲۳-۱۷.

۴. صالحی، ح.، ۱۳۸۶. تحلیل اقتصادی تولید میگوی سفید هندی در استان‌های جنوبی ایران. مجله علمی شیلات ایران، ۱۶(۱)، ۱۱۶-۱۰۳.

۵. محسنی نژاد ، ل.، پیغان ، ر .، ۱۳۹۵. بررسی تأثیر جیره غذایی برشمارش تام باکتری‌های روده و مشخصات هیستومتریک روده ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) . فصلنامه علمی پژوهشی محیط‌زیست جانوری، ۸(۲)، ۲۳۰- ۲۲۳

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

۶. مسرور رودسری ، م.، رضوانی ، م .، خارا ، ح.، جمال زاد فلاح ، ف.، ۱۳۹۱. اثربخشی دوره آموزشی ترویجی بر آگاهی‌های زیست‌محیطی آبزی پروران گیلان . مجله توسعه آبزی‌پروری، ۷(۱)، ۸۶- ۷۵.

۷. یاراحمدی ، آ.، خورشیدیان ، ک .، آیین جمشید ، خ.، ۱۳۹۵. نگاهی اجمالی به وضعیت تولید میگو در ایران و جهان . مجله میگو و سخت‌پوستان، ۱ (۱) ، ۱۱-۴.

8. Bachère, E., 2000. Shrimp immunity and disease control. Aquaculture, 191, 3-11.
9. Chang, P. S., Lo, C. F., Wang, Y. C. & Kou, G. H. 2009. Identification of white spot syndrome associated baculovirus WSBV target organs in the shrimp Penaeus monodon by in situ hybridization. Diseases of Aquatic Organisms, 7, 131-139.
10. Cheng, W., Chieu, H.-T., Tsai, C.-H., Chen, J.-C., 2005. Effects of dopamine on the immunity of white shrimp Litopenaeus vannamei. Fish & shellfish immunology 19, 375-385.
11. Chen, Y. Y., Chen, J. C., Lin, Y. C., Kitikiew, S., Li, H. F., Bai, J. C., Tseng, K. C., Lin, B. W., Liu, P. C., Shi, Y. Z., Kuo, Y. H. & Chang, Y. H. 2014. Endogenous molecules induced by a pathogen-associated molecular pattern (PAMP) elicit innate immunity in shrimp. PLoS One. , 17,9(12), e115232
12. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Technical Paper. 500/1, Rome, 105 p.
13. Flegel, T., 2007. Update on viral accommodation, a model for host-viral interaction in shrimp and other arthropods. Developmental & Comparative Immunology 31, 217-231.
14. Hernhdez-Lopez, J., Golkxs-Galwin, T. & Vargas-Albores, F. 1996. Activation of the Prophenoloxidase System of the Brown Shrimp (*Penaeus californiensis* Holmes). Comparative Biochemistry and Physiology, 113C (1), 61-66.
15. Huang, P. Y., Kang, S. T., Chen, W. Y., Hsu, T. C., Lo, C. F., Liu, K. F. & Chen, L. L. 2008. Identification of the small heat shock protein, HSP21, of shrimp *Penaeus monodon* and the gene expression of HSP21 is inactivated after white spot syndrome virus (WSSV) infection. Fish and Shellfish Immunology, 25, 250-257.
16. Huant, J., Yang, Y. & Wang, A. 2010. Reconsideration of phenoloxidase activity determination in white shrimp Litopenaeus vannamei. Fish & Shellfish Immunology, 28, 240–244.
17. Johnsona, K. N., van Hultena, M.C.W. and Barnesa, A. C., 2008. "Vaccination" of shrimp against viral pathogens: Phenomenology and underlying mechanisms. Vaccine, 26, 4885–4892.
18. Liu, Y., Jang, X. L., Lv, Q. & Guan, H. S. 2000. Effects of mannuronate polysaccharide on enzymes of *Penaeus chinensis* related with immune and hemolysis. Journal of Fisheries of China, 24(6), 549-553.
19. Motamedi Sedeh, F., Afsharnasab, M., Heidarieh, M., Shafaee, S. K., RAJABIFAR, S., Dashtiannasab, A. & Razavi, M. H. 2012. Titration of the Iranian White Spot Virus isolate, on Crayfish Astacus leptodactylus and Penaeus semisulcatus. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 11, 145-155.
20. Namikoshi, A., Wu, J.L., Yamashita, T., Nishizawa, T., Nishioka, T., Arimoto, M., Muroga, K., 2004. Vaccination trials with *Penaeus japonicus* to induce resistance to white spot syndrome virus. Aquaculture, 229, 25-35.
21. Pacheco, R., Ascencio, F., Zarain, M., Gómez, G. & Campa, A. 2011. Enhancement of superoxide dismutase and catalase activity in juvenile brown shrimp, Farfantepenaeus californiensis (Holmes, 1900), fed β-1.3 glucan vitamin E, and β-carotene and infected with white spot syndrome virus. Latin American Journal of Aquatic Research, 39(3), 534-543.
22. Ramos-Carreño, S., Valencia-Yáñez, R., Correa-Sandoval, F., Ruíz-García, N., Díaz-Herrera, F., Giffard-Mena, I., 2014.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]

White spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) exposed to low and high salinity. Archives of Virology, 159, 2213-2222.

23. Kakoolaki, S., Sharifpour, I., Soltani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H. A., Mirzargar, S., Rostami, M., 2010. Selected morpho-chemical features of hemocytes in farmed shrimp, Fenneropenaeus indicus in Iran. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9(2) 219-232.
24. Tamayo, R.J.M., 2006. Assessment of genetic variability in two lots of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) introduced to Cuba. Norwegian College of Fishery Science University of Tromsø, Norway.
25. Van De Braak, C. B. T. 2002. Haemocytic defence in black tiger shrimp (Penaeus monodon). PhD thesis, Wageningen University, Wageningen Institute of Animal Sciences. The Netherlands. Pp.168.
26. Wang, D. L., Zuo, D., Wang, L. M., Sun, T., Wang, Q. & Zhao, Y. L. 2012. Effects of white spot syndrome virus infection on immuno-enzyme activities and ultrastructure in gills of *Cherax quadricarinatus*. Fish and Shellfish Immunology, 32, 645-650.
27. Witteveldt, J., Vlak, J.M., van Hulten, M.C., 2009. Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus using a WSSV subunit vaccine. Fish & shellfish immunology, 16, 571-579.
28. Yan, X., Jie, A., Jing-Qiu, S., Ya-Dong, Y. & Jun-Qiang, Y. 2010. Cytochemical location of superoxide dismutase and peroxidase in different tissues of *Litopenaeus vannamei*. Acta Hydrobiologica Sinica, 34, 2, 402-409.
29. Yeh, S. T., Y. C. Lin, C. L. Huang and J. C. Chen, 2008. "White shrimp *Litopenaeus vannamei* that received the hot-water extract of Gracilaria tenuistipitata showed protective innate immunity and up-regulation of gene expressions after low-salinity stress." Fish and Shellfish Immunology, 28(5-6): 887-894.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.4.9]