

# **SURVEI KEBERADAAN VIRUS WHITE SPOT SYNDROME (WSS) PADA CACING POLYCHAETA DI TAMBAK UDANG: STUDI KASUS DI KENDAL**

*(Occurrence of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in Polychaetes in Shrimp ponds: Case study in Kendal )*

**Desrina, A.H. Condro Haditomo, S.B. Prayitno**

*Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro*

## **ABSTRACT**

*White Spot Syndrome (WSS) disease, caused by White Spot Syndrome Virus (WSSV), is an important shrimp disease in Kendal, one of many shrimp production area in Central Java Province. It has been indicated that polychaetes may be one of many vectors of WSSV. The objective of this research is to determine the occurrence and prevalence of WSSV infection in polychaetes obtained from shrimp pond with various culture condition. Pond A (semi intensive, monoculture *P. Vannamei*, pond size 2000 m<sup>2</sup>; 2); Pond B (extensive, monoculture *P. Vannamei*, pond size 5000 m<sup>2</sup>) and C (extensive, polyculture *P. vannamei* and tilapia *Tilapia nilotica* pond size 6000 m<sup>2</sup>). Sediment was obtained with PVC and sieved through a series of sieve shaker. Polychaetes found were counted and identified. Polychaetes was tested for WSSV infection with 1-step nested PCR and prevalence of infection was calculated. Polychaetes found consisted of 2 species namely *Dendronereis* sp and *Nereis* sp Polychaetes density (individu/ m<sup>2</sup> ) for pond A, B and C are 102,1168 and 207 respectively. Prevalence of WSSV infection in Polychaetes from individual ponds is 29,4 % (A); 20% (B); and 12, 94 % (C). This prevalence is considered low compare to other similar research.*

## **PENDAHULUAN**

Budidaya udang telah merupakan sumber devisa negara sejak awal tahun 1980, ketika pemerintah Indonesia mencanangkan Program Intensifikasi Tambak (InTam). merupakan salah satu daerah produser utama udang sampai awal tahun 1990an, ketika produksi budidaya udang di pantai utara Jawa Tengah mulai menurun karena penyakit.

Sampai saat ini penyakit virus utama yang menyerang udang di Jawa Tengah adalah White Spot Virus Syndrome (WSSV) (Sunarto et al. 2004) . Penyakit ini disebabkan oleh virus White Spot Syndrome yang merupakan virus berbentuk batang yang besar. WSSV termasuk penyakit baru yang muncul

pada budidaya udang di tahun 1992. WSSV dilaporkan pertama kali di Indonesia tahun 1994, menyebabkan kematian di Jawa mencapai 100%, yang berakibat pada hanya 20% dari tambak yang masih beroperasi pada tahun 1999 (Sunarto et al 2004).

WSSV adalah penyakit virus udang yang ganas dengan risiko relatif 4 (Woolhouse 2002), dan sampai saat ini belum ada metoda yang efektif untuk mengobati penyakit ini. Oleh sebab itu, (Lotz 1997) memasukkannya ke dalam kategori patogen C1 yaitu patogen yang sangat patogenis dan tidak bisa diobati. Penyakit ini menyerang udang penaeid segala tingkatan dan ukuran. Akan tetapi, ada kecendrungan bahwa larva *P.*

*vannamei* yang lebih tua dari 30 hari lebih rentan dari yang usia lebih muda (Perez et al. 2005). Di tambak, serangan penyakit biasanya terjadi pada bulan kedua pemeliharaan (PL 42-50). Serangan WSSV cenderung berulang, walaupun sudah diterapkan *biosecurity*. Di lain pihak, densitas dan manajemen budidaya yang diterapkan sangat menentukan timbulnya serangan penyakit WSS. Subashingshe (2006) pelaksanaan BMP's (Best Management Practices) mampu menghindarkan budidaya dari resiko kerugian akibat penyakit WSS.

WSSV mempunyai rentang inang yang lebar meliputi berbagai hewan avertebrata air seperti kepiting (Supamattaya 1998, Kanchanaphum 1998), cacing polychaeta (Vijayan et al. 2005), kopepoda, rotifera dan telurnya yang dormant (Yan et al. 2004, Zhang et al. 2006) dan mikroalga (Liu et al. 2007). ada kemungkinan cara pengendalian yang digunakan sekarang ini belum meliputi semua inang dan vektor yang potensial untuk menjadi sumber penyebaran WSSV. Virion virus ini di dalam sedimen bersifat infeksi sampai 4 hari, memungkinkan virus masuk ke berbagai hewan invertebrata yang hidup di sedimen tambak dan umumnya adalah pemakan detritus melalui makanan dan berperan sebagai vektor.

Cacing polychaeta adalah fauna bentos yang banyak ditemukan di tambak udang terutama terdiri (Boyd 1995, Fujioka et al 2007), yang juga berperan sebagai makanan alami (Martinez-Cordova et al. 1998). Peran polychaeta dalam perkembangan penyakit di tambak udang belum sepenuhnya diketahui, tapi ada indikasi bahwa binatang tersebut berperan sebagai kerir dan vektor patogen udang (Vijayan et al. 2005, Flegel 2006). Dengan mempertimbangkan niche dan cara makan cacing polychaeta serta kemampuan virus WSS bertahan di

sedimen, memungkinkan cacing ini terinfeksi WSS dan menjadi vektor yang potensial untuk menjadi salah satu sumber infeksi.

Salah satu ukuran untuk menentukan keberadaan suatu penyakit adalah prevalensi (*point prevalence*) yang menunjukkan proporsi animal yang terserang penyakit pada waktu tertentu. Berdasarkan point prevalence dapat dihitung Prevalensi yang sebenarnya dengan menggunakan rumus yang diformulasikan oleh Cameron (2002).

Tambak di Jawa Tengah yang pada umumnya adalah liat berpasir dan kaya akan bahan organik, menyebabkan banyak cacing polychaeta hidup di dasar. Oleh sebab itu untuk pengendalian penyakit WSSV yang lebih menyeluruh, perlu diketahui prevalensi infeksi WSSV pada vektor dan kerir yang ada di sedimen di tambak di sentra produksi udang di Jawa Tengah. Kami memulainya dengan meneliti prevalensi WSSV pada cacing Polychaeta di sentra produksi udang di Kendal.

Tujuan penelitian adalah untuk menentukan prevalensi WSSV pada polychaeta yang potensial sebagai vektor dalam perkembangan penyakit WSSV di tambak. Manfaat penelitian adalah untuk menyediakan informasi tentang keberadaan WSSV di vektor yang ada di dasar dan dapat digunakan untuk lokasi yang kondisi alam dan budidayanya sama. Informasi ini sangat berguna dalam menentukan metoda pengendalian yang efektif, ekonomis dan ramah lingkungan sehingga budidaya udang berkelanjutan di Jawa Tengah dapat terwujud dan dalam jangka panjang, ketahanan pangan di Jawa Tengah dapat tercapai.

## **MATERI DAN METODA**

### **Lokasi survei**

Survei dilaksanakan di kompleks pertambakan Barokah yang merupakan

salah satu pusat budidaya udang di Kendal. Pemilihan Kendal sebagai lokasi penelitian adalah karena memenuhi persyaratan secara sains dan teknis yaitu: mempunyai sejarah yang panjang di bidang budidaya udang, terjadi serangan WSS yang berulang dan memungkinkan untuk dilaksanakan survei. Lokasi penelitian dipilih berdasarkan hasil survei pendahuluan yang dibantu oleh petugas pendamping revitalisasi tambak Kabupaten Kendal.

### **Prosedur sampling**

Dari kompleks pertambakan Barokah ditentukan 3 tambak yang akan dijadikan lokasi sampling dengan kriteria tambak pernah mengalami serangan penyakit WSSV secara berulang dan terpaksa panen dini, tanpa memperhatikan intensitas budidayanya. Informasi tentang morfometri tambak, konstruksi, manajemen budidaya udang, produksi dan sejarah serangan penyakit (case history) diperoleh melalui wawancara dengan pemilik tambak atau pengelola.

Tambak lokasi penelitian terdiri atas: 1) Tambak A adalah tambak semi intensif, monokultur udang *P. vannamei* dengan luas 2000 m<sup>2</sup>; 2) Tambak B adalah tambak ekstensif, monokultur udang *P. Vannamei* dengan luas 5000 m<sup>2</sup>; 3) Tambak C adalah tambak ekstensif, polikultur udang *P. vannamei* dan ikan nila *Tilapia nilotica* dengan ukuran 6000 m<sup>2</sup>. Pada waktu sampling, semua tambak sedang atau baru saja di panen dengan masa pemeliharaan 2 bulan.

Tiap tambak dibagi atas petakan yang sama besar yang berukuran 10 x 10 m<sup>2</sup>. Masing masing petakan mewakili titik sampling (Boyd, 1996). Sampel tanah dan sedimen beserta Polychaeta yang terdapat didalamnya diambil dari 9 titik dengan tiga kali ulangan /titik. Sampel tanah dan sedimen diambil

menurut Hussenot and Martin (1995) dengan menggunakan modifikasi “core” yaitu pipa paralon berdiameter 10 cm yang dilengkapi dengan tutup dan tongkat pendorong untuk mendorong sampel ke luar. Selanjutnya sampel di saring menggunakan sieve shaker berdiameter 500 µm. Cacing Polychaeta yang ditemukan dihitung, dibersihkan dengan kuas dan diawetkan dalam larutan ethanol 70 % (untuk keperluan identifikasi) dan 96% untuk uji PCR untuk mendeteksi keberadaan virus WSSV. Cacing Polychaeta yang ditemukan diidentifikasi sampai tingkatan taksonomi terendah yang bisa dilakukan.

### **Pemeriksaan WSSV menggunakan PCR**

Sampel cacing Polychaeta (15 sampel) di periksa dengan “one-step nested PCR”. Metoda Ekstraksi DNA mengacu pada Dixit et al (1998). Secara ringkas prosedurnya adalah sebagai berikut: Jaringan dari tubuh Polychaeta bagian depan diambil lebih kurang 30 mg dan di gerus di lumpang steril. Selanjutnya, ditambahkan 300 µl buffer ekstraksi, divortex dan di tambahkan 30 µl SDS 20 %. Selanjutnya, ditambahkan 10 µl Proteinase-K, diinkubasi pada suhu 55°C selama 2 jam, dan disentrifuse ( 4.000 rpm, 15 menit). Supernatant diambil, ditambahkan 300 µl 5M Kalium Asetat, disimpan di dalam freezer selama 10 menit dan disentrifuse pada 4.000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya supernatan dipindah ke tube yang baru dan dilakukan ekstraksi DNA dengan metoda phenol. Pellet DNA yang terbentuk dilarutkan dalam 50 – 100 µl TE buffer. Amplifikasi dan deteksi menggunakan Nugen WSSV PCR Test Kit (PT. Nugen Bioscience Indonesia) dilakukan sesuai dengan protokol yang direkomendasikan. Hasil PCR dianalisa dengan menggunakan 1,5 % agarose gel

dan pita yang terbentuk diwarnai dengan ethidium bromide dan dilihat dengan UV

transilluminator.

Prevalensi dihitung menurut Cameron (2002) yaitu:

$$\frac{\text{Jumlah sampel yang positif WSSV}}{\text{Total jumlah sampel}} \times 100\%$$

Prevalensi sebenarnya dihitung menggunakan Survey Toolbox Software (Cameron 2002).

## HASIL

### Jenis dan Jumlah Polychaeta

Cacing Polychaeta yang ditemukan terdiri atas 2 spesies yaitu *Dendronereis* sp yang ditemukan di tambak ekstensif dan *Nereis* sp yang ditemukan di tambak semi

intensif. Jenis dan kepadatan cacing polychaeta pada masing masing tambak yang di teliti tercantum dalam tabel 1.

Tabel 1. Jenis dan densitas rata rata cacing Polychaeta di masing masing tambak yang diteliti

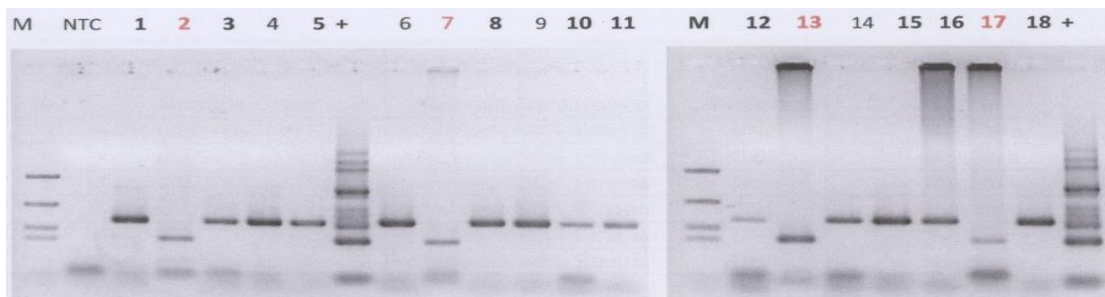
No	Tambak	Jenis	Kepadatan rata (ekor/m <sup>2</sup> )
1.	A	Nereis sp	102
2.	B	Dendronereis sp	1168
3.	C	Dendronereis sp	207

Keterangan: A: Tambak semi intensif, monokultur  
B: Tambak ekstensif, monokultur  
C: Tambak ekstensif, polikultur

Dari tabel tersebut terlihat adanya perbedaan jenis cacing polychaeta yang ditemukan pada tambak yang diteliti. Pada tambak ekstensif jenis yang ditemukan adalah *Dendronereis* sp sedangkan pada tambak semi intensif adalah *Nereis* sp. Kepadatan cacing polychaeta yang tertinggi adalah di tambak ekstensif dan yang terendah adalah tambak semi intensif.

### Prevalensi WSSV pada Polychaeta

Hasil deteksi keberadaan virus WSS pada cacing Polychaeta dari tambak yang diteliti yang dilakukan dengan nested PCR tercantum gambar 1 dan tabel 3.



Gambar 3. Hasil deteksi WSSV dengan one step nested-PCR pada cacing polychaeta dari tambak udang di Kendal.

Keterangan

M= Marker;

NTC= Kontrol Negative;

+= Kontrol Positive

Sampel berwarna merah= positif WSSV

Tabel 3. Keberadaan Virus WSS pada cacing polychaeta dari tambak yang diteliti.

No	Tambak/ Titik Sampling	Jenis Polychaeta	Keberadaan wssv
1.	A/1	Nereis sp	Negatif
2.	A/2	Nereis sp	Positif
3.	A/3	Nereis sp	Negatif
4.	B/1	Dendronereis sp	Negatif
5.	B/2	Dendronereis sp	Negatif
6.	B/3	Dendronereis sp	Negatif
7.	B/4	Dendronereis sp	Negatif
8.	B/5	Dendronereis sp	Negatif
9.	B/6	Dendronereis sp	Positif
10.	B/7	Dendronereis sp	Negatif
11.	B/8	Dendronereis sp	Positif
12.	B/9	Dendronereis sp	Negatif
13.	C/1	Dendronereis sp	Negatif
14.	C/2	Dendronereis sp	Negatif
15.	C/3	Dendronereis sp	Negatif
16.	C/5	Dendronereis sp	Negatif
17.	C/7	Dendronereis sp	Positif
18.	C/9	Dendronereis sp	Negatif

Keterangan: A: Tambak semi intensif, monokultur

B: Tambak ekstensif, monokultur

C: Tambak ekstensif, polikultur

Dari tabel 3 terlihat bahwa WSSV ditemukan hanya pada sebagian kecil cacing Polychaeta yang di periksa. Secara umum Prevalensi sebenarnya infeksi

WSSV pada cacing Polychaeta adalah 20% dan prevalensi infeksi wssv pada cacing Polycheta dari masing masing tambak tercantum dalam tabel 4.

Tabel 4. Prevalensi WSSV pada cacing Polychaeta di tambak yang diteliti

No	Tambak	Prevalensi (%)	Prevalensi sebenarnya (%)
1.	A: Semi Intensif	33	29,4
2.	B: Ekstensif, monokultur	22, 2	20
3.	C: Ekstensif, polikultur	16,67	12,94

Dari tabel 3 terlihat bahwa prevalensi infeksi di tambak semi intensif relatif lebih tinggi dari tambak ekstensif

walaupun densitas cacing Polychaetanya relatif lebih rendah dan hampir sama

dengan yang ditemukan pada tambak ekstensif polikultur.

### **Riwayat serangan penyakit**

Penyakit utama yang menyerang udang *L. vanamei* selama 5 tahun terakhir adalah WSSV, adapun penyebab kematian udang yang lain yaitu gagal molting. Serangan penyakit WSSV di tambak tradisional terakhir kali terjadi pada bulan Maret 2009 yaitu tambak dengan metode budidaya monokultur, sedangkan pada tambak semi intensif terjadi sekitar tahun 2008. Untuk memberantas hama dan vektor WSSV yaitu kepiting dan udang jambret digunakan saponin. Serangan WSSV biasanya terjadi pada waktu pergantian musim, dari musim kemarau ke musim penghujan ataupun sebaliknya dari musim hujan ke musim kemarau. Metode budidaya polykultur dan pola tanam (crop rotation) dimulai sekitar tahun 2007. Setelah metode budidaya dirubah dari tradisional monokultur menjadi polykultur (vaname+nila) dan pola tanam, serangan WSSV lebih jarang terjadi. Selama tahun 2007 – 2009 terjadi penurunan kasus peneyerangan wssv, yaitu hanya terjadi kira-kira 1 kali yaitu pada bulan Maret 2009.

### **PEMBAHASAN**

Cacing *Dendronereis* sp dan *Nereis* sp (Famili Nereidae) 2 spesies polychaeta yang ditemukan di tambak pada penelitian ini. Yuwono et al (1998) melaporkan bahwa cacing *Dendronereis* banyak dijumpai di daerah estuari dan menyukai substrat liat berpasir. Hasil penelitian Boyd (1995) dan Fujioka *et al* (2007), menunjukkan Polychaetes and Oligochaetes adalah salah satu fauna yang dominan di tambak yang juga berperan sebagai makanan alami (Martinez-Cordova *et al.* 1998). Cacing lain dari family Nereidae yang pernah dilaporkan

ditemukan di tambak adalah *Perinereis* sp di Thailand (Fujioka et al (2007)).

Prevalensi digunakan untuk mengukur keberadaan penyakit disuatu area untuk menentukan sebaran penyakit tersebut (Cameron 2002). Prevalensi sesaat maupun prevalensi sebenarnya infeksi WSSV pada cacing polychaeta yang ditemukan dalam penelitian ini relatif rendah dari penelitian lain yang sejenis. Prevalensi WSSV pada vektor liar yang ditangkap dari alam bervariasi yaitu pada kepiting bakau (*Scylla serrata*) di Taiwan 60 % (Chen et al., 2000); 79,3 % pada blue crab (*Portunus trituberculatus*) (Meng et al. 2009); 16,7 – 75% pada cacing polychaeta di India (Vijayan et al., 2005). Dilaporkan juga bahwa prevalensi infeksi lebih tinggi pada polychaeta dari daerah yang dekat dengan tambak udang.

Dari tabel 3 terlihat adanya sedikit perbedaan prevalensi infeksi WSSV pada polychaeta antara ke 3 sistem budidaya. Kemungkinan perbedaan ini berkaitan dengan kepadatan udang dan kehomogenan dari kultivan karena prevalensi infeksi sedikit lebih tinggi di tambak yang melaksanakan monokultur. Jika pada suatu populasi terdapat patogen, probabilitas perpindahan patogen ke populasi lain meningkat dengan meningkatnya kontak yang efektif baik langsung maupun melalui media (air) antara ke 2 populasi tersebut (Lotz et al., 2005) yang antara lain ditentukan oleh densitas dan keragaman inang yang potensial.

Hasil penelitian Shangkar dan Shangkar (2005) menunjukkan ada kaitan antara kualitas sedimen dan kelimpahan cacing Polychaeta, karena cacing ini sensitif terhadap kondisi sedimen. Walaupun hasil penelitian yang kami lakukan menunjukkan adanya kaitan antara jumlah bahan organik dan pH dengan densitas kedua cacing polychaeta yang ditemukan (data tidak ditampilkan),

namun bahan organik dan pH bukanlah satu satunya faktor yang menentukan densitas cacing. Hasil monitoring selama satu siklus produksi yang pernah dilaporkan menunjukkan kepadatan cacing cenderung menurun seiring dengan bertambahnya waktu budidaya. Diduga, hal ini disebabkan predasi oleh udang dan menurunnya kondisi lingkungan di dasar tambak (Shishechian et al., 2001). Pada penelitian ini, terlihat adanya perbedaan densitas polychaeta di ke 3 tambak yang diteliti. Diduga hal ini disebabkan karena sistem budidaya yang diterapkan. Tingginya densitas polychaeta pada tambak udang ekstensif monokultur diduga karena predasi yang terjadi lebih sedikit dari ke 2 tambak lainnya.

Terdeteksinya WSSV pada cacing polychaeta dalam penelitian ini walaupun dengan prevalensi yang rendah menunjukkan bahwa sistem budidaya tersebut masih rentan terhadap serangan penyakit WS. Prevalensi infeksi mungkin akan meningkat jika ada faktor resiko yang menunjang untuk berkembangnya penyakit. WSSV dapat dikategorikan virus patogen yang generalis karena mempunyai rentang inang yang lebar. Inang utama wssv adalah udang Penaeid, dan merupakan kelompok yang paling rentan terhadap infeksi WSSV. Disamping itu, WSSV punya rentang inang dan vektor yang sangat beragam, sebagian besar adalah dari kelompok krustase, yang lebih tahan terhadap infeksi virus ini namun berperan sebagai inang reservoir dan vektor dalam timbulnya penyakit WSS di tambak (Leu 2008). Sampai saat ini metoda pengendalian wssv lebih menekankan pada eliminasi inang reservoir golongan krustase di tambak dengan menggunakan desinfektan maupun jaring. Walaupun demikian, serangan WSS tetap terjadi bahkan di tambak yang sudah menggunakan sistem biosekuriti dan larva Specific Pathogen Free (SPF). Hasil

penelitian ini juga membuktikan bahwa pemberian bahan kimia (saponin) tidak membunuh cacing polychaeta dan tidak menghilangkan keberadaan WSS di dalam sistem tambak tersebut. Oleh sebab itu pendekatan yang digunakan yaitu dengan polikultur dengan ikan nila merupakan metoda pengendalian yang layak untuk diteliti lebih lanjut.

Virus adalah patogen obligat yang tidak mampu bertahan lama di lingkungan tanpa inang. Menurut Chang et al. (1998) virus WSS masih infeksiif di sedimen selama 4 hari tanpa inang. Sifat dapat dimanfaatkan dalam mengendalikan WSSV yaitu dengan tidak menyediakan atau meminimalkan inang yang rentan terhadap infeksi WSSV (yaitu udang penaeid) (Flegel 2006a) melalui polikultur dan pola tanam. Oleh sebab itu menerapkan pola tanam dan polykultur dengan ikan omnivor yang merupakan "bottom dweller" seperti yang dilaksanakan merupakan alternatif pengendalian penyakit yang ramah lingkungan. Watanabe et al (2002) mengemukakan polikultur ikan nila dengan udang telah dilakukan di beberapa negara untuk mengurangi insiden penyakit udang. Metoda ini memberikan beberapa keuntungan antara lain: (1) Ikan nila memakan udang yang sakit atau mati, sehingga meminimalisir kanibalisme pada udang yang merupakan cara utama penularan WSSV dari udang yang sakit/mati ke udang yang sehat (Soto dan Lotz 2001). ; (2) Ikan nila memakan udang udang kecil yang merupakan vektor; (3) ikan nila mengaduk "dasar" tambak ketika mencari makan meningkatkan oksidasi dari sedimen dan meminimalkan adanya bagian tambak yang anaerob seperti yang disarankan Baliao and Tookwinas (2002) dan Subashingshe (2005) sebagai upaya menyediakan lingkungan yang baik bagi udang. Chinabut et al (2006) menyarankan

menggunakan organisme filter-feeder untuk membantu membantu membersihkan sisa-sisa yang bersifat organik di kolam sedimentasi pada tambak dengan sistem resirkulasi. Penurunan penyerangan wssv yang terjadi (sesuai dengan hasil wawancara dengan pengelola tambak) diduga karena sistem budidaya yang awalnya hanya monokultur saja telah dirubah dengan sistem polikultur dan crop rotation.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil yang sudah diperoleh dalam konteks penelitian ini dapat disimpulkan Cacing polychaeta *Dendronereis* sp *Nereis* sp dari tambak

udang di Kendal terinfeksi WSSV dengan prevalensi infeksi rata-rata yang relatif rendah yaitu 20 %. Kondisi ini berkaitan dengan pengelolaan tambak dengan sistem ekstensif dan semi intensif dengan menerapkan pola tanam dan polikultur udang dan ikan nila, sehingga kerugian akibat penyakit WSS berkurang.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih pada bapak Mulyono sebagai pemilik tambak Barokah. Terima kasih juga disampaikan pada Pemerinatah Propinsi Jawa Tengah yang telah membiayai penelitian ini melalui program Riset Unggulan Daerah tahun 2009.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arthur, J.R. 2005. A historical overview of pathogen introductions and their transboundary spread in Asia. P 21-39. In: Subasinghe, R.P.; Arthur, J.R. (eds). Regional workshop on preparedness and response to aquatic animal health emergencies in Asia. Jakarta, Indonesia, 21-23 September 2004. FAO Fisheries Proceedings. No. 4. Rome, FAO.178 p.
- Avnimelech, Y., G. Ritvo, and M. Kochva. 2004. Evaluating the active redox and organic fractions in pond bottom soils: EOM, easily oxidized material. *Aquaculture* 233: 283-292.
- Baliao, D.D., Tookwinas, S. 2002. Manajemen budidaya udang yang baik dan ramah lingkungan di daerah mangrove. *Aquaculture extension manual* No. 35-November 2002. SEAFDEC. 50 pp.
- Boyd, C.E. 1995. Bottom soils, sediment and pond aquaculture. Chapman Hall, New York, NY. 348 pp.
- Cameron, A. 2002. Survey Toolbox for Aquatic Animal Diseases. A Practical Manual and Software. ACIAR, Canberra. 375 pp.
- Corsin, F., Thakur, P.C., Padiyar, P.A., Madhusudan, M., Turnbull, J.F., Mohan, C.V., Hao, N.V., Morgan, K.L. 2003. Relationship between white spot syndrome virus and indicator of quality in *Penaeus monodon* postlarvae in Karnataka, India. *Diseases of Aquatic Organisms* 54: 97-104.
- Chinabut, S., T. Somsisri, C. Limsuwan and S. Lewis. 2006. Problems associated with shellfish farming. *Review Science and Technology Office of International of de Epizootics* 25 (2):627-635.
- Delgado, P.C., Y. Avnimelech, R. McNeil, D. Bratvold, C.L.Browdy and P.Sandiver. 2003. Physical, chemical and biological characteristics of distinctive regions in paddlewheel aerated shrimp ponds. *Aquaculture* 217: 235-248.

- Flegel, T.W. 2006a. Detection of major penaeid shrimp viruses in Asia, a major historical perspective with emphasis on Thailand. *Aquaculture* 258: 1-33.
- Fujioka, Y., T. Shimoda and C. Srithong. 2007. Diversity and community structure of macrobenthic fauna in shrimp aquaculture ponds of the Gulf of Thailand. *Japan Agricultural Research Quarterly* 41 (2) : 163-172.
- Granja, C.B., Vidal, O.M., Parra, G., Salazar, M. 2006. Hyperthermia reduces viral load of white spot syndrome virus in *Penaeus vannamei*. *Diseases of Aquatic Organisms* 68:175-180.
- Jayaraj, K.A., P. Sheeba, J. Jacob, C. Revichandran, P.K. Arun, K.S. Praseeda, P.A. Nisha, K.A. Rasheed. 2008. Response of infaunal macrobenthos to the sediment granulometry in a tropical continental margin-southwest coast of India. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 77: 743-754.
- Jiang, G., Yu, R., Zhou, M. 2004. Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of *Penaeus japonicus* to virulence of white spot syndrome virus. *Aquaculture* 241: 61-75.
- Kanchanapum, P., Wongteerasupaya, C., Sitidilokratana, N., Boonsaeng, V., Panyim, S., Tassanajakon, A., Withyachumnarnkul, B., Flegel, T.W. 1998. Experimental transmission of White Spot Syndrome Virus (WSSV) from crabs to shrimp *Penaeus monodon*. *Diseases of Aquatic Organisms* 34: 1-7.
- Liu, B., Yu, X., Song, X., Guan, Y., Jian, X., He, J. 2006. The effect of acute salinity change on white spot syndrome (WSS) outbreaks in *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture* 253: 163-170. Pages 3-1.
- Liu, B., Z. Yu, X. Song, and Y. Guan. 2007. Studies on the transmission of WSSV (White Spot Syndrome Virus) in juvenile *Marsupeneus Japonicus* via marine microalgae. *Journal of Invertebrate Pathology* (in Press)
- Lotz, J.M. 1997. Special topic Review: viruses, biosecurity and specific pathogen-free stocks in shrimp aquaculture. *World Journal of Microbiology and biotechnology* 13: 405-413.
- Lotz, J.M., Overstreet, R.M and Grimes, D.J. 2005. Aquaculture and animal pathogens in the marine environment with emphasis on marine shrimp viruses. Page 431-352 in Belkin and Cowell (Editors). *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment*. Springer, New York.
- Martinez-Cordova, L. R., Pasten-Miranda, N. and Barbara-Guardado, R. 1998. Effect of fertilization on growth, survival, food conversion ratio, and production of pacific white shrimp *Penaeus vannamei* in earthen ponds in Sonora, Mexico. *Progressive Fish-Culturist* 60(2): 101-108.
- Maeda, M., Kasonchandra, J., Itami, T., Suzuki, N., Hennig, O., Kondo, M., Albaladejo, J.D., and Takeshi, Y. 1998. Effect of various treatments on white spot syndrome virus (wssv) from *Penaeus japonicus* (Japan) and *Penaeus monodon* (Thailand). *Fish Pathology*, 33 (4): 381-387 (abstract).
- Meksumpun, C., and S. Meksumpun. 1999. Polychaete-sediment relations in Rayong, Thailand. *Environmental Pollution* 105: 447-456.

- Nunes, A.J.P. and G.J. Parsons. 2000. Effects of the Southern brown shrimp, *Penaeus subtilis*, predation and artificial feeding on the population dynamics of benthic polychaetes in tropical pond enclosures. *Aquaculture* 183: 125-147.
- Peinado-Guevara, L., and Meyer, M.L. 2006. Detailed monitoring of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp commercial ponds in Sinaloa, Mexico by nested PCR. *Aquaculture* 251 (1): 33-45.
- Perez, F., F.A.M. Volckaert, J. Colderon. 2005. Pathogenicity of white spot syndrome virus on post larvae and juveniles of *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei*. *Aquaculture* 250: 586-591.
- Power, A.G. and C. E. Mitchell. 2004. Pathogen spillover in disease epidemics. *The American Naturalist* 164: S79-S89.
- Rahman, M.M., Escobedo-Bonilla, C.M., Corteel, M., Dantas-Lima, J.J., Wille, M., Sanz, V.A., Pensaert, M.B., Sorgeloos, P., Nauwynck, H.J. 2006. Effect of high temperature (33 °C) on the clinical and virological outcome of experimental infections with white spot syndrome virus (WSSV) in specific pathogen-free (SPF) *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 261: 842-849.
- Sarkar, S.K., A. Bhattacharya, S. Giri, B. Bhattacharya, D. Sarkar, D.C. Nayak and A. K. Chattopadhyaya. 2005. Spatiotemporal variation in benthic polychaetes (Annelida) and relationships with environmental variables in a tropical estuary. *Wetlands Ecology and Management* 13: 55-67.
- Shishechian, F., F.M. Yusoff and M.Shariff. 2001. The effects of commercial bacterial products on macrobenthos community in shrimp culture ponds. *Aquaculture International* 9:429-436.
- Subashinge, R.P. 2005. Epidemiological approach to aquatic animal health management: opportinisties and challenges for developing countries to increase aquatic production through aquaculture. *Preventive Veterinary Medicine* 67: 117-124.
- Sunarto, A., Widodo, Taukhid, Koesharyani, I., Supriyadi, H., Gardenia, L., and Sugianti, B. 2004. Current status of transboundary fish diseases in Indonesia: Occurrence, surveillance, research and training.
- Tsai, M., Kou, G., Liu, H., Liu, K., Chang, C., Peng, S., Hsu, H., wang, C., Lo, C. 1999. Long term presence of white spot syndrome virus (WSSV) in a cultivated shrimp population without disease outbreaks. *Diseases of Aquatic Organisms* 38:107-114.
- Vijayan, K., Raj, V.S., Balasubramanian, C.P., Alavandi, S.V., Sekhar, V.T., Santiago, T.C. 2005. Polychaete worms- a vector for white spot syndrome virus (wssv). *Diseases of Aquatic Organisms* 63: 107-111.
- Watanabe, W.O., T.M. Losordo, K. Fitzsimmons, and F. Hanley. 2002. Tilapia production system in Americas: technological advances, trends, and challenges. *Reviews in Fisheries Science* 10 (3&4): 465-498.
- Withyachumnarnkul, B. 1999. Results from black tiger shrimp *Penaeus monodon* culture ponds stocked with postlarvae PCR-positive or – negative for white-spot syndrome virus (WSSV). *Diseases of Aquatic Organisms* 39:21-27.
- Woolhouse, M.E.J. 2002. Population biology of emerging and reemerging pathogens. *Review*

Trends in Microbiology 10 (10 Suplemen) S3-S7.

Yan, D., Dong, S., Huang, J., Yu, X, Feng, M., and Liu, X. 2004. White Spot syndrome virus (WSSV) detected by PCR in rotifers and rotifer resting eggs from shrimp pond sediments. Diseases of Aquatic Organisms 59: 69-73.

Yoganandhan, K., Thirupathi, S., and Hameed, A.S.S. 2003. Biochemical,

physiological and hematological changes in white spot syndrome virus-infected shrimp, *Penaeus indicus*. Aquaculture 221: 1-11.

Zhang, J., S. Dong, S., Tian, X., Dong, Y., Liu, X., and Yan D. 2006. Studies on rotifer (*Brachionus urceus* Linnaeus, 1758) as a vector in white spot syndrome virus (WSSV) transmission. Aquaculture 261: 1181-1185