بروز " سندرم لکه سفید چشمی " در میگوهای پرورشی پا سفید غربی (*Litopenaus vannamei*) در ایران

امراله قاجاری*[۱] ، مریم میربخش[۲]، وحید یگانه[۳] ،آذر صیدی[٤]

amrellahghajari@yahoo.com

خلاصه :

متعاقب انتقال ۱۸۰۰ قطعه میگوی پاسفید غربی (*Litopenaus vannamei*) با میانگین وزن ۱٦gr از استخرهای پرورشی منطقه حله به گلخانه مرکز تکثیر بندرگاه در بوشهر علائمی از قبیل کاهش رشد، بی اشتهایی، تیره شدن رنگ بدن، لکه های سیاه رنگ در بعضی از نقاط بدن، قرمزی باله های دمی و تلفات جزئی در میگوها مشاهده شد. در مشاهدات بالینی وجود لکه های سفید به قطر ۲-۵mm با شکل های نا منظم درون چشم میگو ها جلب توجه می کرد. به منظور ردیابی بیماری های ویروسی نمونه گیری جهت ویروس های WSSV، YHV، IHHNV و TSV صورت گرفت که با استفاده از کیت تجاری IQ2000 همه نمونه های اخذ شده منفی گزارش گردید. در بررسی های هیستوپاتولوژی، لکه های سفید به صورت ضایعات نکروز آبکی در ناحیه diaoptric portion که با تخریب سلول های Cone Cell و ناحیه Crystalin cone و نفوذ هموسیت ها خود را نشان می داد. در بررسی های باکتریولوژیک باکتری جدا شده شامل باکتری های گرم منفی پلئومورف بود که در تست های شیمیایی به عنوان جنس Aeromonas شناسایی شد. به نظر می رسد گونه ی باکتری Aeromonas ایجاد کننده این عارضه بصورت ثانویه باشد و تشخیص قطعی عامل اولیه نیازمند تحقیقات بیشتری است.

لغات کلیدی : میگوی پاسفید غربی ، چشم ، لکه سفید ، باکتری آئروموناس

۱ و ٤ : سازمان دامپزشکی کشور، تهران- صندوق پستی ۱٤۱۵۵/٦۳٤۹

۲ و ۳ : پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر- صندوق پستی ۱۳۷٤

مقدمه :

چشم یک ساختار بسیار مؤثر در میگو و سایر سخت پوستان می باشد از لحاظ بافت شناسی چشم دارای دو ناحیه متفاوت شامل ناحیه غده ای مشتمل بر سه غده و ناحیه بینائی می باشد. در این موجودات چشم علاوه بر نقش بینایی در ترشح هورمون ها و نورو هورمون ها نیز نقش دارد. در حقیقت ارگان نوروهورمون اصلی در میگو مجموعه غدد سینوسی است که درون ناحیه غده ای چشم قرار دارد. این مجموعه به طور مستقیم و غیر مستقیم کنترل اغلب جنبه های متابولیکی و رفتاری را در سخت پوستان بر عهده دارد (Charmantier & charmantir-Daure 1998).

٦ فعالیت هورمونی را که بوسیله غدد سینوسی تنظیم می شود شامل :

١- پاسخ تطبیقی به نور سلولهای رنگدانه ای شبکیه
٢- پیگمنتاسیون سراسری بدن
٣- پوست اندازی، بازسازی و ترمیم رشد
٤- تولید مثل
٥- متابولیسم
٦- سرعت ضربان قلب(Bern & Hagadorg 1965)

هرگونه آسیب به چشم میگو می تواند باعث بروز اختلالات در فیزیولوژی میگوها گشته و باعث بروز علائم غیراختصاصی گوناگونی گردد.

اگر چه تاکنون گزارشی مبنی بر وجود پاتوژن اختصاصی ضایعات چشمی میگو وجود ندارد لیکن بعضی از پاتوژن ها نظیر ویروس YHV/GAV ، باکتری ویبریوز، قارچ فوزاریوم سولانی به عنوان عوامل ایجادکننده عارضه در چشم میگوها شناخته شده اند (Smith 2000). در این مطالعه که بر روی علل بروز ضایعات چشمی در پیش مولدین موجود در استخرهای بتونی مرکز تکثیر تحقیقات بندرگاه استان بوشهر صورت گرفت نقش عوامل مختلف ویروسی و باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار :

جمعیت مورد مطالعه :

میگوهای مورد مطالعه از جنس لیتوپنئوس وانامی *Litopenaeus vannamei* بودند که در مجتمع پرورشی حله استان بوشهر در استخرهای خاکی ایستگاه تحققیقاتی پژوهشکده میگو پرورش پیدا کرده بودند. میگوها پس از رسیدن به وزن متوسط ١٦ گرمی جهت تولید مولدین پرورشی، صید و به گلخانه ایستگاه تکثیر بندرگاه (واقع در شهر بوشهر) انتقال پیدا کردند. تعداد میگوهای منتقله ١٨٠٠ عدد با تناسب جنسیتی ١-١ بودند. قبل از انتقال میگوها از لحاظ وضعیت سلامتی کنترل شده و هیچ گونه شواهد کلینیکی مبنی بر وجود بیماری در آنها مشاهده نشد.

روش نمونه برداری و انتقال نمونه ها :

در ابتدا میگوهای دارای علائم کلینیکی مورد معاینه ظاهری قرار گرفته و سپس جهت آزمایشات مختلف نمونه برداری صورت گرفته به آزمایشگاه ارسال شد. به منظور انجام آزمایشات واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) یک عدد از پای شنای میگوها کنده و درون یک لوله۱/۵ میلی لیتری قرار داده شده و بلافاصله در کنار یخ به آزمایشگاه ارسال شد و به منظور انجام آزمایشات هیستوپاتولوژیک از ترکیب بافر دیویدسن به روش (OIE Manuel 2006) جهت نگهداری و ثبوت نمونه ها استفاده شد. در کل تعداد ۲۰ نمونه میگوی زنده جهت آزمایشات باکتری شناسی، ٦ میگوی کامل ثابت شده جهت آزمایشات هیستوپاتولوژیک،۳۵ نمونه پای شنا جهت انجام آزمایشات واکنش زنجیره ای پلی مراز اخذ و به آزمایشگاه ارسال شد.

آزمایشات باکتری شناسی:

میگوها بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه با آب استریل دریا شستشو شده و با سرنگ انسولینی و نیدل استریل از قلب نمونه همولنف اخذ و به محیط TSA با نمک ۲٪ منتقل شد. همچنین به همین روش از هپاتوپانکراس آسپیره شده و محتویات آن بر روی محیط فوق منتقل شد. به علاوه چشم میگو پس از شستشوی مجدد با آب استریل دریا بوسیله اسکالپل شکاف داده شده و از محتویات چشم به روی محیط کشت منتقل شد. محیط کشت در دمای ۲۵ درجه گرمخانه گذاری شده و پس از ٤٨ ساعت در صورت رشد باکتری به محیط انتخابی TCBS منتقل و سایر آزمایشات شیمیایی نظیر تست حرکت، آرژنین، لیزین، نمک ۰٪ و ... انجام و مجدداً گرمخانه گذاری شده و پس از ٤٨ ساعت نتایج قرائت می شد.

بافت شناسی :

جهت تهیه مقاطع بافتی از آبشش، چشم، هپاتوپانکراس، معده، عضلات استفاده شد. پس از تهیه مقاطع بافتی نمونه ها با رنگ هماتوکسلین – ائوزین رنگ آمیزی شده و مورد استفاده قرار گرفتند. (Bell & Lighner 1988) .

آزمایشات واکنش زنجیره ای پلی مراز:

۳۵ نمونه از پاهای شنای میگوها دارای علائم بیماری جهت آزمایشات واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) جهت ردیابی ویروس های خطرناک میگو شاملTSV, IHHNN, YHV, WSSV مورد آزمایش قرار گرفتند. روش مورد استفاده Nested PCR با استفاده از کیت های تجاری IQ2000 ساخت شرکت .Farming IntelliGene Tech. Corp کشور تایوان و با استفاده از پرایمرهای طراحی شده توسط شرکت سازنده کیت صورت گرفت.

حساسیت کیت برای ردیابی ویروس WSSV ۲ کپی/ واکنش، ویروس IHHNN ۱۰۰ کپی/واکنش، ویروس TSV ۲۰ کپی/ واکنش ، ویروس YHV ۲۰ کپی/واکنش می باشد.

❖ **استخراج DNA** :

برای استخراج DNA از محلول Lysis buffer استفاده می شد. روش کار بر اساس دستورالعمل سازنده کیت های IQ2000 صورت پذیرفت. DNA بدست آمده نهایتاً با 200ml آب دو بار تقطیر (dd H_2o) حل شده و تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری می شد.

❖ **استخراج RNA** :

به منظور استخراج RNA از محلول واکنش استخراج RNA و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت IQ2000 استفاده می شد. RNA به دست آمده با میزان 200ml از آب دو بار تقطیر (ddH_2O) حل شده و تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری می شد.

❖ **واکنش PCR** :

واکنش PCR با استفاده از برنامه Uni – IQ – KT – PCR برای ویروس های WSSV– YHV – TSV ویروس ها به شرح ذیل صورت گرفت :

A: RT – PCR Reaction
42 c 30min, 4 c 2min
64 c 20sec, 62 c 20sec, 72 c 30sec, repeat 15cycle
72 c 30sec, 20 c 30sec final cycle
B: Nested PCR Reaction
94 c 20sec, 62 c 20sec, 72 c 30sec, repeat 30cycle
72 c 30sec, 20 c 30sec final cycle

واکنش PCR برای ویروس IHHNV :

94 c 20sec, 70 c 20sec, repeat 10cycle
94 c 20sec, 56 c 20sec, 72 c 30sec , repeat 35cycle
72 c 30sec, 20c 30sec final cycle

برای هر واکنش PCR از کنترل های مثبت، منفی، کنترل داخلی (ژنوم میگو) استفاده می شد.

❖ **الکتروفورز** :

از بافر TBE و ژل آگارز ۲٪ برای الکتروفورز استفاده می شد. پس از تهیه ژل و وارد کردن محصول DNA درحفرات با ولتاژ بین ۱۵۰–۱۰۰ الکتروفورز صورت می گرفت.

❖ **رنگ آمیزی ژل و قرائت نتایج :**

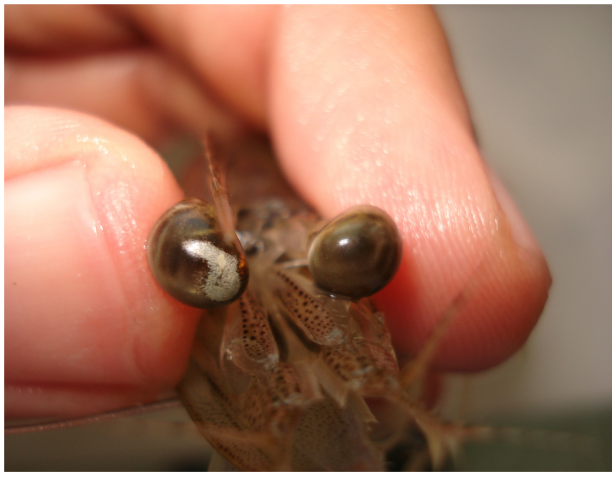
از رنگ ایتدیوم برامید برای رنگ آمیزی DNA استفاده شد. پس از پایان رنگ آمیزی ژل، با استفاده از نور UV باندهای شکل گرفته بررسی می شد.

نـتـایـج :

الف- مشاهدات بالینی :

میگوها یک ماه پس از ورود به استخرهای گلخانه علائم کلینیکی را نشان دادند. علائم کلینیکی شامل کم اشتهایی تا توقف کامل تغذیه میگوها – تغییر رنگ بدن میگوها شامل تیرگی سرتاسری بدن و قرمز شدن دم میگوها، بروز لکه سیاه بر روی پوسته، بی حالی، کاهش رشد هفتگی و توقف رشد می شد. تیرگی بـدن سرتاسری بوده و حضور لکه های سیاه بر روی پوسته کاملاً مشهود بود.

متعاقبا لکه های سفید در چشم که عمدتاً در یک چشم و گاهاً در هر دو چشم بود، بـروز کـرد. انـدازه ی لکه ها بین ۵-۲ mm با لبه های مضرس و اشکال متفاوت ولی عمدتاً دایره ای تا بیضـی شـکل بودنـد. در صورت باز کردن چشم، این لکه سفید به صورت پلاک سفیدی خود را نشان داده که از بافت هـای زیـرین چشم کاملاً جدا بوده و قابل تفکیک از بافت چشم بود. پلاک ها، سفید تا شیری رنـگ و در صـورت بـرش دارای بافت کاملا نرم و فاقد اجسام سخت بود.



نگاره ۱ : چشم میگوی درگیر لکه سفید

نگاره ۲ : قرمزی غیرطبیعی دم پاره های شنا

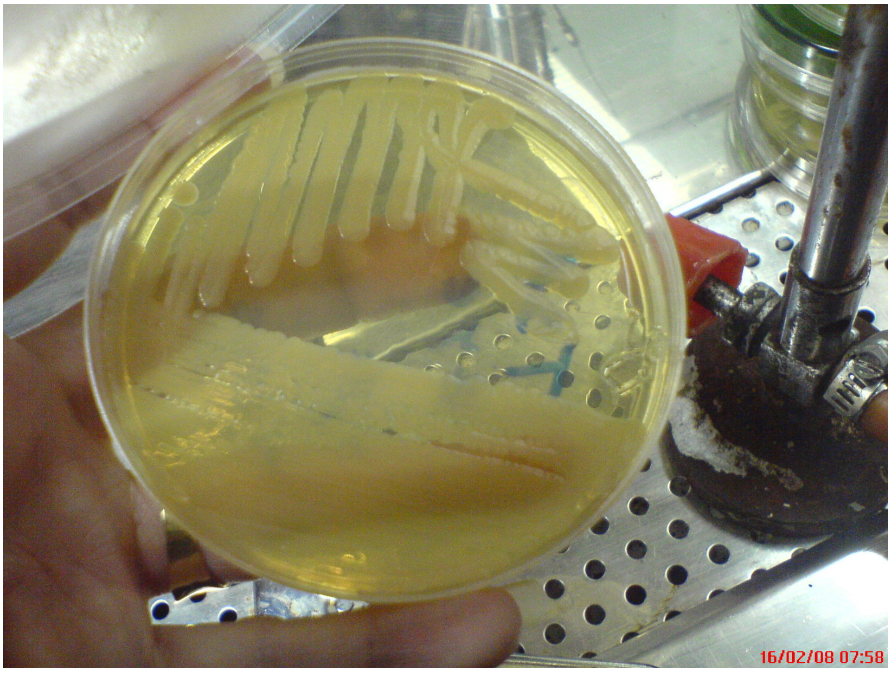
علیرغم واگیری بالای این بیماری در بین میگوها تلفات آن نسبتاً کم گزارش گردید.

نتایج میکروبیولوژی :

در رنگ آمیزی گرم اسلایدهای تهیه شده از چشم میگوهای ضایعه دیده، باسیل های گرم منفی پلئومورف مشاهده گردید از ۲۰ میگوی مورد آزمایش ، ۲۰ نمونه همولنف و ۲۰ نمونه چشم میگو و ۲۰ نمونه هپاتوپانکراس مورد کشت قرار گرفتند. در نمونه های همولنف کشت داده شده بر روی TSA هیچ باکتری رشد نکرد ولی بر روی ۸ تا از نمونه های چشم میگو و۱۵ تا از نمونه های هپاتوپانکراس رشد مشاهده شد. کلنی های جدا شده از نمونه های چشم میگو و هپاتوپانکراس، بر روی محیط TCBS هم رشد کرده و تولید کلونی های زرد رنگ نمودند. از کلونی های تولید شده بر روی محیط TCBS ، برای آزمایشات بیوشیمیایی استفاده شد.

	رشد	عدم رشد
کشت از همولنف	۰	۲۰
کشت از هپاتوپانکراس	۱۵	۵
کشت از چشم میگو	۸	۱۲

جدول ۱ : نتایج رشد بر روی محیط TSA



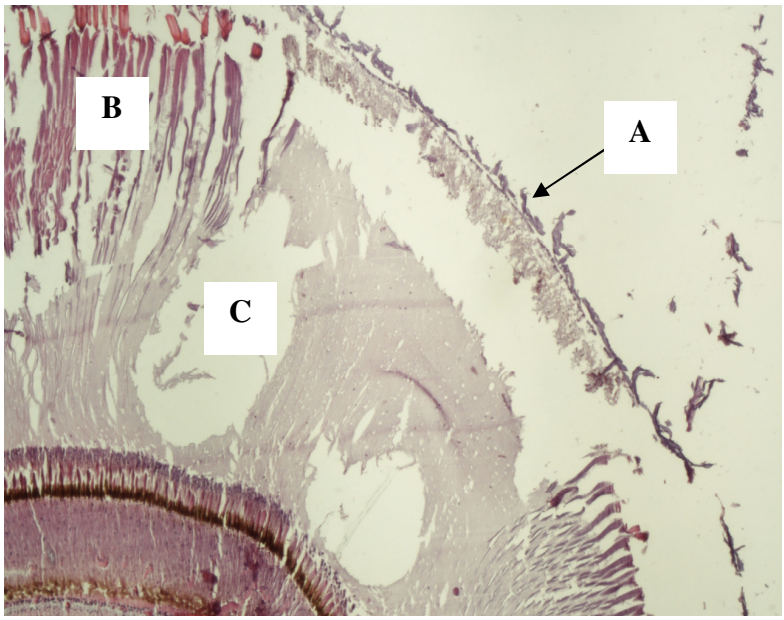
نگاره ۳ : رشد باکتری جدا شده از چشم بر روی محیط TSA

Motolity	TCBS	محیط مک کانکی	Gelatin	NaCl 0%	Manitol	Inositol	Lysin	Ornithin	Arginin
+	ضعیف	ضعیف	+	+	+	-	-	-	+/-

جدول ۲ : نتیجهٔ رشد باکتری بر روی محیط های بیوشیمیایی مختلف

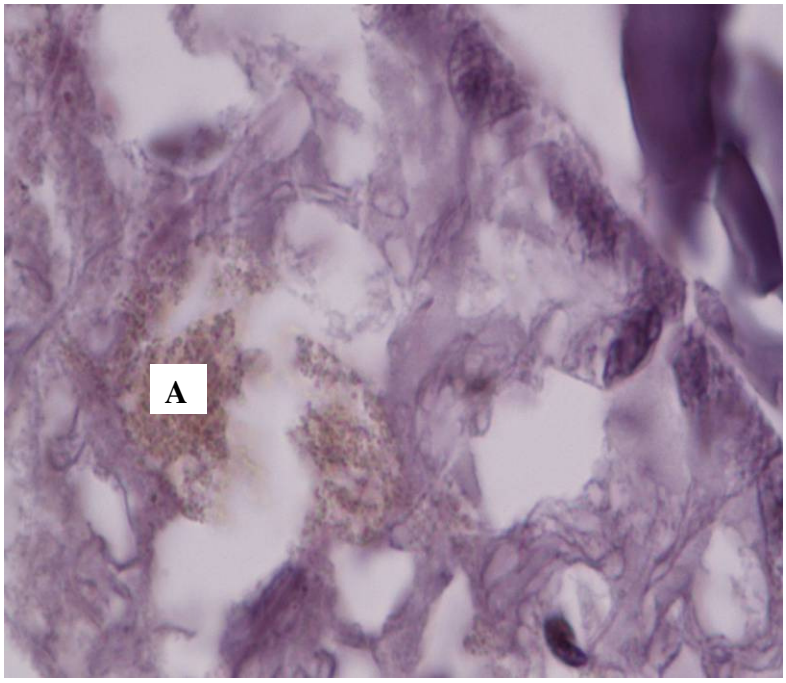
ضایعات پاتولوژیک :

ضایعات پاتولوژیک مشاهده شده عمدتاً محدود به چشم بوده و در سایر بافت ها ضایعه خاصی مشاهده نگردید. پارگی و تکه تکه شدن لایه کوتیکولی سطح چشم در ناحیه آسیب دیده و بروز ضایعه نکروز آبکی در ناحیه Diaptoric Portion که با تخریب سلول های مخروطی (Cone cell) ها و کریستال های مخروطی (Cone crystal) و حضور هموسیت ها و جایگزینی در بعضی جاها بوسیله بافت همبند از ضایعات اصلی در چشم بود. حضور باکتری های کروی و تا اندازه ای میله ای شکل به صورت میکروآبسه در مناطق آسیب دیده مشاهده شد. بافت های زیرین چشم به نظر سالم می رسید. بقیه بافت ها سالم و فاقد ضایعه تشخیصی قابل ملاحظه ای بود.



نگاره ٤ : اسلاید هیستوپاتولوژی تهیه شده از چشم میگوی آسیب دیده بزرگنمائی ×١٠

به پارگی کوتیکول چشم (A) و از هم گسیختگی Cone crystal ها (B) توجه شود. بعلاوه حفرات خالی ناشی از تخریب و از بین رفتن Cone crystal ها و بروز نکروز آبکی قابل ملاحظه می باشد (C)



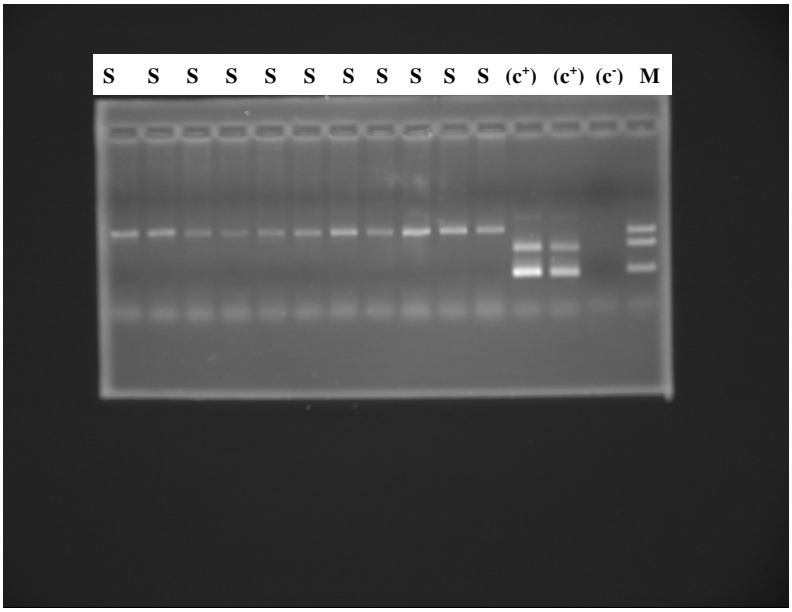
نگارهٔ ۵ : یک کلونی باکتریایی شبیه آبسه در ناحیهٔ آسیب دیده (A)

آزمایشات مولکولاربیولوژی :

در بررسی نتایج حاصل از الکتروفورز محصول PCR نمونه های مختلف، نتایج ذیل براساس تفسیرهای موجود در راهنمای کیت تشخیص مورد استفاده به دست آمد.

- WSSV :

فقط باند در ۸٤۸ bp شکل گرفته که نشان دهنده نتیجه منفی است (باند شکل گرفته در ۲۹٦bp و ۵۵۰pb مثبت قلمداد می شوند و باند ۸٤۸bp ناشی از پرایمر کنترل داخلی کیت است).



نگاره ٦ : عکس ژل الکتروفورز محصول PCR از نمونه های مشکوک جهت ردیابی ویروس لکه سفید(WSSV) – عدم ایجاد باند در در ۲۹٦bp و ۵۵۰pb نشان گر منفی بودن نمونه های مورد آزمایش می باشد.

M: مارکر

C^- : کنترل منفی

C^+ : کنترل مثبت

S : نمونه

TSV: باندها در ناحیه ٦۸۰bp قرار گرفتند که نشان دهنده نتایج منفی می باشد (باند شکل گرفته در ۲۸٤bp و یا ٤۷٦bp نشان دهنده نتایج مثبت است).

IHHNV : باندهای شکل گرفته در ناحیه ۲٤۳bp قرار گرفتند که نشان دهنده نتایج منفی است (شکل گیری باندها در نواحی ٤۳۸bp و یا ٦٤٤bp نشان دهنده واکنش مثبت است).

YHV/GAV : باندهای شکل گرفته در ناحیه ٦۸۰bp قرار می گرفتند که نشان دهنده نتایج منفی برای ویروس YHV/GAV می باشد (شکل گیری باندها در ۲۷۷bp و یا ۷۷۷bp برای ویروس YHV و در ٤۰٦ bp و ۷۷۷ bp نشان دهنده نتایج مثبت برای ویروس های فوق می باشد).

بـــحـــث :

در بررسی علائم کلینیکی آن چیزی که بیشتر جلب توجه می کرد وجود لکه سفید بـر روی چشـم میگوهای مبتلا بود. از آن جایی که چشم در میگو و سایر سخت پوستان علاوه بر نقش بینایی به عنوان یک ارگان تولید کننده هورمون های مختلف عمل می کند. بسیاری از علائم غیر اختصاصی مشاهده شده دیگـر از جمله تیرگی غیرمعمول رنگ بدن، کاهش شدید رشد، بی اشتهایی و توقف رشـد مـرتبط بـا اخـتلال در سیستم هورمونی میگوها بود.

چشم یک ارگان اندوکرین مهم است که بسیاری از فعالیت های فیزیولوژیکی و رشد میگو را کنترل می کند. بنابراین منطقی است که حدس بزنیم حتی ضایعات کوچک در چشم می تواند باعث ایجاد اخـتلال در پوست اندازی، تغییر رنگ و بلوغ جنسی گردد. با توجه به وسعت ضایعات وارد شـده بـه چشـم علائـم کلینیکی متفاوت و متغیر است (Smith 2000). در بررسی علائم کلینیکی ما اختلال در پوسـت انـدازی و تأخیر در بلوغ جنسی را مشاهده نکردیم. لیکن وجود علائمی همچون کاهش رشد، تیرگی عمـومی پوسـته می تواند نشانگر اختلال در عملکرد قسمت غده ای چشم باشد. نتایج پاتولوژی نشان مـی دهـد کـه بیشـتر ضایعات متمرکز به قسمت بینایی (Diaptoric Portion) می باشد. وجود نکروز آبکـی گسـترده باعـث تخریب قسمت های اصلی بینایی چشم میگوها شده و گاهاً تا قسمت های گانگلیوئیک هم کشیده می شود. وجود کانون های آبسه در ضایعات پاتولوژیک نشانگر فعالیت باکتری پاتوژن و هجوم سلول هـای سیسـتم ایمنی از جمله هموسیت ها به آن ناحیه می باشد. افزایش تجمع هموسیت ها و همولنف در محل ضـایعات به عنوان پاسخ ایمنی میگو در این ضایعه قلمداد می شود.

در خصوص عامل ایجاد کننده ضایعه عوامل مختلـف پـاتوژن مـی تواننـد بـه چشـم آسـیب وارد کنند.یکی از اینها ویروس YHV/GAV می باشد که می تواند در چشم ایجاد ضایعه کند(Smith 2000).

در بررسی نتایج واکنش زنجیره ای پلی مراز هیچگونه باندی برای ویروس هـای GAV و YHV در ژل مشاهده نگردید. بنابراین وجود ویروس فوق در ایجاد ضایعات دور از ذهـن مـی باشـد. در ردیـابی سایر ویروس های خطرناک میگو از جمله IHHNV/TSV/WSSV نیز آزمایشات زنجیره ای پلی مـراز منفی اعلام گردید. اگر چه تاکنون گزارشی مبنی بر عفونت زائی این ویروس هـا در چشـم میگوهـا وجـود ندارد لیکن در TSV علائمی نظیر لکه سیاه در کوتیکول و وجود نکروز در اروپودها وجود دارد که در این بیماری به فراوانی قابل مشاهده بود. ولی نتایج واکنش زنجیره ای پلی مـراز بـرای ردیـابی TSV منفـی اعلام گردید. با توجه به وجود لکه های سفید بر روی چشم، آزمایش ردیابی WSSV نیز صورت گرفت. اگر چه WSSV اختصاصاً بر روی پوسته ضایعات می دهد ولی به منظور اطمینان از عدم وجـود ویـروس WSSV این آزمایش نیز صورت گرفت.

بیماری IHHNV نیز باعث ضایعات اختصاصی در شکل گیری پوسته میگوها می شود. اگـر چـه ما این ضایعات را مشاهده نکردیم ولی توقف رشد و رشد بازدارنده که از دیگر علائـم بیمـاری IHHNV

است در این مورد مشاهده شد. به هر حال وجود ویروس های فوق در آزمایشات PCR منفی اعلام گردید.

در مطالعات باکتریولوژیک اگر چه ما نتوانستیم از همولنف میگوها باکتری جدا کنیم ولی از عصاره چشم میگوها به راحتی باکتری جدا شده و به صورت فراوان بر روی پلیت TSA رشد کرد. با توجه به رشد بر روی محیط TCBS وجود باکتری از خانواده Vibrionacea مورد ظن قرار گرفت که در آزمایشات شیمیایی گونه جدا شده بیشتر به Aeromonas شباهت داشت. علائم کلینیکی و پیریوزیس سیستمیک غیراختصاصی بوده و شامل علائمی نظیر تجمع میگوها در استخر، بی حالی، بی اشتهایی، تغییر رنگ و نکروز کوتیکول و پوست اندازی غیرمعمول می باشد. بسیاری از علائم کلینیکی ذکر شده با یافته های ما در استخرها مورد مطالعه شباهت داشت. لیکن از آن جایی که هیچ باکتری از همولنف جدا نگردید وجود عفونت سیستمیک ناشی از باکتری قابل تأمل می باشد. تاکنون گزارشی از درگیری چشم به آئروموناس گزارش نگردیده است و این اولین گزارش جدا سازی این باکتری از چشم میگو می باشد. Smith و همکاران در مطالعه خود گونه هایی از Vibrio را عامل آسیب چشم میگوها ذکر کرده اند لیکن آنها نتوانسته اند حضور باکتری را در چشم به صورت نقاط آبسه مشاهده کنند بلکه باکتری را به صورت ذرات آزاد در چشم مشاهده و جدا سازی کرده اند. آنها معتقدند که بعضی از گونه های حاد باکتری ویبریو می تواند باعث بروز ضایعات در چشم و حتی مرگ و میر شود. برخلاف این، به نظر می رسد در مورد باکتری آئروموناس این باکتری نتواند به عنوان عامل اولیه مطرح باشد و عامل یا عوامل اولیه ایجاد ضایعه در چشم از دید ما ناشناخته باقی ماندند. در گزارش Minchew و همکاران (۱۹۷۹) ضایعات چشمی مشابهی را در میگوهای قهوه ای Penaues azetcus که به طور مزمن در تماس با سطوح پائینی از آلودگی های نفتی در دریا بود مشاهده کردند و این ضایعه را ناشی از این مورد دانستند. در گزارش دیگری Colorni در میگوهای *P. semisulcatus* قارچ *Fusarum solani* را از ضایعات چشم های آسیب دیده جدا کرد ولی او نیز عامل اولیه را نتوانست مشخص کند. چنین نتایجی توسط Larmeone و همکاران در سال ۱۹۷۷ بر روی میگوهای *P.vannamei* نیز مشاهده گردید و فقط قارچ فوق را از ضایعات چشمی جدا سازی کردند. یکی از عواملی که در اینجا به عنوان عامل اولیه پیشنهاد می گردد وجود استخرهای سیمانی و دیوارهای بتونی می باشد که ممکن است باعث جراحت سطحی چشم میگوها شده و نهایتاً باکتری آئروموناس جایگزین شود. سایر عوامل ویروسی نیز می تواند در این موضوع دخیل باشد اگر چه ما نتوانستیم هیچ کدام از ویروس های مهم را ردیابی کنیم لیکن احتمال وجود ویروس ناشناخته دور از ذهن نمی باشد.

The occurrence of "White Eye Syndrome" in cultured white leg shrimp (*litopenaus vannamei*) in Iran

Ghajari A.[*1], Meerbakhash M.[2], Yeganeh V.[3], Saaydi A.[4]
Amrellah ghajari@yahoo.com

Eye lesions observed in cultured white leg shrimp after their movement from culture pond to a greenhouse of hatchary in Boushehr province .shrimp displayed a variety of non-specific signs of disease ,including lethargy, anorexia, growth reduction ,dark pigmentation ,empty of midgut, necrosis of uropods and fouled cuticle and death. In pond- side examination, the lesions of eye appeared as a circular to slightly irregular white spots with 2-5 diameter. In histopathological study ,affected eyes showed supperative inflammation, liquefactive necrosis in diaptoric portion of ommatidia and all associated structure that characterized by edema, infiltration of haemocytes, local abscesses and replacement of fibrous tissue. In PCR tests for detection of WSSV, YHV, IHHNV, TSV by IQ2000 kits on 36 samples of pleopode and gills, all results were negative but bacteriological culture from lesions showed Gram-negative rods bacteria and further chemical tests showed that isolated bacteria were near to Vibrionacea and genus Aeromonas. It seems that this syndrome due to unknown primary agent and Aeromans cause secondary infection .more information need to clear primary agent.

1, 4: IRAN Veterinary Organization P.O. Box: 14155/6349, Tehran, IRAN.
2, 3: IRAN Shrimp Research center- P.O. Box: 1374, Booshehr, IRAN.

References:

Bell TA, Lightner D.V. 1988. A handbook of normal penaeid shrimp histology. World Aquaculture Socity, Allen Press, Lawrences, KS, pp: 27-33

Bern HA, Hagadorn I.R. 1965. Neurosecretion. Chapter6. In: Bullock TH, Horridge GA(eds) Structure and function in the nervous systems in invertebrates, Vol 1.WH Free-man &Company, San Francisco, CA, pp: 353-429

Colorni A. **1990**. Penaeid pathology in Israel: problems and research. In: Barret J(Ed) Advances in tropical aquaculture, Tahiti, February –March, 1989, Aquacop. Ifremer, Actes de Colloque 9, Tahiti, pp: 89-96.

IQ2000. , 2007. Instruction manual of IHHNV detection and prevention system. Farming Intelli Gene. Tech. Corp. Taiwan.16 p.

IQ2000. , 2007. Instruction manual of WSSV detection and prevention system. Farming IntelliGene.Tech.Corp. Taiwan. 19p.

IQ2000., 2007. Instruction manual of TSV detection and prevention system. Farming IntelliGene.Tech.Corp.Taiwan.15 p.

IQ2000., 2007. Instruction manual of YHV/GAV detection and prevention system. Farming IntelliGene.Tech.Corp.Taiwan.15 p.

Laramore C.R., Barkate J.A., Persyn H.O. 1997. *Fusarium infection* in eyes of mature shrimp (*Penaeus vannamei*). Texas A&M university, Texas Agricultural Extension Service,Fish Disease Diagnostic Laboratory, publ.S9,College Station, TX,USA

Mirehew C.D., Brown L.R., Ladner C.M. 1979. The occurrence of white eye syndrome in shrimp (Penaeus Aztecus). Proceedings 1979 oil spill conference (Prevention, Behavior, Control, Cleam up) held in Los Angeles, California March 19-22, 1979. P: 537-539.

O.I.E., 2006. Manual of diagnostic tests for aquatic animals 2006. chapter 1.3. General information pp: 355-362.

Smith T.P. 2000. Disease of the eye of farmed shrimp Penaeus monodon. Disease of Aquatic Organisms Dis Auart Org. Vol.43: pp 159-173.