

بررسی هیستوپاتولوژیک آبشش و تغییرات سلولی همولنف در ویبریوز تجربی میگوی پاسبید (*Litopenaeus vannamei*) با باکتری ویبریوز هاروی (*Vibrio harveyi*)

*امین بهی¹، رحیم پیغان²، عقیل دشتیان نسب³، بابک قائدینیا³ و وحید یگانه³

¹دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات اهواز، ²گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان،
دانشکده دامپزشکی، دانشگاه چمران اهواز، ³پژوهشکده میگوی ایران، بوشهر

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک آبشش و تغییرات هموسیت کل میگوی پاسبید (*Litopenaeus vannamei*) در ویبریوزیس تجربی بوسیله باکتری *Vibrio harveyi* انجام گرفت. بدین منظور یک گروه 30 تایی پست لارو 75 روزه مورد آزمایش قرار گرفت. میگوها بوسیله روش غوطه‌وری 30 دقیقه‌ای با غلظت 10^9 سلول باکتری در میلی‌لیتر مورد مواجهه قرار گرفتند. نتایج هیستوپاتولوژی آبشش در میگوهای در حال مرگ نکروز، چسبندگی لاملاها، ادم، نفوذ هموسیت در فیلامنت‌های آبششی و تجمعات گره‌ای هموسیت‌ها با کانون ملانینی شده را نشان دادند. نتایج حاصل از شمارش کل هموسیت‌ها در میگوهای در حال مرگ کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: آبشش، بوشهر، میگوی پاسبید، ویبریوز هاروی، همولنف، هیستوپاتولوژیک

مقدمه

زیاد است، وجود دارند. یون‌های سدیم موجب تحریک رشد همه گونه‌ها شده و برای رشد بسیاری از گونه‌ها ضروری است. ویبریوزها میکروفلور طبیعی بدن میگو محسوب می‌گردند و از عدم توانایی دفاعی میگوها که به دلیل استرس‌های تحمیلی اتفاق می‌افتد، استفاده کرده و به صورت عوامل بیماری‌زای فرصت طلب نمایان می‌شوند (7).

توانایی باکتری‌های جنس ویبریوز در آسیب رساندن به میگوها متغیر است و همواره به دلیل اثرات پاتولوژیک متفاوت و حضور عوامل بیماری‌زای فرصت طلب گوناگون نظیر باکتری‌های گرم منفی و اکسیداز مثبت *Aeromonas sp.*، *Psuedomonas sp.* در عفونت‌های سیستمیک ویبریوزیس تعیین گونه‌های آسیب رسان ویبریوز، کاری بسیار مشکل است (9). برخی گونه‌های ویبریوز مانند *Vibrio penaeicida* در منطقه نیوکالدونیا بسیار مهاجم هستند و در شرایطی که حداقل استرس وجود دارد باعث ایجاد بیماری در میگوهای پرورشی پاسبید

تا قبل از سال 1980 رشد و توسعه مزارع پرورش میگو به صورت سیستم‌های پرورش سنتی و گسترده بود و بعد از دهه 80 رشد سریعی در این بخش رخ داد که به سوی صنعتی شدن پیش می‌رفت. این روند رشد بین سال‌های 1990 تا 1993 همزمان با بروز عوامل بیماری‌زا و گسترش بیماری‌ها کندتر شده و پس از بازسازی مجدد با بهره‌گیری از تمهیدات و استفاده از تکنولوژی‌های نو و حرکت به سوی توسعه پایدار بر رشد این صنعت افزوده شد (17). در این میان عوامل عفونی باکتریایی به‌ویژه عوامل مولد بیماری‌های ویبریوزیس در میگوهای پنائیده در مراحل لاروی، پست لاروی، جوانی و بلوغ دیده می‌شود (13). عامل مولد بیماری‌های ویبریوزیس در میگو، باکتری‌های میله‌ای گرم¹ منفی، اکسیداز مثبت، نمک دوست، کموارگانوتروف² و بی‌هوازی اختیاری هستند که به شکل باسیل‌های کمی خمیده و یا مستقیم دیده می‌شوند (9). اکثر گونه‌ها به‌خوبی در محیط‌های آبی، به‌ویژه در محیط‌های دریایی و مصب‌ها که میزان آلی

* مسئول مکاتبه: am.behi@gmail.com

(Litopenaeus vannamei) و میگوهای آبی
(Litopenaeus stylirostris) می‌شوند (8).

بعضی از تحقیقات انجام شده در این زمینه شامل بررسی هیستوپاتولوژیک و بیوریوس در میگوی موندون توسط Tesaprateep (16) مطالعه Lightner بروی آثار هیستوپاتولوژیک آبشش، قلب و ارگان لمفونیدی در بیماری‌های سیستمیک و بیوریوس میگوهای پناشیده در آمریکای جنوبی (9) و بررسی هیستوپاتولوژیک اندام‌های مختلف و تغییرات سلولی همولنف در بیوریوس تجربی میگوی موندون (15) بررسی هیستوپاتولوژیک آبشش و تغییرات سلولی همولنف در بیوریوس تجربی میگوی موندون با یک سویه بیماریزای باکتری و بیوریوس آلجینولیتیکوس می‌باشد (16).

باکترهای دخیل در بیوریوس در تمامی نقاط جهان با توجه به تنوع گونه‌ای و بیوریوس در شرایط اقلیمی متفاوت و تنوع گونه‌ای در میگوهای پرورشی متفاوت به نظر می‌رسد. بطور کلی نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که از بین گونه‌های و بیوریوس گونه‌های *Vibrio* *Vibrio anguillarum*, *alginoliticus* *Vibrio*, *Vibrio harveyi*, *parahaemolyticus* *Vibrio* *vulnificus* و *splendidus* در ایجاد تلفات در بیوریوس مؤثر می‌باشند (6). با توجه به این که بافت آبشش و سلول‌های خونی میگو در طیف وسیعی از بیماری‌ها از خود واکنش نشان می‌دهند، هدف و مسئله مورد نظر در این تحقیق بررسی آسیب‌شناسی آلودگی‌های تجربی ناشی از یک سویه بیماریزای باکتری *V.harveyi* در اندام آبشش و تأثیر بیماری‌های ایجاد شده توسط این باکتری بر روی تعداد سلول‌های ایمنی غیر اختصاصی (هموسیت‌های) میگوی پاسفید می‌باشد.

مواد و روش کار

تأمین میگو و نگهداری آن: در این تحقیق از میگوهای پاسفید (*Litopenaeus vannamei*) پرورش یافته در پژوهشکده میگوی کشور که توسط آزمایشات PCR دو مرحله‌ای، عدم آلودگی جمعیتی آنها به ویروس‌ها تأیید شده بود، استفاده شد. وزن میگوهای مورد استفاده در این

آزمایشات $9/8 \pm 0/3$ گرم و سن آنها 75 روز بود. میگوها در ابتدا از لحاظ علائم ظاهری و سالم بودن اندام‌های ضمیمه بررسی شدند. عمل ذخیره‌سازی میگوها در آکواریوم‌های 150 لیتری و با حجم آبگیری 60 لیتر انجام شد. دما و شوری مورد استفاده به ترتیب 28 ± 1 درجه سلسیوس و 35 ppt (دما و شوری ایده آل میگوی *L.vannamei*) و میزان اکسیژن با هوادهی مداوم در حد 7 ppm نگه داشته شد. به منظور رفع استرس ناشی از حمل و نقل و دستکاری، میگوها به مدت یک هفته در این آکواریوم‌ها نگهداری و غذادهی شدند. غذادهی در ساعات 9 صبح و 5 بعد از ظهر توسط غذای فرموله شده میگوی وانامی شماره 4005 هوراش، و عملیات سیفون کردن آب هر دو روز یکبار انجام گرفت.

تأمین باکتری‌ها و خصوصیات بیوشیمیایی آنها: باکتری مورد استفاده در این تحقیق در تیر ماه 1386 از میگوهای با ظاهر بیمار وانامی در منطقه دلوار توسط بخش میکروبیولوژی پژوهشکده میگو طبق روش‌های David و همکاران (2001) و Lightner (1996) جداسازی شد.

تهیه سوسپانسیون و شمارش باکتری: برای تهیه سوسپانسیون باکتری، باکتری‌های جدا شده از محیط کشت در آب دریای استریل فیلتر شده با شوری 35 ppt حل گردید و تراکم آن اندازه‌گیری شد (1).

آلوده‌سازی تجربی: برای آلوده‌سازی از ظرف‌هایی با حجم سوسپانسیون 2 لیتر برای هر گروه استفاده شد که شرایط هوادهی مناسب در زمان غوطه‌وری با سنگ هوای استریل به خوبی برقرار شده بود. غلظت‌های مورد استفاده 10^8 و 10^9 سلول باکتری در میلی‌لیتر در مدت زمان حمام 30 دقیقه در نظر گرفته شد. برای ارزیابی بیماریزایی دوزهای به کار رفته، از گروه‌های 21 تایی میگو با سه تکرار برای هر دوز استفاده گردید و مرگ و میر میگوها در زمان 14 روز پس از آلوده‌سازی مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تأیید بیماری همولنف، میگوهای در حال مرگ بر روی محیط TCBS کشت داده شد. برای انجام مطالعات آسیب‌شناسی و بررسی تغییرات پارامترهای سلولی همولنف در آزمایش نهایی از غلظت 10^9

V.harveyi (اولین غلظت بیماریزا) بر روی یک گروه 30 تایی و در قالب 3 تکرار استفاده شد (5).

شمارش هموسیت کل: برای همولنف گیری از ماده ضد انعقادی Alsever با دمای 5 درجه سلسیوس و سرنگ انسولین استفاده شد. برای شمارش هموسیت کل از بزرگنمایی 400 میکروسکوپ نوری استفاده گردید (10). آسیب شناسی بافتی: برای تثبیت بافت های میگو و تهیه مقاطع بافت شناسی از روش Lightner استفاده شد (9).

آنالیز آماری داده ها: تجزیه و تحلیل داده های حاصل از شمارش هموسیت کل و مقایسه میانگین ها با آزمون T-test (t غیر جفتی) انجام شد و از نرم افزار SPSS برای آنالیز داده ها استفاده گردید.

نتایج

بیماریزایی: باکتری *V.harveyi* در غلظت 10^9 سلول در

میلی لیتر، 61/9 درصد تلفات را در جمعیت میگوهای مورد مطالعه و در شرایط بدون استرس ایجاد کرده است. نتایج آزمایشات بیماریزایی توسط باکتری *V.harveyi* بروی میگوهای پرورشی *L.vannamei* در جدول 1 آورده شده است.

آسیب شناسی آبشش: در میگوهای بیمار آلوده شده به باکتری *V.harveyi* ضایعاتی در این بافت مشاهده گردید که شامل نفوذ فراوان هموسیت ها در فضای لاکونا، در بعضی موارد ایجاد تشکیلات گره ای هموسیتها با کانون ملانینی شده، بلند شدن لایه اپیتلیوم لاملاها، تورم آبشش، چسبندگی لاملاهای منشعب و غیر منشعب و در نهایت نکروز لاملاها بوده است. شکل های 1 تا 6 نشان دهنده نوع آسیب های بافتی می باشند.

شمارش هموسیت کل: نتایج حاصل از شمارش هموسیت کل در گروه های سالم و بیمار در جدول 2 آمده است.

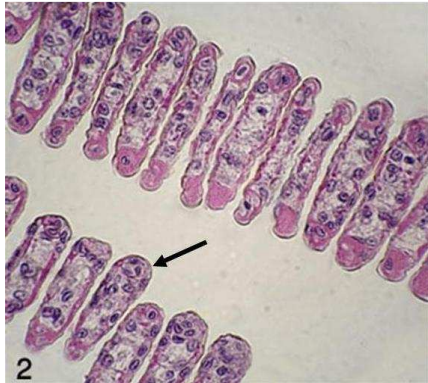
جدول 1- درصد مرگ و میر و جداسازی باکتری از همولنف میگوهای تلف شده در گروه های مورد مطالعه پس از آلوده سازی با غلظت های مختلف باکتری در روزهای بعد از آلوده سازی.

گروه	کنترل بدون باکتری	آلوده با 10^8 <i>V.harveyi</i> cell/ml	آلوده با 10^9 <i>V.harveyi</i> cell/ml	زمان پس از آلودگی (روز)
0	0	0	0	1
0	0	4/7	0	2
0	0	4/7	0	3
0	0	4/7	0	4
9/5	0	4/7	0	5
33/3	0	4/7	0	6
38	0	4/7	0	7
38	4/7	4/7	4/7	8
47/6	4/7	9/5	4/7	9
57/1	4/7	9/5	4/7	10
61/9	4/7	9/5	4/7	11
61/9	4/7	9/5	4/7	12
61/9	4/7	14/2	4/7	13
61/9	4/7	14/2	4/7	14
61/9	4/7	14/2	4/7	درصد تلفات جمعی
76/9	0	0	0	درصد جداسازی باکتری از همولنف

جدول 2- جدول مقایسه میانگین تعداد هموسیت کل (THC) در گروه های کنترل و آلوده شده با *V.harveyi*

گروه آزمایشی	THC (سلول $\times 10^5$)
شاهد (بدون باکتری)	$212/88 \pm 20/97^a$
آلوده به <i>V.harveyi</i> *	$74/25 \pm 10/78^b$

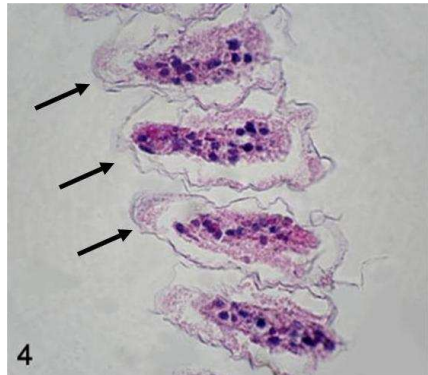
مقادیری که در هر ستون با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده اند دارای اختلاف آماری معنی دار ($P < 0.05$) هستند (انحراف معیار میانگین). از هر گروه 7 نمونه گرفته شده است. *میگوه‌های آلوده شده با 10^9 سلول باکتری در میلی لیتر که علائم ظاهری بیماری را نشان می‌دادند.



شکل 2- برش طولی از بافت سالم آبشش. در این تصویر لایه اپیتلیال نازک رشته های آبششی نشان داده شده است (پیکان). بزرگنمایی 1000، رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین.



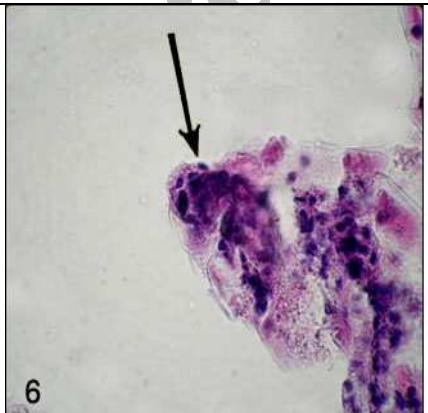
شکل 1- برش طولی از بافت سالم آبشش. در این تصویر لاماهای منشعب آبششی مشاهده می‌شود. در فضاهای هموسلی رشته های آبششی مقدار طبیعی هموسیتها مشخص شده است. در فضای لاکونا که در قسمت راسی فیلامنتها قرار دارد (b) و ورگ آوران (a) مقدار هموسیتها در مقادیر طبیعی مشاهده می‌شود. بزرگنمایی 400، رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین.



شکل 3- برش طولی از بافت آلوده آبشش. در این ناحیه چسبندگی (fusion) رشته های فرعی و اصلی فیلامنت های منشعب آبششی به یکدیگر مشاهده می‌شود (a)، در این ناحیه نکروز (necrosis) و کنده شدن قسمت ابتدایی فیلامنت آبششی مشاهده می‌شود (b). بزرگنمایی 400، رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین.



شکل 4- برش طولی از بافت آلوده آبشش. در این نواحی بلند شدن (lifting) لایه اپیتلیوم لاملاها و در مجموع تورم (edema) فیلامنت آبششی مشاهده می‌شود (پیکان). بزرگنمایی 1000، رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین.



شکل 5- برش طولی از بافت آلوده آبشش. در این ناحیه تجمع گره‌ای هموسیت‌ها (**haemocyte nodulation**) با کانون تیره که احتمالاً حاکی از تشکیل رنگدانه های ملانین است مشاهده می شود (a). در این ناحیه نفوذ فراوان هموسیت‌ها به درون فضاهای هموسلی (**homocoelic spaces**) فیلامنت‌های آبششی مشاهده می‌شود (b). بزرگنمایی 1000. رنگ آمیزی همانوکسیلین اتوزین.

بحث و نتیجه گیری

آسیب شناسی آبشش: Tesaprateep در پی آلودگی میگوهای *P.monodon* با یک سویه پاتوژن *V.alginolyticus* به بررسی تغییرات آسیب شناسی بافت آبشش پرداخت که ضایعات مشاهده شده در این مطالعه شامل تجمع هموسیت‌ها در اطراف کانون‌های نکروز شده، نفوذ هموسیت‌های آزاد در فضای لاکونا و انکپسوله شدن هموسیت‌ها با کانون غیر ملانیزه بوده است (16). Lightner در بررسی‌های آسیب شناسی بیماری‌های سیستمیک ایجاد شده در میگوهای پنائیده توسط باکتری *V.parahaemolyticus*، هموسیت‌های کپسوله شده با کانون‌های ملانینی را در فضای وریدی فیلامنت‌های آبششی، ارگان لمفوئیدی و قلب میگو مشاهده کرد که این ضایعه را خاص بیماری‌های سیستمیک و بیروزیس می‌داند. به نظر می‌رسد که تغییرات التهابی ایجاد شده در آبشش میگوهای آلوده شده به باکتری *V.harveyi* در این مطالعه پاسخی غیراختصاصی به ترشح اگزوتوکسین‌های باکتریایی باشد (9). Ruangsri و همکاران در پی آلودگی تجربی میگوی *P.monodon* با باکتری‌های پاتوژن *V.harveyi* تغییرات دژنراسیون آبشش را در میگوهای بیمار مشاهده کردند (15). تغییرات التهابی در آبشش میگو مانند تجمع هموسیت‌ها در فضای هموسلی، تورم، جوش خوردن فیلامنت‌ها و بلند شدن اپیتلیوم فیلامانی ممکن است که یک مکانیسم دفاعی ساده باشد که باعث کاهش سطح و وسعت منطقه آسیب‌پذیر آبششی می‌شود، که به موجب آن موجود اعمال تنظیم اسمزی را به خوبی انجام بدهد (2).

ضایعات میکروسکوپی مشاهده شده در میگوهای وانامی آلوده شده به باکتری *V.harveyi* در بررسی حاضر شامل نفوذ فراوان هموسیت‌ها در فضای لاکونا، ایجاد تشکیلات گره‌ای هموسیت‌ها با کانون ملانینی شده،

شکل 6- برش طولی از بافت آلوده آبشش. در این ناحیه فیلامنت آبششی نکروز شده با چندین کانون تجمع گره ای هموسیت‌ها با مراکز ملانینی مشاهده می‌شود (پیکان). بزرگنمایی 1000. رنگ آمیزی همانوکسیلین اتوزین.

بلند شدن لایه اپیتلیوم لاملاها و تورم، چسبندگی لاملاها به یکدیگر و نکروز فیلامان‌های آبشش بوده است که تا حدودی با نتایج سایر محققین مطابقت دارد.

شمارش هموسیت کل: هموسیت‌ها در سیستم دفاعی سخت پوستان نقش اصلی و محوری را ایفا می‌کنند و برآورد میزان پارامترهای سلولی همولنف میگو به عنوان یک پارامتر حساس در برابر عوامل سمی محیطی و استرس زا کاربرد دارد (14). Chang و همکاران عنوان کردند که تعداد هموسیت کل در میگوهای پنائیده بر حسب وضعیت فیزیولوژیکی میگو به طور معمول از $200-400 \times 10^5$ سلول در میلی لیتر متفاوت است و دامنه تغییرات زیادی بسته به وضعیت فیزیولوژیکی میگو در این فاکتور مشاهده می‌شود (3).

Ruangsri و همکاران در پی آلودگی تجربی میگوی *P.monodon* با یک سویه پاتوژن باکتری *V.harveyi* در زمان‌های 24 و 48 ساعت پس از تزریق باکتری کاهش معنی دار 36 درصدی را در تعداد هموسیت کل مشاهده کردند. همچنین این محقق نکروز جزئی بافت خونساز را در مراحل پیشرفته بیماری گزارش کرده است (15).

لورنزون و همکاران عنوان می‌کنند که اندوتوکسین لیپوپلی ساکارید یک جز لاینفک غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد و مواجهه این ترکیب با همولنف سخت پوستان موجب دگرانولاسیون گسترده هموسیتها در شرایط *In vitro* شده و در شرایط *In vivo* باعث ایجاد پدیده هموسیتوپنیا می‌شود (11).

Lorenzon و همکاران پس از تزریق لیپوپلی ساکارید باکتری‌های گرم منفی و سایر منابع لیپوپلی ساکاریدی در غلظت‌های تحت کشنده پدیده هموسیتوپنیا و افزایش گلوکز همولنف را در میگوی *Palaemon elegans* مشاهده کردند و عنوان کردند که بروز این پدیده ممکن

نفوذ هموسیت‌ها در آبشش و آسیب احتمالی بافت خونساز باعث ایجاد هموسیتوپنیای شدید در مراحل سیستمیک میگوهای بیمار آلوده شده به این سویه باکتری *V.harveyi* باشد. نتایج حاصله از این مطالعه می‌تواند در تشخیص پاتولوژیکی بیماری‌های ویبریوزیس در مزارع پرورش میگو مفید واقع شود.

تشکر و قدردانی

از آقای دکتر دشتیان‌نسب معاون پژوهشی پژوهشگاه میگو که در تأمین هزینه‌های مالی این تحقیق کمک فراوانی نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم. همچنین از زحمات بی‌شائبه آقایان یگانه و قائدینا که در تهیه مقاطع بافتی ما را یاری رساندند قدردانی به‌عمل می‌آید.

است نقش آدپتاسیونی و دفاعی را در سپتی سمی‌های اتفاقی ایفا کند (11). میانگین مقدار هموسیت کل اندازه‌گیری شده در مطالعه حاضر در میگوهای سالم گروه شاهد 212×10^5 سلول در میلی‌لیتر برآورد شده است، در حالی‌که میانگین هموسیت کل اندازه‌گیری شده در میگوهای بیمار آلوده شده به باکتری *V.harveyi* 74×10^5 سلول در میلی‌لیتر همولنف بوده است که کاهش 65 درصدی را نسبت به میگوهای گروه شاهد نشان می‌دهد. این موضوع بیانگر هموسیتوپنیای شدید در میگوهای بیمار آلوده شده به این باکتری می‌باشد.

با توجه به مقایسه نتایج کار سایر محققان با بررسی حاضر به نظر می‌رسد که حضور باکتری در مراحل سیستمیک بیماری در جریان همولنف میگو و استرس ناشی از منابع لیپولی ساکاریدی باکتری *V.harveyi*

منابع

1. Albores, F. and Latchford, J., 1999. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *Penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products. *Aquaculture* 176, 271–283.
2. Bhavan, P.S. and Geraldine, P., 2000. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. *Aquatic Toxicology* 50, 331–339.
3. Chang, C.F., Su, M.S. and Chen, H.Y., 1999. A Rapid Method to Quantify Total Haemocyte Count of *Penaeus monodon* Using ATP Analysis. *Fish Pathology* 34, 211–212.
4. David, R.B., Richard, W.C. and George, M.G., 2001. *Bergey's manual of systematic bacteriology*.
5. Guzman, G.A., Juárez, R.V., and Felipe Ascencio, F., 2002. Differences in the Susceptibility of American White Shrimp Larval Substages (*Litopenaeus vannamei*) to Four *Vibrio* Species. *Journal of Invertebrate Pathology* 78 (4), 215–219.
6. Guzman, G.A., Labreuche, Y., Ansquer, D., Espiau, B., Levy, P., Ascencio, F. and Saulnier, D., 2003. Proteinaceous exotoxins of shrimp-pathogenic isolates of *Vibrio penaeicida* and *Vibrio nigripulchritudo*. *Ciencias Marinas*, pp. 77–88.
7. Karunasagar, I., Karunasagar, I. and Umesh, R.K., 2002. *Microbial Diseases in Shrimp Aquaculture*. Department of Fishery Microbiology, University of Agricultural Sciences, College of Fisheries, Mangalore-575 002, India.
8. Le Groumellec, M., Goarant, C., Haffner, P., Berthe, F., Costa, R. and Mermoud, I., 1996. Syndrome 93 in New Caledonia: Investigation of the bacterial hypothesis by experimental infections, with reference to stress-induced mortality. *SICCPS book of abstracts*, SEAFDEC, Iloilo City, Philippines. P. 46.
9. Lightner, D.V. (ed.). 1996. *A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.
10. Lopez, N., Cuzon, G., Gaxiola, Taboada, G., Valenzuela, M., Pascual, C., Sanchez, A. and Rosas, C., 2003. Physiological, nutritional, and immunological role of dietary β 1-3 glucan and ascorbic acid 2-monophosphate in *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 224, 223–243.
11. Lorenzon, S., de Guarrini, S., Smith, V.J. and Ferrero, E.A., 1999. Effects of LPS injection on circulating haemocytes in crustaceans in vivo. *Fish & Shellfish Immunology*, 9 (1): 31–50.
12. Lorenzon, S., Pasqual, P. and Ferrero, E.A., 2002. Different bacterial lip polysaccharides as toxicants and stressors in the shrimp *Palaemon elegans*. *Fish Shellfish Immunol.* 13 (1), 27–45.
13. Nash, G.L., 1990. *Penaeus monodon* grow out disease (In Malaysia), Ed by New, M.B., Sarsam, H.D. and Singh, T. *Technical and economic aspects of shrimp farming*. Pp. 172–182.
14. Rodriguez, J. and Le Moullac, G., 2000. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture* 191, 109–119.

15. Ruangsri, J., Wannades, M., Wanlem, S., Songnui, A., Arunrat, S., Tanmark, N., Pecharat, J. and Supamattaya, K., 2004. Pathogenesis and virulence of *Vibrio harveyi* from southern part of Thailand in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius. Songklanakarin J. Sci. Technol. 26 (1), 43-54.
16. Tesaprateep, T., 1990. Histopathology of *Vibrio alginolyticus* Infection in *Penaeus monodon*. The Thai Journal of Veterinary Medicine 20(4), 537-550.
17. Trichereau, J., 2006. Recent history of world aquaculture and shrimp culture. Conakry (Guinea), 6-8 June 2006.

Archive of SID

Effect of experimental vibriosis by *Vibrio harveyi* on gill histopathology and total haemocyte changes of haemolymph in white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

* A. Behi¹, R. Peyghan², A. Dashtiannasab³, B. Ghaednia³ and V. Yeganeh³

¹Fisheries MS Graduated, Islamic Azad University, Ahvaz Science and Research Branch,

²Dept. of Aquatic Animal Health, College of Veterinary Medicine, Chamran University, Ahvaz,

³Iran Shrimp Research Center, Boushehr, Iran

Abstract

This study was carried out to survey gill histopathology and total haemocyte changes in experimental vibriosis by *Vibrio harveyi* in white leg shrimp. For this order one group (30 post larvae) 75-day old were examined. Shrimps were challenged by 30-minute bath method and with 10⁹ cell/ml concentration of bacteria. Results from gill histopathology in diseased moribund shrimps showed necrosis, lamella fusion, edema, haemocyte infiltration in gill filaments and nodular haemocyte aggregations with melanized foci. Results from total haemocyte count in diseased moribund shrimps showed a significant decrease in this factor in comparison with control group.

Keywords: Gill; Bushehr; White leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*); *Vibrio harveyi*; Haemolymph; Histopathologic

* Corresponding Author; Email: am.behi@gmail.com