مطالعه آسیب شناسی بیماری لکه سفید در چهار گونه میگو در آبهای خلیج فارس

دکتر بنفشه غلام حسینی*[۱]، دکتر ایرج سهرابی حقدوست[۲]، دکتر محمد افشار نسب[۳]

چکیده

با توجه به اهمیت بیماری ویروسی لکه سفید در ایجاد خسارات اقتصادی فراوان به صنعت پرورش میگو و به منظور بررسی حساسیت گونه های بومی میگو، در حد فاصل خرداد لغایت تیر ماه سال ۱۳۸٤ تعداد ۱۵۰ نمونه میگوی گونه سفید (M.affinis)، خنجری(Parapenaopsis. styliferus) و ببری سبز(Penaeus. semisulcatus) از سواحل خلیج فارس (به ویژه آبادان و بوشهر)، و ۹۰ نمونه میگوی گونه سفید هندی (Penaeus. indicus) از ۱۰ مزرعه پرورشی آلوده و مشکوک جمع آوری شد. در ۱۳٦ نمونه میگو از مجموعه ۲٤۰ نمونه علائم بالینی مانند وجود لکه های سفید ۲- ۰/۵ میلیمتری روی کاراپاس، جدا شدن سریع کوتیکول از اپیدرم، خالی بودن معده و روده بزرگ، زرد و شکننده شدن هپاتوپانکراس و قرمز شدن اندامهای حرکتی مشاهده گردید. نمونه ها برای مطالعات هیستو پاتولوژی در محلول دیویدسون تثبیت و پس از آماده سازی بافت با استفاده از دستگاه عمل آوری بافت از آنها مقطع آسیب شناسی تهیه شد و مراحل لازم برای رنگ آمیزی H&E/Pheloxin را گذراندند. آثار ضایعات پاتولوژیک ویروس لکه سفید در اسلایدها در بافتهای هدف ویروس، به صورت جامع مطالعه شد. گنجیدگی درون هسته ای خاص ویروس (cowdry type A) در همه بافتها به جز سلولهای هپاتوپانکراس دیده شد. آلودگی در هر چهار گونه دیده شد و برای اولین بار آلودگی گونه میگوی سفید در این مطالعه گزارش گردید.

واژگان کلیدی: *هیستوپاتولوژی، بیماری لکه سفید، میگو، خلیج فارس*

pathological study of white spot disease in 4 species of shrimps in Persian gulf

Gholam Hoseini, B[1]. , Sohrabi Haghdoost, I[2]. , Afshar Nasab, M[3].

1-Postgraduated of pathology,Faculty of Specialised Veterinary Sciences,Islamic Azad University,Science & Research Branch,Tehran,Iran

2-Department of pathology,Faculty of Specialised Veterinary Sciences,Islamic Azad University,Science & Research Branch,Tehran,Iran

3-Fishery Research Institute,Tehran, Iran

150 samples of captured shrimps and 90 samples of cultured ones ; *P enaeus indicus, P. semisulcatus*, *Parapenaopsis styliferus,* and *Metapenaeus affinis* in were taken 2005.136 of 240 samples have shown clinical and macroscopic signs & including; white spots on carapace (0.5-2mm), easily removing of cuticle, fragility of hepatopancreas and red color of motility limbs. Histopathological changes including specific intranuclear inclusion bodies (cowdry -type A) were observed in all target tissues (gill, epidermis, haemolymph and midgut) but not in hepatopancreas. Even those without clinical signs. Infection of *Metapenaeus affinis* was reported for the first time in this study.

Key words: *Histopathology, White spote disease, Shrimp, Persian gulf*

مقدمه

اولین گزارش اپیدمیک ویروس بیماری لکه سفید در سال ۱۹۹۲ از آسیای شمالی، تایوان و به دنبال آن در سال ۱۹۹۳ گزارش خسارات متعدد اقتصادی بر اثر شیوع این بیماری، در چین ارائه شد. سپس شیوع بیماری در ژاپن، کره در همان سال دیده شد. تایلند، هند، مالزی،اندونزی وتایوان نیز بیماری را در سال ۱۹۹٤ گزارش کردند. با گسترش بیماری در آسیای شرقی و جنوبی در اواخر سال ۱۹۹۵اولین گزارش بیماری درآمریکا ارائه شد و در ٤ سال به تمام آمریکای مرکزی و جنوبی گسترش یافت و در سال ۱۹۹۸در آمریکای جنوبی و مرکزی، در سال ۱۹۹۹ در مکزیک و در سال ۲۰۰۰ در فیلیپین گسترش بیماری دیده شد.

۱= دانش آموخته دکتری تخصصی پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران (banafshehoseini@yahoo.com)

۲- گروه پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۳- مؤسسه تحقیقات شیلات کشور، تهران، ایران

در تیرماه سال ۱۳۸۱ نیز بیماری لکه سفید در منطقه چوئیبده آبادان ایران توسط آقای دکتر افشار نسب در میگوی پرورشی هندی گزارش شد و در حال حاضر این ویروس در تمام مناطق دنیا به جز استرالیا حضور دارد (۱و۲ و٦و ۱۳و ۱٦و۱۷و۱۹).

ویروس عامل بیماری یک DNA ویروس دو رشته ای (Wiki / DNA) میله ای شکل گاهی بیضوی است که ذرات پاکت ویروسی آن طول ۳۸۰-۲٤۰ نانومتر و قطر ۱۵۹-۷۰ نانومتر دارند و اندازه نوکلئوکپسید آن طول ٤۲۰-۲۰۵ نانومتر (۲۷۵) و قطر ۹۵-٦۵ نانومتر می باشد. پوشش ویروس یک غشاء دولایه دارای چربی خارجی می باشد.بر اساس ردیف بازهای ژنوم، این ویروس در گروه یک خانواده نیماویریده، ویسپوویریده قرار دارد.(۵و۱۷و۱۸) این بیماری به شکل طبیعی در گونه های پرورشی مانند ببری سیاه، پاسفید، هندی و Metapenaeus ansis دیده شده است ودر گونه های پنئوس مرگونسیس وچینی (Orientalis) نیز با PCR (Polymerase chain Reaction)شناسائی شده است. در مطالعات آزمایشگاهی نیز بیماری به صورت تجربی در پنئوس استیلی روستریس، آزتکوس، دوراروم و ستی فروس به شکل شدید ایجاد شده است. میگوهای پنائید مقاومتی به بیماری لکه سفید نشان نداده اند. چند میگوی غیرپنائیده نیز به شدت به ویروس در مراحل آزمایشی آلوده شده اند. تعدادی از خرچنگ سانان مثل خرچنگ، خرچنگ دراز و شاه میگوی آب شیرین درجات مختلف بیماری را نشان داده اند.در چند مطالعه متفاوت با آلودگی آزمایشگاهی، عفونت با ویروس لکه سفید در macrobrachium rosenbergi با PCR تایید شد. بافتهای هدف ویروس عمدتا نواحی اکتودرم و مزودرم مانند آبشش، اندامهای لمفوئیدی و اپیتلیوم کوتیکولی میباشد. البته در بافتهای قلب، معده، روده میانی، هپاتوپانکراس عضله شکم، اسپرماتوفور، بیضه، تخمدان، عصب، پلئوپود، پریوپود و همولمف نیز یافت می شود. اگر بخواهیم به ترتیب میزان آلودگی بافتها را نام ببریم، ویروس بیشتر در بافت آبشش، پلئوپود و همولمف، سپس در معده و عضله شکم، در مرحله بعد در اندام تناسلی، قلب، پریوپود، پوسته، عصب و در نهایت در هپاتوپانکراس دیده می شود (۳و۸و۱۱و۱۲و۱٤).

مواد و روش کار

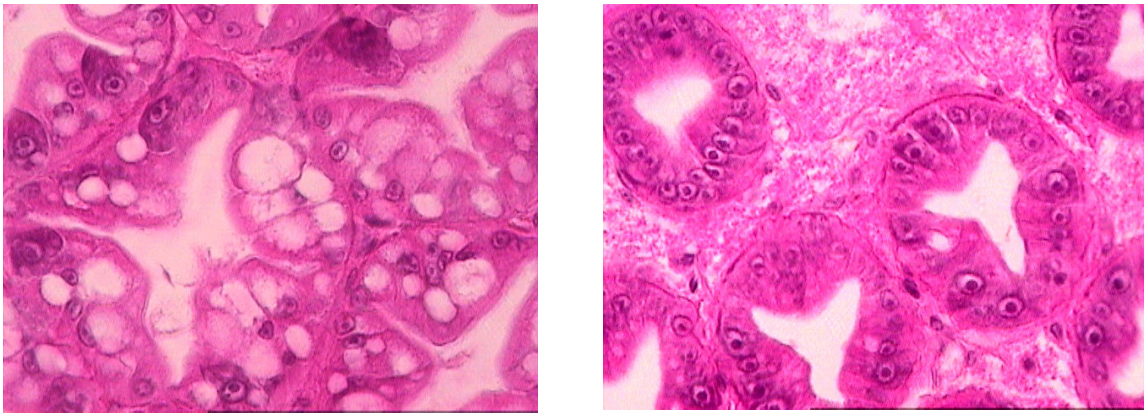
برای تشخیص بیماری به روش هیستوپاتولوژی در ماههای تیر و مرداد سال ۸٤ و۸۳ نمونه های میگوی گونه هندی از مزارع پرورشی با توجه به علائم بالینی و تغییرات رفتاری (میگوی بیحال دارای علائم) از اطراف استخرها جمع آوری شد. با در نظر گرفتن شیوع ۳۰ درصدی WSD با سطح اطمینان ۹۵٪، از۱۰مزرعه، هرکدام ۹ میگوی بالغ جمع آوری شد. گونه های دیگر نیز از طریق صید صبحگاهی با لنج، جمع آوری شدند، یعنی با در نظر گرفتن شیوع ۲ درصدی (حداقل درصد شیوع) بیماری در دریا با سطح اطمینان ۹۵٪ از گونه های وحشی ۱۵۰ نمونه گردآوری شد. گونه های مذکور عبارت بودند از: میگوی ببری سبز (P.semisulcatus)، سفید (Metapeneaus affinis) وخنجری(P. styliferus). از آنجائی که میگو بلافاصله بعد از مرگ دچار تغییرات پس از مرگ شده و نمونه مرده برای هیستوپاتولوژی مناسب نمیباشد، حتما میبایست از میگوی زنده نمونه گیری شود. نمونه های زنده در تانکرهای مجهز به هوادهی به آزمایشگاه منتقل شدند.گونه های صید شده بر اساس رنگ، شکل، اندازه، تعداد خارهای روستروم، تاریخ و محل صید، شناسائی و در تانکرهای مجزا دارای کپسول اکسیژن به آزمایشگاه منتقل شدند.

در کل ۹۰ میگوی پرورشی سفید هندی و ۱۵۰ میگوی وحشی که شامل ۳۵ نمونه سفید، ۷۵ نمونه ببری سبز، و ٤۰ نمونه خنجری میشد، از نظر هیستوپاتولوژی بررسی شدند.نمونه ها بلافاصله بعد خروج از آب در ماده

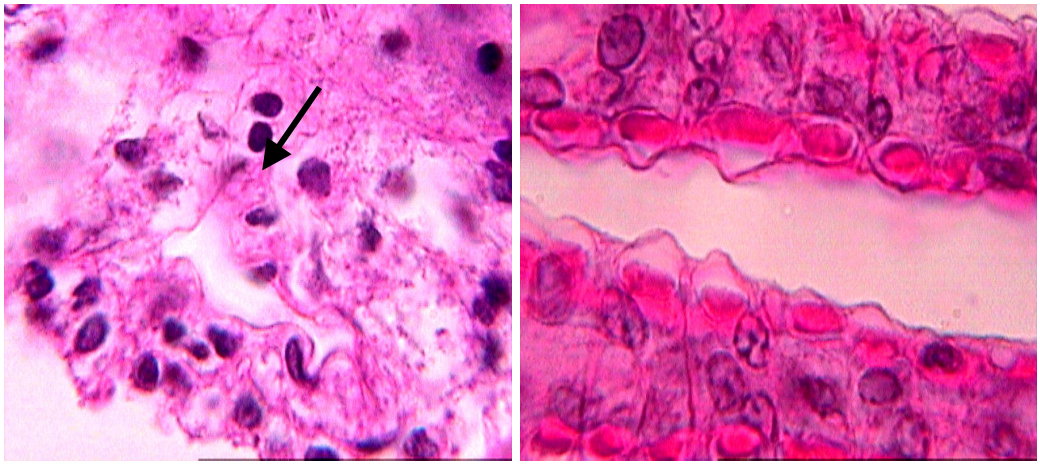
Davidson's تثبیت شدند. برای تهیه این ماده ۳۳۰ میلی لیتر الکل اتیلیک ۹۵٪ و۲۲۰ میلی لیتر فرمالین خالص تجاری و ۱۱۵ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال با هم مخلوط میشد و با ۳۳۵ میلی لیتر آب مقطر به حجم یک لیتر میرسید.اسید استیک موجب آهک زدائی اسکلت خارجی میگو میشود.این ماده ابتدا در دو طرف کاراپاس تزریق میشد تا رنگ بافت کاملا تغییر یابد و نارنجی شود.سپس در دو طرف قطعه سوم شکمی و در نهایت در قطعه ششم شکمی به همان ترتیب تزریق میشد. میگو ها بعد از تثبیت به این روش در ماده تثبیت کننده به اندازه ۱۰ برابر حجم خود به مدت ٤٨ ساعت قرار داده و سپس به الکل اتیلیک ۷۰ ٪ با همین حجم منتقل میشدند و تا قبل از تهیه برش و فراوری نمونه در الکل نگهداری میشدند. بافتهای هدف برای مطالعه آسیب شناسی مانند: آبشش، قلب، معده قدامی وهپاتوپانکراس در سفالوتراکس قرار داشتند.به همین دلیل دو نیمه سفالوتراکس برای پاساژ بافتی آماده گردید. نمونه ها بعداز آماده سازی برای فرآوری و آغشتگی (Impregnation) با پارافین در دستگاه فراوری بافت مدل پژوهش گذاشته شدند. بعد از تکمیل مرحله آغشتگی نمونه ها با پارافین مذاب در قالبهای لوکهارت (Leukhardt)قالب گیری وبلوکهای آماده با میکروتوم نوع rotary چینی با اندازه ۵ میکرون برش گیری شدند. برشها با کمک حمام آب گرم به روی لامهای دارای کد منتقل و در انکوباتور ٤٠ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت قرار داده شدند تا کاملا خشک شوند. برای ذوب پارافین از آون ٦٠ درجه سانتیگراد به مدت یکساعت استفاده شد. بعد از این مرحله، لام و اسلاید آماده رنگ آمیزی شد و بر اساس روش لایتنر(Lightner) (۱۹۹٦) با رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین/ فلوکسین رنگ آمیزی شد.

نتایج

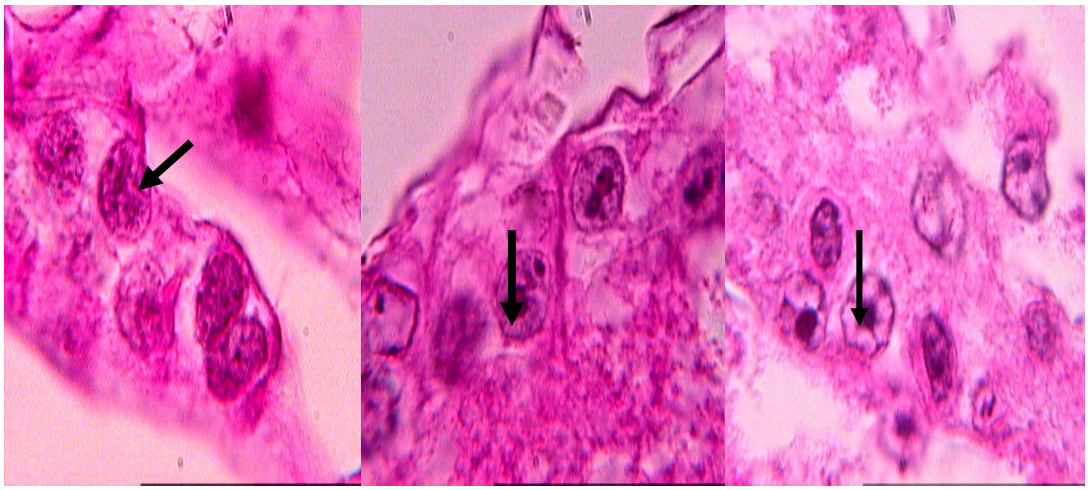
در همه بافتهای آلوده مورد مطالعه به جز هپاتوپانکراس گنجیدگی داخل هسته ای خاص بیماری ویروسی لکه سفید موسوم به گنجیدگی cowdry-type A در مراحل مختلف آلودگی دیده شد. در آلودگی شدید بافتها اغلب نکروز چند کانونی و افزایش فضای بینابینی و سینوسهای همولنفی دیده شد.در سلولهای آلوده هپاتوپانکراس به طور مشخص تعداد زیادی واکوئل مشاهده شد که ناشی از کاهش مجرای لومن میباشد.نگاره۱) با افزایش میزان آلودگی واکوئلها وسیع وبهم متصل میشدند و ساختار بافت در نهایت بطور کامل عوض می شد. یافتن B-cell که دارای یک واکوئل باشد، بسیار مشکل بود.در فضای بین سلولهای هپاتوپانکراس و سینوسهای همولنفی، آلودگی ویروس و گنجیدگی درون هسته ای مشاهده گردید.



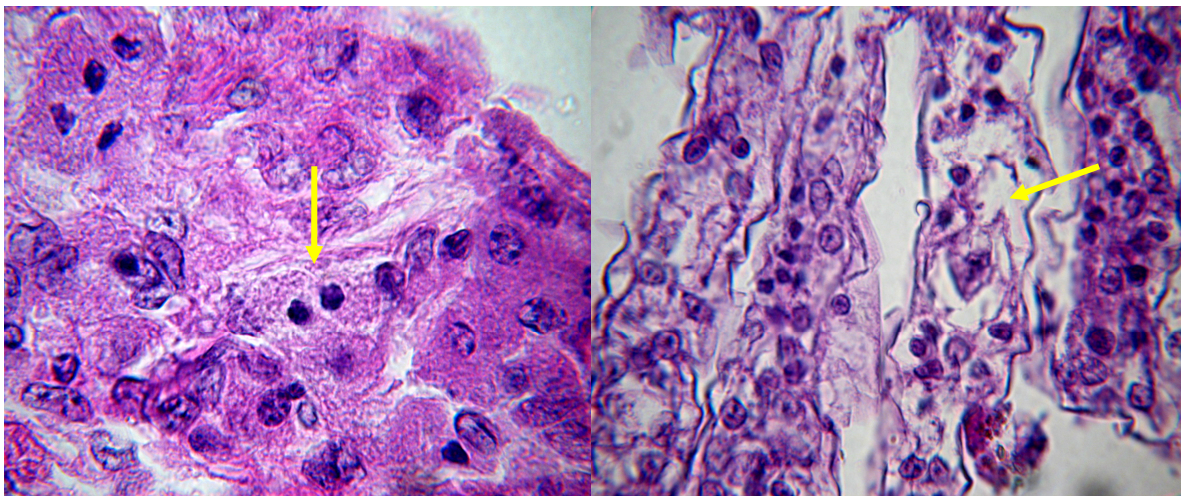
نگاره۱- هپاتوپانکراس بدون واکوئل(تصویر راست) و هپاتوپانکراس آلوده به ویروس لکه سفید با واکوئلهای فراوان(پیکان روی واکوئل)(H&E/ X 1500)



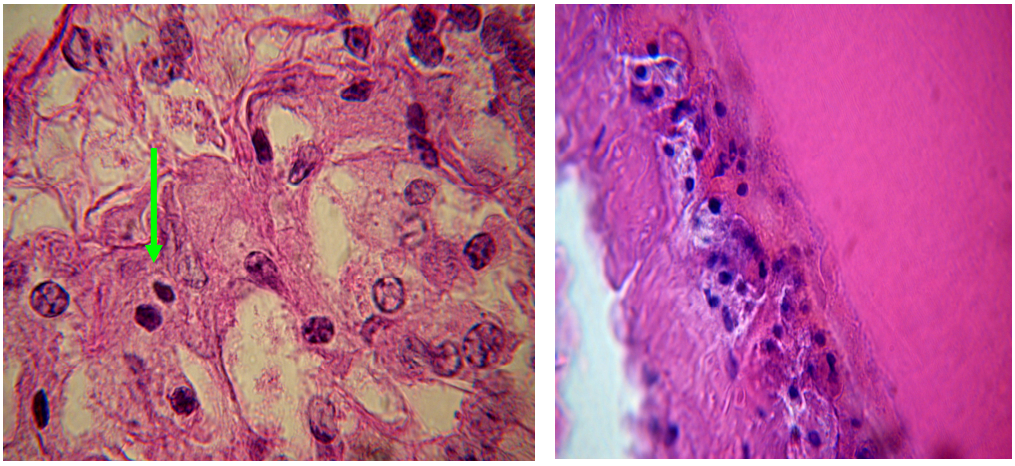
نگاره ۲-آبشش سالم (تصویر راست) و آبشش آلوده(سمت چپ) با هسته های ارغوانی(جهت پیکان)(H&E/ X 1200)



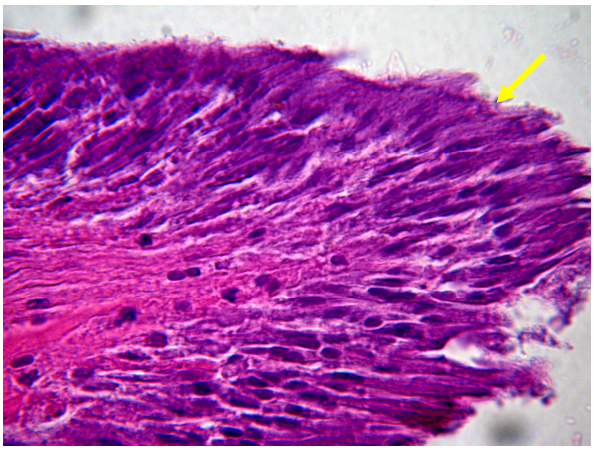
نگاره ۳-هسته سلولهای آلوده آبششی به ویروس لکه سفید به ترتیب از راست: مرزنشینی کروماتین، گنجیدگی ائوزینوفیلیک، هیپرتروفی(جهت پیکان)(H&E/ X 2000



نگاره ٤- آبشش آلوده به ویروس در مراحل پیشرفته آلودگی:حضور هسته های هیپرتروف، هسته دارای گنجیدگی ارغوانی و نکروز بافت(سمت راست نکروز، سمت چپ گنجیدگی)(جهت پیکان)(H&E/X1500)



نگاره۵- هسته های بزرگ و تیره آلوده به ویروس لکه سفید در اپیدرم(سمت راست)، قلب با هسته های آلوده هموسیتها به ویروس لکه سفید(سمت چپ)(جهت پیکان)(H&E/X1500)



نگاره ٦- بافت پوششی گوارش در نمونه آلوده به ویروس لکه سفید(از بین رفتن نوار مسواکی سلولهای پوششی)(جهت پیکان)(H&E/X1500)

بحث

تاکنون سه نوع دیگر از لکه های سفید روی بدن میگو بالاخص کاراپاس نیز دیده شده است که ممکن است با WSD اشتباه شود. یکی از این موارد بیماریIHHN (haematopoetic necrosis virus)می باشد که از جمله بیماریهای میگو میباشد و ایجاد لکه های سفید به ویژه روی کاراپاس می کند. ویروس عامل این بیماری کوچک ترین ویروس در میگوهای خانواده پنائیده گزارش شده است و نام دیگر این بیماری RDS (Runt deformity syndrome) می باشد و از خانواده پاروویروس می باشد. علائم ظاهری این بیماری با لکه سفید تفاوت هایی دارد از جمله این که اندام های حرکتی میگو قرمز نمی شود و اندازه لکه سفید بزرگ تر از اندازه لکه های سفید در WSD میباشد. (۱۵) در برخی موارد نیز ایجاد لکه های سفید روی کاراپاس میگوی دارای رفتار طبیعی با تغذیه خوب ممکن است، به دلیل افزایش pH استخر باشد. آزمایش PCR و هیستوپاتولوژی این میگوها منفی است و هیچ آسیب بافتی ندارند. pH بالای آب باعث تجمع کلسیم روی بدن میگو می شود و لکه سفید ایجاد می نماید که برای از بین بردن آن بهتر است pH آب را به ۷/۵ برسانیم. در برخی استخرها

نیز با وجود pH طبیعی آب و بدون تلفات لکه سفید روی کاراپاس میگو ظاهر می شود. در چنین حالتی آزمایش PCR منفی است و هیستوپاتولوژی نیز گنجیدگی داخل سلولی از نوع Cowdry-A (Cowdry type A) را نشان نمی دهد که در این موارد علت آن عامل باکتریایی Vibriosis اعلام شده است که برای بهبود این حالت بهتر است میگوهای آلوده را از استخرخارج کرد و شرایط استخر را بهبود بخشید.روش شناسائی این بیماری با استفاده از علائم ظاهری اگر چه روشی سریع است، ولی بدلیل مشابهت علائم ظاهری این بیماری به بیماریهای مذکور، دقیق نیست. بدین سبب روشهای مختلفی برای تشخیص بیماری لکه سفید مورد استفاده قرار می گیرد که هیستوپاتولوژی، یکی از این روشهای تشخیص است که توسLightner&Bell در سال ۱۹۸۸ارائه گردید.این روش دقیق است ویکی از راههای تشخیص قطعی میباشد. به عنوان مثال، در میگوها با عفونت IHHNV نیز این گنجیدگیهای داخل هسته ای دیده میشود ولی در لکه سفید این گنجیدگیها فقط در مراحل اولیه آلودگی ویروسی و به صورت تکی ظاهر می شوند و معمولاً ارغوانی رنگ می باشد، ولی گنجیدگی IHHN کوچک تر و چندتایی می تواند باشد و گاهی در سیتوپلاسم ظاهر می شود. می توان این بیماری را از بیماری های ویروسی دیگری مانند کله زرد، سندرم تورا و بیماری ویروسی مربوط به آبشش نیز تمایز داد. در این مطالعه از هیستوپاتولوژی استفاده شد که علائم و آثار مشاهده شده با مطالعات مشابه در سایر کشورها مشابه بود و نشانه حساسیت گونه های مطالعه شده در ایران، به ویروس لکه سفید میباشد.با پیشرفت بیماری لکه سفید هسته های آلوده دچار دژنراسیون بیشتری می شوند و گنجیدگی ائوزینوفیلی در نهایت بزرگ میشود و تمام فضای هسته را میگیرد و به رنگ بازوفیلی یا ارغوانی مات درمیآید. هیپرتروفی هسته ها، حاشیه نشینی کرماتینها و دژنراسیون سلولهای با منشا اکتودرمی و مزودرمی به ویژه در زیرکوتیکول، اپیتلیوم پوست، اپی تلیوم آبشش، اپی تلیوم معده، بافتهای پیوندی، عصبی و غدد آنتن در میگوهای در حال مرگ دیده میشود (۲). تغییرات هیستوپاتولوژی مشاهده شده دراین مطالعه، با گزارشات تشریحی توسط Chou (1995), Kasornchandra (1995), Jie (1995), Inorye (1995), Wongteerasupaya (1995), Momoyama (1994) در گونه های پرورشی میگوی ژاپنی، چینی، سفید هندی، موزی و ببری سیاه مشابه بود. در همه نمونه ها آلودگی در تمام بافتهای آزمایش شده به استثنای هپاتوپانکراس مشاهده شد. این موضوع نشان میدهد که سلولهای هپاتوپانکراس به بیماری مقاوم میباشند و علائم را نشان نمیدهندکه میتواند ناشی از عدم وجود گیرنده حساس به ویروس بیماری باشد که در نتیجه باعث کاهش جذب ویروس به سلولهای هپاتوپانکراس میشود و علائم د این سلولها دیده نمیشود. این نتیجه توسطLo و همکاران نیز در سال ۱۹۹۷ در بررسی پراکندگی بیماری در میگوی ببری سیاه (Penaeus monodon) گزارش گردیده بود، اگرچه آنان گزارشی از تخریب بافتهای اپیتلیال روده ارائه نکردند، ولی در تحقیق حاضر،این آلودگی در بافتهای اپیتلیال روده، زیر کوتیکول در اپیدرم، لوله گوارشی قدامی و همولمف نیز در گونه های وحشی میگوی ببری سبز، خنجری و سفید مشاهده شد. ایجاد عفونت در سلولهای لنفاوی دلالت بر عمومی بودن بیماری دارد. تا کنون در ایران آلودگی بیماری لکه سفید در این گونه های وحشی بررسی نشده بود، با توجه به توافق نتایج هیستوپاتولوژی این مطالعه با مطالعات سایر محققان، حساسیت این گونهبا این ویروس مشخص گردید. با اینکه علائم بیماری در گونه های صید شده دیده نشد، ولی در مقاطع میکروسکوپی آلودگی ویروسی با حضور گنجیدگیهای ویژه درون هسته ای تایید شد، و این احتمال را که گونه های وحشی ممکن است به عنوان ناقلین ویروس در آبها عمل نمایند را تقویت مینماید. گزارش آلودگی طبیعی به بیماری لکه سفید در

گونه میگوی سفید نیز برای اولین بار در این مطالعه با استفاده از هیستوپاتولوژی تایید شد.

فهرست منابع

۱- افشار نسب، م . ، لولائی ،ف. و رضوانی، س. (۱۳٤۸) : شناسایی بیماری لکه سفید (WSD) با روش PCR در میگوی سفید هندی در ایران. مجله علمی شیلات ایران، ١٤ (١)، ص ١١-١.

۲- تخم افشان، م. و تمجیدی، ب. (۱۳۸۲): علائم ظاهری و آسیب شناسی بافتی بیماری لکه سفید (WSD) در میگوی پرورشی سفید هندی در استان خوزستان. مجله علمی شیلات ایران، ۱۲(۲) ص١٦-٣

3.Adams, J.R. and Bonami (1991):, Preparation of invertebrate virus and tissues for examination. In Adam JR, Atlas of invertebrate viruses. Boca Raton: CRC press Inc. 9-30.

4.Bell T.A., Lightner D.V.(1988): A Hanbook of Normal Penaeid shrimp Histology. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.114

5.Francki RIB., Fauquet C,M. Brown F(1991): Classical and nomenclature of viruses Arch Virol Suppl. 2:1-450

6.Global Aquaculture Alliance GAA (1999): Shrimp white spot virus confirmed in central America. GAA Newsletter, Vol.2.

7.J. Kasornchandra. S. Boonyaratplia, T. Itami (1998): Detection white spot syndrome in cultures Penaeid shrimp in Asia; Microscope observation and polymerase chain reaction. Aquaculture 164; 243-251.

8- K.V. Rajendran, S.C. Mukherjee K, K. Virjayana, S. J. Jung, Y.J.Kim, and M.J. (2004): A comparative study white spot syndrome virus infection in shrimp from India and Korea. Jurnal of invertebrate pathology 84;-17-176.

9- Karunasagar I., S. K. and Karunasajar I. (1997): Histopathological and bacterio logical study of white spot syndrome of Penaeus monodon along the West coast of India. Aquaculture, 153:9-13.

10- Kasornchanadra J., Booyaratpalni S.and Atami T. (1998): Detection of white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Asia: Microscopic observation Andpolymerase chain reaction. Aquaculture, 162: 243-251

11- Kou G.H., Peng S.E. Chiu Y.L and Lo C.F. (1998): Tissue distribution of white spot syndrome virus WSSV in shrimp and crabs. In: Advances in shrimp Biotechnology, Flegal T.W. ed. National centre for genetic engineering and biotechnology, Bangkok, Thailand: 267-271.

12- Lightner, D.V. Redman R.M. and Bell T.A. (1983): Observation on the geographic distribution pathogensis and morphology of the baculovirus from Penaeus monodon. Aquaculture, 32; 209-233.

13- Lightner D.V. Redman R.M (1992); Penaeid virus disease of the shrimp culture industry of the american marine shrimp culture. chap 26:569-586.

14. Lo C.F., Ho C.H., Chen C.H., Liu K.F., Chiu Y.L, Yeh P.Y., Peng S.E, Hsu H.E., Liu H.C., Chang C.F., Su M.S., Wang C.H., &Kou G.h.(1997):detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus WSSV detected in captured brooders of Penaeus monodom with a special emphasis on reproductive organs. Dis.Aquat. Org., 30:53-72.

15.Lo C.F., Kou G.H., (1998): Virus-associated white spot syndrome of shrimp in Taiwan: a review. Fish Pathol; 33: 365-371.

16. Tokhmafshan, M. Akbari, S. Tamjidi, B. Laloi, F. & Soltani, M. (2004): Occurance of white spot syndrome disease in framed Penaeus indicus in iran. Applied fisheries & Aquaculture 5: 42-47.

17.Norihisa Oseko (1995): Occurance andrevention of white spot syndrome

WSSVin Malaysia. National Research Institue of Aquaculture 422-1 Nakatuhamaura. Nansei. Watarai, Mie 509-1234. Japan.
18.OIE; Diagnostic manaual for aquatic animal disease, OIE (world organisation for animal health), Paris, France. Chapter 4:1-2.
19. Park J.H., Lee Y.S., Lee S., & Lee Y. (1998): An infectious viral disease of penaeid shrimp newly found in Korea. Dic. Aquat. Org., 34:71-75