

## 양식돌돔 폐사를 유발하는 이리도바이러스의 특성

도정완, 박미선, 손상규\*, 최동립, 방종득, 이주석,  
국립수산진흥원 병리과, \*진해내수면연구소

### 서론

참돔 이리도바이러스 질병(red seabream iridovirus disease ; RSIVD)은 1990년 일본 시코쿠지역의 참돔 양식장에서 처음 발병된 후, 매년 발병지역이 확산되고 발병 어종이 다양해지고 있다. 참돔에서 분리된 RSIV는 icosahedral cytoplasmic deoxyribovirus로서 크기가 200~240nm이며 형태학적 특징에 의해 iridoviridae로 분류하고 있지만, 어류를 숙주로 하는 iridovirus科 중에서 lymphocystis virus屬인 flounder virus(LCDV-1) 및 lymphocystis disease virus(LCDV-2)와 goldfish virus 1-like virus屬인 goldfish virus 1(GFV-1) 및 goldfish virus 2(GFV-2)와는 전혀 다른 바이러스로 알려져 있다. 일반적으로 참돔 이리도바이러스 질병에 감염된 어류는 유영력을 상실하고 심한 빈혈증상과 아가미 점상출혈 및 비장 비대증상을 나타내며, 병리조직학적으로는 비장, 심장, 신장, 간 및 아가미조직에 비대세포가 형성되는 것이 특징이며, 이 바이러스 질병에 의한 대량폐사는 참돔 및 방어치어 등에 일어나는 것으로 알려져 있다(Inouye *et al.*, 1992). 1998년 8월 이후 남해안 일원의 통영, 거제, 삼천포, 여수 등의 해상가두리 양식장에서 사육중인 양식 돌돔이 폐사하기 시작하여 수온이 하강하는 10월말까지 사육량의 60%정도가 대량폐사하여, 기생충성 및 세균성 질병검사를 하였지만 폐사를 일으킬 것으로 의심되는 병원성 기생충 및 세균은 거의 검출되지 않았다. 따라서 정확한 폐사원인을 규명하기 위해, 1999년 9월에 통영일원의 가두리양식장에서 병어를 수집하여 병리학적 검사를 수행한 결과, RSIV의 감염증상과 유사한 비대세포가 비장조직 등에서 관찰됨으로 인해 양식 돌돔의 폐사가 이리도바이러스가 원인일 가능성이 매우 높아 양식 돌돔의 폐사원인 규명을 위해 본 연구를 수행하여 결과를 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

1999년 8~10월 경남 통영군 및 거제군의 관내 해상 가두리 양식장에서 체색이 검어지거나 퇴색되며 힘없이 유영하는 빈사상태의 돌돔과 폐사된 돌돔(체장 15~26cm)을 채집하여 시험에 사용하였다. 병어의 장기조직을 절개하여 슬라이드글라스에 도말한 후 Hemacolor 염색(Merck, Germany)을 하여 비대세포를 관찰하였다. 비장조직을 잘게 세절하여 고정처리 후 투과전자현미경(Hitachi-7200)으로 바이러스 입자를 관찰하였다. 바이러스의 분리는 병어의 비장조직을 적출하여 저온상태에서 마쇄한 후 10배량(w/v)의 EMEM(Eagle's essential medium, Gibco)을 첨가 후 원심분리하고, 상층액을 수확하여 0.45  $\mu$ m filter로 여과하여 fetal bovine serum이 2% 첨가된 EMEM를 사용하여 GF(grunt fin)세포에 접종하여 25°C에서 배양하였다. 바이러스 배양액 0.1 ml( $10^4$  TCID<sub>50</sub>/0.1 ml)씩을 돌돔 30마리(체장 6.8~7.6 cm)와 참돔 30마리(체장 3.2~4.5 cm) 복강주사하고, 대조구는 EMEM 0.1 ml씩 주사하여 수온 20~23°C에서 2주간 사육하면서 병원성을 관찰하였다. 이리도바이러스가 접종된 GF세포로부터 high pure PCR template preparation kit를 이용하여 DNA를 분리하여 PCR을 실시하였다. primer는 Kurita *et al.*(1998)이 보고한 RSIV ATPase gene을 이용해서 5'-GTACCAGGGCCATGTGAAG

T-3'와 5'-GCACAATGAGCTTCATTCOA-3'를 제작하여 사용하였으며, PCR로 증폭된 500bp 크기의 생성물을 pGEM-T easy vector에 cloning하여 Pharmacia Biotech automatic sequencer을 이용해서 염기서열을 분석하였다.

## 결과 및 요약

1999년 8~10월에 남해안 일원 해상 가두리 양식장에서 사육중인 돌돔이 대량 폐사하였다. 빈사상태의 돌돔은 체색이 검어지거나 퇴색되며 아가미는 빈혈증상이 심하고 비장은 특이적으로 비대되어 있었으며, 병어의 비장, 신장, 심장 및 간장 조직에서 풀젠양성과 호염기성의 비대세포가 관찰되었다. 병어의 비장조직 마쇄액을 GF세포에 접종배양한 결과, 세포가 구형화 되면서 커지는 세포변성효과가 나타나 감염된 GF 세포로부터 바이러스를 분리하였다. 분리된 바이러스 배양액( $10^4$ TCID<sub>50</sub>/0.1ml)을 건강한 참돔과 돌돔 치어에 복강주사한 결과 자연감염어와 유사한 증상을 나타내면서 폐사가 일어났다. 병어의 장기조직내 비대세포의 세포질에서 전자현미경으로 외막이 없는 정20면체의 바이러스 입자가 관찰되었으며 직경이 120~130 nm였다. 그리고 Genebank로부터 얻은 참돔 이리도바이러스의 ATPase gene의 DNA염기서열을 주형으로 제작된 primer를 사용하여 PCR을 수행한 결과 500bp의 PCR 생성물이 병어나 인위감염된 GF세포에서 얻어졌다. 이들 PCR 생성물은 RSIV의 ATPase cDNA gene과 95%의 상동성을 나타내어, 양식돌돔의 대량 폐사를 유발한 원인 바이러스는 일본에서 분리된 참돔 이리도바이러스(RSIV)와 유사한 돌돔 이리도바이러스(SBIV)로 밝혀졌다.

## 참고문헌

- Hannele T., Niels-Jorsen O., Jere L., Eija R. nad Carl-Henrik V. B. 1998. Isolation of an iridovirus from pike-perch *Stizostedion lucioperca*. *Dis. Aqueat. Org.* 32(1): 185~193.
- Inouye, K., Yamano K., Maeno Y., Nakajima K., Matsuoka M., Wada Y., and Sorimachi M. 1992. Iridovirus infection of cultured red seabream, *Pagrus major*. *Fish Pathol.* 27: 19~27.
- Jun K., Kazuhiro N., Ikuo H. and Takashi A. 1998. Polymerase Chain Reaction(PCR) Amplification of DNA of Red Sea Bream Iridovirus(RSIV): *Fish Pathology*, 33(1):17~23.
- Jung S. J., Miyazaki T., Miyata M., Danayadol Y., and Tanaka S. 1997. Pathogenicity of Iridovirus from Japan and Thailand for the Red Sea Bream *Pagrus major* in Japan, and Histopathology of Experimentally Infected Fish. *Fisheries Science*, 63(5), 735~740.
- Kurita, J., Makajima, K., Hirono, I. and Aoki, T. 1998. Polymerase chain reaction(PCR) amplification of DNA of red seabream Iridovirus(RSIV). *Fish Pathol.*, 33(1), 17~23.
- Matsuoka, S., Inouye, K., and Nakjima, K. 1996. Cultured Fish species alfeted by red sea bream Iridoviral disease from 1991 to 1995. *Fish Pathol.*, 31(4), 233~234.
- Nakazima K. and Sorimazi M. 1994. Biological and Physico-chemical Properties of the Iridovirus Isolated from Cultured Red Sea Bream, *Pagrus major*. *Fish Pathology*, 29(1):29~33.