

White Spot Baculovirus의 모하와 중간숙주 감염 및 해수생존

허문수[†] · 손상규* · 김영진**

제주대학교 해양생산과학부, *국립수산진흥원 진해내수면연구소, **여수대학교

자연산 모하의 White Spot Baculovirus(WSBV)보균을 Polymerase Chain Reaction(PCR)에 의한 검출에서 *Penaeus chinensis* 모하가 52%, *Penaeus japonicus* 모하는 20% 나타났다. 새우 양식장의 서식생물의 본 바이러스의 보균을 조사한 결과 *Upogebia major* 37%, *Callinassa japonica* 29%를 보였다. 본 바이러스의 해수 생존시험에서는 4°C에서는 장기간 생존하였고 25°C에서는 시간이 지남에 따라 점차 활성을 잃었다.

Key words : wild-caught shrimp spawner, PCR, inhabitant organism, survival

우리 나라 서해안 새우양식장에서는 1993년도에 바이러스 질병이 처음 발병하여 양식산 새우를 대량폐사시킨 후 해마다 바이러스 질병이 재발하고 양식산 새우를 대량폐사 시킴에도 불구하고 적절한 방역대책을 수립할 수 없는 것은 새우 바이러스의 감염경로를 차단할 수 있는 바이러스 감염 역학조사가 이루어지지 못했기 때문이다(허, 1997). 일반적으로 양식 생물의 바이러스 감염은 바이러스를 보균한 친어로 부터 생산한 치어로 바이러스가 감염되는 수직적 감염과 감염된 병어의 배설물 등을 통해 바이러스가 수중으로 배출되어 감염되는 수평적 감염으로 구분된다(Field et al., 1996). 그러므로 새우 바이러스 질병도 감염경로를 수직적 감염과 수평적 감염으로 예상할 수 있다. 수직적 감염은 바이러스를 보균한 모하를 통해서 감염이 이루어질 수 있는데 Monoyama(1995)는 바칼로 증장선 괴사증 바이러스(BMNV)는 보리새우 수정란을 세척하여 소독하면 감염을 예방할 수 있다고 함으로서 새우 바이러스 질병도 수직적인 바이러스 감염 가능성을 전혀 배제할 수 없다. 그리고 수평적인 감염은 새우양식장내외에 서식하고 있는 서식생물이 바이러스를 보균해서 월동한 후 새우양식장에 바이러스를 배출하거나 바이러스 질병이 발병한 양식장에서 배출된 바이러스 오염수가 새우양식장 내로 유입되어 감염되는 것으로 구분

하여 생각할 수 있다.

그래서 본 연구에서는 새우 바이러스의 감염경로를 규명하기 위해 수직적 감염원인 모하에 대한 바이러스 보균조사와 수평적 감염원인 서식생물에 대한 바이러스 보균조사 및 새우 바이러스의 해수 중 생존성에 관한 시험을 실시하였다.

재료 및 방법

모하의 WSBV 보균

새우 종묘생산용으로 사용되는 자연산 *Penaeus chinensis* 모하에 대한 WSBV 보균조사를 위해 1996년 4월에 전남 고흥군 나로도 수역에서 채집한 *Penaeus chinensis* 모하 50미(평균체장 24.5 cm, 평균중량 65 g), 전남 영광군 범성포 수역에서 채집한 *Penaeus chinensis* 모하(평균체장 22.3 cm 평균중량 59 g), 충남 태안군 안면도 수역에서 채집한 *Penaeus chinensis* 모하(평균체장 22.0 cm 평균중량 56 g)는 두홍갑 및 체표의 흰반점 형성유무로 WSBV 보균상태를 조사하였고, 1997년 4월에 전남 영광군 범성포 수역에서 채집한 *Penaeus chinensis* 모하(평균체장 23.0 cm 평균중량 59 g)는 PCR법으로 바이러스 보균상태를 조사하였고 자연산 *Penaeus japonicus* 모하에 대한 WSBV 보균 조사를 위해 경남 거제도 수역에서 1996년 6월에 채집한 *Penaeus japonicus* 모하(평균체장 19 cm 평균중량 42 g)는 두홍갑 및 체표의 흰반점 형성유

[†]Corresponding author

무로 WSBV 보균상태를 조사하였고, 1997년 7월에 채집한 *Penaeus japonicus* 모하(평균체장 20 cm 평균중량 40 g)는 PCR법으로 WSBV 보균상태를 조사하였다.

서식생물의 WSBV 보균

새우양식장에 서식하고 있는 서식생물에 대한 WSBV 보균조사를 위해 충남 태안군 관내 대하양식장에서 1996년 3월에 채집한 *upogebia major*, *calliassa japonica*, *Helice tridens* 및 *Nereis japonica*를 20 l F.R.P. 수조에 수용한 *Penaeus japonicus* 20미씩(체중 1 g 전후)에 2일마다 경구투여하고 수온 20~25°C에서 20일간 사육하면서 *Penaeus japonicus*는 누적폐사율로 WSBV 보균가능성을 예보적으로 조사하였다. 그리고 1997년 3월에 채집한 *upogebia major*, *calliassa japonica*, *Helice tridens* 및 *Nereis japonica*는 PCR법으로 바이러스 보균상태를 조사하였다.

WSBV의 해수 생존능

저수온에 대한 생존시험은 멸균해수 250 ml씩에 새우 WSBV액 5 ml를 넣고 밀봉한 후 4°C 항온기에서 5, 15, 60, 120일동안 정치한 후 WSBV액 전량을 *Penaeus chinensis*(체중 7.5~10 g) 10미씩 수용한 20 l 아크릴 수조에 넣고 수온 25±2°C에서 30일간 사육하면서 폐사 유무를 관찰하였고 시험중 수질 악화방지를 위해 감염후 2일째부

터 매일 사육수량의 20%씩을 교환해 주고 새우배합사료를 소량씩 급이하였고 고수온 생존시험은 멸균해수 250 ml씩에 새우 WSBV액 5 ml를 넣고 밀봉해서 25°C 항온기에서 5, 10, 15일동안 정치한 후 WSBV액 전량을 *Penaeus chinensis*(체중 7.5 g) 10미씩 수용한 20 l 아크릴 수조에 넣고 수온 25±0.5°C에서 30일간 사육하면서 폐사 유무를 관찰하였고 시험중 수질 악화방지를 위해 감염후 2일째부터 매일 사육수량을 20%씩을 교환해 주고 새우배합사료를 소량씩 급이하였다.

결과 및 고찰

모하의 WSBV 보균

1996년 4월에 채집한 *Penaeus chinensis*모하와 1996년 6월에 채집한 *Penaeus japonicus*모하에 대한 WSBV 보균상태를 두흉갑 및 체표의 흰반점형성유무로서 조사한 결과 표 1에서와 같이 자연산 *Penaeus chinensis*모하 WSBV 보균율이 32~36%였고, *Penaeus japonicus*모하는 10%로 나타났다. 그리고 PCR에 의한 새우모하의 WSBV 보균율은 표 2에서 처럼 *Penaeus chinensis*모하가 52%, *Penaeus japonicus*모하가 20%로 나타났다. 이상의 실험결과에 의하면 새우 종묘생산용으로 이용되는 자연산 *Penaeus chinensis*는 높은 비율로 WSBV를 보균하고 있기 때문에 새우모하로 부터 바이러스가 수직감염될 가능성은 매우 높다. 이와

Table 1. Detection rate of WSBV in wild-caught shrimp spawners with white spot symptom

shrimps	Sampling area	Mean body weight(g)	No. of WS*/no. of samples	Detection rate (%)
Fresh shrimp	Naro island	65	18/50	36
	Bupsungpo	59	16/50	32
	Anmyeon island	56	17/50	34
Kuruma shrimp	K je island	42	5/50	10

*White spot symptom.

Table 2. Detection rate of WSBV by PCR in wild-caught shrimp spawners

Shrimps	Sampling area	Mean body weight(g)	No. of WS*/no. of samples	Detection rate(%)
Fresh shrimp	Naro island	59	26/50	52
Kuruma shrimp	K je island	40	10/50	20

*PCR Positive

Table 3. Mortality of shrimp fed with inhabitant organisms caught in shrimp ponds

Species	No. of shrimp tested	No. of shrimp died	Mortality (%)
<i>Upogebia major</i>	20	7	35
<i>Calliamassa japonica</i>	20	5	25
<i>Helice tridens</i>	20	5	25
<i>Nereis japonica</i>	20	1	5
Commercial diet	20	0	0

Table 4. Detection rate of WSBV in inhabitant organisms caught in shrimp ponds

Species	No. of PCR positive/ no. of samples	Detection rate (%)
<i>Upogebia major</i>	37/100	37
<i>Calliamassa japonica</i>	29/100	29
<i>Helice tridens</i>	27/100	27
<i>Nereis japonica</i>	0/100	0

유사한 실험결과로서는 前田(1997)가 자연산 *Penaeus japonicus* 모하에 대한 바이러스 보균상태를 조사하였더니 높은 비율로 바이러스가 검출된다고 하였고, 또한 Wang 등(1997)도 자연산 greasy black shrimp로부터 white spot virus가 높은 비율로 검출된다고 하였다.

서식생물의 WSBV 보균

바이러스에 오염된 새우양식장에서 채집한 서식생물에 대한 WSBV 보균상태를 확인하기 위해 일차적으로 인위감염에 의한 *Penaeus japonicus* 치하의 누적폐사율을 조사한 결과, 표 3에서 처럼 *upogebia major*를 먹이로 급이한 시험구에서는 누적폐사율이 35%였고 *calliamassa japonica* 및 *Helice tridens* 급이는 각각 25%, *Nereis japonica* 급이구는 5%, 대조구는 0%로 나타나, *upogebia major* 및 *Helice tridens*와 같은 갑각류에 WSBV를 보균할 가능성이 매우 높은 것으로 생각된다. 그렇지만 일반적으로 바이러스는 종 특이성이 매우 강한 점을 고려하면 새우양식장에 서식하고 있는 *Nereis japonica*를 급이한 시험구에서 누적폐사율이 5%나 나타난 것은 의외의 결과로서 WSBV 감염에 의해 새우가 폐사하기 보다는 다른 요인에

Table 5. Pathogenicity of WSBV suspended in seawater at 4°C

Periods(days)	No. of shrimp tested	No. of shrimp died	Mortality(%)
120	10	10	100
60	10	10	100
15	10	10	100
5	10	10	100
0	10	10	100

Table 6. Pathogenicity of WSBV suspended in seawater at 25°C

Periods(days)	No. of shrimp tested	No. of shrimp died	Mortality(%)
15	10	0	0
10	10	6	60
5	10	10	100
0	10	10	100

의한 폐사할 가능성을 배제할 수 없다. 그래서 서식생물에 대한 WSBV 보균상태를 보다 더 명확히 조사하기 위해 1997년에 채집한 서식생물을 대상으로 PCR법으로 WSBV 보균조사를 실시한 결과, 표 6에서와 같이 바이러스 검출율이 *upogebia major*에서는 37%, *calliamassa japonica* 29%, *Nereis japonica* 0%로 나타났다.

따라서 양식장내 서식생물에 대한 바이러스 보균상태를 인위감염시험과 PCR법으로 조사한 결과에 의하면 갑각류인 *upogebia major*, *calliamassa japonica* 및 *Helice tridens*에서는 높은 비율로 WSBV가 검출되므로 이들 서식생물이 새우의 WSBV 보균생물인 것으로 생각되지만 *Nereis japonica*는 보균생물이 아닌 것으로 판단된다. 위와 유사한 시험결과로서는 일본 야마구찌현의 *Penaeus japonicus* 양식장내 및 양식장 부근에 서식하고 있는 갑각류를 채집하여 PCR법으로 WSBV 바이러스 보균상태를 조사한 결과 4종류의 새우류와 10종류의 게에서 바이러스가 검출되며, 이들 서식생물중 바이러스 검출율이 가장 높은(80%) *Helice tridens*와 *Penaeus japonicus*를 동거사육한 결과 동거후 10일째부터 폐사가 일어나기 시작하여 28일째 전량 폐사하였고 보고하고 있다(前田, 1997), 그러므로 새우양식장에서 바이러스 질병이

매년 재발하는 한 원인으로서는 새우양식장 내 · 외에 서식하고 있는 갑각류가 WSBV를 보유한 채 월동하기 때문이라 추측된다.

바이러스의 해수 생존

저수온 생존성에서는 새우 WSBV를 4°C에서 5, 15, 60, 120일간 보관한 후, 인위감염에 의한 새우의 누적폐사율로 바이러스의 생존성을 확인한 결과, 표 5에서와 같이 저수온(4°C) 해수에서 120일이 경과해도 병원성이 실효되지 않으므로 저수온 해수에서는 장기간동안 생존이 가능하다. 그렇지만 우리나라 연안에서는 WSBV가 중간숙주에 감염되지 않고 해수중에 노출된 상태로 장기간동안 생존하기는 현실적으로 불가능할 것이다. 고수온 생존성에서는 25°C에서 5, 10, 15일 경과한 후 인위감염에 의한 새우의 누적폐사율로 바이러스의 생존성을 확인한 결과, 표 6에서와 같이 고수온 해수(25°C)에서 5일 경과한 시험구에서는 누적폐사율은 100%였으나, 10일 경과한 시험구에서는 60%, 15일 경과한 시험구에서는 전혀 폐사가 일어나지 않아 고수온 해수에서는 시간이 경과함에 따라 서서히 실효되기 시작하여 15일 경과하면 생존이 불가능하다. 그렇지만 바이러스 질병이 발병한 새우양식장에서 배출한 사육수를 양식장으로 바로 취수하면 바이러스 질병이 발병할 우려가 충분히 있다.

사 사

본 연구는 1995년 농림수산부에서 시행한 농림수산특정연구사업의 연구비지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

- Arakawa, C. K., Deering, E., Higman, K. H., Oshima, K. H., O'Hara, P. J. and Winton, J. R. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of a nucleoprotein gene sequence of infectious hematopoietic necrosis virus. *Dis. Aquat. Org.*, 8: 165-170, 1990.
- Chiu, Y. N. Water quality management for intensive prawn ponds. Technical considerations for the management and operation of intensive prawn farms. pp. 172, 1988.
- Chou, H. Y., Huang, C. Y., Wang, C. H., Chiang, H. C. and Lo, C. F. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.*, 23: 165-173, 1995.
- Field, B. and Kinipe, D. M. *Fields Virology* 3rd Ed. Lip-pincott-Raven, 1996
- Fulks, W. and Main, K. L. Introduction. In: *Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States*. The Oceanic Institute, p. 5, 17, 43, 51, 1992.
- Hu, K., Wang, L., Duan, Y. and Zhang, S. Studies on cell culture from the hepatopancreas of the oriental shrimp, *Penaeus orientalis* Kishinouye. *Asian Fish. Sci.*, 3: 299-307, 1990
- Huang, J. X., Yu, Song, J. and Yang, C. Baculoviral hypodermal and gematopoietic necrosis-pathology of the shrimp explosive epidemic disease. Yellow Sea Fishery Research Institute, Qingdao, P. R. Cina, 16: 1-10, 1994.
- Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. and White, T. J. In: *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, New York, 1990.
- Inouye, K., Miwa, S., Oseko, N., Nakano, H. and Kimura, T. Mass mortalities of cultured kuruma shrimp in Japan in 1993: electron microscopic evidence of the causative virus. *Fish Pathol.*, 29: 149-158, 1994 (in Japanese).
- Inouye, K., Yamano, K., Ikeda, N., Kimura, T., Nakano, H., Momoyama, K., Kobayashi, J. and Miyajima, S. The penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV), which causes Acute Viremia(PAV). *Fish Pathol.*, 31(1): 39-45, 1996.
- Lightner, D. V. *A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Cultured Penaeid Shrimp*. World Aquaculture Society, pp. 359, 1996.
- Lo, C-F., Leu, J-H., Ho, C-H., Chen, C-H., Peng, S-E., Chen, Y-T., Chou, C-M., The, P-Y., Huang, C-J., Chou, H-Y., Wang C-H. and Kou, C-H. Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. *Dis. Aquat. Org.*, 25: 133-141, 1996.
- Lo, C-F., Ho, C-H., Peng, S-E., Chen, C-H., Hsu, H-C., Chiu, Y-L., Chang, C-F., Liu, K-F., Su, M-S., Wang, C-H. and Kou, G-H. White spot syndrome (WSBV) detected in cultured and captured shrimp, crabs and other arthropods. *Dis. Aquat. Org.* (in press)
- Momoyama, K., Hiraoka, M., Nakano, H., Koube, H., Inouye, K. and Oseka, N. Mass mortalities of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: histopathological studies. *Fish Pathol.*, 29: 141-148 1994 (in Japanese).
- Momoyama, K., Hiraoka, M., Inouye, K., Kimura T. and Nakano, H. Diagnostic techniques of the rod-shaped nuclear virus infection in the kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. *Fish Pathol.*, 30(4): 263-269, 1995.
- Nakano, H., Koube, H., Umezawa, S., Monoyama, K., Hiraoka, M., Inouye, K. and Oseko, N. Mass mortal-

- ities of cultured kuruma shrimp in Japan in 1993: epizootiological survey and infection trials. *Fish Pathol.*, 29: 135-139, 1994 (in Japanese).
- Pearson, W. R. and Lipman, D. J. Improved tools for biological sequence comparison. *Proc. Natl. Acad. Sci. (NAS)*, 85: 2444-2448, 1988.
- Shariff, M. and Subasinghe, R. P. Major diseases of cultured shrimp in Asia; An overview. In: Fulks W. and K. L. Main (Editors), *Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States*, The Oceanic Institute, pp. 43-51, 1992.
- Takahashi, Y., Itami, T., Maeda, M., Suzuki, N., Kasornchandra, J., Supamattaya, K., Khongparadit, R., Boonyaratpalin, S., Kondo, M., Kawai, K., Kusuda, R., Hirono I. and Aoki T. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of bacilliform virus (RV-PJ) DNA in *Penaeus japonicus* bate and systemic ectodermal and mesodermal baculovirus (SEMBV) DNA in *Penaeus monodon* Fabricius. *J. Fish Dis.*, 19: 399-403, 1996.
- Wang, K. *Penaeid Culture*. China Aquaculture Company, Beijing, China, 1983.
- 許文洙. 養殖새우 *Penaeus chinensis*와 *Penaeus japonicus*의 바이러스성 疾病. 釜山大學校 博士學位論文, 1997.
- 高橋辛則, 伊丹利明, 近藤昌和. 甲殻類の生體防禦. *魚病研究*, 30(2): 141-150, 1995.
- 挑山和夫, 平岡三登里, 中野平二, 河邊 博・井上 潔・大迫典久. 1993年に西日本で發生した養殖クルマエビの大量死: 病理組織觀察. *魚病研究*, 29(2): 141-148, 1994.
- 前田 稔.クルマエビの 急性 ウイルス血症に 關する研究. 水産大學校 學位 論文, 1997.

White Spot Baculovirus Infection of Shrimp Spawner, Inhabitant Organisms and Survival in Seawater

Moon-Soo Heo, Sang-Gyu Sohn* and Young-Jin Kim**

Faculty of Applied Marine Science, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

**Chinhae Regional Inland Fisheries Research Institute, NFRDI, Chinhae*

***Department Fish Pathology, Yosu National University*

Infection rates with white spot baculovirus(WSBV) in wild-caught shrimp spawners appeared to be 52% in *Penaeus chinensis* and 20% in *Penaeus japonicus* when diagnosed by polymerase chain reaction (PCR). Infection rates of WSBV from inhabitant organisms in shrimp farm showed 37% in *Upogebia major* and 29% in *Callinassa japonica*. The viruses maintained their survivorship in seawater at 4°C, but lost it at 25°C.

Key words : Wild-caught shrimp spawner, PCR, inhabitant organism, survival