

2018–2019년 양식산 흰다리새우의 바이러스 (IHHNV, TSV, IMNV, YHV, CMNV) 모니터링

삼 코카뚜니발떨 · 김위식[†]

전남대학교 수산생명의학과

Monitoring of viruses (IHHNV, TSV, IMNV, YHV, and CMNV) in cultured whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) between 2018 and 2019

Shyam Kokkattunivarthil and Wi-Sik Kim[†]

Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 59626, Republic of Korea

A survey was conducted to investigate viral infections in 184 whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) collected from nine farms and one wholesale fish vendor during 2018 and 2019. Gill and abdominal muscle of shrimp were tested for the presence of five viruses, viz. infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus, taura syndrome virus, infectious myonecrosis virus, yellow head virus genotype 1, and covert mortality nodavirus by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and PCR. These viruses were not detected in any of 184 samples, screened under the study.

Key words: *Litopenaeus vannamei*, Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV), Taura syndrome virus (TSV), Infectious myonecrosis virus (IMNV), Yellow head virus genotype 1 (YHV1), Covert mortality nodavirus (CMNV)

우리나라의 대하 (*Penaeus chinensis*) 양식은 1963년에 인공부하에 성공함으로써 시작되었고, 1970년대부터 서해안을 중심으로 빠르게 발달하여 1992년에 562톤을 생산하였다 (NIFS, 2018). 그러나 1993년에 흰반점바이러스 (white spot syndrome virus, WSSV)의 감염에 의한 대량 폐사로 생산량이 급감한 후 해마다 대하 양식장에 반복적인 대량 폐사가 발생하였다 (NIFS, 2018). 2003년부터는 흰반점병 (white syndrome disease, WSD)에 의한 피해를 줄이기 위해, 대하에 비해 WSD에 저항성이 강

한 흰다리새우 (*Litopenaeus vannamei*)를 양식 품종으로 전환하여 사육하기 시작하여 2016년에 약 5,700톤을 생산하였다 (NIFS, 2018). 현재 국내의 새우 양식은 대부분이 흰다리새우로 이루어지고 있다.

국내에서 흰다리새우를 양식하는 과정에서 빈번하게 발생하는 질병으로는 비감염성 질병과 WSSV에 의한 감염성 질병이 보고되어 있다 (Kim *et al.*, 2012). 2004년과 2010년에는 국내에서 보고된 바 없는 타우라 증후군 바이러스 (taura syndrome virus, TSV)와 전염성괴사 및 조혈기괴사증 바이러스 (infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus, IHHNV)가 검출되었다 (Do *et al.*, 2006;

[†]Corresponding author: Wi-Sik Kim
Tel: +82-61-659-7177, Fax: +82-61-659-7177
E-mail: wisky@jnu.ac.kr

Kim *et al.*, 2011). 2015년에는 전염성 근괴사증 바이러스 (infectious myonecrosis virus, IMNV)가 검출되었고, 2016년에는 급성간췌장괴사증 (acute hepatopancreatic necrosis disease)의 원인 병원체인 *Photobacterium* insect-related (Pir) toxin을 가지고 있는 *Vibrio parahaemolyticus* (VP_{AHPND})가 검출되었다 (NIFS, 2018). 이와 같이 국내 흰다리새우 양식장에서는 WSSV 이외에도 TSV, IHNV, IMNV 등에 노출될 수 있음을 시사한다. 본 연구에서는 2018-2019년 새우 양식장과 수산물 도매시장으로부터 흰다리새우를 채집하여 IHNV, TSV, IMNV뿐만 아니라 현재까지 국내에서 보고된 바 없는 yellow head virus genotype 1 (YHV1) 및 covert mortality nodavirus (CMNV)의 감염 여부를 조사하였다.

2018년 5월부터 2019년 10월까지 전라북도 (고창), 전라남도 (신안, 완도), 충청남도 (태안, 보령, 홍성)에 위치한 9개소의 양식장과 1개소의 수산물 도매시장 (여수)으로부터 흰다리새우를 무작위로 총 184마리를 채집하여 아이스팩이 들어 있는 상

자에 넣어 신속히 운반한 후 바이러스 검사를 실시하였다 (Table 1). 흰다리새우의 아가미 (검사 대상 병원체: IHNV, TSV, YHV1)와 근육 조직 (IMNV, CMNV)으로부터 DNA extraction kit (Bioneer, Korea)와 RNA extraction kit (Bioneer, Korea)을 사용하여 DNA와 RNA를 분리한 후, 세계동물보건기구 (World organization for animal health (OIE), 2019a-d)와 Zhang *et al.* (2014)의 검사 방법에 준해 polymerase chain reaction (PCR) (검사 대상 병원체: IHNV)과 reverse transcription (RT)-PCR (TSV, IMNV, YHV1, CMNV)을 실시하였다 (Table 2). IMNV와 CMNV의 경우, 참고문헌의 방법에 준해 nested PCR을 실시하였으며, YHV는 YHV1과 2를 동시에 검출하기 위해 primer 3개를 사용하여 RT-PCR을 실시하였다. 양성 대조구로는 국립수산물 학원 수산방역과로부터 분양받은 plasmid를 사용하였다.

본 연구에서는 국내 새우 양식산업을 위협할 수 있는 바이러스인 IHNV, TSV, IMNV, YHV1 및

Table 1. Details of the whiteleg shrimp samples examined in this study and the results of PCR analysis

Place	Farm	Sampling date	Shrimp No.	Average weight (g)	Detection rate of the virus (%)				
					IHNV***	TSV***	IMNV***	YHV1***	CMNV***
Jeollabuk-do									
Gochang	A	May, 2018	10	4.5	0%(0/10)	NT	0%(0/10)	NT	NT
	A**	Aug, 2018	10	15.6	0%(0/10)	NT	0%(0/10)	NT	NT
	B	Jul, 2019	20	5.2	0%(0/20)	0%(0/20)	0%(0/20)	0%(0/20)	0%(0/20)
Jeollanam-do									
Shinan	C**	Aug, 2018	8	10.4	0%(0/8)	NT	0%(0/8)	NT	0% (0/8)
	D**	Sep, 2018	10	16.4	0%(0/10)	NT	0%(0/10)	NT	NT
	E	Oct, 2019	12	35.1	NT	0%(0/12)	NT	NT	NT
Wando	F**	Aug, 2019	45	13	NT	0%(0/15)	0%(0/15)	0%(0/15)	NT
Yeosu	*	Sep, 2019	12	32.6	NT	0%(0/12)	0%(0/12)	0%(0/12)	NT
Chungcheongnam-do									
Taeon	G	Aug, 2018	35	15.7	0%(0/35)	NT	NT	NT	NT
Boryeong	H	Sep, 2018	10	21.4	0%(0/10)	NT	0%(0/10)	NT	NT
Hongseong	I**	Jul, 2019	12	15.1	0%(0/12)	0%(0/12)	0%(0/12)	0%(0/12)	0%(0/12)
Total	9		184		0%(0/115)	0%(0/71)	0%(0/107)	0%(0/59)	0%(0/40)

*wholesale fish vendor

**mortality reported farms

***IHNV; infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus, TSV; taura syndrome virus, IMNV; infectious myonecrosis virus, YHV1; yellow head virus genotype 1, CMNV; covert mortality nodavirus

NT; not tested

Table 2. Detailed information on the primers used for PCR and RT-PCR

Virus*	Primer and sequence	Product length (bp)	PCR profile	Reference
IHHNV	389F: 5'-CGGAACACAACCCGACTTTA-3' 389R: 5'-GGCCAAGACCAAAATACGAA-3'	389	95°C for 5 min 95°C for 30s, 55°C for 30s, 72°C for 60s (35 cycles) 72°C for 7 min	OIE, 2019a
TSV	9992F: 5'-AAGTAGACAGCCGCGCTT-3' 9195R: 5'-TCAATGAGAGCTTGGTCC-3'	231	94°C for 1 min 94°C for 45s, 60°C for 45s, 72°C for 45s (40 cycles) 60°C for 7 min	OIE, 2019b
IMNV	4587F: 5'-CGACGCTGCTAACCATACAA-3' 4914R: 5'-ACTCGGCTGTTTCGATCAAGT-3'	328 (one-step)	95°C for 2 min 95°C for 45s, 60°C for 45s, 72°C for 45s (39 cycles) 72°C for 7 min	OIE, 2019c
	4725NF: 5'-GGCACATGCTCAGAGACA-3' 4863NR: 5'-AGCGCTGAGTCCAGTCTTG-3'	139 (two-step)	95°C for 2 min 95°C for 30s, 65°C for 30s, 72°C for 30s (39 cycles) 72°C for 2 min	
YHV1 and GAV	GY2: 5'-CATCTGTCCAGAAGGCGTCTATGA-3' Y3: 5'-ACGCTCTGTGACAAGCATGAAGTT-3' G6: 5'-GTAGTAGAGACGAGTGACACCTAT-3'	277(YHV) 406(GAV)	95°C for 1 min 95°C for 30s, 66°C for 30s, 72°C for 45s (35 cycles) 72°C for 7 min	OIE, 2019d
CMNV	CMNV-7F1: 5'-AAATACGGCGATGACG-3' CMNV-7R1: 5'-ACGAAGTGCCACAGAC-3'	619 (one-step)	94°C for 4 min 94°C for 30s, 45°C for 34s, 72°C for 40s (35 cycles) 72°C for 7 min	Zhang <i>et al.</i> , 2014
	CMNV-7F2: 5'-CACAAACCGAGTCAAACC-3' CMNV-7R2: 5'-GCGTAAACAGCGAAGG-3'	165 (two-step)	94°C for 4 min 94°C for 20s, 50°C for 20s, 72°C for 20s (30 cycles) 72°C for 7 min	

*Virus name: IHHNV; infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus, TSV; taura syndrome virus, IMNV; infectious myonecrosis virus, YHV1; yellow head virus genotype 1, GAV; gill-associated virus (YHV genotype 2), CMNV; covert mortality nodavirus

CMNV를 선정하여 양식산 흰다리새우에서의 감염 여부를 조사하였다. 전북 고창 지역의 2개 양식장에서 채집한 육안적으로 건강한 흰다리새우에서는 상기 바이러스가 모두 검출되지 않았다 (Table

1). 채집당시 폐사가 발생한 A 양식장의 시료에서도 IHHNV와 IMNV가 검출되지 않았다. 전남 신안과 완도 지역의 3개 양식장에서 채집한 병든 흰다리새우와 신안의 1개 양식장과 여수의 수산물 도

매시장으로부터 채집한 건강한 흰다리새우에서는 모두 음성으로 나타났다 (Table 1). 충남 태안, 보령, 홍성 지역의 3개 양식장으로부터 채집한 흰다리새우에서도 바이러스가 검출되지 않았다 (Table 1). 이상의 결과, IHNV, TSV, IMNV, YHV1 및 CMNV는 2018-2019년에 채집된 총 184마리의 흰다리새우에서 검출되지 않음이 확인되었다.

IHNV는 흰다리새우에 감염되어 만성형태로서 runt deformity syndrome (RDS)라고 하는 큐티클의 변형과 성장을 억제 시키는 병원체로 알려져 있으며, TSV는 흰다리새우에 40-90% 이상의 누적 폐사율을 유발하는 병원체로 알려져 있다 (OIE, 2019a, b). TSV에 감염된 새우는 급성의 경우, 꼬리부의 상피세포가 괴사되어 적색으로 변하며, 회복 단계의 새우는 급성의 괴사가 발생한 부위의 큐티클에 검은색 병소가 생긴다 (Park and Jo, 2011). 국내 흰다리새우 양식장에서는 2004년과 2010년에 충청남도 천수만과 태안에 위치한 양식장에서 TSV와 IHNV가 각각 1회 검출된 바 있다 (Do *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2011). 본 연구의 결과 (2018-2019년)에서는 충청남도에 위치한 3개소의 양식장뿐만 아니라 다른 지역에 위치한 양식장에서도 IHNV와 TSV가 검출되지 않았다 (Table 1). Kim *et al.* (2014)은 2011-2013년까지 충청남도 (11개소 양식장)를 포함한 다양한 지역에 위치한 79개소의 양식장으로부터 흰다리새우를 채집하여 IHNV (4,050마리)와 TSV (2,650 마리)를 모니터링한 결과, 모든 시료에서 음성반응이 확인되었다. 이상의 결과, IHNV와 TSV는 약 5년간 채집한 양식산 흰다리새우에서 검출되지 않는 것으로 보아, 이들 바이러스들은 충청남도에 위치한 양식장에서 다양한 지역의 양식장으로 전파될 가능성은 아주 낮은 것으로 사료된다.

YHV1은 홍다리얼룩새우 (*Penaeus monodon*)와 흰다리새우에 감염되어 대량 폐사를 유발하는 병원체로서 알려져 있다 (Senapin *et al.*, 2010; OIE, 2019d). 빈사상태의 새우는 간체장이 노랗게 변해 두흉부가 노란색을 띤다 (Park and Jo, 2011; OIE, 2019d). 본 연구의 결과에서는 59마리의 흰다리새우로부터 YHV1이 검출되지 않았다 (Table 1). Kim *et al.* (2014)은 2010-2013년까지 94개소의 양식장

으로부터 총 4,200마리의 흰다리새우를 채집하여 YHV1 검사를 실시한 결과, 모든 시료에서 음성반응이 확인되었다. 이상의 결과, YHV1은 약 6년간 채집한 양식산 흰다리새우에서 검출되지 않는 것으로 보아 현재까지 국내 새우 양식장으로 유입되지 않은 것으로 사료된다.

IMNV는 양식산 흰다리새우에 감염되어 40-70%의 누적 폐사율을 유발하는 병원체로 알려져 있다 (OIE, 2019c). 급성으로 진행될 때는 근육의 괴사로 인해 백탁되는 증상을 나타내며 폐사율도 높지만, 만성으로 진행될 때는 폐사율이 낮은 편이다 (Park and Jo, 2011). CMNV는 흰다리새우에 대량 폐사를 유발하는 병원체로 알려져 있다 (Zhang *et al.*, 2014). CMNV에 감염된 새우는 IMNV에 감염된 새우에서 보이는 임상증상과 유사하게 복절 부위에 흰색의 근육이 관찰된다. 국내에서는 2014년까지 IMNV가 보고되거나 검출된 바 없으나 (Kim *et al.*, 2014), 2015년 충청남도 서산과 태안에 위치한 양식장에서 IMNV가 처음으로 검출되었다 (NIFS, 2018). 본 연구의 결과에서는 107마리의 흰다리새우로부터 IMNV가 검출되지 않았다 (Table 1). 본 연구를 통해 IMNV가 다양한 지역의 양식장으로 확산되었는지는 알 수 없으나 IMNV가 새우 양식장에 확산되어 정착할 경우, 새우 양식 산업을 위협할 수 있기 때문에 향후 지속적인 예찰과 감시가 필요하다. CMNV는 현재까지 국내에서 보고된 바 없으며, 본 연구의 결과에서도 음성으로 나타났다 (Table 1). CMNV는 흰다리새우뿐만 아니라 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)에도 감염되는 것으로 보고되어 있어 (Wang *et al.*, 2019), 본 바이러스가 국내로 유입될 경우 새우뿐만 아니라 넙치 양식산업에도 피해를 줄 가능성이 있어, 철저한 검역과 유입될 경우를 대비한 방역 대책이 필요하다.

감사의 글

본 논문은 전남대학교 학술연구비 (과제번호: 2017-2680) 지원을 받아 수행되었습니다.

References

Do, J.W., Cha, S.J., Lee, N.S., Kim, Y.C., Kim, J.W.,

- Kim, J.D. and Park, J.W.: Taura syndrome virus from *Penaeus vannamei* shrimp cultured in Korea. *Dis. Aquat. Org.*, 70:171-174, 2006.
- Kim, J.H., Choresca Jr., C.H., Shin, S.P., Han, J.E., Jun, J.W., Han, S.Y. and Park, S.C.: Detection of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in *Litopenaeus vannamei* shrimp cultured in South Korea. *Aquaculture*, 313:161-164, 2011.
- Kim, J.W., Lee, H.N., Jee, B.Y., Woo, S.H., Kim, Y.J. and Lee, M.K.: Monitoring of the mortalities in the aquaculture farms of South Korea. *J. Fish Pathol.*, 25:271-277, 2012.
- Kim, S.M., Choi, M.J., Kim, S.R., Kang S.K., Hwang, H.Y., Jang, I.K., Kim, J.W., Jee, B.Y., Shin, K.W. and Park, M.A.: Monitoring of legally designated disease in cultured white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in Korea (2010~2013). *J. Fish Pathol.*, 27:91-97, 2014.
- National institute of fisheries science (NIFS). Standard manual of whiteleg shrimp culture. 2018.
- Park, S.W. and Jo, S.G.: Aquatic invertebrate pathology. Bioscience, 2011.
- Senapin, S., Thaowbut, Y., Gangnonngiw, W., Chuchird, N., Sriurairatana, S. and Flegel, T.W.: Impact of yellow head virus outbreaks in the whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone), in Thailand. *J. Fish Dis.*, 33:421-430, 2010.
- Wang, C., Liu, S., Li, X., Hao, J., Tang, K.F.J. and Zhang, Q.: Infection of covert mortality nodavirus in Japanese flounder reveals host jump of the emerging alphavirus. *J. Gen. Virol.*, 100:166-175, 2019.
- World organisation for animal health (OIE): Infection with infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus. Manual of diagnostic tests for aquatic animals. 2019a.
- World organisation for animal health (OIE): Infection with infectious myonecrosis virus. Manual of diagnostic tests for aquatic animals. 2019c.
- World organisation for animal health (OIE): Infection with taura syndrome virus. Manual of diagnostic tests for aquatic animals. 2019b.
- World organisation for animal health (OIE): Infection with yellow head virus genotype 1. Manual of diagnostic tests for aquatic animals. 2019d.
- Zhang, Q., Liu, Q., Liu, S., Yang, H., Liu, S., Zhu, L., Yang, B., Jin, J., Ding, L., Wang, X., Liang, Y., Wang, Q. and Huang, J.: A new nodavirus is associated with covert mortality disease of shrimp. *J. Gen. Virol.*, 95:2700-2709, 2014.

Manuscript Received : Jan 15, 2020

Revised : Feb 18, 2020

Accepted : Feb 27, 2020