

바이러스성 새우질병 방제법의 개발

허문수[†] · 손홍주*

국립수산진흥원 청평 내수면연구소

*밀양대학교 생물공학과

Development of the Control System against Shrimp Viral Disease

Moon-Soo Heo[†] and Hong-Joo Son*

National Fisheries Research and Development Institute, Chongpyong Inland Fisheries Laboratory,
Kapyung 477-810, Korea

*Department of Biotechnology, Miryang National University, Miryang 627-702, Korea

Abstract

In order to reduce loss of shrimp productivity by viral diseases on the cultured shrimp, we were develop the effective shrimp virus control system. Virus is inactivated by above 5 ppm of chloride and treatment of 50% fresh water. Mortality of infected shrimp is decreased by feeding of immunostimulants such as peptidoglycan and schizophyllan. Mg(OH)₂ was one of improvement agents which have best effect on pH, ignition loss(IL), chemical oxidation demand(COD) and total sulfide of water and sediment of shrimp farm.

Key words : Shrimp, viral disease, disinfectant, freshwater treatment, immunostimulant

서 론

국내에서는 1960년도 서해안에서 보리새우 양식이 처음 시작되었으나 기술과 경험부족으로 많은 어려움을 겪었다. 그러나 인공부화 생산기술이 확립되고 시장수요가 증가함에 따라 새우 양식산업이 발달하여 1990년대에는 새우 양식장이 130 여개소에 이르고 있다. 반면 1993년 이후 해마다 난치성 전염병이 발병하여 새우 양식장에 큰 타격을 주고 있다. 이러한 양식산 새우의 대량폐사의 원인으로 바이러스, 세균, 기생충성 질병 등이 보고 되고 있다^{1,2)}.

특히 바이러스에 의한 질병은 전염성이 강하여 죽은

새우 폐사체를 먹거나 감염된 새우와 접촉 또는 감염된 새우가 있던 물에만 접촉되어도 다른 새우에게 질병이 야기될 수 있다. 바이러스 감염경로는 정확하게 밝혀져 있지 않으나 양식장의 환경변화로 인해 생기는 스트레스에 기인한다고 보고되기도 하였다^{3,4)}.

그러나 상기와 같은 생물학적 요인 외에도 새우 양식장 저질의 단위면적당 수용밀도 과다, 무분별한 사료투입으로 인한 사료찌꺼기의 부패, 수산생물의 배설물 등으로 인하여 새우의 서식환경인 저질이 날로 악화됨으로써 대량폐사되기도 한다^{5,6,7)}. 따라서 바이러스에 감염된 새우의 폐사율을 줄이고, 병원체의 발병력을 감소시키기 위한 연구가 절실

[†] Corresponding author

한 실정이며, 또한 새우의 생존에 적당한 환경을 유지시킬 수 있는 방법의 개발 역시 중요하다.

이에 본 연구에서는 소독제처리, 담수처리, 면역증강제 투여시험 및 저질개선제 살포시험 등을 실시함으로써 새우의 바이러스성 질병 대책에 대한 기초자료를 제공하고, 새우의 서식환경을 개선하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 바이러스액의 조제

바이러스에 감염된 것으로 확인된 새우로부터 두흉부의 림프기관, 간췌장, 위장피를 적출하여 10배량의 phosphate-buffered saline을 첨가하여 저온에서 마쇄하고, 5°C에서 2,500 rpm으로 15분간 원심분리한 후 그 상층액을 0.45 μm의 필터로 여과해서 얻은 여액을 바이러스액으로 하였다⁸⁾.

2. 염소 및 요오드에 의한 바이러스 살균효과

염소에 의한 바이러스 살균효과는 다음과 같이 실시하였다. 각각 바이러스액 5 ml와 멸균 여과해수 95 ml를 혼합한 후, 염소 농도를 2, 5, 10 ppm이 되도록 첨가하였다. 24시간동안 반응시키고, 티오황산나트륨을 첨가하여 중화시킨 다음 시험새우의 복강에 0.1 ml씩 주사하였다. 시험새우로는 평균체중 4 g의 대하(*Penaeus chinensis*) 10마리를 사용하였고, 40일간 사육하여 폐사율을 확인하였다. 대조구는 염소를 처리하지 않고 바이러스액만 0.1 ml씩 주사 감염시켰다. 요오드에 의한 시험은 각각의 멸균 여과해수 50 ml와 바이러스 원액 5 ml를 혼합한 후, 요오드 농도를 10, 20, 30 ppm이 되도록 첨가하였다. 1시간동안 반응시킨 후, 시험새우의 복강에 0.1 ml씩 주사하였다. 시험새우로는 평균체중 3.4 g의 대하 10마리를 사용하였고 40일간 사육하여 판정하였다. 대조구는 요오드를 처리하지 않고 바이러스액을 0.1ml씩 주사 감염시켰다. 먹이투여는 하루 2회 정량해서 주었고, 사육수온은 27°C, 사육수조는 20L FRP 수조였다.

3. 담수처리에 의한 효과

20L FRP 해수 수조에 담수농도를 50%, 75%, 100%로 각각 만든 후, 바이러스액 5 ml씩을 5일간 계속해서

침지 감염시켰다. 시험새우로는 평균체중 3.7 g의 대하 10마리씩을 사용하였다. 실험전 시험 새우는 저농도의 담수조에 먼저 순치시켜 시험에 사용하였다. 사육기간 내의 수온은 28°C였고, 먹이투여는 하루 2회 정량해서 주었다. 30일간 사육하면서 폐사율을 보았다. 대조군은 일반 해수만을 첨가한 수조에서 바이러스를 감염시켰다.

4. 면역증강제에 의한 효과

새우의 바이러스에 대한 항병력을 높이기 위해 면역증강제를 사용하였다. 면역증강제로는 peptidoglycan과 schizophyllan(SPG)를 첨가한 사료를 사용하였다. Peptidoglycan은 유산균 세포벽의 다당류이고, SPG는 균류에서 유래된 β-glucan이다. 실험에 사용한 peptidoglycan은 시제품을 사용하였고 SPG는 일본의 TAITO 회사에서 분양받아 사료를 직접 제작하였다. Peptidoglycan 및 SPG의 사료에 대한 첨가량은 0.1%였고, 시험새우로는 평균체중 1 g의 보리새우(*Penaeus japonicus*)였다. 250L FRP 수조에서 수온을 20~25°C로 조정하여 사육하였다. 시험 마리는 각 50마리를 사용하였다. 실험구는 배합사료만을 투여한 대조구와 7일 간격으로 투여한 구와 7일중 2일을 투여한 구 3개를 사용하였다. 바이러스 감염방법은 시험 개시후 3일째 부터 2일 간격으로 사육수조에 바이러스 액 10 ml를 첨가하여 실험기간 동안의 생존율을 관찰하였다. SPG 실험은 peptidoglycan에 준하여 실험을 하였다.

5. 저질개선제 투여실험

시료새우로는 전장 2~3 cm, 체중 0.1~0.2g의 대하 치하를 사용하였다. 사육수조는 수량 124 L, 저질량 14 kg, 저질면적 0.5 m²를 가진 FRP 원형수조를 사용하였다. 일반사료는 10%/새우체중 kg/day의 양으로, SPG 사료(99.9g의 배합사료에 0.1g의 SPG를 첨가한 것)는 10%/새우체중 kg/day의 양으로 투여하였다. 대조구 A는 저질+일반사료+새우(실험구 I), 대조구 B는 저질+SPG사료+새우(실험구 II)였다. 화학적 저질개선제로서 Mg(OH)₂을 사용하였으며, 80g/m²의 농도로 월 1회 투여하였다. 이때 사용한 사료는 SPG 사료였다(실험구 III). 효소적 저질개선제로서 일본 (주) 소화효소연구소로부터 구입한 SKK 200을 사용하였으며, 월 1~2회씩 물에 직접 살포(3 ppm) 또는 3g/m²의 농도로 저질에 살포하였다. 이때 사용한 사

료는 SPG 사료였다(실험구 IV). 생물학적 활균제를 이용한 저질개선제로서 일본 원천미생물식품 역분유한공사로부터 구입한 Argon을 사용하였으며, 1g/m²의 농도로 투여하였다. 이 때 사용한 사료는 SPG 사료였다(실험구 V). 바이러스액을 2일 간격으로 5 ml씩 침지감염시켰다. 수온은 20~25 °C로 유지시켰으며, 방양 마리수는 실험구마다 50 마리였다. 그리고 1일에 한번씩 전체수량의 30%를 환수시켰다. 수질 및 저질분석은 3주간격으로 환경오염공정시험법9)에 준하여 측정하였다.

결 과

1. 염소 및 요오드에 의한 바이러스 살균효과

염소처리에 의한 실험결과는 염소 5-10 ppm에서는 누적폐사율이 없었고, 2 ppm에서는 10%의 누적폐사율을 보였다. 대조구에서는 100%의 누적폐사율을 보였다(Fig. 1). 요오드에 의한 실험결과는 10-30 ppm 및 대조구에서 100%였다(Fig. 2).

2. 담수처리에 의한 효과

담수처리에 의한 실험결과는 50% 담수에서는 21일경에 60%의 누적 치사율을 보였고, 75%에서는 40%의 누적 치사율을 보였으며, 100%에서는 누적치사율을 보이지 않았다(Fig. 3).

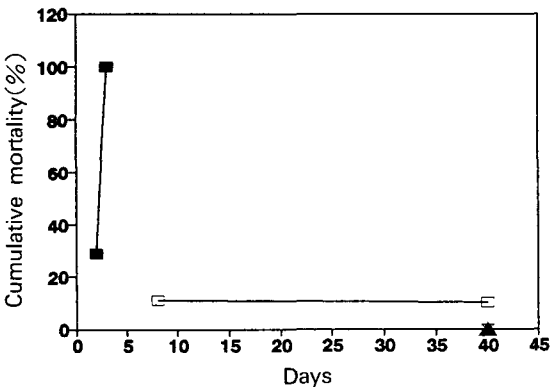


Fig. 1. Effect of chlorine concentration on the viral activity of infected shrimp.

■ : Control, □ : 2ppm, ▲ : 5ppm, ⊗ : 10ppm.

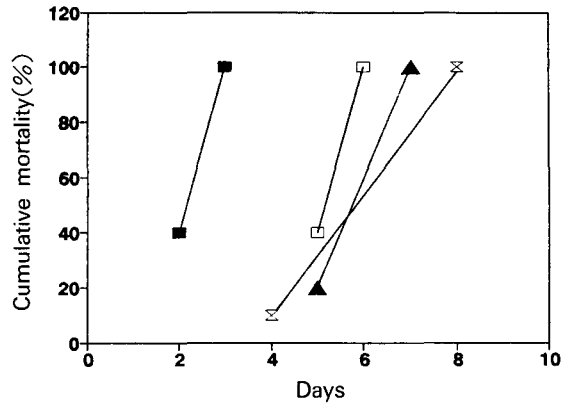


Fig. 2. Effect of iodine concentration on the viral activity of infected shrimp.

■ : Control, □ : 10ppm, ▲ : 20ppm, ⊗ : 30ppm.

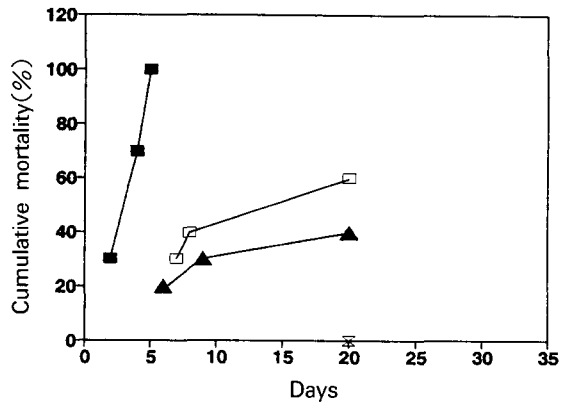


Fig. 3. Effect of fresh water concentration on the viral activity of infected shrimp.

■ : Control (Sea water 100%), □ : 50% (sea water 50% + fresh water 50%), ▲ : 75% (sea water 25% + fresh water 75%), ⊗ : 100% (fresh water 100%).

3. 면역증강제에 의한 효과시험

Peptidoglycan 투여구에서는 14일 이후부터 대조군이 폐사되기 시작하였다. 40일 이후에는 7일간격 투여구에서는 생존율이 100%였고, 7일중 2일 투여구는 84%의 생존율을 보였다. 대조구는 36%의 생존율을 보였다(Fig. 4). SPG 투여구에서는 25일 이후부터 대조군이 폐사하기 시작

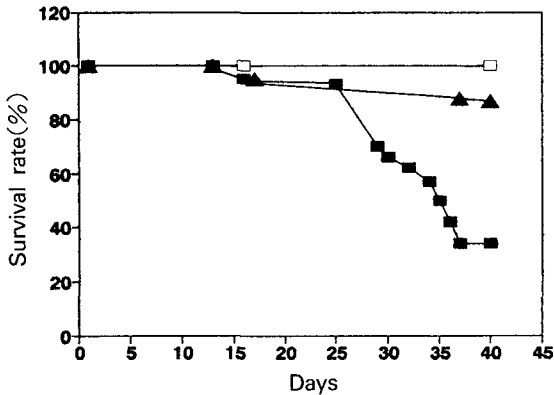


Fig. 4. Effect of peptidoglycan on the shrimp infected by prepared viral solution.
 ■ : Control (general feeding), □ : 7 by 7 days intermittent administration of peptidoglycan, ▲ : 2 days a week intermittent administration of peptidoglycan.

하였다. 40일 이후에는 2일간격 투여구에서는 생존율이 100%였고, 7일간격 투여구는 60% 생존율을 보였다. 대조구는 20%의 생존율을 보였다(Fig. 5).

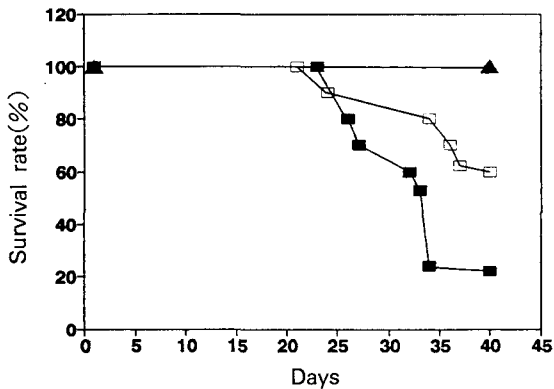


Fig. 5. Effect of schizophyllan on the shrimp infected by prepared viral solution.
 ■ : Control (general feeding), □ : 7 by 7 days intermittent administration of schizophyllan, ▲ : 2 days a week intermittent administration of schizophyllan.

4. 저질개선제 의한 효과

4.1 수질분석

각종 저질개선제를 투여하여 경시적으로 수질의 성분분

석을 실시한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. 용존산소의 경우, 대조구와 실험구 모두 전 시간대에 있어 6 ppm 이상을 유지하여 새우의 생육에 적당하였다. 염분도는 대부분 32.5~38.9% 범위로 다소 높았으나 새우의 생육에는 큰 영향을 미치지 않는 범위였다. 효소적 저질개선제와 생물적 활균제를 처리한 실험구의 경우, 9주후 염분도가 새우양식의 적정생육 염분도인 25.4~25.9%로 유지되었다. pH의 경시적인 변화는 7.8~8.0의 범위로, 해역 I 등급에 해당하였다. 화학적 산소요구량의 경시적 변화는 대조구의 경우, 해역 II 등급수준을 유지하고 있었으나, 화학적 및 효소적 저질개선제를 투여한 실험구는 모두 해역 I 등급수준의 수질을 유지하고 있어 수질이 개선되었음을 알 수 있었다. 그러나 예외적으로 생물학적 저질개선제를 투여한 경우, 9주후 화학적 산소요구량이 1.2 ppm까지 증가하여 해역 II 등급수준의 수질을 나타내었다.

4.2 저질분석

저질개선제를 첨가하였을때 나타나는 pH의 경시적인 변화는 Fig. 6에서 보는 바와 같다. 실험구 III을 제외한 모든 실험구 및 대조구에 있어서는 시간경과에 따른 pH의 변화는 pH 7.2~7.8의 범위에 있었으며, 화학적 저질개선제를 투여한 실험구 III의 경우, pH 8.0~8.8의 범위에 있었다. 저질개선제를 첨가하였을때 나타나는 화학적 산소요구량의 변화는 Fig. 7에서 보는 바와 같다. 대조구 1, 2의 경우, 시간경과에 따라 화학적 산소요구량의 증감현상이 나타났다. 즉 대조구 1의 경우, 3주후에는 10.2 ppm이 되었으나, 6주후에는 2 ppm으로 감소하였으며, 9주후 다시 15.1 ppm으로 증가하였다. 대조구 2의 경우는 6.8, 5.6, 11.9 ppm으로 변동하는 특이한 현상을 보여주었다. 저질개선제를 첨가하였을때 나타나는 강열감량의 변화는 Fig. 8에서 보는 바와 같다. 효소적, 생물적 저질개선제를 투여한 실험구 4, 5의 경우, 3주까지 강열감량이 낮았으나 그 이후에는 증가하였다. 그러나 화학적 저질개선제를 투여한 실험구 3의 경우, 전체적으로 강열감량이 낮아지며, 대조구 1, 2에서는 강열감량이 전반적으로 높았다. 저질개선제를 첨가하였을 때 나타나는 총황화물의 변화는 Fig. 9에서 보는 바와 같다. 저질에 존재하는 총황화물은 새우의 세포내 호흡에 유독작용을 일으키는 것으로 알려져 있다. 대조구 1, 2의 경우, 전반적으로 0.09~0.14 mg/g의 비교적 높은 농도를 나타내었다.

Table 1. Water quality in experiment groups

Time (week)	Experiment group	DO (ppm)	pH	Salinity (%)	COD (ppm)	NO ₃ -N (ppm)	NO ₂ -N (ppm)	NH ₄ -N (ppm)	PO ₄ -P (ppm)	No. of Killed shrimp
0	I	7.5	8.0	34.8	0.1	20.6	0.2	9.9	0.7	0
	II	5.9	8.0	35.3	0.2	21.6	0.8	17.7	0.7	0
	III	7.2	8.0	34.7	0.3	14.3	0.3	11.2	1.3	0
	IV	6.4	7.8	32.4	0.9	16.8	4.7	16.1	1.9	0
	V	6.5	7.9	27.3	2.3	9.9	0.6	14.2	0.7	0
3	I	6.2	7.9	38.7	1.2	16.3	2.8	53.8	1.2	10
	II	7.2	8.0	37.4	1.0	22.6	7.3	45.2	1.8	5
	III	6.4	7.8	32.8	0.6	28.2	10.8	32.6	4.9	0
	IV	6.6	7.8	32.5	0.9	52.1	11.1	43.9	1.4	3
	V	6.5	7.8	35.1	1.2	84.8	11.7	38.2	2.2	5
6	I	7.2	8.0	37.3	2.3	45.9	10.9	65.5	3.2	32
	II	7.0	8.0	38.9	1.8	61.2	6.6	44.9	1.1	12
	III	5.7	8.0	35.1	0.4	6.2	4.9	16.7	1.3	1
	IV	6.3	7.8	37.9	0.3	22.2	11	18.6	2.7	7
	V	7.2	8.0	36.3	0.9	62.1	1.9	10.9	2.4	9
9	I	7.1	8.0	34.7	2.6	11.4	5.1	63.5	0.5	45
	II	7.5	8.0	34.7	2.0	9.6	0.2	46.2	0.6	15
	III	7.4	8.0	34.7	0.1	18.5	0.2	6.6	0.6	2
	IV	7.4	8.0	25.9	0.6	9.9	0.2	16.8	0.4	12
	V	7.6	8.0	25.4	1.2	6.9	0.1	13.5	0.3	13

I : Sediment+feedstock (control I), II : Sediment+SPG (control II), III : Mg(OH)₂+SPG, IV : SKK 200+SPG, V : Argon+SPG.

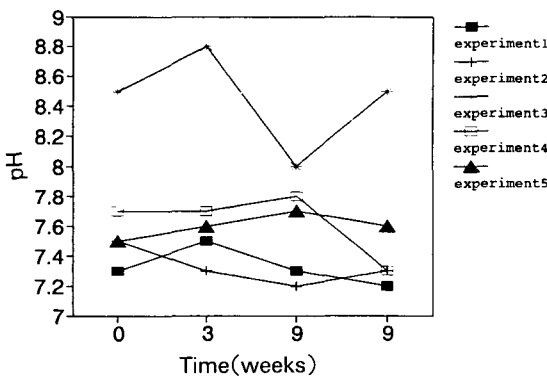


Fig. 6. The change of pH in the sediment by experiment groups.

Experiment 1 : sediment+feedstock (control I), experiment 2 : sediment+SPG (control II), experiment 3 : Mg(OH)₂+SPG, experiment 4 : SKK 200+SPG, experiment 5 : Argon+SPG.

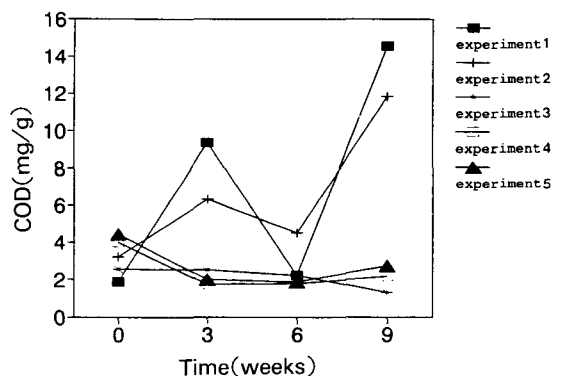


Fig. 7. The change of COD in the sediment by experiment groups.

Experiment 1 : sediment+feedstock (control I), experiment 2 : sediment+SPG (control II), experiment 3 : Mg(OH)₂+SPG, experiment 4 : SKK 200+SPG, experiment 5 : Argon+SPG.

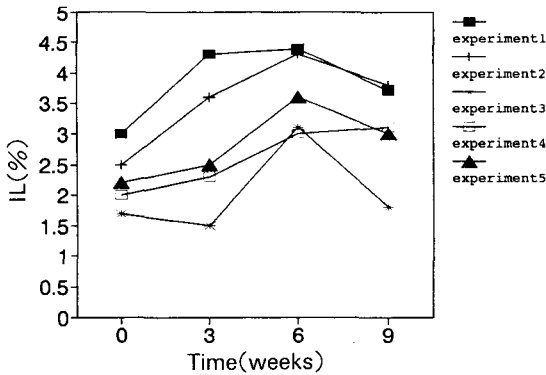


Fig. 8. The change of IL in the sediment by experiment groups.

Experiment 1 : sediment+feedstock (control I), experiment 2 : sediment+SPG(control II), experiment 3 : Mg(OH)₂+SPG, experiment 4 : SKK 200+SPG, experiment 5 : Argon+SPG.

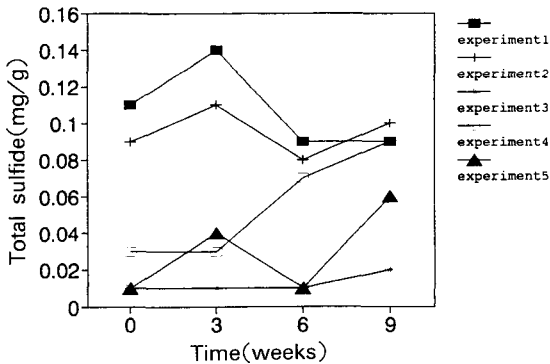


Fig. 9. The change of total sulfide in the sediment by experiment groups.

Experiment 1 : sediment+feedstock (control I), experiment 2 : sediment+SPG(control II), experiment 3 : Mg(OH)₂+SPG, experiment 4 : SKK 200+SPG, experiment 5 : Argon+SPG.

고찰

바이러스의 병원성을 약화시키는 조건을 찾기 위해 염소 및 요오드를 사용하여 살균효과 시험을 행하였고 담수를 이용한 효과시험도 실시하였다. 염소처리 및 담수처리로 병원성이 상실되었다. 그러나 요오드처리시 살균효과가 없었는데, 이러한 결과는 25 ppm이상의 요오드에서 살균효과

를 가지는 것으로 보고된 것과는 다른 결과이다. 이와 같은 병원성 약화에 대한 조건이 차이점을 나타내는것은 지역마다 바이러스가 특이 저항성을 나타내기 때문이라 사료되었다¹⁰⁾. 담수에 의한 병원성 약화는 아직 알려진 바가 없으며 그 기작도 정확하지 않다. 담수 100%에서는 새우가 순치되어 생존하는데 어려움이 많을 것으로 사료되며, 담수유입에 의한 수생환경의 변화 또한 새우의 성장에 영향을 줄 것으로 사료되었다. 새우의 저항성을 높이는 시험을 peptidoglycan, schizophyllan의 면역증강제를 투여하여 실시한 결과, 새우의 식균세포의 활성을 촉진시켜 저항성을 높여주는 것으로 사료되었다¹¹⁾. 양식장 환경도 양식새우의 질병 발생에 밀접한 관련을 가지고 있다. 새우의 주 서식지인 저질의 개선을 위해 각종 개선제를 투여하고 그 효과를 검토한 결과 모든 실험구에 있어서 폐사된 새우의 수는 대조구보다 적어 각종 저질개선제의 투여는 어느정도 수질개선 효과가 있음을 알 수 있었다.

요약

염소, 요오드, 담수처리에 의한 바이러스 병원성 약화 시험결과, 염소 5 ppm이상에서, 담수 50% 이상에서 살균효과를 나타내었으나 요오드는 효과가 없었다. Peptidoglycan, schizophyllan의 면역증강 효과를 시험한 결과, 각각 7일간격 투여구와 2일간격 투여구에서 생존율이 대조구에 비해 높게 나타났다. 화학적, 효소적, 생물활균제를 투여하여 수질 및 저질 개선시험결과 화학적 개선제, Mg(OH)₂의 효과가 수질, pH, 강열감량 부분에서 효과가 가장 컸으며, 특히하게 효소적 개선제는 총 황화물의 농도를 약간 높이는 것으로 나타났다.

참고 문헌

1. 김진호, 이종화 : 보리새우류 양식, 아카데미서적(1993).
2. Anonymous Asian Shrimp News, 2nd Quarter, No 14, Bangkok(1993).
3. Frelier, P. F, Loy, J. K. and Kruppenbach, B. : Transmission of necrotizing hepatopancreatitis in *Penaeus vannamei*. *J. Invertebr. Pathol.*, 61, 44(1993).
4. Kimura, T., Yamano, K., Nakano, H., Momoyama, K., Hiraoka, M. and Inouye, K. : Detection of Pe-

- naeid Rod-shapes DNA virus (PRDV) by PCR. *Fish Pathol.*, 31, 93(1996).
5. Brock, J. A. and Lightner, D. V. : Diseases of Crustacea, Disease caused by microorganisms, In Disease of marine animals, Vol .3, pp. 245-349, John Wiley & Sons, New York(1990).
 6. Fegan, T. W., Flegel D. F., Kongsom, S., Vuthikornudomkit. S., Sriurairatana, S., Boonyaratpalin, S., Chantanachookhin, C., Vickers, J. E. and Macdonald, O. D. : Occurrence, diagnosis and treatment of shrimp disease in Thailand. In Disease of cultured penaeid shrimp in Asia and the United States. pp. 57-112, Oceanic Institute, Honolulu(1992).
 7. Lightner, D. V., Redman, R. M. and Bell, T. A. : Observations on the geographic distribution, pathogenesis and morphology of the baculovirus from *Penaeus monodon* Fabricus, *Aquaculture*, 32, 209 (1983).
 8. Lu, C. C., Tang, K. F. J., Kou, G. H. and Chen, S. N. : Development of a *Penaeus monodon*-type baculovirus (MBV) DNA probe by polymerase chain reaction and sequence analysis, *J. Fish Diseases*, 16, 551(1993).
 9. 환경오염공정시험법, 동화기술(1993).
 10. Momoyama, K. : Virucidal effect of some disinfectants on baculoviral mid-gut gland necrosis (BMN) virus, *Fish Pathol.*, 24, 47(1989).
 11. Tsing, A. and Bonami, J.R. : A new virus disease in the shrimp *Penaeus japonicus*, *Abstracts of Premier Colloque International de Pathologie en Aquaculture Marine*, France(1984).