

염소, 요오드, 일광, 건조 및 담수처리에 의한 White Spot Baculovirus(WSBV)의 불활성화

허문수[†] · 손상규*

제주대학교 해양생산과학부, *국립수산진흥원 진해내수면연구소

WSBV를 염소소독 효과를 조사하기 위하여 유효농도 5, 10, 30 ppm의 차아염소산나트륨 용액을 처리한 결과 전혀 폐사가 일어나지 않았으나, 대조구에서는 전량 폐사되었다. 포비돈 요오드 10, 20, 30 ppm에서는 불활성화를 나타내지 않았는데 이는 유기물의 다량함유나 요오드 독성에 의해 시험새우가 폐사할 가능성이 있다. 일광소독에서는 2, 4시간 처리한 시험구에서는 폐사가 일어나지 않으므로 WSBV를 불활성화 시키는 것 같다. 건조처리에서는 1, 2, 3시간 처리한 시험구에서는 WSBV가 불활성화가 되었다. 담수처리에서는 담수 60% 첨가한 시험구(비중 1.015)에서 효과가 가장 크게 나타났다.

Key words : WSBV, Chlorine, Iodine, Sunlight exposure, Drying, Fresh water

우리나라 새우양식장에서 1993년도부터 매년 발병하여 양식산 새우를 대량폐사 시키고 있는 WSBV에 의한 바이러스 질병은 특성상 질병이 감염된 방역대책시술이 시급히 개발되어야 하나, 바이러스 질병은 특성상 질병이 감염된 후에는 적절한 치료대책이 없기 때문에 바이러스 질병감염을 사전에 예방하거나 사육환경을 개선하든지 면역증강제를 투여하여 양식생물의 항병력을 증대시켜 바이러스 감염으로 인한 피해를 최소화시키는 것이 실질적인 방역대책이 될 수 있다(허, 1997). 본 바이러스에 의한 질병감염을 사전에 예방하는 방법으로서 WSBV를 보균하지 않은 새우어미로부터 바이러스에 감염되지 않는 건강한 새우종묘를 생산하여 양식하여야 하고, 또한 WSBV를 보균한 서식생물이 서식하고 있는 양식장에 대해서는 양식장을 잘 소독하는 일일 것이다. 이를 위해서 우선적으로 실험실내에서 약제, 일광, 건조, 및 담수처리에 의한 WSBV에 대한 불활성화 효과시험을 실시하였다.

재료 및 방법

염소소독

평균해수 95 ml와 WSBV액 5 ml를 삼각 플라스크에 넣고 소정의 차아염소산나트륨(유효염소 6%

함유)용액을 첨가해서 염소유효 농도를 5, 10, 30 ppm으로 조정하고 실온에서 24시간동안 반응시킨 다음 0.1N 티오 황산나트륨 용액으로 중화시켰다. 이어서 중화시킨 WSBV액 전량을 대하(*Penaeus chinensis*, 평균체중 7.5 g) 10미씩을 수용한 20 l 아크릴 수조에 넣고 수온은 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 30일간 사육하면서 폐사유무를 관찰하였으며 시험기간중 수질악화를 방지하기 위해 감염후 2일째부터 매일 사육수량의 20%씩을 교환해 주고 새우배합사료를 소량씩 급이하였다. 그리고 차아염소산나트륨 용액을 첨가하지 않은 WSBV액만의 시험구를 대조구로 하였다.

요오드소독

포비돈 요오드(유효 요오드 0.7%함유)로 유효 요오드 농도를 5, 10, 30 ppm으로 조정하여 평균해수 50 ml에 WSBV액 5 ml를 넣고 실온에서 1시간동안 방치한 후 처리한 WSBV액 전량을 대하(평균체중 7.5 g) 10미씩을 수용한 20 l 아크릴 수조에 넣고 수온은 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 30일간 사육하면서 폐사유무를 관찰하였다. 그리고 요오드 용액을 첨가하지 않은 WSBV액만의 시험구를 대조구로 하였다.

일광소독

WSBV액 5 ml를 지름 87 mm인 유리 샬레에

[†]Corresponding author

넣고 직사광선이 드는 옥상에서 수평진탕기를 저속교반하면서 직사광선(96. 8. 14일; 14:00~ 16:00)을 2, 4시간동안 쪼인 후 WSBV액 잔량을 대하(평균체중 7.5 g) 10미씩을 수용한 20l 아크릴 수조에 넣고 수온 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 30일간 사육하면서 폐사유무를 관찰하였다.

건조처리

WSBV액 4 ml를 멸균건조 여과지(직경 20 cm) 1매씩을 고르게 적하여 흡착시킨 후 클린벤치내에서 1, 2, 3시간동안 통풍하여 건조시킨 다음 해수 1000 ml를 넣은 비이커에 여과지를 잘라서 넣고 마그네트바로 교반하고 여과지를 제거한 후 대하(평균체중 7.5 g) 10미씩을 수용한 20l 아크릴수조에 넣어서 수온 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 30일간 사육하면서 폐사유무를 관찰하였다.

그리고 여과지의 건조 정도를 알기 위해 클린벤치내에서 1, 2, 3시간동안 통풍한 후 바로 여과지 무게를 측정하여 수분 함유율을 계산하였으며 WSBV액을 여과지에 흡착하고 건조시키지 않은 실험구를 대조구로 하였다.

담수처리

담수를 첨가하여 해수비율을 1.010(60% 담수첨가), 1.015(40%), 1.020(20%), 1.025(0%)으로 조정된 해수 200 ml씩에 WSBV액 5 ml를 넣고 항온 인큐베이트(20°C) 내에서 5일간 정치한 후 WSBV액 잔량을 대하(평균체중 7.5 g) 10미씩을 수용한 20l 아크릴 수조에 넣고 수온 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 30일간 사육하면서 폐사유무를 관찰하였다.

결과 및 고찰

염소소독

WSBV액을 차아염소산나트륨 용액에 24시간 처리한 후 침지감염에 의한 새우의 누적폐사율로 염소소독 효과를 조사한 결과, Table 1에서 처럼 WSBV액은 유효농도 5, 10, 30 ppm의 차아염소산나트륨 용액에서 전혀 폐사가 일어나지 않았으나, 대조구에서는 새우의 두흉갑 및 체표의 큐티클층에 흰반점이 형성되면서 전량폐사하였고, 또한 前田(1997)도 *Penaeus rod shaped DNA virus* (PRDV)를 차아염소산나트륨 용액 5 ppm에서 10분

Table 1. Virucidal effect of sodium hypochlorite (NaOCl) on WSBV

Conc. (ppm)	No. of shrimp tested	No. of shrimp died	Mortality (%)
30	10	0	0
10	10	0	0
5	10	0	0
0	10	10	100

Table 2. Virucidal effect of povidone-iodine on WSBV

Conc. (ppm)	No. of shrimp tested	No. of shrimp died	Mortality (%)
30	10	10	100
20	10	10	100
10	10	10	100
0	10	10	100

간 처리하든지 1 ppm에서 30분간 처리하면 바이러스가 실패된다고 하였다. 따라서 WSBV는 염소소독에 의해서 쉽게 불활화가 되므로 바이러스에 오염된 새우양식장을 염소소독하면 방역효과가 있을 것으로 생각된다.

요오드소독

바이러스 감염을 예방하기 위해 어류 수정란 소독에 널리 사용되는 요오드 용액을 이용해서 WSBV 소독효과를 조사하였다. 본 실험에서는 WSBV액을 유효농도 10, 20, 30 ppm의 포비돈 요오드액에 1시간동안 처리한 후 침지감염에 의한 새우의 누적폐사율을 조사한 결과, Table 2에서 처럼 요오드 용액을 처리한 시험구에서 감염 후 18일 이내에 전량 폐사하였고, 또한 대조구에서도 전량 폐사가 일어나 요오드 소독에 의해서 바이러스가 실패되지 못했다. 그렇지만 前田(1997)의 실험 결과에 의하면 PRDV를 유효농도 10 ppm의 요오드용액(포비돈 요오드)에서 30분간 처리하면 바이러스가 쉽게 불활화된다고 하였고, 또한 본 바이러스(WSBV)와 유사한 바이러스인 *Baculoviral mid-gut necrosis*(BMN) 바이러스도 Momoyama(1989)의 실험결과에 의하면 유효농도 25 ppm의 요오드 용액에 10분간 처리하면 바이러스가 불활화 한다고 함에도 불구하고, 본 시험에서는 유효농도 30 ppm의 요오드 용액에서 1시간동안 처리하여도 바

Table 3. Virucidal effect of sunlight exposure on WSBV

Exposure time (hr)	No. of shrimp tested	No. of shrimp died	Mortality (%)
4	10	0	0
2	10	0	0
0	10	10	100

이러스의 실험효과가 나타나지 않았다. 일반적으로 요오드 용액은 유기물 함량이 많을 때 소독효과가 급격히 저하되므로 본 실험에 사용한 WSBV액이 순수분리된 바이러스로 제조한 것이 아니고 바이러스에 감염된 새우 두흉부 조직을 마쇄하여 제조한 것으로서 바이러스액에는 유기물질이 다량 함유되어 있기 때문에 요오드 소독효과가 급격히 저하되었거나 아니면 요오드 독성에 의해서 새우가 전량 폐사도 유추해 볼수있다.

일광소독

새우양식장에서는 바이러스에 오염된 저질을 소독하기 위해 양식장 바닥을 건조시킨 후 경운하여 일광에 노출시키므로써 바이러스 소독효과가 있다는 점을 착안하여 본 실험에서 태양광선이 강한 여름철(1996년 8월 14일 14:00~16:00)에 WSBV액을 태양광선에 노출시킨 후 바이러스의 불활화 효과시험을 관찰한 결과, Table 3에서와 같이 태양광선에 WSBV액을 2, 4시간동안 노출시킨 시험구에서는 시험기간동안 전혀 폐사가 일어나지 않았으나 대조구에서는 전량폐사하였고, 또한 본 실험과 유사하게 Momoyama(1989)가 BMN 바이러스를 이용하여 태양광선 노출시간에 따른 바이러스의 불활화 효과시험을 한 결과, BMN 바이러스는 직사광선에 2시간 노출(자외선 조사량 $1.2 \times 10^6 \mu W \cdot sec/cm^2$)하면 완전 실험된다고 하였다. 따라서 WSBV를 태양광선에 충분히 노출하면 실험효과가 있으므로 바이러스에 오염된 새우양식장을 건조하여 태양광선으로 소독하여야 할 것으로 생각된다.

건조처리

WSBV액을 흡착시킨 여과지를 클린벤치내에서 건조시켜 바이러스의 불활화 효과시험을 조사한 결과, Table 4에서와 같이 WSBV액 1, 2, 3시간 건조(흡수율 5.75~7.41%)시킨 시험구에서는 시험

Table 4. Virucidal effect of drying on WSBV

Drying time (hr)	Water content in filter paper (%)	No. of shrimp tested	No. of shrimp died	Mortality (%)
3	5.75	10	0	0
2	6.01	10	0	0
1	7.41	10	0	0
0	100	10	10	100

Table 5. Virucidal effect of freshwater on WSBV

Freshwater content (%)	Specific gravity	No. of shrimp tested	No. of shrimp died	Mortality (%)
60	1.010	10	0	0
40	1.015	10	4	40
20	1.020	10	5	50
0	1.025	10	10	100

기간동안 폐사는 전혀 일어나지 않았으나, 바이러스를 건조시키지 않은 대조구에서는 시험기간동안 폐사율이 100%로 나타났고, 또한 前田도 PRDV를 건조시키면 바이러스가 실험된다고 하였으므로 본 바이러스는 건조에 의해서 실험이 가능함을 알 수 있다. 그렇지만 일반적으로 바이러스는 건조상태에서 비교적 안정하여(近藤, 1973), 누에의 NP virus는 사례내에서 건조시킨 상태에서 42일 이후에도 병원성을 유지하고 있으며(荒武等, 1985), 보리새우의 감염조직내의 BMNV는 동결 건조할 경우 7년 이상 활성을 유지한다고 함을 고려해 볼 때, 본 실험에서 건조로 인해서 바이러스가 쉽게 실험된 것은 건조시 수분증발에 따른 염분농도의 상승이 바이러스 실험에 관여하지 않았나 생각되어진다. 따라서 본 실험결과로 새우양식장의 사육기구 등을 충분히 건조시키면 바이러스 소독효과가 있을 것이다.

담수처리

우리나라 서해안 새우양식장중에서 담수 유입 영향을 많이 받는 지역의 새우양식장에서는 타지역에 비해 바이러스 감염으로 인한 피해가 적다는 사실에 착안하여 담수 첨가량에 따른 새우 바이러스의 불활화 효과시험을 실시한 결과, Table 5에서

와 같이 담수를 60% 첨가한 시험구(비중 1.010)에서는 시험기간(30일) 동안 전혀 폐사가 일어나지 않았으나, 40% 시험구(비중 1.015)에서는 감염 후 22일째부터 폐사가 일어나 실험기간동안 누적폐사율은 40%였고, 20% 시험구(비중 1.020)에서는 감염 후 19일째부터 폐사가 일어나 시험기간동안 누적폐사율은 50%였다. 그리고 담수를 첨가하지 않은 대조구(비중 1.025)에서는 감염 후 13일째부터 폐사가 일어나기 시작했고 감염 후 24일째 전량 폐사하였다. 따라서 본 실험결과에 의하면 새우 바이러스는 담수를 60%이상 첨가한 저비중 해수(1.010)에서 불활화되지만 이 농도의 저비중 해수에서 새우를 장기간 사육하면 생리적 장애에 의해 새우의 성장이 저하되거나 병에 대한 저항력이 저하될 우려가 있기 때문에 이에 대한 실험이 추후 수행되어야 할 것이다.

사 사

본 연구는 1995년 농림수산부에서 시행한 현장 애로과제의 연구비 지원으로 수행되었으므로 감사의 마음을 전합니다.

참고문헌

- 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. Organisms*, 23: 165-173, 1995.
- Fulks, W. and Main, K. L.: Introduction. In : Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States. The Oceanic Institute, pp. 5-51, 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 hematopoietic necrosis - pathology of the shrimp explosive epidemic disease. Yellow Sea Fishery research Institute, Qingdao, P. R. Cina, 16: 1-10, 1994.
- 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.
- Kimura, T., Nakano, H., Momoyama, K., Yamano, K. and Inouye, K.: Purification of the rod-shaped nuclear virus(RV-PJ) from kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. *Fish Pathol.*, 30(4): 287-288, 1995.
- 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. Organisms*, 25: 133-141, 1996.
- 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.
- 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., Momoyama, K., Hiraoka, M., Inouye, K. and Oseko, N.: Mass mortalities of cultured kuruma shrimp in Japan in 1993: epizootiological survey and infection trials. *Fish Pathol.*, 29, 135-139, 1994.
- Shigueno, K.: Shrimp culture in Japan. Association for International Technical Promotion, pp. 69-153, 1975.
- Takahashi, Y., Itami, T., Kondo, M., Maeda, M., Fujii, R., Tomonaga, S., Supamattaya, K. and Boonyaratpalin, S.: Electron microscopic evidence of bacilliform virus infection in kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*). *Fish Pathol.*, 29(2): 121-125, 1994.
- 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, C. H., Lo, C. F., Leu, J. H., Chou, C. M., Yeh, P. Y., Hou, H. Y., Tung, M. C., Chang, C. F., Su, M. S. and Kou, G. H.: Purification and genomic analysis of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) of *Penaeus monodon*. *Dis. of Aquat. Organisms*, 23: 239-242, 1995.
- Wang, K.: Penaeid Culture. China Aquaculture Company, Beijing, China, 1983.
- 挑山和夫: 消毒劑によるバキキュロウイルス性中腸腺壊死症(BMN)ウイルスの不活化效果. *魚病研究*, 24(1): 47-

- 49, 1989.
- 挑山和夫. : 박시우바이러스성중腸腺壞死症바이러스박시우바이러스 性中 腸腺壞死症(BMN)바이러스에테르, 食鹽濃度およびpHに對する抵抗性, 魚病研究, 24(3): 175-177, 1989.
- 挑山和夫: 紫外線, 日光, 熱および乾燥による박시우바이러스성중腸腺 壞死症(BMN)바이러스의不活化. 魚病研究, 24(2): 115-118, 1989.
- 挑山和夫: 박시우바이러스성중腸腺壞死症바이러스(BMNV)感染組織 および海水中での活性維持. 魚病研究, 24(3): 179-181, 1989.
- 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.
- 隆島史夫, 羽生 功: 水族繁殖學. 水産養殖學講座 第4巻, pp. 439. 1984.
- 松居暢夫. :クルマエビ養殖實務. 1982.
- 日本栽培業協會: さいばい叢書 No.1クルマエビ栽培漁業の手引き. 306 pp. 37-306, 1986.
- 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.
- 허문수: 양식새우 *Penaeus chinensis*와 *Penaeus japonicus*의 바이러 스성 질병. 부산대학교 박사학위 논문, 1997.
- 허문수, 손상규, 심두생, 김진우, 박명애, 이주석, 최동림, 정승희, 김영진, 오명주: 양식새우(*Penaeus chinensis*)에서의 white spot baculovirus의 분리 및 특성. 한국어병학회지, 13: 7-13, 2000.

Inactivation of White Spot Baculovirus(WSBV) by Chlorine, Iodine, Sunlight Exposure, Drying and Fresh Water

Moon-Soo Heo and Sang-Gyu Sohn*

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

**Chinhae regional Inland Fisheries Research Institute, NFDRI, Chinhae*

In order to investigate the effect of chlorine disinfectant against white spot baculovirus (WSBV), 5, 10, or 30 ppm of sodium hypochlorite (NaOCl) was treated to the WSBV-infected shrimp, *Penaeus chinensis*. In contrast with the non-treated control, no shrimp was dead after of sodium hypochlorite treatment. This result indicated that WSBV was inactivated by chlorine treatment. No inactivation of WSBV was observed by 10, 20, 30 ppm of povidon-iodine treatment. WSBV was also inactivated by 2, 4 hr sunlight exposure and by 1, 2, 3 hr drying. WSBV was inactivated very effectively by addition of fresh water on sea water.

Key words : WSBV, Chlorine, Iodine, Sunlight exposure, Drying, Fresh water