

대하 및 흰다리새우 노지양성시 WSSV
(white spot syndrom virus), *Vibrio* sp. 감염단계별
RNA/DNA 농도 및 비율의 변화

김수경* · 김종식¹ · 김봉래¹ · 도정완² · 김명석² · 박명애² · 장인권¹

*동해수산연구소, 국립수산과학원, 30-6, 강원 강릉
¹갑각류연구센터, 국립수산과학원, 357-945, 충남 태안
²병리연구팀, 국립수산과학원, 408-1, 경남 부산

서론

우리나라 서해안 축제식 양식의 대표종으로는 대하, *Fenneropenaeus chinensis*,를 들 수 있으며 최근들어 중남미 태평양 연안에 서식하고 있는 흰다리새우, *Litopenaeus vannamei*를 2003년도부터 도입하여 2004년에는 100톤가량 생산을 하였다(김, 2006). 매년 반복되는 바이러스성 질병에 의하여 대하의 양식 생산성 감소를 보이고 있으며 전세계에 걸쳐 양식기반을 구축한 흰다리새우의 확산이 예견되고 있으나 흰반점, 간체장 및 타우라바이러스등 병원균에 관한 다양한 연구가 진행되었을 뿐(Lightner et al., 1998; Witteveldt et al., 2004) 질병발생환경 및 감염에 따른 새우의 생리적인 변화에 관한 연구가 부족한 실정이다(Yoganandhan et al., 2003). 본 연구에서는 다양한 해양생물의 건강상태를 파악하는데 사용되는 RNA/DNA정량분석 및 비율을 지표(condition index)로 하여 바이러스 감염단계별, 비브리오균 감염유무에 따른 상관관계를 분석하였다.

재료 및 방법

경기도, 충청도, 전라남북도에 걸쳐 각 양식장을 순회하며 총 800마리의 대하(체중 2.9~3.8g) 및 흰다리새우(체중 2.7~4.8g) 시료를 수거하고(2005. 7. 5~30일) 두흉갑의 반점무늬를 현미경으로 검정하여 비감염, 감염전기, 중기, 말기로 분류하였다. 비브리오균의 감염여부는 시료의 간체장을 일부 절취하여 TCBS배지에 배양한 후 감염과 비감염으로 구별하였다. 각각의 시료를 부위별(전장, 중장, 간체장)로 분리, 동결건조하여(-56℃, 24시간) 무게를 측정하고 TE-SDS (용액 400 ul에 마쇄를 하여 원심분리(4℃, 1시간)한 후, 상등액을 50 ul씩 microplate에 분주하여 extinction 340, emmission 595 nm에서 형광광도계(Fluoroskan Ascent FL, Thermo사, Germany)로 RNA와DNA양을 측정 하였으며 20ul RNase를 첨가하여 RNA를 분해한 후 그 차이를 DNA양으로 계산하였다(Clemmesen, 1993).

결과 및 요약

그림 1에서 보면 대하의 평균 DNA농도는 1.24~1.46 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 흰반점바이러스 감염단계와 상관없이 유사한 값을 보였고 *Vibrio* sp. 감염군에서 또한 1.22~1.32 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 로 통계학적 유의성을 볼 수 없었다. RNA의 농도는 WSSV감염단계 중 말기를 제외하고는 *Vibrio* sp. 감염에 영향을 받지 않고 유사한 값을 나타냈다(2.6~3.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$, t-test $p < 0.05$, 유의성 없음). RNA의 비율을 보면 WSSV 감염말기와 *Vibrio* sp. 감염군에서 농도가 1.8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 모든 개체군에 대하여 통계학적 유의성을 보였다(t-test, $p < 0.05$). R/D의 경우는 WSSV감염말기에서는 *Vibrio* sp. 감염군과(1.5) 비감염군(1.8) 사이에는 통계학적으로 유의성이 없었으나 다른 개체군들과 비교시 유의성을 보였다.

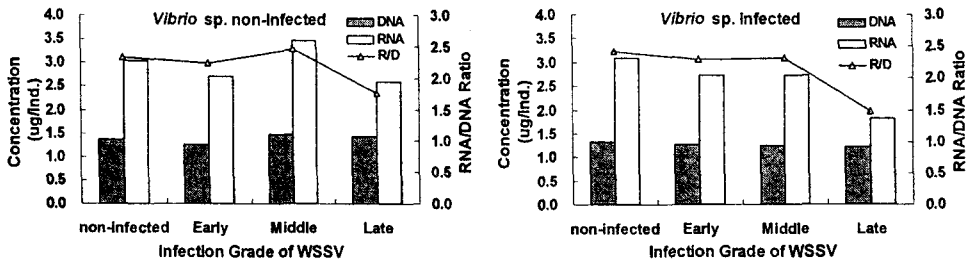


그림 1. 대하, *Fenneropenaeus chinensis*,의 흰반점바이러스 발병단계 및 비브리오군 감염여부의 따른 RNA, DNA 농도 및 비율변화

그림 2의 흰다리새우의 경우 DNA농도는 WSSV감염단계와 *Vibrio* sp. 감염유무와는 상관없이 1.22~1.46 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 로 근사한 값을 보였다(유의성 없음, t-test, $p < 0.05$). RNA농도는 감염단계가 진행될수록 낮은 값을 보였으나 *Vibrio* sp. 복합감염의 경우 초기와 중기에는 비감염군과 차이가 없었고(3.0~3.36 $\mu\text{g}/\text{mg}$) 중기와 말기에 이르러 급격한 감소를 하고 통계학적으로 유의성을 보였다(각각 2.25 와 1.52 $\mu\text{g}/\text{mg}$, t-test, $p < 0.05$). R/D의 비율 또한 RNA와 같은 양상으로 *Vibrio* sp. 감염군에서 WSSV 중기와 말기에 1.34와 1.04의 낮은 비율로 타 비교군과의 유의성을 나타냈다(t-test, $p < 0.05$).

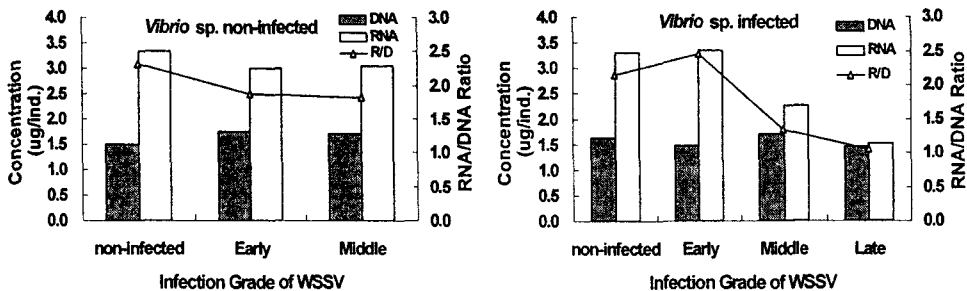


그림 1. 흰다리새우, *Litopenaeus vannamei*,의 흰반점바이러스 발병단계 및 비브리오 감염여부의 따른 RNA, DNA 농도 및 비율변화

요약하면 대하의 경우 WSSV감염말기에 이르러 *Vibrio* sp. 감염유무에 따라 급격한 RNA 및 R/D비율의 감소를 보인 반면, 흰다리새우의 경우 WSSV와 *Vibrio* sp.의 복합 감염의 경우 증기에서부터 낮은 RNA 농도 및 R/D의 비율을 보임으로서 바이러스 및 세균의 영향을 받아 낮은 건강도를 나타내는 것으로 나타났다.

참고문헌

- 김수경, 김대현, 김봉래, 김종식, 조영록, 서형철, 김종화, 한창희, 장인권, 2006. 딱이섭취 후 흰다리새우, *Litopenaeus vannamei* (Boone) 소화기관의 trypsin 활성 및 배설물. 한국양식학회, 19(1):1-6
- Clemmesen, C., 1993. Improvements in the fluorimetric determination of the RNA and DNA content of individual marine fish larvae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 100: 177-183.
- Lightner, D. V., K. W. Hasson, B. L. White and R. M. Redman, 1998. Experimental infection of white spot syndrome of western Hemisphere penaeid shrimp with Asian White spot syndrome virus and Asian yellow head virus. J. Aquat. anim. Health 10: 271-281.
- Witteveldt, J., J. M. Vlak and M. C. W. van Hulst, 2004. Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus using a WSSV subunit vaccine. Fish & Shellfish Immunol. 16: 571-579.
- Yoganandhan, K., s. Thirupathi and A. S. S. Hameed, 2003. Biochemical, physiological and hematological changes in white spot syndrome virus-infected shrimp, *Penaeus indicus*. Aquaculture 221: 1-11.