

수입 냉동새우에서 검출된 WSSV의 유전학적 근연관계 조사

최소원 · 백은진 · 최지영 · 태원준 · 김형순 · 박우성 · 김민재 · 김광일[†]

부경대학교 수산생명의학과

Genetic relatedness of white spot syndrome virus (WSSV) from imported frozen shrimp

So Won Choi, Eun Jin Baek, Ji Yeong Choi, Won Jun Tae, Hyung Soon Kim,
Woo Seong Park, Min Jae Kim, Kwang Il Kim[†]

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan, 48513, Republic of Korea

In this study, of the imported shrimps between 2017 and 2020, we investigated white spot syndrome virus (WSSV), covert mortality nodavirus (CMNV) and decapod iridescent virus 1 (DIV-1). Of the imported shrimps (a total of 29 groups), WSSV was detected as 31% (9/29) by nested PCR assay. And CMNV and DIV-1 were not identified in this study. To investigate the genetic relatedness of WSSV identified from imported shrimp, VR 14/15 region showed WSSV genomic variable loci was compared with reference isolates. Among the nine WSSV-positive samples, VR 14/15 region was amplified in only a sample (20-CH-1 isolate, imported from China in 2020). And the 20-CH-1 isolate showed 99.8% identity with WSSV-IN-05-01 which was reported in India in 2005, suggesting that those of WSSV have been spread from India to China. Furthermore, although the pathogenicity of WSSV identified from frozen shrimp was not evaluated, the international trade of diseased frozen shrimps could be led to the potential risk of virus transmission.

Key words: Imported frozen shrimp, White spot syndrome virus, VR 14/15, Covert mortality nodavir, Decapod iridescent virus 1

서 론

전 세계 새우의 양식 생산량은 연간 지속적으로 증가하고 있으며(FAO, 2020), 이와 더불어 새우 양식 산업에서 전염병으로 인한 피해도 매년 보고 되고 있는 실정이다. 흰반점병(White spot disease; WSD)은 1992년 대만의 보리새우(*Kuruma shrimp*, *Penaeus japonicus*) 양식장에서 처음 보고 된 이후

(Chou et al., 1995) 1990년대 말까지 아시아 전역 과 미국을 포함한 전 세계로 빠른 속도로 확산되었으며 양식 새우에 대량 폐사를 유발하는 원인체로서 1990년부터 새우 양식 산업에 큰 피해를 야기 시켜왔다(Walker and Mohan, 2009; Flegel, 1997). 특히, WSD는 세계동물보건기구(World Organization for Animal Health; OIE)에서 지정한 질병(Diseases listed by the OIE)이며 (OIE, 2021) 국내에서는 「수산물품질관리법」에 따른 법정전염병으로 관리되어지고 있다.

전 세계적으로 국가 간의 수산물 교역이 증가하

[†]Corresponding author: Kwang Il Kim
Tel: +82-51-629-5946, Fax: +82-51-629-5938
E-mail: kimki@pknu.ac.kr

면서 기존에 보고되지 않았던 병원체가 수산물을 통해 수입 국가로 유입되고 유통·양식 등의 다양한 경로를 통해 병원체가 이동하면서 확산되고 있는 실정이다(조 등, 2019). 최근 중국에서는 새우에서 대량 폐사를 야기하는 covert mortality nodavirus (CMNV) 및 decapod iridescent virus 1 (DIV-1)의 검출 또는 감염이 보고되었으며 주변 국가로 병원체 확산이 이루어지고 있는 실정이다(Zhang *et al.*, 2014 ; Qiu *et al.*, 2017). 현재까지 국내에서는 CMNV, DIV-1에 대한 공식적인 발생 보고는 이루어지지 않았으나, 급성간췌장괴사증(acute hepatopancreatic necrosis disease, AHPND)이 아시아지역에서 발생한 이후 국내에서도 발생된 사례(Han *et al.*, 2020; Hwang *et al.*, 2020)를 고려할 때 CMNV, DIV-1은 활 또는 냉동·냉장 새우의 교역을 통해 국내로 유입될 가능성은 충분할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 주요 새우 생산 국가로부터 국내로 수입되는 냉동 새우에서 WSSV 및 신종 새우바이러스 2종(CMNV, DIV-1)에 대해 검출 여부를 조사하였다. 또한, 검출된 WSSV를 대상으로 WSSV genome의 variable region을 분석하여 유전학적 근연 관계를 조사하였다.

재료 및 방법

수입 냉동새우 시료

본 연구에서 분석에 사용된 시료는 8개 국가(아르헨티아, 에콰도르, 인도, 말레이시아, 태국, 베트남, 중국, 페루)에서 2017년 7월부터 2020년 11월 생산되어 국내로 수입 및 유통되는 흰다리새우(whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*; 28개 그룹; 2017년 16개, 2018년 4개, 2019년 2개; 2020년 6개) 및 보리새우(giant tiger prawn, *Penaeus monodon*; 1개 그룹; 2020년 1개)를 마트와 인터넷 쇼핑몰을 통해 구입하였다. 각 그룹 내 시료(15-30마리)에서 pleopod, abdominal muscle, hepatopancreas 조직을 적출하여 5마리씩 pooling 하였으며(29개 그룹, pooling 시료 149개), 분석 전 까지 -80°C에 보관하였다.

Nested PCR

각 pooling 시료(50 mg)에 proteinase K 20 µL (20 mg/mL; GeNet Bio, Korea)와 tissue lysis buffer 400 µL를 첨가하여 55°C에서 1시간 동안 반응 후 Patho Gene-spin™ DNA/RNA Extraction Kit (Intron bio, Korea)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 핵산(DNA, RNA)을 추출하였다. WSSV의 경우 OIE Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animal 방법(Lo *et al.*, 1996; OIE, 2021)에 따라 nested PCR을 수행하였다(Table 1). DIV-1는 Qiu *et al.* (2017)의 방법에 따라 DNA를 주형으로 nested PCR을 수행하였으며, CMNV의 경우 UltraScript 2.0 cDNA Synthesis Kit (PCR Biosystems, UK)를 이용하여 cDNA를 합성 후 cDNA를 주형으로 Zhang *et al.* (2014)의 방법에 따라 nested PCR을 수행하였다(Table 1). 증폭된 산물은 전기영동을 통해 virus specific amplicon의 증폭 여부를 관찰하였다. 또한, 새우 조직에서 추출된 DNA임을 확인하고자 decapod 18S rRNA 유전자를 증폭할 수 있는 decapod-specific primer set를 사용하여 PCR을 수행하였다(Table 1).

VR 14/15 region에 대한 염기서열 분석

Nested PCR 결과에서 WSSV 양성으로 확인된 시료를 대상으로 genome variable loci region 중 VR 14/15 region에 대한 염기서열 및 WSSV reference isolates와 상동성을 분석하였다. VR 14/15 region에 대한 nested PCR은 Piamsomboon *et al.* (2018)의 방법을 이용하였다. VR 14/15에 대한 PCR amplicon은 pGEM-T easy vector에 insertion 후 *Escherichia coli* DH5α에 transformation 하였다. 이후, yesP™ plasmid mini kit (Genes Gen, Korea)를 이용하여 plasmid DNA를 분리하였으며 ABI 3730 XL DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 유전학적 근연관계를 알아보하고자 WSSV 발생 국가에서 보고된 WSSV VR 14/15 염기서열을 참조 서열들과 함께 MEGA (ver. 11) 프로그램을 이용하여 MUSCLE alignment 후 염기 서열 내 insertion and deletion (InDel) nucleotide sequence를 분석하였다.

Table 1. Primers used in this study

Target	Genomic regions	Primers	Sequence (5' - 3')	Amplicon size (bp)	PCR condition	Reference	
Decapod	18s rRNA	143F	TGC CTT ATC AGC TNT CGA TTG TAG	848	94°C for 3 min, (40 cycles; 94°C, 1 min; 55°C, 1 min ; 72°C, 2 min)	Lo et al. (1996) ^a	
		145R	TTC AGN TTT GCA ACC ATA CTT CCC				
	SalI DNA fragment	146F1	ACT ACT AAC TTC AGC CTA TCT AG	1447			
		146R1	TAA TGC GGG TGT AAT GTT CTT ACG A				
WSSV ^b	Variable loci VR 14/15	146F2	GTA ACT GCC CCT TCC ATC TCC A	941	95°C for 5 min, (35 cycles; 95°C, 30 sec; 53°C, 45 sec; 72°C, 90 sec) 95°C for 5 min, (40 cycles; 95°C, 30 sec; 55°C, 45 sec; 72°C, 1 min) 95°C for 3 min, (35 cycles; 95°C, 30 sec; 59°C, 30 sec; 72°C, 30 sec) 95°C for 3 min, (35 cycles; 95°C, 30 sec; 59°C, 30 sec; 72°C, 20 sec) 94°C for 4 min, (35 cycles; 94°C, 30 sec; 45°C, 30 sec; 72°C, 40 sec) 94°C for 4 min, (30 cycles; 94°C, 20 sec; 50°C, 20 sec; 72°C, 20 sec)	Piamsomboon et al. (2018)	
		146R2	TAC GGC AGC TGC TGC ACC TTG T				
	Variable loci VR 14/15	TJW14/15 F	TCA ACA ACC CAA ATC CCA TT				
		TJW14/15 R	CTC TCA ATC TTC CCC CAA CA				
		VR14/15 F	GAG ATG CGA ACC ACT AAA AG				
		VR14/15 R	ATG GAG GCG AGA CTT GC				
	DIV-1 ^c	ATPase region	SHIV-F1	GGG CGG GAG ATG GTG TTA GAT			457
			SHIV-R1	TCG TTT CGG TAC GAA GAT GTA			
			SHIV-F2	CGG GAA ACG ATT CGT ATT GGG			
			SHIV-R2	TTG CTT GAT CGG CAT CCT TGA			
CMNV ^d	RNA-dependent RNA polymerase (RdRP)	CMNV-7F1	AAA TAC GGC GAT GAC G	619	94°C for 4 min, (35 cycles; 94°C, 30 sec; 45°C, 30 sec; 72°C, 40 sec) 94°C for 4 min, (30 cycles; 94°C, 20 sec; 50°C, 20 sec; 72°C, 20 sec)	Zhang et al. (2014)	
		CMNV-7R1	ACG AAG TGC CCA CAG AC				
		CMNV-7F2	CAC AAC CGA GTC AAA CC	165			
		CMNV-7R2	GCG TAA ACA GCG AAG G				

^aOIE (Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals) recommended PCR assay; ^bWSSV, white spot syndrome virus; ^cDIV-1, decapod iridescent virus 1; ^dCMNV, covert mortality nodavirus

결 과

수입냉동새우에서의 WSSV 검출

2017년 7월부터 2020년 11월에 생산되어 국내로 수입 및 유통된 흰다리새우 및 보리새우(8개국, 29개 그룹, pooling 시료 149개)를 대상으로 WSSV에 대한 nested PCR을 수행하였다. 시료 그룹 별 nested PCR 결과, 1st PCR (amplicon size, 1,447 bp)에서 6.9% (2/29), nested PCR (amplicon size, 941 bp)에서 31.0% (9/29) 양성으로 확인되었다. 생산 및 수입 시기별로 WSSV nested PCR 양성 비율을 조사한 결과, 2017-2018년도의 시료($n=20$)

에서 40% (8/20), 2019-2020년 시료($n=9$)에서 11.1% (1/9)로 나타났다(Table 2). 또한, WSSV-positive 그룹 내 pooling 시료에서는 최소 1개 pooling group에서 양성으로 나타나는 것으로 확인되었으며, 2020년 10월 중국에서 생산 및 큐티클층과 두흉각이 절단되어 유통된 가공냉동새우(20-CH-1)에서 가장 높은 빈도(5/6)를 보였다. 또한, 동일한 29개 그룹($n=149$)을 대상으로 CMNV와 DIV-1에 대한 nested PCR 결과, 모든 시료에서 virus specific amplicon이 증폭되지 않아 CMNV와 DIV-1은 검출되지 않음을 확인하였다(data not shown).

Table 2. Detection of WSSV from imported frozen shrimps between 2017 and 2020

Sample code	Species	Country	Production time	Sampling tissue	Pooling group No. ^a	PCR	
						1 st PCR	2 nd PCR
17-AR-1	<i>Litopenaeus vanamei</i>	Argentina	July-2017	P.P ^b	5	N.D. ^c	N.D.
17-AR-2	<i>L. vanamei</i>	Argentina	July-2017	P.P	5	N.D.	1/5
17-AR-3	<i>L. vanamei</i>	Argentina	Sep-2017	P.P	5	1/5	1/5
17-AR-4	<i>L. vanamei</i>	Argentina	Dec-2017	P.P	3	N.D.	N.D.
17-AR-5	<i>L. vanamei</i>	Argentina	Dec-2017	P.P	5	1/5	1/5
17-AR-6	<i>L. vanamei</i>	Argentina	Dec-2017	P.P	5	N.D.	1/5
17-EC-1	<i>L. vanamei</i>	Ecuador	Sep-2017	P.P	5	N.D.	N.D.
17-EC-2	<i>L. vanamei</i>	Ecuador	Oct-2017	P.P	5	N.D.	N.D.
17-EC-3	<i>L. vanamei</i>	Ecuador	Dec-2017	P.P	5	N.D.	1/5
17-EC-4	<i>L. vanamei</i>	Ecuador	Dec-2017	P.P	5	N.D.	N.D.
17-IN-1	<i>L. vanamei</i>	India	Dec-2017	P.P	4	N.D.	N.D.
17-MY-1	<i>L. vanamei</i>	Malaysia	Sep-2017	P.P	5	N.D.	1/5
17-MY-2	<i>L. vanamei</i>	Malaysia	Sep-2017	P.P	5	N.D.	N.D.
17-MY-3	<i>L. vanamei</i>	Malaysia	Dec-2017	P.P	5	N.D.	N.D.
17-TH-1	<i>L. vanamei</i>	Thailand	Sep-2017	P.P	5	N.D.	N.D.
17-VN-1	<i>L. vanamei</i>	Vietnam	Sep-2017	P.P	5	N.D.	N.D.
18-EC-1	<i>L. vanamei</i>	Ecuador	Jan-2018	P.P	5	N.D.	1/5
18-MY-1	<i>L. vanamei</i>	Malaysia	Jan-2018	P.P	5	N.D.	1/5
18-TH-1	<i>L. vanamei</i>	Thailand	Jan-2018	AM ^d	5	N.D.	N.D.
18-VN-1	<i>L. vanamei</i>	Vietnam	Apr-2018	P.P	5	N.D.	N.D.
19-MY-1	<i>L. vanamei</i>	Malaysia	Aug-2019	P.P	5	N.D.	N.D.
20-CH-1	<i>L. vanamei</i>	China	Oct-2020	AM	6	N.D.	5/6
20-EC-1	<i>L. vanamei</i>	Ecuador	May-2020	P.P	6	N.D.	N.D.
20-MY-1	<i>L. vanamei</i>	Malaysia	Apr-2020	P.P	6	N.D.	N.D.
20-MY-2	<i>L. vanamei</i>	Malaysia	Aug-2020	P.P	6	N.D.	N.D.
20-MY-3	<i>Penaeus monodon</i>	Malaysia	Nov-2020	P.P	6	N.D.	N.D.
20-PE-1	<i>L. vanamei</i>	Peru	Jun-2020	P.P	6	N.D.	N.D.
20-VN-1	<i>L. vanamei</i>	Vietnam	Oct-2020	P.P	5	N.D.	N.D.
20-VN-2	<i>L. vanamei</i>	Vietnam	Jul-2019	P.P	6	N.D.	N.D.

^afive or six individual shrimps were pooled; ^bpleopod; ^cN.D., not detected; ^dabdominal muscle

VR 14/15 region을 이용한 유전학적 근연관계 분석

WSSV 양성으로 확인된 그룹($n=9$) 시료를 대상으로 VR 14/15 region에 대한 nested PCR 수행 결과, 1개 그룹(20-CH-1 isolate, 2020년 10월 중국 생산)에서만 620 bp의 amplicon이 생성되었다. PCR amplicon에 대한 염기서열과 WSSV 발생 국가에서 보고된 WSSV VR 14/15 참조 서열들을 대상으로 InDel sequence를 분석한 결과, WSSV-TH-96-II isolate와 비교하여 5,949 bp가 결손(deletion)되었음을 확인할 수 있었다(Fig 1). 또한 WSSV-IN-05-1 strain (GeneBank Accession No. EU327501)과 99.84%의 높은 상동성을 확인할 수 있었으며 WSSV-IN-05-1와 20-CH-1의 염기서열 비교 시 1개의 염기서열만 차이를 보였다.

고 찰

본 연구에서는 2017-2020년에 국내로 수입되어 유통되는 냉동새우를 대상으로 OIE에서 권고하는 nested PCR 방법을 이용하여 WSSV 검출 여부를 조사하였다. 총 29개 그룹 중 9개 그룹(31.0%)

에서 WSSV가 검출되었으며, 생산 및 유통시기별로는 2017-2018년도 40% (8/20), 2019-2020년도 11.1% (1/9)로 양성율이 감소되는 경향을 보였다 (Table 2). 흥미로운 점은 큐티클층과 두흉각이 절단되어 수입된 가공냉동새우의 abdominal muscle (2020년 10월 중국, 20-CH-1)의 pooling 시료에서 가장 높은 양성(5/6) 결과를 보였다. 또한, 흰다리새우에 대한 20-CH-1 isolate의 병원성을 알아보고자 조직 마쇄액(100 μ L)을 근육 주사 후 25°C에서 3주간 관찰한 결과, 20%의 폐사(2/10)를 보였으나 폐사 개체에서 WSSV가 검출되지 않았다(data not shown). WSSV는 enveloped virus로 외부 환경에 대한 저항성이 낮아 $12 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 수온에서 병원성이 억제되며(Dupuy et al., 2004), 50°C 이상의 열처리, pH, UV, sodium hypochloride, formalin, povidine iodine, benzalkonium chloride, benzethonium chloride 등의 물리적·화학적 반응 시 불활화될 수 있다(Balasubramanian et al., 2006). 즉, 국내 유통되는 새우에서 검출된 WSSV는 생산 및 유통 과정에서 불활화되어 있을 가능성이 높은 것으로 판단된다. 또한, 본 연구에서 사용된 시료에서는 최근 중국에서 보고된 신종 새우 바이러스 2종

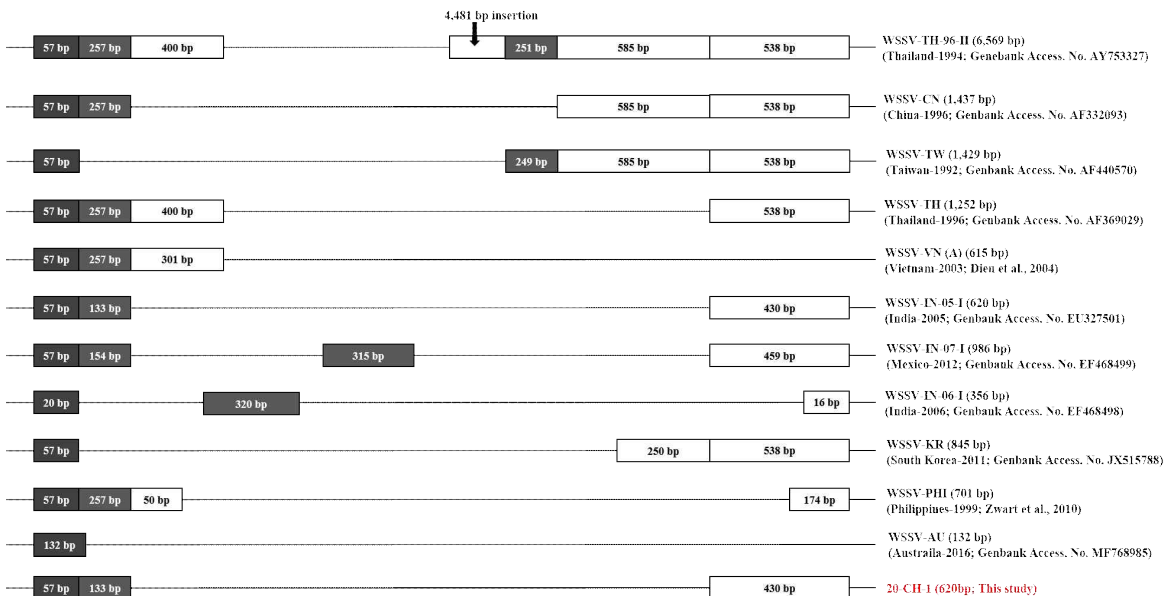


Fig. 1. Schematic diagram of variable regions VR14/15 of WSSVs. Line indicates deletion in the sequences. Fragment sizes (bp) were described in boxes.

(CMNV, DIV-1)은 검출되지 않았다. Pir A, B toxin을 가진 *Vibrio parahaemolyticus*로 인한 AHPND ($V_{P_{AHPND}}$)가 국내로 수입되는 흰다리새우에서 검출 및 국내에서 발생된 사례(Han *et al.*, 2020; Hwang *et al.*, 2020)를 고려할 때 CMNV, DIV-1이 국내로 유입될 가능성은 높을 것이라고 사료되어 이에 대한 감시(surveillance)가 여러 측면에서 이루어져야 할 것이다.

WSSV nested PCR 양성 시료를 대상으로 genome variable region 중 재조합으로 인한 변이가 빈번하게 발생한다고 알려진 VR 14/15 region을 분석한 결과, 1개 그룹 시료(20-CH-1 isolate)에서만 PCR amplicon이 생성되었다. 참조 서열들과 유전학적 근연관계 분석을 통해 20-CH-1 isolate는 2005년 인도에서 검출된 WSSV-IN-05-1과 높은 상동성을 보이는 것으로 나타나 인도에서 확인된 WSSV가 중국으로 확산된 것으로 추정된다. 이는 기존의 WSSV 역학 연구들에서 제시되었던 국제 교역을 통한 WSSV 확산을 뒷받침해주는 결과이며, 향후 Knibb *et al.* (2018) 연구 처럼 국내에서 발생하는 WSSV에 대한 분자역학적 분석을 통해 기원(origin source)에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 새우 주요 생산 국가로부터 국내로 수입 및 유통되는 냉동 새우에서 WSSV가 검출되었으며, WSSV genome VR 14/15 region의 염기서열을 통해 유전학적 근연관계를 분석한 결과 일부 양성시료(2020년 중국 생산)가 인도에서 보고된 WSSV와 높은 상동성을 보였다. 이는 기존에 알려진 바와 같이 새우의 교역을 통한 국가 간 WSSV가 확산되었음을 뒷받침하는 결과이다.

요 약

본 연구에서는 주요 새우 생산 국가에서 2017년 7월부터 2020년 11월 사이 생산되어 국내로 수입된 냉동 새우(29개 그룹)를 대상으로 흰반점바이러스(WSSV), covert mortality nodavirus (CMNV) 및 decapod iridescent virus 1 (DIV-1)의 검출여부를 조사하였다. 각 바이러스에 대한 nested PCR 결과, WSSV는 9개 그룹(9/29)에서 검출되었으며 CMNV

와 DIV-1은 검출되지 않았다. Nested PCR에서 WSSV 양성으로 확인된 시료를 대상으로 WSSV genome variable loci로 알려진 VR 14/15 region에 대해 참조 서열들과 삽입/결손(insertion and deletion) 서열 비교 및 근연관계를 분석하였다. WSSV 양성 시료 중 1개 시료(20-CH-1 isolate, 2020년 10월 중국 생산)에서만 VR 14/15에 대한 PCR amplicon이 생성되었으며 염기서열 분석 결과, 20-CH-1 isolate는 2005년 인도에서 보고된 WSSV-IN-05-01과 99.84%의 상동성을 보였다. 이는 과거 알려진 바와 같이 새우의 교역을 통한 국가 간 WSSV가 확산되었음을 뒷받침해주는 결과이다.

Acknowledgment

이 논문은 2021년 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(수산생물 검역용 신속 및 정밀진단 기술 개발)

References

- Balasubramanian, G., Sudhakaran, R., Syed Musthaq, S., Sarathi, M. and Sahul Hameed, A. S.: Studies on the inactivation of white spot syndrome virus of shrimp by physical and chemical treatments, and seaweed extracts tested in marine and freshwater animal models. *Journal of fish diseases*, 29: 569-572, 2006.
- Chou, H., Huang, C., Wang, C., Chiang, H. and Lo, C.: Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Diseases of aquatic organisms*, 23: 165-173, 1995.
- Dieu, B. T. M., Marks, H., Siebenga, J. J., Goldbach, R. W., Zuidema, D., Duong, T. P., and Vlak, J. M.: Molecular epidemiology of white spot syndrome virus within Vietnam. *Journal of General Virology*, 85: 3607-3618, 2004.
- Dupuy, J. W., Bonami, J. R. and Roch, P.: A synthetic antibacterial peptide from *Mytilus galloprovincialis* reduces mortality due to white spot syndrome virus in palaemonid shrimp. *Journal of fish diseases*, 27: 57-64, 2004.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). 2020. <https://www.fao.org/fishery/>

- static/Yearbook/YB2017_USBcard/index.htm
- Flegel, T. W.: Major viral diseases of the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 13: 433-442, 1997.
- Han, J. E., Lee, S. C., Park, S. C., Jeon, H. J., Kim, K. Y., Lee, Y. S., Park, S., Han, S. H., Kim, J. H. and Choi, S. K.: Molecular detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* and *Vibrio parahaemolyticus*-associated acute hepatopancreatic necrosis disease in Southeast Asian *Penaeus vannamei* shrimp imported into Korea. *Aquaculture*, 517: 734812, 2020.
- Hwang, S. D., Hwang, J. Y., Sohn, S., Kim, S. M., Kim, S. R., Kim, K. I., Kwon, M. J., Lee, K.Y., Kang, B. H. and Seo, J. S.: Genome data of shrimp acute hepatopancreatic necrosis disease causative *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from South Korea aquaculture farms. *Data in Brief*, 31: 105697, 2020.
- Knibb, W., Le, C., Katouli, M., Bar, I. and Lloyd, C.: Assessment of the origin of white spot syndrome virus DNA sequences in farmed *Penaeus monodon* in Australia. *Aquaculture*, 494: 26-29, 2018.
- Lo, C. F., Leu, J. H., Ho, C. H., Chen, C. H., Peng, S. E., Chen, Y. T., Chou, C. M., Yeh, P. Y., Huang, C. J., Chou, H. Y., Wang, C. H. and Kou, G.H.: Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. *Diseases of Aquatic Organisms*, 25: 133-141, 1996.
- OIE, World Organization for Animal Health, Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animal. Chapter 2.2.8. Infection with white spot syndrome virus. 2021. https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/current/2.2.08_WSSV.pdf
- Piamsomboon, P., Chaweepack, T., Han, J. E., Tang, K. F. and Wongtavatchai, J.: Genetic variation of white spot syndrome virus (WSSV) in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) culture of Thailand. *Aquaculture Research*, 49: 265-272, 2018.
- Qiu, L., Chen, M. M., Wan, X.Y., Li, C., Zhang, Q. L., Wang, R. Y., Cheng, D. Y., Dong, X., Yang, B., Wang, X. H., Xiang, J. H. and Huang, J.: Characterization of a new member of Iridoviridae, Shrimp hemocyte iridescent virus (SHIV), found in white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Scientific reports*, 7: 1-13, 2017.
- Walker, P. J., & Mohan, C. V.: Viral disease emergence in shrimp aquaculture: origins, impact and the effectiveness of health management strategies. *Reviews in aquaculture*, 1: 125-154, 2009
- 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. *Journal of General Virology*, 95:2700-2709, 2014.
- Zwart, M. P., Dieu, B. T. M., Hemerik, L., and Vlak, J. M.: Evolutionary trajectory of white spot syndrome virus (WSSV) genome shrinkage during spread in Asia. *PLoS One*, 5: e13400. 2010.
- 조미영, 김광일, 민은영, 정승희: 양식생물의 신종질병 및 국내 대응방안. *해양정책연구*, 34: 67-88, 2019.

Manuscript Received : Oct 20, 2021

Revised : Nov 17, 2021

Accepted : Nov 25, 2021