KOREAN JOURNAL OF ICHTHYOLOGY, Vol. 29, No. 1, 62-68, March 2017
ISSN: 1225-8598 (Print), 2288-3371 (Online)

Received: January 31, 2017
Revised: March 15, 2017
Accepted: March 16, 2017

명태 (*Gadus chalcogrammus*)의 성장 단계별 질병 모니터링

김광일 · 변순규 · 강희웅 · 남명모 · 최 진 · 유해균 · 이 주*

국립수산과학원 동해수산연구소

Disease Monitoring of Alaska Pollock (*Gadus chalcogrammus*) Based on Growth Stages ***by Kwang Il Kim, Soon-Gyu Byun, Hee Woong Kang, Myung-Mo Nam, Jin Choi, Hae-Kyun Yoo and Chu Lee*** (Aquaculture Industry Research Division, East Sea Fisheries Research Institute, NIFS, Gangneung 25435, Republic of Korea)

ABSTRACT The Alaska pollock (*Gadus chalcogrammus*) belongs to the family Gadidae; it is a cold water fish, and has been developed as a novel aquaculture species in Korea. In this study, we describe ongoing surveillance for aquatic animal pathogens based on growth stages. We investigated bacterial flora in rearing water, and monitored pathogens; we also analyzed histopathological traits of abnormal fish. In rearing water, the total bacterial counts were 2.1×10^3 cfu/mL and *Vibrio* spp. (52%) were predominant in the larvae stage. In the juvenile and adult stages, the total bacterial counts were 3.4×10^3 and 3.2×10^2 cfu/mL, respectively (with *Pseudomonas* sp. as the predominant species; 90% and 52%). This result revealed that the bacterial flora in rearing water changed depending on the feeding types. No virulent-bacteria or problematic viruses (VHSV, viral hemorrhagic septicemia virus; NNV, nervous necrosis virus; MBV, marine birnavirus) were detected from outwardly healthy fish using either culture or PCR assay. Some juveniles (less than 5%) had gas bubbles on the gill lamellae, degeneration of the corneal epithelium, and choroid gland degeneration, suggesting that these symptoms were caused by external injury and secondary infection by opportunistic bacteria. Disease management is important to cope with disease emergence in the novel aquaculture species Alaska pollock.

Key words: Alaska pollock, disease, bacterial flora, aquatic pathogen

서 론

명태는 대구목(Gadiformes)에 속하는 대표적인 한해성 품종으로 동해, 오호츠크해, 베링해 및 알레스카를 포함하는 북태평양 해역에 광범위하게 분포하고 있다. 현재 국내 명태 자원량은 어린 명태 남획과 표층 수온 상승 등 기후변화에 의해 급격히 감소되어 전무한 실정이다. 최근 일본에서 명태 1세대 인공 종자생산 성공과 더불어 우리나라에서도 명태 양식을 위한 기술 개발이 진행되어 완전양식 기술을 확보한 상태이다. 명태와 같은 새로운 양식 품종의 기술 개발에 있어서 양식 환경에 적합한 질병 관리가 무엇보다도 중요하다. 과거 질병과 관련된 국내 · 외 사례에서 자연 상태의 품종이 양식 산업화된 이후 전염성 질병 발생으로 인한 대량 폐사가 빈번하게 발생하고 있다. 특히, 1990년대부터 참돔이리도바이러스(RSIV; red sea bream iridovirus)가 일본을 비롯한 아시아 국가의 양식 돔류(참돔, 돌돔)에 유행하여 주기적인 대량 폐사를 야기하여 돔류 양식 산업에 막대한 경제적 손실을 초래하고 있다 (Inouye *et al*., 1992; Sohn *et al*., 2000).

현재까지 전 세계적으로 명태 질병 연구는 거의 이루어지지 않았다. 다만, 알레스카와 베링해 동부지역의 자연산 명태에서 바이러스성 질병인 바이러스성출혈성패혈증(VHS; Viral hemorrhagic septicemia)과 기생충성 질병인 익크티오포너스 감염증(*Ichthyophoniasis* 또는 *Ichthyosporidium* disease)이 확인된 바는 있다(Meyers *et al*., 1999; White *et al*., 2014). 자연산 명태에서 감염성 질병이 확인된 점은 양식 산업화 단계에서 전염병의 발생 및 확산될 가능성이 충분함을 시사한다. 따라서 과거 사례에서 질병 관리의 중요성이 부각된 만큼 양식 산 명태의 질병 연구는 양식 품종으로서의 안정적인 산업화가

*Corresponding author: Kwang Il KIM Tel: 82-33-660-8601, Fax: 82-33-661-8515, E-mail: kimki@korea.kr

Table 1. Primers for pathogen detection from Alaska pollock

Target	Primer	Sequence (5′-3′)	PCR condition	Reference
Bacterial 16S rRNA	27F 1492R	AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T	94°C 3 min [30 cycles] 94°C 1 min, 50°C 1 min, 72°C 1 min 72°C 7 min	Lane 1991, Polz and Cavanugh, 1998
VHSV	VN_F VN_R	ATG GAA GGA GGA ATT CGT GAA GCG GCG GTG AAG TGC TGC AGTT CCC	94°C 2 min [35 cycles] 94°C 30 sec, 55°C 30 sec, 68°C 1 min 68°C 7 min	Snow *et al*., 2004 OIE, 2015
MBV	P1 P2	AGA GAT CAC TGA CTT CAC AAG TGA C TGT GCA CCA CAG GAA AGA TGA CTG	95°C 3 min [30 cycles] 94°C 40 sec, 52°C 40 sec, 72°C 40 sec 72°C 7 min	Suzuki *et al*., 1997
VHSV/ NNV	SF1 SR1 NF1 NR1	CAC AGA TCA CTC AAC GAC C GTG ATC ATG TGT CCT GGT G CGT GTC AGT CAT GTG TCG CTG AGT CAA CAC GGG TGA AGA G	50°C 30 min, 95°C 3 min [30 cycles] 94°C 40 sec, 52°C 40 sec, 72°C 40 sec 72°C 7 min	Kim *et al*., 2016a

이루어지기 위해 꼭 필요한 요소이다.

따라서 본 연구에서는 명태 성장단계별 사육수의 세균 분포, 병원체 조사 및 비정상개체 발생에 대한 원인 분석을 수행하였으며, 이를 토대로 명태 양식의 질병 관리를 위한 기초 자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

1. 조사 시료

명태 양식 과정에서 수산생물 병원체의 감염 동태를 파악하고자 각 성장 단계별(egg, yolk-sac larvae, larvae, early-juvenile, late-juvenile 그리고 adult)로 월 1~2회 주기로 3~10마리를 시료로 채취하였다. 그리고 사육수의 총 세균수 변화 및 폐사 연관성을 알아보고자 월 2~4회 주기로 사육수를 10 mL 채수하여 실험에 사용하였다.

2. 사육수 총 세균수 조사

총 세균수 측정을 위해 채수된 시료를 6 well plate (SPL)에서 멸균 생리식염수(PBS; phosphate buffered saline, Bioneer)로 1/10, 1/100, 1/1000 단계로 희석하였다. 원액 및 희석된 사육수 200 µL를 1% NaCl이 첨가된 TSA (Tryptic Soy Agar, BD) 배지(이하 STSA)에 도말한 뒤 15°C에서 24시간 배양하였다. 배양된 세균 집락(colony)을 계수하여 총 세균수를 산출하였다.

3. 사육수 세균 동정 및 분포율 분석

세균 종 동정 및 분포율 분석을 위해서 배양된 세균 집락을 멸균 루프(loop)를 사용하여 무작위로 50개씩 취해 1% NaCl이 첨가된 TSA와 TCBS (Thiosulfate citrate bile sucrose) 배지에서 순수 분리하였다. 순수 분리된 세균 집락은 형태적 특성(색상, 배양 형태)에 따라 1차 분류하였으며, 정밀 동정을 위해서 세균 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 수행하였다(Table 1). 각 세균 집락을 멸균 생리식염수(PBS) 200 µL에 현탁 후 Patho Gene-spin DNA/RNA Extraction kit (Intronbio)를 이용하여 제조사의 방법에 따라서 핵산을 추출하였다. 세균 16S rRNA 유전자 증폭은 16S universal primer (27F, 1492R)를 사용하였으며, primer mix 2 µL, Nuclease-free water 17 µL, 핵산 1 µL를 PCR premix (Enzynomics)에 혼합하여 PCR 기기(DNA engine dyad, Bio-rad)에서 수행하였다.

PCR 후 증폭된 산물은 1X TAE electrophoresis buffer (40 mM Tris, 20 mM acetate, 2 mM EDTA)에 용해시킨 1% agarose gel 상에서 100 V로 전기영동하고 Gel documentation system (Alpha Innotech)을 이용하여 자외선 램프 하에서 band를 관찰하여 16S rRNA 유전자 증폭 여부를 확인하였다. 각 증폭된 산물은 ExoSap-IT for PCR product clean-up kit (Affymetrix)를 사용하여 정제하였으며, ABI 3730 XL DNA analyzer (Applied Biosystems)를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열과 NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 유전자은행(GenBank)에 등록된 세균 염기서열의 유전적 상동성을 비교하여 최종적으로 세균을 동정하였으며, 이를 토대로 사육수의 세균 분포율을 산출하였다.

4. 기생충 및 세균성 질병 분석

채취된 시료에 대한 내 · 외부 임상증상을 확인하였으며 체표 점액 및 아가미 등을 슬라이드 글라스에 고정한 후 광학현미경으로 기생충 감염 유무를 조사하였다. 자어(전장 3 cm 이하)의 경우 시료 전체를 슬라이드 글라스에 고정하여 광학현미경으로 기생충 감염 여부를 조사하였다. 세균성 질병 조

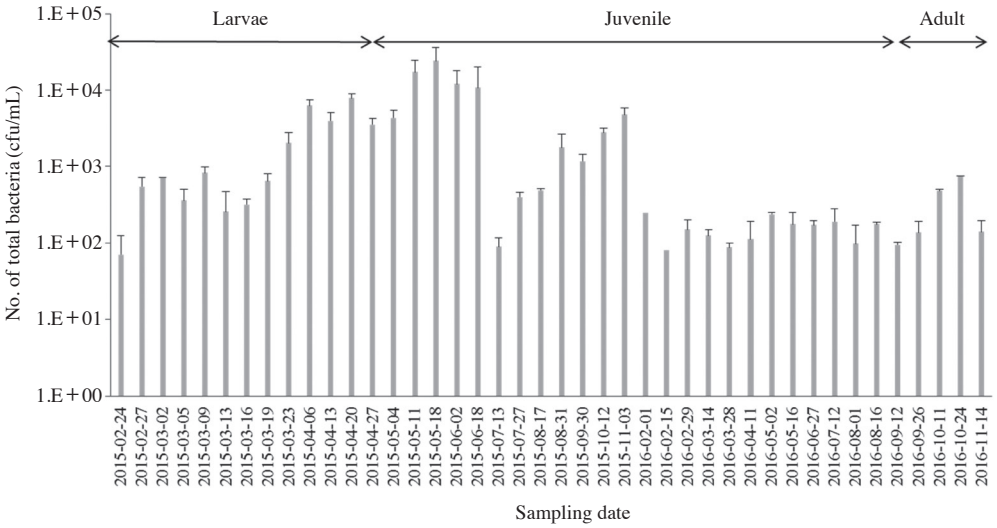

Fig. 1. Total bacterial count of rearing water based on growth stages.

사를 위해서 주요 내부 장기(간, 비장, 신장)와 병변 부위(안구, 지느러미 등)를 무균적으로 채취하여 STSA 및 TCBS 배지에 15°C에서 24시간 배양하였다. 자어(전장 3 cm 이하)의 경우 시료 전체를 생리식염수로 3회 세척한 후, 멸균된 조직마쇄 튜브(2 & 5 mm sterilized bead, Watson)에 넣고 2,000 rpm 20초간 마쇄한 후 세균 배양에 사용하였다. 배양된 세균 집락은 STSA, TCBS 배지에서 순수분리 배양한 후 API 20E 및 20NE kit (Biomerieux)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 실험을 실시하였다. 세균 정밀 동정을 위해서 상기 방법에 따라 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 실시하였다.

5. 바이러스성 질병 분석

해산어류에 감염을 일으킬 수 있는 바이러스 중 15°C 이하에서도 증식이 가능한 바이러스성출혈성패혈증바이러스(VHSV, viral hemorrhagic septicemia virus), 해산버나바이러스(MBV; marine birnavirus), 신경괴사바이러스(NNV, nervous necrosis virus)에 대한 감염 여부를 조사하였다. 주요 장기(간, 비장, 신장)를 멸균된 조직마쇄 튜브(2 & 5mm sterilized bead, Watson)에 넣고 2,000 rpm 20초간 마쇄한 후 마쇄액 150 μL를 핵산 추출에 사용하였다. Patho Gene-spin DNA/RNA Extraction kit (Intronbio)를 이용하여 제조사의 방법에 따라서 핵산을 추출하고 최종적으로 40 μL의 TE buffer로 현탁하였다. 분리된 핵산은 분광광도계 NanoVue (GE Healthcare) 기기를 사용하여 DNA와 RNA의 양과 A260/280 nm 값을 측정하였으며 실험 전까지 −20°C에 보관하였다.

VHSV와 MBV의 진단을 위해서 Iscript cDNA synthesis kit (Bio-rad)를 사용하여 제조사의 방법에 따라 cDNA를 합성하여 PCR의 주형(template)으로 사용하였다. 각 바이러스별 primer mix 2 μL, Nuclease-free water 17 μL, 핵산 1 μL를 PCR premix (Enzynomics)에 혼합한 뒤 PCR 기기(DNA engine dyad, Bio-rad)를 이용하여 Table 1의 조건에 따라 유전자 증폭을 수행하였다. 또한, 국내 상존 VHSV와 NNV 유전형(genotype)에 대한 검출 민감도가 높은 Kim *et al*. (2016a) 방법에 따라 One-step multiplex RT-PCR법을 추가적으로 수행하였다. PCR 후 증폭된 산물은 상기의 방법에 따라 전기영동을 수행하고 자외선 램프 하에서 band를 관찰하여 바이러스 유전자 증폭 여부를 확인하였다.

Table 2. Bacterial flora isolated from rearing water

Growth stage	Bacteria flora (%)	
Larvae	*Vibrio* spp.	
	Vibrio sp.	18
	Vibrio anguillarum	15
	Vibrio alginolyticus	12
	Vibrio cyclitrophicus	7
	Marinomonas sp.	25
	Psedoalteromonas sp.	20
	Shewanella sp.	3
Juvenile	*Pseudomonas* spp.	
	Pseudomonas azotoformans or *P. qessardi*	84
	Pseudomonas fluorescens	6
	Photobacterium phosphoreum	10
Adult	*Pseudomonas* sp.	52
	Pseudoalteromonas sp.	32
	Vibrio sp.	12
	Shewanella sp.	4

6. 병리조직 제작

명태 사육 과정 중 체색 흑화, 안구돌출 등의 증상을 보이

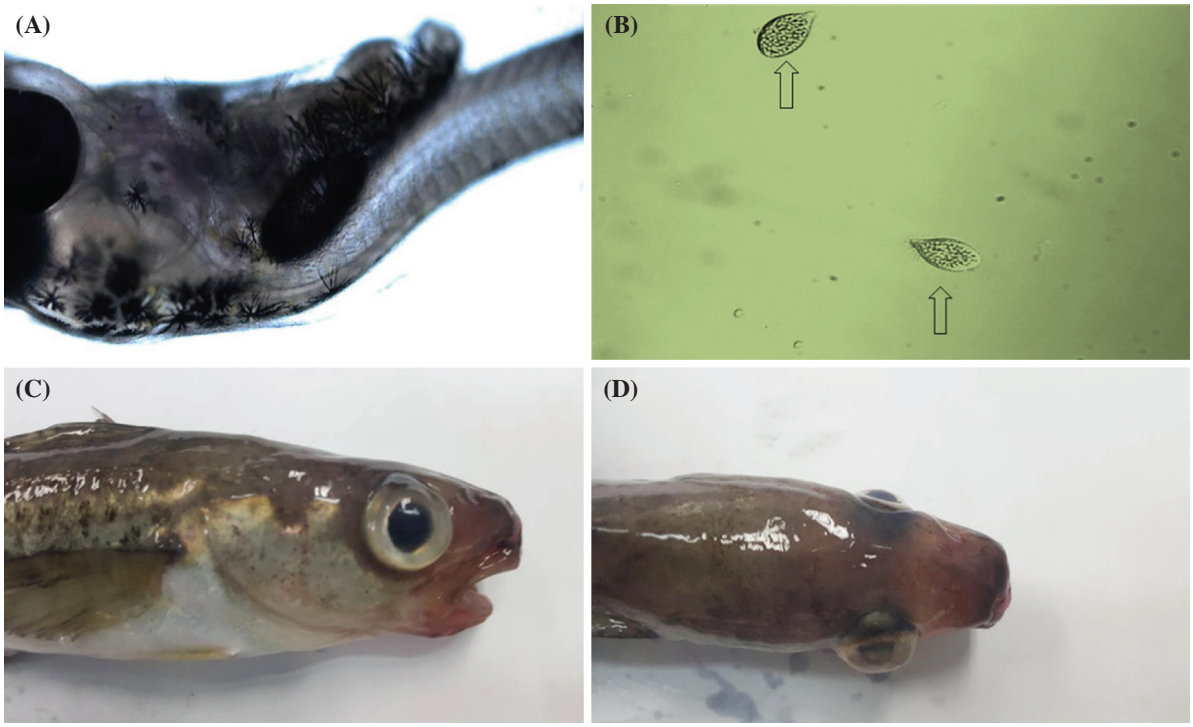

Fig. 2. Clinical signs of Alaska pollock on the larvae and juvenile. (A), rachiocampsis of larvae; (B), Scuticociliates from the bottom of culture tank; (C) and (D), an juvenile with bilateral exophathalmos (gas-bubble) and hemorrhage around jaw.

는 비정상 개체 및 폐사 개체에 대한 원인을 파악하고자 병리조직 분석을 실시하였다. 주요 장기(뇌, 간, 비장, 신장)를 10% 중성 포르말린 용액에 1 : 10 비율로 24시간 1차 고정하였다. 각 장기를 3~4 cm 크기로 세절한 후 카세트에 넣고 10% 중성 포르말린으로 2차 고정하였다. 아가미의 경우 Decalcifying Solution-Lite (Sigma)로 2차 고정 및 탈회하였다. 고정된 조직시료를 24시간 동안 흐르는 물에 수세를 실시하고 조직처리기(Leica)를 사용하여 70, 80, 90, 95, 100% 알콜로 단계적으로 탈수시킨 후 자일렌(xylene)을 처리하여 투명화시키고 파라핀 용액을 조직에 침투시켰다. 투명화된 시료는 60°C의 파라핀 용액에 넣어 포매한 후 마이크로톰(Leica)을 이용하여 4~5 μm 두께로 박편을 제작하였다. 파라핀 절편은 hematoxyline-eosin (H&E) 염색 후 광학현미경(Oylmpus)으로 조직 병변을 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 사육수의 총 세균수

명태 성장단계별로 사육수의 총 세균수를 조사한 결과, $8.0\times10\sim6.2\times10^4$ cfu/mL로 나타났으며, 자어(Larvae; 부화 6일~60일령, 0.5~1.9 cm)의 사육수에서는 $7.0\times10\sim7.9\times10^3$ cfu/mL (평균 2.1×10^3 cfu/mL), 치어 및 미성어(Juvenile; 부화 60일~17개월령, 2.1~28.1 cm)에서는 $8.0\times10\sim2.4\times10^4$ cfu/mL (평균 3.4×10^3 cfu/mL), 성어(Adult; 18개월 이상, 29.9~36.8 cm)에서는 $9.5\times10\sim7.5\times10^2$ cfu/mL (평균 3.2×10^2 cfu/mL) 수준으로 나타났다(Fig. 1). Kim *et al*.(2016b)의 보고에 의하면 넙치 종묘생산장의 사육수 세균수는 $2.3\sim5.6\times10^4$ cfu/mL로 명태 사육수의 총 세균수와 유사한 수준으로 나타나고 있다. 본 연구과정 중 명태 사육수온은 자치어 단계에서 6~7°C, 치어~성어 단계에서 8~10°C로 일정하게 유지되었으나, 성장단계별 수온 차이에 의한 유의적인 사육수의 총 세균수 변화는 관찰되지 않았다. 사육수 분포 세균 중 병원성 세균으로 알려진 *Vibrio anguillarum*의 경우, 저온 사육환경(10°C 내외)에서 세균수가 10^6 cfu/mL 이상일 때 대구 자어의 폐사를 유발했다고 보고된 바가 있다(Reid *et al*., 2009). 본 연구에서 명태 자어 사육수의 전체 비브리오균(*Vibrio* spp.)은 $10^1\sim10^2$ cfu/mL (평균 1.9×10^2 cfu/mL) 수준으로 나타났으며(data not shown), 분리 세균은 5°C 조건에서는 증식되지 않았다. 이러한 결과는 사육수 내 존재하는 비브리오균을 비롯한 세균이 명태 자치어에 직접적인 감염을 일으킬 수 있는 가능성은 매우 낮음을 보여준다.

2. 사육수 균 동정 및 분포율

사육수에서 분리한 세균 종과 분포율을 조사한 결과, 자

Table 3. Monitoring of pathogens from Alaska pollock based on growth stages

Growth stage	Day after hatching	Total length (cm)	No. of examination	No. of sample	Clinical sign of abnormal fish	Parasite	Bacteria			Virus
							Prevalence (%) (detected no./ tested no.)	Biological source	Species	
Egg			1	25		ND	−		ND	ND
Yolk-sac larvae	~6	0.4~0.5	2	150		ND	−		ND	ND
Larvae	~60	0.5~1.9	16	490	Rachiocampsis, rolling	Scuticociliates	12.2% (60/490)	Homogenates of internal organs	*Vibrio* sp.	ND
Early-juvenile	~110	2.1~4.7	7	220	Darkening, gill anemia, hemorrhage on the liver	ND	11.3% (25/220)	Liver, gill	*Vibrio* sp.	ND
Late-juvenile (immature fish)	~537 (16~17month)	7.1~28.1	30	133	Hemorrhage around jaw, exophthalmos (gas-bubble), ulcer around jaw	ND	12.8% (17/133)	Eye, jaw, caudal fin, liver	*Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio* sp., *Vibrio pelagius*, *Planococcus maritumus*, *Pseudoalteromonas* sp.	ND
Adult	~577 (over 18 month)	29.9~36. 8	2	3	Darkening	ND	−		ND	ND

Virus = VHSV, NNV, MBV; ND = not detected

Table 4. Detection of pathogens (bacteria) from abnormal fish

Day after hatching	No. of sample	Total length (cm)	Clinical signs	Parasite	Bacteria (biological source)	Virus
325~356	2	15.4~19.0	Hemorrhage around jaw, reddish on the caudal fin	ND	*Vibrio* sp. (jaw)	ND
	3	17.5~21.1	Hemorrhage around jaw, exophthalmos (gas-bubble)	ND	ND	ND
	5	14.5~22.1	Exophthalmos (gas-bubble), hemorrhage on the caudal fin	ND	*Vibrio* sp. (eye, fin)	ND
	3	19.0~22.0	Exophthalmos (gas-bubble), darkening	ND	*Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio* sp. (eye)	ND
	2	23.0~25.0	Gill anemia	ND	ND	ND
	1	23.0	Exophthalmos (gas-bubble)	ND	ND	ND
406~456	1	25.5	Hemorrhage around jaw	ND	ND	ND
	3	21.5~24.7	Ulcer around the caudal fin	ND	*Vibrio* sp. (caudal fin)	ND
	4	23.2~27.7	Exophthalmos (gas-bubble)	ND	ND	ND
	4	21.4~27.1	Exophthalmos (gas-bubble), hemorrhage around jaw, darkening	ND	*Vibrio pelagius*, *Planococcus maritumus*, *Pseudoalteromonas* sp. (eye, jaw, liver)	ND

Virus = VHSV, NNV, MBV; ND = not detected

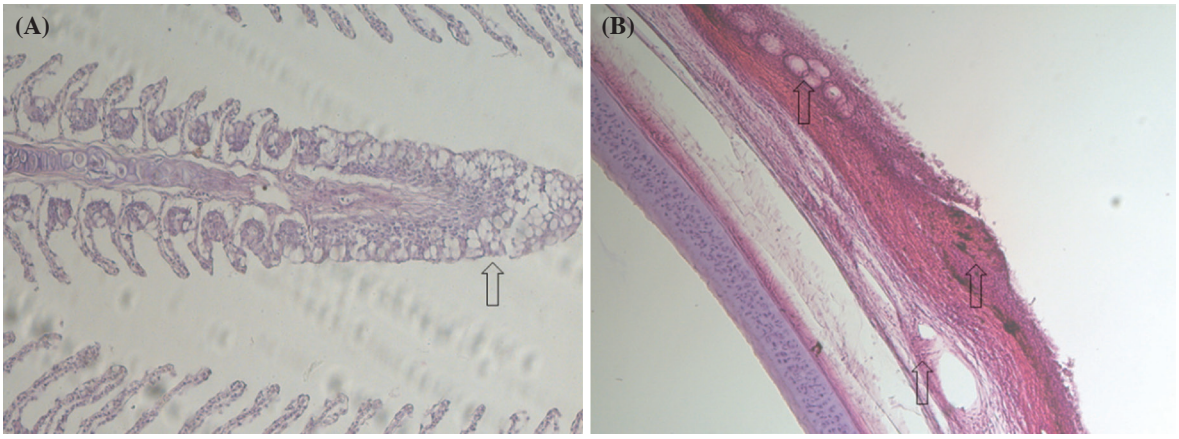

Fig. 3. Histopathological traits of the juvenile with bilateral exophthalmos (gas-bubble). (A), gas bubbles on the gill lamellae; (B), vacuoles of cornea and bacterial invasion in the epithelium.

어 단계에서는 해양 상존 세균인 *Vibrio* sp., *V. anguillarum*, *V. cyclitrophicus*, *V. alginolyticus*, *Marinomonas* sp., *Pseudoalteromonas* sp. 그리고 *Shewanella* sp.로 총 7종류의 세균이 검출되었으며, 비브리오균의 분포가 52%로 가장 높게 나타났다(Table 2). 치어 및 미성어 단계에서는 *Pseudomonas azotoformans* 또는 *P. qessardi*, *P. fluorescens* 그리고 *Photobacterium phosphoreum*으로 3종류가 검출되었으며 슈도모나스균(*Pseudomonas* spp.)이 90% 이상으로 분포하였다. 성어 단계에서는 *Pseudomonas* sp., *Pseudoalteromonas* sp., *Vibrio* sp., *Shewanella* sp.로 4종류의 세균이 검출되었고 슈도모나스균이 52%로 분포하였다. 성장 단계별로 공급한 먹이는 자어 및 자치어 단계에서는 로티퍼, 알테미아, 코페포다였고, 치어 및 미성어 단계에서는 코페포다, 냉동곤쟁이였으며, 성어 단계에서는 냉동굴, 갯지렁이 등이었다. 특히, 초기 먹이로 공급한 로티퍼와 알테미아에서도 사육수에서 검출된 세균과 동일한 *Vibrio* sp., *Pseuoalteromonas* sp.가 검출되어 사육수 내 존재하는 세균은 먹이생물로부터 유래된 것으로 추정할 수 있다. 따라서 사육수 세균총(bacterial flora)은 먹이생물의 종류, 공급 및 잔류량 그리고 사육수 환수량에 영향을 받는 것으로 생각할 수 있다.

3. 수산생물질병 감염 동태

1) 기생충성 질병

명태 사육 과정 중 일부 자어(부화 후 60일 이내)에서 척추만곡, 선회 유영 증상이 나타났으며(Fig. 2A), 현미경 검경 결과 스쿠티카충의 감염이 의심되었다. 스쿠티카충의 경우 수조 바닥에서도 관찰되었으며(Fig. 2B), 이는 10°C 내외의 저수온에서도 스쿠티카충이 증식되어 명태 자어에 감염을 유발한 것으로 생각된다. 치어로 성장한 이후에는 체표, 아가미 및 내부 장기에서 기생충은 검출되지 않았다.

2) 세균성 질병

사육 개체 중 일부 자어에서 *Vibrio* sp.가 검출되었으나 세균감염에 의한 특징적인 증상은 확인되지 않았다. 이는 먹이생물 또는 사육 수 중에 분포하는 상존 세균이 검출된 것으로 생각된다. 전장 15 cm 이상 성장한 치어 중 체색 흑화, 안구 돌출 및 턱 주변 조직 출혈 증상을 보이는 개체에서 *P. flourescens*, *Vibrio* sp., *V. pelagius*, *Planococcus maritumus*, *Pseudoalteromonas* sp. 등이 검출되었으며, 주로 조직 손상 부위에서 세균이 검출된 점을 감안할 때 상처 부위 내 세균 국소감염이 나타난 것으로 생각할 수 있다(Table 3, Fig. 2C, D). 체색 흑화를 보이는 성어에서는 세균이 검출되지 않았다.

3) 바이러스성 질병

명태 성장 단계별로 VHSV, NNV 그리고 MBV에 대한 유전자 진단 결과, 모든 개체에서 바이러스는 검출되지 않았다(Table 3).

4. 비정상 개체의 병리조직

치어 및 미성어(전장 15~30 cm) 중 일부(전체 사육 개체 중 5% 미만) 개체에서 체색 흑화, 안구 돌출, 턱 주변 출혈 등의 증상을 보이는 비정상 개체가 발생하였다. 안구 내 기포 형성으로 인한 돌출을 보이는 개체들의 아가미에서 전형적인 공기 색전증(gas embolism) 증상인 기포가 다수 관찰되었으며 각막의 상피조직에서 기포, 실질조직 손상 및 세균 침입 흔적을 확인할 수 있었다(Fig. 3, Table 4). 또한, 안구 돌출과 턱 주변 조직 출혈을 보이는 개체에서 시신경이 밀집되어 있는 맥락막 주변 조직의 괴사가 관찰되었다. 비정상 개체의 내부 장기(간, 비장, 신장, 심장)에서는 병변 부위가 관찰되지 않았다.

안구 조직(각막, 망막, 맥락막) 병변과 사육수 세균과의 상관관계를 분석한 결과, 병변 부위(안구, 턱 주변)에서 검출된 세균(*P. fluorescens*, *Vibrio* sp., *V. pelagius*, *Planococcus maritumus* 그리고 *Pseudoalteromonas* sp.)이 사육수 내에도 동일하게 분포하였다. 이러한 결과는 사육과정 중 물리적 충격(수조 충돌 등)으로 인한 외상 발생 및 생리적 스트레스로 인한 1차적 요인과 사육수 내 세균이 상처 부위에 2차 국소 감염(local infection)을 일으켜 비정상 개체가 발생된 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 명태 양식 기술 개발 과정 중 수산생물 병원체의 영향을 알아보고자 사육수 내 총 세균수 변화, 분포와 명태에 대한 영향을 분석하였으며, 성장 단계별 명태의 병원체(세균, 기생충 및 바이러스) 조사 및 비정상 개체 발생에 대한 원인 구명을 수행하였다. 자어 단계에서 사육수의 평균 세균수는 2.11×10^3 cfu/mL로 나타났으며, 비브리오균이 52%로 가장 높게 분포하였다. 치어 및 미성어 단계에서 사육수의 세균수는 3.43×10^3 cfu/mL (슈도모나스균 90% 분포) 그리고 성어 단계에서는 3.2×10^2 cfu/mL (슈도모나스 52%)로 나타났다. 명태 사육수 세균총의 변화는 먹이생물의 종류, 공급 및 잔류량에 의해 영향을 받는 것으로 판단된다. 외관상 건강한 개체에서는 대량 폐사를 일으킬 수 있는 세균, 바이러스가 검출되지 않았으나, 일부 안구돌출, 턱 주변 조직 출혈을 보이는 비정상 개체에서 아가미 새변의 기포 형성, 각막 조직 및 맥락막 주변 조직 괴사가 관찰되었다. 특히, 병변 부위에서 검출된 세균(*P. fluorescens*, *Vibrio* sp., *V. pelagius*, *Planococcus maritumus* 그리고 *Pseudoalteromonas* sp.)이 사육수에도 동일하게 분포하였으며, 사육 과정 중 외상 발생 이후 2차 세균 감염이 발생할 수 있음을 시사한다. 명태의 안정적인 양식 산업화를 위한 요소로 기초 질병 데이터 구축과 더불어 지속적인 질병관리가 필요하다.

사 사

이 논문은 2017년 국립수산과학원 수산과학연구사업(R2017002)의 지원으로 수행된 연구이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

Inouye, K., K. Yamano, Y. Maeno, K. Nakajima, M. Matsuoka, Y. Wada and M. Sorimachi. 1992. Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*. Fish Pathology, 27: 19-27.

Kim, K.I., W.J. Kwon, Y.C. Kim, M.S. Kim, S. Hong and H.D. Jeong. 2016a. Surveillance of aquatic animal viruses in seawater and shellfish in Korea. Aquaculture, 461: 17-24.

Kim, M.S., H.S. Choi, N.Y. Kim and S.H. Jung. 2016b. Studies of Bacterial Flora of *Rotifer* sp., *Artemia* sp. and Olive Flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*. Journal of Fisheries and Marine Sciences Education, 28: 1828-1833. (in Korean)

Lane, D.J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt, E. and Goodfellow, M. (ed.), Nucleic acid techniques in bacterial systematics. John Wiley and Sons, New York, pp. 115-175.

Meyers, T.R., S. Short and K. Lipson. 1999. Isolation of the North American strain of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) associated with epizootic mortality in two new host species of Alaskan marine fish. Dis. Aquat. Org., 38: 81-86.

OIE. 2015. World Organization for Animal Health, Manual of Diagnostic Tests for Aquatic animal. http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-manual/access-online.

Polz, M.F. and C.M. Cavanaugh. 1998. Bias in template-to-product ratios in multitemplate PCR. Appl. Environ. Microbiol., 64: 3724-3730.

Reid, H.I., J.W. Treasurer, B. Adam and T.H. Birkbeck. 2009. Analysis of bacterial populations in the gut of developing cod larvae and identification of *Vibrio logei*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio splendidus* as pathogens of cod larvae. Aquaculture, 288: 36-43.

Snow, M., N. Bain, J. Black, V. Taupin, C.O. Cunningham, J.A. King, H.F. Skall and R.S. Raynard. 2004. Genetic population structure of marine viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV). Dis. Aquat. Org., 61: 11-21.

Sohn, S.G., D.L. Choi, J.W. Do, J.Y. Hwang and J.W. Park. 2000. Mass mortalities of cultured striped beakperch, *Oplegnathus fasciatus* by iridoviral infection. J. Fish Pathol., 13: 121-127. (in Korean)

Suzuki, S., N. Hosono and R. Kusuda. 1997. Detection of aquatic birnavirus gene from marine fish by using a comnbination of reverse transcription- and nested-PCR. J. Mar. Biotechnol., 5: 205-209.

White, V.C., J.F. Morado and C.S. Friedman. 2014. *Ichthyophonus*-infected walleye Pollock *Theragra chalcogramma* (Pallas) in the eastern Bering Sea: a potential reservoir of infections in the North Pacific. J. Fish Dis., 37: 641-655.