

양성 중인 명태(*Gadus chalcogrammus*)의 바이러스 모니터링

남우화 · 전찬혁* · 서현준 · 최다영 · 서주영** · 권오남*** · 김위식**** · 김정호†

강릉원주대학교 해양자원육성학과, *한국수산자원관리공단 생명자원실

강원도 한해성 수산자원센터, *강원양식생물연구소(주)

****전남대학교 수산생명의학과

Monitoring of viruses in cultured walleye pollock *Gadus chalcogrammus*

U-Hwa Nam, Chan-Hyeok Jeon*, Hyun-Joon Seo, Da-Young Choi, Joo-young Seo**,
O-Nam Kwon***, Wi-Sik Kim**** and Jeong-Ho Kim†

Department of Marine Bioscience, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 25457, Korea

*Life Resources Management Division, Korea Fisheries Resources Agency, Busan 46041, Korea

**Gangwon Coldsea Fisheries Resources Center, Goseong 24747, Korea

***GABI Co. Ltd., Gangneung 25435, Korea

****Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 59629, Korea

This study was conducted to monitor the prevalence of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV), nervous necrosis virus (NNV) and marine birnavirus (MABV) in cultured walleye pollock *Gadus chalcogrammus* by RT-PCR. All of the viruses tested were not detected by one-step PCR in 62 spleen sample sets, except for NNV in one brain sample set (1/55). By two-step PCR, VHSV was detected in 51.6%(32/62) and NNV was detected in 1.6%(1/62) spleen sample set, but MABV was not detected. In the brain sample sets, the detection rate of NNV was 3.6%(2/55). VHSV and NNV were detected for the first time in cultured walleye pollock in this study. However, the titers of viruses in these sample sets are thought to be very low, because most of the positive sample sets were detected by two-step PCR and none of the fish showed any clinical symptoms of each virus. Continuous monitoring, subsequent virus isolation and validation of carrier fish will be necessary.

Key words: Walleye pollock, *Gadus chalcogrammus*, Viral hemorrhagic septicemia virus, Nervous necrosis virus, RT-PCR

명태(walleye pollock, *Gadus chalcogrammus*)는 우리나라의 동해에서부터 미국 캘리포니아 연안에 이르기까지 북태평양의 환류해역에 널리 분포

하고 있으며, 각 해역마다 독립적인 계군이 분포하고 있다(양 등, 2008). 한국의 연근해 명태 어획량은 1970년대 이후 급격히 증가하여 1980년대 초반에는 10만 톤 이상의 어획량을 보였으나, 1982년 이후부터 지속적으로 감소하고 있다(오 등, 2004). 최근 우리나라에서는 부족한 명태 수요를 보충하기 위해 명태 수요량의 90%이상을 러시아로부터

†Corresponding author: Jeong-Ho Kim
Tel: +82-33-640-2851, Fax: +82-33-640-2340
E-mail: jhkim70@gwnu.ac.kr

원양조업 혹은 수입형태로 들어오고 있으며, 일부는 선어 형태로 일본에서 수입해오고 있다(Katou, 2002; 김과 김, 2014). 그러나 러시아산 명태의 경우 어업 쿼터의 할당량 부족 등으로 연간 어획생산량이 2만여톤 수준에 불과해 겨우 명맥만 유지하고 있는 실정이며, 일본 역시 1980년대 후반부터 1990년대 초반까지 명태 어획량이 급격하게 줄어든 이래 명태의 자원량이 회복되지 않고 있어 우리나라의 명태 수급 전망은 더욱 더 불안정할 것으로 예측된다(Shida et al., 2007; 신, 2010). 따라서 국내 명태 자원의 회복이 매우 시급한 상황이다.

최근 국내에서는 자연에서 포획된 어미 명태를 사용하여 인공 종묘 생산에 성공하였으며(서와 권, 2017), 생산된 종묘를 육성하여 명태자원의 회복을 위한 다양한 연구가 진행되고 있다. 본 연구에서는 명태의 자원회복을 위한 연구의 일환으로 양성 중인 명태를 주기적으로 샘플링하여 바이러스 모니터링을 실시하였다. 양식어류를 대상으로 한 질병 모니터링은 양식 생물의 질병 관리에 필요한 정보를 제공할 뿐만 아니라 질병의 확산 방지 및 차단 등 방역 대책 수립에 매우 중요한 역할을 한다(조 등, 2010). 특히 바이러스성 질병은 수직 및 수평감염을 통해 전염되기 쉬운 특성이 있으며, 양식어류에 감염하면 치료가 쉽지 않아 폐사가 발생하거나 상품가치를 떨어지는 등의 피해를 줄 수 있다. 그러나 아직까지 명태에서 보고된 바이러스성 질병은 자연산 명태에서 보고된 바이러스성 출혈성 패혈증(viral hemorrhagic septicemia, VHS)이 유일하다(Meyers et al., 1999).

본 연구에서는 2016년 2월에서 9월까지 강원도 한해성수산자원센터 외 2곳에서 양성 중인 명태를 대상으로 바이러스 모니터링을 실시하였으며, PCR 방법으로 검출된 바이러스는 유전자 염기서열을 분석하여 기존에 보고된 다른 바이러스 분리주와의 분자 계통학적인 상관관계를 비교하였다.

재료 및 방법

시료채집

어류 샘플은 2016년 2월에서 9월까지 강원도 고성군에 위치한 강원도 한해성수산자원센터 외 2곳

(강릉시 강릉원주대학교 해양생물연구센터, 양양군 수산항 가두리 양성장)에서 사육중인 양식산 명태 총 129마리(평균체장: 25.5 cm, 평균체중: 149.8 g)를 무작위로 채집하여 실험에 사용하였다. 강원도 한해성수산자원센터에서는 심층수를 사용하여 사육수의 수온을 연중 10°C 내외로 유지하면서 명태를 양성하였으며, 강릉원주대 해양생물연구센터(강릉, 10~20°C)와 수산항 가두리 양성장(양양, 8~20°C)에서는 인위적으로 수온을 조절하지 않아 수온변화가 심한 환경에서 사육하였다.

바이러스 검출용 시료 제작

채집한 129마리의 명태 시료를 해부하여 비장을 적출하였다. 고성과 강릉에서 채집한 시료는 개체수가 많아 어체의 크기에 따라 2~4마리의 비장을 pooling하여 한 set으로 간주하여 50 mg을 채취, 46set의 시료를 제작하였다. 양양에서는 채집한 개체수가 많지 않아 개체별로 비장을 50 mg씩 채취하여 16set의 시료를 제작하였다. 총 62set의 시료는 명태를 포함한 대구과 어류에서 보고된 바이러스(viral hemorrhagic septicemia virus, VHSV; nervous necrosis virus, NNV; marine birnavirus, MABV) (Samuelsen et al., 2006; Mao et al., 2015)를 타겟으로 하여 RT-PCR (Reverse-transcriptase Polymerase Chain Reaction)방법을 사용하여 각 바이러스의 유전자를 검출해 보았다. 또한 무작위로 55마리의 명태에서 뇌를 적출하여 RT-PCR방법으로 NNV의 존재 유무를 확인해 보았다.

RNA의 추출

비장 및 뇌시료를 Trizol (Invitrogen, USA) 450 μ l와 함께 microtube에 넣고 2,822 \times g에서 30초간 균질화하였다. 여기에 chloroform (Sigma, USA) 100 μ l를 첨가한 후, 13,250 \times g으로 10분간 4°C에서 원심분리하였다. 분리된 상등액을 새로운 microtube에 옮긴 후 2배 부피의 Isopropanol alcohol을 첨가하고, 13,250 \times g으로 15분간 4°C에서 원심 분리하여 pellet을 얻었다. 상등액을 버리고 남은 pellet은 70% 알콜로 세척한 후, DEPC-DW 20 μ l (Bioneer, Korea)를 첨가하여 cDNA합성에 사용하였다.

cDNA합성 및 RT-PCR

추출한 total RNA를 Nano drop (Thermo, Japan)을 사용하여 정량한 후 Random Primer (Roshe, Germany)를 1 ul 넣고, 65°C에서 10분간 변성시킨 후 즉시 얼음 위에서 냉각시켰다. 여기에 50 nM Tris-HCl (pH 8.3), 75 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 0.5 mM dNTPs, 10 mM DTT, 10 unit reverse transcriptase (Bioneer, Korea)를 첨가하여 42°C에서 1시간 동안 cDNA를 합성한 후 95°C에서 5분간 처리하여 잔존 효소활성을 제거한 후, 얻어진 산물을 RT-PCR의 template로 사용하였다. 실험에 사용한 Primer set의 정보 및 PCR 조건은 Table 1에 나타내었으며, 모든 시료는 one-step RT-PCR 및 two-step RT-PCR을 수행하여 해당 바이러스의 유전자 검출을 시도하였다.

시퀀싱 및 분자계통학적 분석

증폭된 PCR산물은 2.0% agarose gel을 사용해 전기영동 후, UV transilluminator 상에서 핵산의 증폭 여부를 확인하였다. 타겟 부위에 생성된 밴드는 Gel purification kit (Bioneer, Korea)를 이용하여 정제하였으며 결과물을 sequencing하여 바이러스의 염기서열을 얻어내었다. 염기서열분석은 Blast search (NCBI, USA)를 이용하여 기존에 Genbank에 등재된 다른 분리주들의 sequences data와 조합한 뒤, MEGA 6 Program을 이용하여 neighbor-joining

tree를 제작하였다(Tamura et al., 2013).

통계처리

양성 장소에 따른 바이러스 검출율의 차이를 알아보기 위해 카이제곱검정(chi-square test)을 실시하였다. 통계처리는 SPSS ver.22 software를 사용하였으며, *p*-value가 0.05 미만이면 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

시료의 채집일과 장소는 Table 2에 나타내었다. 양성장 별로 채집한 명태의 수는 고성 87마리, 강릉 26마리, 양양 16마리였다. 함께 129마리의 명태 시료를 어체의 크기에 따라 2~4마리씩 한 set으로 비장을 pooling하거나 1마리의 비장을 한 set으로 간주하여, 총 62set의 시료를 제작, 대구과 어류에서 보고된 바이러스(VHSV, NNV, MABV)를 대상으로 RT-PCR을 실시하였다. 그 결과 one-step PCR에서는 바이러스가 검출되지 않았으나, two-step PCR에서는 전체 시료의 51.6%(32/62 set)에서 VHSV가 검출되었으며, 1.6%(1/62 set)의 시료에서 NNV가 검출되었고, MABV는 검출되지 않았다(0/62 set)(Table 3, Fig. 1). 또한 55개체의 뇌 시료에서 NNV를 검출해 본 결과, 1.8%(1/55)의 시료에서 one-step PCR 양성 반응을 확인하였으며, two-step

Table 1. Oligonucleotide primers used for RT-PCR

Virus	Primer	Sequences (5'-3')	PCR condition	Size (bp)	References
VHSV	VHSVF3	GATCAGGTCCCCARRTCNGT	95°C(30sec)	469	Stone et al., 1997.
	VHSVR1	TTCTTTGGAGGGCAAACNATH	55°C(30sec)		
	VHSVF4	GTACCCKTTCTTCCCCGAAC	72°C(30sec), 30 cycles	220	Suebsing et al., 2012.
	VHSVR2	GTAGRCRCGRGCCAGTAGAC			
MABV	P1	AGAGATCACTGACTTCACAAGTGAC	95°C(30sec)	359	Suzuki et al., 1997.
	P2	TGTGCACCACAGGAAAGATGACTC	48°C(30sec)		
	P3	CAACACTCTTCCCATG	72°C(30sec), 30 cycles	168	
	P4	AGAACCTCCCAGTGTCT			
NNV	Noda-full-F	TAATCCATCACCGCTTTGCAATCAC	95°C(30sec)	1090	Cha et al., 2007.
	Noda-full-R	TTCAAATTGGTCATCAACGATACGCACT	60°C(30sec)		
	Noda-partial-F	CTGGGACACGCTGCTAGAAT	72°C(30sec), 30 cycles	325	
	Noda-partial-R	CGACACGTTGACCACATCAG			

Table 2. Sampling of walleye pollock (*Gadus chalcogrammus*)

Date	Goseong	Gangneung	Yangyang
04, Feb.	18	-	-
03, Mar.	-	7	4
14, Mar.	4	-	-
29, Mar.	10	-	-
14, Apr.	10	4	-
29, Apr.	6	2	4
12, May	6	3	-
26, May	9	3	3
23, Jun.	6	-	5
26, Jul.	6	7	-
22, Aug.	6	-	-
23, Sep.	6	-	-
Total	81	26	16

PCR에서는 3.6%(2/55)의 시료에서 양성 반응을 확인하였다(Table 3, Fig. 1). 양성장별 VHSV의 검출율은 강릉이 63.6%(7/11 set)로 가장 높았으며, 이어서 양양 56.2%(9/16 set), 고성 45.7%(16/35 set)순이었다(data not shown). 그러나 통계 분석결과 양성지역에 따른 감염률의 차이는 유의하지 않은 것

으로 나타났다(chi-square test, $p < 0.05$). NNV는 검출된 비장(1/35set) 및 뇌(2/55)시료 모두 고성에서 채집한 샘플이었다.

염기서열분석을 통해 얻어낸 VHSV의 염기서열을 기존에 보고된 다른 VHSV 염기서열과 조합하여 계통분석을 실시하였다. 그 결과 본 연구에서 얻어낸 VHSV의 염기서열은 우리나라와 일본 분리주들이 주로 포함된 genotype IVa에 속하며, 넙치, 청어, 대구 등의 자연산 해산어 분리주(HQ687074, HQ687075, HQ687076)와 양식산 넙치 분리주(AB490792, FJ811901)들과 같은 cluster에 속하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 또한 본 연구에서 얻어낸 NNV 염기서열을 기존에 보고된 다른 NNV 염기서열과 함께 계통분석을 실시하였다. 그 결과 one-step PCR에서도 양성반응을 보인 한 개의 시료에서 얻어낸 NNV의 염기서열(this study 1)은 노랑가자미와 대구 등의 분리주(D38635, AJ245641, AF445800, KM576685)에서 보고된 BFNNV type (barfin flounder nervous necrosis virus type)과 같은 cluster에 속하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 또한 two-step PCR에서만 양성반응을 보인 두 개의

Table 3. Detection rates of virus infection in cultured walleye pollock (*Gadus chalcogrammus*)

Pathogens	Detection rate (%) (No. of positive / No. of pooling set)			
	Spleen		Brain	
	one-step RT-PCR	two-step RT-PCR	one-step RT-PCR	two-step RT-PCR
VHSV	0% (0/62set)	51.6% (32/62set)	-	-
NNV	0% (0/62set)	1.6% (1/62set)	1.8% (1/55)	3.6% (2/55)
MABV	0% (0/62set)	0% (0/62set)	-	-

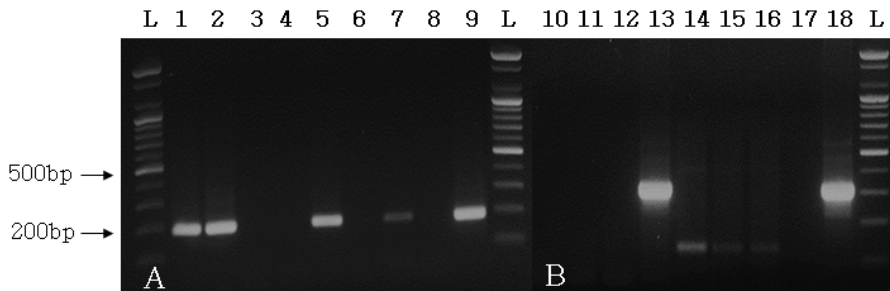


Fig. 1. Detection of the VHSV(A) and NNV(B) by RT-PCR. (L: ladder; lane 1, 2, 5, 7 : positive sample; lane 3, 4, 6 negative sample; lane 8, negative control; lane 9, positive control; lane 10, 11, 12, 14, 15, 16 negative sample, lane 13, positive sample; lane 17, negative control; lane 18, positive control)

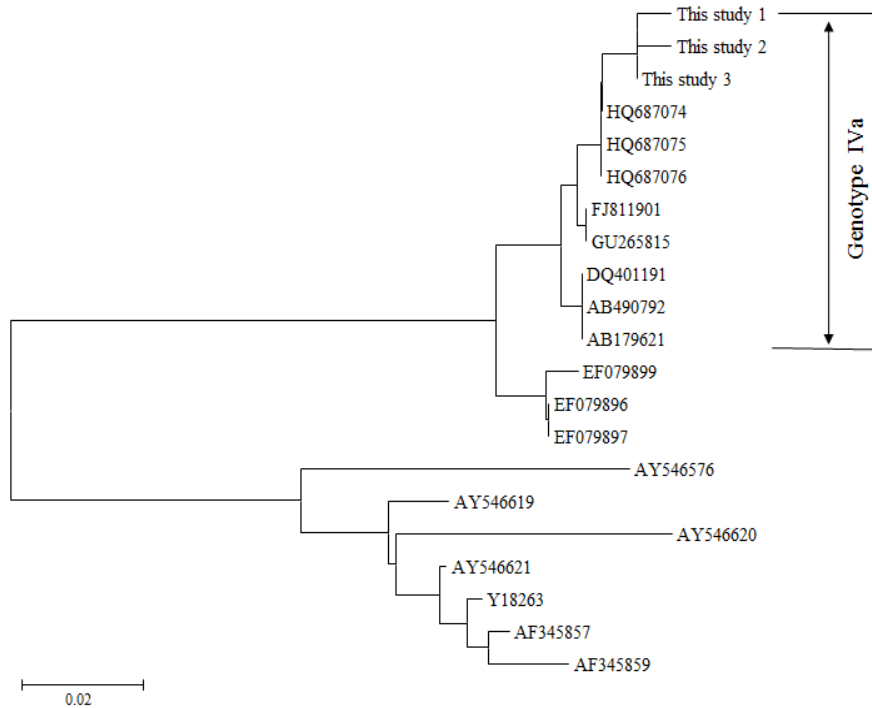


Fig. 2. Molecular phylogenetic trees showing the genetic relationships among 21 VHSV based on G gene sequences. Phylogenetic analysis indicated that VHSV detected in this study belong to Genotype IVa. Analysis was performed using the MEGA 6 program. The scale bar indicates evolutionary distance.

시료에서 얻어낸 NNV의 염기서열(this study 2, 3)은 능성어(한국, KM095959)와 Giant grouper (타이완, KM588181) 분리주들을 포함하며 전 세계적으로 다양한 해산어 (넙치, 송어, 돌돔, 감성돔 등)에서 보고된 RGNNV type (red-spotted grouper nervous necrosis virus type)에 속하였다(Fig. 3).

고 찰

우리나라의 명태 어획량은 1970년대 초반부터 증가하기 시작하여 1980년 중반까지 동해안 어업의 중추적인 역할을 하였으나, 1980년대 후반부터 감소하기 시작하여 2000년대에는 완전히 자취를 감추었다(강 등, 2013). 본 연구는 인공 부화하여 양성 중인 명태를 대상으로 바이러스 모니터링을 실시하여 차후 명태의 양성과정에서 문제가 될 수 있는 병원체를 검출하고 해당 병원체에 대한 피해를 예방하기 위한 기초자료를 확보하기 위하여 수

행되었다.

강원도 고성, 양양, 강릉에서 각각 양성 중인 명태를 샘플링하여 RT-PCR법으로 바이러스(VHSV, NNV, MABV)의 검출을 시도하였다. 그 결과, 검출을 시도한 VHSV, NNV, MABV 모두 비장시료에서 one-step PCR법으로 검출되지 않았으며, 뇌시료에서 NNV가 1.8%(1/55)의 검출률을 나타내었다. two-step PCR에서는 VHSV가 51.6%(32/62 set), NNV가 1.6%(1/62 set) 비장시료에서 검출되었으며 MABV는 검출되지 않았다. 뇌시료에서는 NNV가 3.6%(2/55)의 검출률을 나타내었다. 자연산 명태의 경우 VHSV의 존재가 보고되긴 하였지만(Meyers et al., 1999), 양식산 명태에서 VHSV와 NNV의 존재는 본 연구에서 처음으로 확인하였다.

VHSV는 1963년 덴마크에서 처음 보고된 이래 주로 유럽의 담수 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)에 감염하여 심각한 문제를 유발하는 것으로 알려져 있으나(Jensen, 1965; Olesen, 1998), Atlantic

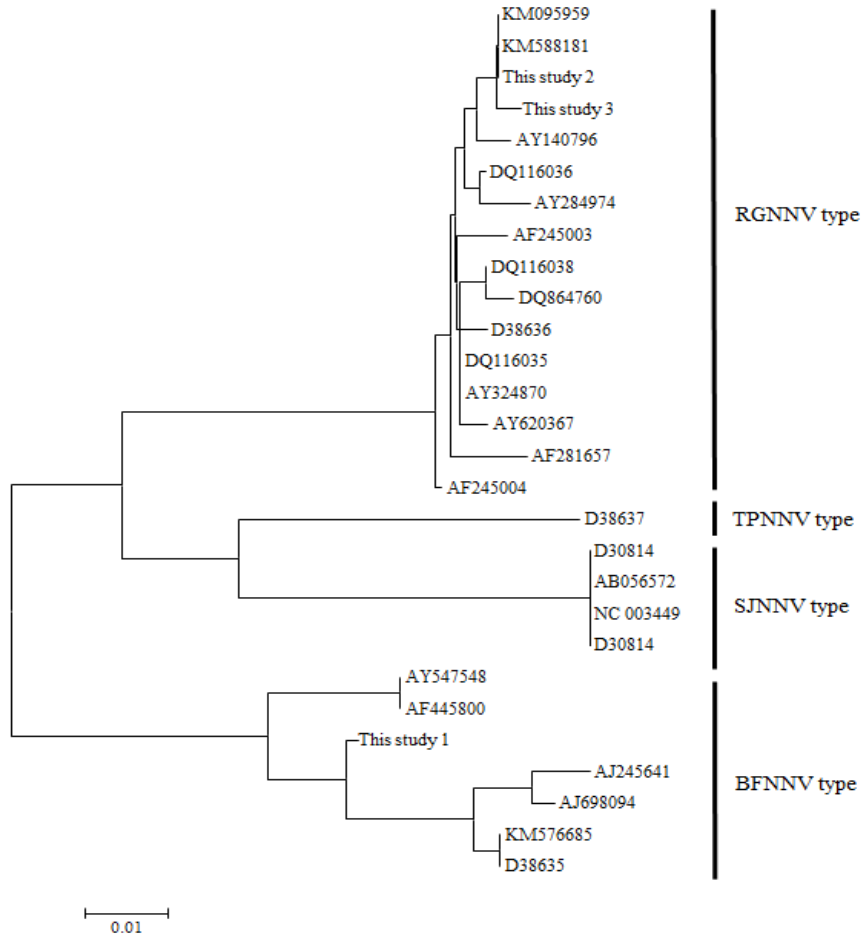


Fig 3. Molecular phylogenetic trees showing the genetic relationships among 28 NNV based on coat protein gene sequences. Phylogenetic analysis indicated that NNV detected in this study belong to RGNNV genotype and BFNNV genotype. Analysis was performed using the MEGA 6 program. The scale bar indicates evolutionary distance

cod (*Gadus morhua*)와 turbot (*Scophthalmus maximus*), Atlantic herring (*Clupea harengus*) 등 다양한 해산어종에서도 분리가 되고 있다(Jensen et al., 1979; Schlotfeldt et al., 1991; Dixon et al., 1997). 국내에서는 양식산 넙치에서 복수와 탈장 등의 증세와 함께 폐사를 유발하는 원인 병원체로 잘 알려져 있으며, 우리나라 연안에 서식하는 다양한 자연산 해산 어종에서도 VHSV가 검출되는 것으로 알려져 있다(김과 박, 2004; 이 등, 2007; 안 등, 2013; 박 등, 2015). G gene (glycoprotein gene) 염기서열을 사용하여 계통분석을 실시한 결과 명태에서 검출된 VHSV는 우리나라와 일본 분리주들이 주로 포

함된 genotype IVa에 속하는 것이 확인되었다. 하지만 본 연구에서 검출된 VHSV 분리주는 모두 two-step RT-PCR로만 검출되어 바이러스의 실제 역가는 매우 낮을 것으로 생각되며, 사육수를 통하여 명태와 접촉하였을 것으로 추정된다.

NNV는 1980년대 일본의 양식산 줄전갱이(*Pseudocaranx dentex*)서 처음 보고된 이후 전 세계적으로 양식산 해산어에 심각한 피해를 주고 있으며, 국내에서는 능성어(*Epinephelus septemfasciatus*) 및 넙치(*Paralichthys olivaceus*), 홍민어(*Sciaenops ocellatus*) 등 약 30종 이상의 해산어에서 보고되어 있다(김 등, 2001; 김 등, 2012; 김과 김, 2015). NNV

에 감염된 어류는 뇌나 망막의 신경이 손상되어 척추측만이나 이상 유영, 체색흑화를 동반한 폐사가 발생하는 것으로 알려져 있다(김 등, 2001). 그러나 연구기간동안 채집한 명태에서 이러한 외관상의 이상을 보이는 개체는 발견되지 않았으며 (data not shown), RT-PCR에 의한 바이러스의 검출을 또한 매우 낮게 나타나 VHSV와 유사하게 바이러스의 역가는 매우 낮을 것으로 생각된다. 그러나 뇌 시료에서는 one-step RT-PCR으로 양성반응을 보이는 시료가 확인되어, 차후 지속적인 모니터링 및 세포주를 이용한 바이러스 분리 시도가 필요할 것으로 생각된다. one-step PCR에서 양성반응을 보인 시료에서 얻은 NNV 염기서열(this study 1)은 아직 국내에서 보고된 바 없는 BFNNV type에 속하는 것으로 확인되었다. BFNNV type의 분리주는 노랑가자미(*Verasper moseri*)와 태평양 대구(*Gadus macrocephalus*) 등 한해성 어류에서 보고되었으며 (Nishizawa et al, 1995; Shetty et al, 2012; Mao et al., 2015), 명태와 이들 어종의 분포해역이 겹치는 점을 고려해볼 때 사육수를 통하여 명태와 접촉하였을 가능성이 있다. Two-step PCR에서만 양성반응을 보인 시료에서 얻은 NNV의 염기서열(this study 2, 3)은 김 등(2012)이 보고한 국내산 넙치(*Paralichthys olivaceus*), 숭어(*Mugil cephalus*), 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*) 분리주가 속하는 RGNNV type에 속하였으며, 역시 사육수를 통하여 명태와 접촉이 있었을 것으로 추정된다.

명태 양성장 3곳의 VHSV 검출율은 강릉 63.6% (7/11 set), 양양 56.2%(9/16 set), 고성 45.7%(16/35 set)로 확인되었다. 강릉 및 양양에서는 연안해수를 그대로 사육수로 사용하였으며 인위적인 수온 조절을 하지 않아 수온 변동의 폭이 큰 편이었다. 한편 고성에서는 해양심층수와 모래로 여과한 연안해수를 혼합하여 수온을 연중 일정하게 조절하여 사육하였다. 이처럼 사육조건이 동일하지 않았으나, VHSV의 검출률에 유의한 차이가 나타나지 않았다.

본 연구결과를 통해 양식산 명태에서 처음으로 VHSV와 NNV가 검출되었다. 그러나 뇌 시료 1개체를 제외하고는 모든 양성개체에서 two-step PCR 방법으로 해당 바이러스의 유전자가 검출이 되었으

며, 모니터링 기간 동안 바이러스 감염이 의심되는 개체 및 폐사 개체가 발견되지 않았다. 본 연구에서는 바이러스의 분리를 시도하지 않아 명태 시료에서 검출된 바이러스의 역가 및 활성은 확인할 수 없었다. 그러나 자연산 명태에서 VHSV가 이미 보고된 바 있어(Meyers et al., 1999) 본 연구에서도 명태가 PCR 양성 반응을 보인 바이러스들에 대해 캐리어 역할을 할 가능성이 있다고 생각되며, 차후 지속적인 모니터링 및 세포주를 사용한 바이러스의 분리, 병원성의 확인, 양성 개체의 캐리어 가능성 확인 등이 필요할 것으로 생각된다.

요 약

2016년 2월에서 9월까지 강원도 고성, 양양, 강릉에서 각각 양성 중인 명태를 샘플링하여 RT-PCR법으로 바이러스(viral hemorrhagic septicemia virus, VHSV; nervous necrosis virus, NNV; marine birnavirus, MABV)의 검출을 시도하였다. 비장시료를 대상으로 한 one-step PCR에서 VHSV, NNV, MABV 모두 검출되지 않았으며, 뇌시료에서 NNV가 1.8%(1/55)의 검출률을 나타내었다. Two-step PCR에서는 VHSV가 51.6%(32/62 set), NNV가 1.6%(1/62 set)의 비장시료에서 검출되었으며 MABV는 검출되지 않았다. 뇌시료에서는 NNV가 3.6%(2/55)의 검출률을 나타내었다. 본 연구결과를 통해 양식산 명태에서 처음으로 VHSV와 NNV가 검출되었다. 그러나 거의 모든 양성개체에서 two-step PCR법으로 해당 바이러스의 유전자가 검출되었으며, 모니터링 기간 동안 바이러스 감염이 의심되는 외관증상을 보이는 개체 및 폐사 개체는 발견되지 않아 바이러스의 역가는 매우 낮을 것으로 생각된다. 차후 지속적인 모니터링 및 세포주를 사용한 바이러스의 분리, 병원성의 확인, PCR 양성 개체의 캐리어 가능성 확인 등이 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2016년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원(과제번호: 2016010057)의 지원

을 받아 수행되었습니다.

References

- Cha, S.J., Do, J.W., Lee, N.S., An, E.J., Kim, Y.C., Kim, J.W. and Park, J.W.: Phylogenetic analysis of betanodaviruses isolated from cultured fish in Korea. *Dis. Aquat. Org.*, 77: 181-189, 2007.
- Dixon, P.F., Avery, S., Chambers, E., Feist, S., Mandhar, H., Parry, L., Stone, D.M., Strømmen, H.K., Thurlow, J.K., Lui, C.T. and Way, K.: Four years of monitoring for viral haemorrhagic septicaemia virus in marine waters around the United Kingdom. *Dis. Aquat. Org.*, 54: 175-186, 2003.
- Dixon, P.F., Feist, S., Kehoe, E., Parry, L., Stone, D.M., Way, K.: Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus from Atlantic herring *Clupea harengus* from the English Channel. *Dis. Aquat. Org.*, 30: 81-89, 1997.
- Jensen, M.H.: Research on the virus of Egtved disease. *Ann. NY Acad. Sci.*, 126: 422-426, 1965.
- Jensen, N.J., Bloch, B., Larsen, J.L.: The ulcus-syndromen cod (*Gadus morhua*) III. A preliminary virological report. *Nord. Vet. Med.*, 31: 436-442, 1979.
- Katou, t.: Alaska Pollack Trade Relation between Japan and Korea. *The Journal of Fisheries Business Administration*, 33: 109-119, 2002.
- Mao, M.G., Wen, S.H., Li, H., Jiang, J.L., Jiang, Z.Q., Li, X., Sun, H. and Lu, H.Q.: Evidence for and characterization of nervous necrosis virus infection in Pacific cod (*Gadus macrocephalus*). *Arch. Virol.*, 160: 2237-2248, 2015.
- Meyers, T.R., Short, S. and Lipson, K.: Isolation of the North American strain of viral hemorrhagic septicaemia virus (VHSV) associated with epizootic mortality in two new host species of Alaskan marine fish. *Dis. Aquat. Org.*, 38: 81-86, 1999.
- Nishizawa, T., Mori, K.i., Furuhashi, M., Nakai, T., Furusawa, I., and Muroga, K.: Comparison of the coat protein genes of five fish nodaviruses, the causative agents of viral nervous necrosis in marine fish. *J. Gen. Virol.*, 76: 1563-1569, 1995.
- Olesen, N.J.: Sanitation of viral haemorrhagic septicaemia (VHS). *J. Appl. Ichthyol.*, 14: 173-177, 1998.
- Samuelsen, O.B., Nerland, A.H., Jørgensen, T., Schrøder, M.B., Svåsand, T. and Bergh, O.: Viral and bacterial diseases of Atlantic cod *Gadus morhua*, their prophylaxis and treatment: a review. *Dis. Aquat. Org.*, 71: 239-254, 2006.
- Shetty, M., Maiti, B., Santhosh, K.S., Venugopal, M. N., and Karunasagar, I.: Betanodavirus of Marine and Freshwater Fish: Distribution, Genomic Organization, Diagnosis and Control Measures. *Indian J. Virol.*, 23: 114-123, 2012.
- Schlotfeldt, H.J., Ahne, W., Jørgensen, P.E.V. and Glende, W.: Occurrence of viral haemorrhagic septicaemia in turbot (*Scophthalmus maximus*)-a natural outbreak. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 11: 105-107, 1991.
- Shida, O., Hamatsu, T., Nishimura, A., Suzuki, A., Yamamoto, J., Miyashita, K. and Sakurai, Y.: Inter-annual fluctuations in recruitment of walleye Pollock in the Oyashio region related to environmental changes. *Deep-Sea Res. II*, 54, 2822-2831, 2007.
- Stone, D.M., Way, K. and Dixon, P.F.: Nucleotide sequence of the glycoprotein gene of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) viruses from different geographical areas: a link between VHS in farmed fish species and viruses isolated from North Sea cod (*Gadus morhua* L.). *J. Gen. Virol.*, 78: 1319-1326, 1997.
- Suebsing, R.: Development and evaluation of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for detecting fish viruses in Korea. Ph.D. Thesis, Gangneung-Wonju national university, Gangneung, Korea, 2012.
- Suzuki, S., Hosono, N. and Kusuda, R.: Detection of aquatic birnavirus gene from marine fish using a combination of reverse transcription and nested PCR. *J. Mar. Biotechnol.*, 5: 205-209, 1997.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A., and Kumar, S.: MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30: 2725-2729, 2013.
- 강수경, 박정호, 김수암: 1970-1990년대 동해에서 어획된 명태(*Theragra chalcogramma*)의 체장에 따른 체급별 어획 마릿수 추정. *한국수산과학회지*, 16: 445-453, 2013.
- 김수미, 박수일: 우리나라 연근해 자연산 해수 어종에서 Viral Hemorrhagic Septicemia Virus(VHSV)의 검출. *한국어병학회지*, 17: 1-10, 2004.
- 김선래, 김은미: 한국의 러시아 명태 수입과 러시아 수산업투자 고찰. *한국 시베리아연구*, 18: 55-78, 2014.
- 김위식, 김종오: 능성어(*Epinephelus septemfasciatus*) 양식장에서의 바이러스성신경괴사증(VNN) 예방 대책. *한국수산과학회지*, 48: 403-410, 2015.
- 김진도, 김석렬, 정성주, 김영진, 정성태, 최태진, 박성

- 우, 오명주 : 홍민어 *Sciaenops ocellatus* 에서의 바이러스성 신경괴사증 viral nervous necrosis. 한국어병학회지, 14: 91-95, 2001.
- 김춘섭, 김위식, Nishizawa Toyohiko, 오명주: 능성어 양식장에서의 viral nervous necrosis (VNN) 발생 양상. 한국어병학회지, 25: 111-116, 2012.
- 박현경, 김승민, 이다원, 전려진, 정준범: 2014년 제주도 양식 넙치, *Paralichthys olivaceus*에 대한 VHS 및 RSIVD 모니터링. 수산해양교육연구, 27: 879-889, 2015.
- 서주영, 권오남: 국내 명태 *Theragra chalcogramma* 자연 채란과 난황흡수까지의 난 발생. 한국산학기술학회논문지, 18: 49-54, 2017.
- 신용민: 명태어업과 중부베링해 명태자원보존관리 협약에 대한 고찰. 해양비즈니스학회지, 15, 81-118, 2010.
- 안상중, 조미영, 지보영, 박명애: 아시아에서 분리된 viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) isolates의 계통분석학적 비교. 한국어병학회지, 26: 149-161, 2013.
- 양윤선, 강수경, 김수암, 김순송: 명태(*Theragra chalcogramma*) 이석 내 산소동위원소 조성과 서식 수온 특성. Ocean Polar Res, 30: 249-258, 2008.
- 오테기, 사쿠라모토 카즈미, 이상고: 동해안에 있어서의 명태 어획량 변동과 산란장의 수온과의 관계. 한국수산자원학회지, 6: 2-13, 2004.
- 이월라, 윤현미, 김석렬, 정성주, 오명주: 남,서해안과 동중국해 자연산 어류에서 Viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) 검출. 한국어병학회지, 20: 201-209, 2007.
- 조미영, 박경현, 지보영, 김진우: 2005년부터 2007년 사이 양식 넙치, *Paralichthys olivaceus*를 대상으로 한 어류바이러스 검출에 대한 통계 자료. 한국어병학회지, 23: 155-163, 2010.

Manuscript Received : May 12, 2017

Revised : June 2, 2017

Accepted : June 2, 2017