

바이러스성 신경괴사증 미감염 홍민어, *Sciaenops ocellatus* 의 종묘생산

김진도[†] · 김영진^{*} · 정성주^{*} · 키타무라신이치^{*} · 박성우^{**} · 오봉세^{***} · 변순규^{****} · 오명주^{*}
국립수산과학원 남해수산연구소, ^{*}여수대학교 수산생명의학과, ^{**}군산대학교 해양생명의학과,
^{***}국립수산과학원 동해수산연구소, ^{****}국립수산과학원 어류연구센터

Nervous necrosis virus (NNV) -free seed production of red drum, *Sciaenops ocellatus*

Jin-Do Kim[†], Young-Jin Kim^{*}, Sung-Ju Jung^{*}, Shin-Ichi Kitamura^{*},
Sung-Woo Park^{**}, Bong-Se Oh^{***}, Soon-Gyu Byun^{****} and Myung-Joo Oh^{*}

SSFRI, National Fisheries Research and development Institute, Yeosu 556-833, Korea

^{*}Department of Aquaculture Medicine, Yeosu National University, Yeosu 550-749, Korea

^{**}Department of Marine Biomedical Science, Kunsan National University, Kunsan 573-702, Korea,

^{***}ESFRI, National Fisheries Research and development Institute, Kangneung 210-861, Korea

^{****}Finfish Research Center, National Fisheries Research and development Institute Uljin 767-863, Korea

Nervous necrosis virus (NNV) that causes severe mortality during seed production of red drum (*Sciaenops ocellatus*) is known to be vertically transmitted from infected spawners. This study was conducted to produce NNV free seeds by testing spawners for NNV infection and using virus free eggs for seed production. RT-PCR analysis of 40 spawners showed 18 positives and 22 negatives. NNV was not detected from eggs obtained from the negative spawners but was detected from those obtained from the positives. NNV was not detected from culturing seawater in tanks and *Chlorella* spp., *Brachionus plicatilis*, and Brine shrimp those were provided as live feed. The survival rates of fry from NNV positive and negative spawners were 80% and 85%, respectively by two weeks after hatching. The mortality increased from 25 days after hatching and the final survival rate of seeds from NNV positive and negative spawners were 0% and 18.3%, respectively on 41 days after hatching. These results suggested that virus free red drum seeds can be obtained by using virus-free spawners.

Key words : Nervous necrosis virus, seed production, red drum, survival rate, virus-free spawner

최근 종묘생산에 관한 국내·외의 연구 경향은 분자유전학적인 기술을 도입하여 어미의 우수한 형질의 파악 및 선발에 의한 우량종묘의 생산을 추구하고 있다. 그러나 이러한 우수한 형질을 지닌 친어의 개발을 위해서는 상당한 시일이 요구되며, 수많은 기술 또는 자본이 투자되어야 한다.

이러한 양식기술의 개발과 더불어 질병분야에서도 종묘생산과정 중의 대량 폐사와 관련된 일부 원인체가 바이러스일 경우, 뚜렷한 방제대책이 없었으므로 간접적으로 원인체인 바이러스의 배제가 시도되고 있다. 바이러스에 감염되지 않았거나, 검출이 되지 않는 친어를 선발하여 종묘생산에 이용함으로써 바이러스성 질병 발생

[†]Corresponding Author : Jin-Do Kim, Tel : 055-546-3521,
Fax : 055-546-6292, E-mail: jdkim@nfrdi.re.kr

억제의 효과를 볼 수 있는 것으로 확인되고 있다 (蟲明 等, 1993; 2000).

바이러스성 신경괴사증 (viral nervous necrosis, VNN)은 종묘생산단계의 자어부터 성어까지 광범위하게 발생하는 바이러스성 질병으로 높은 누적 폐사율을 나타내며, VNN에 감염된 어체는 신경세포 이상으로 인한 척추 만곡, 이상 유영, 체색 흑화 등의 외견적 증상과 병리 조직학적으로 뇌와 망막에 공포와 괴사의 형성이 관찰된다 (Mori *et al.*, 1992; Munday & Nakai, 1994). VNN은 일본, 대만, 노르웨이, 프랑스, 인도네시아 등 전 세계적으로 광범위한 지역과 다양한 어종들로부터 보고되고 있는데 (Watanabe *et al.*, 2000; Zafran *et al.*, 2000; Bovo *et al.*, 1999; Pavoletti *et al.*, 1998), 이에 대해 어류 nodavirus가 바이러스성 뇌질화 및 망막질환 (viral encephalopathy and retinopathy, VER)과 바이러스성 신경괴사증 (viral nervous necrosis, VNN)의 원인체로 알려져 있고, 특히 자어나 치어 단계의 양식어류에서 대량 폐사를 일으키는 것으로 보고되고 있다 (Munday & Nakai, 1997). 또한 이 바이러스는 친어로부터 난 및 자어로 이어지는 수직감염이 확인되어져 있다 (Nishizawa *et al.*, 1997; Watanabe *et al.*, 2000).

국내에서는 1991년에 양식 능성어의 인공 뇌조직으로부터 검출된 바이러스는 이후 PCR법에 의해 nodavirus의 일종임이 확인되었으며, 이 바이러스는 참돔 등 타 어종에는 병원성을 나타내지 않으나, 능성어에는 수온이 높을수록 강한 병원성을 나타내며, 감염 후 생존한 개체에는 재감염시켜도 폐사를 일으키지 않는다는 보고가 있다 (Sohn *et al.*, 1998; 손과 전, 1999). 홍민어의 바이러스성 신경괴사증에 대해서는 폐사 원인의 구명 및 원인 바이러스의 유전학적 검토를 행한 보고가 있다 (Kim *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2002; Oh *et al.*, 2002).

본 연구에서는 1998년 중국으로부터 이식되어 국내에서 자연 산란한 바 있는 홍민어 어미를 확보, 자연 산란을 유도하여 인공 종묘 생산을 실시함에 있어 종묘 생산 시기에 자어의 대량 폐사를 일으키는 nervous necrosis virus (NNV)의 재확산 및 발병을 방지하기 위한 방법으로서 NNV 미감염 친어의 선발에 의한 종묘 생산과 함께 수정란 부화 자어, 먹이생물, 사육용수 등의 NNV 감염 여부도 함께 확인함으로써 초기 대량 폐사의 원인이 되는 바이러스의 증식을 차단 또는 억제할 수 있는 대책을 강구하고자 하였다.

Table 1. Size of red drum, *Scianops ocellatus* spawner used in this experiment

Group	Sex	Number of tested fish	Total Length (cm)	Body Length (cm)	Body Weight (g)
infected or doubt	Female	13	87.1~65.7 (78.4 ± 6.9)	75.5~53.8 (65.6 ± 7.6)	7,340~5,150 (6,740 ± 764.9)
	Male	5	87.0~65.0 (77.9 ± 8.8)	76.8~58.4 (68.6 ± 7.6)	7,450 ~ 5,000 (6,820 ± 1,023.8)
non-infected	Female	7	88.4~69.0 (78.1 ± 8.1)	77.8~60.4 (66.9 ± 7.7)	8,710~5,650 (7,014 ± 836.5)
	Male	15	86.9~67.2 (76.7 ± 6.3)	76.4~57.9 (66.4 ± 6.1)	7,960~5,690 (7,171 ± 1,154.9)

재료 및 방법

NNV 미감염 어미의 선발 사육

본 연구에 사용된 종묘 생산용 친어는 1999년과 2000년에 산란한 경험이 있는 어미 40마리이었으며, 이들을 대상으로 NNV 감염 여부를 조사하여 미감염 친어를 선발하였다 (Table 1). 친어 개체를 구분하기 위하여 어류의 등쪽 근육 부위에 표지용 칩을 주사하여 각각의 개체를 표지하였다. NNV의 감염여부는 혈액표본을 채취하여 Oh *et al.* (2002)이 제시한 RT-PCR법에 의하여 확인되었으며, NNV 검출 유무 판정 후 수조내 사육중의 친어를 전량 채포하여 각 개체의 친어의 등쪽 근육에 삽입된 칩의 고유번호를 Tag Reader로 확인하여 감염 및 미감염 친어를 구분, 선별하고 이들을 각각 다른 수조에 분리, 수용하여 사육하였다.

사육기간 중에 주기적인 감염원의 조사를 행하였으며, 매일 먹이의 섭취와 유영행동의 이상을 관찰하였고, 폐사개체의 발생 유무를 확인하였다.

산란이 예정되는 시기 1개월 전인 8월 중순에 산란용 수조의 외부에 채란망 (망목 500 μ m)을 설치하여 산란 유무를 관찰하였다. 자연 산란된 수정란은 감염군의 수정란과 미감염군의 수정란으로 구별하여 각각 다른 부화용 수조에 일정량을 수용하였으며, 그 일부는 RT-PCR법에 의한 NNV 감염 여부 조사를 위한 시료로 사용하였다.

RT-PCR법에 의한 바이러스 감염 조사

친어에 대한 NNV 감염 조사는 2001년 4월, 7월, 10월 등 총 3회에 걸쳐 친어의 혈액을 대상으로 실시하였으며, 검사용 혈액 시료는 사육 중인 시험어를 1마리씩 채포하여 200 ℓ 의 용기 내에서 마취시킨 후, 미부 동맥으로부터 마리 당 1~3 ml의 혈액을 채취하였다.

채취된 혈액으로부터 RNA isolation kit (Roche

Co.)를 이용하여 RNA를 분리하여 RT-PCR을 실시하였다 (Oh *et al.*, 2002). 증폭된 PCR product들은 1.5% agarose gel을 이용하여 전기영동을 실시한 후, UV-transilluminator 상에서 확인하였으며, 이 결과를 토대로 NNV 감염 및 미감염 어미를 구분하였다.

종묘 생산 과정 중의 바이러스 감염 조사

종묘 생산 과정 중 수평감염에 관련될 수 있는 요소 중 먼저 수조내의 사육수 및 클로렐라는 오 등의 방법 (2000)에 따라 농축하여 1 ml씩을 취해 RT-PCR을 위한 시료로 사용하였으며, 로티퍼, 일테미아 등은 필터가제 (50~100 μ m)에서 걸러진 개체를 농축하여 1 g씩을 취하여 RT-PCR에 의한 바이러스 감염 여부 조사를 실시하였다.

자치어의 사육

NNV에 감염 및 미감염된 친어군으로부터 생산된 수정란 20 ml씩을 3.5 ton 콘크리트 수조에 수용하여 부화시켜, 부화된 자어를 대상으로 종묘생산을 실시하였다. 종묘 생산의 과정은 초기 물만들기, 생물사료 및 인공사료 공급 등 일반적인 해산어 종묘 생산 방법에 준하여 실시하였다.

결 과

RT-PCR법에 의한 NNV 미감염 친어의 선발

NNV에 감염되지 않은 건강한 홍민어 종묘생산을 위해 우선 친어에 대한 바이러스 감염 여부를 확인하고자 홍민어 친어의 혈액으로부터 RNA를 추출하고 다시 이를 cDNA로 역전사시킨 다음, NNV의 부분 유전자를 특이적으로 증폭시키는 primer를 이용하여 RT-PCR을 실시하는 방법으로 홍민어 친어의 바이러스 감염 여부를 확인하였다.

2001년도에 PCR법에 의한 산란용 친어의 NNV 검출 결과, 최종적으로 총 40마리의 검사

Table 2. Detection of NNV from *S. ocellatus* spawners using RT-PCR

Individuals	Sex	Result	Individuals	Sex	Result
3A72	♂	-	5D47	♀	+
0421	♂	-	3D64	♂	+
201F	♀	+	1970	♂	-
5338	♀	-	6F63	♀	+
6B41	♂	-	5F48	♀	-
3D3D	♀	+	5245	♂	-
401A	♂	-	6834	♂	-
697F	♂	-	7D37	♀	+
z156E	♀	+	0C5F	♂	-
7B52	♀	-	7F04	♂	-
7812	♂	-	4958	♀	-
7800	♀	+	7E53	♀	+
7A25	♂	-	7F48	♂	-
0076	♂	+	4105	♀	-
4F3E	♂	-	3B56	♀	+
750B	♀	+	3B6C	♂	+
7F76	♂	+	6616	♂	-
620B	♀	+	5852	♀	-
7168	♀	+	4F34	♀	+
425B	♂	+	5760	♀	-

+, Positive; -, Negative.

어 중에서 양성인 개체가 18마리, 음성인 개체는 22마리였다 (Table 2). 그 결과에 따라 음성인 개체 22마리와 양성인 개체 18마리를 2개 수조로 나누어 각각 다른 수조에 수용하여 사육하면서 자연 산란을 유도하였다.

시험용 친어는 사육 기간 중 폐사가 없었으며 예상되었던 시기에 가깝게 2001년 9월 13일에 첫 산란을 한 이후 5회의 산란이 일어났다.

산란 기간 중의 수온 범위는 24.9~25.1°C였으며, 사육 해수의 비중은 1.0210~1.0216이었다.

종묘 생산과정중의 바이러스 감염 조사

자연 산란된 수정란 및 경과 단계별 부화 자어로부터 상기의 PCR법을 이용하여 NNV 감염 여부를 확인한 결과, 미감염 친어로부터의 수정란에서는 바이러스를 발견할 수 없었지만, 감염된 친어로부터의 수정란에서는 바이러스 감염을 확인할 수 있었다 (Fig. 1).

먹이생물인 클로렐라, 로티퍼, 일테미아와 수조내의 사육수를 대상으로 PCR을 이용한 NNV 검출 결과, 모두 음성으로 나타나 홍민어 종묘 생산장에서의 NNV의 수평감염은 확인되지 않았다.

미감염 친어 유래 수정란의 실험구에서 폐사

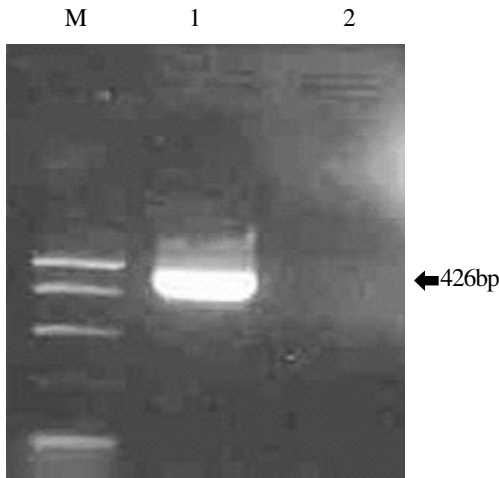


Fig. 1. Detection of NNV from fertilized eggs obtained from infected and non-infected spawners. M, DNA size marker; 1, eggs from infected spawner; 2, eggs from non-infected spawner.

되지 않고 부화 후 8주째 까지 생존하여 성장한 개체를 대상으로 PCR 검사한 결과 생산어에서 는 NNV가 검출되지 않았다.

감염 및 미감염 친어 유래 치어의 최종 생존율

부화 후 8주간의 감염 및 미감염 자치어를 사육한 결과, 생존율에 있어 초기 2주째까지는 각각 80%, 85%로서 양호한 생존율을 보였으나, 감염된 친어의 수정란에서 부화한 자어의 경우 부화 후 25일 경부터 누적되는 폐사가 일어나기

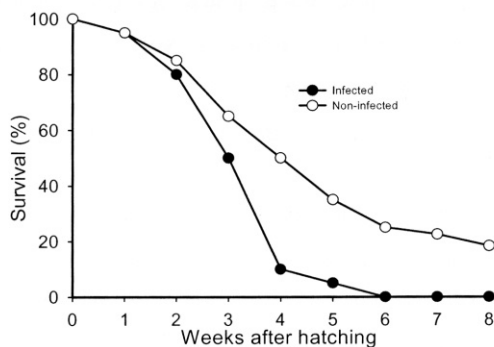


Fig. 2. Survival rate (%) of fingerlings after hatching of the fertilized eggs from the infected or non-infected spawners.

시작하여 부화 후 41일째 (전장 15~20 mm)에 대부분 폐사되었다. 최종적으로는 감염된 친어 유래의 치어의 경우 41일째에 100% 폐사한 반면, 미감염 친어 유래의 치어는 최종적으로 18.3%의 생존율을 보였다 (Fig. 2).

고 찰

종묘 생산 중의 홍민어 자어의 대량 폐사를 일으키는 원인체가 *nodavirus*로 밝혀짐에 따라 일단 원인체인 NNV가 산란용 친어로부터 수정란을 경유하여 자어로 수직 전파가 성립되지 않도록 하는 것이 홍민어의 안정된 종묘 생산에 필요한 수단으로 생각된다 (Kim *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2002). 본 연구를 통하여 총 40마리의 친어로부터 NNV가 검출된 18마리를 확인할 수 있었다. 검출이 되지 않은 나머지 22마리에 대한 검사는 산란 전까지 3회에 걸쳐 실시하였으나 동일한 결과를 나타내었으므로 이들을 종묘 생산에 사용하였다. 그러나 검사 당시 홍민어 친어의 정액이나 미수정란의 채취가 어려워 시료를 단지 혈액만을 대상으로 하였기 때문에 완벽한 검사라고 판단하기에는 한계가 있었다. Arimoto *et al.* 등 (1993)은 원인체인 바이러스가 확인은 되나 검사 시료의 상태, primer의 종류, 숙주인 어종의 특성이 NNV 검출에 작용하는 점과 바이러스 자체의 유전적 변이 등이 미약한 오차를 가져 올 수도 있다고 하였다. 그러므로 본 연구에서는 일차적인 바이러스 검사에 의해 확인된 친어의 수정란 및 부화 단계별 자어의 NNV 감염 여부 및 폐사 상황을 관찰함으로써 친어의 바이러스 감염 유무와 이들 각각의 수정란으로부터 유래된 부화 자어의 종묘 생산 기간 중에 있어서의 발병 연관성을 재확인하는 일련의 바이러스 감염 유무 확인 조사를 실시하였다. 그 결과, 본 시험에 사용되었던 감염 및 미감염 수정란에서 부화 후 성장 단계별 자어에 있어서 친어의 혈액 샘플을 대상으로 확인된 바이러스 감염유무에 따라 나누어 생산된 종묘에서의 바

이러스 감염 결과는 오차 없이 동일한 감염 결과를 확인할 수 있었으므로, 본 실험에 사용한 친어의 바이러스보유 조사방법을 적용하여 행하여진 무감염 친어 선발방법은 신뢰성이 있는 방법으로 판단되어졌다.

본 연구를 통하여 확인되어진 감염 및 미감염 친어로부터 생산되어진 수정란에 대한 바이러스 감염 여부 결과는 친어와 동일하게 나타났다. 이들 수정란으로부터 부화 된 자어들은 양쪽 모두 부화 후 1주일째부터 폐사를 일으켰으며, 감염 친어군로부터의 치어는 부화 후 41일째 전량 폐사하였으며, 미감염친어군 유래의 치어는 부화 후 60일째까지의 실험 관찰 기간까지 18.3%의 생존율을 보였다. 이들 실험구의 빈사어 및 폐사어의 바이러스 검출 결과, 양쪽 모두 바이러스는 검출이 되지 않았다. 또한 바이러스성 신경괴사증의 특징인 이상유영이나 발작, 척추만곡 등의 현상도 관찰되지 않았으며, 폐사 기간이 단기간이 아니었던 점 등에서 NNV에 의한 폐사라고는 볼 수 없었다. 다른 병원체의 경우와 마찬가지로 홍민어에 있어서의 NNV도 증식에 적합한 숙주의 상태, 사육수온과 같은 환경적인 요소 등 여러 가지 요인이 작용하여 발병됨으로써 대량 폐사에 이르게 될 것이라고 추측하였다. 즉 병원체인 바이러스의 병원성만으로 대량폐사가 일어나는 것이 아니라, 병원체가 숙주에 침입하여 발병되어 대량폐사가 일어나기까지의 역학적인 연구도 필요할 것으로 생각된다.

예를 들면 수조 내에서의 자어의 밀도 조건에 따라 병원체에 노출되는 확률이라든지, 바이러스가 감염된 상태에서 어류 병원성 세균 등 다른 병원체의 침입을 동시에 받아 폐사하는 등 여러 가지 원인이 있을 수 있다고 볼 수 있었다 (Muroga *et al.*, 1998). 종묘 생산 과정 중의 수정란이나 부화 자어들은 성어에 비해서 저항력이 약하고 성어에 감염되어도 폐사가 되지 않을 정도의 병원체에 의해서도 대량 폐사가 일어날 수 있다 (室賀 等, 1998; 2000). 그러므로 병원체의 수평전파를 방지하기 위해서는 종묘 생산에 사

용되는 사육 수조, 사육용 해수, 먹이생물의 사전 검사가 필요하다고 생각되어 실제적인 종묘 생산에 들어가기 전에 사육 수조를 완벽히 소독하여 건조시켰으며, 사육에 사용되는 여과 해수, 수질 안정 및 사육 수조내의 로티퍼의 밀도 유지를 위해 보충되는 클로렐라, 자어의 먹이로서 매일 일정량 공급되는 로티퍼, 알테미아 유생 등이 NNV 수평전파의 매개체로서의 가능성이 있으므로 이들에 대한 사전 검사를 실시하였다. 그 결과 종묘 생산 기간 중에 수조내에 투입되는 모든 요소들에서 NNV가 검출이 되지 않았다.

요 약

홍민어의 종묘 생산 중에 자어의 대량 폐사를 일으키는 nervous necrosis virus (NNV)의 감염에 의한 피해를 방지하기 위하여 NNV 미감염 친어의 선발에 의한 종묘 생산을 시도함과 동시에 수정란, 부화자어, 먹이생물, 사육 용수 등의 NNV 감염 여부를 확인하였다. RT-PCR 법에 의한 홍민어 친어의 바이러스 감염 여부를 확인한 결과, 총 40마리의 검사어 중에서 양성인 개체가 18마리, 음성인 개체는 22마리였다. 시험어로부터 자연 산란된 수정란 및 경과 단계별 부화 자어로부터 PCR법을 이용한 NNV 감염 확인 결과, 미감염 친어로부터의 수정란에서는 바이러스가 확인되지 않았으나, 감염된 친어로부터의 수정란에서는 바이러스 감염이 확인되었다. 또한 자어의 먹이생물인 클로렐라, 로티퍼, 알테미아 및 사육 용수를 대상으로 한 NNV 검출 결과, 모두 음성으로 나타났다. 부화 후 8주간의 감염 및 미감염 자치어의 사육 결과에 있어서는 초기 2주째까지의 생존율이 각각 80%, 85%로서 양호하였으나, 부화 후 25일째부터 폐사가 일어나기 시작하였다. 감염 친어구의 경우 41일째에 100% 폐사한 반면, 미감염 친어구는 최종적으로 18.3%의 생존율을 보여, 이러한 결과는 친어에 대한 NNV 검사를 실시하여 바이러스에 감염되지 않은 홍민어 종묘를 생산할 수 있다는 것을

제시 한다.

감사의 글

본 연구는 국립수산물과학원 (홍민어 이식시험 RP-2005-AQ-030)의 지원에 의해 운영되었습니다.

참고 문헌

- Arimoto, M., Mori, K., Nakai, T., Muroga, K. and Furuzawa, I.: Pathogenicity of the causative agent of viral nervous necrosis disease in striped jack, *Pseudocaranx dentex* (Bloch and Schneider). *Journal of fish diseases*, 16(5): 461-469, 1993.
- Bowden, R. A., Oesstmann, D. J. Lewis, D. H. and Frey, M. S.: Lymphocystis in red drum. *J. Aquat. Anim. health*, 7(3): 231-235, 1995.
- Bovo, G., T. Nishizawa, C. Maltese, F. Borghesan, F. Mutinelli, F. Montesi and S. De Mas.: Viral encephalopathy and retinopathy of farmed marine fish species in Italy. *Virus Res.*, 63: 143-146, 1999.
- Caray, O. Cunningham: Molecular diagnosis of fish and shellfish disease: Present status and potential use in disease control. *Aquaculture*, 206: 19-25, 2002.
- Kim, J. D., Kim, S. R., Jung, S. J., Kim, Y. J., Jung, T. S., Choi, T. J., Park, S. W. and Oh, M. J.: Occurrence of viral nervous necrosis (VNN) in red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae. *J. Fish Pathol.*, 14(2): 91-95, 2001.
- Kim, S. R., Jung, S. J., Kim, Y. J., Kim, J. D., Jung, T. S., Choi, T. J., Yoshimzu, M. and Oh, M. J.: Phylogenetic Comparison of Viral Nervous Necrosis (VNN) Viruses Occurring Seed Production Period. *J. Korean Fish. Soc.*, 35(3): 237-241, 2002.
- Mori, K-I., Nakai, T., Muroga, K., Arimoto, M., Mushiake, K. and Furusawa, I.: Properties of a new virus belonging to Nodaviridae found in larval striped jack, *Pseudocaranx dentex* with nervous necrosis. *Virology*, 187(1): 368-371, 1992.
- Munday, B. L. and Nakai T.: Some diseases of economic significance in Australian finfish aquaculture. International symposium on aquatic animal health: Program and abstracts, Univ. of California, School of Veterinary Medicine, Davis, CA (USA), p. W-22.6, 1994.
- Munday, B. L. and T. Nakai: Special topic review: nodaviruses as pathogens in larval and juvenile marine finfish. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 13: 375-381, 1997.
- Oh, M. J., Jung, S. J., Kim, S. R., Rajendran, K. V., Kim, Y. J., Choi, T. J., Kim, H. R. and Kim, J. D.: A fish nodavirus associated with mass mortality in hatchery-reared red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, 211(1): 1-7, 2002.
- Pavoletti, E., M. Prearo, M. Ghittino and C. Ghittino: Cases of viral nervous necrosis (VNN) in shy drum, *Umbrina cirrosa* with description of clinical symptomatology and anatomohistopathological features. *Boll. Soc. Ital. Patol. Ittica.*, 10(23): 24-33, 1998.
- Sohn, S. G., Park, M. A., Oh, M. J. and Chun, S. K.: A fish Nodavirus isolated from cultured sevenbanded grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *J. Fish Pathol.*, 11(2): 97-104, 1998.
- T. Nishizawa, Mori K., Nakai T., Furusawa I. and Muroga K.: Polymerase chain reaction (PCR) amplification of RNA of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). *Dis. Aquat. Org.*, 18(2): 102-107, 1994.
- T. Nishizawa, M. Furuhashi, T. Nagai, T. Nakai and

- K. Muroga: Genomic Classification of Fish Nodaviruses by Molecular Phylogenetic Analysis of the Coat Protein Gene. *Applied and Environmental Microbiology*, 1633-1636, 1997.
- Watanabe, K., Suzuki, S., Nishizawa, T., Suzuki, K., Yoshimizu, M. and Ezura, Y.: Control strategy for viral nervous necrosis of barfin flounder. *Fish Pathol.*, 33(4): 445-446, 1998.
- Watanabe, K., T. Nishizawa and M. Yoshimizu: Selection of brood stock candidates of barfin flounder using an ELISA system with recombinant protein of barfin flounder nervous necrosis virus. *Dis. Aquat. Org.*, 41(3): 219-223, 2000.
- Zafran, Isti Koesharyani, Fris Johnny, Kei Yuasa, Takihiko Harada and Kishio Hatai: Viral nervous Necrosis in Humpback Grouper *Cromileptes altivelis* Larvae and Juveniles in Indonesia. *Fish Pathology*, 35(2): 95-96, 2000.
- 손상규, 전세규: 능성어, *Epinephelus septemfasciatus*의 바이러스성 신경 괴사증 바이러스의 병원성 연구. *한국어병학회지*, 12(2): 107-113, 1999.
- 室賀清邦, 古澤 徹, 古澤 巖: シマアジのウイルス性神経壊死症. *水産増殖*, 46(4): 473-480, 1998.
- 室賀清邦: 疾病防除の面からみた放流用種苗生産のあり方. *栽培技研*, 28(1): 39-45, 2000.
- 오명주, 김석렬, 정성주, 김형락, 김홍윤, 여인규: 한외여과막을 이용한 해수내 어류 병원 바이러스 농축법. *한국어병학회지*, 13(1): 61-66, 2000.
- 蟲明敬一, 中井敏博, 室賀清邦, 關谷幸生, 古澤巖: シマアジのウイルス性神経壊死症 仔魚の發病に對する抗體價および産卵飼育方法の影響. *水産増殖*, 41(3): 327-332, 1993.
- 蟲明敬一: シマアジ親魚の産卵に伴つて増殖とその性神経壊死症 (VNN) 原因 (SJNNV) 抑制果. *水産増殖*, 48(1): 109-115., 2000.

Manuscript Received : October 07, 2005

Revision Accepted : March 07, 2006

Responsible Editorial Member : Kwan-Ha Park
(Kunsan Univ.)