

남·서해안과 동중국해 자연산 어류에서 *Red Sea Bream Iridovirus* (RSIV)의 검출

이월라 · 김석렬 · 윤현미 · 키타무라 신이치* · 정성주 · 오명주[†]
전남대학교 식품·수산생명의학부, *에히메대학교 연안환경과학연구센터

Detection of *Red Sea Bream Iridovirus* (RSIV) from marine fish in the Southern Coastal Area and East China Sea

Wol-La Lee, Seok-Ryel Kim, Hyun-Mi Yun, Shin-Ichi Kitamura*, Sung-Ju Jung and Myung-Joo Oh

Division of Food Science and Aquaculture Medicine, Chonnam National University,
Yeosu 550-749, Republic of Korea

*Center for Marine Environment Studies (CMES), Ehime University, Matsuyama 790-8577, Japan

Red sea bream iridovirus disease (RSIVD) cause massive economic losses in marine aquaculture industry in Korea. The causative agent of this disease (RSIV) infects a wide range of fish species. The aims of this study were to monitor RSIV in wild marine fishes and to give critical information for controlling the disease through prophylactic methods. Prevalence of the viral disease, geographical distribution and reservoir of the virus were investigated using wild marine fishes captured in southern coast and east china sea for two years. (Polymerase Chain Reaction) PCR results showed that RSIV were detected in 39 (24.3%) out of 160 fish. MCP gene sequences of viral strains isolated in this study were closely related to that of a reference strain, red seabream-K, belonging to Megalocytivirus subgroup III. The results suggest that some of wild marine fishes are RSIV carriers and may spread the pathogen directly to fish farmed in coastal area.

Key words: Megalocytivirus, RSIV, Distribution, PCR,

서 론

Iridovirus과 megalocytivirus속으로 분류되어지는 red sea bream iridovirus (RSIV)는 일본 시코쿠 지역의 참돔 가두리 양식장에서 처음 발병되었으며 (Inouye et al., 1992), 1998년 이후 우리나라 남해안의 통영지역을 중심으로 넓게는 서해안에 이르기까지 고수온기에 국내에서 양식되는 참돔 (*Pagrus major*)과 돌돔 (*Oplegnathus fasciatus*)에 특이적으로 매년 발생하여 경제적인 손실을 일으키고 있다 (Oh and Jung, 1999; Sohn et al., 2000; Kim et al., 2002). 또한 발병 어종도 다양해져서 감성돔 (*Acanthopagrus shlegeli*), 농

어 (*Lateolabrex* sp.), 방어 (*Seriola quinqueradiata*), 전갱이 (*Trachurus japonicus*), 능성어 (*Epinephelus septemfasciatus*)등 농어목 28종, 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)가 포함되는 가자미목 2종 및 자주복 (*Takifugu rubripes*)이 포함되는 복어목 1종에서 RSIV가 발생한다고 보고되었으며 (Kawakami and Nakajima 2002) 아시아권의 일본, 싱가포르, 태국, 대만, 한국 등에서 보고되었다. (Inouye et al., 1992; Danayadol et al., 1996; Miyata et al., 1997; Muroga, 1995; Chou et al., 1998; Sudthongkong et al., 2002; Oh et al., 2006; Do et al. 2005)

RSIV는 유전학적으로 *Megalocytivirus* strain으

[†]Corresponding Author : Myung-Joo Oh, Tel : 061-659-3173
Fax : 061-659-3173, E-mail : ohmj@chonnam.ac.kr

로 분류되며 3가지 subgroup으로 나뉘는데 (Kim et al., 2005) 우리나라의 다양한 지역에서 분리한 어종 돌돔, 참돔, 농어, 조피볼락, 넙치에서 분리한 RSIV strain들은 일본에서 분리한 RSIV와 유전학적으로 유사하여 Subgroup III로 분류하고 있고 돌돔과 넙치에서 일본에는 존재하지 않은 또 다른 바이러스의 유전형이 존재함을 보고하였다 (Do et al., 2005). 이들 RSIV의 다양한 유전형들의 보고는 활어의 수출입 과정이나 혹은 자연계어류의 이동에 의한 유입에 의한 것으로 생각되며, 수산자원의 관리를 위한 수산종묘 방류사업을 통하여 해마다 수 백만마리의 어류가 연안에 방류되고 있어 자연산 어류에서의 RSIV 검출동향에 대한 이해가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 동남아시아 수역에서 주로 서식하는 어류가 우리나라로 유입될 때의 입구가 되어지는 동중국해를 중심으로 한 3지점 및 우리나라 서해안과 남해안의 10지점에서 자연산 어류를 채집하여 자연산 어류에 존재하는 RSIV 동태를 조사하였으며, 검출된 바이러스의 유전자 염기서열을 분석하여 기존에 보고된 바이러스 분리주들과의 유전학적인 상관관계를 비교 검토하였다.

재료 및 방법

실험어

어류 샘플은 2003년 6월 25일부터 6월 30일까지 남해안의 2지점 (A, B), 서해안의 1 지점 (C), 동중국해역의 3지점 (D-F), 2005년 6월 24일부터 6월 28일까지 서해안의 3지점 (G, H, I) 과 남해안의 3지점 (J-L) 그리고 7월 28일 서해안의 1지점(M)에서 어류를 채집하였으며 각 지점은 Fig. 1에 나타내었다. 2003년과 2005년에 샘플된 어류는 외관상 건강해 보이는 어류로 각각 80마리씩 총 160마리 14목 27과 47종을 채집하여 크기를 측정하였다 (Table 1). 샘플의 비장과 신장은 적출하여 실험에 사용하기 전까지

-80°C에 보관하였다.

바이러스 핵산의 분리

160마리 어류의 비장과 신장을 섞어 마쇄한 여과액은 RSIV 검출에 사용하였다. RSIV 검사용 바이러스샘플 200 μ l에 Proteinase K (20mg/ml Proteinase K in 10mM Tris-HCl, pH 7.5; with Ca^{2+} ion and glycerol as stabilizers, Invitrogen)를 바이러스샘플 200 μ l의 1/10의 비율로 20 μ l를 첨가하여 55°C에서 2시간 반응시키고 phenol : chloroform : isoamyl Alcohol (25 : 24 : 1 Saturated with 10 mM Tris, pH 8.0, 1 mM EDTA) (SIGMA Co. USA)을 1:1 비율로 220 μ l를 첨가하여 13000 rpm으로 5분간 4°C에서 원심분리하고, 상층액을 분리하여 1:1의 비율로 chloroform 220 μ l를 첨가하고 13000 rpm으로 다시 5분간 상온에서 원심분리를 하였다. 그리고 상층액의 1/10의 비율로 3M sodium acetate (Sodium acetate 40.8g/80 ml DW, pH 5.2)를 첨가한 후, 전체 volume과 동일하거나 그 이상의 isopropyl alcohol ($[CH_3]_2CHOH$)을 첨가하여 -20°C에서 10분간 반응시켰다. 그리고 17000 rpm으로 15분간 4°C에서 원심 분리하여 상층액은 제거하고 pellet만 DW₃ (10 μ l)로 재부유 시켜, PCR template로 사용하였다.

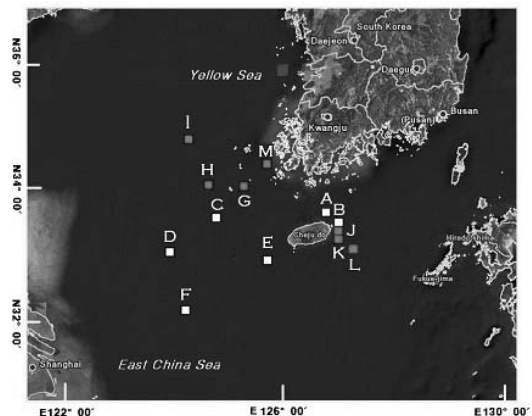


Fig.1. Sampling sites of the south (A-B, J-L), west coastal area (C, H-I, G-M) and east china sea (D-F) in 2003 (□) and 2005 (■).

Table 1. Samples and results of Iridovirus detection from various wild marine fishes in 2003

Location	Fish species (No. fish examined)	Size (cm)	RSIV (No.detected/No.examined)
A	Claudy catfish, <i>Scyliorhinus torazame</i> (2)	35-40	-
	Sevenband grouper, <i>Epinephelus septemfasciatus</i> (1)	27	-
	Mirror dory, <i>Zenopsis nebulosa</i> (2)	25-31	-
	Common conger, <i>Conger myriaster</i> (1)	78	-
	Scorpion fish, <i>Sebastiscus marmoratus</i> (2)	20	-
	Blackmouth angler, <i>Lophiomus setigerus</i> (2)	32-41	+(1/2)
	Red tilefish, <i>Branchiostegus japonicus</i> (2)	28-30	-
	Redseabream, <i>Pagrus major</i> (2)	35-50	-
	Yellowback seabream, <i>Dentex tumifrons</i> (5)	13-15	-
	Striped grouper, <i>Epinephelus latifasciatus</i> (1)	30	-
B	Grouper, <i>Zalanyhias azurnanus</i> (1)	14	-
	Mirror dory, <i>Zenopsis nebulosa</i> (1)	30	-
	Shotted halibut, <i>Eopsetta grigorjewi</i> (1)	25	-
	Cubed snailfish, <i>Liparis tessellatus</i> (1)	27	-
	Amoreadweasel-fish, <i>Haplobrotula armata</i> (1)	33	-
	Scorpion fish, <i>Sebastiscus marmoratus</i> (2)	20	-
	Blackmouth angler, <i>Lophiomus setigerus</i> (2)	32-41	-
	Red tilefish, <i>Branchiostegus japonicus</i> (2)	28-30	-
	Horse mackerel, <i>Trachurus japonicus</i> (1)	24	-
	Horse king fish, <i>Kaiwarinus equula</i> (1)	17	-
	Yellowback seabream, <i>Dentex tumifrons</i> (2)	13	-
	File fish, <i>Thamnaconus modestus</i> (1)	25	-
	Japanese barracuda, <i>Sphyræna japonica</i> (1)	32	-
	Slender lizardfish, <i>Saurida elongata</i> (1)	65	-
C	Finespotted flounder, <i>Pleuronichthy cornuts</i> (4)	20-22	-
	Blackthroat seaperch, <i>Doederleinia berycoides</i> (2)	15	-
	Goldeye rockfish, <i>Sebastes thompsoni</i> (1)	17	-
	Armored weasel-fish, <i>Hoplobrotula armata</i> (1)	34	-
	Blackmouth angler, <i>Lophiomus setigerus</i> (1)	33	-
	Skate ray, <i>Raja kenojei</i> (1)	40	-
D	Finespotted flounder, <i>Pleuronichthy cornuts</i> (1)	20	-
	Largehead hairtail, <i>Trichiurus lepturus</i> (1)	65	-
	Cubed snailfish, <i>Liparis tessellatus</i> (2)	20	-
	Blotched eelpout, <i>Zoarces gilli</i> (1)	40	-
	Blackmouth angler, <i>Lophiomus setigerus</i> (1)	30	-
E	Yellow croaker, <i>Larimichthys polyactis</i> (1)	20	-
	Finespotted flounder, <i>Pleuronichthy cornuts</i> (4)	19-21	+(1/4)
	Largehead hairtail, <i>Trichiurus lepturus</i> (2)	70	-
	Amoreadweasel-fish, <i>Haplobrotula armata</i> (2)	22-26	-
	Speamose grenadier, <i>Caelorinchus multispinulosus</i> (2)	26-32	+(1/1)
	Blackthroat seaperch, <i>Doederleinia berycoides</i> (4)	16-22	+(1/4)
	Mirror dory, <i>Zenopsis nebulosa</i> (1)	14	-
	Yellowback seabream, <i>Dentex tumifrons</i> (1)	12.5	-
F	Yellow croaker, <i>Larimichthys polyactis</i> (4)	17-19	-
	Belted beard grunt, <i>Hapalogenys mucronatus</i> (1)	18	-
	White croaker, <i>Argyrosomus argentatus</i> (1)	22	-
	Purple pike conger, <i>Muraenesox cinereus</i> (3)	65	-
Total	80		4

Red Sea Bream Iridovirus (RSIV) 검출

Red sea bream iridovirus (RSIV)의 검출을 위한 PCR primer는 Kim et al. (2005)이 보고한 TBIV-MCP gene을 DNA 부분 서열로 한 2세트의 Primer를 제작하여 PCR을 실시하였다 (Fig. 2, Fig. 3). PCR은 AccuPower PCR premix tube (Bioneer Co. ROK)에 template 1 μ l를 넣어, Thermal cycler (Perkin-Elmer 2400)를 사용하여 1step은 94°C에서 1분, 59°C에서 1분, 72°C에서 1분으로 하여 30 cycles로 증폭시켰다. 2step은 1step PCR 산물의 핵산 1 μ l를 넣어 95°C 1분 95°C 1분, 59°C 1분, 72°C 1분간 30 cycles로 증폭시켰다. PCR 증폭 산물은 1.5% agarose gel을 사용하여 전기 영동한 후 UV transilluminator 상에서 전기 영동상을 확인하였다. PCR products는 gel purification kit (Bioneer Co. ROK)를 이용하여 정제 후 sequence하여 GenBank에 등재된 다양한 VHS strain의 sequence data를 이용하여 Genetyx-Win Version 5.1 program으로 분석하였고, Mega

3와 ClustalX 1.8 program을 사용하여 phylogenetic tree (UPGMA)로 연관성을 비교하여 그 유전적 위치를 확인하였다.

결 과

남해안과 동중국해에서 2003년과 2005년 2년간 자연산어류 샘플결과 총 160마리 (14목, 27과, 40종)가 조사되었으며 PCR법을 이용한 RSIV 검출결과 2003년에는 80마리 중 4마리에서 VHSV가 검출되어 검출율 5% 그리고 2005년에는 39마리에서 검출되어 검출율 43.7%를 나타내었으며 검출된 어류는 모두 PCR product 산물을 1.5% agarose gel에서 확인한 결과 2 step PCR 548bp에서 특이 밴드가 확인되었다.

검출된 어종은 2003년에는 아귀, 도다리, 줄비늘치, 눈볼대 4종 (4마리)에서 RSIV가 검출되었으며 (Table 1), 2005년에는 참조기, 기름가자미, 두툽상어, 살살치, 황돔, 붕장어, 병어, 양태, 송어,

Table 2. Samples and results of virus detection from various wild marine fish in 2005

Location	Fish species (No. fish examined)	Size (cm)	RSIV (No. detected/No. examined)
G	Yellow croaker, <i>Larimichthys polyactis</i> (6)	9-12	+(5/6)
H	Korean flounder, <i>Glyptocephalus stelleri</i> (10)	22-30	+(2/10)
I	Claudy catshark, <i>Scyliorhinus porazame</i> (5)	35-37	+(4/5)
J	Sting fish, <i>Scorpaena izensis</i> (10)	14-24	+(2/10)
K	Yellowback seabream, <i>Dentex tumifrons</i> (10)	11-12	+(3/10)
L	Yellowback seabream, <i>Dentex tumifrons</i> (10)	11-18	+(5/10)
M	Common conger, <i>Conger myriaster</i> (8)	32-60	+(2/8)
	Rock fish, <i>Sebastes schlegeli</i> (6)	18-25	-
	Butter fish, <i>Pampus argenteus</i> (5)	17-20	+(4/5)
	Flathead mullet, <i>Mugil cephalus</i> (3)	17-40	+(2/3)
	Bartail flathead, <i>Platycephalus indicus</i> (2)	28-45	+(2/2)
	Belted beard grunt, <i>Hapalogenys mucronatus</i> (1)	20	+(1/1)
	Tongue sole, <i>Cynoglossus semilaevis reliscus rhomaleus</i> (1)	35	+(1/1)
	Flatfish, <i>Paralichthys olivaceus</i> (1)	20	+(1/1)
	Dotted gizzard shad, <i>Konosirus punctatus</i> (1)	22	-
	Sand smelt, <i>Sillago sihama</i> (1)	20	+(1/1)
Total	80		35

Virus	primer name	Primer sequence	Product size(bp)
RSIV	1F	5'-CTCAGGTGCGAACGTAACC-3'	1299
	1R	5'-TTGACTGCAATAACGACCAGTTC-3'	
	3F	5'-TACAACAYGCTCCGCCAAGA-3'	548
	3R	5'-GCACCAACACATCTCCTATC-3'	

Fig. 2. Primer set used for PCR amplification of RSIV MCP gene .

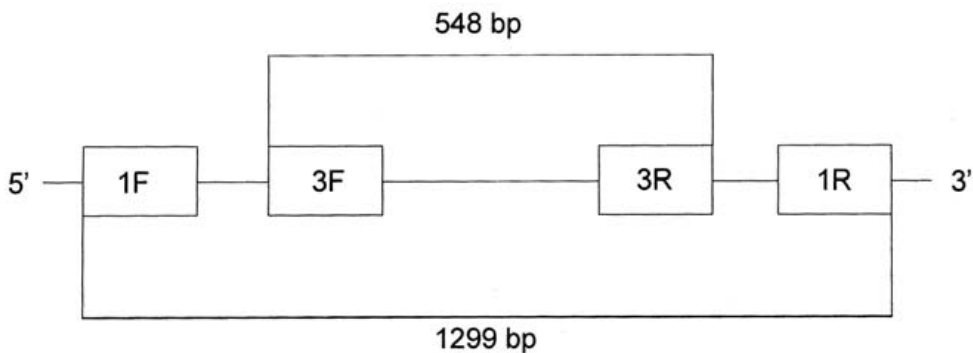


Fig. 3. Schematic illustration of the PCR amplification for RSIV gene detection.

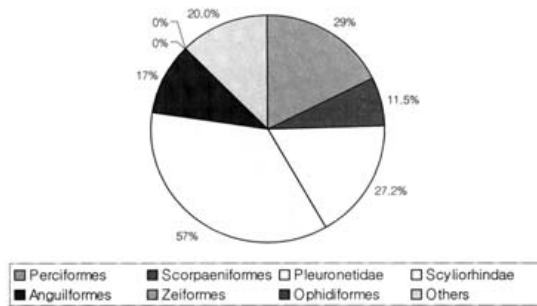


Fig. 4. RSIV detection rate (%) of examined fish grouped by fish order.

군평선이, 서대, 넙치, 보리멸 13종 (35마리)에서 검출되어 총 17종 (39마리)의 어류에서 24.3%의 검출율을 나타내었다 (Table 2). 따라서 기존에 보고된 어종 외 농어목의 병어, 눈볼대, 황돔, 보리멸, 군평선이, 참조기, 쏨뱅이목 양태, 살살치, 가자미목 도다리와 기름가자미, 뱀장어목 봉장어와 줄비늘치, 상어목 두툽상어, 아귀목 아귀가 RSIV의 새로운 숙주로 확인되었다. RSIV가

검출된 어종 중 농어목이 20마리 (51%)로서 가장 많은 비중을 차지하였으나 바이러스 검출율은 상어목이 57.1%로서 다소 높았다 (Fig. 4, 5). 검출된 어류의 크기는 9~56 cm로서 크기와 어종이 다양하였으며 2003년 조사결과 남해안의 A지점과 동중국해의 E지점에서만 RSIV가 검출되었으나 2005년에는 서남해안의 모든 지점에서 RSIV가 검출되어서 RSIV는 서남해안과 동중국해에 넓게 분포함을 확인하였다.

유전학적 유사성 확인을 위하여 황돔, 도다리, 살살치, 아귀, 줄비늘치에서 분리된 RSIV 10종을 MCP gene에 기초한 염기서열 분석 결과 RSIV subgroup III에 속하는 양식어류에서 분리한 분리주 (Red sea bream-K)와 97.2~100%의 유사성을 나타냈으며, 아미노산 염기서열 분석결과 94.7~100%의 유사성을 나타내어 (Table 3) 본 연구에서 조사된 자연산 어류에서 검출된 RSIV는 subgroup III에 속하는 것으로 확인되었다 (Fig. 5).

Table 3. Comparative analysis of the nucleotide sequence and deduced amino acid sequences among ten strains of wild fishes and reference strain of RSIV

Percentages of homology between amino acid sequences																	
Strain	Redseabream-K	RBIV-KOR-YS	RSIV-KOR-TY	SBIV-KOR-TY	Percentages of homology between nucleotide sequences												
					SP-E69	BA-A7	FSF-E68	YS-K4	YS-K6	YS-K7	YS-L1	YS-L2	SF-J3	SF-J10	ALIV	RSIV-KOR-CS	TBIV
Redseabream-K	***	99.6	99.4	97.8	100	99.6	99.6	100	100	99.6	100	99.6	99.4	100	93.2	91.7	91.9
RBIV-KOR-YS	95.5	***	99	97.4	99.6	99.2	99.2	99.6	99.6	99.2	99.6	99.2	99	99.6	93.3	91.7	91.9
RSIV-KOR-TY	99.1	96.4	***	97.6	99.4	99.4	99.8	99.4	99.4	99.8	99.4	99.8	99.6	99.4	93.5	91.9	92.1
SBIV-KOR-TY	95.5	100	96.4	***	97.8	97.4	97.8	97.8	97.8	97.4	97.8	97.4	97.2	97.8	91.5	89.5	89.7
SP-E69	100	95.5	99.1	95.5	***	99.6	99.6	100	100	99.6	100	99.6	99.4	100	93.3	91.7	91.9
BA-A7	98.2	93.8	97.3	93.8	98.2	***	99.6	100	100	99.6	100	99.6	99.4	100	93.3	91.7	91.9
FSF-E68	100	95.5	99.1	95.5	100	98.2	***	99.6	99.6	100	99.6	100	99.8	99.6	93.7	92.1	92.3
YS-K4	100	95.5	99.1	95.5	100	98.2	100	***	100	99.6	100	99.6	99.4	100	93.3	91.7	91.9
YS-K6	100	95.5	99.1	95.5	100	98.2	100	100	***	99.6	100	99.6	99.4	100	93.3	91.7	91.9
YS-K7	100	95.5	99.1	95.5	100	98.2	100	100	100	***	99.6	100	99.8	99.6	93.7	92.1	92.3
YS-L1	100	95.5	99.1	95.5	100	98.2	100	100	100	100	***	99.6	99.4	100	93.3	91.7	91.9
YS-L2	100	95.5	99.1	95.5	100	98.2	100	100	100	100	100	***	99.8	99.6	93.7	92.1	92.3
SF-J3	99.1	94.7	98.2	94.7	99.1	97.3	99.1	99.1	99.1	99.1	99.1	99.1	***	99.4	93.5	91.9	92.1
SF-J10	100	95.5	99.1	95.5	100	98.2	100	100	100	100	100	100	99.1	***	93.3	91.7	91.9
ALIV	96.4	92.9	95.5	92.9	96.4	94.6	96.4	96.4	96.4	96.4	96.4	96.4	95.6	96.4	***	92.9	93.1
RSIV-KOR-CS	95.6	92.1	94.7	92.1	95.6	93.8	95.6	95.6	95.6	95.6	95.6	95.6	94.7	95.6	95.6	***	99.8
TBIV	96.4	92.9	95.5	92.9	96.4	94.6	96.4	96.4	96.4	96.4	96.4	96.4	95.6	96.4	96.4	99.1	***

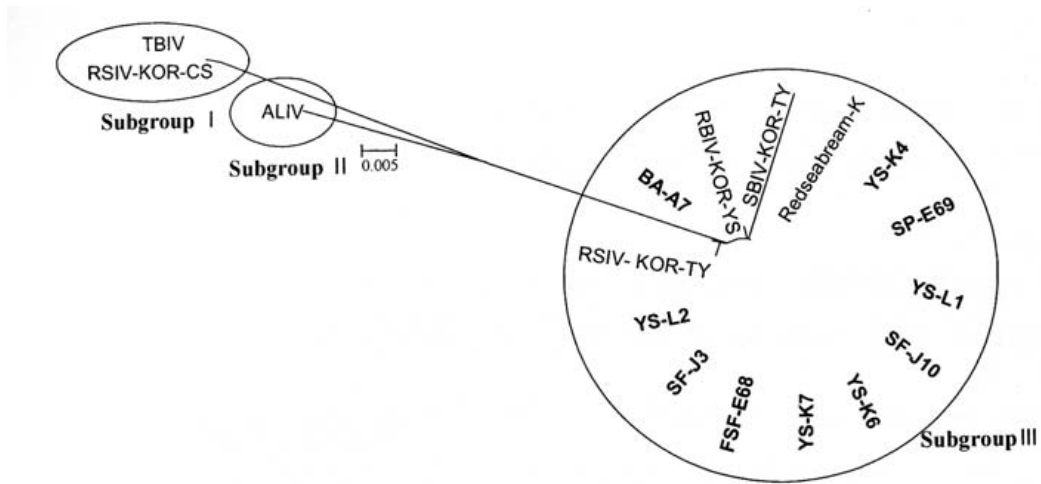


Fig. 5. Phylogenetic tree (UPGMA) represents the relationship of RSIV strains of wild fish based on nucleotide sequences of MCP gene. RSIV strain and their host fish ; SP-E69 : Speanose grenadier *C. multispinulosus*, BA-A7 : Blackmouse angler *L. setigerus*, FSF-E68 : Finespotted flounder *P. cornuts*, YS-K4, K6, K7, L1, L2 : Yellowback seabream *D. tumifrons*, SF-J3, J10 : Sting fish *S. izensis*. GenBank accession numbers for nucleotide sequences are as follows : Red sea bream-K AB178944, RBIV-KOR-YS AY563610, RSIV-KOR-TY AY532616, SBIV-KOR-TY AY532613, RBIV-KOR-CS AY532611, ALIV AY285745, TBIV AB166788.

고 찰

본 연구는 자연산 어류에서 RSIV 분포조사를 위해 동중국해역의 3지점, 서해안 5지점 그리고 남해안의 5지점에서 어류를 채집하였다. 실험에 사용한 어류 160마리를 어종별로 분류하면 14목, 27과, 40종으로 분류된다. 이 중 농어목 어류가 전체 실험어의 약 43%, 쏜뱅이목 16%, 가자미목 14%, 상어목 4%, 뱀장어목 8%, 달고기목과 참치목을 각각 3% 그리고 기타 어종이 9%로 분류되며 RSIV가 검출된 어종 중은 농어목이 20마리 (51%)로서 가장 많은 비중을 차지하였으나 바이러스 검출율은 상어목 (57.1%)이 다소 높았다. 또한, 가자미목 (27.2%), 농어목 (28.5%)에서도 다소 높은 검출율을 보여 RSIV 검출되는 숙주영역이 매우 폭넓은 것으로 여겨진다 (Fig. 4).

RSIV는 우리나라와 일본의 참돔, 돌돔, 감성돔의 돔류에 주로 질병을 일으키는 바이러스성 질병으로 알려져 왔지만 (Inouye et al., 1992; Sohn et al., 2000), 일본 서남부에 위치한 18곳의 해안

가에서 샘플된 농어목 어류 28종, 가자미목 2종, 복어목 1종의 31종의 양식된 어류가 RSIV에 감염이 있음을 보고하였다 (Matsuoka et al., 1996; Kawakami and Nakajima 2002). 그리고 우리나라 서남해안에서 7월에 샘플링한 해수와 어류에서 RSIV가 주기적으로 검출이 되어 자연산 어류에 높은 감염율의 가능성을 나타내고 있다 (Kim, 2001). 본 연구에서 2003년과 2005년 2년간의 농어목을 포함한 14목 27과 40종의 어류를 대상으로 RSIV 유전자 검출 결과 24.3%의 높은 검출율을 보여 Kim (2001)의 연구와 마찬가지로 서남해안의 해수와 자연산 어류에 RSIV가 많이 분포하고 있음을 알 수 있었는데 RSIV는 고수온기에 활발한 증식을 하여 어류에 발병하는 바이러스성 질병이기에 6월과 7월에 샘플링 한 서남해안의 해수와 자연산어류에서 바이러스의 검출율이 높은 것으로 생각된다. 또한, 기존에 보고된 어종 외 농어목의 병어, 눈볼대, 황돔, 보리멸, 군평선이, 참조기, 쏜뱅이목 양태, 살살치, 가자미목 도다리과 기름가자미, 뱀장어목 붕장어와 줄비늘치, 상어목 두툽상어, 아귀목 아귀가

RSIV의 새로운 숙주로 확인되었다.

Iridoviridae과는 Iridoviridae가 공통적으로 가지는 Major Capsid Protein (MCP) gene에 의해 *Iridovirus*, *Chloriridovirus*, *Megalocytivirus*, *Ranavirus*, 그리고 *Lymphocystivirus*의 5가지 유전형으로 나뉘며, RSIV는 *Megalocytivirus* genus에 속한다 (Williams et al., 2000). *Megalocytivirus* strain은 3가지 subgroup으로 나뉘는데 (Kim et al., 2005), 우리나라의 다양한 지역에서 분리한 5가지 어종 돌돔, 참돔, 농어, 조피볼락, 넙치에서 분리한 RSIV strain들은 일본에서 분리한 RSIV와 유전학적으로 유사하지만 돌돔과 넙치에서 일본에는 존재하지 않은 또 다른 바이러스의 유전형이 존재함을 보고하여 (Do et al., 2005), 활어의 수출입 과정이나 혹은 자연계 어류의 이동에 의해 열대지방 유래의 바이러스가 유입된 것으로 생각되어졌다. Kim 등 (2005)은 프랑스로부터 국내로 수입된 터봇 난을 부화시켜 양식된 터봇 치어에서 대량폐사 발생을 보고하였으며 Turbot Iridovirus (TBIV)로 명명하였고, TBIV MCP gene의 염기서열을 분석하여 난이 수입되었던 유럽에서 보고되지 않은 유전형이며 국내 분리주들과 유사하여 한국에 존재하는 바이러스로 생각하였다. 본 연구에서 자연산 어류인 황돔, 도다리, 살살치, 아귀, 줄비늘치에서 검출한 10개의 분리주들은 다양한 지역과 어종에서 분리된 *megalocytivirus* strain (RSIV-K)과 비교하여 염기서열 분석에서 97.2~100%, 아미노산 분석에서 94.7~100% 유사성이 확인되어져 이번 연구를 통하여 조사되었던 자연산 어류에서 검출되어진 바이러스는 모두 subgroup III에 속하였다. 최근 일본의 참돔 (*Pagrus major*)에서 분리된 RSIV strain (U-1)은 과거 일본의 참돔에서 분리되어져 왔던 RSIV strain (ehime-1)과 유전학적으로 다르며 한국에서 분리되어지는 RSIV strain과 유사하여 한국과 일본에서 분리되어진 바이러스와의 관계에 대한 연구가 필요하다고 제시하였고 *megalocytivirus*를 4개의 subgroup으로 나누었는데 (Imajoh et al., 2007) 이러한 방법

에 의하면 본 연구에서 조사되어진 RSIV strain은 RSIV-K, RSIV-U-1 strain과 함께 subgroup II로 분류할 수 있다. 본 연구에서 조사되어진 RSIV strain은 우리나라, 일본, 중국과 태국에서 공통적으로 확인되어지는 종류로, 단일기원의 *megalocytivirus*가 자연산 어류의 이동에 의해 넓게 퍼진 것으로 생각되어지며, 우리나라의 양식산 터봇, 돌돔, 넙치와 중국에서 양식된 터봇에서 분리되어졌던 subgroup I에 속하는 바이러스 분리주는 자연산 어류에서는 검출이 되지 않아 자연산 어류의 이동에 의해 우리나라와 중국으로 유입이 되었을 가능성 보다는 지역적인 차이에 의해 긴 기간을 경과하면서 유전적으로 다른 형으로 변한 것으로 생각된다.

요 약

Red sea bream iridovirus (RSIV)는 우리나라와 일본의 참돔 (*Pagrus major*), 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*) 등 주로 돔류에 질병을 유발하는 어류 병원바이러스로 알려져 왔으나, 돔류 이외에도 감수성을 나타내는 어종이 매우 다양하며 아시아를 중심으로 고수온기에 대량 폐사를 유발하는 중요한 원인체로 보고되고 있다. 본 연구는 RSIV에 대한 자연산어류에서 검출동향의 모니터링을 통해 금후 red sea bream iridoviral disease (RSIVD)에 대한 예방학적 접근의 일환으로서 자연산 어류로부터의 RSIV 검출 및 지리적 분포, 보균 어종에 대한 유전학적인 조사를 실시하였다. 조사는 2003년과, 2005년도에 동중국해역 3지점, 서해안 5지점 그리고 남해안 5지점에서 어류를 채집하여 PCR을 이용한 검출결과, 자연산 해산어류 160마리 중 39마리에서 RSIV가 검출되어 24.3%의 높은 검출율을 보였으며 특히 조사된 어류 중 상어목에서 가장 높은 검출율을 보였다. 자연산 어류에서 분리한 RSIV 분리주는 양식산어류에서 분리된 RSIV-K strain과 염기서열 분석에서 97.2~100%, 아미노산 분석에서 94.7~100% 유사성을 나타내었으며 *megalocy-*

tivirus Subgroup III 에 속함을 확인하였다.

사 사

이 논문은 2006년 교육인적자원부의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (KRF-2006-F00022)

참 고 문 헌

- Chinchar, V.G., Essbauer, S., He, J. G., Hyatt, A., Miyazaki, T., Seligy, V., Williams, T., 2005. Family iridoviridae virus taxonomy Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego, 145-162.
- Chou H.Y., Hsu C.C., Peng T.Y., 1998. Isolation and characteri-zation of a pathogenic iridovirus from cultured grouper (*Epinephelus* sp.) in Taiwan. Proceedings of the International Symposium on Diseases in Marine Aquaculture. Fish Pathology 33, 201-206.
- Danayadol Y., Kirekdsarakom S., Boonyaratpalin S., Miyazaki T., Miyata M., 1996, An outbreak of iridovirus-like infection in brown-spotted grouper (*Epinephelus malabaracus*) cultured in Institute. The AAHRI (Aquatic Animal Health Research Institute) Newsletter., 5-6.
- Do, J. W., Cha, S. J., Kim, J. S., An, E. J. Park, M. S., Kim, J. W. Kim, Y. C, Park, M. A., Park, J. W., 2005. Sequence variation in the gene encoding the major capsid protein of Korean fish iridoviruses. Arch Virol. 150, 351-359.
- Inouye K., Yamano k., Maeno Y., Nakajima K., Matsuoka M., Wada Y., Sorimachi M., 1992. Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*. J. Fish Pathol. 27, 19-27.
- Kawakami, H., Nakajima, K., 2002. Cultured fish species affected by red sea bream iridoviral disease from 1996 to 2000. Fish Pathol. 37, 45-47.
- Kim, S.R., 2001. Developement of concentration method for fish pathogenic viruses in seawater. M.S. thesis. Yosu National University Korea. 43-51.
- Kim, W.S., Oh, M.J., Jung, S.J., Kim, Y.J., Kitamura. S.I., 2005. Characterization of an iridovirus detected from cultured turbot *Scophthalmus maximus* in Korea. Dis. Aquat Org. 64, 175-180.
- Kim, Y.J, Jung, S.J, Choi, T.J, Kim, H.R, Rajendran, K.V, Oh M. J., 2002. PCR amplification and sequence analysis of irido-like virus infecting fish in korea J. Fish Dis. 25, 121-124.
- Matsuoka, S., Inonye, K., Nakjima, K., 1996. Cultured fish species infected by red sea bream iridoviral disease from 1991 to 1995. J. Fish Pathol. 31, 233-234.
- Miyata, M., Matsuno, K., Jung, S.J., Danayadol., Miyajaki., 1997. Genetic similarity of iridoviruses from Japan and Thailand. J. Fish. Pathol. 20, 127-131.
- Nakazima, K., Sorimachi, M., 1994. Biological and physicochemical properties of the iridovirus isolated from cultured red sea bream, *Pagrus major*. Fish Pathol. 29, 29-33.
- Oh, M. J., Jung, S. J., Kim, H. R., 1999. Biological and serological characteristics of birnavirus isolated from cultured Japanese flounder. J. Fish Pathol. 12, 56-62.
- Oh, M.J., Kitamura, S.I., Kim, W.S., Park, M.K., Jung, S.J., Miyadai, T., Ohtani, M., 2006. Susceptibility of marine fish species to a megalocytivirus, turbot iridovirus, isolated from turbot *Psetta maximus*(L.). J. Fish Dis.

- 29, 415-421.
- Sohn, S.G., Choi, D.L., Do, J.W., Hwang, J.Y., Park, J.W., 2000. Mass mortalities of cultured striped beakperch, *Oplegnathus fasciatus* by Iridovirus infection. *J. Fish Pathol.* 3, 121-127.
- Sudthongkong, C., Miyata, M., Miyazaki, T., 2002. Viral DNA sequences of genes encoding the ATPase and the major capsid protein of tropical iridovirus isolates which are pathogenic to fishes in Japan, South China Sea and Southeast Asian countries *Arch. Virol.* 147, 2089-2109.
- Williams, T., Chinachar, G., Darai G., hyatt, A., Kalmakoff, J., Seligy, V., 2000. Family Iridoviridae. In: Van Regenmortel MHV, Fauquest CM, Bishop DHL, Carstens EB and 7 others (eds) *virus taxonomy*. Academic Press, San Diego, 167-182.
- Imajoh, M., Oshima S., Ikawa T., 2007. Chareacterization of a new fibroblast cell line from a tail fin of red sea bream, *Pagrus major*, and phylogenetic relationships of a recent RSIV isolate in Japan. *Virus Research* 126, 45-52.

Manuscript Received : October 24, 2007

Revision Accepted : November 26, 2007

Responsible Editorial Member : Moon-Soo Heo
(Jeju Univ.)