

남해안 자연산 어류에서 Marine birnavirus (MABV)의 검출

윤현미, 김석렬, 이월라, 정성주, 오명주*
전남대학교 식품·수산생명의학부

Detection of Marine Birnavirus (MABV) from Marine Fish in the Southern Coast of Korea

Hyun-Mi Yun, Seok-Ryel Kim, Wol-La Lee, Sung-Ju Jung and Myung-Joo Oh*
Division of Food Science and Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

Marine birnavirus (MABV) are well known fish pathogens in Asian countries such as Korea, Japan, and China. Prevalence of viral disease, geological distribution and host or reservoir of viruses were investigated from wild marine fishes in southern coast of Korea in 2003 and 2005. RT-PCR results showed that MABV were detected in 17 fishes (10.6%) from 160 fishes. Comparative analysis of the nucleotide sequences and the deduced amino acids of MABV genome from wild fishes were similar to reference strains of MABV and distinguished with IPNV strains.

Keywords: Marine birnavirus, fish pathogen, PCR, Korean fish

서 론

Marine birnavirus (MABV)는 중요한 수산생물의 병원체로서, 일본 양식산 방어 치어에 복수 증상을 일으키는 원인 병원체로서 처음 분리되었고(Sorimachi and Hara, 1985), 이후 우리나라, 중국과 일본의 양식 넙치에서도 복수증상과 두부 발적의 주요 증상을 나타내며 높은 폐사를 일으켰다(Iida et al., 1989; Chou et al., 1994; Sohn et al., 1995; Takano et al., 2001). 또한 MABV는 회유성 어류인 은어 *Plecoglossus altivelis*에서도 높은 폐사를 일으켰으며, 일본의 양식 해산어류인 방어, 잣방어 *Seriola dumerili*, 부시리 *Seriola lalandi*, 범가자미 *Verasper varigatus*에서 MABV가 분리되었으며(Isshiki et al., 1989, 2004; Kamakura et al., 1995), 일본의 자연산 넙치에서도 MABV와 VHSV (Viral hemorrhagic septicemia virus)가 분리되었다(Takano et al., 2001; Watanabe et al., 2002). 그리고 MABV는 일본의 다양한 해산어종에서 분리되며 전 연안에 분포하고 있다고 하였다. 또한 Isshiki et al. (1989)은 양식을 위해 채포된 자연산 방어 치어에서의 15%가 MABV에 감염됨을 확인하여, 어류에 자연 감염된 바이러스가 양식장 환경내로 유입되었을 가능성이 있음을 보고하였다.

본 연구에서는 동남아시아로부터 어류가 우리나라로 유입될

때의 입구가 되는 동중국해를 중심으로 한 3지점 및 우리나라 서해안과 남해안의 10지점에서 자연산 어류 47종을 채집하여 자연산 어류에 존재하는 MABV의 동태를 조사하였으며 조사된 MABV의 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 1지점(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 샘플링 한 어류는 외관상 건강해 보이는 어류로 각각 80마리씩 총 160마리 14목 27과 47종을 채집하여 크기를 측정하였다(Table 1). 샘플링 한 어체의 비장과 신장을 적출하여 실험에 사용하기 전까지 -80°C에 보관하였다.

바이러스 핵산의 분리

160마리 어류의 바이러스 검출을 위하여 모든 어류의 신장과 비장 조직을 조직무게와 HBSS가 1:9 (0.5 g/4.5 mL)가 되게 희석하여 균질화 하였고, 그 균질액을 HA filter (0.45 μm pore

*Corresponding author: ohmj@chonnam.ac.kr

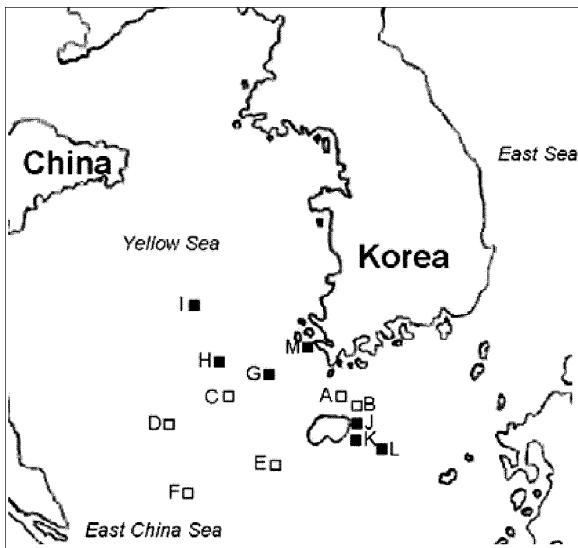


Fig. 1. Sampling sites of the south (A-B, J-L), west coastal area (C, H-I, G-M) and East China sea (D-F) in 2003 (□) and 2005 (■).

size)로 여과하여 시험 샘플을 제작하였다. 검사용 바이러스샘플 100 μL에 Proteinase K (20 mg/mL Proteinase K in 10 mM Tris-HCl, pH 7.5; with Ca^{2+} ion and glycerol as stabilizers. Invitrogen)를 바이러스샘플 100 μL의 1/10의 비율로 10 μL를 첨가하여 55°C에서 2시간 반응시키고 TRIzol 1 mL와 chloroform (CHCl_3) 200 μL를 넣고 13000 rpm으로 5분간 4°C에서 원심분리하고, 상층액을 분리하여 1:1의 비율로 chloroform (CHCl_3) 600 μL를 첨가하고 13000 rpm으로 다시 5분간 4°C에서 원심분리를 하였다. 그리고 상층액의 1/10의 비율로 3 M sodium acetate (pH 5.2)를 첨가한 후, 전체 volume과 동일하거나 그 이상의 isopropyl alcohol ($(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$)을 첨가하여 -20°C에서 10분간 반응시켰다. 그리고 17000 rpm으로 15분간 4°C에서 원심 분리하여 상층액은 버리고 pellet만 삼차증류수 (10.75 μL)로 재부유 시켜 RT-PCR (Reverse transcriptase-polymerase chain reaction)의 template로 사용하였다.

Marine birnavirus (MABV) 검출

추출한 total RNA는 95°C에서 10분간 변성시킨 후, 50 nM Tris-HCl, pH 8.3, 75 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 0.5 mM dNTPs, 10 mM DTT, 10 units reverse transcriptase (Bioneer Co., ROK)를 첨가하여 42°C에서 1시간동안 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA를 Suzuki et al. (1997)에 의해 만들어진 VP2/NS region을 target으로 하는 PCR primer set (first step; MP1:5'-AGAGAT-CACTGACTTCACAAGTGAC-3', MP2:5'-TGTGCACCACA-GGAAAGATGACTC-3'/second step; MP3:5'-CAACACTTCCC-CATG-3', MP4:5'-AGAACCTCCCAGTGTCT-3')를 사용하여 RT-PCR을 실시하였다. PCR은 AccuPower PCR premix tube (Bioneer Co., ROK)에 cDNA 3 μL를 넣어, Thermal cycler (Perkin-Elmer 2400)를 사용하여 첫번째는 95°C 1분, 50°C 1분,

72°C 1분간 30 cycles로 증폭시켰다. 두번째는 첫번째 PCR 산물 1 μL를 넣어 95°C 1분, 48°C 1분, 72°C 1분간 30 cycles로 증폭하였다. 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 MABV 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

MABV 검출

동중국해와 서남해안을 대상으로 자연산 어류를 샘플로 한 바이러스 검출 결과 2003년에는 C 지점에서 눈볼대 *Doederleinia berycoides*, D 지점에서 도다리 *Pleuronichthys cornutus*, 갈치 *Trichiums lepturus*, 물메기 *Liparis tessellatus* 및 등가시치 *Zoarces gilli*, E 지점에서 도다리 *Pleuronichthys cornutus* 및 횡돔 *Dentex tumifrons* 그리고 F 지점에서 갯장어 *Muraenesox cinereus*에서 MABV가 검출이 되어 11.2%의 검출율을 나타내었다(Table 1).

2005년에는 G 지점에서 참조기 *Larimichthys polyactis*, J 지점에서 살살치 *Scorpaena neglecta*, K 지점에서 횡돔 *Dentex tumifrons*, M 지점에서 붕장어 *Conger myriaster*, 조피볼락 *Sebastes schlegeli* 및 군평선이 *Hapalogennys mucronatus*에서 MABV가 검출되어 10%의 감염율을 보여 총 13종에서 평균 11%의 검출율을 나타냈다(Table 2). 그리고 MABV가 검출된 대부분의 어류의 크기는 10-65 cm로 크기가 다양하였다.

2003년 MABV는 남해안의 A, B 지점에서는 검출이 되지 않았고, 서해안의 C 지점과 동중국해의 D, E, F 지점에서 검출되었으며, 2005년에는 남해안의 제주근해의 두 지점 J, K와 서해안의 두 지점 G, M에서 검출되어, MABV는 우리나라 서남해안과 동중국해에 분포함을 확인 할 수 있었다.

유전학적 유사성 분석

Suzuki 등(1997)이 보고한 168 bp와 같은 위치의 밴드에서 추출된 PCR product의 sequence를 GenBank의 data base상의 MABV strain과 비교한 결과 염기서열상으로는 96.2-100% 유사성을 아미노산 서열상으로는 97.2-100%의 similarity를 나타내어(Table 3), 유전학적으로 IPNV strain들과 구분되었으며, 양식어류에서 분리한 MABV strain과 같은 계통에 속하였다(Fig. 2).

논 의

본 연구는 자연산 어류에서의 MABV 분포조사를 위해 동중

Table 1. Results of virus detection from various wild marine fishes sampled in 2003

Sampling sites	Fish species (Number of fish examined)	Size (cm)	MABV (Number of detected/Number of 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	-
	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>Sphyraena japonica</i> (1)	32	-
C	Slender lizardfish <i>Saurida elongata</i> (1)	65	-
	Finespotted flounder <i>Pleuronichthys cornutus</i> (4)	20-22	
	Blackthroat seaperch <i>Doederleinia berycoides</i> (2)	15	+(1/2)
	Goldeye rockfish <i>Sebastes thompsoni</i> (1)	17	-
	Armored weasel-fish <i>Haplobrotula armata</i> (1)	34	-
	Blackmouth angler <i>Lophiomus setigerus</i> (1)	33	-
D	Skate ray <i>Raja kenojei</i> (1)	40	-
	Finespotted flounder <i>Pleuronichthys cornutus</i> (1)	20	-
	Largehead hairtail <i>Trichiurus lepturus</i> (1)	65	+
	Cubed snailfish <i>Liparis tessellatus</i> (2)	20	+(1/2)
	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>Pleuronichthys cornutus</i> (4)	19-21	+(2/4)
	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	-
	Blackthroat seaperch <i>Doederleinia berycoides</i> (4)	16-22	-
	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>Hapalogrenys mucronatus</i> (1)	18	-
	White croaker <i>Argyrosmus argentatus</i> (1)	22	-
	Purple pike conger <i>Muraenesox cinereus</i> (3)	65	+(1/3)
	Total	80	9

국해역의 3지점, 서해안 5지점 그리고 남해안의 5지점에서 어류를 채집하였다. 본 실험에 사용한 어류 160마리를 어종별로 분류하면 14목, 27과, 40종으로 분류 된다. 이 중 농어목 어류

가 전체 실험어의 약 43%, 쇼뱅이목 16%, 가자미목 14%, 상어목 4%, 뱀장어목 8%, 달고기목과 참치목을 각각 3% 그리고 기타 어종이 9%로 분류되며 MABV 검출율은 농어목에서

Table 2. Results of virus detection from various wild marine fishes sampled in 2005

Sampling sites	Fish species (Number of fish examined)	Size (cm)	MABV (Number of detected / Number of examined)
G	Yellow croaker <i>Larimichthys polyactis</i> (6)	9-12	+(1/6)
H	Korean flounder <i>Glyptocephalus stellifer</i> (10)	22-30	-
I	Claudy catshark <i>Scyliorhinus porazame</i> (5)	35-37	-
J	Sting fish <i>Scorpaena izensis</i> (10)	14-24	+(1/10)
K	Yellowback seabream <i>Dentex tumifrons</i> (10)	11-12	+(3/10)
L	Yellowback seabream <i>Dentex tumifrons</i> (10)	11-18	-
	Common conger <i>Conger myriaster</i> (8)	32-60	+(1/8)
	Rock fish <i>Sebastes schlegeli</i> (6)	18-25	+(1/6)
	Butter fish <i>Pampus argenteus</i> (5)	17-20	-
	Flathead mullet <i>Mugil cephalus</i> (3)	17-40	-
M	Bartail flathead <i>Platycephalus indicus</i> (2)	28-45	-
	Belted beard grunt <i>Hapalogynus mucronatus</i> (1)	20	+
	Tongue sole <i>Cynoglossus semilaevis reliscus rhomaleus</i> (1)	35	-
	Flatfish <i>Paralichthys olivaceus</i> (1)	20	-
	Dotted gizzard shad <i>Konosirus punctatus</i> (1)	22	-
	Sand smelt <i>Sillago sihama</i> (1)	20	-
Total		80	8

가장 높았으며, 복합감염율 역시 농어목에서 가장 높았다. 2003년과 2005년 바이러스 검출의 연도 및 지역별분포 차이를 비교해 보면 바이러스 검출은 2003년보다는 2005년도에 더 많이 검출이 되었으나 지역에 따른 바이러스 검출율의 유의적인 차이는 없었다. MABV는 1983년에 일본의 양식된 방어에서 처음 발견되었으며, 이후 다양한 해산어종에서 MABV 분리가 보고되었으며, 환경적 샘플인 저질, 해양의 동물성 플랑크톤과 해수에서도 MABV 유전자는 검출되었다(Suzuki et al., 1998, 2000; Sorimachi and Hara. 1985; Kitamura and Suzuki, 2000; Kitamura et al., 2000a,b; Kitamura et al., 2003). 그리고 이들

해수와 동물성 플랑크톤을 여과 섭식하는 패류를 대상으로 한 연구에서, MABV는 일본 열도 전역에서 채집된 자연산 이매패류의 60%, 고동류의 35%에서 MABV의 genome이 검출되었을 만큼 MABV는 전 해역에 광범위하게 분포하여 있는 것으로 보고되어 있다(Suzuki and Nojima, 2000). MABV는 일본의 전해안가의 자연산 어류인 넙치, 전갱이, 불락, 횡어, 바다빙어, 뱀간대구, 윗통가시획대 등에서 검출되었는데(Takano et al., 2001; Watanabe et al., 2002), 본 연구에서 우리나라의 경우 동중국해와 서남해안의 전 연안에 분포하는 것으로 나타났다. 자연산 해산어류 160마리 중 12종 17마리에서 MABV가 검출이

Table 3. Comparative analysis of the nucleotide sequences and deduced amino acid sequences among five strains of wild fishes sampled in 2003 and 2005 and reference strain of reported MABV and IPNV.

Strain	Percentages of homology between nucleotide sequences														
	MABV NC1	MABV Y6	MABV AY-98	MABV H1	MABV SY	MABV Y-10K	Bbc-M8	CC-M6	RF-M27	YS-K3	FSF-E65	IPNV VR-299	IPNV AM-98	IPNV Ab	IPNV Sp
MABV NC1	-	99.2	98.5	97.7	97.7	97	98.5	98.5	98.5	98.5	97.7	83.2	82.4	80.3	76.3
MABV Y6	97.2	-	99.2	98.5	98.5	97.7	99.2	99.2	99.2	99.2	98.5	83.9	83.2	81	77
MABV AY-98	97.2	100	-	97.7	97.7	97	100	100	100	100	99.2	84.7	83.9	80.3	76.3
MABV H1	97.2	100	100	-	98.5	97.7	97.7	97.7	97.7	97.7	97	84.7	83.9	81	76.3
MABV SY	97.2	100	100	100	-	97.7	97.7	97.7	97.7	97.7	97	84.7	82.4	81	76.3
MABV Y-10K	97.2	100	100	100	100	-	97	97	97	97	96.2	83.9	82.4	81	75.5
BBC-M8	97.2	100	100	100	100	100	-	100	100	100	99.2	84.7	83.9	80.3	76.3
CC-M6	97.2	100	100	100	100	100	100	-	100	100	99.2	84.7	83.9	80.3	76.3
RF-M27	97.2	100	100	100	100	100	100	100	-	100	99.2	84.7	83.9	80.3	76.3
YS-K3	97.2	100	100	100	100	100	100	100	100	-	99.2	84.7	83.9	80.3	76.3
FSF-E65	97.2	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-	83.9	83.2	79.5	75.5
IPNV VR-299	88.8	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	-	97	76.3	74.8
IPNV AM-98	88.8	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	91.6	88.8	100	-	77	76.3
IPNV Ab	81	83.7	83.7	83.7	83.7	83.7	83.7	83.7	83.7	83.7	81	83.7	83.7	-	88.8
IPNV Sp	81	83.7	83.7	83.7	83.7	83.7	83.7	83.7	83.7	83.7	81	83.7	83.7	84.3	-

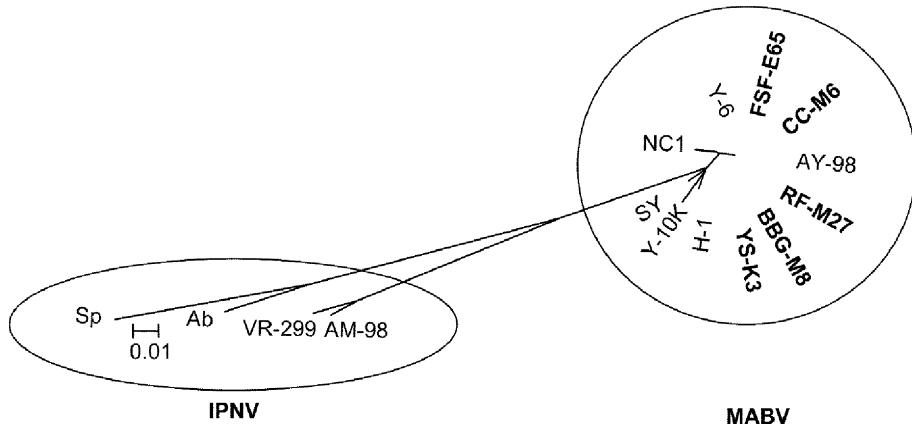


Fig. 2. Phylogenetic tree (UPGMA) represents the relationship of wild fishes and reference strain of MABV and IPNV based on nucleotide sequences of VP2/NS. MABV strain and their host fish; BBG-M8 (Belted beard grunt *H. mucronatus*), CC-M6 (Common conger *Conger myriaster*), RF-M27 (Rock fish *S. schleli*), YS-K3 (Yellowback seabream *Dentex tumifrons*), FSF-E65 (Finespotted flounder *Pleuronichthys cornutus*). GenBank accession numbers for nucleotide sequences are as follows: Y6; AY283781, AY-98; AY283785, H1; D61386, SY; D61385, Y-10K; D61389, IPNV VR-299; L40584, IPNV AM-98; AY283780, IPNV Ab; L13664, IPNV Sp; AJ622822.

되었는데, 농어목의 눈볼대, 등가시치, 갈치, 황돔, 쏨뱅이목 살치, 물메기, 가자미목의 도다리, 장어목의 갯장어와 붕장어에서도 MABV가 검출이 되어 MABV의 새로운 숙주로 확인되어졌다. Suzuki and Nojima (2000)는 자연산 이매패류에서 MABV의 높은 검출율을 보고하였지만 바이러스 분리율은 매우 낮았음을 보고하였다. 본 연구에서도 CHSE-214 주화세포를 사용하여 바이러스를 분리 배양하였으나 배양되어지지 않은 점에서 숙주세포내에서 활동적으로 증식하지 않고 잠재적으로만 감염되어 있는 것으로 생각되어졌다. Kitamura et al. (2003)은 해수와 플랑크톤에 존재하는 MABV 유전자의 양은 여름에는 적지만 10월 이후가 되면 MABV 유전자의 양이 증가한다고 보고하였으며, 진주굴 *P. fucata*에서 유전자증폭법(PCR) 기술로 MABV를 검출한 결과에서도 역시 7월에서 10월까지는 MABV 유전자는 적지만, 10월 이후에 MABV 유전자는 증가함을 보고하였는데, 본 연구에서는 해수중에 존재하는 MABV 유전자의 양이 적은 여름철의 자연산 어류를 샘플로 하였기 때문에 MABV 검출율이 낮았던 것으로 생각되어진다.

MABV는 연어과 어류의 병원체인 infectious pancreatic necrosis virus (IPNV)와 유사하지만, VP2/NS연결부분이 나타내는 유적학적 차이에 기초하여 다른 바이러스로 구분이 된다 (Heppell et al., 1993; Dobos, 1995; Hosono et al., 1996). 본 연구에서 검출한 자연산 어류유래 분리주들의 유전적인 비교 결과, 담수계의 대표적인 병원체인 IPNV strain들과는 구분이 되어지며, 해산의 양식 넙치 등에서 분리된 MABV와 높은 상동성을 나타내어, 해수 및 동물성 플랑크톤에서 검출되는 MABV 유전자는 진주조개 *Pinctada fucata* 등의 패류에서 검출한 MABV 유전자 및 양식산 방어에서 분리한 Y-6 strain의 MABV nucleotide sequence와 상동성이 높았다는 Kitamura et al. (2000a, b), Isshiki et al. (2004)의 조사 결과와 유사하였다.

요 약

Marine birnavirus (MABV)는 중요한 어류 병원체로서 일본 양식산 방어서 처음 분리되어 이후 다양한 해산어종에서 MABV 분리가 보고되었으며 환경적인 샘플인 저질, 해양의 동물성 플랑크톤과 해수에서도 MABV 유전자가 검출되고 있다. 본 연구는 Marine birnavirus disease에 대한 예방학적 접근의 일환으로서 자연산 어류로부터의 MABV 검출 및 지리적 분포, 보균 어종에 대한 유전학적인 조사를 목적으로 2003년과 2005년도에 동중국해역 3지점, 서해안 5지점 그리고 남해안 5지점에서 어류를 채집하였다. RT-PCR (Reverse transcriptase-Polymerase Chain Reaction)을 이용한 연구결과 자연산 해산어류 160마리 중 13종 17마리에서 MABV가 검출되어 감염율 10.6%를 보였다. 조사된 13종의 어류 중 특히 농어목에서 가장 높은 검출율을 보였다. 자연산 어류에서 분리한 MABV 분리군주는 염기서열 분석에서 94.7%-100%, 아미노산 분석에서 97.2-100% 유사성을 나타내었으며 IPNV strain과는 구분되며 MABV에 속하였다.

참고문헌

- Chou, H. Y., H. J. Li, C. F. Lo, 1994. Pathogenicity of a birnavirus to hard clam (*Meretrix lusoria*) and effect of temperature stress on its virulence. Fish Pathol. 29, 171-175.
- Dobos, P., 1995. The molecular biology of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV). Annu. Rev. Fish Dis. 5, 25-54.
- Heppell, J., L. Berthiaume, F. Corbin, E. Tarab, J. Lecomte and M. Arella, 1993. Comparison of amino acid sequences deduced from a cDNA fragment obtained from infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) strains of different serotypes. Virology, 195, 840-844.
- Hosono, N., S. Suzuki and R. Kusuda, 1996. Genogrouping of bir-

- naviruses isolated from marine fish, a comparison of VP2/NS junction regions on genome segment A. J. Fish Dis., 19, 295–302.
- Iida, Y., K. Masumura, T. Nakai, M. Sorimachi, T. Matsuda, 1989. A viral disease in larvae and juveniles of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. J. Aquat. Anim. Health, 1, 7–12.
- Isshiki, T., K. Kawai and R. Kusuda, 1989. Incidence of yellowtail ascites virus (YAV) in wild yellowtail fingerling. Nippon Suisan Gakkaishi., 55, 633–637.
- Isshiki, T., T. Nagano, K. Kanehira., S. Suzuki, 2004. Distribution of marine birnavirus in cultured marine fish species from Kagawa Prefecture, Japan. J. Fish Dis., 27, 89–98.
- Kamakura, M., S. Suzuki and R. Kusuda, 1995. Characterization of birnavirus isolated from diseased tiger puffer. Program and Abstracts of the Autumn Meeting of the Japanese Society of Fish Pathology, Mie, Japan, September 1995, p. 14.
- Kitamura, S. I. and S. Suzuki, 2000. Occurrence of marine birnavirus through the year in coastal seawater in the Uwa sea. Mar. Biotechnol., 2, 188–194.
- Kitamura, S. I., S. J. Jung and S. Suzuki, 2000a. Seasonal change of infective state of marine birnavirus in Japanese pearl oyster *Pinctada fucata*. Arch. Virol., 145, 2003–2014.
- Kitamura, S. I., Y. Tomaru, Z. Kawabata and S. Suzuki, 2000b. Detection of marine birnavirus in the Japanese pearl oyster *Pinctada fucata* and seawater from different depths. Dis. Aquat. Org., 50, 211–217.
- Kitamura, S. I., S. I. Kamata, S. I Nakano and S. Suzuki, 2003. Detection of marine birnavirus genome in zooplankton col-
lected from the Uwa Sea, Japan. Dis. Aquat. Org., 54, 69–72.
- Sohn, S. G., M. Park, J. Do, J. Choi and J. Park, 1995. Birnavirus isolated from cultured flounder in Korea. Fish Pathol., 30, 279–280.
- Sorimachi M. and T. Hara, 1985. Characteristics and pathogenicity of a virus isolated from yellowtail fingerlings showing ascites. Fish Pathol., 19, 231–238. (in Japanese)
- Suzuki, S. and M. Nojima, 2000. Distribution of a marine birnavirus in wild molluscan shellfish species from Japan. Fish Pathol., 34, 121–126.
- Suzuki, S., N. Hosono, R. Kusuda, 1997. Detection of aquatic birnavirus gene from marine fish using a combination of reverse transcription and nested PCR. J. Mar. Biotechnol., 5, 205–209.
- Suzuki, S., M. Kamakura, R. Kusuda, 1998. Isolation of birnavirus from Japanese pearl oyster *Pinctada fucata*. Fish Sci., 64, 342–343.
- Takano, R., K. Mori, T. Nishizawa, M. Arimoto and K. Muroga, 2001. Isolation of viruses from wild Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Fish Pathol., 36, 153–160.
- Watanabe, L., R. Pakkingking, Jr., H. Iida, T. Nishizawa, Y. Iida, M. Arimoto and K. Muroga, 2002. Isolation of aquabirnavirus and viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) from wild marine fishes. Fish Pathol., 37, 189–191.

원고접수 : 2007년 12월 21일

수정본 수리 : 2008년 2월 11일