

## 양식 조피볼락 (*Sebastes schlegeli*)에서 *megalocytivirus*의 무증상적 감염과 특성 분석

권우주 · 김영철 · 윤민지 · 정현도<sup>†</sup>  
(부경대학교)

### Characterization of Asymptomatic *Megalocytivirus* Infection in farmed Rock Fish (*Sebastes schlegeli*) in Korea

Woo-Ju KWON · Young-Chul KIM · Min-Ji YOON · Hyun-Do JEONG<sup>†</sup>  
(Pukyong National University)

#### Abstract

Monitoring for *megalocytivirus* infection was conducted for ten months from March to December in 2013 in 15 aquatic farms culturing, red sea bream, rock bream, rock fish and black sea bream around Tongyoung coastal area in Korea, to assess spatial and temporal variability of detection prevalence, and to explore possible links with seawater temperature. In nested-PCR targeted major capsid protein (MCP) gene, asymptomatic *megalocytivirus* infection was detected in the externally healthy farmed fish with a significant prevalence in range from 0 to 58.3% for ten months. Higher prevalence of *megalocytivirus* (46.7% - 57.1%) was observed in high water temperature season from September to November than that in other months with lower prevalence of 0.0% to 20.0%. Even though an acute infection of *megalocytivirus* was occurred in rock bream (positive in the first PCR) with high mortality in one of fifteen farms, there was no expansion or transmission of the disease to the rock fish and red sea bream culturing in net cage just proximal to the rock bream cage in which disease outbreaked. Nucleotide sequence analysis of the cloned MCP gene isolated asymptotically infected rock fish revealed that the *megalocytivirus* in this study was clustered together with the rock bream iridovirus (RBIV) under the subgroup II of the genus *megalocytivirus* (Iridoviridae), which is known to be the major *megalocytivirus* strain in Korea. The typical histopathological signs were not found in the spleen of rock fish asymptotically infected by *megalocytivirus*. Experimental infection of rock bream with the spleen homogenate of the rock fish infected asymptotically did not induce any mortality unlike the homogenate of infected rock bream with high mortality. However, these results may suggest that the asymptomatic infection of *megalocytivirus* in other fish species can be a potential risk threatening aquaculture industries as a transmission factor of *megalocytivirus* to susceptible fish species, especially rock bream.

**Key words :** *Megalocytivirus*, Asymptomatic infection, Nested PCR, Virus monitoring, Rock fish, *Sebastes schlegeli*

#### I. 서론

*Megalocytivirus*는 해산양식어류에 폐사를 유발

하는 바이러스로 참돔(*Pagrus major*) 뿐만 아니라  
방어(*Seriola quinqueradiata*), 농어(*Lateolabrax sp.*)  
와 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*)을 포함하는 다양한

<sup>†</sup> Corresponding author: 051-629-5941, jeonghd@pknu.ac.kr

어종에 감염이 된다(Inouye, et al., 1992; Matsuoka et al., 1996; Kawakami and Nakajima, 2002). 우리나라에서는 1998년부터 발병이 보고된 이후 매년 수온이 20℃ 이상이 되는 시기에 양식 돌돔에서 대량 폐사를 유도하고 있고 (Sohn et al., 1998; Jung and Oh, 2000), 수온이 높아 짐에 따라 병원성이 더 높은 것으로 알려져 있다. (Kim et al., 2008)

Iridoviridae family는 *Iridovirus*, *Chloriridovirus*, *Ranavirus*, *Lymphocystivirus* 그리고 *Megalocyctivirus*의 다섯 genera로 분류되며(Chinchar et al., 2005), 다양한 어류에 심각한 폐사를 일으키는 *Megalocyctivirus*는 RSIV Ehime-1 strain 을 포함하는 subgroup 1, rock bream iridovirus 를 포함하는 subgroup 2, infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV)를 포함하는 subgroup 3 그리고 turbot reddish body iridovirus (TRBIV)를 포함하는 subgroup 4로 분류된다. (Imajoh et al., 2007)

비록 *megalocyctivirus*는 광범위한 숙주 범위를 나타내지만 참돔과 돌돔 그리고 넙치를 제외하면 해산 양식 현장에서의 실질적인 피해나 폐사가 확인되고 있지 않으며, 어종에 따른 감염력의 차이, 감염에 대한 감수성과 질병 발생과의 관계 등의 연구가 부족한 실정이다. 특히, 우리나라의 총 양식 생산량의 33%, 해상가두리 양식의 65% 이상을 차지하는 조피볼락(*Sebastes schlegeli*) (KOSTAT, 2013) 또한 *megalocyctivirus*의 감수성 어종으로 알려져 있지만(Office International des Epizooties(OIE) Manual of diagnostic tests for aquatic animals, 2009) *megalocyctivirus*의 발병으로 인한 대량 폐사는 확인된 바 없을 뿐만 아니라 감염 수준, 감염 증상, 체내 바이러스의 증식 속도 등에 대한 구체적인 감염 연구는 전혀 이루어져 있지 않다.

본 연구는 우리나라 해산어류양식에서 주 대상 어종인 조피볼락에서의 *megalocyctivirus* 검출을 분석하고, 그 결과를 바탕으로 i) 양식 조피볼락에서의 *megalocyctivirus*의 검출률 분석 ii) 수온과

*megalocyctivirus* 검출률과의 상관관계 분석, 검출된 *megalocyctivirus*의 iii) 유전적 분석, iv) 감염성과 병원성 확인 그리고 v) 병리조직학적 특성을 분석하였다. 이러한 양식현장에서의 *megalocyctivirus* 검출과 질병 발생과의 상관관계 분석은 바이러스성 질병의 발생에 대한 경보체계를 확립할 수 있는 중요한 정보의 제공이 될 수 있을 것이다.

## II. 조사방법 및 내용

### 1. 실험어

2013년 3월부터 12월 까지 총 10회에 걸쳐 통영 산양읍, 육지면 일대 15개소의 해상 가두리 어가에서 양식하고 있는 어류의 채집을 실시하였다. Sampling된 어종은 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)을 비롯하여 참돔(*Pagrus major*), 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*), 감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*)이었다 (<Table 2> 참조). Sampling은 어가 당 6마리의 외관상 병변이 없고 유영이 정상적인 어체를 취하였고, 채취된(90마리/회) 시료는 스트레스를 최소화하기 위하여 활어차를 이용하여 운반하였다. 폐사어는 시료와 분리하여 운반하였다.

### 2. 바이러스의 검출

한 어가에서 sampling한 어류 6 마리를 3 마리씩 두 그룹으로 나누었고, 각 그룹(3 마리) 어체의 비장을 분리하여 하나의 tube에 모으고 비장 무게의 10배 volume의 L-15 (Sigma-Aldrich)을 첨가하여 pellet pestle motor (Kontes)를 이용하여 2000 ~ 3000 rpm 에서 1분간 마쇄하였다. 이후 4℃ 10,000 g에서 10분간 원심 분리한 후 상등액을 취하여 0.2 μm membrane filter를 통과시킨 후 사용 전까지 -80℃에 보관하였다. Total nucleic acid는 Exgene™ Tissue SV mini kit(GeneAll)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 분리한 후 elution buffer 100ul에 현탁하여 사용 전까지 -20℃에 보관하였다.

### 3. 수온 측정

수온 변화의 정확한 추세를 확인하기 위하여 국립수산과학원 실시간 어장정보의 관측정보통계를 사용하였다. 매월의 수온 평균값과 표준편차는 통영 학립도(NFRDI, fth 59)를 기준점으로 하여 결정 하였다.

### 4. PCR

*Megalocytivirus* 검출을 위해서 *megalocytivirus*의 major capsid protein gene (MCP)에 특이적인 primer set를 사용하여 PCR을 실시하였다(<Table 1> 참조). PCR은 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.001%(w/v) gelatin, 0.5% Tween 20, 각각의 dNTP 0.2 mM, 각각의 primer sets, 1.25 U AmpliTaq DNA polymerase (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA) 를 0.2 ml microtube에 첨가하고, DNA template를 첨가한 후 DEPC water로 PCR 혼합물이 20 µl가 되도록 하였다. PCR 증폭은 Applied Biosystems 2720 thermalcycler (ABI)를 사용하였으며, PCR 조건은 95°C에서 5분간 pre-denaturation 이후, 95°C에서 30초간 denaturation, 55°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 extension 하는 것을 하나의 cycle로 하여 30 cycle 동안 반응 시켰고, 이후 72°C에서 7 분간 post-extension 반응을 시켰다.

Nested PCR은 first PCR을 통해 증폭된 산물을 이용하여 first PCR 과정과 같은 양의 시료, 같은

PCR 반응시간으로 실시하였다. Nested PCR 후 증폭된 산물은 전기영동을 실시하였고, 전기영동을 위한 완충액으로 0.5x TAE buffer (40 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA)를 사용하였다.

### 5. Cloning

PCR 산물은 GeneAll Expin™ Gel SV (GeneAll Biotechnology, Korea)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 진행되었다. 배양액을 Ampicillin 50 µg/ml 과 X-gal (5-Bromo-4-chloro-3-indoly-β-D-galactopyranoside, Sigma, USA) 40 µg/ml이 첨가된 LB (Luria-Bertani, Difco, USA) 평판배지에 도말하여, 37°C에서 24시간 동안 배양시켰다. 이후 Ampicillin 50 µg/ml이 첨가된 LB broth에 접종 후, 37°C에서 24시간 배양하였다.

### 6. 염기서열 분석

Plasmid는 GeneAll Plasmid SV Minikit (GeneAll Biotechnology, Korea)를 이용하여 분리되었으며, 분리된 plasmid로부터 Big Dye Terminator Cycle DNA Sequencing Kit (ABI PRISM PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하여 삽입된 바이러스 유전자의 염기서열을 밝혔다. *megalocytivirus*의 염기서열은 MACAW program (Version 2.0.5, National Center for Biotechnology Information, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)을 사용하여 비교하였다.

<Table 1> Primers used in this study

Primers	Sequence (5'→3')	Amplicon (bp)	Object (PCR)	Reference
M1F	GCTGCGCATGCCAATCATCT	401	First PCR	Kim et al. (2011)
M1R	ATGCGATGGAGACCCACTTGG			
M2F	AATGACACCGACACCTCCTCC	288	Nested PCR	
M2R	TGCGATGGAGACCCACTTGT			

또한 계통발생학적 분석을 위하여 분리된 바이러스의 MCP gene 염기서열을 RBIV (Rock bream iridovirus), AY532606 ; RSIV (Red sea bream iridovirus), AB666328 ; FLIV (Flounder iridovirus), AY59068 ; PGIV (Pearl gourami iridovirus), AB666344와 비교하여 phylogenetic tree로 나타내었다.

### 7. 감염성 및 병원성 확인

*Megalocytivirus* 양성을 보이는 어류의 비장 마쇄액을 사용하여 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 실시하였다. *In vitro* 감염성 분석은 GF-1 (grunt fin-1) cell line  $5 \times 10^5$  cells/ml에 10% FBS (Gibco)와 항생제 (penicilin, 200 IU/ml; streptomycin, 200  $\mu$ g/ml)가 첨가된 L-15 (Sigma-Aldrich)배지를 5 ml 첨가하여 25°C 에서 80%의 confluence를 보일 때까지 3일간 배양한 후 위에서 취한 조직 마쇄액 100  $\mu$ l (tissue 10 mg에 상응)를 inoculation하고 이후 광학현미경을 통하여 CPE 형성을 관찰하였다. *Megalocytivirus*의 병원성 분석은 조직 마쇄액 100  $\mu$ l를 12 마리의 돌돔(평균체장,  $5.63 \pm 0.29$  cm)에 복강 주사하고 2주일간 누적폐사율을 분석하였다. 음성대조군은 PBS 100  $\mu$ l를 복강 주사하였다.

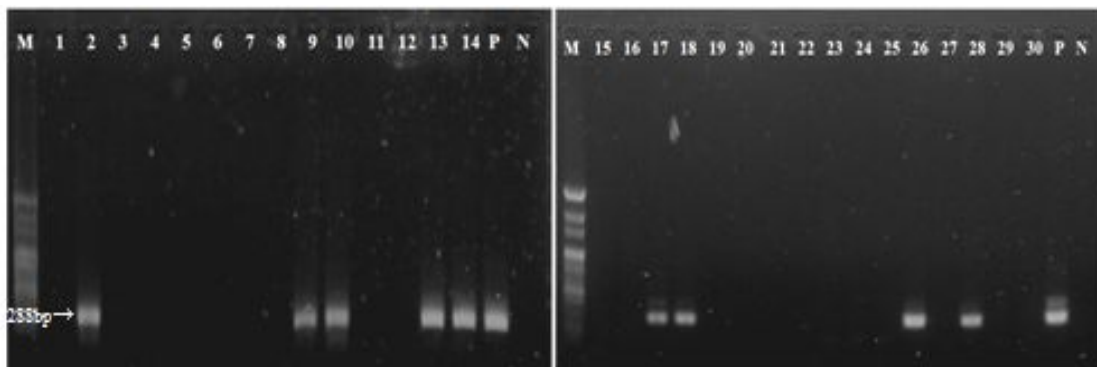
### 8. 병리 조직학적 분석

*Megalocytivirus*의 감염 증상을 확인하기 위해 병리 조직학적 분석을 실시하였다. 정상어와 감염어 신장을 적출하여 Bouin's solution에 1차 고정을 실시하고 24시간 이후, 동일 고정액에 2차 고정을 실시하였다. 2차 고정 후 24시간 후에 수세를 실시하고, 70%부터 100% 농도의 ethanol에 순차적으로 탈수를 실시하였다. xylene을 이용하여 투명화하고 파라핀으로 포매하여 마이크로톰 (Reichert -Jung 820)을 사용하여 4  $\mu$ m 두께의 박편을 슬라이드에 올렸다. 이후 건조기에서 파라핀을 녹이고, H&E염색 (Hematoxyline-eosin staining)을 실시하였다. 그리고 malinol액으로 봉입하여 광학현미경으로 정상세포와 바이러스 감염세포를 비교, 분석하였다.

## III. 결 과

### 1. 양식장에 따른 바이러스 분석

2013년도 통영 일대 15개 어가를 대상으로 각 어가에서의 *megalocytivirus*의 무증상적 감염여부를 nested PCR을 통해 확인하였다([Fig. 1] 참조).



[Fig. 1] Detection of *megalocytivirus* in rock fish *Sebastes schlegeli*. Two lane set was used for two groups of fish collected in different farms at a single sampling time (september 2013). lane 1, 2, Farm 1; lane 3, 4, Farm 2; ..... ; lane 29, 30, Farm 15; P, positive control (Jeong and Jeong 2008); N, Negative control; M, 100-bp marker.

매달 샘플링을 통하여 한 어가에서 6마리 어체를 두 그룹으로 나누어 분석한 이후 한 그룹 이상에서 검출된 경우 감염된 어가로 판단하였다. *Megalocytivirus*를 각 어가별로 1년에 걸쳐 분석한 결과, 각 어가별 검출률은 최소 0.0%에서 최대 50.0%로 나타났고, 전체 평균 검출률은 28.6% 였다 (<Table 2> 참조).

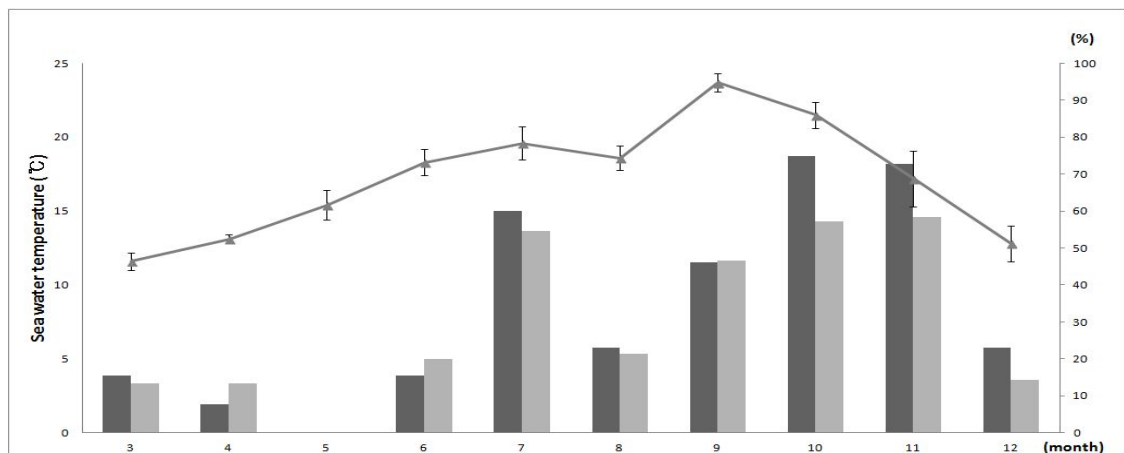
## 2. 시기에 따른 바이러스 분석

통영 해안의 시기별 표층 수온의 변화와 *megalocytivirus*의 검출률의 상관관계를 비교 분석하였다([Fig. 2] 참조).

<Table 2> Prevalence of *megalocytivirus* in 15 fish farms in Tongyeong area in Korea from Mar to Dec 2013.

Fish farms	Fish species	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Prevalence (%)
Farm 01	Black sea bream	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	30.0%
Farm 02	Rock fish	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	30.0%
Farm 03	Rock fish	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	40.0%
Farm 04	Red sea bream	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0%
Farm 05	Rock fish	-	-	-	-	+	+	+	-	NT	-	33.3%
Farm 06	Rock fish	-	-	-	+	-	-	-	NT	NT	-	12.5%
Farm 07	Rock fish	-	-	-	-	NT	+	+	+	+	-	44.4%
Farm 08	Rock fish	-	-	-	-	NT	+	-	-	+	-	22.2%
Farm 09	Rock fish	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	50.0%
Farm 10	Rock bream	-	-	-	-	NT	NT	+++	+++	NT	NT	33.3%
Farm 11	Red sea bream	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	10.0%
Farm 12	Rock fish	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	40.0%
Farm 13	Rock fish	+	-	-	-	NT	-	+	-	-	-	22.2%
Farm 14	Rock fish	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	30.0%
Farm 15	Rock fish	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	30.0%

+++ : first PCR positive, + : nested PCR positive, - : nested PCR negative, NT : not tested



[Fig. 2] Correlation between *megalocytivirus* prevalence in farmed fish and sea water temperature. Profiles of water temperature variation of Tong-young Haklim coast from March to December 2013. ■, prevalence in rock fish; ▒, prevalence in all tested fish species; ▲, sea water temperature. Data from KODC, NFRDI.

3월 ~ 4월 비교적 저수온인 11.8 ~ 13.0°C의 수온에서도 13.3 %의 검출률을 보였다. 7월 이후부터 수온이 20°C 이상으로 올라가게 되었고, 8월에 검출률이 21.4%로 다소 낮아졌으나 9월에 다시 23°C 이상 높아지게 되면서 검출률이 46.7%로 증가하였다. 이후부터 검출률은 50% 이상 증가하게 되었고 돌돔(Farm 10)에서는 *megalocytivirus* 감염에 의한 대량 폐사가 있었으며 시료는 모두 first PCR 양성의 결과를 보였다. 반면 nested PCR에서 양성의 결과를 보였던 조피볼락과 감성돔 어가의 어류는 폐사가 없었다. 돌돔 어가에서는 9월 ~ 10월의 대량 폐사 이후 sampling이 불가하여 분석을 실시할 수 없었다. 10월 ~ 11월에는 *megalocytivirus*로 인한 대량폐사는 없었으나

조피볼락을 대상으로 한 nested PCR에서 58.3%로 계속해서 높은 검출률을 보였다. 다시 12.8°C의 수온이 떨어지는 12월에는 검출률이 14.3%로 3 ~ 4월과 비슷한 검출률을 보여주었다.

### 3. 유전자 분석

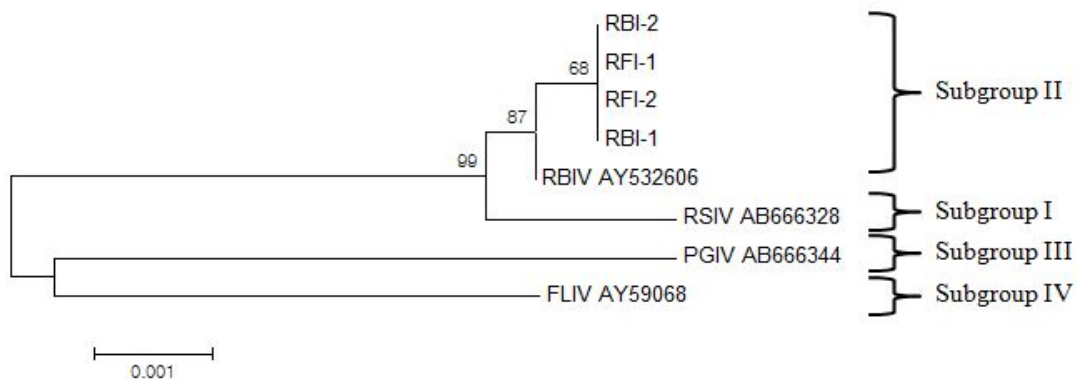
Nested PCR을 통해 조피볼락에서 검출된 *megalocytivirus*(RFI로 명명)와 first PCR을 통해 돌돔에서 검출된 *megalocytivirus*(RBI로 명명)의 amplicon을 이용하여 nucleotide sequencing을 하였고, 그 결과를 통해 유전자 분석을 실시하여 *megalocytivirus*의 4 subgroup들과의 상동성과(<Table 3> 참조) 계통발생학적 분석을 실시하였다 ([Fig. 3] 참조).

<Table 3> Comparison of sequence homology between the four genes region in GenBank of four types of *Megalocytivirus* and detected *megalocytivirus* in this study

	(%)				
	RBI**-1,2	RBIV	RSIV	FLIV	PGIV
RFI*-1	100	99.75	99.50	97.50	96.25
RFI-2	100	99.75	99.50	97.50	96.25

\*RFI : Rock fish iridovirus, \*\*RBI : Rock bream iridovirus

Homology is given as percentage of identity. Accession number : RBIV (Rock bream iridovirus), AY\_532606; RSIV (Red sea bream iridovirus), AB\_666328; FLIV (Flounder iridovirus), AY59068; PGIV(Pear gourami iridovirus), AB666344.



[Fig. 3] Phylogenetic analysis of nucleotide sequence for MCP gene over 401 bp prepared using the neighbour joining distance method. Bootstrap percentage values are shown adjacent to lines; the scale bar indicates distance as a proportion of nucleic acid substitutions

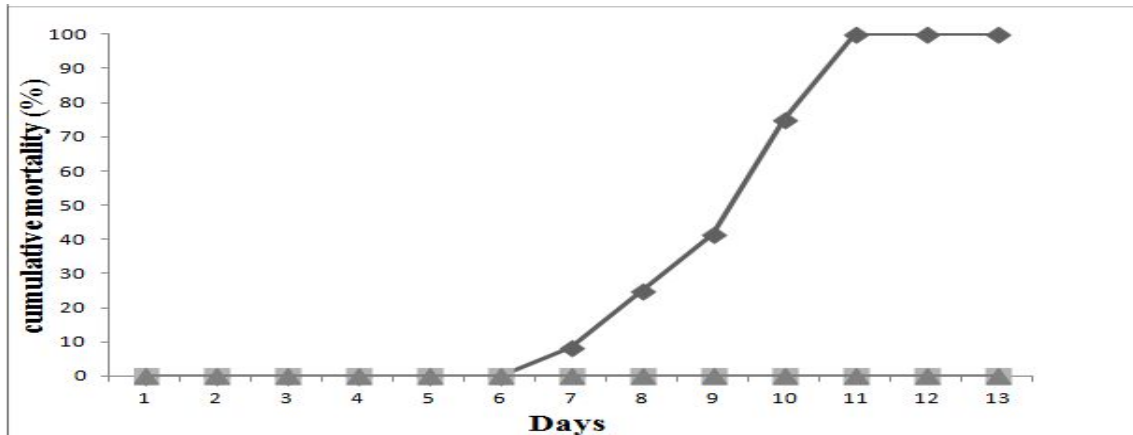
#### 4. 감염성 및 병원성 확인

Nested PCR에서 양성반응을 보인 조피볼락의 조직을 이용하여 바이러스의 감염성과 병원성을 알아보기 위하여 *in vitro*와 *in vivo* 실험을 실시하였다. 감염성 실험으로, 검출된 바이러스를 *megalocytivirus*에 감수성 있는 PMF cell line에 접종한 경우 7일 이후에도 CPE를 확인 할 수 없었고(data not shown), 병원성 실험으로, 검출된 바이러스를 *megalocytivirus*에 감수성이 높은 돌돔에 접종하였지만 접종 후 14일째 까지 폐사가 나타나지 않았다(Fig. 4). 하지만 폐사가 나타났던 돌돔에서 분리한 조직의 바이러스를 사용한 경우,

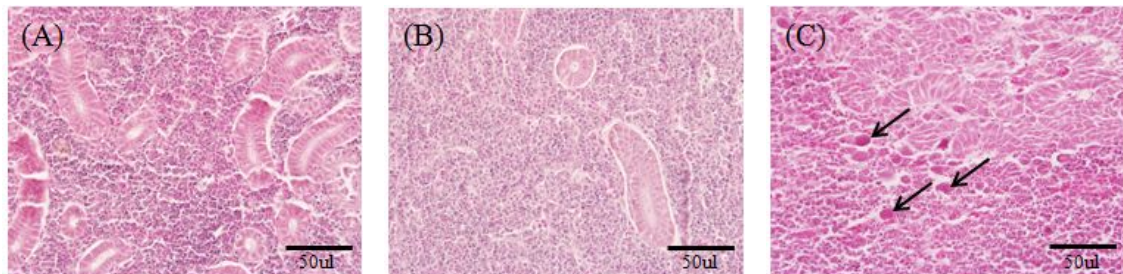
PMF cell에서 접종 후 3일째부터 CPE가 나타났고, 돌돔에 접종 후 7일째부터 폐사가 나타났으며 11일째에 100% 폐사하였다.

#### 5. 조직 병리학적 분석

Nested PCR에서 양성의 결과가 나온 조피볼락 어체와 건강한 조피볼락과의 조직병리학적인 차이는 없었다. 하지만, First PCR에서 검출된 돌돔의 신장 조직에서는 이형비대세포(enlarged cell)를 관찰할 수 있었고, 국소적인 세포의 괴사가 관찰되었다([Fig. 5] 참조).



[Fig. 4] Pathogenicity of the detected *megalocytivirus* in this study. Rock bream (*Oplegnathus fasciatus*) was challenged with tissue homogenate from first PCR positive rock bream (◆), nested PCR positive rock fish (■). Also, PBS injection was used as negative control (▲).



[Fig. 5] Histopathology of the kidney of the nested PCR positive rock fish *Sebastes schlegeli* (A), nested PCR negative rockfish (B), first PCR positive rock bream *Oplegnathus fasciatus* (C). Enlarged cells (arrows) in the haematopoietic tissue of the kidney (H&E, x 400).

#### IV. 고 찰

*Megalocytivirus*로 인한 대량폐사가 1998년 돌돔 (*Oplegnathus fasciatus*)에서 처음 나타난 이후, 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)에서 *megalocytivirus*가 검출된 바는 있으나 이로 인한 폐사는 확인된 바 없었다(Choi et al., 2010). 본 연구를 통해 2013년 조피볼락에서 시기에 따라 최대 70% 이상의 검출률을 볼 때([Fig. 2] 참조), 이 어중에 만연하게 노출되어 있음을 알 수 있고, 또한 노출 이후에 *virus*의 증식이 있음을 알 수 있다. 조피볼락 어가에서 *megalocytivirus*가 3개월 이상 연속적으로 나타난 어가는 총 11어가 중에서 4어가에서 나타났으며, 고수온기인 7월부터 11월에 집중되어 있었다. 하지만 이러한 감염은 계속해서 높은 수준은 아니었다. 11월까지 70% 이상의 검출률을 보였으나, 12월에는 다시 23.1%로 감소되었다(<Table 2> 참조). 이러한 결과로 볼 때, 조피볼락에서 *megalocytivirus*가 무증상적 감염 상태로 나타났으며, 그러한 감염은 수온의 상승과 함께 빈도가 증가할 것으로 추정되었다.

우리나라의 경우 *megalocytivirus*로 인한 돌돔에서 많은 폐사가 나타나고 있으며(Jung and Oh, 2000), OIE (Office International des Epizooties) 보고에 따르면 돌돔은 *megalocytivirus*에 가장 민감하다고 보고되고 있다(OIE, Manual of diagnostic tests for aquatic animals, 2009). Jeong 과 Jeong 의 연구(2008)에서도 *megalocytivirus*의 공격실험을 통해 참돔(*Pagrus major*)과 조피볼락에 비해 돌돔에서 가장 높은 감수성을 확인한 바 있다(Jeong and Jeong, 2008). 본 연구의 Sampling 기간 중인 2013년 9월 ~ 10월에 걸쳐 감수성이 높은 돌돔에서(Farm 10) 대량 폐사가 나타났다. 하지만 폐사가 나타난 어가로부터 50 m 이내의 조피볼락 두 어가(Farm 9, 12)에서는 각각 40%, 50%로 높은 검출률을 보였지만 폐사는 확인되지 않았다. 더구나 50m 이내의 참돔 어가(Farm 4)에서는 폐사가

나타난 바도 없었고, *megalocytivirus*가 검출되지도 않았다.

*Megalocytivirus*는 비록 참돔에서 처음 발견되었고, 지속적으로 검출은 되고 있으나(Inouye, 1992.; Jung et al., 1991) 현재 우리나라에서의 대량 폐사는 모두 돌돔에서 발생하고 있는 것으로 확인되고 있다. 하지만 본 연구에서 조피볼락과 참돔에서는 낮은 검출률을 확인할 수 있었고, 이는 참돔에서도 검출은 지속적으로 되지만 돌돔에 비하여 더 낮은 병원성을 보여 왔다(Kim et al., 2002)라는 결과와 유사하다고 할 수 있을 것이다. 따라서 *megalocytivirus*의 감염으로 돌돔에서 폐사가 발생하여 해양환경으로 유출되었지만 인접한 곳에서 양식되고 있는 참돔과 조피볼락에서는 폐사 발생이 없는 것으로 보아서 우리나라 양식현장에서 중요한 이 두 어종은 *megalocytivirus*에 감염성은 나타나지만 감수성이 낮은 어종으로 판단하여야 할 것이다.

조피볼락에서 검출된 *megalocytivirus*의 염기서열의 분석으로 돌돔에서 폐사를 일으키는 RBIV (Rock bream iridovirus, AY\_532606)의 MCP gene의 부분염기서열과 비교했을 때 401bp중 1bp에서 염기서열의 변화가 있었다. 하지만, 이 염기서열 변화로 인한 (Glu50 → Glu) 아미노산의 변화는 없었다. 따라서 조피볼락에서 검출된 *megalocytivirus*는 지금까지 우리나라 양식현장에서 돌돔 등에서 대량 폐사를 유발한 *megalocytivirus*와 동일함을 확인하였다(<Table 3> 참조).

*Megalocytivirus*가 검출된 조피볼락 조직을 이용하여 *in vitro*, *in vivo* 그리고 병리조직학적 관찰을 통해 감염성과 병원성을 확인하였다. 그 결과 무증상적 감염이 된 조피볼락의 조직을 사용한 경우 모두 감염성과 병원성을 보이지 않았고, 반면 증상적 감염을 보이는 돌돔의 조직을 이용한 두 실험에서는 모두 감염성과 병원성을 확인할 수 있었다([Fig. 4] 참조). 이러한 결과는 무증상적으로 감염된 조피볼락 조직에서의 바이러스 역가가 매우 낮기 때문인 것으로 판단되며, 이는



Jeong et al. (2010)에서 무증상적 감염을 보이는 돌돔에서 분리된 바이러스를 돌돔에 접종한 경우 병원성을 나타내지 않았던 결과와 동일한 것으로 나타났다 (Jeong and Jeong, 2010).

*Megalocytivirus*의 감염은 어종에 따라 급성감염을 보이는 어종과 무증상적 감염을 보이는 어종이 있음이 보고되었고(Wang et al., 2007), 이러한 *megalocytivirus*의 무증상적 감염은 다양한 양식어종에서 계절과 관계없이 검출이 되어왔다(He et al., 2002). Joh et al. (2000)과 Jeong et al. (2006)의 연구를 통해 다양한 어종에서 다양한 바이러스에 의하여 무증상적 감염 현상이 확인되고 있다. 이러한 무증상적 감염어류는 주변에 서식 또는 양식하고 있는 감수성 높은 어종으로 원인체를 전파할 수 있는 위험성을 충분히 내포하고 있으므로 보다 구체적인 분석이 이루어져야 할 것이다.

본 연구에서 2013년도 3 ~ 12월까지의 *megalocytivirus*의 모니터링을 실시하였다. 수온의 증가에 따라 조피볼락에서의 검출률이 증가하였고, 돌돔에서 대량 폐사가 나타났다. 반면, 돌돔의 폐사가 나타난 인근의 참돔과 조피볼락 어가에서는 폐사가 나타나지 않아 *megalocytivirus*에 대한 낮은 감수성을 확인 할 수 있었다. 또한 조피볼락에서 검출된 *megalocytivirus*의 염기서열은 돌돔에서 높은 병원성을 보이는 RBIV와 같았으나, 실험을 통한 감염성과 병원성은 없었다. 결론적으로 *megalocytivirus*는 조피볼락에서 낮은 감수성을 보이며 감염성과 병원성을 보이지 않지만, 조피볼락은 우리나라의 양식현장에서 대량 양식되고 있는 어종이므로 비록 낮은 수준의 무증상적 감염이지만 감수성 높은 어종으로 병원체가 전파 될 수 있는 잠재적 위험성을 내포하고 있다.

## 사 사

이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비(2014년)의 지원에 의해 연구되었습니다.

## References

- Chinchar, V. G. · Essbauer, S. · He, J. G. · Hyatt, A. D. · Miyazaki, T. · Seligy, V. & Williams, T. (2005). Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses : Eighth report of the International Committee on the taxonomy of viruses. 8th edn. Amsterdam, Netherlands, 145~162
- Choi, Hye-Sung · Jee, Bo-Young · Cho, Mi-Young and Park, Myoung-Ae(2010). Monitoring of pathogens on the cultured Korean rockfish *Sebastes schlegeli* in the marine cages farms of south sea area from 2006 to 2008. J. Fish Pathol., 23(1) : 27~35.
- He, J. G. · Zeng, K. · Weng, S. P. & Chan, S. M. (2002). Experimental transmission pathogenicity and physical-chemical properties of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV). Aquaculture 204, 11~24.
- Imajoh, M. · Ikawa, T. & Oshima S.(2007). Characterization 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. Volume 126, 45~52.
- Inouye, K. · Yamano, K. · Maeno, Y. · Nakajima, K. · Matsuoka, M. · Wada, Y. & Sorimachi, M. (1992). Iridovirus infection of cultured Red Sea Bream *Pagrus major*. Gyobyo Kenkyu, 27(1), 19~27.
- Jeong, Hyun-Do & Jeong, Joon-Bum(2010). Presence of low level infected iridovirus in sea perch *Lateolabrax* sp. imported to Korea. J. Fish Pathol., 23(1), 17~25.
- Jeong, Joon-Bum & Jeong, Hyun-Do(2008). Pathogenicity of Iridovirus against Marine Fish and Its Detection in Culturing Seawater. J. Kor. Fish. Soc. 41(1), 20~25.
- Jeong, Joon-Bum · Jun, Lyu-Jin · Park, Kyung- Hyun · Kim Ki-Hong · Chung, Joon-Ki · Komisar, J. L. · Jeong, Hyun-Do(2006). Asymptomatic iridovirus infection in various marine fishes detected by a 2-step PCR method. Aquaculture 255, 30~38.
- Joh, Seong-Joon · Kim, Doo-Won · Kim, Jeong-Ho & Heo, Gang-Joon(2000). Dtection of Marine Birnavirus (MBV) from Rockfish *Sebastes schlegeli* Using Reverse Transcription and Nested PCR. J.

- Microbiology, 260~264.
- Jung, Sung-Ju & Oh, Myung-Joo(2000). Iridovirus-like infection associated with high mortalities of striped beakperch, *Oplegnathus fasciatus* (Temminck et Schlegel) in southern coastal areas of the Korean peninsula. J. Fish Dis., 23, 223~226.
- Jung, Sung-Ju · Miyazaki, T. · Miyata, M. · Danayadol, Y. & Tanaka, S.(1991). Pathogenicity of Iridovirus from Japan and Thailand for the red sea bream *Pagrus major* in Japan, and histopathology of experimentally infected fish. Fish. Sci., 63(5) : 735~740.
- Kawakami, H. & Nakajima, K.(2002). Cultured fish species affected by red sea bream iridoviral disease from 1996 to 2000. J. Fish Pathol. 37, 45~47.
- Kim, Jin-Woo · Cho, Mi-Young · Jin Ji-Woong, Kim, Ki-Hong · Jeong, Hyun-Do & Kim, Kwang-Il (2011). Detection of *Megalocytivirus* in shellfish using PCR with various DNA extraction methods. J Fish Pathol 24, 65~73.
- Kim, Seok-Ryel · Jeong, Byeong-Mum · Jung SSung-Ju · Kitamura, S. I. · Kim, Du-Woon · Kim, Do-Hyung & Oh, Myung. Joo.(2008). Cumulative Mortality in Striped Beakperch *Oplegnathus fasciatus* Infected with Red Sea Bream Iridovirus (RSIV) at Different Water Temperature and Identification of Heat Shock Protein 70. J. Fish Pathol. 21(1), 13~20
- Kim, Young-Jin · Jung, Sung-Ju · Choi, Tae-Jin · Kim, Hyeong-Rak · Rajendran, K.V.& Oh, Myung-Joo (2002). PCR amplification and sequence analysis of irido-like virus infecting fish in Korea. J. Fish Dis., 25, 121~124.
- KOSTAT(2013). Statistical yearbook of maritime affairs & fisheries. Fishery production by fishery sector fishery type and province. 83~84.
- Matsuoka, S. · Inouye, K. & Nakajima, K.(1996). Cultured fish species affected by red sea bream iridoviral disease from 1991 to 1995. J. Fish Pathol. 31, 233~234.
- Office International des Epizooties(2009). Manual of diagnostic tests for aquatic animals
- Sohn, Sang-Gyu · Park, Myoung-Ae · Oh, Myung-Joo & Chun, Seh-Kyu(1998). A fish nodavirus isolated from cultured sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. Journal of Fish Pathol., 11, 97~104.
- Wang, Y. Q. · Lu, L. · Weng, S. P. · Huang, J. N. · Chan, S. M. and He, J. G.(2007). Molecular epidemiology and phylogenetic analysis of a marine fish infectious spleen and kidney necrosis virus-like (ISKNV-like) virus. Arch Virol 152, 763~773.
- 
- Received : 16 July, 2015
  - Revised : 02 August, 2015
  - Accepted : 14 August, 2015