

제주지역 양식 넙치(*Paralichthys olivaceus*)를 대상으로 한 스쿠티카증(Scuticociliatosis) 모니터링

고예진 · 전려진 · 김예지 · 이영준 · 한지은 · 오영은 · 이응준 · 정준범[†]

제주대학교 해양생명과학과

Monitoring of scuticociliatosis in cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju island

Ye Jin Ko, Lyu Jin Jun, Ye Ji Kim, Young Juhn Lee, Ji Eun Han, Yeong Eun Oh, Eung Jun Lee and Joon Bum Jeong[†]

Department of Marine Life Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

Scuticociliatosis can occur from juveniles to adult olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) and the infection usually causes mass mortality. There is no clear way to treat it once the parasite has invaded the fish's internal organs. Therefore, periodic monitoring of scuticociliatosis for surveillance and prompt response is a crucial part of reducing damage to olive flounder farms. In this study, we conducted scuticociliatosis monitoring of olive flounder farms in jeju island to investigate the detection rate of the causative agents (*Miamiensis avidus* and *Uronema marinum*), and determine the phylogenetic classification of the detected pathogens. Disease monitoring was conducted on a total of 3,282 olive flounder and the detection rate was highest in August (15.83%) during the investigation period. The sequences of all 4 strains obtained from olive flounder farms in 4 different regions, were 100% homologous with SSU rRNA gene of *M. avidus* deposited in GenBank.

Key words: Scuticociliatosis, *Miamiensis avidus*, *Uronema marinum*, Olive flounder

서 론

2022년도 제주지역의 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 생산량은 약 10,800톤으로 국내 넙치 생산량의 약 49.8%를 차지하고 있다(KOSIS, 2023). 제주지역은 넙치 양식에 있어 최적의 조건을 갖추고 있으며, 넙치를 생산하는 육상수조식 양식장의 수가 244개로 우리나라에서 가장 많은 지역이다

(KOSIS, 2022). 하지만, 제주지역의 넙치양식장이 증가하고 장기간 양식이 진행됨에 따라 양식 어류에 영향을 미치는 다양한 질병이 발생하고 넙치의 대량 폐사와 같은 문제가 발생하고 있는 실정이다.

스쿠티카증(Scuticociliatosis)은 양식 넙치에 발생하는 대표적인 기생충성 질병 중 하나이며(Jung *et al.*, 2006), 치어기의 넙치에 감염될 경우 아가미와 체표뿐만 아니라 뇌를 포함한 내부 장기 전반에 걸쳐 증상을 나타내는 특징을 가지고 있다(Jee *et al.*, 2001; Jin *et al.*, 2003; Jin *et al.*, 2006). 또한, Shim (2019)등에 의하면, 2015년 전남과 제주의 넙

[†]Corresponding author: Joon Bum Jeong
Tel: +82-64-754-3426, Fax: +82-64-756-3493
E-mail: jeongjb@jejunu.ac.kr

치양식장을 대상으로 한 표본 조사에서 스쿠티카증에 의한 폐사는 59.94%인 것으로 보고하였으며, 전남(39.19%)에 비해 제주(66.83%)에서 특히 높은 폐사율을 보인 것으로 조사되었다. 우리나라의 넙치에서 보고된 스쿠티카증을 일으키는 원인체는 *Miamiensis avidus* (Jung *et al.*, 2005), *Uronema marinum* (Jee *et al.*, 2001), *Pseudocohnilembus persalinus* (Kim *et al.*, 2004b), *Philasterides dicentrarchi* (Kim *et al.*, 2004a) 등 4종이며, 이 가운데 Jung *et al.* (2007)의 연구에서 *P. dicentrarchi*와 *M. avidus*가 동일종인 것으로 보고한 바 있다(Jung *et al.*, 2005; Jung *et al.*, 2006).

양식생물에서 발생하는 질병에 대하여 효과적인 방제 대책을 수립하기 위해서는 양식장별, 월별 질병 발생 현황에 대한 정확한 모니터링을 실시하는 것이 필요하다. 본 연구에서는 2022년 7월부터 12월 사이에 넙치에서 발생하는 스쿠티카증 원인체의 감염 현황을 파악하기 위하여 polymerase chain reaction (PCR)법을 통해 스쿠티카증 원인체의 월별 발생률을 조사하고자 하였으며, 스쿠티카증 원인체의 유전적 분석을 통해 계통분류학적 위치를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

실험어

실험에 사용된 넙치는 제주지역 내 4개소 양식장으로부터 실험실로 운반하여 스쿠티카증 감염 여부를 조사하였다. 본 실험은 2022년 7월부터 12월 까지 6개월간 진행되었으며, 조사기간 동안 총 3,282마리를 분석에 사용하였다. 분석에 사용한 모든 넙치의 체중과 체장을 측정하였으며, 외부증상과 내부증상을 확인하고, 이를 기록하여 추후 분석에 사용하였다. 또한, 조사기간 동안 실험에 사용된 시료의 스쿠티카증 감염을 확인하기 위해, 현미경 검정을 실시하였다. 현미경 검정은 조사기간 동안 얻어진 시료의 조직을 채취하여 실시하였다. 현미경 검정은 넙치의 아가미 새엽과 체표의 병변 부위를 포함한 장기 및 조직을 채취하여 슬라이드 글라스에 올려 광학현미경을 사용하여 100~400배 배율로 관찰하였다. 이외에도 특정한 부위에 스쿠

티카증에 의한 외부증상이 뚜렷하게 나타난 경우 그 부위를 추가로 채취해 분석에 사용하였다.

DNA 분리

실험에 사용된 넙치로부터 근육 조직을 적출하였고, DNA를 분리하기 위하여 DNeasy[®] Blood & Tissue Kit (Qiagen Hilden, Germany)를 사용하였다. 50 mg으로 정량한 각 조직에 ATL buffer 180 µL와 proteinase K 20 µL를 첨가하여 56°C에서 조직이 용해될 때까지 반응시켰다. 반응이 끝난 뒤 AL buffer 200 µL를 첨가하여 10분간 반응시켰다. 반응 후 100% ethanol 200 µL를 첨가하여 spin column에 옮겨 6,000 × g, 1분간 원심분리 하였다. Column을 새로운 tube로 옮겨준 후 AW1 buffer 500 µL를 넣어 6,000 × g에서 1분간 원심분리 하고, AW2 buffer 500 µL를 넣어 20,000 × g, 3분간 원심분리 하여 washing 과정을 거쳤다. 그 후 column을 microtube로 옮겨준 뒤 AE buffer 50 µL를 이용하여 최종적으로 DNA를 분리하였다. 분리된 DNA는 -80°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

Polymerase chain reaction (PCR)

넙치의 근육 조직에서 추출한 DNA를 대상으로 스쿠티카증을 일으키는 원인체 2종에 대한 감염 진단 검사를 위해 PCR 방법을 사용하였다. *M. avidus* 검출을 위한 Tma-F / Tma-R primer set (323 bp) 및 *U. marinum*의 검출을 위한 Tum-F / Tum-R primer set (316 bp)를 각각 사용하여 PCR을 실시하였다(Table 1). Microtube에 1 µM의 각 primer, 2.5 mM의 각 dNTP, 10 × IP-Taq buffer, 2.5 U IP-Taq DNA polymerase (LaboPass[™] IP-Taq 500 unit 2.5 U/µL, COSMO genotech, Korea) 및 조직에서 분리한 DNA를 첨가한 후 distilled water를 첨가해 PCR 혼합물의 최종 volume이 20 µL가 되게 하였다. PCR 조건으로 94°C에서 5분간 pre-denaturation시킨 후, 94°C에서 30초 denaturation, 53°C에서 30초 annealing, 72°C에서 30초 extension의 반응을 1회로 하여, 30회 반복하고 post-extension은 72°C에서 5분간 반응시켰다. PCR 후 증폭된 산물은 1 × TAE buffer를 전기영동을 위한 완충액으로 하여, SYBR[®] Safe gel stain 10,000X in DMSO (Invitrogen, USA)이 첨

Table 1. Primer sequences used in the PCR for the Scuticociliatida in *Paralichthys olivaceus*

Target	Purpose	Primer	Oligonucleotide Sequences	Product size (bp)	Reference
<i>Miamiensis avidus</i>	Detection	Tma-F	TACTTGAATAGAGCTAGATGGGACT	323	K.R. patent No. 10-1000530 (2010)
		Tma-R	GGGAGAAGTGGATTAAAGTCTACT		
<i>Uronema marinum</i>	Detection	Tum-F	GCTTTGGAGGGTGAAAAAGTTTAG	316	
		Tum-R	GAATTTAGTGAGAGAAAGTTGCCTTT		
<i>Miamiensis avidus</i>	Sequencing	Ma-F	ACTGATCGAATCTCTTCACG	1,216	This study
		Ma-R	GGAAGTACTTTCTGAGCGAG		

가된 1% agarose gel 상에서 전기영동 한 후, UV 검출기를 이용하여 PCR 생성물을 확인하였다.

염기서열 계통분석

염기서열 분석을 통하여 *M. avidus*의 변이를 확인하기 위해 primer를 직접 제작하여 실험에 사용하였다. *M. avidus*의 염기서열을 확인하기 위해 Ma-F / Ma-R primer set (1,216 bp)를 사용하여 앞의 실험과 동일한 조성으로 PCR을 실시하였다(Table 1). PCR 조건으로 94°C에서 5분간 pre-denaturation 시킨 후, 94°C에서 30초 denaturation, 60°C에서 30초 annealing, 72°C에서 30초 extension의 반응을 1회로 하여, 35회 반복하여 반응시켰다. 그리고, 72°C에서 5분간 post-extension시켰다. PCR 증폭 산물은 전기영동 한 후 Gel purification kit (Bioneer, Korea)를 이용해 정제하여 염기서열 분석을 의뢰하였다(Solgent, Korea). 염기서열 계통분석은 4개의 양식장에서 분리된 4개의 *M. avidus* 염기서열과 GenBank에 등록된 10개의 *M. avidus* 18S ribosomal RNA gene 염기서열 및 Scuticociliatia의 Philasterida에 속하는 17개의 염기서열을 이용하여 MEGA 11 program version 11.0.13 (Tamura *et al.* 2021)으로 alignment 하였다. Scuticociliatia의 Philasterida에 속하는 17개의 염기서열의 경우, Kang *et al.* (2021)의 논문을 참고하여 계통분석에 사용할 SSU rRNA를 선택하였다. Alignment시킨 유전자들은 Mega 11 program version 11.0.13 (Tamura *et al.* 2021)의 maximum-likelihood phylogenetic tree를 수행하여 염기서열 간의 유전적 거리를 파악하고자 계통분석을 실시하였다.

결 과

스쿠티카충 감염에 의한 외부증상 확인

실험에 사용된 모든 개체는 외부증상과 내부증상을 모두 확인하였다. 특징적인 외부증상으로는 체표 부식, 체표 발적, 체표 궤양, 지느러미 탈락 및 부식 등으로 나타났으며, 내부증상으로는 간 출혈, 신장 비대, 비장 비대 등으로 나타났다. 다른 세균성 질병이나 바이러스성 질병과는 달리 스쿠티카충에 감염된 넙치는 외부증상으로 체표와 지느러미에 부식과 궤양이 심하게 나타난 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1). Fig. 1 a~f는 스쿠티카충에 감염된 넙치의 증상을 지느러미 탈락과 부식, 지느러미 궤양, 아가미 출혈, 체표 뒷면의 부식과 궤양, 안구 출혈과 궤양 그리고 꼬리지느러미의 부식 순으로 제시하였다.

현미경 검경

실험기간 동안 채집된 실험어를 대상으로 각 장기 및 조직을 현미경으로 검경하였다. 실험에 사용된 어체의 아가미와 체표 병변 부위에서 관찰된 스쿠티카충의 크기는 평균 length 31.33 μm (± 3.34 μm)이며, width는 16.67 μm (± 2.25 μm)로 관찰되었다. 관찰된 스쿠티카충의 경우 실험의 정확도를 위해 외부적으로 명확한 스쿠티카충의 형태를 보이는 개체만을 선정하여 관찰하였으며, 아가미와 근육에서 관찰된 충의 형태나 크기에 뚜렷한 차이를 확인할 수 없었다. 관찰된 스쿠티카충은 Fig. 2에 나타내었으며, 아가미에서 관찰된 스쿠티카충의 모습(Fig. 2 a~c)과 근육에서 관찰된 스쿠티카충의 모습(Fig. 2 d)을 나타내었다.

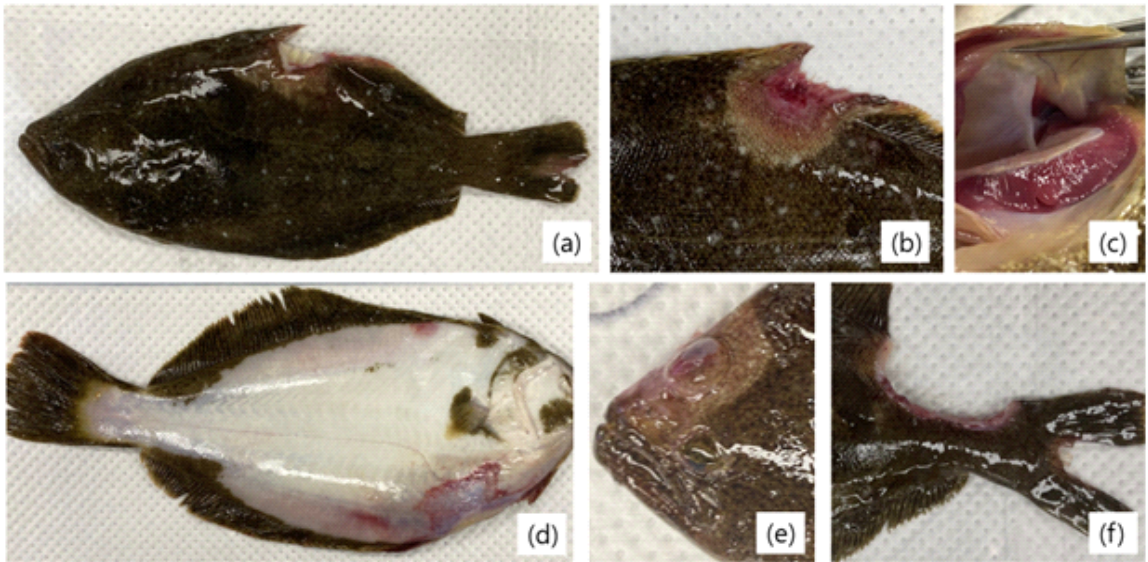


Fig. 1. Olive flounder infected with *Miamiensis avidus* (a-f). (a) fin erosion; (b) skin ulceration; (c) lesions in the gills; (d) haemorrhages on large area of the skin; (e) severe haemorrhages and ulcers on eyes; (f) severe corrosion of fin and tail.

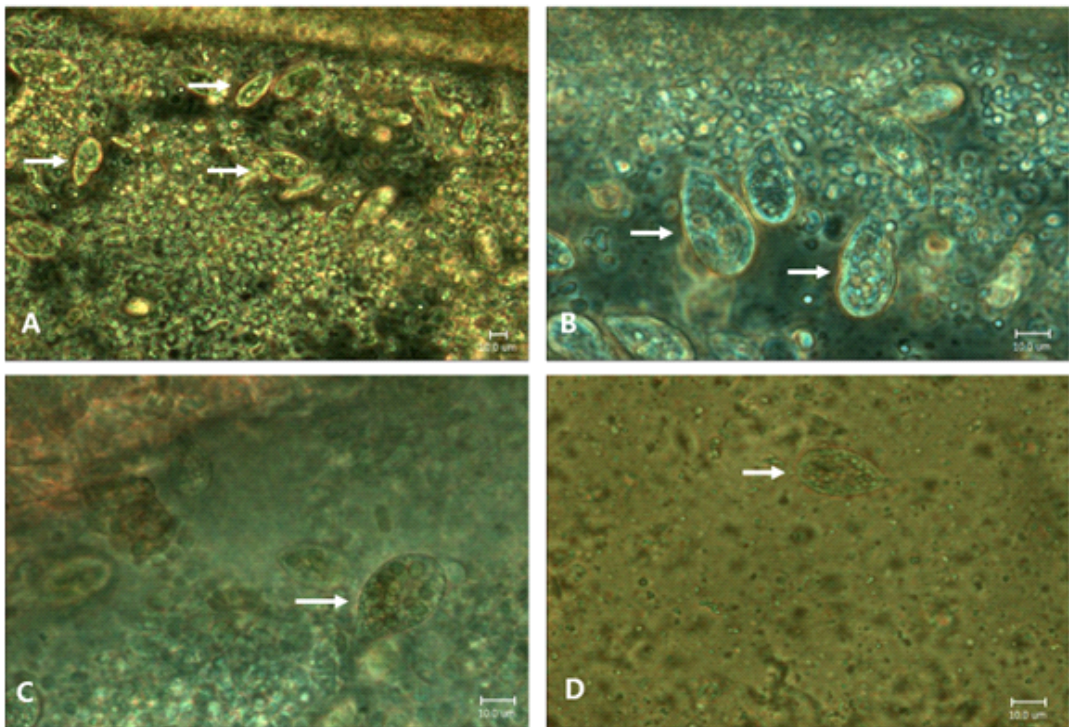


Fig. 2. Light micrograph of the gills (A-C) and muscle (D) in the infected olive flounder. Scuticociliates are shown as arrows. (A) x200; (B-D) x400. Scale bar = 10 μ m.

Table 2. Total detection rate of *M. avidus* infections in cultured olive flounder in Jeju from July to December in 2022

Month	Aquafarm				Total
	Farm A	Farm B	Farm C	Farm D	
Jul	69/288 (23.96)	2/176 (1.14)	0/158 (0.00)	0/98 (0.00)	71/720 (9.86)
Aug	74/212 (34.91)	14/153 (9.15)	1/152 (0.66)	3/64 (4.69)	92/581 (15.83)
Sep	25/348 (7.18)	2/197 (1.02)	0/128 (0.00)	0/153 (0.00)	27/826 (3.27)
Oct	21/266 (7.89)	0/239 (0.00)	0/185 (0.00)	0/116 (0.00)	21/806 (2.61)
Nov	7/50 (14.00)	0/97 (0.00)	0/38 (0.00)	0/20 (0.00)	7/205 (3.41)
Dec	0/40 (0.00)	11/44 (25.00)	3/30 (10.00)	2/30 (6.67)	16/144 (11.00)
Total	196/1,204 (16.28%)	29/906 (3.20%)	4/691 (0.58%)	5/481 (1.04%)	234/3,282 (7.13)

PCR 결과

본 연구의 조사기간인 2022년 7월부터 12월까지의 월별 진단을 위해 사용된 넙치의 수와 스쿠티카증의 원인체인 *M. avidus*가 양성으로 확인된 검출 비율을 Table 2에 제시하였다. 실험에 사용된 총 3,282마리의 양식 넙치 중 234마리의 넙치에서 스쿠티카증 원인체 중 하나인 *M. avidus*가 검출되었다. 또한, Table 2에 제시된 *M. avidus*의 결과와는 달리 *U. marinum*의 경우, 본 실험에 사용된 3,282마리에서 모두 음성 결과를 보였다. 감염조사 기간 중 8월의 *M. avidus* 검출 비율이 15.83%(92/581)로 가장 높게 나타났으며, 7월부터 12월까지 4개소 양식장을 비교한 결과에서는 양식장 A가 1,204마리 중 196마리가 양성을 나타내어 16.28%의 가장 높은 양성 비율을 나타내었다. 7월과 8월의 *M. avidus* 검출 비율은 각각 9.86%과 15.83%로 높은 검출률을 보였다. 반면, 9월부터 11월에는 *M. avidus* 검출

비율이 낮아지는 것을 확인하였으나, 12월에는 검출 비율이 11%로 다른 양상을 보였다. 추가적으로, 실험에 사용된 어체의 체중(weight)을 기준으로 구간을 나누어 *M. avidus*에 감염된 개체의 분포양상을 확인하였다(Fig. 3). 실험에 사용된 3,282마리의 넙치를 체중별 구간으로 나눈 결과 100g 이상 300g 이하의 개체가 1,119마리로 확인되었으며, 그 중 162마리의 넙치가 *M. avidus* 양성으로 14.48%의 높은 비율을 나타내었다.

계통분류학적 분석

4개소 양식장에서 분리된 *M. avidus* 염기서열과 *M. avidus* 18S ribosomal RNA gene의 10개의 염기서열 및 Scuticociliatia의 Philasterida에 속하는 17개 염기서열의 계통분석 결과는 Fig. 4에 제시하였다. 본 연구에서 분리된 *M. avidus* 염기서열은 reference로 이용된 10개의 *M. avidus* 18S ribosomal RNA

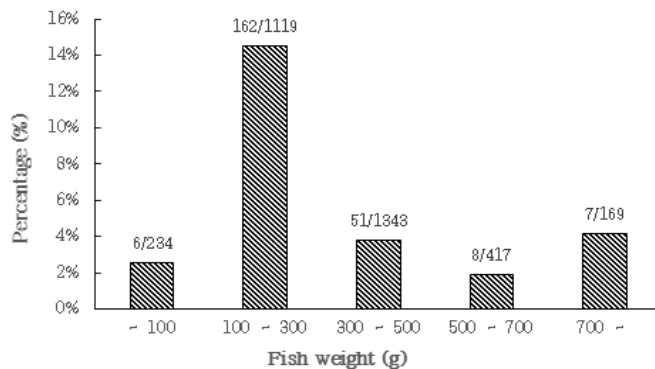


Fig. 3. Weight-based distribution of *M. avidus* within individual olive flounder. The number of olive flounder corresponding to the weight distribution of each individual used in the experiment is presented at the top of each graph.

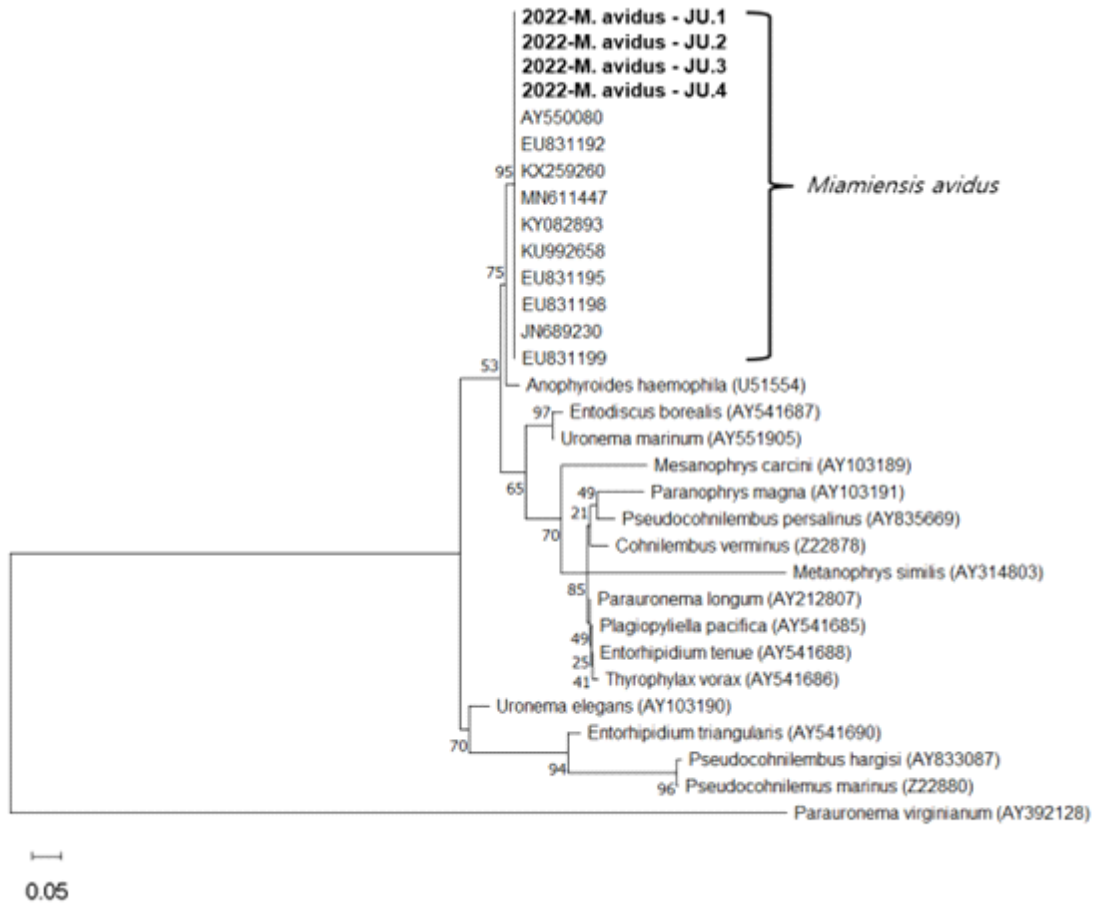


Fig. 4. A phylogenetic tree of SSU rRNA sequences of *M. avidus* and Philasterida of Scuticociliatia constructed by Mega 11 program. The numbers at the nodes represent the bootstrap percentages of 1,000 replicates, in the maximum-likelihood (ML) method. The four different aquaculture farm sequence is shown in boldface.

gene 염기서열과 100%의 상동성을 지니는 것으로 확인되어 *M. avidus* 18S ribosomal RNA gene의 10개의 염기서열과 유전적으로 유사한 것으로 확인되었다. 또한, 4개소 양식장에서 분리된 *M. avidus* 염기서열과 *M. avidus* 18S ribosomal RNA gene의 10개의 염기서열은 Scuticociliatia의 Philasterida에 속하는 17개의 염기서열과는 유의미한 차이를 보였다. 대표적으로, *U. marinum* (GenBank accession no. AY551905)와는 92.87%의 상동성을 보였으며, *Anophyroides haemophila* (GenBank accession no. U51554)와는 96%의 가장 높은 상동성을 보였고, *Entodiscus borealis* (GenBank accession no. AY541687)와는 91.92%로 가장 낮은 상동성을 보였다.

고찰

본 연구는 제주도의 넙치양식장으로부터 넙치를 수집하여 스쿠티카증을 일으키는 원인체를 모니터링하고 염기서열을 분석한 후 유전적인 상관관계를 분석하고자 하였다. 그 결과, 스쿠티카증에 감염된 넙치에서 체표 부식과 궤양 그리고 체색흑화를 비롯해 넙치의 두부부터 꼬리지느러미에 이르기까지 특징적인 외부증상이 관찰되었으며 이는 이전의 연구와(Jin *et al.*, 2006; Jung *et al.*, 2007; Kang *et al.*, 2015) 동일한 결과임을 확인하였다. Song *et al.* (2009)의 연구에서 *M. avidus*, *U. marinum*, *P. persalinus* 그리고 *P. hargisi* 4종의 스쿠티

카증을 넙치 치어에 직접 복강 주사하여 병원성을 비교 분석한 연구결과에서 *M. avidus*가 넙치 치어에 강한 병원성을 나타내는 주요한 종으로 보고되었다. 본 연구에서 검출된 *M. avidus*의 평균 크기는 length 31.33 μm (\pm 3.34 μm), width 16.67 μm (\pm 2.25 μm)로 Jung *et al.* (2007)에 의해 보고된 내용과 유사함을 확인하였다.

스쿠티카증에 의한 폐사는 연중 발생하지만 고수온기에 피해가 더 심한 특징을 보이는데, 이는 수온이 상승함에 따라 스쿠티카증의 증식이 더 활발해지기 때문이다(Bae *et al.*, 2009). 또한, 사육수조 저면에 침적되는 사료나 유기물에 의해 스쿠티카증의 증식에 적합한 환경이 조성되어 스쿠티카증에 의한 피해가 넙치양식장에서 연중 발생하는 것으로 보고되고 있다(Iglesias *et al.*, 2001; Jin *et al.*, 2007a). 이번 연구에서는 *M. avidus* 검출률이 7월(9.86%)과 8월(15.83%)의 기간 동안 상승하였으며, 9월부터 11월의 결과에서는 평균적으로 3.09%로 낮은 검출률이 나타나, 기존의 보고(Jin *et al.*, 2007b)와 유사한 결과임을 확인하였다.

이전 연구에서 어체의 체중이 300 g 이하일 때 스쿠티카증의 발병률이 높게 나타나며 심각한 피해를 입히는 것으로 보고하였다(Kim *et al.*, 2012). Kim *et al.* (2020)의 연구에서도 2015년부터 2017년까지 스쿠티카증에 감염된 그룹과 감염되지 않은 그룹 간의 체중에 관한 분포에서 스쿠티카증에 감염된 그룹에서 335 g 이하의 넙치가 75%를 차지한다고 보고하였다. 본 연구에서 또한 100~300 g에 해당하는 어체에서 *M. avidus*의 양성 진단 비율이 14.48%로 높게 검출되는 것을 확인하였으며, 기존의 보고(Kim *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2020)와 유사한 경향을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

스쿠티카증을 유발하는 병원체의 경우, 그 크기와 형태가 유사하여 정확한 종을 파악하는데 어려움이 있기 때문에 유전적, 형태적 동정을 통한 연구가 수행되고 있다(Kim *et al.*, 2004a; Kim *et al.*, 2004b). 본 연구에서 스쿠티카증에 감염된 넙치의 정확한 유전적 동정을 위해 계통분석을 실시한 후 유전적 위치를 파악하고자 하였으며, 4개소 양식장에서 검출된 병원체의 염기서열이 GenBank에 등재된 *M. avidus* 염기서열과 100%의 상동성을 지

니는 것으로 확인하였다. 앞선 계통분석 결과에서 확인된 바와 같이, 본 연구에서 사용된 Tma primer set가 스쿠티카증의 진단을 위해 유용하게 이용될 수 있을 것으로 여겨진다. 넙치에 감염되어 높은 폐사율을 일으키고 해산어류양식에서 심각한 경제적 손실을 초래하는 스쿠티카증을 구제하기 위하여 치료제를 개발하고 유효성을 평가하는 연구들이 수행되고 있다(Harikrishnan *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2017). 하지만, 현재까지 양식넙치의 스쿠티카증을 일으키는 원인체를 효과적으로 구제할 수 있는 대안은 없는 실정이다(Lee *et al.*, 2017). 이에 본 연구에서는 제주지역 넙치양식장을 대상으로 스쿠티카증 모니터링을 실시하여, 감염현황 및 검출된 분리주의 계통분류학적 분석을 실시하였으며, 이는 질병예방을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

감사의 글

이 논문은 2022학년도 제주대학교 교원성과지원사업에 의하여 연구되었음.

References

- Bae M.J., Im E.Y., Kim H.Y. and Jung S.J.: The effect of temperature to scuticociliatida *Miamiensis avidus* proliferation, and to mortality of infected olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.*, 22: 97-105, 2009.
- Harikrishnan, R., Jin, C.N., Kim, M.C., Kim, J.S., Balasundaram, C. and Heo, M.S.: Effectiveness and immunomodulation of chemotherapeutants against scuticociliate *Philasterides dicentrarchi* in olive flounder. *Experimental parasitology.*, 124(3): 306-314, 2010.
- Iglesias, R., Paramá, A., Alvarez, M.F., Leiro, J., Fernández, J. and Sanmartín, M.L.: *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora, Scuticociliatida) as the causative agent of scuticociliatosis in farmed turbot *Scophthalmus maximus* in Galicia (NW Spain). *Dis. Aquat. Org.*, 46: 47-55, 2001.
- Lee, B.Y., Kim, Y.C. and Park, M.S.: Morphology and biology of parasite responsible for scuticociliatosis of cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Diseases of aquatic organisms.*, 47(1): 49-55, 2001.
- Jin, C.N., Lee, C.H., Oh, S.P., Jung, Y.U., Song, C.B.,

- Lee, J. and Heo, M.S.: Scuticociliatosis in flounder farms of Jeju island. *J. Fish Pathol.*, 16(2): 135-138, 2003.
- Jin, C.N., Lee, Y.D., Lee, J.H., Kang, H.S., Lee, C.H., Kang, S.K. and Heo, M.S.: The pathogenicity of scuticociliate *Philasterides dicentrarchi* isolated from cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.*, 19(2): 87-97, 2006.
- Jin, C.N., Kang, H.S., Lee, C.H., Lee, Y.D., Lee, J.H. and Heo, M.S.: Biological Characteristics of Scuticociliate, *Philasterides dicentrarchi* Isolated from Cultured Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquac.*, 20: 106-113, 2007a.
- Jin, C.N., Kang, H.S., Moon, Y.G., Lee, Y.D., Lee, J.H., Song, C.B. and Heo, M.S.: Scuticociliatosis in flounder farms of Jeju island. *J. Fish Pathol.*, 20: 93-98, 2007b.
- Jung, S.J., Kitamura, S.I., Song, J.Y., Joung, I.Y. and Oh, M.J.: Complete small subunit rRNA gene sequence of the scuticociliate *Miamiensis avidus* pathogenic to olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Diseases of aquatic organisms.*, 64(2): 159-162, 2005.
- Jung, S.J., Kitamura S.I., Aoyama, M., Song, J.Y., Kim, B.K. and Oh, M.J.: Immune response of olive flounder *Paralichthys olivaceus* against *Miamiensis avidus* (Ciliophora: Scuticociliatida). *J. Fish Pathol.*, 19: 171-181, 2006.
- Jung, S.J., Kitamura, S.I., Song, J.Y. and Oh, M.J.: *Miamiensis avidus* (Ciliophora: Scuticociliatida) causes systemic infection of olive flounder *Paralichthys olivaceus* and is a senior synonym of *Philasterides dicentrarchi*. *Diseases of aquatic organisms.*, 73(3): 227-234, 2007.
- Kang, B.J., Jang, Y.H., Jhon, B.K., Park, B.H., Jin, C.N.: Monitoring of scuticociliatosis of olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) farm in Jeju, Korea from 2007 to 2014. *Journal of fish pathology.*, 28(3): 165-169, 2015.
- Kang, H.S., Whang, I., and Cho, J.K.: First report of *Paranophrys marina* (Protozoa, Ciliophora, Scuticociliatia) isolated from olive flounder *Paralichthys olivaceus* in Korea: morphological and phylogenetic analysis. *Journal of fish pathology.*, 34(1): 47-53, 2021.
- Kim, S.M., Cho, J.B., Kim, S.K., Nam, Y.K. and Kim, K.H.: Occurrence of scuticociliatosis in olive flounder *Paralichthys olivaceus* by *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora: Scuticociliatida). *Dis. Aquat. Org.*, 62: 233-238, 2004a.
- Kim, S.M., Cho, J.B., Lee, E.H., Kwon, S.R., Kim, S.K., Nam, Y.K. and Kim, K.H.: *Pseudocohnilembus persalinus* (Ciliophora: Scuticociliatida) is an additional species causing scuticociliatosis in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Dis. Aquat. Org.*, 62: 239-244, 2004b.
- Kim, J.W., Lee, H.N., Jee, B.Y., Woo, S.H., Kim, Y.J. and Lee, M.K.: Monitoring of the mortalities in the aquaculture farms of South Korea. *J. Fish Pathol.*, 25(3): 271-277, 2012.
- Kim, H.R., JUNG S.J., Kim, S.H., Park J.S., Chong, H.T., HAN S.H.: Data Mining for Scuticociliatosis Outbreak Patterns in Cultured Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* in Jeju, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci.*, 53(5): 740-751, 2020.
- Korean Statistical Information Service (2021) Fish Culture Trend Survey Results, 2022.
- Korean Statistical Information Service (2022) Fish Culture Trend Survey Results, 2023.
- Lee, J.H., Park, J.J., Choi, J.H., Shin, D.H., Park, K.H.: Anti-scuticociliate effects of aquatic hydrogen peroxide preparation in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.*, 30(2): 107-114, 2017.
- Shim, J.D., Hwang, S.D., Jang, S.Y., Kim, T.W., Jeong, J.M.: Monitoring of the mortalities in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) farms of Korea. *J. Fish Pathol.*, 32(1): 29-35, 2019.
- Song, J.Y., Sasaki, K., Okada, T., Sakashita, M., Kawakami, H., Matsuoka, S., and Kitamura, S.I.: Antigenic differences of the scuticociliate *Miamiensis avidus* from Japan. *Journal of fish diseases.*, 32(12): 1027-1034, 2009.
- Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S.: MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution.*, 38(7): 3022-3027, 2021.

Manuscript Received : May 08, 2023

Revised : May 31, 2023

Accepted : Jun 07, 2023