

국내 자연산 명태(*Gadus chalcogrammus*) 집단의 바이러스 모니터링

서현준* · 남우화** · 김정호*,**†

*강릉원주대학교 해양자원육성학과

**강릉원주대학교 동해안생명과학연구원

Monitoring of viruses in wild walleye pollock (*Gadus chalcogrammus*) population in Korea

Hyun-Joon Seo*, U-Hwa Nam** and Jeong-Ho Kim*,**†

*Department of Marine Bioscience, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 25457, Korea

**The East Coast Research Institute of Life Science, Gangneung-Wonju National University,
Gangneung 25457, Korea

Wild walleye pollock were caught from Goseong, The East Sea of Korea and examined for the existence of several fish pathogenic viruses; viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV), nervous necrosis virus (NNV) and marine birnavirus (MABV). We collected 1,253 wild walleye pollock in total during February 2015 and August 2018. 324 spleen sample sets and 259 brain sample sets were made, and examined for the existence of the viruses mentioned above by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). None of the target viruses were detected by one-step PCR. When some of these samples were further examined by two-step PCR, 19.7% (36/183) of spleen sample sets were positive for VHSV, and 4.4% (8/183) of spleen sample sets and 1.2% (3/259) of brain sample sets were positive for NNV. The target sequences of these viruses were clustered with those previously reported in Korea (Genotype IVa of VHSV, RGNNV genotype of NNV) by phylogenetic analysis. The activity of these viruses are not clear because virus isolation was not attempted, but probably very low because all the positive samples were detected by two-step PCR.

Key words: wild walleye pollock, *Gadus chalcogrammus*, viral hemorrhagic septicemia virus, nervous necrosis virus, RT-PCR

명태 (walleye pollock, *Gadus chalcogrammus*)는 대구과에 속하는 한류성 어종으로 북태평양의 전해역에 광범위하게 분포하고 있으며, 각 해역마다 독립적인 계군이 존재하는 것으로 알려져 있다 (양

등, 2008). 우리나라의 동해안에 서식하고 있는 명태는 1980년대 초반까지 연간 10만 톤 이상으로 어획되었으나, 1982년 이후 어획량이 감소하기 시작하여 현재는 자취를 감춘 상태이다 (오 등, 2004). 이처럼 동해안의 명태 자원량이 감소하게 된 원인을 남획과 기후 변화 등으로 추정하고 있으나 아직까지 정확한 원인을 밝혀내지 못한 상태이

†Corresponding author: Jeong-Ho Kim
Tel: +82-33-640-2851, Fax: +82-33-640-2340
E-mail: jhkim70@gwnu.ac.kr

며, 부족한 명태 수요를 보충하기 위하여 러시아 및 일본에서 냉동 혹은 선어 형태로 수입하고 있다 (김과 김, 2014).

최근 명태의 인공종묘 생산이 성공하면서 명태 자원을 회복하기 위해 인공종묘를 방류하고 있다. 지구 온난화, 해양 산성화, 남획과 같은 물리적, 화학적 요인 등이 명태의 생존율에 영향을 줄 수 있으며, 병원성 미생물, 포식 등의 생물학적 요인 역시 방류 후의 생존율에 영향을 줄 수 있다. 특히, 해산 어류의 종묘 생산 및 방류 이후의 생존에 있어서 중요한 장애물이 될 수 있는 바이러스성 질병에 대한 연구는 명태의 경우 매우 부족한 실정이다.

대구과에 속하는 어류 중 상업적으로 중요하게 취급되는 종은 대서양 대구 (*Atlantic cod*, *Gadus morhua*), 대구 (*Pacific cod*, *Gadus macrocephalus*), 명태 등 3 종이 있다. 이 중 대서양 대구와 대구는 상업적으로 대량 생산되고 있으며, 바이러스성 질병에 관해서도 많이 보고되어 있다. Meyer et al. (1992, 1999)은 자연산 대구 및 자연산 명태에서 VHSV의 감염을 각각 보고하였다. 또한, Nylund et al. (2008)과 Mao et al. (2015)는 양식산과 자연산 대서양 대구 및 양식산 대구에서 NNV의 감염을 각각 보고하였다.

자연산 어류의 감염성 질병은 동일한 해역에서 사육되고 있는 양식산 어류에게 다양한 경로를 통해 전파되어 피해를 입힐 수 있으며, 반대로 양식산 어류에서 발생하는 감염성 질병이 다양한 과정을 통해 자연산 어류에게 전파되어 폐사가 일어나는 경우도 알려져 있다. 이러한 현상에 영향을 주는 요인은 숙주 집단의 크기, 감염성 미생물의 병원성, 숙주 및 병원체와 관련된 다양한 생물적, 비 생물적 환경요인 등이 있으며, 따라서 예측하기 곤

란한 경우가 대부분이다 (Hedrick, 1998; Krkosek, 2017). 명태는 인공종묘 생산에 최근 성공하여 자연산 명태 자원량을 회복하기 위해 인공 종묘를 방류하고 있다 (Seo and Kwon, 2017). 차후 명태 종묘의 대량 생산 및 방류를 통해 우리나라 동해안의 자연산 명태 자원량이 증가한다면 감염성 질병의 발생 가능성을 배제할 수 없을 것으로 생각되어 본 연구에서는 2015년 2월부터 2018년 7월에 걸쳐 우리나라 동해안 고성 근해에서 수집한 자연산 명태를 대상으로 대구과 어류에서 보고된 바 있는 병원성 바이러스 (VHSV, NNV, MABV)의 감염 여부를 reverse transcriptase PCR (RT-PCR)법으로 조사하였다.

재료 및 방법

명태 입수 및 바이러스 검출용 시료 제작

2015년 2월부터 2018년 8월에 걸쳐 강원도 고성 아야진항 근해에서 정치망을 사용하여 포획된 명태를 현장에서 냉동하여 정기적으로 실험실로 운반하여 실험에 사용하였다. 운반된 명태는 해동하여 체장과 체중을 측정하였으며, 해부하여 비장과 뇌를 각각 적출하였다. 실험에 사용한 국내산 명태에 관한 정보는 Table 1에 정리하였다.

채집한 총 1,253 마리의 명태의 비장과 뇌를 적출하여 어체의 크기에 따라 평균 3~5 마리를 pooling하거나 또는 한 마리를 단독으로 사용하여 sample set (50 mg/set)를 제작하였다. 제작된 비장 시료 (324 set)는 대구과 어류에서 검출되는 바이러스 (바이러스성출혈성패혈증 바이러스; VHSV, 신경괴사증 바이러스; NNV, 해양머나바이러스; MABV)를 대상으로 RT-PCR법으로 해당 바이러스의 유전

Table 1. Information on walleye pollock samples caught in Goseong, Korea

Sampling year	Sampling location	No. of fish	BW* (g) (mean±SD**)	BL*** (cm) (mean±SD**)
2015	Ayajin port, Goseong	107	467.1 ± 177.9	43.1 ± 4.0
2016	Ayajin port, Goseong	618	265.5 ± 217.5	33.1 ± 6.7
2017	Ayajin port, Goseong	485	282.5 ± 238.5	33.6 ± 8.8
2018	Ayajin port, Goseong	43	545.3 ± 279.4	44.1 ± 7.4
total		1,253	425.97 ± 224.9	40.1 ± 6.0

*: body weight, **: standard deviation, ***: body length

자 검출을 시도하였다. 뇌의 경우 총 259 set의 시료를 제작하여 NNV의 유전자 검출을 시도하였다.

적출한 비장 및 뇌 시료 set (50 mg/set)를 Trizol (Invitrogen, USA) 450 μ l와 함께 micro tube에 넣고 2,822 $\times$ g에서 30초간 2회 균질화하였다. 여기에 chloroform (Sigma) 100 μ l를 첨가, 13,250 $\times$ g으로 10분간 4°C에서 원심분리하였다. 분리된 상등액을 새로운 micro tube에 넣고 isopropanol alcohol 500 μ l을 첨가한 후, 13,250 $\times$ g으로 10분간 4°C에서 원심분리하여 상등액을 제거하여 pellet을 얻었다. 남은 pellet은 70% 에탄올로 washing하였다. 이후 건조과정을 거쳐 DEPC-DW (Bioneer) 50 μ l를 첨가하여 cDNA 합성에 사용하였다.

cDNA 합성 및 RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction)

추출한 total RNA를 Nano drop을 사용하여 1,000 ng/ μ l로 정량한 후 Random Primer (Roshe)를 1 μ l 넣고, 65°C에서 10분간 변성시킨 후 즉시 얼음 위에서 냉각시켰다. 여기에 50 mM Tris-HCl (pH 8.3), 75 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 0.5 mM dNTPs, 10 mM DTT, 10 unit reverse transcriptase (Bioneer)를 첨가하여 42°C에서 1시간 동안 cDNA를 합성한 후 95°C에서 5분간 처리하여 잔존 효소활성을 제거한 후, 얻어진 산물을 사용해 바이러스 검출을 위한 one-step RT-PCR을 수행하였다. 또한 일부 시료는 two-step PCR을 수행하였다. 실험에 사용한 Primer

set의 정보는 Table 2에 나타내었다. AccuPower PCR premix tube (Bioneer)에 cDNA 2 μ l, D.W. (Bioneer) 16 μ l, one-step RT-PCR primer set을 각각 1 μ l씩 분주하여 20 μ l의 시료를 제작하였다. VHSV의 검출을 위해 VHSVRI, VHSVFI primer set (Dixon et al., 2003; Stone et al., 1997)를 사용하였으며, Thermal cycler (Applied Biosystems, USA)로 95°C 30초, 55°C 30초, 72°C 30초간 30 cycles을 반복하는 조건으로 증폭시켰다. Two-step PCR은 one-step RT-PCR의 산물 2 μ l, VHSVRI, VHSVFI primer set (Suebsing et al. 2012)를 사용하여 동일한 조건에서 수행하였다. NNV 검출은 Noda-full-F, Noda-full-R primer set (one-step RT-PCR)와 Noda-partial-F, Noda-partial-R primer set (two-step RT-PCR) (Cha et al., 2007)를 각각 사용하였으며, 95°C 30초, 60°C 30초, 72°C 30초간 30 cycles을 반복하는 조건으로 각각 증폭시켰다. MABV는 P1-P2 primer set (one-step RT-PCR)과 P3-P4 primer set (two-step RT-PCR)를 각각 사용하였으며 (Suzuki et al., 1997), 95°C 30초, 48°C 30초, 72°C 30초간 30 cycles을 반복하는 조건으로 각각 PCR을 수행하였다.

시퀀싱 및 분자계통 분석

증폭된 PCR산물은 2.0% agarose gel을 사용해 전기영동을 실시하고, UV transilluminator로 증폭산물의 유무를 육안으로 확인하였다. 타겟 위치에 생성된 밴드는 Gel purification kit (Bioneer, Korea)를

Table 2. Primer information and PCR conditions for detecting fish viruses in walleye pollock.

Virus	Primer	Sequences (5'-3')	References
VHSV	one step PCR	VHSVFI GATCAGGTCCCCCARRTCNGT	Stone et al. (1997) Dixon et al. (2003)
		VHSVRI TTCTTTGGAGGGCAAACNATH	
	two step PCR	VHSVFI GTACCCCTTCTTCCCCGAAC	Suebsing et al. (2012)
		VHSVRI GTAGRCRCGRTCCAGTAGAC	
NNV	one step PCR	Noda-full-F TAATCCATCACCGCTTTGCAATCAC	Cha et al. (2007)
		Noda-full-R TTCAAATTGGTCATCAACGATACGCACT	
	two step PCR	Noda-partial-F CTGGGACACGCTGCTAGAAAT	
		Noda-partial-R CGACACGTTGACCACATCAG	
MABV	one step PCR	P1 AGAGATCACTGACTTCACAAGTGAC	Suzuki et al. (1997)
		P2 TGTGCACCACAGGAAAGATGACTC	
	two step PCR	P3 CAACACTCTTCCCCATG	
		P4 AGAACCTCCCAGTGTCT	

이용하여 정제하였으며, 결과물을 sequencing하여 바이러스의 염기서열을 얻어내었다. 확보한 염기서열은 BLAST search (NCBI, USA)를 실시하여 기존의 Genbank에 등재된 각 바이러스들의 다른 분리주들의 유전정보와 조합한 뒤, MEGA 6 Program을 이용하여 neighbor-joining tree를 제작, 비교 분석하였다 (Tamura et al., 2013).

결 과

국내산 명태 1,253 마리의 비장을 pooling하여 제작한 명태 시료 324 set를 RT-PCR법으로 분석한 결과, 모든 시료에서 one step PCR로는 대상 바이러스의 유전자가 검출되지 않았다. 일부 시료에 대해 two-step PCR를 수행한 결과, VHSV, NNV의 유전자가 검출되었다. VHSV는 36 set (36/183, 19.7

%), NNV는 8 set (8/183, 4.4%)의 비장 시료에서 two-step RT-PCR 양성 반응을 확인하였으며 MABV는 검출되지 않았다. 또한 뇌 시료 259 set에서는 one step PCR법으로는 NNV가 검출되지 않았으나 3 set (3/259, 1.2%)의 시료에서 two-step RT-PCR 양성 반응을 보였다 (Table 3, Fig. 1, 2).

시퀀싱을 통해 획득한 VHSV의 염기서열을 기존에 보고된 다른 VHSV 분리주의 염기서열과 조합하여 계통수 분석을 수행하였다. 그 결과, 본 연구에서 획득한 VHSV의 염기서열은 우리나라와 일본의 분리주들이 포함되는 Genotype IVa에 속하는 것으로 확인되었다 (Fig. 3). 또한, NNV의 염기서열을 다른 NNV 분리주의 염기서열과 조합하여 계통수 분석을 수행하였다. 그 결과, 본 연구에서 획득한 NNV의 염기서열은 우리나라의 분리주를 포함하며 전 세계적으로 다양한 해산어종에서 보

Table 3. RT-PCR results for detecting viruses in wild walleye pollock from Korea

Virus	Year	Spleen		Brain	
		RT-PCR	Two-step RT-PCR	RT-PCR	Two-step RT-PCR
VHSV	2015	0/31 (0 %)	4/31 (12.9%)	NT*	NT*
	2016	0/152 (0 %)	32/152 (21.1%)	NT*	NT*
	2017	0/98 (0 %)	NT*	NT*	NT*
	2018	0/43 (0 %)	NT*	NT*	NT*
NNV	2015	0/31 (0 %)	1/31 (3.2%)	NT*	NT*
	2016	0/152 (0 %)	7/152 (4.6%)	0/118 (0%)	3/118 (2.5%)
	2017	0/98 (0 %)	NT*	0/98 (0%)	0/98 (0%)
	2018	0/43 (0 %)	NT*	0/43 (0%)	0/43 (0%)
MABV	2015	0/31 (0 %)	0/31 (0%)	NT*	NT*
	2016	0/152 (0 %)	0/152 (0%)	NT*	NT*
	2017	0/98 (0 %)	NT*	NT*	NT*
	2018	0/43 (0 %)	NT*	NT*	NT

*: Not tested

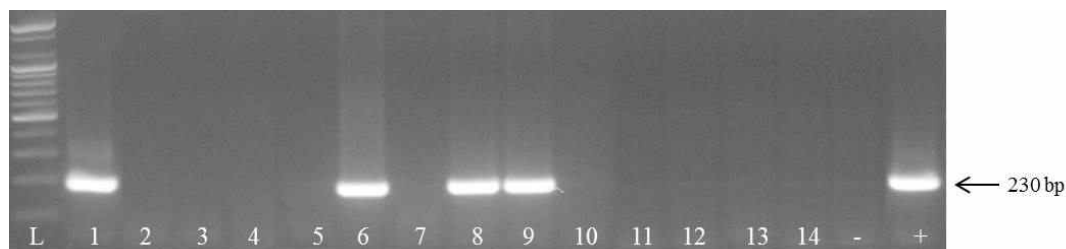


Fig. 1. RT-PCR (two-step) detection of VHSV in wild walleye pollock from Korea. (L: DNA ladder, 1-14 spleen samples, - negative control, + positive control).

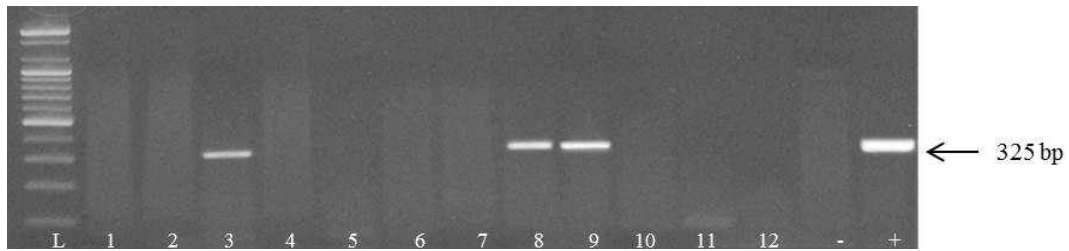


Fig. 2. RT-PCR (two-step) detection of NNV in wild walleye pollock from Korea. (L: DNA ladder, 1-12 brain samples, - negative control, + positive control)

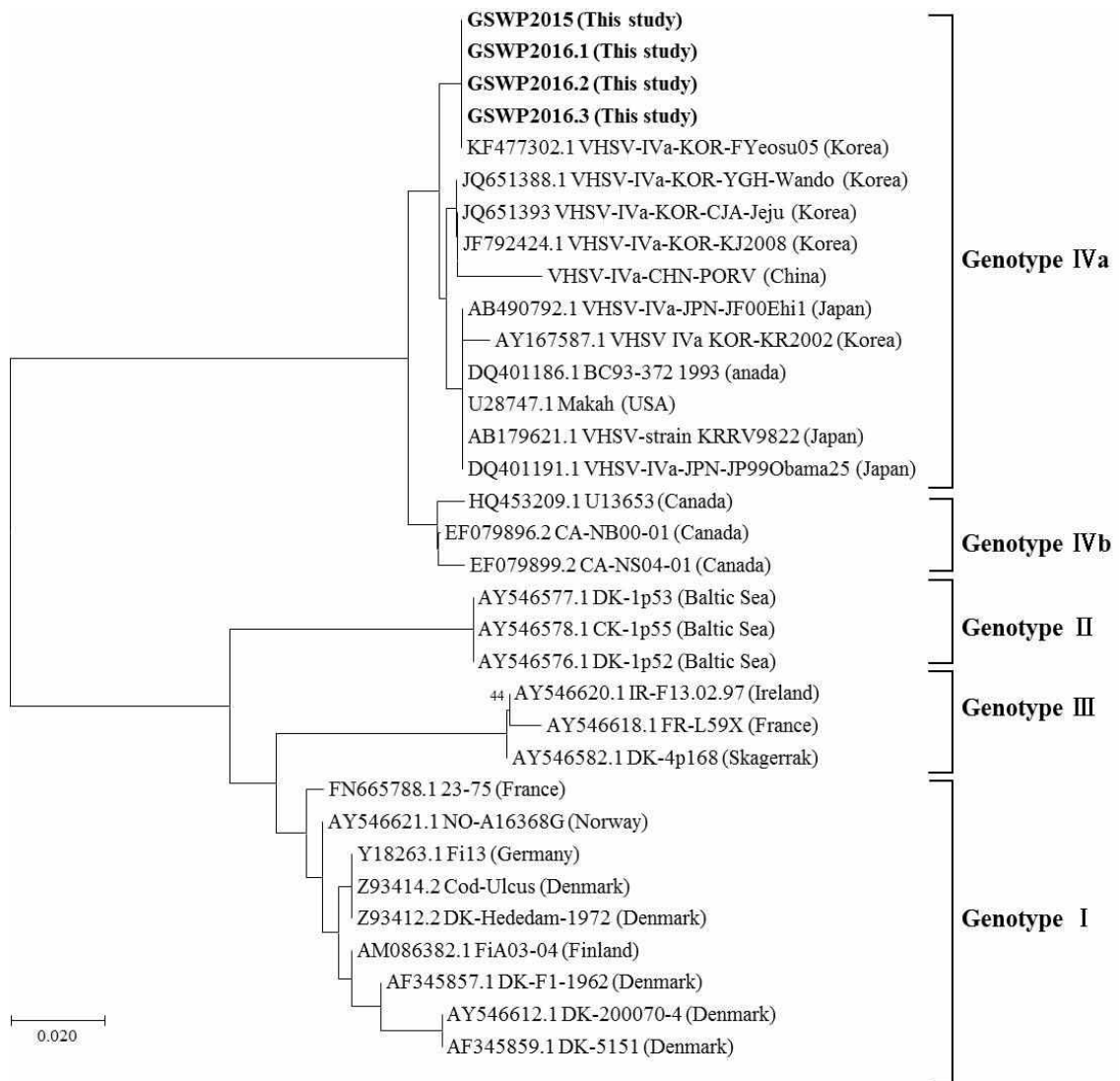


Fig. 3. Phylogenetic tree constructed with the obtained sequences of VHSV from walleye pollock and those of other previously described isolates.

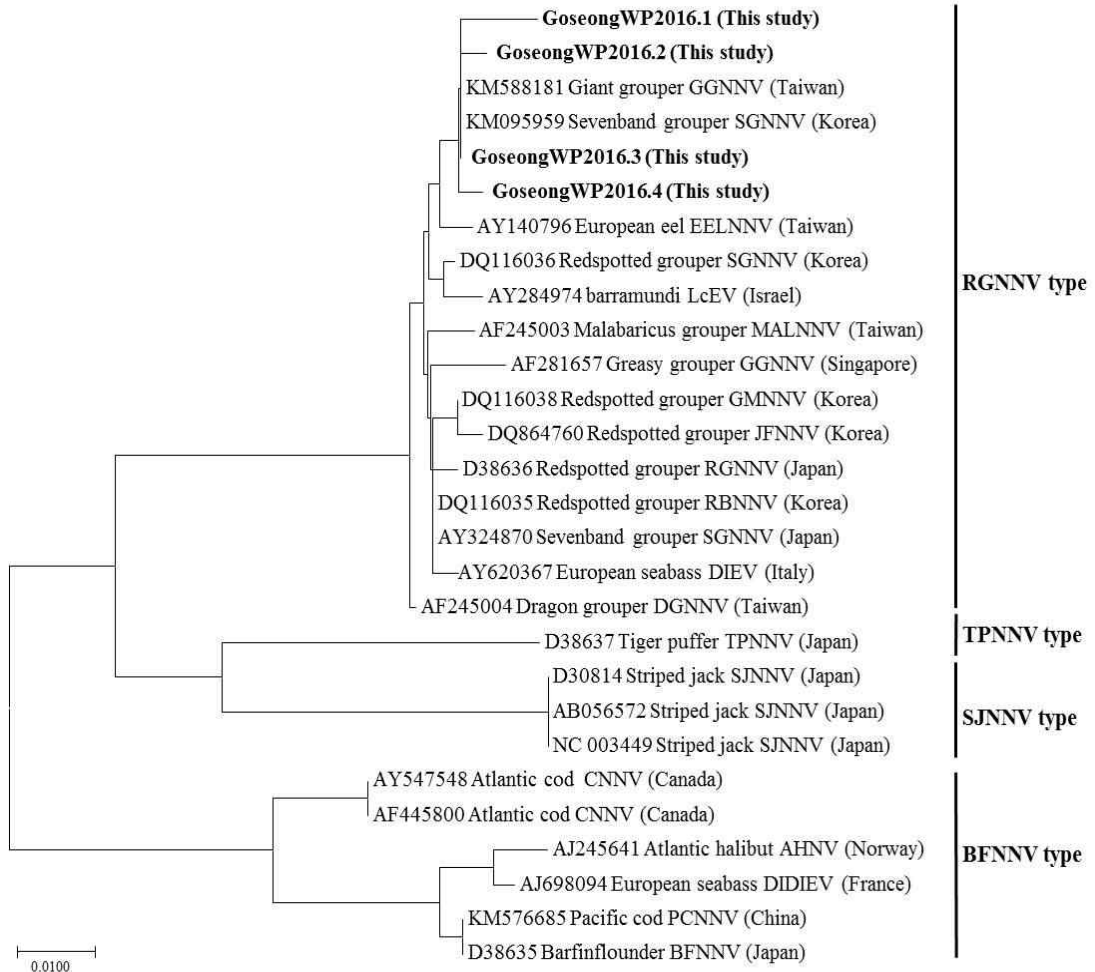


Fig. 4. Phylogenetic tree constructed with the obtained sequences of NNV from walleye pollock and those of other previously described isolates.

고되는 RGNNV (red-spotted grouper nerve necrosis virus)에 속하는 것으로 확인되었다 (Fig. 4).

고 찰

우리나라의 명태 어획량은 1976-1985년 사이 연평균 10.7만 톤이 어획되어 동해안 연근해 어획의 약 44%를 차지하였으나, 1980년대 후반부터 감소하기 시작하여 2000년대에 들어서는 완전히 자취를 감추었다 (강 등, 2013). 따라서 명태 자원 회복 및 인공 종묘 생산 등의 연구가 최근 활발하게 진행되고 있으며, 본 연구는 자연산 명태를 대상으로

병원성 바이러스 감염 여부를 모니터링하고, 명태 자원 관리 및 방류되는 명태의 생존률 등에 영향을 줄 수 있는 병원성 바이러스의 정보를 확보하기 위해 수행하였다.

강원도 고성 근해에서 2015년~2018년에 걸쳐 어획된 자연산 명태 총 1,253 마리에서 추출한 비장 시료 324 세트, 뇌 시료 259세트를 대상으로 바이러스 (VHSV, NNV, MABV) 모니터링을 RT-PCR 법으로 수행하였다. 그 결과, 3종의 바이러스 모두 one-step RT-PCR법으로는 검출되지 않았다. 추가로 일부 시료에 대해 two-step RT-PCR을 실시한

결과, VHSV는 36 set (36/183, 19.7%), NNV는 8 set (8/183, 4.4%)에서 양성반응을 나타내었다. 또한 뇌시료에서 NNV는 3 set (3/259, 1.2%)가 two-step RT-PCR법으로 양성반응을 나타내었다.

VHSV는 1950년대 무렵 덴마크의 무지개송어에서 처음 발견된 이후 유럽의 무지개송어 양식에 큰 피해를 주고 있으며, 다양한 해산 어종에서도 발견되고 있다 (Jensen, 1965). 국내에서는 2003년에 최초로 보고된 이후 (김과 박, 2004), 양식산 넙치에서 주로 발견되고 있지만 우리나라 연안에 서식하는 자연산 해산어류에서도 VHSV가 검출된 바 있다 (김과 박, 2004; 이 등, 2007; 안 등 2013). 본 연구에서 검출된 VHSV의 염기서열은 이들이 포함되는 Genotype IVa에 속하는 것으로 확인되었다 (Fig. 3).

NNV는 1980년대 일본의 양식산 줄전갱이 (*Caranx sexfasciatus*)에서 처음 발견된 이후 전 세계적으로 다양한 어종의 양식산 해산어류에게 심각한 피해를 주고 있다 (Doan et al., 2017). 국내에서는 1990년대 초반에 양식산 능성어 (*Epinephelus septemfasciatus*)에서 처음 보고된 이후 다양한 해산 어종에서 검출되며, 일부 양식산 해산어종에게는 심각한 피해를 주고 있기도 하다 (Sohn et al., 1998; 김과 김, 2015; 김 등, 2016). 또한, 최근 인공부화시킨 명태 종묘에서 PCR법으로 NNV가 검출된 바 있다 (남 등, 2017). 국내에서 보고되는 NNV의 대부분은 RGNNV genotype에 속하며 (김 등, 2018), 본 연구에서 검출된 NNV도 RGNNV에 속하였다 (Fig. 4).

본 연구를 통해 자연산 명태에서 VHSV 및 NNV가 검출되었다. 이들 바이러스의 유전형은 이미 국내에서 보고된 각각의 바이러스 유전형과 일치하는 것으로 나타났으며, 따라서 우리나라 연안에서 서식하는 해산 어류 혹은 해수로부터 전파되었을 것으로 추정된다. 자연산 대구와 어류에서도 감염율은 낮지만 VHSV 및 NNV가 검출된 바 있으며 (Dixon et al., 2003; Meyer, 1992, 1999; Nylund et al., 2008; Stone et al., 1997), 이는 다양한 해산 어류가 이들 바이러스의 보균숙주 (reservoir)가 될 수 있음을 의미한다. 자연산 대구와 어류에 대한 이들

바이러스의 병원성에 대해서는 아직 충분히 연구되어 있지 않으나, 양식산 대구와 어류에게 이들 바이러스가 감염되어 대량 폐사가 발생한 보고가 있다 (Mao et al., 2015; Nylund et al., 2008; Snow et al., 2000). VHSV와 NNV는 모두 RNA 바이러스에 속하며, RNA 바이러스는 DNA 바이러스보다 돌연변이가 자주 일어나는 것으로 알려져 있다 (Stone et al., 1997). 따라서, 차후 양식산 명태의 대량 생산 및 종묘 방류를 통해 국내산 명태 자원량이 예전 규모로 회복된다면 이들 바이러스의 감염에 의한 피해가 발생할 가능성을 배제할 수 없을 것이다.

본 연구에서는 바이러스의 분리를 시도하지 않아 검출된 바이러스의 역가 및 활성은 알 수 없지만 two-step RT-PCR법을 통해 검출되었으므로 바이러스의 역가는 매우 낮을 것으로 생각되며, 지속적인 모니터링 및 세포주를 사용한 바이러스의 분리와 병원성의 확인 등이 필요할 것으로 생각된다.

요 약

2015년 2월부터 2018년 8월까지 총 1,253 마리의 자연산 명태 (*Gadus chalcogrammus*)를 강원도 고성 아야진항 근해에서 정치망을 사용하여 포획한 후, 바이러스 (viral hemorrhagic septicemia virus, VHSV; nervous necrosis virus, NNV; marine birnavirus, MABV) 모니터링을 RT-PCR법으로 수행하였다. One-step PCR법으로 비장시료 및 뇌시료에서는 대상 바이러스가 모두 검출되지 않았으며, 일부 시료를 two-step PCR법으로 검사한 결과 VHSV는 19.7% (36/183)의 비장시료에서 검출되었다. 또한, NNV는 4.4% (8/183)의 비장시료, 1.2% (3/259)의 뇌시료에서 검출되었다. 검출된 바이러스의 계통 분석 결과, 기존의 국내에서 분리되는 바이러스의 유전형에 각각 속하는 것으로 나타났다 (Genotype IVa, RGNNV genotype). 바이러스의 분리를 시도하지 않아 검출된 바이러스의 활성은 알 수 없지만, 모든 양성 시료가 two-step PCR법으로 검출되었으므로 매우 낮을 것으로 추측된다.

감사의 글

이 논문은 2016년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임 (과제명: MICT기반 명태 수산자원 회복, 관리기술 개발).

References

- Cha, S.J., Do, J.W., Lee, N.S., An, E.J., Kim, Y.C., Kim, J.W. and Park, J.W.: Phylogenetic analysis of betanodaviruses isolated from cultured fish in Korea. *Dis. Aquat. Org.*, 77: 181-189, 2007.
- Doan, Q.K., Vandeputte, M., Chatain, B., Morin, T. and Allal, F.: Viral encephalopathy and retinopathy in aquaculture: a review. *J. Fish Dis.*, 40: 717-742, 2017.
- Dixon, P.F., Avery, S., Chambers, E., Feist, S., Mandhar, H., Parry, L., Stone, D.M., Strømmen, H.K., Thurlow, J.K., Lui, C.T. and Way, K.: Four years of monitoring for viral hemorrhagic septicaemia virus in marine waters around the United Kingdom. *Dis. Aquat. Org.*, 54: 175-186, 2003.
- Hedrick, R.P.: Relationships of the hosts, pathogen and environment: Implications for diseases of cultured and wild fish populations. *J. Aquat. Ani. Health.*, 10: 107-111, 1998.
- Jensen, M.H.: Research on the virus of Egtved disease. *Ann. NY Acad. Sci.*, 126: 422-426, 1965.
- Krkosek, M.: Population biology of infectious diseases shared by wild and farmed fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 74: 620-628, 2017.
- Mao, M.G., Wen, S.H., Perálvarez-Marín, A., Li, H., Jiang, J.L., Jiang, Z.Q., Li, X., Sun, H., Lü, H.Q.: Evidence for and characterization of nervous necrosis virus infection in Pacific cod (*Gadus macrocephalus*). *Archiv. Virol.*, 160: 2237-2248, 2015.
- Meyers, T.R., Sullivan, J., Emmenegger, E., Follett, J., Short, S., Batts, W.N., Winton, J.R.: Identification of viral hemorrhagic septicemia virus isolated from Pacific cod *Gadus macrocephalus* in Prince William Sound, Alaska, USA. *Dis. Aquat. Org.*, 12: 167-175, 1992.
- Meyers, T.R., Short, S. and Lipson, K.: Isolation of the north American strain of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) associated with epizootic mortality in two new host species of Alaskan marine fish. *Dis. Aquat. Org.*, 38: 81-86, 1999.
- Nylund, A., Karlsbakk, E., Nylund, S., Isaksen, T.E., Karlsen, M., Korsnes, K., Handeland, S., Martinsen, R., Mork Pedersen, T. and Ottem, K.F.: New clade of betanodaviruses detected in wild and farmed cod (*Gadus morhua*) in Norway. *Archiv. Virol.*, 153: 541-547, 2008.
- Seo, J.Y. and Kwon, O.N.: Naturally collection and development until yolk absorption of domestic walleye pollock *Theragra chalcogramma* fertilized eggs and larvae. *J. Kor. Academia-Industrial Coop. Soc.*, 18: 49-54, 2017.
- Snow, M., Cunningham, C.O. and Bricknell, I.R.: Susceptibility of juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* to viral haemorrhagic septicaemia virus isolated from wild-caught Atlantic cod. *Dis. Aquat. Org.*, 41: 225-229, 2000.
- Stone, D.M., Way, K. and Dixon, P.F.: Nucleotide sequence of the glycoprotein gene of viral hemorrhagic septicaemia (VHS) viruses from different geographical areas: a link between VHS in farmed fish species and viruses isolated from North Sea cod (*Gadus morhua* L.). *J. Gen. Virol.*, 78: 1319-1326, 1997.
- Suebsing, R.: Development and evaluation of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for detecting fish viruses in Korea. Ph.D. Thesis, Gangneung-Wonju national university, Gangneung, Korea, 2012.
- Sohn, S.G., Park, M.A., Oh, M.J. and Chun, S.K.: A fish nodavirus isolated from cultured seven band grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *J. Fish. Pathol.*, 11: 97-104, 1998.
- Suzuki, S., Hosono, N. and Kusuda, R.: Detection of aquatic birnavirus gene from marine fish using a combination of reverse transcription- and nested PCR. *J. Mar. Biotechnol.*, 5: 205-209, 1997.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A., and Kumar, S.: MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30: 2725-2729, 2013.
- 강수경, 박정호, 김수암: 1970-1990년대 동해에서 어획된 명태(*Theragra chalcogramma*)의 체장에 따른 체급별 어획 마릿수 추정. *한국수산과학회지*, 16: 445-453, 2003.
- 김선래, 김은미: 한국의 러시아 명태 수입과 러시아 수산업투자 고찰. *한국 시베리아연구*, 18: 55-78, 2014.
- 김위식, 김종오: 능성어(*Epinephelus septemfasciatus*) 양식장에서의 바이러스성 신경괴사증(VNN) 예방

- 대책. 한국수산과학회지, 48: 403-410, 2015.
- 김수미, 박수일: 우리나라 연근해 자연산 해수 어종에서 Viral Hemorrhagic Septicemia Virus(VHSV)의 검출. 한국어병학회지, 17: 1-10, 2004.
- 김위식, 김시우, 오명주: 신경괴사증바이러스 (nervous necrosis virus, RGNNV genotype)에 대한 단클론 항체 생산. 한국수산과학회지 51: 328-331, 2018.
- 김춘섭, 김위식, Nishizawa Toyohiko, 오명주: 능성어 양식장에서의 viral nervous necrosis (VNN) 발생 양상. 한국어병학회지, 25: 111-116, 2012.
- 남우화, 전찬혁, 서현준, 최다영, 권오남, 김위식, 김정호: 양성 중인 명태 (*Gadus chalcogrammus*)의 바이러스 모니터링. 한국어병학회지, 30:1-9, 2017.
- 안상중, 조미영, 지보영, 박명애: 아시아에서 분리된 viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) isolates의 계통분석학적 비교, 한국어병학회지, 26: 149-161, 2013.
- 양윤선, 강수경, 김수암, 김순송: 명태(*Theragra chalcogramma*) 이석 내 산소동위원소 조성과 서식 수온 특성. Ocean Polar Res, 30: 249-258, 2008.
- 오테기, 사쿠라모토 카즈미, 이상고: 동해안에 있어서의 명태 어획량 변동과 산란장의 수온과의 관계. 한국수산자원학회지, 6: 2-13, 2004.
- 이월라, 윤현미, 김석렬, 정성주, 오명주: 남서해안과 동중국해 자연산 어류에서 viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) 검출. 한국어병학회지, 20: 201-209, 2007.

Manuscript Received : Nov 25, 2018

Revised : Dec 7, 2018

Accepted : Dec 7, 2018