

## 양식산 Turbot, *Scophthalmus maximus*의 감염원으로 확인된 Iridovirus의 분자생물학적 연구

김기홍 · 김위식 · 김춘섭 · 김영진 · 키타무라신이치 · 정성주 · 정태성<sup>1</sup> · 오명주\*  
여수대학교 수산생명의학과, <sup>1</sup>경상대학교 수의학과

### Molecular Characterization of Iridovirus in Cultured Turbot, *Scophthalmus maximus*

Ki-Hong Kim, Wi-Sik Kim, Choon-Sup Kim, Young-Jin Kim, Shin-Ichi Kitamura,  
Sung-Ju Jung, Tae-Sung Jung<sup>1</sup> and Myung-Joo Oh\*

Department of Aqualife Medicine, Yosu National University, Korea  
<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Korea

The high mortality of cultured turbot, *Scophthalmus maximus* was occurred from Gochang in June, 2003. Infect fish with iridovirus showed a lower feed intake and lethargic. These fish exhibited pale body color, extended abdominal and exophthalmus. Histopathological studies showed basophilic enlarged cells from kidney, spleen, gill, heart, muscle, stomach, intestine, liver and pancreas of these fish. In PCR amplification with red sea bream iridovirus (RSIV) specific primer set of a DNA fragment of 286 bp was obtained from infect turbot with the virus. The strain showed the high homologies with RSIV, LBIV (largemouth bass iridovirus), GSIV (giant seaperch iridovirus) and SBIV (sea bass iridovirus).

**Keywords:** Turbot, *Scophthalmus maximus*, Enlarged cell, Iridovirus, RSIV, Viral disease, PCR, Sequence

### 서 론

Turbot은 대서양 연안에 분포하며 터키연안과 지중해에도 서식하는 어종으로서, 스페인과 프랑스의 주요 양식어종이다. 또한 포르투갈, 네덜란드 및 중국 등의 여러 나라에서 양식되고 있으며, 우리나라에서도 제주도 및 거제 등의 일부 지역에서 양식이 이루어지고 있다.

Turbot의 바이러스성 질병을 일으키는 원인 병원체에는 랍도 바이러스에 속하는 viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) (Castric and de Kinkelin, 1984; Snow and Smail, 1999), 버나 바이러스에 속하는 infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) (Castric et al., 1987), 레오바이러스에 속하는 TRV (turbot aquareovirus) (Rivas et al., 1996)가 보고되어 있다. 그 밖에 뇌척수염을 일으키는 picornavirus-like virus (Bloch et al., 1991)와 자어 시기에 전신성 감염을 일으키는 iridovirus-like virus (Bloch and Larsen, 1993)등이 보고되어 있다.

2003년 6월과 7월, 고창에서 사육중인 turbot 치어에서 90% 이상의 누적 폐사가 발생하여 기생충, 세균검사 및 어류 주화세

포를 이용한 바이러스 검사를 수행한 결과 특이 병원체를 분리하지 못했지만, 병리학적 검사에서 red sea bream iridovirus (RSIV) 감염증상과 유사한 비대세포가 조혈조직과 다양한 장기에서 관찰되었다. 이에 본 연구에서는 분자생물학적인 방법을 이용하여 원인 바이러스의 확인을 시도하였다.

### 재료 및 방법

#### 세균 및 기생충검사

병어는 2003년 6월과 7월 고창의 한 양식장에서 육상 수조식(8×8 m, 20-21°C)으로 사육중인 turbot 치어로서 사료를 섭취하지 않으며, 힘없이 유영하다 누적 폐사되는 개체를 채집하여 실험에 사용하였다. 세균 검사를 위하여 채집된 병어를 해부하여 간, 신장, 비장조직 그리고 체표 출혈부위를 무균적으로 채취하여 BHIA (brain heart infusion agar) plate 배지에 도말하고 20°C에서 1주일간 배양하였다. 또한 병어의 기생충 감염 여부를 확인하기 위하여 외부관찰 및 체표와 아가미 그리고 각각의 장기를 분리하였고, 분리된 조직은 PBS로 세척한 후 슬라이드 표본을 제작하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

\*Corresponding author: ohmj@yosu.ac.kr

**병리조직학적 검사**

병어(n=6)의 장기 조직을 10% 중성 포르말린액에 고정한 후 파라핀절편제작법에 따라 조직 절편을 만들어 hematoxylin-eosin (H-E) 염색을 실시하여 광학현미경으로 병리조직학적 관찰을 실시하였다.

**바이러스 시료**

폐사 및 빈사상태인 어체의 각각의 조직을 9배의 완충용액 (Hank's BSS)을 첨가하여 마쇄한 다음, 원심분리와 여과(0.45 µm filter)를 통하여 바이러스분리용 시험액을 제작하였고, 준비된 시험액은 -80°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

**주화 세포**

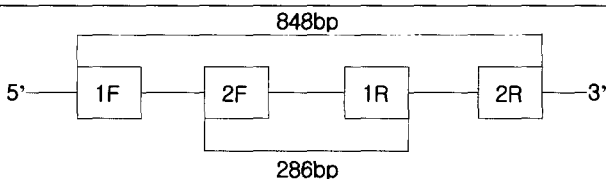
Turbot 시료로부터 바이러스 배양을 위하여 chinook salmon embryo cell line (CHSE-214), rainbow trout gonad cell line (RTG-2) 그리고 fathed minnow (FHM) cell line을 계대배양하여 준비하였고, 100 IU/ml의 penicillin, 100 µg/ml의 streptomycin, 10% FBS (fetal bovine serum)를 첨가한 MEM (Eagle's minimum essential medium, Gibco)을 사용하여 배양하였다.

**Polymerase chain reaction (PCR)**

병어 각각의 조직으로 제작된 바이러스 시료 200 µl를 high pure PCR template preparation kit (Boehringer Mannheim Co.)를 사용하여 DNA를 추출하고, PCR primer는 Kurita et al.(1998)에 의해 RSIV genomic DNA의 Pst I 단편의 부분서열로부터 디자인된 2세트의 primer (IRD-1F/1R과 2F/2R)를 한국바이오니아(주)에 합성의뢰하여 사용하였으며(Table 1), 검출감도를 높이기 위해 1F/2R과 2F/1R primer를 세트로 하여 nested PCR을 실시하였다. PCR 증폭 반응은 100 pmol의 각 primer와 0.2 mM dNTPs, 1U Taq DNA polymerase, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>이 포함된 혼합물에 추출된 DNA 1 µl(70 ng/µl)를 첨가하여 실시하였다. 반응조건은 우선 95°C 45초간 denature, 58°C 45초간 annealing, 72°C 1분간 extension 반응을 30cycle을 진행시키고, 72°C 5분간 postextension을 반응시켜 1step PCR을 행하였고, 1step에서 얻어진 PCR template 1 µl를 주형으로 nested PCR도 같은 조건으로 반응시켰다(Fig. 1). 증폭된 PCR product는 1.5% agarose

**Table 1.** Primers used for PCR amplification of the RSIV gene

|                  |                                  |
|------------------|----------------------------------|
| IRD-1F (20 MER): | 5'-CTC-AAA-CAC-TCT-GGC-TCA-TC-3' |
| IRD-1R (20 MER): | 5'-GCA-CCA-ACA-CAT-CTC-CTA-TC-3' |
| IRD-2R (20 MER): | 5'-TAC-AAC-ATG-CTC-CGC-CAA-GA-3' |
| IRD-2R (20 MER): | 5'-GCG-TTA-AAG-TAG-TGA-GGG-CA-3' |



**1 step PCR amplification with**

94°C, 30sec - denaturation  
58°C, 1min - annealing  
72°C, 1min - extension  
For 30 cycles



**nested PCR amplification with**

94°C, 30sec - denaturation  
58°C, 1min - annealing  
72°C, 1min - extension  
For 30 cycles



**Analysis of PCR amplified  
Electrophoresis in 1.5% agarose gel**

**Fig. 1.** Polymerase chain reaction.

gel을 이용하여 확인하였다.

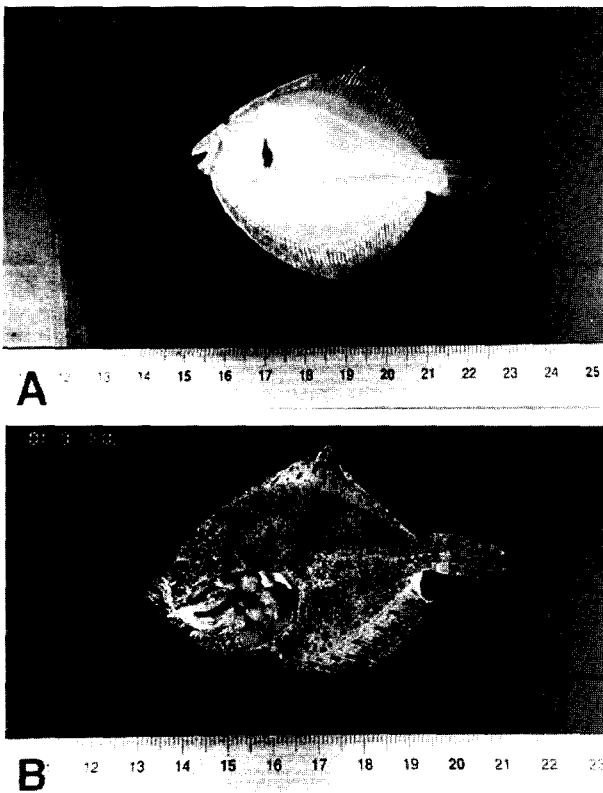
**염기서열 분석**

1.5% agarose gel에 나타난 밴드를 적출하여 Gel Purification Kit (Bioneer Co., Korea)를 이용하여 DNA를 회수하였다. 염기서열 분석을 위한 시료의 반응은 멸균된 reaction tube에 50 ng의 template DNA, 3.2 pmol의 primer, 8 µl의 TRR mixture를 각각 넣어 혼합하고, 멸균된 D.W를 이용하여 최종 20 µl의 volume으로 조정하였다. 반응 조건은 96°C 10초, 50°C 5초, 60°C 4분으로 25 cycle을 실행하였으며, 증폭된 산물은 D.W 80 µl, 3M NaoAc 10 µl, 95% EtOH 250 µl에 혼합한 다음, 12,000 rpm에서 30분간 원심하고, 70% EtOH에 washing 한 뒤 자연 건조 시켰다. 건조된 시료는 95°C에서 2분 30초간 반응시켜 잔량 효소를 불활성화 시켰고, template suppression reagent 25 µl를 첨가한 후, ABI 310 Genetic Analyzer로 염기서열을 분석하였다.

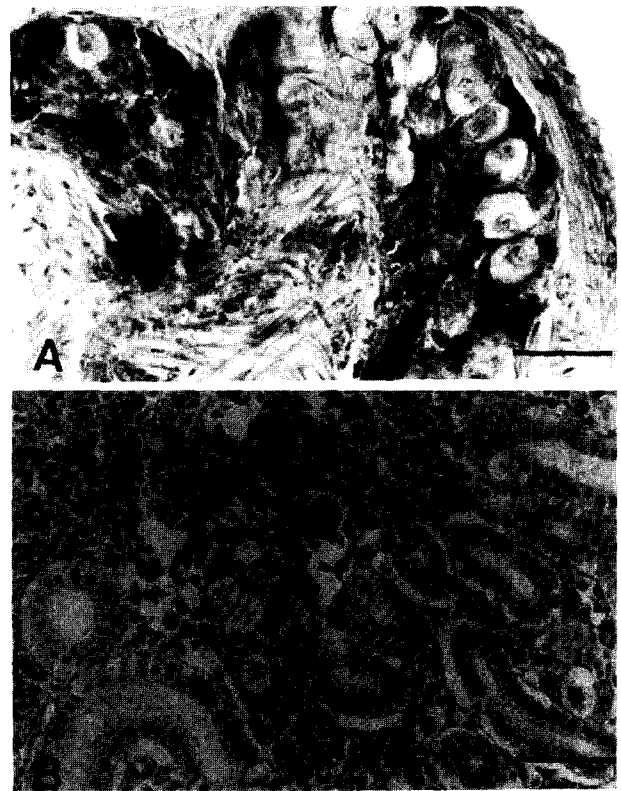
**결 과**

**임상 증상 및 병원체 검사**

2003년 6월과 7월, 고창에서 선별 후 양식중인 turbot 치어에서 전체 30만미 중 누적폐사로 인하여 90% 이상의 대량폐사가 발생하였다. 현장의 수온은 20~21°C로 유지되고 있었으며, 병어는 사료섭취가 저하되고 힘없이 유명하다 폐사되었다. 병어의 외부증상은 지느러미 출혈, 체표 백탁, 그리고 어체를 뒤집어 봤을 때 지느러미를 따라 근육층이 붉어져 있었다(Fig. 2A). 해부시, 아가미 빈혈과 간이 퇴색되어 있었으며, 특히 비장조직이 심하게 비대되어 있었다(Fig. 2B). 복수를 형성하고 있는 개체도 일부 관찰되었다. 일련의 방법으로 기생충과 세균 검사를



**Fig. 2.** Turbot, *Scophthalmus maximus* infected with iridovirus-like virus. A: haemorrhage of the tail, fins and skin, B: enlarged spleen.



**Fig. 3.** Histopathology of turbot infected with iridovirus-like virus. Enlarged cells (arrows) were observed in the heart, kidney, spleen, muscle, gill, Pancreas, stomach, and liver. A: heart, B: kidney. (scale bar=50 μm).

실시한 결과 어떤 병원체도 검출되지 않았으며, 각각의 조직을 Oh et al.(2001)의 방법에 준해 통상적인 방법으로 바이러스 시료를 제작하여 CHSE-214, FHM 그리고 RTG-2세포에 접종한 결과, 세포변성효과는 확인되지 않았다(Table 2).

**병리학적 검사**

광학현미경적 관찰 결과, 비대 세포를 특징으로 하는 특이 병변이 모든 개체에서 관찰되었다. H-E 염색에서 호염기성을 보이며, Feulgen 염색에 양성반응을 보이는 비대된 세포들은 주로 신장과 비장의 조혈조직에서 다수 관찰되었으며, 아가미, 심장, 근육, 위, 장, 간, 횡장 조직에서도 관찰되었다(Fig. 3). 이러한 세포들의 핵은 주로 비대되어 있었고 핵의 소실 및 크로마틴이 가장자리에 관찰되는 등의 다양한 형태를 보였으며, 세포질은 다수의 공포를 형성하고 있었다.

**Polymerase chain reaction (PCR)**

폐사 및 빈사상태의 어체로부터 분리된 바이러스 시료에 대해 PCR을 실시한 결과 RSIV positive control과 같은 약 286 bp 크기의 PCR product를 확인할 수 있었는데, 특히 이러한 결과는 병어의 모든 장기를 대상으로한 실험에서 동일한 결과가 확인되었다(Fig. 4).

**염기서열 확인**

PCR에서 나타난 특이 밴드가 실제로 RSIV의 유전자를 가지고 있는지를 확인하기 위하여 DNA sequencing을 행하였다. 우선 product가 포함된 agarose 단편을 메스로 적출한 다음 Gel Purification Kit (Bioneer Co., Korea)를 이용하여 DNA를 회수

**Table 2.** Collected fish and rate of pathogen isolation

| Date    | Site    | Weight <sup>1)</sup> | Length <sup>2)</sup> | Bacteria          | Parasite | Fish     |                          |       | RSIV PCR |
|---------|---------|----------------------|----------------------|-------------------|----------|----------|--------------------------|-------|----------|
|         |         |                      |                      |                   |          | CHSE-214 | CPE <sup>3)</sup><br>FHM | RTG-2 |          |
| 2003, 6 | Gochang | 9                    | 7.5                  | 0/5 <sup>4)</sup> | 0/5      | 0/5      | 0/5                      | 0/5   | 5/5      |
| 2003, 7 | Gochang | 1.4                  | 4.5                  | 0/5               | 0/5      | 0/5      | 0/5                      | 0/5   | 5/5      |

<sup>1)</sup>Average weight in gram, <sup>2)</sup>Average length in centimeter, <sup>3)</sup>Cytopathological effects, <sup>4)</sup>No. of positive/No. of tested fish.

하였고, 시료 전처리를 거쳐 ABI 310 Genetic Analyzer로 염기서열을 분석하였다(Fig. 5). 염기서열 분석 결과 예상했던 약 286 bp의 nucleotide sequence가 확인되어졌다.

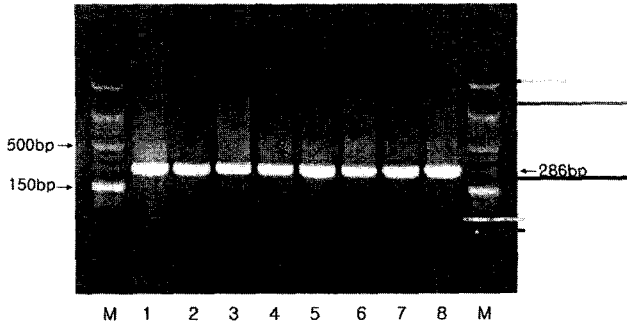


Fig. 4. Agarose gel electrophoresis of PCR products amplified from genomes of iridovirus-like virus. M: marker, 1: positive control, 2: brain, 3: liver, 4: kidney, 5: spleen, 6: intestine, 7: heart, 8: gill.

염기서열 분석

Blast program (NCBI, USA)을 이용하여 본 연구에서 밝혀진 염기서열의 유사성을 확인한 결과, red sea bream iridovirus (RSIV), largemouth bass iridovirus (LBIV), giant seaperch iridovirus (GSIV), sea bass iridovirus (SBIV), infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) 그리고 grouper iridovirus (GIV) 등의 fish iridovirus group과 비교적 높은 유사성을 나타내었는데, 특히 RSIV, LBIV, GSIV 그리고 SBIV와 90%의 유사성을 나타내었다(Table 3).

|        |         |  |       |
|--------|---------|--|-------|
| Turbot | : 110   | cacagtcagcaacagcagaagtagcaaaagtcgccattgctcaggaggatgctttacag  | 169   |
| RSIV   | : 522   | *****a*****gg**t*****t*****a*****                            | 463   |
| LBIV   | : 423   | *****a*****gg**t*****t*****a*****                            | 482   |
| GSIV   | : 423   | *****a*****gg**t*****t*****a*****                            | 482   |
| SBIV   | : 438   | *****a*****gg**t*****t*****t*****                            | 497   |
| SKNV   | : 19597 | *****a*****g*****g**c**c**t*****t**c**                       | 19538 |
| GIV    | : 426   | *****a*****g*****g**c**c**t*****t**c**                       | 485   |
|        |         |  |       |
| Turbot | : 170   | tagtcatgtatgagatgaggatattcaaaatTTTtatacaagtaaaagatgTTtactgtg | 229   |
| RSIV   | : 462   | *****ca*****c*****c*****c*****                               | 403   |
| LBIV   | : 483   | *****ca*****c*****c*****c*****                               | 542   |
| GSIV   | : 483   | *****ca*****c*****c*****c*****                               | 542   |
| SBIV   | : 498   | *****ca*****c*****c*****c*****                               | 557   |
| SKNV   | : 19537 | *g*****a*****c*****c*****c*****                              | 19478 |
| GIV    | : 486   | *g*****a*****c*****c*****c*****                              | 545   |
|        |         |  |       |
| Turbot | : 230   | cttgagataagagatgtggtggtg                                     | 253   |
| RSIV   | : 402   | *****g*****t*****  | 379   |
| LBIV   | : 543   | *****g*****t*****  | 566   |
| GSIV   | : 543   | *****g*****t*****  | 566   |
| SBIV   | : 558   | *****g*****t*****  | 581   |
| SKNV   | : 19477 | *****g*****c*****t*****                                      | 19454 |
| GIV    | : 546   | *****g*****c*****t*****                                      | 569   |

Fig. 5. Alignment of the nucleotide sequences of the iridovirus-like virus with those of other fish iridoviruses. RSIV: red sea bream iridovirus, LBIV: largemouth bass iridovirus, GSIV: giant seaperch iridovirus, SBIV: sea bass iridovirus, ISKNV: infectious spleen and kidney necrosis virus, GIV: grouper iridovirus.

Table 3. The nucleotide sequence identities (%) of other iridovirus. RSIV: Red sea bream iridovirus, LBIV: largemouth bass iridovirus, GSIV: giant seaperch iridovirus, SBIV: sea bass iridovirus, ISKNV: infectious spleen and kidney necrosis virus, GIV: grouper iridovirus

|                 | Present Isolate | RSIV | LBIV | GSIV | SBIV | ISKNV | GIV |
|-----------------|-----------------|------|------|------|------|-------|-----|
| Present Isolate | -               | 90   | 90   | 90   | 90   | 88    | 88  |
| RSIV            |                 | -    | 98   | 98   | 97   | 90    | 91  |
| LBIV            |                 |      | -    | 100  | 99   | 92    | 91  |
| GSIV            |                 |      |      | -    | 99   | 92    | 91  |
| SBIV            |                 |      |      |      | -    | 93    | 92  |
| ISKNV           |                 |      |      |      |      | -     | 98  |
| GIV             |                 |      |      |      |      |       | -   |

## 고 찰

Iridovirus는 산업적으로 중요 양식 어종에 질병을 일으키는 병원체로서, 다양한 어종에 감염되며(Matsuoka et al., 1996; Kawakami and Nakajima, 2002), 전신성 감염을 일으키는 원인 바이러스로 보고되어 있다(Sano et al., 2002; Paperma et al., 2001; McGrogan et al., 1998; Jung et al., 1997). 그러나 turbot에서의 iridovirus에 대한 보고는 극소수에 불과하다(Bloch and Larsen, 1993).

Bloch and Larsen (1993)이 turbot에 감염된 iridovirus-like virus에 대해 보고한 바 있지만, 전자현미경 하에서 관찰한 것으로 iridovirus로 확정하지 못했고, 또한 turbot에서 발생한 iridovirus에 대한 분자생물학적 연구가 되어있지 않아 타 어종에서 나타나는 iridovirus와의 연관성을 확인할 수 없었다.

2003년 6월 turbot의 대량폐사가 발생하여 원인을 조사한 결과, 병어의 외부관찰 소견으로 지느러미 부분의 출혈과 안구돌출이 주 증상이었으며, 해부 관찰 시 나타난 주 증상은 비장 비대와 사료 섭취 저하로 인해 장내 내용물이 비어있는 것으로 나타났고, 이러한 증상은 Bloch and Larsen (1993)이 보고한 내용과 유사하였다. 기생충, 세균 그리고 CHSE-214, FHM, RTG-2세포를 이용한 바이러스 검사에서 그 어떤 병원체도 확인되지 않았으나, 병리조직학적 관찰 결과, 비장 세포들이 주로 신장과 비장의 조혈조직에서 확인되었으며, 아가미, 심장, 근육, 위, 장, 간, 췌장 조직에서 관찰됨으로써 RSIV의 증상과 유사하다고 판단되어 RSIV 검출에 사용되는 특이 primer를 이용하여 PCR을 실시하였다. 그 결과 positive control로 사용된 RSIV와 동일하게 약 286 bp 크기의 특이 밴드가 관찰되어졌고, 이러한 결과는 검사에 사용된 모든 장기에서 확인되었다. Iridovirus는 전신성 감염을 일으키는 원인 바이러스로 보고되어 있으며(Sano et al., 2002; Paperma et al., 2001; McGrogan et al., 1998; Jung et al., 1997), 이는 본 연구의 병리조직학적 검사와 PCR 결과에서도 turbot에서 iridovirus의 전신성 감염을 확인할 수 있었다.

PCR을 통해 확인된 특이 밴드에서 DNA를 추출하여 염기서열을 분석한 결과, RSIV (red sea bream iridovirus), LBIV (largemouth bass iridovirus), GSIV (giant seaperch iridovirus) 그리고 SBIV (sea bass iridovirus)와 90%의 유사성을 나타내었고, ISKNV (infectious spleen and kidney necrosis virus)와 GIV (grouper iridovirus)와는 88%의 유사성을 나타냄으로써, turbot에 대량폐사를 유발한 원인 바이러스는 iridovirus인 것으로 추정할 수 있었다.

Turbot은 타 어종에 비해 성장을 등이 매우 좋은 것으로 입증됨에 따라 새로운 양식 대상 종으로 어업인들에게 새로운 고소득원으로 각광 받고 있다. 그러나 본 연구 결과로 볼 때, 20~21°C의 수온상태에서 iridovirus에 의한 대량 폐사가 확인됨으로써 고수온기에 대한 생존 대책이 필요하고, 아직까지 어업

인들에게 널리 보급화되어지지 않은 어종이므로 앞으로 양식용으로 보급함에 있어 안정된 환경을 제공함으로써 이러한 바이러스성 질병으로 인한 대량 폐사를 사전에 방지할 필요성이 높은 것으로 사료된다.

## 요 약

2003년 6월과 7월, 고창에서 사육중인 turbot이 약 90% 누적폐사되었고, 주 증상은 안구돌출, 비장 비대 그리고 장내 내용물이 없는 것으로 관찰되었다. 병리조직학적 검사에서 RSIV와 유사한 이형비대세포가 모든 장기에서 관찰되어 RSIV 검출을 위한 primer로 PCR을 실시하였다. 그 결과 PCR에서 특이 밴드가 모든 조직에서 검출되어졌고, 염기서열 분석 결과 기존에 보고된 strain과 88%이상의 유사성을 나타내는 것으로 확인되어져서 터봇의 폐사 원인으로 이리도바이러스감염이 관여됨을 확인할 수 있었다.

## 참고문헌

- Bloch, B. and J. L. Larsen, 1993. An iridovirus-like agent associated with systemic infection in cultured turbot *Scophthalmus maximus* fry in Denmark. *Dis. Aquat. Org.*, **15**: 235-240.
- Bloch, B., K. Gravningen and J. L. Larsen, 1991. Encephalomyelitis among turbot associated with a picornavirus-like agent. *Dis. Aquat. Org.*, **10**: 65-70.
- Castric, J. and P. de Kinkelin, 1984. Experimental study of the susceptibility of two marine fish species, sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) to viral haemorrhagic septicaemia. *Aquaculture*, **41**: 203-212.
- Castric, J., F. Baudin-Laurencin, M. F. Coustans and M. Auffret, 1987. Isolation of infectious pancreatic necrosis virus, Ab serotype, from an epizootic in farmed turbot, *Scophthalmus maximus*. *Aquaculture*, **67**: 117-126.
- Jung, S. J., T. Miyazaki, M. Miyata, Y. Danayadol and S. Tanaka, 1997. 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. and K. Nakajima, 2002. Cultured fish species affected by red sea bream iridoviral disease from 1996 to 2000. *Fish Pathol.*, **37**(1): 45-47.
- Kurita J., K. Nakajima, I. Hirono and T. Aoki, 2002. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of DNA of red sea bream iridovirus (RSIV). *Fish Pathol.*, **33**: 17-23.
- Matsuoka, S., K. Inouye and K. Nakajima, 1996. Cultured fish species affected by red sea bream iridoviral disease from 1991 to 1995. *Fish Pathol.*, **31**(4): 233-234.
- McGrogan, D. G., V. E. Ostland, P. J. Byrne and H. W. Ferguson, 1998. Systematic disease involving an iridovirus-like agent in cultured tilapia, *Oreochromis niloticus* L.-a case report. *J. Fish Dis.*, **21**: 149-152.
- Oh, M. J., S. J. Jung, T. J. Choi, H. R. Kim, K. V. Rajendran, Y.

- J. Kim, M. A. Pack and S. K. Chun, 2001. A viral disease occurring in cultured carp *Cyprinus carpio* in Korea. *Fish Pathol.*, **36**(3): 147-151.
- Paperna, I., M. Vilenkin and A. P. A. de Matos, 2001. Iridovirus infections in farm-reared tropical ornamental fish. *Dis. Aquat. Org.*, **48**: 17-25.
- Rivas, C., I. Bandín, M. Noya, C. Cepeda, J. L. Barja and C. P. Dopazo, 1996. *In vitro* and *in vivo* replication of turbot aquareovirus (TRV) in turbot tissues. *Dis. Aquat. Org.*, **25**: 217-223.
- Sano, M., M. Minagawa and K. Nakajima, 2002. Multiplication of red sea bream iridovirus (RSIV) in the experimentally infected grouper *Epinephelus malabaricus*. *Fish Pathol.*, **37**(4): 163-168.
- Snow, M. and D. A. Smail, 1999. Experimental susceptibility of turbot *Scophthalmus maximus* to viral haemorrhagic septicaemia virus isolated from cultivated turbot. *Dis. Aquat. Org.*, **38**: 163-168.
- 
- 원고접수 : 2003년 8월 13일  
수정본 수리 : 2003년 11월 6일  
책임편집위원 : 윤종만