

# 무지개송어(*Onchorhynchus mykiss*) 위팽창증후군의 잠재적 원인체의 분자유전학적 동정

노형진 · 김도형\*

부경대학교 수산생명의학과

## Molecular Identification of a Possible Causative Agent of Stomach Distension Syndrome in Rainbow Trout *Onchorhynchus mykiss*

Heyong Jin Roh and Do-Hyung Kim\*

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

A rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* farm located in Gangwon province, South Korea, experienced approximately 10% mortality in June 2017. Most diseased fish had a markedly distended, gas-filled stomach, and exhibited abnormal behavior at the water surface. In this study, we attempted to identify the cause of stomach distension syndrome in those rainbow trout. The stomach of most of the affected fish were full of unidentified gases and some exudate, and yeast was isolated from the stomach mucosa. Pure cultures of yeast were identified using a multilocus sequence typing scheme based on 18S rRNA, internal transcribed spacers, large subunit rRNA, and the gene encoding the largest subunit of RNA polymerase II (RPB1). The RPB1 gene sequences were compared with those of related species available in a database. The yeast was identified as *Scheffersomyces coipomoensis* (*Candida coipomoensis*) based on sequence analyses. This is the first study to reveal that *Sch. coipomoensis* is a potential causative agent of stomach distension syndrome in farmed rainbow trout. Our results will be helpful for future related studies, and indicate that farmers and stakeholders should observe this emerging disease closely.

Key words: Rainbow trout, Stomach distension syndrome, *Candida*, *Scheffersomyces coipomoensis*, disease

### 서 론

무지개송어(*Onchorhynchus mykiss*)는 연어목(Salmoniformes) 연어과(Salmonidae)의 냉수성 어종으로 전 세계적으로 양식이 많이 되고 있다(Gall and Crandell, 1992). 국내의 무지개송어 양식생산량은 2010년 2,652톤에서 2014년 3,340톤으로 매년 꾸준히 증가하여 4년 간 25% 이상 성장하는 등 내수면 양식의 중요한 어종으로 많은 관심을 받고 있다(KOSTAT, 2015). 무지개송어가 해수에서 양식될 경우 담수보다 성장도 빠르고 육질도 더 낫다는 장점 때문에 최근 해수양식의 시도가 증가하고 있다(Kim et al., 2003; Lee, 2013; FAO, 2015). 하지만 무지개송어의 양식량이 증가함에 따라 폐사율도 증가하는 추세인데, 2012년 한국 주요 양식 종의 폐사 피해 모니터링 연구에 의하면 이 종은 전체 양식생산량의 17.1%가 누적 폐사하였으며 이 중 50% 이상이 병원체에 의한 감염에 기인하는 것으로 나타났다

(Kim et al., 2012). 특히 고수온기인 7월에 감염성 질병에 의한 폐사가 높은 것을 확인하였고 이는 지속적으로 발생하는 고질적인 질병의 제어와 새로운 병원체의 유입에 대한 신속한 대응이 필요하다는 것을 의미한다.

국내 무지개송어의 감염성 질병은 대부분이 *Ichthyophthirius multifiliis*에 의한 백점병이나 바이러스성 전염성조혈기괴사증(Infectious Hematopoietic Necrosis, IHN)으로 알려져 있다(Kim et al., 2012). 하지만, 최근 2017년 6월 국내의 한 무지개송어 양식장에서 비정상적으로 위의 팽창을 동반한 원인이 불분명한 폐사가 한달 동안 지속적으로 발생하였다. 본 연구에서는 위팽창증을 보이는 무지개송어의 위장 점막으로부터 미생물이 우점적으로 배양되는 것을 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 담수에서 양식 중이던 무지개송어의 위팽창증과 밀접한 관련이 있을 것으로 예상되는 미생물을 분자생물학적 방법을 이용하여 동정하고자 하였다.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0624>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 50(5) 624-629, October 2017

Received 3 August 2017; Revised 11 September 2017; Accepted 1 October 2017

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5945 Fax: +82. 51. 629. 5938

E-mail address: dhkim@pknu.ac.kr

## 재료 및 방법

약 2만여 마리를 사육하고 있는 강원도 소재의 송어양식장 (7,125 m<sup>2</sup>) 에서 일간 70-80마리의 무지개송어(체중=300~400 g) 가 한 달 내내 지속적으로 폐사하는 피해가 발생하였다. 낮에는 16-17°C, 밤에는 14°C 내외였으며 병어는 복부가 크게 부풀어 물 표면으로 떠다니다 폐사하였다. 해부를 한 결과 위가 가스로 가득 차서 비정상적으로 팽창해 있었다. 위 점막의 삼출물을 광학현미경으로 관찰하고, 위 삼출물, 신장 및 비장 샘플을 TSA (Tryptone Soya Agar; OXOID, UK)에 접종한 후 상온에서 배양하였다. 위의 삼출물에서는 2종류의 서로 다른 colony가 배양되었으며 한 종류의 colony가 90%이상 우점적으로 자리 해당 균을 순수분리 한 뒤 20°C에서 44-48시간동안 배양하였다. 배양된 균은 제조사(BD BBL™ Gram Stain Kits, BD Biosciences)의 방법에 따라 그람염색하여 광학현미경으로 균의 형태와 염색성을 확인했다. 그리고 유전학적인 동정을 위해 Total genomic DNA (AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit, Bioneer)를 제조사가 추천하는 방법으로 순수 분리된 우점균의 DNA를 분리했다. 추출된 DNA를 이용하여 18S rRNA gene의 일부를 증폭시킬 수 있는 18S F7 (5'-ACCTGGTTGATCCTGCCAG-3')와 18S R1534 (5'-TGATCCTTCYGCAGGTTAC-3')를 이용하여 95°C에서 pre-denaturation을 15분 간 실시한 뒤 94°C 30초, 55°C 30초, 72°C 1분의 조건으로 30 cycles를 반복한 뒤 72°C에서 10분간 post-extension을 실시하는 조건으로 Polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다(Moon-van der Staay et al., 2001). 또한, Internal transcribed spacer (ITS) 부위를 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCG G-3')과 LR3 (5'-CCGTGTTTCAAGACGGG-3')로, Large subunit rRNA (LSU rRNA) 부위를 NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3')과 NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3')로, RNA polymerase II largest subunit (RPB1) 부분을 RPB1-Af (5'-GAR TGY CCD GGD CAY TTY GG-3')와 RPB1-Cr (5'-CCN GCD ATN TCR TTR TCC ATR TA-3')를 이용하여 PCR하였으며 구체적인 조건은 이전 연구에서 언급된 방법(de Llanos Frutos et al., 2004; Urbina and Blackwell, 2012)을 따랐다. Sanger sequencing 방법으로 얻어진 각 염기서열은 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>)에서 blast하였다.

BLAST 결과 identity가 높은 미생물의 18S rRNA, ITS, LSU 및 RPB1의 염기서열을 수집하여 동일한 부위가 되도록 trimming 한 후 서로 이어 붙인 서열(concatenated sequence; 2,386 nt)을 이용하여 Urbina and Blackwell (2012)과 유사하게 multilocus sequence typing (MLST) 방법으로 계통발생학적 분석을 실시했다. 또한 *Scheffersomyces*와 *Candida*의 종 동정 시 유용하게 사용되는 분자 마커인 RPB1 gene으로 18S rRNA sequence 결과 유사한 상동성을 가지고 있는 *Scheffersomyces*

와 *Candida*를 비교 분석하였다. 본 논문에서 분리하여 GenBank에 등록된 염기서열과 비교한 미생물의 종류와 염기서열의 Accession no.는 Table 1에 나타내었으며 이 때 Outgroup으로는 *Schizosaccharomyces pombe*를 사용하였다(Mannarelli and Kurtzman, 1998). 위에 기술한 여러 분석은 ClustalW와 MEGA7 (Kumar et al., 2016)을 이용하여 Maximum likelihood 방법에 기초하여 계통수를 작성하였으며 1000번의 샘플링 통해 bootstrap value를 구하였다.

## 결과 및 고찰

병어가 샘플링된 무지개송어 양식장의 6월 한 달간 폐사율은 약 10%를 기록하였다. 복부가 팽만한 개체를 해부한 본 결과 Fig. 1a와 같이 위가 비정상적으로 부풀어 있는 것을 확인할 수 있었으나, 위 안에는 내용물이 거의 없었으며 부종과 함께 가스가 가득 차 있는 것을 확인할 수 있었다. 위액 및 삼출물을 광학현미경으로 관찰하였을 때 진균으로 의심되는 미생물이 우점적으로 존재하였고, TSA에서도 특정한 성상의 한 콜로니가 우점적으로 배양되는 것을 확인하였다. 그러나 신장과 비장의 샘플로부터는 균이 배양되지 않았다. 우점적으로 배양된 미생물을 순수 분리하여 그람 염색한 결과 crystal violet의 염색성을 띠는 진균과 유사한 크기와 형태를 가지고 있었다(Fig. 1b).

진균을 동정하는데 표현형적인 특징을 이용한 방법은 분자생물학적 방법 보다 정확성이 떨어진다고 알려져 있다(Kurtzman and Robnett, 2003). 그러나 일반적으로 진핵생물의 동정에 많이 사용되는 18S rRNA 염기서열(Díez et al., 2001)을 비교한 결과 *Sch. coipomoensis*, *Sch. shehatae* 및 *C. ergatensis* 모두 99%의 상동성을 나타내어 서로 구분할 수 없었다. 이런 한계를 극복하기 위해 최근에는 여러 유전자의 염기서열을 이용한 MLST 방법을 사용하고 있고, 도출된 결과는 진균의 재분류에 기여하고 있다(Urbina and Blackwell, 2012; Daniel et al., 2014). 본 연구에서도 2,386 nt의 concatenated sequence를 이용하여 계통발생학적 분석(Fig. 2a)을 한 결과 본 연구에서 분리된 진균(17KRIS)은 *C. coipomoensis* (*Sch. coipomoensis*)와 가장 유사했다. Urbina and Blackwell (2012; 2013)와 Daniel et al. (2014)는 *Candida*와 불완전 자낭균류(anamorphic ascomycetous yeast)를 계통발생학적 분석에 근거하여 분류체계를 재정립하면서 일부 *Candida* 종을 *Scheffersomyces* 속으로 재분류하였다. *Scheffersomyces* yeast를 동정할 때 일반적으로 Small subunit ribosomal RNA (SSU), ITS, LSU, RPB1, RPB2, Xylose reductase (XR) 및 translation elongation factor (EF-1 $\alpha$ ) 등의 분자마커를 사용하는 것으로 알려져 있다(Kurtzman, 2011; Urbina and Blackwell, 2012; Daniel et al., 2014). 특히 RPB1와 XR 유전자는 *Scheffersomyces*에 속하는 가까운 종을 동정할 시에 유용한 마커로 알려져 있다(Urbina and Blackwell, 2012). 본 연구에서도 RPB1의 염기서열로 분석한 결과(Fig. 2b)와 가장 가깝다는 것을 확인할 수 있었다(Ident-

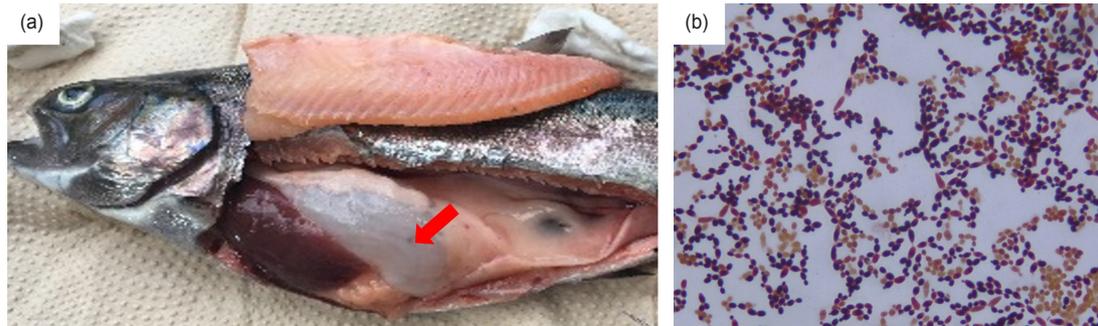


Fig. 1. Clinical signs of rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* infected with *Scheffersomyces coipomoensis*. Note that diseased fish show markedly distended, gas-filled stomach (red arrow) (a), Gram-stain morphology of *Sch. coipomoensis* ( $\times 400$ ) (b).

Table 1. GenBank accession numbers used in this study. *Schizosaccharomyces pombe* was used as outgroup taxon in phylogenetic analysis.

Species	Strains	18S (SSU)	ITS	LSU	RPB1
<i>Scheffersomyces coipomoensis</i>	ATCC 58904	HQ651931.1	HQ652070.1	HQ651966.1	KC507420.1
<i>Candida bolitothori</i>	BG00-8-15-1-1	AY242142.1	FJ623599.1	AY242249.1	JN804828.1
<i>Candida terraborum</i>	BG02-7-15-019A-2-1	AY426956.1	FJ623596.1	AY309810.1	JN804831.1
<i>Candida atakporum</i>	BG02-7-21-Nhu-1-1-2	AY426960.1	FJ623601.1	AY309872.1	JN804835.1
<i>Candida ergatensis</i>	JCM 9599	AB013524.1	EU343826.1	U45746.1	EU344098.1
<i>Candida insectosa</i>	JCM 9842	AB013583.1	HQ652064.1	FM200041.1	JN804842.1
<i>Scheffersomyces lignosus</i>	ATCC 58779	HQ651941.1	JN943262.1	U45772.1	JN804837.1
<i>Pichia segobiensis</i>	JCM 10740	AB054288.1	DQ409166.1	U45742.1	EF599429.1
<i>Pichia stipites</i>	JCM 10742	AB054280.1	JN943257.1	U45741.1	JN804841.1
<i>Candida shehatae</i>	JCM 9840	AB013582.1	JN943264.1	AF178049.1	JQ436927.1
<i>Candida cf. shehatae</i>	W07-09-15-1-3-2	JN940981.1	JN943260.1	JN703957.1	JN804838.1
<i>Candida cf. shehatae</i>	W07-10-04-4-6-2	JN940969.1	JN943259.1	JN703958.1	JN804839.1
<i>Scheffersomyces stipitis</i>	W07-11-15-9-2-1	JN940968.1	JN943261.1	JN703959.1	JN804840.1
<i>Scheffersomyces coipomoensis</i>	ATCC MYA-4657	-	-	-	KC507426.1
<i>Candida sake</i>	TUB 020328	-	-	-	KF211372.1
<i>Candida ergatensis</i>	ATCC MYA-4655	-	-	-	KC507424.1
<i>Candida coipomensis</i>	WM 07.91	-	-	-	EU344152.1
<i>Scheffersomyces coipomoensis</i>	ATCC MYA-4656	-	-	-	KC507425.1
<i>Candida ergatensis</i>	ATCC 22589	-	-	-	KC507419.1
<i>Candida ergatensis</i>	MUCL 30034	-	-	-	EU344098.1
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	AY046272.1	AB054041.1	AJ550639.1	JN985155.1
<i>Scheffersomyces coipomoensis</i> (isolated in this study)	17KRIS	MF417395	MF417396	MF417444	MF417649

tity=98~100%). Kim et al. (2017)은 2014년 해수에서 순치하던 무지개송어에 위팽창증후군이 발생하였고 위에서 다수의 진균이 발견되어 생화학적 방법과 ITS-5.8S rDNA-ITS 염기서열

을 이용하여 동정한 결과 *Candida* sp.라고 보고하였다. 본 연구에서도 ITS 부분의 염기서열만을 이용하여 NCBI에 blast 해 보았으나 종간의 유사도가 높아 종의 단계(Species level)까지 동

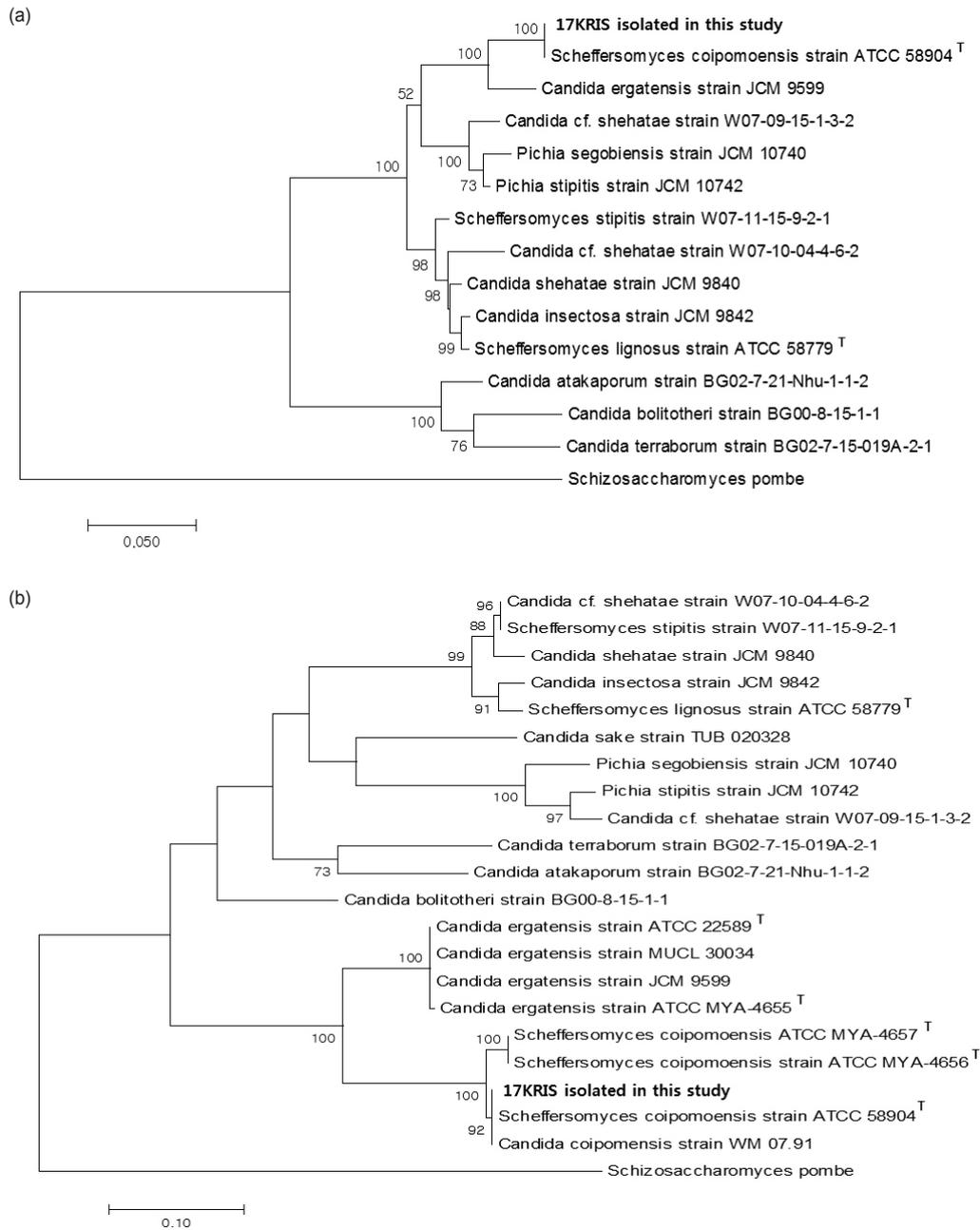


Fig. 2. Maximum-likelihood phylogenetic tree based on a multilocus sequence typing dataset using 18S rRNA - ITS - LSU - RPB1 regions (a), and RPB1 region (b) of 17KRIS (in bold) isolated from rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* showing stomach distension syndrome. *Schizosaccharomyces pombe* was used as an outgroup taxon. Numbers (only >50%) above each branch refer to bootstrap values out of 1000 repetitions. <sup>T</sup>Type strain

정은 힘들었으며, Urbina and Blackwell (2012)의 연구에 따르면 이 속의 동정을 위해서는 RPB1 유전자가 유용하다는 결과를 고려했을 때 본 연구에서 제시하는 동정결과가 정확하다고 판단된다. 이미 여러 연구에서 어류의 위팽창증후군은 위 점막에 이상 증식한 *Candida* 속에 속하는 진균에 의한 감염과 관련

이 있는 것으로 추정하고 있다. Park et al. (2012)는 *Candida* sp. 감염에 의해 양식 스틸렛 철갑상어(*Acipenser ruthenus*) 치어의 복부가 팽만하여 물 표면으로 부상하는 위팽창증후군이 나타났으며 섭이가 불량해졌다고 보고하였다. Biwa trout *Onchorhynchus rhodurus*와 산천어(*Oncorhynchus masou*)에서도

*Candida sake*에 의해 위의 점막상피의 탈락과 괴사, 육아종 형성 및 팽창된 위의 염증 반응 등이 동반된 병변 현상이 보고되었다(Awakura and Kimura, 1972; Hitai and Egusa, 1975). 이러한 병변의 명확한 과학적 근거는 밝혀지지 않았지만 Egusa (1992)와 Park et al., (2012)은 위에 감염하여 대량으로 증식한 *Candida*가 위장 내의 배합사료 등을 발효시키면서 탄산가스를 생성시켜 위를 팽창시킨다고 주장하였으며, Awakura and Kimura (1972)는 과도한 위의 팽창은 위벽을 매우 얇게 만들고 탄력성을 잃게 하여 위 내부의 부분적인 염증과 점막소실을 동반한다고 하였다.

Kim et al. (2017)은 위팽창증후군에 의해 한 무지개송어 양식장에서 1년간 10%의 폐사가 일어났다고 보고하였지만, 분리한 *Candida* sp.를 경구로 공격 실험한 결과 동일한 위팽창증후군이 나타나지 않아 직접적인 원인이 아니라고 주장하였다. 그러나 Kim et al. (2017)은 어체중 당 약 1-2%의 사료를 2일에 한 번씩 급이 하는 방법을 취했으나(하루에 대략 어체중 당 0.5-1%의 먹이공급), 수온 15°C일 때 약 200 g인 무지개송어의 적정 급이율이 1.9% (Hilton and Slinger, 1981)인 것을 감안하면 충분하지 않은 급이라는 것을 확인 할 수 있다. 이 때문에 과급이 시에 배합사료의 발효에 의해 발생 할 수 있다고 알려진 위팽창증후군(Park et al., 2012)을 유발시키기에는 적은 양이었을 것으로 추정된다. 또한, 여러 선행 연구(Awakura and Kimura, 1972; Hitai and Egusa, 1975; Park et al., 2012)는 어류의 위팽창증후군이 발생한 개체로부터 *Candida*를 분리하였으며 진균에 의한 감염과 밀접한 관련이 있다고 주장하고 있다. 그러므로 어류의 위팽창증후군과 진균이 직간접적으로 연관성이 있다고 보는 것은 충분히 합리적이라 할 수 있다. 또한, 본 연구에서 샘플링한 위팽창증후군 발생 양식장에서 대책으로 사료 공급을 줄이고 고농도 생균 소화제를 평소의 2배 이상 사용하였더니 그 질병의 발생과 이로 인한 폐사가 많이 줄었다는 점은 위팽창증후군의 발생이 사료 급이량과 밀접한 관련이 있다는 것을 시사한다. 따라서 모든 정보를 종합해볼 때 위팽창증후군은 진균에 의한 위 점막의 감염과 과급이가 동반될 때 발생할 것으로 추정된다.

*Scheffersomyces* 속은 xylose와 cellobiose 분해 능에 따라 clade가 나뉘는데(Urbina and Blackwell, 2012), 이를 위해 이번 연구에서도 xylose reductase gene을 degenerate PCR을 이용하여 염기서열을 분석하고자 하였으나 타겟 DNA를 증폭하지는 못하였다. 이 연구에서 분리된 *Sch. coipomoensis*의 경우 기존의 primer로 해당 유전자의 증폭이 안되었던 것과 어류에서 분리된 점을 고려하면 식물계에 많이 존재하는 다당성분인 xylose (van Maris et al., 2007)는 분해하지 못할 가능성이 있는 것으로 추정된다. 그러나 cellobiose 등을 발효시킬 수 있는 것으로 알려져 있는 *Sch. coipomoensis* (Urbina and Blackwell, 2012)를 부풀어 오른 위 점막에서 대량으로 증식하고 있는 것을 확인함에 따라 이 진균은 무지개송어의 위팽창증후군과 밀접한

관련이 있는 것으로 보인다.

본 연구에서는 무지개송어 위팽창증후군의 원인으로 추정되는 진균(*Sch. coipomoensis*)을 최초로 동정하였다. 차후에 분리된 진균을 경구 공격 실험한 후 사료의 과급이 실험을 수행하여 위의 팽창, 부종 나아가 폐사 등의 증상이 나타나는지 확인해 볼 필요가 있다. 우리나라 무지개송어의 위팽창증후군은 기존의 보고가 거의 없었던 새로운 질병으로 향후 지속적인 관찰과 모니터링이 필요하며, 향후 지속적으로 해당 진균이 분리된다면 치료를 위한 연구도 병행되어야 할 것으로 판단된다.

## 사 사

병어의 샘플링과 자세한 양식장 이력에 대해서 많은 도움을 주신 강원수산질병관리원과 무지개송어 양식장 관계자분들께 감사의 인사를 전합니다. 이 논문은 2017년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구입니다 (양식어류 건강성 신속진단을 위한 기술개발).

## References

- Awakura T and Kimura T. 1972. *Plistophora anguillarum* infection found in young eels imported from Formosa A gastric dilatation found in pond-cultured *Oncorhynchus masou*. Fish Pathol 6, 121-124. <http://doi.org/10.3147/jsfp.6.121>.
- Daniel H, Lachance M and Kurtzman CP. 2014. On the reclassification of species assigned to *Candida* and other anamorphic ascomycetous yeast genera based on phylogenetic circumscription. Antonie Van Leeuwenhoek 106, 67-84. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0170-z>.
- de Llanos Frutos R, Fernández-Espinar MT and Querol A. 2004. Identification of species of the genus *Candida* by analysis of the 5.8 S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers. Antonie Van Leeuwenhoek 85, 175-185. <https://doi.org/10.1023/B:ANTO.0000020154.56649.0f>.
- Díez B, Pedros-Alio C, Marsh TL and Massana R. 2001. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to study the diversity of marine picoeukaryotic assemblages and comparison of DGGE with other molecular techniques. Appl Environ Microbiol 67, 2942-2951. <http://doi.org/10.1128/AEM.67.7.2942-2951.2001>.
- FAO (Food and Agriculture organization of the United Nations). 2015. Cultured aquatic species information programme *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Fisheries and aquaculture department. Retrieved from [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus\\_mykiss/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/en) on Aug 02, 2017.
- Gall GA and Crandell P. 1992. The rainbow trout. Aquaculture 100, 1-10. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90333-G](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90333-G).
- Egusa S. 1992. Infectious disease of fish. A.A. Balkema Publishers, Rotterdam, Netherlands, 417-419.
- Hilton JW and Slinger SJ. 1981. Nutrition and feeding of rain-

- bow trout. Government of Canada, Fisheries and Oceans, Scientific Information and Publications Branch, Ottawa, Canada.
- Hitai K and Egusa S. 1975. *Candida sake* from gastro-tympanites of Amago, *Oncorhynchus rhodurus*. Bull Jap Soc Sci Fish 41, 993. <http://doi.org/10.2331/suisan.41.993>.
- Kim JW, Lee HN, Jee BY, Woo SH, Kim YJ and Lee MK. 2012. Monitoring of the mortalities in the aquaculture farms of South Korea. J Fish Pathol 25, 271-277. 10.7847/jfp.2012.25.3.271.
- Kim SW, Kim JO, Kim WS, Kim DH and Oh MJ. 2014. *Vibrio anguillarum* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* during seawater adaption. J Fish Pathol 27, 133-137. 10.7847/jfp.2014.27.2.133.
- Kim WS, Kong KH and Oh MJ. 2017. Stomach Distension Syndrome of Seawater Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Korean J Ichthyol 29, 75-79.
- KOSTAT (Korean statistics). 2015. The amount of trout production in domestic and its tendency of relevant groups (in Korean). Retrieved from <http://www.krtaa.or.kr/info/data.php?ptype=view&idx=5209&page=1&code=data> on Aug 02, 2017.
- Kumar S, Stecher G and Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol Biol Evol 33, 1870-1874. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msw054>.
- Kurtzman CP and Robnett CJ. 2003. Phylogenetic relationships among yeasts of the 'Saccharomyces complex' determined from multigene sequence analyses. FEMS Yeast Res 3, 417-432. [https://doi.org/10.1016/S1567-1356\(03\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S1567-1356(03)00012-6).
- Kurtzman C. 2011. Discussion of teleomorphic and anamorphic ascomycetous yeasts and yeast-like taxa. The Yeasts, a Taxonomic Study 5, 293-307. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00013-6>.
- Lee NS. 2013. The current situation and suggestions of the mariculture of rainbow trout in Korea (in Korean). Oceans and Fisheries 3, 86-112. Retrieved from <http://insight.dbpia.co.kr/article/metrics.do?nodeId=NODE02297764#> on Aug 02, 2017.
- Moon-van der Staay, Seung Yeo, De Wachter R and Vault D. 2001. Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. Nature 409, 607-610. <http://dx.doi.org/10.1038/35054541>.
- Park S, Yu J and Han J. 2012. Studies on the overinflation of the Cardiac Stomach in Sterlet Sturgeon *Acipenser ruthenus*, fingerlings. J Fish Pathol 25, 59-65. 10.7847/jfp.2012.25.1.059.
- Urbina H and Blackwell M. 2013. New combinations, *Scheffersomyces amazonensis* and *S. ergatensis*. Mycotaxon 123, 233-234. <https://doi.org/10.5248/123.233>.
- Urbina H and Blackwell M. 2012. Multilocus phylogenetic study of the *Scheffersomyces* yeast clade and characterization of the N-terminal region of xylose reductase gene. PLoS One 7, e39128. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039128>.
- van Maris A, Winkler A, Kuyper M, de Laat W, van Dijken J and Pronk J. 2007. Development of efficient xylose fermentation in *Saccharomyces cerevisiae*: xylose isomerase as a key component. Biofuels, 179-204. [https://doi.org/10.1007/10\\_2007\\_057](https://doi.org/10.1007/10_2007_057).
- Mannarelli BM and Kurtzman CP. 1998. Rapid identification of *Candida albicans* and other human pathogenic yeasts by using short oligonucleotides in a PCR. J Clin Microbiol 36, 1634-1641.