

양식 해수 어류에서 분리한 *Vibrio harveyi*의 특성

이창훈 · 김수미 · 원경미 · 한현자 · 김도형 · 박수일
부경대학교

서론

1999년 여름철 우리 나라의 몇몇 해수 어류 양식장과 종묘 배양장에서 *Vibrio harveyi*가 원인균으로 생각되는 질병이 발생하였다. 어종별 특징적인 증상으로는 넙치의 탈장, 복부 팽만, 장충혈, 장액 삼출 및 간출혈과 조피볼락의 체표 궤양 및 간출혈을 들 수 있었으며 같은 시기에 감염증을 나타낸 turbot에서는 체표 출혈과 장출혈이 특징적인 증상이었다. 이 중에서도 특히 넙치의 병징은 에드워드병으로 추정되기 쉬운 특징이 있기 때문인지 각 양어장에서는 간단히 에드워드병으로 진단하고 그에 대한 치료가 실시되고 있었으나 치료 효과가 비교적 낮아서 피해가 증가되고 있는 실정이었다.

이들 어종에서 분리된 세균들은 모두 1.5% NaCl 첨가 TSA 평판 배지에서 swarming을 하는 특성을 보였으며 TCBS 배지에서는 yellow 혹은 green colony를 형성하였다. 이에 본 연구에서는 넙치와 조피볼락 및 turbot의 세 어종에서 분리되는 원인균에 대하여 배양 성상, 형태학적 특성, 생화학적 성상 및 유전형 등을 비교 분석한 결과 *V. harveyi*로 동정하고 이들을 넙치에 공격 시험하여 병원성을 확인하였으며, 나아가 약제 감수성 시험을 실시하여 분리 균주 간의 특성을 비교하였다.

재료 및 방법

병어와 병원균의 분리 : 실험에 사용한 분리 균주는 탈장과 복수 및 장충혈 등의 증상을 보이는 넙치 유래 10 균주와 체표 궤양 및 발적 증상을 보이는 조피볼락 유래 3 균주, 체표와 장에 심한 출혈을 보이며 폐사한 turbot 유래 1 균주 및 양식장의 사육수 유래 3 균주로서 총 16 균주이었으며 이들을 시험 균주로 하여 각종 실험에 사용하였다. 분리 균주는 1.5% NaCl 첨가 TSA와 TCBS 배지를 사용하여 27°C에서 24시간 배양하였다.

시험 균주의 미생물학적 특성 조사 : 세균의 형태학적 특성, 배양 성상학적 특성, 생화학적 특성, SDS-PAGE상에서의 세균 단백질 성상, 16S rRNA 염기 배열 분석 등을 조사하였다.

시험 균주의 어병학적 특성 조사 : 시험 균주 중 분리 어종과 TCBS상에서의 특성으로 선정한 일부 균주에 대하여 넙치를 대상으로 병원성을 확인하였다. 실험어는 평균 어체중 50~70g의 건강한 넙치, *Paralichthys olivaceus*를 사용하였다. 그리고 약제 감수성 시험을 실시하여 시험 균주 간의 특성을 비교하였다.

결과 및 요약

최근 우리 나라의 몇몇 넙치 양식장에서 에드워드병의 주요 증상과 유사하게 탈장과 복부 팽만을 나타내는 질병이 발생하여 큰 피해를 내고 있어 그 원인을 조사한 결과 *Vibrio*속 세균이 분리되었다. 이 이외에도 다른 증상을 나타내는 조피볼락과 turbot 및 사육수로부터 넙치 유래의 분리균과 유사한 성질의 것으로 생각되는 세균이 분리되었다. 이에 본 연구에서는 3종의 어류와 사육수에서 분리된 총 16 균주에 대하여 미생물학적 특성 및 어병학적 특성을 조사하였다.

본 실험에서 분리된 시험 균주의 미생물학적 특성을 보면 모든 균주가 1.5% NaCl 첨가 TSA 평판 배지에서 swarming을 하였으며 TCBS 배지에서는 균주에 따라 yellow 혹은 green colony를 형성하였다. 시험 균주들은 그람 음성 간균, 단편모균이며 염분 농도 1~3%에서는 잘 자라나 0%와 7%에서는 자라지 못하며 swarming에는 적정 염분이 필요하였다. 발육 가능한 온도 범위는 15~37°C이며 최적 온도는 27°C 전후로 나타났다. 생화학적 성상은 시험 균주들 간에 큰 차이는 없이 몇 가지 당 분해능과 urease 생성능에서 차이가 있으며 시험 균주는 모두 luminescence 음성 반응을 나타내었다. 시험 균주와 *V. harveyi* 참조 균주의 protein pattern은 거의 유사하였지만 특정 부위의 protein 구성에서 차이가 있는데 불과하였다. 시험 균주의 16S rRNA를 cloning하여 그 염기 배열을 밝힌 결과 참조 균주인 ATCC 35084와 ATCC 14126에 대하여 99%이상의 높은 상동성을 나타내었다. 본 연구에서, 넙치와 조피볼락 및 turbot의 세 어종에서 분리되는 원인균에 대하여 배양 성상, 형태학적 특성, 생화학적 성상 및 유전형 등을 비교 분석한 결과 *V. harveyi*로 동정할 수 있었으며 특히, non-luminous *V. harveyi*인 ATCC 35084와 매우 유사한 것으로 조사되었다.

어병학적 특성을 보면 시험 균주를 넙치에 공격 시험하여 병원성을 확인한 결과 분리 유래에 따라 병원성의 강도에는 다소의 차이가 있었으나 6×10^7 CFU/fish로 복강 주사하였을 때 주사 후 5일 내에 높은 폐사율을 보였으며 폐사한 개체는 분리 당시와 동일한 증상을 나타내어 이 질병의 원인균임이 확인되었다. 그리고 시험 균주들은 분리 유래와 무관하게 모두 넙치에 병원성이 있는 것을 알 수 있었다. 시험 균주의 약제 감수성 시험을 실시한 결과 ampicillin을 제외한 대부분의 시험 약제에 감수성이 있는 것으로 나타났다.

참고 문헌

- Grimes, D. J., J. Stemmler, H. Hada, E. B. May, D. Maneval, F. M. Hetrick, R. T. Jones, M. Stoskopf and R. R. Colwell (1984). *Vibrio* species associated with mortality of sharks held in captivity. *Micro. Ecol.*, 10, 271-282.
- Pedersen, K., L. Verdonck, B. Austin, D. A. Austin, A. R. Blanch, P. A. D. Grimont, J. Jofre, S. Koblavi, J. L. Larsen, T. Tiainen, M. Vigneulle and J. Swings (1998). Taxonomic evidence that *Vibrio carchariae* Grimes *et al.* 1985 is junior synonym of *Vibrio harveyi* (Johnson and Shunk 1936) Baumann *et al.* 1981. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 48, 749-758.
- Egidius, E. (1987). Vibriosis: Pathogenicity and Pathology. A Review. *Aquaculture* 67, 15-28.