

넙치, *Paralichthys olivaceus* 仔魚에서 分離한 腸管白濁症의 原因菌인 *Vibrio* sp.(INFL group)의 生物學的 및 生化學的 特性

李廷白 · 盧 暹 · 宋春福

濟州大學校 大學院 水產生物學科

1991年 12月에서 1992年 4月 사이에 제주도내 종묘배양장에서 사육중이던 넙치자어에서 소화관이 백탁되거나 궤양을 일으키는 질병이 발생하여 대량폐사를 일으켰다. 병든 자어의 소화관으로부터 *Vibrio* 屬 세균을 분리하였고, 形態學的, 生物學的 및 生化學的 性狀을 조사한 결과, 본병의 원인균을 *Vibrio* sp. INFL group으로 동정하였다. 본병은 rotifer 等の 먹이생물을 매개로 하여 경구감염시킨 결과 자연감염 증상이 재현되었다. 분리균이 잘 발육할 수 있는 온도의 범위는 25~30℃, 식염농도의 범위는 2.0~4.0% 그리고 pH는 6.0~8.0이었다. 분리균은 oxytetracycline, nalidixic acid, kanamycin 및 novobiocin 등에 감수성을 나타냈으나 ampicillin, erythromycin, spiramycin 및 sulfa-drug에는 내성을 나타내었다.

Key words : 넙치(*Paralichthys olivaceus*), *Vibrio* sp., 장관백탁증

넙치 자치어기의 감모원인 중에는 유전적(乾三輪, 1985), 환경적(藤井等, 1984) 또는 영양적 요인(Seikai, 1985)에 의해 생기는 비감염성 질병이 占有하는 비율이 상당히 크다고 생각하고 있다. 이러한 비감염에 의한 감모의 종묘생산시 감염증으로서의 역시 세균에 의한 감염증이 가장 많다. 종묘생산 과정에 있어서 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 자치어에 발생하는 세균성 질병으로서의 복수증(村田, 1981), 사상 세균증(翠川等, 1972; 增村, 1987), 활주세균증(增村, 1987; Baxa et al., 1986), 비브리오병(山野井等, 1988) 및 腸管白濁症 등이 보고되어 있다.

腸管白濁症에 대하여는 村田(1987)에 의하여 近畿大學 水産研究所에서 발생된 예가 보고되어 있으며 또 增村(1988) 등에 의해 廣島수산시험장에서 발생된 예가 보고된바 있다.

이 병은 종묘생산 시기인 11월부터 익년 4월까지 사이에 난부화후 18일경부터 착저기를 지난 30일까

지의 자치어에 발생하여 체색이 검어지고 소화관의 백탁 및 위축 등의 주요한 증상으로 나타났으며, 난부화후 바로 발병한 경우는 폐사율이 높았고 때에 따라서는 90% 이상(村田, 1987)을 나타낸 곳도 있었다. 1991년에서 1992년에 걸쳐 제주도내 종묘배양장에서 사육중인 넙치 자어에 腸管白濁症으로 생각되는 질병이 발생된 병어에서 增村(1988) 등이 보고한 것과 동일종으로 판단되는 *Vibrio* 屬 細菌을 분리하였다.

이 연구에서는 분리된 균주의 생물학적 및 생화학적 특성을 조사함과 동시에 분리된 균주의 병원성에 관한 실험결과를 논의하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시료어 및 분리균주

1991년 12월에서 1992년 4월 사이에 제주도내 종묘배양장의 실내 콘크리트 수조에서 사육 중인

넙치자어에 발생한 腸管白濁症의 증상을 관찰하고 원인균의 분리를 시도하였다.

실체 현미경으로 병어의 소화관을 관찰하면서 증상이 뚜렷한 개체의 창자를 무균적으로 절취하여 ZoBell 2216E agar와 nutrient agar(NA, Difco), 및 BTB teepol agar(Difco)의 평판배지에 도말하여 25°C에서 24시간 배양한 후 각배지상에 우점적으로 나타난 *Vibrio* sp.를 Fig. 1의 방법에 따라 분리하였다.

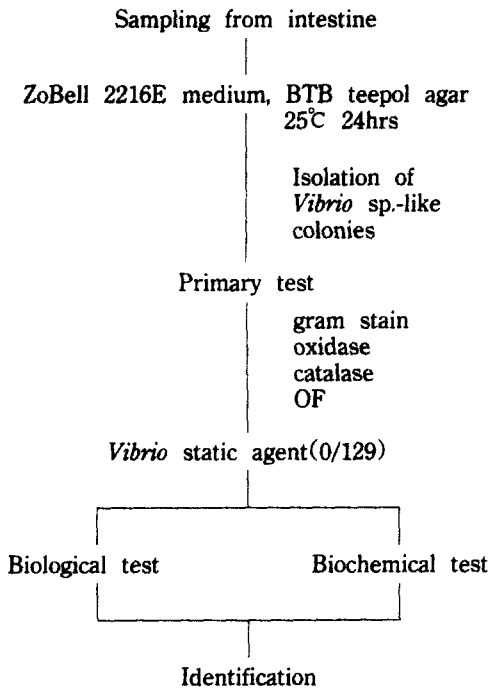


Fig. 1. The identification procedure of *Vibrio* sp. isolated from larvae of flounder, *Paralichthys olivaceus*.

분리한 균주들을 순수배양하였으며 그 중 병원성을 뚜렷이 나타내는 5균주와 일본 廣島大學에서 제공받은 넙치 腸管白濁症의 원인균인 *Vibrio* sp. INFL FH-8804를 비교균주로 하여 각종 성장실험에 사용하였다. 각균주의 유래는 Table 1과 같다.

2. 병원성 시험

병원성 시험에 사용된 시료어는 도내 종묘배양장에서 사육하고 있는 건강한 넙치자어(16일령, 평균 전장 8.2mm) 300마리였다.

병원성 시험에는 본 조사에서 분리한 Table 1의 5균주인 FLL-9112, FLL-9201, FLL-9203 및 FLL-9204와 비교균주인 *Vibrio* sp. INFL FH-8804를 사용하였다. 즉 brain heart infusion agar(BHIA, Difco)에 각 균주를 접종하여 25°C, 24시간 증균배양한 분리균주를 3,000 rpm으로 30분간 원심분리기로 분리한 후 집균하였다. 집균한 각 배양균들을 넙치자어의 먹이생물인 rotifer, *Brachionus plicatilis*에 침투시켰다. 즉 습중량 1.5g의 rotifer를 멸균하여 25°C로 식힌 해수 100ml중에 현탁하고 여기에 각 배양균 0.1g씩을 첨가하여 30분후에 plankton net로 rotifer를 회수하였다. 그리고 100ℓ 판라이트 수조(시험구)에 넙치자어를 각각 50마리씩 수용하여 균육을 시켜놓은 rotifer를 1회/1일, 한 시험구당 1g씩 3일간 연속 투여하였다. 각 시험구주별 생균수 측정에는 Diliello (1979)의 방법을 이용하였으며, 시료는 각 균주의 현탁액에 담구어진 rotifer의 일부를 사용하였다.

3. 형태학적 및 생물학적 性狀檢査

병원성 재현시험에서 재분리된 각 균주들을 Zo-Bell 2216E 사면배지에서 배양한 후 3% 식염첨가 BHI broth에서 증균한 것을 사용하였으며 gram 염색성(Hücker 變法), 운동성, 형태, 크기 및 색소 생산 등 형태학적 성장검사를 실시하였다.

生物學的 性狀檢査는 각종 배지상에서 25°C에 18~24시간 배양하여 발육 여부를 관찰하였다. 발육에 미치는 식염농도의 영향, 온도 및 pH의 영향실험은 펩톤수를 사용하였으며, 24시간 배양한 후 Spectrophotometer(spectronic 21, BAUCH and LOMB)로 560nm에서 흡광도를 측정하여 발육도로 하였다.

Table 1. Sources of the isolated strains from flounder larvae and reference strain

Strains	Sampled date	Location	Organ
FLL-9112	12/4/91	Namcheju, Cheju-do	Intestine
FLL-9201	1/12/92	Namcheju, Cheju-do	Intestine
FLL-9202	2/15/92	Namcheju, Cheju-do	Intestine
FLL-9203	3/17/92	Namcheju, Cheju-do	Intestine
FLL-9204	4/15/92	Namcheju, Cheju-do	Intestine
Reference strain			
<i>Vibrio</i> sp. INFL FH-8804		Hiroshima Univ., Japan	

4. 생화학적 性狀檢査

결 과

生化學的 性狀檢査는 Sneath *et al.*(1986)과 Gerhardt *et al.*(1981), MacFaddin(1980) 및 增村(1988) 등이 기재한 방법에 따라 실시하였다.

5. 분리균에 대한 약제 감수성 시험

병원성 재현시험으로 본병에 인위감염된 넙치자어로부터 재분리한 5개의 균주를 tryptic soy broth(TSB)에 25°C, 24시간 배양한 배양액의 0.1 ml를 약제감수성 배지인 Müller-Hinton 배지(Difco)에 도말하였다. 그리고 그 배지에 각종 약제의 감수성디스크(BBL)를 얹어서 5°C에 4시간 방치한 후, 25°C에서 20시간 배양하여 발육 저지원의 직경을 측정하였다.

1. 발생상황과 병어의 증상

1991년~1992년 사이에 제주도내에서 조사된 본병의 발생사례는 Table 2에서 보는 바와 같다. 본병은 수온 18.0~20.0°C의 범위에서 난부화 후 18~30일째의 자치어(전장 8.2~11.3mm)에 발생하였다.

질병발생시의 먹이는 rotifer, *artemia salina* 등의 먹이생물과 배합사료(“協和” 또는 “Higasimaru” 제품)를 공급하였다.

증상은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 육안적으로 소화관이 백탁 위축되었고, 체측근육이 얇아졌으며 복부가 함몰된 개체도 나타났고, 발병하면 거의 먹이를 섭취하지 않았다. 또 개체에 따라서는 소

Table 2. Outbreaks of intestinal necrosis of the cultured flounder larvae sampled from fish hatcheries in Cheju Island

Date	Location	Days after hatching	Water temperature(°C)	Feed
Dec. 4, '91	Private hatchery in Namcheju	18	18.0	BS, R
Jan. 12, '92	“	20	19.2	“
Feb. 15, '92	“	28	18.6	BS, R, AF
Mar. 17, '92	“	28	20.0	“
Apr. 15, '92	“	30	18.5	“

* BS; Brine shrimp, R; Rotifer, AF; Artificial feed.

화관의 일부만이 백탁된 것과 소화관전체가 백탁된 것이 나타났으며 백탁된 소화관 내에서는 운동성이 있는 단간균의 존재가 관찰되었다.

Fig. 2. The flounder larvae infected with *Vibrio* sp.. Intestinal necrosis was indicated with an arrow, and shrunken abdomen was a typical INFL symptom.

2. 원인균의 병원성 재현

자연감염된 넙치 자어로부터 채취하여 ZoBell 2216E 배지에 접종한 INFL은 원형으로 나타나며, 회백색의 투명한 집락을 분리하여, 순수배양한 5개 균주 각각에 대하여 병원성 재현시험을 한 결과는

Table 3에서 보는 바와 같다.

시험어는 모든 시험균주 투여구에서 시험 시작 4일 후부터 폐사하는 개체가 나타나기 시작하여 시험종료기간인 7일까지는 54.0~86.0%의 폐사율을 나타내었다.

시험 기간중 소화관에 백탁증상을 나타내는 개체가 있었으며, 폐사어나 실험 종료시 발병어의 소화관에서 집중균과 동일성상의 세균을 재분리 할 수 있었다.

3. 재분리균의 형태학적 및 생물학적 性狀

재분리된 균주를 gram 염색한 결과, 본병의 원인균이 나타내는 형태는 똑바르거나 약간 만곡된 단간균(Fig. 3)으로 나타났다.

재분리된 균주의 형태학적 및 생물학적 性狀은 Table 4에서 나타낸 바와 같다. ZoBell 2216E 평판위에서 25°C, 48時間 동안 충분히 발육한 집락 형태는 약간 불룩하고 주변이 원활하였다. 집락의 크기는 직경 1.0mm 정도의 정원형이었으며, 집락의 색깔은 회백색으로 투명감이 있었다.

전 균주는 gram 음성, 운동성이며 ZoBell 2216E, NA, TSA, BHIA 및 BTB teepol에서 잘 발육하였으나 MacConkey배지에서는 발육하지 않았다. 또

Table 3. Pathogenicity of the isolated strains to cultured flounder larvae after oral administration of the rotifer infected with *Vibrio* sp. INFL group for 3 successive days

Strains	Supplemented dose (CFU/g rotifer)	Number of death* among tested fish	Mortality (%) in 7 days
FLL-9112	1.1×10^9	43 / 50	86.0
FLL-9201	1.2×10^9	40 / 50	80.0
FLL-9202	1.1×10^9	37 / 50	74.0
FLL-9203	4.1×10^9	36 / 50	72.0
FLL-9204	9.0×10^8	27 / 50	54.0
Control	-	2 / 50	4.0

* The tested fish, 16day-old and 8.2mm in average length, were kept at 18.0~18.5°C.

2~3% 식염 첨가 NA에서는 전 균주가 잘 발육하였으나 0%, 8% 식염 첨가 NA에서는 전 균주가 발육하지 않았다. 0.5%에서는 FLL-9112와 FLL-8804주만이 약하게 발육하였으며 그 외의 균주는 발육하지 않았다. 6%에서는 FLL-9203주만이 발육하지 않았고 그 외 균주는 약하게 발육하였다.

한편, 균주들의 증식에 미치는 온도, 식염농도 및 pH의 영향은 Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6에서 보는 바와 같았다. 균주에 따라 발육성에 차이는 있었으나, 각 균주들은 20~30°C에서 잘 자랐고, 특히 25~30°C에서 최적발육을 나타내었다. 35°C 부근에서의 발육성은 균주간에 차이를 나타내지 않았다. 식염 농도 2.0~3.0%의 범위에서 잘 발육하였고 최적발

Fig. 3. Morphology of the isolated *Vibrio* sp. INFL. after culturing in ZoBell 2216E medium at 25 °C for 48hrs. Gram stain; ×1,000.

Table 4. Morphological and biological characteristics of the isolates from diseased flounder larvae and reference strain(*Vibrio* sp. INFL FH-8804)

Characteristics	Present isolates					Reference*
	FLL-9112	FLL-9201	FLL-9202	FLL-9203	FLL-9204	FH-8804
Gram strain	-	-	-	-	-	-
Motility	+	+	+	+	+	+
Flagella	Single polar flagellum					
Form	Short rod					
Growth on;						
ZoBell 2216E	+	+	+	+	+	+
NA	+	+	+	+	+	+
TSA	+	+	+	+	+	+
BHIA	+	+	+	+	+	+
BTB teepol	+	+	+	+	+	+
MacConkey	-	-	-	-	-	-
0% Nacl NA	-	-	-	-	-	-
0.5	+ ^w	-	-	-	-	+ ^w
2	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
6	+ ^w	+ ^w	+ ^w	-	+ ^w	+ ^w
8	-	-	-	-	-	-
Growth on;						
4°C	-	-	-	-	-	-
20	+	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+
35	-	-	-	-	-	-

* *Vibrio* sp. INFL from Hiroshima Univ., w; weak reaction.

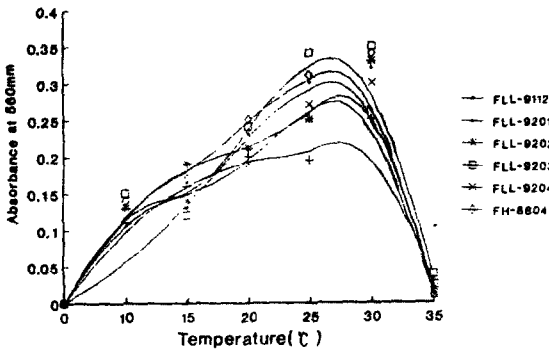


Fig. 4. Effects of temperature on the growth of *Vibrio* sp. incubated for 24hrs in BHI broth at pH 7 adjusted with 1% pepton water.

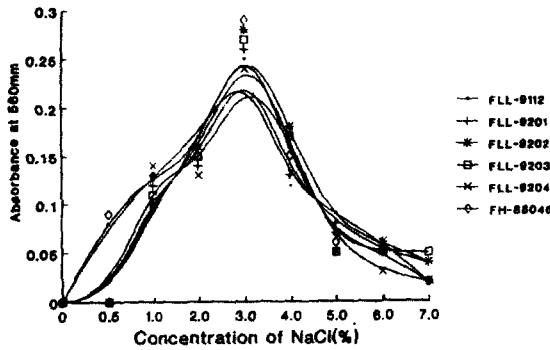


Fig. 5. Effects of NaCl on the growth of *Vibrio* sp. incubated for 24hrs in BHI broth at pH 7 adjusted with 1% pepton water.

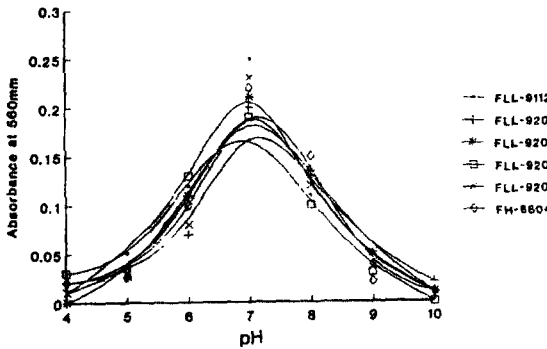


Fig. 6. Effects of pH on the growth of *Vibrio* sp. incubated for 24hrs in BHI broth at pH 7 adjusted with 1% pepton water.

육 식염농도는 3.0%이다. 또 pH 6.0~8.0에서 발육하였으며 최적발육 pH는 7.0전후이다.

4. 재분리균의 생화학적 性狀

재분리 균주의 生化學的 性狀은 Table 5에서 보는 바와 같다. 전 균주는 catalase, cytochrome oxidase에 양성이었으며, glucose를 발효적으로 분해하였으나 indole은 생산하지 않았다. 또 전 균주가 질산염을 환원시키지 않았으며, gelatin도 액화시키지 않았고, glucose로부터 gas도 생산하지 않았다. Methyl red(MR)반응은 전 균주가 양성이었으며 항생제 0/129에 감수성을 나타내었다.

그러나, Voges-Proskauer(VP)반응, 황화수소 생산, ornithine 및 λ -galactosidase 반응에서는 전 균주가 음성을 나타내었다. 또한 제공된 전 균주는 starch와 casein을 가수분해하였으나 arginine과 tween 80의 가수분해에서는 음성을 나타내었다.

재분리 균주의 각종 탄수화물 분해능은 Table 6에서 보는 바와 같다.

Glucose, mannose, sucrose, trehalose, maltose 및 fructose는 전 균주가 분해하여 산을 생산하였으나, arabinose의 13개의 탄수화물은 전 균주가 분해하지 않았다.

5. 약제에 대한 원인균의 감수성

원인균의 각종 약제에 대한 감수성 시험에 있어서 디스크법에 의한 성적은 Table 7에서 보는 바와 같다. 균주에 따라 다소의 차이는 있으나 숲 균주는 oxytetracycline에 높은 감수성을 나타내었고, 그 다음으로는 nalidixic acid, chloramphenicol, kanamycin, novobiocin의 순서로 감수성을 나타내었다. 반면에 모든 균주는 ampicillin, erythromycin, spiramycin 및 설과제에 감수성을 나타내지 않았다. Oxolinic acid에는 FLL-9201과 9202만이 약한 감수성을 나타내었다.

Table 5. Biochemical characteristics of the isolates from diseased flounder larvae and *Vibrio* sp. INFL FH-8804

Characteristics	Present isolates					Reference strain
	FLL-9112	FLL-9201	FLL-9202	FLL-9203	FLL-9204	FH-8804
Catalase	+	+	+	+	+	+
Cytochrome oxidase	+	+	+	+	+	+
OF test	F*	F	F	F	F	F
Indole production	-	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	-	-	-	-	-	-
Gelatin liquefaction	-	-	-	-	-	-
Gas from glucose	-	-	-	-	-	-
MR test	+	+	+	+	+	+
VP test	-	-	-	-	-	-
H ₂ S production	-	-	-	-	-	-
Simmon's citrate 0/129 sensitivity	+	+	+	+	+	+
β -galactosidase	-	-	-	-	-	-
Hydrolysis of arginine	-	-	-	-	-	-
Tween 80	-	-	-	-	-	-
Starch	+	+	+	+	+	+
Casein	+	+	+	+	+	+
Ornithine	-	-	-	-	-	-

* F: Fermentation

Table 6. Carbohydrate utilization of the isolates from diseased flounder larvae and *Vibrio* sp. LNFL FH-8804.

Characteristics	Present isolates					Reference strain
	FLL-9112	FLL-9201	FLL-9202	FLL-9203	FLL-9204	FH-8804
Acid from						
Glucose	A	A	A	A	A	A
Arabinose	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	-
Mannose	A	A	A	A	A	A
Galactose	-	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-
Sucrose	A	A	A ^w	A	A	A
Maltose	A	A	A	A	A	A
Trehalose	A	A	A	A	A	A
Melibiose	-	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-	-
Salichin	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-
Glycerol	-	-	-	-	-	-
Fructose	A	A	A	A	A	A
Inulin	-	-	-	-	-	-
Glycogen	-	-	-	-	-	-
Dextrin	-	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-

* A; Acid, W; Weak reaction.

Table 7. Antibiotic sensitivities of the reisolated *Vibrio* sp. determined by disc method.

Antibiotics	Concentration (μ g)	Strains				
		FLL-9912	FLL-9201	FLL-202	FLL-9203	FLL-9204
Ampicillin	10	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	30	+	+	++	++	++
Erythromycin	15	-	-	-	-	-
Oxytetracycline	10	+++	++	+++	+++	++
Kanamycin	30	++	+	+	+	+
Spiramycin	15	-	-	-	-	-
Novobiocin	5	+	++	+	+	+
Nalidixic acid	30	++	++	++	++	++
Oxolinic acid	30	-	+	+	-	-
Sulfadimethoxine	0.25mg	+	-	-	-	-
Sulfadiazin	0.25mg	-	-	-	-	-

* Diameter of inhibition zone; -, resistant; +, 5-15 mm; ++, 15-20mm; +++, >20 mm.

IV. 고 찰

Vibrio 屬 세균의 분류학적 위치에 관하여 Sneath *et al.* (1986)은 "gram 음성, 단간균 및 1개의 극편모를 가지고 있으며, 운동성이 있고, glucose를 발효적으로 분해하지만 gas는 생산하지 않고 catalase는 양성이다."라고 정의하고 있다.

어류의 비브리오병에 대한 원인균의 성상에 대하여 오래전부터 많은 연구자에 의해 보고되어 있다(Saito *et al.*, 1964; Muroga and Egusa, 1967; Harrel *et al.*, 1976; 村田, 1987; 沈·鄭, 1991). 그러나 넙치자어의 腸管白濁症의 원인균에 대한 보고(村田, 1987; 增村等, 1988)는 그리 많지 않으며 특히 우리 나라에서는 아직 보고된 바가 없다.

이번에 제주도내 종묘배양장에서 增村(1988) 등이 보고한 症狀과 잘 일치하는 증상, 즉 장관이 백탁되는 특징을 가진 질병이 넙치의 자어에 발생하였다. 이들 병어로부터 특정 세균이 분리되었고, 그 분리균주를 사용하여 병원성 실험을 한 결과, 자연감염어와 같은 症狀이 재현되어 본병이 腸管白濁症의 원인균으로 생각되었다. 이번에 분리한 균주의 생물학적 및

生化學的 性狀은 增村等(1988)이 기재한 *Vibrio* sp. INFL group의 性狀과 Table 4, 5, 6에서 나타낸 것과 비교하여 거의 全項目이 잘 일치하였다.

본병의 원인균은 형태학적, 생물학적 및 生化學的 性狀으로 보아 *Vibrio* 屬 세균으로 보아 분류하였으나, Sneath *et al.* (1986)이 보고한 *Vibrio* 屬 세균과 *V. damsela* (Love *et al.*, 1981) 및 *V. salmonicida* (Egidius *et al.*, 1986)의 性狀과는 일부만 일치하고 많은 항목이 일치하지 않았다.

Table 8은 과거에 보고된 종명불명의 해산어에 대한 병원성 *Vibrio* 屬 세균(畑井等, 1981; Muroga *et al.*, 1984; 沈·鄭, 1991)과 비교한 것이나 일부의 항목만이 일치하였다. 그러나 *Vibrio* sp. INFL group(增村等, 1988)과의 비교에서는 모든 특성이 기존의 결과와 일치하고 균주특성도 동일하므로 우리 나라에서 발생되었던 또는 발생할수 있는 장관백탁증의 원인균은 *Vibrio* sp. INFL FH-8804와 동일하다고 판단되었다.

병원성 시험에서 원인균을 흡수시킨 rotifer를 경구투여한 결과 본병이 재현되었기 때문에 원인균은 rotifer 등의 먹이생물을 매개로 하여 감염되

Table 8. Comparison of major characteristics between the present isolates and other *Vibrio* sp. strains reported previously.

Characteristics	Present Isolates	Flounder(INFL) Masumura <i>et al.</i> (1988)	Flounder Sim <i>et al.</i> (1991)	Horse mackerel Hatai <i>et al.</i> (1981)	Milkfish Muroga <i>et al.</i> (1984)
Indole production	-	-	-	-	-
Simmon's citrate	-	-	+ ^w	+	+
Gelatin liquefaction	-	-	+	+	+
Arginine decomposition	-	-	-	-	-
Ornithine	-	-	-	-	-
β-galactosidase	-	-	+	+	+
Acid from dextrin	-	-	+	+	+
glycerol	-	-	+	+	+
glycogen	-	-	-	+	+
mannitol	-	-	-	+	+

* W; weak reaction

는 것으로 추정할 수 있었다. 따라서 먹이생물과 본병의 원인균 및 넙치 자어와의 감염관계를 필히 밝힐 필요가 있다고 생각하며 자어기에 경구적으로 감염되는 어병의 예방을 위한 동물성 먹이 생물의 약제개발이 시급하다고 생각한다.

참 고 문 헌

Baxa, D. V., Kawai, K. and Kusuda, R. : Characteristics of gliding bacteria isolated from diseased cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*. Fish pathology, 21(4) : 251-258, 1986.

Diliello, L. R. : Manual of methods for clinical microbiology. AVI publ., Westport, Connecticut, 139-142, 1979.

Egidius, E., Wilk, R. Anderson, K. Hoffm K. A.

and Hjeltnes : *Vibrio salmonicida* sp. nov., a new pathogen. Int. J. Syst. Bacteriol., 36 : 518-520, 1986.

Gerhardt, P., Murry, R. G. E., Costilow, R. H., Nester, E. W., Wood, W. A., Krieg, N. R. and Phillips, G. B. : Manual of methods for general bacteriology. Amer. Soc. Microbiol., Washington, D.C. 524pp. 1981.

Harrel, L. W., Etlinger, H. M. and Hodgins, H. D. : Humoral factors important in resistance of salmonid fish to bacterial disease. II. Anti-*Vibrio anguillarum* activity in mucus and observations on complement. Aquaculture. 7 : 363-370, 1976.

Love, M., Teebken-Fisher, D., Hose, J. E., Farmer, J. J. III, Hickman, F. W. and Fanning, G. R. : *Vibrio damsela*, a marine bacterium, causes

- skin ulcers on the damselfish *Chromis punctipinnis*. Science, 214 : 1139-1140, 1981.
- MacFaddin, J. F. : Biochemical tests for identification of medical bacteria. Williams and Wilkins, Baltimore/London, 527pp. 1980.
- Muroga, K. and Egusa, S. : *Vibrio anguillarum* from an endemic disease of Ayu in Lake Hamana. Bull. Jap. Soc. Fish., 33 : 636-640. 1967.
- Muroga, K., Lippo, G., Pitogo, C. and Imada, R. : *Vibrio* sp. isolated from milkfish (*Chanos chanos*) with opaque eyes. Fish Pathol., 19 : 81-87, 1984.
- Saito, Y. H., Otsuru, Furukawa, T., kanda, K. and Sato, A. : Studies on an infectious disease of rainbow trouts. Acta Medica et Biologica., 11 : 267-295, 1964.
- Seikai, T. : Influence of feeding periods of brazilian artemia during larval development of hatchery-reared flounder, *Paralichthys olivaceus* on the appearance of albinism. Bull. Jap. Soc. Fish., 51(4) : 521-527, 1985.
- Sneath, P. H. D., Mair, N. S., Sharpe, M. E. and Holt, J. G. : Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, 723-730, 1986.
- 藤井良三・松本二良 菊池慎一 : 昭和58年度健苗育成技術開發委託事業報告, p 82. 1984.
- 畑井喜司雄・安元進・安永統男 : 養殖マアジから分離されたピブリオ菌について. 魚病研究, 16, 111-118. 1981.
- 乾 靖夫・三輪 理 : T4 および チオウレアによるヒテム稚魚變態の制御-I. 昭和60年度日本水産學會春季大會講演要旨, p 80. 1985.
- 増村和彦・安信秀樹・岡田直子・室賀清邦 : ヒラメ種苗生産試験. 和歌山縣水産試験場事業報告, 4 : 39-44, 1988.
- 村田 修 : 昭和56年度日本水産學會秋季大會講演報告要旨, p113. 1981.
- 村田 修 : ヒラメの傳染性腸管白濁症(日本魚病學會ワークショップ). 魚病研究, 22 : 59-61, 1987.
- 沈斗生・鄭丞姬 : 海上 가두리에서 飼育한 養殖넙치의 魚病診斷 및 治療試驗. 넙치 海上養殖 技術開發에 관한 研究. 科技處 特定研究課題報告書, 74-106, 1991.
- 山野井英夫・桃山和夫・安信秀樹・室賀清邦 : ヒラメ稚魚に發生した *Vibrio anguillarum* 感染症. 魚病研究, 23 : 69-70, 1988.

The biological and biochemical characteristics of a *Vibrio* sp., causative agent of intestinal necrosis of flounder larvae (*Paralichthys olivaceus*)

Jung Baik LEE · Sum RHO · Choon Bok SONG

Department of Aquaculture, Cheju National University

The diseased larvae of the flounder, *Paralichthys olivaceus*, were sampled several times from a fish hatchery located in Cheju Island between December, 1991 and April, 1992. They turned out to be infected with *Vibrio* sp. and diagnosed as intestinal necrosis of flounder larvae (INFL) based on morphological, biological, and biochemical examinations. INFL was known to be caused by the live food organism infected with *Vibrio* sp. The optimal growth conditions of the isolates for temperature, pH, and NaCl concentration were 20~30°C, 6~8, and 2~4%, respectively. In the drug sensitivity test, the isolates were sensitive to oxytetracycline, nalidixic acid, kanamycin, and novobiocin, but resistant to ampicillin, erythromycin, spiramycin and sulfa-drug.

Key words : Flounder larvae (*Paralichthys olivaceus*), *Vibrio* sp., Intestinal necrosis