

## 쏘가리(*Siniperca scherzeri*) 치어 생산에 있어서 *Aeromonas hydrophila* 감염에 의한 대량 폐사

장선일 · 이완옥 · 이종윤 · 조지현\* · 김신무\*\* · 김강주\*\*\*

국립수산진흥원 청평내수면연구소, \*원광대학교 의과대학 임상병리학교실  
\*\*원광보건전문대학 임상병리과, \*\*\*원광대학 치과대학 구강미생물학교실

### Mass Mortality by *Aeromonas hydrophila* Infection in the Production of the Korean Mandarin Fish Fingerling, *Siniperca scherzeri*

Seon IL Jang, Wan-Ok Lee, Jong Yun Lee, Ji-Hyun Cho\*,  
Shin-Moo Kim\*\* and Kang Ju Kim\*\*\*

Chongpyong Inland Fisheries Institute, National Fisheries Research & Development Agency,  
Kyonggi 477-810, Korea

\*Department of Clinical Pathology, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

\*\*Department of Clinical Pathology, Wankwang Public Health Junior College, Iksan 570-749, Korea

\*\*\*Dept. of Oral Microbiology, College of Dentistry, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

A specific disease syndrome, which led to massive mortality on the Korean mandarin fish fingerling (*Siniperca scherzeri*) at Chongpyong Inland Fisheries Institute was studied. The causative agent isolated from the diseased fish was identified as *Aeromonas hydrophila* on the basis of biochemical and physiological characteristics. Infection experiments in the Korean mandarin fish fingerling, weighting 3-4 g with *A. hydrophila* were conducted by immersion, oral administration, intramuscular injection, and injection of the soluble extracellular products secreted from it. Mortality rate was higher virulence in intramuscular injection group than other experimental groups. In injection group of the soluble extracellular products, all fish treated with high concentration ( $8 \times 10^9$  cfu/ml) were rapidly killed into 3-6 hrs. These results show that the Korean mandarin fish fingerling has high susceptibility to *A. hydrophila*.

Key words : *Siniperca scherzeri*, *Aeromonas hydrophila*, Virulence, Mass mortality

### 서 론

*Aeromonas hydrophila* (*A. hydrophila*)는 전 세계의 하천, 호소나 담수 양어장에 널리 분포되어 있는 어류의 병원성 세균이다(Jonson and Williams, 1972 ; Hazen et al., 1978 ; Kaper et al., 1981). *A. hydrophila*는 온수성 어류의 질

병을 유발시켜 심각한 피해를 주는 그램 음성균으로 운동성이 활발하다(Thune et al., 1986 ; Robert et al., 1992). 이 세균은 수질 환경과 건강 상태가 좋은 어류에 있어서는 질병을 야기시키지 않는 것으로 알려 졌지만, 수질 환경을 비롯한 생리적 스트레스가 가해지면 심각한 질병을 유발하는 것으로 알려졌다(Plumb et al.,

본 논문은 국립수산진흥원 수산시험연구비(1997년)의 지원에 의해 수행되었음

1976 ; Hazen et al., 1978 ; Heuschmann-Brunner, 1978). 또한 Shotts et al. (1972)과 Hawke(1974)는 부영양화된 호수에 이 세균이 파충류와 어류에 감염되어 대량 폐사시키는 것으로 보고한 바 있다.

한편 쏘가리는 옛부터 맛과 향이 좋은 고급 기호 식품으로 한국과 중국내륙의 큰 하천이나 호소에 분포한다(정, 1977 ; 김과 강, 1993). 최근 쏘가리는 하천의 오염과 변형으로 서식지가 파괴되고 남획으로 인하여 생산량이 급격히 감소되고 있어, 수산분야는 물론이거니와 종 보존 차원에서도 매우 심각한 상태에 도달되고 있다. 그러나 지금까지 쏘가리 종묘생산에 대한 기초 연구만 일부(나와 백, 1977 ; 정과 김, 1981) 있을 뿐 종묘생산 기술 개발에 있어서 발생하는 대량 폐사의 원인 구명에 대한 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구는 쏘가리 종묘생산에서 나타나는 대량 폐사 원인 뿐만 아니라 성체에서 발생하는 치명적인 질병 원인이 *A. hydrophila*에 의해 유발됨을 알 수 있었다. 그리고 이 균의 생리 및 생화학적 특성을 밝혀 쏘가리 치어 시기에 감염되는 경로를 실험하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 원인균의 분리와 배양

청평내수면연구소에서 사육중인 쏘가리로부터 폐사의 원인균을 분리하였다. 무게가 200-900 g되는 성체는 소양호의 어부로부터 구입(1996년 6-7월)하여 시멘트 수조(3.5×3.5×0.7 m) 또는 노지못(40×50×1.1 m)에 수용하여 사육하던 중 질병이 발생한 어류와 1997년 5-7월에 부화하여 사육중인 폐사 직전의 치어(전장 : 20-40 mm ; 부화 후 40-50일)의 외부 증상을 관찰한 후 병어의 환부 근육조직과 신장, 간장 및 비장으로 부터 무균적으로 일부의 조직을 절취하여 tryptic soy agar (TSA) 배지에 도말한 후 25℃에서 24-48시간 배양하여 순수 단일 집락을 얻어 집락의 형태를 관찰 하였다.

단일 집락은 다시 TSA 배지에 도말하여 48시간 배양 후 그람염색을 하여 광학현미경(Olymps SMZ-10, Japan)으로 세균의 형태를 관찰하였다.

### 2. 분리균의 동정

병든 쏘가리의 성체와 치어로 부터 분리한 균주의 생물학적인 특성을 알아보기 위하여 MacConkey agar와 TSA배지에 도말한 후 25℃에서 48시간 배양한 후 생화학적 성상을 조사했다. 그리고 *A. hydrophila*의 선택배지로 알려진 Rimler-Shotts 배지에 도말하여 25℃에서 48시간 배양한후 집락의 성상을 조사하였다(Shotts and Rimler, 1973). 분리균의 생화학적 특징을 조사하기 위해서 oxidase외 30여가지의 생화학적 반응 검사를 했고, 표준균주(*Proteus mirabilis*, ATCC 7002 ; *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 27853 ; *Serratia odaorifera*, ATCC 3307 ; *Klebsiella pneumoniae*, ATCC 13883 ; *Acinetobacter cal. bio. antitratus*, ATCC 10606 ; *Yersinia kristensenii*, ATCC 33639 ; *Bordetella bronchiseptica*, ATCC, 10580)를 대조균주로 하여 자동 분석기기(Vitek, bio M rioux Vitek, Inc, USA)를 이용한 생화학적 검사 결과 및 통상적인 생화학적 동정 결과를 비교하여 최종적으로 *A. hydrophila*로 동정했다(Shotts and Rimler, 1973 ; Frerichs and Millar, 1993). 또한 *A. hydrophila*의 생리학적 특성을 알아보기 위해서 nutrient agar (NA), TSA 및 MacConkey agar 배지에 염분 농도(0-5%)을 달리하여 발육되는 상태와 집락의 형태를 조사하였고, 최적온도 범위를 알아보기 위해서 TSA 배지에 도말하여 5-45℃까지의 다른 온도에서 발육 상태를 조사했다.

### 3. 균액 및 가용성 세포외 인자의 제조

병어로부터 분리·동정된 *A. hydrophila*를 TSA broth 배지에 접종하여 24시간 전배양한 후 5,000 rpm으로 원심분리하여 Dulbecco's phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2)에

현탁시킨 후 3회 원심 세척하여 침지(immersion), 경구투여(oral administration) 및 근육 피하주사(intramuscular injection)에 의한 쏘가리 치어의 감염시험에 사용했다. 가용성 세포외 산물(soluble extracellular products)은 6가지 다른 농도( $8 \times 10^4$ - $8 \times 10^9$  cfu/ml)의 세균에서 12 시간 TSA broth 배지에서 배양( $25^\circ\text{C}$ )한 다음 세균을 5,000 rpm으로 침전시킨 후 상층액을 취해서 즉시 또는  $-20^\circ\text{C}$ 에서 보관하면서 가용성 세포외 산물에 대한 폐사 시험에 사용했다.

#### 4. 감염 시험

쏘가리 치어(전장 : 50-60 mm ; 체중 : 3-4 g)는 각 실험군당 10개체를 10ℓ 유리 원형수조(수온  $25-27^\circ\text{C}$  유지)에 1주간 수용하여, 충분한 먹이를 주면서 안정시킨 후 모든 감염시험을 실시하였으며, 폐사율은 시험 개시후 10일간의 생존율을 조사 하였다. 사육수(침지)에 의한 감염시험은 사육수에 최종 균의 농도가  $8 \times 10^4$ - $8 \times 10^9$  cfu/ml 되게 하여 실험했으며, 경구투여에 의한 감염 실험은 feeding needle를 이용하여 여러 가지 다른 농도의 균액( $8 \times 10^7$ - $8 \times 10^9$  cfu/3g·어류)을 개체당 0.1 ml씩 각각 투여했고, 대조군은 PBS를 0.1ml를 투여하여 각 시험군당 10개체를 수용(10ℓ 유리 원형 수조)하였다. 균액 근육피하 주사에 의한 감염실험은 근육에 6가지 다른 농도의 균액( $8 \times 10^4$ - $8 \times 10^9$  cfu/3g·어류)을 개체당 0.1 ml씩 각각 투여했고, 대조군은 PBS를 0.1 ml를 투여 했다. 가용성 세포외 독성 시험은  $8 \times 10^6$ - $8 \times 10^9$  cfu/ml에서 분비된 가용성 세포외 인자를 4.5 μm microfilter로 여과한 다음 쏘가리 치어의

근육피하에 0.1 ml 주사하였고, 대조구는 같은 방법으로 0.1 ml PBS를 주사하였다.

## 결 과

### 1. 질병의 외관상의 특성

*A. hydrophila*에 의해 감염된 성체 쏘가리(Korean mandarin fish, *S. scherzeri*)와 황쏘가리(yellow Korean mandarin fish, *S. scherzeri*)의 질병 증상은 Fig. 1과 같다. 병든 쏘가리는 가슴 지느러미로부터 꼬리 지느러미 쪽을 향하는 미병부의 체표에 적색 반점이 나타났고, 서서히 채색이 흑색화되면서 먹이를 섭취하지 않고 수조바닥에 움직이지 않은 채로 폐사되었다(Fig. 1-A). 황쏘가리의 경우는 체색에 일부 남아 있는 흑색포가 점점 연해져 밝은 노란색이 되면서 수조바닥에서 폐사되었다(Fig. 1-B). 치어의 경우 Fig. 1-C와 같이 체표에 출혈현상이 보이고 아가미와 두부주위에 심한 출혈현상이 나타났으며, 특히 Fig. 1-D의 경우는 복부 아래쪽 항문주위에 종양과 같이 부풀어 오른 상피조직이 나타났다. 수질 환경과 먹이 상태가 좋지 않은 개체에 *A. hydrophila*가 감염되면 치어는 먹이 섭취를 하지 않고 힘없이 유영하다 갑자기 입을 벌린 채로 폐사되었다. 인위적으로 *A. hydrophila*를 근육 피하에 주사하여 감염시킨 후 그 증상을 관찰한 바 사육시 대량으로 폐사되는 증상과 같았다. 부화 후 30일 까지 쏘가리 치어 시기의 폐사율은 53.85-91.14%로 매우 높게 나타났으며, 폐사 진행이 매우 급속히 일어났다(Table 1).

Table 1. Mass mortality of the Korean mandarin fish fingerling for 30 days post-hatching

Hatching day	No. of initial juvenile hatched	No. of final fingerling after 30 days	Mortality rate (%)
1997. 6. 12	6,700	1,500	77.61
1997. 6. 17	28,200	2,500	91.14
1997. 6. 19	2,600	1,200	53.85

The fish were kept in aquarium (2 t) at  $23.0-27.0^\circ\text{C}$  and fed on a rotifer and/or daphnia for 6 days post-hatching and then fed on living fry fish of Cyprinidae. The mortalities were monitored for 30 days.

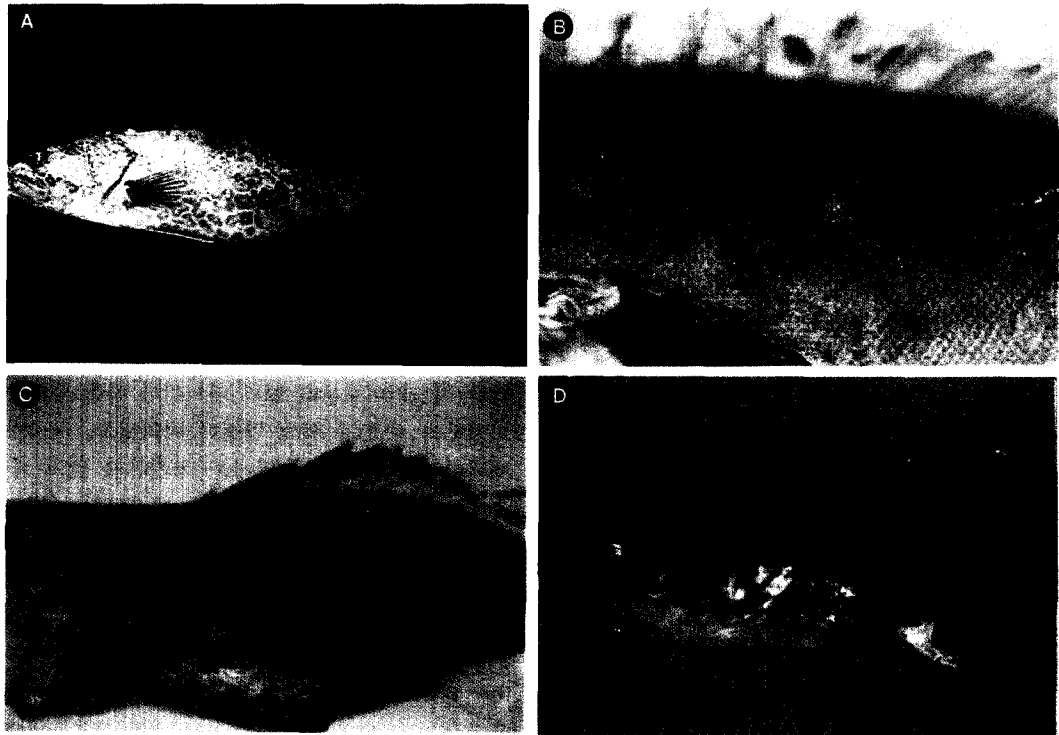


Fig. 1. *Aeromonas haemorrhagic* or tumorosic speticemia of the Korean mandarin fish, *S. scherzeri* infected with *A. hydrophila*. A : the adult Korean mandarin fish (800 g) ; B : the yellow Korean mandarin fish (300 g) ; C : the Korean mandarin fish fingerling (3.5 g) ; D : morphological changes (arrow : tumor-like) in the Korean mandarin fish fingerling (4.0 g) epithelial cells.

## 2. *A. hydrophila*의 생화학적 특성

쏘가리 병어로부터 분리된 균의 생화학적 특징은 Table 2에 나타난 바와 같이 그람음성의 간균으로 1개의 편모를 가지고 있으며 활발한 운동성이 있었다. Oxidase, catalase, indole 반응에 모두 양성이었으며, 토끼 적혈구에 대해  $\beta$ 용혈성을 나타내었다. 또한 포도당을 발효적으로 분해하였고, 가스도 생산하였다. Glucose, sucrose 및 maltose 는 분해하여 산을 생산하였지만, lactose는 분해하지 못했다. Acetamide (ACE), urea (URE) 및 mannitol에는 약한 양성을 보였거나 음성 반응을 보였다. 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxy-diphenylether (DP3), peptone and thryptophan (GC), esculin (ESC), indoxyl- $\beta$ -D-glucoside (PLI), citrate (CIT),

mannitol (MAN), O-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside/isopropyl- $\beta$ -D-thio-galactopyranoside (ONPG), L-arabinose (ARA), arginine dihydrolase (ARG), ornithine decarboxylase (ODC)는 모든 균주에서 양성이었으며, 이외 물질에 대한 반응은 모든 균주에서 음성이었고, 일부에서만 약한 양성을 보였다.

## 3. *A. hydrophila*의 생리학적 특성

병든 쏘가리에서 분리된 *A. hydrophila*의 온도, 염분 농도 및 배지의 종류에 따른 발육상태는 Table 3과 같다. 발육 가능 온도는 5-40 $^{\circ}$ C범위로 저온에서 뿐만 아니라 고온에서도 성장되었으며, 최적 발육 온도는 25-37 $^{\circ}$ C였다. 염분 농도의 범위는 0-3%였으며, 최적 농도는 0-1%였다. 또한

쏘가리(*Siniperca scherzeri*) 치어 생산에 있어서 *Aeromonas hydrophila* 감염에 의한 대량 폐사

Table 2. Biochemical characteristics of *A. hydrophila* isolated from the Korean mandarin fish, *S. scherzeri*

Characteristic	<i>A. hydrophila</i>					Reference bacterial strain (ATCC)						
	M-1	M-2	M-3	FM-1	FM-2	7002	27853	33077	13883	19606	33639	10580
Gram stain	-	-	-	-	-							
Motility	+	+	+	+	+							
Oxidase	+	+	+	+	+							
Catalase	+	+	+	+	+							
Indole	+	+	+	+	+							
Hemolysis	+β	+β	+	+β	+β							
DP3	+	+	+	+	+	-	-	±	-	-	+	-
OFG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
GC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ACE	-	±	-	-	±	-	+	-	-	-	-	-
ESC	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
PLI	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
URE	±	-	-		±	+	±	-	±	-	±	-
CIT	+	+	+	+	+	±	+	+	+	±	-	+
MAL	±	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	±
TDA	-	-	-	-	-	+	±	±	±	±	-	-
PXB	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
LAC/TLA	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	±	-
MLT	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-
MAN	+	+	+	+	+	-	±	+	+	-	+	-
XYL	-	-	-	-	-	+	±	+	+	+	±	-
RAF	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
SUC	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
INO	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
ADO	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
COU	±	-	±	+	+	-	-	+	-	±	-	-
H <sub>2</sub> S	±	+	±	±	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
ARA	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
GLU	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
ARG	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
LYS	-	-	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-
ORN	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	±	-
OXI	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+

M-1, 2, 3 : the bacteria isolated from the adult Korean mandarin fish ; FM-1, 2 : the bacteria isolated from the Korean mandarin fish fingerling ; 7002 : *Proteus mirabilis* ; 27853 : *Pseudomonas aeruginosa* ; 3307 : *Serratia odorifera* ; 13883 : *Klebsiella pneumoniae* ; 10606 : *Acinetobacter cal. bio. antitratus* ; 33639 : *Yersinia kristensenii* ; 10580 : *Bordetella bronchiseptica* ; DP3 : 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxy-diphenylether ; OFG : glucose ; GC : peptone and thryptophan ; ACE : acetamide ; ESC : esculin ; PLI : indoxyl-β-D-glucoside ; URE : urea ; CIT : citrate ; MAL : malonate ; TDA : tryptophan ; PXB : polymyxin B/peptone ; LAC/TLA : Lactose ; MLT : maltose ; MAN : mannitol ; XYL : xylose ; RAF : raffinose ; SOR : sorbitol ; SUC : sucrose ; INO : inositol ; ADO : adonitol ; COU : p-coumaric ; H<sub>2</sub>S : sodium thiosulfate ; ONPG : O-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside/isopropyl-β-D-thio-galacto-pyrano-side ; RHA : rhamnose ; ARA : L-arabinose ; GLU : glucose ; ARG : arginine ; LYS : lysine ; ORN : ornithine.

**Table 3. Physiological characteristics of *A. hydrophila* isolated from the Korean mandarin fish, *S. scherzeri***

Growth	<i>A. hydrophila</i>				
	M-1	M-2	M-1	FM-2	FM-3
0% NaCl					
NA	+	+	+	+	+
TSA	+	+	+	+	+
McConkey agar	+	+	+	+	+
1% NaCl					
NA	+	+	+	+	+
TSA	+	+	+	+	+
McConkey agar	+	+	+	+	+
2% NaCl					
NA	+	+	+	+	+
TSA	+	+	+	+	+
McConkey agar	+	+	+	+	+
3% NaCl					
NA	+	+	±	+	+
TSA	+	+	+	±	+
McConkey agar	±	+	+	±	+
5% NaCl					
NA	-	-	-	-	±
TSA	±	-	-	-	-
McConkey agar	-	-	-	-	-
Growth in temperature <sup>a</sup>					
5°C	±	±	-	-	±
20°C	+	+	+	+	+
25°C	+	+	+	+	+
30°C	+	+	+	+	+
37°C	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+
45°C	-	-	±	-	-

a : growth in TSA medium.

M-1, 2, 3 and FM-1, 2 were the same in table 2.

배지의 종류에 따른 발육 상태와 집락의 형태는 NA배지에서 뿐만 아니라 TSA, RS 및 McConkey agar 배지에서도 발육상태가 좋았으며, NA와 TSA 배지에서 발육되는 집락의 형태는 원형으로 주변이 평활한 반투명으로 회백색의 광택을 나타내었고, RS배지에서는 황색의 원형 집락으로 발육되었다. MacConkey agar 배지에서는 밝은 밤색의 원형집락을 이루며 발육되었다.

### 3. 감염

쏘가리 치어의 양성과정에서 나타나는 대량 폐사의 원인을 알아보기 위하여 전장 50-60 mm (3-4 g)되는 치어를 대상으로 사육수에 의한 감염, 균의 경구 투여, 근육 피하 주사 및 가용성 세포외 산물을 근육 피하 주사하는 등 4가지 다른 인위적인 방법으로 각각 10일 동안 실험한 결과 폐사율은 Table 3과 같다. 경구 투여에 의한 감염 실험에 있어서는 저농도로 부터 고농도까지 거의 모든 실험군에서 폐사체가 없었으나, 침지법에 의한 감염 실험에 있어서는 고농도에서 일부 폐사가 있었다. 근육피하에 균액을 주사한 감염 실험에 있어서는 사용된 모든 농도에서 폐사가 일어났으며,  $8 \times 10^6$  cfu/3g(어체중) 농도 이상에

**Table 4. Pathogenicity of the fingerling Korean mandarin fish, treated with *A. hydrophila* by immersion, oral administration, intramuscular injection and extracellular product injection**

Dose(cfu/tank) or fish	Mortality (%)			
	Immersion	Oral administration	Intramuscular <sup>a</sup>	SEP <sup>b</sup>
Control	0	N	0	0
$8 \times 10^4$	0	N	20	0
$8 \times 10^5$	0	N	60	0
$8 \times 10^6$	0	N	100	0
$8 \times 10^7$	10	0	100	0
$8 \times 10^8$	30	0	100	50
$8 \times 10^9$	40	10	100	100

a : intramuscular injection.

b : intramuscular injection with the soluble extracellular products secreted from *A. hydrophila*.  
N : non test.

The Korean mandarin fish fingerling, total body sizing 50-60 mm (3-4 g) were used in each group. Control fish were treated with 0.1 ml phosphate buffered saline in oral administration, intramuscular injection, or soluble extracellular product group. The fish were kept in aquarium (10ℓ) at 25.0-27.0°C and fed on a living fry fish of Cyprinidae. The mortalities were monitored for 10 days.

있어서는 6-12시간 내에 100% 폐사되었다. 또한 가용성 세포의 인자의 독성에 의한 폐사는 저농도에서는 특별히 영향을 주지 못했으나, 고농도에서는 폐사율이 매우 높았다. 특히  $8 \times 10^9$  cfu/ml에서 분비된 가용성 세포의 인자 실험군은 3-6시간 이내에 모두 폐사되었다. 이들 폐사체들은 폐사되는 시간에 관계없이 외형 및 내부형태에서 동일하였고, 이들 폐사체의 출혈 환부 조직 및 장기에서 무균적으로 일부 조직을 적출하여 TSA 배지 등에 도말하여 원인균을 분리한 결과 질병으로 폐사한 개체들에서와 같은 원인균이 분리되었다.

## 고 찰

*A. hydrophila*에 의해 감염된 성체의 쏘가리와 황쏘가리 질병 증상은 Fig. 1과 같이 무지개 송어(Mittal et al., 1980)와 차넬메기(Angka, 1990; De Figueiredo and Plumb, 1977) 등과 같았으나, 잉어류(Shotts et al., 1972)에서 일련 현상과는 다르게 나타났다. 즉, *A. hydrophila*에 의해 감염된 어류는 가슴 지느러미로부터 꼬리 지느러미 쪽을 향하는 미병부의 체표에 적색 반점이 나타났으며, 서서히 채색이 흑색화되고, 먹이를 섭취하지 않고 수조 바닥 저면에 움직이지 않고 폐사되었다. 황쏘가리의 경우는 채색에 일부 남아 있는 흑색포가 점점 연해져 밝은 노란색이 되면서 수조 바닥에서 폐사되었다(Fig. 1-B). 치어에서는 체표와 아가미 및 두부 주위에 심한 출혈현상이 나타났고, 어떤 경우는 복부 아래쪽 항문 주위에 종양과 같이 부풀어 오른 상피조직이 관찰되었다. 특히 치어시기에 이 세균이 감염되면 대량으로 폐사되어 큰 피해를 주는 것으로 본 연구 결과 알 수 있었다(Table 1).

따라서 본 연구는 이와 같은 병변이 보이는 쏘가리 성체와 치어에서 *A. hydrophila*를 분리하여 생화학적인 특징을 조사한 결과 잉어류, 송어류 및 틸라피아에서 전 연구자들에 의해서 분리된 *A. hydrophila*의 결과와 유사했다(Shotts

et al., 1972; De Figueiredo and Plumb, 1977; Heuschmann-Brunner, 1978; Mittal et al., 1980). 본 연구의 동정을 정확히 하기 위하여 세균 자동분석기와 30여가지 생화학적 반응검사를 실시한 결과 *A. hydrophila*로 정확히 동정되었다. 또한 생리학적인 특징을 조사한 결과 최적 염분 농도와 발육온도는 각각 0-1%와 25-30°C의 범위였다.

*A. hydrophila*는 전 세계의 하천, 호소나 담수 양어장에 널리 분포되어 있는 운동성이 활발한 병원성 그람 음성균(Hazen et al., 1978; Kaper et al., 1981; Robert et al., 1992)으로 온수성 어류에 심각한 질병을 유발시키는 것으로 보고되었다. 특히 이 세균은 수질 환경과 건강 상태가 좋은 어류에 있어서는 질병을 야기시키지 않는 것으로 알려 졌지만, 수질 환경을 비롯한 생리적 스트레스가 가해지면 심각한 질병을 유발시킨다(Hazen et al., 1978). Shotts et al. (1972)은 부영양화된 호수에 이 세균이 파충류와 어류에 감염되어 대량 폐사시키는 것으로 보고한 바 있다. 또한 이 세균에 의해 감염된 자어 또는 치어는 27%이상의 높은 폐사율이 일어나는 것으로 보고된 바 있다(Plumb, 1975). 따라서 *A. hydrophila*는 쏘가리(Table 1)를 비롯한 담수어 초기 시기에 심각한 질병을 유발시켜 큰 피해를 주는 것으로 사료된다.

한편 본 연구에서는 *A. hydrophila*가 쏘가리 치어에 어떠한 경로로 감염되는지 알아보기 위해서 사육수(침지)에 의한 감염, 경구 투여에 의한 감염, 및 근육 피하 주사에 의한 감염 실험을 한 결과 Table 4에서 나타난 바와 같다. 경구 투여에 의한 폐사는 거의 없었으나, 근육 피하 주사에 의한 폐사율은 저농도에서도 폐사율이 높았으며,  $8 \times 10^6$  cfu/3 g(어체중) 이상의 농도에서는 3-12시간 이내에 전량 폐사되었다. 또한 경구 투여한 실험군에 비해 사육수에 의한 감염 실험에서 일부 나타나는 폐사 현상은 아마도 어체내에 이미 존재하는 미세 상처에 의한 감염으로 생각된다. 고농도의 세균액을 쏘가리 치어에 경구투여 했을

때 감염되지 않은 현상은 강력한 육식성 어류에서 내는 소화 효소 때문인 것으로 추정된다. 폐사의 주된 원인을 알아보기 위해서 가용성 세포외 산물을 근육 피하 조직에 주사한 결과 고농도에서 3-6시간 이내에 전량 폐사되었다. 이러한 현상은 *A. hydrophila*에 의해 분비된 세포외 독소에 의한 것이라 사료된다. *A. hydrophila*의 세포외 독성 분비 인자는 독소(toxins), 용혈소(haemolysins), 단백효소(protease), acetylcholinesterase 등으로 알려졌으며, 그 영향도 어류에 심각한 피해를 주는 것으로 보고되었다(Ljungh and Wadstrom, 1982; Thune et al., 1986; Leung and Stevenson, 1988; Nieto et al., 1991; Hanes and Chandler, 1993; Angka et al., 1995). Leung et al. (1996)은 잉어류의 *A. hydrophila* 감염 및 폐사의 직접적인 원인을 밝히기 위해서 시험관내 상피세포에 감염을 시켜 그 현상을 조사한 결과 어류 상피세포의 변형을 유발시켜 상피세포 종양 바이러스의 성장을 촉발시키는 것으로 보고한 바 있다. 본 연구에서도 쏘가리 치어시기에 나타난 상피세포형 종양조직에서 *A. hydrophila*를 분리 했으며, 그 모양은 Fig. 1-D에서 보는 바와 같다. 성체에 있어서도 외부 상처가 없는 어류에 있어서는 이 세균에 감염되지 않았지만, 자망이나 수송 과정에 미세한 상처가 있는 경우에는 쉽게 세균에 감염되어 대부분 일주일 이내에 폐사하는 것을 볼 수 있었다.

이상으로 쏘가리 종묘생산에 있어서 대량 폐사의 주된 원인은 *A. hydrophila*의 감염에 의한 것으로 확인되었으며, 감염 경로는 치어시기에 미세 공식에 의한 체표 상처 부위로 감염되거나, 적은량의 *A. hydrophila*가 감염되어 있다가 수질 환경의 악화나 먹이 섭취의 불량 등의 생리적 스트레스로 면역 세포의 발달과 기능이 저하되어 어체내에서 *A. hydrophila*가 대량 번식하여 폐사되는 것으로 추정된다. 또한 *A. hydrophila*가 쏘가리에 감염되면 상피세포 변형을 촉진하고 여러 가지 세포외 독소에 의해 폐사를 촉진하는 것으로 추정된다. 그러나 앞으로 이 세균의 세포외

독성 물질을 정제해 그 특성을 밝혀야 좀더 확실한 폐사의 원인을 알 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

청평내수면연구소에서 발생한 쏘가리 치어의 대량 폐사 원인을 조사하였다. 병어로부터 분리된 원인균은 생화학적 및 생리학적 특성에 의해 *Aeromonas hydrophila* (*A. hydrophila*)로 동정되었다. *A. hydrophila*을 쏘가리 치어(3-4 g)에 침지, 경구투여, 근육피하 주사 및 세균이 분비한 가용성 세포외 산물 주사 등 여러 가지로 감염 실험을 하였다. 그 결과 근육피하 주사 실험군에 있어서는 다른 감염 실험에서보다 높은 폐사율을 보였고, 가용성 세포외 산물도 고농도( $8 \times 10^9$  cfu/ml)로 처리한 어류에서는 3-6시간 이내에 모두 폐사되었다. 이러한 결과는 쏘가리 치어가 *A. hydrophila*에 감수성이 높은 것을 보여주었다.

## 사 사

본 연구는 국립수산진흥원 수산시험연구비 지원에 의해 수행되었습니다. 또한 연구에 많은 도움을 주신 청평내수면연구소 연구원 및 직원들에게 감사드리며 쏘가리의 사육에 많은 도움을 준 김대천 군에게도 진심으로 감사를 드립니다.

## 참 고 문 헌

- Angka, S. L., 1990. The pathology of the walking catfish *Clarias batrachus* (L) infected intraperitoneally with *Aeromonas hydrophila*. *Asian Fish Sci.*, 3 : 343-351.
- Angka, S. L., T. J. Lam, and Y. M. Sin, 1995. Some virulence characteristics of *Aeromonas hydrophila* in walking catfish (*Clarias batrachus*). *Aquaculture*, 130 : 103-112.
- De Figueiredo, J. and J. A. Plumb, 1977. Virulence of different isolates of *Aeromonas hydrophila* in channel catfish. *Aquaculture*, 11 : 349-354.
- Frerichs, G. N. and S. D. Millar, 1993. *Manual*



- fo isolation and identification of fish bacterial pathogens. Pisces Press, Sterling, Manila, 60 pp.
- Hawke, J. P., 1974. Factors contributing to bacterial fish kills in large impoundments. Thesis, Dept. Fisheries and Allied Aquacultures, Auburn University, Auburn, Ala., 59 pp.
- Hanes, D. E. and D. K. F. Chandler, 1993. The role of a 40-megadalton plasmid in the adherence and haemolytic properties of *Aeromonas hydrophila*. Microbi. Pathogen., 15 : 313-317.
- Hazen, T. C., C. P., Fliermaus, R. P. Hirsch, and G. W. Esch, 1978. Prevalance and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States. Applied Enviro. Microbiol., 36 : 731-738.
- Heuschmann-Brunner, G., 1978. Aeromonads of the *hydrophila-punctata* group in freshwater fishes. Archives für Hydrobiologie, 83 : 99-125.
- Johnson, S. K. and E. H. Williams, 1972. Bacteriological survey of freshwater fishes of the Tensaw River, Alabama. J. Ala. Acad. Sci., 43 : 19-22.
- Kaper, J. B., H. Lockman, and R. R. Colwell, 1981. *Aeromonas hydrophila* : Ecology and toxigenicity of isolates from an estuary. J. Applied Bacteriol., 50 : 359-377.
- Leung, K. Y. and R. M. W. Stevenson, 1988. Characteristics and distribution of extracellular proteases from *Aeromonas hydrophila*. J. Gen. Microbiol., 134 : 151-160.
- Leung, K. Y., T. M. Lim, T. J. Lam, and Y. M. Sin, 1996. Morphological changes in carp epithelial cells infected with *Aeromonas hydrophila*. J. Fish Disea., 19 : 167-174.
- Ljungh, A. and T. Wadstrom, 1982. *Aeromonas* toxins. Phamacology and Therapeutics, 15 : 339-354.
- Mittal, K. R., G. Lalonde, D. Leblance, G. Olivier, and R. Lallier, 1980. *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout relation between virulence and surface characteristics. Canadian J. Microbiol., 26 : 1501-1503.
- Nieto, T. P., Y. Santos, L. A. Rodriguez, and A. E. Eills, 1991. An extracellular acetylcholinesterase produced by *Aeromonas hydrophila* is a major lethal toxin for fish. Microbial Pathogen., 11 : 101-110.
- Plumb, J. A., 1975. An 11-year summary of fish disease cases at the Southeastern Cooperative Fish Disease Laboratory. Proc. Southeast. Assoc. Game Fish Comm., 29 : 254-260.
- Plumb, J. A., J. M. Grizzle, and J. De Figueiredo, 1976. Necrosis and bacterial infection in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) following hypoxia. J. Wildl. Dis., 12 : 247-253.
- Robert, R. J., G. N. Frerichs, and S. D. Millar, 1992. Epizootic ulcerative syndrome : the current position. In Disease in Asian Aquaculture I. pp. 431-436, ed., Shariff, R. P., Subasinghe, R. P. and Arthur J. R., Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila.
- Shotts, E. B. and R. Rimler, 1973. Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. Applied Microbiol., 26 : 550-553.
- Shotts, E. B., J. L. Gaines, L. Martin, and A. K. Prestwood, 1972. *Aeromonas* induced deaths among fish in eutrophic inland lake. J. Ameri. Med. Associ., 162 : 603-607.
- Thune, R. L., M. C. Johnson, T. E. Graham, and R. L. Amborski, 1986. *Aeromonas hydrophila*  $\beta$ -haemolysin : purification and examination of its role in virulence in O-group channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). J. Fish Disea., 9 : 55-61.
- 김익수·강언중, 1993. 원색한국어류도감. 아카데미서적, 서울, 477 pp.
- 나정연·백윤걸, 1977. 쏘가리 양식에 관한 연구. I. 인공부화에 대하여. 수산청 청평양어장 연구보고, 2 : 81-89.
- 정문기, 1977. 한국어도보. 일지사, pp. 304-305.
- 정태영·김찬일, 1981. 실내 실험에 의한 쏘가리의 생활환 연구. 부산대자연과학논문집, 32 : 191-205.