

질병의 증상을 보이는 해수 양식 어류에서 분리한 비브리오속 세균

김수미 · 원경미 · 우승호* · 이 화* · 김은전* · 최광진* · 조미영** · 김명석** · 박수일*†
부경대학교 수산과학연구소, *부경대학교 수산생명의학과, **국립수산과학원 병리연구팀

Vibrios Isolated from Diseased Marine Culturing Fishes in Korea

Su Mi Kim, Kyung Mi Won, Sung Ho Woo*, Hua Li*, Eun Jeon Kim*, Kwang Jin Choi*,
Mi Young Cho**, Myung Suk Kim** and Soo Il Park*†

Institute of Fisheries Science, Pukyong National University, 608-737, Korea

**Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, 608-737, Korea*

***Pathology Division, NFRDI, 619-900, Korea*

A bacteriological survey in maricultured fish farms was conducted in Korea from 2002 to 2004. A total number of 166 *Vibrio* isolates were collected from diseased fishes, including olive flounder (133 isolates), black rock fish (8 isolates), red sea bream (6 isolates), shrimp (5 isolates), black sea bream (4 isolates), abalone (3 isolates) and other fishes (7 isolates). All isolates were phenotypically characterized and then groups were obtained using the traditional biochemical test. Representative isolates of each group were genotypically characterized with sequencing the 16S rRNA genes or 16S-23S intergenic space genes. Above 14 species of *Vibrio* were identified as *V. ichthyenteri* (45 strains), *V. alginolyticus* (34 strains), *V. harveyi* (32 strains), *Ph. damsela* subsp. *damsela* (Formerly *V. damsela*, 10 strains), *V. campbellii* (6 strains), *V. costicola*-like (6 strains), *V. fisheri* (5 strains), *V. fluvialis* (4 strains) and others *Vibrio* sp. (24 strains) by combining of biochemical and genetic characteristics.

Key words : Vibrios, marine fishes, *V. ichthyenteri*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *Ph. damsela* subsp. *damsela*

Vibrio 속 세균은 Gram 음성, 호염기성 간균으로 해수 및 기수 지역에 널리 분포하는 상재 세균으로서 (Huq and Colwell, 1995), 어류 (Austin and Austin, 1999), 갑각류 (Lightner, 1993) 및 연체 동물 (Rheinheimer, 1992)에 이르는 다양한 수산 생물에 가장 큰 영향을 미치고 있다. 기회 감염성 세균으로서 *Vibrio* spp.는 해수 어류의 정상 세균 총을 이루기도 하지만 때로는 질병의 원인체로서 수산 생물의 대량 폐사를 유발하기도 한다.

어류의 질병으로서 비브리오병은 초기에는 *Vibrio anguillarum* 감염증을 주로 지칭하였으나,

최근에는 다양한 담수 및 해수 어종에 감염되는 비브리오속 세균에 의한 감염증을 포괄하는 개념으로 사용되고 있어 여러 가지 *Vibrio* sp.들이 어류의 질병에 관여하고 있고 (Austin and Austin, 1999), 최근 들어 해마다 수산 동물의 질병과 관련하여 *Vibrio* spp.에 대한 보고가 증가하고 있는 추세이다. 이러한 비브리오속 세균은 해수 환경이나 어체의 정상 세균 총으로 존재하기도 하고, 집약적 양식 환경에 의한 어체의 약화로 질병과는 직접적인 관계가 없이 다수 분리되기도 한다 (Eddy and Jones, 2002).

Vibrio 균의 동정에는 일반적으로 각종 생화학

†Corresponding Author : Soo Il Park, Tel : 051-620-6141,
Fax : 051-628-7430, E-mail : parksi@pknu.ac.kr

적 성장 조사, 항체를 이용한 동정, 분자 생물학적 동정법 등이 이용되고 있지만, 생화학적 성상은 중간 혹은 동일 종 내에서도 다양한 결과를 나타내며 항체 동정법도 종간의 교차 반응으로 정확한 동정에 혼선을 빚고 있다 (Chen *et al.*, 1992). 이에 최근에는 16S rRNA 또는 16S-23S rRNA intergenic space (IGS) 등과 같은 유전학적 상호 유연 관계를 조사하여 종을 나누려는 분자 분류학적 방법들이 많이 시도되고 있지만 (Amann *et al.*, 1995; Gurtler and Stanisoch, 1996), 각 균종의 표현형적 특성과 유전형적 특성을 종합하여 동정하는 것이 바람직한 것으로 여겨지고 있다.

우리 나라 해수 어류의 양식 현장에서는 연중 비브리오 속 세균이 높은 빈도로 분리되고 있을 뿐만 아니라 질병의 원인체로서 작용하는 경우도 많아 상당한 경제적 손실을 유발하고 있지만, 질병의 원인 병원체를 정확히 동정하기 보다는 비브리오병이라고 포괄적으로 진단하여 대책을 강구할 뿐 분리 균에 대한 미생물학적 종 동정 또는 어병학적 병원성 시험에 대한 연구는 미미한 실정이다. 이로 인하여 어병 대책 수립에 필수적인 병원체에 관련된 정확한 정보가 부족하여 매년 그 피해가 증가 일로에 있다.

본 연구에서는 최근 3년간 다양한 질병의 증상을 보이는 넙치 및 양식 수산 생물에서 비브리오 속 세균을 분리하고 이들 분리 균주의 각종 생화학적 성장 및 분자 생물학적 특성에 기초하여 동정함으로써, 우리 나라 양식 어류에 대한 비브리오병의 원인체로서 작용할 가능성이 있는 세균 종의 조성을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

시험 어류

시험어는 조사 대상 양식장의 양식 어류로서, 양식 어종별로 매회 3~5마리를 채포하여 조사 연구에 사용하였다. 시험 어류는 양식장의 사정에 따라 정상어와 병어로 구분하여 조사하였으

며, 먹이 섭취 행동, 체색 및 체표 등에 이상이 있는 병어를 대상으로 미생물학적 조사를 실시하였다. 조사 대상 양식장은 조사 지역과 대상 어종에 따라 육상 수조식, 가두리 및 지수식 양식장 등 여러 가지를 포함하였다.

표준 균주

분리 균주의 동정을 위하여 생화학 성장 및 유전자 분석 시 비교 균주로 사용한 표준 균주는 Table 1과 같고, 이 외에도 본 연구실에서 보유하고 있지 않은 균종에 대해서는 Bergey's manual (Holt *et al.*, 1994) 및 GenBank에 등재되어 있는 비브리오속 세균의 자료와 비교하였다.

세균의 분리 및 배양

이 조사에서는 주로 어병 세균이나 이와 관련성이 예상되는 병원체를 분리 검출하는데 중점을 두었다. 시험어의 미생물 검사는 무균적으로 해부한 시험어의 간, 신장, 비장, 뇌 등의 내부 장기 및 복수 등과 함께 증상에 따라 지느러미 부식, 피부 궤양과 같은 체표 환부를 채균 시료로 사용하였다. 그리고 동일한 균주가 한 어체의 여러 장기에서 분리되는 경우에는 신장 또는 뇌에서의 분리균을 대표 균주로 선정하였다.

검사용 배지

검사용 배지는 NaCl 1.5% 첨가 BHIA 배지, TSA 배지, TCBS 배지, SS 배지 등을 사용하였으며 집중한 배지는 25°C, 24~48시간 배양한 다음 배양 성상을 확인하고 배양 상태에 따라 우점 colony를 선택하여 순수 분리 배양하였다. 순수 분리된 배양균 가운데 TCBS 배지에 잘 자라는 세균을 *Vibrio* 속 세균으로 간주하고 이후의 실험에 사용하였다.

생화학 성장에 따른 동정

1.5% NaCl 첨가 TSA에 25°C, 24시간 배양된 균주의 집락을 대상으로 상법에 따라 Gram stain

염색성과 형태를 관찰하였으며, 세균의 운동성을 판정하였다.

분리균의 중분류를 위한 생화학적 시험 방법은 MacFaddin (2000)의 방법에 따랐으며, Oxidase test는 Cytochrome oxidase 시험지법, Catalase test는 3% H₂O₂를 이용한 slide 반응법 및 Hugh and Leifson's method에 의한 OF test 등을 실시하였다. 여기서 비브리오속 세균으로 추정되는 것과 기타 세균으로 나누어 시험균을 선정하고 다음 시험에 사용하였다.

시험균의 동정을 위하여 Simmons's citrate, Nitrate 환원능, TSIA test, Kovac's Indole, Methyl red (Clark-Lub's medium), VP test를 실시하였고, 탄수화물 분해능 시험으로서 Phenol red base medium에 유일한 에너지원으로 각각의 당 (20종)을 1% 혹은 0.5% 첨가하여 탄수화물 이용능을 조사하였다. 그리고 아미노산 분해능을 알기 위하여 Lysine, Ornithine에 대한 decarboxylase 시험과 Arginine에 대한 dihydrolase 시험을 실시하였다. 이 밖에도 시험균의 반응 특성에 따라 각각의 목적에 해당되는 생화학적 시험 항목을 추가하여 조사하였으며 Table 1의 표준 균주에 대한 생화학 성상도 동일하게 조사하였다. 이상의 결과를 토대로 하여 Holt *et al.* (1994)의 Bergey's manual 제 9판 및 각종 어병 세균에 대한 생화학 성상 자료를 참고하여 속 또는 종으로 동정하였다.

유전자 분석

생화학적 성상에 따라 유사한 group으로 나누고 각각의 group별 대표 균주에 대해서는 16S rRNA 유전자의 앞부분 약 500bp 이상을 direct sequencing하여 비교 분석하거나, 16S-23S Intergenic spacer (IGS)의 유전자를 gene cloning하여 표준 균주 (Table 1) 및 GenBank에 등재되어 있는 자료와 비교하였다.

분리 균주 및 참조 균주들의 16S rRNA 유전자 분석을 위하여 사용한 primer는 5'-AGT GTT TGA TCM TGG CTC AG-3' (27F)와 5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3' (1492R)이었고, 16S-23S IGS를 증폭시키기 위하여 사용한 primer는 5'-GCG CTG GAT CAC CTC CTT T-3' (*E. coli* 16S rRNA 부분의 1523~1540 bp)와 5'-TGC CAA GGC ATC CAC CGT T-3' (23S rRNA 부분의 21~38 bp)이었다.

각 group별 대표 균주의 염기 서열과 표준 균주의 유전자 서열 및 GenBank에 등록되어 있는 35종의 *Vibrio* 속 세균의 유전 정보를 Clastal W program (Thompson *et al.*, 1994)을 사용하여 multiple alignment하고 각 균종 간의 상동성을 비교 분석하였다.

균주의 보존

분리 균주 및 동정된 균주를 10% glycerine 첨가 nutrient broth 배지에 현탁한 다음 -80°C에 동결 보존하면서 시험에 사용하였다.

Table 1. The reference strains

Reference strain		Reference strain	
<i>Vibrio alginolyticus</i>	ATCC 17749	<i>Vibrio logei</i>	ATCC 29985
<i>Vibrio anguillarum</i>	ATCC 19264	<i>Vibrio mimicus</i>	ATCC 33653
<i>Vibrio harveyi</i>	ATCC 35084	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 33844
<i>Vibrio ichthyoenteri</i>	ATCC 70023	<i>Vibrio proteolyticus</i>	ATCC 15338
<i>Vibrio campbellii</i>	ATCC 25920	<i>Vibrio vulnificus</i>	ATCC 27562
<i>Vibrio fluvialis</i>	ATCC 33809	<i>Photobacterium damsela</i> ssp. <i>damsela</i>	ATCC 33539

결 과

세균의 분리

본 조사 연구는 2002~2004년도 5월에서 9월에 실시하였으며, 제주도를 비롯한 동서남해안의 여러 양식장에서 채색 흑화, 체표 껍양 및 내부 장기의 비대 및 위축 등의 증상이 있는 병어에서 세균을 분리하였다. Table 2에 나타낸 총 166 개의 분리 균주에 대한 지역별 분리 균주 비율은 제주 지역이 약 50%, 동해 및 남해가 40%, 서해 지역이 10% 정도를 차지하였다.

분리 균주의 어종별 조성은 넙치가 전체 균주의 약 80%를 차지하였으며, 어체의 크기는 양식장의 상황에 따라 치어에서 성어까지 다양한 크기의 어류를 대상으로 하였다. 넙치 이외에는 조피볼락에서 8균주, 참돔에서 6균주를 분리하였으며 이 이외에도 대하 (*Penaeus chinensis*), 감성돔 (*Acanthopagrus schlegeli*), 전복 (*Haliotis discus hannai*), 숭어 (*Mulgil cephalus*), 볼락 (*Sebastes inermis*), 터봇 (*Scophthalmus maximus*), 강도다리 (*Platichthys stellatus*) 및 돌돔 (*Oplegnathus fasciatus*) 등에서도 19개의 균주가 분리되었다.

분리 균주의 동정

TCBS agar 배지상에서 *Vibrio* 속으로 추정되는 convex 또는 flat form의 청색 또는 노란색의

colony를 형성하는 166 균주를 대상으로 생화학 적 성상을 조사하였다 (Table 3).

모든 분리 균주들은 Gram 음성의 간균으로서 운동성이 활발하였으며, Catalase와 Oxidase를 생성하였다. 대부분의 분리 균주는 1.5% NaCl이 첨가된 TSA 배지에 희선 도말하였을 때 투명 혹은 크림색의 colony를 형성하였지만 *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*로 동정된 세균은 고형 배지상에서 swarming activity를 나타내었다.

세균의 동정은 우선, 생화학적 성상이 유사한 균주를 그룹별로 구분하였다. 이때 Arginine dihydrolase, Lysine decarboxylase, Ornithine decarboxylase의 결과를 우선적인 성상으로 기준 삼았으며, 그 다음으로 Indole, Methyl red, Voges-Proskauer, Simmon's citrate test의 결과와 각종 당 이용능에 따라 유사 균주를 구분하고 Bergey's manual 및 각종 어병 세균에 대한 조사 연구 (Austin and Austin, 1999; Bryant *et al.*, 1986; Lee *et al.*, 2004; Zorrilla *et al.*, 2003)를 바탕으로 그룹별의 분리 균주를 Table 3과 같이 동정하였다.

Table 3에 나타낸 각 그룹별 대표 균주에 대해서는 16S rRNA gene을 분석하였으며 주요 세균 종과의 유전자 상동성은 Table 4와 같다. 16S rRNA gene만으로는 근연종과의 구별이 어려운 group 1, 4, 5, 7, 8 및 10 (*V. ichthyoenteri*, *V. damsela*, *V. campbellii*, *V. pelagius*, *V. fisheri*, *V. flu-*

Table 2. Number of *Vibriosis* isolated from diseased fishes from 2002 to 2004

Year	Isolated number of bacteria				Total
	Olive flounder (<i>Paralichthys olivaceus</i>)	Black rockfish (<i>Sebastes schlegeli</i>)	Red sea bream (<i>Pagrus major</i>)	others	
2002~2003	63	7	6	9	85
2004	70	1	0	10	81
Total	133	8	6	19*	166

* Shrimp (*Penaeus chinensis*, 5), Black sea bream (*Acanthopagrus schlegeli*, 4), Abalone (3), Mullet (*Mulgil cephalus*, 2), Rock fish (*Sebastes inermis*, 1), turbot (*Scophthalmus maximus*, 2), Starry flounder (*Platichthys stellatus*, 1), Parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*, 1).

Table 3. Biochemical characteristics of *Vibrio* spp. isolated from diseased marine fishes

Tested items	Groups of biochemical characteristics (number of bacteria)												
	1 (45)	2 (34)	3 (32)	4 (10)	5 (6)	6 (6)	7 (5)	8 (4)	9 (3)	10 (3)	11 (2)	12 (2)	13 (1)
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Swarming on TSA (1.5%NaCl)	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Arginine dihydrolase	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+
Lysine decarboxylase	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-
Ornithine decarboxylase	-	-(v)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TSIA	K(A)/ A	K(A)/ A	K(A)/ A	K(A)/ A	K/A	A/A	A/A	A/A	K(A)/ A	A/A	K(A)/ A	K/A	A/A
Nitrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
OF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Indole	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
Methyl red	+	+	+	+	+	+	+(v)	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	-	+(v)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Simmon's citrate	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+(v)	+(v)	+	+
Acid production from													
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellibose	-	-	+	-(v)	+(v)	-	+	-(v)	+	+	-	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	-	-	+	+	-(v)	-	+	+	+	+	+(v)	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Maltose	+	+	+	+	+	+(v)	-	+	+	+	+	+	+
Mannitol	-	+	+	-(v)	+(v)	+(v)	+(v)	-(v)	+	+(v)	+(v)	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+(v)	-	+	+(v)	+	-	+	+
Melibiose	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	+	-(v)	-	-	-(v)	-(v)	-	-(v)	-(v)	+	-
Sorbitol	-	-	+(v)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Sucrose	+(v)	+(v)	+(v)	-(v)	-(v)	+	+(v)	+	+(v)	+	+	-	+
Trehalose	+	+	+	+(v)	+(v)	+	-(v)	+	+	+	-	+	+
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TCBS	Y(v)	Y(v)	Y	G(v)	G	Y	Y(v)	Y	Y(v)	Y	Y	G	Y

(v), Variable results; Y, yellow colony; G, green colony.

vialis) 등 6개의 group에 대해서는 16S-23S intergenic spacer region (ISR)의 유전자 분석을 실시하여 확정 동정하였다 (자료 미제시).

이상의 생화학 및 분자 생물학적 특성을 조합하여 166개의 분리 균주를 Table 5와 같이 동정하였다. *V. ichthyenteri*가 27.11%로서 가장 많았고, *V. alginolyticus* (20.48%)와 *V. harveyi* (19.28%)가 차지하는 비율이 월등히 높았다. 다음으로 *Ph. damsela* subsp. *damsela* (formerly, *V. damsela*)가 10균주 분리되어 6.02%를 차지하였으며, 이 외에도 9종 이상의 다양한 세균종이 분리 동정되었다. 한편, 유전자 분석을 실시하지 않았거나 생화학 성상과 유전자 서열을 종합하였을 때 불명확한 결과를 나타낸 나머지 균종에 대해서는 생화학적 성상에 기초하여 유사 세균 (like) 또는 미동정 균으로 구분하였다 (Table 4).

총 166개의 균주 중 133개가 넙치에서 분리 동정 되었으나, 넙치 이외에도 조피볼락에서 *V. alginolyticus* (2)와 *V. harveyi* (6)가 분리되었고, 참돔에서는 *V. harveyi* (6)만에 분리되었다. 그리고 대하에서는 *V. harveyi* (3), *V. damsela* (1) 및

V. campbellii (1)가, 감성돔에서는 *V. alginolyticus* (2), *V. campbellii* (1) 및 *V. fluvialis* (2) 등 여러 종이 분리되었으며, 전복에서도 *V. alginolyticus*와 *V. fisheri* 이외에도 미동정 균주가 각각 1균주씩 분리되었다.

고 찰

세균의 분리 분포는 분리 지역, 시기 및 어종 등에 따라서도 많은 차이가 있기 때문에 최근 들어 이들 특성을 고려한 세균 분포 및 어류 질병 연구에 대한 필요성이 인정되고 있으며, 전 세계적으로 각 해역별, 어종별 세균의 분리 분포 상에 대한 조사에 대한 보고가 많다 (Eddy and Jones, 2002; Zorrilla *et al.*, 2003).

본 연구자는 최근 3년간 우리 나라 넙치 양식장 및 일부 해수 어류 양식장에서 분리한 총 500여개의 분리 균주를 조사한 결과, 비브리오속 세균 (33.2%), *E. tarda* (29.8%), 연쇄상 구균 (31.6%) 및 기타 세균 중 (5.4%) 순으로 나타났다. 본 연구에서는 가장 높은 분리 빈도를 나타낸 비브리

Table 4. Nucleotide sequence similarity (%) of 16S rRNA of isolated strains and reference strains

Isolated group	Reference <i>Vibrio</i> sp.									
	ich	alg	har	dam	cam	fis	flu	pel	par	ang
1*	98	95	96	93	96	93	87	96	96	96
2		99	99	92	98	93	96	97	99	95
3			99	92	99	94	95	98	99	94
4*				98	92	91	93	91	93	91
5*					99	94	95	98	98	95
7*						97	91	94	93	92
8*							98	94	96	94
10*								98	97	94
12									99	95
13										99

ich, *V. ichthyenteri*; alg, *V. alginolyticus*; har, *V. harveyi*; dam, *V. damsela*; cam, *V. campbellii*; fis, *V. fisheri*; flu, *V. fluvialis*; pel, *V. pelagius*; par, *V. parahaemolyticus*; ang, *V. anguillarum*.

*, 16S-23S IGS gene analyzed groups; 6, 9, 11 and 14 group were not yet analyzed.

오속 세균의 종 조성을 조사하였으며, 우리 나라 해수 어류에서 분리되는 세균 상과 다양한 증상을 보이는 어류로부터 질병의 원인 세균의 가능성이 있는 세균 종을 screening하였다.

Lee *et al.* (1991)은 동절기 우리 나라 남해안 양식장에서 궤양증 및 복수증에 걸린 넙치로부터 분리한 미생물상을 생화학적 성상에 기초하여 동정한 결과, *V. tubiashii*, *V. damsela*, *V. anguillarum*, *V. campbellii*, *V. fluvialis* 등이 높은 빈도로 분리되었다고 하였다. 그리고 Lee *et al.* (2004)은 2002~2003년도에 양식 넙치의 복수증 으로부터 *E. tarda* 외에도 *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *Ph. damsela*, *V. metschnikovii*를 우점적으로 분리한 바 있다. 이에 비해 본 연구에서는 하절기에 집중적으로 발

생하는 비브리오병의 관련 원인체를 동정하기 위해 다양한 증상을 보이는 어류로부터 세균을 분리한 결과, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *Ph. damsela* subsp. *damsela*가 차지하는 비율이 비교적 높았다는 점에서는 Lee *et al.* (2004)의 결과와 유사하지만 본 연구에서는 훨씬 다양한 비브리오 종 (14종 이상)을 분리 동정하였다. 특히, 비브리오병의 대표적인 원인체로 알려져 있는 *V. anguillarum*이 1990년에는 상당히 높은 비율로 분리되었으나 본 조사 연구 및 Lee *et al.* (2004)의 보고에서는 거의 분리되지 않았다는 점에서 비브리오병의 원인체가 *V. anguillarum* 이외의 다른 종으로 최근에 매우 다양해지고 있음을 알 수 있었다.

현재 비브리오 속 세균은 약 45개 이상에 달

Table 5. List of *Vibrio* spp. isolated diseased marine fish cultured in Korea from 2002 to 2004

Group	Species	2002~2003		2004		Total		(%)
		flounder	other	flounder	other	flounder	other	
1	<i>V. ichthyoenteri</i>	11	1	33	-	44	1 ¹⁾	27.11
2	<i>V. alginolyticus</i>	18	1	11	4	29	5 ²⁾	20.48
3	<i>V. harveyi</i>	5	17	9	1	14	18 ³⁾	19.28
4	<i>V. damsela</i> (<i>Ph. damsela</i> subsp. <i>damsela</i>)	6	1	3	-	9	1 ⁴⁾	6.02
5	<i>V. campbellii</i>	3	-	1	2	4	2 ⁵⁾	3.61
6	<i>V. costicola</i> -like	6	-	-	-	6	-	3.61
7	<i>V. fisheri</i>	2	1	1	1	3	2 ⁶⁾	3.01
8	<i>V. fluvialis</i>	2	-	-	2	2	2 ⁷⁾	2.41
9	<i>V. splendidus</i> -like	2	-	1	-	3	-	1.81
10	<i>V. pelagius</i> (<i>L. pelagia</i>)	2	-	1	-	3	-	1.81
11	<i>V. ordalii</i> -like	-	-	1	1	1	1 ⁸⁾	1.21
12	<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-	2	-	2	-	1.21
13	<i>V. anguillarum</i> (<i>L. anguillarum</i>)	1	-	-	-	1	-	0.60
14	<i>Vibrio</i> sp. (unidentified)	7	1	5	-	12	1 ⁹⁾	7.83
Total		65	22	68	11	133	33	100

¹⁾ Abalone (1); ²⁾ Black rock fish(2), turbot(1), Parrot fish(1), Black sea bream(1); ³⁾ Black rockfish (6), Red sea bream (6), Shrimp(3), Rock fish(1), Mullet(1), Starry flounder (1); ⁴⁾ Shrimp(1); ⁵⁾ Shrimp(1), Black sea bream(1); ⁶⁾ Mullet (1), Abalone(1); ⁷⁾ Black sea bream(2); ⁸⁾ Turbot(1); ⁹⁾ Abalone (1).

하는 종으로 구분되고 있지만 (Euzeby, 1997), 같은 종이냐 할지라도 표현형이나 유전형에 다양성이 인정되고 (Alsina and Blanch, 1994), 분리 유래에 따라서 그 특성이 변화하여 비브리오 종을 동정할 때 이 모든 특성을 종합적으로 조합하여 동정해야하므로 분리 세균에 대한 종 수준의 동정에는 사실상 어려움이 많다. 본 연구에서는 생화학 성상을 기초로 하여 분리 균주를 분류하고 생화학 성상만으로 1차 동정을 실시하였다. 2차 동정 시험에서는 각각의 분리 균주에 대하여 16S rRNA 유전자를 분석하여 생화학 성상과 조합하여 동정하였다. 그러나 16S rRNA는 계통발생학적으로 근연한 종간에는 그 유전적 다양성이 부족하다고 알려져 있으며 (Krawiec and Riley, 1990), 본 연구에서도 98% 이상의 상동성을 보이는 균종도 다수 존재하여 정확한 동정에 다소 혼선을 빚기도 하였다. 이에 비해 16S-23S IGS는 16S rRNA에 비해 종 특이적인 염기 서열을 가지며 tRNA의 종류에 따라 길이도 종간에 차이가 있어 (Gurtler and Stanisich, 1996), 이 부분을 이용하여 근연 관계의 종도 동정이 가능하였다.

본 연구에서는 14종 이상의 세균이 넙치 및 양식 생물에서 분리되었는데, 이들 각각의 세균 종에 대한 환경, 미생물학적 영향 및 어병학적 해석은 다음과 같다.

본 연구에서 가장 많이 분리된 *V. ichthyenteri*는 우리 나라 및 일본의 넙치 자어의 장관 백탁증의 원인체로서 (Ishimura *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2004), 넙치 자어기 특징적으로 대량폐사를 유발하는 중요한 어병 세균 중의 하나이지만, 본 연구에서는 넙치 중간 육성기에 많이 분리되었다는 점에서 특이할 만하였다. 특히 45개 균주 중 32개의 균주가 제주도에서 분리되었으며, 이들 제주 분리 균주는 남제주 지역에서 수온 18°C 전후의 6월에 편중되어 있었다. 그러나 일반적으로 이들 세균 종은 부화 후 30~40일령 이후의 넙치에는 병원성을 나타내지 않는다는 점 (Ishimura *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2004)을 감안해

볼 때, 중간 육성기 넙치에서 여러 가지 환경 요인이 작용하여 일시적으로 어류의 내부 장기에 서 다수 분리되었을 것으로 추정된다.

다음으로 *V. alginolyticus*는 연안 해역에서 흔히 분리되는 세균으로서 (Farmer and Hickman-Brenner, 1992; Shin and Jung, 1996), 이 세균이 어류의 건강에 미치는 영향은 아직까지 불명확하여, 연구자 혹은 분리 균주에 따라 병원체 (Lee *et al.*, 1996; Sedano *et al.*, 1996)로 인식되기도 하고, 때로는 probiotic (Austin *et al.*, 1995; Grisez *et al.*, 1997)로 평가되기도 한다. 본 연구에서는 이들 세균이 2번째로 많이 분리되어 질병과의 상관 관계를 살펴 볼 필요성이 있을 것으로 생각한다.

*V. harveyi*와 *V. carchariae*는 원래 서로 다른 종으로 인식되어 왔으나, Pedersen *et al.* (1998)이 후자를 전자의 junior synonym으로 규정함에 따라 두 종이 *V. harveyi*로 통합되었다. 그러나 이들 두 type은 어병학적 관점에서 현저한 차이가 있는데 *V. harveyi* type은 새우류를 비롯한 무척추 동물 (Sunnaryanto *et al.*, 1986; Lavilla-Pitogo *et al.*, 1990)에서, *V. carchariae* type은 어류 (Soffientino *et al.*, 1999; Yii *et al.*, 1997)에서 주로 분리되고 있다. 이들 세균은 *V. alginolyticus*와 유사한 점이 많아 동정에 어려운 점이 있었지만 본 연구에서는 생화학적 성상의 주요한 차이점 (*V. harveyi*, Arginine/Lysine/Ornithine -/+/, VP 음성) 이외에도 16S rRNA 부분의 특이 유전자 서열을 이용하여 *V. harveyi* (*V. carchariae*)임을 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 3번째로 많이 분리되었으며, 모두 *V. carchariae* type인 것으로 조사되었다. 이 종은 넙치 뿐만 아니라 조피볼락과 참돔에서도 우점적으로 분리되어 다양한 해수 어류에 영향을 미칠 가능성이 있을 것으로 생각한다.

Photobacterium damsela subsp. *damsela*는 *Vibrio* 속에서 *Photobacterium* 속으로 분류학적 위치가 변경되었지만 (Smith *et al.*, 1991), 여전히 비브리오의 범주에 넣어 취급하는 경향이 있다

(Austin and Austin, 1999). 이 종은 복수증이나 출혈성 궤양을 일으키는 대표적인 어병 세균 중의 하나로 보고되고 있고 (Egidius, 1987), 우리나라에서는 겨울철 양식 넙치의 출혈성 등 궤양 부위에서 집중적으로 분리되었다는 보고 (Lee *et al.*, 1991)와 하절기 복수증 넙치에서 비교적 높은 빈도로 분리된다는 조사 결과가 있지만 (Lee *et al.*, 2004), 양식 넙치에 대한 감염력이나 독성에 대한 연구는 거의 없다. 본 연구에서 분리한 10개의 균주는 Love *et al.* (1981)과 Kelly *et al.* (1991) 동정 기준에 잘 일치하였고, 16S rRNA 분석 결과에서도 *Vibrio* 속 세균들과는 명확한 차이를 보였다.

*V. campbellii*는 최근 gilt-head sea bream에서 질병을 유발한다는 보고가 있고 (Balebona *et al.*, 1998), 새우류에 대한 높은 병원성을 가진다고 알려져 있다 (Hameed and Rao, 1994). 또한 우리나라 해수 환경 및 질병의 증상을 보이는 넙치에서 비교적 높은 빈도로 분리되는 세균 종으로서 (Lee *et al.*, 1991; Kang, 2003), 본 연구에서도 넙치에서 4균주, 대하 및 감성돔에서 각각 1균주씩 분리되어 주목할 만한 *Vibrio* 종이라고 여겨진다.

본 연구에서 *V. costicola*-like로 동정한 6균주는 아직까지 분자 생물학적 특성 조사가 완결되지 않았지만 생화학 성상으로 볼 때 *V. costicola*와 가장 가까운 것으로 나타났다.

본 연구에서 3% 미만으로 비교적 낮은 빈도로 분리된 세균 종중에는 어병 세균으로서 알려져 있는 종이 다수 포함되어있다. *V. fisheri*는 일반적으로 해수 유래의 세균으로 여겨지고 있지만 (Austin and Austin, 1999), 터봇 (Lamas *et al.*, 1990)과 gilt-head sea bream (Balebona *et al.*, 1998; Zorrilla *et al.*, 2003)에서 질병과 연관하여 분리된 바 있어 어병 세균으로서 인정되기도 하는 세균이며, *V. splendidus*는 정상 해수 세균 층에 속하는 세균으로서 해수 중에 114일 이상 생존할 뿐만 아니라 (Lopez and Angulo, 1995), 때로는 수종의 어류나 무척추 동물에 폐사를 유발

하는 종으로 보고 되기도 한다 (Bacticados *et al.*, 1990; Nicolas *et al.*, 1996). *Listonella pelagia*는 지느러미 부식, 내부 장기의 출혈 등의 증상을 보인 터봇 치어에서 분리된 바 있고, 무지개 송어 및 터봇에 인위 감염시 병원성도 비교적 높은 것으로 보고되어 (Angulo *et al.*, 1992), 주목할 만한 종으로 여겨진다.

*Vibrio anguillarum*은 연안 해수에 편재하는 세균으로서 (Muroga *et al.*, 1986a), 다양한 온수성 어종 및 냉수성 어종에 전형적인 출혈성 패혈증을 유발한다고 알려져 있는 비브리오병의 대표적인 원인체이며 (Toranzo and Barja, 1990, 1993; Actis *et al.*, 1999), 현재는 새로운 속인 *Listonella*에 귀속되어 *Listonella anguillarum*으로 명명되고 있다 (MacDonell and Colwell, 1985). 우리나라 뿐만 아니라 일본의 경우에도 참돔 (Muroga and Tatani, 1982), 복어 (Muroga *et al.*, 1987) 및 넙치 (Yamanoi *et al.*, 1988)와 같은 해수 어류에 발생하는 비브리오병의 원인체로 많은 보고가 있어왔지만, 본 연구에서는 이들 세균 종이 넙치에서 단 1균주만이 분리되어 최근 해수 어류 양식장에서 발생하는 비브리오병의 원인체는 *Listonella anguillarum*이 아닐 가능성이 큰 것으로 조사되었다. *V. ordalii*는 이전 분류에서 *V. anguillarum* biotype 2 (Schiewe and Crosa, 1981)이었으나 생화학적 및 유전학적 차이에 의해 새로운 종으로 분류되었다 (Schiewe *et al.*, 1981). 이 종은 일본에서는 조피볼락 및 은어의 비브리오병의 원인체로 (Muroga *et al.*, 1986b) 잘 알려져 있지만, 본 연구에서는 넙치와 터봇에서 각 1균주만이 분리되었다. 그러나 본 연구에서는 조피볼락에 대한 조사가 집중적으로 이루어 지지 않아 어종별 세균 종 조사가 필요할 것으로 생각된다.

이 외에도 기타 어류 병원성 비브리오로 알려져 있는 종은 *V. cholerae* (non-O1), *V. furnissii*, *V. logei*, *V. salmonicida*, *V. trachuri*, *V. vulnificus* 등이 있고 (Austin and Austin, 1999), 이 외에도 해마다 신종의 해양 비브리오 종이 보고되고 있으며 이

들이 수산 동물에 미치는 영향도 다양한 측면에서 연구되고 있다. 본 연구에서도 166개의 분리 균주 가운데 13개의 균주는 동정이 불가능하였으며, 그 생화학적 성상 및 분자 생물학적 성상이 다양하여 동정한 균 종 외에도 다수의 세균 종들이 존재할 것으로 생각된다.

본 연구의 결과에서는 질병의 증상을 보이는 어류에서 15종 이상의 다양한 비브리오 속 세균이 분리 동정되었지만, 분리된 모든 세균이 어류의 질병과 직접적인 관련성이 있는지에 대해서는 검토 중에 있으며 이들 세균 종 또는 균주들의 감염력 검사 및 독성 시험 등과 환경 요인과의 상관관계 등에 대한 차후 조사가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 2002년에서 2004년간 우리 나라 해수 어류 양식장에서 분리되는 세균 중 비브리오 속에 속하는 세균의 종 조성을 조사하였다. 질병의 증상을 보이는 어류로부터 166개의 비브리오속 세균 균주를 수집하였으며, 이들 균주는 넙치 (133 균주), 조피볼락 (8 균주), 참돔 (6 균주), 대하 (5 균주), 감성돔 (4 균주), 전복 (3 균주) 및 기타 해수 어류 (7 균주) 등에서 분리한 균주를 대상으로 하였다. 모든 분리 균주에 대하여 각종 생화학적 성상을 조사하고 그 특성에 따라 분리 균주를 구분하였다. 각 생화학적 성상 group에서 대표 균주를 선정하여 16S rRNA 및 16S-23S rRNA 유전자 서열을 분석하고 이들 결과를 종합하여 분리 균주를 동정하였다. 그 결과 14종 이상의 비브리오 종으로 동정할 수 있었으며, 그 종 조성은 *V. ichthyoenteri* (45 strains), *V. alginolyticus* (34 strains), *V. harveyi* (32 strains), *Ph. damsela* subsp. *damsela* (Formerly *V. damsela*, 10 strains), *V. campbellii* (6 strains), *V. costicola*-like (6 strains), *V. fisheri* (5 strains), *V. fluvialis* (4 strains) 및 *Vibrio* spp. (24 strains) 등이었다.

감사의 글

본 연구는 국립수산과학원의 연구 지원 사업에 의해 수행된 연구 결과임을 밝힙니다.

참 고 문 헌

- Alasina, M. and Blanch, A. R.: Improvement and update of a set of keys for biochemical identification of *Vibrio* species. *J. Appl. Bacteriol.*, 77: 719-721, 1994.
- Amann, R. I., Ludwig, W. and Schleifer, K. H.: Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59: 143-169, 1995.
- Angulo, L., Lopez, J. E., Lema, C. and Vicente, J. A.: *Vibrio pelagius* associated with mortalities in farmed turbot, *Scophthalmus maximus*. *Thalassas*, 10: 129-133, 1992.
- Austin, B. and Austin, D. A.: Bacterial fish pathogens. Diseases of farmed and wild fish. Springer-Praxis Publishing. Ltd., United Kingdom, 1999.
- Austin, B., Stuckey, L. F., Robertson, P. A. W., Effendi, I. and Griffith, D. R. W.: A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing disease caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. *J. Fish Dis.* 18: 93-96, 1995.
- Baticados, M. C. L., Lavilla-Pitogo, C. R., Cruz-Lacierda, E. R., de la Pena, L. D. and Sunaz, N. A.: Studies in chemical control of luminous bacteria *Vibrio harveyi* and *Vibrio splendidus* isolated from diseased *Penaeus monodon* larvae and rearing water. *Dis. Aquat. Org.*, 9: 133-139, 1990.
- Balebona M. C., Zorrilla, I., Morinigo, M. M. and Borrego, J. J.: Survey of bacterial patholo-

- gies affecting farmed gilt-head sea bream (*Sparus aurata* L.) in southwestern Spain from 1990 to 1996. *Aquaculture*, 166: 19-35, 1998.
- Bryant, T. N., Lee, J. V., West, P. A. and Colwell, R. R.: Numerical classification of species of *Vibrio* and related genera. *J. Appl. Bacteriol.*, 61: 437-467, 1986.
- Chen, D., Hanna, P. J., Altmann, K., Smith, A., Moon, P. and Hammond, L. S.: Development of monoclonal antibodies that identify *vibrio* species commonly isolated from infections of humans, fish and shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58: 3694~3700, 1992.
- Eddy, S. D. and Jones, S. H.: Microbiology of summer flounder *Paralichthys dentatus* fingerling production at a marine fish hatchery. *Aquaculture*, 211: 9-28, 2002.
- Egidius, E.: Vibriosis: Pathogenicity and pathology. A Review. *Aquaculture*, 67: 15-28, 1987.
- Euzeby, J. P.: List of bacterial names with standing in nomenclature: a folder available on the Internet (URL: <http://www.bacterio.cict.fr/>). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 590-592, 1997.
- Farmer, J. J. III and Hickman-Brenner, F. W.: The genera *Vibrio* and *Photobacterium*. p. 2952-3011. In A Balows (ed), *The Prokaryotes*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York, 1992.
- Grisez, L., Reyner, J., Verdonck, L., Swings, J. and Ollevier, F.: Dominant intestinal microflora of sea bream and sea bass larvae, from two hatcheries, during larval development. *Aquaculture*, 155: 387-399, 1997.
- Gurtler, V. and Stanisich, V. A.: New approaches to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA spacer region. *Microbiology*, 142: 3-6, 1996.
- Hameed, A. S. S. and Rao, P. V.: Studies on the chemical control of a *Vibrio campbellii*-like bacterium affecting hatchery-reared *Penaeus indicus* larvae. *Aquaculture*, 127: 1-9, 1994.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T.: *Bergey's manual of determinative bacteriology* 9th ed., p. 260-289. Williams and Wilkins Co. Baltimore, Maryland, USA, 1994.
- Huq, A. and Colwell, R. R.: Vibrios in the marine and estuarine environments. *J. Marine Biotechnol.*, 3: 60-63, 1995.
- Ishimaru, K., Akagawa-Matsushita, M. and Muroga, K.: *Vibrio ichthyenteri* sp. nov., a pathogen of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 46: 155-159, 1996.
- Kang, B. J.: A study on the characteristics of bacteria isolated from cultured flounder (*Paralichthys olivaceus*) showing disease symptoms in Jeju area of Korea. Doctor's Thesis. Cheju National University, 2003.
- Kelly, M. T., Hickman, F. W. and Farmer, J. J.: *Vibrio* p. 384-395. In Balows A. (ed.). *Manual of clinical microbiology* 5th ed. Amer. Soc. Microbiol., 1991.
- Krawiec, S. and Riley, M.: Organization of the bacterial chromosome. *Microbiol. Rev.* 54: 502-539, 1990.
- Kim, D. H., Han, H. J., Kim, S. M., Lee, D. C. and Park, S. I.: Bacterial enteritis and the development of the larval digestive tract in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel). *J. Fish Dis.*, 27: 497-505, 2004.
- Lamas, J., Anadon, R., Devesa, S. and Toranzo, A. E.: Visceral neoplasia and epidermal papillomas in cultured turbot *Scophthalmus maximus*. *Dis. Aquat. Org.*, 8: 179-187, 1990.
- Lavilla-Pitogo, C. R., Baticados, M. C. L., Cruz-Lacierda, E. R. and de la Pena, L. D.:

- Occurrence of luminous bacterial disease of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines. *Aquaculture*, 91: 1-13, 1990.
- Lee, K. K., Yu, S. R., Chen, F. R., Yang, T. I. and Liu, P. C.: Virulence of *Vibrio alginolyticus* isolated from diseased tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Curr. Microbiol.*, 32: 229-231, 1996.
- Lee, H. G., Kim, H. J. and Kim, I.: Isolation of *Vibrio* species from cultured flounder (*Paralichthys olivaceus*) with ulcers and Ascites in the Southern coast of Korea during the winter season. *Kor. Jour. Microbiol.* 29: 319-328, 1991.
- Lee H. G., Son, B. W. and OH, M. J.: Microbial flora in ascitic cultivated olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Koe-je Island in Korea during 2002-2003. *Kor. Jour. Microbiol.* 40: 133-138, 2004.
- Lightner, D. V.: Disease of cultured penaeid shrimp. In: McVey, J. P. (Ed.), *CRC Handbook of Mariculture. Crustacean Aquaculture*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 393-486, 1993.
- Lopez J. E. and Angulo, L.: Survival of *Vibrio splendidus* biotype I in seawater. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. 15: 70-72, 1995.
- Love, M., Teebken-Fisher, D. T., Hose, J. E., Farmer III, J. J., Hickman, F. W. and Fanning, G. R.: *Vibrio damsela*, a marine bacterium, causes skin lesions on the damselfish *Chromis punctipinnis*. *Science*, 214: 1139-1140, 1981.
- MacFaddin, J. E.: Individual biochemical tests. In: *Biochemical tests for identification of medical bacteria*, 3rd ed., pp. 1-456. Lippincott Williams and Wikins, Philadelphia, 2000.
- Muroga, K., Iida, M., Masumoto, H. and Nakai, T.: Detection of *Vibrio anguillarum* from water. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 52: 641-647, 1986a.
- Muroga, K., Jo, Y., and Masmura, K.: *Vibrio ordalii* isolated from diseased ayu (*Plecoglossus altivelis*) and rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Fish Pathol.*, 21: 239-242, 1986b.
- Muroga, K. and Tatani, M.: Isolation of *Vibrio anguillarum* from juvenile red sea-bream (*Pagrus major*). *Fish Pathol.*, 16: 211-214, 1982.
- Muroga, K., Tanasoomwang, V. and Momoyama, K.: *Vibrio anguillarum* infection in juveniles of tiger puffer (*Takifugu rubripes*). *Fish Pathol.*, 22: 29-30, 1987.
- Nicolas J. L., Corre, S., Gauthier, G., Rober, R. and Ansquer, D.: Bacterial problems associated with Scallop *Pecten maximus* larval culture. *Dis. Aquat. Org.*, 27: 67-76, 1996.
- Pedersen, K., Verdonck, L., Austin, B., Austin, D. A., Blanch, A. R., Grimont, P. A. D., Jofre, J., Koblavi, S., Larsen, J. L., Tiainen, T., Vigneulle, M. and Swings, J.: 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, 1998.
- Rheinheimer, G.: *Aquatic Microbiology*. Wiley, London, UK, 364 pp, 1992.
- Schiewe, M. H., and Crosa, J. H.: Molecular characterization of *Vibrio anguillarum* biotype 2. *Can. J. Microbiol.* 27: 1011-1018, 1981.
- Schiewe, M. H., Trust, T. J. and Crosa, J. H.: *Vibrio ordalii* sp. nov. a causative agent of vibriosis in fish. *Current Microbiology*, 6: 343-348, 1981.
- Sedano, J., Zorrilla, I., Morinigo, M. C., Vidaurreta, A., Bordas, M. A. and Borrego, J. J.: Microbial origin of the abdominal swelling affect-

- ing farmed larvae of gilt-head seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture Res.* 27: 323-333, 1996.
- Shin, S. U. and Jung, K. J.: Bacterial flora of East China sea and Yosu costal sea areas: 2. Horizontal distributions of bacteria isolated from the sea area. *J. Korean Fish Soc.*, 29: 17-25, 1996.
- Smith, S. K., Sutton, D. C., Fuerst, J. A. and Reichelt, J. L.: Evaluation of the genus *Listonella* and reassignment of *Listonella damsela* (Love et al.) to the genus *Photobacterium* as *Photobacterium damsela* comb. nov. with an emended description. *Int. J. System. Bacteriol.*, 41: 529-534, 1991.
- Soffientino, B., Gwaltney, T., Nelson, D. R., Specker, J. L., Mauel, M. and Gomez-Chiarri, M.: Infectious necrotizing enteritis and mortality caused by *Vibrio carchariae* in summer flounder *Paralichthys dentatus* during intensive culture. *Dis. Aquat. Org.*, 38: 201-210, 1999.
- Sunaryanto, A. and Mariam, A.: Occurrence of a pathogenic bacteria causing luminescence in penaeid larvae in Indonesian hatcheries. *Bull. Brackishwater Aquacult. Dev. Cen.*, 8: 105-112, 1986.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J.: Clustal W : Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighing, positions specific gap penalties and weight matrix choice, *Nucleic Acids Res.*, 22: 4673-4680, 1994.
- Yamanoi, H., Momoyama, K., Yasunobu, H. and Muroga, K.: *Vibrio anguillarum* infection in flounder (*Paralichthys olivaceus*) fingerlings. *Fish Pathol.*, 23: 69-70, 1988.
- Yii, K. C., Yang, T. I. and Lee, K. K.: Isolation and characterization of *Vibrio carchariae*, a causative agent of gastroenteritis in the groupers, *Epinephelus coioides*. *Curr. Microbiol.*, 35: 109-115, 1997.
- Zorrilla I., Chabrilion, M., Arijo, S., Diaz-Rosales, P., Martinez-Manzanares, Balebona, M. C. E. and Morinigo, M. A.: Bacterial recovered from diseased cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) in Southwestern Spain. *Aquaculture*, 218: 11-20, 2003.

Manuscript Received : June 14, 2005

Revision Accepted : July 30, 2005

Responsible Editorial Member : Sung-ju Jung
(Yosu Univ.)

