

조피볼락에 대한 *Vibrio harveyi*의 병원성

최정현 · 원경미* · 손새봄** · 박효진** · 변순규 · 이배익 · 이종하 · 김이청 · 박수일**†
국립수산과학원 동해특성화연구센터, *부경대학교 수산과학연구소, **부경대학교 수산생명의학과

Pathogenicity of *Vibrio harveyi* to black rockfish, *Sebastes schlegeli*

Jeong Hyun Choi, Kyoung Mi Won*, Sae Bom Sohn**, Hyo Jin Park**,
Soon-Gyu Byun, Bae-Ik Lee, Jong-Ha Lee, Yi-Cheong Kim and Soo Il Park**†

East Sea Mariculture Research Center, National Fisheries Research & Development Institute,
Uljin-gun, 767-863, Korea

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

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

Vibrio harveyi, one of the major causal agent of vibriosis, affects a diverse range of marine vertebrates and invertebrates over a wide geographical area. The organism is synonymous with *Vibrio carchariae*, which is also known as a fish pathogen. The aims of this study were to investigate the characteristics of the pathogenic non-luminous *V. harveyi* and the luminous *V. harveyi*. And *V. harveyi* isolates were examined the pathogenicity to the black rockfish, *Sebastes schlegeli*. Both strains of *V. harveyi* showed haemolytic activity, and the survival rate of non-luminous *V. harveyi* FR 2 was higher than other strains in the skin, gut mucus and fresh serum of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* and black rockfish, *Sebastes schlegeli*, respectively. The virulence of non-luminous *V. harveyi* FR 2 was higher than that of luminous *V. harveyi* VIB 391 in the intraperitoneally infected black rockfish. In conclusion, the present study revealed that the pathogenicity of *V. harveyi* FR 2 isolated from marine fish was higher than that of *V. harveyi* VIB 391 isolated from shrimp for black rockfish. It was suggested that the pathogenicity of *V. harveyi* on the black rockfish was related with bacterial luminescence.

Key words: *Vibrio harveyi*, Pathogenicity, Black rockfish

*Vibrio harveyi*는 1980년대부터 새우 양식장이 밀집해 있는 인도네시아 (Sunaryanto *et al.*, 1986), 필리핀 (Lavilla-Pitogo *et al.*, 1990) 및 대만 (Liu *et al.*, 1996) 등에서 새우류의 대량 폐사를 야기하는 병원성 세균으로 잘 알려져 있다 (Karunasagar *et al.*, 1994; Pizzutto and Hirst, 1995; Robertson *et al.*, 1998; Vandenberghe *et al.*, 1998). 특히, larvae와 post-larvae에 감염되면 폐사율이 100%에 달하며 이들은 luminescence 양성 세균으로 중감염된 새우는 형광을 나타내는 특징이

있어 luminous vibriosis로 잘 알려져 있다 (Sunaryanto *et al.*, 1986; Lavilla-Pitogo *et al.*, 1990; Vandenberghe *et al.*, 1998). 그러나, 1990년대 후반에 들어서면서 새우류 뿐 아니라 여러 해수 어류에도 감염된다는 보고가 늘고 있어 (Kraxberger-Beatty *et al.*, 1990; Ishimaru and Muroga, 1997; Alvarez *et al.*, 1998), 다양한 어종에서 대량 폐사를 유발하는 것으로 보인다. 한편 여러 해수 어류에 감염되는 *V. harveyi*는 새우에서 질병을 일으키는 luminescence 양성 세균이

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

아니라 luminescence 음성 세균인 *Vibrio carchariae*인 것으로 보고되었지만 (Soffientino *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2003), Pedersen 등 (1998)이 *V. carchariae*를 *V. harveyi*의 junior synonym으로 규정함에 따라 두 종이 *V. harveyi*라는 단일종으로 통합되었다.

Non-luminous *V. harveyi*의 다양한 해수 어류에 대한 병원성은 ECPs의 활성, 용혈능, 세포 독성 및 인위 감염 시험 등을 통해 입증되었으며 (Colwell and Grimes, 1984; Grimes *et al.*, 1984; Kraxberger-Beatty *et al.*, 1990; Ishimaru and Muroga, 1997; Soffientino *et al.*, 1999; Zhang and Austin, 2000; Lee *et al.*, 2002), 이 밖에도 bacteriophage와 세균 표면 소수성 등이 병원성 인자로 보고되었다 (Ruangpan *et al.*, 1999; Munro *et al.*, 2003; Soto-Rodriguez *et al.*, 2003). 또한 luminous *V. harveyi*의 새우류 및 무척추 동물에 대한 병원성 연구로 ECPs의 활성, 세포 독성, LPS 및 인위 감염 시험 등이 보고되었다 (Liu *et al.*, 1996; Liu *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 1999). 그러나 luminous *V. harveyi*의 해수 어류에 대한 병원성 연구는 아직 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 해수 어류에 대한 luminescence와 병원성의 관계를 알아보하고자 non-lu-

minous *V. harveyi*와 luminous *V. harveyi* 분리 균주의 조피볼락, *Sebastes schlegelii*에 대한 병원성을 인위감염실험을 통하여 조사, LD₅₀ 값으로 나타내었으며, 조피볼락과 넙치의 적혈구에서 생균의 haemolytic activity와 체표 점액 및 장 점액, 혈청 내에서의 생존능을 병원성 인자로서 측정하였다.

재료 및 방법

시험균주

Won 등 (2006)에 의해 조피볼락에서 분리된 non-luminous *V. harveyi* 분리 균주 FR 2와 Zhang and Austin (2000)에 의해 새우에서 분리된 luminous *V. harveyi* VIB 391 균주를 영국 Herriot-Watt University에서 분양받아 사용하였다. 또한 시험용 참조 균주는 KCCM (Korean Culture Center of Microorganisms)에서 분양 받은 ATCC 35084와 ATCC 14126을 사용하였다. 시험에 사용한 모든 균주는 1.5% NaCl 첨가 Tryptic soy agar (TSA, Difco)와 Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar (TCBS, Merck)에 도말한 후, 27°C, 24 시간 배양하여 swarming activity 및 luminescence 유무를 확인하였다 (Table 1).

Table 1. Bacterial strains used in this study

Strains	Origin of bacteria	Remarks
FR2 (non-luminous)	Kidney of black rockfish Busan, Korea 1999	Isolated strains
VIB 391 (luminous)	Unnamed shrimp species Thailand, 1990	(n=2)
ATCC 35084 (non-luminous)	Kidney of brown shark Grimes <i>et al.</i> , 1984 <i>V. carchariae</i> type strain	Reference strains
ATCC 14126 (luminous)	Dead, luminescing amphipod Baumann <i>et al.</i> , 1980 <i>V. harveyi</i> type strain	(n=2)

시험어

Haemolytic activity와 어체 내 생존능 실험에 사용한 조피볼락, *Sebastes schlegeli* (평균 전장 23 ± 0.5 cm)는 부산 기장 소재의 양식장에서 분양받았으며, 넙치, *Paralichthys olivaceus* (평균 전장 25 ± 0.5 cm)는 경북 울진 소재의 양식장에서 분양받아 사용하였다.

인위 감염 시험에 사용한 조피볼락 (평균 어체중 15 ± 0.5 g)은 경남 거제 소재의 양식장과 경남 통영 소재의 양식장에서 분양받아 부경대학교 수산과학연구소 수조실의 2톤 사육 수조에서 수온 $23\sim 24^\circ\text{C}$ 로 2주일간 반유수식으로 순치시킨 후 사용하였다.

Haemolytic activity

시험 균주의 haemolytic activity는 Zhang and Austin (2000)의 방법을 변형하여 실험하였다. 즉, 5%의 조피볼락 및 넙치의 적혈구가 첨가된 Columbia blood agar (Difco)를 각각 제작하여 직경 4 mm wells을 만든 후 여기에 1×10^6 cfu/ml 농도로 조정된 각각의 시험 균액을 $100 \mu\text{l}$ 씩 주입하였다. 접종한 배지는 27°C , 72 시간 동안 배양하고, well 주위의 clear zone이 형성되는 처음 시간과 크기를 측정하였다.

어체 내 생존능

어류 체표 점액 내에서의 생존능

시험균이 어류 점액을 유일한 영양원으로 성장할 수 있는지를 조사하기 위해 조피볼락과 넙치의 체표 점액을 이용하여 Kim 등 (2006)의 방법으로 시험하였다. 점액은 체표의 수분을 paper towel로 가볍게 흡수시킨 후 채취하여 이 시료에 2 배의 0.1 M PBS (pH 7.2)를 첨가한 다음 점액을 균질화하였다. 그 후, 원심 분리 (4°C , $10,000 \times g$, 20 min)하여 상정액을 분리하고 $0.2 \mu\text{m}$ pore size의 syringe filter (Corning Inc.)로 여과한 것을 점액 시료로 사용하였다. 각 시험 균주를 1.5% NaCl 첨가 Tryptic soy broth (TSB, Difco)

에 27°C , 24 시간 배양한 후 원심 분리하여 집균하고 0.1 M PBS (pH 7.2)로 3 회 세척한 다음 1×10^6 cfu/ml가 되도록 PBS로 조정하여 시험 균액을 만들었다. 이 시험 균액과 어류 점액을 1:4로 혼합하여 점액 시험의 시험균 농도가 2×10^5 cfu/ml이 되도록 하였다. 이 혼합액을 25°C 에 배양하면서, 0, 1, 3, 6 및 12 시간이 경과할 때마다 단계 희석하여 Miles and Misra (1938)의 방법에 따라 생균수를 측정하였다. 본 실험은 3 반복으로 수행하였다.

어류 장 점액 내에서의 생존능

시험균이 어류 점액을 유일한 영양원으로 성장할 수 있는지를 알고자 조피볼락과 넙치의 장을 절취한 후, 장 내용물을 제거하고 장 점액을 채취하여 어류 체표 점액에서의 생존능 시험과 동일한 방법으로 실시하였다.

어류 혈청 내에서의 생존능

시험 균주의 조피볼락과 넙치 혈청에 대한 생존능 시험은 Leong 등 (1994)의 방법으로 행하였다. 혈청은 조피볼락과 넙치에서 혈액을 채취하여 30 분 동안 실온 보관하고 2 시간 동안 냉장 보관하였다. 이 후 원심 분리 (4°C , $6000 \times \text{rpm}$, 10 min)하여 상정액을 분리하여 준비하였다. 그리고 1.5% NaCl 첨가 TSB에 27°C , 24 시간 배양한 각각의 균주를 원심 분리하여 집균하고 PBS (pH 7.2)로 3 회 세척하여 1×10^6 cfu/ml가 되도록 PBS로 조정된 균액을 어류 혈청과 1:1로 혼합한 다음 혈청 시험의 농도가 5×10^5 cfu/ml이 되도록 하였다. 이 혼합액을 25°C 에 배양하면서, 0, 1, 3, 6 및 12 시간이 경과할 때마다 단계 희석하여 Miles and Misra (1938)의 방법에 따라 생균수를 측정하였다. 본 실험은 3 반복으로 수행하였다.

조피볼락에 대한 *V. harveyi*의 인위 감염 실험

시험 균주의 조피볼락에 대한 병원성을 조사하기 위하여 시험구 3 group과 대조구는 각 10 마리씩 수용하여 3반복 시험하였다. 시험 균주

를 1.5% NaCl 첨가 TSA에 27°C, 24 시간 배양하고 각 균주를 멸균 생리 식염수에 10⁶~10⁸ cfu/ml의 농도 범위로 조정하여 다음 희석하여 조피볼락에 0.1 ml씩 복강 주사하였으며, 대조구는 멸균 생리 식염수를 0.1 ml씩 복강 주사하였다. 수온은 24 ± 0.5°C로 유지하였으며, 7 일간의 폐사율을 기록한 후 Profit 법 (醫科學研究所學友會, 1976)에 따라 LD₅₀을 구하였다. 폐사어는 폐사 즉시 해부하고 신장과 비장 조직을 무균적으로 절취하여 TCBS 배지에 도말한 후 *V. harveyi*를 재분리하였다.

결 과

Haemolytic activity

*V. harveyi*의 조피볼락과 넙치 적혈구에 대한 haemolytic activity를 분석한 결과, 조피볼락 적혈구 첨가 배지에서의 시험은 분리 균주 VIB

391과 참조 균주 ATCC 14126의 clear zone을 형성하는 initial time이 가장 빨랐으나 72 시간째에 분리 균주 VIB 391을 제외하고는 clear zone의 크기 차이가 뚜렷하지 않았다 (Table 2). 넙치 적혈구 첨가 배지에서의 시험은 참조 균주 ATCC 35084의 clear zone을 형성하는 initial time이 가장 빨랐으며 72 시간째에도 clear zone의 크기가 가장 크게 나타났다. 또한 분리 균주 VIB 391의 clear zone 크기가 모든 배지에서 가장 작았으며 72 시간째에는 모든 시험배지에서 β 용혈을 나타내었다 (Table 2).

어체내 생존능

어류 체표 점액 내에서의 생존능

*V. harveyi*의 조피볼락과 넙치 체표 점액에서의 생존능을 조사한 결과, 두 시험은 비슷한 결과를 나타내었다. 두 참조 균주 (ATCC 35084와 ATCC 14126)가 시험 기간 내내 사멸되거나 생

Table 2. Haemolytic activity of *Vibrio harveyi* after incubation of 1 × 10⁵ cfu/ml on the blood agar prepared with 5% RBCs of black rockfish, *Sebastes schlegelii* (A) and olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (B) for 72 h

(A)

strains	Time (Hours)					
	12	25	26	36	48	72
FR 2	-	-	+ ^w	+	++	++++
VIB 391	-	+ ^w	+ ^w	+	++	+++*
ATCC 35084	-	-	+ ^w	+	++	++++
ATCC 14126	-	+ ^w	+ ^w	+	++	++++

(B)

strains	Time (Hours)							
	12	17	18	20	21	24	48	72
FR 2	-	-	-	+ ^w	+ ^w	+	++	+++
VIB 391	-	-	-	-	+ ^w	+	++	+++*
ATCC 35084	-	+ ^w	+ ^w	+	+	+	++	++++
ATCC 14126	-	-	+ ^w	+	+	+	++	+++

(-) no clear zone; (+^w) diameter of zone of clearing or opalescence of ≤ 10 mm; (+) diameter of zone of clearing or opalescence of ≤ 20 mm; (++) diameter of zone of clearing or opalescence of ≤ 30 mm; (+++) diameter of zone of clearing or opalescence of ≤ 40 mm; (++++) diameter of zone of clearing or opalescence of ≥ 40 mm; (*) β haemolysis.

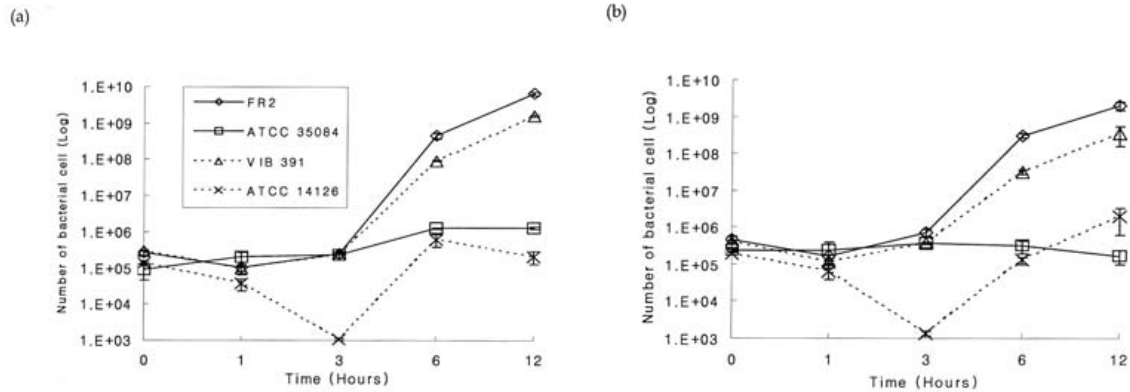


Fig. 1. Survival of the isolates and the reference strains in the fish skin mucus. (a) Black rockfish, *Sebastes schlegelii*; (b) Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*.

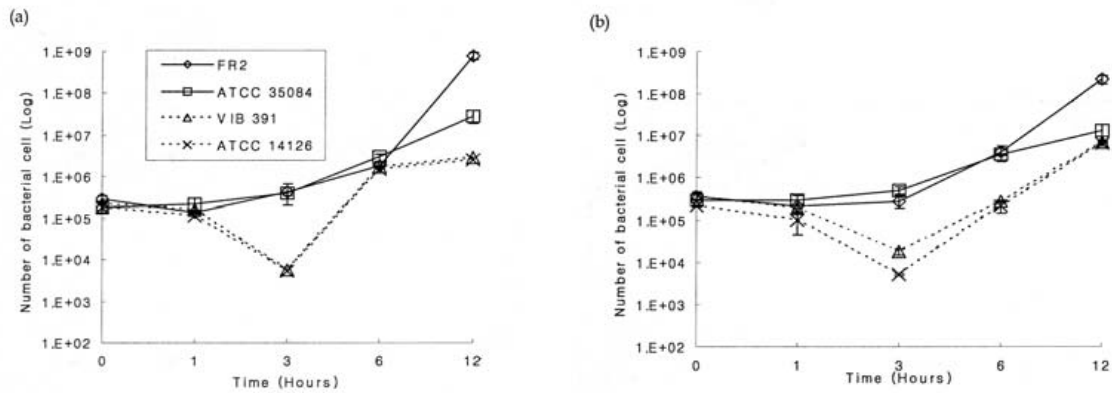


Fig. 2. Survival of the isolates and the reference strains in the fish intestinal mucus. (a) Black rockfish, *Sebastes schlegelii*; (b) Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*.

존을 유지하는 반면, 분리 균주 FR 2와 VIB 391은 3 시간째까지 생존 후 12 시간째까지 급격히 증식할 수 있는 것으로 나타났다. 특히, 분리 균주 FR 2 균주의 증식율이 가장 높은 것으로 나타났다 (Fig. 1).

어류 장 점액 내에서의 생존능

*V. harveyi*의 조피볼락과 넙치의 체표 장 점액에서의 생존능을 조사한 결과, 분리 균주 FR 2와 참조 균주 ATCC 35084는 조피볼락 장 점액 내에서 3 시간째까지 생존을 유지하다가 3 시간 이후부터 증식을 하였으며, 분리 균주 VIB 391과 참조 균주 ATCC 14126은 3 시간째까지 사멸

되다가 3 시간째부터 증식하였으며 6 시간째 이후에는 생존을 유지하였다 (Fig. 2). 넙치 장 점액 내에서 분리 균주 FR 2와 참조 균주 ATCC 35084는 3 시간째까지 생존을 유지하다가 3 시간 이후부터 증식을 하였으며, 분리 균주 VIB 391과 참조 균주 ATCC 14126은 3 시간째까지 사멸되다가 3 시간째부터 증식하였다. 특히, 분리 균주 FR 2의 조피볼락 장 점액 내 증식이 가장 활발한 것으로 나타났다 (Fig. 2).

어류 혈청 내에서의 생존능

*V. harveyi*의 조피볼락과 넙치의 혈청 내에서 생존능을 조사한 결과, 조피볼락 혈청 내에서

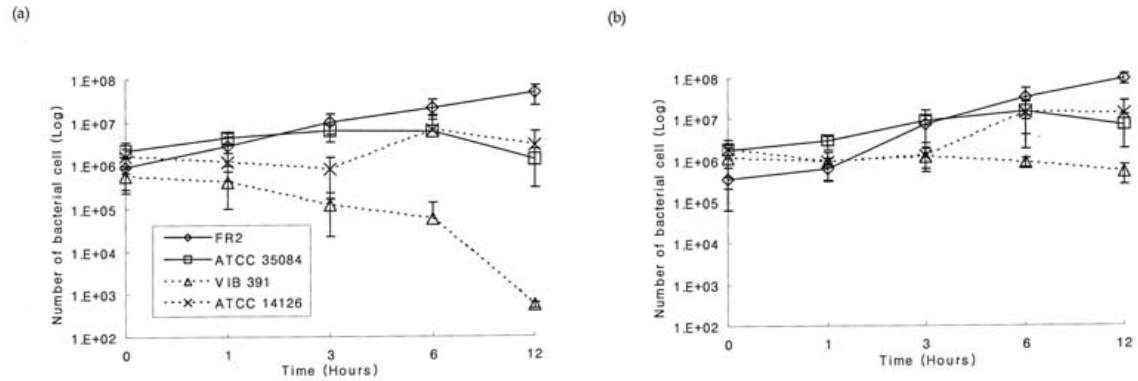


Fig. 3. Survival of the isolates and the reference strains in the fish fresh serum. (a) Black rockfish, *Sebastes schlegeli*; (b) Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*.

Table 3. The lethal dose (LD₅₀) of *Vibrio harveyi* in the intraperitoneally injected black rockfish, *Sebastes schlegeli* for 7 days

	FR 2	VIB 391	ATCC 35084	ATCC 14126
LD ₅₀ (cfu/fish)	4.5 × 10 ⁶	4.7 × 10 ⁹	1 × 10 ⁸	1 × 10 ¹⁰

분리 균주 FR 2만이 증식하였고 분리 균주 VIB 391은 성장이 강하게 억제되었다. 또한 참조 균주 ATCC 35084는 3 시간째까지 다소 증식하다가 3 시간 이후 억제되었으며 참조 균주 ATCC 14126은 3 시간째까지 억제되다가 3 시간 이후 증식하였다 (Fig. 3). 넙치 혈청 내에서는 분리 균주 FR 2가 강한 증식을 나타내었으며 분리 균주 VIB 391은 약하게 억제되었다. 또한 참조 균주 ATCC 35084와 ATCC 14126은 조피볼락 혈청 내에서의 생존능과 비슷한 결과를 나타내었다 (Fig. 3).

조피볼락에 대한 *V. harveyi*의 인위 감염 실험

*V. harveyi*를 조피볼락에 복강 주사한 결과, 분리 균주 FR 2의 LD₅₀ 값이 4.5 × 10⁶ cfu/fish로 높은 병원성을 보였으며 분리 균주 VIB 391의 LD₅₀ 값이 4.7 × 10⁹ cfu/fish로 매우 낮은 병원성을 나타내었다. 또한 참조 균주 ATCC 35084는 1 × 10⁸ cfu/fish, ATCC 14126은 1 × 10¹⁰ cfu/fish을

나타내었다 (Table 3).

고 찰

*V. harveyi*는 새우류 뿐 아니라 다양한 해수 어종에서 발병 보고되고 있으며 이에 대한 *V. harveyi*의 병원성 기작으로는 extracellular products (ECPs) (Zhang and Austin, 2000), bacteriophage (Munro *et al.*, 2003), siderophore (Owens *et al.*, 1996) 및 세균 표면의 소수성 등이 알려져 있다 (Ruangpan *et al.*, 1999; Soto-Rodriguez *et al.*, 2003). 또한 non-luminous *V. harveyi*가 다양한 해수 어류에 병원성을 나타낸다는 것은 많은 연구에서 입증되었으나 (Colwell and Grimes, 1984; Grimes *et al.*, 1984; Kraxberger-Beatty *et al.*, 1990; Ishimaru and Muroga, 1997; Soffientino *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2002; Zorrilla *et al.*, 2003), luminous *V. harveyi*의 해수 어류에 대한 병원성 연구는 미흡한 실정이다.

Zhang and Austin (2000)은 *V. harveyi* E18 균주

와 M3G3 균주가 sheep 과 rabbit 등의 적혈구에 대한 haemolytic activity가 가장 높았으나 trout과 salmon에 대한 폐사율이 나타나지 않았고 *V. harveyi* VIB 661 균주는 haemolytic activity가 가장 낮았음에도 불구하고 trout과 salmon에 대한 폐사율이 60% 이상임을 보고하였다. 또한 Garcia Moreno 등 (1998)은 *Vibrio vulnificus*의 haemolytic activity는 병원성과 관계없음을 보고하였다. 본 연구에서도 시험 균주나 시험 어종에 따라서 용혈능이 다양하게 나타났으며 공격 실험에서 독성이 강하게 나타난 분리 균주 FR 2와 독성이 약한 균주 간의 용혈능에 뚜렷한 차이가 없었으므로 *V. harveyi*의 병원성 기작에 haemolytic activity가 미치는 영향은 그다지 크지 않을 것으로 생각된다.

Smith 등 (1988)에 의하면 병원체가 숙주 조직에서 생존하고 증식할 수 있는 능력이 병원성과 매우 높은 상관성을 보인다고 하였다. 본 연구 결과, *V. harveyi*가 점액에서 증식할 수 있었으며, 어류의 혈청 내에서도 증식하였다. 조피볼락과 넙치의 체표와 장 점액에서의 증식능은 분리 균주 FR 2가 가장 강한 증식을 나타내었다. 어류 혈청에서 생존할 수 있는 능력은 병원성 세균과 비병원성 세균을 구별할 수 있는 중요한 지표가 되며, Leung 등 (1994)에 의하면 비병원성 *Aeromonas hydrophila*가 틸라피아의 혈청에서 기하 급수적으로 감소하는 반면에 병원성의 *A. hydrophila*는 지속적으로 생존한다고 하였다. 이러한 특성은 rainbow trout에 cold water disease를 유발하는 *Flavobacterium psychrophilum*에서도 동일하게 나타났다 (Wiklund and Dalsgaard, 2002). 시험 균주 *V. harveyi*의 어류 혈청 내 생존능은 분리 균주 FR 2가 가장 높은 증식능을 나타내었다. 또한 분리 균주 VIB 391은 조피볼락 혈청에서 증식이 매우 강하게 억제되었으나 넙치 혈청에서는 매우 약하게 억제되었다. 이러한 결과, 분리 균주 VIB 391이 두 어종의 점액과 혈청에서 증식능이 억제됨으로써 어류에 대해 독성이 낮은 병원균일 것으로 예상된다.

조피볼락에 시험 균주 *V. harveyi*를 인위 감염시켜 병원성을 확인한 결과, luminous *V. harveyi* 분리 균주 FR 2의 LD₅₀ 값은 4.5×10^6 cfu/fish로 병원성이 강하게 나타났으나, non-luminous *V. harveyi* 분리 균주 VIB 391은 LD₅₀ 값이 4.7×10^9 cfu/fish, 참조 균주 ATCC 14126은 LD₅₀ 값이 1×10^{10} cfu/fish로 매우 낮은 독성을 나타내었다. 이러한 본 연구의 결과는 Zhang and Austin (2000)이 trout과 salmon에 다양한 non-luminous *V. harveyi* 분리 균주와 luminous *V. harveyi* 분리 균주를 인위 감염 시켰을 때와 일치한다. Non-luminous *V. harveyi* 분리 균주에 대한 폐사율은 한 균주를 제외 하고는 trout에서 60% 이상, salmon에서는 20% 이상을 나타내어 대부분의 균주가 병원성을 나타내었으며 luminous *V. harveyi* 분리 균주에 대한 폐사율은 0과 20%로 병원성이 약하게 나타났다.

이들 결과로 미루어 볼 때, 조피볼락에서는 non-luminous *V. harveyi* 분리 균주 FR 2가 강한 병원성을 나타내었으며 luminous *V. harveyi* 분리 균주 VIB 391은 매우 약한 병원성을 나타내어 luminescence의 유무에 따라 해수 어종에 대한 병원성의 차이가 있을 것으로 생각된다.

또한 본 논문에서는 각각 하나의 균주로 실험을 하였으나 luminescence의 유무에 따른 해수 어종에 대한 병원성 차이를 명확히 규명하기 위해서는 다양한 non-luminous 와 luminous *V. harveyi* 분리 균주를 사용하여 해수 어류에 대한 병원성 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 *Vibrio harveyi*의 luminescence 유무와 해수 어류에 대한 병원성의 관계를 알아보고자 non-luminous *V. harveyi* 와 luminous *V. harveyi* 분리 균주로 조피볼락에 대한 병원성 시험을 시행하였다. 시험 균주 *V. harveyi* 모두 haemolytic activity를 나타내었으며, 어체 내 생존능은 non-luminous *V. harveyi* 분리 균주 FR 2가 강한 생존

능을 나타내었다. 또한 조피볼락에 인위 감염시, non-luminous *V. harveyi* 분리 균주 FR 2가 강한 병원성을 나타내었으며 luminous *V. harveyi* 분리 균주 VIB 391은 낮은 병원성을 나타내었다. 결론적으로 조피볼락에서는 non-luminous *V. harveyi* 분리 균주 FR 2가 강한 병원성을 나타내었으며 luminous *V. harveyi* 분리 균주 VIB 391은 매우 약한 병원성을 나타내어 luminescence의 유무에 따라 해수 어종에 대한 병원성의 차이가 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Alvarez, J.J., Austin, B., Alvarez, A.M. and Reyes, H.: *Vibrio harveyi*: a pathogen of penaeid shrimps and fish in Venezuela. J. Fish Dis., 21: 313-316, 1998.
- Colwell, R.R. and Grimes, D.J.: *Vibrio* disease of marine fish populations. Helgolander Meeresuntersuchung, 37: 265-287, 1984.
- Garcia Moreno, M.L. and Landgraf, M.: Virulence factors and pathogenicity of *Vibrio vulnificus* strains isolated from seafood. J. Appl. Microbiol., 84: 747-751, 1998.
- Grimes, D.J., Stemmler, J., Hada, H., May, E.B., Maneval, D., Hetrick, F.M., Jones, R.T., Stoskopf, M. and Colwell, R.R.: *Vibrio* species associated with mortality of sharks held in captivity. Microb. Ecol., 10: 271-282, 1984.
- Ishimaru, K. and Muroga, K.: Taxonomical re-examination of two pathogenic *Vibrio* species isolated from milkfish and swimming crab. Fish Pathol., 32: 59-64, 1997.
- Karunasagar, I., Pai, R., Malath, G.R. and Karunasagar, I.: Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture, 128: 203-209, 1994.
- Kim, D.H.: Studies on probiotics and microbial diversity in the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). ph. D. Thesis. Heriot-watt university., 57-58, 2006.
- Kraxberger-Beatty, T., McGarey, D.J., Grier, H.J. and Lim, D.V.: *Vibrio harveyi*, an opportunistic pathogen of common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch), held in captivity. J. Fish Dis., 13: 557-560, 1990.
- Lavilla-Pitogo, C.R., Baticados, M.C.L., Cruz-Laciar, 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., Liu, P.C. and Chuang, W.H.: Pathogenesis of gastroenteritis caused by *Vibrio cholerae* in cultured marine fish. Mar. Biotechnol., 4: 267-277, 2002.
- Leong, T.S. and Wong, S.Y.: Environmental induced mortality of cultured grouper *Epinephelus malabaricus* infected with high density of monogeneans and vibrios. In: Programme and Abstracts of the second symposium on diseases in Asian aquaculture (Phuket). Manila: Health Section of the Asian Fisheries Society: p37, 1993.
- Liu, P.C., Lee, K.K., Yii, K.C., Kou, G.H. and Chen, S.N.: Isolation of *Vibrio harveyi* from diseased kuruma prawns *Penaeus japonicus*. Curr. Microbiol., 33: 129-132, 1996.
- Liu, P.C., Lee, K.K., Tu, C.C. and Chen, S.N.: Purification and characterization of a cysteine protease produced by pathogenic luminous *Vibrio harveyi*. Curr. Microbiol., 35: 32-39, 1997.
- Liu, P.C. and Lee, K.K.: Cysteine protease is a major extoxin of pathogenic luminous *Vibrio harveyi* in the tiger prawn, *Penaeus monodon*. Letters Appl. Microbiol., 28: 428-430,

- 1999.
- Liu, P. C., Chuang, W. H. and Lee, K. K.: Infectious gastroenteritis caused by *Vibrio harveyi* (*V. carchariae*) in cultured red drum, *Sciaenops ocellatus*. J. Appl. Ichthyol., 19: 59-61, 2003.
- Miles, A.A. and Misra, S.S.: The estimate of the bacterial power of the blood. J. Hygiene, 38: 873-885, 1938.
- Munro, J., Oakey, J., Bromage, E. and Owens, L.: Experimental bacteriophage-mediated virulence in strains of *Vibrio harveyi*. Dis. Aquat. Org., 54: 187-194, 2003.
- Owens, I., Austin, D.A. and Austin, B.: Effect of strain origin on siderophore production in *Vibrio harveyi* isolates. Dis. Aquat. Org., 27: 157-160, 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.
- Pizzutto, M. and Hirst, R.G.: Classification of isolates of *Vibrio harveyi* virulent to *Penaeus monodon* larvae by protein profile analysis and M13 DNA fingerprinting. Dis. Aquat. Org., 21: 61-68, 1995.
- Robertson, P.A.W., Calderon, J., Carrera, L., Stark, J.R., Zherdmant, M. and Austin, B.: Experimental *Vibrio harveyi* infections in *Penaeus vannamei* larvae. Dis. Aquat. Org., 32: 151-155, 1998.
- Ruangpan, L., Danayadol, Y., Kirekbusarakom, S., Siurairatana, S. and Flegel, T.W.: Lethal toxicity of *Vibrio harveyi* to cultivated *Penaeus monodon* induced by a bacteriophage. Dis. Aquat. Org., 35: 195-201, 1999.
- Smith, H.: The state and future of studies on bacterial pathogenicity. In: Rothe, J. A. (ed) Virulence mechanisms of bacterial pathogens. ASM, Washington, 1998.
- Soffientino, B., Gwaltney, T., Nelson, D.R., Specker, J.L., Mael, 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.
- Soto-Rodriguez, S.A., Roque, A., Lizarranga-Partida, M.L., Guerra-Flores, A.L. and Bomez-Gil, B.: Virulence of luminous vibrios to *Artemia franciscana* nauplii. Dis. Aquat. Org., 53: 231-240, 2003.
- Sunaryanto, A. and Mariam, A.: Occurrence of a pathogenic bacteria causing luminescence in penaeid larvae in Indonesian hatcheries. Bull. Brackishwater Aquacult. Devel. Cen., 8: 105-112, 1986.
- Vandenberghe, J., Li, Y., Verdonck, L., Li, J., Sorgeloos, P., Xu, H.S. and Swings, J.: *Vibrio* associated with *Penaeus chinensis* (Crustacea: Decapoda) larvae in Chinese shrimp hatcheries. Aquaculture, 169: 121-132, 1998.
- Wiklund, T. and Dalsgaard, I.: Survival of *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) serum in vitro. Fish Shellfish Immunol., 12: 141-153, 2002.
- Won, K.M., Kim, S.M. and Park, S.I.: Characterization of *Vibrio harveyi*, the causal agent of vibriosis in cultured marine fishes in Korea. J. Fish Sci. Technol., 9: 123-128, 2006.
- Zhang, X.H. and Austin, B.: Pathogenicity of *Vibrio harveyi* to salmonids. J. Fish Dis., 23: 93-

- 102, 2000.
- Zorrilla, I., Arijo, S., Chabrillon, M., Diaz, P., Martinez-Manzanares, E., Balebona, M. C. and Morinigo, M.A.: *Vibrio* species isolated from diseased farmed sole, *Solea senegalensis* (Kaup), and evaluation of the potential virulence role of their extracellular products. *J. Fish Dis.*, 26: 103-108, 2003.
- 醫化學研究所學友會: 細菌學實習提要. pp 566-568. (In Japanese), 1976.
-
- Manuscript Received : March 27, 2007
Revision Accepted : May 17, 2007
Responsible Editorial Member : Myung-Joo Oh
(Chonnam Univ.)