

*Vibrio harveyi*의 미생물학적 특성

원경미 · 최정현* · 김이청* · 박수일**†

부경대학교 수산과학연구소, *국립수산과학원 동해특성화연구센터,

**부경대학교 수산생명의학과

Microbiological characteristics of *Vibrio harveyi*

Kyong Mi Won, Jeong Hyun Choi*, Yi-Cheong Kim* and Soo Il Park**†

Institute of Fisheries Science, Pukyong National University, Busan 612-021, Korea

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

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

In 1999, *Vibrio harveyi* infection occurred among cultured marine finfishes including olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), black rockfish (*Sebastes schlegeli*), and turbot (*Scophthalmus maximus*) in the province of Gyeongsang, Korea. We examined the various microbiological characteristics of this *V. harveyi* strains. *V. harveyi* was grown well in the 3% NaCl at 30°C. The swarming activity appeared to be an one of the characteristic properties of the *V. harveyi* was the highest in the 2% NaCl concentration at TSA medium. These cells were elongated and had the several lateral flagella which is not waved and shorter than polar flagella. It was not luminescent in the all isolated strains. Whole cell of the *V. harveyi* had a major protein of 50 kDa and presented various band around of 40 kDa in strains.

Key words: *Vibrio harveyi*, Swarming, Microbiological characteristics

서 론

최근 우리 나라 해산어 양식장에서 *Vibrio harveyi* 감염증이 발생하여 양식 넙치와 조피볼락에 피해를 입히는 것으로 보고되었다 (Won et al., 2006). 이 연구에서 감염된 어류는 복부팽만, 장충혈, 장액삼출 및 간출혈, 심한 경우에는 탈장 증세도 보였으며, 특히 여름철 고수온기에 집중적으로 출현하였다.

*V. harveyi*는 생물 발광인 bioluminescence를 나타내는 것과 세균의 활발한 편모 운동에 의해 집락이 한천 배지의 표면을 넓게 덮는 현상인 swarming 운동과 같은 독특한 미생물학적 성상

을 가지고 있다. Bioluminescence는 주로 새우류 유래의 균주 혹은 *V. harveyi* type에서 알려져 있는 특징으로 심하게 감염된 새우에서는 체표 발광을 관찰할 수 있을 정도로 생물 발광능이 매우 강하다 (Karunasagar et al., 1994; Liu et al., 1996). Swarming 운동을 하는 *Vibrio* 속 세균에는 *V. harveyi* 이외에도 *V. parahaemolyticus*와 *V. alginolyticus* 등이 알려져 있으나, swarming 운동에 관한 연구는 대부분 *V. parahaemolyticus*와 *V. alginolyticus*에 집중되어 있으며 (Ultizur and Kessel, 1975), *V. harveyi*에 대해서는 그다지 연구된 바가 없다. 한편 이와는 달리 swarming 운동을 하지 않는 *V. harveyi*에 관한 연구 결과도 보

†Corresponding Author : Soo Il Park Tel: +82-51-620-6141

Fax: +82-51-628-7430 E-mail: parksi@pknu.ac.kr

고되고 있어서 (Abraham and Manley, 1995; Saeed, 1995), 적어도 *V. harveyi*는 균주에 따라 swarming 운동성에 차이가 있을 것으로 예상된다. *V. harveyi*의 물리적인 환경에 대한 적응능을 보면, 염분 농도는 0.5~8%, 온도 범위는 40°C 미만에서 성장할 수 있다 (Ortigosa et al., 1994). 이와 같이 *V. harveyi*의 여러 가지 세균학적 특성에 관한 연구가 지속되고 있으나 대부분 실험 조건이 다르고 단편적인 연구에 그치고 있어서 체계적인 *V. harveyi*의 특성이 밝혀져 있지 않다.

본 연구에서는 Won (2006)이 우리 나라에서 처음으로 분리한 *V. harveyi*를 대상으로 하여 이 세균의 luminescence, swarming 운동, SDS-PAGE 특성을 비롯하여 염분 농도 및 배양 온도에 따른 발육 조건을 조사하여 미생물학적 특성을 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

시험 균주

본 시험에 사용된 분리 균주와 참조 균주는 Table 1에 나타내었다. 모든 분리 균주는 우리나라 양식 해산어에서 분리한 것으로, 이전 연구에서 생화학적·유전적 동정 결과 *V. harveyi*로 확인되었다 (Won et al., 2006)

*V. harveyi*의 성장 조건

염분 농도 및 시간별 발육 시험

참조 균주, ATCC 35084를 대상으로 염분 농도에 따른 발육 특성을 조사하였다. 1% peptone 이 든 alkali-peptone water 기초 배지에 NaCl을 0, 0.5, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9%가 되도록 첨가한 시험 배지 10 ml씩 준비하고, 1.5% NaCl이 첨가된 TSA (Tryptic soy agar, Difco)에서 27°C로 24 시간 배양한 후 멸균 생리 식염수로 0.8 (OD₆₀₀)이 되게 조정된 각각의 시험 균주를 0.1 mL씩 접종하였다. 결과는 0, 12, 24, 48, 72, 96 시간째에 600 nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다.

배양 온도별 발육 시험

4~40°C 범위에서 배양 온도에 따른 발육 특성을 조사하였다. 3% NaCl이 첨가된 alkali-peptone water에 염분 농도별 발육 시험과 동일한 방법으로 각각의 시험균을 접종하여, 72 시간 후, 배양 정도를 육안적인 혼탁도로 관찰하여 -, +, ++, +++로 나타내었다.

Swarming 운동

*V. harveyi*의 swarming 운동성을 측정하기 위하여, 먼저 NaCl의 최종 농도가 0.5, 0.75, 1, 1.25, 2, 3, 5, 7%가 되도록 조정된 TSA에 각각의 균주

Table 1. Present isolates and reference strains used in this study

Strains		Origin of bacteria	
Present isolated strains (n = 5)	FT1	Kidney of turbot*	Gyeongsang Province, 1999
	FF8	Ascitic fluid of olive flounder**	Gyeongsang Province, 1999
	FF10	Kidney of olive flounder	Busan, 1999
	FR1	Kidney of black rockfish***	Gyeongsang Province, 1999
	FR2	Kidney of black rockfish	Busan, 1999
Reference strains (n = 2)	ATCC 35084	Kidney of brown shark	Grimes et al., 1984 <i>Vibrio carchariae</i> type strain
	ATCC 14126	Dead, luminescing amphipod	Baumann et al., 1980 <i>Vibrio harveyi</i> type strain

*Turbot, *Scophthalmus maximus* **Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

***Black rockfish, *Sebastes schlegeli*.

를 확산 도말 배양하여 27°C에서 24 시간 배양하였다. 결과의 판정은 세균의 집락이 배지에 퍼지는 정도에 따라 +, ++, +++ 등으로 표시하였다. 또한 broth 배지에서의 swimming 운동과 plate 배지에서의 swarming 운동의 편모를 비교·관찰하기 위하여, 각각의 균주를 1.5% NaCl 첨가 TSB 배지와 1.5% NaCl 첨가 TSA 배지에 배양한 후, 아래의 방법으로 Gram 염색, 편모 염색 및 투과형 전자현미경의 negative 염색으로 관찰하였다.

형태학적 관찰

Gram 염색은 Clark (1981)의 방법에 따라 시행하였다.

편모 염색은 Leifson (1960)의 방법을 사용하였다. 즉, 1.5% NaCl이 첨가된 TSB 배지에 균을 접종하고 27°C, 2 시간 배양 후, 10% 중성 formalin으로 고정한 다음 3,000 rpm, 10 분간의 원심 분리로 상등액을 제거하여 pellet을 얻었다. 이를 생리 식염수로 2 회 세척한 후 현탁하여 슬라이드 글라스에 도말한 다음 자연 건조시키고 편모 염색액 (0.9% pararosaline acetate salt and 0.3% pararosaline chloride to ethanol; 3% tannic acid to water; 1.5% NaCl to water = 1 : 1 : 1)을 떨어뜨려 20 분간 염색한 후 검경하였다.

전자현미경적 관찰을 위해, 시험 균주를 1.5% NaCl이 첨가된 TSB에 27°C, 2 시간 배양한 후 3,000 rpm, 5 분간 원심 분리하여 상등액을 제거하고 얻은 pellet을 2.5% glutaraldehyde로 고정하여 집균하였다 (3,000 rpm, 5 분). 균 현탁액 10 μ l 위에 grid를 얹어 grid 표면에 균체를 부착시킨 후 건조시키고, 4% uranyl acetate에 1 분간 negative stain하여 투과형 전자현미경 (JEM 1200-II, JEOL)으로 관찰하였다.

Luminescence 시험

1.5% NaCl이 첨가된 TSB에 27°C, 24 시간 배양된 시험균 현탁액을 TSB에 2배 희석한 후 96 well plate에 200 μ l씩 넣고 접종하지 않은 TSB

를 blank로 하여 Lumi-counter (Pharmacia)로 발광량을 측정하였다.

SDS-PAGE

V. harveyi 균주의 단백질 pattern을 분석하기 위하여, 각각의 준비된 시료로 SDS-PAGE를 실시하였다 (Laemmli, 1970). 1.5% NaCl이 첨가된 TSB에서 배양된 각각의 균체를 멸균식염수로 세척·원심 분리한 pellet을 150 μ l의 sample lysis buffer (0.12 M Tris-HCl, 4% SDS, 20% glycerol, 5 mM 2-mercaptoethanol)에 현탁하여 100°C에 7 분간 가열하였다. 여기에 동량의 멸균 증류수를 첨가한 다음, 다시 100°C에 5 분간 가열하여 변성시키고, 10% SDS-polyacrylamide gel에 200 μ l씩 loading한 후 25 mA로 3 시간 동안 전기영동하였다. 전개가 완료된 gel은 Coomassie brilliant blue R-250으로 염색하고 탈색하여 band를 확인하였다.

결 과

*V. harveyi*의 성장 조건

염분 농도 및 배양 시간

염분 농도를 0~9%로 조절한 alkali-peptone water에 *V. harveyi* ATCC35084를 배양한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 72 시간의 배양 시험 결과,

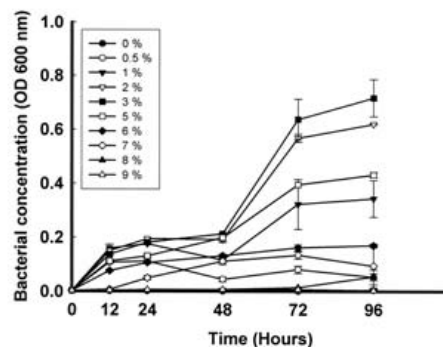


Fig. 1. The effects of NaCl concentration in the alkali-peptone water on the growth of the *Vibrio harveyi* ATCC 35084 at 27°C.

염분 농도 0%, 8% 및 9% 시험구에서는 세균이 자라지 않았으나 그 외에 모든 염분 농도에서는 자랐으며, 염분 농도 3% 시험구에서 가장 높은 성장률을 나타냈다. 배양 시간에 따른 세균의 증식률은 48 시간까지 지속적으로 증가하다가 72 시간째에 급격히 증가한 후, 96 시간째에는 완만히 증가하거나 비슷한 상태로 유지되었다.

배양 온도

*V. harveyi*의 성장에 배양 온도가 미치는 영향을 조사해 본 결과 성장에 최적인 온도는 30°C로 나타났으며, 15~37°C 범위 내에서 성장이 가능한 것으로 나타났다 (Table 2).

Swarming 운동

*V. harveyi*의 특징적인 성장인 swarming 운동에 염분 농도가 미치는 영향을 조사한 결과를 Table 3과 Fig. 2에 나타내었다. 0.5%와 7% NaCl 농도에서는 swarming을 하지 않는 집락을 형성하였으며, 2% NaCl이 첨가되었을 때에 가장 활발한 swarming 운동을 나타내었다.

Swarming 운동이 일어나는 동안, 세균의 형태학적 변화를 관찰하기 위하여, swarming 운동이 일어나지 않는 broth 배지에서 배양한 세균과 swarming 운동이 일어나는 agar 배지에서 배양한 세균을 각각 취하여, Gram stain과 Flagella

stain으로써 관찰하였으며 (Fig. 3), negative stain한 시험균을 TEM으로 관찰하였다 (Fig. 4). Gram 염색의 경우, agar 배지에서 배양하였을 때 균체가 길어지는 현상을 볼 수 있었으며 (Fig. 3b), 편모 염색에서는 길어진 균체 뿐 아니라, 편모의 수가 증가한 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3d and e). TEM 관찰에서는 길어진 균체에 다수의 편모가 형성된 것을 알 수 있으며 (Fig. 4b), swarming 할 때 생성된 이들 lateral flagella (측편모)가 다른 세균과 영겨있는 경우도 종종 관찰되었다 (Fig. 4c). 또한 swimming 운동에 관

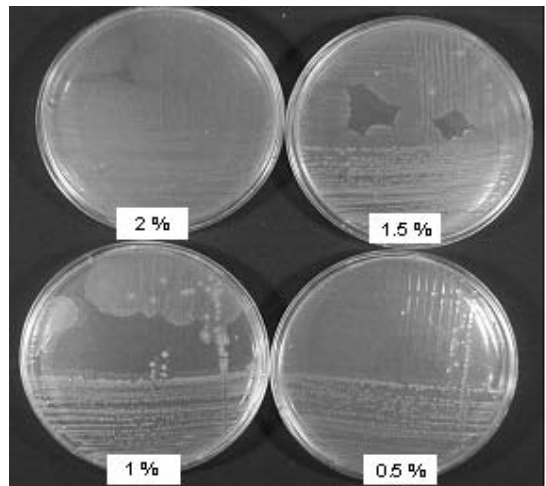


Fig. 2. The swarming activity of the *Vibrio harveyi*, FF8 on various NaCl concentrations on the TSA medium at 27°C

Table 2. The effects of temperature in the 3% NaCl added alkali-peptone water on the growth of the *Vibrio harveyi*

Temperature (°C)	Isolates					Reference strains	
	FF 8	FF 10	FR 1	FR 2	FT 1	ATCC 35084	ATCC 14126
4	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-
15	+	+	+	+	+	+	+
27	++	++	++	++	++	++	++
30	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
37	+	+	+	+	+	+	+
40	-	-	-	-	-	-	-

Table 3. The swarming activity of the *Vibrio harveyi* on various NaCl concentrations in the TSA at 27°C

Concentration of NaCl (%)	Swarming activity on agar medium						
	FF 8	FF 10	FR 1	FR 2	FT 1	ATCC 35084	ATCC 14126
0.5	-	-	-	-	-	-	-
0.75	-	+	-	+	-	-	-
1.0	+	+++	+	+++	-	+	-
1.25	+++	+++	+++	+++	+	+	+
1.5	+++	+++	+++	+++	+	+	+++
2.0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3.0	+	+	+	+	+	+	+
5.0	+	+	-	+	-	-	++
7.0	-	-	-	-	-	-	-

+, ++, +++, swarming activity; -, growth without swarming.

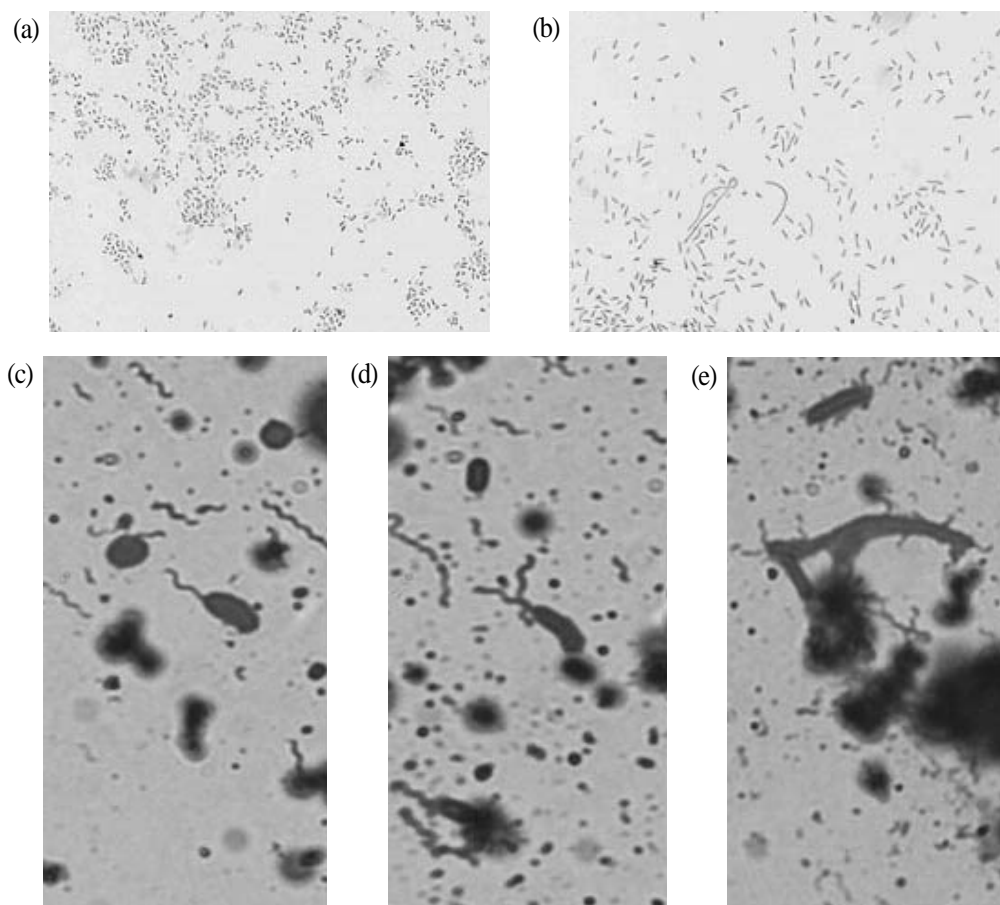


Fig. 3. Morphological change of the *Vibrio harveyi*, FF 8 in the broth (a and c) and on the agar plate (b, d and e). (a) and (b), gram stained, $\times 400$; (c), (d) and (e), flagella stained, $\times 1,000$.

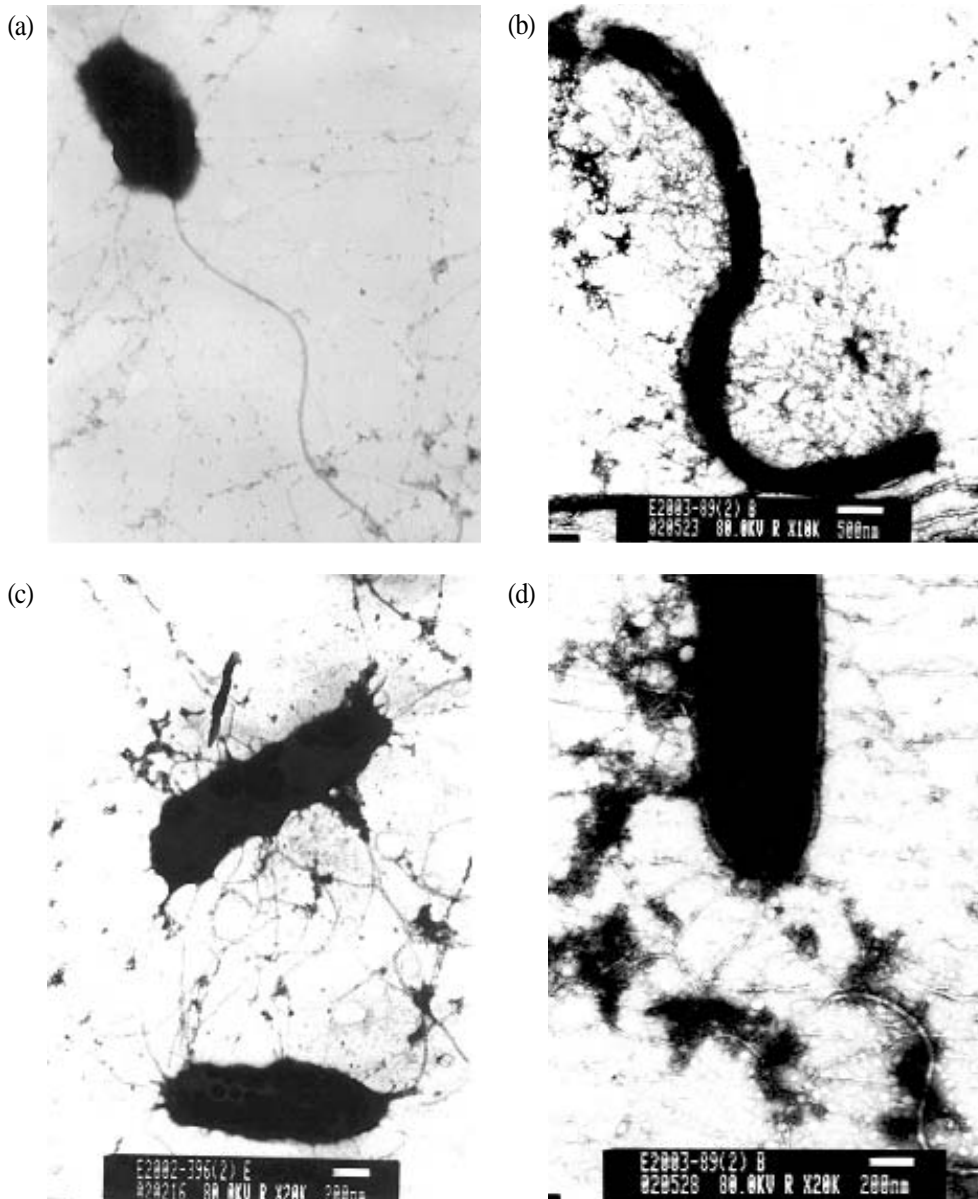


Fig. 4. Negative stain of the *Vibrio harveyi*, FF 8 in the broth (a) and on the agar plate (b, c and d): a, c, and d, $\times 20,000$; b, $\times 10,000$.

여하는 polar flagella (극편모)에 비해 swarming 운동시에 관찰되는 측편모는 보다 기늘고 짧으며, sheat (수초)로 둘러싸여 있지 않는 것으로 관찰되었다 (Fig. 4d).

Luminescence

배양된 분리 균주와 참조 균주를 Lumi-count (Pharmacia)로 측정된 결과, ATCC 14126 균주가 20,000 cpm 이상의 높은 발광능을 보인 반면, 나머지 균주들은 200~300 cpm 정도로서 균을 접종하지 않은 TSB 배지와 유사한 값을 나타내어 luminescence 음성으로 판정하였다.

고찰

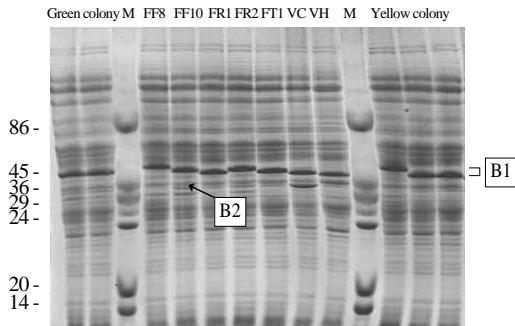


Fig. 5. Electrophoretic protein patterns of the *Vibrio harveyi* whole cells. FF 8 ~ FT 1, isolates; VC, reference strain ATCC 35084; VH, reference strain ATCC 14126; M, protein molecular marker. Arrow indicates different protein band.

SDS-PAGE

Fig. 5에 5 개의 분리 균주와 2 개의 참조 균주가 가지는 균체 단백질을 poly-acrylamide gel 상에 전기 영동하여 확인한 결과를 나타내었다. 시험 균주들의 기본적인 protein pattern은 유사하였으나, 36~50 kDa 사이의 bands에서는 다소 차이를 보였다. TCBS 배지에서의 배양특성으로 볼 때, 넙치 유래의 TCBS 배지에서 green colony가 형성된 균주 FF 10은 조피볼락 유래의 TCBS 배지에서 green colony가 형성된 균주 FR 2와 완전히 일치하였다. 그리고 터봇 유래의 TCBS 배지에서 yellow colony가 형성된 균주 FT 1은 조피볼락 유래의 TCBS 배지에서 yellow colony가 형성된 균주 FR 1과 동일한 protein pattern을 보였다. 그러나, 넙치 유래의 TCBS 배지에서 yellow colony가 형성된 균주인 FF 8는 50 kDa 부근에 있는 B1 band의 분자량이 더 큰 것으로 나타났다. Yellow colony가 형성된 균주와 green colony가 형성된 균주 사이에는 B1 band의 크기가 약간 다르며, FR 1과 FT 1은 B2 band가 없는 것으로 나타났다. 이에 비해 참조 균주의 protein은 5 개의 시험 균주와 기본적인 protein pattern이 유사하지만 완전히 일치하지는 않는 것으로 나타났다.

최근 우리나라의 해산 양식 어류에서 *Vibrio harveyi*에 감염된 사례가 확인되었으며, 이들 감염증에서 *V. harveyi*를 분리·동정하여 병원성을 조사한 연구가 보고되었다 (Won et al., 2006). 이 연구에 따르면, 우리나라에서 분리된 *V. harveyi*는 Pedersen et al. (1998)이 *V. carchariae*를 *V. harveyi*의 junior synonym으로 규정하기 전의 *V. carchariae* type과 동일하다고 하였다. 이 세균은 1990년대 이후 능성어류, *Epinephelus coioides* (Leong and Wong, 1993; Yii et al., 1997), 넙치류, *Paralichthys dentatus* (Soffientino et al., 1999) 등의 다양한 종에서 대량 폐사를 유발하는 것으로 알려지고 있다. 이 세균의 지리적 분포 또한 매우 넓어 미국, 이탈리아, 스페인 및 동남아시아 전역에 걸쳐 발병 사례가 늘고 있으며, 특히 최근에는 우리나라와 가까운 대만과 중국의 양식 해산어와 일본의 양식 전복, *Halio-tis tuberculata*에서도 대량 폐사가 보고되고 있다 (Liu et al., 2003; Nishimori et al., 1998). 따라서 우리나라에서 분리된 *V. harveyi*에 대한 전반적인 검토가 필요한 실정으로, 본 연구에서는 이 세균에 대한 가장 기본적인 정보를 얻을 수 있는 미생물학적 특성을 조사하고자 하였다.

Ortigosa et al. (1994)에 의하면, *V. harveyi*는 다른 *Vibrio* sp.와 같이 광염성으로 0.5 ~ 7%에서 성장 가능하며, 균주에 따라 8%에서도 성장이 가능하다고 한다. 이는 본 연구에서도 동일하게 나타났는데, 모든 시험 균주가 7% 염분 농도에서는 잘 성장하였으나 8%에서는 성장이 지연되어 96 시간째에 이르러서야 확인되었다. *V. harveyi*와 미생물학적 성상이 매우 비슷한 *V. alginolyticus*는 보다 광염성이어서 12% 염분농도까지 자랄 수 있는 것으로 알려져 있다 (Ortigosa et al., 1994). 배양 온도에 관한 시험 결과, 모든 시험 균주는 37°C에서 성장하였으나 40°C에서는 성장하지 못하여 이전의 연구 (Lee and Yii, 1996; Ortigosa et al., 1994)와 일치하였다. 따라서

*V. harveyi*는 42°C 까지 성장 가능한 *V. alginolyticus*보다 성장 가능 온도 범위가 좁은 것으로 나타났다.

Swarming 운동은 한천 배지의 표면 혹은 점액성 물질의 표면을 따라 균체의 집락이 넓게 퍼지는 현상으로 이러한 특성을 지닌 세균으로는 *Proteus* 속과 *Vibrio* 속 중에는 *V. alginolyticus*와 *V. parahaemolyticus*가 가장 잘 알려져 있다. Swarming 운동을 하는 세균은 성장하는 동안 만들어낸 대사 산물에 의해 세포 분열이 억제되어 elongated cells이 되는데, *Vibrio* 속 세균의 경우 polar flagella와 구조적으로 다른 lateral flagella가 다수 생성된다 (McCarter, 2004; Ullitzur and Kessel, 1975). Henrichsen (1972)은 swarming 운동을 하는 *Vibrio* 속은 세포당 최소 10~20 개 정도의 lateral flagella가 생성된다고 하였으며, 형태적으로는 polar flagellum이 sheath로 둘러싸인 직경 24~30 nm인 반면, lateral flagella는 직경 14~15 nm의 unsheathed이며 (Baumann and Baumann, 1977; Follett and Gordeon, 1968), 균체의 길이는 colony center에 위치한 균체보다 spreading zone의 것이 2~6배 더 길다 (Belas and Colwell, 1982). 이러한 연구 결과는 주로 *V. alginolyticus*와 *V. parahaemolyticus*에서 밝혀진 현상이지만 본 연구의 *V. harveyi*에서도 유사한 결과를 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 broth 또는 agar에서 배양한 균주를 flagella stain하여 길어진 균체와 증가한 편모 수를 확인하였으며, negative stain을 실시하여 TEM으로 보다 상세히 관찰하였다. 특히 TEM 관찰에서는 Belas and Colwell (1982)의 보고에서와 같이 lateral flagella가 다른 균체와 같은 형태로 연결되어 있는 것을 확인하여 다른 swarming bacteria와 함께 세포간 communication에 관여할 가능성을 확인하였다. 더욱이 Kirov (2003)는 lateral flagella가 운동 기관으로서의 역할 뿐만 아니라 병원성에 관여하는 adhesion, surface colonization, biofilm 형성과 invasion에도 관여하며, 나아가 virulence factor인 type III secretion pathway와도 밀접한 관계가 있

는 것으로 보고하였다. 본 연구 결과에서도 다수의 lateral flagella가 서로 다른 균체와 연결되어 엉겨 있는 것으로 보아, 이러한 기능이 병원성과 관련이 될 것으로 추정된다.

*V. harveyi*의 luminescence는 세균이 고밀도로 증식했을 때, autoinducer라 불리는 extracellular signalling molecules이 증가하게 되고, 이를 신호로 발광 유전자인 Lux가 발현되어 나타나는 현상이다 (Nealson and Hastings, 1979). 이 현상은 질병 발생과 무관하게 quorum sensing이라 불리는 세포간의 의사 소통 기구로서 주목 받기 시작하여 많은 연구가 이루어져 있다. 그러나 Fuqua et al. (1996)은 luminescence가 *V. fischeri*의 virulence, antibiotic synthesis, conjugation 및 운동성에 관여한다고 하였고, Song and Lee (1993)은 non-luminous *V. harveyi*는 새우에 질병을 일으키지 않는다고 주장하여, 향후 luminescence와 병원성과의 관계에 관한 고찰이 필요할 것으로 생각된다. 본 연구에서는 참조 균주로 사용한 병든 갑각류에서 분리된 ATCC 14126 균주를 제외한 모든 시험 균주에서 luminescence가 없는 것으로 나타나났으며, 이는 발광능을 측정할 흡광도 시험과 luciferase gene 검출을 위한 PCR법에서 확인되었다 (data not shown). 따라서 *V. carchariae* type의 병원성에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

Pizzutto and Hirst (1995)는 새우, *Penaeus monodon* larvae 유래의 *V. harveyi*의 protein patterns를 연구하고 이들이 모두 52 kDa의 major protein을 뚜렷하게 형성하며 Group I은 42 kDa, Group II는 40 kDa에서 band를 형성하고 기타 group은 이 부근에 band를 형성하지 않는 것을 밝혔다. 본 연구에서 모든 시험 균주는 50 kDa 부근에서 뚜렷한 major protein을 나타냈으나 균주에 따라서 분자량의 차이를 보였으며, 2개의 참조 균주의 major protein은 FR 1 및 FT 1과 동일한 분자량을 나타내었다. 또한 FR 1과 FT 1을 제외한 모든 시험 균주에서 나타난 40 kDa 근처의 band는 Pizzutto and Hirst (1995)의 연구에

서 밝힌 40과 42 kDa band와 일치하는 것으로 생각되며, FR 1과 FT 1은 그의 연구에서 Group I 과 Group II 어느 쪽에도 속하지 않는 기타 group에 해당할 것으로 판단된다. Pizzuto and Hirst (1995)는 17개의 시험 균주 중 2개의 독립 균주가 모두 Group I 에 속해, virulence와 protein pattern과의 연관성을 무시할 수는 없다고 밝히고 있어, 향후 우리 나라에서 분리된 *V. harveyi*의 SDS-PAGE pattern과 병원성과의 상관관계에 관한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 우리 나라에서 분리된 *Vibrio harveyi*의 미생물학적 특성을 조사하여 *V. harveyi* 연구의 기초적인 정보를 제공하고자 하였다. *V. harveyi*는 염분 농도 3%, 배양 온도 30°C 에서 가장 잘 증식하였다. Swarming 운동은 1.5% NaCl 첨가 TSA에서 가장 활발하였으며, swarming 운동시 균체는 길어지며, 짧고 곧은 다수의 lateral flagella가 생성된 것을 확인하였다. 우리나라에서 분리된 *V. harveyi*는 luminometer로 직접 검출하는 방법과 luciferase gene을 검출하는 방법 모두에서 음성으로 나타나, 발광능이 없는 것으로 조사되었다. *V. harveyi*의 균체 단백질은 50 kDa 부근의 major protein을 가지며, 균주에 따라 40 kDa 근처의 상이한 band pattern을 보였다.

감사의글

본 연구의 일부는 국립수산과학원 (주요 어병 세균의 병원특성과 분자생물학적 신속검출 기술개발 연구)의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

Abraham, T.J. and Manley, R.: Luminous and non-

luminous *Vibrio harveyi* associated with shell disease in cultured *Penaeus indicus*. J. Aqua. Trop., 10: 273-276, 1995.

Baumann, P. and Baumann, L.: Biology of the marine enterobacteria: genera *Beneckeia* and *Photobacterium*. Annu. Rev. Microbiol., 31: 39-61, 1977.

Belas, M.R. and Colwell, R.R.: Scanning electron microscope observation of the swarming phenomenon of *Vibrio parahaemolyticus*. J. Bacteriol., 150: 956-959, 1982.

Clark, G.: Staining procedures (4th ed.). Williams & Wilkins, Baltimore, USA, 1981.

Follett, E.A.C. and Gordon, J.: An electron microscope study of *Vibrio* flagella. J. Gen. Microbiol., 32: 235-239, 1968.

Fuqua, C., Winans, S.C. and Greenberg, E.P.: Consensus and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum-sensing transcriptional regulators. Annu. Rev. Microbiol., 50: 727-751, 1996.

Henrichsen, J.: Bacterial surface translocation: a survey and a classification. Bacteriol. Rev., 36: 478-503, 1972.

Karunasagar, I., Pai, R. and Malath, G.R.: Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture, 128: 203-209, 1994.

Kirov, S.M.: Bacteria that express lateral flagella enable dissection of the multifunctional roles of flagella in pathogenesis. FEMS Microbiol., 224: 151-159, 2003.

Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685, 1970.

Lee, K.K. and Yui, K.C.: A comparison of three methods for assaying hydrophobicity of pathogenic *Vibrios*. Lett. Appl. Microbiol., 23: 343-346, 1996.

- Leifson, E.: Atlas of Bacterial Flagellation, Academic Press, New York, 1960.
- 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., 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.
- Liu, P.C., Lee, K.K., Yui, 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.
- McCarter, L.L.: Dual flagellar systems enable motility under different circumstances. J. Mol. Microbiol. Biotechnol., 7: 18-29, 2004.
- Nealson, K.H. and Hastings, J.W.: Bacterial bioluminescence: Its control and ecological significance. Microbiol. Rev., 43: 496-518, 1979.
- Nishimori, E., Hasegawa, O, Numata, T. and Wakabayashi, H.: *Vibrio carchariae* causes mass mortalities in Japanese abalone, *Sulculus diversicolor supratexta*. Fish Pathol., 33: 495-502, 1998.
- Ortigosa, M., Garay, E and Pujalte, M.J.: Numerical taxonomy of *Vibrionaceae* isolated from oysters and seawater along an annual cycle. System. Appl. Microbiol., 17: 216-225, 1994.
- 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.
- Saeed, M.O.: Association of *Vibrio harveyi* with mortalities in cultured marine fish in Kuwait. Aquaculture, 136: 21-29, 1995.
- 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.
- Song, Y.L. and Lee, S.P.: Characterization and ecological implication of luminous *Vibrio harveyi* isolated from tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Bull. Inst. Zool. Academia Sinica, 32: 217-220, 1993.
- Ulitzur, S. and Kessel, M.: Giant flagellar bundles of *Vibrio alginolyticus* (NCMB 1803). Arch. Microbiol., 94: 331-339, 1975.
- Wimpee, C.F., Nadeau, T.L. and Nealson, K.H.: Development of species-specific hybridization probes for marine luminous bacteria by using in vitro DNA amplification. Appl. Environ. Microbiol. 57: 1319-1324, 1991.
- 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(3): 123-128, 2006.
- Yui, 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.

Manuscript Received : September 4, 2007

Revision Accepted : November 8, 2007

Responsible Editorial Member : Kwan-Ha Park
(Kunsan Univ.)