

해수순치 무지개송어 (*Oncorhynchus mykiss*)의 *Vibrio anguillarum* 감염증

김시우·김종오·김위식·김도형*·오명주[†]

전남대학교 수산생명의학과, *부경대학교 수산생명의학과

Vibrio anguillarum infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* during seawater adaption

Si-Woo Kim, Jong-Oh Kim, Wi-Sik Kim, Do-Hyung Kim* and Myung-Joo Oh[†]

Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

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

We examined the cause of a disease outbreak in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, which were adapting to a seawater in an aquaculture farm in Jeju on April, 2013. Most of the diseased fish showed a severe ulcer on the skin, enlarged spleen, expanded stomach and hemorrhage of abdominal and pyloric region. Although no parasites, fungi or viruses were isolated from diseased fish, over 200 same bacterial colonies were isolated from liver, spleen and kidney. Nucleotide sequences of the 16S rDNA gene of the bacterium in this study showed 100% identity with *Vibrio anguillarum*. This study is the first report of *V. anguillarum* infection in rainbow trout during sea adaption in Korea.

Key words: Rainbow trout, Seawater adaptation, *Vibrio anguillarum*, Infection

무지개송어 (*Oncorhynchus mykiss*)는 조기어강 (*Actinopterygii*) 연어목 (*Salmoniformes*) 연어과 (*Salmonidae*)에 속하는 냉수성 어종으로서 북서 아시아와 북미의 태평양 연안에 분포하였으나 양식 목적으로 세계 각국에 보급되었다 (Gall and Crandell, 1992). 우리나라에서는 1960년대에 미국으로부터 무지개송어 발안란을 수입하면서 양식이 시작되었고 2013년에 약 150만 톤의 송어류를 생산하였다 (통계청, 2014).

무지개송어는 담수에서 서식하지만 해수에 대

한 생리적 적응 능력을 가지고 있어 순치과정을 거치면 해수에서도 사육할 수 있다 (Landless, 1976; Bath and Eddy, 1979; Gall and Crandell, 1992). 해수에서 사육된 무지개송어는 담수에서 보다 성장이 2-3배 빠르며 육질이 우수하기 때문에 상품성을 향상시킬 수 있는 장점을 가지고 있다 (Austreng *et al.*, 1987; Güner *et al.*, 2006). 최근 우리나라에서는 동절기 남해안 가두리 양식 활성화 및 제주도의 고부가가치 양식종을 개발하기 위해 무지개송어의 해수양식을 시도하고 있다. 그러나 순치과정에서 염분변화에 의한 스트레스, 감염성질병 등으로 추정되는 원인으로 인해 성장이 지연되거나 폐사가 발생하고 있다.

[†]Corresponding author: Myung-Joo Oh
Tel: +82-61-659-7173, Fax: +82-61-659-7173
E-mail: ohmj@chonnam.ac.kr

무지개송어의 해수 순치 및 사육과정 중에 발생하는 질병으로는 *Lepeophtheirus salmonis* 감염증, *Vibrio anguillarum* 감염증, viral hemorrhagic septicaemia (VHS), 사육해수의 온도 및 염분 변화에 의한 질병 등이 보고되어 있다 (Mccarthy *et al.*, 1974; Gastric and Kinkelin, 1980; Oorschot and Boon, 1993; Nolan *et al.*, 2000; Tanrikul, 2007). 이와 같이 무지개송어를 해수에 사육하는 과정에서는 기생충, 세균 및 바이러스에 의한 감염성 질병뿐만 아니라 사육환경 변화에 의한 비감염성 질병들이 발생하고 있다.

국내에서는 무지개송어 해수순치 과정 중에 발생하는 질병에 대해서는 보고된바 없으나 2013년 제주도에 위치한 육상수조식 양식장에서 해수순치 과정중인 무지개송어에서 대량폐사 (누적폐사율: 약 30%)가 발생하였다. 본 연구에서는 폐사 원인을 조사한 결과 *Vibrio anguillarum*이 관련되어 있음이 확인되어 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시료 채집 및 질병 검사

시료는 2013년 4월 제주도의 육상 수조식 양식장에서 해수순치 과정중인 무지개송어 치어 (체중: 20±5 g, 체장: 11±2 cm)로 힘없이 유명하다 폐사되는 개체 10마리를 채집하여 실험에 사용하였다. 채집된 시료는 외부 및 내부 증상을 육안적으로 관찰하였고, 피부 궤양 부위를 비롯한 각종 장기를 대상으로 광학현미경을 사용하여 기생충 및 진균 검사를 실시하였다. 세균 검사는 간, 비장 및 신장 조직을 무균적으로 채취하여 tryptic soy agar (TSA; Difco, USA)와 marine agar (MA; Difco, USA)에 도말한 후, 15°C에서 5일간 배양하여 세균을 분리하였다. 바이러스 검사는 신장과 비장 조직을 Hanks' balanced salt solution (HBSS; Gibco, USA)으로 1:9 (0.5 g/ 4.5 mL)가 되게 처리하여 마쇄하고, 그 마쇄액을 0.45 µm syringe filter로 여과하여 바이러스 분리용 시료로 사용하였다. 해당 시료는 fathead minnow caudal trunk cell line (FHM)과 Chinook salmon embryo cell line (CHSE-214)에 접종하여 15°C에 배양하면서 세포변성효과 (Cytopathic effect, CPE)를

관찰하였다. 연어과 어류의 주요 바이러스인 infectious pancreatic necrosis virus (IPNV), infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) 및 VHS virus (VHSV)의 감염유무를 확인하기 위하여, 신장과 비장 조직으로부터 RNA extraction kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 RNA를 분리한 후, Suzuki *et al.* (1997)와 Miller *et al.* (1998)의 방법에 준해 IPNV (P1: 5'-AGAGATCACTGACTTCACAAGTGAC-3', P2: 5'-TGTGCACCACAGGAAAGATGACTC-3'), IHNV (IG1: 5'-ATGATCACCACTCCGCTCATT-3', ID3: 5'-GATTGGAGATTTTATCAACA-3') 및 VHSV (VG1: 5'-ATGGAATGGAACACTTTTTTC-3', VD3: 5'-TG-TGATCATGGGTCCTGGTG-3') 검출 primer를 사용하여 reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)을 실시하였다.

분리된 세균의 동정

세균 배양법으로 분리된 세균은 16S rDNA 염기서열을 분석하여 동정하였다. 염기서열 분석을 위한 PCR은 Suzuki and Giovannoni (1996)와 Marchesi *et al.* (1998)의 방법에 준해 63F (5'-CAGGCCTAACATGCAAGTC-3')와 1406R (5'-ACGGGCGGTGTGTRCAA-3') primer를 사용하여 PCR을 실시하였다. PCR 증폭 산물은 1.5% agarose gel을 이용하여 확인하였고, gel purification kit (Bioneer, Korea)를 이용하여 정제 후 ABI PRISM dye terminator sequencing chemistry (Applied Biosystems, USA)를 사용하여 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열은 GenBank의 Blast 분석을 실시하여 동정하였다.

항균제 감수성 시험

Florfenicol, enrofloxacin, doxycycline, oxytetracycline, oxolinic acid, sulfamethoxazole + trimethoprim, erythromycin, clindamycin, amoxicillin, neomycin 및 ampicillin 11종의 항균제 감수성 시험은 Sensi disk (BBL, USA)를 이용한 디스크 확산법으로 무지개송어로부터 분리한 세균의 약제 감수성 검사를 실시하였다. PBS buffer에 현탁된 세균은 TSA 배지에 도말하여 15°C에서 48시간 배양한 후, 감수성 여부를 판정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 해수순치 과정에서 대량 폐사되는 무지개송어를 대상으로 질병검사를 실시하였다. 해수순치 과정은 충청북도에 위치한 종묘장에서 생산된 무지개송어 치어 총 4만 마리를 지하수가 들어 있는 수조 (사육수온: 17°C)에 수용한 후 해수의 유입을 점차적으로 늘리는 방법으로 (염분의 농도: 1일에 약 1 practical salinity units (PSU)씩 상승시킴) 실시하였다. 사육수의 염분 농도가 5 PSU가 되었을 때, 힘없이 수면 위를 유평을 보이는 개체가 관찰되기 시작하였고, 폐사체가 발생한 후 7일 동안 약 5,000 마리가 폐사되었다 (폐사율: 13%). 병어의 대부분은 체표에 궤양이 형성되어 있었고 (Fig. 1a), 해부 결과 비장 비대, 유문수 부위 및 복강근육의 출혈과 위속에 액성물질 및 기포가 가득 차 있었다 (Fig. 1b). 외관상 정상어로 보이는 개체에서는 특이병변이 관찰되지 않았다.

병어를 대상으로 병원체 검사를 실시한 결과, 피부 궤양 부위와 내부 장기로부터 기생충과 진균은 검출되지 않았고, 바이러스 검사에 사용된 신장과 비장 조직에서도 CPE는 관찰되지 않았다. 또한 연어과 어류의 주요 바이러스인 IPNV, IHNV 및 VHSV에 대한 RT-PCR을 실시한 결과에서도 모두 음성 반응이 확인되었다 (data not shown). 세균 검사 결과에서는 검사 개체 5마리에서 간, 비장 및 신장조직에서 동일한 형태의 colony가 시료 당 200 개 이상 분리되었다. TSA와 MA 배지에서 배양된 세균은 미색의 원형 집락을 형성하였다 (data not shown). 분리된 세균의 16S rDNA의 염기서열을 분석한 결과, 기수와 해수사육 연어과 어류, 넙치 (*Paralichthys olivaceus*), 터복 (*Scophthalmus maximus*), 농어 (*Lates calcarifer*) 및 잉어 (*Cyprinus car-*

pio)에서 보고된 *Vibrio anguillarum*과 100% (875/875 bp) 일치하는 것으로 확인되었다 (Fig. 2).

V. anguillarum 감염증은 해산어와 담수어 모두에서 흔히 발생하는 질병으로서 무지개송어를 포함한 50 여종이 넘는 다양한 어류에서 병원성을 나타낸다 (Frans *et al.*, 2011). *V. anguillarum*에 감염된 무지개송어는 체표에 염증으로 인한 출혈이나 궤양 환부를 보이고, 간, 장, 생식선 등의 내부 장기의 점상출혈과 소화관내에 점액상의 물질이 축만 하게 된다 (Mccarthy *et al.*, 1974; Frans *et al.*, 2011). 본 연구에서는 분리된 *V. anguillarum*를 사용하여 해수순치중의 무지개송어를 대상으로 감염실험을 실시하지는 못하였으나 병어로부터 *V. anguillarum*이 다수 분리되며, 기존에 무지개송어에서 보고된 *V. anguillarum* 감염증과 병변이 유사한 것으로 보아 해수순치 과정 중에서 폐사된 무지개송어는 *V. anguillarum* 감염에 의한 것으로 사료된다. *V. anguillarum*은 연안의 해수 중에 상재하는 세균으로서 어류가 스트레스를 받거나 상처가 나게 되면 감염되어 질병을 일으키는 기회성 병원체로 알려져 있다 (Toranzo and Barja, 1990). 해수순치 과정의 무지개송어는 체내 이온의 급격한 변화로 인해 과도한 스트레스를 받게 되는데 (Bath *et al.*, 1979) 이러한 이유로 인해 무지개송어는 *V. anguillarum*에 감염되는 것으로 추정된다.

*V. anguillarum*에 대한 약제 감수성 결과, florfenicol, enrofloxacin, doxycycline, oxytetracycline, oxolinic acid 및 sulfamethoxazole + trimethoprim에서 inhibition zone이 35-44 mm로 감수성이 높게 나타났다 (Table 1). 약제 감수성 결과를 토대로 양식 현장에서 oxytetracycline 약육과 enrofloxacin을 경구 투여한 결과, 폐사율은 1일 800마리에서 10마리 이하로 급격하게 감소하였다 (data not shown). 이



Fig. 1. Photo of diseased rainbow trout which show ulcer on the skin (a), enlarged spleen (b), expanded stomach (b) and haemorrhage of abdominal and pyloric region (b).

V. anguillarum(in this study) - TGGGAGGCGGGAC	GGGTGGATGATGCT AGGAAATTCGCTG	TGTGGGGATTAACA 60	V. anguillarum(in this study) - CGCATCGAGTGGT	GATTAGTCAGATG	GRAAGCGGGGCTC AACCTGGAAACCGA 540
V. anguillarum(salmonids) - TGGGAGGCGGGAC	GGGTGGATGATGCT AGGAAATTCGCTG	TGTGGGGATTAACA	V. anguillarum(salmonids) - CGCATCGAGTGGT	GATTAGTCAGATG	GRAAGCGGGGCTC AACCTGGAAACCGA
V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC

V. anguillarum(in this study) - TTGAAACGATGGCT	AATACGCGATGATGC CTACGGGCCAAGAG	GGGGACTTGGGGC 120	V. anguillarum(in this study) - TTTGAACCTGGTCA	CTAGACTACTGTAGA	GGGGGTTGAAATTC AGGTATAGCGGTGAA 600
V. anguillarum(salmonids) - TTGAAACGATGGCT	AATACGCGATGATGC CTACGGGCCAAGAG	GGGGACTTGGGGC	V. anguillarum(salmonids) - TTTGAACCTGGTCA	CTAGACTACTGTAGA	GGGGGTTGAAATTC AGGTATAGCGGTGAA
V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC

V. anguillarum(in this study) - TCTCGCTCAGGATA	TGCCTAGTGGGATG AGCTAGTGTGGTAG	TATGGCTCACCAG 180	V. anguillarum(in this study) - ATGCTTAGAGATCG	AGGATACCGGCTG	CGAGCGGGCCCTCT GGCAGTACTGACA 660
V. anguillarum(salmonids) - TCTCGCTCAGGATA	TGCCTAGTGGGATG AGCTAGTGTGGTAG	TATGGCTCACCAG	V. anguillarum(salmonids) - ATGCTTAGAGATCG	AGGATACCGGCTG	CGAGCGGGCCCTCT GGCAGTACTGACA
V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC

V. anguillarum(in this study) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC 240	V. anguillarum(in this study) - CTCAGATCGAAGC	GTGGGAGCAACAG	GATTAGTACCGTG TAGTCCAGCGGATA 720
V. anguillarum(salmonids) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(salmonids) - CTCAGATCGAAGC	GTGGGAGCAACAG	GATTAGTACCGTG TAGTCCAGCGGATA
V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC

V. anguillarum(in this study) - AGCTCTCAGGGAG	GGAGCATGGGAAAT ATTGCACAAATGGGG	CAGGCTGATCGAGC 300	V. anguillarum(in this study) - ACGATGTCTACTTG	AGGTTGTGGCTTGA	CGCTGGCTTTTGGG GCTAACGCTTAAGT 780
V. anguillarum(salmonids) - AGCTCTCAGGGAG	GGAGCATGGGAAAT ATTGCACAAATGGGG	CAGGCTGATCGAGC	V. anguillarum(salmonids) - ACGATGTCTACTTG	AGGTTGTGGCTTGA	CGCTGGCTTTTGGG GCTAACGCTTAAGT
V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC

V. anguillarum(in this study) - CAGCGCGGTGRTG	AGGAGGCTTGGGG TTCTAAGTACTTTC	AGCTGAGGAAAGT 360	V. anguillarum(in this study) - AGTCCGCTGGGAG	TAGCGTGCAGGATT	AAACTCAGATGAT TCGGGGGGCGCGA 840
V. anguillarum(salmonids) - CAGCGCGGTGRTG	AGGAGGCTTGGGG TTCTAAGTACTTTC	AGCTGAGGAAAGT	V. anguillarum(salmonids) - AGTCCGCTGGGAG	TAGCGTGCAGGATT	AAACTCAGATGAT TCGGGGGGCGCGA
V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC

V. anguillarum(in this study) - GGTGTGTTTATAGC	AGCATATTGAGCT TAGCGACAGAGAG	CACCGGTAATCGG 420	V. anguillarum(in this study) - CAGCGGTGGAGAT	GTGGTTTAAATGGAT	GCAC 875
V. anguillarum(salmonids) - GGTGTGTTTATAGC	AGCATATTGAGCT TAGCGACAGAGAG	CACCGGTAATCGG	V. anguillarum(salmonids) - CAGCGGTGGAGAT	GTGGTTTAAATGGAT	GCAC
V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(olive flounder)- CAGCGGTGGAGAT	GTGGTTTAAATGGAT	GCAC
V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(turbot) - CAGCGGTGGAGAT	GTGGTTTAAATGGAT	GCAC
V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(asian seabass) - CAGCGGTGGAGAT	GTGGTTTAAATGGAT	GCAC
V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(carpi) - CAGCGGTGGAGAT	GTGGTTTAAATGGAT	GCAC

V. anguillarum(in this study) - TCCACAGCGCGGG	TAAATGGAGGCTGC GAGGTTAATCGGAA	TACTGGGCGTAAAG 480	V. anguillarum(in this study) - TCCACAGCGCGGG	TAAATGGAGGCTGC	GAGGTTAATCGGAA TACTGGGCGTAAAG 480
V. anguillarum(salmonids) - TCCACAGCGCGGG	TAAATGGAGGCTGC GAGGTTAATCGGAA	TACTGGGCGTAAAG	V. anguillarum(salmonids) - TCCACAGCGCGGG	TAAATGGAGGCTGC	GAGGTTAATCGGAA TACTGGGCGTAAAG
V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(olive flounder)- GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(turbot) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(asian seabass) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC
V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG ATCAGCCACACTGGA	ACTGAGACAGGCTC	V. anguillarum(carpi) - GGAGCATCCCTAG	TGGTCTGAGAGGATG	ATCAGCCACACTGGA ACTGAGACAGGCTC

Fig. 2. Comparison of the partial 16S rDNA sequence of isolated bacterium in this study and *Vibrio anguillarum* isolated from salmonids (Genbank number: DQ247926), olive flounder (CP006699), turbot (KF770027), seabass (GU573927) and carp (FJ824662).

상의 결과, 항생제 투여를 통하여 무지개송어의 *V. anguillarum* 감염증 제어는 가능할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 2013년 4월 제주 소재 육상수조에서 무지개송어 해수순치 과정에서 대량폐사가 발생하여 질병검사를 실시하였다. 병어의 대부분

은 체표에 레양이 형성되어 있었고, 비장 비대, 유문수 부위 및 복강 근육의 출혈 및 위속에 액성물질이 가득 차 있었다. 병원체 검사결과, 기생충, 진균, 바이러스는 검출되지 않았지만 검사 개체 5마리에서 간, 비장 및 신장조직에서 동일한 형태의 세균 colony가 시료 당 200개 이상 분리되었다. 분리세균의 16S rDNA 염기서열 분석 결과, *Vibrio anguillarum*과 100% (875/875 bp) 일치하였다. 이상의 결과, 무지개송어 해수 순치과정 중에 발생된

Table 1. Antibiotic susceptibility of *V. anguillarum* from diseased rainbow trout during seawater adaption

Drug	Concentration (µg/disc)	Suceptibility*
Florfenicol	30	++++
Enrofloxacin	5	++++
Doxycycline	30	++++
Oxytetracycline	30	++++
Oxolinic acid	2	++++
Sulfamethoxazole /Trimethoprim	23.75	++++
Erythromycin	15	++
Clindamycin	10	++
Amoxicillin	25	++
Neomycin	10	++
Ampicillin	10	+

*++++ (35-44 mm), strong inhibition

++ (16-21 mm), mdeium inhibition

+ (8 mm), weak inhibition

질병은 *Vibrio anguillarum* 감염증으로 사료되었다.

References

Austreng, E., Storebakken, T. and Asgard, T.: Growth rate estimates for cultured atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*, 60: 157-160, 1987.

Bath, R.N. and Eddy, F.B.: Salt and water balance in rainbow trout (*Salmo Gairdneri*) rapidly transferred from fresh water to sea water. *J. Exp. Biol.*, 83: 193-202, 1979.

Frans, I., Michiels, C.W., Bossier, P., Willems, K.A., Lievens, B. and Rediers, H.: *Vibrio anguillarum* as a fish pathogen: virulence factors, diagnosis and prevention. *J. Fish. Dis.*, 34:643-661, 2011.

Gall, G. and Crandell, P.: The rainbow trout. *Aquaculture*, 100:1-10, 1992.

Gastric, J. and Kinkelin, P.D.: Occurrence of viral haemorrhagic septicaemia in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson reared in sea-water. *J. Fish. Dis.*, 3: 21-27, 1980.

Güner, Y., Özden, O. and Güllü, K.: Adaptation to sea water and growth performance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Biol. Sci.*, 6: 22-27, 2006.

Landless, P.J.: Acclimation of rainbow trout to sea water. *Aquaculture*, 7: 173-179, 1976.

Marchesi, J.R., Sato, T., Weightman, A.J., Martin, T.A., Fry, J.C., Hiom, S.J. and Wade, W.G.: Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl. Environ. Microb.*, 64: 795-799, 1998.

Mccarthy, D.H., Stevenson, J.P. and Roberts, M.S.: Vibriosis in rainbow trout. *J. Wildlife. Dis.*, 10: 2-7, 1974.

Miller, T.A., Rapp, J., Wastlhuber, U., Hoffmann, R.W. and Enzmann, P.J.: Rapid and sensitive reverse transcriptase polymerase chain reaction based detection and differential diagnosis of fish pathogenic rhabdoviruses in organ samples and cultured cells. *Dis. Aquat. Org.*, 34: 13-20, 1998.

Nolan, D.T., Ruane, N.M., Heijden, Y.V.D., Quabius, E.S., Costelloe, J. and Bonga, S.E.W.: Juvenile *Lepeophtheirus salmonis* (Krüyer) affect the skin and gills of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and the host response to a handling procedure. *Aquac. Res.*, 31: 823-833, 2000.

Oorschot, R.W.A. and Boon, J.H.: Mortality of marine cultured rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), during the summer in the Netherlands. *Aquac. Res.*, 24: 291-298, 1993.

Suzuki, M.T. and Giovannoni, S.J.: Bias caused by template annealing in the amplification of mixtures of 16S rRNA genes by PCR. *Appl. Environ. Microb.*, 62: 625-630, 1996.

Suzuki, S., Hosono, N. and Kusuda, R.: Detection of aquatic birnavirus gene from marine fish using a combination of reverse transcription and nested PCR. *J. Mar. Biotechnol.*, 5: 205-209, 1997.

Tanrikul, T.T.: Vibriosis as an epizootic disease of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Pak. J. Biol. Sci.*, 10: 1733-1737, 2007.

Toranzo, A.E. and Barja, J.L.: Review of the taxonomy and seroepizootiology of *Vibrio anguillarum*, with special reference to aquaculture in the northwest of Spain. *Dis. Aquat. Org.*, 9: 73-82, 1990.

통계청: 어업생산동향조사. 어업별 품종별 통계. 2014.

Manuscript Received : August 04, 2014

Revised : August 18, 2014

Accepted : August 19, 2014