

## 양식넙치에서 분리한 새로운 $\alpha$ -용혈성 세균 *Vibrio* sp. Strain JM1의 특성

강봉조<sup>1,3</sup> · 강형일<sup>2,3</sup> · 이동현<sup>3</sup> · 윤병준<sup>3</sup> · 오덕철<sup>2,3</sup>  
 제주도해양수산자원연구소<sup>1</sup> · 제주대학교 기초과학 연구소<sup>2</sup> ·  
 제주대학교 자연과학대학 생물학과<sup>3</sup>

### 서 론

어류에 질병을 일으키는 *Vibrio*속 세균은 *V. anguillarum*을 비롯하여 약 11종 정도가 보고 되어있다 (Edward, 1995). 2000년 12월에 제주도내 한 양식장의 양식넙치 중 세균성질병에 감염된 것으로 추정되는 병어로부터 혈액한천배지에서 녹색의 용혈환을 나타내는 그람음성세균이 분리되었다. 검체에서 기생충 및 다른 세균은 검출되지 않아 병어의 질병은 분리된 세균에 의한 것으로 판단하였으며, 생화학적 특징 및 유전자 분석 결과 *Vibrio*속의 세균으로 추정되어 그 세균학적 특성을 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 감염 어류의 채집 및 세균의 분리

수는 17°C의 양식수조에서, 전장 8.0 ~ 9.0 cm의 병어 5마리를 채집하여 시험에 사용하였다. 세균의 분리는 병어를 무균적으로 해부 한 후 백금이로 신장과 간에서 조직의 채액을 묻혀 BHIA 및 SS Agar, TCBS Agar에 도말하여 배양하였다.

#### 분리균의 생리·생화학적 특성

분리균의 생화학적 특성은 MicroLog System (Biolog)과 API20NE kit(BioMérieux Co.)로 규명하였으며, 그 외 NaCl 농도별 성장, 온도별 성장여부, oxidase, catalase, O-F test등을 실시하였다.

#### 16S rDNA의 PCR 증폭과 염기서열 분석

Genomic DNA는 Nucleospin Tissue Kit(Clontech, Palo Alto, CA, U.S.A.)를 사용하여 분리하였고 PCR 증폭을 위한 primer는 universal eubacterial primer 27f와 1522r를 이용하였고, PCR반응시간은 95°C에서 1분간 반응시킨 다음 95°C denaturation 1분, 55°C annealing 1분, 72°C extention 1분을 30회 반복하고 72°C에서 10분간 final extention을 실시하였다. PCR 생성물을 pGEM-T Easy vector system(Promega Co. Madison, WI, U.S.A.)을 이용하여 cloning 후 *E. coli*에 형질전환하고 Wizard<sup>®</sup> Plus SV system(Promega Co. Madison, WI, U.S.A.)을 이용하여

plasmid DNA를 분리하였다. DNA sequencing은 ALF express(Amersham Pharmacia Biotech)를 이용하여 수행하였고 염기서열 분석은 Lagergene software(DNA STAR, Inc., Madison, U.S.A.)와 Gene Bank의 BLAST search를 통하여 분석하였다.

## 결과 및 요약

### 분리균의 생화학적 특성

O-F (oxidation-fermentation) 시험에서 F(발효)의 결과를 나타냈고, glucose를 탄소원으로 이용하였을 때, 산을 형성하였으나 gas는 발생하지 않았다. Oxidase 시험은 양성이었고, catalase 시험에서는 미약한 양성결과를 나타내었다. 3% 및 6% NaCl 첨가배지에서는 성장이 이루어졌으나, 0% 와 8% NaCl 첨가배지에서는 성장이 이루어지지 않았고, 온도별 성장 시험에서는 10°C와 45°C에서 성장이 이루어지지 않았다. API 20NE kit을 이용한 분리균에 대한 생화학 시험결과는 *V. parahaemolyticus*와 94.1%의 상동성을 나타내었으나 TCBS 배지에서 성장하지 않았고, sucrose를 분해하는 점등이, *V. parahaemolyticus*가 갖는 생리학적 특성과는 달랐다 (Holt *et al.*, 1997).

### 분리균의 16S rRNA 서열에 의한 계통학적 분석

분리균주의 16S rRNA의 400bp를 비교, 분석한 결과 *V. lentus* 및 *Listonella pelagius*와 95%의 상동성을 나타내어 가장 높은 유연관계를 나타내었고, 병어에서 흔히 발견되는 *V. anguillarum*이나 *V. parahaemolyticus*와는 90% 미만의 상동성을 나타내었다. 이러한 생리, 생화학적 및 유전학적 연구결과는 본 연구에서 분리된 균주가 기존의 *Vibro* 종과는 비교적 계통관계가 먼 신종으로 판명되어 이 균주를 *Vibrio* sp. Strain JM1이라 명명하였다.

## 참고문헌

- Edward, J. N. 1995. Fish Disease Diagnosis and Treatment, Mosby, 149-151.
- Gerhart, P., R. G. E. Murray, R. N. Costillow, E. W. Nester, W. A. Wood, N. R. Kreig, and G. B. Phillips, 1981. Methods for General and Molecular Bacteriology. American Society for Microbiology. U.S.A.
- Holt, J.G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley and S. T. Williams. 1997. Bergey' s Manual of Determinative Bacteriology(Ninth Edition). Williams & Wilkins, U.S.A. 273-274.
- Kahng, H.-Y., Kukor, J. J., and Oh, K.-H, 2000. Physiological and phylogenetic analysis of *Burkholderia* sp. HY1 capable of aniline degradation. J. Microbiol. Biotechnol., 10: 643-650.