

우리 나라 양식 해산어에서 분리된 *Vibrio harveyi*의 특성

원경미 · 홍미주 · 김수미* · 박수일

부경대학교 수산생명의학과 · *부경대학교 수산과학연구소

서론

1999년 여름철 고수온기에 경북, 경남 및 부산 인근의 몇몇 넙치 양식장에서 세균성 감염증으로 보이는 질병에 의해 넙치의 폐사가 발생하여 그 원인을 조사하였다. 감염어는 복부팽만, 장충혈, 장액삼출 및 간출혈 등의 특징적 증상을 보이면서 폐사하여, 에드워드병이나 연쇄구균증으로 의심되었다. 그러나 감염어의 환부 및 내부 장기에 서 분리된 세균은 1.5% NaCl 첨가 TSA 평판배지에서 swarming을 하는 특성을 보였으며, TCBS에서 yellow 혹은 green colony를 형성하는 비브리오균인 것으로 나타나, 여러 가지 생화학 실험을 통해 *V. harveyi*로 추정되었다.

*V. harveyi*는 새우의 대표적인 세균성 병원체인 luminous *Vibrio*로 널리 알려져 있으며, 최근에는 grouper (Yii et al, 1997), summer flounder (Soffientino et al., 1999) 등의 어종에서 대량폐사를 유발하는 것으로 보고되고 있다. 이들 병원체는 과거 *V. carchariae*와 *V. harveyi*로 별개의 종으로 인식되었으나, Pedersen et al.(1998)의 보고 이후, *V. carchariae*가 *V. harveyi*의 junior synonym으로 규정되어 분류학적으로 재정립되었다. 하지만 현재까지도 혼용되고 있는 경우가 많아, 본 연구에서는 2가지 type strain을 참조 균주로 사용하여, 분리 균주의 생화학 실험, 16S rRNA 염기배열 분석 등을 실시하고 그 특성을 비교 검토하였다.

재료 및 방법

병원균의 분리 및 시험 균주 : 실험에 사용한 7 균주는 1999년에서 2001년 사이에 경상도와 부산 일대의 넙치, 조피볼락, turbot, 감성돔, 송어에서 분리되었다. 분리균은 1.5% NaCl 첨가 TSA에 접종한 후, 27°C, 24시간 배양하여 swarming하는 특성을 확인하였다. 감염어의 주요 증상은 심한 장충혈과 장액 삼출이었다. *V. harveyi* type strain ATCC 14126과 *V. carchariae* type strain ATCC 35084는 참조 균주로 사용하였다.

전자현미경적 형태 관찰 : Negative strain법으로 염색하여 TEM으로 관찰하였다.

생화학적 성상 검사 : 본 실험에 사용된 균주는 standard methods에 따라 제작된 생화학배지에 배양하여 판정하였고, TCBS와 SS plate에서의 발육성상을 관찰하였다.

16S rRNA 염기배열의 유전자 분석 : 시험 균주의 genomic DNA를 분리한 후, 16S

rRNA의 약 1,350 bp를 PCR로 증폭하여 정제했다. 이 PCR 산물의 염기배열을 분석하고 BLAST program/NCBI로 비교하였다.

발광능 측정 및 luciferase 유전자 검사 : TSB에서 24h 배양된 시험 균주를 단독 혹은 발광자극제인 n-decyl aldehyde [0.2 and 0.5% (v/v)]을 첨가한 후, luminometer로 측정하였다. 또한 발광능에 관여하는 유전자를 조사하기 위하여 luciferase alpha subunit (LuxA) 유전자에 대한 PCR 반응을 시행하였다.

약제 감수성 시험 : 총 10가지의 약제에 대해 disk법으로 시험하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서 분리된 7 균주는 swarming 특성을 보이는 그람 음성 단편모균이며, 생화학 시험에서는 sorbitol과 sucrose의 이용능 등 일부 항목에서 차이를 보이는 것을 제외하고는 대부분 일치하는 결과를 보여 *Vibrio harveyi*로 동정되었다. 또한, 이들 균주의 16S rRNA 유전자를 염기배열 분석한 결과, Pedersen et al. (1998) 이전의 *V. carchariae* type과 100%, *V. harveyi* type과 99.2%의 상동성을 보였고, 발광능은 없는 것으로 조사되었다. 약제감수성 시험 결과는 균주가 분리된 양어장에 따라 차이를 보였다.

저자는 본 연구결과와 Pedersen et al. (1998)의 보고를 바탕으로, 본 분리균이 이전의 *V. carchariae*로 분류되던 type에 해당하며, 이는 어병세균인 *Aeromonas salmonicida*의 atypical type에 비유될 수 있을 것으로 생각된다.

*V. harveyi*는 우리나라의 해수 환경, 특히 양식장 환경에 상존하면서 고수온기에 질병을 일으키는 것으로 사료된다. 본 실험실의 현장조사시 이 균이 원인으로 추정되는 병어의 검출빈도가 높아, 이 보고가 앞으로의 어병 진단에 중요한 기초자료가 될 것으로 생각된다. 이후 이 세균에 관한 체계적인 연구가 필수적이라 생각되며, 특히 숙주 특이성, 감염경로 그리고 병원성 기작에 관한 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

- Soffientino, B., T. Gwaltney, D. R. Nelson, J. L. Specker, M. Mauel and M. Gomez-Chiarri (1999). Infectious necrotizing enteritis and mortality caused by *Vibrio carchariae* in summer flounder *Paralichthys dentatus* during intensive culture. *Disease of Aquatic Organisms* 38: 201-210.
- Pedersen, K., L. Verdonck, B. Austin, D. A. Austin, A. R. Blanch, P. A. D. Grimont, J. Jofre, S. Kobravi, J. L. Larsen, T. Tiainen, M. Vigneulle and J. Swings (1998). Taxonomic evidence that *Vibrio carchariae* Grimes et al. 1985 is junior synonym of *Vibrio harveyi* (Johnson and Shunk 1936) Baumann et al. 1981. *International Journal of Systematic Bacteriology* 48: 749-758.
- Yii, K-C, T-I Yang and K-K Lee (1997). Isolation and characterization of *Vibrio carchariae*, a causative agent of gastroenteritis in the groupers, *Epinephelus coioides*. *Current Microbiology* 35: 109-115.