

참굴 *Crassostrea gigas* 유생에 있어 면반괴사증의 원인균, *Vibrio* sp.의 병원성 연구

°박경현 · 이영은 · 조재권 · 심두생
국립수산과학원 남해수산연구소

서론

해양 vibrios는 굴 인공종묘배양장에 치명적인 경제적 손실을 가져다주는 유생의 대량폐사와 관련되어(Tubiash et al, 1970), 이 *Vibrio* 속 세균들은 유생사육시기의 중요한 병원균으로 인식되고 있다(Loneiros et al, 1987). 이러한 대량폐사는 일반적으로 여름에 많이 발생한다고 알려져 있다(Davis et al, 1988).

Vibrio 속 세균에 의한 질병은 감염 후 24시간 이내에 90% 이상의 대량폐사를 유발하여(Nakamura et al, 1999) 미국, 유럽, 일본 등의 굴 인공종묘 양식산업에 있어 가장 심각한 문제 중의 하나로 대두되고 있다. 이러한 유생의 *Vibrio* 감염증의 원인균으로 *V. tubiashii*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. splendidus* 등이 관여하고 있으며, 감염된 굴 유생의 임상적 증상으로써 외투막 가장 자리 주위에 세균의 군집이 형성되며 외투막의 섬모가 상실되고 막 조직이 붕괴되는 것을 볼 수 있다(Sugumar et al, 1998). 이러한 질병의 징후는 $10^4 \sim 10^6$ CFU/ml에 노출되었을 때 6~12시간 이내에 나타난다고 하나 아직 그 병원성의 메카니즘은 여전히 불명확하다.

본 연구에서는 면반괴사증의 특징적인 증상을 보이며 폐사된 국내산 참굴 유생에서 분리된 *Vibrio* sp.의 병원성 재현 시험을 통하여 면반괴사증의 국내 발생을 최초로 확인하였으며, 굴 유생의 대량 폐사에 효과적으로 대처하기 위한 방제대책으로서 항생제 방제 효과 등에 대하여 연구하였다.

재료 및 방법

면반괴사증의 특징적인 증상을 보이며 폐사된 국내산 참굴 유생에서 분리된 *Vibrio* sp., *V. splendidus* II, *V. anguillarum*, *V. cholerae*, *V. vulnificus*를 각각 TSB 1.5% 배지에 접종하여 25°C에서 24시간 배양한 후 배양액을 subculture하여 10,000rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 모아진 균만을 멸균 해수에 3번 세척하여 인위감염실험 및 균주별 비교시험에 사용하였다.

국내산 참굴 유생에서 분리된 *Vibrio* sp. $7.4 \times 10^3 \sim 5$ CFU/mL 농도별로 균을 침지

감염시켜 병원성 재현시험에 이용하였으며, 일본 3배체 굴 유생 유래 *V. splendidus* 2.13×10^5 CFU/mL, *V. anguillarum* 1.07×10^6 CFU/mL, *V. cholerae* 1.90×10^6 CFU/mL, *V. vulnificus* 6.20×10^5 CFU/mL 로 균을 침지감염시켜 다른 vibrio 속 균주들에 대한 병원성 비교시험 역시 병행하였다. 그후 4시간 간격으로 유생의 폐사율, 활력도 및 세균농도를 조사하였다. 폐사발생 후에는 Oxytetracycline을 사용하여 유생의 폐사와의 상관관계를 조사하였다.

결과 및 요약

면반괴사증 국내 분리 균주의 병원성 시험 결과, 7.40×10^5 CFU/mL 실험구에서 공격 후 8시간째부터 폐사가 나타나기 시작하여 24시간 후 100% 폐사하는 강한 병원성을 보였으며, $7.40 \times 10^3 \sim 10^4$ CFU/mL 실험구에서는 폐사율이 15%미만으로 면반괴사증의 특징적인 증상을 나타내었다. 비브리오 균주별 병원성 시험 결과, 국내 분리 균주와 일본 균주인 *V. splendidus*를 제외한 *V. anguillarum*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*는 폐사율이 20%미만으로 굴 유생에 대한 병원성이 미약한 것으로 나타났다. 비브리오 감염증 구제방법 수립을 위한 항생제 처리 시험 결과, oxytertracycline 25ppm 처리구의 경우 25.5%, 50ppm의 경우 12.38%, 100ppm의 경우 35.3%의 폐사율을 나타내어 50ppm 처리구가 가장 좋은 효과를 보여주었으며 항생제 처리에 의하여 비브리오 감염증을 구제할 수 있음을 증명하였다.

본 연구에서는 굴 인공종묘배양장의 최근 원인모를 일시적 대량폐사 현상이 비브리오 감염증에 의한 것임을 규명하였다. 또한, 세균 농도를 10^4 CFU/mL이하로 조절할 경우 24시간 이내 100% 폐사하는 피해를 예방할 수 있는 비브리오 감염증의 특성상 oxytertracycline의 처리로 약 90%의 생존을 제고 효과를 가져왔으며, 이는 패류 인공종묘의 안정적 생산성 유지에 크게 기여할 것이다.

참고 문헌

- Tubiash. H. S., Colwell. R. R. and Sakazaki. R. 「Marine vibrios associated with bacillary necrosis a disease of larval and juvenile bivalve mollusks.」 1970. *Am. Soc. Microbiol.* 103: 272-273.
- Loneiros. C., Bolinches. J., Dopazo. C. and Toranzo. A. E. 「Bacillary necrosis in hatcheries of *Ostrea edulis* in Spain.」 1987. *Aquaculture* 65: 15-29.
- Davis. J. P., Downing. S. L. and Chew. K. K. 「Summer mortality of pacific oysters.」 1988. *Am. Fish. Soc. Spec. Publ.* 18:265-268.
- Nakamura. A., Takahashi. K. G. and Mori. K. 「Vibriostatic bacteria isolated from rearing seawater of oyster brood stock: potentiality as biocontrol agents for vibriosis in oyster larvae.」 1999. *Fish Pathol.* 34: 139-144.
- G. Sugumar, T. Nakai, Y. Hirata, D. Matsubara, K. Muroga. 1998b. *Vibrio splendidus* II as the causative agent of bacillary necrosis of Japanese oyster *Crassostrea gigas* larvae. *Diseases of Aquatic Organisms* 33: 111-118.