

## 越冬場の 참돔에서 分離한 비브리오菌에 對하여

崔 憲 丞 · 尹 章 根 · 朴 守 一

釜山水産大學 · 水族病理學科

### Characteristics of *Vibrio* sp. Isolated from Cultured Red Sea Bream in the Winter

Hye-sung CHOI, Jang-Keun YUN, Soo-Il PARK

Department of Fish Pathology,

National Fisheries University of Pusan, Pusan, 608-023 Korea

Three strains of pathogenic bacteria isolated from diseased red sea bream at a culture farm in Gyoung sangnam-Do during the midwinter of 1987 were studied taxonomically.

Based on their biological and biochemical characteristics, they were identified as *Vibrio* sp..

They exhibited very similarities to group II (Kusuda et al., 1979) except that the former can grow at lower temperature.

#### 서 론

重要養殖對象魚種인 참돔은 人工種苗生産技術이 發達함에 따라 種苗에서 商品크기까지 養成하기 위하여 越冬을 시킬경우가 많아지고 있어서 越冬時 發生될것으로 豫想되는 問題點에 대한 研究가 要望되고 있다. 越冬時의 어려움으로 指摘될 수 있는 것 중에는 病原細菌으로 인한 斃死魚體의 發生이나 越冬後에 水温의 上昇과 함께 發生하는 疾病이 養殖業者에게 주는 被害등을 들 수 있다.

著者들은 참돔越冬時에 發生되는 疾病의 種類 혹은 保菌狀態를 알아보기 위하여 1987年 冬季에 慶南 統營郡 所在 참돔 養殖場에서 越冬中인 참돔을 對象으로 調査할 機會를 얻었다. 病魚의 患部 및 內臟各器官에서 分離된 細菌의 分離狀態가 거의 순수 培養時와 같았고 分離菌株의 참돔에 대한 病原性이 確認되었으므로 細菌學的試驗을 實施한 結果 *Vibrio* 屬菌으로 밝혀졌다.

겨울철 養殖참돔에서 볼수있는 疾病中에는 *Vibrio* 菌의 感染에 의한것 (安永와 元山, 1977)과 滑走細菌

의 感染後 2次的으로 *Vibrio* 菌에 感染된것 (增村, 1981)이 알려져 있으며, 이외에도 朴和田(1986)이 겨울철에 養殖방어에서 *Vibrio* 菌을 分離한 것이 있다. 그러나 本 調査時 分離된 *Vibrio* 菌은 田等(1987)\*의 抗血清과는 凝集을 하지 않은것 以外에도 몇가지 性狀에서 이들과 다른점이 나타났으므로 서로의 性狀을 比較 檢討 하였다.

#### 材料 및 方法

細菌의 分離에 使用된 病魚는 1987年 11月 부터 1988年 1月에 걸쳐 경남 통영군의 참돔 養殖場에서 수집하였다.

越冬中인 참돔은 當年魚으로서 體表에 出血반점이 있거나 쓸린것 같은 患部가 觀察되는것, 體表面이 미란되거나 潰瘍이 形成된 病魚를 볼 수 있었다. 이러한 病魚의 潰瘍患部和 內臟을 菌의 分離試料로 택했으며, 現場에서 食鹽2% 첨가 보통한천배지 (NA배지)와 TCBS 배지에 도말한 후 實驗室로 運搬하여 25°C, 48時間 培養하여 菌을 分離하였다. 分離菌株는 NA培地

상에 常溫保存하였으며, 各種性狀檢査時에는 NA培地에 25°C, 24~48時間 培養한 菌을 使用하였다. 形態學的性狀檢査에서는 NA培地上에 나타나는 菌集落의 形態 및 色素 生成有無를 觀察한 후 培養菌의 形態(單染色), 그램반응(劉의 方法) 및 運動性(현탁표本)을 調查하였다. 生物學的調查로서는 溫度, 鹽分濃度 및 pH를 各各 달리하여 分離菌의 發育有無와 程度를 觀察하였다. 發育溫度에 관한 實驗에는 培養菌 1白金耳를 滅菌生理的食鹽水 3ml에 懸濁시켜 이 懸濁液의 0.025ml를 NA培地에 도말하고 5~42°C에 배양하였다. 鹽分濃度の 影響에 관해서는 1% pepton水에 寒天을 1.5% 첨가하여 基礎培地로 하고 여기에 食鹽을 0~10% 添加한 것을 試驗培地로 使用하였다. 菌의 도말방법은 溫度의 경우와 같다. pH와 菌發育과의 관계에 대해서는 NA培地에 pH를 5.0~11.0로 調整한후 溫度 試驗과 같은 방법으로 菌을 도말하여 調查하였다.

菌의 同定에 必要한 各種 生化學的 性狀調查는 楠田 등(1979) 및 MacFaddin(1981)에 따라 實施하였다.

## 結 果

本 調查時 各種 菌分離試料로 부터 NA培地에 培養된 分離菌의 集落은 25°C 48時間 후 거의 純粹培養狀態로 觀察되었다. 集落의 形態는 灰黃色을 띤 透明하거나 半透明하고, 正圓, 周邊圓滑, 中心部가 약간 볼록한 濕潤性이 있는 直徑 1mm 정도의 크기를 나타내었으나 Swarming은 없었다. 이러한 性狀을 가진 여러 分離菌株中에서 本實驗에 使用한 菌株는 Table 1에 表示한 것과 같이 3個의 菌株를 선택하였다.

各分離菌株의 形態學的 및 生化學的 性狀은 Table 2에 나타낸 바와 같다.

實驗에 使用한 菌株의 形態는 모두 만곡된 菌體가 많고 單鞭毛를 가진 運動性的 gram陰性杆菌이었다. 生化學的性狀으로서는 試驗菌株 모두가 glucose發酵(+), glucose로부터의 gas生産(-), Cytochrome oxidase(+) 이었다. 이외의 중요한 性狀으로서 Catalase

Table 1. The strains isolated from diseased red seabream used in this study

Strain No.	Source	Date
P-1	Spleen	Dec., 1987
P-2	Liver	Dec., 1987
P-3	Liver	Jan., 1988

(+), Urease(-), phenylpyruvic acid試驗(+), Vibrio static agent (0/129)感受性(+), VP(-), 2,3-butanediol(-), arginine加水分解性(-), 아미노산 脫炭酸反應(LAO, +, -, -)chorela red反應(+) 등을 들 수 있다. 糖으로부터 酸生成能은 Saccharose가 陰性이고 Salicine이 陽性反應을 나타내었다.

## 考 察

實驗에 使用한 모든 菌株는 Cytochrome oxidase 및 Catalase를 生産하고 glucose를 發酵的으로 分解하지만 gas生産은 없었다. 이러한 性狀으로 봐서 本實驗 菌株는 楠田 등(1979)에 따라 *Vibrio*屬에 屬하는 細菌으로 同定하는 것이 妥當하다고 생각된다. 病魚로부터 分離된 *Vibrio*屬 細菌의 分類에는 아직도 많은 異見이 있으나, 海産魚類에 疾病을 일으키는 *Vibrio*屬 細菌으로 알려져 있는 것에는 감염숙주의 폭이 가장 넓은 *Vibrio anguillarum*, 방어 등의 海産魚 潰瘍病을 일으키는 *Vibrio* sp. (楠田와 赤澤, 1963; 楠田, 1965), 低水温期의 참돔에 感染症을 일으키는 *Vibrio* sp. (安永와 山元, 1977; 增村, 1981) 및 자리돔屬 魚類인 *Chromis punctipinnis*의 體表에 潰瘍을 形成하는 *Vibrio damsela* 등을 들 수 있다. 楠田 등(1979)은 日本産 海産魚類에서 分離한 여러 菌株들에 대하여 分類學的 性狀을 상세히 檢討하고 이 菌株들은 크게 I, II, III의 3群으로 나눌 수 있으며, 이러한 區分은 各 菌株들의 分離由來와도 關聯性이 있다고 하였다. 그 중에서 低水温期의 참돔 病魚에서 分離되는 *Vibrio* sp.는 大體 III群에 屬하며 그 주된 特徵은 Arginine加水分解性이 陽性이고 Lysine 脫炭酸性은 陰性이라고 하였는데 이러한 性狀은 安永와 山元(1977)가 겨울철 참돔 病魚에서 分離한 *Vibrio*菌의 그것과도 一致한다.

그러나 本 實驗에 使用된 菌株는 分離源이 그것과 같은 冬季의 참돔 病魚이지만 Arginine加水分解性은 陰性이고 Lysine 脫炭酸性은 陽性으로 나타나서 서로 다른 性狀을 보이고 있다. 또한 이런 性狀은 朴和田(1986)이 겨울철에 방어에서 分離한 *Vibrio* sp.의 Arginine分解性 및 Lysine 脫炭酸性이 陰性인 것과도 다르게 나타났다.

海産魚 潰瘍病의 原因菌이 포함된 細菌群인 제II群의 特徵的인 性狀으로서는 Table 2에 表示한 바와 같이 Arginine加水分解性 陰性, Lysine 脫炭酸 陽性이며 炭素源인 Salicine으로부터 酸生成能 陽性, VP反應 陰性 등을 들 수 있는데 이러한 여러 性狀들은 本 實驗 菌株들과 거의 一致하고 있다.

그렇지만 Table 3에 나타낸 것처럼 分離菌株가 發育溫度上으로는 제II群과 다소 差異를 보이고 있다.

Table 2. Characteristics of the isolates

Characteristics	P-1	P-2	P-3	Group II (Kusuda et al., 1979)	Group III
Single polar flagellum	+	+	+	+	+
Motility	+	+	+	+	+
Gram stain	-	-	-	-	-
Swarming	-	-	-	-	-
Fermentation of glucose	+	+	+	+	+
Gas from glucose	-	-	-	-	-
Cytochrome oxidase	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+
Urease	+	+	+	+	-
PPA test	+	+	+	(+)	(+)
Sensitivity 0/129	+	+	+	+	+
Indole	+	+	+	+	+
MR test	+	+	+	+	+
VP test	-	-	-	-	-
2,3-butanediol	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S from peptone	-	-	-	-	-
Simmon's citrate	+	+	+	+	+
KNO <sub>3</sub> reduction	+	+	+	+	+
Arginine hydrolysis	-	-	-	-	+
Lysine decarboxylation	+	+	+	+	+
Arginine decarboxylation	-	-	-	-	-
Ornithine decarboxylation	-	-	-	-	-
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+
Chorela red	+	+	+	+	+
Acid from					
Arabinose	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-
Galactose	+	+	+	+	+
Saccharose	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-
Trehalose	-	-	-	-	-
Cellobiose	+	+	+	+	+
Raffinose	-	-	-	-	-
Starch	+	+	+	+	+
Salicine	+	+	+	+	-

(+) : Weak or delayed positive

Table 3. Growth of the isolates in various culture conditions

Characteristics	P-1	P-2	P-3	Group	Group
				II	III
				(Kusuda et al., 1979)	
<b>Temperature</b>					
5°C	+	+	+	+	-
25°C	+	+	+	+	+
30°C	+	-	-	+	-
37°C	-	-	-	+	-
42°C	-	-	-	-	-
<b>NaCl concentration</b>					
0.0% NaCl	-	-	-	-	-
0.5% NaCl	+	+	+	+	-
2.0% NaCl	+	+	+	+	-
7.0% NaCl	-	-	-	-	-
<b>pH</b>					
5.0	+	-	+	-	-
7.0	+	+	+	+	+
9.0	+	+	+	+	+
10.0	+	+	+	+	+

即, 本分離菌株은 25°C 前後에서 發育이 가장 좋았으며 5°C에서도 發育이 可能하였지만 P-1을 제외하고는 30°C에서 이미 發育이 정지되었고 그 이상의 온도 조건에서는 시험균주 모두가 發育이 정지되어 低溫 쪽에서의 發育能이 강한 것으로 생각 되었다. 한편 第 II 群은 低溫 쪽에서는 發育이 억제된 반면 37°C까지는 發育이 可能한 것으로 나타나 있는 점 以外에는 第 II 群과 實驗菌株 사이의 큰 差異는 볼 수 없었다.

따라서 本分離菌株은 楠田等(1979)의 *Vibrio* sp. 第 II 群에 屬하지만 겨울철 등 低水溫에서 發育이 可能하도록 적응된 生物型이며 이러한 特性 때문에 越冬期の 참돔에 대해서도 *Vibrio*病을 일으킬 수 있다고 생각 되었다.

### 要 約

越冬實驗中인 참돔 病魚에서 病原菌을 分離하여 그 性狀을 比較檢討하였다.

그 結果, 原因菌은 生物學的, 生化學的諸性狀으로부터 *Vibrio* sp.로 同定되었다. 日本에서 報告된 참돔 由來의 *Vibrio* sp. (第 III 群)와는 重要性狀에서 差異가 났다.

分離由來가 다른 *Vibrio* sp. (第 II 群)와는 여러 性

狀에서 一致하므로 低溫에서의 發育能이 差異가 나는 生物型으로 생각되었다.

### 參 考 文 獻

- 楠田理一(1965): 海産魚의 潰瘍病에 關する 研究. 京都府水試業績, 25, 1-116.
- 楠田理一·赤澤一三(1963): 細菌による 海産蓄養魚 類의 傳染性疾患について. 水産増殖, 臨時號3, 31-66.
- 楠田理一·佐古 浩·川台研兒(1979): 病魚から 分離 された *Vibrio*屬細菌의 分類學的 研究-I. 形態學的; 生物學的의 ならび에 生化學的의 性狀による 檢討. 魚病研究, 13(3), 123-137.
- Love, M. · D. T. Fisher · J. E. Hose, J. J. Farmer III F. W. Hickman and G. R. Fanning(1981): *Vibrio damsela*, a Marine Bacterium, Causes skin ulcers on the Damselfish *Chromis punctifinnis*. Science, 214(4), 1139-1140.
- MacFaddin, J. F. (1981): Biochemical tests for identification of medical bacteria. Williams & Wilkins, pp. 527.
- 増村和彦(1981): 養殖マダイ의 低水溫期에 發生する

- 細菌感染症に関する1考察. 廣水試研報,11, 129—134.
- 朴性佑・田世圭(1986): 養殖방어에서 分離한 病原性Vibrio菌의 特性에 대하여. 韓水誌, 19(2), 147—154.
- 安永統男・山元宣征(1977): 1977年冬期養殖マダイのいわゆるビブリオ病から分離された菌株の性状. 魚病研究, 12(3), 209—214.
- \*87年度 韓國水産學會 秋季學術發表會 發表論文要旨 p.17.