

저수온기의 제주도 양식 돌돔, *Oplegnathus fasciatus*, 병어로부터 분리한 병원세균의 특성

고대희 · 진창남* · 이창훈** · 박근태*** · 허문수****†

국립수산물품질검사원 제주지원, *제주지방해양수산청,

국립수산과학원 제주수산연구소, *제주대학교 해양과학대학 해양과학부

Characterization of a Bacterium Isolated from Diseased Rock Sea bream, *Oplegnathus fasciatus*, During Low Water Temperature Season in Jeju island

Dae-Heui Ko, Chang-Nam Jin*, Chang-Hoon Lee**, Geun-Tae Park*** and Moon-Soo Heo****†

Jeju Branch, National Fisheries Product Quality Service, Jeju 690-836

*Jeju Regional Maritime Affairs and Fisheries Office, Jeju 690-704

**Jeju Fisheries Resource Institute NFRDI, Jeju 690-102

***Faculty of Marine Science, Cheju National University, Jeju 690-756

The outbreak of haemorrhagic septicemia and lesions in dermis, frequently associated with keratitis have occurred on rock sea bream (*Oplegnathus fasciatus*) reared in Jeju island. A bacterium isolated from the diseased fish identified as *Pseudomonas* sp. by morphologic, cultural, and biochemical tests. The bacterium was identified *Pseudomonas anguilliseptica* according to 16S rDNA sequence analysis. The highest growth rate of this strain was obtained at 20 to 25°C although the disease occurred mostly below 16°C. The challenge test by ip injection revealed that this bacterium was pathogenic to rock sea bream. All experimental fish in challenged by ip injection died within 21 days but there was no death in control group. The bacterium was sensitive to Doxycycline, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Erythromycin, Flumequine, Nalidixic acid, Norfloxacin, and Ofloxacin.

Key words : Cold water disease, Haemorrhagic septicemia, Keratitis, *Pseudomonas anguilliseptica*, Rock sea bream

돌돔 (*Oplegnathus fasciatus*)은 태평양과 인도양 등지에 광범위하게 분포하며 우리나라에서는 주로 남부이남 해역에 분포하고 있다(정, 1988). 특히 제주도 연안 암초지대에 많이 서식하고 있고 제주도 방언으로 갯돔으로 불리며 횃감의 재료로 인기가 높은 고급 어종이다. 돌돔 양식은 일본과 국내에서 지속적인 인공 종묘 생산 기술 개발(Fukusho, 1979; Kumai, 1984)이 진

행되었고 종묘의 대량생산이 가능해져 해안과 제주지역에서 양식이 이루어지고 있다. 특히 제주도 연안은 겨울철 저수온기에도 수온이 12°C 이상으로 돌돔양식에 적합한 조건을 갖추고 있어, 육상 수조 및 가두리 양식장에서 활발히 양식되고 있으며 또한 남해안에서 양식하는 돌돔을 겨울철 저수온기를 피하기 위해 제주연안에서 월동을 시키는 경우도 있다.

†Corresponding Author : Moon-Soo Heo, Tel : 064-754-3473,
Tel : 064-756-3493, E-mail : msheo@cheju.ac.kr

양식 돌돔의 질병은 이리도 바이러스에 의한 바이러스성 질병, 연쇄구균에 의한 세균성 질병 및 백점충 등에 의한 기생충 질병 등 다양하게 발병되나 대부분 여름철을 포함한 고수온기에 집중적으로 발생된다. 그러나 오래전부터 제주도 지역 양식 돌돔이 겨울철 저수온기에 체표 출혈성 패혈증과 진무름, 안구 백탁이 수반되고 내부 장기는 비장, 신장의 증대 등 다양한 증상을 보이며 폐사하는 사례가 지속적으로 나타나 많은 피해를 입혀왔다. 이러한 발병 증상은 기존에 알려진 저수온기 *Vibrio*병이나 *Flexibacter psychrophylus* (*Flavobacterium psychrophylum*)에 의한 cold water disease와는 증상의 차이가 있고 또한 병어에서 이들 원인 세균이 분리되지 않았다(Inglis *et al.* 1993).

따라서 본 연구에서는 겨울철 저수온기에 제주도 양식 돌돔의 체표 출혈성 패혈증 및 진무름, 안구 백탁 등의 발병 증상을 나타내며 지속적인 폐사를 가져오는 병어에서 질병의 원인균을 분리 동정하고 병원성을 확인하기 위한 시험 감염과 원인균 확인, 생육 특성 및 항생제 감수성을 조사하였다.

재료 및 방법

병어의 채집 및 관찰

2003년 11월 하순 제주도 북제주군 소재 육상 수조식 양식장 및 제주시 소재 가두리양식장에 사육중인 돌돔 중 체표에 출혈성 패혈증과 진무름 증상을 보이는 병어를 각각 10마리와 18마리를 채집하였다. 돌돔 병어와 폐사어의 외부 증상을 관찰하고 병어를 해부한 후 각 장기별로 내부 증상을 관찰하였다.

원인 세균의 분리

병어의 체표, 궤양부위, 아가미, 아가미뚜껍 안쪽, 근육, 지느러미 등 외부 기관조직과 간장, 신장, 비장, 장관, 복강, 담낭, 심장, 안구, 뇌 등 내부 조직을 일부 절취하여 증균용 배지인 BHI agar

에 도말하여 25 °C에서 배양하였다. 배양한 균주들은 TCBS, SS배지, 0.025g 옥소린산을 첨가한 BHI agar 등의 선택배지를 사용하여 원인균을 순수 분리하였다.

분리 세균의 동정

순수 분리된 균주의 분류학적 위치를 검토하기 위하여 형태학적, 배양적, 생화학적 특성과 계통분류학적인 특성을 조사하였다. 세포의 형태학적 특성은 Gerhardt *et al.* (1981)에 준하여 세포의 형태 및 크기, 그람염색상, 운동성 등을 관찰하였고 BHI 평판배지에 배양하면서 집락의 형태, 표면의 특징, 색, 투명도 등의 배양적 특성을 관찰하였다. 분리균주의 Gelatin 액화능 실험, 탄수화물 발효능 및 생화학적 특성은 Gerhardt *et al.* (1981) 및 MacFaddin (1980)에 준하여 실시하였다.

분리균주의 계통발생학적인 분류위치를 검토하기 위하여 16S rDNA의 partial sequencing을 행하였다. Genomic DNA의 분리를 위하여 배양액 3 ml를 원심분리한 후 수거된 균체를 Bioneer사의 DNA Kit를 사용하여 genomic DNA를 분리하였다. 분리된 genomic DNA로부터 16S rDNA를 증폭시키기 위해 20 µl PCR premix (Bioneer Co., Korea)를 사용하여 PCR을 수행하였다. 주형 DNA 1 µl, forward primer (20 pM) 1 µl, reverse primer (20 pM) 1 µl, 3차중류수 17 µl를 넣어 혼합하였다. 반응조건은 96°C에서 30초간 denaturation, 52°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension를 30회 반복하였다. primer는 27f (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')와 15222r (5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3')을 사용하였다.

PCR 산물은 agarose gel 전기영동 후 나타난 밴드를 잘라내 Bioneer사의 Gel Extraction Kit로 정제하였다. 정제된 PCR 산물은 (주) 마크로젠에 의뢰하였으며 ABI 377 Auto-sequencer를 사용하여 Dye terminator sequencing법으로 염기서열을 결정하였다. 염기서열 분석은 Blast search pro-

gram을 이용, 인터넷상의 database인 gene-bank, EMBL, DDBJ, PDB를 통하여 실시하였다.

분리 세균의 생육 특성

분리균주의 생육특성을 검토하기 위하여 온도, 염분농도, pH를 각각 달리하여 분리균주의 생육도를 조사하였다. 온도별 생육도는 BHI 평판배지에 분리균주를 도말 후 5 °C, 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C에서 배양하면서 집락의 형성 유무로 판단하였다. 염분농도에 따른 생육도는 BHI broth에 NaCl을 단계별로 각각 0%, 0.5 %, 1.0 %, 1.5 %, 2.0 %, 2.5 %, 3.0 %, 3.5 %(w/v)를 첨가한 후 25 °C에 20일간 배양하면서 발육상태를 관찰하였다. pH에 의한 분리균주의 생육도는 BHI broth를 1 N NaOH와 1 N HCl로 pH 5, 6, 7, 8, 9, 10이 되도록 단계별로 조절한 후 25 °C에 20일간 배양하면서 발육상태를 관찰하였다.

병원성 시험

본 실험에 사용된 실험어는 복제주균 조천읍 소재 육상 수조 양식장에서 사육 중인 질병에 감염되지 않은 전장 10 cm 내외의 건강한 돌돔 40마리를 각각 20마리의 실험구와 20마리의 대조구로 구분하고 21일간의 병원성 시험을 통하여 발병 유무 및 폐사 여부를 관찰하였다. 실험어는 실험수조로 옮긴 다음 3일간 순치시킨 후 실험을 시작하였으며 실험기간 중 사료는 투여하지 않았다.

실험에 사용한 수조는 각각 직경 100 cm × 60 cm 원형수조이며, 수량 150 L, 환수량은 30회 전/1일으로 자연해수를 사용하였다. 시험 기간 중의 수온은 13.0°C~14.1 °C의 범위로 평균 13.5 °C였다.

실험구에는 BHI agar 평판배지에서 배양된 균 4 µg을 멸균 생리식염수 10 ml에 현탁 시킨 후 현탁액을 실험어 복강에 마리당 0.1 ml씩 주사하여 접종하였으며, 대조구에는 멸균 생리식염수를 0.1 ml씩 복강에 같은 방법으로 접종하였다.

접종균의 감염과 병원성 여부는 접종 후 폐사된 실험어의 주요 장기와 피부 등에서 조직 일부를 절취한 다음 평판 BHI agar 배지에 stamp 한 후 백금으로 도말하여 균을 재 분리 확인하였다.

약제감수성 시험

분리균주에 대한 약제 감수성 시험은 Miller Hinton II agar를 이용하여 Flumequine 등 16종의 항생제에 대해 Disk 법에 의하여 실시하였다. 감수성시험에 사용한 항생제는 ampicillin, doxycycline, tetracycline, oxacilline, chloramphenicol, florfenicol, ciprofloxacin, erythromycin, nalidic acid, norfloxacin, ofloxacin, clindamycin은 BBL사의 제품이며, amoxicillin, flumequine, oxolinic acid, pefloxacin은 Oxoid사 제품을 사용하였다.

결 과

병어의 임상 증상

병어의 초기 발병 증상은 피부와 지느러미에 염증이 발생하며 표피 출혈이 전신부위에 나타났다. 증상이 악화되면서 피부와 지느러미의 괴사가 수반되며 폐사하였고, 안구 백탁이나, 항문 확장과 항문 주위에 발적 및 염증이 나타나는 경우도 있었다. 또한 병어의 내부 장기를 관찰하기 위하여 병어 및 폐사어를 멸균된 해부용 기구를 이용하여 해부한 후 정밀하게 관찰한 결과 간과 장에서 염증을 보였으며 아가미의 괴사, 아가미 뚜껑안쪽 및 근육에서 염증, 장 염증 등이 나타났고 또한 비장의 팽대를 관찰할 수 있었다 (Fig. 1).

분리균주의 동정

병어에서 분리되어 BHI agar에 생육이 확인된 분리균주는 25°C에서 5일간 배양하였다. BHI agar에서 부정형의 습윤한 불투명의 집락을 형성하였으며 이들 집락을 TCBS, SS배지, 0.025g 옥소린산을 첨가한 BHI agar등에 도말하여 관찰

Fig. 1. : External feature and the early stages (A) and the crucial stage (B) of the rock bream, *Oplegnathus fasciatus*, infected with bacteria. Internal feature at the early stage of intestine bleeding (C) and spleen swelling (D) in the diseased rock sea bream.

하였으나 생육이 이루어지지 않았다. 본 균주의 상세한 배양적 성상은 그람음성의 간균으로 포자를 형성하지 않았고 운동성을 가졌다. 형성된 집락은 원형에 가까웠고 표면은 가장자리가 부정형이고, convex형이었으며, 표면은 smooth하였다. 본 균주는 호기성 세균으로 catalase, cytochrome oxidase, gelatin liquefaction, citrate utilization, lipase test에서 양성을 나타내었으며, ornithine decarboxylase, nitrate reduction, VP-MR test에서는 음성을 나타내었다 (Table 1).

16S rDNA 염기서열 분석 결과, *Pseudomonas anguilliseptica*의 16S ribosomal DNA sequence와 99% 상동성을 나타내었다(Fig. 2). 따라서 상기의 형태학적, 배양적, 생화학적 특성과 16S rDNA sequencing 결과를 종합하여 "Bergey's manual of systematic bacteriology Vol. I (Buchanan and Gibbson, 1984)과 "Bergey's manual of determinative bacteriology 제9판 (Holt *et al.*, 1998)을 비교 검토한 결과, 본 균주는 *Pseudomonas anguilliseptica*로 동정되었다.

Table 1. Biochemical characteristics of a isolated strain

Contents	Characteristics
Cytochrome oxidase	+
Catalase	+
Oxidation /Fermentation	-
Coagulase	-
β -hemolysis	-
β -Galactosidase	-
Arginine dehydrolase	-
Lysine decarboxylase	-
Ornithine decarboxylase	-
Citrate utilization	+
H ₂ S production	-
Urease	-
Tryptophan deaminase	-
Indole production	-
Methyl red test	-
Voges-Proskauer test	-
Gelatin liquefaction	+
Nitrate reduction	-
6% NaCl	-

```

P. anguilliseptica -----CTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAGAGAGAAGCTTGCT
Isolated strain  AGTATTTATTTTCGAGGCGGAGCTACCATGC---AGTCGAGCGGTAGAGAGAAGCTTGCT
                    *** **      *****
P. anguilliseptica TCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTAGTGGTGGGGGGTA
Isolated strain  TCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTAGTGGTGGGGGGTA
                    *****
P. anguilliseptica ACGTTCGGAACCGGACGCTAATACCGCATACTCCTACGGGAGAAAGCGGGGATCTTCG
Isolated strain  ACGTTCGGAACCGGACGCTAATACCGCATACTCCTACGGGAGAAAGCGGGGATCTTCG
                    *****
P. anguilliseptica GACCTCGCGCCATTAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCAC
Isolated strain  GACCTCGCGCCATTAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCAC
                    *****
P. anguilliseptica CAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAGTGGAGACACG
Isolated strain  CAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAGTGGAGACACG
                    *****
P. anguilliseptica GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGGACAATGGCCGAAAGCCTGATC
Isolated strain  GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGGACAATGGCCGAAAGCCTGATC
                    *****
P. anguilliseptica CAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCCTCGGATTGTAAGCACTTTAAGTTGGGAGGA
Isolated strain  CAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCCTCGGATTGTAAGCACTTTAAGTTGGGAGGA
                    *****
P. anguilliseptica AGGGCAGTAACCTAATACGTTATTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAAC
Isolated strain  AGGGCAGTAACCTAATACGTTATTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAAC
                    *****
P. anguilliseptica TTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
Isolated strain  TTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
                    *****
P. anguilliseptica AAAGCGCGCGTAGGTGGTTCAGTAAGTTGGAAGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAAC
Isolated strain  AAAGCGCGCGTAGGTGGTTCAGTAAGTTGGAAGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAAC
                    *****
P. anguilliseptica TGCTTTCAAAAGTCTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTAGCGG
Isolated strain  TGCTTTCAAAAGTCTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTAGCGG
                    *****
P. anguilliseptica TGAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACT
Isolated strain  TGAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACT
                    *****
P. anguilliseptica GACTGTAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC
Isolated strain  GACTGTAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC
                    *****
P. anguilliseptica GTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATCCTTGAGATTTAGTGGCGCAGCTAACGCATT
Isolated strain  GTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATCCTTGAGATTTAGTGGCGCAGCTAACGCATT
                    *****
P. anguilliseptica AAGTTGACCGCCTGGGAGTACGGCCGAAGGTTAAAACCTCAATGAATTGACGGGGGCC
Isolated strain  AAGT-GACCGCCTGGG-AGTACGGCCGAAGGTTAAAACCTCAATGA-TTGACGGGGGCC
                    **** *****
P. anguilliseptica CGCACAAGCGGTGGAGCA
Isolated strain  CGCACA-TCG-TGGAGCA
                    ***** ** *****
    
```

Fig. 2. Alignment of the partial 16S rDNA sequence of a isolated bacterium and *Pseudomonas anguilliseptica*.

분리균의 생육 특성

분리균주의 온도, pH 및 염분농도에 의한 생육 특성은 분리균의 생육능이 양호한 BHI 배지를 사용하여 검토한 결과는 Table 2와 같다. 생육온도는 10~25 °C의 저온 범위에서 양호하였으며 특히 20~25°C에서 최적의 생육능을 나타내었다. 그러나 실제 저수온기 질병이 발병하는 온도는 16°C이하로 최적생육온도와는 무관하였다.

Table 2. Effect of temperature, pH and NaCl concentration in BHI medium on the growth of a bacterium isolated from rock sea bream, *Oplegnathus fasciatus* in Jeju

Temperature (°C)	
5	-
10	+
15	+
20	++
25	++
30	-
Added NaCl concentration (%)	
0.0	++
0.5	++
1.0	++
1.5	++
2.0	++
2.5	+
3.0	+
3.5	-
pH	
5.0	-
6.0	-
7.0	++
8.0	++
9.0	-
10.0	-

-, no growth; +, growth; ++, good growth.

분리균주의 pH에 의한 생육도는 pH 7과 3에서 생육이 양호하였다. 그러나 pH 6이하와 pH 9 이상의 범위에서는 생육이 이루어지 않았다. 염분농도는 1%이하의 낮은 농도에서 활발한 생육이 이루어졌으며 3.0%의 염분이 첨가된 배지에

서도 생육능은 양호하였으며 그보다 높은 농도에서는 생육능이 저해되었다.

병원성 시험

분리균주의 병원성을 확인하기 위한 감염실험에서 분리균주를 실험어의 복강에 감염시킨 후 4일 째에 최초로 실험구에서 폐사가 일어났으며 감염 11일째에 실험구의 절반인 10마리가 누적 폐사하였고 21일만에 20마리의 실험어가 전량 폐사하였으나 대조구에서는 폐사체가 없었다. 폐사된 감염어의 표피 및 내부장기인 간, 신장, 비장, 심장, 장, 복강 등 주요 장기에서 동일 균을 분리하였으나 대조구의 실험어에서는 분리되지 않았다. 실험구의 감염 실험어는 일반 양식장에서 발병된 자연 감염 어류와 유사한 체표 출혈 및 진무름 증상을 나타내었다.

약제감수성

16종류의 항생제디스크에 의한 약제감수성 시험 결과 doxycycline, chloramphenicol,

Table 3. Sensitivity to chemotherapeutic agents of *Pseudomonas anguilliseptica* isolated from diseased rock sea bream, *Oplegnathus fasciatus*

Agent (µg)	Sensitivity
Amoxicillin (10)	-
Ampicillin (10)	-
Oxacillin (1)	-
OTC (30)	-
Doxycycline (30)	+++
Chloramphenicol (30)	+++
Florfenicol (30)	-
Ciprofloxacin (5)	+++
Erythromycin (15)	+++
Flumequine (30)	+++
Nalidixic acid (30)	-
Norfloxacin (10)	++
Ofloxacin (5)	-
Oxolinic acid (2)	-
Pefloxacin (5)	+
Clindamycin (2)	-

-, no sensitivity; +, weak sensitivity; ++, sensitivity; +++, good sensitivity.

ciprofloxacin, erythromycin, flumequine, nalidixic acid, norfloxacin, ofloxacin에 감수성이 높게 나타났으나 페니실린계의 항생제에는 높은 내성을 나타내었다 (Table 3).

고 찰

저수온기 제주지역에서 양식되는 돌돔의 체표 출혈성 패혈증과 진무름 현상 및 안구 백탁에 의한 폐사는 오래전부터 발견이 되었으나 단시간에 대량폐사가 일어나지 않고 지속적으로 증상과 폐사가 이루어졌다. 본 연구에서도 총 조사어장 6개소 중 4개소에서 발병이 확인되어 66%의 높은 발병률을 보였으나 조사된 돌돔 양식장이 많지 않기 때문에 발병률이 유의성을 가진다고는 볼 수 없다. 그러나 오래 전부터 겨울철에 이와 같은 증상을 보이며 폐사하는 개체가 많았던 점 등을 고려하면 돌돔 양식에서 겨울철의 저수온기에 주요 질병일 것은 분명하다. 이러한 발병 증상은 기존에 알려진 저수온기 *Vibrio* 병이나 *Flexibacter psychrophylus*에 의한 cold water disease와는 증상의 차이가 있고 또한 병어에서 이들 원인 세균이 분리되지 않았다 (Inglis, *et al.*, 1993). 따라서 이것은 지중해 유역의 양식장에서 저수온기에 참돔(*Sparus aurata*)에서 발병하는 winter syndrome과 유사하며, 이 질병은 아직까지 명확한 병원균이 구명되지는 않았으나, 면역 체계가 약화될 때 *Pseudomonas anguilliseptica*가 감염되어 발병하는 것으로 알려져 있다 (Tort *et al.*, 1998). 다른 보고에는 이베리아 반도에 있는 몇 어장들의 1월에서 4월까지 폐사율은 평균 10~15%였으며 어떤 어장들은 30%의 폐사율을 기록해 심각한 경제적 손실을 야기하기도 하였다 (Domenech *et al.*, 1997).

본 연구에서 돌돔의 발병은 대략 수온 16°C를 기준하여 그 이하로 하강하는 시기로 전형적인 저수온성 질병으로 보인다. 육상 수조식 양식장이 가두리 양식장에 비해 늦게 발병되고 빨리 종식되었는데, 이는 육상 수조식 양식장에서는

사육수를 17°C 내외의 지하 해수를 자연 해수와 혼합 이용함으로써 가두리 양식장에 비해 높은 수온을 유지한데 따른 것으로 보인다.

병어에서 분리된 본 균주는 그람음성의 호기성 간균으로 운동성이 있었으며 배양적, 형태학적, 생화학적 제 특성이 *Pseudomonas*속과 유사하였고 16S rDNA partial sequencing 결과 뱀장어 적점병의 원인세균인 *Pseudomonas anguilliseptica*와 99%의 유사도를 나타내었다. 따라서 본 균주는 *Pseudomonas anguilliseptica*로 동정되었고, 본 균주와 같은 종이 프랑스의 지중해 및 대서양 연안의 양식장에서 참돔, 터봇 등 어종에 상관없이 1990년 이래로 발견되고 있는 것으로 보고되고 있다 (Berthe *et al.*, 1995). 아직까지 국내에서는 본 균주에 대한 발병 내용이 뱀장어를 제외하고는 소개된 적이 없으나 저온에 의해 발육에 영향을 받게 되는 대부분의 어종에 영향을 줄 것으로 사료된다.

본 실험에서 분리균주는 16°C이하의 저수온에서 발병하나 생육적온은 20~25°C였으며 이는 본 균주가 저온에 의한 기회성 감염 균주인 것을 확연히 보여준다. 게다가 같은 어장에서 참돔과 같이 양식했을 경우에 특히 고온성 어종인 돌돔에 발병이 쉽게 되는 점으로 미루어 저수온기 어체의 저항력 약화가 주 원인인 것으로 추정된다.

분리균의 인위 감염시험이 실시된 지 2일 후 표피 출혈성 패혈증의 전형적인 감염 증상을 보이며 21일만에 감염어를 전량 폐사시키는 높은 병원성을 보여 저수온기에 본 균의 감염에 의해 많은 피해를 입을 수 있음을 시사하고 있다. 약제내성 검사에서는 doxycycline, chloramphenicol, ciprofloxacin, erythromycin, flumequine, nalidixic acid, norfloxacin, ofloxacin에 감수성이 높게 나타났다.

요 약

제주도에서 양식되는 돌돔에서 저수온기에 체

표에 출혈성 패혈증 혹은 진무를 및 안구백탁이 수반되며 폐사하는 증상이 지속적으로 발견되었다. 이러한 증상의 원인균으로 추정되는 세균을 병어의 체표 및 장기에서 순수분리하였고 형태학적, 배양적 생화학적 조사 및 16S rDNA sequencing 분석 결과 *Pseudomonas anguilliseptica*로 동정되었다. 본 균주의 병원성 유무를 확인하기 위하여 인위 감염시험을 실시하였고, 그 결과 시험구에서 21일만에 실험어 20마리 모두가 자연감염된 병어와 유사한 증상으로 폐사하였다. 분리균주의 생육 최적 온도는 20-25°C였고 생육 최적 pH는 7-8사이로 좁은 범위를 보였다. 낮은 염분농도에서 생육능이 우수하였으며 3%의 염분이 첨가된 배지에서도 생육능이 양호하였다. 약제내성 검사에서는 doxycycline, chloramphenicol, ciprofloxacin, erythromycin, flumequine, nalidixic acid, norfloxacin, ofloxacin에 감수성이 높게 나타났으나 페니실린계의 항생제에 높은 내성을 나타내었다.

참 고 문 헌

- Berthe, F.C.J., Michel, C., and Bernardet, J.F. : Identification of *Pseudomonas anguilliseptica* isolated from several fish species in France. *Dis. Aqu. Org.*, 21: 151-155, 1995.
- Buchanan, R.E. and Gibbson, N.E. : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 4, William and Wilkins Co., U.S.A., 1984.
- Domenech, A. Fernandez-Garayzabal, J.F., Lawson, P., Garcia, J.A., Cutuli T., Blanco M., Gibello A., Moreno, M.A., Collins, M.D., Dominguez, L. : Winter disease outbreak in sea-bream (*Sparus aurata*) associated with *Pseudomonas anguilliseptica* infection. *Aquaculture*, 156 : 317-326, 1997
- Fukusho, K.: Studies on fry production of Japanese striped knife jaw *Oplegnathus fasciatus*, with special reference to feeding ecology and mass culture of food organisms. *Spec. Rep. Nagasaki Pre. Ins. Fish.*, 430(6), 173 pp, 1979.
- Gerhardt, P., Murry, R.G.E., Costilow, R.N. Nester, E.W. Wood, W.A. Krieg, N.R. Phillips, G.B. : *Manual of method for general bacteriology*. *American Society for Microbiology*, U.S.A., 1981.
- Holt, J.G., Krieg, N.R. Sneath, P.H., Staley, J.T., Williams S.T. : *Bergey's Manual of determinative bacteriology*. 9th ed., William and Wilkins Co., U.S.A., 1998.
- Inglis, V., Roberts, R.J., Bromage N.R. : *Bacterial disease of Fish*. Blackwell Science Ltd., UK, 1993.
- Kumai. H. : Biological studies on culture of the Japanese parrot fish *Oplegnathus fasciatus* (Temminck et Schlegel). *Bull. Fish. Lab. Kinki Univ.*, No. 2, 127 pp, 1984.
- MacFaddin, J.F. : *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. William and Wilkins Co., U.S.A., 1980.
- Tort, L., Padros F., Rotulliant and Crespo S. : Winter syndrome in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. Immunological and histopathological features. *Fish & Shellfish Immunol.*, 8: 37-47, 1998.
- 鄭文基 : 韓國魚圖譜, 一志社, 372~373, 1988.

Manuscript Received : January 14, 2004

Revision Accepted : June 22, 2004

Responsible Editorial Member : Jin-Woo Kim
(National Fisheries Research and Development Institute)