

우리나라 양식 쥐치, *Stephanolepis cirrhifer* 에서 분리된 비브리오의 특성

지보영 · 방종득 · 조미영 · 김진우 · 원경미 · 조영아†

국립수산과학원 수산생물방역과

Characteristics of *Vibrio* isolated from cultured file fish, *Stephanolepis cirrhifer* in Korea

Bo Young Jee, Jong Deuk Bang, Mi Young Cho, Jin Woo Kim, Kyoung Mi Won and Young Ah Cho†

Aquatic life disease control division, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-900, Korea

An epidemic was occurred in *Stephanolepis cirrhifer* during acclimation in laboratory tanks (water temperature was about 17°C). Diseased fish showed an unique external sign, large cloudy skin surface. We investigated the cause of the disease, and isolated one pure cultured bacterium, that was identified as *Vibrio anguillarum* by biochemical analysis and sequence analysis of the 16S rRNA and *recA* genes. During the outbreak, about 30% of *S. cirrhifer* showed the large cloudy skin surface, and approximately 10% of the stocked fish died. Fish were effectively cured by treatment with oxolinic acid.

Key words : *Stephanolepis cirrhifer*, *Vibrio anguillarum*, Water temperature, Cloudy skin surface

쥐치, *Stephanolepis cirrhifer*는 복어목 (Order Tetraodontiformes), 쥐치과 (Family Monacanthidae)에 속하는 품종으로 (명 등, 2007), 우리나라 동해안과 남해안에서 어획되어 주로 활어 및 건상품으로 판매되고 있으며, 산업적으로 가치가 높은 어종이다 (해양수산부, 2001). 또한 최근에는 쥐치가 보름달해파리, *Aurelia aurita*를 먹이로 성장한다 (Miyajima *et al.*, 2011)는 사실이 밝혀지면서 수산업에 막대한 피해를 주고 있는 해파리의 구제에 천적으로도 각광받고 있다. 쥐치 양식의 연간 생산량은 2006년 136M/T에서 2009년 517M/T로 증가하고 있다. 하지만 그에

못지않게 폐사량 또한 2009년을 기준으로 연간 2,647,000마리 즉, 입식량인 6,452,000마리의 약 41% (<http://kostat.go.kr/portal/korea/index.action>)로 양식에서 큰 비중을 차지하고 있다. 그동안 쥐치에 관한 연구는 먹이습성 (Gwag *et al.*, 2003; Miyajima *et al.*, 2011), 생식년주기 (Lee *et al.*, 2000) 및 생리학적 연구 (Funakoshi *et al.*, 2002)에 한정되어 있으며 특히, 쥐치의 질병에 관한 연구는 쥐치의 치어에 뇌병증과 망막증을 일으키는 betanodavirus의 연구 (Pirarat *et al.*, 2009)를 제외하고는 거의 전무할 실정이다. 그러므로 우리나라에 서식하는 쥐치의 폐사량을 감소시키고, 양식 효율을 증대하기 위해서는 무엇보다 쥐치에 대한 병원성 연구가 시급히 수행되어야 할 것으로 사료

†Corresponding Author : Young Ah Cho

Tel : +82-51-720-3056

E-mail : cya81@nfrdi.go.kr

된다.

이에 본 연구는 실험을 위해 순치 중이던 쥐치가 광범위한 체표 백탁 증상을 보이며 폐사하여 그 원인을 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

감염어

강원도 소재의 쥐치 양어장에서 분양받아 실험실에서 순치 중이던 약 300마리의 쥐치 (체장 4~6 cm) 중 약 30%가 광범위한 체표 백탁을 보이며 그중 10% 정도 폐사하는 사례가 발생하였다. 발병 당시의 수온은 약 17°C로 비교적 낮았으며, 체표에 백탁을 형성한 빈사어 10마리를 시험어로 사용하였다.

감염어의 생검

질병 증상을 보이는 쥐치의 아가미, 체표, 지느러미 및 각 내부 장기를 생검시료로 제작한 후 검경하여 조직의 상태 및 기생충 감염 여부를 확인하였다.

바이러스 검사

해산어에서 주로 검출되는 바이러스의 감염 유무를 확인하기 위하여 참돔이리도바이러스 (red seabream

iridovirus, RSIV), 바이러스성출혈성패혈증바이러스 (viral hemorrhagic septicaemia virus, VHSV)를 포함하여 바이러스성신경괴사증바이러스 (viral nervous necrosis virus, VNNV), 히라메랩도바이러스 (hirame rhabdovirus, HRV) 및 해산 버나바이러스 (marine birnavirus, MBV)에 대한 polymerase chain reaction (PCR) 분석을 시행하였다.

검사용 시료는 감염어를 무균적으로 해부하여 적출한 신장, 비장 및 뇌를 사용하였다. PCR을 위한 DNA는 시판되는 High pure PCR template preparation kit (Roche, Germany)를 사용하여 매뉴얼에 따라 분리하였으며, RNA는 매뉴얼에 따라 TRIZOL[®] Reagent (Invitrogen, USA)로 분리한 후, SuperScript[™] II Reverse Transcriptase (Invitrogen, USA)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. RSIV의 PCR 분석을 위해 분리된 DNA를 template로 사용하였으며, 그 외 VHSV, VNNV, HRV 및 MBV의 PCR 분석을 위해 분리된 RNA에서 합성한 cDNA를 사용하였다. PCR 분석은 ExTaq[®] (TaKaRa, Japan)을 이용하여 매뉴얼에 따랐으며, 사용된 primer set 및 PCR 조건은 Table 1에 나타내었다. 증폭된 산물은 전기영동으로 확인하였으며, 모든 PCR 분석은 양성대조 및 음성대조를 함께 비교하였다.

Table 1. Oligonucleotide primers used in PCR amplification

Virus		Nucleotide sequence of primer	PCR condition	size (bp)
RSIV*	Forward	5'-CTCAAACACTCTGGCTCATC-3'	94°C(30sec)-58°C(1min)-72°C(1min)[30cycle]	570
	Reverse	5'-GCACCAACACATCTCCTATC-3'		
	Forward	5'-CGGGGGCAATGACGACTACA-3'	94°C(30sec)-58°C(1min)-72°C(1min)[30cycle]	568
	Reverse	5'-CCGCCTGTGCCTTTTCTGGA-3'		
VHSV	Forward	5'-ATGGAAGGAGGAATTCGTGAAGCG-3'	94°C(30sec)-55°C(30sec)-68°C(1min)[35cycle]	505
	Reverse	5'-GCGGTGAAGTGCTGCAGTTCCC-3'		

VNNV	Forward	5'-CGTGTCTCAGTCATGTGTCGCT-3'	95°C(40sec)-50°C(40sec)-72°C(40sec)[25cycle]	427
	Reverse	5'-CGAGTCAACACGGGTGAAGA-3'		
HRV	Forward	5'-ACCCTGGGATTCCTTGATTC-3'	94°C(30sec)-55°C(10sec)-72°C(45sec)[30cycle]	600
	Reverse	5'-TCTGGTGGGCACGATAAGTT-3'		
MBV	Forward	5'-GCACCACGAAGGTACGAAAT-3'	94°C(1min)-55°C(1min)-72°C(1min)[30cycle]	430
	Reverse	5'-GTACGTTGCCGTTTCCTGAT-3'		

*, RSIV, red seabream iridovirus; VHSV, viral hemorrhagic septicaemia virus; VNNV, viral nervous necrosis virus; HRV, hirame rhabdovirus; MBV, marine birnavirus.

세균 검사

시험어를 무균적으로 해부하여 신장, 비장, 간 등의 내부 장기 및 체포 환부를 NaCl 1.5% 첨가 TSA 배지, BHIA 배지, TCBS 배지, SS 배지 등에 접종하여 20°C, 24~48시간 배양하여 균의 성상을 확인하였으며 이를 계대배양하여 이후의 실험에 사용하였다.

(a) 생화학적 분석

분리균의 종 분류를 위한 생화학적 분석에는 1.5% NaCl을 첨가한 TSA 배지에서 20°C, 24시간 배양된 균주를 사용하였다. 먼저 상법에 따라 gram stain 염색 성과 형태를 관찰하고 세균의 운동성을 판정하였다. oxidase test는 cytochrome oxidase 시험지법, catalase test는 3% H₂O₂를 이용한 slide 반응법으로 실시하였다. 그 외의 다양한 생화학적 시험은 MacFaddin (2000)의 방법을 따르고 API 20E kit (bioMerieux, France)를 함께 사용하여 *Vibrio anguillarum* KCTC2711을 표준 균주로 함께 비교 분석하였다.

(b) 16S rRNA 및 recA 유전자에 대한

염기서열 분석

분리균의 종 동정을 위해 16S rRNA 및 recA 유전자에 대한 염기서열 분석을 실시하였다. 분리균의 genomic DNA 추출과 PCR 분석은 상기와 동일하게 High pure template preparation kit (Roche, Germany)와

ExTaq[®] (Takara, Japan)을 사용하였다. 16S rRNA 유전자는 27F (5'-CTGAGCCAGGATCAAACCTCT-3')와 1429R (5'-CGTTACCTTGTTACGACTT-3') primer sets를 이용하여 1,505bp의 산물을 얻었으며, recA 유전자는 recA-F (5'-TGGTGACAACCGTACAATG-3')와 recA-R (5'-AACGAACTGAAGCGTAGAAT-3') primer sets (Wang *et al.*, 2010)를 이용하여 581bp의 산물을 얻었다. 증폭된 PCR 산물은 전기영동으로 band를 확인한 후, Gel SV kit (GeneAll, Korea)로 정제하고 Topo TA cloning[®] (Invitrogen, USA)을 이용하여 cloning하여 염기서열을 확인하였다.

염기서열의 분석에는 Genetyx Ver. 8.0 (SDC Software Development, Japan)을 사용하였으며, NCBI에서 제공되는 BLAST program 정보를 이용하여 상동성을 비교하였다.

(c) 약제 감수성 시험

1.5% NaCl이 첨가된 TSA 배지에서 순수 배양된 세균을 1×PBS (pH 7.4)에 현탁한 후, 500 µl를 1.5% NaCl이 첨가된 Muller-Hinton agar (BD, USA)에 도말하고 그 위에 항균제 디스크 (Becton Dickinson, USA)를 접종하여 20°C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 나타난 발육저지대의 지름을 측정하여 BD (BBL[™] Sensi-Disc[™])의 항균제 감수성 테스트 디스크 사용 설명서 기준으로 내성 (resistant), 중간 내성

(intermediate resistant), 감수성 (susceptible)으로 구분하여 분석하였다 (Table 2).

Table 2. Sensitivity of *Vibrio anguillarum* isolate, SA1 to various chemotherapeutic agents

Chemotherapeutic agents	Disc content (μg)	Sensitivity*
Ofloxacin	5	S
Gentamycin	10	R
Clindamycin	2	R
Nalidixic acid	30	S
Clavulanic acid	30	R
Doxycycline	30	S
Oxytetracycline	30	S
Erythromycin	15	R
Trimethoprim	1.25	I
Ampicillin	10	R
Sulfisoxazole	250	R
Oxolinic acid	2	S

* , R, resistance; I, intermediate; S, susceptible.

(d) 배양 온도에 따른 발육시험

배양 온도에 따른 발육시험을 위해, 20°C에서 24시간 배양된 분리균 ($\text{OD}_{600}=1.0$)을 1.5% NaCl이 첨가된 1% pepton water에 접종하였다. 접종액은 온도별로 17°C, 22°C, 27°C, 32°C, 37°C에서 4일간 배양하면서 매일 흡광도 (OD_{600})를 측정하여 발육정도를 측정하였다. 이 실험은 비브리오패균 *Vibrio anguillarum* KCTC2711, *Vibrio harveyi* ATCC14126 및 *Vibrio vulnificus* LMG16852와 함께 실시하여 비교하였다.

결 과

감염어의 증상

병든 쥐치는 체표가 백탁되는 특징적인 증상을

보이며 폐사하였다 (Fig. 1). 그러나 체표 백탁 이외의 특징적인 외부 및 내부 증상은 관찰되지 않았다.

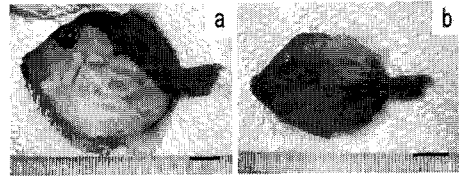


Fig. 1. Typical signs in file fish, *Stephanolepis cirrhifer* (a, b). Note the large cloudy skin surface (scale bar: 1cm)

감염어의 생검

병든 쥐치의 아가미, 체표 및 내부 장기를 생검하여 검정한 결과, 기생충이 관찰되지 않았다 (data not shown).

바이러스 검사

해산어에서 주로 검출되는 바이러스 5종, 즉 RSIV, VHSV, VNNV, HRV 및 MBV에 대한 PCR 분석을 실시한 결과, 모든 병든 쥐치에서 어떠한 바이러스도 검출되지 않았다 (data not shown).

세균 검사

모든 병든 쥐치의 신장과 비장에서 단일한 colony가 형성되었다. 분리균은 1.5% NaCl이 첨가된 TSA 배지에서 투명한 크림색의 colony를, TCBS 배지에서 노란색 colony를 형성하여 *Vibrio* sp.로 추정되었으며, 이 균주를 SA1으로 명명하고 이후의 분석에 사용하였다.

SA1은 gram 음성 curved rod로, catalase와 oxidase를 생성하였으며 Bergey's manual의 *V. anguillarum*로 동정되었다. 단, SA1은 Mo et al. (2001)의 *V. anguillarum*과 마찬가지로 arabinose로부터의 산생성

능이 있는 것으로 나타났다. 이는 표준균주로 사용한 *V. anguillarum* KCTC2711 및 Bergey's manual의 *V. anguillarum*과는 차이가 있음을 보여준다. 또한 SA1은 *V. anguillarum* (KCTC2711)과 비교한 결과,

trehalose로부터의 산생성능은 결여된 것으로 나타났으며, SA1과 *V. anguillarum* (KCTC2711)는 Mo *et al.* (2001)의 *V. anguillarum*과는 다르게 raffinose로부터의 산생성능은 결여된 것으로 나타났다 (Table 3).

Table 3. Comparison of the phenotypic characteristics of the strain SA1 and *Vibrio anguillarum* type strain (KCTC2711)

Tested items	SA1	<i>V.anguillarum</i> (KCTC2711)	<i>V.anguillarum</i> (Bergey's manual, 8th ed. 1974)	<i>V.anguillarum</i> (Mo <i>et al.</i> , 2001)
Arginine dihydrolase	+	+	+	+
Lysine decarboxylase	-	-	-	-
Ornithine decarboxylase	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	+
Nitrate	+	+	+	+
OF test(Oxidation and fermentation test)	+	+	+	+
Indole	+	+	+	+
Methyl red	+	+	d*	
Voges-Proskauer	-	-	d	-
Simmon's citrate	+	+		
H ₂ S(Hydrogen sulfide)	-	-		-
Urease	-	-		-
β-Galactosidase(OPNG)	+	+		+
Tryptophan	+	+		
Kohn's gelatin	+	+		+
Amygdalin	-	+		
Acid production from				
Arabinose	+	-	-	+
Adonitol	-	-		
Dulcitol	-	-		
Cellibose	+	+		+
Fructose	+	+		
Glucose	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-
Maltose	+	+		

Mannitol	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+
Melibiose	-	-		
Raffinose	-	-		+
Rhamnose	-	-		-
Salicin	-	-	-	-
Sorbitol	+	+		+
Sucrose	+	+	+	+
Trehalose	-	+		
Xylose	-	-		-

d*: more than 10% of strains positive or negative

SA1의 16S rRNA 유전자 1,505bp와 recA 유전자 581bp의 염기서열을 분석한 결과 전자는 *V. anguillarum* AY662304과 100%, 후자는 *V. anguillarum* M80525과 100% 상동성을 나타내었다.

SA1에 대한 약제 감수성시험 결과는 Table 2에 나타나 있다. ofloxacin, nalidixic acid, doxycycline, oxytetracycline, oxolinic acid에 대해서 감수성을 나타냈다.

마지막으로 비교적 낮은 수온에서 서식하던 양식

취지에서 분리된 균주임을 감안하여 SA1에 대한 배양온도에 따른 발육시험을 실시하였다. 그 결과, SA1은 27°C에서 가장 잘 증식하였으며, 37°C에서 가장 낮은 발육을 보였다. 이 균주는 *V. harveyi* 및 *V. vulnificus*에 비해 17°C에서 현저히 높은 발육능과 37°C에서 매우 낮은 발육능을 보여, 적정 생육 온도가 비교적 낮은 것으로 추정되었다. Student's t-test를 비교하였다 ($p < 0.05$) (Fig. 2).

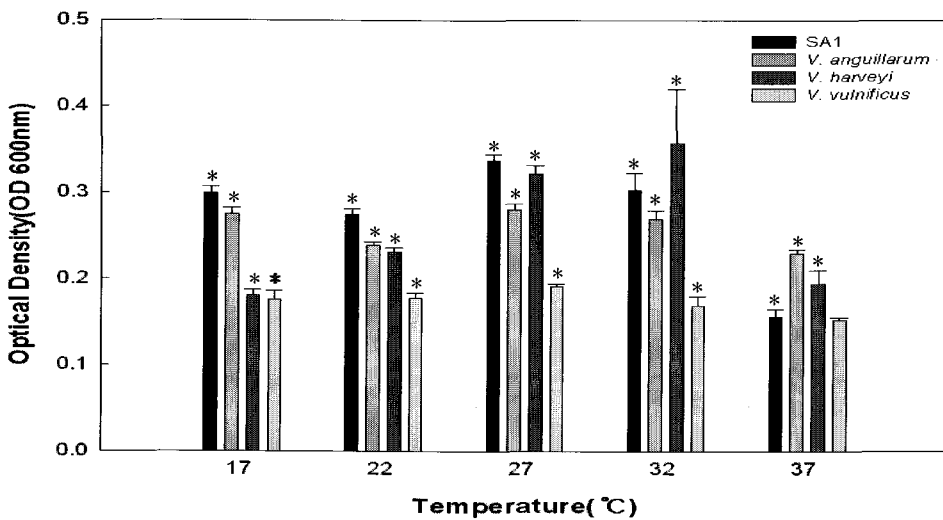


Fig. 2. Effects of temperature on the growth of several fish-pathogenic bacteria. SA1, isolate; *Vibrio anguillarum*, KCTC2711; *Vibrio harveyi*, ATCC14126; *Vibrio vulnificus*, LMG16852.

고 찰

2010년, 강원도 소재의 양어장에서 분양받아 실험실에서 약 17°C로 순치 중이던 쥐치(체장 4~6 cm)에서 광범위한 체표 백탁을 보이며 폐사하는 사례가 발생하였다. 폐사어에서 분리된 세균을 TCBS에 접종한 결과 25°C에서 24시간 배양시 균의 증식이 관찰되지 않았으나 실온(17~18°C)에서 24시간 더 배양한 결과 노란색 colony를 확인 할 수 있었다. 이에 저수온성 비브리오에 속하는 균주로 추정하고 16S rRNA와 *recA* 유전자를 이용한 유전자 염기분석 결과 SA1은 *V. anguillarum*으로 나타났다. 16S rRNA 유전자는 계통발생학적으로 근연한 종간에는 그 유전적 다양성이 부족하다고 알려져 있으며 (Krawiec and Riley, 1990), *recA* 유전자는 16S rRNA 유전자에 비해 더 차별적이고 상동 비브리오 (common Vibrios)에 대한 계통발생과 동정의 마커로 이용된다 (Wang *et al.*, 2010)는 보고가 있다. 하지만 본 연구에서 분리균 동정 결과 *recA* 유전자와 16S rRNA 유전자를 이용한 동정에는 특별한 차이는 없었다.

*V. anguillarum*은 비브리오병의 대표적인 원인체로서 연안 해수에 편재하는 세균이며 (Muroga *et al.*, 1986), 다양한 온수성, 냉수성 어종에 전형적인 출혈성 패혈증을 유발한다고 알려져 있다 (Toranzo and Barja, 1990). 우리나라뿐만 아니라 일본에서도 참돔 (Muroga and Tatani, 1982), 복어 (Muroga *et al.*, 1987) 및 넙치 (Yamanoi *et al.*, 1988)와 같은 해수어류에 발생하는 비브리오병의 원인체로 많은 보고가 있어 왔지만, 복어목인 쥐치는 아직 발생 보고가 없다. 또한 본 연구는 기존의 *V. anguillarum*의 외견상 특징과는 다르게 병어의 체표에 백탁 증상이 뚜렷이 나타났으며, 비교적 저수온에서 폐사를 일으키는 특징을 가지고 있어, 생화학적 성상, 약제감수성시험, 배양

온도에 따른 발육시험 등을 종합적으로 실행하여 균을 동정하였다.

생화학적 성상에서 SA1과 표준균주인 *V. anguillarum* (KCTC2711)은 Table 3과 같이 나타났다. *V. anguillarum* (KCTC2711)은 Kim *et al.* (2005)의 *V. anguillarum* (ATCC19264)의 생화학적 성상과 일치하였으며, Bergey's manual의 *V. anguillarum*과 동일한 양상을 나타냈다. Lunder *et al.* (2000)의 *V. anguillarum* (ATCC1418)은 MR은 음성, VP는 양성 그리고 arabinose와 cellobiose는 음성으로 나타났다고 보고하여 SA1과 차이를 보였다. 이는 SA1을 비롯한 여러 *V. anguillarum*의 표현형이나 유전형에 다양성이 나타난 결과로 사료된다.

본 연구에서 SA1에 대하여 12종의 항생제에 대하여 감수성 검사를 실시한바, ofloxacin, nalidixic acid, oxytetracycline과 oxolinic acid를 포함하는 quinolone 계와 doxycycline을 포함하는 tetracycline계는 감수성이 있는 것으로 나타났다 (Table 2). 그리하여 본 연구에서는 저지대 범위가 가장 넓은 oxolinic acid를 치료에 사용하였다. 한편 Mo *et al.* (2001)의 보고에 따르면 *V. anguillarum*이 ofloxacin이 내성을 가진다고 하지만 본 실험에서는 감수성을 나타내었고 반면 ampicillin에 내성을 가진다 (Kim *et al.*, 2010)는 보고는 일치함을 알 수 있었다.

해수에서 발생하는 비브리오속은 17~35°C에서 잘 성장하는 경향이 있으며 (Rubin and Tilton, 1975), *V. anguillarum* 균의 발육온도도 10~35°C이나 최적온도는 25°C이다 (Jang *et al.*, 2007). 하지만 본 연구에서는 쥐치가 저수온 17°C에서 폐사된 점과 TCBS에서 17~18°C에서 균의 발육이 확인된 것을 감안하여 SA1의 균주의 온도별 발육능에 대해 *V. anguillarum* (KCTC2711), *V. harveyi* (ATCC14126), *V. vulnificus* (LMG16852)와 비교 실험을 하였다. 그 결과, 배양

후 72시간 되는 시점에서 SA1이 다른 비브리오속보다 17°C에서 현저히 높은 발육능을 보이는 양상을 발견할 수 있었다. Sugita *et al.* (2008)는 일본의 내해에서 *V. anguillarum*이 20°C 이하인 해수 시료에서 44%가 검출되었고, 21.5~22.0°C에서 59~80%, 13.1~18.0°C에서는 0~7%만이 검출되었다고 한다. 하지만 본 연구는 SA1이 17°C에서도 다른 비브리오속에 비해 높은 발육능을 나타낸 것으로 보아 저수온에서도 어체에 상당한 피해를 줄 수 있다는 점에서 *V. anguillarum*의 발생 수온 범위를 재검토할 필요가 있을 것으로 생각된다. 또한 쥐치 양식은 해상가두리가 전체 양식 방법의 대부분을 차지하고 있어 양식에서의 수온의 변화를 잘 염두 해 두어야 할 것이다. 무엇보다 쥐치 양식은 5월에서 7월 사이에 산란이 일어나기 때문에 (해양수산부, 2001), 6~7월의 평균 수온 범위가 14~19°C인 점을 감안한다면 (<http://portal.nfrdi.re.kr/risa/subpage/realtime04.jsp>) (2009, 2010) 쥐치 양식에 있어서 자치어 시기에 폐사의 심각한 문제를 야기할 수 있을 것이라 생각된다. 이처럼 국내 쥐치 자치어의 양식에 있어서 *V. anguillarum*에 의한 폐사가 유발된다는 점에서 앞으로 국내 쥐치 양식에 주의를 기울여야 하며, 적극적인 대처가 필요할 것으로 예상된다.

본 연구의 결과에서는 저수온에서 백탁을 보이며 폐사되어가는 쥐치에서 *V. anguillarum*이 분리 동정되었고, 이에 oxolinic acid 200 ppm을 병어에 1시간동안 약욕시켰으며, 그 결과 2일 경과 후 치사가 중단되고 증상이 호전되었다. 향후 이 세균의 병원성 및 독성 시험, 그리고 환경 요인과의 상관관계 등에 대하여 더 많은 연구를 진행시켜 쥐치 양식의 활성화 방안을 모색해야 할 것이다.

요 약

본 연구는 실험을 위해 저수온에서 순치 중이던 쥐치에서 체표의 백탁을 보이며 폐사하여 그 원인을 밝히고자 하였다. 순수 배양된 균체를 확인하여 계대 배양하여 생화학적 성상과 16S rRNA 유전자와 recA 유전자의 염기서열 분석 결과 *Vibrio anguillarum*으로 나타났다. 빈사어 (체장 4~6 cm)의 약 30%는 체표 백탁 증상을 보였으며 약 10%는 폐사하였다. 이에 약제 감수성 시험 후, oxolinic acid 200 ppm을 1시간 동안 약욕시켰으며, 2일 경과 후 폐사가 중단되고 증상이 호전되었다.

감사의 글

본 연구는 국립수산물품질관리원 (수산물전염병방역 및검역체계구축, RP-2011-AQ-048)의 지원에 의해 운영되었습니다.

참고문헌

- Eddy, S.D. and Jones, S.H.: Microbiology of summer flounder *Paralichthys dentatus* fingerling production at a marine fish hatchery. *Aquaculture*, 211: 9-28, 2002.
- Funakoshi, K., Atobe, Y., Nakano, M., Hisajima, T., Goris, R.C. and Kishida, R.: Monoaminergic and peptidergic axonal projections to the vagal motor cell column of a teleost, the filefish *Stephanolepis cirrhifer*. *J. Comp. Neurol.*, 447(4): 351-365, 2002.
- Gwag, S.N., Baeg, G.U. and Heo, S.H.: Feeding Habits of *Stephanolepis cirrhifer* in a *Zostera marina* Bed. *Korean J. Ichthyol.*, 15(4): 219-223, 2003.
- Jang, H., Moon, J.S., Joh, S.J., Kim, J.Y. and Son, S.W.:

- Occurrence and treatment of mixed infections with *Vibrio anguillarum* and *Ichthyobodo* sp. from cultured olive flounder(*Paralichthys olivaceus*). Korean J. Vet. Res., 47(3): 303-308, 2007.
- Kim, M.S., Seo, J.S., Park, M.A., Cho, J.Y., Hwang, J.Y., Kwon, M.G. and Jung, S.H.: Antimicrobial resistance of *Edwardsiella tarda*, *Vibrio* spp., and *Streptococcus* spp. isolated from olive flounder *Paralichthys olivaceus*. J. Fish Pathol., 23(1): 37-45, 2010.
- Kim, S.M., Won, K.M., Woo, S.H., Li, H., Kim, E.J., Choi, K.J., Cho, M.Y., Kim, M.S. and Park, S.I.: *Vibrios* Isolated from Diseased Marine Culturing Fishes in Korea. J. Fish Pathol., 18(2): 133-145, 2005.
- Krawiec, S. and Riley, M.: Organization of the bacterial chromosome. Microbiol. Rev., 54: 502-539, 1990.
- Lee, S.J., Go, Y.B. and Lee, Y.D.: Annual reproductive cycle of the file fish, *Stephanolepis cirrhifer*, on the southern coast of Cheju Island. Korean J. Ichthyol., 12(1): 62-70, 2000.
- Lunder, T., Sørum, H., Holstad, G., Steigerwalt, A.G., Mowinckel, P. and Brenner, D.J.: Phenotypic and genotypic characterization of *Vibrio viscosus* sp. nov. and *Vibrio wodanis* sp. nov. isolated from Atlantic salmon(*Salmon salar*) with 'winter ulcer'. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 50: 427-450, 2000.
- MacFaddin, J.E.: Individual biochemical tests. In: Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp. 1-456, 2000.
- Miyajima, Y., Masuda, R., Kurihara, A., Kamata, R., Yamashita, Y. and Takeuchi, T.: Juveniles of threadsail filefish, *Stephanolepis cirrhifer*, can survive and grow by feeding on moon jellyfish *Aurelia aurita*. Fish Sci., 77: 41-48, 2011.
- Mo, Z.L., Tan, X.G., Xu, Y.L. and Zhang, P.J.: A *Vibrio anguillarum* strain associated with skin ulcer on cultured flounder, *paralichthys olivaceus*. Chinese J. Oceanol. Limnol., 19(4): 319-326, 2001.
- Muroga, K., Tanasoomwang, V. and Momoyama, K.: *Vibrio anguillarum* infection in juveniles of tiger puffer(*Takifugu rubripes*). Fish Pathol., 22: 29-30, 1987.
- Muroga, K. and Tatani, M.: *Vibrio anguillarum* from juvenile red sea-bream(*Pagrus major*). Fish Pathol., 16: 211-214, 1982.
- Muroga, K., Iida, M., Masumoto, H. and Nakai, T.: Detection of *Vibrio anguillarum* from water. Nippon Suisan Gakkaishi, 52: 641-647, 1986.
- Pirarat, N., Katagiri, T., Maita, M., Nakai, T., Endo, M.: Viral encephalopathy and retinopathy in hatchery-reared juvenile thread-sail filefish(*Stephanolepis cirrhifer*). Aquaculture, 288(3-4): 329-352, 2009.
- Rubin, S.J. and Tilton, R.C.: Isolation of *Vibrio alginolyticus* from Wound infections. J. Clin. Microbiol., 2(6): 556-558, 1975.
- Sugita, H., Mizuki, H. and Itoi, S.: Prevalence of a fish pathogen, *Listonella anguillarum*, in the intestinal tract of fish collected off the coast of Japan. Aquaculture Res., 39: 103-105, 2008.
- Toranzo, A.E. and Barja, J.L.: A review of the taxonomy and seroepizootiology of *Vibrio anguillarum*, with special reference to aquaculture in the northwest of Spain. Dis. Aquat. Org., 9: 73-82, 1990.
- Wang, C.Y., Yan, M.C., Chen, S.B., Guan, M.X., Shan, L.Z., Al, W.M., Xie, Q.L. and Cai, Y.B.: Isolation

- and identification of *Listonella anguillarum* from *Plecoglossus altivelis* based on 16S rRNA and recA. Mar. Sci. Bull., 29(1): 84-90, 2010.
- Yamanoi, H, Momoyama, K, Yasunobu, H and Muroga, K: *Vibrio anguillarum* infection in founder(*Paralichthys olivaceus*) fingerings. Fish Pathol., 23: 69-70, 1988.
- Zorrilla, I., Chabrilón, M., Arijo, S., Díaz-Rosales, P., Martínez-Manzanares, E., Balebona, M.C. and Morinigo M.A.: Bacteria recovered from diseased cultured gilthead sea bream(*Sparus aurata* L.) in southwestern Spain. Aquaculture, 218: 11-20, 2003.
- 명정구, 김병일, 이선명, 전길봉과 낚시춘추: 우리바다 어류도감, p.234, (4), 예조원, 경기도, 2007.
- 해양수산부(연구기관: 동우대학): 귀치종묘 대량생산 기술개발 연구보고서, p.3, 2001.
- 통계청: 2006-2009, 어류양식동향조사: 시도·시군구별 양식방법별 어종별 양식현황[온라인], <http://kostat.go.kr/portal/korea/index.action>[인용일자: 2011.6.23]
- 국립수산과학원, 2009-2010, 실시간어장정보: 관측정보 [온라인], <http://portal.nfrdi.re.kr/risa/subpage/realtime04.jsp> [인용일자: 2011.7.1]

Manuscript Received : July 5, 2011

Revised : July 26, 2011

Accepted : July 26, 2011