

碩士學位論文

넙치, *Paralichthys olivaceus* 仔魚에서 分離한
腸管白濁症의 原因菌인 *Vibrio* sp. INFL group의
生物學的 및 生化學的 特性에 關한 研究

濟州大學校 大學院

水産生物學科

李 廷 白



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

1993年 6月

넙치, *Paralichthys olivaceus* 仔魚에서 分離한
腸管白濁症의 原因菌인 *Vibrio* sp. INFL group의
生物學的 및 生化學的 特性에 關한 研究

指導教授 盧 暹

李 廷 白

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함

1993年 6月

제주대학교 중앙도서관
李廷白의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長

委 員

委 員

卞 忠 璣

李 洪 基

盧 暹

濟州大學校 大學院

1993年 6月

Studies on the Biological and Biochemical Characteristics of a *Vibrio* sp.
INFL group, the Causative Bacterium of Intestinal Necrosis
from Flounder (*Paralichthys olivaceus*) Larvae

Jung Baik Lee

(Supervised by Professor Sum Rho)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

DEPARTMENT OF MARINE BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1993. 6.

目 次

Abstract	1
I. 緒 論	2
II. 材 料 及 方 法	4
1. 試料魚 및 分離菌株	4
2. 病原性 再現試驗	6
3. 形態學的 및 生物學的 性狀檢査	7
4. 生化學的 性狀檢査	7
5. 藥劑에 對한 原因菌의 感受性試驗	8
III. 結 果	9
1. 發生狀況과 病魚의 症狀	9
2. 原因菌의 病原性 再現	11
3. 再分離菌의 形態學的 및 生物學的 性狀	12
4. 再分離菌의 生化學的 性狀	18
5. 藥劑에 對한 原因菌의 感受性	20
IV. 考 察	22
V. 要 約	25
VI. 參 考 文 獻	26
謝 辭	29

ABSTRACT

All samples taken from sick flounder(*Paralichthys olivaceus*) larvae during 5 different periods (months of December of 1991, and January, February, March, and April of 1992) were found to be infected with *Vibrio* sp., and thus these flounder were identified as intestinal Necrosis of flounder larvae(INFL) according to morphological, biological, and biochemical tests.

INFL was reproduced by feeding artificially larvae live food organism that was infected with *Vibrio* sp.

The optimum temperature, pH and NaCl concentration for *Vibrio* sp. were 20-30°C, 6-8 and 2-4%, respectively.

The growth of *Vibrio* sp. was inhibited by adding oxytetracycline, nalidixic acid, kanamycin and novobiocin to the culture medium, no effect was found with ampicillin, erythromycin, spiramycin and sulfa-drug.

I. 緒 論

넙치 仔稚魚期の 減耗原因 中에는 遺傳的(乾·三輪, 1985), 環境的(藤井 等, 1984) 또는 營養的 要因(Seikai, 1985)에 의해 생기는 非減染性 疾病이 占有 하는 比率이 상당히 크다고 생각하고 있다. 이러한 非減染에 의한 減耗外 種苗生産 時 減染症으로서는 역시 細菌에 의한 感染症이 가장 많다.

種苗生産 過程에 있어서 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 仔稚魚에 發生하는 細菌性 疾病으로서는 腹水症(村田, 1981), 絲狀 細菌症(翠川 等, 1972; 增村, 1987), 滑走細菌症(增村, 1987; Baxa et al., 1986) 및 비브리옥病(山野井 等, 1988) 등이 報告되어 있다.

腸管白濁症에 대하여는 村田(1987)에 의하여 近畿大學 水産研究所에서 發生된 例가 報告되어 있으며 또 增村 等(1988)에 의해 廣島水産試驗場에서 發生된 例가 報告된바 있다.

이病은 種苗生産 時期인 11月 부터 翌年 4月사이에 卵孵化後 18日頃부터 着底 期를 지난 30日 까지의 仔稚魚에 發生하여 體色이 검어지고 消化管의 白濁 및 萎縮 等の 主要한 症狀로 나타났으며, 卵 孵化後 바로 發病한 경우는 斃死率이 높았고 때에 따라서는 90%以上(村田, 1987)을 나타낸 곳도 있었다.

1991年에서 1992年에 걸쳐 濟州道內 種苗培養場에서 飼育中인 넙치 仔魚에 腸管白濁症으로 생각되는 疾病이 發生된 病魚에서 增村 等(1988)이 報告한 것과 同

一種으로 判斷되는 *Vibrio* 屬 細菌을 分離하였다.

이 研究에서는 分離된 菌株의 生物學的 및 生化學的 特性을 調査함과 同時에 分離된 菌株의 病原性에 關한 實驗結果를 論議하고자 한다.



I. 材料 및 方法

1. 試料魚 및 分離菌株

1991年 12月에서 1992年4月 사이에 濟州道內 種苗培養場의 室內 콘크리트 水槽에서 飼育 중인 넙치仔魚에 發生한 腸管白濁症의 症狀를 觀察하고 原因菌의 分離를 試圖하였다.

實體 顯微鏡으로 病魚의 消化管을 觀察하면서 症狀이 뚜렷한 個體의 창자를 無菌的으로 切取하여 ZoBell 2216E agar와 nutrient agar(NA,Difco), tryptic soy agar(TSA,Difco) 및 BTB teepol agar(Difco)의 平板培地에 塗抹하여 25°C에서 24時間 培養한 後 各培地上 에 優占的으로 나타난 *Vibrio* sp.를 Fig.1의 方法에 따라 分離하였다.

分離한 菌株들을 純粹培養하였으며 그 中 病原性을 뚜렷이 나타내는 5菌株와 日本 廣島大學에서 提供받은 넙치 腸管白濁症의 原因菌인 *Vibrio* sp. INFL FH-8804를 比較菌株로 하여 各種 性狀實驗에 使用하였다. 各 菌株의 由來는 Table 1 과 같다.

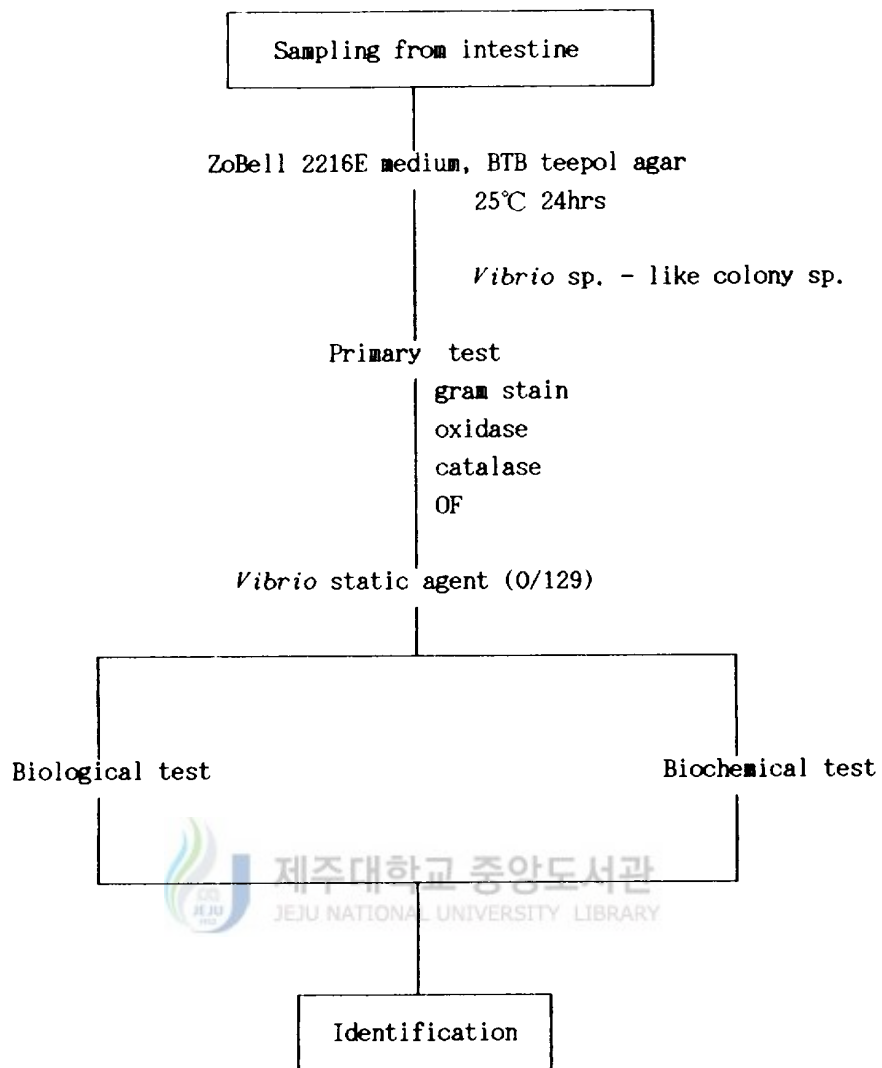


Fig.1. The identification procedure for *Vibrio* sp. in flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae.

Table 1. Sources of the present strains isolated from cultured flounder larvae

Isolated strains	Date sampled	Location	Source
FLL-9112	12/4/91	Namcheju, CHEJUDO	Intestine
FLL-9201	1/12/92	Namcheju, "	Intestine
FLL-9202	2/15/92	Namcheju, "	Intestine
FLL-9203	3/17/92	Namcheju, "	Intestine
FLL-9204	4/15/92	Namcheju, "	Intestine
Reference strain			
<i>Vibrio</i> sp. INFL FH-8804		Hiroshima Univ., Japan	

2. 病原性 再現試驗

病原性 再現試驗에 使用된 試料魚는 道內 種苗培養場에서 飼育하고 있는 健康한 넙치仔魚(16日令, 平均 全長 8.2mm) 300마리 이었다.

病原性 再現試驗은 細菌에 의해 出現한 colony 中 Table 1의 5菌株인 FLL-9112, FLL-9201, FLL-9202, FLL-9203 및 FLL-9204와 比較菌株인 *Vibrio* sp. INFL FH-8804를 使用하였다. 즉 brain heart infusion agar(BHIA, Difco)에 25°C, 24時間 동안 培養한 것을 다시 brain heart infusion broth(BHIB, Difco)에 各 菌株를 接種하여 25°C, 24時間 增菌培養한 分離菌株를 3,000rpm으로 30時間 遠心分離器로 分離한 後 集菌하였다.

集菌한 各 培養菌들을 넙치仔魚의 먹이生物인 rotifer, *Brachionus plicatilis*에 浸透시켰다. 즉 濕重量 1.5g의 rotifer를 滅菌하여 25°C로 식힌 海水 100ml

중에 수용하고 여기에 각培養菌 0.1g씩을懸濁시켜 30分後에 plankton net로 rotifer를回收하였다. 그리고 100l 판라이트水槽(試驗區)에 넙치仔魚를 각각 50마리씩收容하여菌浴을 시켜놓은 rotifer를 1回/1日, 한試驗區當 1g씩 3日間連續投與하였다.

各攻擊菌株의生菌數測定은 Diliello(1979)의 방법을利用하였으며, 試料는各菌株의懸濁液에 담구어진 rotifer의一部를使用하였다.

3. 形態學的 및 生物學的 性狀檢査

病原性再現試驗에서再分離된各菌株들을 ZoBell 2216E 斜面培地에서培養한後 3%食鹽添加 BHI broth培地에增菌한 것을使用하였으며 gram 染色性(Hücker變法), 運動性, 形態, 크기 및 色素生産等 形態學的 性狀檢査를實施하였다.

生物學的 性狀檢査는各種培地上에서 25°C에 18~24時間培養하여發育與否를觀察하였다. 發育에 미치는食鹽濃度の影響, 溫度 및 pH의影響實驗은 펌프水를使用하였으며, 24時間培養한後 Spectrophotometer(spectronic 21, BAUCH and LOMB)로 560nm에서吸光度를測定하여發育度로하였다.

4. 生化學的 性狀檢査

生化學的 性狀檢査는 Sneath *et al.* (1986)과 Gerhardt *et al.*(1981),

Mac Faddin(1980) 및 増村 等(1988)이 記載한 方法에 따라 實施하였다.

5. 藥劑에 對한 原因菌의 感受性 試驗

病原性 再現試驗으로 本病에 人爲感染된 넙치仔魚로부터 再分離한 5個의 菌株 各各을 tryptic soy broth(TSB)에 25°C, 24 時間 培養한 培養液의 0.1ml를 藥劑 感受性 培地인 Müller-Hinton 培地(Difco)에 塗抹하였다. 그리고 그 培地에 各種 藥劑의 感受性디스크(BBL)를 얹어서 5°C에 4時間 放置한 後, 25°C에서 20時間 培養하여 發育 阻止圓의 直徑을 計測하였다.

I. 結 果

1. 發生狀況 과 病魚의 症狀

1991年~1992年 사이에 濟州道內에서 調査된 本病의 發生事例는 Table 2에서 보는 바 와같다. 本病은 水溫 18.0~20.0°C의 範圍에서 卵孵化 後 18~30日째의 仔稚魚(全長 8.2~11.3mm)에 發生하였다.

Table 2. Outbreaks of intestinal necrosis of cultured flounder larvae (1991 ~ 1992, Chejudo)

Date	Location	Days after hatching	Water temperature(°C)	Feed
Dec. 4, '91	private hatchery in Namcheju	18	18.0	BS , R
Jan. 12, '92	~	20	19.2	~
Feb. 15, '92	~	28	18.6	BS , R , AF
Mar. 17, '92	~	28	20.0	~
Apr. 15, '92	~	30	18.5	~

* BS : Brine Shrimp , R : Rotifer , AF : Artificial Feed

發生時의 먹이는 rotifer, *Artemia salina* 등의 먹이生物과 配合飼料(“協和” 또는 “Higasimaru” 製品)를 供給하였다.

症狀는 Fig.2에서 보는바와 같이 肉眼的으로 消化管이 白濁 · 萎縮되었고, 體側筋肉이 얇아졌으며 腹部가 陷沒된 個體도 나타났고, 發病하면 거의 먹이를 攝取하지 않았다. 또 個體에 따라서는 消化管의 一部만이 白濁된 것과 消化管全體가 白濁된 것이 나타났으며 白濁된 消化管 內에서는 運動性이 있는 短桿菌의 存在가 觀察 되었다.

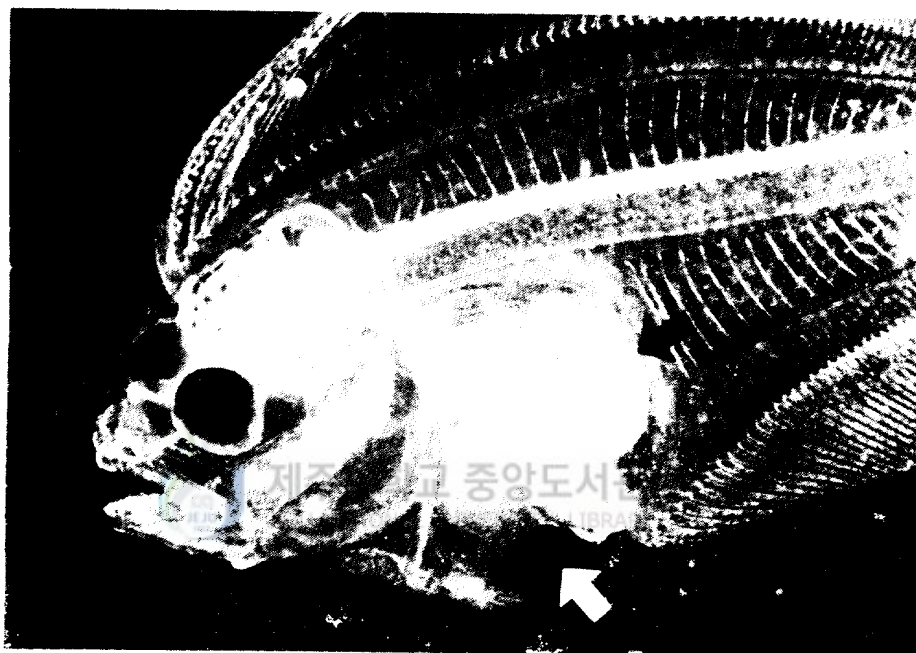


Fig 2. Flounder larvae infected by *Vibrio* sp.; Intestine necrosis seen in whitish portion, and shrunken abdomen were typical symptoms.

2. 原因菌의 病原性 再現

自然感染된 넙치 仔魚로 부터 採取하여 ZoBell 2216E 培地에 接種한 INFL은 圓形으로 나타나며, 灰白色의 透明한 集落을 分離하여, 純粹培養한 5個 菌株 각각에 對하여 病原性 再現試驗을 한 結果는 Table 3에서 보는바와 같다.

Table 3. Pathogenicity of the isolated strains to cultured flounder larvae orally infected with *Vibrio* sp. INFL group

Strains	Challenge dose (CFU/g rotifer)	Fish numbers * (died/tested)	Mortality in 7 days
FLL-9112	1.1x10 ⁹	43/50	86.0
FLL-9201	1.2x10 ⁹	40/50	80.0
FLL-9202	1.1x10 ⁹	37/50	74.0
FLL-9203	4.1x10 ⁸	36/50	72.0
FLL-9204	9.0x10 ⁸	27/50	54.0
Control	-	2/50	4.0

* 16 day-old, 8.2mm in average total length.

Fish received bacteria incorporated into rotifer for 3 successive days. Water temperature was kept 18.0~18.5°C.

試驗에 使用한 菌株 모두는 試驗始作 4日 後부터 斃死하는 個體가 나타나기 始作하여 試驗 終了期間인 7日까지는 54.0 ~ 86.0%의 斃死率을 나타내었다.

試驗 期間中에 消化管에 白濁症狀을 나타내는 個體가 있었으며, 斃死魚나 實驗 終了時 發病魚의 消化管에서 接種菌과 同一性狀의 細菌이 再分離 되었다. 以上の 結果에서 이러한 分離菌들을 本病의 原因菌으로 생각하였다.

3. 再分離菌의 形態學的 및 生物學的 性狀

提供된 菌株를 gram 染色한 結果, 本病의 原因菌이 나타내는 形態는 똑바르거나 약간 彎曲된 短桿菌 (Fig.3)으로 1個의 極鞭毛를 가지고 있었으며 크기는 1.2 ~ 1.6 μ m이었다.

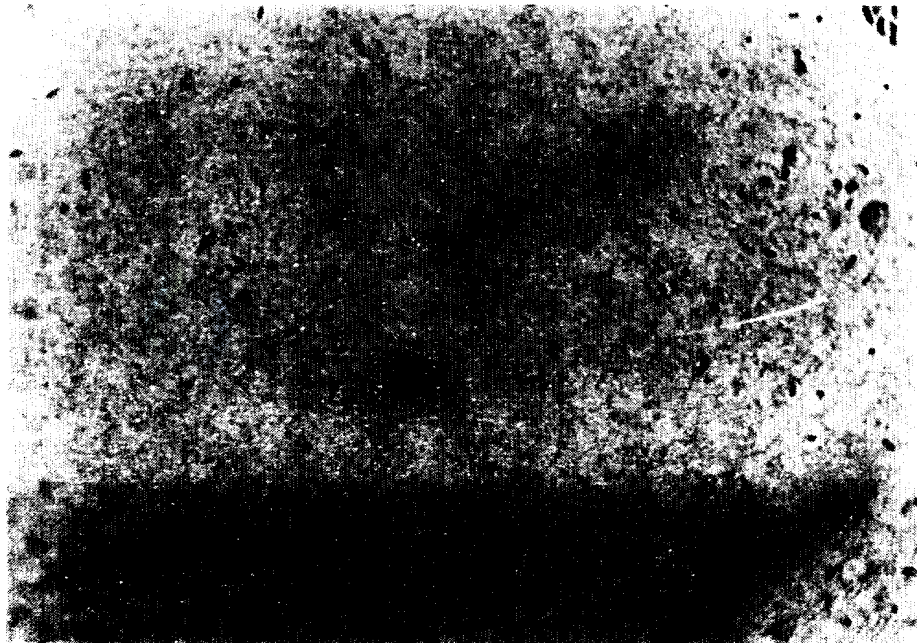


Fig. 3. Morphology of the isolated *Vibrio* sp. INFL, cultured in ZoBell 2216E medium at 25°C for 48hrs. Gram stain, x 1,000.

Table 4. Morphological and biological characteristics of the isolates from diseased flounder larvae and *Vibrio* sp. INFL FH-8804

Characteristics	The present isolates					Reference strain
	FLL-9112	FLL-9201	FLL-9202	FLL-9203	FLL-9204	FH-8804*
Gram stain	-	-	-	-	-	-
Motility	+	+	+	+	+	+
Flagella	Single polar flagellum					
Form	Short rod					
Growth on:						
ZoBell 2216E	+	+	+	+	+	+
NA	+	+	+	+	+	+
TSA	+	+	+	+	+	+
BHIA	+	+	+	+	+	+
BTB teepol	+	+	+	+	+	+
MacConkey	-	-	-	-	-	-
0% Nacl NA	-	-	-	-	-	-
0.5	+w	-	-	-	-	+w
2	+	+	+	+	+	
3	+	+	+	+	+	+
6	+w	+w	+w	-	+w	+w
8	-	-	-	-	-	-
Growth at:						
4°C	-	-	-	-	-	-
20	+	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+
35	-	-	-	-	-	-
Simmon's citrate	-	-	-	-	-	-

* *Vibrio* sp. INFL from Hiroshima Univ., Japan., w : weak reaction.

提供된 菌株의 形態學的 및 生物學的 性狀은 Table 4에서 나타낸 바와 같다. 25°C, 48時間 동안 充分히 發育한 ZoBell 2216E 平板위의 集落形態는 약간 볼록하고 周邊이 圓滑하였다. 集落의 크기는 直徑 1.0mm程度의 正圓形이었으며, 集落의 색깔은 灰白色으로 透明感이 있었다.

全 菌株는 gram陰性, 運動性이며 ZoBell 2216E, NA, TSA, BHIA 및 BTB teepol에서 잘 發育하였으나 MacConkey培地에서는 發育하지 않았다. 또 2~3%食鹽添加 NA에서는 全 菌株가 잘 發育하였으나 0%, 8%食鹽添加 NA에서는 全 菌株가 發育하지 않았다. 0.5%에서는 FLL-9112와 FH-8804株만이 弱하게 發育하였으며 그 外의 菌株는 發育하지 않았다. 6%에서는 FLL-9203株 만이 發育하지 않았고 그外 菌株는 弱하게 發育하였다.

NA에 있어서 全菌株가 20~30°C 에서 發育하였으나 4°C와 35°C에서는 全菌株가 發育하지 않았다.

發育에 對한 食鹽濃度, 溫度 및 pH의 影響은 Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6에서 보는 바와 같았다. 菌株에 따라 發育性에 差異는 있었으나, 各菌株들은 20~30°C에서 잘 자랐고, 특히 25~30°C에서 最適發育을 나타내었다. 35°C 附近에서의 發育性은 菌株間에差異를 나타내지 않았다.

食鹽濃度2.0~3.0%의 範圍에서 잘 發育하였고 最適發育 食鹽濃度는 3.0%이다. 또 pH 6.0~8.0에서 發育하였으며 最適發育 pH는 7.0 前後이었다.

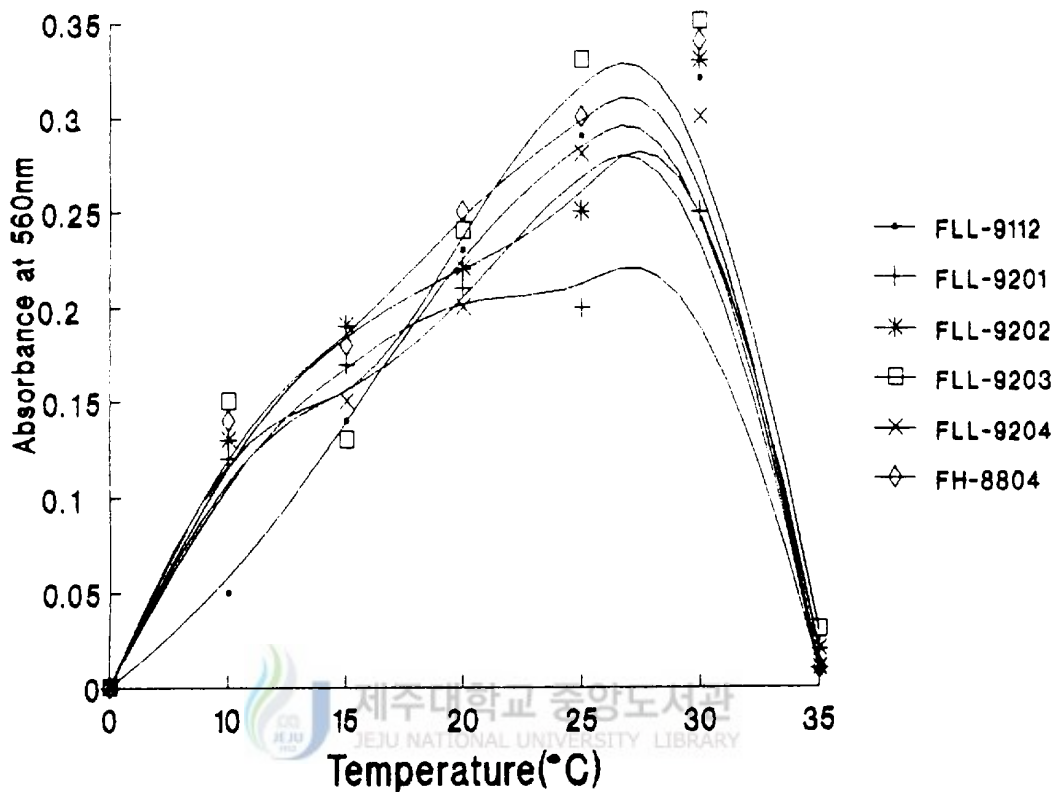


Fig.4. Effects of temperature on the growth of *Vibrio* sp. incubated for 24 hrs in a culture medium the pH of which was adjusted to 7 with 1% pepton water.

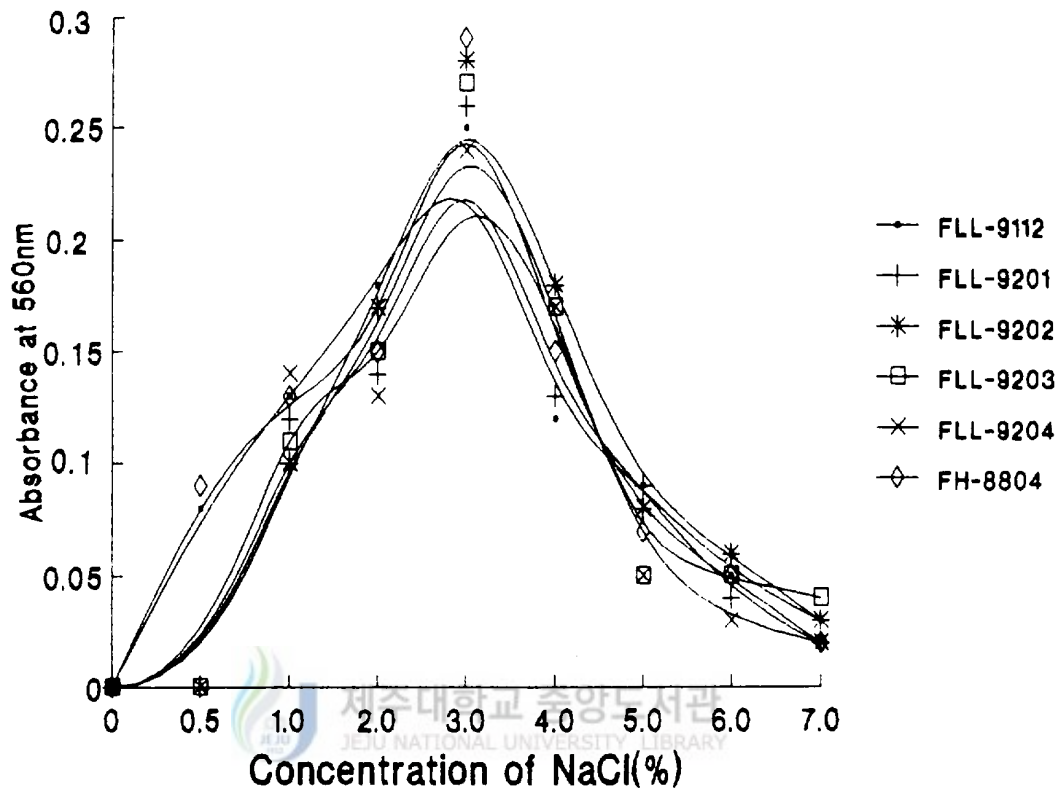


Fig.5. Effects of NaCl on the growth of *Vibrio* sp. incubated for 24 hrs in a culture medium the pH of which was adjusted to 7 with 1% pepton water.

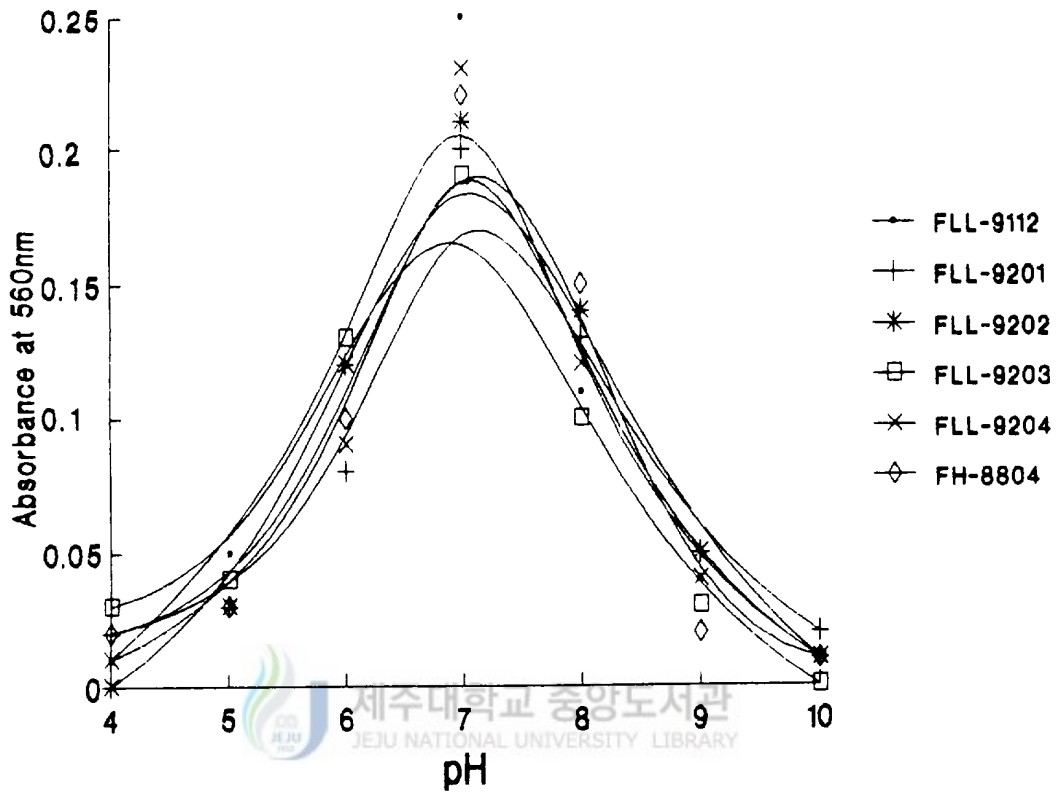


Fig. 6. Effects of pH on the growth of *Vibrio* sp. incubated for 24 hrs in a culture medium the pH of which was adjusted to 7 with 1% pepton water.

4. 再分離菌의 生化學的 性狀

提供된 菌株의 生化學的 性狀은 Table 5에서 보는 바와 같다. 全 菌株는 cata-lase, cytochrome oxidase에 陽性이었으며, glucose를 醱酵的으로 分解하였으나 indole은 生産하지 않았다. 또 全 菌株가 窒酸鹽을 還元시키지 않았으며, gelatine도 液化시키지 않았고, glucose로부터 gas도 生産하지 않았다.

methyl red(MR)反應에 全 菌株가 陽性이었으며 0/129에 感受性を 나타내었다. 그러나, Vogler-Proskauer(VP)反應, 黃化水素 生産, ornithine 및 β -galactosidase反應에서는 全 菌株가 陰性を 나타내었다. 또한 提供된 全 菌株는 starch와 casein을 加水分解하였으나 arginine과 tween 80의 加水分解에서는 陰性を 나타내었다.

Table 5. Biochemical characteristics of the isolates from diseased flounder larvae and *Vibrio* sp. INFL FH-8804

Characteristics	The present isolates					Reference strain
	FLL-9112	FLL-9201	FLL-9202	FLL-9203	FLL-9204	FH-8804
Catalase	+	+	+	+	+	+
Cytochrome oxidase	+	+	+	+	+	+
OF test	F	F	F	F	F	F
Indole production	-	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	-	-	-	-	-	-
Gelatin liquefaction	-	-	-	-	-	-
Gas from glucose	-	-	-	-	-	-
MR test	+	+	+	+	+	+
VP test	-	-	-	-	-	-
H ₂ S production	-	-	-	-	-	-
O/129 sensitivity	+	+	+	+	+	+
β -galactosidase	-	-	-	-	-	-
Hydrolysis of						
Arginine	-	-	-	-	-	-
Tween 80	-	-	-	-	-	-
Starch	+	+	+	+	+	+
Casein	+	+	+	+	+	+
Ornithine	-	-	-	-	-	-

* F : Fermentation

提供된 菌株의 各種 炭水化物 分解能은 Table 6에서 보는 바와 같다. glucose, mannose, sucrose, trehalose, maltose 및 fructose는 全 菌株가 分解하여 酸을 生産하였으나, arabinose外 13個의 炭水化物은 全 菌株가 分解하지 않았다.

Table 6. Carbohydrate utilization of the isolates from diseased flounder larvae and *Vibrio* sp. INFL FH-8804

Characteristics	The present isolates					Reference strain
	FLL-9112	FLL-9201	FLL-9202	FLL-9203	FLL-9204	FH-8804
Acid from						
Glucose	A	A	A	A	A	A
Arabinose	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	-
Mannose	A	A	A	A	A	A
Galactose	-	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-
Sucrose	A	A	A ^W	A	A	A
Maltose	A	A	A	A	A	A
Trehalose	A	A	A	A	A	A
Melibiose	-	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-
Glycerol	-	-	-	-	-	-
Fructose	A	A	A	A	A	A
Inulin	-	-	-	-	-	-
Glycogen	-	-	-	-	-	-
Dextrin	-	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-

* A : Acid, W : Weak reaction.

5. 藥劑에 對한 原因菌의 感受性

原因菌의 各種 藥劑에 對한 感受性 試驗에 있어서 디스크法에 의한 成績은 Table 7에서 보는 바와 같다. 菌株에 따라 多少의 差異는 있으나 全 菌株는

oxytetracyclin에 높은 感受性を 나타내었고, 그 다음으로는 nalidixic acid, chloramphenicol, kanamycin, novobiocin의 순서로 感受性を 나타내었다. 또 全 菌株는 ampicillin, erythromycin, spiramycin 및 설파제에 感受性を 나타내지 않았다. oxolinic acid에는 FLL-9201 과 9202만이 弱한 感受性を 나타내었다.

Table 7. Antibiotic sensitivities by disc method to the isolated *Vibrio* sp. INFL strains from diseased flounder.

Antibiotics	Concentration (μ g)	Strains				
		FLL-9112	FLL-9201	FLL-9202	FLL-9203	FLL-9204
Ampicillin	10	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	30	+	+	++	++	++
Erythromycin	15	-	-	-	-	-
Oxytetracycline	10	+++	++	+++	+++	++
Kanamycin	30	++	+	+	+	+
Spiramycin	15	-	-	-	-	-
Novobiocin	5	+	++	+	+	+
Nalidixic acid	30	++	++	++	++	++
Oxolinic acid	30	-	+	+	-	-
Sulfadimethoxine	0.25mg	+	-	-	-	-
Sulfadiazin	0.25mg	-	-	-	-	-

* Size of the inhibition : - Resistant, + < 5-15mm, ++ 15-20mm, +++ > 20mm.

Ⅳ. 考 察

*Vibrio*屬 細菌의 分類學的 位置에 關하여 Sneath et al.(1986)은 “gram陰性, 短桿菌 및 1個의 極鞭毛를 가지고 있으며, 運動性이 있고, glucose를 醱酵的으로 分解하지만 gas는 生産하지않고 catalase는 陽性이다.” 라고 定義하고 있다.

魚類의 비브리오病에 대한 原因菌의 性狀에 對하여 오래전부터 많은 研究者에 의해 報告되어 있다 (Saito et al, 1964 ; Muroga and Egusa, 1967 ; Harrel et al, 1976; 村田, 1987; 沈 · 鄭, 1991).

그러나 넙치仔魚의 腸管白濁症의 原因菌에 對한 報告(村田, 1987; 增村 等, 1988)는 그리 많지 않으며 특히 우리나라에서는 아직 報告된 바가 없다.

이번에 濟州道內 種苗培養場에서 增村 等(1988)이 報告한 症狀과 잘 一致하는 症狀, 즉 腸管이 白濁되는 特徵을 가진 疾病이 넙치의 仔魚에 發生하였다. 이들 病魚로부터 特定 細菌이 分離되었고, 그 分離菌株를 使用하여 病原性 實驗을 한 結果, 自然感染魚와 같은 症狀이 再現되어 本病이 腸管白濁症의 原因菌으로 생각 되었다.

이번에 分離한 菌株의 生物學的 및 生化學的 性狀은 增村 等(1988)이 記載한 *Vibrio* sp. INFL group의 性狀과 Table 4, 5, 6에서 나타낸 것과 比較하여 거의 全項目이 잘 一致하였다.

本病의 原因菌은 形態學的, 生物學的 및 生化學的 性狀으로 보아 *Vibrio* 屬

細菌으로 分類하였으나, Sneath et al.(1986)이 報告한 *Vibrio* 屬 細菌과 *V. damsela*(Love et al,1981) 및 *V. salmonicida*(Egidius et al,1986)의 性狀과는 一部만 一致하고 많은 項目이 一致하지 않았다.

Table 8은 過去에 보고된 種名不明의 海産魚에 對한 病原性 *Vibrio* 屬 細菌(畑井 等, 1981; Muroga et al, 1984; 沈·鄭, 1991)과 比較한 것이나 一部の 項目만이 一致하였다. 그러나 *Vibrio* sp. INFL group(增村 等, 1988)과의 比較에서는 全 項目이 一致하였으므로 이 研究에서 넙치 仔稚魚의 腸管에서 分離한 이 病의 原因菌을 *Vibrio* sp. INFL group으로 同定하였다.

Table 8. Comparison in principal characteristics between the present isolates and other *Vibrio* sp. strains previously reported

Characteristics	The present isolates	Flounder(INFL) Masumura et al. (1988)	Flounder Sim et al. (1991)	Horse mackerel Hatai et al. (1981)	Milkfish Muroga et al. (1984)
Indole production	-	-	-	+	+
Simon's citrate	-	-	+ ^w	+	+
Gelatine liquefaction	-	-	+	+	+
Arginine decomposition	-	-	-	-	-
Ornithine	-	-	-	-	-
β -galactosidase	-	-	+	+	+
Acid from Dextrin	-	-	+	+	+
Glycerol	-	-	+	+	+
Glycogen	-	-	-	+	+
Mannitol	-	-	-	+	+

* W : week reaction

病原性 試驗에서 原因菌을 吸收시킨 rotifer를 徑口投與한 結果 本病이 再現되었기 때문에 原因菌은 rotifer 等の 먹이生物을 媒介로 하여 感染되는 것으로 推定할수 있었다. 따라서 먹이生物과 本病의 原因菌 및 넙치 仔魚와의 感染關係를 必히 밝힐 必要가 있다고 생각하며 仔魚期에 徑口的으로 感染이되는 魚病의 豫防을 위한 動物性 먹이生物의 藥劑 開發이 時急하다고 생각한다.

V. 要 約

1991年 12月에서 1992年 4月 사이에 濟州道內 種苗培養場에서 飼育中이던 넙치 仔魚에서 消化管이 白濁되거나 潰瘍을 일으키는 疾病이 發生하여 大量斃死를 일으켰다.

病은 仔魚의 消化管으로부터 *Vibrio* 屬 細菌을 分離하였고, 形態學的, 生物學的 및 生化學的 性狀을 調査한 結果, 本病의 原因菌을 *Vibrio* sp. INFL group으로 同定하였다.

本病은 rotifer 等の 먹이生物을 媒介로하여 徑口感染시킨 結果 自然感染 症狀이 再現되었다.

分離菌이 잘 發育할 수 있는 溫度의 範圍는 25~30°C, 食鹽濃度의 範圍는 2.0~4.0% 그리고 pH는 6.0~8.0 이었다.

分離菌은 oxytetracycline, nalidixic acid, kanamycin 및 novobiocin 等に 感受性を 나타냈으나 ampicillin, erythromycin, spiramycin, 및 sulfa-drug에는 耐性を 나타내었다.

Ⅵ. 参 考 文 献

- Baxa, D. V., K. Kawai and R. Kusuda. 1986. Characteristics of gliding bacteria isolated from diseased cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*. Fish pathology, 21(4), 251~258.
- DiLiello, L. R., 1979. Manual of methods for clinical microbiology. AVI publ., Westport, Connecticut, 139~142.
- Egidius, E., R. Wilk, K. Andersen, K. A. Hoff and B. Hjeltnes. 1986. *Vibrio salmonicida* sp. nov., a new pathogen. Int. J. Syst. Bacteriol., 36, 518~520.
- 藤井良三・松本二郎・菊池慎一. 1984. 昭和58年度健苗育成技術開発委託事業報告. p 82.
- Gerhardt, P., R. G. E. Murry, R. H. Costilow, E. W. Nester, W. A. Wood, N. R. Krieg and G. B. Phillips. 1981. Manual of methods for general bacteriology. Amer. Soc. Microbiol., Washington, D. C. 524pp.
- Harrel, L. W., H. M. Etlinger and H. D. Hodgins. 1976. Humoral factors important in resistance of salmonid fish to bacterial disease. II. Anti-*Vibrio anguillarum* activity in mucus and observations on complement. Aquaculture. 7, 363~370.
- 畑井喜司雄・安元 進・安永統男. 1981. 養殖マアジから分離されたビブリオ菌について. 魚病研究. 16, 111~118.

- 乾 靖夫・三輪 理. 1985. T4 および チオウレアによる ヒラメ稚魚變態の制御-I. 昭和60年度日本水産學會春季大會講演要旨. p 80.
- Love, M., D. Teebken-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 punctipinnis*. Science, 214, 1139~1140.
- MaC Faddin, J. F., 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Williams and Wilkins, Baltimore/London, 527pp.
- 増村和彦. 1987. ヒラメ養殖種苗全書. 養殖臨時増刊號, 171~174.
- 増村和彦・安信秀樹・岡田直子・室賀清邦. 1988. ヒラメ仔魚の腸管白濁原因菌としての *Vibrio* sp. の分離. 魚病研究. 24(3), 135~141.
- 翠川忠康・明薬公男・大岡 一・難波武雄. 1972. ヒラメ種苗生産試験. 和歌山縣水産試験場事業報告. 4, 39~44.
- 村田 修. 1981. 昭和56年度日本水産學會秋季大會講演要旨. p113.
- 村田 修. 1987. ヒラメの傳染性腸管白濁症(日本魚病學會ワークショップ). 魚病研究. 22, 59~61.
- Muroga, K. and S. Egusa. 1967. *Vibrio anguillarum* from an endemic disease of Ayu in Lake Hamana. Bull. Jap. Soc., Fish. 33, 636~640.

- Muroga, K., G. Lippo, C. Pitogo and R. Imada. 1984. *Vibrio* sp. isolated from milkfish(*Chanos chanos*) with opaque eyes. Fish Pathol. 19, 81~87.
- Saito, Y. H., Otsuru, T. Furukawa, K. kanda and A. Sato. 1964. Studies on an infectious disease of rainbow trouts. Acta Medica et Biologica. 11, 267~295.
- Seikai, T., 1985. Influence of feeding periods of brazilian artemia during larval development of hatchery-reared flounder, *Paralichthys olivaceus* on the appearance of albinism. Bull. Jap. Soc. Fish. 51(4), 521~527.
- 沈斗生·鄭承姬. 1991. 海上 가두리에서 飼育한 養殖넙치의 魚病診斷 및 治療 試驗. 넙치 海上養殖 技術開發에 關한 研究. 科技處 特定研究課題報告 書. 74~106.
- Sneath, P. H. D., N. S. Mair, M. E. Sharpe and J. G. Holt. 1986. Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams and Wilikins, Baltimore, 723~730.
- 山野井英夫·桃山和夫·安信秀樹·室賀清邦. 1988. ヒラメ稚魚に發生した *Vibrio anguillarum* 感染症. 魚病研究. 23. 69~70.



謝 辭

本 研究를 遂行함에 있어 처음부터 끝까지 아낌없는 指導와 鞭撻을 하여 주신 盧暹指導教授님께 眞心으로 感謝드리며 이 論文이 完成되기 까지 어려운 時間을 割愛하여 論文을 檢討하여 주시고, 體制를 바로 잡아주신 下忠圭 教授님, 李祺完 教授님 과 恒常 助言과 忠告를 하여주신 白文河 教授님, 李定宰 教授님, 鄭相喆 教授님께 感謝드립니다. 공부하는 동안 많은 關心과 配慮를 하여주신 成池實業 崔墳石 社長님, 故 皮健吉館長을 비롯한 濟州道 成池實業 職員 여러분에게 感謝드리며, 바쁘신 가운데서도 論文의 여러가지 實驗에 있어 助言과 手肯을 아끼지 않았던 國立水產振興院 南濟州水產種苗培養場 沈斗生 場長님, 金鐘華 研究官에게도 깊은 感謝를 드립니다. 특히 研究에 힘을 쏟을 수 있도록 物心兩面으로 配慮해 주신 聖進實業 白心基 社長님께 깊은 感謝를 드리며 資料處理에 힘써준 鄭泰榮님께도 感謝를 드립니다.

끝으로 오늘이 있기까지 사랑과 인내로서 보살펴주신 어머니와 內助를 아끼지 않았던 사랑하는 아내 尹福重, 그리고 埈昊, 東宜, 眞希에게도 고마움을 포함합니다.