

碩士學位 請求論文

소라로 부터 *Vibrio* 屬 細菌의 分離 및 特性

指導教授 吳 德 鐵



濟州大學校 教育大學院

生物教育 專攻

金 樞 植

1991年 12月

# 소라로 부터 *Vibrio* 屬 細菌의 分離 및 特性

指導教授 吳 德 鐵

이 論文을 教育學 碩士學位 論文으로 提出함

1991年 12月 日

濟州大學校 教育大學院 生物教育 專攻


提出者 金 樞 植




金樞植의 教育學碩士學位 論文을 認准함

年 月 日

審査委員長 金源澤 

審査委員 李 光宰 

審査委員 吳 德鐵 

# 目 次

○ 國文抄錄	
I. 緒 論 . . . . .	2
II. 材料 및 方法 . . . . .	4
1. 소라의 採集 및 細菌分離 . . . . .	4
2. 分離菌의 性狀試驗 . . . . .	4
III. 結 果 . . . . .	7
1. 소라로 부터의 細菌分離 . . . . .	7
2. 分離菌의 性狀 . . . . .	7
IV. 考 察 . . . . .	14
參 考 文 獻 . . . . .	16
英 文 抄 錄 . . . . .	21



## 抄 錄

濟州道 沿岸에서 採集된 소라(*Turbo cornutus*)로 부터 分離된 두 種의 細菌에 대하여 形態的, 生理的, 生化學的 性狀 試驗을 실시하여 CT1 균주는 *Vibrio alginolyticus*, CT2균주는 *Vibrio anguillarum* biovar1으로 同定하였다.

1. 細菌의 形態는 두 種 모두에서 곧거나 약간 구부러져 있었으며, 하나의 유초편모(sheathed flagellum)를 가지며 Gram 陰性이었다.
2. *Vibrio alginolyticus* CT1은 5° C 부터 40° C 사이에서 生育하였고, *Vibrio anguillarum* biovar1 CT2는 5° C 부터 35° C 사이에서 生育하였다. 發育最適溫度는 두 種 모두 25 - 30° C였다.
3. 最的食鹽濃度는 두 種 모두 海水보다 낮은 3% 內外이고, 最適 pH는 8.0 - 9.0 였다.
4. Vibriostatic agent인 O/129에 대하여서는 두 種 모두 感受性を 나타냈다.
5. *Vibrio alginolyticus* CT1은 溶血性 試驗에서 사람의 赤血球를 溶解 하였다.
6. 本 實驗에서 分離된 두 種의 細菌에 대한 生化學的 性狀은 典型的인 *Vibrio alginolyticus*와 *Vibrio anguillarum* biovar1와 거의 一致하였다.

## I. 緒 論

*Vibrio*屬 細菌들은 1909년 Bergman에 의해서 처음 分離 報告(Hendri et al, 1971)된 이래 多様な 環境으로부터 계속 新種이 分離되고 있다. 이들은 自然 環境에서 獨立의으로 生活하는 것들도 있고 사람에게 직접적인 影響을 미치지 않는 種들도 많이 있으나 어떤 種들은 사람이 利用하는 魚貝類의 疾病을 誘發시키며 또 어떤 種類는 직접 사람에게 심각한 疾病을 誘發시키므로 매우 중요한 屬의 細菌으로 취급되고 있다.

*Vibrio*屬 細菌들은 多様な 源泉 즉, 뱀장어, 대구, 무지개송어(Smith, 1961), 굴, 홍합, 대합(Tubiash, 1965), 河川 環境(Kaper et al, 1983), 海水와 갑각류(Tison et al, 1983), 鳥類(West et al, 1983) 등으로 부터 분리되어 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology(1986)에 20여種이 기록되어 있었으나, 최근의 文獻에 의하면 지금까지 분리된 *Vibrio*屬 細菌은 30여種에 이르고 있다(Urdaci, 1991). Myhr등(1991)은 노르웨이 연안 養殖場의 연어종류로 부터 분리된 *Vibrio anguillarum*이 연어의 疾病을 일으킨다고 報告하였다.

우리나라에서도 養殖 방어(*Seriola quinqueradiata*)에 疾病을 일으키는 原因菌이 *V. anguillarum*이라는 報告(朴와 田, 1986)가 있고 굴, 홍합양식장에서 *V. alginolyticus*가 分離된 바 있다(李와 安, 1976). 張등(1986)은 사람에게 敗血症을 일으키는 *V. vulnificus*가 여름철에 海水와 낙지(*Octopus variabilis*), 피조개(*Anadara broaghtonii*), 게(*Ericheir japonica*), 우렁쉥이(*Synthia routzi*)등에서 增殖이 活發하다고 보고하였다.

패류인 경우 외국에서 이미 二枚貝나 홍합, 굴 또는 전복등이 *Vibrio* 種類에 의해서 疾病이 發生된다는 報告(Brown and Roland, 1984 ; DiSalvo et al, 1978 ; Elston et al, 1981 ; Elston and Lockwood, 1983 ; Jeffries, 1982)가 있고, 우리나라에서도 貝類가 *Vibrio* 種類에 의한 疾病이 發生된다는 報告(李와 崔, 1973 ; 梁과 朱, 1973 ; 李와 安, 1976 ; 申과 姜, 1979)가 많이 있다.

1986년 水溫이 上昇하는 夏節期에 제주도 一圓의 沿岸에서 서식하고 있는 다량의 소라가 斃死하여 漁民들에게 莫大한 피해를 준 경우가 發生하여 이의 原因을 究明하는 作業이 切實하게 要求되었다.

이를 위하여 李 등(1987; 미발표자료)은 이미 斃死하였거나 거의 活力을 喪失한 소라를 採取하여 組織을 分離해본 結果 심한 惡臭를 發하는 狀態로 腐敗해 있는 것을 觀察하게 되었고, 傷한 組織을 塗抹한 Slide를 顯微鏡으로 觀察한 바 Slide 상에 雜多한 細菌들이 나타났다고 하였다. 그러나 소라의 疾病이 *Vibrio* 屬에 속하는 細菌에 의해 일어난다고 報告된 바 없다.

本 研究는 1987年 李 등(미발표자료)이 소라 斃死가 海洋性細菌인 *Vibrio* 에 依한 것이라고 推定한바 이를 確定하기 위하여 斃死한 것, 瀕死狀態의 것, 健康한 것등 여러 狀態의 소라를 採集하여 두 種의 細菌을 분리하고, 形態學的, 生理學的, 生化學的 性狀 試驗등을 거쳐 이들 細菌을 *Vibrio alginolyticus* 와 *Vibrio anguillarun* biovar1으로 同定하였다.



## II. 材料 및 方法

### 1. 소라의 採集 및 細菌 分離

濟州市 道頭洞 沿岸에서 1989年 5月부터 1990年 4月까지 斃死한 것, 瀕死狀態의 것, 健康한 것 등 여러 狀態의 소라를 採集하였다. 採集된 소라는 얼음상자에 넣어 실험실로 運搬하여 貝殼을 除去한 後 無菌的으로 筋肉, 內臟部分으로 切斷하고 各 部分을 Nutrient Agar, Cytophaga Agar, 海水添加 Nutrient Agar, 3% 食鹽添加 Nutrient Agar 등 四種의 平板寒天培地에 塗抹한 다음 30° C 에서 24 - 48 시간 培養하였다.

培養 後 海水添加 Nutrient Agar 와 3% 食鹽添加 Nutrient Agar 培地에 共히 나타나는 二 種의 細菌을 分離하였다.

### 2. 分離菌의 性狀 試驗

二 種의 分離菌을 同定하기 爲하여 여러 가지 性狀 試驗을 遂行하였다.

#### (1) 形態 및 Gram 染色性

1.5% NaCl을 添加한 Nutrient Broth와 Nutrient Agar 培地에 培養한 後 電子顯微鏡과 光學顯微鏡으로 觀察하였으며 Leifson 의 方法에 의해 Gram 染色하였다.

#### (2) 生理學的 性狀 試驗

##### ① 生育 溫度 試驗

1.5% NaCl을 添加한 Nutrient Broth 培地에 濁度에 變化를 주지 않을 程度의 供試菌을 接種하여 5° C에서 45° C까지 여러 溫度下에서 24 時間 培養한 後 生育 여부를 觀察하였다.

② 耐食鹽性 및 生育 最適 食鹽濃度

Nutrient Broth에 NaCl를 0%에서 10%까지 여러 濃度로 添加한 후 CT1 菌株는 0.15, CT2 菌株는 0.05가 되도록 菌液을 接種하여 30° C에서 24 時間 培養한 後 生育 與否를 觀察하였고, 最適 食鹽濃度는 6 時間 培養한 後 光電比色計(Spectronic 20)를 利用하여 420 nm에서 吸光度를 測定하였다.

③ 發育 最適 pH

1.5% NaCl를 添加한 Nutrient Broth를 pH 4에서 11까지 測定한 後 CT1 菌株는 0.15, CT2 菌株는 0.05가 되도록 菌液을 接種하여 30° C에서 6 時間 培養한 後 亦是 光電比色計로 420nm에서 吸光度를 測定하였다.

④ 0/129(2,4-diamino-6, 7-diisopropyl pteridine)에 대한 感受性

Vibriostatic agent인 0/129에 대한 感受性を 알아보기 위해 1.5% NaCl을 添加한 Nutrient Agar培地에 供試菌株를 滅菌綿棒으로 塗抹한 후 0/129 10  $\mu$ g, 150  $\mu$ g을 含有한 Disk를 서로 대칭이 되도록 평판 배지위에 놓아 24 時間 培養하여 透明帶가 생긴것을 陽性으로 判定하였다(Collins and Lyne, 1984).

⑤ Hemolysis (溶血) 및 Coagulase 試驗

分離菌의 溶血性和 血清凝固性を 알아보기 위하여 1.5% NaCl을 添加한 Tryptose Blood Agar Base(Difco manual, 1977)에 사람의 赤血球를 無菌의으로 加하여 培地로 사용하였으며 30° C에서 48 時間 배양하였고, 또한 사람의 血清 2ml에 分離菌을 接種시켜 33° C 下에서 凝固與否를 觀察하였다.

(3) 生化學的 性狀試驗

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984)에 나와 있는 項目中 Vibrio 屬의 同定에 必要하다고 判斷된 것들을 選別하여 試驗하였다. 그 代表的인 項目들은 다음과 같다.



固體複合培地에서의 Swarming 현상(Bauman et al 1973), Arginine dihydrolase (Thornley,1960), Catalase(Cowan 1974, Vera and Power 1980), Oxidase등의 효소생산 시험, D-Glucose로 부터 gas 生成, Voges-Proskauer 試驗, L-Arabinose, Sucrose, D-Sorbital, Acetate, Butyrate, Caproate, Caprylate, Pelargonate, Glycine, L-Araginine,L-Tyrosine, L-Leucine, L-Proline, L-Serine, L-Tartrate, Porpinate 등의 糖과 有機化合物 利用性 을 시험하였으며 Thiosulfate-Citrate-Bile Salts(TCBS) agar상에서의 成長 能力도 試驗하였다.



### III. 結 果

#### 1. 소라로 부터의 細菌分離

斃死하였거나 失活狀態 소라의 各 組織으로 부터 細菌의 分離를 試圖한 結果 NaCl을 添加한 Nutrient Agar 培地나 海水를 添加한 Nutrient Agar 培地上에서 色素가 形成되지 않는 二種의 相異한 細菌이 分離되었다.

色素를 形成하지 않는 二種의 細菌은 어떤 狀態의 소라(健康한 것 包含)에서도 分離되었다. Cytophaga Agar 培地上에는 Cytophaga에 屬한다고 생각되는 典型的 集落을 얻지 못하였다.

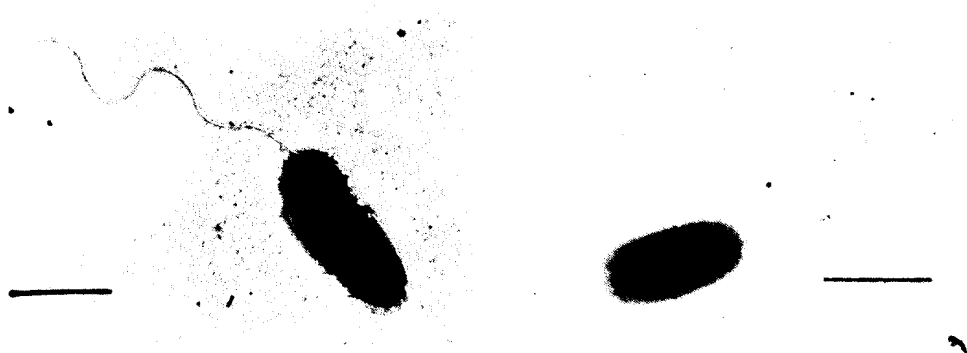
#### 2. 分離菌의 性狀

##### (1) 形態 및 Gram 染色性

固體 및 液體培地에서 培養한 후 光學 및 電子顯微鏡으로 觀察한 形態와 Gram 染色의 結果는 표1 및 그림 1과 같다.

Table 1. Morphological characters and Gram stain of the isolates

Characteristics	<i>Vibrio alginolyticus</i> CT1	<i>Vibrio anguillarum</i> biovar I CT2
Number of flagella when grown on liquid media	1	1
Lateral flagella when grown on solid media	Present	Absent
Morphology	Slightly curved or straight	Slightly curved or straight
Cell size	0.7 x 1.43 - 1.8 $\mu$ m	0.6 - 0.75 x 1.1 - 2.3 $\mu$ m
Colony	Greyish yellow in colour, warming, translucence	Greyish yellow in colour, round, opaque
Gram stain	Negative	Negative



*Vibrio alginolyticus* CT1

*Vibrio anguillarum* biovar1 CT2

Fig. 1. Electron micrograph of the isolates(bar:1 $\mu$ m)

(2)生理學的 性狀

① 發育溫度

CT1菌株는 5° C에서 40° C 사이에서 生育하였고 CT2菌株는 5° C에서 35° C사이에서 生育하였다. CT1,CT2 菌株 모두 發育最適溫度는 25 - 30° C 사이였다.

② 生育食鹽濃度

그림 2와 같이 CT1균주의 耐食鹽濃度는 0 - 10%의 범위를 보였으며 CT2菌株는 0 - 6%의 범위를 보였다. 最適食鹽濃度는 CT1,CT2菌株 모두 3%附近이었다.

③ 發育最適 pH

그림 3에서 보는바와 같이 發育最適 pH는 CT1,CT2菌株 모두 8 - 9 사이였고, CT2菌株는 pH 4 이하에서는 增殖하지 않았다.

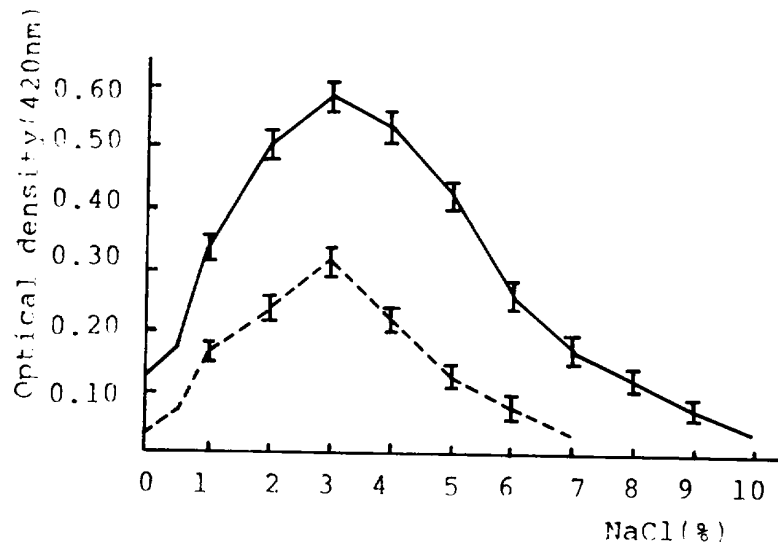


Fig. 2. Effect of NaCl concentration on the growth of the isolates.

—, *Vibrio alginolyticus* CT1  
 - - - - , *Vibrio anguillarum* biovar1 CT2

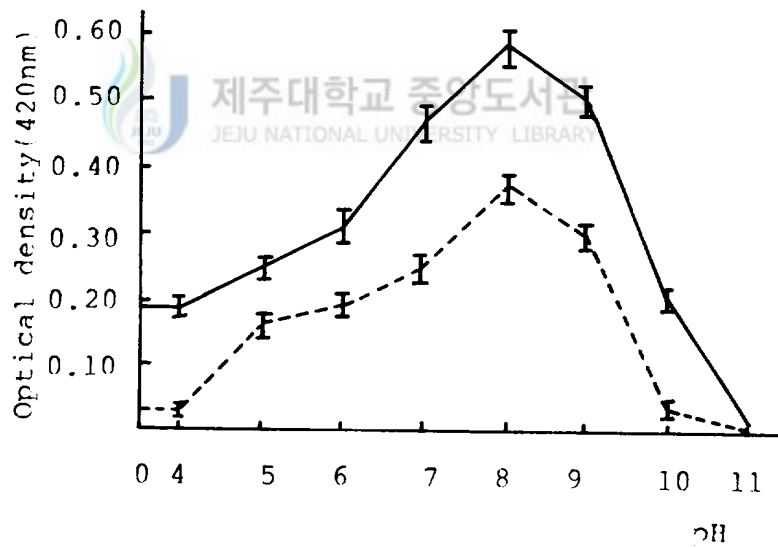


Fig. 3. Effect of pH on the growth of the isolates.

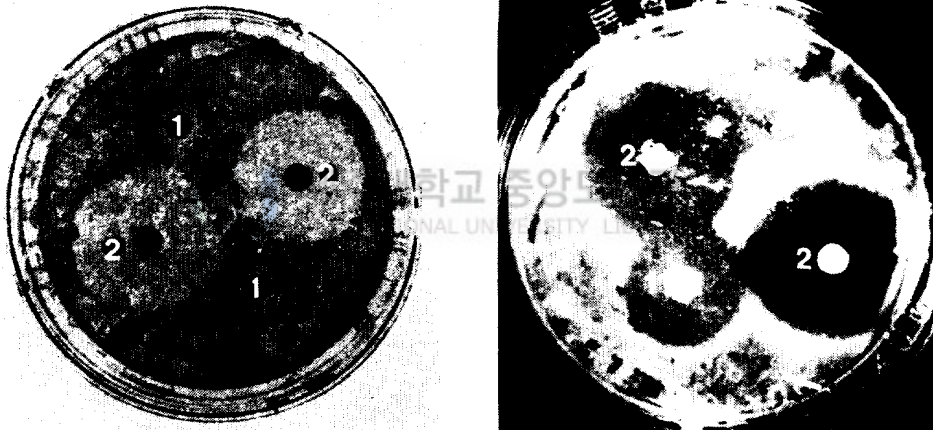
—, *Vibrio alginolyticus* CT1      - - - - , *Vibrio anguillarum*  
 biovar1 CT2

④ Vibriostatic agent 인 0/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropyl pteridine)에 대한 感受性 실험결과는 표 2와 그림 4에 나타낸 바와 같다.

Table 2. The sensitivity to the vibriostatic agent 0/129

Concentration	10 $\mu$ g	150 $\mu$ g
Isolates		
<i>Vibrio alginolyticus</i> CT1	R	S
<i>Vibrio anguillarum</i> biovar1 CT2	S	S

R : Resistant, S : Sensitive



*Vibrio alginolyticus* CT1

*Vibrio anguillarum* biovar1 CT2

fig. 4. The sensitivity to the 0/129 of two isolates.

1 : 10 $\mu$ g, 2 : 150 $\mu$ g

⑤ Hemolysis 및 Coagulase 試驗의 결과는 표 3과 같았다.

Table 3. The test of Hemolysis and coagulase

Characteristics	<i>Vibrio alginolyticus</i> CT1	<i>Vibrio anguillarum</i> biovar1 CT2
Hemolysis	+	-
Coagulase	-	-

+ : Positive, - : Negative

(3) 生化學的 性狀

① Arginine dihydrolase 등의 酵素生産에 대한 試驗의 結果는 표 4와 같았다.

Table 4. The test of enzyme production of isolates.

Characteristics	<i>Vibrio alginolyticus</i> CT1	<i>Vibrio alginolyticus</i> ATCC 17749 <sup>a)</sup>	<i>Vibrio anguillarum</i> biovar1 CT2	<i>Vibrio anguillarum</i> biovar1 ATCC 19264 <sup>b)</sup>
Arginine dihydrolase	-	-	+	+
Oxidase	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+
Alginase	-	-	-	-

+ : Positive, - : Negative

a) : Baumann et al (1971)

b) : Baumann et al (1978)

② Voges - Proskauer 試驗( Acetoin and/or diacetyl 生産 )

CT1, CT2菌株 모두 48時間 培養후에 陽性으로 나타났는데 發色時間과 程度로 보아 CT1菌株가 더 強한 生産性を 보였다.

③ 고체복합배지에서 swarming 試驗

1.5 % 와 4.0 % 의 寒天을 添加한 Nutrient Agar 培地에서의 swarming 현상은 CT1菌株인 경우 1.5 % 한천 배지에서는 일어 났으나 4.0 % 의 한천 배지에서는 集落으로 分離되었고 CT2菌株인 경우는 어떤 경우도 swarming 현상이 觀察되지 않았다.

④ D - glucose 로부터의 gas 生成 試驗

YEB(Yeast Extract Broth)에 1 %(W/V) D - glucose 와 2 %(W/V) agar를 첨가하여 4일간 배양했을 때 CT1, CT2菌株 모두 gas 가 生成되지 않았다.

⑤ TCBS Agar 상에서 成長 能力 試驗 결과는 CT1, CT2菌株 모두 성장하였고, 노란색의 colony를 형성하였다.

⑥ 有機化合物의 利用性 試驗

이 試驗의 結果는 표 5에 나타낸 바와 같다.

Table 5. Utilization of sugar and organic compounds

Characteristics	<i>Vibrio alginolyticus</i> CT1	<i>Vibrio alginolyticus</i> ATCC 17749 <sup>a)</sup>	<i>Vibrio anguillarum</i> biovar1 CT2	<i>Vibrio anguillarum</i> ATCC 19264 <sup>b)</sup>
L - Arabinose	-	-	+	+
Sucrose	+	+	+	+
D - Sorbitol	-	-	+	+
Acetate	+	+	-	+
Butyrate	-	+	-	-
Caproate	-	-	-	+
Caprylate	+	+	-	+
Pelargonate	+	+	-	-
Glycine	+	+	-	-
L - Arginine	+	+	-	-
L - Tyrosine	+	+	-	-
L - Leucine	+	+	-	-
L - Proline	+	+	+	+
L - Serine	+	+	+	+
L - Tartrate	-	-	-	-
Propionate	+	+	+	+



+ : Positive, - : Negative

a) : Baumann et al (1971)

b) : Baumann et al (1978)



#### IV. 考 察

병든 소라나 斃死한 소라를 採集하여 組織을 분리해 본 結果 甚한 組織의 壞死現象이 나타났고, 이들 組織을 魚類의 病原菌인 Cytophaga系統의 細菌을 分離하는 Cytophaga Agar 培地에 塗抹한 結果 典型的인 集落이 分離되지 않고 食鹽이나 海水가 포함된 Nutrient Agar 培地에서는 二種의 細菌을 分離하게 된 바 이들 細菌에 대한 예비 시험을 통하여 Bergey's Manual(1984)을 基準하여 形態的, 生理的, 生化學的 試驗을 거쳐 CT1菌株는 *Vibrio alginolyticus* 로 CT2菌株는 *Vibrio anguillarum* biovar1 로 同定하였다.

이 두 種의 形態的 特徵은 Bergey's Manual과 거의 同一하였으나 약간 구브러진 것과 곧은 것이 混在하는 것이 特異하였다. 發育溫度의 範圍는 *Vibrio alginolyticus* CT1이 上限溫度에서 *Vibrio anguillarum* biovar1 CT2보다 5° C 정도 높은 것이 特徵이었으며 發育最適溫度는 25 - 30° C 의 범위를 보인 바 自然 海水中에서도 海水溫이 上昇하는 夏節期에 매우 빠른 增殖을 보일 것으로 예상된다.

耐食鹽濃度는 *Vibrio alginolyticus* CT1의 경우 0 - 10 % 의 범위를 나타내어 0 - 6 % 의 범위를 보인 *Vibrio anguillarum* biovar1 CT2보다 넓은 범위를 보이고 있어 自然 海水中에서도 鹽分濃度變化에 대하여 큰 影響을 받지 않고 生存할 것으로 推定된다. 最適食鹽濃度는 두 種 모두 3 % 附近을 나타내어 보통의 海水보다 약간 낮은 鹽濃度에서 잘 자라므로 養殖場의 경우 陸水의 流入이 甚할 때 이들 細菌이 잘 增殖할 것으로 推定된다.

生育最適 pH는 8.0 - 9.0 附近을 나타내어 正常 海水와 비슷한 pH에서 잘 生育하므로 自然 海水中에서도 잘 자라는 細菌이라 생각된다.

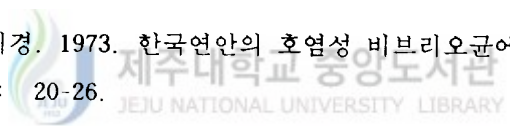
한편 이들 두 種의 細菌은 vibriostatic agent인 0/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropyl pteridine)에 상당한 感受性を 나타내므로써 典型的인 *Vibrio* 임을 잘 나타내주고 있다.

溶血性 試驗에서는 *Vibrio alginolyticus* CT1은 사람의 赤血球를 溶解하는 能力을 보인 反面 *Vibrio anguillarum* biovar I CT2는 溶解하지 못하였고 두 種 모두 血情을 凝固시키지는 못하여서 馬血을 溶解시킨 *Vibrio* sp.를 생쥐에 注射한 結果 毒性을 나타내지 않는다는 報告(松永, 1967)를 미루어 보아 *Vibrio alginolyticus* CT1도 포유류에 별다른 毒性을 나타내지 않을 것으로 推定되나 生體實驗을 해 볼 必要도 있다고 생각된다.

分離菌의 生化學的 性狀에서 CT1菌株의 Voges - Proskauer 의 양성, 고체 복합 배지상에서의 swarming 현상, TCBS Agar 에서 노란색의 colony 형성은 *Vibrio alginolyticus* 의 전형적인 특징이다. CT1, CT2菌株 모두 oxidase 와 catalase 를 生産하고, D - glucose 를 醱酵的으로 分解해서 酸은 生成하지만 gas는 發生하지 않았다. 이와 같은 事實은 Bergey's Manual 뿐만 아니라 Kaper 등(1983), West 등(1983)의 結果와 잘 一致하고 있다. 有機化合物의 利用性에서 CT1菌株는 Bergey's manual과 대부분 잘 一致하였으나 CT2菌株는 acetate, caproate, caprylate를 利用하지 못한 점이 Bergey's manual과 다르다. 이러한 差異點이 나타나도 CT2菌株를 *Vibrio anguillarum* biovar I 로 同定한 것은 *Vibrio anguillarum* biovar I(ATCC 19264)의 典型的 特性인 arginine dihydrolase, Voges-proskauer의 試驗과 L-arabinose, D-sorbitol 利用性 試驗에서 陽性을 나타냈기 때문이다.

養殖場에서 採集된 病든 소라에서 分離된 이들 菌株가 방어와 같은 물고기 뿐만 아니라 貝類에 疾病을 誘發시킨다는 報告(朴와 田, 1986 ; 申와 姜, 1979 ; Anderson et al, 1970 ; Crosa, 1980 ; DiSalvo et al, 1978 ; Elston et al, 1980 ; Horne, 1982 ; Nottage et al, 1986)들이 있음에 비추어 소라에도 能히 病原性을 나타낼 수 있다고 思料된다.

## 參 考 文 獻

- 박성우 · 전세규. 1986. 양식방어에서 분리한 병원성 비브리오균의 특성에 대하여. 한수지(19) : 147 - 154.
- 신석우 · 강성구. 1979. 패류중의 저온성 대장균군 및 세균 Flora에 관한 연구. 한수지(12) : 19-26.
- 양학도 · 주진우. 1973. 부산근해의 해수 및 해산물에서 장염 Vibrio균의 분리에 대한 연구. 부산대학교 논문집(16) : 137 - 145.
- 이원재 · 안철우. 1976. 충무 연안의 *Vibrio parahaemolyticus*와 *Vibrio alginolyticus*의 분포. 한수지(9) : 233 - 237
- 이원재 · 최위경. 1973. 한국연안의 호염성 비브리오균에 관한 연구. 한수지(6). : 20-26. 
- 李定宰, 吳德鐵, 金樞植. 1986. 소라(*Turbo cornutus*)의 폐사원인. 미발표 자료.
- 장동석 · 김성준. 1977. 장염 Vibrio균의 분포 및 생리적 특성에 관한 연구. 수진연구보고(19) : 7 - 52.
- 장동석 · 신만식 · 최승태 · 김영만. 1986. *Vibrio vulnificus*균의 분포 및 세균학적 특성. 한수지(19) : 118 - 126.

- 江草周三, 窪田三郎, 宮崎照雄. 1979. 魚の病理組織學, 東京大學出版會, pp. 78-79.
- 松永順夫. 1967. 傷アワセ〴〵症 に関する研究 - II 原因菌の分離と 傷元試験 魚病研究 2(1) : 11-21.
- Anderson, J. I. W., and D. A. Conroy. 1970. *Vibrio* disease in marine fishes, p.266-272. In S. F. Snieszko (ed.), A symposium on diseases in fish and shellfish, special publication no. 5. American Fisheries Society, Washington, D. C.
- Baumann, P., S. S. Bang, and L. Baumann. 1978. Phenotypic characterization of *Beneckeia anyuillara* biotypes I and II. *Curr. Microbiol.* 1 : 85 - 88.
- Baumann, P., L. Baumann, and M. Mandal. 1971. Taxonomy of marine bacteria : the genus *Beneckeia*. *J. Bacteriol.* 107: 268 - 294
- Baumann, P., A. L. Furniss, and J. V. Lee. 1984. Genus *Vibrio* Pacini 1854, 411, p. 516 - 550 In N. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- Brown, D., and Roland, G. 1984. Characterization of exotoxin produced by a shellfish pathogenic *Vibrio* sp. *J. Fish. Dis.* 7 : 1-10.
- Collins, C. H., and P. M. Lyne. 1984. *Microbiological Methods*. Butterworths pp. 271 - 277.

---

Croas, J. H. 1980. A plasmid associated with virulence in the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum* specifies an iron-sequestering system. *Nature*, London 285 : 566 - 568.

Difco Manual 9th Ed. 1977. Difco Laboratories.

DiSalve, L., H. Blecka, and R. Zebal. 1978. *Vibrio anguillarum* and larval mortality in a California coastal shellfish hatchery. *Appl. Environ. Microbiol.* 35 : 219 -221.

Egil, M., J. L. Larsen, A. Lillehaug, R. Gudding, M. Heum, and T. Hastein. 1991. Characterization of *Vibrio anguillarum* and closely related species isolated from farmed fish in Norway. *Appl. Environ. Microbiol.* 2750 - 2757.

Elston, R. 1984. Prevention and management of infectious diseases in intensive mollusc husbandry. *J. World Mariculture Soc.* 15 : 284 - 300.



Elston, R., and L. Leibovitz. 1980. Pathogenesis of experimental vibriosis in larval American oysters, *Crassostrea virginica* Can. *J. Fish. Aquat. Sci.* 37 : 964 - 978.

Elston, R., L. Leibovitz, D. Relyea, and J. Zabila. 1981. Diagnosis of vibriosis in a commercial oyster hatchery epizootic : Diagnostic tools and management features. *Aquaculture* 24 : 53 - 62.

- Elston, R., and G. S. Lockwood. 1983. Pathogenesis of vibriosis in cultured juvenile red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson. *J. Fish. Dis.* 6 : 111 - 128.
- Hendrie, M. S., W. Hodgkiss, and J. M. Shewan. 1971. Proposal That the Species *Vibrio anguillarum* Bergman 1909, *Vibrio piscium* David 1927, and *Vibrio ichthyodermis*(Wells and Zobell) Shewan, Hobbs, and Hodgkiss 1960 Be Combined as a Single Species, *Vinbrio anguillarum*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 64 - 68.
- Horne, M. T. 1982. The pathogenicity of *Vibrio anguillarum* (Bergman). *In* : *Microbial Diseases of Fish* (ed. by R. J. Roberts). pp. 171 - 187. Academic Press. London.
- Jeffries, V. E. 1982. Three *Vibrio* stains pathogenic to larvae of *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*. *Aquaculture* 29 : 210 - 226.
- Kaper, J. B., H. Lockman, E. F. Remmers, K. Kristensen, and R. R. Colwell. 1983. Numerical Taxonomy of Vibrios Isolated from Estuarine. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 229 - 235.
- Lee, J. V., T. J. Donovan, and A. L. Furniss. 1978. Characterization, Taxonomy, and Emended Description of *Vibrio metschnikovii*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 99 - 111

- 
- Nottage, A. A., and T. H. Birkbeck, 1986. Toxicity to marine bivalve-pathogenic *Vibrio* strain NCMB 1338 and other marine vibrios. *J. Fish. Dis.* 9 : 249 - 256.
- Smith, I. W. A Disease of Finnock Due to *Vibrio anguillarum* J. gen. Microbiol. 24 : 247 -252.
- Tubisah, H. S., and P. E. Chanley, and E. Leifson. 1965. Bacillary necrosis : a disease of larval and juvenile molluscs. I. Etiology and epizootiology. *J. Bacteriol.* 90 : 1036 - 1044.
- Tubiash, H. s., R. R. Colwell, and R. Sakazaki. 1970. Marine vibrios associated with bacillary necrosis : a disease of larve and juvenile molluscs. *J. Bacteriol.* 103 - 272.
- Urdaci, M. C., M. Marehand, E. Ageron, J. M. Arcos, B. Sesma, and P. A. D. Grimont. 1991. *Vibrio Navarrensis* sp. nov., a Species from Sewage. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 290 - 294.
- West, P. A., J. V. Lee & T. N. Bryan. 1983. A numerical taxnomic study of species of *Vibrio* isolated from the aguatic environment and brids in kent, England. *J. Appl. Bacteriol.* 55 : 263 - 282.

<Abstract>

Isolation and Characterization of Vibrios  
from Topshell(*Turbo cornutus*)

Choo - Sick Kim

Biology Education Major  
Graduate School of Education Cheju National University  
Cheju, Korea

Supervised by Professor Duck - Chul Oh

This study was carried out to investigate the isolation and characterization of *Vibrio alginolyticus* CT1 and *Vibrio anguillarum* biovar1 CT2 from topshell(*Turbo cornutus*) collected in the coasts of Che-ju Island.

The morphological, physiological, biochemical characteristics of two isolates are summarized as follows:

1. The morphology of bacteria was straight or slightly curved and only one sheathed flagellum was observed in both species.
2. The ranges of growing temperature of *V. alginolyticus* CT1 and *V. anguillarum* biovar1 CT2 were 5-40°C and 5-35°C respectively and optimum temperature for growth was 25-30°C in both species.
3. Optimum concentration of salt and pH for the growth of both species were around 3% and 8.0 - 9.0 respectively.



4. Both species were sensitive to the vibriostatic agent 0/129.
5. *V. alginolyticus* CT1 showed positive hemolysis for human red blood cell.
6. The biochemical characteristics of two species were coincided with those of the typical *V. alginolyticus* and *V. anguillarum* biovar1 with minor differences.

