

바이오플락 환경에서 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 에드워드병에 대한 항생제 치료 효과

박정준¹ · 김석렬^{2†}

¹국립수산과학원 양식연구과, ²공주대학교 스마트수산자원학과

Effect of antibiotics treatment for edwardsiellosis of olive flounder *Paralichthys olivaceus* in biofloc environment

Jung Jun Park¹ and Seokryel Kim^{2†}

¹Aquaculture Management Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea
²Dept. of Smart Fisheries Resources, Kongju National University, Yesan 32439, Korea

In biofloc culture for olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, the possibility of antibiotics treatment was investigated against edwardsiellosis. After inducing edwardsiellosis by immersion in *Edwardsiella tarda* 1.2×10^5 /mL suspension, the survival trends on various biofloc water management and some physiological changes were observed. For biofloc water management, six types of water treatments were carried out, which were no exchange without antibiotics as negative control, the exchange to stored biofloc water, the exchange to stored biofloc water with 20% flow-through, the exchange to fresh biofloc water, half fresh biofloc water and half sea water, and the complete flow-through. There was no significant physicochemical change on water qualities in any type. The exchange to fresh biofloc water was shown the highest survival ratio as 72.3%, and in case of stored biofloc water with 20% flow-through, the survival ratio was also significantly high as 62%. Plasma glucose, cholesterol, total protein, calcium, and magnesium were analyzed as physiological index. Mostly, there was no significant change, but plasma cholesterol showed an initial decrease in low survival group, and an initial increase with high survival group. Consequently, antibiotic treatment against a bacterial disease during biofloc culture is possible as long as the biofloc water management follow along properly.

Key words: Biofloc, Flounder, Antibiotic, Edwardsiellosis, Treatment

서 론

양식 어류에 손실을 초래하는 에드워드병(edwardsiellosis)은 체색흑화, 지느러미와 복부 발적, 충혈,

복부팽만, 탈장, 간, 장, 복부 궤양 등의 임상증상을 보인다(Li *et al*, 2020). 에드워드병 원인균인 *Edwardsiella tarda*는 gamma-proteobacteria에 속하는 그람음성 간균, 통성혐기성 장내세균이며, 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 양식 과정에서 폐사를 야기하여 막대한 경제적 손실을 일으킨다(Park *et al.*, 2012; Park *et al.*, 2017). 현재 넙치의 에드워드

†Corresponding author: Seokryel Kim
Tel: +82-41-330-1141
E-mail: seokryel@kongju.ac.kr

병의 대책으로는 백신과 항생물질이 사용되고 있다(Liu *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2009).

바이오플락(Biofloc Technology, BFT) 양식시스템은 사육수의 교환 없이 증발하는 수량만큼 물을 보충한다. 그리고 BFT 미생물을 이용하여 양식과정에서 발생하는 배설물과 사료찌꺼기, 양식어류에 유해한 질소화합물인 암모니아, 아질산을 분해한다(Kim *et al.*, 2018). 이러한 이유로 고에너지 이용방식인 기존의 양식 방법을 대체할 수 있을 것으로 주목받고 있다(Mamdoh *et al.*, 2020; Hargreaves JA, 2013). BFT를 이용하면 어류 사료 효율을 높이고 사육수를 환수하지 않고 양식 생물을 사육할 수 있어 에너지절감, 친환경고밀도 양식을 통해 생산원가 절감, 환경오염 문제 해결 등 여러 장점을 가지고 있다. 또한, BFT를 이용한 어류양식에서는 항생제를 사용하지 않고도 질병 통제가 가능하다는 다수의 연구보고가 있으며, 이는 BFT 양식방법의 가장 큰 장점으로 보고되어 있다(Barbara *et al.*, 2019; Diana *et al.*, 2019).

그러나 BFT 사육 중 사육수 보충과정, 기구 등에서 병원체가 유입될 수 있고, 세균성질병으로 발전했을 경우, 항균물질 처리가 BFT 사육수 중 질화 세균들에 영향을 주어 질소화합물 제어에 부정적 영향으로 이어질 개연성이 있다.

본 연구에서는 BFT 넙치 양식 과정에서 세균성 질병이 발생할 경우 현장 대응의 일환으로 BFT 양식 사육수에 항생제 사용 가능성 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험어 및 감염

BFT 사육수 만들기는 넙치 입식 30일 전에 염소 소독 및 중화한 해수에 사료를 20 g/ton 넣어 미생물 성장을 유도하였다. 본 실험에 사용한 넙치는 평균 체중 약 7 g인 치어를 5개월 동안 BFT 환경에서 양성한 평균 204 ± 5.7 g, 1,200마리를 실험에 사용하였다. 감염 실험에 사용 *E. tarda* (2010 0235) 균주는 국립수산물품질관리원 병리연구과로부터 분양 받아 사용하였다. 균주는 영양 배지(Nutrient Broth)에 25°C, 24시간 배양하였다. 침지 감염은 넙

치가 사육되어 있는 7 m × 7 m (49 m²) BFT 수조에 배양된 *E. tarda* 균주를 1.2×10^5 /mL로 바이오플락 사육수에 현탁하여 72시간 침지 감염시켰다. 72시간 침지 감염 이후 일부 어체에서 복부팽만, 탈장과 같은 임상증상이 확인되었고, 항생제 처리구는 주사 후 감염어는 6개의 원형수조(19.6m²)로 이동 수용하였다. 침지 사육조 및 사육수는 차아염소산칼슘 성분의 수산용 소독제를 사용하여 소독 처리 하였다.

사육환경 및 사육수

*E. tarda*에 감염된 넙치는 6개의 19.6m² 수조에 200 마리씩 10마리/m² 밀도로 수용하였다. 6개 수조는 항생제 무처리에 기존 BFT 사육수를 그대로 유지시킨 수조 1개를 대조구로 하였다. 나머지 5개 수조는 항생제 (아쿠아AF, 대성미생물, Co. Korea)를 주사하고 사육수를 무교환, 일부 교환 또는 전부 교환, 우수식 전환하였다. 주사는 항생제 (아쿠아AF : 아목시실린수화물 100 mg, 플로르페니콜 100 mg, 파라옥시벤조산메틸 2 mg/ml)를 30 µl/마리 주사하였다 (대한민국 특허 10-1092599, 2011; Lee *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2012). 항생제 주사구 5개 수조는 기존 BFT 사육수, 기존 BFT 사육수에 살균 해수로 20% 환수, 신규 BFT 사육수, 신규 BFT 사육수 (50%)와 소독 해수 (50%), 완전 우수식 전환구로 세팅 하였다. 실험 기간 중 일반수질은 휴대용 수질분석기 (YSI-Professional plus, YSI Inc., Ohio, USA)를 이용하여 수온, pH, 용존산소, 염분을 매일 측정하였으며, 암모니아, 아질산, 질산을 분석 키트 (Merck&Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA)를 이용하여 측정하였다.

혈액채취 및 혈장성분 분석

감염어의 혈장 성분의 변화가 있는지를 보기 위하여 1, 2, 4, 8주차에 각 수조별로 5마리씩 random 샘플 하여 혈장 성분을 분석하였다 (2019-동물실험-15). 혈액은 MS-222 (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 마취시킨 후 헤파린 (Sigma, USA)을 처리한 주사기를 사용하여 넙치의 꼬리 정맥에서 채취하였다. 혈장 성분 분석을 위해 혈액은 4°C에서 3000 × g로 15분간 원심분리

후 혈장을 분리하였다. 혈장 내 유기성분(glucose, cholesterol, total protein), 혈장 효소 성분(Glutamic oxaloacetic transaminase, GOT; Glutamic pyruvic transaminase, GPT; alkaline phosphatase, ALP), 무기성분(Calcium, Magnesium)을 측정하였다. Glucose는 GOD (Glucose oxidase)/POD (Peroxidase)법, cholesterol은 비색법, total protein은 Biuret법에 따르는 임상용키트(Asan Pharm. Co., Ltd, Korea)를 이용하여 측정하였다. 간의 지표효소인 GOT (glutamic oxaloacetic transaminase), GPT (glutamic pyruvic transaminase) 및 ALP (Alkaline phosphatase)는 임상용키트(Asan Pharm. Co., Ltd, Korea)를 사용하여 측정하였다. 칼슘은 OCPC법, 마그네슘은 Xylydyl blue-I 법에 따르는 임상용 키트 (Asan Pharm. Co., Ltd, Korea)를 이용하여 분석하였다.

결 과

실험구별 넙치의 생존율

감염 후 회복 기간 동안 수조의 수질 환경은 평균 수온은 약 20°C, pH는 7.3~7.8, 염분 농도는 31~33 ‰, 용존산소는 6.7~7.7 mg/L 범위를 나타내었다. 암모니아는 0.1~0.5 mg/L를 유지되었으나, 신규 BFT 사육수(50%)와 소독 해수(50%) 실험구에서 1.2 mg/L로 약간 높게 나타났다. 아질산은 대부분 0.1~0.9 mg/L를 유지하였으나, 신규 BFT 사육수(50%)와 소독 해수(50%) 실험구에서 평균 약 4.9 mg/L를 나타내 다른 실험구에 비해 높게 나타났다. 질산(NO₃)의 경우, 유수식으로 전환한 경우 0.1 mg/L로 가장 낮았고, 신규 BFT 사육수(50%)와 소독 해수 (50%) 실험구에서 가장 높아 약 9.2 mg/L의 값을 나타냈다.

각 실험구별 생존율은 Fig. 1에 나타내었는데, 항생제를 처리하지 않고 기존의 BFT 사육수를 그대로 사용했던 대조구의 최종 생존율은 32.7%로 가장 낮았다. 반면, 항생제 처리 후 기존 바이오플락수를 계속 사용한 경우 46.7%, 기존 바이오플락 사육수에 20% 소독해수로 환수한 경우 62.0%의 생존율을 나타냈다. 신규로 준비한 BFT 사육수로 완전 환수한 경우 72.3%의 최종 생존율을 나타냈으나, 신규 BFT 사육수와 여과해수(50:50)로 실험

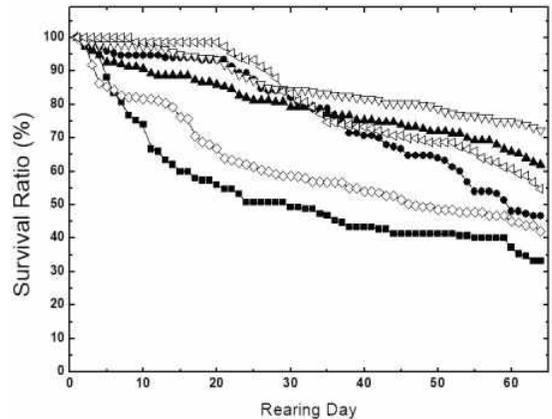


Fig. 1. Survival ratio of olive flounder *Paralichthys olivaceus* with edwardsiellosis by various water management with antibiotics treatment. ■ No water exchange without antibiotics; ● exchange to stored BFT water with antibiotics; ▲ exchange to stored BFW with 20% filtered sea water with antibiotics; ▽ exchange to fresh BFW with antibiotics; ◇ fresh BFW with 50% and filtered sea water 50%; ◁ flow-through with antibiotics.

구에서는 42.1%로 생존율이 상대적으로 낮았다. 완전 유수식으로 전환한 경우는 54.7%의 최종 생존율을 보였다(Fig. 1).

실험구에 따른 넙치의 혈장분석

혈장 분석 결과는 Fig. 2에 나타내었다. Glucose는 대부분의 실험구에서 초기 감소하였다가 증가하는 경향을 보였으며, 항생제처리와 관련 없이 기존 BFT 사육수를 사용한 경우인 (a), (b)는 혈장 포도당의 증가가 약 1주일 빠르게 이루어진 것으로 나타났다. Cholesterol의 경우 항생제 무처리구 (a), 항생제 처리 후 기존 BFT 사육수를 계속 사용한 경우 (b), 유수식으로 전환한 경우 (f)에서 항생제 접종 1주차까지 감소 후 이 후 증가하는 경향을 보였고, 기존 BFT 사육수에 20% 여과해수로 환수한 경우 (c), 신규 BFT 사육수로 환수한 경우 (d), 신규 BFT 사육수 (50%)와 소독 해수 (50%) (e)는 약간 증가한 후 감소하거나 유지하는 경향을 나타내었다. 결과적으로 생존율이 낮았던 실험구에서 초기 감소 경향을 나타내었고, 생존율이 높았던 실험구에서는 초기 증가하는 경향을 보였다.

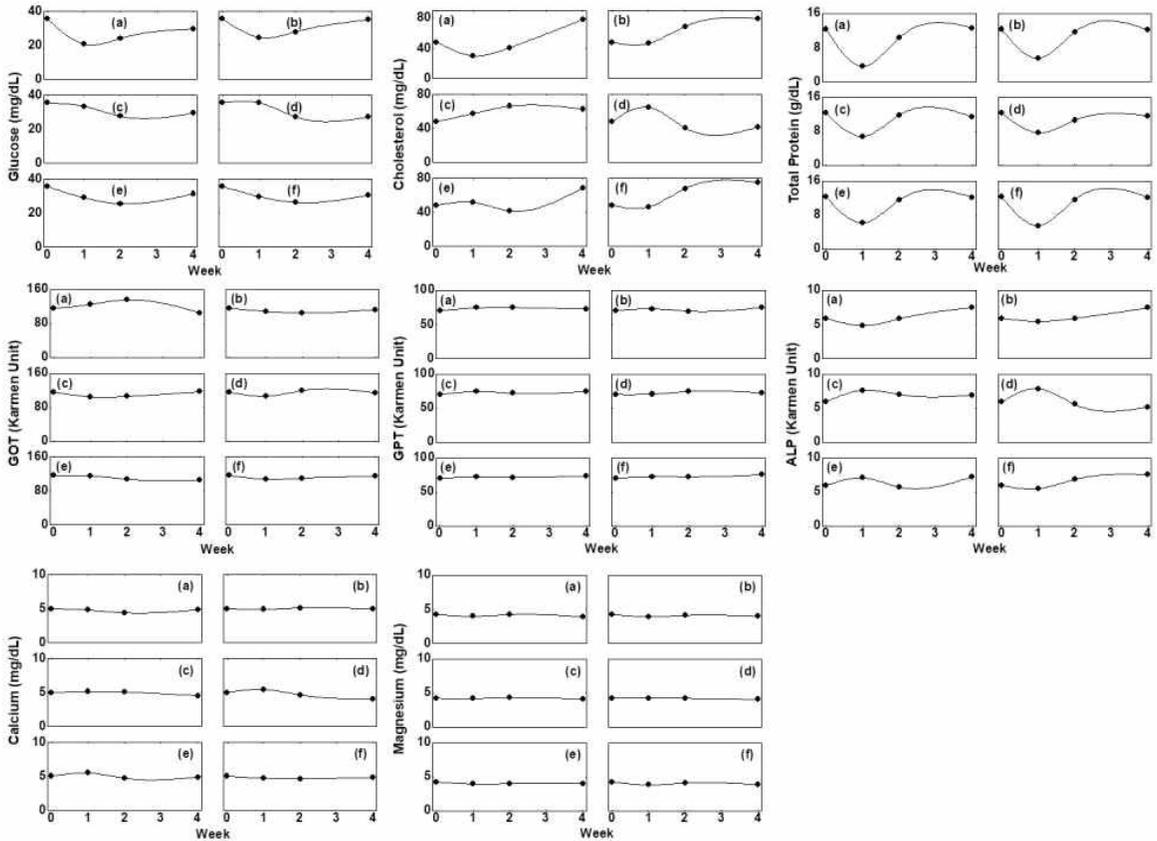


Fig. 2. Blood plasma components from olive flounder *Paralichthys olivaceus* with edwardsiellosis by various water management with antibiotics treatment. (a), No water exchange without antibiotics; (b), exchange to stored BFT water with antibiotics; (c), exchange to stored BFW with 20% filtered sea water with antibiotics; (d), exchange to fresh BFW with antibiotics; (e), fresh BFW with 50% and filtered sea water 50%; (f), flow-through with antibiotics.

Total protein은 항생제 처리 유무와 관계없이 모든 실험구에서 감소한 후 증가하였으며, ALP의 경우 혈장 콜레스테롤에서와 유사한 경향으로 (a), (b), (f)에서 감소 후 증가하는 경향을, (c), (d), (e)에서는 증가한 후 유지 또는 감소하는 경향을 보였다. GOT와 GPT에서는 유의적인 변화를 나타내지 않았다. 혈장 무기 성분인 칼슘과 마그네슘의 경우는 5 mg/dL 수준에서 전반적으로 유의적인 변화가 없는 것으로 나타났다.

고찰

본 연구는 BFT 양식 과정에서 세균성 질병발생

시 항생제 처리 이후 사육 수질 환경의 변화를 관찰하고, BFT 사육수 관리를 위한 가장 효과적인 처리방식을 탐색하기 위해 다양한 실험구를 설정하고 현장에서 적용 가능한 다양한 방법으로 설계하였다.

BFT 사육수에서 항생제 처리 후의 수질 변화에 대한 연구는 거의 없고, 항생제를 처리하면 BFT 미생물군총에 영향을 미칠 수 있다. 본 연구에서 일반 수질 환경 분석 결과 암모니아, 아질산, 질산염이 특정 실험구에서 높게 나타났으나, 모두 넘치 성장이나 생존에 영향을 미치는 수준은 아닌 것으로 나타났다. 암모니아의 경우, 실험구에서 가장 높았던 1.2 mg/L은 8 mg/L에서도 성장에 영

향이 없었다는 보고(Kim *et al.*, 2017b)에 따라 정상범위로 판단할 수 있었다. Kim 등(2018)은 25 mg/L의 아질산 농도에서의 생존율이 100%로 나타났다고 보고하였고 이에 따라 본 실험 결과의 아질산농도 4.9 mg/L는 생장에 영향이 없었을 것으로 사료되었다. 각 실험구 중 가장 높았던 9.2 mg/L의 질산염 수치는, BFT 양식의 경우 100 mg/L 수준까지는 넙치 생장에 영향을 미치지 않는다는 보고(Kim *et al.*, 2019)에 따라 생존율에 영향을 미치지 않았을 것으로 판단하였다. 질소화합물에 대한 이러한 경향은 항생제 처리에도 BFT 사육수의 수질 변화가 넙치 생장에 영향을 줄 정도로 나타나지 않아 질병발생 시 항생제 처리가 가능할 것으로 판단되었다.

항생제 처리 후 다양한 사육수 전환에 따른 생존율 검토에서, BFT 환경에서 질병발생 시 항생제 처리 후 새로운 BFT 사육수로 환수하는 방법이 가장 효율적이었다. 새로운 BFT 사육수로 전환시 생존율이 대조구에 비해 약 40% 이상 높은 것으로 나타났다. 또한 폐사율 경과를 종합해 보면 항생제의 체내 유효 농도 유지 기간인 3~4주 이후 항생제를 재접종 할 경우 기존 BFT 사육수에 20% 소독해수를 환수하는 경우에도 폐사율을 대조구에 비해 약 30% 줄일 수 있는 것으로 판단되었다. 이는 기존 사육수를 상당부분 그대로 사용하는 면에서는 경제적으로 유리할 수도 있다고 사료된다.

혈장포도당의 경우 코르티솔(cortisol)과 함께 어류의 스트레스반응에 대한 대표적인 지표로 사용되는데, 생물이 스트레스를 받게 되면 시상하부-뇌하수체-간신선 축(hypothalamus-pituitary-interrenal axis)에 의해 코르티솔이 분비되고, 이 코르티솔은 글리코겐을 분해하여 포도당 신생 과정을 활성화시킨다. 즉, 생물이 스트레스를 받게 되면 혈중 포도당이 증가할 수 있다(Noh *et al.*, 2017). 결과의 모든 실험구에서 혈장포도당은 *E. tarda*의 감염에 대한 스트레스반응으로 인하여 증가되어 있던 포도당이 항생제 접종으로 감소하는 경향을 보인 것으로 판단되었다. 또한 기존 바이오플락을 사용한 실험구에서 다른 실험구와는 다르게 포도당 증가가 약 1주 빨라진 것은 기존 바이오플락

수의 감염원 존재에 의해 스트레스반응이 지속된 것으로 사료되었다.

혈장 콜레스테롤의 수준이 세균감염에 대한 저항성 지표로 사용될 수 있다는 보고가 있으나 이에 대한 작용기작은 상세히 알려지지 않았다. 보고된 바에 의하면 혈장콜레스테롤이 낮을 경우 세균감염에 취약하며 세균감염에 저항성이 높은 개체는 혈장콜레스테롤 수준이 높다(Maita *et al.*, 1998). 혈장 콜레스테롤에 대한 결과에서 보면 생존율이 낮았던 실험구에서는 감소하고 생존율이 높았던 실험구에서는 증가하는 경향을 보였으므로, 본 연구의 생존율과 관련하여 세균감염에 대한 저항성이 높은 실험구에서 생존율이 높았다고 볼 수 있다.

혈장 총단백질, GOT, GPT, ALP 등은 어류의 건강상태를 판단하는 유용한 지표이다. GOT, GPT, ALP는 독성물질, 지질산화 및 수문상승과 같은 비정상적인환경에서 간세포 손상 시 증가하는 것으로 알려져 있다(Maita, 2007). 혈액 분석 결과에서 총단백질은 항생제 처리유무와 관계없이 모든 실험구에서 초기 감소하는 경향을 보여 세균감염에 의해 세포손상에 대한 반응과 반하는 결과가 나타나 유의성이 없다고 판단하였다. GOT, GPT는 유의적인 변화가 관찰되지 않아 생존율이나 폐사율과의 상관관계를 찾기 어려웠다. 다만, ALP의 경우 상기 콜레스테롤의 경우와 유사한 변화를 보여, 생존율이 낮은 실험구에서는 감소 후 증가하는 경향을, 생존율이 높은 실험구에서는 증가한 후 유지 또는 감소하는 경향을 보였으나, 역시 세균감염 및 항생제 투여, 주변 환경변화와의 관계에 유의성이 없다고 판단된다.

혈장 칼슘과 마그네슘 수치는 혈장 이온 조절에 관여하며 개체의 스트레스와 관련한 생리적 변화를 나타내는 지표로 사용된다(Kim *et al.*, 2017a; Waagbo *et al.*, 1988). 해산어류는 스트레스를 받을 경우 삼투압 조절 능력에 혼란이 발생되기 때문에 혈장이온농도가 증가하는 경향을 보인다(Bruce, 1991). 이번 연구의 경우 전 실험구에서 혈장 이온 농도는 정상범위에서 유의적인 변화가 나타나지 않았다.

이상의 결과로, 바이오플락을 이용한 넙치 양식

중 세균성 질병 발생 시에 항생제 처리가 가능하며, 항생제 처리 후 바이오플락 사육수의 수질에도 문제가 없다는 것을 확인하였다. 또한 폐사율을 최대한 낮추기 위해서는 항생제 처리 후 새로운 BFT 사육수로 환수하는 방법이 가장 바람직하고, 차선으로 20%의 소독해수로 환수하면서 기존 바이오플락 사육수를 계속 사용할 수도 있음을 확인하였다. 본 연구는 BFT 양식 중 질병발생 시 항생제 처리 및 대응에 대한 첫 보고이다.

사 사

본 연구는 2021년 국립수산물품질관리원 수산과학연구소(R2021003)의 지원으로 수행된 수행되었습니다. 본 연구과정 중 사육 및 실험 절차는 국립수산물품질관리원의 동물실험윤리위원회의 규정에 의거하여 수행하였습니다.

References

- Barbara H., Wilson W., Olivier D., Peter B. and Peter D.S.: Managing input C/N ratio to reduce the risk of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) outbreaks in biofloc systems-A laboratory study. *Aquaculture*, 508: 60-65, 2019.
- Bruce A. B. and George K.I.: Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Rev. Fish Dis.*, 1: 3-26. 1991.
- Diana A.R., Alejandra P.D., Gabriela R.F., Karla S.E.H. and Gabriela G.: A vibriosis outbreak in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* reared in bio-floc and clear seawater, *J. Invertebr. Pathol.*, 167: 107246. 2019.
- Hargreaves J.A.: Biofloc production systems for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center, 4503: 1-11. 2013.
- Kim, J.H., Jeong, E.H., Kim S.R., Kim, S.K., Kim S.K. and Hur, Y.B.: Changes in water quality and hematological parameters according to the stocking density of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* raised in bio-floc environment. *Korean J. Environ. Biol.*, 37: 155-163. 2019.
- Kim, J.H. and Kang, J.C.: Effects of dietary chromium exposure to rockfish, *Sebastes schlegelii* are ameliorated by ascorbic acid. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 39: 109-115. 2017a.
- Kim, J.H., Kim, K.W., Bae, S.H., Kim, S.K., Kim, S.K., and Kim, J.H.: Alterations in Hematological Parameters and Antioxidant Responses in the Biofloc-reared Flatfish *Paralichthys olivaceus* Following Ammonia Exposure, *Korean J. Fish. Aqua. Sci.*, 50: 750-755. 2017b.
- Kim, J.H., Kim, J.Y., Lim, L.J., Kim, S.K., Choi, S.H. and Hur, Y.B.: Effects of waterborne nitrite on hematological parameters and stress indicators in olive flounders, *Paralichthys olivaceus*, raised in bio-floc and seawater. *Chemosphere*, 209, 28-34. 2018.
- Kim, N.K., Kweon, D.H., and Kim, S.K.: Effects of natural compounds from various plant eradicate the persister cell of *Edwardsiella tarda* treated with antibiotics of florfenicol and amoxicillin, *J. Life Sci.*, 22: 788-793. 2012.
- Lee, S.H. and Park, S.H.: Amoxicillin-florfenicol combination reduces mortality in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) experimentally infected by *Streptococcus iniae*, *Aquaculture Research*, 46: 2300-2304. 2015.
- Liu, Y., Lu, S., Liu, F., Shao, C., Zhou, Q., Wang, N., Li, Y., Yang, Y., Zhang, Y., Sun, H., Zheng, W. and Chen, S.: Genomic selection using Bayes C π and GBLUP for resistance against *Edwardsiella tarda* in japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Mar. Biotechnol.*, 20: 559-565. 2018.
- Maita M.: Fish health assessment. In: Dietary supplements for the health and quality of cultured fish. Nakagawa H, Sato M and Gatlin DM III, eds. Cabi, Oxford, UK, 10-17. 2007.
- Maita, M., Satoh, K.I., Fukuda, Y., Lee, H.K., Winton, J.R. and Okamoto, N.: Correlation between plasma component levels of cultured fish and resistance to bacterial infection. *Fish pathol.*, 33: 129-133. 1998.
- Mamdoh T.J., Broom M., A Al-Mur B., Al Harbi M., Ghandourah M., Al Otaibi A. and Haque M.F.: Biofloc Technology: Emerging Microbial Biotechnology for the Improvement of Aquaculture Productivity. *Pol. J. Microbiol.*, 69: 401-409. 2020.
- Noh, G.E., Kim W.J., Kim H.C., Park C.J., and Park J.W.: Daily rhythms and effect of short-term starvation on the health parameters in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, 50: 534-540. 2017.
- Park, S.B., Aoki, T. and Jung, T.S.: Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Vet. Res.*, 43: 1. 2012.

- Park, S.B., Nho, S.S., Jang, H.B., Cha, I.S., Lee, J.H., Aoki, T. and Jung, T.S.: Phenotypic and genotypic analysis of *Edwardsiella tarda* isolated from olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) and Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Aquaculture*, 473: 449-455. 2017.
- Waagbo, R., Sandnes, K., Espelid, S. and Lie, O.: Haematological and biochemical analyses of Atlantic salmon, *Salmo solar L.*, suffering from coldwater vibriosis ('Hitra disease'). *J. Fish Dis.*, 11: 417-423. 1988.
- Wang, Q., Yang, M., Xiao, J., Wu, H., Wang, X., Lv, Y., Xu, L., Zheng, H., Wang, S., Zhao, G., Liu, Q. and Zhang, Y.: Genome sequence of the versatile fish pathogen *Edwardsiella tarda* provides insights into its adaptation to broad host ranges and intracellular niches. *PLoS One*, 4(10): e7646. 2009.
- Li Y., Wang L. Lu S., Wang S., Zhang H., Yang Y., Li M. and Chen S.: Heritability of disease resistance to *Edwardsiella tarda* in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 519: 734-750. 2020.
- 김용기, 이원준, 박병순. 동물용 복합항생제 조성물, 대한민국등록특허 10-1092599. 2011.

Manuscript Received : Nov 03, 2021

Revised : Nov 23, 2021

Accepted : Nov 25, 2021