

연어류 수생균의 분류학적 연구

지보영 · 이덕찬 · 김재훈 · 김나영 · 이철호^{*1}

국립수산과학원 병리연구팀, ¹연어연구센터

서론

어류의 곰팡이성 질병은 주로 편모균 아문의 난균강 (Oomycetes), 수생균목 (Saprolegniales), 수생균과 (Saprolegniaceae)에 포함된 균류가 주요 원인체로 알려져 있다 (전, 1985).

양식 생물의 곰팡이성 질병에 관한 연구는 발생빈도나 경제적 피해정도가 미약하여 다른 감염성질병에 비해 일부 단편적인 연구가 전부이고 체계적인 연구는 찾아보기 힘들다 (민, 1991; 이, 1999).

그러나 최근 국내에서 무지개송어의 종묘생산 시기에 수생균을 예방하기 위해 사용한 말라카이트그린 (MG)이 검출됨에 따라 사회적으로 커다란 파장을 일으킨 바 있다.

따라서 본 연구에서는 MG를 대체하기 위한 치료제를 개발하고자 먼저 2005년 9월에서 2006년 2월까지 국내 일부 연어과 어류에 감염된 수생균을 검출하여 이들의 형태학적 및 유전학적 분류를 통해 정확한 진단을 실시하고자 하였다.

재료 및 방법

수생균의 분리는 2005년 9월에서 2006년 2월까지 연어 수정란 (강원 양양), 무지개송어 수정란 (경남 밀양), 무지개송어 성어 (강원 평창) 및 산천어 치어 (강원 평창)를 대상으로 하였으며 이 때 사용한 배지는 Sabouraud dextrose agar (SDA, Difco) 및 GY agar (1% glucose, 0.25% yeast extract, 1.5% agar)에 penicillin & streptomycin이 첨가된 배지이었다.

수생균의 형태학적 검경을 위하여 GY agar에 순수 분리된 균류를 지름 8 mm의 블록을 만들어 10mM PBS (pH 7.0) 100 ml에 옮겨서 24시간 배양한 후 상정액을 무균 처리한 해바라기씨를 넣은 PBS에서 피낭포자를 유도하고 멸균증류수가 들어있는 plate에 옮겨 무성생식 상태를 만들거나, Malt agar (Difco)에 순수 분리된 균류를 지름 8 mm의 블록을 접종하여 성장시키고 성장된 균사를 20 ml의 멸균 수도수 (tap water)가 첨가된 plate에 옮겨 24시간 마다 멸균수도를 갈아주며 실온에서 5-7일간 배양하여 유성생식 상태를 만들어 Latophenol cotton blue (LPCB) 염색액으로 염색한 후 현미경으로 관찰하였다 (박, 1989).

수생균의 유전학적 분류를 위하여 진핵생물에 공통적인 SSU rDNA의 증폭은 18s rRNA용 primer (forward, E21f 5'-ATC TGG TTG ATC CTG CCA GT-3'; revers, E1778r 5'-AAT GAT CCT TCC GCA GGT TC-3')를 사용하여 이루어졌으며(明, 2005), sequence는 Bioneer(한국)에 의뢰하였고 결과는 GenBank accession에 기초하여 phylogenetic tree를 작성하였다.

결과 및 요약

분리된 모든 수생균 균주는 무격벽의 균사를 가지고 있고 유주자낭 속에는 운동성이 있는 포자 (유주자)가 관찰되며 유주자의 유출은 선단에 머물지 않고 유출되는 형태이었다. 평판배지에서 약 3일이 경과하면 균사 내에 기포가 다수 형성되는데 이는 아마도 부유나 무성생식포자에 압을 가하기 위한 역할을 하는 것으로 추정된다.

연어 수정란으로부터 분리된 수생균은 조란기 내의 난 포자가 아중심립(subcentric)이며 조정기의 원기는 diclinus형이 우점이었다. 일부 조란기는 격벽을 가지는 연쇄상의 gemmae형으로 발전하며 이 gemmae의 난 포자는 격벽을 갖추며 신장하는 형태를 보였고, 핵은 오목한 삼각프리즘 형태를 가지며 난 포자와 세포벽 사이에 1-3개의 기포를 가지고 있었다.

무지개송어 수정란과 성어, 산천어 그리고 연어 수정란으로부터 분리된 수생균은 기지의 *Saprolegnia parasitica*와 99%이상의 유전학적 상동성을 보였다.

이상의 결과로부터 국내 연어과 어류에 감염되는 수생균은 유전학적으로는 *Saprolegnia parasitica*인 것으로 사료되나 이들 중 연어 수정란으로부터 분리된 수생균은 본 종과는 다소 다른 형태를 나타냄에 따라 이의 구명을 위해서는 더욱 다양한 어종과 지역에서의 균주 수집 및 연구가 필요할 것으로 판단된다.

참고문헌

- 박동철 · 이형환 · 이지열 (1989): 담수로부터 분리한 *Saprolegnia* sp.의 생리 및 생식의 특성. Kor. J. Mycol., 17, 21-26.
- 민홍규 · 김순철 · 배 석 (1991): 가물치 양식어장에서 진균성새병과 관련된 *Saprolegnia diclina*의 발생현황. J. Fish Pathol., 4, 95-100.
- 이근광 · 김영길 · 이민웅 · 이형환 (1999): 양식 가물치(*Channa arugus*)에 대한 *Saprolegnia* sp.의 병리학적 특성과 물곰팡이의 생장을 제어하는 정유의 영향. Kor. J. Mycol., 27, 32-38.
- 전세규 (1985): 어병학. pp.139-165. 제일출판사
- 鈴木健一朗 · 平石 明 · 横田 明 (2005): 미생물의 분류 · 동정 실험법(박진숙 · 황경숙 · 천중식 역). pp. 58-74, 월드사이언스.177-203.