

감성돔(*Acanthopagrus schlegeli*)에 기생한 *Amyloodinium* sp.의 성상에 관한 연구

지보영[†] · 김기홍* · 박수일*

국립수산진흥원 병리과, *부경대학교 수산생명의학과

본 연구는 감성돔(*Acanthopagrus schlegeli*)에 기생한 *Amyloodinium* sp.의 성상을 알기 위하여 이 기생충의 형태·계측학적인 특징을 조사하는 한편, 지속적인 감염을 유도하여 충체의 발달과 번식 특성 및 병리 조직상을 확인하고자 하였다. 이 기생충의 형태는 크게 기생기(parasitic phase)와 비기생기(non-parasitic phase)로 구분할 수 있었고, 영양형(trophont), 분열형(tomont), 자충(dinospore)의 3단계의 발달 과정을 거치는 것을 알 수 있었다. 방추형 또는 난형인 기생 충체는 색깔이 없었으며, 직경 30-80 μm 크기였다. 성숙한 충체는 크기가 약 80 μm 내외로 체내에 15 μm 의 둥근 핵과 다수의 식포 및 전분성 과립을 함유하고 있으며, 가근상 돌기가 있는 부착기로 아가미 기저막에 부착해 있었다. 비기생기인 분열형은 80-90 μm 의 크기로 여체로부터 이탈된 직후 구형의 Cyst wall을 가지고 있던 것이 분열과 함께 Cyst wall의 모양이 사각형으로 변하였으며, 지속적인 2분열로서 감염형을 생성하였다. 8회의 분열로서 생성된 감염형은 10-15 \times 10-14 μm 의 크기로 전체 형태가 둥글고 양끝이 편평하였으며 체내에 다수의 과립을 가지고 있었다. 그리고 자충은 2개의 편모(충체 중앙부에 허리띠 모양의 가로 편모와 뒤로 길게 늘어뜨린 세로 편모)를 가지고 있는 것을 볼 수 있었다. 또한 안점은 기생 초기의 충체와 자충에서 관찰되었다. 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)에 인위 감염을 유도하여 발달과 번식 특성을 확인한 결과, 이 충은 수온 24-26°C의 여체에서 3-5(평균, 3.75)일만에 성숙하며, 이탈하여 수중에서 3-4(평균, 3.3)일만에 분열하여 256개의 자충을 생성하는 것으로 조사되었다. 한편, 이들 감염어의 아가미 조직은 감염 초기에 뚜렷한 병변을 나타내지 않지만, 감염이 진행되면서 지속적인 재감염으로 인하여 아가미 상피세포의 과잉 형성을 일으켜 새판이 비후되어 끈봉화되고 결국 감염어는 폐사되는 것으로 판단되었다.

Key words: Black seabream, *Amyloodinium* sp., Korean rockfish

어류 기생성 dinoflagellate에 대하여 Lom(1981)은 크기가 30-300 μm 이고, 서양배 또는 난형인 외부 기생성 5종과 내부 기생성 1종을 합한 총 6종을 기재하였다.

이들 기생충 중에서도 외부 기생성인 *Amyloodinium ocellatum* Brown, 1931은 주로 수족관 및 관상용 어류에 심각한 피해를 내는 것으로 알려져 왔으나(Nigrelli, 1936; Jacobs, 1946; Becker, 1977; Lawler, 1977a), 최근에 와서는 송어(Baticados and Quintio, 1984), 참돔(Barbaro and Francescon, 1985), 방어(Aiello and d'Alba, 1986) 및 농어

(Gallet de Saint-Aurin, 1987) 등과 같은 해산 양식 어류에도 기생하여 많은 피해를 주기 때문에 세계 각국의 연구 대상이 되고 있다.

이 기생충의 분류학적 특징인 영양형의 형태·구조, 생활사 및 생물학적 특성에 관해서는 전세계적으로 많은 연구 결과가 있지만(Brown, 1931; Brown and Hovasse, 1946; Lom and Lawer, 1973; Lawler, 1980; Lom, 1981), 우리 나라에서는 전(1985)이 수족관 및 돌류에서 관찰되는 와편모충이 *A. ocellatum* Brown, 1931일 가능성이 높다고 보고한 이후로 아직 이에 관한 연구는 별로 없다.

따라서 본 연구에서는 감성돔(*Acanthopagrus schlegeli*)에 기생한 *Amyloodinium* sp.의 성상을 알

[†]Corresponding author

기 위하여 이 기생충의 형태·계측학적인 특징을 조사하는 한편, 지속적인 감염을 유도하여 이 기생충의 발달과 번식 특성 및 병리조직상을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

병 어

실험에 사용된 병어는 1996년 9월 부경대학교 양식생리학 연구실에서 순환 여과식으로 사육하고 있던 3년생 감성돔(*Acanthopagrus schlegeli*) 친어로 평균 체장 25.9 cm, 평균 체중 292.8 g이었다. 사육 수조의 수온은 24-26°C, 비중은 1.0224-1.0236 범위였으며, pH는 7.68-7.75이었다(Table 1).

실험어

인위 감염에 사용된 실험어는 1996년 10월에 부경대학교 수산과학연구소에서 사육 중이던 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)으로 이들 어류는 외관상 질병의 징후가 전혀 없는 건강한 치어들로서 평균 체장 6.3 cm, 평균 체중 5.3 g이었다.

기생충의 형태 조사

기생충의 형태 조사에 사용된 감염어는 빈사 상태의 감성돔으로 30 l 용량의 유리 사각 수조에 2-3마리를 수용한 후, 일정 시간마다 기생 상태의 충체와 비기생 상태의 충체를 채집하여 조사하였다. 어체에 기생해 있는 충체는 먼저 감염어의 체표, 지느러미 및 아가미 등에 미세한 흰 점을 육안적으로 확인한 후, 감염 부위를 해부기로 적출하여 해부 및 광학 현미경으로 살아있는 상태의 충체를 상세히 관찰하였다. 어체에 기생되지 않은 단계의 충체 관찰 실험은 먼저 감염어의 점액상 물질과 함께 떨어져 나와 수조 바닥에 가라앉아 있는 충체를 pasteur pipette으로 채집하여 멸균 여과 해수

가 들어있는 petri-dish에 옮겼다. 그리고 해부 현미경을 보면서 pasteur pipette으로 점액상 물질로부터 선택적으로 충체를 분리한 후, 생체 또는 5% 포르말린에 고정시켜 슬라이드글라스에 올려놓고 광학 현미경과 위상차 현미경으로 검경하였다. 이 기생충의 분류시 속은 Lom(1981)의 영양형 형태(엽록체, 안점, 부착기, 식포 및 편모의 유무)를 기준으로 삼았고, 종의 동정은 Brown(1931)과 Brown and Hovasse(1946)의 기재를 참고하였다.

기생충의 발달 및 번식법 조사

기생충의 발달과 번식 특성은 상기의 30 l 유리 수조에 감성돔 사육수를 20 l 채운 후 조피볼락 치어 40마리를 수용하여 조사하였다. 기생충의 발달은 10일에 걸쳐 하루 4마리의 조피볼락을 채집하여 생체 또는 조직 표본으로 기생충체의 형태와 크기로써 측정하였다. 기생충의 번식법은 어체에 기생하고 있는 상태와 어체에서 떨어져 나온 상태를 구분하여 조사하였으며, 기생 상태의 번식은 감염 부위를 적출하여 충체가 분열 또는 Cyst를 형성하는지 여부를 광학 현미경에서 생체로 관찰하였다. 한편, 비기생 상태의 번식은 감염어로부터 떨어져 나온 충체를 상기와 같이 점액상 물질로부터 충체를 분리한 후 0.45 µm membrane filter로 여과 멸균시킨 해수에 5회 세척하였다. 그리고 100 units/ml의 penicillin G(Sigma)와 100 µg/ml의 streptomycin(Sigma)이 들어있는 여과 멸균해수가 채워진 96 wells plate의 각 well속에 여과 멸균해수로 세척된 충체를 넣고, 26°C의 배양기에서 일정 시간별로 위상차 또는 광학 현미경으로 관찰하였다.

기생충의 인위 감염 유도 및 병리조직학적 관찰

기생충의 인위 감염은 자갈 여과기와 공기 주입 장치를 한 용량 30 l 유리 수조에 여과 멸균 해수를 채워 조피볼락 치어를 연속 통과시키는 방법으로 시험하였다. 사육 수조의 환경은 감성돔 사육 수조의 환경과 동일하게 조절하였으며, 기생충이 다량 기생한 감성돔으로부터 절취한 아가미를 0.45 µm membrane filter로 여과 멸균시킨 해수에 5회 세척, 그리고 100 units/ml의 penicillin G(Sigma)와 100 µg/ml의 streptomycin(Sigma)이

Table 1. Comparison of environment in the reported amyloodiniosis and the present study

	Amyloodiniosis	Present
Temperature (°C)	23-27	24-26
pH	7.3-7.6	7.68-7.75
Specific gravities	1.0120-1.0210	1.0224-1.0236

들어있는 여과멸균해수로 다시 3회 세척하여 아가미에 부착한 bacteria를 제거하였다. 이들 항생제가 첨가된 여과 멸균 해수로 세척한 아가미를 여과멸균해수가 채워진 시험 수조에 수용하여 이들로부터 총체가 떨어져 나오는 것을 확인한 후, 건강한 조피볼락 치어 20마리를 추가로 수용하여 일정 기간별로 조피볼락의 아가미, 체표 및 지느러미에 미세한 흰 점의 출현 여부를 확인하였다. 최초 조피볼락에 미세한 흰 점이 확인된 이후에는 이 기생충의 감염에 의한 조피볼락의 폐사 개체수 만큼 수조에 건강한 치어를 추가 수용하는 것을 반복하여 감염이 지속적으로 일어나도록 하였다. 인위 감염된 조피볼락의 치어는 일정 기간별로 아가미 조직을 절취하여 10% 중성 포르말린 용액에 24시간 고정시킨 후, 5 µm 파라핀 절편을 만들어서 H-E 및 Giemsa 염색하여 병리조직상을 관찰하였다.

결 과

임상 증상

감염 초기의 병어는 사육 수조의 바닥으로 내려가 아가미 부분을 수조바닥에 비비거나 수직으로 서서 입을 입을 하는 등 행동상의 이상을 나타내었다. 감염이 진행되면서 이러한 증세는 지속적으로 나타났으며 결국 감염 5일 쯤부터 폐사되기 시작하여 약 1주일만에 전부 폐사하였다.

기생충의 형태

아가미 또는 체표에 기생해 있는 총체는 육안적으로 회백색의 먼지 가루 또는 미세한 흰 점으로 보였으며, 저배율(×50)의 광학 현미경 시야에서 Fig. 1(A)와 같이 불투명한 검은 반점상 모양이 방추형 또는 난형으로 관찰되었다. 그리고 아가미 생체 표본을 고배율(×200)의 광학 현미경 시야로 검경한 결과, 기생기의 초기로 보이는 약 30 µm 방추형의 총체가 가근상 돌기가 있는 부착기로 아가미 기저막에 부착해 있었으며, 체내에는 다수의 전분성 과립을 가지고 있는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1(B)). 또한 아가미 조직 표본에서 Fig. 2(C)와 같이 기생기의 후기로 보이는 약 80 µm 구형의 총체에서 중간 부위에 다소 검붉게 염색된

Fig. 1. Gill of Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* infected with dinoflagellates. A, Gill filament showing a large number of parasite, ×50. B, Young parasite (P) attached at base of gill, ×200. C, Mature parasite with single macronucleus (MA) and a large number of food vacuoles (arrow), ×200.

15 µm의 둥근 핵이 관찰되었고, 핵 주변으로는 예 오진에 붉게 염색된 다수의 과립상 식포가 관찰되었다(Table 2).

어체로부터 떨어져 나온 80-90 µm 크기인 비기생 상태의 총체는 Fig. 2(A)와 같이 구형의 Cyst를 형성하였으며, 분열과 함께 Fig. 2(B, C)와 같이 Cyst wall의 모양을 사각형으로 바꾸었고, 지속적

Table 2. Comparison of morphological features of *Amyloodinium ocellatum* and present specimen

Items	Authority	
	Brown (1931)	Present
Trophont		
Shape	Pyriform or ovoid	Pyriform or ovoid
Size (diameter, µm)	30-90	30-80
Stigma	Present	Present
Food vacuoles	Present	Present
Starch granules	Present	Present
Tomont		
Shape	Spherical	Spherical and quadrilateral
Size (diameter, µm)	60-90	80-90
Dinospore		
Size (diameter, µm)	10-15	

Fig. 2. Photomicrographs of non-parasitic form of dinoflagellates in Black seabream, *Acanthopagrus schlegeli*. A, Encysted parasite, $\times 400$. The arrow indicated cyst wall. B, Parasite showing to divide into 4 cells, $\times 200$. C, 32-cell stage, $\times 200$. D, Ruptured cyst with released dinospore (arrow), $\times 200$. E, A living dinospore (D) of parasite, $\times 1000$.

인 2분열로 구형의 자충을 생성하였다. 그리고 8회의 분열 끝에 총체는 Fig. 2(D)와 같이 Cyst wall로부터 방출되어 Fig. 2(E)와 같이 $10\text{-}15 \times 10\text{-}14 \mu\text{m}$ 의 크기로 전체 형태가 둥글고 양끝이 편평하였으며, 체내에 다수의 과립을 가지고 있는 자충으로 분화하는 것을 알 수 있었으며 (Table 2), 총체 중간 부위의 가로 홈과 세로 홈에서는 허리띠 모양의 편모와 뒤로 길게 늘어진 편모가 각각 1개씩 관찰되었다. 그리고 안점은 기생 후기의 총체 및 분열형에서는 세포질이 매우 불투명하여 관찰이 곤란했으나, 기생 초기의 총체 및 자충에서는 총체의 중간지점 바로 밑에 붉은 색을 보이는 안점을 확인할 수 있었다.

기생충의 발달 및 번식법

$25 \pm 1^\circ\text{C}$ 인 이 기생충의 발생 사육수에 조피볼

락 치어를 노출시켜 총체의 발달 과정을 확인한 결과는 Table 3과 같다. 노출전 평균 총체 크기가 $12 \mu\text{m}$ 이었던 것이 시간이 경과함에 따라 그 크기도 증대되어 노출 12시간째에는 평균 30μ , 5일째에는 평균 75μ 로 측정되었으며, 또 개체에 따라서는 감염 3일째부터 육안적으로 미세한 흰 점이

Table 3. Relationship between the size and days of postexposure during artificial infection on Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*, at $25 \pm 1^\circ\text{C}$

Postexposure (day)	Diameter (μm)		
	Range	Mean	Number of parasite
0	10-15	12	50
0.5	27-42	30	25
1	35-48	42	25
3	52-73	62	25
5	68-85	75	25

Table 4. Comparison of the life cycle of *Amyloodinium* sp. from the present specimen and the literature

Items	Authority	
	Bower <i>et al.</i> (1987)	Present
Host species	<i>Amphiprion ocellaris</i> , <i>Morone chrysops</i> × <i>Morone saxatilis</i>	<i>Sebastes schlegeli</i>
Temperatures	25-27°C	24-26°C
Duration on the host (mean)	2-4 days	3-5 (3.75) days
Reproduction period (mean)	3 days	3-4 (3.3) days
Number of dinospore/tomont	256	256

확인됨에 따라 이 때부터 총체가 성숙되는 것을 알 수 있었다. 한편, 총체의 형태는 부착기, 편모 및 세포질의 변화가 뚜렷하였는데, 수중에서 자유 유영하던 총체가 2개의 편모를 가지고 있던 것이 숙주 침습직후에 편모를 상실하고 부착기가 출현하였는데, 이때 부착기는 미미하게 관찰되었다 (Fig. 2(E)). 그리고 시간이 경과함에 따라 총체는 숙주에 단단히 고착하기 위해 부착기를 더욱 발달시켰으며 (Fig. 1(B)), 어체에서 충분히 성숙한 총체는 부착기를 다시 체내로 흡수시켜 구형의 총체 상태로 숙주로부터 이탈하여 비기생기로 들어가 구형의 Cyst를 형성하는 것으로 나타났다 (Fig. 2 (A)). 그리고 세포질내의 식포는 총체의 크기가 증대되고 성숙함에 따라 현저해지는 것으로 관찰되었다 (Fig. 1(C)).

이 기생충의 번식은 비기생 상태에서 이루어지고 있었으며, 어체의 기생 상태에서 성숙한 총체는 이탈하여 수중에서 Cyst를 형성하고, 8회의 2분열로서 자충(dinospore)을 생성하는 것으로 조사되었다. 그리고 수온 24-26°C의 어체에서 3-5(평균 3.75)일만에 성숙하며, 이탈하여 수중에서 3-4(평균 3.3)일만에 분열하는 것을 알 수 있었다 (Fig. 2, Table 4).

기생충의 인위 감염 유도 및 병리조직상

조피볼락 치어를 연속 통과시키는 방법으로 약 15일 동안 감염을 유도할 수 있었고, 전체 20 마리 중 1일 평균 6마리의 감염어를 확보할 수 있었다. 한편, 이들 감염어의 아가미 조직 관찰에서 감염 초기에는 Fig. 3(A)와 같이 뚜렷한 병변을 볼 수 없었지만, 감염이 진행되면서 지속적인 재감염으로 인하여 Fig. 3(B, C)와 같이 아가미 상피 세포는 과잉 형성이 일어나 새판이 비후되고 밀착된

Fig. 3. Photographs of 5 µm cross section of gill from Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* infected artificially. A, Early stage (2 days postexposure), ×200. B, Mid stage (4 days postexposure), ×200. C, Reinfected stage (10 days postexposure), ×200. P, parasites

것을 볼 수 있었다. 이러한 상태에 이르게 되면 감염어는 호흡 장애를 일으켜 폐사하는 것으로 추정되었다.

고 찰

대부분의 와편모류는 수중 생태계에서 자유 생활하는 원생동물이며, 식물과 동물의 양쪽 특성을 가지고 있기 때문에 학자에 따라서는 식물군 또는 동물군으로 취급되어 왔다. Levine *et al.*(1980)은 이들을 원생 동물로서 육질편모충 문(Phylum Sa-

cromastigophora), 편모충 아문(Subphylum Mastigophora), 식물성편모충 강(Class Phytomastigophorea), 와편모충 목(Order Dinoflagellida)으로 분류하였으며, Cachon and Cachon(1987)은 이들 중에서 어류에 기생하는 것은 크게 2과(Family Oodinidae와 Family Syndiniales)에 포함된다고 하였다. 또한, Noga and Levy(1995)는 기생성 Oodinids의 경우 특징적으로 고착기를 가지며 외부 기생충을 포함한 세포외 기생성인 반면, 기생성 Syndinids는 고착기를 볼 수 없는 세포내 기생성임을 지적한 바 있다.

본 실험의 감성돔에 기생한 총체의 형태를 조사한 결과, 기생 상태의 총체는 색깔을 나타내지 않아 엽록체를 가지지 않는 것으로 보였으나 총체 핵 주변에는 다수의 식포가 존재하였고, 또한 총체 말단 부위에 가근상 돌기가 있는 부착기가 관찰되었다. 그리고 자충에서는 총체 중간 부위의 가로홈과 세로홈에서 허리띠 모양의 편모와 뒤로 길게 늘어진 편모가 각각 1개씩 관찰됨에 따라 본 총이 와편모충류의 하나인 기생성 Oodinids에 속하는 것으로 보인다.

이전까지 모든 어류 병원성 Oodinids는 하나의 Oodinium 속으로 분류되어 왔으나, Lom(1981)은 이들이 영양형의 형태 중 숙주 부착형태 및 영양 방법에서 현저하게 차이가 나기 때문에 몇 개의 속으로 분리할 것을 제창한 바 있다. Lom and Dykova(1992)와 Noga and Levy(1995)는 기생성 Oodinids에 *Amyloodinium* Brown and Hovasse, 1946, *Picnoodinium* Lom, 1981 및 *Crepidoodinium* Lom and Lawler, 1981 등과 같이 3개의 속이 있다고 하였다. 이들 3속의 형태·구조적인 특징은 다음과 같이 요약 정리할 수 있다. "3 속의 기생충은 모두 점액낭(mucocysts)과 전분성 과립(starch granules)을 가지고 있으며, *Amyloodinium* 속은 총체내 stomopode, clove-like bodies, lytic bodies, 안점 및 식포 등을 가지고 있어서 stomopode를 숙주 상피 세포내에 깊숙히 삽입시켜 심각한 세포 손상을 일으키는 반면, *Picnoodinium* 및 *Crepidoodinium*속은 총체내 상기 기관들이 관찰되지 않으나 특징적으로 엽록체가 존재하며 단지 stalk로 숙주 상피 세포에 부착하여 가벼운 세포 손상을 일으킨다."

감성돔에 기생한 Oodinids의 형태 형질을 조사한 결과, 기생 총체내에서 다수의 식포와 발달된 부착기 그리고 자충의 총체에서 쌍편모(허리띠 모양의 편모와 뒤로 길게 늘어진 편모)와 안점을 확인할 수 있었으나 와편모충류의 속을 분류함에 있어 매우 중요한 형질인 엽록체와 부착기의 미세 구조는 전자현미경적 관찰이 이루어지지 않아 정확히 밝히지는 못하였다. 그러나 일반적으로 엽록체를 가지고 있는 와편모류의 경우 특유의 색깔을 나타낸다는 점에서 색깔을 나타내지 않는 본 총은 엽록체가 존재하지 않는 것으로 추정된다. 또한, 본 총의 부착기내 stomopoda의 미세구조를 확인하지는 못하였지만, 감염 부위인 아가미 조직에서 상피 세포가 심각한 손상을 일으킨 것을 볼 수 있어서 이 기생충이 stomopoda를 숙주 상피 세포내에 깊숙히 삽입 시키고 있는 것으로 판단됨에 따라 본 총이 부착기내 stomopoda를 가지고 있음으로 추정됨에 따라 본 총이 *Amyloodinium*속에 속하는 것으로 판단되었다.

일반적으로 *Amyloodinium*속에는 *A. ocellatum* (Brown, 1931) 1종이 알려져 있으며 종의 분류 형질 기준은 영양형의 형태인 숙주 부착형태 및 영양 방법에 두고 있다(Lom, 1981; Mills and McLean, 1991; Lom and Dykova, 1992; Lom *et al.*, 1993). 한편으로 Lawler(1980)과 Noga *et al.* (1991)은 *Amyloodinium*의 종 또는 strain이 하나 이상일 것으로 시사한 바 있고 Landsberg *et al.* (1994)은 전자 현미경적 관찰에서 *A. ocellatum* (Brown, 1931)의 자충이 종간에 형태적으로 차이가 난다는 점을 지적하여 종의 분류 형질 기준으로서 자충의 thecal plate pattern과 tabulation이 중요하다고 강조하였다.

감성돔에 기생한 *Amyloodinium* sp.의 형태 계속학적으로 조사한 결과 Brown(1931)과 Brown and Hovasse(1946)가 기재한 *A. ocellatum*과 거의 일치하는 것으로 나타나 본 총이 *A. ocellatum*(Brown, 1931)으로 동정될 수 있음으로 판단되었지만, 본 조사에서는 최근 이 기생충의 분류 형질로서 중요한 것으로 보고된 자충의 전자현미경적 관찰이 이루어지지 않아 일부 연구자들이 지적한 분리 유래에 따른 종 또는 strain 간의 차이를 밝히지는 못했다. 그러나 현재까지도 본 총의 자충 형태와 안점

의 위치가 연구자에 따라서는 서로 다르게 보고되는 등(Brown, 1934; Nigrelli, 1936; Lawler, 1980), 논란의 여지가 많기 때문에 외편모충의 분류 형질로서 정당성을 얻지 못하고 있다(Noga and Levy, 1995). 외편모충의 분류 형질 기준으로서 자충의 형태가 인정될 때까지는 더 많은 연구가 필요하며 앞으로 이에 관한 연구 결과가 나올 때까지는 Lom(1981)이 제시한 분류 형질 기준에 따를 필요가 있다고 사료되었다.

Amyloodinium sp.에 의한 질병은 amyloodiniosis, 해산 velvet disease, 해산 *Oodinium* disease 또는 해산 oodiniosis 등과 같이 다양한 이름으로 명명되고 있으며 원인충의 형태학적, 세포학적 및 번식주기에 관해서는 오래전에 밝혀진 바가 있다. Nigrelli(1936)와 Brown and Hovasse(1946)는 이 기생충은 성숙한 영양형이 숙주로부터 떨어져 나와 cyst wall을 형성하고 그 속에서 다분열법에 의해 256개의 자충(8-13 μ m)을 생성함으로써 번식이 이루어진다고 하였다. Paperna(1984)는 수온 19-24°C의 어체에서 약 3-6일 만에 기생충이 성숙하고, 수온 16-30°C에서 번식이 가능하며 수온 25°C에서는 약 3일만에 번식이 완료된다고 하였다. 한편, Bower et al.(1987)은 수온 25-27°C에서 자충으로 인위 감염시킨 어체에서 2일 후부터 영양형을 얻을 수 있다고 하여 이 기생충이 자충 감염 후 2일만에 성숙될 수 있음을 시사하였다.

25 \pm 1°C의 본 충 발생 사육수에 조피볼락 치어를 노출시켜 충체의 발달 과정을 조사한 결과, 노출 후 시간이 경과함에 따라 기생충의 크기 및 세포 기관들이 변화하였고, 감염 3일째부터 육안적으로 미세한 흰점이 확인됨에 따라 본충은 수온 25 \pm 1°C에서 약 3일부터 성숙되기 시작하여 약 5일만에 성숙이 완료되는 것으로 조사되어 상기 저자들이 보고한 결과와 일치하였다. 또한 이 기생충의 번식은 비기생 상태에서 이루어지고 있으며, 어체의 기생 상태에서 성숙한 충체는 이탈하여, 수중에서 피낭을 형성하고 지속적인 2분열에 의하여 자충을 생성하며 수온 25 \pm 1°C에서는 3-4일 만에 분열이 완료되는 것으로 확인되어 이전의 보고와 일치된 결과를 얻었다.

이 기생충의 습성, 생태, 생화학 및 미세 구조 등과 같은 연구와 나아가서 기생충에 대한 궁극적

인 대책 마련을 위해서는 기생충의 배양이 중요하지만, 이 기생충이 생체에서만 생존하는 습성으로 말미암아 아직도 *in vitro*에서 배양되지 않고, 감수성 있는 숙주를 연속 통과시키는 *in vivo*로 충체를 증식시키고 있다. Lawler(1980)는 수온 19-24°C의 조건에서 clown fish(*Amphiprion ocellaris*)를 연속 통과시켜 충체를 증식시킨 바가 있으며, Bower et al.(1987)은 수온 25-27°C, pH 8.2-8.4 및 염분농도 15 ppt(clown fish)와 30 ppt(잡종 striped bass, *Morone chrysops* \times *Morone saxatilis*)의 조건에서 10-15 dinospore/ml의 밀도로 30분간 노출시켜 노출 후 2일째부터 영양형의 수집이 가능하며, 이들 영양형을 항생제가 첨가된 인공해수에 일정시간 배양함으로써 거의 같은 크기 및 연령의 충체를 얻을 수 있다고 보고한 바 있다. 한편, Lawler(1977b)는 고농도의 자충에 노출시키면 숙주를 12시간만에 죽일 수 있다고 하여 *in vivo*에서 기생충의 증식이 어려운 점을 보고하였다. 또한 Paperna(1984)는 *in vivo* 상의 배양은 수온, 염분농도, 용존 산소 농도 및 대사산물의 농도에 따라 영향을 많이 받으며 그 중에서도 염분농도는 매우 중요하다고 지적하였다. 그는 홍해에서 유래된 기생충의 번식에는 약 50 ppt가 적합하며 최소 유효 염분 농도는 12-20 ppt라고 하였고 Hojaard(1962)는 덴마크 유래의 기생충은 10 ppt의 염분농도에서 번식이 억제된다고 하였다. 그러나 Lawler(1977b)에 따르면 멕시코만 유래의 기생충이 번식 가능한 염분 농도는 2.8-45 ppt라고 보고한 바 있다.

수온 25 \pm 1°C, pH 7.6 \pm 1, 염분농도 33 \pm 1 ppt의 조건에서 조피볼락 치어를 연속 통과시키는 방법으로 약 15일 동안 감염어를 확보할 수 있었지만, 이후에는 감염된 어체를 확보하기 어려웠다. 이는 최초 배양 시작시 부터 약 15일 동안에는 처음과 동일한 조건을 유지시킬 수 있었으나 이후에는 계절의 특성상 실험실내 수온 상승과 더불어 지속적인 순환 여과에 의한 염분 농도의 급격한 상승으로 본 충체의 적절한 환경 조건의 범위를 벗어난 것과 관련이 있다고 사료되므로 *in vivo*의 충체 배양은 무엇보다도 환경 조절이 관건이라고 판단된다. 그리고 적절한 환경 조절이 지속적으로 가능하다면 조피볼락 치어로 *Amyloodinium* sp.의 배양이 가능한 것으로 사료된다. 한편, 이들 감염어의

아가미 조직 관찰에서 지속적인 재감염으로 인하여 아가미 상피 세포는 과잉 형성이 일어나 새판이 비후되어 곤봉화된 것을 볼 수 있어서 Lawler (1980)과 Paperina(1984) 등의 보고와 일치하는 것으로 조사되었으며, 감염어의 경우 이 상태에 이르게 되면 호흡 장애를 일으켜 폐사하는 것으로 판단되었다.

결론적으로 매우 빠른 번식률과 최적 조건(수온, 24-26°C; 비중, 1.0024-1.0236; pH 7.68-7.75)에서 1주일 이내에 생활사가 완성되는 *Amyloodinium* sp. 가 감성돔 친어에 기생한 것으로 밝혀짐에 따라 이들 감성돔 친어 외에도 종묘 생산용 친어를 수용하고 있는 육상 탱크 특히, 참돔과 농어 친어 사육조에 이 기생충의 침입 가능성이 높을 것으로 예상되고, 현재까지도 이 기생충의 완전한 구제법이 없으므로 무엇보다도 감염력이 있는 자충이 양식장으로 도입되는 것을 차단시켜야만 된다. 이를 위해서는 최초 새로운 친어를 수용할 때는 반드시 20일 정도 사육수를 소독하고 난 후에 수용해야 하며 친어를 수용하고 난 후에도 수질 관리에 만전을 기해야 하며 주기적으로 어체의 상태를 면밀히 살펴보는 것이 요구된다.

참고문헌

- Aiello, P. and D'Alba, A.: *Amyloodinium ocellatum* infestation in yellow tail, *Seriola dumerili*, intensively reared in Sicily, Italy. *Bul. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 6: 110-111, 1986.
- Barbo, A. and Francescon, A.: *Parassitosi da Amyloodinium ocellatum* (Dinophyceae) su larve di Sparus aurata allevate in un impianto di riproduzione artificiale. *Oebalia*, 11: 745-752, 1985.
- Basticados, M. C. and Quintio, G. F.: Occurrence and pathology of an *Amyloodinium-like* protozoan parasite on the gills of grey mullet, *Mugil cephalus*. *Helgol nder Meeresunter*, 37: 595-601, 1984.
- Becker, C. D.: Flagellate parasites of Fishes. In: Krier, J. P. (ed.) *Parasitic Protozoa*. Academic Press, New York, pp. 357-416, 1977.
- Bower, C. E., Tuner, D. T. and Biever, R. C.: A standardized method of propagating the marine fish parasite *Amyloodinium ocellatum*. *J. Parasitol.*, 73: 85-88, 1987.
- Brown, E. M.: Note on new species of dinoflagellate from the gills and epidermis of marine fishes. *Proc. Zool. Soc. Lond.*, 1931: 345-346, 1931.
- Brown, E. M.: On *Amyloodinium ocellatum* Brown, a parasitic dinoflagellate causing epidemic disease in marine fish. *Proc. Zool. Soc. Lond. Part 3*, pp. 583-607, 1934.
- Brown, E. M. and Hovasse, R.: *Amyloodinium ocellatum* (Brown), a peridinium parasite on marine fish. *Proc. Zool. Soc. Lond.*, 116: 33-46, 1946.
- Cachon, J. and Cachon, M.: Parasitic dinoflagellate. In: Taylor, F. J. R. (ed.) *The Biology of Dinoflagellate*. Blackwell, Oxford, pp. 571-610, 1987.
- Gallet de Saint-Aurin, D.: Disease of sea bass *Dicentrarchus labrax* in intensive rearing programs in Martinique French West Indies. *Proc. Gulf Caribbean Fish. Inst.*, 38: 144-163, 1987.
- Hojgaard, M.: Experiences made in Denmark's Akvarium concerning the treatment of *Oodinium ocellatum*. *Bul. l'Inst. Ocean. (Monaco) Numero Special 1A*: 77-79, 1962.
- Jacobs, D. L.: A new parasitic dinoflagellate from freshwater fish. *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 65: 1-17, 1946.
- Landsberg, J. H., Steidinger, K. A., Blakesley, B. A. and Zondervan, R. L.: Scanning electron microscope of dinospores of *Amyloodinium* cf. *ocellatum*, a pathogenic dinoflagellate parasite of marine fish, and comments on its relationship to the Peridinales. *Dis. Aquat. Org.*, 20: 23-32, 1994.
- Lawler, A. R.: The parasitic dinoflagellate *Amyloodinium ocellatum* in marine aquaria. *Drum and Croaker*, 17: 17-20, 1977a.
- Lawler, A. R.: Dinoflagellate (*Amyloodinium*) infestation of pompano. In: Sindermann, C. D. (ed.) *Disease and Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture*. Elsevier, Amsterdam, pp. 257-264, 1977b.
- Lawler, A. R.: Studies on *Amyloodinium ocellatum* (Dinoflagellata) in Mississippi Sound: natural and experimental hosts. *Gulf Res. Rep.*, 6: 403-413, 1980.
- Levine, N. D., Corliss, J. O., Cox, F. E. G., Deroux, G., Grain, J., Honigberg, B. M., Leedale, G. F., Loeblich, A. R., Lom, J., Lynn, D., Merinfeld, E. G., Page, F. C., Polyansky, Y., Sprague, V., Vavra, J. and Wallace, F. G.: A newly revised classification of Protozoa. *J. Protzool.*, 27: 37-58, 1980.
- Lom, J.: Fish invading dinoflagellates: A synopsis of existing and newly proposed genera *Folia Parasitol.*, 28: 3-11, 1981.
- Lom, J. and Dykova, I.: Protozoan parasites of fish. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*,

- 26, pp. 257-264, 1992.
- Lom, J. and Lawler, A. R.: An ultrastructural study on the mode of attachment in dinoflagellates invading the gills of Cyprinodontidae. *Protistol.*, IX: 293-309, 1973.
- Lom, J., Rohde, K. and Dykova, I.: *Crepidoodinium australe* n. sp., an ectocommensal dinoflagellate from the gills of *Sillago ciliata*, an estuarine fish from the New South Wales coast of Australia. *Dis. Aquat. Org.*, 15: 63-72, 1993.
- Mills, C. E. and McLean, N.: Ectoparasitism by a dinoflagellate (Dinoflagellata: Oodiniidae) on 5 ctenophores (Ctenophora) and a hydromedusa (Cnidaria). *Dis. Aquat. Org.*, 10: 211-216, 1991.
- Nigrelli, R. F.: The morphology, cytology, and life history of *Oodinium ocellatum* Brown, a dinoflagellate parasitic on marine fishes. *Zoologica*, 21: 129-164, 1936.
- Noga, E. J., Landsberg, J. H. and Smith, S. A.: Amyloodiniosis in cultured hybrid striped bass (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*) in North Carolina. *J. Aquat. Anim. Health*, 3: 294-297, 1991.
- Noga, E. J. and Levy, M. G.: Dinoflagellida (Phylum Sacromastigophora). In: Woo, P. T. K. (ed.) *Fish Diseases and disorders*, Cab International, Wallingford, pp. 1-25, 1995.
- Paperna, I.: Reproduction cycle and tolerance to temperature and salinity of *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931) (Dinoflagellida). *Ann. Parasitol. Comp (Paris)*, 59: 7-30, 1984.
- 전세규: 어병학. 제일문화사, 부산, pp. 170-173, 1985.

Studies on the Features of *Amyloodinium* sp. Parasitized in Black Seabream, *Acanthopagrus schlegeli*

Bo-Young Jee, Ki-Hong Kim* and Soo-Il Park*

Pathology Division, National Fisheries Research and Development Institute

**Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University*

To know the features of *Amyloodinium* sp. parasitized in Black seabream, *Acanthopagrus schlegeli*, morphology and reproduction type of the parasite were investigated. Infection mode and histopathology of the parasites were also studied. In the developmental and morphological observation, the parasite passed through parasitic and non-parasitic phases with three developmental stages termed trophont, tomont, and dinospore. The trophont, 30-80 μm ovoidal or pyriform, for the vegetative stage had a spherical nucleus with 15 μm in diameter, many food vacuoles and starch grains in cytoplasm. The tomont, 80-90 μm spherical, for the reproductive stage resorbed a stalk, secreted a cyst wall and reproduced within it. A dinospore, small 10-15 μm biflagellated, for the infestation stage had a stigma. The parasite was propagated for 15 days by serial passage in Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) at $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Trophonts began to detach from the fish about 3 days after infection and was completed within 5 days at $25 \pm 1^\circ\text{C}$. It took from 3 to 5 days to reproduce at the same temperature. Reinfected fish showed that parasites penetrated under the epithelia of gill filament and gill lamellae causing hyperplasia and degeneration at infected area.

Key words: Black seabream, *Amyloodinium* sp., Korean rockfish