J. Korean Fish. Soc. 32(3), 303~309, 1999

한수지, 32(3), 303~309, 1999

곰소만에 있어 바지락포자충, *Perkinsus* sp.의 출현에 관하여

박경일 · 최광식 · 최진우*
제주대학교 해양생산과학부, *한국해양연구소

Epizootiology of *Perkinsus* sp. Found in the Manila Clam, *Ruditapes philippinarum* in Komsoe Bay, Korea

Kyung-Il PARK, Kwang-Sik CHOI and Jin-Woo CHOI*
Faculty of Applied Marine Science, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea
**Korea Oceanography Research and Development Institute, Ansan, P.O. Box 29, Seoul 425-600, Korea*

Mass mortality of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* has been reported all along the west and south coast of Korea for the past several years. As a pathogenic agent, *Perkinsus* sp., an endoparasitic protozoan has been identified in this study and believed to be responsible for the mass mortalities. Prevalence and infection intensity of *Perkinsus* sp. was investigated from a Manila clam population inhabiting at Komsoe Bay in the west coast where mass mortality of the clam has been reported. A total of 142 Manila clam, 50 oyster, *Crassostrea gigas*, 10 ark shell, *Scapharca broughtonii*, and 5 predatory gastropoda, *Rapana venosa* were examined for the presence and the quantity of *Perkinsus* sp. Ray's fluid thioglycollate medium method (FTM method) with modified Mackin's infection intensity scale and Choi's quantitative method were used in detecting and quantifying the parasite. All individuals of *R. philippinarum* examined in this study were infected with *Perkinsus* sp., indicating 100% prevalence while none of the oysters and the gastropods exhibited the parasite. Six to ten individual hypnospores of *Perkinsus* sp. were counted from the ark shells. The number of hypnospores in the clam tissues varied from 16,667 to 4,091,667, with a mean number of 1,077,628. Average infection intensity according to Mackin's was 2.87, indicating a moderate infection. A negative correlation was observed between the number of *Perkinsus* sp. in the tissue and the condition index, a ratio tissue wet weight to shell cavity volume. The clam size and the infection intensity in terms of total number of parasites were positively correlated; the bigger clam, the heavier infection. Such high number of *Perkinsus* sp. counted in the clams could be enough to cause physiological disturbance of clams, such as retarded growth and reproduction. It is also believed that such a high infection leads mortality of the clam via continuous draining of the energy by metabolic activities and reproduction of the parasites. Correlation between the condition index and the infection intensity observed in this study supports this hypothesis.

Key words: Perkinsus, *Ruditapes philippinarum*, epizootiology, mortality, parasitism

서 론

바지락은 우리 나라에서 굴과 홍합 다음으로 많이 생산되는 패류로서 산업적으로 매우 중요한 수산 자원이다. 1990년대 들어 60,000 톤을 상회하던 바지락 천해양식 생산량은 해마다 감소하여 1995년도에는 15,000 톤을 생산하는데 그치고 있으며, 이는 바지락 양식 어민들에게 큰 경제적 손실이 되고 있다 (한국수산회, 1996). 이와 같은 바지락 생산의 감소는 최근 들어 남 · 서해안에서 발생하고 있는 여름철 고수온기의 바지락 대량 폐사가 그 원인인 것으로 분석되고 있으나, 폐사의 직접적인 원인에 대하여는 아직까지 정확히 알려지지 않고 있어 그 원인 규명과 대책 수립에 대한 관심이 높아가고 있다. 바지락 대량 폐사 원인은 여러 가지로 추측되며, Choi 와 Park (1997)은 바지락에 기생하는 *Perkinsus* sp. (이 연구를 통하여 바지락포자충으로 부르기로 한다)의 국내산 바지락에 있어 그 존재를 밝힌 보고서에서 바지락 개체 당 100,000 내지 3,500,000개의 바지락포자충 개체를 보고한 바 있다. 최 등 (1998) 역시 바지락의 대량 폐사 원인을 고수온에 의한 생리적 스트레스, 퇴적물 조성의 악화 및 기생 생물인 *Perkinsus* sp. (바지락포자충) 등으로 규명하였다 (국립수산진흥원, 1998; 최 등, 1998).

Perkinsus는 연체동물에 기생하는 원생동물로, 현재 세계적으로 *P. marinus, P. olseni, P. atlanticus* 및 *P. karlssoni* 등, 4 종이 알려져 있다. 이들은 모두 해산 연체동물을 숙주로 삼는데, *P. marinus*는 대서양산 굴 *Crassostrea virginica*에서 (Mackin et al., 1950; Ray, 1952) *P. olseni*는 호주산 전복 *Haliotis ruber*에서 (Lester and Davis, 1981), *P. karlssoni*는 해만가리비 *Argopecten irradians*에서 (McGladdery et al, 1991), 그리고 *P. atlanticus*는 지중해산 바지락 *Ruditapes decussatus*에서 (Azevedo, 1989) 발견되어 보고되었다 (Perkins, 1996; Ray, 1996). 특히 *P. marinus*는 1950년대 초 이들의 존재가 처음 발견된 이래 현재까지 미국의 대서양과 멕시코만 연안의 대서양산 굴 수산업에 막대한 피해를 주고 있으며, *P. atlanticus*도 포르투갈과 지중해 연안 바지락에 기생하며 이들의 대량 폐사를 유발하는 것으로 알려져있다 (Auzeoux-Bordenave, 1995; Andrews, 1996; Azevedo, 1989; Chagot et al., 1987).

Perkinsus sp.의 감염 여부를 진단하기 위해서는 Fluid Thioglycollate Media (FTM)에 시료를 넣어 암실에서 약 2주간 배양 후 Lugol's iodine으로 염색하여 확인하는 Ray의 방법 (Ray 1954)이 현재 널리 이용되고 있으며, 감염 정도를 판정하는 방법으로는 Mackin의 기준 (Mackin's scale, Mackin 1962)이 개발되어 이용

이 연구는 교육부 제 11차 IBRD 교육차관 신진교수 연구기자재 지원에 의해 수행되었음.

되고 있다. FTM에서 배양된 Perkinsus를 정량적으로 분석하는 방법으로 Choi et al. (1989)은 2 M의 NaOH를 이용하여 불필요한 조직을 제거하고 Perkinsus만 순수 분리해 내는 방법을 개발하였으며, 현재 Perkinsus의 감염을 정량적으로 확인하는 방법으로 널리 이용되고 있다 (Choi et al., 1989; Rodriguez and Navas 1995; Fisher and Oliver 1996). 또한 감염 초기 단계에서의 신속하고 정확한 진단을 위해서 면역학적인 방법을 개발하여 Perkinsus진단에 적용하려는 시도가 진행되고 있다 (Dungan and Roberson 1993; Choi et al., 1992, 1993, 1994).

이 연구는 곰소만 일대에서 서식하고있는 바지락의 대량 폐사 원인 규명의 일환으로 폐사의 원인 생물로 추정되는 바지락포자충, *Perkinsus* sp.의 감염 여부와 정량적인 감염 정도를 조사하였다. 또한 바지락과 서식환경이 근접한 참굴, *Crassostrea gigas*, 피조개, *Scapharca broughtonii* 및 피뿔고둥, *Rapana venosa*의 *Perkinsus* sp. 감염 유무를 검사함으로써 이 기생충의 생태학적 특성과 다른 패류의 감염 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시료채집

실험에 쓰인 바지락은 1997년 12월 12일 전라북도 곰소만 (Fig. 1)에서 채집되어 당일 실험실로 옮겼다. 한편 바지락과 같은 환경에 분포하고있는 참굴, 피조개, 및 피뿔고둥 등은 1998년 1월 18일 곰소만에서 채집하여 실험실로 옮겨졌으며, 도착 즉시 이들의 육질 습중량을 전자 저울을 이용, mg 까지, 패각의 길이 및 폭 등은 버니어캘리퍼스를 이용 mm 까지 기록하였다. 실험에 이용된 바지락은 각폭에 따라 15~19 mm, 20~24 mm, 25~29 mm, 30~34 mm, 35~39 mm, 40~44 mm 크기의 개체군으로 나누었다. 또한 바지락의 비만도 (condition index, CI)는 패각 부피에 대한 육중량의 비, 즉 $CI=W/H^3$ (W=육질 습중량, H=각장)의 관계식을 이용하여 산출하였다.

2. 감염진단

바지락포자충 진단에 쓰인 배양액은 20 g의 NaCl과 FTM 29.3 g을 1 ℓ의 증류수에 넣은 후 황금색으로 변할 때까지 가열하여 제조한 뒤, 15 mℓ 시험관에 10 mℓ 씩 넣어 고압 멸균기를 이용 멸균 및 산소를 제거하였다. 멸균된 배양액은 사용 전 까지 차광된 장소에서 보관하였으며, 사용 직전 각각의 시험관에 50 μℓ의 nystatin-chloramphenicol 항생제 (Sigma)를 첨가하여 박테리아의 번식을 억제하였다. 바지락의 경우 그 크기가 크지 않으므로 각각의 개체를 10 mℓ FTM 배양액에 투입하여 20℃의 암실에서 2주간 배양하였으며, 굴, 피조개, 피뿔고둥 등은 100 mℓ 유리병에 FTM과 항생제를 넣은 뒤 시료를 투여하여 바지락과 같은 기간 동안 차광된 장소에서 배양하였다. FTM에서 배양이 완료된 시료는 해부현미경 하에서 Lugol's iodine으로 염색하여 *Perkinsus* sp.의 감염 여부를 조사하였으며 감염이 확인된 바지락은 Mackin의 감염 기준 (Table 1)에 따라 감염 정도를 기록하였다.

FTM 배양이 완성된 시료내에 분포하는 바지락포자충의 수는 시료를 2,000 RPM 으로 10분간 원심 분리하여 상등액을 제거한 뒤, FTM과 같은 부피의 2 M NaOH 용액을 가하여 60℃의 항온수조에서 1 시간동안 반응시켜 바지락포자충을 제외한 모든 세포를 제거하였다. NaOH 처리가 완결된 시료는 phosphate buffered saline (pH 7.3)으로 원심 분리를 통하여 여러 번 세척하여 불순물을 제거하였다. 최종적으로 바지락포자충의 수는 혈구계수판을 이용하여 4회 반복 측정하였다.

3. 조직병리학적 관찰

바지락포자충의 현미경적 관찰을 위하여 NOAA의 표준 생식소

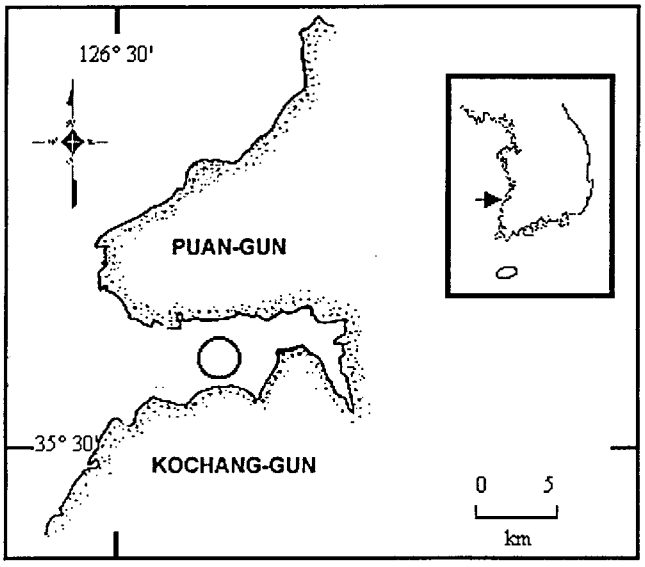

Fig. 1. Location of the study area.

Table 1. Mackin's scale with numerical code used in this study for the determination of *Perkinsus* sp. infection intensity

INFECTION INTENSITY	NUMERICAL CODE	DESCRIPTION
NEGATIVE	0	No *Perkinsus* hypnospore present in the tissues
VERY LIGHT	0.5	Less than ten hypnospres present in the tissues
LIGHT	1	10 to 100 hypnospores resent in the tissues
LIGHT MODERATE	2	>125 hypnospores present, but less than 25% of the tissue covered with hypnospores
MODERATE	3	25 to 50% of the tissues examined covered with hypnospores
MODERATE HEAVY	4	50 to 75% of the tissues examined covered with hypnosores
HEAVY	5	75 to 100% of the tissues covered with hypnospores

분석 방법 (Powell et al 1993)에 따라 다음과 같이 조직 절편을 제작하였다. 분석에 쓰인 바지락은 생식소와 아가미, 소화맹낭이 포함되도록 중앙 부위를 5 mm의 두께로 절단하여 Bouin's fixative에 24시간 고정하였다. 고정이 완료된 시료는 흐르는 물에 24 시간 동안 수세 한 후, 농도가 다른 알코올 및 자일렌에 의한 탈수과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 포매된 조직 시료는 3 μm 두께의 박편으로 제작된 후 Harri's hematoxylin 과 Eosin Y로 비교 염색되었다. 바지락포자충의 검사는 400 X 현미경하에서 아가미, 생식소, 소화맹낭 등을 집중적으로 관찰하였다. 바지락포자충의 크기는 1000 배 현미경으로 관찰한 영상을 카메라로 촬영한 뒤 스케너를 이용하여 컴퓨터에 입력한 후, Image Pro® software를 이용하여 그 직경을 측정하였다.

결 과

이 연구에 이용된 바지락은 패각 길이가 15~19 mm 개체군이 23.9%, 20~24 mm 개체군이 19.7%, 25~29 mm 개체군이 19.0%, 30~34 mm 개체군이 28.2%, 35~39 mm 개체군이 6.3%, 40~44 mm 개체군이 2.1%로 나타나 이 연구에 사용된 시료는 비교적 크기가 작은 바지락이었다 (Fig. 2). 바지락의 육질 습중량과 패각 길이와의 상관 관계는

$y=0.00004\ x^{2.958}$ (y=육질 습중량, x=각폭)

로 나타났다 (Fig. 3).

1. 바지락포자충의 검출 및 감염 정도

FTM 배양액을 이용한 바지락포자충의 감염 검사 결과, 곰소만에서 채집되어 분석에 이용된 모든 바지락에서 바지락포자충이 관찰되어 감염율 (prevalence)은 100% 인 것으로 나타났다. 바지락포자충은 Logol's iodine solution으로 염색시 짙은 갈색이나 푸른색으로 나타났으며, 그 크기는 직경 40~80 μm의 원형이었다 (Fig. 4). 바지락 체내에서 바지락포자충이 주로 분포하는 부위는

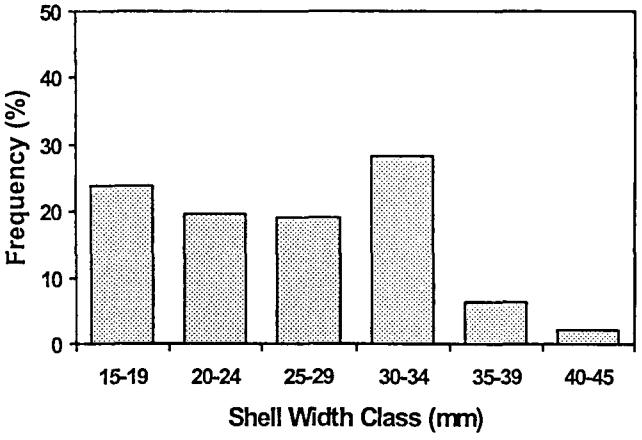

Fig. 2. Size distribution of *R. philippinarum* used in this study.

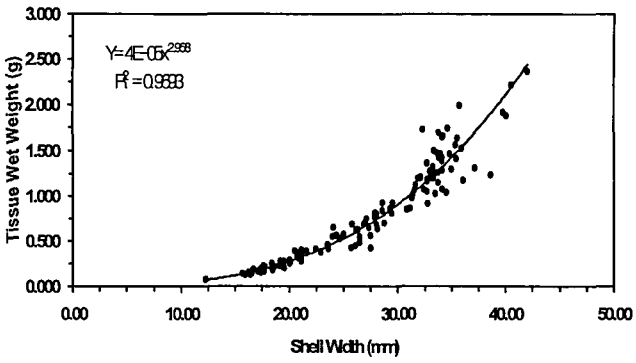

Fig. 3. Correlation between tissue wet weight (g) and shell width (mm).

Fig. 4. FTM cultivated *R. philippinarum* tissues. Black stained spots on the body represent *Perkinsus* sp. hypnospores stained with Lugol's Iodine. * ; hypnospores

아가미, 소화맹낭 순 이었으며, 패주, 외투막, 및 족 등에서는 극히 소수의 바지락포자충만이 관찰되었다 (Fig. 4).

Mackin's 기준에 의한 감염 정도를 판정한 결과, 각장 15~19 mm 개체군에서는 평균 2.89, 25~29 mm 개체군에서는 평균 2.39, 30~34 mm개체군에서는 평균 2.8, 35~39 mm 개체군에서는 평균 3.88, 40~44 mm 개체군에서는 평균 4로서, 전체 평균 2.87을 보였는데, 이는 0 (비감염) 에서 5 (최고 감염)의 기준으로 볼 때 중간 정도의 감염 정도를 나타내는 것이었다. 바지락포자충의 감염 정도와 바지락 크기 사이에는 양의 상관 관계가 있는 것으로 판명되었으며, 바지락의 크기가 클 수록 감염 정도가 심해지는 경향이 관찰되었다 (Fig. 5).

곰소만에서 채집 분석된 굴은 패각의 길이가 20~80 mm, 육질 습중량 1~7 g이었으며, 총 50 개체에 대한 FTM 배양액을 이용한 바지락포자충의 조사 결과, 바지락포자충은 전 개체에서 관찰되지 않았다. 피조개 8 개체 (패각 길이 42.8~53.6 mm, 육질 습중량 6.584~14.069 g)에 대한 FTM 배양 방법에 의한 바지락포자충 검사 결과, 2개체만이 각 각 10, 6개의 바지락포자충을 포함하고 있었다. 피뿔고둥의 경우, FTM 배양방법에 의한 바지락포자충

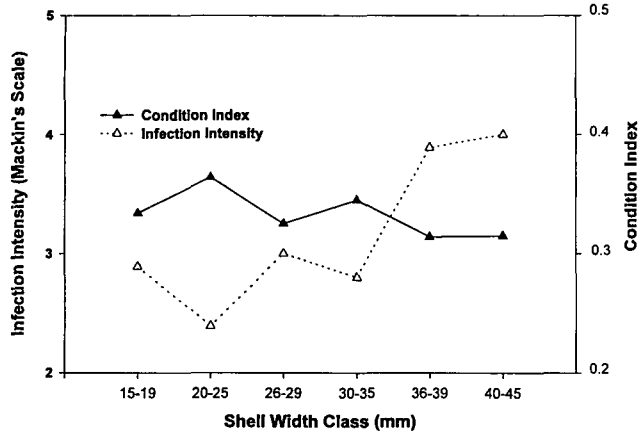

Fig. 5. Mean infection intensity and condition index of each size class.

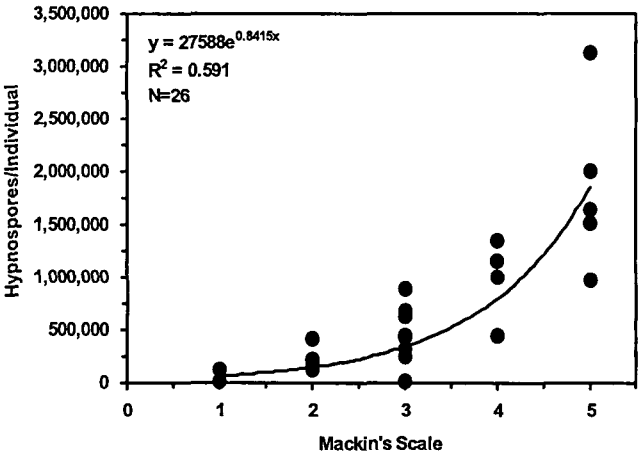

Fig. 6. Correlation between Mackin's scale and the number of hypnospores per individual clam.

검사에 이용된 5 개체 모두에서 바지락포자충은 관찰되지 않았다.

2. 바지락포자충의 정량적 분석

총 146 개체의 바지락 시료 중, 26 개체를 대상으로 FTM 배양 후, 체내에 포함된 바지락포자충을 Choi et al (1989)의 방법에 따라 계수하였다. 계수결과 바지락포자충은 바지락 1 개체 당 최저 17,000 개에서 최고 4,100,000 개까지 관측되었으며, 평균 1,077,328 개의 바지락포자충이 확인되었으며, 이는 바지락 1 g 당, 약 710,000 개의 바지락포자충이 분포하고 있는 것으로 판단되었다 (Table 2). 바지락의 크기와 바지락포자충의 밀도와는 양의 상관 관계가 있는 것으로 나타났으며, 바지락의 크기가 클수록 보다 많은 바지락포자충을 포함하고 있는 것으로 나타났다.

Mackin의 기준에 따른 바지락포자충의 감염 정도와 Choi et al. (1989)에 따른 정량적 분석 결과 사이에는 양의 상관관계가 있는 것으로 나타났다 (Fig. 6). Mackin의 감염 기준과 각 기준에 대한 바지락포자충의 정량적인 분포는 지수 곡선의 양상을 보였으며 기준의 최고값인 5 (최대 감염)의 경우 바지락 1 g 당 바지락포자충의 수는 수십만에서 수백만 개체로 큰 변화 폭을 보였다.

Table 2. Quantitative evaluation of *Perkinsus* sp. present in *Ruditapes philippinarum* collected from Komsoe Bay in December, 1997 N=Number of individual, SW=shell Width in mm, TWWT=total wet tissue weight in gram.

N	SW (mm)	TWWT (g)	Mackin's Scale	Numerical Code	No. spores/g tissue	Total No. Spores/ Individual
1	31.60	1.123	LM	2	422,974	475,000
2	32.40	1.074	LM	2	150,528	161,667
3	32.70	1.351	LM	4	444,115	600,000
4	32.80	0.913	M	3	675,429	616,667
5	32.90	1.266	L	1	128,357	162,500
6	33.20	1.321	LM	2	164,017	216,667
7	33.20	1.270	H	5	1,633,858	2,075,000
8	33.30	1.498	LM	3	13,351	20,000
9	33.50	1.021	LM	2	119,980	122,500
10	33.60	1,473	MH	4	1,001,358	1,475,000
11	33.70	1.253	LM	2	227,454	285,000
12	33.80	1.698	M	3	323,910	550,000
13	33.90	1.462	LM	2	176,699	258,333
14	34.10	1.383	LM	3	439,865	608,333
15	34.80	1.455	L	1	11,455	16,667
16	34.90	1.296	M	3	437,243	566,667
17	35.30	1.558	H	5	1,513,693	2,358,333
18	35.50	1.626	LM	2	194,752	316,667
19	35.70	1.988	MH	4	1,341,382	2,666,667
20	35.85	1.517	M	3	247,198	375,000
21	36.00	1.172	H	5	2,005,119	2,350,000
22	37.10	1.312	H	5	3,118,648	4,091,667
23	39.75	1.919	M	3	625,326	1,200,000
24	40.10	1.879	MH	4	1,157,531	2,175,000
25	40.50	2,218	M	3	890,442	1,975,000
26	42.00	2.371	H	5	970,055	2,300,000
MEAN	35.08	1.478		3.12	709,028	1,077,628
STD	2.73	0.358		1.24	734,519	1,077,958

3. 조직학적 관찰

Trophozoite 시기의 바지락포자충은 그 감염 정도가 심한 바지락의 아가미 연결조직에서 쉽게 관찰이 가능하였다. Trophozoite 시기의 바지락포자충 크기는 직경 6~10 μm 정도이었으며 산성인 Eosin Y에 염색되어 붉게 나타났다 (Fig. 7). FTM 방법에 의한 조사 결과와 마찬가지로 대부분의 바지락포자충은 아가미 및 소화맹낭 주위에서 대량으로 관찰되었으며 외투강이나 출수공, 흡수공 조직에서는 발견되지 않거나 그 수가 적게 관찰되었다. 조직검사 결과, 세포 분열 중에 있는 바지락포자충의 개체도 발견되어 이들이 바지락 체내에서 이분법에 의한 무성 생식 형태로 번식함을 알 수 있었다.

고 찰

최근 들어 국내산 바지락의 대량 폐사에 관한 보고가 늘어나고 있지만 이에 대한 체계적인 현황 조사나 그 원인 규명에 대한 연구는 본격적으로 이루어지지 않고 있다 (최 등, 1998). Choi and

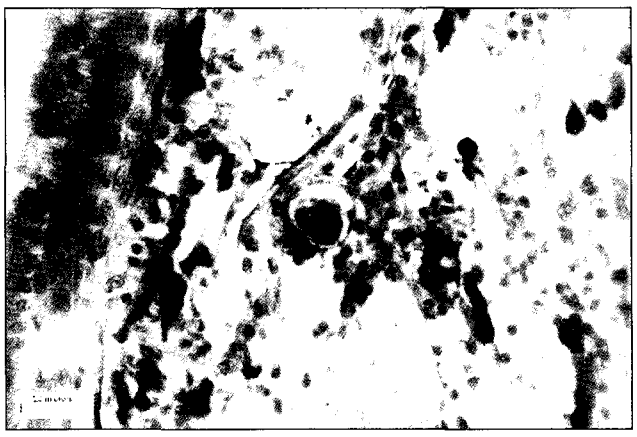

Fig. 7. Trophozoite of *Perkinsus* sp. in Manila clam, *R. philippinarum*.

Park (1997)은 우리 나라 바지락에서 Perkinsus와 같은 모양의 원생동물이 존재하고 있음을 보고하였으며, 이러한 원생동물에 감염된 바지락은 남해안의 강진, 완도 등지에 분포하고 있는 것으로 알려져 있다. 이 연구에서 관찰된 바지락포자충은 Perkinsus 속에 속하는 원생동물의 공통적인 특성인 혐기성 배양액 (FTM)에서 휴면 포자와 같은 hypnospore를 형성하며 호기성 환경으로 바뀔 때 유주자 형태의 zoospore를 형성하는 특성을 보이고 있다 (최 와 박, 미발표 자료).

이 연구에서 바지락 체내에 기생하는 단계인 trophozoite 시기에 있어 바지락포자충의 크기를 측정한 결과 그 직경은 6~10 μm으로 이는 지중해 산 바지락에서 보고된 *P. atlanticus*와 유사한 크기이다 (Azevedo, 1989; Sagrista et al, 1995). 또한 FTM 배양 후 형성된 휴면포자의 일종인 hypnospore의 직경은 20 내지 113 μm으로 (n=68, 평균 60 μm, SD=22.8) Azevedo (1989)의 보고에 의한 20~40 μm 및 Auzoux-Bordenave et al. (1995)의 20 내지 100 μm과 흡사한 결과를 보이고 있다. 이 연구에서 관찰된 바지락포자충 (*Perkinsus* sp.) 이나 *P. atlanticus* 모두 바지락을 숙주로 삼는 공통점이 있으며 그 크기도 유사하여 국내에서 발견되고 있는 바지락포자충은 지중해에서 보고된 *P. atlanticus*와 분류학적으로 가까운 종으로 사료된다.

Perkinsus는 바지락, 굴, 전복, 가리비 등의 연체동물 체내에 기생하는 원생동물로서, 매우 복잡한 생활사를 갖는 것으로 알려져 있다 (Auzoux-Bordenave, 1995; Perkin, 1996). Perkinsus는 크게 체내에서 서식하는 기간 (trophozoite 기), 휴면 포자를 형성하는 기간 (hypnospore 기), 및 편모를 갖고 운동을 하는 기간 (zoospore 기) 등의 생활사를 거치는 것으로 알려져 있다. Trophozoite 상태의 경우 그 크기는 종에 따라 차이는 있으나 일반적으로 지름이 3~10 μ 정도로 아주 작아 일반 광학 현미경을 이용한 관찰이 어렵다 (Azevedo, 1989; Azevedo et al., 1990; Choi et al., 1989; Perkin, 1996). 그러나 이들은 혐기성 환경에서 포자를 형성하여 성장하며, 이 때 포자의 크기는 수 십 에서 때때로 200 μm 이상으로 성장한다 (Ray, 1952, 1954; Mackin, 1962; Perkins, 1996). 특히 포자의 세포막은 다당류 형태의 탄수화물로 이루어져 Lugol's iodine으로 염색 시 짙은 갈색 또는 검푸른 색을 띠어 육안으로 또는 해부 현미경으로 쉽게 관찰된다 (Ray, 1952; Mackin, 1962).

Perkinsus의 숙주는 현재까지 굴, 전복, 가리비, 바지락 등을 포함한 연체동물로 알려져 있으며, Perkinsus 종의 특성은 숙주의 종류에 따라 다르게 나타나고 있다 (Azevedo, 1989; Perkins, 1996). 이 연구에서는 바지락에서 Perkinsus가 기생하는 반면, 참굴에는 나타나지 않아 바지락에서 발견된 Perkinsus는 바지락만을 숙주로 삼는 기생생물일 가능성이 높은 것으로 생각된다. Choi and Park (1997)은 바지락, 퇴조개, 대양조개, 맛, 꼬막 등을 대상으로 Perkinsus의 감염 여부를 조사한 결과 바지락에서만 Perkinsus가 기생하고 있음을 보고한 바 있다. 그러나 이 연구에 이용된 곰소만의 피조개에서는 비록 극소수이나 Perkinsus로 생각되는 기생생물이 관찰되어 이에 대한 보다 자세한 연구가 필요시 된다. 곰소만에서 채집된 바지락의 경우 바지락포자충이 주로 분포하는 부위는 아가미와 소화맹낭 부위였으며, 출, 흡수공, 외투강 및 폐각근 등에서는 극히 적은 수의 바지락포자충이 관찰되고 있다 (Fig. 4). 그러나 Sagrista et al. (1995) 은 지중해 연안에서 서식하는 바지락, *R. semidecussantus*의 외투막, 신장, 족, 생식소, 장, 및 소화맹낭 등에서 다양한 크기의 바지락포자충을 발견하여 보고한 바 있어 이 연구와 대조를 이룬다.

Fig. 6은 이 연구에서 측정된 Mackin's의 기준에 따른 감염 정도와 Choi et al.의 의 방법에 의한 바지락포자충 수와의 상관 관계를 나타내는 것으로 이 두 가지 진단 방법 사이에 밀접한 상관 관계가 있음을 보여 주고있다. 그러나 Choi et al (1989)이 언급한 바와 같이 Mackin의 기준은 낮은 감염 정도에서는 실제 존재하는 바지락포자충의 개체 수와 높은 상관 관계를 보이나 높은 감염에서는 그 변화 폭이 커서 실제 존재하는 바지락포자충의 개체 수를 잘 반영하지 못하는 경향을 보인다. Mackin의 기준이 갖는 가장 큰 장점은 진단에 걸리는 시간이 무척 짧은 점이다. 그러나 Mackin의 기준에 의한 바지락포자충 감염 정도를 판정하는 경우 Fig. 6과 같이 낮은 감염에서는 실제 감염 정도를 잘 반영하는 반면, 높은 감염에서는 그 변화폭이 심한 것을 알 수 있다. 이 연구에서 조사된 곰소만의 바지락은 분석된 개체 모두가 감염되어 감염율 (prevalence)은 100% 였다. Mackin의 기준에 의한 바지락포자충의 감염 정도는 평균 3.12 (Table 2)로 이는 "Moderate (중간)"에 해당된다. 총 26 개체의 바지락에 포함된 바지락포자충의 수는 개체 당 최저 20,000에서 최대 4,091,667 개체로 나타나고 있으며, 이는 바지락 육질 1 g 당 13,361 개체에서 3,118,646 개체로 판단된다. Choi and Park (1997)은 강진 및 완도 등지에서 채집된 바지락에 분포하는 바지락포자충의 정량적인 분석에서 이 연구와 유사한 결과를 얻은 바 있다.

바지락 체내에 존재하는 바지락기생충의 수와 바지락 크기와는 양의 상관 관계가 관찰되었다. 즉, 바지락의 크기가 클 수록 체내에 존재하는 바지락포자충의 수가 증가하는 양상을 보이며, 비만도 (Condition Index)는 바지락 크기와 음의 상관 관계를 보여 바지락 크기가 클수록 바지락포자충의 감염 정도는 높아지며, 비만도는 낮아지는 경향을 보인다. 이는 다른 연구에서도 유사한 경향이 관찰되었으며 (Lauckner, 1983; Choi et al., 1989, 1993), Choi and Park (1997)은 바지락의 경우 1 년 미만의 치패에서는 바지락포자충이 전혀 검출되지 않거나 극히 적은 양으로 분포

한다고 보고하고 있다. 이러한 현상은 우선 작은 개체의 경우 신진대사율이 빠르고 면역성이 노화된 개체보다 높은데 기인하는 것과 확률적으로 1 년 미만의 시간은 바지락포자충에 감염되기에 충분치 않은 시간에 기인하는 것으로 추측되나 이에 대한 연구는 보다 심도 있게 진행되어야 할 것으로 사료된다 (Paynter and Burrenson, 1991).

일반적으로 Perkinsus 속에 속하는 원생동물의 감염과 수온과는 양의 상관 관계를 갖는 것으로 알려져 있다 (Ray, 1954; Mackin, 1962; Perkins, 1996; Andrew, 1996). 이 연구에 있어 조사시기가 12 월인 것을 감안하면, 곰소만에 있어 실제 바지락포자충의 영향은 여름의 경우 본 조사 결과 보다 훨씬 심각한 것으로 판단된다. 이는 조사된 바지락의 크기에 잘 반영되고 있는데, Fig. 2 에서 보듯이 분석에 이용된 대부분의 곰소만 바지락은 그 각폭이 2~4 cm의 소형으로 나타나고 있다. 이는 대부분의 성체 바지락 (각폭 3~6 cm)이 여름에서 가을철 고수온기에 폐사하고 소형의 일부 바지락만 생존하여 12월 조사시 채집된 것으로 추측된다.

바지락포자충이 숙주인 바지락에 미치는 가장 큰 피해는 지속적으로 숙주의 에너지를 흡수하여 숙주가 천천히 죽어가게 만드는데 있다. 이 연구에서 관찰된 바와 같이 바지락포자충의 수는 최고 4,000,000 개체에 이르는데 (Table 2), 이렇게 많은 체내 기생충이 존재할 경우 숙주는 먹이 섭식 활동을 통하여 얻은 에너지를 대부분 기생충에게 빼앗겨 외형적으로는 성장 둔화 현상이 나타나며, 산란기인 경우 생식소 발달의 저하, 포란도 감소 등이 나타나고, 또한 숙주의 면역성을 떨어뜨려 다른 병원균의 감염 시, 치명적인 결과를 낳게 하기도 한다 (Menzel and Hopkins. 1995; Ray and Chandler. 1955; Paynter and Burrenson, 1991; Choi et al, 1989, 1993, 1994; Barber & Mann 1994, Kennedy et al, 1995). 바지락포자충이 바지락의 성장 및 번식에 미치는 영향에 대하여는 아직 구체적인 연구가 이루어지지 않고 있어 정확한 영향은 밝혀지지 않고 있다. 그러나 Choi et al (1989)의 보고에 의하면 대서양산 굴의 경우 *P. marinus*의 수가 1,000,000 개체 이상 존재하면 이들의 호흡 및 번식에 의하여 소비되는 에너지가 숙주의 순생산량을 초과하게 되어 궁극적으로 폐사한다고 보고하였다. 우리 나라 바지락의 경우도 이와 유사한 영향이 있을 것으로 예상되어 이에 대한 구체적인 연구가 필요시된다.

요 약

이 연구를 통하여 바지락 대량 폐사가 발생한 전라북도 곰소만에 서식하고 있는 패류, 바지락, *R. philipinarium*, 굴 *C. gigas*, 피조개, *S. broughtonii*, 피뿔고둥, *R. venosa*, 등을 대상으로 바지락포자충, *Perkinsus* sp. 감염 여부 및 정량적인 분석을 수행하였다. 바지락포자충의 감염 진단은 Ray (1952)의 방법에 따라 혐기성 배양액인 FTM (Fluid Thioglycollate Media)을 이용하여 배양하였으며, Rugol's iodine으로 염색한 후 해부현미경 하에서 검사하였다. 바지락포자충의 감염 정도는 Mackin (1961)의 기준을 따랐으며 일부 시료는 Choi et al. (1989)의 정량적인 방법에 따라 NaOH로 처리한 후 혈구 계수기로 계수하였다.

FTM 분석결과 곰소만에서 채집된 모든 바지락 개체들은 바지락포자충에 감염된 것으로 나타나 감염율 (prevalence)은 100% 였다. Mackin의 기준에 따른 감염 정도 판정에서 평균 2.87로 나타나 중간 정도의 감염 정도를 나타냈다. 바지락 육중량 1 g 당 바지락포자충의 개체수는 평균 709,028 개체였으며, 바지락 1개체당 최고 4,091,667 개체의 바지락포자충이 발견되었다. 곰소만에서 채집된 패류를 대상으로한 FTM 검사 결과, 굴에서는 바지락 포자충이 전혀 발견되지 않았으며, 새꼬막과 피뿔고둥에 대한 조사에서는 피조개 2 개체에서만 각 각 6, 10 개의 바지락 포자충이 발견되었고 피뿔고둥에서는 전혀 발견되지 않았다. 조직병리학적 관찰결과 바지락 아가미의 연결조직에서 무정형의 결절에 쌓여있는 직경 6~10 μm의 tropozoites를 발견하였다.

바지락의 비만도는 개체의 각장이 클수록 낮게 나타나는 경향을 보였으며, 바지락 포자충의 감염정도는 각장이 클수록 높게 나타났다. 바지락포자충은 개체에서 개체로 감염되는 관계로 바지락 밀도가 높은 지역에서는 그 전염 속도가 높은 것으로 알려져 대량 폐사의 원인 중 하나는 밀식으로 판단되었다.

감사의 글

Perkinsus의 생태학적 특성 및 그 영향에 대하여 많은 조언과 자료를 보내준 Dr. C. Azevedo (Department of Cell Biology, University of Oporto, Portugal), Dr. A. Figueras (Instituto Investigaciones Marinas. CSIC, Spain), Dr. A. Villarba (Centro de Investigaci ns Marinas, Spain), 부경대학교 수산생명의학과 이무근, 국립수산진흥원 최동림 박사에게 심심한 감사를 표합니다.

참 고 문 헌

국립수산진흥원. 1998. 바지락양식장의 지속적 생산에 관한 연구. 국립수산진흥원 연보 제 29 호 (1997), 65~69.

한국수산회. 1998. '97 수산연감. 동양문화 주식회사. 서울, 569pp

최동림, 권정노, 김용철. 1996. 양식바지락 폐사원인조사. 국립수산진흥원 서해수산연구소 사업보고서, 226~236.

최동림, 권정노, 박성우. 1998. 서해안 양식 바지락에 발생한 *Perkinsus* sp. 감염증과 신속 검출. 한국어병학회지, 11, 69~76.

Andrews, J.D. 1996. History of *Perkinsus marinus*, a pathogen of oysters in Chesapeake Bay 1950~1984. J. Shellfish Res., 15 (1) 13~16.

Auzoux-Bordenave, S., A. M. Vigario, F. Ruano, I. Domart-Coulon, and D. Doumenc. 1995. In vitro sporulation of the clam pathogen *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa, Perkinsea) under various environmental conditions. J. Shellfish Res., 14, 469~475.

Azevedo, C. 1989. *Perkinsus atlanticus*, a new species of parasite in the clam *Ruditapes decussatus* (Mollusca, Bivalvia). Pesca Naveg., 8~10.

Azevedo, C., L. Corral and R. Cachola. 1990. Fine structure of zoosporulation in *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa: Perkinsea). Parasitology, 100, 351~358

Barber, B.J. and S.M. Mann. 1994. Growth and mortality of eastern oysters, *Crossostrea virginica* (Germlin, 1970), and Pacific oysters, *Crasostrea gigas* (Thungerg, 1793) under challenge from the parasite, *Perkinsus marinus*. J. Shellfish Res., 13, 109~114.

Chagot, D., M. Comps, V. Ruvano and H. Grizel. 1987. Histological study of a celluar reaction in *Ruditapes decussatus* infected by a protozoan. Aquaculture, 67 (2), 260~261.

Choi, K.S., E.A. Wilson, D.H. Lewis, E.N. Powell, and S.M. Ray. 1989. The energetic cost of *Perkinsus marinus* parasitism in oysters: Quantication of the thioglycollate method. J. of Shellfish Res., 8, 125~131.

Choi, K.S., D.H. Lewis, E.N. Powell, F. Frelier, and S.M. Ray. 1991. A polyclonal antibody developed from *Perkinsus marinus* hypnospores fails to cross react with other stages of *P. marinus* in eastern oyster (*Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791)) tissues. J. Shellfish Res., 10, 411~415.

Choi, K.S., D.H. Lewis, E.N. Powell and S.M. Ray. 1993. Quantitative measurement of reproductive output in the American oyster, *Crassostrea virginica*, using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Aquacult. Fish. Manage., 24, 299~322.

Choi, K.S., E.N. Powell, D.H. Lewis and S.M. Ray. 1994. Instantaneous reproductive effort in female american oysters, *Crassostrea virginica*, measured by a new immunoprecipitation assay. Biol. Bull., 186, 41~61.

Choi, K.S. and K.I. Park. 1997. Report on the Occurrence of *Perkinsus* sp. In the Manila Clams, *Ruditapes philippinarum* in Korea. J. Aquacul., 10, 227~237.

Crosby, M. and C.F. Roberts. 1990. Seasonal infection intensity cycle of the parasite *Perkinsus marinus* (and an absence of *Haplosporidium* spp.) in oysters from a South Carolnia salt marsh. Dis. Aquat. Org., 9, 149~155.

Dungan, C.F. and B.S. Roberson. 1993. Binding specificities of mono- and polyclonal antibodies to the protozoan oyster pathogen. *Perkinsus marinus*. Dis. Aquat. Org., 15, 9~22.

Fisher, W.S. and L.M. Oliver. 1996. A whole-oyster procedure for diagnosis of *Perkinsus marinus* disease using Ray's fluid thioglycollate culture medium. J. Shellfish Res., 15, 10 9~117.

Kennedy, V.S., R.I.E. Newell, G. E. Krantz and S. Otto. 1995. *Reproductive capacity* of the eastern oyster *Crassostrea virginica* infected with the parasite Perkinsus marinus. Dis. Aquat. Org., 23, 135~144.

Lauckner, G. 1983. Diseases of mollusca: bivalvia. In Kinne. O (ed), Diseases of marine animals Vol. II. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Germany, 477~879.

Lester, R.J.G. and G.H.G. Davis. 1981. A New Perkinsus Species (Apicomplexa, Perkinsea) From the Abalone *Haliotis ruber*. J. Invert. Pathol., 37, 181~187.

Mackin, J.G., H.M. Owen and A. Colloer. 1950. Preliminary note on the occurrence of a new protistan parasite, *Dermocystidium marinum n. sp.* In *Crassostrea viginica* (Gemelin). Science, 111, 328~329.

Mackin, J.G. 1962. Oyster disease caused by *Dermocystidium marinum* and other microorganisms in Luisiana. Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Texas, 7, 132~229.

McGladdery, S.E., R.J. Cawthorn and B. C. Bradford. 1991. *Perkinsus karlssoni* (Apicomplexa) in bay scallops *Argopecten irradians*. Dis. Aquat. Org., 10, 127~137.

Menzel, R. and W. Hopkins. 1955. Effects of two parasites on the growth of oysters. Natl. Shellfish Asso. convention addresses, 19 54, 45, 184~186.

Perkins, F.O. 1996. The structure of *Perkinsus marinus* (Mackin, Owen and Collier, 1950) Levine, 1978 with comments on taxanomy and phylogeny of *Perkinsus spp.* J. Shellfish Res., 15 (1), 67~87.

Paynter, K.T. and E.M. Burrenson. 1991. Effects of *Perkinsus marinus* infection in the eastern oyster, *Craasostrea virginica*: II. Disease development and impact on growth rate at different salinities. J. Shellfish Res., 10, 425~431.

Powell, E.N., E. A. Willson-Ormond, and K.S. Choi. 1993. Gonadal analysis - *Crassostrea virginica*. Noaa Technical Memorandum NOS ORCA 71, 11.55~11.62.

Ray, S.M. 1952. A culture technique for the diagnosis of infection with *Dermocystidium marinum* Mackin, Owen and Collier in oysters. Science, 116, 360~361

Ray, S.M. 1954. Experimental studies on the transmission and pathogenity of *Dermocystidium marinum*, a fungus parasite of oyster. J. Parasitology, 40, 235.

Ray S.M. and A.C. Chandler. 1955. *Dermocystidium marinum*, a parasite of oysters. Exp. Parasitol, 4, 172~200.

Ray, S.M. 1966. A review of the culture method of detecting *Dermocystidium marinum*, with suggested modifications and precautions. Proc. Natl. Shellfish. Assoc., 54, 55~69.

Ray, S.M. 1996. Historical perspective on *Perkinsus marinus* disease of oysters in the Gulf of Mexico. J. Shellfish Res., 15, 9~11.

Rodriguez, F. and J.I. Navas. 1995. A comparison of gill and hemolymph assays for the thioglycollate diagnosis of *Perkinsus*. Aquaculture, 132, 145~152.

Sagrista, E.M. Durfort, and C. Azevedo. 1995. *Perkinsus* sp. (Phylum Apicomplexa) in Mediterian clam *Ruditapes semidecussatus*: ultrastructural observations of the cellular response of the host. Aquaculture, 132, 153~160.

1998년 11월 17일 접수
1999년 5월 4일 수리