

양식넙치에서 분리된 스쿠티카 섬모충 *Philasterides dicentrarchi*의 넙치 치어 인위감염

진창남, 강현실¹, 이창훈², 이영돈¹, 이제희¹, 송춘복¹, 허문수¹
목포지방해양수산청 완도해양수산사무소, ¹제주대학교 해양과학대학 해양과학부
²국립수산과학원 제주수산연구소

Experimental infection of *Philasterides dicentrarchi* in Juvenile Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*

Chang-Nam Jin, Hyun-Sil Kang¹, Chang-Hoon Lee², Young-Don Lee¹, Jehee Lee¹,
Choon-Bok Song¹ and Moon-Soo Heo¹

Wando Maritime Affairs & Fisheries Office, 537-808, Korea
¹Faculty of Marine Science, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea
Jeju Fisheries Resource Institute NFRKE, Jeju 690-102, Korea

The pathogenicity and infection route of the Scuticociliate, *Philasterides dicentrarchi*, were investigated with the 3 and 5 cm-group of juvenile flounders, *Paralichthys olivaceus*. The infection rates of 3 cm-group were 40% four days post infection (D.P.I.) and increased to be 90.1% 24 D.P.I., whereas those of 5 cm-group were 20% 8 D.P.I., 42% 16 D.P.I., and 81% 24 D.P.I. The results showed there were several infection routes to internal organs of Olive flounder. The first route was started with the infection at the soft part of caudal fin and later reached at fin ray and muscle tissue; the second one was started from lips and mouth tissue of upper jaw and later the pathogen could be observed at either muscle tissue or eyeball and brain; the third one was begun at caudal fin and later the pathogen reached at brain tissue through spiral cord; the fourth one was started with the infections at abdominal cavity and anus. *P. dicentrarchi* infected to brain tissue was first observed 14 D.P.I. in 3 cm-group and 20 D.P.I. in 5 cm-group of the juvenile flounder. This indicated that the brain infection of *P. dicentrarchi* might occur faster in small-sized flounder than large-sized one.

Keywords: *Philasterides dicentrarchi*, Scuticociliate, Infection rate, *Paralichthys olivaceus*

서 론

1990년 이후 국내 넙치 양식이 급격히 증가함에 따라 넙치 치어 기생충성 질병의 하나인 스쿠티카충의 감염빈도가 증가하고 있다. 스쿠티카충은 넙치 치어의 안구, 뇌, 근육, 간장, 신장 등의 내부장기에 침투하므로 치료가 어려운 실정이다(Mizuno, 1993; Lee et al., 2001; Jin et al., 2003a). 이와 비슷한 증상으로 유럽의 양식 터봇과 농어의 뇌, 근육, 혈관 등의 내부장기에 *Philasterides dicentrarchi*가 침투하여 피해를 입히고 있다(Dragesco et al., 1995; Iglesias et al., 2001).

이외에도 스쿠티카충은 American lobster에도 감염되며(Cawthorn et al. 1996), 특히 수족관이나 육상수조에서 양식되는 해산 어류에 많이 감염되고 있다. 최근 들어 국내에서도 넙

치를 비롯한 해산어류에 피해를 입히는 스쿠티카충에 대한 형태적, 유전적 분류가 이루어지고 있는데, *Uronema marinum*, *Pseudocohnilembus persalinus*, *P. dicentrarchi*, *Miamiensis avidus* 등이 보고되고 있다(Jee et al., 2001; Kim et al., 2004a and b; Jung et al., 2005). 제주도 지역에서도 육상 넙치양식이 증가하면서 스쿠티카충 감염도 증가하고 있는데, 이 충에 감염된 병어를 조사해 보면 형태적으로 다양한 특징을 보이는 여러 종류의 스쿠티카충이 관찰되고 있다. 이들 다양한 스쿠티카충 중에서도 형태적·동태적 특징이 *P. dicentrarchi*에 유사한 섬모충이 주로 관찰되고 있어, 이 섬모충이 넙치에 주로 감염되는 병원성 기생충으로 추정되고 있다.

본 연구는 이와 같이 육상수조에서 양식되는 터봇은 물론이고 넙치에 감염되어 대량 폐사를 일으키는 것으로 추정되는 *P. dicentrarchi*를 넙치 치어에 인위 감염시켜 감염과정을 조사하였다.

*Corresponding author: msheo@cheju.cheju.ac.kr

재료 및 방법

스쿠티카충 *Philasterides dicentrarchi*

제주대학교 해양과학대학 해양생물공학과에서 제주도 북제주군 지역 육상양식장의 넙치 치어(14 cm) 뇌에서 *P. dicentrarchi*를 분리하고 배양중인 것을 분양받아 이용하였다.

인위감염 실험어

인위감염 실험어는 제주도 북제주군 구좌읍 지역의 종묘생산장에서 생산된 넙치 종묘로서 스쿠티카충이나 기타 질병에 감염되지 않은 건강한 치어를 이용하였다. 어체의 크기에 따라 감염상태가 달라지는지를 확인하기 위해서 3 cm 그룹과 5 cm 그룹으로 실험어의 크기를 달리하였는데, 3 cm 그룹은 평균 3.2 cm, 범위 2.7~3.6 cm이며 5 cm 그룹은 평균 5.4 cm, 범위 4.5~6.4 cm였다. 이들 두 그룹을 실내사육수조에서 사육하면서 인위적으로 접종시킨 스쿠티카충이 감염되도록 하였다.

실험어의 크기 측정은 실험어를 직접 측정할 경우 측정에 따른 스트레스로 실험 결과에 영향을 줄 우려가 있으므로 실험어를 추출하는 그룹의 다른 치어 20 마리를 무작위 추출 후 측정하였다.

실험구 및 실험수조

인위감염 실험 수조는 Fig. 1과 같이 43 cm×63 cm×25 cm의 4각 수조에 인위 감염 사육조와 여과조로 나누었다. 사육조는 43 cm×43 cm×25 cm, 여과조는 43 cm×20 cm×25 cm 규모로 나누었는데 수심은 20 cm로 하였다(Fig. 1). 사육조 수량은 37 L, 여과조를 포함한 총 수량은 50 L로 하였으며, 사육수는 지하해수를 80°C에서 20분 동안 가열하여 이용하였다. 순환여과제는 상층은 Ø6~8 mm, 저층은 Ø4~6 mm의 가는 자갈을 이용했으며 여과조 위층은 스폰지를 덮어 사육조에서 리프팅된 사육수가 여과조 전면에서 분산된 후 물리적, 생물학적 여과가 이루어지도록

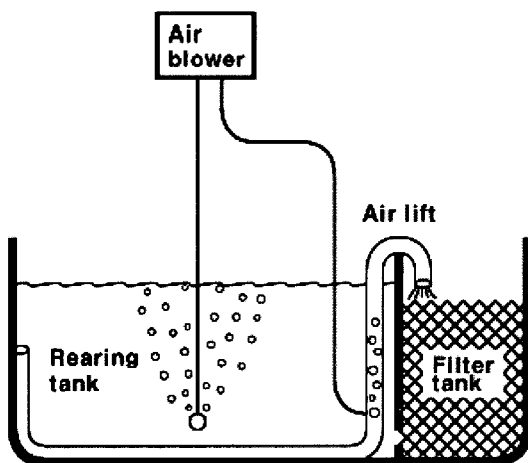


Fig. 1. Schematic diagram of experimental tank.

했다. 사육수의 순환은 에어리프트를 이용하여 시간당 1.5 회전시켰다.

위와 같은 실험수조를 각각 3 cm 그룹과 5 cm 그룹으로 나누어 각 그룹별 감염률 실험구 및 대조구를 설정하였다. 5 cm 그룹은 실험수조당 100 마리, 3 cm 그룹은 실험수조당 각 160 마리를 수용하였다. 실험어 수용량은 종묘배양장에서 동일 수면적에 수용하는 양을 기준하여 5 cm 그룹은 1/2을, 3 cm 그룹은 어체의 저항력이 약한 점을 고려하여 1/3을 기준하였다.

25F tissue culture flask (Nunc, Denmark)
penicillin-streptomycin (Gibco, USA)

*P. dicentrarchi*의 배양 및 접종

*P. dicentrarchi*의 접종 전 배양환경과 실험수조에 접종 후 배양환경을 최대한 비슷하게 유지하기 위해 인위감염 스쿠티카충 배양은 멸균해수와 넙치치어 배합사료를 이용하였다. 배양매지는 cell culture flask (Nunc, Denmark, 25 ml)에 멸균해수 20 ml를 넣고 H사의 넙치 치어사료(Ø 0.6 mm)를 스쿠티카충의 먹이로 배양해수 ml당 1 mg을 첨가하였으며, 배양 중 세균의 증식을 억제하기 위해 항생제인 penicillin(Gibco, USA)과 streptomycin(Gibco, USA)을 100 IU 첨가하였다. 다음에 CHSE-214 세포주에 배양중인 *P. dicentrarchi*를 멸균해수에 배합사료를 첨가한 배양액에 3.0×10^3 cell ml⁻¹ 농도로 접종 후 15°C에서 7일간 9.8×10^4 cell ml⁻¹ 농도로 증식시켜 실험수조에 접종하였다.

접종 및 실험어 방양은 먼저 실험수조에 사육해수를 채우고 5일 동안 순환 여과시키며 여과세균을 배양시켰다. 다음에 수조 저면에 *P. dicentrarchi*의 먹이로 *in vitro* 배양시 이용했던 넙치치어 배합사료를 실험구당 2 g을 마쇄하여 뿌려 주었다. 스쿠티카충의 먹이로 뿌려준 배합사료가 저면에 충분히 가라앉은 후 *P. dicentrarchi*를 접종하였는데, 접종량은 사육수 ml당 100 cell 기준하여 실험구별 총 3.7×10^6 cell을 접종하였다. 대조구에는 스쿠티카충을 배양하지 않은 배양액을 동일량 뿌려주었다. 접종 2일 후 저면에서 *P. dicentrarchi*의 증식을 확인한 후 실험어를 방양하여 저면에서 증식된 *P. dicentrarchi*가 치어에 감염되도록 하였다. 실험기간 중 치어 배합사료를 2일 마다 수조당 0.2 g씩 분쇄하여 투여하여 이를 먹이로 스쿠티카충이 지속적으로 증식되도록 하였으며, 사육수는 2일마다 상층수를 10%씩 교환해 주었다.

스쿠티카충의 계수

배양과정의 스쿠티카충 계수는 배양매지 6 µl를 pipetting하여 counting chamber 위에 떨어뜨리고 glutaraldehyde (Sigma, USA) 1% 용액을 소량 첨가하여 스쿠티카충을 고정시킨 후 후커버글래스(18×18 mm)로 덮어 광학 현미경(Olympus BX 50, ×100)으로 계수하였다. 감염수조에 접종시킨 스쿠티카충의 계수는 저층과 상층의 사육수를 100 µl pipetting하여 counting

chamber 위에 떨어뜨리고 glutaraldehyde (Sigma, USA) 1% 용액으로 층을 고정시킨 후 광학 현미경(Olympus BX 50, ×100)으로 계수하였다.

감염률 조사

감염률 조사는 4일마다 무작위로 10 마리씩 추출하여 현미경으로 피부, 지느러미, 아가미 등 조직 일부를 절취하여 감염 여부를 조사하였다. 또한 폐사한 개체에 대해서도 감염 여부를 전부 확인하여 구간별로 생존어 감염률과 폐사어 감염미수를 합하여 구간별 총 감염미수를 환산하고 구간 총감염률(구간별 총 감염미수/구간시작 생존미수)을 구하였다. 감염 기준은 *P. dicentrarchi*가 피부나 지느러미, 아가미 등의 조직 속에 침투한 경우로 하였다.

어체내 침투경로 조사

인위감염 후 폐사된 실험어와 무작위로 추출된 샘플을 1차 현미경으로 관찰한 후 조직 검사를 하였다. 조직 검사는 감염어를 Bouin's 용액에 고정하여 일반적인 조직표본 검사방법에 따라 파라핀에 봉입한 후 5 µm 두께의 조직표본을 만들어 Haematoxylin-Eosin 염색을 하여 현미경으로 관찰하였다. 감염경로는 현미경 검경과 조직화적인 관찰을 통하여 섬모충의 감염과 이동, 분포 상태를 관찰한 후 분포 위치와 상태에 따라 확산 또는 이동하는 방향을 파악하였다.

2차 감염세균 조사

인위 감염에 의해 폐사된 치어의 섬모충 감염에 의해 괴사된 부위와 복강, 간장, 신장 등에서 2차 감염된 병원균을 TSA Agar, BHI Agar 배지에 내용물을 도말하여 25°C incubator에서 24시간 배양한 후 동정하였다.

결 과

실험수조의 스쿠티카충 증식

각 실험수조별로 배양된 스쿠티카충은 사육수에 1.0×10^2 cell ml⁻¹로 접종시킨 후 초기 사료를 먹이로 활발히 증식하였다. 실험수조 저면의 스쿠티카충 생육은 3 cm 그룹 실험구는 접종 6일 후

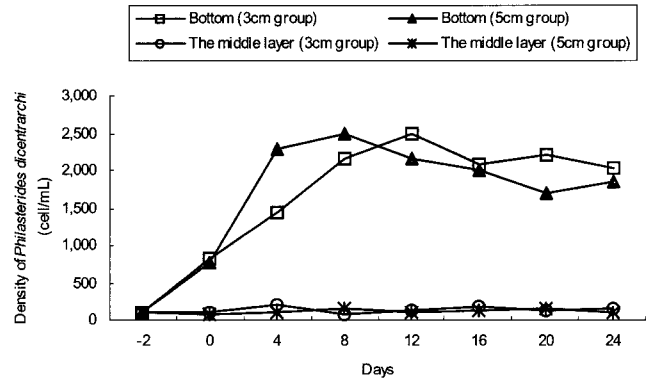


Fig. 2. Ciliate density at the bottom and middle layer of experimental tanks.

$1.4 \times 10^3 \sim 2.5 \times 10^3$ cell ml⁻¹로 증식하였으며, 5 cm 그룹 실험구는 $1.7 \times 10^3 \sim 2.5 \times 10^3$ cell ml⁻¹로 두 실험구 모두 2.0×10^3 cell ml⁻¹ 내외의 밀도를 유지하였다. 증충인 경우도 실험구별 큰 차이가 없이 $1.0 \sim 2.0 \times 10^2$ cell ml⁻¹ 정도의 낮은 밀도를 유지하였다(Fig. 2).

인위 감염에 의한 감염률

1. 3 cm 그룹의 감염률

스쿠티카충 접종 후 4일째에 실험구의 조사 표본어 10마리 중 4마리가 감염되어 40%의 감염률을 보였다. 구간별 감염률은 접종 8일 후에 57.3%, 12일 후에 70%로 증가하였고 24일 후에는 90.1%로 대부분의 실험어가 감염되었다(Table 1, Fig. 3). 인위감염어의 폐사는 5일 후부터 나타나기 시작하였으며, 폐사체를 조사한 결과 전량 스쿠티카충에 감염되었다. 대조구에서는 스쿠티카충 감염이 없었으나 실험기간 중 4마리가 폐사하였다. 실험구와 대조구 폐사어의 복강·간장·신장·괴사부위 등에서 비브리오균(*Vibrio sp.*)이 검출되었다.

2. 5 cm 그룹의 감염률

5 cm 그룹은 3 cm 그룹과 달리 감염어가 접종 후 4일 후까지 관찰되지 않았다. 감염 8일 후에 20%의 감염률을 보였으며 감염 14일 후에 처음으로 폐사가 관찰되었다. 감염 16일 후까지는 감염률이 42%로 매우 완만하게 진행되었으나 그 이후에는 감염률 및 감염 개체수가 급격히 증가하여 24일 후에는 감염률이 81%를 보였다(Table 2, Fig. 3). 폐사어의 2차적 세균 감염

Table 1. Infection of *P. dicentrarchi* on 3 cm flounder

D.P.I (day post infection)			0	4	8	12	16	20	24
Experimental group	Number of Survival fish	Infected	-	4	5	6	7	7	5
		Non infected	-	6	5	4	3	3	1
	Number of death fish	Infected	-	-	22	35	23	19	5
		Non infected	-	-	-	-	-	-	-
Control group	Number of survival fish	Infected	-	-	-	-	-	-	-
		Non infected	10	10	10	10	10	10	10
	Number of death fish	Infected	-	-	-	-	-	-	-
		Non infected	-	-	-	-	1	2	1

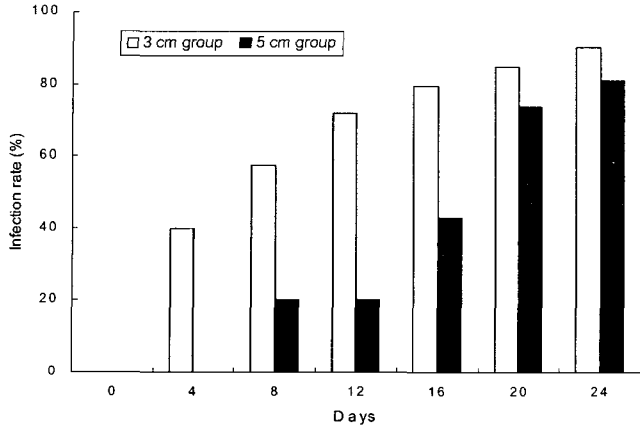


Fig. 3. Infection rates of Scuticociliates, *P. dicentrarchi* of 3 and 5 cm group fish. (Infected individuals of survival fish + infected individuals of death fish) ÷ survival fish.

유무를 조사한 결과, 3 cm 그룹과 동일하게 각 장기별로 비브리오(*Vibrio sp.*) 균이 검출되었다. 실험기간 동안 대조구에서는 실험어에 스쿠티카충 감염이나 폐사가 나타나지 않았다.

어체내 침투경로

스쿠티카충의 감염은 3 cm 그룹이 5 cm 그룹에 비해 빠르게 이루어졌으나 감염과정은 비슷한 양상을 보였다. 감염어의 외부 증상은 3 cm 그룹인 경우 체색흑화 외에 특별한 증상이 나타나지 않았으며 육안으로 피부나 지느러미 궤양증상이 나타나기 전에 폐사하였다. 그러나 5 cm 그룹은 체색흑화 외에도 피부궤양이나 지느러미 궤양 등의 증상을 나타내는 개체가 많았다. 최초 감염은 주로 지느러미 연조직의 모세혈관을 통해서 지느러미 기부 근육까지 침투하였으며(Fig. 4, 5), 시간이 경과하면서 지느러미에서 다량 증식하고 지느러미와 근육조직을 괴사시켰다. 또한 지느러미 표피를 통하여 피부로 옮겨가서 직접 근육으로 침투하는 경우도 관찰되었다. 일단 근육에 침투한 후에는 근육 결을 따라 이동하면서 광범위하게 조직을 괴사시켰으며, 감염어의 지느러미와 체표 괴사가 육안으로 관찰되었다(Fig. 6).

두부에 감염되는 과정은 주로 주둥이 부위의 부드러운 표피를 통하여 감염이 되었다. 주둥이 감염 후 두부의 골격과 근육 결을 따라 이동하면서 안구에 침투하였으며 시신경을 따라 뇌



Fig. 4. Light micrograph of the dorsal fin in the infected flounder showing ciliates (arrows) that have invaded the capillary blood vessels at 8 D.P.I. Scale bar = 50 µm.

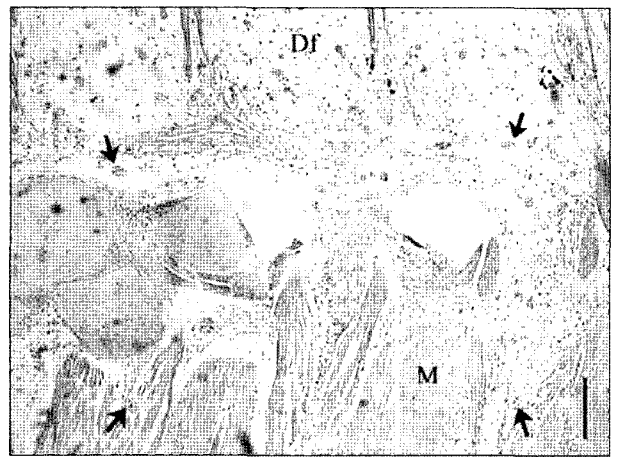


Fig. 5. Light micrograph of the muscle in the infected flounder showing ciliates (arrows) that have invaded muscle tissue. Note. Severe tissue lysis around the invaded ciliates at 24 D.P.I., Df: dorsal fin, M: muscle, H&E staining. Scale bar = 100 µm.

에도 침투하였다(Fig. 7, 8). 뇌에 침투하는 시기는 3 cm 그룹인 경우 총 접종 후 14일 만에, 5 cm 그룹은 20일 만에 최초로 확인되었다.

아가미에 감염된 경우는 아가미 표피는 물론이고 아가미 모

Table 2. Infection of *P. dicentrarchi* on 5 cm flounder

D.P.I			0	4	8	12	16	20	24
Experimental group	Number of Survival fish	Infected	-	-	2	2	4	5	7
		Non infected	-	10	8	8	6	5	3
	Number of death fish	Infected	-	-	-	-	3	26	6
		Non infected	-	-	-	-	-	-	-
Control group	Number of survival fish	Infected	-	-	-	-	-	-	-
		Non infected	10	10	10	10	10	10	10
	Number of death fish	Infected	-	-	-	-	-	-	-
		Non infected	-	-	-	-	-	-	-

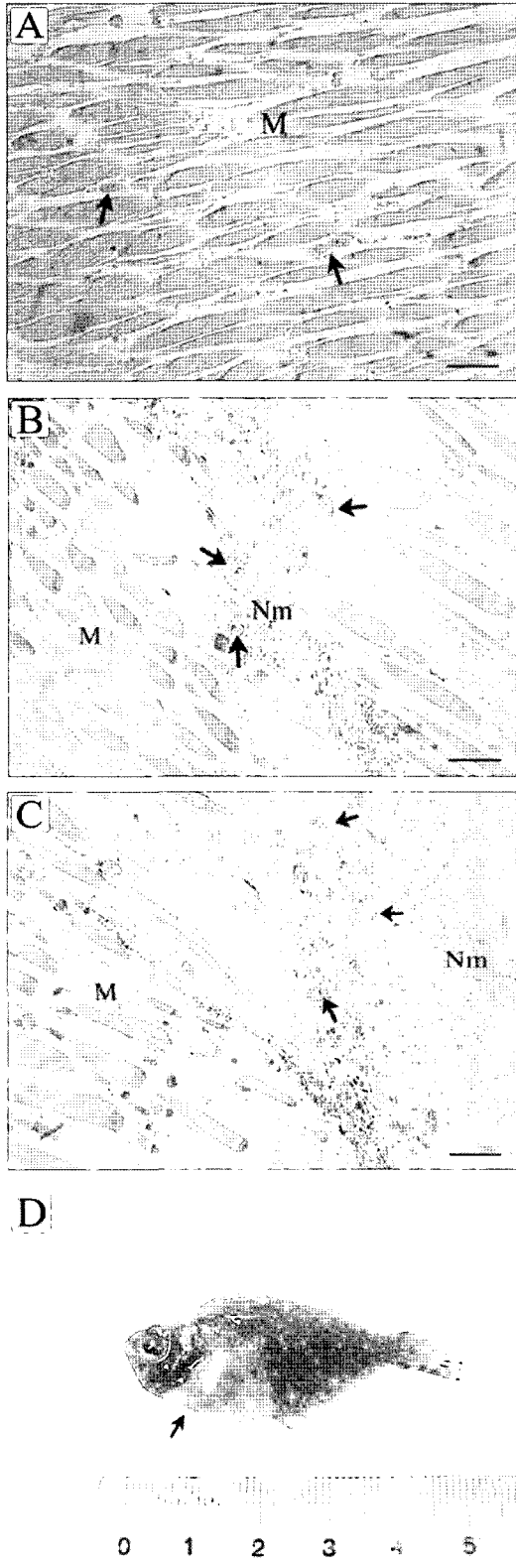


Fig. 6. Light micrograph of the muscle in the infected flounder showing ciliates (arrows) that have invaded muscle tissue, A: ciliates immediately after infected into muscle at 4 D.P.I., B: early necrosis state after muscle infiltration at 12 D.P.I. C: heavy necrosis state after muscle infiltration at 20 D.P.I., D: infected fish at 24 D.P.I., M: muscle, Nm: necrosis muscle, H&E staining. Scale bar = 50 μ m.

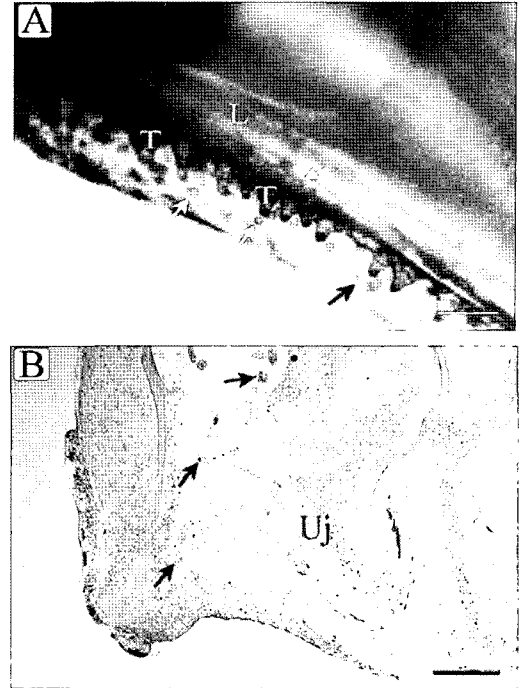


Fig. 7. Light micrograph of the mouth in the infected flounder showing ciliates (arrows), A: a number of ciliates into tooth at 8 D.P.I., B: ciliates spreaded along head skeleton and muscle tissue after infection of upper jaw part of mouth at 8 D.P.I., T: tooth, L: lip, Uj: upper jaw, H&E staining. Scale bar = 100 μ m.

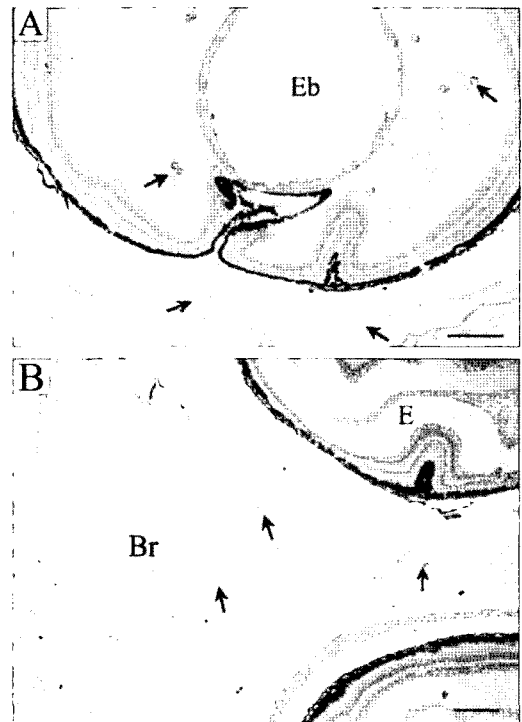


Fig. 8. Light micrograph of the brain in the infected flounder showing ciliates (arrows) that have invaded into brain tissue, A: ciliates in eye at 20 D.P.I., B: ciliates infiltrated into brain tissue along optic nerve of eye 24 D.P.I., Eb: eye ball, E: eye, Br: brain, H&E staining. Scale bar = 100 μ m.



Fig. 9. Light micrograph of the gill in the infected flounder showing ciliates (arrows) that have invaded into the gill filament tissue at 16 D.P.I., H&E staining. Scale bar = 50 μ m.

세혈관까지 침투하였다(Fig. 9). 꼬리지느러미를 통해서 감염된 경우는 지느러미 조직을 괴사시키며 미병부에 침투한 후 근육 결을 따라 척추로 이행되었다. 척추에 도달한 스키테카충은 척수에 침투하였으며, 척수의 피하조직을 따라 뇌에 도달하였다(Fig. 10).

이외에도 복강에 침투하는 경우도 있었는데 항문주위에 다량으로 증식하며 조직을 괴사시킨 후 복강으로 침투하여 증식하였으며, 장벽에도 침투하였다(Fig. 11).

고 찰

이 실험에서 *P. dicentrarchi*는 실험구 집종을 위한 *in vitro* 배양과 실험수조 저면에서 넙치 치어사료를 먹이로 활발히 증식하였다. Choi et al. (1997)의 연구에서도 넙치양식 수조에서 스

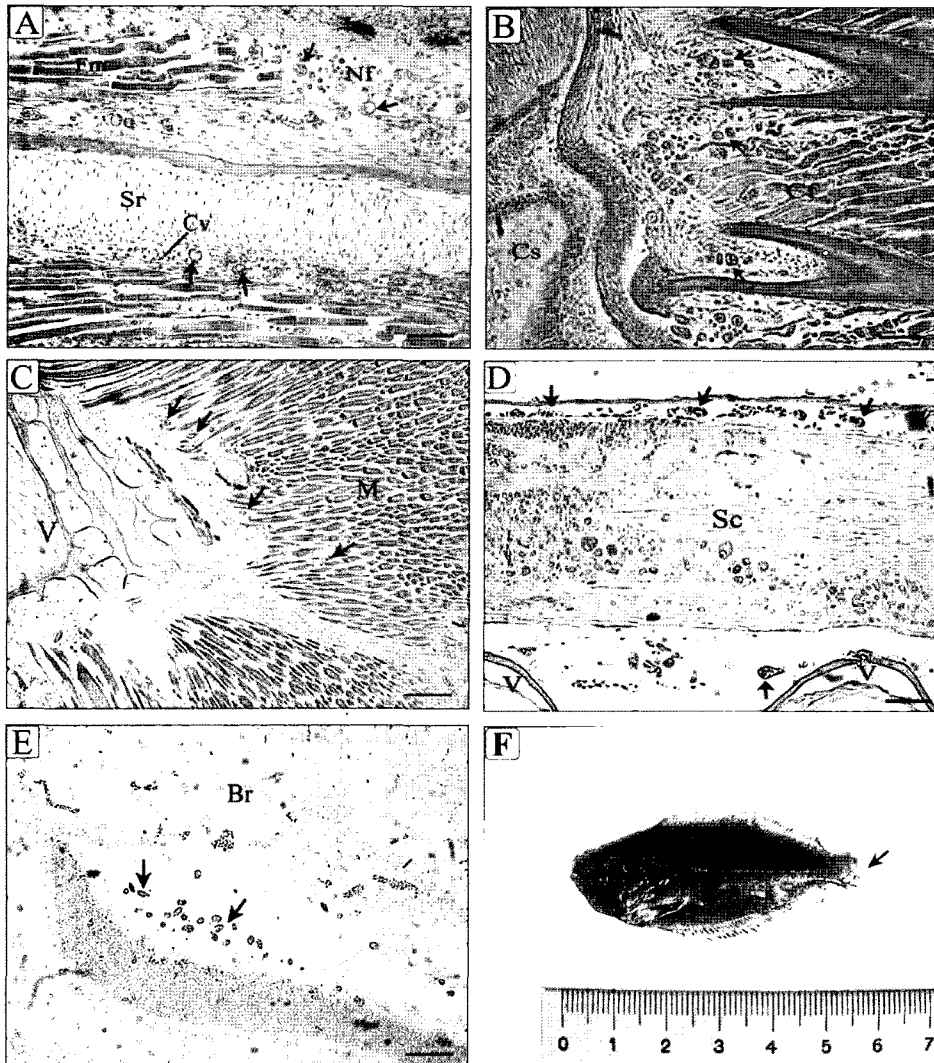


Fig. 10. Light micrograph of infection routes into brain through caudal fin in the infected flounder, A: ciliates in soft ray of fin ray at 8 D.P.I., B: ciliates in caudal skeleton and caudal fin at 12 D.P.I., C: ciliates in vertebra at 12 D.P.I., D: ciliates in spinal cord at 16 D.P.I., E: ciliates in brain at 24 D.P.I., F: external sign of infected fish at 24 D.P.I., Fm: fin membrane, Sr: soft ray, Nf: necrosis fin membrane, Cs: caudal skeleton, Cf: caudal fin, V: vertebra, M: muscle, Sc: spinal cord, Br: brain, H&E staining: A-E. Scale bar: A-B-D= 50 μ m, C=200 μ m, E=100 μ m.

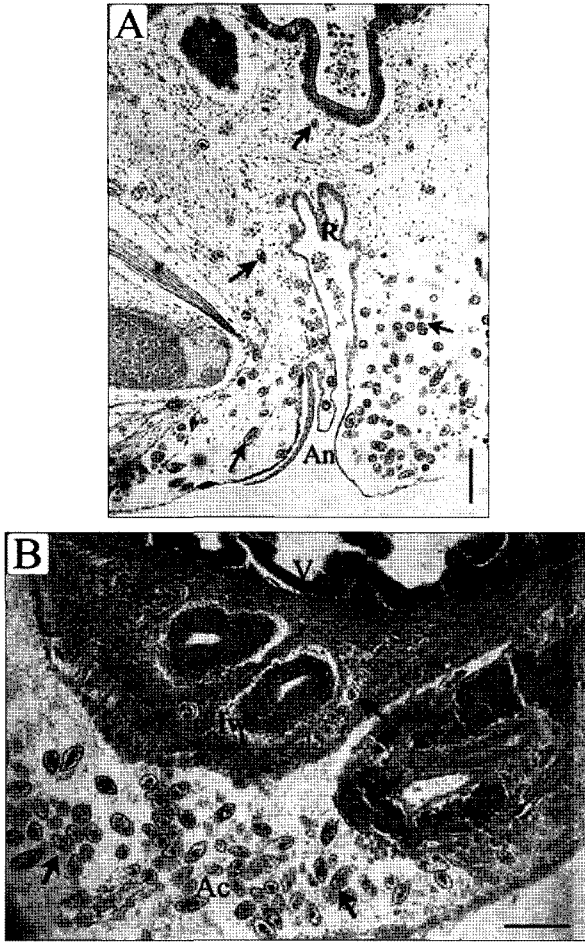


Fig. 11. Light micrograph of the abdominal cavity in the infected flounder showing ciliates (arrows) that have invaded into the abdominal cavity tissue, A: ciliates in abdominal cavity at 16 D.P.I., B: ciliates in intestine wall at 24 D.P.I., R: rectum, An: anus, V: villus, Iw: intestine wall, Ac: abdominal cavity, H&E stain. Scale bar: A=100 μ m, B=50 μ m.

스쿠티카충의 밀도가 저면은 최고 7.3×10^2 cell ml^{-1} 으로 나타나 본 연구와 비슷한 양상을 보였다. 스쿠티카충이 이처럼 저면의 유기물을 이용하여 번식하므로 사육조 바닥에 착저하여 서식하는 넙치와 터봇 등에 스쿠티카충 감염과 피해가 많은 것으로 사료된다.

3 cm 그룹인 경우 실험 시작 후 4일 만에 감염률이 40%로 매우 빠르게 감염되었는데, 감염어는 미감염어에 비해 특별히 건강이 나쁘거나 개체 크기 등에 차이가 없는 것으로 보아 치어에게는 수조 저면에서 충과 접촉이 이루어지면 쉽게 어체조직 속으로 침투가 가능한 것으로 보인다.

넙치에 기생하는 스쿠티카충은 뇌 속까지 침투하므로 치료에 어려움이 많으며(Mizuno et al., 1993), 넙치의 장이나, 간장, 비장, 신장, 생식소 등의 내부 기관까지 침투하여 세포들을 변형 또는 괴사시킨다(Lee et al., 2001; Jin et al., 2003b). 또한 넙치 외에도 육상수조에서 양식하는 자주복의 아가미와 뇌, 신장,

비장 등의 주요 장기에 침투한다(Kang et al., 2005). 이 연구에서도 주로 지느러미와 주둥이 부분을 통해서 체내로 감염되었으며 근육과 아가미, 복강, 척수, 안구, 뇌 등 내부 장기에 침투하여 위의 연구와 비슷한 감염 상태를 보여 양식넙치의 체내에 침투하는 스쿠티카충은 *P. dicentrarchi*인 경우가 많을 것으로 추정된다. 이와 같이 *P. dicentrarchi*가 어체내에 침투하여 피해를 입히므로 내부기생충으로 정의하기도 했다(Iglesias et al., 2003). 유럽의 육상양식장에서 양식하는 터봇에 *P. dicentrarchi*가 감염될 경우 안구, 뇌, 내부장기 등에 침투하여 치명적인 피해를 입히며(Iglesias et al., 2001), Paramá et al.(2003)은 터봇에 *P. dicentrarchi*를 인위감염 시험 결과 비장, 구강, 아가미, 근육, 뇌 등에 감염되었다고 하였다. 이와 같이 터봇에 감염 상태와 이 연구의 넙치 감염 결과가 비슷하게 관찰되는 것으로 보아 터봇이나 넙치에 이 섬모충이 감염되는 메커니즘이 비슷한 것으로 사료된다. 실제로 양식현장에서 넙치에 감염된 스쿠티카충을 검사해보면 대부분 형태적으로 *P. dicentrarchi*의 특징을 보이고 있으며, 이 연구의 *P. dicentrarchi* 체내 침투 능력을 감안하면 터봇 뿐만 아니라 넙치나 자주복 등에 이 섬모충이 심각한 피해를 입히고 있음을 시사하는 것으로 보인다.

이 실험에서 인위 감염 후 폐사어의 외부 증상이 3 cm 그룹인 경우 체색화하 외에 특별한 육안적 외부증상이 나타나지 않았으나 5 cm 그룹은 지느러미 부식이나 피부 궤양 등의 전형적인 스쿠티카충 외부증상을 보였다. 이는 어린 시기인 3 cm 그룹은 외부에 증상이 나타날 정도로 악화되기 전에 이미 폐사하는 반면 5 cm 그룹은 외부 증상이 나타날 때 까지 생존이 가능하기 때문인 것으로 보인다. Jin et al.(2003b)의 보고에서도 스쿠티카충이 7 cm 이하의 양식넙치 치어에 감염된 경우 평균 53.8%의 폐사율을 보였으나 7 cm 이상 크기에 감염된 경우는 13.2%의 폐사율을 보여 어체가 성장할수록 저항력이 높아지는 것으로 보인다. 현장조사에서도 넙치가 전장 25 cm 이상으로 성장하면 스쿠티카충에 감염되더라도 큰 피해가 없는 것으로 나타나 있다(Jin et al. 2003b).

뇌로 이행되는 과정은 머리 부분에 감염된 경우 두부골격과 근조직 사이로 쉽게 이동이 가능한 것으로 보이며, 꼬리지느러미에 감염된 경우도 척수를 통해서 뇌로 이행되었다. 3 cm 그룹이 5 cm 그룹 보다 뇌에 도달하는 시간이나 체내 이동이 빠른 것은 어린시기일 수록 조직이 연약하여 쉽게 침투하고 조직내 이동도 빨리 이루어지기 때문인 것으로 보인다.

두 실험구와 대조구의 폐사어에서는 궤양부위, 복강, 간장, 신장, 아가미 등에서 비브리오균이 검출되었다. 비브리오균은 넙치가 기생충 감염이나 스트레스를 받게 되면 쉽게 2차 감염되는 것으로 알려져 있는데(田, 2005), 이 실험에서도 스쿠티카충에 의해 손상된 조직을 통해 2차 감염되거나 실험수조에서 장기간 사육에 따른 스트레스로 인하여 비브리오균에 감염된 것으로 보인다. 따라서 인위 감염된 스쿠티카충 외에 비브리오균도 실험어 폐사에 어느 정도 영향을 미쳤을 것으로 추정되나 정

확한 역학관계는 규명할 수 없었다. 앞으로 기생충 감염 후 비브리오팀의 2차 감염에 따른 영향이나 대책에 대한 연구도 필요한 것으로 보인다.

요 약

넙치 치어 3 cm와 5 cm 그룹을 이용하여 *Philasterides dicentrarchi*에 대한 병원성과 감염경로를 조사하였다.

소형수조에서 넙치치어에 스퀸티카충을 인위감염시킨 결과 3 cm 그룹인 경우 접종 4일 후에 40%가 감염되었으며, 24일 후에는 감염률이 90.1%로 대부분의 실험어가 감염되었다. 5 cm 그룹은 3 cm 그룹에 비해서 초기 감염률이 현저히 낮았다. 접종 8일 후에 최초로 20%의 감염률을 보였으며 16일 후에도 42%로 완만한 속도로 감염률이 증가하였다. 그러나 그 이후에는 감염률이 급격히 증가하여 24일 후에는 81%에 달했다. 반면에 스퀸티카충을 접종시키지 않은 대조구에서는 스퀸티카충이 감염되지 않았다.

인위감염시킨 스퀸티카충의 어체내 침투는 몇 가지 경로로 이루어졌는데, 지느러미 연조직에 감염된 후 지느러미 조직과 근육에 침투하는 경로, 주둥이 부위의 부드러운 표피를 통하여 감염된 후 두부 골격과 근육 결을 따라 안구와 뇌로 침투하는 경로, 꼬리지느러미를 통해서 미병부에 침투한 후 척수에 도달하고, 척수를 따라 뇌에 침투하는 경로 등이었다. 이외에도 복강에 침투하는 경우도 있었는데, 항문주위에 다량으로 증식하며 조직을 괴사시킨 후 복강으로 침투하였다.

치명적인 피해를 입히는 뇌 침투는 3 cm 그룹은 총 접종 후 14일 만에, 5 cm 그룹은 20일 만에 각각 확인되어 어체가 작을 수록 빨리 이루어졌다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부의 지역전략산업 석·박사 연구인력양성 사업에 의해 지원 받아 수행된 연구 결과입니다.

참고문헌

Cawthorn, R. J., D. H. Lynn, B. Despres, R. MacMillan, R. Maloney, M. Loughlin and R. Bayer, 1996. Description of *Anophryoides haemophila* n. sp. (Scuticociliatida: Orchitophryidae), a pathogen of American lobsters *Homarus americanus*. Dis. Aquat. Org., 24, 143-148.

Choi, S. D., J. M. Kim, S. Y. Kim, Y. C. Jo, K. K. Choi and H. C. Yang, 1997. Study on distribution and extermination of scuticociliatids parasitizing to Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* in southern Korea. J. Fish Pathol., 10, 21-29.

Dragesco, A., J. Dragesco, F. Coste, C. Gasc, B. Romestand, J. C. Raymond and G. Bouix, 1995. *Philasterides dicentrarchi*, n. sp. (Ciliophora, Scuticociliatida), a histopathogenic opportunistic

parasite of *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), a reared marine fish. Europ. J. Protistol., 31, 327-340.

Iglesias, R., A. Paramá, M. F. Alvarez, J. Leiro, C. Aja and M. L. Sanmartín, 2003. In vitro growth requirements for the fish pathogen *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora, Scuticociliatida). Vet. Parasitol., 111, 19-30.

Iglesias, R., A. Paramá, M. F. Alvarez, J. Leiro, J. Fernández and M. L. Sanmartín, 2001. *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora, Scuticociliatida) as the causative agent of scuticociliatosis in farmed turbot *Scophthalmus maximus* in Galicia (NW Spain). Dis. Aquat. Org., 46, 47-55.

Jee, B. Y., Y. C. Kim and M. S. Park, 2001. Morphology and biology of parasite responsible for scuticociliatosis of cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Dis. Aquat. Org., 47, 49-55.

Jin, C. N., C. H. Lee, S. P. Oh, Y. U. Jung, C. B. Song, J. Lee and M. S. Heo, 2003a. Scuticociliatosis in flounder farms of Jeju island. J. Fish Pathol., 16, 135-138.

Jin, C. N., C. H. Lee, S. P. Oh, O. S. Na and M. S. Heo, 2003b. Infection route of scuticociliates in the juvenile of the cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Fish Pathol., 16, 13-21.

Jung, S. J., S. I. Kitamura, J. Y. Song, I. Y. Joung and M. J. Oh, 2005. Complete small subunit rRNA gene sequence of the scuticociliate *Miamiensis avidus* pathogenic to olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Dis. Aquat. Org., 64, 159-162.

Kang, B. S., H. B. Go, S. J. Kim, O. S. Na, C. H. Lee, S. Y. Kim, J., Lee and Y. D. Lee, 2005. External symptoms of tiger puffer, *Takifugu rubripes* infected with scuticociliates and distribution of the scuticociliates in the skin, gill and blood vessel. J. Fish Pathol., 18, 29-37.

Kim, S. M., J. B. Cho, S. K. Kim, Y. K. Nam and K. H. Kim, 2004a. Occurrence of scuticociliatosis in olive flounder *Paralichthys olivaceus* by *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora: Scuticociliatida). Dis. Aquat. Org., 62, 233-238.

Kim, S. M., J. B. Cho, E. H. Lee, S. R. Kwon, S. K. Kim, Y. K. Nam and K. H. Kim, 2004b. *Pseudocohnilembus persalinus* (Ciliophora: Scuticociliatida) is an additional species causing scuticociliatosis in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Dis. Aquat. Org., 62, 239-244.

Lee, C. H., Y. J. Kang, D. S. Ha and Y. D. Lee, 2001. Occurrence and histopathological observation of scuticociliatosis in the cultured olive flounder, *Paralichthys Olivaceus*. Bull. Natl. Fish. Res. Dev. Inst. Korea, 59, 68-73.

Mizuno, Y., 1993. Control methods of diseased Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, used in fish farm in Japan. J. Fish Pathol., 6, 219-231.

Paramá, A., R. Iglesias, M. F. Álvarez, J. Leiro, C. Aja and M. L. Sanmartín, 2003. *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora, Scuticociliatida): experimental infection and possible routes of entry in farmed turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture, 217, 73-80.

田世圭. 2005. 넙치의 질병과 치료. 한국수산신문사, pp. 112-118.

원고접수 : 2006년 6월 5일

수정본 수리 : 2006년 8월 12일