

굴에 寄生하는 Amoeba에 對하여

田 世 圭*

AMOEBIA INFECTION IN OYSTER (*CRASSOSTREA GIGAS*)

Seh-Kyu CHUN*

A species of enigmatic amoeba was found from the oysters culcured in Jinhae Bay and the Goje Bay in September-October 1978 and October 1979. Occurrence and the morphological characteristics of the amoeba were studied.

Based on their peculiar morphological characters the enigmatic body was a species of parasitic amoeba. The amoebas were morphologically very similar to the amoeboid parasite described by Sawyer(1977).

Occurrence of the oysters infected with the amoeboid ranged from zero to 13.3%. The infection rate did not show any relations to the depth of water where the oysters were suspended.

The longest diameter of the amoeba is 24 μ . The thin outer membrane is lightly stained with eosin and PAS positively.

Initially one amoeboid was found in an ovum, and later it propagated to 3 to 4 individuals.

緒 論

巨濟灣에서 養殖되는 굴(*Crassostrea gigas* T.) 은 水溫이 上昇되는 6~7월에 産卵하여 水溫이 下降되는 9~10월에는 生殖細胞가 거의 보이지 않는다. 1978年 9~10월은 水溫이 높아 抱卵된 것 같이 보이는 굴이 많았다. 이들 굴 中에는 直徑 數mm에서 數拾mm에 이르는 乳白色或은 黃白色으로 隆起된 腫瘍狀物이 觀察되었다. Ogasawara(1962)등은 「異常卵塊」 굴이라 했으나, Sawyer(1971, 1975)는 굴組織內에 寄生하여 疾病을 일으키는 Amoeba에 屬하는 *Acanthamoeba* sp. 때문이라 했고, Matsuzato(1977)는 産卵후 쇠약한 굴에 寄生하여 卵巢를 溶解시키고 나아가서는 굴을 죽게한다고 했다.

1978年 鎭海灣 굴의 폐사 原因을 調查하면서 花島, 於九에서 採取한 굴卵에 寄生하여 Amoebocytosis를 일으킨 것을 관찰 하였으므로 여기에 보고한다.

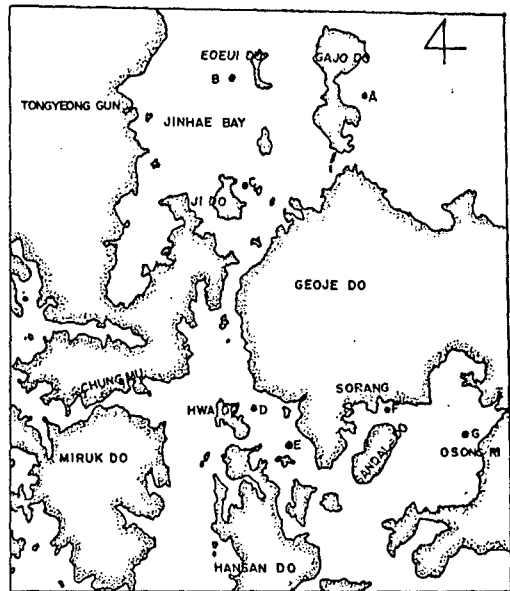


Fig. 1. Location of the sampling station.

* 釜山水産大學, National Fisheries University of Busan

材料 및 方法

1978年9~11월에 嶺海灣 및 巨濟灣의 7個 地点의 굴 垂下式 養殖場에서 材料를 採取하였다. 採取한 굴은 같은 垂下型의 上(0-2) 中(2-4) 下(4-6)層에서 任意로 10個씩 試驗에 使用했다. 모든 材料는 現地에서 肉眼的으로 異常卵塊의 有無를 詳細히 觀察한 후 곧 Bouin氏液에 固定하고 實驗室에 운반하여 常法에 따라 6-8 μ 파라핀 切片을 만들어 Harris氏 Haematoxylin-Eosin染色 (H-E染色)과, PAS染色으로 組織을 觀察하였다.

結果 및 考察

嶺海灣의 3地点 加助島, 於義島, 紙島에서는 全然 檢出되지 않았으나 閑山灣인 花島와 於九에서 採集한 굴에서는 上·中·下層에 關係없이 異常卵塊가 檢

出되었다. 花島것에서는 1978年 9月27日 材料中에서 10.0%, 同年 10月3日 材料에서는 13.3% 檢出되었으나 1979年 6月 5日의 材料에서 檢出되지 않았다. 同年 10月26日의 材料에서는 13.3% 檢出되었다. 花島에서 1.2 km 距離인 於九에 있어 1978年 9月 27日材料에서는 6.7%, 10月 3日 材料에서 10.0% 檢出되었다. 1979年 6月5日의 材料에서는 發見할 수 없었다. 同年 10月26日 材料에서는 13.3% 檢出되었다. 不足한 感은 있으나 1978年度에 檢出되지 않았던 巨濟灣內의 小浪里와 五松里 漁場것은 檢査 하지 못했다.

Sawyer(1971, 1975)는 沿岸의 泥土에서 *Acanthamoeba* sp.를 分離培養 했으며, Imai(1968) 등은 Matsushima灣의 굴이 大量斃死 했을때 굴의 卵細胞內에 寄生하는 物体를 amoeboid parasite라 했고, Koganezawa(1975)도 굴의 大量斃死 原因으로서 amoeboid parasite를 指摘했다.

Table 1. Frequency of abnormal oysters by locations (1978-1979)

Location of survey station	Date	No. of oyster examined	No. of abnormal oyster	Abnormal oyster incidence	Average meat weight per oyster (g)
Gajo-Do	Sep. 27 78	30	—		5.3
	Oct. 3 "	30	—		5.6
Eoeui-Do	Sep. 27 "	30	—		6.2
	Oct. 3 "	30	—		6.3
Ji-Do	Sep. 27 "	30	—		4.8
	Oct. 3 "	30	—		4.3
Hwa-Do	Sep. 27 "	30	3	10.0	6.5
	Oct. 3 "	30	4	13.3	6.2
	June 5 79	30	—	0	3.2
	Oct. 26 79	30	4	13.3	6.1
Eo-gu	Sep. 27 78	30	2	6.7	6.7
	Oct. 3 "	30	3	10.0	6.2
	June 5 79	30	—	0	3.4
	Oct. 26 "	30	4	13.3	6.2
Sorang-Ri	Sep. 27 78	30	—		6.8
	Oct. 3 "	30	—		7.1
Osong-Ri	Oct. 3 "	30	—		6.8
	Sep. 27 "	30	—		7.2
	Oct. 3 "	30	—		

Matsuzato(1977)는 굴 養殖場으로서는 不利한 高鹽分, 貧榮養海域에서 많이 發生한다고 했으나, 花島, 松九는 高鹽分海域인 同時에 貧榮養海域이다. 寄生된 굴의 重量은 平均 6.2~7.1g의 것이 많았다.

1. 굴의 病理學的 所見

굴 軟體部의 表面의 乳白色이나 黃白色으로 膨隆

된 것을 觀察할 수 있다. 膨隆된 部分은 多樣하며 작은 것은 2~3mm에서 큰 것은 20~25mm나 되었다. 그數도 1~2個 인 것부터 많은 것은 5~6個나 되었다. 때로는 1個體에 여러개의 扁平한 隆起가 나타나 正常的인 軟體部와 區別하기 힘들때도 있다.

2. 卵巢組織

膨脹된 部分의 組織은 全部가 卵巢였으며 組織內에는 多様な 濾胞의 形態를 볼 수 있다. 第一次卵細胞를 맞이하는 同時에 濾胞壁에는 幼弱한 卵原細胞도 많이 보인다. 때로는 卵細胞가 吸收되어 消失되어가는 것같이 보이는 것도 있다. 이와같은 현상은 個體에 따라 相異하며 卵細胞의 崩壞, 消失, 變形등이 觀察된다. 濾胞內에 남아있는 卵의 直徑은 38~46 μ 정도로서 類圓形이다. 細胞質은 均一하며 卵黃 顆粒을 가진다. 卵細胞에 나타나는 多核現象은 Ogasawara(1962) 등이 報告한 것과 같은 現象으로서, 濾胞壁上의 卵原細胞에서도 보인다(Fig. 2).

3. 卵細胞內의 寄生體

여름철 産卵이 끝난 굴은 消化盲囊 週邊 間質에는 網狀組織以外에 아무것도 觀察되지 않는데, 非正常的인 굴에 있어서는 濾胞가 形成되고, 卵細胞가 分裂되어 卵母細胞로 發育된다. 이때 細胞質內에 點狀核을 가진 寄生體가 보인다(Fig. 3).

이들 卵母細胞內에 4~5 μ 의 空胞狀空間이 나타나고 그속에 寄生體 amoeba가 보인다. 이들 amoeba는 卵母細胞가 發育됨에 따라 커져서 空胞의 直徑이 10~10 μ 정도가 되고, amoeba는 分裂되어 2個의 圓形細胞로 形成된다(Fig. 4).

이와같은 寄生體는 卵細胞內에 1~4個로 나타나는 경우가 많으며 卵母細胞가 클수록 寄生體가 크다(Fig. 5).

잘 發育된 寄生體는 直徑 20~25 μ 이며, 內부에 顆粒狀物質을 充滿시키고 있다. PAS染色에 있어서는 生體가 진한 赤色으로 染色되며, Eosin에는 얇게 染色된다. 生體의 外膜內에 다시 內膜이 있으며 다같은 染色性을 가진다. 組織標本上에는 内外膜이 明白히 나타나며 核物質의 形態는 多様하여 半月狀或은 球狀으로 보인다.

寄生當한 굴의 卵細胞의 核은 變形되고 收縮되어 후에는 崩壞되는 것을 알 수 있는데 Ogasawara(1962)등이 지적한 바와 같이 이들 寄生蟲이 寄生한 굴의 卵細胞는 正常的으로 發育되지 못하고 收縮되거나 變形된다고 했으나 卵細胞의 崩壞에는 言及하지 않았다.

Sawyer(1977)는 沿岸泥土에서 分離한 *Acanthamoeba* sp. 10,000個體를 15~20g mouse 鼻腔內 接種시켰을때 mouse는 24時間 以內에 죽으므로서 이 *Acanthamoeba* sp.는 病原性 amoeba라 했다.

Brewster(1979)등은 American oyster (*Crassostrea virginica*)에서 分離한 變形細胞를 [試驗管內에서 培養하는데 가장 잘자라는 培地가 굴의 심장조직이고, 다음에 잘자라는 培地가 굴의 혈액림프나, 굴組織의 추출액을 加한 培地라 했다.

Imai(1968)등, Koganezawa(1975)와 著者의 結果를 綜合하면 굴에 寄生하는 寄生體는 *Acanthamoeba*屬의 amoeba이며 굴에 被覆를 미치는 病原體라 할 수 있다.

Table 2. Comparison of measurements and other data of amoeboid cell(μ m)

Authority	1978 Chun	1977 Matsuzato	1971 Sawyer	1968 Imai
Host	<i>C. gigas</i>	<i>C. gigas</i>	<i>C. virginica</i>	<i>C. gigas</i>
Habitat	Egg	Egg	Mantle	Blood cell and egg
Locality	Hansan area	Hiroshima Bay	Maryl and Oxford Lab.	Matsushima Bay
Amoeboid cell(Diameter)	2-11	2-12	13.8-19.6	2-8
No. of nucleus	2-4	2-4	2-6	2-5
PAS stain	+	+		+
Granule	+	+		+
Pathogenicity	+	+	+	+
Genus	<i>Acanthamoeba</i> sp.			

要 約

巨濟灣의 垂下式 養殖굴에서 卵巢의 異常發育과

膨脹된 部分이 觀察되었다.

1978年 9~10月과 1979年 10月에 調査한 結果는 다음과 같다.

① 7個地點中 花島와 松九에서 6.3~13.3% 檢

출 되었다.

② amoeba에 寄生된 알의 무게는 6.2~7.0g이다.

③ 寄生된 알은 水深에 關係없이 上·中·下層에서 다 檢出되었다.

④ 卵細胞에서만 檢出되며 amoeba의 크기는 3~24 μ 이다.

⑤ 卵細胞內에는 1~3個體의 amoeba가 가장 많이 檢出되었다.

⑥ amoeba는 PAS染色 陽性이며 Eosin에 잘 染色된다.

⑦ amoeba의 形態와 性狀이 Swayer가 報告한 *Acanthamoeba* sp.와 類似했다.

⑧ 순수배양하여 形態變化를 바 固定하고자 한다.

文 獻

- Brewster, F., B.L. Nicholson(1979): In vitro Maintenance of amoebocytes from the American oyster (*Crassostrea virginica*.) J. Fish. Res. Board Can. 36, 461-467
- Matsuzato, T., T. Hoshina, K. Arakawa, and K. Masumura(1977): Studies on the so-called abnormal egg-mass of Japanese oyster, (*Crassostrea gigas*). Bull. Hiroshima Fish. Exp. St. No. 8, 9-25.
- Imai T., K. Mori, Y. Sugawara, H. Tamates, J. Oizumi, and O. Itikawa(1968): Studies on the mass mortality of oyster in Matsushima Bay. VII. Pathogenetic investigation. Tohoku J. Agricult. Res. 19(4), 250-264.
- Koganezawa, A.(1975): Present status of studies on the mass mortality of cultured oysters in Japan and its prevention. Special Public Japan Sea Reg. Fish. Res. Lab. Niigata.
- Ogasawara, Y., U. Kobayashi, R. Okamoto, A. Furukawa, H. Hisaoka and K. Nogami (1962): The use of the hardened seed oyster in the culture of the food oyster and its significance to the oyster culture industry. Bull. Naikai Reg. Fish. Res. Lab. 19, 1-152(In Japanese)
- Sawyer. T.(1975): Marine amoeba from surf-ace waters of Chincoteague Bay, Virginia: One new genus and eleven new species within the families Thecamoebidae and Hyalodiscidae. Trans. Amer. Micros. Soc. 94 (3), 305-323.
- Sawyer T. K. and L. R. Buchanan(1971): Contamination of tissue sections of the American oyster by cysts of *Acanthamoeba* sp. J. Inv. Path. 18(2), 300.
- Sawyer, T G. S Visvesvara and B. A. Harke(1977): Pathogenic amoebas from brackish and ocean sediments, with a description of *Acanthamoeba hatchetti*, n sp. Science (196), 1324-1325.

EXPLANATION OF PLATE

- Fig. 2. Section of abnormal egg-mass. Ovary is infiltrated with amoeboid cells. Hematoxylin-Eosin. $\times 300$.
- Fig. 3. The egg mother cells attached on the follicle membrane are parasitized by many individuals of parasite in young stage; the parasites are presenting an appearance of vacuole. Hematoxylin-Eosin stain $\times 300$.
- Fig. 4. Comparatively well developed parasite in the ovum; the parasites are composed of two cells. Hematoxylin Eosin. $\times 800$.
- Fig. 5. Same. parasite cell is compose of two layers; a round nucleus sheathed in an inner layer is seen. Hematoxylin Eosin stain $\times 1200$.

PLATE

