

뱀장어 水生真菌, *Saprolegnia diclina* Type I 의 實驗的 感染

閔洪圭 · 朴南鏞* · 畑井喜司雄**

光州東新實業專門大學 衛生學科

*全南大學校 獸醫科大學 病理學教室

**日本 獸醫畜產大學 魚病學教室

Experimental Infection with *Saprolegnia diclina* Type I in Eels(*Anguilla japonica*)

Hong-Kyu MIN, Nam-Yong PARK*, Kishio HATAI**

Department of Sanitary Science

Dongshin Vocational Junior College

*Department of Veterinary Medicine

Chonnam National University

**Department of Fish Diseases, Nippon

Veterinary and Animal Science University

(Musashino, Tokyo, Japan)

Experimental infection and histopathological study using a deleterious aquatic fungus (*Saprolegnia diclina* type I) were carried out in the eels (*Anguilla japonica*) to know what pathological changes the fungus would produce in the affected eels. The eels in group A and B which were treated with fish net were not susceptible to experimental infection. In group C which the cuticle was scraped by artificial treatment, the aquatic fungi were invading all the eel bodies including the desquamated lesions. Histopathologically, the affected eels were markedly reduced in number of goblet cells and showed moderate damage of the clavate cells. Nodular formation involving ecchymotic hemorrhage was seen in some affected areas. The eels survived to 25 days after experimental infection.

緒 論

魚類의 水生菌病은 真菌類에 의해 發生하는 疾病으

로 天然魚나 養殖魚의 魚體에 寄生할 뿐만 아니라 魚卵에도 菌類가 附着하여 水生菌病(*Saprolegniasis*)을 일으키는 것으로, 그 被害는 細菌性 疾病이나 바이러

스性 疾病만큼 크지는 않지만 오래전부터 養殖業에 經濟的 損失을 가져오기 때문에 問題視되어 왔다. 오늘날 이 疾病의 發病原因은 완전히 밝혀지지 않았으나 특히 養殖魚에서는 輕視할 수 없는 여러 真菌病의 種類가 增加하여 그 治療法도 아직 確立되지 않은 것이 많기 때문에 (畑井, 1980) 疾病이 일단 發生하면 적지 않은 被害를 입는 경우가 許多하다. 이에 著者들은 水生菌病(*Saprolegniasis*)의 原因菌中 *Saprolegnia diclina* Type I을 鰻장어에 人工感染시켜 接種真菌을 病巢로부터 再分離하여 同定하였으며 病理學的으로 皮膚病變을 調査하고자 본 研究를 遂行하였다.

材料 및 方法

供試魚는 養殖場에서 飼育한 健康한 鰻장어 (*Anguilla japonica*)로서 平均 體長 42cm, 體重 110g의 것 27마리를 使用하였다.

供試真菌은 日本獸醫畜產大學 魚病學教室의 實驗室에서 培養하고 있는 *Saprolegnia diclina* Type I을 使用하였다. 人工感染實驗에 쓰인 遊走子는 供試株를 GY 液體培地에서 5日間 培養한 後 菌株의 菌絲體를 滅菌水道물에 다시 3日間 培養하여 遊走子 滅菌水를 얻었다. 試驗水는 水道물을 아크릴製 魚類飼育用 水槽에 Sodium thiosulfate를 넣어 中和시킨 後 使用하였다.

試驗群은 A 群 (遊走子 수 1.1×10^4 cells/ml), B 群 (3.0×10^4 cells/ml) 그리고 C 群 (2.7×10^4 cells/ml)으로 나누어 實施하였는데 A 群은 3 分間 물에서 건져 그물로 흔들어 處理한 A₁群 (試驗水 19 L + 遊走子 滅菌水 1 L, A₂群 (試驗水 19.9 L + 遊走子 滅菌水 0.1 L), B 群은 물에서 건져 그물로 흔들어 處理 5 分間의 B₁群, 10 分間 處理의 B₂ 群인데 모두 試驗水와 遊走子 滅菌水의 量이 20 L가 되게 하였다. C 群은 供試魚의 尾部로부터 10cm 떨어진 驅內部에 人工的으로 粘液剝離를 시킨 後 C₁群(試驗水 3.5 L + 遊走子 滅菌水 1.5 L)과 C₂ 群 (試驗水 4.5 L + 遊走子 滅菌水 0.5 L)으로 하였고 各 群에 對해서 非處理한 對照群을 두었다.

實驗 期間中の 水溫은 7-10°C로 期間中 飼料를 隔여치 않고, 물을 추가하지 않았으며, 氣泡發生器로 계속 通氣시켰다.

病理組織標本은 一般 常法에 準해서 Hematoxylin-

Eosin 染色을 하고 真菌 同定을 위한 特殊 染色인 PAS 染色과 Grocott 染色을 하여 光學 顯微鏡으로 觀察하였다.

結 果

A, B 群의 물에서 건져 그물로 흔들어 處理한 供試魚는 水生菌病에 感染되지 않아 病魚를 볼 수 없었으며 C 群에서만 供試魚의 體表全般에 걸쳐서 綿毛狀의 真菌이 덮여져 있는 것을 觀察할 수 있었다(Fig. 1). 이들 魚類의 體表에서 菌絲를 슬라이드에 分離하여 光學顯微鏡下에서 觀察하였던 바 無隔壁으로 分枝하는 真菌類였으며 孢子가 發病하는 部位도 觀察할 수 있었다(Fig. 2, 3). 發芽하는 樣式을 보면 *Saprolegnia diclina* Type I의 特征인 間接發芽 方式이어서 이 真菌類는 같은 種임을 同定할 수 있었다. 또한 病巢에서 採取된 菌絲體의 길이와 지름이 實驗室에서 培養하고 있는 菌絲體의 길이와 지름과 同一한 15-35 μ m이어서 본 實驗에서 얻은 供試魚에 寄生한 真菌類는 培養株의 供試株와 같은 種임을 示唆했다.

또한 供試魚 體表의 病巢에는 綿毛狀의 菌絲體가 觀察되면서 어떤 곳은 出血斑을 隨伴하는 膨隆病巢가 形成되었고 病理組織學的으로 菌絲體가 表皮와 眞皮에 身長되어 分布되어 있는 것을 觀察할 수 있었으며 특히 皮膚의 表皮層은 甚한 出血을 隨伴하면서 皮膚細胞가 顯著하게 變性 및 壞死되어 있었고 一部 粘液細胞는 腫大되어 있었다(Fig. 4).

C 群의 供試魚의 皮膚는 對照群의 非處理된 魚體와는 달리 粘液細胞의 存在가 顯著하게 減少되었고 機能이 分明하지 않는 大型의 棍棒狀 細胞도 損傷되어 있었으며 그 配列이 불규칙해진 所見을 뚜렷하게 觀察할 수 있었다(Fig. 4, 5). 특히 H & E 染色의 病理組織標本에서는 菌絲體가 잘 確認되지 않았으나 PAS 反應과 Grocott 染色에서는 甚하게 壞死 및 脫落된 表皮層에 分布되어 있는 菌絲體를 確認 同定할 수 있었다(Fig. 6, 7, 8).

考 察

真菌性 水生菌病의 原因菌의 하나인 *Saprolegnia diclina* Type I을 GY 寒天 培地 平板上에서 배양시켜

寒天和 함께 작게 細切하고 그 中 2-3조각을 GY 液體 培地에 다시 培養한 다음 滅菌 水道물에서 다시 菌絲 體를 培養해서 遊走子를 遊出해서 뱀장어를 飼育하고 있는 水槽에 넣어 人工 感染시킨 結果, 自然的으로 발병된 경우와 같은 症狀이 皮膚에서 觀察되었고, 病理組織學的으로 檢査한 結果 菌絲體가 表皮와 眞皮속 에 뻗어있는 *Saprolegnia diclina* Type I 이 再分離된 바 이는 本 眞菌이 水生菌病이 病原體임을 확인하는 것이라 할 수 있다.

水生菌病은 外部 寄生蟲性 水生菌病과 内部 寄生蟲 性 水生菌病으로 大別할 수 있다(畑井, 1989). 前者는 魚體 또는 魚卵의 表面에 外觀上 綿毛狀의 絲狀菌이 寄生하는 疾病으로 이 眞菌은 卵菌綱이 大部分이다. 이 水生菌病이 供試魚 幼魚의 頭部와 胸部에 寄生하는 경우가 觀察되었다고 畑井(1986)이 報告하였다. 그러나 水生菌病의 症狀은 菌絲가 發育해서 마치 魚體에 숨이 덮힌 듯한 綿毛狀의 特徵의 所見이 觀察되는 점이다. 이들 眞菌類中에는 底水溫 環境에서 年中 發生 하는 種類가 있고 最近 寄生性 水生菌類로 2種類가 알려져 있다. 그 中 하나는 *Saprolegnia diclina*로 동정되었고 다른 種은 不完全 菌類로 報告되었다(畑井· 江草, 1977).

本 實驗의 供試魚인 뱀장어에 綿毛狀의 菌絲體가 皮膚에 全般的으로 寄生하는 경우는 지금까지 報告된 바 없으며 發病魚의 皮膚에 菌絲體外에는 아무것도 觀察되지 않았고 그 菌絲內에서 드물게 遊走子가 發芽하는 所見이 確認되었는데 이는 本 症의 感染源이 遊走子가 아님을 示唆하는 것으로 思料된다. 畑井등 (1977)은 은어의 眞菌性 肉芽腫症에서 病魚의 體表에 寄生하는 眞菌의 菌絲體는 皮膚 病素에 二次的으로 附着하여 發病하는 것이라 했다. 本 實驗에서는 은어 와는 皮膚의 構造가 다소 다른 장어에서 물에서 건져 그물로 흔든 機械的 皮膚의 損傷部位에서 二次的으로 菌絲體가 附着하여 發病을 했다고 볼 수 있는 病理組織學的 所見등은 觀察되지 않았다.

C群의 實驗에서 보는 바와 같이 뱀장어의 尾部로부터 10cm 떨어진 軀幹部에 人工的으로 皮膚의 粘膜을 形成하는 粘液細胞를 剝離시켰는데도 불구하고 그 部位에만 菌絲가 局限되어 綿毛狀을 形成하는 것이 아니라 오히려 體表 全般的으로 뱀장어의 全身에 菌絲

體가 덮어져 있는 것을 觀察할 수 있었다(Fig. 1). 이 것은 供試魚인 뱀장어는 은어와 같은 魚種과는 달리 皮膚層의 粘膜을 形成하는 粘液細胞의 缺損이 水生菌病을 直接 感染시키기 보다는 魚體의 一部에 機械的 損傷이 加해지면 어떤 機轉에 의해서 *S. diclina* Type I의 菌絲體가 皮膚에 附着하여 皮膚와 眞皮에 分布되어 發育하는 것이 아닌가 思料되어 더욱 研究가 必要하다.

뱀장어에서 菌絲體의 一部가 發芽하는 所見도 觀察되었는데 이는 GY 液體部位에서 培養할 때와 同一한 菌絲體가 分枝하면서 叢生을 이루는 것과 類似했으며, 뱀장어에 먼저 附着된 菌絲體中 가는 菌絲가 두꺼운 菌絲에서 脫落하여 水中 浮游하다가 皮膚의 다른 部位에 附着해서 發育하는 것으로 思料되었고 여기서 再次 分枝된 菌絲가 脫落하여 魚體 皮膚의 또 다른 部位에 附着하여 水生菌病의 感染이 成立되어지는 것이 아닌가 思料된다.

宮崎等(1976)은 日本장어 (*Anguilla japonica*)의 *Edwardsiella tarda* 感染症에 關해서 病魚의 感染病巢에서는 組織의 液化壞死가 顯著하고 組織細胞 反應이 있었음을 指摘하였으나 本 實驗에서는 感染 病巢가 全般的이며 皮膚 組織의 液化 壞死를 肉眼的으로 顯著하게 觀察할 수 없는 點으로 봐서 같은 뱀장어일지라도 侵入菌의 種類에 따라서 菌絲의 侵入機轉이 相違함을 나타내는 것으로 思料된다.

星合等(1989)은 은어에 對한 水生菌病의 報告에서 같은 供試株일지라도 攻擊 遊走子數의 多寡에 따라 感染率이 달랐으며 또한 魚種에 따라서 斃死率이 差異가 있음을 指摘한 바 있고, 이들의 實驗에서 特히 供試株가 2.0×10^4 cells/ml인 경우 무지개 송어는 95%가 感染되었고 또 斃死率도 높았다고 했다. 本 實驗에서는 C₂群에서 供試株에 感染된 後 20日 後까지도 生存하고 있는 것을 觀察하였다. 이것은 C₁群이 C₂群에 비해서 攻擊 遊走子가 들어 있는 遊走子滅菌水가 顯著히 많기 때문이라 思料되었다.

和田等(1989)은 연어科 魚類에서 報告한 바에 의하면 *S. diclina* Type I의 遊走子數가 2000 CFU/L以下였던 연어 養殖場에서 水生菌病이 發生했을 때는 그 後 水中의 遊走子數가 10,000-22,000 CFU/L까지 增殖하는 것을 指摘했는데 本 實驗에서도 2.7×10^4 ce-

64 *Saprolegnia diclina* infection in eels

115/ml의 C₂群보다 C₁群쪽이 훨씬 빨리罹患되었다는 것을 試驗水속에 들어있는 遊走子 數와 어떤 有意性 있는 關係가 있음을 強하게 示唆해 주고 있다.

水生菌病은 頭部, 尾部 또는 軀幹部와 지느러미의 여러 곳에 真菌類가 附着하여 생기는 病이므로 장어에서도 稚魚에서 成鰻까지 魚體의 大小에 關係없이 感染된다. 主로 疾病 發生期는 4月頃이며 特히 大陸으로부터의 寒波來襲 後에는 爆發的으로 이 疾病이 養鰻場에 發生하는 일이 많지만 이 外에도 嚴冬期에 크게 發生하는 일이 있다. 이 水生菌病에 感染된 鰻장어는 水面 附近을 힘없이 헤엄치든지 壁에 기대어 靜止 狀態로 있지만 大部分은 그 後에 斃死한다. 그러나 5월에 접어들면서 水溫이 上昇하기 始作하면 새로운 水生菌病의 發生은 없고 罹病魚의 水生菌 寄生病巢로부터 真菌類의 群落이 그 部位의 밑에 있는 崩壞된 皮膚 조각과 함께 脫落하면서 큰 潰瘍이 만들어진다. 그러나 그 後 장어는 活力을 되찾고 回復하는 일이 許多하다.

畑井과 江草(1976)는 水生菌中에서 가장 重要한 것은 이 *Saprolegnia* 屬이라고 報告한 바 있다. *Saprolegnia*속의 特徵 하나는 또한 遊走子이다. 遊走子는 遊走子囊속에 多列로 形成되어 마치 西洋 배 모양으로 2個의 頂生鞭毛를 가지고 遊走子囊으로부터 遊出되어 그 後 얼마 있다가 運動을 停止하여 球狀體가 된 다음 休眠하는데 이것이 一次 休眠 胞子이다. 이 一次 休眠 胞子が 어느 期間을 經過하면 2個의 側生 鞭毛를 가지는 蠶豆形의 二次 遊走子로 되어 囊에서 나와 遊出한다. 그리고 다시 休止하여 球狀體로 된다. 이것이 二次 休眠 胞子인데 이 二次 休眠 胞子が 適當한 物體에 附着하여 發芽의 條件이 갖추어지면 發芽하고 菌絲體가 形成된다. 畑井(1986)은 發芽에 適當한 附着物이 없을 때는 어느 期間 休眠 狀態로 生存하는 것이 可能하지만 보다 더 詳細한 것은 아직 分明하지 않다고 했다.

Egusa(1965) 및 Egusa and Nishikawa(1965)는 장어의 水生菌病이 多發한 養鰻場에서 그 原因을 調査, 研究한 結果 感染魚中에는 真菌類의 寄生은 *Aeromonas* 細菌이 먼저 侵入한 後 二次的으로 寄生하여 續發하는 것으로 水生菌病은 *Aeromonas* 感染症이 續發症으로 重要하다고 報告한 바 있다. 그러나 아직 이 *Aeromonas* 感染症에 對해서 장어의 皮膚에 어떤 變化가 일어나서

水生菌病의 遊走子 또는 休眠 胞子の 附着, 發芽의 발판이 되는지는 分明치 않다. 그렇지만 眞皮 出血 部位 表層에서 粘液 分泌의 增加와 表皮 細胞의 配列이 顯著하게 破壞되어 있는 것을 觀察할 수 있다고 하였다. 또한 眞皮의 表層 또는 表皮 基底膜 밑에 *Aeromonas* 菌이 侵入해서 菌이 繁殖하고 그 後 그 部位 表皮 細胞는 壞死하고 이들이 漸漸 그 곳을 둘러싸서 異常 增殖이 上皮細胞에서 誘發된다고 하였고 그 때 眞皮에는 出血은 적고 細胞 增殖도 전혀 觀察할 수 없다고 하였다. 또한 江草(1966)는 病變 發現의 機轉은 明白하게 밝혀지지는 않았으나 表皮細胞의 局所的 壞死가 일어나고 그 除去作用이라고 생각되어지는 表皮 細胞 增殖이 일어날 수도 있다고 하였다. 이와 같은 表皮의 病變 部分은 肉眼的으로 그 곳에 옅은 白濁 現像과 작은 膨隆이 同時에 觀察되는데 이것이 水生菌胞子の 附着, 發芽 場所인 것 같다고 하였다. 그러나 寒波來襲 後는 水生菌病의 發生率이 높아지지만 이때는 一次的인 侵入菌으로 생각되는 *Aeromonas* 菌感染과는 無關함을 報告한 바 있다.

本 實驗에서도 感染된 鰻장어 體表에서 綿毛狀의 無隔壁으로 分枝하는 *S. diclina* Type I의 菌絲體를 觀察할 수 있었던 것은 畑井(1989)의 水生菌病은 外部 寄生蟲性 水生菌이 魚體의 表面에 外觀的으로 綿毛狀으로 絲狀菌이 寄生 繁殖한다는 報告와 一致하였으며 特히 *S. diclina* Type I의 特徵인 間接 發芽도 觀察되어 本 實驗에서의 真菌類는 活物 寄生性인 Type I으로 同定되었다. 그러나 鰻장어에서 粘液 剝離된 部位만이 아니라 全身에 菌絲體에 寄生하는 現像에 對해서는 아직 그 機轉이 分明치가 않다. 또 水生菌病은 *Aeromonas* 感染症이 前驅症일 것으로 생각된다는 江草(1966)의 報告되는 多少 相違한 點이 있어서 앞으로 이 問題에 對해서 多角的인 研究가 必要하리라 思料된다.

要 約

水生菌病의 原因菌의 하나인 *Saprolegnia diclina* Type I을 鰻장어에 實驗的으로 感染시켜 感染 機轉과 菌絲體가 體表의 表皮와 眞皮에 나타나는 所見을 病理學的으로 調査하였다.

1. 鰻장어를 물에서 건져 그물로 처리한 A, B群에

서는 實驗的으로 感染되지 안했으나 人工的으로 皮膚粘液을 除去한 C群에서는 심한 感染이 觀察 되었다.

2. 感染魚의 體表에서 採取한 真菌類는 無隔壁으로 分枝하며 間接 發芽 양식이어서 *S. diclina* Type I 으로 同定되었다.
3. 魚體 全般에 綿毛狀의 菌絲體가 觀察되었고 出血斑을 隨伴한 病巢가 形成되었다.
4. 病巢內에는 菌絲體가 表皮와 眞皮에 伸長 分布 되어 있었고 특히 皮膚의 表皮層에는 甚한 出血, 細胞의 變性, 壞死 및 一部 粘液細胞는 甚하게 腫大되어 있었다.

參 考 文 獻

Egusa, S(1965) : The existence of a primary infectious disease in the so-called fungus disease in pondreared eels. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 31, 517-526

Egusa, S., T. Nishikawa(1965) : Studies of a primary infectious disease in the so-called fungus disease of eels. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 31, 804-813

江草周三(1966) : シラスウナギの水カビ病に關する 研究. 中間報告. 魚病研究., 1(1), 23-36

畑井喜司雄, 江草周三, 栗倉輝彦(1976) : 魚病寄生ミカビ(總說). 魚病研究., 11, 45-46

畑井喜司雄, 江草周三, 栗倉輝彦(1977) : 魚類寄生ミスカビ 新種, *Saprolegnia shikotsuensis* sp. NOV. について 魚病研究., 12(2), 105-110

畑井喜司雄(1986) : 魚 真菌症. マイコトツソ., 24, 5-8

星台憲一, 畑井喜司雄, 窪田三朗(1989) : ギソザケの水カビ 病に關する研究. 日本獸醫畜産大學 研究報告. 38, 44-51

田世圭(1985) : 魚病學. 第一文化社., 263-265

宮寄照雄, 江草周三(1976) : ニホンウナギの *Edwardsiella tarda* 感染症 病理組織學的 研究-III. 魚病研究., 11(3), 127-131

徐壯雨, 田世圭(1988) : 뱀장어 *Pleistophora* 症의 感染實驗과 病理組織學的 研究. J. Fish Pathol., 1(1), 51-57

和田新平, 畑井喜司雄, 窪田三朗, 小松俊夫(1989) : サケ科魚類の水カビ病に關する病理學的 研究 - I. 日本獸醫畜産大學研究報告., 38, 32-37

Legends for Figures

- Fig. 1. Gross appearance of an eel experimentally infected with *Saprolegnia diclina* type I.
- Fig. 2. Hyphae of *Saprolegnia diclina* type I fungus taken from lesions of an experimentally infected eel. X 100
- Fig. 3. A higher magnification on hyphae in Fig. 2. Note the club-shaped hyphae. X 100
- Fig. 4. Skin, severe degeneration and necrosis of clavate cell in epidermis with hemorrhage. H-E stain, X 100
- Fig. 5. Skin, severe destruction and desquamation of epidermis. PAS, X 40
- Fig. 6. Skin, severe necrosis and desquamation.
Numerous hyphae(arrows) were also seen in the necrotic area. PAS, X 200
- Fig. 7. Skin, hyphae (arrows) in the severe necrotic areas. Grocott, X 200
- Fig. 8. Skin, club-shaped black color hyphae. Grocott, X 200

