

가물치 養殖魚場에서 眞菌性鰓病과 관련된 *Saprolegnia diclina*의 發生狀況

閔洪圭 · 全順培* · 裴 錫*

光州東新專門大學 衛生學科

*全南大學校 自然科學大學 微生物學科

Occurrence of *Saprolegnia diclina* Associated with Fungal Gill disease at snake fishes Culture farm

Hong Kyu MIN, Soon Bai CHUN* and Suk BAI*

Department of Sanitary Science

Dongshin Vocational Junior College

*Department of Microbiology

College of Natural Sciences

Chonnam National University

Saprolegnia diclina, which was the pathogen causing death in snake fishes (*Channa argus*) at culture farm, was investigated using scanning electron microscope. It was found that *Saprolegnia diclina* infection caused snake fishes to fail gas change in the gills. Cell lysis as well as edematous disease and hyperplasia as a result of *Saprolegnia diclina* attachment on the surface of gills were observed.

The granules, the mean diameters of which ranged from 6 to 7 μm , attaching on the surface of gills were found to be secondary zoospores of *Saprolegnia diclina*.

The failures of gas exchange in the gill cells and circulation as a result of the osmotic dilution of the blood were supposed to be the main cause of death.

緒 論

연어 및 송어와 같은 여러 魚種의 養殖魚場에서 큰 被害를 주고 있는 微生物중 水生菌病(*Saprolegniasis*)의 原因菌인 *Saprolegnia*는 天然魚 및 養殖魚의 魚體와

그 魚卵에 寄生하여 疾病을 일으키는데, 魚體의 부착 또는 内部侵入機轉이 아직 明確하게 알려져 있지 않다 (畑井, 1980; Hatai 등, 1990; 閔 등, 1990).

우리나라에서도 이와 같은 水生菌의 侵入機轉이 알려져 있지 않은 狀態에서 유럽과 美國 그리고 日本

등에서와 같이 새로운 真菌病이 養魚場에 蔓延되어 養殖業界에 크게 問題視되고 있는 實情이다. 從來에 *Saprolegnia* 寄生에 대한 豫防과 治療에 malachite green을 사용해 왔으나 最近 發癌性 物質로 判明되어 美國, 日本 등 各國에서 食用魚에 對하여 使用禁止의 行政措置가 취해졌다. 또한 近來에 새로운 水生菌病이 多發하는 이유중 하나가 여러 魚種에서 관찰된 바와 같이 *Saprolegnia*의 malachite green에 대한 耐性이 높아졌기 때문이라는 報告가 있었다(畑井, 1980). 그러므로 *Saprolegnia*의 特性和 寄生機轉을 究明함으로써 豫防과 治療에 새로운 藥劑開發이 가능하리라 思料된다.

本 研究에서는 全羅南道 羅州郡 一帶 養殖場에서 養殖중인 가물치(*Channa argus*)가 異常遊泳을 계속하다가 斃死하는 疾病이 觀察되어 走査電子顯微鏡으로 原因菌을 調査한 結果 이들 罹病魚에는 *Saprolegnia diclina*가 아가미에 寄生하여 第2鰓薄板上皮組織細胞에 呼吸障礙의 病變을 일으키는 것이 原因인 것으로 判明되었기에 그 概要를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

供試魚인 가물치(*Channa argus*)는 養殖魚場에서 異常遊泳을 계속하고 있는 것과 體表에 線毛狀의 集落이 觀察될 수 있는 것이 쉽게 識別할 수 있는 罹病魚만을 採集하여 養殖魚場의 飼育水와 함께 plastic製 運搬容器로 實驗室에 옮겼다. 實驗室에서는 卽時 罹病魚의 體表에 있는 水生菌寄生部位에서 菌絲體의 一部를 滅菌된 海부칼로 切取하여 光學顯微鏡으로 檢鏡하였고, 또한 一部の 菌絲體는 實驗室에서 만든 GY寒天平板培地(0.25% yeast extract, 1% glucose, 1.5% agar)에 接種하여 그 위에 微量의 Streptomycin을 뿌린 후 15°C로 培養하였다. 여기서 얻어진 水生菌의 集落의 先端部位를 작은 block모양으로 切取하여 그 것을 새로운 培地에 移植하는 方法으로 純粹培養을 되풀이 하였다.

또한 罹病魚의 아가미를 海부칼로 切取하여 formalin부터 70% alcohol로 옮기면서 서서히 물기를 除去하고 最終적으로는 acetone까지 이동했다. 그 후 amyloalcohol+acetone(1:1)의 溶液속에 옮긴다음 다시 am-

ylalcohol만의 溶液에 넣어 臨界點乾燥裝置에 작동시켜 完全脫水를 實施하였다. 그 후 이온코타에서 15분간 金蒸着을 하여 Hitachi製 S-450型의 走査型電子顯微鏡으로 觀察과 寫眞撮影을 하였다. 이때의 加速電壓은 20KV이었다.

結 果

水生菌에 罹患된 病魚는 稚魚에서 多發하는 傾向을 보였다. 이들이 供試魚에 寄生하는 部位는 일반적으로 尾部와 腹部보다 頭部와 軀幹部의 背側에 寄生率이 높았으며(Fig. 1) 이 病魚에서 切取한 菌絲體를 光學顯微鏡下에서 觀察한 結果 綿絲가 얽혀 있는 것처럼 보였다. 이들 菌絲體의 先端部位에서는 水生菌의 生活環의 일부인 無性生殖方式인 遊走子囊形成이 뚜렷하게 觀察할 수 있었고, 그 속에 遊走子가 2列以上으로 配列하고 있었다(Fig. 2). 또한 이들 遊走子囊으로부터 遊走子가 放出되는 모습과 生殖器內에 形成된 卵胞子の 内部構造가 centric이어서 모두 *Saprolegnia diclina*로 辨定되었다. 한 罹患된 供試魚의 體表에서 菌絲體를 分離하여 GY寒天平板培地에 接種한 다음 液體培養과 滅菌水培養을 거쳐 얻은 菌絲體에서도 前述한바와 같은 水生菌의 遊走子囊形成과 遊走子の 放出이 *Saprolegnia diclina*의 特徵(Webster, 1980)과 동일한 pattern이었다.

走査型電子顯微鏡의 檢鏡結果는 Fig. 3-8과 같았으며 아가미의 表面에는 直徑 6-7 μm크기의 顆粒이 多數 附着하고 있는 것이 顯著하게 觀察되었다(Fig. 3). 이 顆粒表面에 smooth하게는 되어 있지 않으나 圓形의 작은 隆起들이 確認되었고, 이들 顆粒중에서 아가미의 呼吸上皮細胞에 接하는 쪽은 그 部位의 組織細胞가 部分的으로 溶解되어 있는 것을 觀察할 수 있었다(Fig. 4). 특히 第2鰓薄板의 上皮組織細胞에는 *Saprolegnia diclina*의 菌絲體가 얽혀져(Fig. 5) 菌絲體가 組織속에 侵入하고 있는 것도 觀察되었고(Fig. 6), 가벼운 浮腫, 增生과 融合이 確認되었으며 甚한 곳은 壞死와 細胞의 棍棒化로 進行되었고, 아가미의 表面에 附着하고 있는 顆粒狀物質은 크기와 形態가 水生菌類에 속하는 *Saprolegnia diclina*의 2次 休眠胞子로 同定되었다. 또한 이들 중 一部の 2次 休眠胞子

에서는 發芽하고 있는 것도 있었고(Fig. 7), 組織이 破壞된 部位에는 細菌의 增殖을 確認할 수 있었다(Fig. 8).

以上과 같은 所見으로 綜合해 볼 때 이들 水生菌은 *Saprolegnia diclina*으로 分類되었으며 가물치(*Channa argus*)의 死因은 水生菌의 *Saprolegnia diclina*의 感染에 의한 呼吸器의 障礙가 原因으로 判明되었다.

考 察

江草(1966)는 水生菌이 장어의 稚魚나 幼魚의 頭部등에 寄生할 경우 菌絲體는 腦, 心臟, 主要血管과 肝臟등에 侵入하여 그 侵入으로 인해 장어를 斃死시키는 直接의 原因이 된다고 指摘한 以來 各種 魚類에 水生菌을 人工感染시켜 實驗的 證明을 試圖해 왔다.

Bootsma, R.(1973)와 Nolard-Tintiger, N(1973) 등은 水生菌은 成魚보다는 稚魚에 多發하며 菌絲體가 筋肉과 臟器內에 選好的으로 侵入해서 그것이 死亡原因이 된다고 하였으며 이들의 寄生部位가 魚體의 內部이라고 해서 內臟眞菌病(Visceral mycosis)이라고 報告하였다.

Willoughby 등(1977)은 水生菌病에 感染되고 있지 않은 魚類의 棲息處인 물 속에서 水生菌科에 分類되는 모든 菌類의 孢子數를 計算하였던 바 平均值 孢子數는 200孢子/L以下였다. 그러나 水生菌病이 일한 그 棲息處에서 發生하면 특히 菌類중에서 *Saprolegnia diclina* Type I의 孢子數가 越等하게 增殖하여 1,000~22,000孢子/L까지 增加한다는 것을 指摘하여 集約的으로 魚類를 飼育하는 條件下에서는 이들 水生菌의 孢子가 1次病原體로 作用하는 것이 아닌가 하고 推論한 바 있다.

畑井(1980)는 水生菌病은 外部寄生性水生菌病과 内部寄生性水生菌病으로 區分하여 說明하고 있으며 특히 外部寄生性水生菌病은 魚體 또는 魚卵의 表面에 外觀的으로 線毛狀으로 絲狀菌이 寄生繁茂하는 疾病이라고 報告한 바 있으며, 그 起因眞菌은 卵菌綱, 水生菌目, 水生菌科의 *Saprolegnia diclina*, *Achlya*屬, *Aphanomyces*屬이 主種인데 그 중에서도 *Saprolegnia diclina*이 寄生性이 強함을 強調하고 있다.

和田 등(1989)도 연어科의 魚類孵化場에서 水生菌病이 發生하지 않았을 때와 發生하였을 때의 *Saproleg-*

*nia diclina*의 魚體寄生能을 強調한 바 있어서 孢子數와의 有意點을 示唆하였다.

閔 등(1990)은 백장어의 人工感染實驗에서 皮膚의 粘膜을 形成하는 粘液細胞를 局所的으로 人工剝離시켜 *Saprolegnia diclina* Type I의 孢子와의 相關性을 調査하였던 바 水生菌이 장어의 損傷된 部位에만 局限하지 않고 全身的으로 寄生하는 것을 보고한 바 있어서 供試魚의 皮膚層의 粘液細胞缺損이 水生菌의 直接의 附着原因이 되는 것이 아니라는 것을 推論하여 아직까지 이에 對한 精確한 寄生機轉이 밝혀지지 않고 있는 實情이다.

*Saprolegnia diclina*의 特徵(Webster, 1980)의 하나는 遊走子가 遊走子囊 속에 2列以上으로 形成하고 遊走子가 遊走子囊으로부터 放出되는 경우 그 遊走子囊의 頂口에 머무르지 않고 계속 流出하여 쏟아져 나오는 것이다. 放出되어 나오는 遊走子는 1次体面孢子를 거쳐 2次体眠孢子가 되어서 發芽條件이 좋으면 그 곳에서 發芽하는 性質을 갖고 있다. 그래서 一般的으로 水生菌의 感染源은 2次遊走子인 것이다.

本 實驗의 結果에서도 *Saprolegnia diclina*은 2次体眠孢子에서 發芽하여 菌絲體를 魚體의 體表와 内部의 筋肉, 內臟 등의 組織細胞속에 伸長하고 있는 것이 確認되었다. 특히 呼吸器에서는 *Saprolegnia diclina*와 親和性이 強하여 6~7 μ m크기로 보이는 顆粒狀物質의 2次体眠孢子가 아가미의 第2鰓薄板上皮組織細胞의 物理的 破壞를 誘發하였으며, 이로 인해 생긴 病變때문에 上皮組織細胞의 存種과 増生在 觀察되었고 甚한 곳은 壞死와 鰓弁의 棍棒化 進行되어 있는 것이 確認되었다. 이 *Saprolegnia diclina*는 또한 魚類의 蛋白質을 營養源으로 하기 때문에 寄生部位에서는 旺盛한 *Saprolegnia diclina*의 菌絲體가 增殖하고 있는 것을 觀察할 수 있었다. 이때의 着生, 發芽와 菌絲體의 增殖部位에서 *Saprolegnia diclina*이 放出한 것으로 생각되는 蛋白質分解酵素도 增殖部位의 第2次鰓薄板上皮組織細胞의 破壞에 참여하고 있는 것으로 思料되었다. 이와 같이 破壞된 組織細胞의 部位에서는 病原性細胞의 좋은 增殖場所로 되어 魚體는 점점 더 弱해 질 것으로 推察되었다.

이와 같이 아가미의 第2鰓薄板의 上皮組織細胞를 破壞하는 *Saprolegnia diclina*의 菌絲體와 2次体眠孢子

Explanation of Figures

- Fig. 1. Snake fish infected by *Saprolegnia* on its head and dorsum.
- Fig. 2. Liberation of *Saprolegnia* zoospores from *Sporangium*. X 200.
- Fig. 3. Secondary zoospores of *Saprolegnia* on secondary gill lamellae.
- Fig. 4. Cell lysis of gill lamellae by *Saprolegnia* infection.
- Fig. 5. Mycelium of *Saprolegnia* on the surface of gill lamellae.
- Fig. 6. *Saprolegnia* mycelium penetrates the secondary gill lamellae of snake fish.
- Fig. 7. Germinating secondary zoospore cyst of *Saprolegnia*
- Fig. 8. Bacterial infection on the injured gill lamellae.

100 **Occurrence of *Saprolegnia diclina* Associated with Fungal Gill disease**