한국어병학회지 제 11 권 제 1 호(1998)
J. Fish Pathol., 11(1) : 51~60(1998)

담수산 백점충(*Ichthyophthirius multifiliis*)에 관한 연구
II. 백점충의 인위 감염 및 어체내 충체 발달상

지보영† · 김기홍* · 박수일* · 김이청

국립수산진흥원 병리과, *부경대학교 수산생명의학과

본 연구는 내수면 양식 어류에 백점충, *Ichthyophthirius multifiliis*를 인위 감염시켜 감염 특성 및 어체내 충체 발달상을 밝히고자 하였다. 어종별(무지개 송어, 메기, 이스라엘 잉어), 수온별(15°C, 18°C, 21°C) 및 충체 발달 단계별(trophont, protomont, theront) 인위 감염 시험 결과, 어종별로는 무지개 송어 시험구에서, 수온별로는 18°C 시험구에서 그리고 충체 발달 단계별로는 theront 시험구에서 양성적인 인위 감염을 확인할 수 있었다. 그리고 theront 농도별에 있어서는 어체당 1000개체의 theront가 감염을 양성적으로 유도할 수 있는 것으로 조사되었으며 어체당 1500개체 이상의 theront는 무지개 송어 치어에 100%의 감염을 유도하였다. 수온 18°C의 인위 감염된 무지개 송어에서 7일 동안 어체내 충체의 발달 과정을 조사한 결과, 충체는 시간이 경과함에 따라 연속적인 발달을 행하여 크기가 증대되었으며 감염 3일째부터는 성숙되는 것으로 확인되었다. 그리고 충체의 형태학적 변화는 감염 2일째에는 구부장치가 기능적으로 발달하기 시작한 것을 볼 수 있었고, 감염 4일째부터는 수축포가 현저히 발달되기 시작하였으며 감염 6일째는 이들의 수가 현저히 증가한 것을 확인할 수 있었다. 그리고 감염 기간이 경과함에 따라 충체는 숙주의 아가미 일차 새변의 입새 동맥쪽으로 이동하는 경향을 나타내었다.

Key words: *Ichthyophthirius multifiliis*, Experimental infection, Developmental stage

백점충의 실험적 감염에 대해서 Hines and Spria (1973)가 잉어(*Cyprinus carpio*), Valtonen and Keranen(1981)이 대서양 연어(*Salmo salar* L.), Dickerson *et al.*(1981)이 차넬메기(*Ictalurus punctatus*), McCallum(1985)이 Black mollie(Poecilia latipinna), Clayton and Price(1988)가 Goodeid fish (Ameca splendens) 및 Ling *et al.*(1993)이 금붕어 (*Carassius auratus*)에서 각각 보고한 바가 있으며 특히 Dickerson *et al.*(1981)은 차넬메기를 대상으로 theront에 의한 인위 감염 방법을 확립시켰다.

한편, Price and Bone(1985)은 백점충에 대한 감수성이 한 어종내에서도 차이가 난다고 하였고 최근 Jee *et al.*(1997)은 양어장별로 백점병의 발생이 각기 다르게 나타난다고 보고함에 따라 백점충은 어종에 따라 감염 경로, 충체 발달상 및 병리 현상 등이 다를 수 있음을 시사하고 있다.

†Corresponding author

우리 나라에서 백점충에 의하여 피해를 가장 많이 보는 어종으로서는 한국산메기와 무지개 송어를 들 수 있으며 한국산 메기의 경우에는 주로 치어기에 백점충 감염으로 대량 폐사가 발생되기도 하며 또한 지하수를 이용한 반유수식 무지개 송어 양어장에서는 연중 백점병이 발생함으로써 치어뿐만 아니라 성어에서도 심대한 피해를 입고 있다 (Jee *et al.*, 1996).

따라서 본 연구에서는 어종별, 수온별 및 충체 발달 단계별로 인위 감염을 실시하여 백점충의 감염 특성을 조사하는 한편, 어체내에서 충체 발달상 및 병리 조직상을 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

시험어

인위 감염에 사용된 시험어는 1995년 12월에 경북에 위치한 무지개 송어 부화장, 경남에 위치

한 메기 부화장 및 부경대학교 양어장에서 분양 받은 무지개 송어(*Oncorhynchus mykiss*), 메기 (*Silurus asotus*) 및 이스라엘 잉어(*Cyprinus carpio*) 이었고 이들 어류는 백점충에 감염된 경험이 전혀 없는 건강한 치어들로서 평균 체중은 무지개송어 5 g, 메기 12 g 및 이스라엘 잉어 15 g이었다.

충체 배양 조건 및 배양

백점충 배양은 자갈 여과기와 공기 주입 장치를 하여 용존산소(7-7.5 ppm), pH(7±0.2) 및 수온(18±1°C)으로 조절한 30 l 유리 수조를 사용하였으며, 최초 수조에 백점충이 심하게 감염된 체장 29 cm의 무지개 송어 1마리와 건강한 무지개송어 치어 10마리를 동시에 수용하여 치어의 체표에 흰점의 출현 여부를 확인하였다. 그 후 체표에 흰점이 확인된 감염어 3마리를 감염원으로 하여 두고, 같은 수조에 건강한 치어 10마리를 추가 수용한 후 감염이 확인되면 13마리 중 10마리를 들어낸 다음 다시 건강한 치어 10마리를 수용하는 것을 반복하여 감염이 지속적으로 일어나도록 하면서 백점충 감염어를 확보하였다.

충체의 채집과 계수

육안적으로 흰 점이 보이는 감염된 어류의 체표, 지느러미 및 아가미를 해부기로 떼어 내어 각 감염 부위에 기생하고 있는 trophont를 채집하였고 폐사 전후의 병어로부터 떨어져 나와 자유 유영하는 protomont를 채집하였다. 한편 theront는 채집된 protomont를 여과 담수가 들어 있는 100 ml 비이커에 수용하여 20-24시간 동안 18±1°C로 배양하여 감염 시험에 사용하였다.

Trophont 및 protomont는 육안으로 직접 계수하여 인위 감염 시험에 사용하였으며 theront는 Dickerson *et al.*(1981)의 방법에 따라 Hemocytometer 또는 Sedgwick-Rafter counting cell로 3번씩 계수하여 그 평균을 인위 감염 실험의 농도로 계산하여 사용하였다.

인위 감염 시험

어종별 감염 시험은 1 l의 탈염소수가 들어 있는 3 l 용량의 비이커 3개에 시험어인 무지개 송어 치어 10마리, 메기 치어 7마리 및 이스라엘 잉어 5마리씩을 수용한 후 어종별로 적수온 조건(18°C 또는 21°C))에서 동일한 theront 농도(10개체/ml)로 45-60 분간 노출시켜 실시하였다.

수온별, 충체발달 단계별 및 theront 농도별 감염 시험은 상기의 시험 수조에 무지개 송어 치어 10마리씩 수용하여 실시하였다. 수온별 감염 시험은 수온을 15°C, 18°C 및 21°C에 설정하여 동일한 theront 농도(10개체/ml)로 실시하였으며 충체 발달 단계별 감염 시험은 동일한 수온(18°C)에서 농도와 노출시간을 달리하여 실시하였다. 즉, trophont는 어체당 10-20 개체로 24시간, protomont는 어체당 8-16개체로 24시간 및 theront는 어체당 480-720개체로 45-60분 동안 각각 노출시켰다. 그리고 theront 농도별 감염 시험은 동일한 수온(18°C)에서 어체당 300-2000개체의 theront 농도로 실시하였다.

모든 감염 시험은 2반복 또는 3반복으로 실시하였으며 각 실험의 모든 시험어는 노출후 새로운 탈염소수가 들어 있는 3 l 용량의 비이커에 수용하여 14일 동안 감염 여부를 살폈다. 감염의 확인은 시험어의 체표에 출현하는 흰점의 출현 여부로써 확인하였고 감염의 판정은 Dickerson *et al.*(1981)의 조건에 따라 시험구당 70% 이상의 감염이 확인될 때 양성으로 간주하였다.

인위 감염어에서의 충체 발달

어체에서의 백점충 발달 과정을 확인하고자 수온 18°C에서 무지개 송어 치어 50마리를 어체당 1500개체의 theront로 45-60 분간 노출시켜 인위 감염을 시킨 뒤 7일 동안 매일 6마리씩 잡아내어 그 중 3마리는 생체 표본용으로 나머지 3마리는 조직 표본용으로 사용하였다.

결 과

백점충 배양

백점충이 심하게 감염된 무지개 송어에 건강한 무지개송어, 메기 및 이스라엘 잉어 치어를 함께 수용한 결과 무지개송어 치어에서 감염을 확인할 수 있었고(Table 1, Fig. 1(a)) 수온별로는 18°C에서 양성적인 감염이 유도된 결과를 볼 수 있었다 (Table 2). 그리고 지속적인 감염어 확보를 위해 실

험실내 사육수(용존산소; 7-7.5 ppm, pH; 7±0.2, 수온; 18±1℃)를 현지 양식장과 동일한 조건으로 설정하고 감염어에 건강한 치어를 계속적으로 투입함으로써 약 2개월 동안 백점충에 감염된 병어를 확보할 수 있었다. 또, 이들 병어로부터 수확된 충체는 수온 18℃에서 20-24시간 동안 배양하여 다량의 theront를 얻을 수 있었다(Fig. 1).

백점충의 인위 감염 유도

동일한 유래의 백점충을 감염원으로 하여 어종별, 수온별, 충체 발달 단계별 및 theront 농도별로 인위 감염 시험한 결과는 다음과 같다. 적수온 조건에서 어종별로 볼 때, 무지개 송어 시험구에서 감염된 개체가 확인된 반면, 메기와 이스라엘 잉어 시험구에서는 감염된 개체를 전혀 볼 수 없었다. 그리고 감염이 확인된 무지개송어 시험구는 70%의 감염율를 나타내어 양성적인 감염을 나타내었다(Table 3). 동일한 노출 농도 및 시간에서 수온별로는 모든 시험 수온에서 감염된 개체를 확인할 수 있었으나 그 중에서도 수온 18℃ 시험구가 가장 높은 감염율(87%)을 나타내어 양성적인 감염이 유도된 것을 알 수 있었다(Table 4). 충체 발달 단계에 따라 노출 농도와 시간을 달리 했을 때는 theront 시험구에서 만이 40-60%의 감염이 확인된 반면 나머지 시험구에서는 감염된 개체를 전혀 볼 수 없었다(Table 5). 한편, theront 농도별로 감염율을 조사한 결과는 Table 6과 같다. 즉, 어체당 theront 수가 어체당 300-800개체(3-8개체/ml) 이상이 되면 감염 개체는 확인이 되나 양성적인 감염(>70%)은 볼 수 없었다. 그러나 어체당 1000개체(10개체/ml) 이상에서는 양성적인 감염이 확인되었고 어체당 1500개체(15 개체/ml) 이상이 되면 100%의 감염이 유도되는 것을 알 수

Table 1. Exposure of some fishes to *Ichthyophthirius multifiliis* infecting rainbow trout at different temperature

Species	Body weight (g)	Number of fish	Temperature (℃)	Number of fish infected[1] (%)
Rainbow trout[2]	5	10, 10	18, 18	8, 9 (85)
Catfish	12	10, 10	21, 18	0, 0 (0)
Carp	15	10, 10	21, 18	0, 0 (0)

[1] Infected fish was defined as development of visible white spots. [2] Control group.

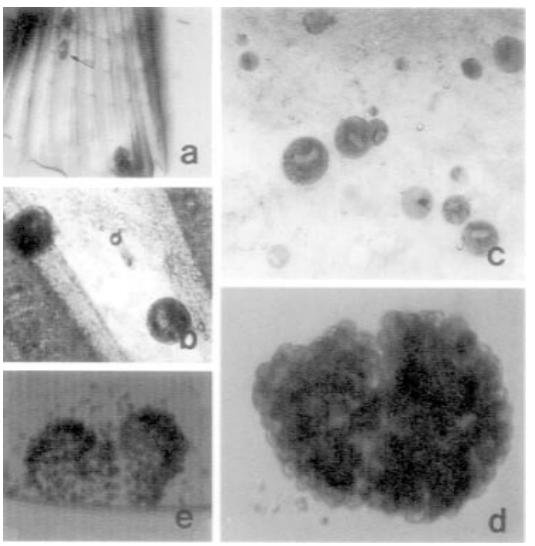

Fig. 1. Propagation of *Ichthyophthirius multifiliis* in rainbow trout fry by serial passage. A, Trophonts in caudal fin (arrow), ×6.7. B, Trophonts in skin, ×18. C, Protomonts, ×18. D,Tomonts, ×100. E, Tomites, ×40.

Table 2. Exposure of rainbow trout fry to *Ichthyophthirius multifiliis* infecting rainbow trout at different temperature

Temperature (℃)	Number of fish	Number of fish infected[1] (%)	Infection[2]
15	10, 10, 10	0, 0, 1 (3)	-
18	10, 10, 10	7, 9, 10 (87)	+
21	10, 10, 10	3, 3, 4 (33)	-

[1] Refer to Table 1. [2] A group was consider infected if 7 of 10 fish developed white spots.

Table 3. Exposure of some fishes to *Ichthyophthirius multifiliis* theront at different temperature

Fish (g)	Challenge dose[1]	Temperature (℃)	Number of fish	Number of fish infected[2] (%)
Rainbow trout (5)	1000	18	10, 10	6, 8 (70)
Catfish (12)	1000	21	7, 7	0, 0 (0)
Carp(15)	1000	21	5, 5	0, 0 (0)

[1] Each group of 5-10 fish was exposed in 1 l of dechlorinated water for 45-60 minutes. A dose was individual number/fish. [2] Refer to Table 1.

Table 4. Exposure of rainbow trout fry to *Ichthyophthirius multifiliis* theront at various temperatures

Temperature (℃)	Challenge dose[1]	Number of fish	Number of fish infected[2] (%)	Infection[3]
15	1000	10, 10, 10	2, 2, 1 (17)	-
18	1000	10, 10, 10	7, 9, 10 (87)	+
21	1000	10, 10, 10	4, 4, 5 (43)	-

[1&2] Refer to Table 1. [3] Refer to Table 2.

Table 5. Exposure of rainbow trout fry to various stage of *Ichthyophthirius multifiliis* at different exposure time

Developmental stage	Challenge dose[1]	Number of fish	Number of fish infected[2] (%)
Trophont	10	20, 20	0, 0 (0)
	20	10, 20	0, 0 (0)
Protomont	8	20, 30	0, 0 (0)
	16	20, 20	0, 0 (0)
Theront	480	10, 20	4, 9 (43)
	720	20, 20	12, 11 (58)

[1] Trophont and protomont group of 10-30 fish was exposed in 1 or 3 l of dechlorinated water for 1 day at 18°C. Theront group of 10-20 fish was exposed in 1 l of dechlorinated water for 45-60 mi-nutes at 18°C. A dose was individual number/fish. [2] Refer to Table 1.

Table 6. Exposure of rainbow trout fry to varing numbers of *Ichthyophthirius multifiliis* theront at 18°C

Group[1]	Challeng dose (ind./fish)	Number of fish	Number of fish infected[2]	Infection rate (%)
1	300	10, 10, 10	2, 0, 4	20
2	500	10, 10, 10	5, 5, 4	46.7
3	800	10, 10, 10	7, 5, 6	60
4	1000	10, 10, 10	8, 9, 9	86.6
5	1200	10, 10, 10	10, 8, 10	93.3
6	1500	10, 10, 10	10, 10, 10	100
7	2000	10, 10, 10	10, 10, 10	100
8	0	10, 10	0, 0	0

[1&2] Refer to Table 1.

있었다.

인위 감염어에서의 충체 발달

수온 18°C에서 인위 감염된 무지개 송어에서 노출된 시간에 따른 충체의 크기 변화는 Table 7에서 보는 바와 같다. 감염전 25-64 μm(평균, 42.5 μm)의 충체가 감염후 시간이 경과함에 따라 연속적인 발달을 행하여 감염 7일째에는 110-600 μm (평균, 426.3 μm)의 크기가 되었고, 또 개체에 따라서는 감염 3일째부터 육안적으로 백점이 확인되어 이 때부터 충체는 성숙되는 것으로 확인되었다. 한편으로 충체의 형태학적 변화의 결과를 Fig. 2에 나타냈다. 감염 2일째에는 구부장치가 기능적으로 발달하기 시작한 것을 볼 수 있었고, 감염 4일째부터는 수축포가 현저히 발달되기 시작하였으며 감염 6일째는 이들의 수가 현저히 증가하였다. 그리고 충체는 감염 기간이 경과됨에 따라 충체가 숙주의 아가미 일차 새변의 입새 동맥쪽으로 이동하였다.

Table 7. Relationship between the parasite size and days of postexposure during artificial infection of *Ichthyophthirius multifiliis* at 18°C

Postexposure (day)	Diameter (μm)		
	Range	Mean±SD	Number of examination
0	25-64	42.5±11.3	30
1	32-73	54.0±13.9	30
2	48-110	80.9±17.6	30
3	84-300	148.1±63.7	30
4	110-300	191.7±46.6	30
5	110-380	263.7±69.6	30
6	200-520	302.7±71.8	30
7	110-600	426.3±115.5	30

고 찰

현재까지 백점충의 *in vitro* 배양은 불가능하여 감수성이 있는 어류를 연속 통과시키는 방법으로 어체에서 충체를 증식시키고 있는데, 여러 연구들은 어종에 따라 각각의 방법을 제시하고 있다. Hines and Spira(1973)와 Houghton and Matthews (1990)는 수온 20°C, 용존 산소 6.6-7.9 ppm 및 pH 7.0-7.5 사육수에 잉어를 연속 통과시켜 백점충을 배양하였다. Dickerson *et al.*(1981), McCartney *et al.*(1985) 및 Davis(1995)는 수온 22±2°C, 용존 산소 7-8 ppm 및 pH 6-8의 조건이면 차넬메기에서 배양이 가능하다고 하였다. 그리고 Ling *et al.* (1993)은 수온 28-30°C, 용존 산소 6.0-7.8 ppm 및 pH 6.5-7.6 조건이면 금붕어에서 배양이 가능하다

고 보고한 바 있다. 한편, Hines and Spira(1973), Dickerson *et al.*(1984), McCartney *et al.*(1985), Ewing *et al.*(1988), Houghton and Matthews(1990) 및 Davis(1995)는 백점충의 분리 유래와 다른 어류를 연속 통과시켜도 백점충의 배양이 가능하다고 하였다. 그러나 Clayton and Price(1987, 1992, 1994) 및 Brabrand(1994)는 백점충에 대한 저항성이 다른 어종간 또는 심지어 같은 어종내에서도 개체간에 많은 차이를 나타낸다고 보고한 바 있어 분리 유래가 다른 어류에서 백점충의 배양은 쉽지

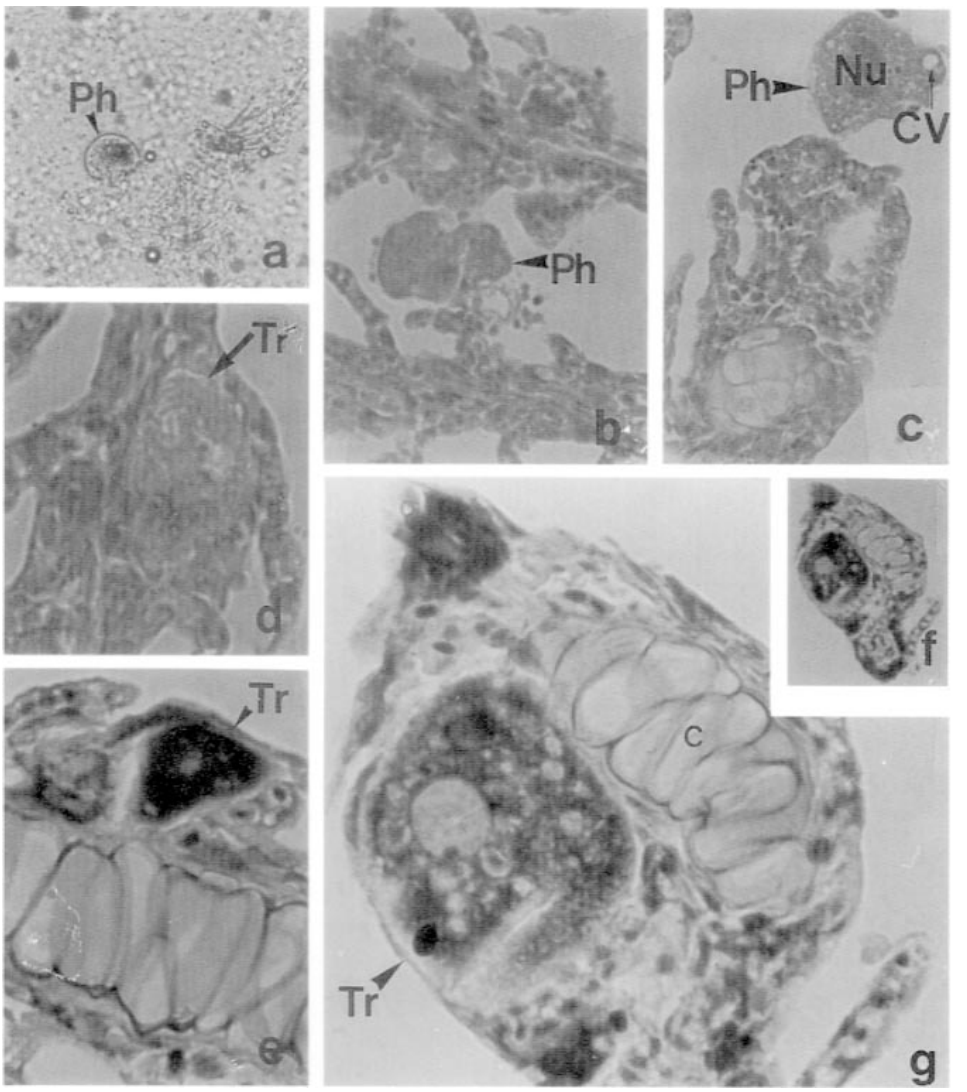

Fig. 2. Photographs of 5 μm cross sections of gill in the rainbow trout fry postexposure (PE) during artificial infection *Ichthyophthirius multifiliisat* 18°C. a, Phoront (Ph) 12 hours PE in gill, ×40. b-c, Phoront (Ph) one day PE in gill filament, ×200. d-e, Trophont (Tr) two days PE in the gill interlamella spaces, ×400. f, Trophont (Tr) three days PE adjacent to blood bassel, ×100. g, Maginification of (f), ×400. h, Trophont (Tr) four days PE partially wrapped portion of cartilage, ×200. i, Trophont (Tr) five days PE disrupting the host epithelium, ×200. j, Trophont (Tr) six days PE in the gill interfilament spaces, ×40. k, Maginification of (j), ×200. l, Trophont (Tr) in caudal fin, ×6.7. Nu, macronucleus; CV, contractile vacuole; C, cartilage; Hc, host cell.

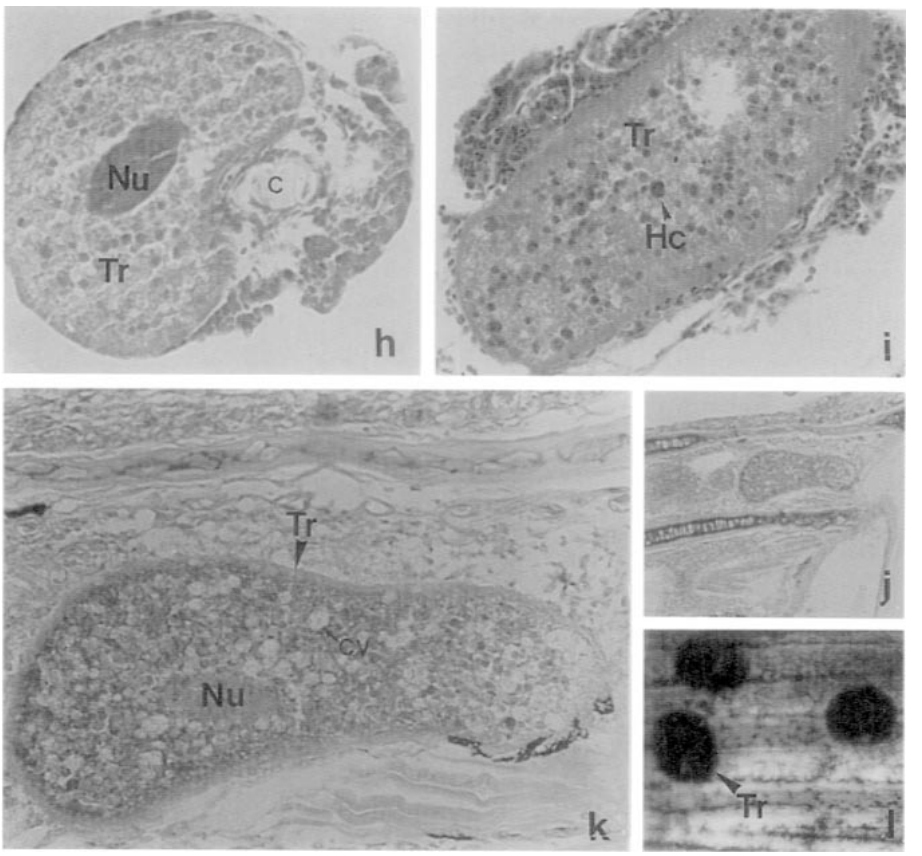

Fig. 2. Continued.

않음을 알 수 있다.

무지개 송어에서의 백점충 배양은 현지 양식장의 동일한 환경 조건하에서 가능하였으며, 이번 조사 결과는 상기 연구자의 수온 조건과는 많은 차이를 보였다. 즉, 온수 및 열대어에서 백점충의 배양은 어류의 최적 수온보다 다소 낮은 수온에서 이루어지고 있었으나 이번 조사에서는 그 반대로 무지개송어의 최적 수온보다 높은 수온역에서 배양이 가능하였다. 이러한 차이는 무지개 송어의 양식환경(18°C)에 백점충이 생리 · 생태적으로 적응하였던 것으로 사료된다. 한편, 메기 및 이스라엘 잉어의 시험구에서 백점충 감염 개체를 확인할 수 없었던 것은 실험에 사용된 strain, 백점충의 개체 특성 및 실험적 조건에서의 차이도 이유가 될 수 있겠으나 그보다는 시험 어류의 크기나 수용밀도가 어종간에 차이가 났기 때문인 것으로 사료된다.

백점충에 대한 약제 및 면역원의 효과를 조사하기 위해서는 이들의 효능을 정확하게 평가할 수 있는 지표가 필요한데, 이들 지표로 이용되고 있는 것이 건강한 어류에 질병을 일으킬 수 있는 감염 시험이며 연구자들마다 즉, 여러 가지 발달 단계의 충체를 사용하여 감염의 유도 방법을 제시하고 있다. Hines and Spira(1973)는 어체당 40개체의 trophont로 수온 18-21°C에서 거울잉어에 경증의 감염을 유도하였고, 400개체의 trophont로 22-25일만에 거울잉어를 100% 폐사시켰다. Ling *et al.*(1993)은 2000개체의 tomite로 수온 28-30°C에서 금붕어를 14일만에 95% 이상 폐사시켰다. 한편 Areerat(1974)는 4개체의 trophont로 수온 19-

21°C에서 차넬메기를 7일만에 100% 폐사시켰으며, Dickerson *et al.*(1981)은 1000개체의 tomite(10 tomite/ml)로 수온 20°C에서 차넬메기에 30분 노출시켜 70% 이상의 감염을 유도하였다.

충체 발달 단계별 중 theront의 시험구에서 감염이 유도된 본 실험의 결과는 Dickerson *et al.*(1981), Ling *et al.*(1993) 및 Jee *et al.*(1997)의 충체 감염기에 관한 결과와 일치하였으나 Hines and Spira (1973) 및 Areerat(1974)의 trophont(protomont) 감염기와는 차이를 보였다. 이러한 차이는 인위 감염에 사용된 어류의 개체 크기(성어 또는 치어), trophont나 protomont의 노출 농도에 따라 감염 유도 결과가 달라질 수 있는 것이 한 원인이라고 생각되나 그 보다도 *in vitro*와 *in vivo*에서 theront의 생성 능력에 차이가 나기 때문인 것으로 사료된다. 이러한 결과는 Jee *et al.*(1997)의 *in vitro*에서 theront 생성능 시험 결과와는 달리 *in vivo*에서 충체는 노출 시간내에 감염력이 있는 theront로 분열하지 못했거나 아니면 분열을 하더라도 그 농도가 감염을 유도할 수 있는 수준에 못미쳐 감염을 일으키지 못했던 것으로 생각된다.

백점충의 발달 단계와 theront 감염력은 수온에 크게 영향을 받는다. Ling *et al.*(1993)은 수온 28-30°C에서 금붕어에 감염을 유도하였고, Dickerson *et al.*(1981)은 수온 20°C에서 차넬메기에 백점충을 감염시켰다. 한편, Parker(1965) 및 Lom and Dykova(1992)는 theront의 수명이 수온 23-24°C에서 30시간 이내이며, 감염력은 피낭에서 방출된 후 12시간 이내에는 약 34%이고 20시간이 경과하면 약 1%에 불과하지만 더욱 낮은 수온에서는 theront 수명의 연장과 감염력이 높아질 수 있다고 하였다. 그리고 McCallum(1982)은 실험적으로 감염시킨 어류에서 전체 theront의 약 20%만이 성숙한 trophont로 된다고 하여 백점충의 개체 특성에 따라 인위 감염된 어류에서 충체의 발달 및 성숙이 달라질 수 있다고 하였다. 또한, Ewing *et al.* (1986)은 차넬메기의 인위 감염 실험에서 아가미에 기생한 백점충의 개체 수가 0-10분간의 theront 노출에서는 약 50%로 감소하나, 10-45분 노출에서는 일정하게 유지된다고 보고한 바 있어 theront가 감염 바로 직전과 직후에 매우 위험할 수 있음을 알 수 있다.

수온별에 따른 theront 인위 감염 시험에서 수온 18°C의 시험구에서 최고의 감염률을 나타내어 감염의 최적 수온 조건으로 판단되었다. 동일한 theront 노출 시간에 따른 이번 실험의 결과는 Ewing *et al.*(1986)의 보고와는 다소 차이를 보이고 있고 또한 저수온에서 감염력이 높아질 수 있다고 한 Parker(1965) 및 Lom and Dykova(1992)의 보고와도 다른 결과를 보여주었다. 이러한 차이가 백점충의 개체 특성에 원인이 있다고 하기보다는 분리 유래에 따른 theront의 감염력이 수온별로 차이가 나기 때문인 것으로 생각된다. 그리고 이것은 백점충이 분리 유래에 따라 면역혈청학적으로 다양하다고 보고된 것과 일치하는 것으로 보인다. 본 조사 결과는 Nigrelli *et al.*(1976)과 Valtonen and Keranen(1981)이 지적한 바와 같이 백점충은 각기 다른 숙주의 생리적 온도에 적응하게 되므로 양어장마다 질병 발생 최적 수온이 서로 다른 이유를 말해 주며 또한 Jee *et al.*(1997)이 보고한 백점병의 발생은 양어장별로 달리 나타난다는 사실을 뒷받침하는 것으로 사료된다.

Ling *et al.*(1993)은 수온 28-30°C에서 금붕어에 어체당 2000개체(20개체/ml)의 tomite로 그리고 Dickerson *et al.*(1981)은 수온 20°C에서 차넬메기에 어체당 1000개체(10개체/ml)의 tomite로 인위 감염을 양성(>70%)적으로 유도하였다.

수온 18°C에서 theront 농도별로 무지개 송어에 백점충 감염률을 조사한 결과, 어체당 1000개체(10개체/ml) 이상에서 양성적인 감염이 유도되어 적정 감염 농도는 상기 연구와 일치된 결과를 보였지만 적정 수온에 있어서는 많은 차이를 보였다. 이번 조사는 백점충 감염을 양성(>70%)적으로 유도하기 위해서는 어종에 상관없이 최소 어체당 1000개체(10개체/ml)의 theront가 필요하며 적정 감염 농도하에서는 대상 어종에 따라서 수온을 달리하여야 함을 말해주고 있다. 따라서 백점충의 양성적인 감염 유도에는 최소 감염 농도의 결정 이외에도 적정 수온의 확립이 무엇보다도 중요한 것으로 판단되었다.

백점충의 생활사를 밝히는데 중요한 것 중의 하나인 숙주내 충체의 형태 변형 및 발달 과정에 관해서는 연구자마다 서로 다른 견해를 보이고 있다. Hass(1933)는 이 충이 수온 15-20°C에서 약 7

일만에 성숙한 충체로 발달한다고 하였고 Suzuki (1935)는 수온 19°C에서 약 7-8 일, 수온 17°C에서 10-11일, 수온 14°C에서 14-15일, 그리고 수온 7 °C에서 20-21일만에 각각 500 μm의 trophont로 발달한다고 하였다. 그리고 MacLennan(1942) 및 Davis(1953)는 어류의 체표, 지느러미 및 아가미 등에서 이 충이 발달하여 그 크기가 약 100-1000 μm 정도 되었을 때 숙주를 이탈한다고 하였고 Hines and Spira(1973)는 수온 18-20°C에서 8일만에 약 618 μm의 성숙한 충체로 발달한다고 보고한 바 있다. 한편, Ewing and Kocan(1986)은 수온 21°C에서 인위 감염 5일째에 약 248 μm의 trophont로 발달하며 점액낭(mucocyst), 지질(lipid) 및 수축포 등이 현저하게 관찰된다고 하였다.

본 실험에서 수온 18°C의 무지개 송어에서 백점충의 발달 과정을 조사한 결과, 감염전 25-64 μm (평균: 42.5 μm)의 충체가 감염 7일째에는 110-600 μm(평균: 426.3 μm)의 크기로 증대되었으며 충체 크기와 함께 구부장치 및 수축포 등의 현저한 형태학적 변화가 관찰되었다. 상기의 연구 결과들과 다소 차이를 보였다. 이번 실험에서 개체에 따라서는 감염 3일째(110-300 μm)부터 충체가 성숙하는 것으로 조사되어 같은 수온 조건이라도 충체의 성숙 기간과 크기가 상기의 보고와 다르게 나타나 백점충이 개체에 따라서는 발달 양상이 달라질 수 있을 것으로 사료된다. 한편, 인위 감염 2일째를 전후하여 생체 또는 조직 표본에서 구부장치가 발달되기 시작하고 아가미 일차 새변에 정착하려는 phoront와 구부 장치가 잘 발달하고 크기도 증대된 trophont가 관찰됨에 따라 백점충의 기생 단계는 2단계로 나누는 것이 바람직하다.

참고문헌

Areerat, S.: The immune response of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) to *Ichthyophthirius multifiliis*. Master's Thesis. University, Aurburn, Alabama, 1974.

Brabrand, A., Bakke, T. A. and Faafeng, B. A.: The ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis* and the abundance of roach (*Rutilus rutilus*): larval fish epidemics in relation to host behaviour. Fish. Res., 20: 49-61, 1994.

Canella, M. F. and Rocchi-Canella, I.: 1976. Biologie des Ophryoglenina (ciliés hyménostomens histophages). Ann. Univ. Ferrara Sez. III Biol. Anim., 3(Suppl. 2): 1-510, 1976.

Clayton, G. M. and Price, D. J.: Standardization of infection and response to white spot, *Ichthyophthirius multifiliis*, in fish. J. Fish Biol., 31: 241-242, 1987.

Clayton, G. M. and Price, D. J.: *Ichthyophthirius multifiliis*: Standardization of the infection-response model in Ameca splendens (Miller & Fitzsimons). J. Fish Dis. 11: 371-377, 1988.

Clayton, G. M. and Price, D. J.: Interspecific and intraspecific variation in resistance to Ichthyophthiriasis among poeciliid and goodeid fishes. J. Fish Biol., 40: 445-453, 1992.

Clayton, G. M. and Price, D. J. Price.: Heterosis in resistance to *Ichthyophthirius multifiliis* infections in poeciliid. J. Fish Biol., 44: 59-66, 1994.

Davis, H. S.: Culture and diseases of game fishes. University of California Press, Berkeley and Los Angeles, 332p, 1953.

Davis, S. W.: Values for selected serum analytes during experimental *Ichthyophthirius multifiliis* infection of channel catfish. J. Aquatic Animal Health, 7: 262-264, 1995.

Dickerson, H. W., Dawe, D. L., Gratzek, J. B., Brown, J. and Pyle, S. W.: Induction of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet infections in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque: standardization of the procedure, In: Hennessen W. (Ed.), Develop. Biol. Standard., 49: 331-336, 1981.

Dickerson, H. W., Brown, J., Dawe, D. L. and Gratzek, J. B.: Tetrahymena pyriformis as a protective antigen against *Ichthyophthirius multifiliis* infection: comparisions between isolates and ciliary preparations. J. Fish Biol., 24: 523-528, 1984.

Dickerson, H. W., Lohr A. L. and Gratzek J. B.: Experimental intraperitoneal infection of channel catfish, *Ictalurus puntatus* (Rafinesque), with *Ichthyophthirius multifiliis* (Foquet). J. Fish Dis., 8: 139-142, 1985.

Ewing, M. S. and Kocan. K. M.: *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora) development in gill epithelium. J. Protozool., 33: 369-374, 1986.

Ewing, M. S., Ewing, S. A. and Kocan, K. M.: *Ichthyophthirius* (Ciliophora): Population studies suggest reproduction in host epithelium. J. Protozool., 35: 549-552, 1988.

Ewing, M. S., Lynn, M. E. and Ewing, S. A.: Critical periods in development of *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora) populations. J. Protozool., 33: 388-391, 1986.

Hass, G.: Beitrage zur Kenntnis der Cytologie von *Ichthyophthirius multifiliis*. Fouq. Arch. Protistenkd., 81: 88-137, 1933.

Hines, R. S. and Spria, D. T.: *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet) in the mirror carp *Cyprinus carpio* (L.). I. Course of infection. J. Fish Biol., 5: 385-392, 1973.

Houghton, G. and Matthew, R. A. Matthew.: Immunosuppression in juvenil carp, *Cyprinus carpio* L.: the effects of the corticosteroids triamcinolone ace- tonide and hydrocortison 21-hemisuccinate (cortisol) on acquired immunity and the humoral antibody response to *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet. J. Fish Dis., 13: 269-280, 1990.

Jee, B. Y., Kim, K. H. and Park, S. I.: Developmental features of *Ichthyophthirius multifiliis*, a parasitic ciliate of cultured fish. J. Fish Pathol., 9: 21-31, 1996.

Jee, B. Y., Kim, K. H., Park, S. I. and Kim Y. C.: Studies on the *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876 in freshwater fishes: I. biological characteristics of *I. multifiliis*. J. Fish Pathol., 10(2): 113-123, 1997.

Ling, K. H., Sin, Y. M. and Lam, T. J.: Protection of goldfish against some common ectoparasitic protozoans using *Ichthyophthirius mulitfiliis* and *Tetrahymena pyriformis* for vaccination. Aquacul., 116: 303-314, 1993.

Lom, J. and Dykova, I.: Protozoan parasites of fish. Develop. Aquacult. Fish. Sci., 26: 253-259, 1992.

MacLennan, R. F.: Growth in the ciliate Ichthyophthirius. II. Volume. J. Exp. Zool., 91: 1-13, 1942.

]McCallum, H. I.: Infection dynamics of *Ichthyophthirius multifiliis*. Parasitology, 85: 475-488, 1982.

McCallum, H. I.: Population effects of parasite survival on host death: experimental studies of interaction of *Ichthyophthirius multifiliis* and its fish host. Parasitology, 90: 529-547, 1985.

McCartney, J. B., Fortner, G. W. and Hansen, M. F.: Scanning electron microscopic studies of the life cycle of *Ichthyophthirius multifiliis*. J. Parasitol., 71: 218-226, 1985.

Nigrelli, R. F., Pokomy, K. S. and Ruggieri, G. D.: Notes on *Ichthyophthirius multifiliis*. A ciliate parasite on fresh water fishes with some remarks on possible physiological races and species. Trans. Amer. Microscop. Soc., 95: 607-613, 1976.

Parker, J. C.: Studies on the natural history of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet 1876, an ectoparasitic ciliate of Fish. Ph.D. Thesis, Department of Zoology, University of Maryland, 83p, 1965.

Price, D. J. and Bone, L. M.: Maternal effects and resistance to infection by Ichthyophthirius multifiliis in *Xiphophorus maculutus*. In: Fish Immunology, pp. 1-8. Manning, M. J. and M. F. Tatner (Ed.), London Academic Press, 1985.

Suzuki, J.: On the reproduction of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet in relation to water temperature. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 3: 265-272, 1935.

Valtonen, E. T. and Keranen, A. M.: Ichthyophthiriasis of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., at the Montta Hatchery in northern Finland in 1978-1979. J. Fish Dis., 4: 405-411, 1981.

Studies on *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876 in Freshwater Fishes

II. Experimental Infection and Development of *I. multifiliis*

Bo-Young Jee, Ki-Hong Kim*, Soo-Il Park* and Yi Cheong Kim

Pathology Division, National Fisheries Research and Development Institute
**Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University*

Concerned to the lyfe cycle of *Ichthyophthirius multifiliis*, the experimental infection and development of the parasites were studied in the several freshwater cultured fishes. Opitimum conditions for the propagation of the parasite by serial passage with the rainbow trout fry was observed. Visiable white spots were examined in the body surface, fins and gills of the healthy fries, and a stable infection has been maintained for 2 months in the experimental system (Temperature: 18±1°C; DO: 7-7.5 ppm; pH: 7±0.2). Induction conditions for artificial infection of the parasite by interms of the host fishes, stages of the parasites, and rearing temperature regimes was investigated. Rainbow trout fries showed a positive infection which was resulted from exposure of theront at 18°C. The rainbow trout fries induced white spots on the body surface at 3-7 days exposure to the theronts at 18°C. It was found that exposure of the rainbow trout fries exposed to 1,000 theronts per fish (10 theront/ml) for 45-60 minutes at 18°C would consistently produce infection. Perfect infection (100%) was induced when the fries were exposed to 1,500 theront per fish (15 theront/ml) under laboratory condition. Development of *I. multifiliis* in the rainbow trout was observed for 7 days post-exposure (PE). The parasite increased in average diameter from 54 μm on the 1st day PE to 426 μm on the 7th day PE. In the initial infestation period, the parasites were found on the gill epithelium, and on the 3rd day PE they invaded into the basal part of the gill filament adjacent to the major blood vessels, particularly the afferent vessels. Morphological change of buccal apparatus were observed on the 2nd day PE. Contractile vacuoles were more prominent on the 4th day PE, and they had notable changes on the 7th day PE.

Key words: *Ichthyophthirius multifiliis*, Experimental infection, Developmental stage