

양식 가물치(*Channa argus*)에 대한 *Saprolegnia* sp.의 병리학적 특성과 물곰팡이의 성장을 제어하는 정유의 영향

이근광* · 김영길¹ · 이민웅² · 이형환³

나주대학 환경보호과, ¹군산대학교 수족병리학과,
²동국대학교 응용생물학과, ³건국대학교 이과대학 생물학과

Pathological Characteristics of *Saprolegnia* sp. to Snakehead and Effect of Essential Oils to the Growth of the Water Mold

Keun-Kwang Lee*, Young-Gill Kim¹, Min-Woong Lee² and Hyung-Hoan Lee³

Dept. of Environmental Preservation, Naju College, Naju 520-930

¹Dept. of Fish Pathology, Kunsan National University, Kunsan 573-360

²Dept. of Applied Biology, Dongguk University, Seoul 100-715

³Dept. of Biology, Kunkuk University, Seoul 133-701, Korea

ABSTRACT: A *Saprolegnia* sp. was isolated from cultured snakehead, *Channa argus*, and its physiological characteristics were investigated. The optimum temperature, pH and NaCl concentration for mycelial growth of *Saprolegnia* sp. were 25°C, 6.0 and 0%, respectively. The mycelial growth was increased with the addition of 10 mM phosphate and 10 mg/L casamino acid. The essential oils extracted from three plants, *Artemisia princeps* var. *orientalis*, *Thuja orientalis* and *Chamaecyparis obtusa* have been tested to know whether they inhibit the growth of *Saprolegnia* sp. at six different oil concentrations (10, 100, 500, 1,000, 1,500 and 2,000 ppm). Essential oil from *A. princeps* var. *orientalis* began to inhibit the mycelial growth of *Saprolegnia* sp. at the concentration more than 10 ppm. Using other essential oils from *T. orientalis* and *C. obtusa*, those initially inhibited the mycelial growth of *Saprolegnia* sp. at the concentration over 10 ppm and complete inhibition of mycelial growth was observed at over 500 ppm. The histopathological features of Snakehead infected by *Saprolegnia* sp. were studied. A club shape of gill lamella epithelial cells was observed in the gill. The mycelial cells were penetrated into muscular tissue, and the accumulation of the ceroid was observed in the liver, spleen and kidney tissue in common. The necrosis of tubular epithelial cells was seen in the liver tissue, parenchymal tissue in the spleen and tubular epithelial cells in the kidney.

KEYWORDS: Essential oils, *Saprolegnia* sp., Snakehead, *Channa argus*

어류의 물곰팡이병은 주로 어체의 체표면 특히 두부 및 꼬리부에 솜모양의 물곰팡이가 번식하여 병어가 수면에 부유하거나 서서(立泳) 다니다가 죽는다. 또한 이 병은 어체의 크기에 관계없이 발병되어 높은 치사율을 나타내는 질병으로 수온은 약 20°C 이하인 초겨울에서 5월 상순까지의 저수온기에 발생하는 질병이다. 가물치(*Channa argus*)는 고소득 어종으로 현재 경상도의 낙동강 유역과 전라남·북도 일원에서 양식되고 있다. 그러나 현재는 수계 환경 오염으로 인한 수질 악화 및 주변 양식장 환경의 빈약으로 세균성 질병 및 수생진균성 질병이 만연하고 있으나 이의 예방과 치료 대책이 수립되어 있지 않아 이의 예방 및 구제 대책이 시급히 요청되고 있다. 현재 가물치의 물곰팡이병에 대한 연구는 국내에서는 Min *et al.*(1991)이 양식장에서 가물치의 폐사 원인균은 *Saprolegnia diclina*임을 보고하였으며, 이어 Min *et al.*(1994)은 *Saprolegnia*의 균사 생장은 chitosan(0.05%)과 chlorin dioxide(12.5~25 ppm)에서 억제

된다는 보고가 있을 뿐이다. 또한 가물치의 세균성 질병에 대한 연구는 Lee *et al.*(1990)이 *Edwardsiella tarda*에 의해 유발된 가물치의 복수증에 대한 연구와 Lee(1992)가 연구 보고한 양식 가물치의 케양병에 대한 보고가 있을 뿐이다. 한편 유럽과 일본 등지에는 연어 양식장에서 물곰팡이병을 연구 보고한 결과는 일부가 있으나(Hatai and Hoshiai, 1992; Bullis *et al.*, 1990; Xu *et al.*, 1990) 이 분야 연구 또한 물곰팡이병에 의한 피해에 비해 극히 저조한 실정이다. 또한 현재 많은 양식어민들은 이들 물곰팡이를 제어하기 위해 포르말린 또는 malachite green 등을 처리하는 경향이 있어 이들 물질에 의한 수질오염 등 여러 가지 문제점을 야기하고 있다. 그러나 최근 많은 연구자들(Yun *et al.*, 1992; Choi *et al.*, 1990)에 의하여 식물추출물인 精油(essential oil)가 세균 및 진균에 대한 성장 제어 효과가 있다는 것이 알려지므로 이에 대한 관심이 고조되고 있다. Essential oil은 식물의 추출물을 말하며 이들은 원래 allelochemicals로 식물이 주위 환경으로 자신의 화학물질을 방출하여 다른 식물의 성장을 제어하거나 물질대사에 영향을 줌으로써 미생

*Corresponding author

물을 포함한 모든 식물들 사이에서 일어나는 생태학적 상호작용에 관계된 물질이다(Newman, 1978). 따라서 본 연구에서는 저수온기에 양식 가물치의 치어 및 성어에 물곰팡이병을 유발하여 대량 폐사케 할 뿐만 아니라 상품가치를 하락시키는 원인균인 *Saprolegnia* sp.를 분리하고, 그들의 생리학적 특성 및 병리학적 특성을 연구하여 이 균의 예방 및 치료 대책을 수립하는데 기초 자료로 삼고자 하며, 또한 이와 더불어 오랫동안 식용 및 약용으로 사용되어왔던 식물추출물인 정유를 이용하여 이 균의 성장정도를 조사하여 구제 가능성을 조사함과 동시에 이와 유사한 질병에 대해 응용하기 위한 기초 자료로 삼고자 한다.

재료 및 방법

연구에 사용한 가물치

- 1) 가물치: 물곰팡이병이 유발된 가물치는 전북 일원의 가물치 양식장에서 수집 하였다.
- 2) 임상적 특징조사: 물곰팡이병에 걸린 병어의 임상적 특징을 외관 또는 해부하여 조사하였고, 병리 조직은 현미경을 사용하여 조사하였다.

균의 생육배지

분리된 균주는 YPSS agar(Yeast extract 4g, K_2HPO_4 1g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, Soluble starch 15g, Penicillin and Streptomycin(500 mg, 500 unit), pH 6.0/L) 배지를 121°C, 15Lb에서 15분간 습윤 멸균하여 사용하였다.

보존 배지

균주의 보존 배지는 Yeast extract 1.25g, Bactopeptone 1.25g, Dextrose 3g 을 증류수 1L에 용해한 후, 121°C, 15Lb에서 15분간 습윤 멸균하여 사용하였다.

물곰팡이의 분리

물곰팡이병이 유발된 병어의 환부 또는 사육수로부터 병원성 물곰팡이를 분리하였다. 분리 방법은 먼저 멸균된 걸명자씨앗(또는 삼씨)의 껍질을 무균적으로 제거하고, 여기에 가물치의 환부로부터 균사의 일부 또는 사육수를 넣은 후, 약 15°C에서 1주일간 배양하였다. 순수 분리를 위해서 Malt agar에 균사를 접종한 뒤 25°C에서 48시간 배양하여 배양된 균주는 균주동정법에 따라 광학현미경을 통하여 동정하였다.

분리된 물곰팡이의 생리학적 특성조사

1) 성장곡선

균주의 성장 곡선은 YPSS 액체배지에 무균적으로 균사를 접종하고, 25°C에서 진탕 배양 하면서 6시간 간격으로 성장된 균사를 여과지에 여과하여 채취한 후 60°C 건조기에서 건조한 다음 무게를 측정하였다.

2) 온도에 따른 균사체 성장

온도에 따른 균사체의 성장 정도를 조사하기 위하여 PDA(potato dextrose agar) 평판배지에 균사를 접종하고 21, 25, 28, 39°C 항온기에 3일간 배양한 다음 성장한 균사체 집락의 반경을 측정하였다.

3) pH에 따른 균사체 성장

배지의 pH에 따른 영양체 성장의 변화는 Child(1973)의 방법을 수정하여 사용하였으며, PDA 배지를 각각 pH 3~9까지 조정 한 후, 25°C에서 48시간 배양하면서 성장된 균사의 반경을 측정하였다

4) NaCl 농도에 따른 균사체 성장

PDA 평판배지의 NaCl 농도를 각각 0, 1, 2, 3, 4%되게 조정 한 후, 각각의 배지 중앙에 균사를 cork borer로 이식 접종한 후, 25°C 배양기에서 3일간 배양한 다음, 성장된 균사의 반경을 측정하였다.

5) Phosphate 농도에 따른 균사체 성장

PDA배지의 phosphate농도를 각각 5, 10, 15, 20, 25 mM 되게 조성한 후, 위와 동일한 방법으로 조사하였다.

6) Casamino acid 농도에 따른 균사체 성장

PDA 평판배지에 casamino acid 농도를 각각 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 mg/L 되게 조성한 후, 위와 동일한 방법으로 조사하였다.

식물 추출물(精油)이 균사 성장에 미치는 영향 조사

오랫동안 식용 및 약용으로 사용되어 왔던 쑥(*Artemisia princeps* var. *orientalis*), 측백(*Thuja orientalis*), 편백(*Chamaecyparis obtusa*)의 정유를 이용하여 양식가물치로부터 분리된 수생진균 *Saprolegnia* sp.의 성장에 대한 제어 효과를 조사하였다.

1) 식물 정유의 조제

식물 정유의 추출은 전초를 건조하거나 생것을 잘라 마쇄한 후, Kalsruker장치에 넣고, 85°C에서 8시간 수증기 증류한 후, 다시 이를 실온에서 rotary vacuun evaporator로 감압 농축하여 -20°C의 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

2) 항진균력 시험

PDA 평판배지에 각각의 정유를 10, 100, 500, 1,000, 1,500, 2,000 ppm되게 조성한 후, 배지의 중앙에 균사를 접종하여 25°C 배양기에서 3일간 배양한 후, 성장된 균사의 반경을 측정하였다.

병어의 병리 조직학적 조사

물곰팡이병에 걸린 병어의 장기 및 환부의 근육을 병리 조직학적 측면에서 조사하기 위하여 다음과 같이 수행하였다. 먼저 병어의 각부 조직을 10% 포르말린 용액에 고정 한 후, 탈수 및 수세 과정을 거친 다음 상법에 따라 광학현미경 하에서 검경하고 사진을 촬영하였다.

결과 및 고찰

병어의 임상적 특징

병어의 외부적 특징은 체표의 케양 부위에 주로 섬유와 같은 균사가 조밀하게 성장하였으며(Fig. 1), 병어는 활동이 둔해지고 섭식상태가 저조하였다. 해부학적 특징으로는 간이 황갈색이었으며 종대 되었고, 근육 깊숙히 까지 균사가 침투되어 있었다. 비장은 암적색으로 종대 퇴색되었고, 신장은 암적색이었다.

Saprolegnia sp.의 분리, 배양 및 성장곡선

분리된 균사(Fig. 2)를 각 온도(21, 25, 28, 39°C)에서 배양한 결과 최적 성장 온도는 25°C이었으며, 28°C 이상에서는 저조한 균사의 성장을 보였다. 이와 유사한 연구로는 Park (1988) 이 물에서 분리한 *Saprolegnia* sp.는 25~30°C에서 왕성하게 성장했으며, 최적 온도는 28°C이었다고 보고한 것과는 약간의 차이를 보였다. 또한 분리된 *Saprolegnia* sp. 성장곡선을 25°C에서 조사해 본 결과 접종 48시간 까지 대수 증식기를 나타내다가 이후에는 완만한 성장 상태를 나타내어 접종 72시간 후에 최고의 성장률을 나타내었고, 이후에는 더 이상 성장하지 않았다(Fig. 3).

pH에 따른 균사체 성장

분리된 균사의 pH에 대한 증식 영향을 조사하기 위하여 pH 3.0~10까지 처리한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 pH 3.0에서는 균사 생장이 매우 저조하였고(균사체 집락 반경



Fig. 1. Photograph of snakehead, *Channa argus* infected by *Saprolegnia* sp.

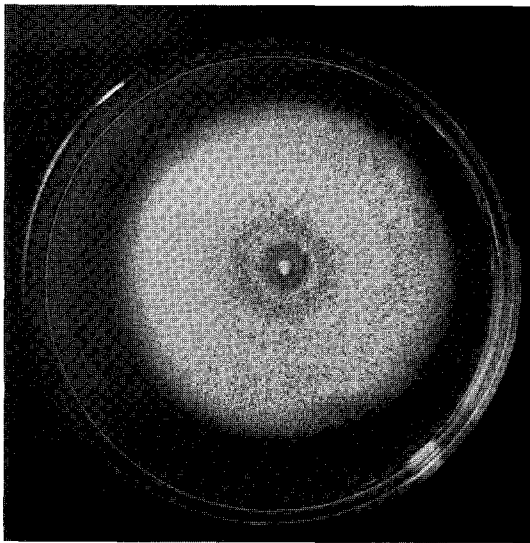


Fig. 2. Photograph of white mycelial colony of *Saprolegnia* sp. isolated from snakehead, *Channa argus*. *Saprolegnia* sp. cultivated on SPSS agar plate.

2.0 cm), pH가 증가하면서 서서히 균사의 생장은 증가되어 pH 6.0에서는 균사체 집락의 반경이 4.9 cm로 최적 성장률을 보였으나 그 이후(pH 7.0)부터는 점점 성장률이 감소되는 양상을 나타냈다. 따라서 양식 가물치로부터 분리된 *Saprolegnia* sp.의 최적 pH는 6.0으로 나타났다. 이와 유사한 연구로 Park(1988)이 물에서 분리한 *Saprolegnia* sp.는 적정 pH가 5~6이었고, 최적 pH는 5.8이라고 보고한 것과 유사하였다.

NaCl 농도에 따른 균사체 성장

NaCl 농도가 균사체 성장에 미치는 영향을 조사한 결과 본 연구에서 분리된 *Saprolegnia* sp.는 NaCl을 전혀 처리하지 않은 농도(0%)에서 균사체 집락의 반경이 3.92 cm로 가장 잘 성장하였으며, 1% NaCl을 처리한 농도에서는 3.43 cm로 0% 처리구 보다 성장이 둔화되었으나 성장이 가능하였고 2% 처리농도에서는 거의 성장할 수 없는 것으로 나타났다(Fig. 5). 따라서 분리된 *Saprolegnia* sp.의 성장 가능 NaCl 농도범위는 0~1%이었으며, 최적 성장 NaCl 농도는

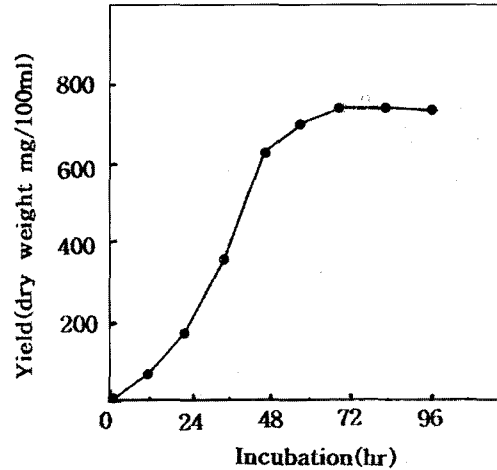


Fig. 3. The growth curve of mycelia of *Saprolegnia* sp.

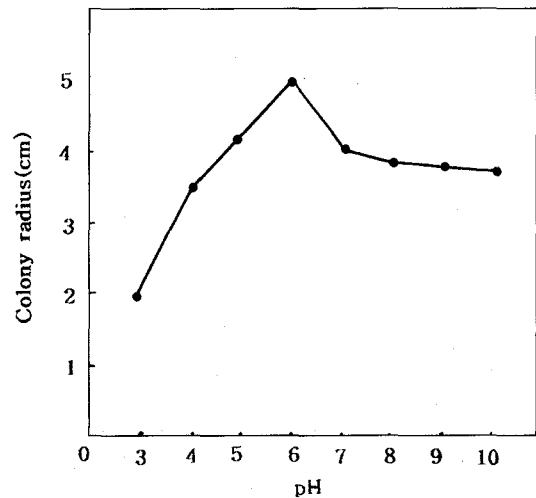


Fig. 4. Effect of pH on the growth of *Saprolegnia* sp. two days after inoculation on potato dextrose agar.

0% 이었고, 2% 이상 농도에서는 성장하지 못했다.

Phosphate 농도에 따른 균사체 성장

Phosphate 농도에 따른 균사체의 성장 정도를 조사하기 위하여 phosphate를 5~25 mM 까지의 농도로 처리한 결과 본 실험에서 사용한 농도 범위에서는 성장에 큰 변화가 나타나지 않았으나 phosphate 농도가 5 mM 이상 높아짐에 따라 약간의 성장 증가 현상이 나타나다가 10 mM 이상으로 높아짐에 따라서는 약간씩 성장이 감소되는 경향을 볼 수 있었다. 그러나 그 차이는 아주 미약하였다. Sapparow(1960)는 *Saprolegnia ferax*의 경우 영양체의 성장은 phosphate 10 mM이 최적 농도이고, 10 mM 이상이면 급격하게 영양체의 성장이 억제 되었다고 보고한 바 있으나, 양식 가물치로부터 분리한 *Saprolegnia* sp.의 경우는 phosphate 10 mM 농도에서 최적 성장을 보여 *S. ferax*의 경우와 유사하나 10 mM 이상에서 급격한 영양체 성장의 억제 양상은 보이지 않아 또한 상당히 다른 특성을 나타냈다.

Casamino acid 농도에 따른 균사체 성장

Casamino acid의 농도(0~18 mg)를 달리하여 영양체 성장 정도를 조사해 본 결과 casamino acid의 농도를 2 mg/L 이상 처리한 것에서부터 점점 양이 높아짐에 따라 점점 영양체의 성장이 증가하다가 10 mg/L 처리 농도에서는 최적 성장(균사체 집락 반경 4.63 cm)을 보였으며, 그 이상의 농도에서는 완만한 감소 현상을 보였다(Fig. 6). 그러나 Sapparow (1960)는 *S. ferax*의 경우 최적 농도는 4 mg/L라고 보고한 바 있어 상당한 차이를 보였다.

식물 정유가 균사체 성장에 미치는 영향

식물 추출물은 각종 세균 및 진균류에 대해 항균력 및 항진균력이 있는 것으로 알려져 있어 현재 많은 연구자들 (Kil et al., 1991; Yun et al., 1992; Kim et al., 1994; Yang et al., 1995; Lee et al., 1997)이 이 분야에 대한 관심을 갖음과 동시에 연구를 진행하고 있고 이 분야에 대한 상당한

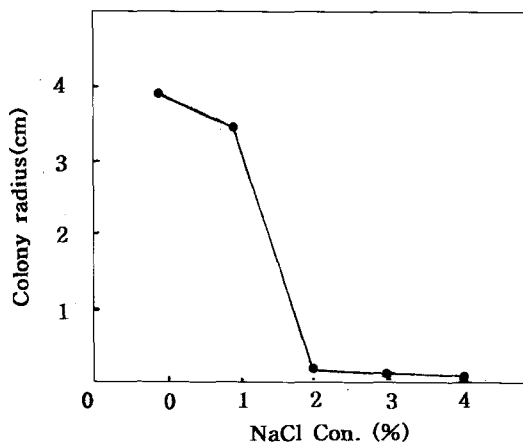


Fig. 5. Effect of NaCl concentration on the growth of *Saprolegnia* sp.

결과도 도출되고 있다.

1) 썩 추출물에 의한 영향

썩 추출물(정유)이 가물치로부터 분리한 *Saprolegnia* sp.의 균사 성장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각 처리구 별로 10, 100, 500, 1,000, 1,500, 2,000 ppm 되게 처리한 결과 Fig. 7에서 보는 바와 같이 처리하지 않은 것은 균사체 집락 반경이 8.3 cm였으나 처리 농도가 높아짐에 따라 점점 억제되어 2,000 ppm 이상의 농도에서는 균사체 집락의 반경이 2.36 cm로 상당한 제어 효과를 관찰할 수 있었다. 지금까지 썩 정유 성분의 항진균력에 대한 연구는 없지만 Kim et al.(1994)이 썩 정유의 어병 세균에 대한 항진균력을 조사해 본 결과 *Aeromonas salmonicida*가 100 ppm, *A. hydrophila*, *A. sorbia*, *E. tarda*와 *Streptococcus* sp.(yellow tail)는 1,500 ppm 정도에서 억제 효과가 나타났으나 *Vibrio anguillarum*, *V. ordalii*, *Edwardsiella ictaluri*, *Streptococcus* sp.(SF-1)은 100~2,000 ppm 농도에서 약간 억제효과는 있지만 크지 않았던 것으로 나타났다. 또한 Yang et al.(1995)은 썩의 methanol 추출물을 filter paper disk에 2 mg씩 흡수시킨 후 4가지 세균에 대한 항진균력을 조사한 결과 *S. aureus*,

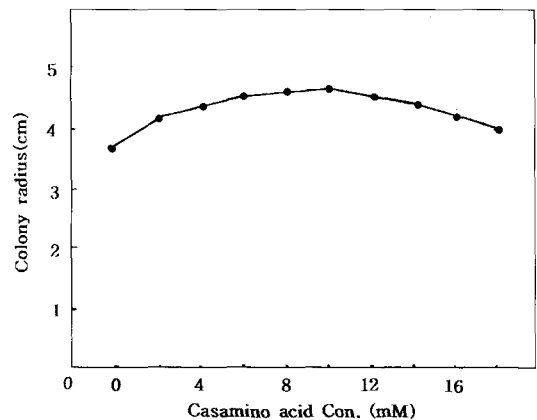


Fig. 6. Growth of *Saprolegnia* sp. in the various concentrations of casamino acid.

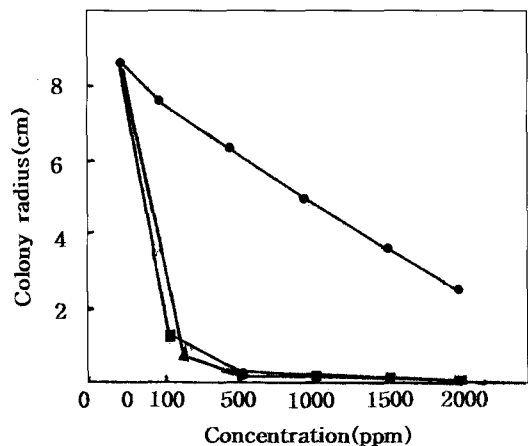


Fig. 7. Effect of essential oil concentration on mycelial growth of *Saprolegnia* sp. (●): *Artemisia princeps* var. *orientalis* (■): *Thuja orientalis* (▲): *Chamaecyparis obtusa*

*V. parahaemolyticus*에는 항균력이 있었으나 *Bacillus subtilis*, *E. coli*에는 항균력이 없었던 것으로 보고 한 바 있다. 이 밖에도 Kim *et al.*(1994)은 썩의 열 추출물과 주요 향기 성분이 세균에 대한 영향을 조사한 결과 항균성이 확인되었다고 보고한 바 있다. 그러나 썩의 정유 성분중 어떤 성분이 항진균 및 항세균성 효과를 나타냈는지는 좀더 연구해 볼 과제이지만 Kil *et al.*(1991)에 따르면 썩의 일 정유 성분을 분석해 본 결과 α -pinene, α -terpinene, β -myrcene, γ -terpinene, (-)-trans-caryophyllene, α -humulene, cineole, (-)-thujone, bornylacetate, comphor, γ trans 성분이 검출되었으나 이중 γ -terpinene, (-)-trans-caryophyllene, α -humulene, α -pinene, α -terpinene, cineole, (-)-thujone, bornylacetate, β -myrcene이 상치, 썩, 쇠무릅의 발아 성장에 영향을 미쳤다고 보고한 바 있었다.

2) 측백나무 정유에 의한 영향

측백나무 추출물(정유)이 분리된 *Saprolegnia* sp.의 균사 성장에 미치는 영향을 조사하였다. 결과 처리하지 않은 것

은 균사의 집락 반경이 8.3 cm였으나 100 ppm 이상 처리 농도(균사체 집락 반경 1.2 cm)에서부터 균사 생장은 현저히 억제되어 500 ppm 농도에서는 균사체 집락의 반경이 0.2 cm로 거의 성장하지 않아 매우 높은 억제 효과를 나타냈다(Fig. 8). 이와 유사한 연구로 Lee *et al.*(1997)은 측백나무 정유로 어병세균 즉, 넙치 복수증 원인 세균인 *E. tarda* L-1에 처리한 결과 100 ppm 이상의 처리 농도에서부터 증식 억제 효과가 나타나다가 300 ppm 이상의 처리 농도에서는 현저한 억제 효과가 있었다고 보고한 바 있다. 따라서 측백나무 정유는 항진균 뿐만 아니라 항세균 효과도 세균의 종류에 따라서 매우 큰 것으로 나타났다. 지금까지 측백나무의 정유중 일 정유성분은 Rho(1991)가 분석한 결과 phenolic compound 13종 즉, benzoic acid, salicylic acid, p-OH benzoic acid, vanillic acid, coumaric acid, coumaric deriv., phtocatechuic acid, gallic acid, feruic acid, ferulic deriv., hydroquinone, caffeic acid, gentisic acid이었으며, heterocyclic compounds 2종 즉, kojic acid, 2-furan carbox-

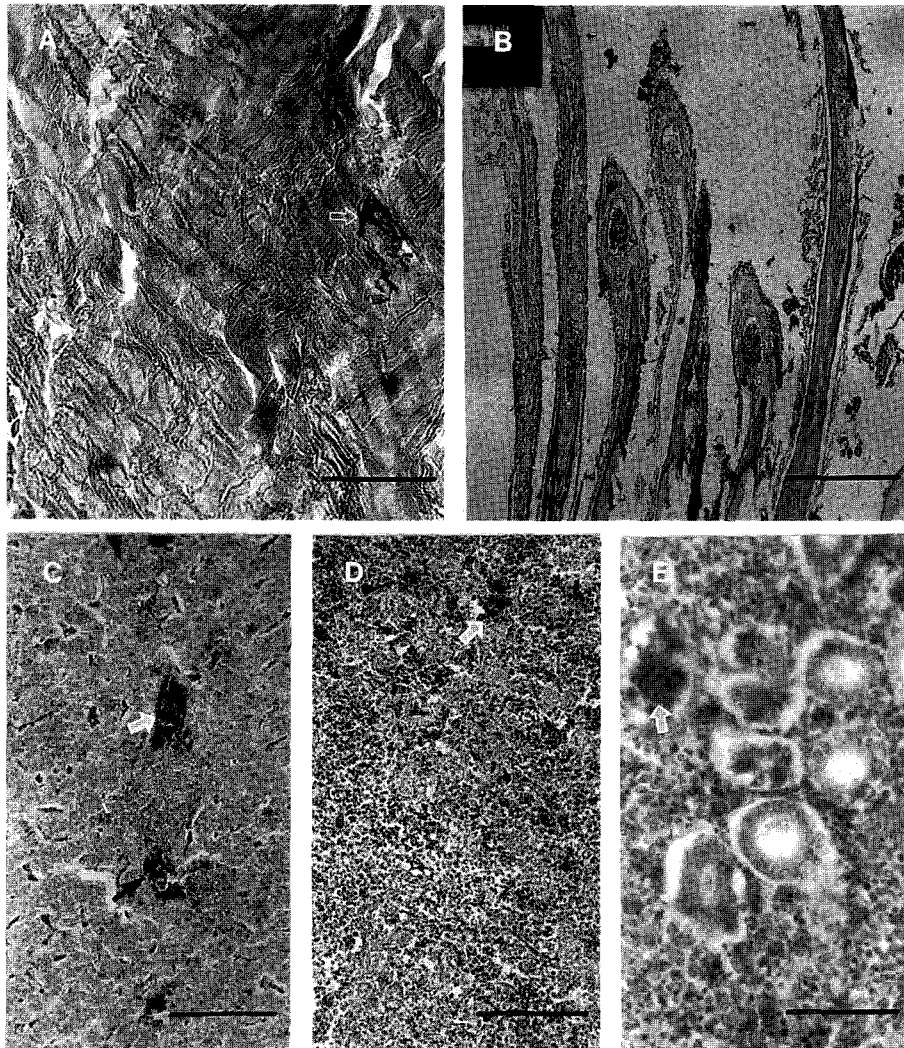


Fig. 8. Microscopic photographs of histopathological features of Snakehead infected by *Saprolegnia* sp. A: Muscular tissue, B: Gill lamella epithelial cell, C: Liver tissue, D: Spleen tissue, E: Kidney tissue, *Arrows indicate mycelial cells(A) and ceroid (C, D, E). Scale bar=10 μ m

ylic acid이었고, fatty acids 3종 즉, malonic acid, maleic acid, fumaric acid가 확인되었고, 열매 추출액에서는 phenolic compound 11종, fatty acids 6종, heterocyclic compounds 3종이 확인되었다고 보고한 바 있으나 이들 물질 중 어떠한 성분이 직접적으로 본 연구에서 분리한 물곰팡이 군사 생장에 영향을 미쳤는지는 좀더 연구해 보아야 할 것으로 사료된다.

3) 편백나무 정유에 의한 영향

편백나무 추출물이 *Saprolegnia* sp.의 군사 생장에 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 8에서 보는 바와 같이 편백나무 정유 농도 10 ppm 이상에서부터 약간의 군사 생장 억제 현상이 나타나다가 100 ppm 이상의 농도(0.8 cm)에서는 측백나무 정유에서와 유사하게 현저한 군사 생장에 있어서 억제 현상이 나타났다. 따라서 측백나무와 편백나무 정유는 어류에 병원성을 유발하는 *Saprolegnia* sp.의 제어에 아주 유효한 식물 추출물로 나타났으나 이들 성분 중 어떤 성분이 항진균 효과를 나타내는지는 좀더 연구해야 될 과제로 사료된다. 이와 유사한 연구로는 Kwak(1994)이 편백나무의 낙엽, 잎, 수피 및 열매의 정유를 이용하여 4종류의 균류 즉, *Aspergillus niger*, *A. nidulans*, *Alternaria mali*와 *Fusarium oxysporum*에 각 농도별로 처리한 결과 처리 농도가 높아질수록 생장 억제가 뚜렷하였다고 보고하였으나 그 중 *A. mali*는 수피, 낙엽, 잎 정유의 0.01% 처리구에서는 생장이 촉진되었다는 보고도 있다. 또한 편백나무 주성분은 각 부위별로 다르지만 주로 α -pinene, sabinene, myrcene, trans-2-hexenal, cis- α -bergamotene + linalool, terpinen-4-ol, monoterpeneoid 그리고 β -menten-8-yl acetate가 주성분이었으며, 성분 중 monoterpeneoid 성분은 식물 방어 억제 및 항균력이 있는 것으로 추정할 바 있다. 또한 Lee et al.(1977)은 어병 세균 즉, 넙치의 복수증을 유발한 *E. tarda* L-1의 증식에 처리한 결과 처리 농도에서 약간의 증식 억제 효과는 있었으나 미비하였고, 측백나무 정유에 비해서는 훨씬 어병 세균 제어 효과가 적게 나타났다. 따라서 편백나무 정유는 측백나무 정유와 마찬가지로 수생진균 즉, 양식 가물치에서 분리한 *Saprolegnia* sp. 영양체 생장에 억제 작용은 있었으나 어병 세균의 증식억제의 경우에는 측백나무와 같은 결과는 나타나지 않았다. 이러한 결과를 종합해 볼 때 가물치에 수생진균병을 유발한 *Saprolegnia* sp.의 제어를 위한 식물 추출물의 이용 가능성을 확인할 수 있었다.

병리조직학적 특성

Saprolegnia sp.에 감염된 가물치의 각 조직의 병리 조직학적 특성을 조사해 본 결과 군사체가 감염된 근육 조직은 근육 깊숙히 까지 군사가 침투되어 있었으며(Fig. 8, A), 아가미 새엽은 곤봉화되어 있었다(Fig. 8, B). 또한 간조직 세포는 일부가 괴사 되었으며, 조직 일부에는 ceroid 물질이 침적되어 있었다(Fig. 8, C). 비장 조직은 선세포조직이 괴사되어 있었고, 간 세포에서와 마찬가지로 ceroid가 침적되어 있었다(Fig. 8, D). 신장 조직은 세뇨관 상피 세포가 기저

막을 남기고 괴사되어 있었으며, 신장 조직의 조혈조직에 ceroid 물질의 침적 상태가 나타났다(Fig. 8, E). 이와 유사한 연구로는 Min et al.(1991)은 가물치 양식장에서 진균성 아가미병에 관련된 *S. diclina*는 군사체를 어체의 표면과 내부의 근육, 내장등의 조직 세포에 신장하고 있는 것을 확인했다고 보고한 바 있어 본 연구에서 관찰한 근육조직세포까지 군사가 침투되었던 것과 유사하였다. 또한 Min et al.(1990)은 뱀장어 수생진균병 *S. diclina* type I의 실험적 감염 연구에서 군사체는 표피와 진피에 신장 분포되었고 특히 피부의 표피층에는 심한 출혈, 세포의 변성, 괴사 및 일부 점막세포는 심하게 종대되어 있었다고 보고한 바 있다. 그러나 어류의 내부장기 조직세포에 ceroid 물질의 축적은 Jo and Chun(1990)은 산화된 사료를 먹이므로 틸라피아의 간조직에 ceroid 침착이 이루어졌다고 보고한 바 있고 Lee (1993)는 양식넙치에 산화된 사료를 먹인 결과 간장, 비장, 신장 조직에 ceroid가 침착되었다고 보고한 바 있다. 그러나 본 연구에서 나타난 ceroid 물질의 침착은 수생진균이 감염되므로 대사에 이상이 생겨 유발된 것인지 또는 양식과정에서 부적절한 사료를 사용하여 나타난 것인지는 좀더 연구해 보아야 할 것으로 사료된다. 이외에 가물치에 대한 조직 병리학적 연구는 Lee et al.(1990)이 *E. tarda*에 의해 유발된 가물치 복수증 연구에서 인위적으로 피하와 근육주사된 가물치의 병리 조직학적 증상은 간세포와 비장에 심한 세포 분해 현상이 나타났다고 보고하였으며 신장의 사구체와 세뇨관의 손상이 있었고, 아가미는 빗살무늬 부분에 약간의 퇴화현상이 관찰되었다고 한 바 있다.

적 요

양식 가물치로부터 *Saprolegnia* sp.를 분리하고 그들의 일부 생리학적 특성과 제어를 위한 식물 추출물(精油)을 탐색하였다. 분리된 *Saprolegnia* sp. 영양체 생장 최적 온도는 25°C이었고, 최적 pH는 6.0이었으며, 최적 NaCl 농도는 0%이었다. 또한 phosphate 10 mM 농도와 casamino acid 10 mg/L 농도에서 군사의 생장은 잘되었다. *Saprolegnia* sp.의 제어 정도를 조사하기 위해 측, 편백, 측백나무로부터 정유를 분리하여 10, 100, 500, 1,000, 1,500, 2,000 ppm에서 처리한 결과 측 정유는 처리농도 10 ppm 이상 농도에서부터 억제 양상이 나타나다가 농도가 높아질수록 더 많은 억제 양상을 나타냈다. 측백과 편백나무 정유를 처리한 것에서는 10 ppm 이상 처리 농도에서부터 억제되기 시작하여 그 이상의 처리 농도에서는 상당한 군사 생장 제어 효과를 나타내다가 500 ppm 이상 처리 농도에서는 완전한 제어 효과를 나타냈다. 또한 *Saprolegnia* sp.에 감염된 가물치의 조직 병리학적 연구를 실시한 결과 군사가 감염된 근육조직 부분에는 깊은 곳까지 군사가 침투하였고, 아가미의 세포는 곤봉형태를 나타냈으며, 간조직 세포에서는 일부가 괴사되었고 부분적으로 ceroid 물질이 침착되어 있었다. 또한 비장 조직 세포에서는 일부 괴사된 세포를 관찰하였고, ceroid 물

질의 침착을 볼 수 있었다. 신장조직은 세뇨관의 상피세포에서 일부 괴사를 관찰하였고, 조혈 조직에는 ceroid 물질의 침착상태가 나타났다.

감사의 글

이 논문은 1997년 한국학술진흥재단의 공모과제(1977-004-H00001) 연구비에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- Bullis, R. A., Noga, E. J. and Kevy, M. G. 1990. Immunological relationship of the fish pathogenic Oomycete *S. parasitica* to other Oomycetes and unrelated fungi. *J. Aqua. Ani. Heal.* **2**: 223-227.
- Child, J. J. and Knapp, C. 1973. Improved pH control of fungal culture media. *Mycologia.* **65**: 1078-1086.
- Choi, J. D., Seo, I. W. and Cho, S. H. 1990. Studies on the antimicrobial activity of grapefruit seed extract. *Bull. Kor. Fish Soc.* **23**(4): 297-302.
- Hatai, K. and Hoshiai, G. 1992. Saprolegniasis in cultured Coho salmon (*O. kisutch*). *Gyoby Kenkyu* **27**(4): 233-234.
- Jo, M. K. and Chun, S. K. 1990. Ceriodosis of Tilapia, *O. niloticus* due to the oxidized pellet and the preventive effect of vitamin E and C addition. *Kor. J. Fish Pathol.* **3**(2): 69-79.
- Kil, B. S., Kim, Y. S. and Yun, K. W. 1991. Allelopathic effects of growth inhibitor from *A. orinceps* var. *orientalis*. *Kor. J. Ecol.* **14**(2): 121-135.
- Kim, Y. K., Rho, B. J. and Lee, K. K. 1994. Antimicrobial activity of *Artemisia princeps* var. *orientalis* essential oil against fish pathogenic bacteria. *Kor. J. Fish Pathol.* **7**(2): 113-117.
- Kwak, S. H. 1994. Allelopathic effects on the plant growth of ground layer in *Chamaecyparis obtusa* plantation. Wonkwang Univ. Ph.D. thesis.
- Lee, C. H. 1993. The development ceriodosis in cultured flounder, *P. olivaceus*. *Kor. J. Fish Pathol.* **6**(2): 143-161.
- Lee, H. K., Seong, H. K., Park, L. H., Jo, K. R. and Kim, Y. J. 1990. The study on the experimental ascite by *E. tarda* in Snakehead. *Bull. Kor. Fish Soc.* **23**(5): 353-360.
- Lee, H. K. 1992. Pathology of ulcerous disease in cultivated snakehead, *Channa argus*. *Kor. J. Microbiol.* **30**: 164-170.
- Lee, H. K., Kim, H. S., Lee, J. C. and Lee, M. W. 1997. Characteristics and pathogenicity of *E. tarda* L-1 isolated from cultured flounder (*P. olivaceus*) and effect of control by plant essential oil. *J. Kumsung Environ. Coll.* **1**: 215-227.
- Min, H. K., Park, N. Y. and Hatai, K. 1990. Experimental infection with *S. diclina* type I in Eels (*Anguilla japonica*). *Kor. J. Fish Pathol.* **3**(2): 61-67.
- Min, H. K., Chun, S. B. and Bai, S. 1991. Occurrence of *Saprolegnia diclina* associated with fungal gill disease at snake fishes culture farm. *Kor. J. Fish Pathol.* **4**(2): 15-100.
- Min, H. K., Hatai, K. and Bai, S. 1994. Some inhibitory effects of chitosan on fish pathogenic Oomycete, *S. parasitica*. *Jap. J. Fish Pathol.* **29**(2): 73-77.
- Newman, E. I. Allelopathy: Adaptation on accident?. Academic Press, N. Y. pp. 327-342.
- Park, D. C. 1988. Studies on the physiological and sexual characteristics of *Saprolegnia* sp. isolate in water. Konkuk Univ., M.S. Thesis.
- Rho, B. J. 1991. Allelopathic potential of *Thuja orientalis*. Wonkwang Univ., Ph.D. Thesis
- Saparrow, F. K. 1960. Aquatic phycomycetes. Univ. of Michigan Press. pp. 833-838.
- Xu, D., Rogers, W. A. and Rushing, A. E. 1990. Ultrastructure of the hyphae of *S. parasitica*. *J. Aqu. Ani. Heal.* **2**: 289-294.
- Yang, M. S., Ha, Y. L., Nam, S. H., Choi, S. U. and Jang, D. S. 1995. Screening of domestic plants with antibacterial activity. *J. Agric. Chem. Biotech.* **38**(6): 584-589.
- Yun, K. W., Dubey, N. K., Han, D. M. and Kil, B. S. 1992. Antifungal activity of some essential oils against four fungi. *Kor. J. Ecol.* **15**(1): 281-285.