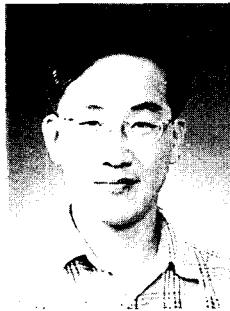


동물학 논문

패류에 기생하는 원생동물 *Perkinsus*의 연구 동향 (*Perkinsus* spp, Protozoan Pathogens in Marine Molluscs)



최 광 식

1983년 인하대학교 해양학과 (학사)
 1987년 Texas A&M Univ. 해양학과 (석사)
 1992년 Texas A&M Univ. 해양학과 (박사)
 1992년-93년 Texas A&M Univ. 해양학과 Post-Doc.
 1993년-95년 한국원자력안전기술원 선임연구원
 1995년-현재 제주대학교 해양과학대학 해양생산과학부 조교수
 (전공 : 패류 번식생리 및 병리학)

요 약

Perkinsus 속은 원생동물문에 속하며 현재 세계적으로 5종이 보고되고 있다. 이들은 모두 기생생물로 수산업적으로 매우 중요한 해산 패류에 막대한 피해를 입히고 있다. *Perkinsus*는 국내의 경우 1995년에 바지락에서 발견되었으며 일부 바지락 양식장에 있어 바지락 대량 폐사에 직, 간접적으로 영향을 미치고 있는 것으로 보고되고 있다. 국내에서 발견된 *Perkinsus*는 아직 정확한 분류학적 위치가 밝혀지지 않고 있으나 일본에서 발견된 종 및 유럽에서 발견된 *Perkinsus atlanticus*와 매우 유사한 종으로 간주된다. 이 논문에서는 해산 연체동물에 기생하는 *Perkinsus*의 생활사, 조직병리학적 관찰, 생태적 특성 및 최근의 연구 동향 등을 보고하고자 한다.

서 론

*Perkinsus*는 일반적으로 받아들여지고 있는 Levine (1978)의 분류체계에 따르면 Apicomplexa문, Perkinse강, Perkinsida목, Perkinsidae과, *Perkinsus*속에 속하는 해산 패류의 기생성 원생 동물이다. *Perkinsus*는 또한 *Perkinsus*속에 속하는 생물의 일반 명칭이기도 하다. 현재 Genus *Perkinsus*에는 대서양 굴, *Crassostrea virginica*에서 발견된 *P. marinus* (Mackin et al. 1950), 호주산 전복, *Haliotis rubra*에서 발견된 *P. olseni* (Lester & Davis 1981), 극동에서 지중해로 이식된 바지락, *Ruditapes philippinarum*에서 발견된 *P. atlanticus* (Azevedo 1989) 및 일본에서 캐나다 태평양 연안으로 이식된 참가리비, *Patinopecten yessoensis*에서 발견된 *P. qugwadi* (Blackbourn et al. 1998) 등, 4 종이 학계에 보고되고 있다 (Fig. 1). 특히 *P. marinus*와 *P. atlanticus*는 대서양 굴과 지중해 연안에서 양식되고 있는 바지락 (*R. decussates*, *R. philippinarum*)의 대량 폐사 원인생물로 잘 알려져 있다 (Ray 1996; Andrews 1996; Figueras et al. 1992; Azevedo 1989; Chagot et al. 1987; Da Ros & Canzonier 1985). *Perkinsus*속에 속하는 기생성 원생동물에 의한 패류의 폐사 현상을 “perkinsosis”라 하며, 감염된 패류의 높은 폐사와 빠른 전염성 때문

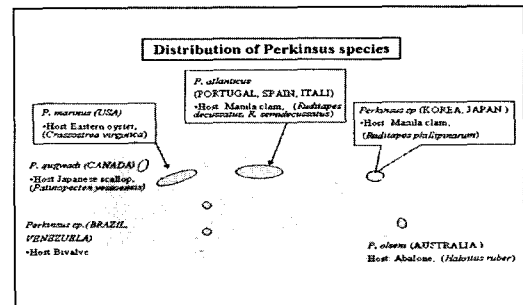


Fig. 1. Distribution of *Perkinsus* species in the world.

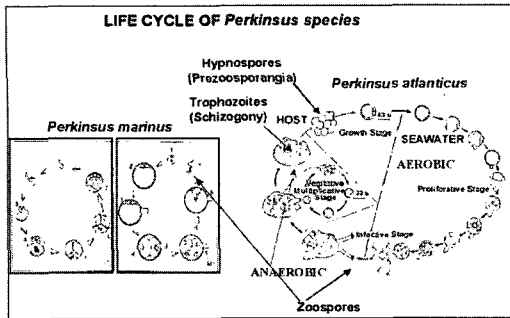


Fig. 2. Life cycle of *Perkinsus* species (modified from Auzoux-Bordenave et al., 1995)

에 국제수역사무국 (OIE, Office International Des Epizooties)은 *Perkinsus*에 감염된 수산물의 국제간 이동을 제한하고 있다 (국립수산진흥원 1999).

우리 나라의 경우 1995년 국립수산진흥원은 전북 고창에서 양식되고있는 패류의 대량 폐사 원인 생물로 *Perkinsus*를 보고한 바 있으며, 1997년 Choi와 Park은 남해안에 서식하는 바지락 *R. philippinarum*에서 *Perkinsus* (*Perkinsus* sp)를 발견하여 학계에 보고하였다 (Choi & Park 1997). 박 등 (1999)은 전라북도 고평만에 서식하는 바지락 전 개체들이 바지락포자충에 감염되어 있음을 밝히고 감염 정도를 정량적으로 측정하였으며, 국내산 바지락에서 발견된 *Perkinsus*를 바지락포자충으로 보고한 바 있다.

본 론

Perkinsus의 생활사 및 분류학적 위치

*Perkinsus*의 생활사 (life cycle)는 크게 영양번식 (vegetative stage) 단계, 성장단계 (growth stage), 증식 단계 (proliferative stage), 감염단계 (infective stage)로 나뉘어진다 (Auzoux-Bordenave 1995, Fig. 2). 영양번식 단계는 숙주 체내에서 기생하는 단계로써 이분법에 의해 trophozoite를 증식한다. Trophozoite는 직경이 2-10 μm 정도이며 (Perkins 1996) 숙주로부터 방어 기작의 일환으로 과립세포를 형성한다 (Montes et al. 1995). Trophozoite는 숙주로부터 분리되어 무산소 상태에 놓이게 되면 휴면포자 (hypnospore)를 형성한다. *Perkinsus* hypnospore의 특징 중 하나는 그 크기가 큰 폭으로 증가하는 것이다. *P. marinus*의 경우 trophozoite의 크기는 5-30 μm

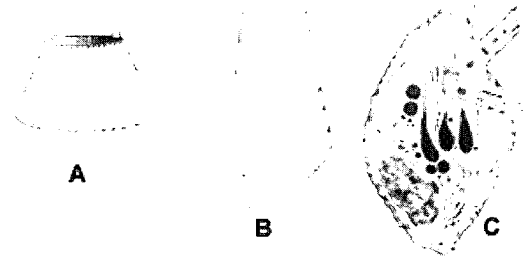


Fig. 3. Ultrastructure of conoid in *Perkinsus* species.

A: apicomplexan conoid which has transversely coiled tubules, B: conoid structure observed in *P. marinus*, C: cross-section of zoospore of *P. atlanticus* (edited from Siddell et al. (1997) and Azevedo (1989).

정도이나 무산소 상태에 놓이면 hypnospore를 형성하면서 그 크기가 50-200 μm 로 증가한다. 한편 hypnospore는 염분 20-30 %의 호기성 해수에 놓이게 되면 hypnospore 내에서 세포 분열을 통하여 한 쌍의 편모를 갖는 유주자 (zoospore)로 발전한다. 유주자는 hypnospore 내에서 이분법으로 분열을 거듭하며 최종적으로 hypnospore 표면에 형성된 관 (tube)을 통하여 해수 중으로 방출된다.

*Perkinsus*의 분류학적 위치는 아직까지 논란의 대상이 되고 있다. 1950년 Mackin, Owen 및 Collier에 의하여 *Dermocystidium marinum* (후에 *Perkinsus marinus*로 재 명명됨)이 최초의 *Perkinsus* 종으로 보고될 당시 *Perkinsus*는 균류 (fungus)로 분류되었다 (Ray, 1952, 1954). 이는 hypnospore 형성과정 및 trophozoite에서 발견되는 대형 eccentric vacuole (vacuoplast 포함) 등에 근거한 분류였다. 그 후 *Dermocystidium marinum*은 *Labyrinthomyxa marina*로 다시 이름이 바뀌었는데, 그 이유는 배양액 내에 점액성 track을 형성하는 특성이 이 종을 새로운 속으로 분리하여 명명하기에 충분하다고 생각한데서 기인한 것이었다 (Mackin and Ray, 1966). 1967년 Perkins는 *D. marinum*을 전자현미경으로 관찰한 결과 발생과정 중 pinocytic structure를 발견하였으며 이를 apicomplexan 원생동물의 “micropore”와 비교하여 설명하였다. Perkins (1976)는 *D. marinum*가 apicomplexan 원생동물에서 공통적으로 관찰되는 “subpellicular Fig. 2. membrane,” “micropore” 및 “conoid” (Fig. 3) 등을 포함하므로 이 종을 균류에서

분리하여 원생동물로 분류해야 한다고 주장하였다. 1978년 Levin은 Perkins의 논리적 근거를 바탕으로 Phylum Apicomplexa내에 신강, 신목, 신과 및 신속을 설정하고 *D. marium*을 현재의 *Perkinsus marinus*로 명명하였다. 한편 1981년 Lester와 Davis (1981)는 호주산 전복, *H. rubra*에서 Perkinsus를 발견하여 이를 *P. olsoni*로 명명, 보고하였다. 1989년 Azevedo는 지중해산 바지락, *R. decussatus*의 아가미에 집중적으로 관찰되는 원생동물 기생충을 *P. atlanticus*로 명명하였으며, 1998년 Blackbourn 등은 캐나다 태평양연안에서 양식되고 있는 참가리비 (*Patinoptecten yessoensis*)에서 Perkinsus와 같은 원생동물을 발견하여 *P. qugwadi*로 보고하였다. 이들 모든 종은 공통적으로 생활사 중에 hypnospore를 형성하며 현미경적 미세 구조로 trophozoite 단계에서 eccentric vacuole이 관찰되며 운동성 유주자 (zoospore)를 형성한다. 이들 종간의 외형적인 차이점은 각기 다른 숙주를 갖으며 zoospore나 hypnospore의 크기에 있어 차이를 보일 뿐이다.

최근 들어 Perkinsus의 분류학적 위치는 기존의 원생동물에서 편조류 (Dinoflagellate)로 바뀌어야 한다는 학설이 강력히 제기되고 있다. Siddall 등 (1997)은 *P. marinus*의 외형적 특성과 18S-like rDNA 및 actin 염기서열을 토대로 Perkinsus의 분류학적 위치를 재고찰 한 바 있다. 이들은 Perkinsus가 주장한 소위 conoid 구조는 Perkinsus속에 속하는 종들에서 발견되지 않는다고 주장하였으며 18S 및 actin의 염기서열을 분석한 결과 *P. marinus*는 apicomplexan 원생동물 보다는 편조류 (dinoflagellate)에 분류학적으로 더 가깝다고 보고하였다. Cavalier-Smith (1999)는 원생동물계 (kingdom)를 13개의 문 (phylum)으로 재정립하면서 과거 Phylum Apicomplexa에 속하였던 Perkinsus를 Phylum Dinozoa로 옮겼다 (Table 1). 그러나 Cavalier-Smith의 Perkinsus에 관한 새로운 분류체계는 아직 광범위하게 받아들여지지 않고 있으며 Perkinsus가 원생동물에 속해야 하는지 아니면 편조류에 속해야 하는지의 여부는 계속 연구가 진행 중에 있다.

우리 나라 바지락에서 출현하고 있는 *Perkinsus* sp는 hypnospore의 크기, 유주자의 크기 및 mtDNA 서열 등을 분석한 결과 일본 히로시마 및 구마모토 등지에서 출현 보고된 *Perkinsus* sp (Hamaguchi

Table 1. Phylogenetic position of *Perkinsus* according to Cavalier-Smith (1999).

Kingdom Protozoa
Subkingdom Neozoa
Infrakingdom Alveolata Cavalier-Smith 1994
Superphylum Miozoa Cavalier-Smith 1987
Phylum Dinozoa
Subphylum Protalveolata
e.g. <i>Colponema</i> , <i>Ellobiopsis</i> , <i>Colpodella</i> , <i>Perkinsus</i>

et al., 1998)과 매우 유사한 종으로 판단된다. 특히 우리 나라 바지락에서 출현하고 있는 *Perkinsus* sp의 hypnospore, zoospore formation 과정 및 zoospore의 크기 등은 지중해 연안에 서식하고 있는 바지락에서 보고된 *P. atlanticus*와 흡사하여 두 종은 분류학적으로 매우 가까운 것으로 판단되고 있다 (Fig. 4).

Perkinsus의 진단

Perkinsus를 진단하는 방법으로는 1) Ray (1966)의 Fluid Thioglycollate Medium 배양법 (RFTM), 2) 광학 또는 전자현미경을 이용한 감염조직의 관찰방법 (Perkins, 1996; Azevedo, 1989) 3) 항 Perkinsus 특정단백질 항체를 이용한 면역학적 진단방법 (Choi et al., 1991; Dungan and Roberson, 1993) 및 4) PCR에 의한 분자생물학적 진단법 (Marsh et al., 1995; Robledo et al., 1998)등을 들 수 있다. 이러한 진단 방법 중, 가장 널리 이용되고 있는 방법은 RFTM 방법이다. 이 방법은 시료를 FTM에서 배양하여 *Perkinsus*를 hypnospore 단계로 유도 함으로써 그 크기를 증폭시키고 다당류로 형성된 hypnospore의 특성을 이용하여 Lugol's iodine으로 염색한 뒤, 현미경 하에서 관찰하는 것이다. 일반적으로 시료는 FTM에 투입된 뒤, 암실에서 약 1주일간 배양하게 된다. 이 때 배양기간 중 박테리아의 번식을 억제하기 위하여 Nystatin과 Chloramphenicol 등의 항생제를 배양액에 첨가한다.

*P. marinus*의 경우 Perkinsus의 감염 정도는 prevalence (percent infection)와 Mackin (1962)이 고안한 감염지수에 의하여 감염도 (infection intensity)를 이용하여 진단하게 된다. Mackin의 감염도 지수

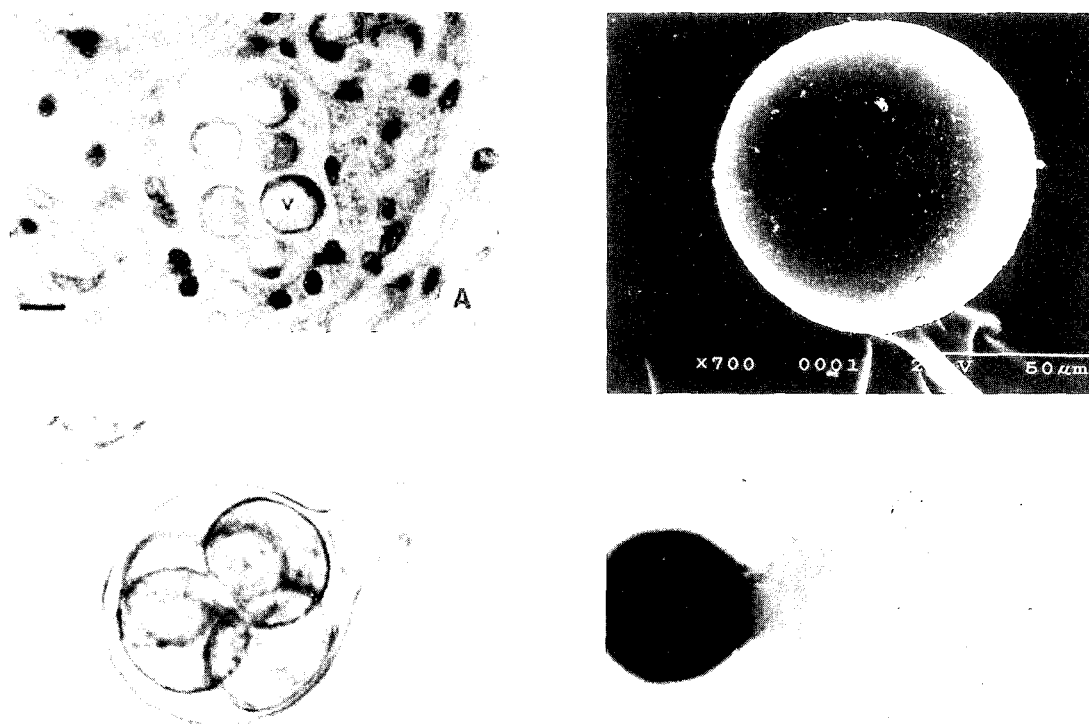


Fig. 4. *Perkinsus* sp. found in the Manila clams in Korea. Upper left, trophozoites (scale bar 10 μ m), Upper right, scanning electron microscopy image of hypnospores, Lower left, four cell stage of zoospores formed in hypnospores, Lower right, discharging zoospores from hypnospores.

는 대서양산 굴의 진단에 널리 쓰인 방법으로 진단을 위하여 굴의 외투강 1x1cm 정도를 적출하여 10ml FTM tub에서 1주일간 배양한 뒤, 감염정도를 Negative, Moderately Light, Light, Moderate, 및 Heavy 등의 단계로 등급을 계수화 하는 방법이다. Choi 등 (1989)은 이러한 Mackin의 준정량적인 방법을 개선하여 정량적인 방법을 보고하였다. Choi 등 (1989)은 FTM에서 배양된 굴 조직을 2M의 NaOH로 용해시켜 hypnospore만을 분리한 뒤, 혈구 계수판을 이용하여 hypnospore를 계수한 뒤, 감염도를 단위 무게 당 *Perkinsus*의 수로 표현하는 방법을 개발하였다. 이 방법은 *Perkinsus*의 정량적인 연구 방법으로 세계적으로 널리 쓰이고 있다 (Rodriguez 1995). 이러한 정량적인 분석 방법은 국내 바지락에서 발견된 *Perkinsus*의 진단에서도 성공적으로 이용되고 있다 (Fig. 5). Choi and Park (1997)은 우리나라 바지락에서 발견된 *Perkinsus*의 감염을 및 감

염도를 RFTM과 Choi 등 (1989)의 2M NaOH digestion method로 분석하여 보고한 바 있다 (Table 2).

Perkinsus가 연체동물에게 미치는 영향

Perkinsus 감염이 숙주에게 미치는 영향은 *P. marinus*와 대서양굴, *C. virginica*의 관계를 통하여 잘 알려져 있다. *Perkinsus*는 박테리아나 패독을 유발하는 편조류 등과 달리 감염된 굴을 식용할 경우 인체에 미치는 유독한 영향은 없는 것으로 알려져 있다 (Ray, 1954). 실제 미국의 경우 *P. marinus*에 감염된 굴에 대한 공중보건위생적 제재는 이루어지지 않고 있다. 바지락이나 전복의 경우 대서양굴과 같이 *Perkinsus*에 감염된 패류를 식용할 경우 *Perkinsus*로 인한 식중독이나 패독 등은 알려지지 않고 있다.

*Perkinsus*가 숙주에게 미치는 영향은 감염도가 높을 경우 숙주의 생리 및 신진대사를 교란 및 최종

Table 2. Results of the FTM test conducted on the five species marine bivalves. (Choi and Park, 1997)

Dates	Host Species	Locality	N	Percent infection	Perkinsus/clam	Perkinsus/g tissue
5/14/97	<i>R. philippinarum</i>	Kimnyong Cheju	30	0	0	0
5/14/97	<i>R. philippinarum</i>	Kangjin Chon-Nam	37	100	3,243,852 ± 5,783,409	695,433 ± 1,111,197
6/23/97	<i>R. philippinarum</i>	Kangjin Chon-Nam	28	61	697,321 ± 821,925	247,784 ± 301,433
6/23/97	<i>R. philippinarum</i>	Wando Chon-Nam	19	84	447,532 ± 590,218	121,179 ± 15,661
6/22/97	<i>R. philippinarum</i>	Waido Cheju	32	0	0	0
5/14/97	<i>H. irus</i>	Kimnyong Cheju	7	0	0	0
5/14/97	<i>C. chinensis</i>	Kimnyong Cheju	9	0	0	0
5/14/97	<i>S. strictus</i>	Kangjin Chon-Nam	12	0	0	0
6/23/97	<i>T. granosa</i>	Kangjin Chon-Nam	25	0	0	0

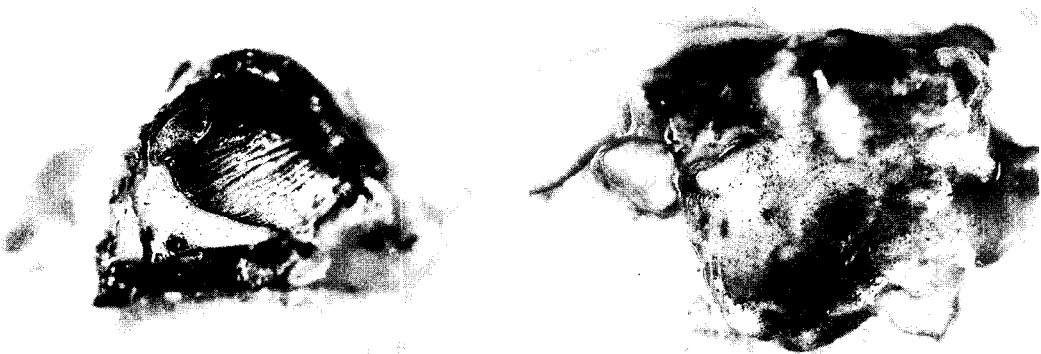


Fig. 5. *Perkinsus* sp hypnospores developed according to Ray' Fluid Thioglycollate Medium technique. Gills are completely covered with Perkinsus hypnospores which are stained as black in Rugol's iodine. Left, the Manila clam gills, right, visceral mass of the clam exhibiting Perkinsus hypnospores stained as black.

적으로 숙주의 폐사를 유발시키는 일이다 (Menzel and Hopkins, 1955; Mackin, 1962; Wilson et al., 1988). Perkinsus의 감염도가 높을 경우 대서양 굴은 성장 및 번식의 부진을 보이며, 특히 굴의 육질이 현저하게 줄어들어 현상을 보인다 (Mackin, 1962). Choi et al (1989)는 *P. marinus* 감염이 대서양굴의 에너지수지에 미치는 영향을 수치적으로 분석하여 보고한바 있다. 이들의 보고에 따르면 대서양굴의 경우 Perkinsus의 감염이 굴의 에너지 수지에 미치는 영향은 굴의 크기에 따라 다르며, 작은 굴이 큰 굴에 비하여 영향을 덜 받는 것으로 보고하였다. Choi et al (1989)은 *P. marinus*의 감염율이 Mackin (1962)의 감염도 지수가 moderate 내지 heavy 이면 굴의 순생산 (net production)의 5% 이상이 *P. marinus*에 의하여 소비되며, 이로 인하여 굴은 성장 및 번식에 쓰일 에너지, 즉 순생산이 감소하여

성장 및 번식의 저하가 발생하는 것으로 보고하였다. 이들의 보고에 의하면 작은 굴은 큰 굴에 비하여 신진대사율이 높아 Perkinsus 기생충에 의한 지속적인 에너지 소모가 일어나더라도 큰 굴에 비하여 그 피해가 상대적으로 적은 것으로 나타났다.

국내에서 발견된 *Perkinsus* sp나 지중해 바지락에서 나타나고 있는 *P. atlanticus*가 숙주에게 미치는 영향은 *P. marinus*와 유사할 것으로 예측되나 대서양 굴에 비하여 상대적으로 연구가 미진한 상태이다. 지중해의 경우 *P. atlanticus*는 바지락, *R. decussatus*의 대량폐사를 유발한 원인생물로 보고되고 있다 (Figueras, 1992). 우리 나라의 경우 현재 *Perkinsus* sp. 는 동해안을 제외한 전 연안에서 발견되고 있으며 특히 바지락양식장 부근에서는 매우 높은 감염도를 보여 바지락의 성장, 번식 및 폐사에 직 간접적으로 관련이 있는 것으로 판단된다.

참고 문헌

- 국립수산진흥원 (1999) 수생동물질병진단지침. 해양수산부 국립수산진흥원. 유니트, 부산.
- Azevedo, C (1989) *Perkinsus atlanticus*, a new species of parasite in the clam *Ruditapes decussatus* (Mollusca, Bivalvia). *Pesca Naveg.* 8-10.
- Andrews J. D (1996) History of *Perkinsus marinus*, a pathogen of oysters in Chesapeake Bay 1950-1984. *J. Shellfish Res.* 15(1): 13-16.
- Blackbourn, J., S. M. Bower & G. R. Meyer (1997) *Perkinsus qugwadi* sp.nov. (intertae sedis), a pathogenic protozoan parasite of Japanese scallops, *Patinopecten yessoensis*, cultured in British Columbia, Canada. *Can. J. Zool.* 76: 942-953.
- Cavalier-Smith, T (1999) Zooflagellate phylogeny and the systematics of protozoa. *Biol. Bull.* 196: 393-396.
- Chagot, D., M. Comps, V. Ruvano & H. Grizel (1987) Histological study of a cellular reaction in *Ruditapes decussatus* infected by a protozoan. *Aquaculture.* 67(2): 260-261.
- Choi, K. S., E. A. Wilson, D. H. Lewis, E. N. Powell, & S. M. Ray (1989) The energetic cost of *Perkinsus marinus* parasitism in oysters: Quantification of the thioglycollate method. *J. Shellfish Res.* 8: 125-131.
- Choi, K. S. & K. I. Park (1997) Report on the Occurrence of *Perkinsus* sp. In the Manila Clams, *Ruditapes philippinarum* in Korea. *Korean J. Aquacul.* 10: 227-237.
- Choi, K. S., D. H. Lewis, E. N. Powell, P. F. Frelief and S. M. Ray(1991) A polyclonal antibody developed from *Perkinsus marinus* hypnospores fails to cross react with other life stages of *P. marinus* in oyster(*Crassostrea virginica*) tissue. *J. Shellfish Res.* 10(2): 411-415.
- Dungan, C. F., and B. S. Robert (1993) Binding specificities of mono-and polyclonal antibodies to the protozoan oyster pathogen *Perkinsus marinus*. *Dis. Aquat. Org.* 15: 9-22.
- Figueras A. J., A. F. Robkeo & B. Novoa (1992) Occurrence of haplosporidian and *Perkinsus*-like infection in carpet-shell clams, *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758), of the Ria de Vigo (Galicia, NW Spain). *J. Shellfish Res.* 11: 377-382.
- Hamaguchi, M., N. Suzuki, H. Usuki & H. Ishioka (1998) *Perkinsus* Protozoan Infectious in Short-necked clam *Tapes (=Ruditapes) philippinarum* in Japan. *Fish Pathology.* 33(5): 473-480.
- Lester, R. J. G. & G. H. G. Davis (1981) A New *Perkinsus* Species (Apicomplexa, Perkinsea) From the Abalone *Haliotis ruber*. *J. Invertebr. Pathol.* 37: 181-187.
- Levine, N. D (1978) *Perkinsus* gen. n. and other new taxa in the protozoan Phylum Apicomplexa. *J. Parasitol.* 64(3): 549.
- Mackin, J. G (1962) Oyster disease caused by *Dermocystidium marinum* and other microorganisms in Luisiana. *Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Texas,* 7: 132-229.
- Mackin, J.G. & S.M. Ray (1966) The taxonomic relationships of *Dermocystidium marinum* Mackin, Owen and Collier. *J. Invert. Pathol.* 8:544-545
- Mackin, J. G., H. M. Owen & A. Colloe (1950) Preliminary note on the occurrence of a new protistan parasite, *Dermocystidium marinum* n. sp. In *Crassostrea virginica* (Gemelin). *Science.* 111: 328-329.
- Marsh, A.G., J.D. Gauthier & G.R. Vasta (1995) A semiquantitative PCR assay for accessing *Perkinsus marinus* infections in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *J. Parasitol.* 81: 577-583
- Menzel R. W. & S. H. Hopkins (1954) Effects of two parasites on the growth of oysters. *Proc. Natl. Shell Asso.* vol. 45.
- Montes, J. F., M. Durfort, & J. Garcia-Valero (1995) Cellular defense mechanism of the clam *Tapes semidecussatus* against infection by the protozoan *Perkinsus* sp. *Cell Tissue Res.*, 279: 529-538.

- Perkins, F. O (1976) Zoospores of the oyster pathogen, *Dermocystidium marinum*, I. Fine structure of the conoid and other sporozoan-like organelles. *J. Parasitol.* 62: 959-974.
- Perkins, F. O (1996) The structure of *Perkinsus marinus* (Mackin, Owen and Collier, 1950) Levine, 1978 with comments on taxonomy and phylogeny of *Perkinsus* spp. *J. Shellfish Res.* 15(1): 67-87.
- Ray, S.M (1952) A culture technique for diagnosis of infections with *Dermocystidium marinum* Mackin, Owen and Collier in oysters. *Science* 116: 360-361
- Ray, S.M (1954) Biological studies of the *Dermocystidium marinum*, a fungus parasite of oysters. Rice Institute Pamphlet Special Issue. Nov. 114 pp
- Ray, S.M. (1966) A review of the culture method for, detecting *Dermocystidium marinum*, with suggested modification and precaution. *Proc. Natl. Shellfish. Assoc.* 54: 55-59.
- Ray, S.M (1996) Historical perspective on *Perkinsus marinus* disease of oysters in the Gulf of Mexico. *J. Shellfish Res.* 15: 9-11
- Robledo, J. A. F., J. D. Gauthier, C. A. Coss, A. C. Wright, & G. R. Vasta (1998). Species-specificity and sensitivity of a PCR-based assay for *Perkinsus marinus* in the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*: A comparison with the fluid thioglycollate assay. *J. Parasitol.* 84(6): 1237-1244.
- Rodriguez, F. & J. I. Navas (1995) A comparison of gill and hemolymph assays for the thioglycollate diagnosis of *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa, Perkinsea) in clams, *Ruditapes decussatus* (L.) and *Ruditapes philippinarum* (Adams et Reeve). *Aquaculture.* 132: 145-152.
- Siddall, M. E., K. S. Reece & E. M. Burreson(1997) 'Total evidence' refutes the inclusion of *Perkinsus* species in the phylum Apicomplexa. *Parasitology.* 115: 165-175.
- Wilson, E. A., E. N. Powell, M. Alison Craig, T. L. Wade & J. M. Brooks (1990) The distribution of *Perkinsus marinus* in Gulf coast oysters: Its relationship with temperature, reproduction and pollutant body burden. *Int. Revue ges. Hydrobiol.*, 75: 533-550.