

## 양식넙치, *Paralichthys olivaceus*에서 분리된 Ciliate와 Cyst의 생활사를 갖는 스쿠티카섬모충의 생물학적 특성

진창남\* · 강현실 · 박근태 · 이제희 · 이영돈\*\* · 최우봉\*\*\* · 허문수†  
\*제주지방해양수산청, 제주대학교 해양과학부, \*\*제주대학교 해양과 환경연구소  
\*\*\*동의대학교 생명공학과/바이오물질제어학과

## Biological characteristics of Scuticociliate with a polymorphic life cycle of ciliate and cyst isolated from cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

Chang-Nam Jin\*, Hyun-Sil Kang, Geun-Tae Park, Jehee Lee, Young-Don Lee\*\*,  
Woobong Choi\*\*\* and Moon-Soo Heo†

\*Jeju Regional Maritime Affairs and Fisheries Office, Jeju, 690-704, Korea

\*\*Institute of Marine and Environmental Research, Cheju National University., Jeju, 690-756, Korea

\*\*\*Dept. of Biotechnology & Bioengineering, Donggeui University, Busan, 614-714, Korea  
Faculty of Marine Science, Cheju National University, Jeju, 690-756, Korea

Scuticociliatosis has badly settled one of most damaging diseases during the seedling production process of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in Korea. We isolated a new type of Scuticociliate from flounder. The parasite metamorphoses to ciliate and cyst phases with each other by environmental changes and survive for a relatively long span. The ciliate was measured average 41.8  $\mu\text{m}$  in length and 21.0  $\mu\text{m}$  in width, and cyst was 17.0  $\mu\text{m}$  and 13.5  $\mu\text{m}$ , respectively. Nutritional condition was determined as a major parameter of metamorphosing between ciliate and cyst stages. The ciliate transforms to a cyst stage because of food shortage, and the cyst returns to a ciliate stage with a favorite environmental condition and shows active growth and reproduction.

The ciliate multiplied at the maximal density of  $2.9 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$  cells *in vitro* cultivation at 15 °C temperature using MS BHI medium and bacterial food sources. The ciliate could be proliferated at a 2.5 to 30 °C temperature range, pH 6 to 9, and 1 to 55 ppt salinity. Particularly, it survived over one week at 0 °C temperature showing a high resistance against unfavorable environmental conditions. And the cyst survived for 320 days in the condition of 5 °C with no feeding, but its survival period was markedly shortened in higher temperature conditions.

The chemotherapeutants (formalin and hydrogen peroxide) were clarified as effective chemicals against the ciliate during *in vitro* trials, but the effect of therapeutants differed in proportion, depending upon the density and the bathing time of chemical compounds.

*Key words* : Polymorphic life cycle, Scuticociliate, Ciliate stage, Cyst stage, *Paralichthys olivaceus*.

스쿠티카충은 다양한 어종에 감염되어 피해를 입히고 있으며 (Cheung *et al.*, 1980; Munday *et*

*al.*, 1997) 주로 육상수조에서 양식하는 유럽의 터봇 (Dragesco *et al.*, 2000; Iglesias *et al.*, 2001),

†Corresponding Author : Moon-Soo Heo. Tel : 064-754-3473,  
Fax : 064-756-3493, E-mail : msheo@cheju.ac.kr

한국과 일본의 넙치 (Ototake and Matsusato, 1986; Mizuno, 1993; Lee *et al.*, 2001)에 많이 감염되고 있다. 최근 국내 넙치양식장이 증가하면서 스쿠티카충도 확산추세를 보이고 있으며 그 피해도 증가하고 있다 (Lee *et al.*, 2001; Jin *et al.*, 2003). 특히 치어기에 스쿠티카충이 감염될 경우 아가미와 체표뿐만 아니라 안구, 뇌, 내부장기 등에 침투하므로 양식현장에서 가장 어려움을 겪는 질병의 하나이다 (Mizuno, 1993; Lee *et al.*, 2001; Jin *et al.*, 2003). 특히 육상수조식 양식장에서 스쿠티카충이 많이 발병되는 것은 수조의 좁은 공간과 유기물이 침적되는 수조저면의 환경, 저면에 착저하여 서식하는 넙치의 생리 등에 기인하는 것으로 보인다. 양식넙치에 감염되는 스쿠티카충은 *Pseudocohnilembus persalinus*, *Uronema marinum*, *Philasterides dicentrarchi* 등이 보고되고 있으며 (Jee *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2004), 일반적으로 양식현장에서는 다양한 특징을 보이는 스쿠티카충 들이 관찰되고 있다. 본 연구에서는 제주지역의 넙치양식장에서 현재까지 보고된 넙치 감염 스쿠티카충과 뚜렷하게 구별되는 형태적 특징을 나타내는, ciliate 와 cyst stage를 갖는 스쿠티카충을 분리하였다. 이 새로운 type의 섬모충에 대한 형태학적, 생물학적 특성을 조사하고 화합물에 의한 *in vitro* 구제 시험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 스쿠티카충의 분리 및 배양

제주도 북제주군 소재 육상양식장에서 스쿠티카충 감염증상을 보이는 넙치의 아가미에서 스쿠티카충을 분리하여 세균을 먹이로 배양하면서 생육상태를 관찰하였다. 배양배지는 Provasoli 등 (1957)의 Millport S 용액을 기본으로 하였는데, 증류수 100 ml 당 NaCl 1.5 g, MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 0.25 g, KCl 0.04 g, CaSO<sub>4</sub> 0.012 g에 brain heart infusion (BHI) 배지 (Merk) 0.1%를 첨가하여 Millport S BHI (MS BHI)배지를 제작하였다 (pH 7.2). 제작

된 MS BHI배지를 cell culture flask에 20 ml 분주하고 분리된 스쿠티카충을 3.0 × 10<sup>3</sup> cell ml<sup>-1</sup> 농도로 접종하여 균을 먹이로 하여 15 °C에서 충이 증식되는 과정을 조사하였다. 충의 먹이 균은 넙치 피부에서 분리한 비브리오균 (*Vibrio lentus*)을 1.0 × 10<sup>8</sup> CFU의 농도로 접종하였다.

### 스쿠티카충 및 먹이 세균의 계수

배양과정의 스쿠티카충 계수는 배양배지 6 μl를 pipetting하여 counting chamber 위에 떨어뜨리고 glutaraldehyde 1% 용액을 소량 첨가하여 충을 고정된 후 커버글래스 (18 × 18 mm)로 덮고 광학현미경 (Olympus BX 50, × 100)으로 계수하였다. 스쿠티카충의 먹이로 접종한 균의 변화는 brain heart infusion agar (BHIA)배지를 이용하여 일반적인 생균수 측정법에 의하여 측정하였다.

### 스쿠티카충의 형태적 특징

분리된 스쿠티카충의 형태학적 관찰은 상기의 방법으로 섬모충을 배양하면서 ciliate stage와 cyst stage의 크기를 현미경 (Olympus BX 50, × 400)으로 측정하였다. ciliate의 크기는 MS BHI 배지에 충을 접종시킨 후 지수증식기 직전의 크기와 지수증식기 이후의 총체 크기를 각각 측정하였다. 측정 방법은 counting chamber에 배양액을 10 μl 떨어뜨린 다음 glutaraldehyde 1% 용액을 소량 첨가하여 충을 고정시킨 후 광학현미경에서 길이와 폭을 측정하였다. cyst의 크기는 ciliate에서 cyst로 변태된 직후 counting chamber에서 측정하였다.

### Ciliate와 Cyst의 변태 실험

ciliate 배양과정에서 먹이의 영향에 따른 변태 여부를 확인하기 위해 실험구와 대조구를 각각 Ø 50 mm petri dish에 멸균 지하해수 5 ml씩 분주하고 먹이로 *V. luntus* 균을 1.0 × 10<sup>8</sup> cell ml<sup>-1</sup> 농도로, 스쿠티카충은 3.0 × 10<sup>3</sup> cell ml<sup>-1</sup> 농도로 각각 접종하였다. 배양중 실험구는 세균을 추가로 공

급하지 않았고, 대조구는 2일에 한번씩 지속적으로 세균을 공급하여 ml 당  $10^8$  cell 이상의 농도가 되도록 하였다. 이와 같은 조건에서 20일간 배양하면서 실험구와 대조구의 ciliate stage에서 cyst stage로 변태되는 과정을 관찰하였다. cyst stage에서 ciliate stage로 변태되는 과정은, 실험구 1은 Ø 50 mm petri dish에 멸균 지하해수를 5 ml 넣고, 멸균해수로 5회 washing한 cyst를 소량 접종하고 먹이로 *V. lentus* 균을  $1.0 \times 10^8$  cell ml<sup>-1</sup> 농도로 접종하였다. 실험구 2는 실험구 1과 같은 조건에서 먹이로 균 대신 넙치 뇌를 ml 당 2 mg의 비율로 마쇄하여 투여했다. 대조구는 실험구와 같은 조건이나 먹이를 투여하지 않았으며, 15 °C에서 시간이 경과함에 따라 cyst stage에서 ciliate stage로 변태되는 과정을 관찰하였다.

**환경조건에 따른 스쿠티카충의 생육**

배양조건에 따른 스쿠티카충의 생육상태를 파악하기 위해 온도, pH 및 염분농도별 생육상태를 조사하였다. 온도별 생육은 BHI 0.1% 첨가된 멸균지하해수를 기본배지 (SW BHI)로 하여 *V.*

*lentus* 균을  $1.0 \times 10^8$  cell ml<sup>-1</sup> 농도로, 섬모충은  $1.0 \times 10^3$  cell ml<sup>-1</sup> 농도로 각각 접종하여 -2.5, 0, 2.5, 5, 10, 25, 30, 32.5, 35 °C에서 배양하면서 생육상태를 관찰하였다.

cyst의 온도별 생존기간을 확인하기 위하여 변태 직후의 cyst를 멸균해수에 5회 washing 한 후 멸균해수 5 ml를 채운 Ø 50 mm petri dish에 소량 분주하고 5, 10, 15, 20, 25 °C의 배양기에 수용하여 5일 단위로 현미경으로 생존상태를 관찰하였다.

pH에 따른 생육상태는 온도별 생육실험과 같은 조건에서 초발 pH를 5, 6, 7, 8, 9, 10으로 조절한 다음 15 °C에서 생육상태를 관찰하였다.

염분 농도에 따른 생육상태는 MS BHI 배지를 기본으로 NaCl을 0, 1, 5, 10, 45, 50, 55, 60 ppt 농도로 첨가한 후 섬모충의 온도별 생육시험과 같은 조건에서 생육상태를 관찰하였다.

**화합물을 이용한 In Vitro 구제**

배양된 스쿠티카충을 종류별로 포르말린 (Merk 사)과 과산화수소 (Merk 사)를 각각 50,

**Table 1.** Scoring system for appraising the effects of various compounds on motility and morphology of Scuticociliates (Novotny *et al.*, 1996; Crosbie & Munday, 1999)

Score	Interpretation
<b>Morphology</b>	
4	No change; cells elliptical.
3	Less than 50% of cells round or irregular shape.
2	Approximately 50% of cells round or irregular shape.
1	More than 50% of cells round or irregular and lysis evident.
0	Extensive lysis with few cells intact.
<b>Motility</b>	
4	No effect; motility normal
3	Motility slowed in more than 50% of ciliates
2	Approximately 50% of ciliates stationary, but cilia still beating
1	More than 50% of ciliates stationary and cilia still beating
0	No sign of motility or cilia movement

100, 150, 200, 300 ppm 농도로 희석하고 여기에 충을 접종시켜 180분 동안 30분 단위로 충의 형태와 운동성을 관찰하였다.

약육방법은 Ø 87 mm petri dish에 멸균 지하해수와 화합물을 희석한 용액 20 ml를 분주한 후 스쿠티카충을  $5 \times 10^3$  ml<sup>-1</sup> 농도로 접종하였다. 구제실험에 이용된 충은 SW BHI 배지에서 *V. lentus* 균을 먹이로 투여하여 배양하였다. 약육 처리는 20 °C에서 실시하였는데, 농도별 시간 경과에 따른 충의 형태와 운동성의 변화는 Novotny 등 (1996)과 Crosbie와 Munday (1999)의 측정 방법에 따라 구분하였다 (Table 1).

### 결 과

#### 스쿠티카충의 분리 및 배양

스쿠티카충에 감염된 양식넙치는 전장 21~25 cm 크기로 스쿠티카충 증상인 체색흑화와 심한 아가미 빈혈증상을 보였으며, 아가미에 다량의 스쿠티카충이 감염된 상태였다. 감염된 스쿠티카충을 분리한 후 세균을 먹이로 배양했는데 다른 스쿠티카충과 마찬가지로 2분법에 의해 분열하며 증식하였다. 접종 후 세균을 먹이로 활발히

증식하여 전형적인 포식자와 피포식자의 관계를 나타냈는데, 3일 만에 약 97배로 증식하여  $2.9 \times 10^5$  cell ml<sup>-1</sup>로 최고 밀도에 도달하였다. 그 후 서서히 감소하여 25일 경에는  $8.8 \times 10^3$  cell ml<sup>-1</sup>로 감소하였다 (Fig. 1). 이 기간 동안 ciliate 감소는 충의 사망에 의한 경우도 있으나 그보다는 먹이 균 감소 ( $10^7$  cell ml<sup>-1</sup> 이하)에 따라 ciliate stage에서 cyst stage로 변태가 주 원인이었다. 30일경에는 cyst가 다시 ciliate로 재변태 함으로써 ciliate가 증가하기 시작하여 35일 쯤에  $3.2 \times 10^4$  cell ml<sup>-1</sup>로 두 번째 작은 pick를 보였다. 두 번째 증가시기에는 섬모충의 분열은 관찰되지 않았

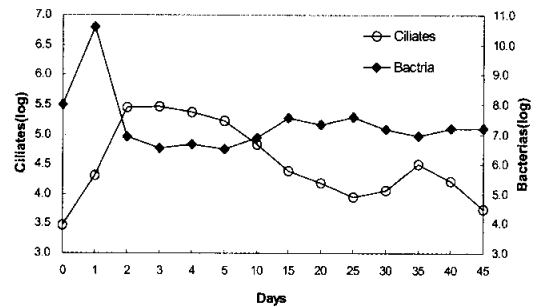


Fig. 1. Growth curves for the ciliates and bacteria incubated in MS BHI medium at 15 °C

Table 2. Morphological characteristics of Scuticociliates.

		Means	Max.	Min.	SD	n
Just before exponential phase	length	41.8	52.5	30.0	4.92	47
	width	21.0	27.3	16.3	2.84	47
Just after exponential phase	length	35.9	41.3	30.5	2.32	45
	width	14.6	17.8	12.0	1.43	45
Impossible size for metamorphosis cyst	length	20.1	25.3	15.0	2.51	37
	width	8.0	10.1	6.0	1.00	37
Cyst	length	17.0	20.3	15.0	1.38	34
	width	13.7	16.5	11.8	1.26	34
Caudal cilium of the ciliate	length	14.3	15.5	13.0	0.79	10

\* All measurements in μm.

으며 cyst가 ciliate로 재변태하여 일시적으로 ciliate의 개체수가 증가하였다. 두 번째 작은 pick 이후 섬모충들이 급격히 폐사하였는데, 이 때는 ciliate stage에서 cyst stage로 변태하지 못하고 cell 축소, 활력저하, cell 구형화, lysis 단계를 거치며 폐사하였다.

**형태적 특징**

Ciliate stage의 크기는 영양상태에 따라 변화가 많았다. 영양상태가 충분하여 지수증식이 이루어지기 직전에는 길이 41.8  $\mu\text{m}$  (52.5~30.0

$\mu\text{m}$ ), 폭 21.0  $\mu\text{m}$  (27.3~16.3  $\mu\text{m}$ )이나 지수 증식이 이루어진 직후에는 길이 35.9  $\mu\text{m}$  (41.3~30.5  $\mu\text{m}$ ), 폭 14.6  $\mu\text{m}$  (17.8~12.0  $\mu\text{m}$ ) 축소 되었는데 길이보다는 폭이 더 많이 축소되었다. 배양중 cyst stage에서 ciliate stage로 변태 후 지속적인 영양공급을 받지 못할 경우 다시 cyst로 변태하지 못하고 폐사하였는데, 이렇게 cyst로 변태하지 못하는 ciliate의 크기는 길이 20.1  $\mu\text{m}$  (25.3~15.0  $\mu\text{m}$ ), 폭 8.0  $\mu\text{m}$  (10.1~6.0  $\mu\text{m}$ )이었다 (Table 2, Fig. 2). Cyst stage에는 개체 간 차이가 적었는데 cyst의 평균 길이 17.0  $\mu\text{m}$  (20.3~15.0  $\mu\text{m}$ ), 폭

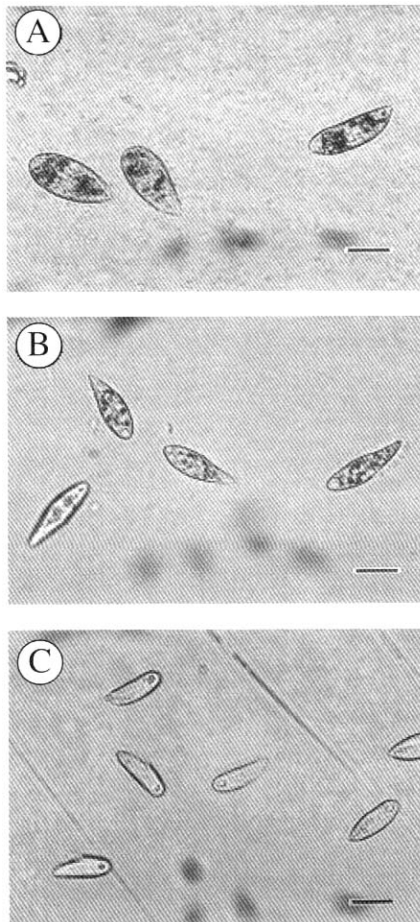


Fig. 2. External feature of isolated ciliates. A; Just before the entered Scuticociliates exponential phase. B; Just after the entered Scuticociliates exponential phase. C; Impossible size for metamorphosis from ciliate stage to cyst stage. Scale bar = 25  $\mu\text{m}$ .

**Table 3.** Effect of temperature, pH and NaCl concentration on the growth of a ciliates isolated from cultured olive flounder.

Temp. (°C)	
-2.5	-
0	++
2.5	+++
5	+++
25	+++
30	+++
32.5	+
35	-
pH	
5	-
6	+++
7	+++
8	+++
9	+++
10	-
Salinity (ppt)	
0	-
1	+++
5	+++
10	+++
50	+++
55	+++
60	-

+++; growth, ++; No effect, +; decrease, -; cell lysis.

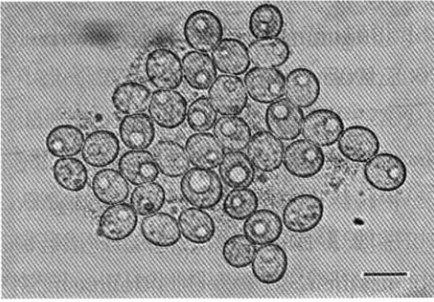


Fig. 3. External feature of cysts. Scale bar = 25  $\mu\text{m}$ .

13.7  $\mu\text{m}$  (16.5~11.8  $\mu\text{m}$ )로 ciliate stage보다 둥근 형태를 보였다 (Table 2, Fig. 3). 일단 cyst로 변태하면 운동성을 상실하고, 체표에 점성을 가진 막을 형성하여 기질이나 다른 cyst에 쉽게 부착하였으며 섬모나 꼬리섬모는 막으로 쌓여 관찰할 수 없었다.

#### Ciliate와 Cyst의 변태

Ciliate에서 cyst로 변태는 먹이 균을 추가로

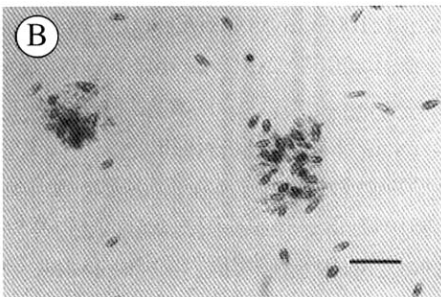
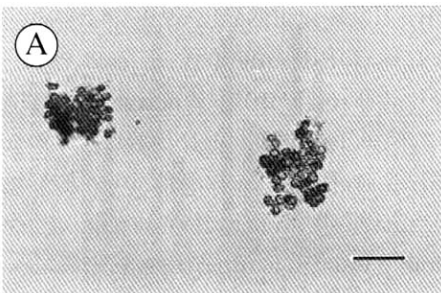


Fig. 4. Just after giving bacterial feed sources (A) and 6 hours after giving bacterial feed sources (B). Scale bar = 100  $\mu\text{m}$ .

투여하지 않은 실험구에서는 처음 투여된 먹이 균을 섭취한 후 6일 경부터 cyst로 변태되기 시작해서 20일 후에는 대부분이 cyst로 변태되었다. 그러나 먹이 균을 지속적으로 공급해준 대조구에서는 20일 동안 대부분의 층이 ciliate stage를 유지하였다.

Cyst에서 ciliate로 변태과정은 cyst에 먹이 균 (*V. lentus*)을 투여해준 1 실험구에서는 3 시간 만에 약 60% 정도가 ciliate로 변태하였으며 6시간 후에는 대부분이 ciliate로 변태하였다 (Fig. 4). Cyst에 넘치의 뇌 조직을 투여해준 2실험구인 경우도 7~8 시간 만에 대부분이 ciliate로 변태하여 세균을 먹이로 투여했을 경우와 큰 차이가 없었다. 그러나 먹이를 투여하지 않은 대조구에서는 변태가 이루어지지 않아 ciliate와 cyst의 변태원인은 먹이의 양에 따라 이루어짐을 확인할 수 있었다.

Ciliate에서 cyst로 변태되는 과정은, 처음에는 ciliate가 구형화되고 섬모운동은 활발하여 운동력을 유지하다가 점차 섬모운동력 약화, 수축포 확장의 단계를 거치면서 완전히 운동력을 상실하고 구형화, cyst 막 형성의 과정을 거쳐 cyst로 변태하였다. Cyst에서 ciliate로 변태되는 과정은, cyst의 윗부분이 유연해 지고, 유연해진 부분이 활발히 좌우로 운동하면서 점차 몸 전체로 운동능력을 확장시켜 ciliate로 변태하였다. Cyst의 폐사과정은 cyst 상태에서 일정시간이 경과하면 cyst가 축소되면서 cyst 막과 유리된 후 lysis 되

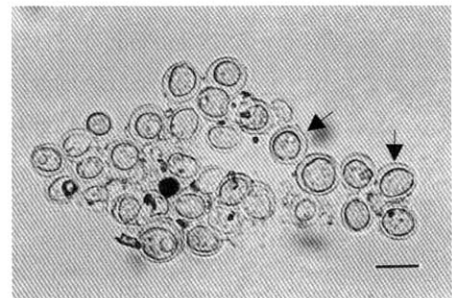


Fig. 5. The cysts which lysis is becoming. Arrow: a membrane of cyst. Scale bar = 25  $\mu\text{m}$ .

었다 (Fig. 5).

**환경조건에 따른 수쿠티카충의 생육**

온도, pH, 수온별 생육시험 결과는 Table 3과 같다. 분리된 스쿠티카충의 온도별 생육 시험결과 매우 광범위한 온도에 적응하였는데 2.5~30 °C 범위에서 증식이 이루어졌으며, 0 °C에서도 1주일 이상 생존이 가능하였다. 32.5 °C에서 감소하였으며 -2.5 °C와 35 °C에서는 폐사하였다. Cyst의 온도별 생존은 수온이 낮을수록 장기간 생존했는데 25 °C에서 35일간 생존하였으나 5 °C에서는

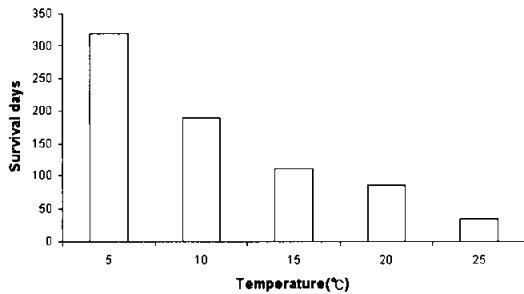


Fig. 6. Survival days of the cysts in different temperature.

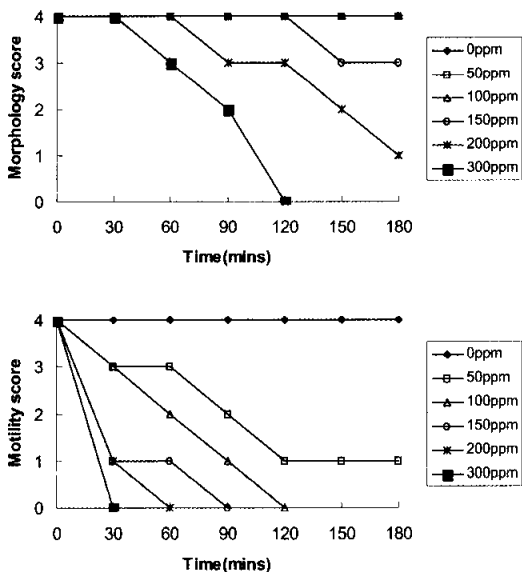


Fig. 7. Observed effects of a range of concentrations of formalin of morphology and motility.

320일 정도 장기간 생존이 가능하였다 (Fig. 6).

pH는 6~9까지 생존 및 증식을 하였으나 pH 5, 10에서는 접종 직후 폐사하였다.

염분농도별 생육은 1에서 55 ppt까지 매우 넓은 범위에서 생존 및 증식이 이루어 졌으며 60 ppt에서는 생존할 수 없었다. 그러나 1, 2.5 ppt의 염분 농도에서는 일시적으로 증식이 이루어지나 1 ppt에서 접종 후 5일 만에, 2.5 ppt에서 9일 후 각각 cell이 구형화 되면서 폐사하였다. 또한 1, 2.5 ppt에서는 cyst stage로 변태도 이루어지지 않았다.

**화합물을 이용한 In vitro 구제**

포르말린 약육에 따른 형태적 변화는 300 ppm에서 120분 만에 대부분 cell lysis 되었으며 200 ppm에서는 180분 만에 50% 이상 cell 변형이 나타났다. 150 ppm에서는 180분 경과후 50% 이하 개체에서 cell 변형이 나타났으며, 100 ppm 이하의 농도에서는 변화가 없었다. 운동성 변화는 300 ppm에서 30분, 200 ppm에서 60분 만에 운동성을 완전히 상실하였는데, 결과적으로 200

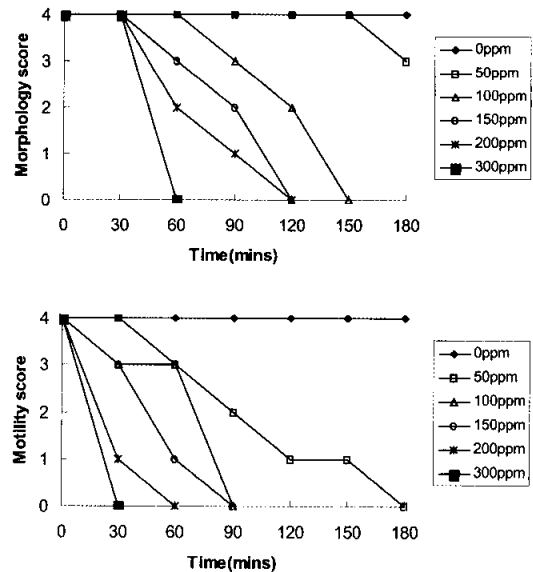


Fig. 8. Observed effects of a range of concentrations of hydrogen peroxide of morphology and motility.

ppm 이상에서는 60분, 150 ppm에서는 90분 약육으로 구제효과를 볼 수 있는 것으로 나타났다 (Fig. 7).

과산화수소 약육 처리결과 형태적 변화는 300 ppm에서 60분, 150~200 ppm에서 120분 만에 대부분 cell lysis되었다. 운동성은 200 ppm에서 60분 이내에, 150 ppm에서 90분 만에, 100 ppm에서 120분만에 각각 운동성을 완전히 상실하여 구제효과가 있었다 (Fig. 8).

## 고 찰

넙치에서 분리된 본 스쿠티카충은 세균을 먹이로 하여 활발히 증식하였는데 먹이가 되는 세균의 농도가  $10^8$  cell  $ml^{-1}$  이상에서 지수증식이 이루어졌다. 배양초기에는 접종한 배양균 *V. lentus*만 검출되었으나 4~6일이 경과하면서 다른 세균도 증식을 하였다. 이는 충을 분리할 때 감염된 균으로 추정되는데 Crosbie and Munday (1999)의 세균을 먹이로 한 *Uronema nigricans* 배양시험과 비슷한 양상을 보였다. 배양중 먹이로 접종한 *V. lentus* 균 양이 줄어든 후 급격히 ciliate에서 cyst로 변태하거나 폐사하는 것으로 보아 먹이 균의 종류에 따라 생육이 달라지는 것으로 보인다. Yoshinaga and Nakazoe (1993, 1997), Lee and Ha (1997)는 넙치에 감염된 스쿠티카충을 분리하여 Millport S 용액에 proteose peptone 과 yeast extract를 첨가한 배지 (PY 배지)에서 최고  $10^4$   $ml^{-1}$  정도의 밀도로 배양하였다. 본 연구에서 분리된 섬모충은 먹이 균을 같이 배양할 경우에는 활발히 지수증식을 하였으나 항생제를 이용하여 먹이 균 증식을 억제했을 경우는 증식되지 않았다. 따라서 본 충은 proteose peptone 과 yeast extract를 먹이로 한 생육은 불가능하여 Yoshinaga 등의 proteose peptone 과 yeast extract를 먹이로 한 배양과는 차이가 있었다. Crosbie and Munday(1999)는 *U. nigricans*를 세균 (*Vibro anguillarum*)을 먹이로  $10^5$  cell  $ml^{-1}$  미만으로 배양 하였는데, 배양 조건이 다소 다르다는

점을 감안 하더라도 본 섬모충이 *Uronema* 충과는 차이가 있는 것으로 보인다.

본 섬모충의 특징은 먹이가 부족할 때 cyst로 변태하여 대사활동을 최소화 하여 오랜 시간 생존하다가 환경이 좋아지면 다시 활발히 증식하는 것으로 보인다. 균뿐만 아니라 뇌 마쇄액을 투여해도 ciliate로 변태되고 활발히 증식하는 것으로 보아 이 충은 먹이가 되는 균이나 단백질 양이 증가할 경우 이들 작용에 의해 ciliate로 변태되는 매커니즘을 갖고 있는 것으로 사료된다. Cyst stage로 변태 후 cyst는 운동성을 완전히 상실하고 안전한 상태를 유지하였는데, 이는 cyst 표면에 생기는 점액막이 기질에 부착하는 역할뿐만 아니라 cyst 보호 역할도 하기 때문인 것으로 추정된다. 먹이가 없는 상태에서는 cyst로 변태후 15 °C에서 110일 정도 장기간 생존이 가능하였으나 세균을 먹이로 한 배양시 먹이 부족으로 cyst로 변태하여 바닥에 착저한 후 30일 이내에 ciliate로 재변태하는 것은 배양용기의 바닥 환경과 관계가 있는 것으로 보인다. 배양용기의 바닥은 배지나 여러 가지 대사산물이 침적되어 세균이 지속적으로 증식되므로 증식된 균의 영양으로 다시 ciliate로 변태되는 것으로 추정된다. 그러나 ciliate로 변태되더라도 배양액에 먹이가 충분치 못하여 영양을 섭취하지 못했을 경우는 cyst로 재변태하지 못하고 cell 축소 및 폐사로 이어졌다. 이 때의 크기는 영양이 충분한 시기에 비해 길이는 절반, 폭은 3분의 1 수준으로, 이 크기 이하에서는 재 변태가 이루어지지 않았다. 따라서 변태에는 일정량의 영양 또는 에너지가 소요되며 이와 같은 조건을 갖추지 못할 경우는 변태하지 못하며, 먹이가 없을 경우 기아로 인해 폐사하는 것으로 보인다. 저염분이나 고온 등 환경이 열악한 경우 cell 구형화 및 lysis되었는데 이때의 구형화된 ciliate는 cyst와 비슷한 구형이나, 섬모가 관찰되며 폐사할 때까지 섬모 운동을 하고 막을 형성하지 않는 등 cyst와는 확연히 구분되었다.

Perea-uz and Guinea (2001)는 일본의 Mie 현



Gokasho 만의 파래 조각에서 분리한 polymorphic life cycle을 가지는 스쿠티카충을 분리하고, *Cryptochilum* 충과 *Uronema* 충의 형태적 특성을 갖는 *Urocryptum tortum*으로 명명하였다. *U. tortum*은 ciliate기, 지수증식기, 정지기, cyst기의 life cycle을 가지며 지수증식기의 크기가 길이 40.7, 폭 23.2  $\mu\text{m}$ 로 본 연구에서 분리된 충과 비슷한 크기이나 cyst의 크기는 길이 24.2, 폭 19.9  $\mu\text{m}$ 로 본 섬모충에 비해 컸다. 본 섬모충은 독특한 다생활사 및 형태적인 특성 등을 감안 하면 *U. tortum*과 같은 속일 가능성이 큰 것으로 보이며, 동일종일 가능성도 있는 것으로 추정되나 형태적, 유전적 검사가 필요한 것으로 보인다.

환경에 대한 생육실험 결과 0  $^{\circ}\text{C}$ 에서도 생존이 가능하며 2.5~30  $^{\circ}\text{C}$ , 염분농도 1~55 ppt 범위에서 증식을 하여 지금까지 보고된 다른 스쿠티카충에 비해 환경에 대한 적응력이 현저히 높았다. 따라서 이 충은 자연 해양계에 광범위하게 분포가 가능한 것으로 보인다. 또한 환경에 대한 높은 적응력은 이 충이 조건성 기생충이기는 하나 해양계에 독자적으로 잘 적응하는 비기생성 섬모충에 가깝다는 것을 시사해 주는 것으로 보인다.

Crosbie and Munday (1999)는 *Uronema nigricans*의 화합물을 이용한 구제실험에서 포르말린은 200 ppm에 30분, 100 ppm 1시간 이내에, 과산화수소는 250 ppm에 30분 이내에 구제효과가 있었다고 보고했는데 이 결과와 비교해 볼 때 본 연구에서 분리된 충은 화합물에 대한 적응력이 *U. nigricans*보다는 강한 것으로 나타났다.

## 요 약

2003년 북제주 지역의 육상양식장에서 양식 중인 넙치에서 새로운 타입의 스쿠티카섬모충을 분리하였다. 이 충은 환경에 따라 ciliate와 cyst로 변태하며 장기간 생존하였는데, ciliate stage의 크기는 영양상태가 양호한 시기 기준 평균 길이 41.8, 폭 21.0  $\mu\text{m}$  이었으며, cyst stage는

평균 길이 17.0  $\mu\text{m}$ , 폭 13.5  $\mu\text{m}$  이었다. 변태하는 주 원인은 먹이 양이었다. 먹이가 부족하면 cyst로 변태하여 장기간 생존이 가능하며, 먹이가 풍부해지면 ciliate로 재변태하여 활발히 증식하였다. *In vitro* 배양시험 결과 MS BHI 배지에서 비브리오균 (*V. lentus*)을 먹이로 하여 15  $^{\circ}\text{C}$ 에서 최고  $2.9 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 의 고밀도로 배양되었다.

환경에 대한 적응시험 결과 ciliate는 염분농도 1~55 ppt, 온도 2.5~30  $^{\circ}\text{C}$ , pH 6~9 범위에서 증식이 가능하였다. 특히 0  $^{\circ}\text{C}$ 에서도 7일 이상 장기간 생존이 가능하여 환경에 대한 적응력이 매우 뛰어났다. cyst는 먹이가 없는 상태에서 장기간 생존이 가능하였는데, 5  $^{\circ}\text{C}$ 에서는 320일 동안 생존하였으며 온도가 높아질수록 생존기간은 짧아졌다.

화합물을 이용한 *in vitro* 구제시험에서는 포르말린과 과산화수소 모두 200 ppm/1시간 약육으로 구제효과가 있었으나 화합물의 약육농도와 시간에 따라 효과가 달랐다.

## 감사의 글

이 논문은 산업자원부와 한국산업기술재단의 지역전략산업 석·박사 연구인력 양성사업에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Cheung, P. J., Nigrelli, R. F. and Ruggieri, G. D.: Studies on the morphology of *Uronema marinum* Dujardin (Ciliata: Uronematidae) with a description of the histopathology of the infection in marine fishes. *J. Fish Dis.*, 3: 295-303, 1980.
- Crosbie, P. B. B. and Munday, B. L.: Environmental factors and chemical agents affecting the growth of the pathogenic marine ciliate *Uronema nigricans*. *Dis. Aquat. Org.*, 36: 213-219, 1999.

- Iglesias, R., Parama, A., Alvarez, M. F., Leiro, J., Fernandez, J., Sanmartin, M. L.: *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora, Scuticociliatida) as the causative agent of scuticociliatosis in farmed turbot *Scophthalmus maximus* in Galicia (NW Spain). *Dis. Aquat. Org.*, 46: 47-55, 2001.
- Jee, B. Y., Kim, Y. C. and Park, M. S.: Morphology and biology of parasite responsible for scuticociliatosis of cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Dis. Aquat. Org.*, 47: 49-55, 2001.
- Jin, C. N., Lee, C. H., Oh, S. P., Na, O. S. and Heo, M. S.: Infection Route of Scuticociliates in the Juvenile of the cultured Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.*, 16(1): 13-21, 2003.
- Jin, C. N., Lee, C. H., Oh, S. P., Jung, Y. U., Song, C. B., Lee, J. H. and Heo, M. S.: Scuticociliatosis in Flounder Farms of Jeju Island. *J. Fish Pathol.*, 16(2): 135-138, 2003.
- Kim, S. M., Lee, E. H. and Kim, K. H.: Differentiation of Three Scuticociliatosis Causing Species in Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) by Multiplex PCR. *J. Fish Pathol.*, 17(2): 145-149, 2004.
- Lee, C. H. and Ha, D. S.: Culture characteristics and division process of scuticociliata in vitro. *J. Fish Pathol.*, 10(2): 177-186, 1997.
- Lee, C. H., Kang, Y. J., Ha, D. S. and Lee, Y. D.: Occurrence and Histopathological Observation of Scuticociliatosis in the Cultured Olive Flounder, *Paralichthys Olivaceus*. *Bull. Natl. Fish. Res. Dev. Inst. Korea*, 59: 68-73, 2001.
- Mizuno, Y.: Control methods of diseased Japanese flounder, *Paralichthy olivaceus*, used in fish farm in Japan. *J. Fish Pathol.*, 6: 219-231, 1993.
- Munday, B. L., O'Donoghue, P. J., Watts, M., Rough, K. and Hawkesford, T.: Fetal encephalitis due to the scuticociliate *Uronema nigricans* in sea-cage, southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii*. *Dis. Aquat. Org.*, 30: 17-25, 1997.
- Novotny, M. J., Cawthorn, R. J. and Despres, B.: *In vitro* effects of chemotherapeutants on the lobster parasite *Anophryoides haemophila*. *Dis. Aquat. Org.*, 24: 233-237, 1996.
- Ototake, M. and Matsusato, T.: Notes on Scuticociliata infection of cultured juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *Bull. Natl. Res. Aquaculture*, 9: 65-68, 1986.
- Perez-Uz, B. and Guinea, A.: Morphology and Infraciliature of a Marine Scuticociliate with a Polymorphic Life Cycle: *Urocryptum tortum* n. gen., n. comb. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 48(3): 338-347, 2001.
- Provasoli, L., McLaughlin, J. J. A. and Droop, M. R.: The development of artificial media for marine algae. *Arch. Mikrobiol.*, 25: 392-428, 1957.
- Yoshinaga, T. and Nakazoe, J.: Effects of Light and Rotation Culture on the In vitro Growth of a Ciliate Causing the Scuticociliatosis of Japanese Flounder. *Fish Pathol.*, 32(4): 227-228, 1997.
- Yoshinaga, T. and Nakazoe, J.: Isolation and *in vitro* cultivation of an unidentified ciliate causing scuticociliatosis in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish Pathol.*, 28: 131-134, 1993.

---

Manuscript Received : November 20, 2004

Revision Accepted : March 10, 2005

Responsible Editorial Member : Myung-Joo Oh  
(Yosu Univ.)