

양식 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)의 Epitheliocystis, *Microcotyle sebastes* 및 미동정 생물체의 혼합감염

박성우[†] · 유진하 · 이경희*

군산대학교 수산생명의학과, *국립수산과학원 목포수산사무소

A mixed infection of epitheliocystis, *Microcotyle sebastes* and unknown aetiology in cultured rockfish (*Sebastes schlegeli*) from farms in Huksan Island

Sung-Woo Park[†], Jin-Ha Yu and Kyung-Hee Lee*

Department of Aquatic life Medicine, Kunsan National University, Gunsan, 573-701, Korea

*Mokpo Fisheries Office, National Fisheries R & D Institute, Mokpo, 530-831, Korea

Fifteen diseased rockfish (*Sebastes schlegeli*) were collected from 4 net-cage farms in Huksan island. Some round transparent nodules were observed on gill filaments in fish. Bacteriological and histopathological examinations on the diseased fish were performed. Any pathogenic bacteria could not be isolated from the internal tissues and histopathological alterations were not found in any of the tissues except the gills.

Rock fish were infected with epitheliocystis, *Microcotyle sebastes* and unknown aetiology on the gills. Cysts of epitheliocystis measuring 44.1-68.9 μm in diameter were mainly found in the distal portion of the gill filaments and sometimes in the middle portion. But host responses were moderate in spite of formation of the epithelial cysts.

Some *Microcotyle sebastes* captured the secondary filaments with clamps on the opisthohaptor. Attachment of the parasites provoked epithelial proliferation and resulted in gill lamellar fusion.

Cysts of unknown origins measuring 26-425 μm in diameter were found in the cartilage of gill filaments. These cysts contained eosinophilic materials and proliferation of cartilage cells was confirmed around the cysts. But there was no significant pathological changes associated with the presence of the cysts except enlargement of the gill filament with the cysts.

Key words: Rockfish, Epitheliocystis, *Microcotyle*, Mixed infection.

2007년 전남 신안군 흑산면 일대의 해상 가두리에서 양성중인 어체중 40-300 g의 조피볼락의 아가미에 백색의 결절이 형성되는 것을 특징으로 하는 질병이 발생하였다. 병어는 어군에서 이탈하여 가두리 수면 또는 중층에 힘없이 유평하였으나, 폐사개체는 발견되지 않았다. 병어를 세균학적 및 병리조직학적으로 조사한 결과 epithe-

liocystis와 *Microcotyle sebastes* 및 미동정의 병원체의 혼합감염이 확인되어 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

환경조사

질병이 발생된 흑산면 일대의 해상 가두리의

[†]Corresponding Author : Sung-Woo Park, Tel : 063-469-1884,
E-mail : psw@kunsan.ac.kr

수온, pH와 비중은 Digital Thermometer 315 (TPI, Korea), Handy pH (OxyGuard®, Denmark), S/Mill-E (ATAGO, Japan)를 제조사의 방법에 따라 각각 보정 후 측정하였다.

병어

전남 신안군 흑산면 도목리 외 4개 지역 해상 가두리에서 양식 중에 발병한 평균 체장 13.1 cm (7.6~18.5 cm), 평균 체중 170 g(40~300 g)의 조피볼락 15마리를 시료로 사용하였다. 병어는 발병 해상 가두리에서 포획하여 비닐봉지에 넣어 휴대용 기포발생기로 산소를 공급하면서 실험실로 운반한 다음 사용하였다.

세균학적 및 병리조직학적 조사

세균 검사를 위하여 70% 알콜 솜으로 어체 표면을 소독한 다음 간과 신장을 들어내어 tryptic soy agar(TSA, BD, US)에 접종하여 22°C에 24시간 배양 후 발육의 유무를 확인하였다. 병어의 아가미를 절취하여 도말표본을 만들어 무염색 표본을 검경하였다. 또 병리조직학적으로는 아가미, 신장 및 비장을 10% 중성포르말린에 고정하여 상법에 따라 파라핀에 포매 후 4 µm의 조직절편을 만들어 Mayer's hematoxylin-eosin (HE)염색 후 검경하였다.

결과 및 고찰

발병지역의 환경은 수온은 18.0~18.2°C 이었으며, 비중은 1.020~1.024, pH는 8.0~8.1범위였다.

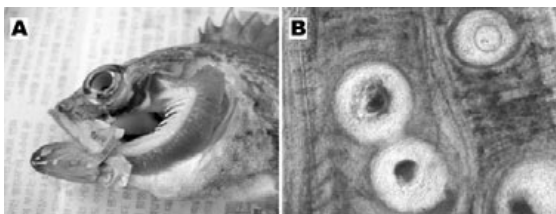


Fig. 1. A: Some white nodules and parasites on the gill filaments of diseased rock fish, B: Wet mount of the white nodules showing transparent circular lesions.

발병상황과 수온을 고려하여 보면 예년에 비해 2.6~2.8°C 낮은 경향이였다.

관찰된 15마리 병어 모두 아가미에 빈혈을 나타내었으며, 아가미 새궁에 가까운 새변에는 다수의 백색의 구조물과 기생충체가 관찰되었을 뿐 기타 외부 증상은 발견할 수 없었다(Fig. 1). 또 새변의 일부를 절취하여 검경하면 Fig. 2와 같이 단생류 다후흡반류인 *Microcotyle seabastes*가 새변에 부착하고 있었다. Alum carmine 염색 충체는 가늘고 긴 모양으로 체장은 4.7-5.2 mm였다. 충체의 전단부는 흡반상이며, 후흡반에는 2열로 배열한 동일한 크기의 파악기가 46-54개였다(Fig 3).

세균의 분리를 위한 배양에서는 원인균으로 의심되는 세균은 전혀 분리되지 않았다. 그러나 병리조직학적으로 아가미의 2차 새변의 상피에 원형의 호염기성의 epitheliocyst의 cyst가 관찰되었다(Fig. 4A). Cyst는 주로 새변의 끝부분에 형성되었지만 새변의 중간 부위에 형성되는 경우도 있었다. 그러나 2차 새변의 기부에서 형성된 경우는 거의 없었다. 새변의 중간에 cyst가 형성된 경우에는 새변이 굴곡되는 변형이 발생하였다.

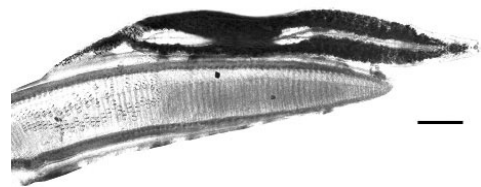


Fig. 2. Wet mount of the gill from diseased rock fish illustrating a *Microcotyle seabastes* on a gill filament. Bar indicates 0.5 mm.



Fig. 3. A monogenean parasite *Microcotyle seabastes* from gill filament of rock fish. Alum carmine stain. Bar indicates 0.5 mm.

Cyst의 내부는 호염기성의 과립상의 물질로 충만되어 있었다. Cyst의 크기는 44.1~68.9 μm 이었으며, 이보다 작은 크기를 나타내는 감염초기 단계의 Cyst는 발견되지 않았다. Cyst가 형성된 부위의 2차 새변은 상피세포의 증생으로 인한 새변의 변형 및 유착이 일어났으며, 상피에 다량의 점액세포가 관찰되었다. 특히 cyst가 2차 새변의 중간 부위에 형성된 경우, 그 새변의 기부에는 상피세포의 증생이 현저하고 또한 점액세포의 양도 정상 아가미에 비해 증가되어 있었다. 그러나 cyst형성 부위에 상관없이 아가미에서의 변화는 현저하지는 않아, 숙주반응이 미약한 것으로 판단되었다.

아가미의 epitheliocystis감염은 상피세포가 chlamydia유사 미생물의 감염에 의한 것으로 해산어와 담수어에서 발병하는 것으로 보고되었다(Fryer and Lannan, 1994; Lannan *et al.*, 1999). 감염 아가미를 도말표본을 현미경으로 검경하면 노란색 기미의 직경 20~45 μm 원형 또는 난원형의 cyst가 새변과 새변 사이에 관찰(Crespo *et al.*, 2001)되지만, 병리조직학적으로는 아가미를 제외한 다른 조직에서 이러한 cyst는 발견할 수 없다. Cyst의 크기는 Paperma(1977)가 지중해산 돝류(*Sparus aurata*)는 93~157 x 63~93 μm , 송

어류(*Liza ramada*)는 32~38 μm 이지만, 대형은 220 x 100 μm 이며, Miyazaki *et al.*(1986)은 참돔에서는 15~55 μm , 황복에서는 25~43 μm , 잉어에서는 12~50 μm 로 어종 및 epitheliocystis의 발육 단계에 따른 차이를 보이고 있다. Cyst는 무구조의 호염기성 물질로 충만되어거나, 과립성의 붕입체가 관찰되기도 한다(Crespo *et al.*, 1999). 이러한 cyst의 주변에는 상피세포의 증생에 의해 상피세포의 유착(Crespo *et al.*, 2001), cyst주변에 다층의 capsule구조물이 형성된다(Paperma, 1977; Miyazaki *et al.*, 1986; Crespo *et al.*, 1990). 그러나 이러한 capsule구조물이 감염에 의하여 형성되는 것은 아니다(Crespo *et al.*, 2001). 또한 대서양 연어의 epitheliocystis는 한층의 상피세포가 기생체를 둘러 쌓아 cyst를 형성하는 것이 전형적인 숙주반응이외는 조직 반응이 없는 경우가 대부분이다(Nowark and Clark, 1999). 그러나 cyst에 따라서는 새변의 유착, 염증세포의 침윤, 상피세포와 점액세포의 증생이 생기며 또한, 미약하나 세포가 괴사하기도 하지만 같은 개체에서도 cyst에 따라 조직 반응이 다양하다고 하였다. 이러한 숙주의 강한 조직 반응은 cyst의 노쇠화(senescence) 또는 cyst로 부터의 항원 물질의 누출(leakage of antigens)이 관계하고 있기 때문이라 주장하였다(Nowak and LaPatra, 2006).

Epitheliocystis의 원인균의 분류에 관하여는 아직 불분명하지만, 노르웨이나 아일랜드의 양식 대서양 연어의 경우에는 *Acanthamoeba* spp.에 기생하는 chlamydia유사 생물체인 것이 밝혀졌다(Draghi *et al.*, 2004). 그러나 epitheliocystis의 원인으로서는 대서양 연어의 경우 면역조직화학 방법으로 조사한 결과 chlamydia가 아닌 것으로 밝혀졌다(Nowark and Clark, 1999). Epitheliocystis는 건강한 어류에서도 발견되지만, 이때는 양성형태로 아가미 상피 표면에 과립상의 산재한 형태로 나타나지만, 심한 경우에는 아가미의 광범위한 범위에 감염될 뿐만 아니라 숙주의 반응이 일어남으로 감염어에 폐사를 초래하기

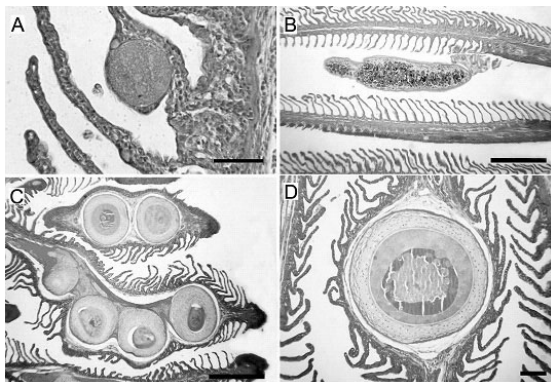


Fig. 4. A: an epithelial cyst on a gill filament, B: *Microcotyle sebastes* attached to the gill filaments, C: Cysts of unknown aetiology from the gills of rock fish containing strongly eosinophilic materials, D: high magnification of a cyst in gill cartilage. Bars indicate 10 μm in A & D and 0.5 mm in B & C. HE stain.

도 한다(Bradley *et al.*, 1988; Goodwin *et al.*, 2005).

본 연구의 조피볼락은 cyst가 주로 아가미 끝 부분 또는 새변의 중간에 형성되지만, 상피세포의 증생과 새변의 유착이 심한 참돔(Crespo *et al.*, 1999)과 잭방어(Grau and Crespo, 1991)에서의 감염과는 달리 숙주 반응이 현저하지 않았을 뿐만 아니라, epitheliocystis의 전형적인 병리조직상의 하나인 cyst주변에 다층의 capsule구조물로 발견할 수 없었다. 그럼으로 조피볼락에서의 감염은 치사적이지는 않지만 새변 상피의 증생 및 유착 등의 미약한 숙주반응이 일어남으로 호흡과 삼투압조절에는 장애를 초래할 것으로 예견되어진다.

또 조피볼락의 아가미에는 충체를 새변과 새변 사이에 위치한 한 채로 *M. sebastes*가 파악기를 이용하여 개개의 2차 새변에 부착하고 있었으며, 충체가 부착한 새변에는 상피세포의 증생에 의해 새변이 유착되어 있었다(Fig. 4B). 우리나라산 조피볼락에는 단생흡충류인 *M. sebastes*가 아가미에 기생하는 것으로 보고되었으며(Chun, 2001), 감염율은 어체의 크기에 관계없이 90-100%로 감염되어 있음이 확인되었고, 계절별 감염율은 9-11월에는 77.8-92.5%로 다소 낮아지지만, 연중 감염되어 있는 것으로 보고되었다(Yoon *et al.*, 1997).

한편 아가미의 직접 검경에서 백색의 결절형 구조물로 보이는 부분은 새변의 연골내에 형성된 것으로서, 증생된 초자 연골의 내부에 미동정의 기생체라 여겨지는 생명체의 cyst(110.0-482.7 μ m)가 발견되었다(Fig. 4 C&D). 미동정 기생체의 횡단면만으로 보면 일반 흡충류의 횡단면과 비슷한 형태를 나타내었지만, 정확한 충체의 확인은 불가능하였다. 이러한 연골내의 기생체 주변에는 연골세포의 증생을 제외한 숙주의 염증 반응은 전혀 발견할 수 없었다. 그러나 기생체의 기생으로 연골이 증생됨에 따라 이웃의 새변과 유착이 생겨 부분적으로는 아가미의 기

능에 장애를 초래하였을 것으로 판단되었다. 해산어의 아가미 연골내에 cyst를 형성하는 질병으로는 Nowak *et al.*(2004)이 야생 붉은 대구(*Pseudophycis bachus*)의 아가미 연골내에서 호산성의 물질로 충만된 크기 26-425 μ m의 구형 cyst가 형성된 것을 보고하였지만, 정확한 충체의 확인은 불가능하였으며, 미확인 충체(unknown aetiology)에 대한 반응은 거의 없었다고 하였다.

이상의 결과로부터 흑산도 근해의 가두리 양식중인 조피볼락에는 epitheliocystis, *M. sebastes* 및 아가미 새변의 연골내에 미확인 생물체의 감염이 확인되었다. 외견상 아가미에서 백색 결절로 관찰되는 것은 미확인 충체의 연골내 cyst임이 조직학적으로 밝혀졌다. 또한 이러한 병원체의 감염에도 불구하고 폐사가 발생하지 않은 것은 감염에 대한 숙주의 조직반응이 미약하기 때문이라 생각된다. 그러나 이들 감염에 대한 숙주의 반응은 미약하나마 호흡과 삼투압조절에는 어느 정도 장애를 초래할 것으로 추정된다.

감사의 글

본 연구는 군산대학교 수산과학연구소의 연구비 지원에 의한 대어민 질병 상담업무의 일환으로 수행되었습니다. 그리고 시료의 채집에 협조하여 주신 흑산도 소재의 우럭 양식장 관계자에게도 감사드립니다.

요 약

흑산도 근해의 가두리 양식장에서 아가미에 백색 결절을 주 증상으로 하는 조피볼락이 발견되었다. 간과 신장에서는 병원균의 검출과 병리조직학적인 변화가 전혀 발견되지 않았다. 아가미의 경우, epitheliocystis, *Microcotyle sebastes* 및 아가미 새변의 연골내에 미동정 생물(unknown aetiology)의 cyst가 확인되었다. Epitheliocystis의

cyst크기는 약 44.1-68.9 μm 이었고 주로 새변의 끝과 중간부위에 기생하고 있었다. 그러나 새변 내의 cyst형성에도 불구하고 숙주의 반응은 미약했다. *M. sebastes*는 2차새변에 고착기를 이용하여 달라붙어있었으며, 이로 인하여 상피세포의 증생이 발생하였다. 미동정 생물체의 경우, cyst는 호산성의 물질로 충만되어 있었고 cyst전체가 연골에 의해 싸여 있는 형태를 보였다. 하지만 이러한 cyst의 형성에도 불구하고 새변의 크기가 증대된 것 이외에는 별다른 병리학적인 증상은 보이지 않았다. 이들 기생충들의 의한 숙주세포의 조직반응은 미약하여 폐사는 유발되지 않았지만, 호흡과 삼투압 조절에는 장애가 있을 것으로 추정된다.

참 고 문 헌

- Chun, K. S.: Attachment of the *Microcotyle sebastis* (Monogenea: Microcotylidae) to the gills of black rockfish, *Sebastes melanops*. Kor. J. Env. Hlth., 28: 102-105, 2002.
- Crespo, S., Grau, A. and Padors, F.: Epitheliocystis disease in the cultured amberjack *Seriola dumerili* Risso (Carangidae). Aquaculture, 90: 197-207. 1990.
- Crespo, S., Zarza, C. and Padros, F.: Epitheliocystis hyperinfection in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L): light and electron microscopic observations. J. Fish Dis., 24: 557-560, 2001.
- Crespo, S., Zarza, C., Padros, F. and Marin de Mateo, M.: Epitheliocystis agents in sea bream *Sparus aurata*: morphological evidence for two distinct chlamydia-like developmental cysts. Dis. Aquat. Org., 37: 61-72, 1999.
- Fryer, J. L. and Lannan, C. N.: Rickettsial and chlamydial infection of freshwater and marine fishes, bivalves and crustaceans. Zool. Studies, 33: 95-107, 1994.
- Grau, A. and Crespo, S.: Epitheliocystis in the wild and cultured amberjack *Seriola dumerili* Risso: ultrastructural observations. Aquaculture, 95: 1-6, 1991.
- Lannan, C. N., Bartholomew, J. L. and Fryer, J. M.: Rickettsial and chlamydial infections. In Fish Diseases and Disorders, Vol. 3: Viral, bacterial and fungal infections (ed by Woo, P. T. K. and Bruno, D. W.). CAB International, Oxford, UK. pp 245-267, 1999.
- Miyazai, T., Fujimaki, Y. and Hatai, K.: A light and electron microscopic study on epitheliocystis disease in cultured fishes. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 52: 199-202, 1986.
- Nowak, G. F. and Clark, A.: Prevalence of epitheliocystis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., farmed in Tasmania, Australia. J. Fish. Dis., 22: 73-78. 1999.
- Nowak, G. F., Dawson, D., Basson L., Deveney, M., and Powell, M. D.: Gill histopathology of wild marine fish in Tasmania: potential interactions with gill healths of cultured Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J. Fish Dis., 27: 709-717. 2004.
- Nowak, B. F. and LaPatra, S. E.: Epitheliocystis in fish. J. Fish. Dis., 29: 573-588, 2006.
- Paperna, I.: Epitheliocystis infection in wild and cultured sea bream (*Sparus aurata*, Sparidae) and grey mullets (*Liza ramada*, Mugilidae). Aquaculture, 10: 169-176, 1977.
- Yoon, G. H., Shinn, A. P., Sommerville, C. and Jo, J.-Y.: Seasonality and the microhabitat of *Microcotyle sebastis* Goto, 1984, a monogenean gill parasite of farmed rock fish, *Sebastes schlegeli* Hilgendorf, 1889. J. Aquaculture, 10: 387-394, 1997.

Manuscript Received : January 7, 2009

Revision Accepted : April 7, 2009

Responsible Editorial Member : Heo, Moon-Soo
(Cheju National University)