

제주도 바지락에 기생하는 바지락포자충, *Perkinsus* sp.의
공간적 분포 및 조직학적 관찰

최 광 식* · 박 경 일

제주대학교 해양과학대학 해양생산과학부

Histopathology and Spatial Distribution of the Protozoan
Parasite, *Perkinsus* sp. Found in the Manila Clam *Ruditapes
philippinarum* Distributed in Cheju, Korea

Kwang-Sik Choi* and Kyung-Il Park

Faculty of Applied Marine Science, College of Ocean Science,
Cheju National University, 1 Ara 1 Dong Cheju City, Cheju-Do, 690-756 Korea

Abstract - The apicomplexan parasite, *Perkinsus* sp., has been reported as a causative pathogen responsible for the mass mortality of the Manila clams, *Ruditapes philippinarum* in European countries as well as in Korea. Prevalence, infection intensity, histopathologic features and zoosporulation of *Perkinsus* found in the Manila clams distributed along the coast of Cheju Island were investigated in this study. Clams were collected from nine different beaches along the Cheju Island from May to July in 2000. Ray's Fluid Thioglycollate Medium (RFTM) and Choi's NaOH lysis methods were applied in the diagnosis and quantification of the *Perkinsus* infection. Prevalence, percentage infection of the parasite examined was 100% in Pyosun, 70% in Sungsan, 63% in Kumneong, 33% in Jongdalri, 21% in Iho, 17% in Moslpo, and 14% in Seogwipo. No *Perkinsus* was found in the clams collected from Kimnyong and Yongmeo-ri. Infection intensity as a number of *Perkinsus* cells per gram tissue wet weight (twwt), was 98,430 cells/g twwt in Pyosun, 78,553 cells/g twwt in Sungsan, 18,980 cells/g twwt in Kumneong, 4,290 cells/g twwt in Jongdalri, 1,527 cells/g twwt in Iho, 1,069 cells/g twwt in Moslpo, and 853 cells/g twwt in Seogwipo. Histological preparation of the infected tissues revealed trophozoites of *Perkinsus* sp., ranged from 5 to 10 μ m, in diameter mostly distributed in the digestive gland and the gill filaments. Zoospores were discharged from the hypnospore via discharging tube about 2 days after incubated in filtered and aerated seawater. In general, the prevalence and infection intensity of *Perkinsus* in Cheju Island were much lower than that reported from the western and southern coast of Korea.

Key words : *Perkinsus*, Manila clam, *Ruditapes philippinarum*

서 론

*Corresponding author: Kwang-Sik Choi, Tel. 064-754-3422,
Fax. 064-756-3493, E-mail. skchoi@cheju.cheju.ac.kr

바지락포자충 *Perkinsus*는 일반적으로 받아들여지고

있는 Levine (1978)의 분류체계에 따르면 Apicomplexa 문, Perkinsea 강, Perkinsida 목, Perkinsidae과, Perkinsus 속에 속하는 기생성 원생 동물이나 그 분류학적 위치에 대한 다양한 이견이 제시되고 있는 종이다 (Siddall *et al.* 1997; Cavalier-Smith 1999). 1950년대 초반 *P. marinus* (Mackin *et al.* 1950)가 미국 멕시코만에 서식하는 대서양산 굴, *Crassostrea virginica*에서 최초로 보고된 이래 세계적으로, *P. olseni* (Lester and Davis 1981), *P. atlanticus* (Azevedo 1989), *P. qugwadi* (Blackbourn *et al.* 1998) 등 4종이 학계에 보고되고 있다. 특히 *P. marinus*와 *P. atlanticus*는 각각 미국산 굴 *C. virginica*와 유럽산 바지락 *Ruditapes decussatus*의 대량 폐사 원인생물로 알려져 있다 (Da Ros and Canzonier 1985; Chagot *et al.* 1987; Azevedo 1989; Figueras *et al.* 1992; Andrews 1996; Ray 1996). 또한 *Perkinsus*는 높은 폐사율과 빠른 전염성 때문에 국제수역사무국 (Office International Des Epizooties)에서는 바지락포자충에 감염된 수산물의 국제간 이동을 제한하고 있다 (국립수산진흥원 1999).

우리 나라의 경우 Choi와 Park은 남해안에 서식하는 바지락 *R. philippinarum*에서 바지락포자충을 발견하여 학계에 보고하였으며 (Choi and Park 1997), 1993년도부터 나타나고 있는 바지락 대량 폐사의 원인 생물 가운데 하나로 추정되고 있다 (최 등 1998; 박 등 1999). 박 등 (1999)은 전라북도 고평만에 서식하는 바지락 전 개체들이 바지락포자충에 감염되어 있음을 밝히고 감염 정도를 정량적으로 측정하였다. 박 (1999)은 바지락포자충에 대한 항체를 개발하여 신속진단 등에 이용하고자 하였으며 이들의 국내 분포와 병리학적인 현상 및 생태학적 특성을 조사 보고한 바 있다. 또한 최 등 (1998)은 충남 태안과 전북 고창의 양식 바지락에서 바지락포자충을 발견하고 이들의 병리학적인 현상을 보고하였다.

바지락포자충의 생활주기는 크게 영양번식 (vegetative stage) 단계, 성장단계 (growth stage), 증식단계 (proliferative stage), 감염단계 (infective stage)로 나뉘어진다 (Auzoux-Bordenave 1995). 영양번식 단계는 숙주 체 내에서 기생하는 단계로써 이분법에 의해 trophozoite를 증식한다. Trophozoite는 직경이 2~10 μm 정도이며 (Perkins 1996) 숙주로부터 방아 기작의 일환으로 과립 세포를 형성한다 (Montes *et al.* 1995). Trophozoite는 숙주로부터 분리되어 무산소 상태에 이르면 휴면포자 (hypnospore)를 형성한다. *Perkinsus hypnospore*의 특징 중 하나는 그 크기가 큰 폭으로 증가하는 것인데 대서양산 굴 *C. virginica*에서 발견되는 *P. marinus*의 경우 20~200 μm 에 달한다. Hypnospore가 유산소 상태의 염

분 20~30%의 해수에 놓이게 되면 세포 분열을 통하여 한 쌍의 편모를 이용하여 이동하는 유주자 (zoospore)로 발전하며, 이때 해수 중에 방출되어 다른 개체를 감염시키는 것으로 알려져 있다.

바지락포자충을 진단하는 방법으로는 Ray (1966)의 Fluid Thioglycollate Medium culture (RFTM)가 가장 널리 이용되고 있다. 이 방법은 진단하고자 하는 시료를 FTM에서 배양하여 바지락포자충의 hypnospore 단계로 유도 함으로써 그 크기를 증폭시키고 다당류로 형성된 hypnospore의 특성을 이용하여 Lugol's iodine으로 염색한 뒤, 현미경 하에서 관찰하는 것이다. Choi 등 (1989)은 FTM에서 배양된 굴 조직을 2 M의 NaOH로 분해시켜 hypnospore만을 분리해내고 혈구계수판을 이용하여 감염도를 정량적으로 측정하는 기술을 개발하였으며 현재 바지락포자충의 정량적인 연구방법으로 널리 쓰이고 있다 (Rodriguez 1995).

이 연구는 우리 나라 바지락포자충 분포 조사의 일환으로 제주지역에 서식하는 바지락의 바지락포자충 감염 현황과 조직학적 병리현상을 관찰 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험에 이용된 바지락은 2000년 5월 말부터 7월 초까지 제주도 연안의 주요 패류 서식지 9곳을 선정하여 채집되었으며, 5월 제주 연안의 평균 수온은 16.1~17.5 $^{\circ}\text{C}$, 염분은 33.88~34.67‰ 였다.

1. 바지락포자충의 분포와 감염도

Ray (1966)의 FTM 배양 방법에 따라 30 g의 FTM (Sigma F-4797)과 10 g의 NaCl (Sigma S-9626)을 H₂O 1 L에 넣고 교반 하면서 투명한 황금색으로 변할 때까지 가열하였다. 상온으로 식힌 FTM 용액 10 ml를 15 ml 시험관에 분주한 후 멸균기에서 멸균시킴으로써 멸균과 시험관 내 산소를 제거 하였다. 준비된 배양 시험관은 밀봉하여 암실에서 사용 전까지 보관하였다. 또한 박테리아의 번식을 억제하기 위하여 5 ml의 H₂O에 1 g의 Chloramphenicol (Sigma C-0378)을 넣어 잘 섞은 후 2.5 ml를 추출한 다음 Nystatin (Sigma N-3503) 500,000 unit/10 ml에 섞은 후 50 μl 씩 FTM 시험관에 주입하였다. 채집된 시료는 각고와 습중량을 측정 후 FTM 시험관에 넣고 실온의 암실에서 1주간 배양하였다. 배양이 끝난 시료는 Lugol's iodine으로 염색하여 바지락포자충의 유무를 검사하였으며 정량적인 감염도 측정을 위하여 각각의 시험관을 원심분리 (1,000 rpm, 10분)하여 FTM을 제거하고 2 M의 NaOH를 주입한 뒤 바지락포

자충 이외의 조직을 분해하였다. 보다 신속한 분해를 위하여 50°C의 water bath에서 30분간 배양한 뒤, 원심분리(1,500 rpm, 10분)하여 상등액을 제거 하는 작업을 3~4회 반복하였다. 바지락 조직이 제거된 hypnospore는 혈구계수판을 이용 4회 반복 계수하여 총 바지락포자충 수와 단위 감염도(바지락 습중량 1g 당 바지락포자충 수)를 산출하였다.

2. 조직병리학적 관찰

각고와 습중량을 측정된 바지락을 아가미, 생식소, 소화맹낭, 족(足) 등이 포함되도록 5 mm 두께의 횡단면으로 자른 후 Bouin's fixative에 24시간 고정하였으며 (Powell 1993), 고정된 조직은 흐르는 수돗물에서 수세한 뒤 알코올을 이용 탈수하였다. 파라핀으로 포매한 조직은 마이크로톰으로 두께 4µm의 절편을 제작하였다. 조직 절편은 Hematoxylin과 Eosin으로 염색 후 광학현미경을 이용하여 다양한 배율 아래 바지락의 각 기관을 관찰하였다.

3. 퇴적물 입도 분석

바지락이 서식하고 있는 서식지의 퇴적환경을 이해하기 위하여 각 바지락 채집지의 퇴적물을 채집한 뒤 60°C의 건조기에서 48시간 동안 건조 시킨 후 63µm 습식체를 이용 63µm 이상 및 그 이하로 구분하였다. 63µm 이상의 입자들은 다시 진동 체질을 이용 입자를 분리하였고 입도별 중량 백분율을 구하여 표시하였다. 퇴적물의 입도구성은 Shepard (1954)의 분류체계를 따랐다.

4. 유주자 발생

Hypnospore로부터 유주자 단계를 유도하기 위하여 바지락포자충에 감염된 바지락의 아가미만을 적출 하여 FTM 배양액 내에서 2일간 실온의 암실에서 배양하였다. 바지락포자충 hypnospore를 포함한 바지락 아가미 세포는 원심분리를 통한 세척과정을 거친 뒤 유산소 환경의 해수에 옮겨졌다. 유산소 해수환경은 염분 30~33‰, 수온 25°C, pH 8의 해수를 GF/C 여과지로 여과한 뒤, 박테리아의 번식을 억제하기 위하여 항생제 Nystatin-chloramphenicol 50 µl/10 ml를 첨가하였다. 유주자 발생은 위의 방법으로 준비된 해수 50 ml를 petri-dish에 위치한 후 hypnospore를 포함하고 있는 바지락 아가미 세포를 해수에서 2~3일간 배양하면서 수시로 현미경 하에서 유주자의 출현을 관찰하였다 (Auzoux-Bordenave 1995).

결 과

1. 바지락포자충의 분포와 감염도

2000년 5월부터 7월까지 제주 연안의 9개 지역에서 채집된 바지락 중 바지락포자충은 김녕항과 용머리 등 2개 지역을 제외한 전지역에서 검출되었다 (Fig. 1). 바지락포자충의 감염율은, 표선 100%, 성산항 70%, 금능 63%, 종달리 33%, 이호 21%, 모슬포 17%, 서귀포 14% 순으로 나타났으며 지역에 따라 변이가 심하였다. 감염 정도는 표선의 경우, 바지락 습중량 1g 당 바지락포자충 98,430 세포, 성산 78,553 세포, 금능 18,980 세포, 종달리 4,290,

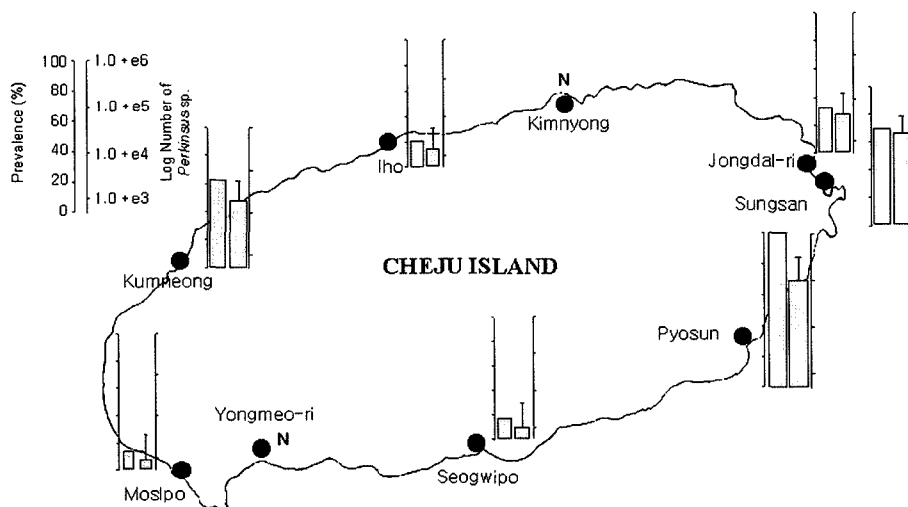


Fig. 1. Prevalence and infection intensity of *Perkinsus* sp. found in *R. philippinarum* distributed on the coast of Cheju island, Korea. N = none infection

이호 1,527 세포, 모슬포 1,069 세포, 서귀포 853 세포 순이었다. 100%의 감염율과 가장 높은 감염도를 보인 표선 바지락은 개체당 최저 9,375, 최고 2,878,125 세포의 바지락포자충이 검출되었으며 이는 바지락조직 1 g 당 각각 3,126 및 1,012,818 세포에 상응하였다.

2. 조직병리학적관찰

감염된 바지락조직에 대한 현미경 관찰 결과 바지락포자충의 trophozoite가 농밀 하게 분포하는 부위는 아가미와 소화맹낭이었다(Fig. 2A, D). Trophozoite는 직경이 5~15 μm 로 수 개에서 수 십개씩 집단을 이루고 있었으며 호산성으로 Eosin에 염색되어 붉은 색을 띠었다.

이들 trophozoite는 바지락포자충의 특징인 세포 내에 공포(vacuole)가 있고 그 가장 자리에 핵이 위치하는 반지형태를 나타내었으며(Fig. 2C), 이들 주변에는 Hematoxylin에 염색된 바지락 과립세포가 밀집해 있는 것이 관찰되었다(Fig. 2C). 아가미의 경우 plical fold 내의 water chamber가 trophozoite로 채워져 있었으며 그 주위에는 다수의 바지락 혈구들이 집중되어 있었다(Fig. 2A). 또한 족(足)의 연결조직 내에서도 1~4개의

trophozoite가 모여있는 것이 관찰되었다(Fig. 2B).

3. 유주자발생

유산소 해수환경에서 배양된 hypnospore는 약 24시간 만에 세포 분열을 하기 시작했다. 먼저 세포질이 두꺼워진 자리에서 discharging tube가 형성이 되었으며 이후 세포 분열이 일어났다. Fig. 3A는 hypnospore내에서 이분법으로 분화되어 유주자를 형성하는 과정을 보여주고 있다. 분열시작 후 24~48시간 이내에 유주자는 discharging tube를 통하여 방출됐으며 이때 유주자 몸체는 장축 4 μm , flagella 길이는 10 μm 으로 측정되었다(Fig. 3B).

4. 퇴적물 입도 분석

바지락이 채집된 조사 지역의 퇴적물 입도 분석 결과는 Fig. 4와 같다. 성산, 서귀포, 용머리의 퇴적물은 입자 크기가 주로 250~500 μm (1 ϕ)인 조립질의 모래로 이루어져 있었으며, 이호, 중달리, 금능, 김녕, 표선의 퇴적물은 125~250 μm (2~3 ϕ)인 세립질 내지 미립질의 모래로 이루어져 있었다.

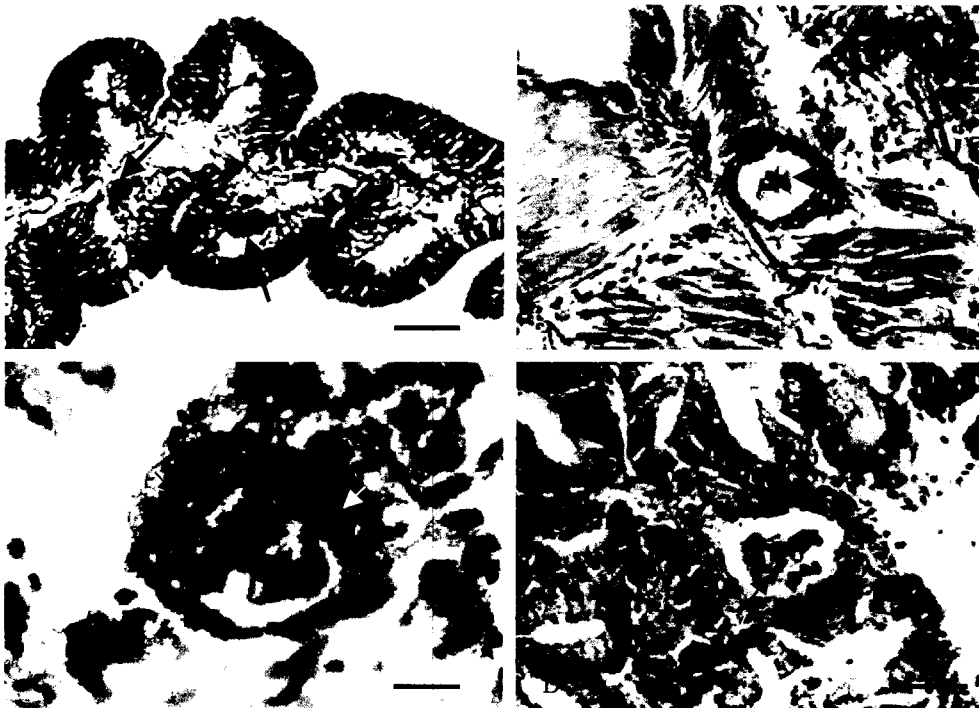


Fig. 2. Histopathological observations on the *Perkinsus* infected tissues. A: Infiltration of the Manila clam hemocytes in the gill filaments (40 \times , bar-100 μm), B: Trophozoites in the connective tissue of foot (400 \times , bar-20 μm), C: Trophozoites surrounded by hemocytes (1,000 \times , bar-10 μm), D: Trophozoites in the digestive gland (400 \times , bar-20 μm).

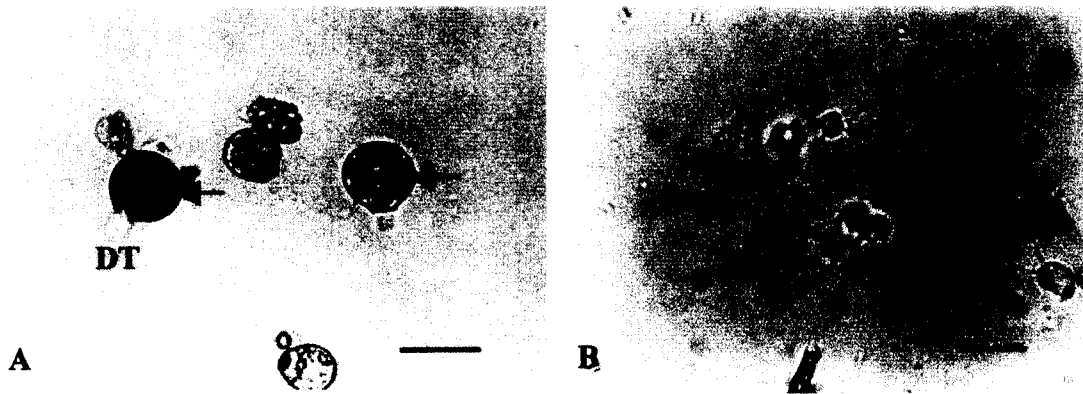


Fig. 3. *In vitro* sporulation of *Perkinsus* sp. in GF/C filtered seawater. (A) Hundreds of motile zoospores in a hypnospore (left arrow), 8-cell stage (right arrow). Discharging tube (DT). Scale-bar = 50 μ m; 200 \times . (B) Free zoospores. Scale-bar = 10 μ m; 1000 \times .

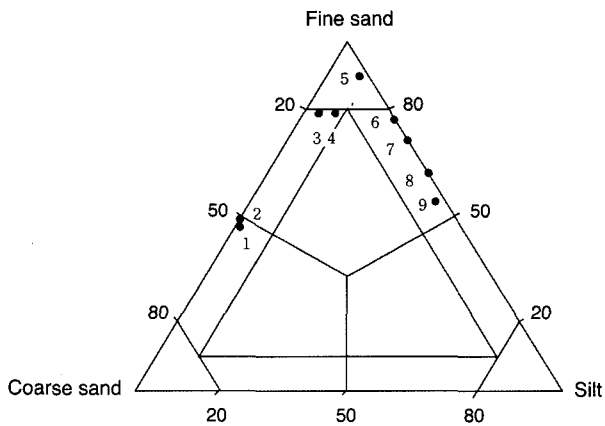


Fig. 4. Grain size composition of sediments sampled from the clam sampling station (1, Moslpo; 2, Yongmeori; 3, Seogwipo; 4, Iho; 5, Sungsan; 6, Kumneong; 7, Pyosun; 8, Kimnyong; 9, Jongdalri)

고 찰

제주도 연안 9개 지역에 서식하고 있는 바지락을 대상으로 Ray의 FTM 방법과 Choi의 NaOH 방법을 이용하여 정량적으로 분석한 결과 바지락포자충 감염율은 Choi and Park (1997)이 실시한 우리 나라 남해안의 바지락포자충 감염현황 조사 결과와 비교하였을 때 비교적 낮은 수준이었다. 바지락포자충의 발현은 고수온·고염분 환경에서 활성화 된다는 다수의 보고(Andrew and Hewatt 1957; Soniat 1985; Chu 1996; Cook *et al.* 1998)가 있으나 남해안과 비교시 연중 수온과 염분이 높은(연안정지 해양관측 자료, 국립수산진흥원) 제주 해안의 바지락포자충 감염도가 오히려 낮게 나타남으로써 수온

과 염분이외의 다른 인자가 바지락포자충의 발현에 영향을 주고 있음을 추정할 수 있었다. 이와 관련하여 Choi 등(미발표자료)에 의하면 바지락포자충의 감염도는 서식지 저질 입도와 밀접한 관계가 있음을 관찰한 바 있기 때문에 본 연구에서는 바지락 채집지 별 입도 분석을 실시하여 바지락포자충 감염과 퇴적물 입도와의 관계를 알아보려고 하였다. 그러나 조사 결과 바지락포자충 감염도와 퇴적물 입도와는 뚜렷한 상관관계를 발견하지 못하였다. 그 이유는 제주 전지역의 저질 입도가 Choi 등(미발표자료)이 바지락포자충 감염도가 낮은 지역으로 보고하였던 모래질 지역과 유사하였으며 제주 지역의 바지락포자충 감염도 또한 월등히 낮게 검출됨으로써 감염도가 낮은 지역끼리 비교되었기 때문인 것으로 사료된다.

본 연구에 사용된 바지락포자충 진단 방법은 1989년 Choi 등(1989)에 의해 고안된 바지락포자충 진단 기술로써 Ray의 FTM 배양 방법으로 배양된 시료를 2 M의 NaOH로 분해하여 바지락포자충만 분리해 낸 후 혈구계수판을 이용하여 바지락포자충을 계수함으로써 정량적인 감염도를 측정하는 기술이다. 이전까지는 Mackin이 개발한 기준(Mackin 1962)에 따라 감염도를 판단하였다. 그러나 이 방법은 다수의 시료를 비교적 신속하게 진단 할 수 있다는 장점이 있으나 관찰자의 주관에 따라 감염도를 판단함으로써 관찰자에 따른 오차가 심하며 특히 감염 초기 진단에는 효과적이지 못한 것으로 보고된 바 있다(Rodriguez 1995). 그러나 Choi 등의 NaOH 진단 방법은 바지락포자충을 실측함으로써 정확한 감염도 측정이 가능하며 연구 지역간 상호 비교가 가능하다는 장점을 갖고 있다. 실례로 NaOH를 이용한 박 등(1999)의 전라남도 고흥만의 바지락포자충 조사

결과 바지락 습중량 1g 당 평균 1,000,000개체 이상의 바지락포자충을 검출하였으며 Choi와 Park(1997)은 전남 강진과 완도산 바지락에서 평균 120,000~690,000개의 바지락포자충을 보고한 바 있다. 이 같은 감염도는 본 연구 결과와의 비교가 가능하며 바지락포자충의 생태학적 특성을 이해하는데 보다 정확한 단서를 제공할 수 있다. 그러나 바지락의 경우 현재까지 표준 진단 방법이 개발되어 있지 않기 때문에 차후 연구자들 간의 상이한 감염도 측정을 방지하기 위한 통일된 진단 방법의 개발이 이루어져야 할 것으로 여겨진다.

바지락포자충의 병원성은 감염이 심한 경우 숙주의 체표에 직경 1~3.5 mm의 흰색의 농포가 관찰되며 이를 조직학적으로 관찰한 결과 숙주 혈구세포의 집중 현상이 확인된다(Azevedo 1989; Sagrista *et al.* 1995; Bower *et al.* 1998; 최 등 1998; 박 1999). 본 연구에서는 바지락 체표에서 농포가 발견되지는 않았지만 조직병리학적 관찰결과 아가미와 소화맹낭, 즉 부위에서 다수의 trophozoite가 집단을 이뤄 분포하고 있었으며 이들 주위로 바지락 혈구세포들이 집중되어 있었다. 연체동물의 혈구세포는 외부 물질에 대한 주요 방어 기작의 일환으로써 식세포작용을 담당하는 것으로 알려져 있으며 (Cheng 1981), 이 같은 혈구가 바지락포자충 주변에 집중되어 있음은 바지락포자충이 숙주에 대하여 병원성을 갖고 있음을 나타내는 것이라고 할 수 있다(Monts *et al.* 1995).

유주자(zospore)는 바지락포자충의 생활사 중 유일하게 이동성을 갖고 있어서 새로운 숙주를 감염시킬 수 있는 단계이다(Auzoux-Bordenave *et al.* 1995). Perkins와 Menzel(1966)은 염분 28~32‰, 수온 30°C에서, Chu와 Green(1989)은 22‰, 28°C에서 *P. marinus*의 유주자가 발생됨을 보고하였다. *P. atlanticus*의 경우 Auzoux-Bordenave 등(1995)은 염분 25~35‰, 수온 24~28°C, pH 7~8에서 최적의 유주자 형성을 관찰하였으며, 본 실험에서도 위와 유사한 조건하에서 유주자가 발생됨을 확인 하였다. 한편 Auzoux-Bordenave 등(1995)은 앞서 소개된 조건을 벗어나는 수온 15°C 이하, 염분 15‰ 이하, pH 7 이하에서는 유주자 발생이 중단되거나 전혀 이루어지지 않음을 보고하였다. 이 같은 사실은 겨울철 우리나라 수온 조건이 바지락포자충 유주자 형성에 적합하지 않은 것으로 판단되며 따라서 겨울철 저 수온기에는 바지락포자충의 전이가 다른 계절보다 저조할 것으로 판단된다.

적 요

바지락포자충 *Perkinsus*는 Apicomplexa 문에 속하는

기생성 원생동물로서 유럽에서는 바지락의 대량폐사 원인 생물로 잘 알려져 있으며 우리 나라에서도 90년대 초반부터 나타나고 있는 바지락 폐사의 원인생물로 추정되고 있다. 이 연구는 우리 나라 바지락포자충 감염 분포 조사의 일환으로 제주 연안에 서식하는 바지락의 바지락포자충 감염 현황과 감염도, 조직병리학적 현상, 유주자 형성 그리고 서식지의 퇴적물 조성에 따른 감염 특성을 조사하기 위하여 실시되었다. Ray의 Fluid Thioglycollate Medium (FTM) 방법과 Choi의 NaOH lysis 방법을 이용한 진단결과 김녕항과 용머리 지역의 바지락은 비감염 상태였으며, 이들 지역을 제외한 지역의 바지락포자충의 발현율은 표선 100%, 성산항 70%, 금능 63%, 종달리 33%, 이호 21%, 모슬포 17%, 서귀포 14%, 순으로 나타났다. 바지락 습중량 1g 당 표선 98,430 세포, 성산 78,553 세포, 금능 18,980 세포, 종달리 4,290 세포, 이호 1,527 세포, 모슬포 1,069 세포, 서귀포 853 세포의 바지락포자충이 검출되었다. 조직병리학적 검사결과 직경 5~10 μm인 원형의 trophozoite가 바지락의 소화맹낭과 아가미에 분포하고 있음이 확인되었으며 숙주의 혈구집중 현상도 관찰되었다. 유주자는 FTM에서 2일 동안 배양된 hypnospore를 25°C의 해수에서 2일간 배양하였을 때 세포분열을 거쳐 방출관을 통하여 방출됐다. 이상의 조사 결과 제주 연안에 서식하고 있는 대부분의 바지락이 바지락포자충에 감염되어 있음이 확인되었다. 그러나 우리 나라 남·서해안에서 보고된 바지락포자충 감염율이나 감염도 보다는 매우 낮은 수준이었다.

감사의 글

이 연구는 제주대학교 두뇌한국 21(BK 21) 사업단 연구비 지원과, 한국 과학재단의 인턴연구원인 박경일에 대한 인적지원에 의해 이루어졌습니다. 시료 분석과 자료 정리에 많은 시간과 노력을 아끼지 않은 제주대학교 해양생산과학부 무척추동물양식 실험실의 고대권, 이주한, 강도형 군에게 심심한 감사를 드립니다.

인 용 문 헌

- 국립수산진흥원. 1999. 수생동물질병진단지침. 해양수산부 국립수산진흥원. 부산.
- 박경일. 1999. 바지락에 기생하는 *Perkinsus*의 출현 및 진단 기술 개발. 제주대학교 석사학위 논문. 66 pp.
- 박경일, 최광식, 최진우. 1999. 곶소만에 있어 바지락포자충, *Perkinsus* sp.의 출현에 관하여. 한국수산학회지. 32: 303-309.

- 최동림, 권정노, 김용철. 1996. 양식 바지락 폐사원인조사. 서연사업보고서. p. 226-236.
- 최동림, 권정노, 박성우. 1998. 서해안 양식 바지락에 발생한 *Perkinsus* sp. 감염증과 신속 검출. 한국어병학회지. 11: 69-76.
- Andrews JD. 1996. History of *Perkinsus marinus*, a pathogen of oysters in the Chesapeake Bay 1950-1984. J. Shellfish Res. 15:13-16.
- Andrew JD and WG Hewatt. 1957. Oyster mortality studies in Virginia. II. The fungus disease caused by *Dermocystidium marinum* in oysters of Chesapeake Bay. Ecol. Monogr. 27:1-25.
- Auzoux-Bordenave S, AM Vigario, F Ruano, I Domart-Coulon and D Doumenc. 1995. *In vitro* sporulation of the clam pathogen *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa, Perkinsea) under various environmental conditions. J. Shellfish Res. 14:469-475.
- Azevedo C. 1989. Fine structure of *Perkinsus atlanticus* n. sp. (Apicomplexa, Perkinsea) parasite of the clam *Ruditapes decussatus* from Portugal. J. Parasitol. 75: 627-635.
- Blackbourn J, SM Bower and GR Meyer. 1998. *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.
- Bower SM, J Blackbourn and GR Meyer. 1998. Distribution, prevalence, and pathogenicity of the protozoan *Perkinsus qugwadi* in Japanese scallops, *Patinopecten yessoensis*, cultured in British Columbia, Canada. Can. J. Zool. 76:954-959.
- Cavalier-Smith T. 1999. Zooflagellate phylogeny and the systematics of protozoa. Biol. Bull. 196:393-396.
- Chagot D, M Comps, V Boulo, V Ruvano and H Grizel. 1987. Histological study of a cellular reaction in *Ruditapes decussatus* infected by a protozoan. Aquaculture. 67:260-261.
- Cheng TC. 1981. Bivalves. pp. 233-297. In Invertebrate Blood Cells, Vol. 1 (Ratcliffe NA and AF Rowley eds). Academic Press, London.
- Choi KS, EA Wilson, DH Lewis, EN Powell and SM Ray. 1989. The energetic cost of *Perkinsus marinus* parasitism in oysters: Quantification of the thioglycollate method. J. Shellfish Res. 8:125-131.
- Choi KS and KI Park. 1997. Report on the occurrence of *Perkinsus* sp. in the Manila clams, *Ruditapes philippinarum* in Korea. Korean J. Aquacul. 10:227-237.
- Chu FL and KH Green. 1989. Effects of temperature and salinity on *in vitro* culture of the oyster pathogen, *Perkinsus marinus* (Apicomplexa: Perkinsea). J. Invert. Pathol. 53:260-268.
- Chu FL. 1996. Laboratory investigations of susceptibility, infectivity, and transmission of *Perkinsus marinus* in oyster. J. Shellfish Res. 15:57-66.
- Cook T, M Folli, J Klinck, S Ford and J Miller. 1998. The relationship between increasing sea-surface temperature and the northwards spread of *Perkinsus marinus* (Dermo) disease epizootics in oysters. Estuarine Coastal Shelf Sci. 46:587-597.
- Da Ros L and WJ Canzonier. 1985. *Perkinsus*, a protistan threat to bivalve culture in the Mediterranean basin. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 5:23-27.
- Figueras A, JAF Robkeo and 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.
- Lester RJG and GHG Davis. 1981. A New *Perkinsus* species (Apicomplexa, Perkinsea) from the abalone *Haliotis ruber*. J. Invertebr. Pathol. 37:181-187.
- Lavine ND. 1978. *Perkinsus* gen. n. and other new taxa in the Protozoan Phylum Apicomplexa. J. Parasitol. 64: 549.
- Mackin JG. 1962. Oyster disease caused by *Dermocystidium marinum* and other microorganisms in Louisiana. Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Texas. 7:132-229.
- Mackin JG, HM Owen and A Colloer. 1950. Preliminary note on the occurrence of a new protistan parasite, *Dermocystidium marinum* n. sp. in *Crassostrea virginica* (Gmelin). Science. 111:328-329.
- Montes JM, M Durfort and J Garcia-Valero. 1995. Cellular defence mechanism of the clam *Tapes semidecussatus* against infection by the protozoan *Perkinsus* sp. Cell Tissue Res. 279:529-538.
- Perkins FO. 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. 15:67-87.
- Perkins FO and RW Menzel. 1966. Morphological and cultural stages in the life cycle of *Dermocystidium marinum*. Proc. Natl. Shellfish. Assoc. 56:23-30.
- Powell EN, EA Wilson-Ormond and K-S Choi. 1993. Sampling and analytical methods of the national status and trends program national benthic surveillance and mussel watch projects 1984-1992.
- NOAA Technical Memorandum NOS ORCA. 71:11.55-11.62.
- Ray SM. 1966. A review of the culture methods for detecting *Dermocystidium marinum*, with suggested modifications and precautions. Proc. Natl. Shellfish Assoc.

- 54:55-59.
- Ray SM. 1996. Historical perspective on *Perkinsus marinus* disease of oysters in the Gulf of Mexico. *J. Shellfish Res.* 15:9-11.
- Rodriguez F and JI 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.
- Sagrista E, M Durfort and C Azevedo. 1995. *Perkinsus* sp. (Phylum Apicomplexa) in Mediterranean clam *Ruditapes semidecussatus*: ultrastructural observation of the cellular response of the host, *Aquaculture.* 132:153-160.
- Shepard EP. 1954. Nomenclature based on sand-silt-clay ratios. *J. Sed. Petrol.* 24:151-158.
- Siddall ME, KS Reece, JE Graves and EM Burreson. 1997. 'Total evidence' refutes the inclusion of *Perkinsus* species in the phylum Apicomplexa. *Parasitology.* 115:165-176.
- Soniat TM. 1985. Changes in levels of infection of oysters by *Perkinsus marinus*, with special reference to the interaction of temperature and salinity upon parasitism. *Northeast Gulf Sci.* 7:171-174.

(Received 26 December 2000, accepted 26 March 2001)