

[단보, Short communication]

## 제주 대정 연안에 서식하는 아기바지락 (*Ruditapes variegatus*) 의 *Perkinsus olseni* 감염 보고

김승현<sup>1</sup>, 김예림<sup>1</sup>, 강현실<sup>2</sup>, 최광식<sup>3</sup>, 박경일<sup>1</sup>

<sup>1</sup>군산대학교 해양과학대학 수산생명의학과, <sup>2</sup>국립수산과학원 남동해수산연구소, <sup>3</sup>제주대학교 해양과학대학 해양생명과학과

### Occurrence of *Perkinsus olseni* in the variegated carpet shell clam *Ruditapes variegatus* on the coast of Daejeong, Jeju, Korea

Seung-Hyeon Kim<sup>1</sup>, Ye-Lim Kim<sup>1</sup>, Hyun-Sil Kang<sup>2</sup>, Kwang-Sik Choi<sup>3</sup> and Kyungil Park<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Aquatic Life Medicine, College of Ocean Science and Technology, Kunsan National University, Gunsan 54150, Republic of Korea

<sup>2</sup>South East Sea Fisheries Research Institute, NIFS, Tongyeong 53085, Republic of Korea

<sup>3</sup>Department of Marine Life Science, College of Ocean Sciences, Jeju National University, 102 Jejudaehakno Jeju 63243, Republic of Korea

#### ABSTRACT

Protozoan parasite species of the genus *Perkinsus* have been known to infect various venerid clams and induce pathological functions. In this study, polymerase chain reaction (PCR) analysis using species-specific primers was conducted to investigate *Perkinsus olseni* and *Perkinsus honshuensis* infections in *Ruditapes philippinarum* and *Ruditapes variegatus* collected from the coast of Dongil-ri harbor and Hamo beach, Daejeong, Jeju, Korea in the winter of 2020. Based on the results of an investigation on the infection of the two parasite species in the two host species, it was confirmed that only *R. variegatus* specimens collected from the Hamo beach were infected with *P. olseni*. Previous studies have reported *R. variegatus* as a host for *P. honshuensis*, but based on the findings of this study, it is suggested that this clam species could be infected by not only *P. honshuensis* but also by *P. olseni*.

**Key words:** *Ruditapes variegatus*, *Perkinsus olseni*, *Perkinsus honshuensis*, *Ruditapes philippinarum*, PCR

#### 서 론

우리나라에서 검출되는 폐류기생충인 *Perkinsus* 속 병원체는 바지락 (*Ruditapes philippinarum*) 과 살조개 (*Protothaca jedoensis*) 를 숙주로 하는 *Perkinsus olseni* 와 아기바지락을 숙주로 하는 *P. honshuensis* 가 있다 (Park *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2006; Kang *et al.*, 2016).

*Perkinsus olseni* 는 우리나라 동해안을 제외한 대부분의 해역에서 검출되며, 특히 서해안의 조간대 서식 바지락에서 높은 감염율과 감염도를 보인다. *P. olseni*에 감염된 바지락에서는 극심한 염증을 동반한 번식량 저하와 고수온 등의 서식환경악화 시 바지락의 대량폐사를 유발하기도 한다 (Park *et al.*, 2006; Nam *et al.* 2018). 한편, *P. honshuensis* 는 2006년 최초로 일본 미에현의 Gokasho Bay에서 서식하는 바지락에서 검출되었으며 (Dungan and Reece, 2006), 우리나라에서는 제주도 외도연안에 서식하고 있는 아기바지락에서 검출되었다 (Kang *et al.*, 2016). 이후, Kang *et al.* (2017) 은 제주를 포함하는 우리나라 25개 지역에서 서식하는 바지락을 대상으로 *P. olseni*와 *P. honshuensis* 의 감염 여부를 종특이 (species-specific) PCR primer를 이용하여 진단한 결과 *P. olseni* 의 감염만을 확인한 바 있다.

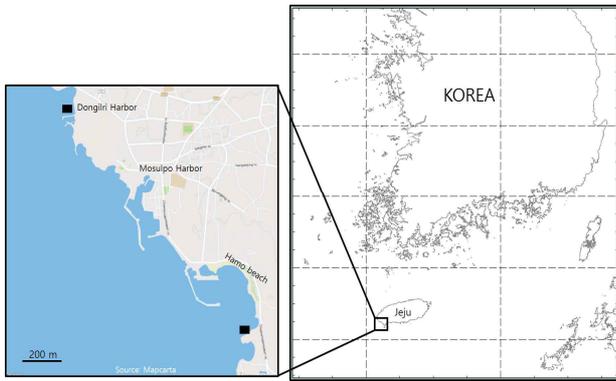
제주 지역의 *Perkinsus* spp. 출현은 Choi and Park (2001) 이 제주 연안 9개 정점 중 7개 지점에서 *Perkinsus*

Received: September 13, 2021; Revised: September 25 2021;  
Accepted: September 28 2021

Corresponding author: Kyungil Park

Tel: +82 (10) 3419-1469, e-mail: kipark@kunsan.ac.kr  
1225-3480/24795

This is an Open Access Article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License with permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproducibility in any medium, provided the original work is properly cited.



**Fig. 1.** Sampling locations. Specimens were collected from two locations (Dongilri harbor, Hamo beach).

sp.를 보고하였으며, 최근 Kang *et al.* (2017) 은 제주의 성산과 서귀포에 서식하는 바지락에서 *P. olseni* 의 감염을 확인한 바 있다. 따라서 현재까지 제주연안에 서식하고 있는 바지락은 *P. olseni* 의 숙주로, 아기바지락은 *P. honshuensis* 의 숙주로 알려져 있다.

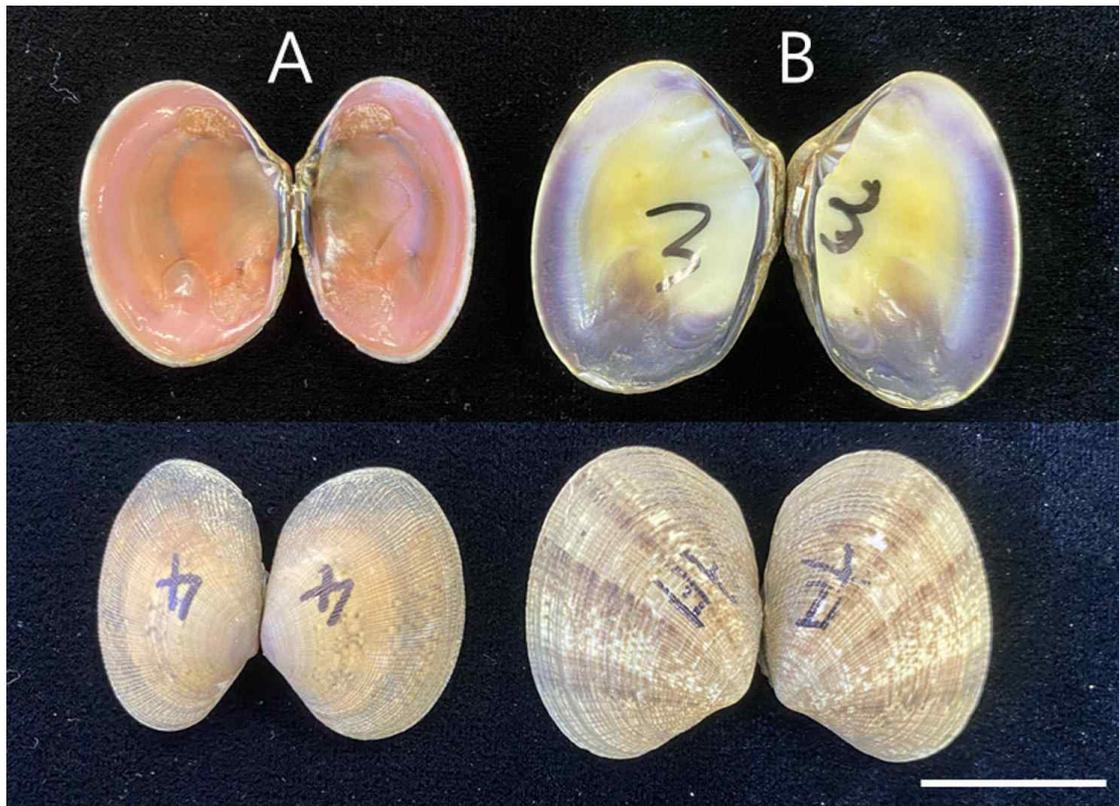
이 연구는 조사는 제주 대정지역 연안 2곳에 서식하는 아기바지락과 바지락을 대상으로 *P. olseni*와 *P. honshuensis* 특

이 PCR primer를 이용하여 두 기생충의 감염을 진단함으로써 바지락과 아기바지락내 *Perkinsus* spp. 감염 현황을 조사하고자 수행되었다.

### 재료 및 방법

2020년 11월과 12월에 제주도 대정면에 소재한 동일리항과 하모해수욕장 인근 (Fig. 1) 에서 서식하는 아기바지락 (*Ruditapes variegatus*) 과 바지락 (*R. philippinarum*) 을 채집하여 본 연구에 이용하였다 (Fig. 2). 아기바지락은 2020년 11월에 동일리항에서 39 개체를 채집하였고, 12월에 하모해수욕장 인근에서 55 개체를 채집하였다. 바지락은 11월에 동일리항에서 4 개체가 채집되었다. 패류의 동정은 패류도감 (Min, 2004) 과 Kang (미발표 자료) 등이 제안한 형태학적 차이에 의해 구분하였다.

실험실로 옮긴 시료는 각장, 각고 및 습중량 등을 측정한 다음 멸균된 핀셋과 가위로 20 mg의 아가미를 절취하여 AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, K-3032) 로 total DNA를 추출하였다. 프라이머는 Park *et al.* (2002)과 Kang *et al.* (2017) 이 개발한 *P. olseni* 특이 프라이머 (Forward



**Fig. 2.** Shell morphology of *R. variegatus* (A) and *R. philippinarum* (B) used in the present study. Bar = 2 cm

5'-CATTATCGAGGTCTGT GGTGACG-3', Reverse 5'-ACGATAGGTCTGCTGAGAAGC-3') 와 *P. honshuensis* 특이 프라이머 (Forward 5'-CCACCTGCCTGGCAGGTGATT-3', Reverse 5'-CGAATTGGCTCAATAAATTGAGYC-3') 를 사용하였다. 추출된 DNA와 진단용 프라이머는 premix (AccuPower® GoldHotstart Taq PCR premix, Bioneer) 와 혼합하고 nuclease free water로 최종 50 µL가 되도록 PCR 반응액을 준비하였다. *Perkinsus olseni* 진단은 94°C에서 2분간 변성, 52°C에서 1분간 프라이머 결합, 72°C에서 1분간 신장 반응을 30회 반복 수행하고, 72°C에서 5분간 방치하여 DNA 합성을 종결하였다. *Perkinsus honshuensis* 진단용 PCR 조건은 95°C에서 5분간 전변성 후, 95°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 30초의 반응을 35회 반복하여 실행하고, 72°C에서 5분간 방치하여 DNA 합성을 종결하였다. PCR 산물의 크기는 1.2% agarose gel 전기영동으로 확인하였다. *Perkinsus olseni*의 양성 감염 시 산물의 크기는 661 bp, *P. honshuensis*는 340 bp이다. 양성대조구용 DNA는 실험실에서 배양중인 *P. olseni* 와 *P. honshuensis* 영양체로부터 total DNA를 추출하여 사용하였다.

**결과 및 고찰**

본 연구에 사용된 아기바지락과 바지락이 채집된 곳은 모래와 자갈 및 바위가 혼재된 조건대로서 간조 시 바위 하단부에 퇴적된 모래나 자갈 속 2-3 cm 깊이에 잠입한 개체들을 채집하였다. 2020년 11월 20일에 채집된 시료 중 아기바지락은 39개체, 바지락은 4개였으며, 동년 12월 15일에 채집된 시료는 아기바지락이 55개체로써 동일리항과 하모해수욕장 모두 아기바지락이 우점종으로 서식하고 있었다. 아기바지락의 평균 각장은 27-28 mm, 각고는 18-19 mm, 습중량은 약 0.6 g 였으며, 바지락의 경우 평균 각장은 31 mm, 각고는 24 mm, 각 폭은 16 mm, 습중량은 0.7 g 을 나타냈다 (Table 1). 또한

아기바지락의 경우 패각 안쪽이 황적색을 띤 개체들이 다수였다 (Fig. 2).

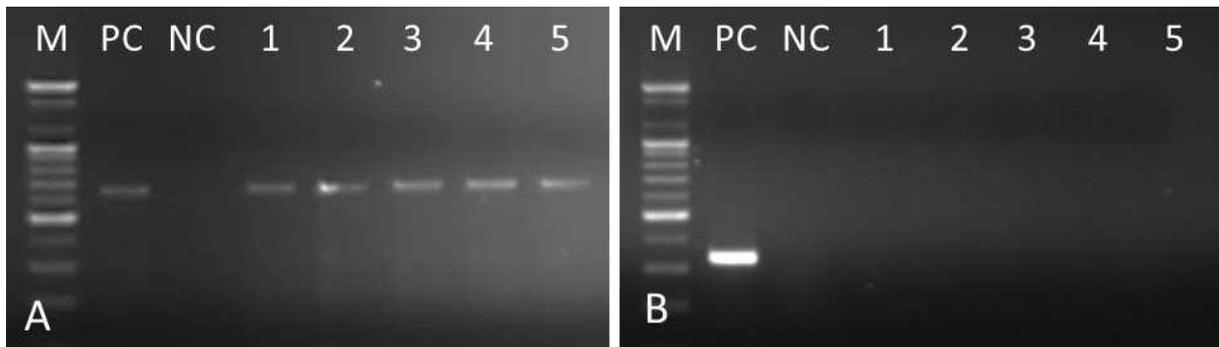
PCR 진단 결과, 아기바지락의 경우 11월 20일에 동일리항에서 채집된 39개체에서는 *P. olseni*의 감염이 확인되지 않았으나, 12월 15일 하모해수욕장에서 채집된 시료에서는 55개체 중 9개체에서 감염이 확인되었다 (Table 1). 그러나 현재까지 제주의 외도 연안에 서식하는 아기바지락을 감염시키는 것으로 알려진 *P. honshuensis* 의 감염은 대정지역 아기바지락에서는 확인되지 않았다. 따라서 본 연구를 통하여 아기바지락은 *P. honshuensis* 뿐만 아니라 *P. olseni* 감염 역시 가능하다는 사실이 밝혀졌다. 이 결과와 유사하게 일본에 서식하는 바지락은 *P. olseni* 와 *P. honshuensis* 두 종의 감염이 확인된 바 있다 (Hamaguchi *et al.*, 1998; Dungan and Reece, 2006). 한편, 금번 연구에서 조사된 바지락의 경우 *P. olseni* 와 *P. honshuensis* 두 종 모두 감염이 확인되지 않았다. 이는 분석에 이용된 시료가 4 개체로 병원체 감염 진단에 충분하지 못한 시료 수였기 때문인 것으로 판단된다. 따라서 바지락과 아기바지락의 *Perkinsus* spp. 감염 실태를 정확히 이해하기 위해서는 향후 보다 광범위한 조사 정점과 충분한 시료의 확보가 필요하다.

현재까지 분자생물학적인 방법을 이용하여 조사된 제주지역의 *Perkinsus* spp. 감염 현황을 살펴보면 외도 연안에 서식하는 아기바지락은 *P. honshuensis* 에 감염되어 있으며 (Kang *et al.*, 2016), 성산과 서귀포에 서식하는 바지락은 *P. olseni* 에 감염되어 있음이 확인된 바 있다 (Kang *et al.*, 2017). 이러한 감염 숙주의 차이는 두 *Perkinsus* spp. 의 숙주 특이성에 의해 유발한 것인지 아니면 지리적 차이에 따른 결과인지 명확하지 않았다. 그러나 본 연구에서 대정 연안의 아기바지락이 *P. olseni* 에만 감염된 것이 확인됨으로써 *Perkinsus* spp. 의 분포가 숙주 의존적인 분포라기보다는 지리적인 차이에 의해 나타나는 현상임을 의미하고 있다.

패류내 기생충의 전파는 양식을 위한 종자의 이식 등 인간의

Table 1. Sizes and biomass of *R. variegatus* and *R. philippinarum* and the number of *Perkinsus olseni* or *P. honshuensis* positive clams. (SL, shell length; SH, shell height; ST, shell thickness; TWW, tissue wet weight; DH, Dongil-ri; HB, Hamo beach)

Species	Location	Date	SL (mm)	SH (mm)	ST (mm)	TWW (g)	N	# of <i>P. olseni</i> positive clams	# of <i>P. honshuensis</i> positive clams
<i>R. variegatus</i>	DH	Nov 20, 2020	27.48 ± 2.96	18.36 ± 2.73	10.84 ± 0.84	0.66 ± 0.14	39	0	0
	HB	Dec 15, 2020	28.20 ± 1.59	19.01 ± 1.26	10.89 ± 0.94	0.68 ± 0.12	55	13	0
<i>R. philippinarum</i>	DH	Nov 20, 2020	31.63 ± 5.14	24.16 ± 3.94	16.26 ± 3.49	0.75 ± 0.17	4	0	0



**Fig. 3.** Agarose gel electrophoresis (1.2%) of PCR products of *P. olseni* and *P. honshuensis* in *R. philippinarum*. M, 100 bp DNA ladder marker; PC, positive control; NC, negative control.

개입과 수온 상승과 같은 서식환경의 변화로 유발된 숙주의 면역반응 변화 등이 복합적으로 작용한 결과로 추정되고 있다 (Esch and Fernández, 1993; Guo and Ford, 2016). 따라서 제주의 경우 현재까지 우리나라에서 *P. olseni* 와 *P. honshuensis* 가 동시에 검출되는 유일한 해역이며, 특히 패류 양식을 목적으로 한 종자의 대규모 이동이 타 지역에 비해 현저히 적은 지역이므로 숙주종의 인위적 이동에 동반한 병원체의 확산 가능성이 최소화 된 지역이다. 따라서 제주 해역은 *Perkinsus* spp. 를 비롯한 패류 병원체의 지리적 확산과 새로운 숙주종으로의 총체 전파에 대한 수온 상승 등 환경 변화의 영향을 규명하는데 적합한 모델 해역으로 판단된다.

## 사 사

이 논문은 2021년 해양수산부 재원으로 수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(수산생물 검역용 신속 및 정밀진단 기술개발).

## REFERENCE

Choi, K.-S., Park, K.-I. 2001. Histopathological and spatial distribution of the protozoan parasite, *Perkinsus* sp. found in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* distributed in Cheju, Korea. *Korean J. Environ. Bio.*, **19**: 79-86.

Dungan, C.F. and Reece, K.S. 2006. In vitro propagation of two *Perkinsus* spp. parasites from Japanese Manila clams *Venerupis philippinarum* and description of *Perkinsus honshuensis* n. sp. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **53**: 316-326.

Esch, G.W., Fernández, J.C. 1993. Factors influencing parasite populations. In: *A Functional Biology of Parasitism*. Functional Biology Series. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-2352-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-011-2352-5_3).

Guo, X., Ford, S.F. 2016. Infectious diseases of marine molluscs and host responses as revealed by genomic

tools. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* Volume 371, Issue 1689.

Hamaguchi, M., Suzuki, N., Usaki, H., Ishioka, H. 1998. *Perkinsus* protozoan infection in short-necked clam *Tapes (= Ruditapes) philippinarum* in Japan. *Fish Pathol.*, **33**: 473-480.

Kang, H.-S., Yang, H.-S., Reece, K.S., Cho, Y.-G., Lee, H.-M., Kim, C.-W., Choi, K.-S. 2017. Survey on *Perkinsus* species in Manila clam *Ruditapes philippinarum* in Korean waters using species-specific PCR. *Fish Pathology*, **52**: 202-205.

Kang, H.-S., Yang, H.-S., Reece, K.S., Hong, H.-K., Park, K.-I., Choi, K.-S. 2016. First report of *Perkinsus honshuensis* in the variegated carpet shell clam *Ruditapes variegatus* in Korea. *Dis. Aquat. Organ.*, **22**: 35-41.

Min, D.-K. 2004. *Mollusks in Korea* (revised supplementary edition). Min Molluscan Research Institute, Hanguel Graphics, Seoul.

Nam, K.-W., Jeung, H.-D., Song, J.-H., Choi, K.-S., Park, K.-I. 2018. High parasite burden increases the surfacing and mortality of the Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) in intertidal sandy mudflats on the west coast of Korea during hot summer. *Parasites and Vectors*, **11**: 42.

Park, K.-I., Ngo, T.T.T., Choi, S.-D., Cho, M., Choi, K.-S. 2006. Occurrence of *Perkinsus olseni* in the Venus clam *Protothaca jadoensis* in Korean waters. *J Invertbr and Pathol.*, **93**: 81-87.

Park, K.-I., Park, J.-K., Lee, J., Choi, K.-S. 2005. Use of molecular markers for species identification of Korean *Perkinsus* sp. isolated from Manila clams *Ruditapes philippinarum*. *Dis. Aquat. Organ.*, **23**: 255-263.

Park, K.-I., Park, Y.-M., Lee, J., Choi, K.-S. (2002) Development of PCR assay for detection of the protozoan parasite *Perkinsus* in Korea. *Korean J. Environ. Biol.*, **20**: 109-117.