



분자학적, 형태학적 방법을 통한 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 근육에서의 *Kudoa septempunctata* 감염형태의 변화 관찰

이남실* · 도정완** · 김명석*** · 원경미** · 조미영*** · 정승희†

*국립수산과학원(연구원) · **국립수산과학원(연구사) ·

***국립수산과학원(연구관) · †국립수산과학원(과장)

Examination about Infection form of *Kudoa septempunctata* in muscle of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) using molecular and morphological methods

Nam-Sil LEE* · Jeong-Wan DO** · Myoung Sug KIM*** · Kyoungmi WON**

· Miyoung CHO*** · Sung-Hee JUNG†

*National Institute of Fisheries Science(researcher) · **National Institute of Fisheries Science(senior
researcher) · ***National Institute of Fisheries Science(chief researcher) ·

†National Institute of Fisheries Science(director)

Abstract

This is study about trend of infection form of *Kudoa septempunctata* in cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). We performed two times of survey (from May 2016 to February 2017 and from May 2017 to September 2017) using PCR method and microscopic method. PCR positive samples had been constantly detected during the survey period, and the prevalence season was from July to October in 2016. However, spore was not detected with microscopic method from May to July, and it had been observed from September 2016 in the 1st survey. These trends are similar in the 2nd survey. In the histopathological examination, partial necrosis of muscle bundle and clump of macrophage around vessel were major findings in muscle tissue that revealed positive result at PCR method only. Moreover, various forms of plasmodial cells were examined from ISH (in-situ hybridization) reaction against muscle tissue that had not *K. septempunctata* spores.

Key words : ISH, *Kudoa septempunctata*, Morphological examination, *Paralichthys olivaceus*

I. 서론

점액포자충(Myxosporean)은 매우 광범위한 수
중생물을 숙주로 하는 후생동물 기생체(Metazoan
parasites)로써 그 생활사는 매우 복잡하다. 이들은

보통 두 개의 숙주를 거치는 것으로 알려져 있는
데 주로 어류와 지렁이류(ragworm)(El-Matbouli
and Hoffmann, 1998;Yokoyama, 2004)이다. 쿠도아
충(*Kudoa* spp.)과 같은 다낭성점액포자류

† Corresponding author : 051-720-2491 immu@korea.kr

※ 이 논문은 국립수산과학원(병리연구과 P2018013)의 연구지원으로 수행되었음.

(multivalvulid myxozoans)는 몇몇 해산어종의 근육에 기생하여 근육의 선도를 감소시키거나 경우에 따라서는 심한 근육액화(myoliquefaction)를 일으켜 상품가치를 떨어뜨린다(Matsukane et al., 2011; Yokoyama, 2016).

넙치에 기생하는 *Kudoa septempunctata*는 일반적으로 근육 내에서 포자(spores)의 형태로 관찰되는데 다량의 포자가 기생하는 부위의 근육을 사람이 날것으로 섭취했을 때 사람의 소화관에서 sporoplasm을 방출하면서 장상피 세포에 자극을 주어 설사나 구토증상을 유발하여 식중독 증상을 나타내는 것으로 보고하고 있다(Ohnishi et al., 2013b). 그러나 쿠도아 포자가 넙치의 근육 속에 기생하면서도 육안적으로 다른 병적 증상을 나타내지 않기 때문에 그 존재를 인지하지 못하는 경우가 대부분이다. 양식현장에서는 출하용의 크기로 육성시킨 넙치가 육안적으로 이상이 없었던 상태임에도 출하 직전의 사전검사서 쿠도아 감염이 확인되면 산업적 피해가 매우 커진다. 따라서 이를 방지하기 위하여 쿠도아 감염을 예방하고 치료하기 위한 연구가 지속적으로 진행되고 있다.

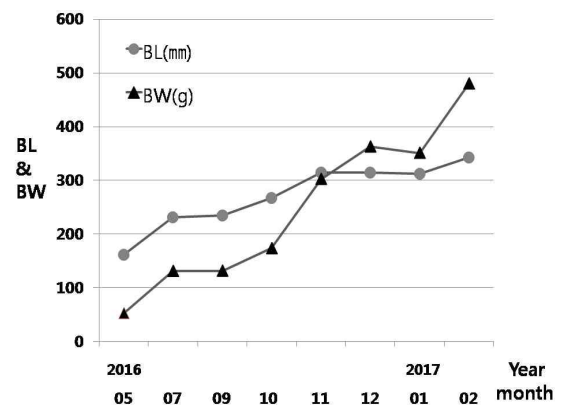
본 연구에서는 *K. septempunctata*의 감염이 확인된 넙치 양식장 1개소를 대상으로 넙치의 입식 시기부터 출하 시기까지, 주기적인 조사를 통하여 *K. septempunctata*에 대한 감염동향을 조사하였다. 근육 조직을 시료로 하여 *K. septempunctata*에 대한 PCR(Polymerase Chain Reaction) 검사를 실시하였으며 마쇄한 근육조직을 슬라이드에 도말 염색하여 현미경적 검사도 함께 실시하였다. 또한 근육 조직에 대한 병리조직학적, 분자조직학적 방법을 통하여 *K. septempunctata*가 넙치 근육 내에서 어느 시기에 많이 검출되며, 어떤 형태로 관찰되는지를 검토해보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 쿠도아 감염 현장 조사

2016년도 5월부터 2017년도 9월까지 쿠도아 감염이 확인되었던 양식장 1개소를 선정하여 *K. septempunctata*에 대한 감염조사를 총 두 차례에 걸쳐 PCR 검사법과 현미경적 검사법을 사용하여 실시하였다. 선정된 넙치양식장에서 여과 혹은 살균처리를 하지 않은 일반적인 자연해수를 사육수로 사용하는 한 개 수조를 지정하여 매월 시료 채취일을 하루 정하여 30마리씩 랜덤으로 채취하여 체장과 체중을 측정하고, 개체 별로 근육조직을 몸통 전체에서 골고루 채취하여 골고루 섞이도록 으깨어 분석에 냉동(-20℃)보관하였다가 분석에 사용하였다. 조사 기간 동안 조사 대상어의 수조이동은 하지 않도록 하였다.

1차 조사는 2016년도는 봄에 치어가 입식되는 시기인 5월부터 다음해 2월까지 성어로 출하되기까지 매월 시료를 채취하는 것을 목표로 하였으나, 6월은 샘플링을 하지 못하였고, 8월과 9월은 샘플링을 겸하여 9월 초순에 실시하였다. 1차 조사 기간 동안 조사 수조의 평균체중과 체장의 변화는 [Fig. 1]에 나타내었다. 2차 조사는 2017년도 5월부터 그 해 9월까지 매월 말경에 1차 조사와 같은 방법으로 조사를 실시하였다.



[Fig. 1] Increase lines of body length (BL) and body weight (BW) in the 1st survey

2. PCR검사 및 현미경적 검사

매월 30마리의 개체별 근육조직에 대한 PCR 검사와 현미경적 검사는 다음과 같이 실시하였다. PCR 검사방법은 개체별로 으갠 근육 0.25g을 1ml의 PBS에 곱게 마쇄하여 100 μ l를 DNA Mini kit(QIAGEN, USA)를 사용하여 근육조직으로부터 genomic DNA를 추출하고, 추출된 DNA를 주형으로 *K. septempunctata* 28S rDNA 가운데 356bp를 합성하는 PCR 검사법(Grabner et al., 2012)을 사용하였다. PCR 검사는 하나의 샘플에 대하여 2반복으로 실시하여 두 번 모두 양성 밴드가 확인된 샘플에 대하여 양성으로 판정하였다. 현미경적 검사법(Song et al, 2013)은 PCR 검사를 위해 마쇄한 근육 조직을 슬라이드글라스에 10 μ l 도말하여 자연건조 시킨 후 100% 에탄올로 고정하고 methylene blue로 염색, 세정, 건조 한 후 봉입제로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였으며, 슬라이드 한 장에 도말된 전체 염색면에서 포자가 한 개라도 관찰된 개체는 양성으로 하였다. 검출결과에 대한 경향분석은 포자검출율/PCR검출율과 PCR검출율/포자검출율을 환산하여 비율(ratio)로 나타내었다.

3. 조직학적 검사

검사 대상은 PCR 검사에서 양성을 나타내면서 현미경적 검사로 포자가 관찰되지 않았던 개체(2017년도 8월과 9월에 각 3마리씩, 체장 22.4 \pm 1.0cm, 체중 122.7 \pm 16.9g)와 PCR 검사에서 양성을 나타내면서 현미경적 검사에서 포자가 다수 확인된 개체(2017년도 8월과 9월에 각 3마리씩, 체장 24.2 \pm 2.0cm, 체중 144.7 \pm 43.0g)를 구분하였으며, 이들 가운데 10% 중성포르말린에 고정된 근육조직을 선별하여 염색 슬라이드표본을 제작하기 위한 일련의 처리과정을 거쳐 근육조직에 대한 Hematoxylin and Eosin(H&E)염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다. 고정한 근육 조직에 대한 조직처리 과정은 다음과 같다. 조직

표본 제작을 위해 세절(약 8 \times 2 mm 전후)하여 10% 중성포르말린에 2차 고정하고 18~24 h 이내에 수세(3~5h)한 후 단계별 알콜(60~100%)에 탈수하고, xylene에 투명화 과정을 거친 후 파라핀 침투시켜 파라핀 조직블럭을 제작한다. 마이크로톰(RM2035, Leica)으로 4 μ m 두께의 조직절편을 잘라 슬라이드글라스에 부착하고 건조시킨 후 (45~50 $^{\circ}$ C), H&E염색을 실시하여, 봉입한 후 광학현미경(Axio ImagerA1, ZEISS)으로 관찰하면서 영상촬영 시스템(Zen2012, ZEISS)으로 이미지를 캡처하였다.

4. ISH(in-situ hybridization)법 적용

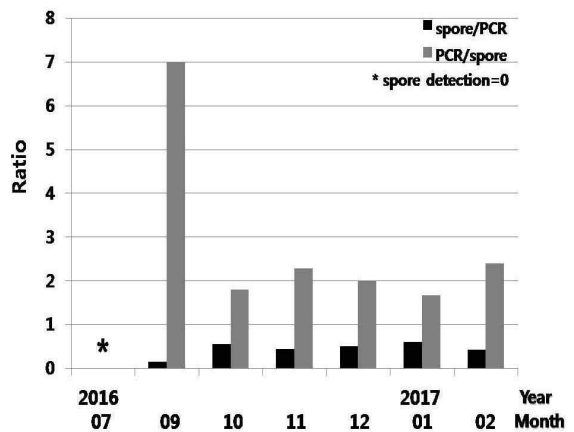
ISH를 위한 Dig labeling probe의 합성에는 본 연구실에서 디자인한 *K. septempunctata*의 5.8S-ITS2(GeneBank accession No. LC028894)의 일부분인 185bp에 대한 프라이머 set (Left 3'-AGCGCCTAGTGAGTCATTGA-5', Right 3'-ATCCAACACAACACTGCCGAAC-5')을 사용하였다. *K. septempunctata* 양성 genomic DNA를 주형으로 Ex Taq polymerase-HS(Hot start Version) 와 2.5 mM dNTP mixture set(TAKARA)를 사용하여 annealing 온도 59 $^{\circ}$ C로 하여 1차 PCR을 실시하고, 여기서 얻어진 생성물을 주형으로 다시 같은 polymerase와 Dig labeling mixPLUS(Roche)를 사용하여 2차 PCR을 실시하여 Dig labeling PCR product를 제작하였다. 조직절편은 상법에 따라 포르말린 고정된 근육조직으로 파라핀 절편을 제작하여 알려진 방법(Lee et al., 2009, Do et al., 2013)에 따라 Hybridization을 실시한 후, BCIP/NBT로 발색시켜 glycerol로 봉입하여 즉시 관찰하거나, Bismark brown Y로 분별염색하여 봉입제로 봉입하여 건조, 보관하였다가 광학현미경(Axio ImagerA1, ZEISS)으로 관찰하면서 영상촬영 시스템(Zen2012, ZEISS)으로 이미지를 캡처하였다.

III. 결 과

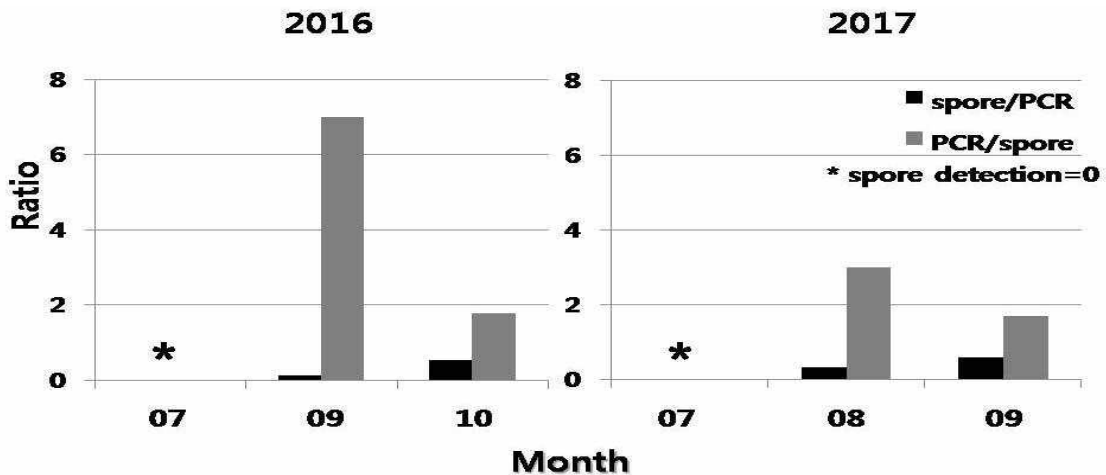
1. 감염형태의 변화 분석

2016년 5월부터 2017년 9월까지 *K. septempunctata* 의 감염 조사를 2회에 걸쳐 실시한 결과, 1차 조사였던 2016년 5월부터 2017년 2월까지의 PCR 검사 결과에서는 *K. septempunctata* 는 조사가 시작된 5월부터 검출되어 9월까지 지속적으로 증가하며 검출되었다. 10월 이후로는 감소하였으며 겨울철로 들어서는 12월부터는 급격히 감소하여 다음해 2월까지 유사한 정도를 유지하면서 검출되었다. 현미경적 검사의 경우에는 7월까지 검사에서는 포자가 관찰되지 않았지만 9월에 검출이 시작되어 10월에 조금 증가하였다가 이후로 낮아지면서 2월까지 지속적으로 검출되는 것을 확인할 수 있었다(data not shown). [Fig. 2]에서 나타나는 것과 같이 포자검출에 비해서 PCR검출이 월등히 높은 때는 9월초였으며, 포자검출은 9월초부터 나타나지만 10월이 가장 높았다. 그러나 PCR검출도 함께 낮아져서 포자검출율과 PCR검출율의 상대적인 비율은 10월 이후로

유사하게 나타났다. 포자검출은 9월부터 다음해 2월까지 지속적으로 나타났지만 PCR 검사의 양성개체보다 현미경적 검사에서 양성 개체가 수적으로 적어 포자 검출의 상대적 비율이 PCR 검출의 상대적 비율보다 낮은 것을 그림으로 알 수 있다([Fig. 2]).



[Fig. 2] The ratios of Spore detection rate/PCR detection rate and PCR detection rate/Spore detection rate.

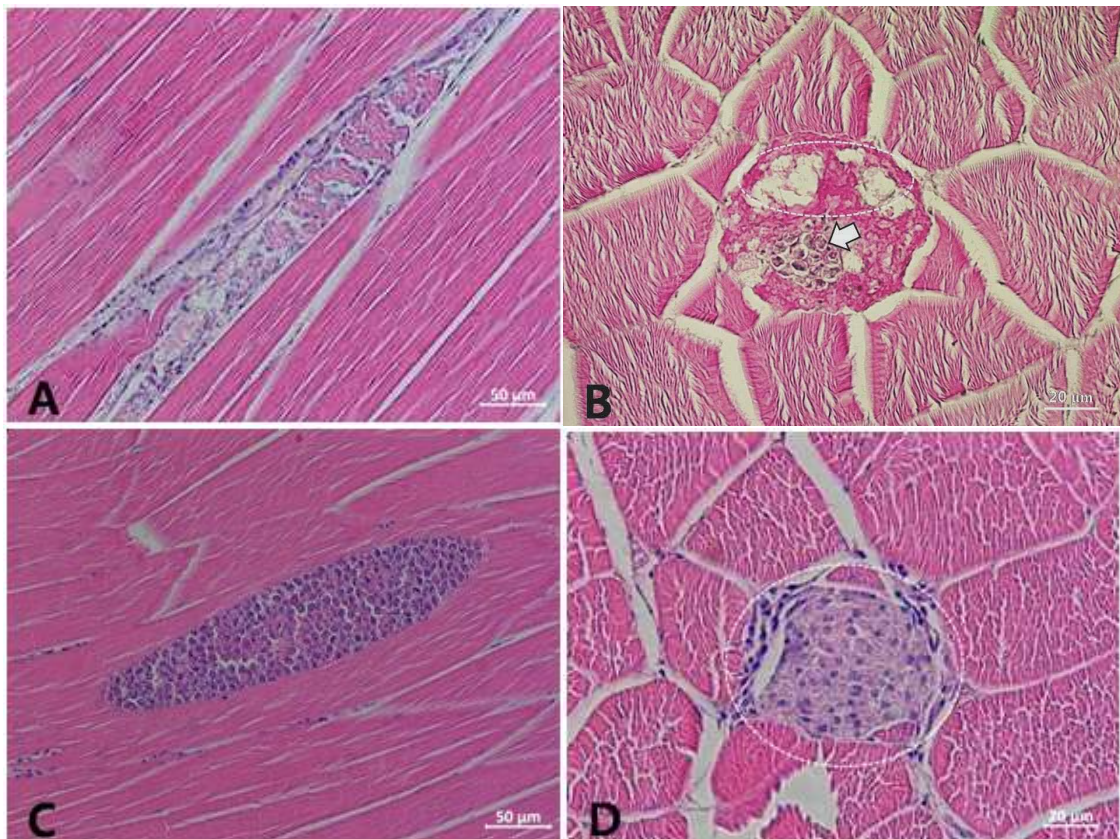


[Fig. 3] The ratio of Spore detection rate/PCR detection rate and PCR detection rate/Spore detection rate. The results from Summer to Autumn in 2016 and 2017.

1차 검사에서 *K. septempunctata*에 대한 PCR 검출은 5월부터 시작되어 가장 높게 나타난 시기는 7월이었으며, 포자는 7월까지는 검출되지 않았고 9월 초에 검출되기 시작하였다(data not shown). 2차 검사에서는 PCR 검출이 7월부터 나타나기 시작하여 8월이 가장 높았으며, 포자는 8월부터 관찰되기 시작하여 검사가 종료되는 9월에 높게 나타났다(data not shown). *K. septempunctata*에 대한 PCR 검사와 현미경적 검사를 통하여 유전자와 포자가 검출되기 시작하는 시기는 1~2개월의 기간 차이를 두고 나타나는데, 이러한 동향은 2016년도와 2017년도 유사하게 나타나는 것으로 확인되었다(Fig. 3).

2. 조직학적 관찰

PCR 검사에서 양성 밴드가 확인된 개체의 근육 조직의 경우, 현미경적 검사에서 포자관찰의 여부와 상관없이 한 개의 근육 다발에 국한된 근육괴사가 정도의 차이를 보이며 관찰된다(Fig. 4A). PCR 검사와 현미경적 검사에서 모두 양성인 근육 조직의 경우, 근육 괴사와 pseudocyst 형성이 관찰되며 같은 근육 다발 내에서 포자 형성과 근육 괴사가 같이 관찰되기도 한다(Fig. 4B). 이들 중 포자수가 많은 감염체의 경우, plasmodial wall에 둘러싸인 포자의 pseudocyst가 형성되어 주위의 정상적인 근육 조직과 완벽하게 구분되어



[Fig. 4] A: Myoliquafaction in a bundle of muscle tissue, B: Early stage of pseudocyst(arrow) and myoliquafaction(circle) in a bundle of muscle tissue, C: Pseudocyst in a bundle of muscle tissue, D: Mass of macrophages(circle) around vessel in muscle tissue.

뚜렷한 pseudocyst가 관찰된다([Fig. 4C]). PCR 검사에서 양성이지만 포자가 관찰되지 않는 근육조직의 일부는 근육조직 사이의 혈관주위에서 대식세포(macrophages)의 집합체가 관찰되기도 한다([Fig. 4D]).

3. ISH 반응성

PCR 검사에서만 양성을 나타낸 근육 조직에 대하여 ISH를 실시하여 관찰한 결과, H&E염색에서 근육 피사를 나타내는 근육다발([Fig. 5A]) 내에는 옅은 ISH양성반응의 세포들이 다양한 형태로 관찰되는 것을 알 수 있었다([Fig. 5B]). PCR 검사에서 약한 양성을 나타내는 근육 조직의 경우에도 ISH를 실시하여 양성반응을 나타내는 다양한 형태의 세포들을 관찰할 수 있었는데, 세포 내에 핵 파편처럼 염색되어 관찰되는 5 μ m 보다 작은 크기의 세포(pseudoplasmodia) ([Fig. 5C]), 세포 내 공포와 같은 핵을 가지는 무정형의 세포(monosporic pseudoplasmodia) ([Fig. 5D]), 작은 핵을 가지는 무정형의 세포(plasmodia)([Fig. 5E]), 그리고 타원형의 큰 공포와 같은 핵을 가지는 형태(monosporic plasmodia)([Fig. 5F]) 등의 다양한 형태의 세포가 관찰되었다.

4. 마쇄한 근육조직 염색

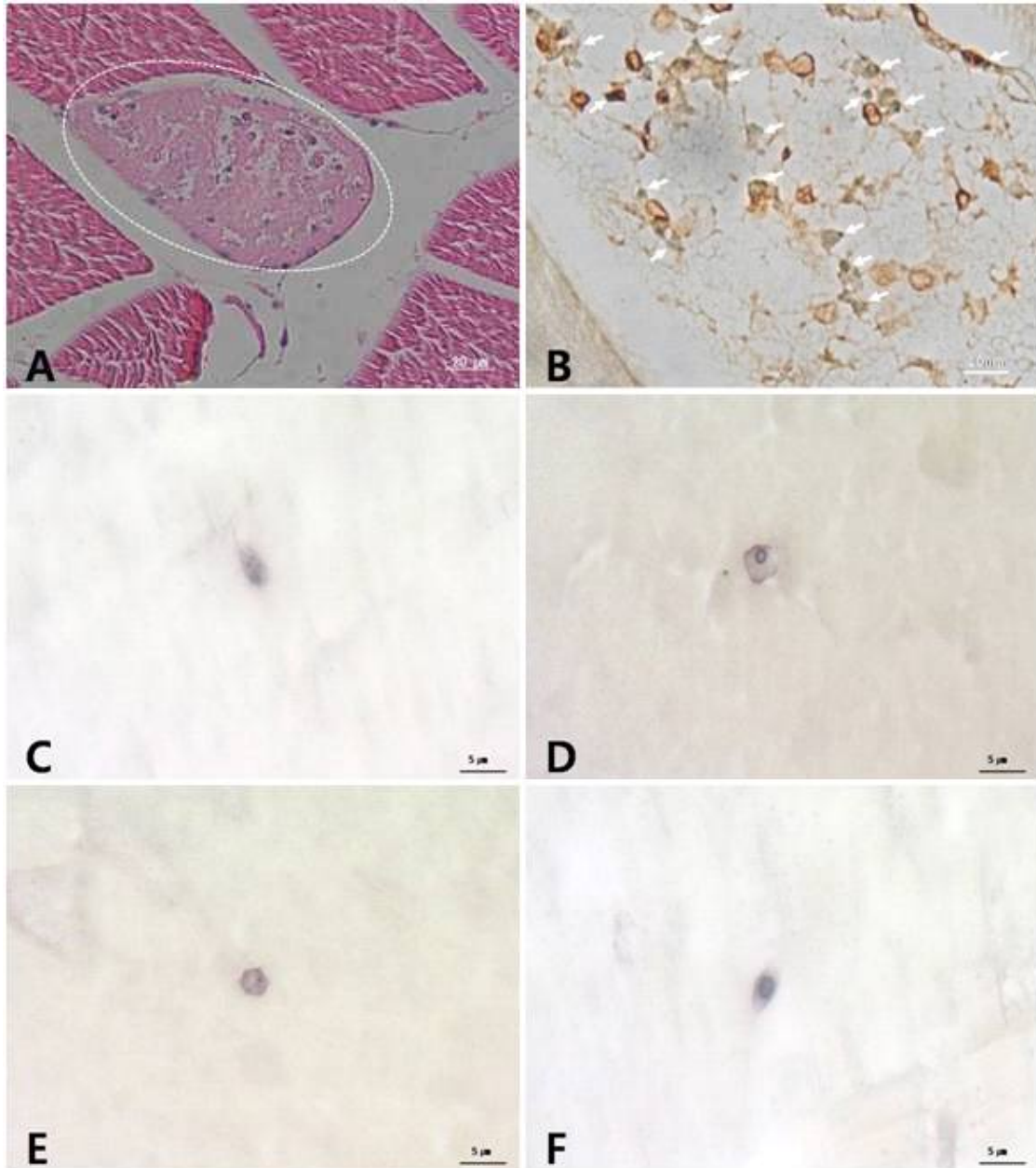
PCR 검사에서 양성 밴드가 뚜렷하게 관찰되었으나 현미경적 검사에서 포자가 관찰되지 않았던 근육 조직의 경우, 마쇄한 조직을 슬라이드에 도말하여 methylene blue 염색하였을 때, 직경 10 μ m 보다 작은 구형 내지는 무정형의 작은 세포([Fig. 6A])와 15 μ m 정도의 비교적 큰 세포가 관찰되었으며, 큰 세포의 경우, 세포질 내부에 구형의 내재 세포가 다수 존재하는 경우도 있었다([Fig. 6B]).

IV. 고 찰

양식 넙치의 근육에 감염된 *K. septempunctata*

의 감염 조사에 대한 결과에 따르면, PCR 검사에서 감염이 확인되기 시작하는 시기와 현미경적 검사에서의 포자관찰이 시작되는 시기가 다른 것으로 확인되었다. 검출 동향으로 추이하면, 포자 이전 단계인 미지의 영양체(plasmodium) 형태로 붉은 넙치 체내로 감염되어 여름철에 가장 많은 수가 넙치에 감염 또는 증식하여 영양체(plasmodium)가 생존하거나 사멸하면서 8~10월에 변형하여 어체 내에서 포자 형성이 이루어지고 겨울동안 넙치의 근육 내에서 살아남아 유지되는 포자가 pseudocyst의 형태로 기생하면서 지속적으로 검출되는 것으로 보인다.

해산어에서 근육에 감염을 일으키는 점액포자충은 multivalvulid-myxospores로 근육피사로 어체를 폐사에 이르게 하는 일은 매우 드물지만, Atlantic menhaden의 경우, 체표케양의 원인으로 근육에 기생하는 *Kudoa chupeidae*가 관련이 있으며 이들의 영양체(plasmodia) 감염을 원인으로 설명하고 있다(Reimschuessel et al. 2003). 넙치 쿠도아 감염의 조직학적 관찰에서 특이적으로 관찰할 수 있는 근육 내 포자덩어리(pseudocyst)는 한 개의 근육다발(muscle bundles) 내에서 하나씩 형성한다. 포자가 형성되기 전에는 한 개의 근육다발에 국한되어 근육피사가 나타나는 것을 확인할 수 있었으며, 피사된 근육조직 주위에 염증반응은 관찰되지 않았다. 포자로 성숙되기 이전단계인 영양체가 근육조직 내에서 다양한 형태로 존재하다가 근육다발 내에 자리를 잡고, 이 부위에 근육이 피사되면서 경미한 근육액화(myoliquefaction)를 유도하며 포자로 성숙되는 것으로 짐작할 수 있다. 성숙포자가 근육 내에서 발달되어 pseudocyst로 자리를 잡으면 근육피사가 있었던 부위는 점차 회복되고, pseudocyst가 명확하게 형성된 주변의 근육조직은 완벽하게 회복된 정상적인 근육조직으로 관찰되었다. Ohnishi 등 (2013a)에 의해 보고된 전자현미경(TEM) 관찰내용에 따르면 pseudocyst 내에는 성숙된 포자(spores) 뿐 아니라 포자모세포(sporoblasts)가 공존



[Fig. 5] A: Necrotized muscle bundle (circle), H&E stain. B: Necrotized muscle bundle reacted ISH (Counter stained with Bismark Brown Y), arrows are ISH positive cells, C~F: ISH positive cells in muscle tissue.

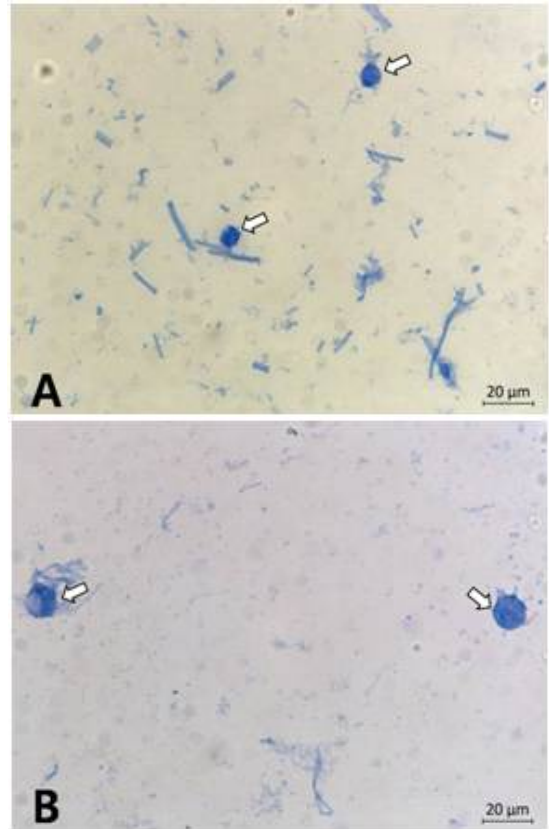
하며, 감염발달시기에 따라 성숙포자와 포자모세포의 비율이 다르게 나타나는 것을 확인하였다.

또한 본 연구에서 감염근육조직에는 대식세포의 집락이 다수 관찰되었는데([Fig. 4D]), 이는 영양체와 같은 포자이전 단계의 기생세포가 숙주의

대식세포(macrophage)에 의해 탐식되고 이 대식세포들이 군집을 만들어 근육조직 내의 혈관주변에서 밀집되어 관찰되기 때문으로 보인다. 성숙포자가 많아지고 pseudocyst의 형태가 완전해 질수록 주위 근육조직이 정상화 되는 것을 확인할 수 있는데, 이는 pseudocyst가 숙주에 영향을 주지 않고 숙주 조직 내에 기생하는 것으로 판단할 수 있다. 이상과 같이 근육 내 피사부위나 pseudocyst 주위로 염증세포반응이 관찰되지 않는 것은 *K. septempunctata*에 대한 숙주의 면역반응이 활발하지 않다는 것을 짐작할 수 있으며, 근육피사 이전에 영양체에 대하여 1차적으로 작용하는 비특이적 면역반응의 하나인 대식세포의 반응이 유일한 숙주반응이라는 것을 조직학적 관찰을 통해 알 수 있었다. 그러므로 양식넙치의 비특이 면역계가 상시 유지될 수 있도록 어체의 건강관리에 힘써야 할 것으로 판단된다.

넙치 조직에서 PCR 검사와 조직학적 검사를 통하여 넙치에서 *K. septempunctata*의 검출형태에 대하여 조사한 선행 연구(Do et al., 2017a)에서도 언급한 것처럼, PCR 검사 결과에서는 양성밴드가 관찰되지만 근육 내 포자의 형태가 관찰되지 않는 개체가 확인된다. 본 연구에서 이러한 근육조직에 대하여 ISH 반응을 관찰한 결과, 포자가 관찰되지 않는 근육조직 내에서도 ISH 양성반응을 나타내는 다양한 형태의 세포들이 관찰 되었고 ([Fig. 5 B~F]), 이는 봄에서 초여름(5~7월)까지 포자가 형성되기 이전에 관찰할 수 있는 다양한 형태의 *K. septempunctata* 의 영양체로 짐작할 수 있다.

이상의 결과는 약제사용에 대한 고찰에도 유용할 것으로 생각된다. *K. septempunctata* 가 성숙포자일 경우에는 다양한 비활성 처리에도 구제가 힘들다는 것을 알 수 있었다(Do et al. 2017b.). 이는 포자가 검출되기 시작하는 8월 이후에는 약제를 사용한 치료 효과를 기대하기 힘들다는 것을 생각할 수 있으며, 이는 PCR 검사에서 감염



[Fig. 6] Smear samples of minced muscle that revealed the positive response only at PCR method(Methylene blue staining). A: Small size plasmodium(arrows), B: Large size plasmodium(arrows).

이 확인되더라도 포자가 확인되지 않는 시기(6월~8월)에 구제를 위한 약제를 사용함으로써 조직 내에 기생하는 쿠도아충의 원형질성 세포(plasmodia)를 대상으로 구제하는 것도 쿠도아 포자의 근육 내 증생을 방지할 수 있는 방법이라 여겨진다.

또한 이후 *K. septempunctata* 감염증과 관련한 다양한 연구방법의 적용으로 산업적으로는 물론 주변생태계와의 연관성에 관한 지속적인 연구도 필요할 것으로 생각된다.

References

- Do JW, Cho M, Jung SH and Lee N-S(2017a). A study about analysis results for *Kudoa septempunctata*(Myxosporea:Multivalvulida) in tissue at Olive flounder, using PCR and histological Methods. Korean Journal of Environmental Biology 35, 468~475.
<http://doi.org/10.11626/KJEB.2017.35.4.468>
- Do JW, Cho M, Jung SH and Lee N-S(2017b). Study about activity change of *Kudoa septempunctata* against various inactivated treatments. Korea Fisheries Science General meeting, the 2017 autumn Conference
- Do JW, Lee, N-S, Jung, SH, Kim KK, Choi HS, Park JW and Kim YC(2013). Hispopathologic characterization of viral pathogens in cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, using in-situ hybridization methods, Journal of Fish Pathology 26, 163~171.
<http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2013.26.3.163>
- El-Matbouli M and Hoffmann RW(1998). Light and electro microscopic studies on the chronological development of *Myxobolus cerebralis* to the actinosporean stage in *Tubifex tubifex*. International Journal of Parasitology 28, 195~217.
[http://doi.org/10.1016/s0020-7519\(97\)00176-8](http://doi.org/10.1016/s0020-7519(97)00176-8)
- Grabner D, Yokoyama H, Shirakashi S and Kinami, R. (2012). Diagnostic PCR assays to detect and differentiate *Kudoa septempunctata*, *K. thyrsites* and *K. lateolabracis*(Myxozoa, Multivalvulida) in muscle tissue of olive flounder(*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture 338, 36~40.
<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.022>
- Lee N-S, Do JW, Kim YC and Park JW(2009). Characterization of virus distribution in rock bream(*Oplegnathus fasciatus*;Temminck and Schlegel)infected with Megalocytivirus. Journal of Comparative Pathology 141, 63~69.
<http://doi.org/10.1016/j.jcpa.2009.03.008>
- Matsukane Y, Sato H, Tanaka S, Kamata Y and Sugita-Konishi Y(2011). *Kudoa iwatai* and two novel *Kudoa* spp., *K. trachuri* n. sp. & *K. thunni* n. sp.(Myxosporea:Multivalvulida), from daily consumed marine fish in western Japan. Parasitology Research 108, 913~926.
<http://doi.org/10.1007/s00436-010-2133-2>
- Ohnishi T, Furusawa Hi, Yoshnari T, Yamazaki A, Horikawa K, Kamata Y and Sugita-Konishi Y(2013a). Electron microscopic study of *Kudoa septempunctata* Infecting *Paralichthys olivaceus* (Olive Flounder) Japanese Journal of Infectious Diseases 66, 348~350.
<http://doi.org/10.7883./yoken.66.348>
- Ohnishi T, Kikuchi Y, Furusawa H, Kamata Y and Sugita-Konishi Y(2013b). *Kudoa septempunctata* invasion increases the permeability of human intestinal epithelial monolayer. Foodborne Pathogens and Disease 10, 137~142.
<http://doi.org/10.1089./fpd.2012.1294>
- Reimschuessel R, Giesecker C.M, Driscoll C, Baya A, Kane AS, Blazer VS, Evans JJ, Moran JDW and Poynton SL(2003). Myxosporean plasmodial infection associated with ulcerative lesions in young-of-the-year Atlantic menhaden in a tributary of the Chesapeake Bay, and possible links to *Kudoa* clupeidae. Disease of Aquatic Organisms 53, 143~166.
<http://doi.org/10.3354./dao053143>
- Song JY, Choi J-H, Choi H-S, Jung S- and Park MA(2013). Monitoring of *Kudoa septempunctata* in cultured olive flounder and wild fish in Jeju Island during 2012. Journal of Fish Pathology 26, 129-137.
<http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2013.26.3.129>
- Yokoyama Hiroshi(2004) Life cycle and evolutionary origin of myxozoan parasites of fishes. Japanese Journal of Protozoology. 37, 1~9.
http://doi.org/10.18980/jjprotozool.37.1_1
- Yokoyama Hiroshi(2016). Kudoosis of Marine fish in Japan. Fish Pathology 51, 163~168 (Japanese).
<http://doi.org/10.3147./jsfp.51.163>

-
- Received : 24 December, 2018
 - Revised : 28 January, 2019
 - Accepted : 01 February, 2019