

수온 상승에 따른 북방전복, *Haliotis discus hannai*과 둥근전복, *H. discus discus* 체액의 생리학적 변화

민은영, 이정식¹, 김재원², 전미애¹, 강주찬³

부경대학교 수산과학연구소, ¹전남대학교 수산생명의학과, ²강원도립대학 해양생명과학과,
³부경대학교 수산생명의학과

Influence of Elevated Temperatures on the Physiological Response of Hemolymph from Two Species of the Abalone, *Haliotis discus hannai* and *H. discus discus*

Eun-Young Min, Jung Sick Lee¹, Jae Won Kim², Mi Ae Jeon¹ and Ju-Chan Kang³

Institute of Fisheries Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

¹*Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea*

²*Department of Marine Life-Science, Gangwon Provincial College, Gangneung 210-804, Korea*

³*Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea*

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effects of elevated water temperature (WT) on biochemical and immunological factors in the hemolymph of the abalones, *Haliotis discus hannai* and *H. discus discus*. The abalone were exposed to various WT; 20, 22, 24, 26 and 28 °C for 4 days. In the control and 20 °C, total-protein (TP), glucose and calcium (Ca) in hemolymph of *H. discus discus* were higher than the values in *H. discus hannai*. The values of magnesium (Mg), alkaline phosphatase (ALP) and lysozyme in *H. discus hannai* were similar to the *H. discus discus* in the control. There were no significant alterations in TP, glucose and Mg levels of hemolymph in *H. discus hannai* and *H. discus discus* by WT increases. The values of Ca, ALP and lysozyme were increased in *H. discus hannai* exposed to the high temperature (26 and 28 °C) compared to control, while the values in *H. discus discus* were not significant difference between the WT groups. The phenoloxidase (PO) activity was increased in hemolymph of *H. discus hannai* exposed to high temperature (≥ 24 °C) compared to the control ($P < 0.05$). These physiological and immunological parameters were significantly changed in *H. discus hannai*. However, these parameters in *H. discus discus* were barely altered at the high WT ($P < 0.05$). These results suggested that *H. discus hannai* is considered to be more sensitive than *H. discus discus* at the high WT.

Key words: *Haliotis discus hannai*, *H. discus discus*, hemolymph, physiological, immunological parameters

서론

Received: February 13, 2015; Revised: March 23, 2015;
Accepted: March 30, 2015

Corresponding author : Ju-Chan Kang

Tel: +82 (51) 629-5944 e-mail: jckang@pknu.ac.kr
1225-3480/24560

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.

우리나라는 2010년, 6,228톤의 양식산 전복을 생산하여 세계 2위의 전복류 생산국으로 주목을 받고 있으며, 현재는 소형종인 오분자기 (*Haliotis diversicolor supertexta*), 난류종인 말전복 (*H. gigantea*), 둥근전복 (*H. discus discus*) 과 한류종인 북방전복 (*H. discus hannai*) 등을 주로 남해안 및 제주도 연안에서 생산하고 있다 (KNSO, 2011). 이러한 급격한 전복 생산량의 향상은 해상가두리 육성법을 이용한 대량생산체

제가 구축되었기 때문이나, 이는 최근 급변하는 해양 환경조건에 그대로 노출된다는 단점이 있다 (Park *et al.*, 2011). 특히 전복류는 환경변화에 대응하여 회피할 수 있는 어류와는 달리 이동이 매우 제한적이므로 급격한 환경변화에 노출될 경우, 매우 심각한 영향을 받는다.

최근 한국의 연근해 수온의 장기변동에 관한 연구에서는 우리나라의 동, 서 및 남해역의 표층 수온이 지속적으로 상승하고 있다고 보고하였다 (Seong *et al.*, 2010). 이에 따라, 여러 연구에서 수온 급변이 스트레스 요인으로 작용하여 생체 내 대사, 혈액 성분 및 면역력과 같은 수산생물의 생리적 변화를 초래하였다는 보고가 있다 (Ryan, 1995; Chang *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2013; Baek *et al.*, 2014; Min *et al.*, 2014a, b). 또한, Yang *et al.* (2012) 은 전남 완도 전복 양식장 해역의 수온변동에 관한 연구에서, 연간 수온변동 범위와 수온 증가율이 연안 해역이 외해에 비해 크게 나타난 관계로 외해가 전복 양식장으로 더욱 적절하다고 제시하였으며, 전복 양식장의 수온에 대한 연구가 더욱 필요하다고 보고한 바 있다. 특히 어린 전복의 생존율과 먹이 섭취율이 수온과 매우 밀접한 관계가 있으므로 전복의 생산량 증대를 위해서도 수온 변동을 이해할 필요가 있다 (Yoo, 1986).

급격한 수온 변화로 인한 스트레스는 생리학적 방어기작이 한계에 도달하여 양성생물이 폐사에 이르기에도 하며 (Kim *et al.*, 2005), 생체 내 활성산소류 (ROS, reactive oxygen species) 발생을 증가시킨다 (Stohs *et al.*, 2000; Firat *et al.*, 2009). 이러한 물질에 대한 생체 방어기작을 하는 기관으로 간체장 및 순환계가 있으며, 혈림프 (hemolymph) 와 혈구 세포 (hemocytes) 가 그 기능을 담당한다. 복족류는 개방혈관계로, hemolymph는 모든 조직 사이를 순환하면서 상처 치유, 폐각 재생, 영양분 소화 및 분비물 배설 등 다양한 기능을 수행하며, 체액성 및 세포성 면역 성분도 포함하고 있다 (Cheng, 1981; Ashida and Yamazaki, 1990). 그 중 phenoloxidase (PO) 와 lysozyme은 비특이적 면역반응의 한 형태로 나타나며, 온도와 염분 등 외부 환경에 따라서 그 활성이 달라지는 것으로 알려져 있다 (Feng and Canzonier, 1970; Anderson *et al.*, 1981; Siiderhall *et al.*, 1994).

최근에는 환경내성 및 생산효율이 높은 우량품종 개발을 위한 연구가 활발히 진행 중에 있다. 우량품종 개발을 위해서는 우선 전복류, 동종간의 생리학적 차이를 이해할 필요성이 있다. 본 연구는 한국의 주요 양식 산업종인 북방전복 (*H. discus hannai*) 과 둥근전복 (*H. discus discus*) 을 대상으로, 급격한 수온 증가에 의한 hemolymph 내의 생리학적 및 면역학적 인자의 변화를 검토하여 우량품종 개발을 위한 기초 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험생물

본 실험에 사용한 북방전복 (각장 48.3 ± 2.4 mm, 전중 17.8 ± 2.2 g) 은 완도 소재의 양식장으로부터 분양받아 부경대학교에서 시험하였고, 둥근전복 (각장 81.32 ± 12.0 mm, 전중 44.52 ± 7.0 g) 은 제주 해양수산연구원에서 분양 및 협조를 받아 시험하였다. 시험에 사용한 전복은 외관상 건강한 개체를 선택하여 실시하였다.

2. 실험조건

실험 전복은 20℃에서 2주 동안 순치시킨 후, 20, 21, 22, 24, 26 및 28℃의 수온 스트레스를 각각 주었으며, 96시간 동안 실험하였다. 실험은 부분 환수식 방법으로 실시하였고, 실험에 사용한 해수 수질은 Table 1과 같다. 먹이는 실험 시작 전날 절식하여 실험기간 동안 공급하지 않았다. 노출 후 혈림프동 (hemolymph sinus) 에서 hemolymph를 채취 한 뒤, 분석 전까지 상등액을 -70℃에 보관하였다.

3. Hemolymph 유기 및 무기성분 분석

혈청 유기성분인 glucose는 oxidase 및 peroxidase (GOD/POD) 법으로, 총 단백질 (total protein) 은 Biuret법을 바탕으로 한 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.) 로 분석하였다. 혈청 무기성분인 칼슘과 마그네슘은 각각 ortho-cresol-phthalein-complexone (OCPC) 법과 Xylidyl blue법에 의해 분석하였고, 시판되고 있는 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.) 를 이용하였다.

4. Hemolymph 효소 분석

Hemolymph 효소 활성은 phenoloxidase (PO), alkaline

Table 1. The chemical components of seawater used in this experiments

Item	Value
Room temperature (°C)	20.0 ± 1.5
pH	8.2 ± 0.1
Salinity (‰)	33.2 ± 0.2
Dissolved oxygen (mg/L)	7.0 ± 0.3
Chemical oxygen demand (mg/L)	1.3 ± 0.3
Ammonia (μg/L)	8.7 ± 0.8
Nitrite (μg/L)	5.9 ± 0.2
Nitrate (μg/L)	15.2 ± 0.7

phosphatase (ALP) 및 lysozyme 활성을 분석하였다.

PO 활성은 Asokan *et al.* (1997) 의 방법을 따라서 분석하였다. 0.1M phosphate buffer, pH 6.0에 2mM L-DOPA를 넣고 혼합한 뒤, 이 혼합액과 시료를 넣고 490 nm에서 10분간 흡광도를 측정하여, 흡광도 값이 1분에 0.001의 변화를 1 Unit로 정의하였다. 단위는 Unit/min/mg protein 으로 나타내었다. ALP는 Kind-king법을 이용한 시판용 kit (Asan Pharmaceutical. Co., Ltd. Korea) 를 이용하여 측정하였다. 아래의 식에 따라 검량선에서 ALP 값을 구하여 ALP 활성치를 계산하였다.

$$\text{ALP 활성치 (A-K 단위)} = \frac{\text{검체의 흡광도}}{\text{표준의 흡광도}} \times 20$$

Lysozyme 활성은 Hutchinson and Manning (1996) 의 방법에 따라, *Micrococcus lysodeikticus* (0.3 mg/ml 0.05 PBS buffer, pH 6.0, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 를 기질로 이용하였다. 표준 곡선은 hen egg white lysozyme (Sigma-Aldrich) 를 이용하여 만들어 450 nm에서 10분간 흡광도의 변화량을 측정하였다. Lysozyme의 활성은 Unit/min/mg protein으로 나타내었다.

5. 유의성 검정

실험 결과의 통계 처리는 SPSS 통계프로그램 (version 12.0) 을 이용하여 ANOVA test를 실시하고, 사후검정으로 Duncan's multiple range test를 통해 P < 0.05일 때 유의

성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. Hemolymph의 유기 및 무기성분

수온 증가에 따른 북방전복과 동근전복의 hemolymph의 유기성분인 total-protein (TP) 와 glucose의 변화를 Table 2 에 나타냈다. 대조구인 수온 20℃에서 북방전복의 hemolymph TP 농도는 2.389 ± 0.11 g/dL이며, 동근전복은 2.802 ± 0.18 g/dL으로 북방전복보다 약 1.17배 높았다. 수온 20℃에서 북방전복의 glucose 농도는 18.297 ± 0.95 mg/dL이었고, 동근전복은 30.172 ± 2.388 mg/dL으로 북방전복보다 1.65배 높았다. 수온 증가에 따른 TP와 glucose는 두 전복 모두에서 유의적인 차이가 없었다 (P > 0.05).

수온 증가에 따른 두 전복의 hemolymph의 무기성분인 칼슘과 마그네슘의 변화를 Table 3에 나타냈다. 대조구에서 북방전복과 동근전복의 hemolymph 내 마그네슘 농도는 20-23 mg/dL 수준으로 종 차이에 따른 유의한 차이는 없었으나, 칼슘 농도는 북방전복이 35.97 ± 3.05 mg/dL, 동근전복이 47 ± 2.43 mg/dL으로 약 1.3배 정도 높았다. 수온 증가에 따른 마그네슘 농도는 두 전복 모두에서 유의적인 차이를 보이지 않았지만 (P > 0.05), 북방전복의 칼슘은 대조구에 비해 28℃ 구간에서 유의한 증가를 보였다 (P < 0.05).

2. Hemolymph의 효소활성

수온 증가에 따른 북방전복과 동근전복의 hemolymph 효

Table 2. Changes of organic components in hemolymph of abalone, *Haliotis discus hannai* and *H. discus discus* exposed to various water temperatures for a four-day time period

Temperature (°C)	Components	<i>Haliotis discus hannai</i>	<i>Haliotis discus discus</i>
20	Total-protein (g/dL)	2.389 ± 0.11 ^a	2.802 ± 0.18 ^b
21		2.352 ± 0.12 ^a	2.923 ± 0.19 ^b
22		2.352 ± 0.13 ^a	2.879 ± 0.24 ^b
24		2.364 ± 0.06 ^a	2.998 ± 0.21 ^b
26		2.407 ± 0.09 ^a	2.622 ± 0.14 ^{ab}
28		2.402 ± 0.07 ^a	2.743 ± 0.21 ^b
20	Glucose (mg/dL)	18.297 ± 0.95 ^a	30.172 ± 2.38 ^b
21		20.108 ± 1.04 ^a	30.529 ± 2.33 ^b
22		19.565 ± 0.83 ^a	34.452 ± 1.75 ^b
24		19.746 ± 0.48 ^a	33.909 ± 1.84 ^b
26		20.289 ± 0.68 ^a	33.761 ± 1.95 ^b
28		18.478 ± 1.08 ^a	33.934 ± 1.77 ^b

Values with different superscript are significantly different (P < 0.05) from control according to Duncan's multiple range test.

Table 3. Changes of inorganic components in hemolymph of abalone, *Haliotis discus hannai* and *H. discus discus* exposed to various water temperatures for a four-day time period

Temperature (°C)	Components	<i>Haliotis discus hannai</i>	<i>Haliotis discus discus</i>
20	Calcium (mg/dL)	35.97 ± 3.05 ^a	47.00 ± 2.43 ^b
21		35.97 ± 3.05 ^a	46.09 ± 2.38 ^b
22		35.27 ± 0.47 ^a	42.56 ± 5.34 ^b
24		35.29 ± 3.39 ^a	47.15 ± 4.13 ^b
26		39.93 ± 3.79 ^{ab}	47.37 ± 3.30 ^b
28		42.42 ± 3.07 ^b	50.24 ± 4.93 ^b
20	Magnesium (mg/dL)	23.44 ± 1.26 ^a	20.47 ± 3.12 ^a
21		23.23 ± 2.12 ^a	21.31 ± 2.27 ^a
22		22.89 ± 1.45 ^a	20.73 ± 3.09 ^a
24		22.19 ± 1.11 ^a	22.11 ± 2.17 ^a
26		21.02 ± 2.35 ^a	23.22 ± 2.69 ^a
28		20.73 ± 2.94 ^a	22.89 ± 2.32 ^a

Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) from control according to Duncan's multiple range test.

소로, alkaline phosphatase (ALP), phenoloxidase (PO) 및 lysozyme 활성을 분석하였다 (Fig. 1-3).

북방전복과 둥근전복의 ALP 활성은 8.3-8.4 K-A로 종에 따른 차이는 없었다. 수온 증가에 따른 활성은 둥근전복에서는 유의한 차이가 관찰되지 않았으나, 북방전복은 수온이 28°C로 증가하였을 때, ALP 활성이 유의하게 증가하였다 (Fig. 1).

PO의 활성은 북방전복에서는 1.42 ± 0.27 이었으나, 둥근전복은 0.42 ± 0.08 unit/min/mg protein으로 3.38배 낮은

활성을 보였다 ($P < 0.05$). 수온 증가에 따른 PO 활성은 둥근전복에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았으나, 북방전복은 20°C 구간에 비하여 24°C 이상의 구간에서 유의하게 높은 활성을 보였다 (Fig. 2).

북방전복과 둥근전복의 lysozyme 활성은 0.5 unit/min/mg protein으로 종에 따른 차이는 없었다 ($P < 0.05$). 수온 증가에 따른 lysozyme 활성은 북방전복에서는 20°C 구간이 0.50 ± 0.11 unit/min/mg protein에 비하여 26°C와 28°C에서 각

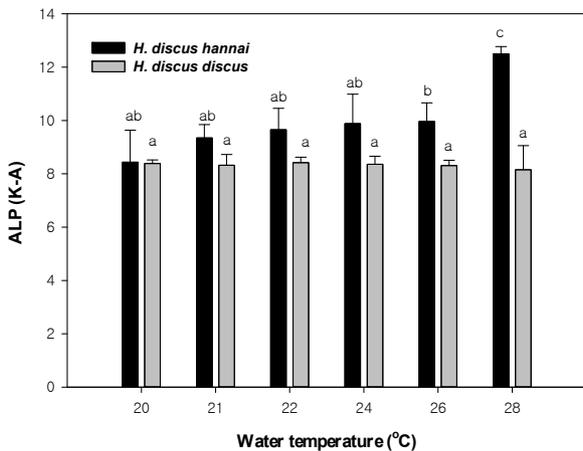


Fig. 1. Changes of ALP activity in hemolymph of abalone, *Haliotis discus hannai* and *H. discus discus* exposed to various water temperatures for a four-day time period. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) from control according to Duncan's multiple range test.

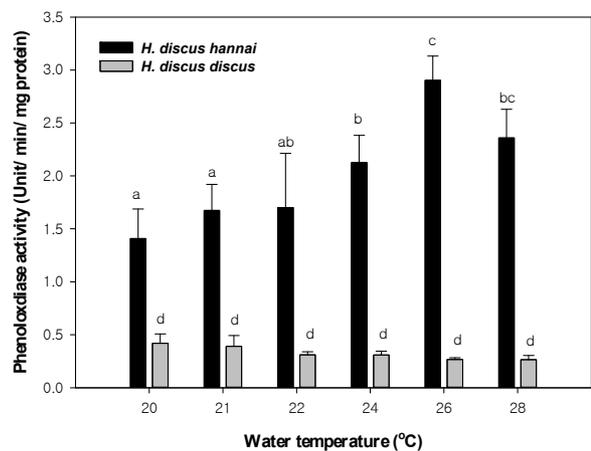


Fig. 2. Changes of PO activity in hemolymph of abalone, *Haliotis discus hannai* and *H. discus discus* exposed to various water temperatures for a four-day time period. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) from control according to Duncan's multiple range test.

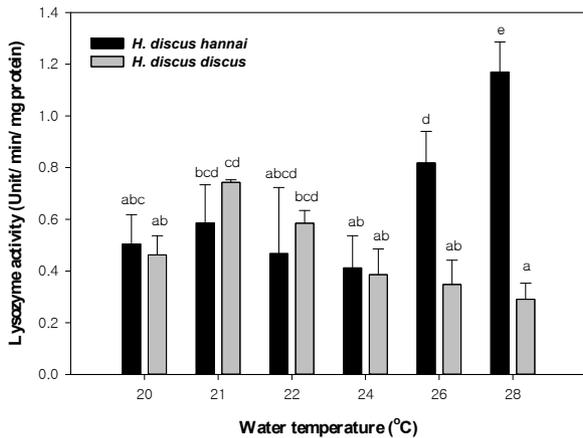


Fig. 3. Changes of lysozyme activity in hemolymph of abalone, *Haliotis discus hannai* and *H. discus discus* exposed to various water temperatures for a four-day time period. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) from control according to Duncan's multiple range test.

각 0.81 ± 0.12 , 1.16 ± 0.11 unit/min/mg protein으로 유의하게 높은 활성을 보였다. 동근전복의 lysozyme 활성은 20°C에 비하여 21°C와 22°C에서 각각 0.74 ± 0.01 , 0.58 ± 0.04 unit/min/mg protein으로 유의하게 높은 활성을 보였다. 그러나 24°C 이상의 구간은 대조구에 비하여 유의적인 차이가 나타나지 않았다 (Fig. 3).

고 찰

주로 연안 해역이 서식장인 패류 양식은 환경변화의 영향을 직접적으로 받을 수밖에 없기 때문에, 여름철 고수온 및 저염분, 겨울철 저수온 등 계절적 변화에 의해서 양식생물의 폐사를 유발하는 등 생산량의 변동에도 영향을 미친다 (Shin *et al.*, 2012). 특히 급격한 수온의 변화는 스트레스로 작용하며, 전복과 같은 고착생물은 여러 환경 변화에 대하여 수동적인 반응을 할 수 밖에 없기 때문에 세포 외부 환경변화에 대하여 안정적인 세포 내부 환경을 유지하기 위하여 다양한 생리적 반응을 보인다 (Park *et al.*, 2012). 수산 생물은 외부환경의 변화에 따라 어느 수준까지는 스트레스를 견딜 수 있는 능력을 가지고 있으나, 임계 수준을 넘어서면 스트레스로 인해 생물의 생리활성이 떨어져 건강을 약화시킬 수 있다 (Barton, 1991). 국내에서 전복에 대한 환경스트레스로 발생하는 생리적 변화에 관한 연구는 주로 수온 및 염분 변화에 따른 삼투압, 호흡률, 조직학적 변화, heat shock protein 발현과 항산화 효소인 SOD 및 CAT 등에 대한 보고가 있다 (Kim *et al.*, 2005, 2006; Park *et al.*, 2011; Shin *et al.*, 2011). 이와 같은 특

성으로 인해 해양생물은 해양환경 변화를 측정하기 위한 지표 수단으로도 이용될 수 있다 (Zaccaron da Silva *et al.*, 2005). 특히, 해양생물의 혈액 및 혈청학적 지표들은 다양한 스트레스에 따라 다르게 반응하여, 유해물질 노출에 의한 대사 장애의 수준을 판단할 수 있는 주요한 지표로 사용된다 (Shen *et al.*, 1997; Jee *et al.*, 2004). 따라서 본 연구에서는 고부가가치 양식생물로 주목받고 있는 북방전복과 동근전복을 대상으로 수온 증가에 따른 면역력을 포함한 혈림프의 생리적 반응을 조사하였다.

척추 및 무척추동물에서 스트레스를 받으면 탄수화물 대사의 증가에 따라 TP 및 glucose가 증가한다고 알려져 있다 (Hontela *et al.*, 1996; Cheng *et al.*, 2004; Baeck *et al.*, 2014). 그러나 본 연구에서 수온 증가에 따른 북방전복과 동근전복의 TP와 glucose 농도는 유의적인 차이가 없었지만, 대조구 (20°C) 에서, 동근전복의 glucose 농도는 북방전복의 glucose 농도보다 유의적으로 높았다. 이는 Widdows (1985)가 해양생물의 생물반응은 종과 이들의 크기에 따라 다양하게 나타난다고 한 바와 같이 본 연구에서 두 공시생물의 종 차이 뿐만 아니라 크기 차이에 의한 것으로 판단된다. 실제로 이 실험에 사용된 동근전복이 각각 81.32 ± 12.0 mm로, 북방전복 48.3 ± 2.4 mm에 비하여 약 2배 정도가 컸다.

북방전복과 동근전복의 마그네슘 농도는 종에 따른 유의한 차이가 없었으나, 동근전복의 칼슘 농도가 북방전복의 칼슘보다 1.3배 정도 높았다. 이는 다른 지표에서의 경우와 마찬가지로 두 공시생물의 종 및 크기 차이에 의한 것으로 판단된다. 또한, 북방전복에서 칼슘은 모든 실험구간에서 유의한 변화가 관찰되지 않았으나, 동근전복에서 칼슘은 28°C 구간에서 유의한 증가를 보였다 ($P < 0.05$). 어류에서 혈청 내 무기성분인 마그네슘과 칼슘은 혈청 삼투압을 유지하는 기능을 하며, 삼투압 및 이온 조절 능력의 손상은 아가미와 신장의 손상과도 연관되어 있다 (Waring *et al.*, 1996; Hur *et al.*, 2001). 한편 무척추동물에서 탄산칼슘 (CaCO_3)의 형태로 외골격 형성에 쓰여야 할 칼슘이 hemolymph 내에 많이 존재한다는 것은 28°C 이상의 수온증가에 따른 동근전복의 외골격 성장에 미치는 영향을 의심해 볼 수 있다 (Lin and Meyers, 2005). 이는 isopod, *Saduria entomon*, purple shore crab, *Leptograpsus variegates* 및 the freshwater crayfish, *Astacus astacus*를 저산소 스트레스를 주었을 때 hemolymph 내 칼슘이 증가한 결과와도 유사하다 (Hagerman and Szaniawska, 1991; Nikinmaa *et al.*, 1985; Morris and Butler, 1996). Byrne *et al.* (1991)는 스트레스로 인한 체내의 산성화를 완화시키기 위하여 외골격의 탄산칼슘이 중탄산염 형태로 전환되었기 때문일 것이라고 하였다.

무척추동물의 hemocyte 및 hemolymph는 개방혈관계로 어류의 혈액과 같이 선천성 면역체계의 주요 기능을 한다. Alkaline phosphatase (ALP)는 척추동물에서 인산에스테르의 가수분해를 촉매하는 효소로 연골 및 골의 무기질화를 촉진하며, 석회화 과정을 활성화시키고 신생골 형성에 중요한 역할을 담당한다. 또한, 칼슘, 인산, 마그네슘 이온들과도 밀접한 관계가 있다 (Eune *et al.*, 2005). 해양 무척추동물에서 ALP는 AKP라고도 불리며, hemolymph에 존재하는 당단백질로, 중요한 lysosomal enzyme 중 하나이며 외부 유입물질의 소화 또는 phagocytosis와 같은 비특이적 면역 기능을 한다 (Liang *et al.*, 2014). Wang *et al.* (2004)의 연구에서, vibrio 공격시험에 의해 오분자기 (*H. diversicolor supertexta*)의 ALP가 증가하였다. 또한, 본 연구에서 북방전복이 28°C에 노출되었을 때, ALP의 유의한 증가를 보인 것과 유사하게, 북방전복과 말전복 (*H. gigantea*) 교잡종에서도 고수온 (28°C)에 노출되었을 때, ALP가 유의하게 증가한 보고가 있다 (Liang *et al.*, 2014).

해양 무척추동물의 면역체계에서는 특히 pro-phenoloxidase를 매개로 하는 멜라닌 자극계가 체내의 세균 및 기생충이나 기타 이물질에 대한 방어 기능을 한다. Pro-phenoloxidase는 주로 hemolymph 내에서 합성되며 외부 침입에 의해서 phenoloxidase (PO)로 활성화된다. PO는 산화효소 중 하나로 병원성 미생물 및 이물질 유입 시 방어에 필요한 멜라닌의 합성 및 상처 치유 역할을 하며 (Johnson *et al.*, 2003), 또한 해양 무척추동물에서 환경변화 및 유해물질에 의해서도 영향을 받는다 (Cheng *et al.*, 2004; Gopalakrishnan *et al.*, 2011). 본 연구에서 24°C 이상의 온도에 노출된 북방전복에서 유의하게 높은 PO 활성을 보였으며, Day *et al.* (2010)의 연구에서도 대조구 (16°C)에 비하여 온도 스트레스 (26°C)를 받은 교잡종 전복에서 유의한 PO의 증가를 보였다고 보고하였다. 그러나 동근전복에서 유의한 PO 활성의 차이를 보이지 않은 것은 다른 지표와 마찬가지로 종 및 개체 크기의 차이에 의한 것으로 보인다.

Lysozyme은 무척추동물의 면역에서 중요한 기능을 하며 계절적 변화 및 염분 농도에 의해서 영향을 받는다고 알려져 있으며, pentachlorophenol 및 benzo[a]pyrene에 노출된 *Mercenaria mercenaria*의 lysozyme은 증가하였다 (Anderson *et al.*, 1981). 그러나 red abalone (*H. rufescens*) 및 black abalone (*H. cracherodii*)에서는 lysozyme이 검출되지 않았다고 하며 이는 종 차이에 의한 것이라고 한다 (Martello and Tjeerdema, 2001). 본 연구에서 동근전복에서는 수온 증가에 따른 유의한 차이가 없었으나, 북방전복에서는 26°C 이상에 유의한 증가를 보였다. 이는 북방전복이 동근전복보다 수온변화에 좀 더 민감하게 반응한 결과라

사료된다.

결론적으로 26°C 또는 28°C의 수온 증가는 북방전복 및 동근전복의 스트레스 요인으로 작용하여 생리 및 면역학적 변동을 유발한 것으로 보인다. 특히 칼슘, PO 및 ALP는 동근전복에서 유의한 변화가 없었던 것과는 달리 북방전복에서 유의한 변화가 관찰되었다. 이는 동근전복보다 한류계인 북방전복이 고수온에 대해 보다 민감한 것으로 사료되며, 이는 전복 우량품종 개발을 위한 기초자료로 활용할 수 있을 것이다.

요 약

본 연구에서는 수온 증가에 따른 북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 과 동근전복 (*H. discus discus*) hemolymph의 생리 및 면역학적 변화를 관찰하기 위하여 위 두 종을 20, 22, 24, 26 및 28°C 수온에 각각 4일간 노출시켰다. 노출 결과, hemolymph의 total-protein (TP), glucose, 칼슘 (Ca)은 동근전복이 북방전복보다 높은 값을 보였으나, 마그네슘 (Mg), alkaline phosphatase (ALP) 및 lysozyme은 두 종에서 유사한 값을 보였다. 수온 증가에 따른 hemolymph의 TP, glucose 및 마그네슘은 두 전복 모두에서 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 그러나 칼슘과 면역관련 인자인 ALP 및 lysozyme은 동근전복에서 유의한 차이가 없었으나, 북방전복에서는 26°C 또는 28°C의 고수온에 노출되었을 때, 유의하게 높은 활성을 보였다. 한편 phenoloxidase (PO)는 북방전복에서 높은 값을 보였으며, 수온이 높을수록 증가하는 경향을 보였다. 결론적으로 북방전복은 동근전복과 달리 여러 지표에서 유의한 변화가 관찰된 것으로 보아 북방전복이 동근전복보다 고수온에 보다 민감한 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 농림축산식품부, 해양수산부, 농촌진흥청, 산림청 Golden Seed 프로젝트 사업에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

- Anderson, R.S., Giam, C.S., Ray, L.E. and Tripp, M.R. (1981) Effects of environmental pollutants on immunological competency in the clam, *Mercenaria mercenaria*: impacted bacterial clearance. *Aquatic Toxicology*, 1: 187-195.
- Ashida, M. and Yamazaki, H.I. (1990) Biochemistry of the phenoloxidase system in insets: with special reference to its activation. *In: Molting and metamorphosis.* (ed. by Ohnishi, E. and Ishizaki, H.) Springer, Berlin. pp. 239-265.
- Asokan, R., Arumugam, M. and Mullainadha, P. (1997)

- Activation of prophenoloxidase in the plasma and hemocytes of the marine mussel *Perna viridis* Linnaeus. *Developmental and Comparative Immunology*, **21**: 1-12.
- Baeck, S.K., Min, E.Y. and Kang, J.C. (2014) Combined effects of copper and temperature on hematological constituents in the rock fish, *Sebastes schlegeli*. *Journal of Fish Pathology*, **27**(1): 57-65.
- Barton, B.A. (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis in the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish diseases*, **1**: 3-26.
- Byrne, R.A., Shipman, B.N., Smatrean, N.J., Dietz, T.H. and McMahon, R.F. (1991) Acid-base balance during emergence in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. *Physiological Zoology*, **64**: 748-766.
- Chang, Y.J., Hur, J.W., Kim, H.K. and Lee, J.K. (2001) Stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) and fat cod (*Hexagrammos otakii*) by the sudden drop and rise of water temperature. *Journal of the Korean Fisheries Society*, **34**(2): 91-97.
- Cheng, T.C. (1981) Bivalves. *In*: Invertebrate blood cell (ed. by Ratcliffe, N.A. and Rowley, A.F.), London Academic Press, London. pp. 233-299.
- Cheng, W., Li, C.H. and Chen, J.C. (2004) Effect of dissolved oxygen on the immune responses of *Haliotis diversicolor supertexta* and its susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture*, **232**: 103-115.
- Day, R., Hooper, C., Benkendorff, K., Slocombe, R. and Handlinger, J. (2010) Investigation on the immunology of stressed abalone. *Final report of FRDC project number: 2004/233*. University of Melbourne. 1-89.
- Eune, J.J., Lee, E.S., Rim, J.S., Jang, H.S. and Woo, H.I. (2005) Changes of serum alkaline phosphatase after enucleation of systris in the jaws. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, **31**: 417-421.
- Feng, S.Y. and Canzonier, W.J. (1970) Humoral responses in the American oyster (*Crassostrea virginica*) infected with *Bucephalus* sp. and *Minchinia nelsoni*. *American Fisheries Society Special Publication*, **5**: 497-510.
- Firat, Ö., Çogun, H.Y., Aslanyavrusu, S. and Kargin, F. (2009) Antioxidant responses and metal accumulation in tissues of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn + Cd exposure. *Journal of Applied Toxicology*, **29**: 295-301.
- Gopalakrishnan, S., Huang, W.B., Wang, Q.W., Wu, M.L., Liu, J. and Wang, K.J. (2011) Effect of tributyltin and benzo(a)pyrene on the immune-associated activities of hemocytes and recovery responses in the gastropod abalone, *Haliotis diversicolor*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **154**(C): 120-128.
- Hagerman, L. and Szaniawska, A. (1991) Ion regulation under anoxia in the brackish water isopod *Saduria (Mesiidotea) entomon*. *Ophelia*, **33**: 97-104.
- Hontela, A., Daniel, C. and Ricard, A.C. (1996) Effects of acute and subacute exposures to cadmium on the interrenal and thyroid function in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Toxicology*, **35**: 171-182.
- Hur, J.W., Chang, Y.J., Lim, H.K. and Lee, B.K. (2001) Stress responses of cultured fishes elicited by water level reduction in rearing tank and fish transference during selection process. *Bulletin of the Korean Fisheries Society*, **34**: 465-472.
- Hutchinson, T.M. and Manning, M.J. (1996) Seasonal trends in serum lysozyme activity and total protein concentration in dab (*Limanda limanda* L.) sampled from Lyme Bay, U.K.. *Fish & Shellfish Immunology*, **6**: 473-482.
- Jang, M.S., Jang, J.R., Park, H.Y. and Yoon, H.d. (2010) Overall composition, and levels of fatty acids, amino acids, and nucleotide-type compounds in wild abalone *Haliotis gigantea* and cultured abalone *Haliotis discus hannai*. *Korean Journal of Food Preservation*, **17**: 533-540.
- Jee, J.H., Kim, S.G. and Kang, J.C. (2004) Effects of phenanthrene on growth and basic physiological functions of the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **304**: 123-136.
- Johnson, J.K., Rocheleau, T.A., Hillyer, J.F., Chen, C.C., Li, J. and Christensen, B.M. (2003) A potential role for phenylalanine hydroxylase in mosquito immune responses. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **33**: 345-354.
- Kim, T.H., Yang, M.H., Choe, M.K., Han, S.J. and Yeu, I.K. (2005) Physiological studies on acute water-temperature stress of juvenile abalone, *Haliotis discus hannai*. *Journal of Aquaculture*, **18**: 7-12.
- Kim, T.H., Kim, K.J., Choe, M.K. and Yeo, I.K. (2006) Physiological changes of juvenile abalone, *Haliotis sieboldii* exposed to acute water temperature stress. *Journal of Aquaculture*, **19**: 77-83.
- KNSO (2011) Korea National Statistical office. Fishery production survey DB, Daejeon, Korea.
- Liang, S., Luo, X., You, W., Luo, L., Liu, C.K., Zhang, J.F., Shen, H., Wang, X.R. and Wang, W.M. (2014) The role of hybridization in improving the immune response and thermal tolerance of abalone. *Fish and Shellfish Immunology*, **39**: 69-77.
- Lin, A. and Meyers, M.A. (2005) Growth and structure in abalone shell. *Materials Science and Engineering*, **390**(A): 27-41.
- Martello, L. and Tjeerdema, R.S. (2001) Combined effects of pentachlorophenol and salinity stress on chemiluminescence activity in two species of abalone. *Aquatic Toxicology*, **51**: 351-362.
- Min, E.Y., Jeong, J.W. and Kang, J.C. (2014a) Thermal effects on antioxidant enzymes responses in Tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed Arsenic. *Journal of Fish Pathology*, **27**(2): 115-125.
- Min, E.Y., Baeck, S.K. and Kang, J.C. (2014b) Combined

- effects of copper and temperature on antioxidant enzymes in the black rockfish *Sebastes schlegeli*. *Fisheries and Aquatic Sciences*, **17**(3): 345-353.
- Morris, S. and Butler, S.L. (1996) Hemolymph respiratory gas, acid-base, and ion status of the amphibious purple shore crab *Leptograpsus variegatus* (Fabricus) during immersion and environmental hypoxia. *Journal of Crustacean Biology*, **16**: 253-266.
- Nikinmaa, M., Jaervenpaeae, T., Westman, K. and Soivio, A. (1985) Effects of hypoxia and acidification on the haemolymph pH value and ion concentration in the freshwater crayfish (*Astacus astacus* L.). *Finnish Fisheries Research*, **5**: 17-22.
- Park, C.J., Min, B.H., Kim, K.S., Lee, J.W., Lee, J.H., Noh, J.K., Kim, H.C., Park, J.W. and Myeong, J.I. (2011) Physiological responses on low water temperature stress of Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *Korean Journal of Malacology*, **27**: 317-322.
- Park, H.J. and Kang, J.C. (2012) Biochemical changes in the hemolymph and hepatopancreas of abalone *Haliotis discus hannai* exposed to copper. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **45**: 154-160.
- Park, M.W., Kim, H., Kim, B.H., Son, M.H., Jeon, M.A. and Lee, J.S. (2013) Changes of survival rate, falling rate and foot histology of the abalone, *Haliotis discus hannai* (Ino, 1952) with water temperature and salinity. *Korean Journal of Malacology*, **29**(4): 303-311.
- Ryan, S.N. (1995) The effect of chronic heat stress on cortisol levels in the Antarctic fish *Pagothenia borchgrevinki*. *Experimentia*, **51**: 768-774.
- Seong, K.T., Hwang, J.D., Han, I.S., Go, W.J., Suh, Y.S. and Lee, J.Y. (2010) Characteristic for long-term trends of temperature in the Koreans waters. *Journal of the Korean Society of Marine Environment and Safety*, **16**: 353-360.
- Shen, H., Zhang, Q., Xu, R. and Wang, G. (1997) Effects of petroleum on the sero-proteins of *Tilapia mossambica*. *Marine Environmental Science*, **16**: 1-5.
- Shin, Y.K., Jun, J.C., Im, J.H., Kim, D.W., Son, M.H. and Kim, E.O. (2011) Physiological response in abalone *Haliotis discus hannai* with different salinity. *Korean Journal of Malacology*, **27**: 283-289.
- Shin, Y.K., Lee, W.C., Kim, D.W., Son, M.H., Jun, J.C., Kim, E.O. and Kim, S.H. (2012) Seasonal changes in physiology of the abalone *Haliotis discus hannai* reared from Nohwa Island on the south coast of Korea. *Korean Journal of Malacology*, **28**: 131-136.
- Siiderhall, K., Cerenius, L. and Johansson, M.W. (1994) The prophenoloxidase activating system and its role in invertebrate defense. Primordial immunity: foundations for the vertebrate immune system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **712**: 155-161.
- Stohs, S.J., Bagchi, D., Hassoun, E. and Bagchi, M. (2000) Oxidative mechanism in the toxicity of chromium and cadmium ions. *Journal of environmental Pathology Toxicology and Oncology*, **19**: 201-213.
- Wang, S.H., Wang, Y.L., Zhang, Z.X., Jack, R., Weng, Z.H., Zou, Z.H. and Zhang, Z.P. (2004). Response of innate immune factors in abalone *Haliotis diversicolor supertexta* to pathogenic or nonpathogenic infection. *Journal of Shellfish Research*, **23**: 1173-1178.
- Waring, C.P., Stagg, R.M. and Roxton, M.G. (1996) Physiological responses to handling in the turbot. *The Journal of Fish Biology*, **48**: 161-173.
- Widdows, J. (1985) The effects of fluctuating and abrupt changes in salinity on the performance of *Mytilus edulis*. In: *Marine Biology of Polar Regions and Effects of Stress on Marine Organism*. (ed. by Gray, J.S., Christiansen, M.E.), Wiley-Interscience, New York. pp. 555-566.
- Yang, J.W., Lee, J.S., Han, I.S., Choi, Y.K. and Suh, Y.S. (2012) Seawater temperature variation of aquafarms off Wando in the southwest coast of Korea. *Journal of the Korean Society of Marine Environment and Safety*, **18**: 514-519.
- Yoo, S.K. (1986) Coastal culture, Gudeok publisher, p. 359.
- Zaccaron da Silva, A., Zanette J., Ferrira J.F., Guzanski, J., Marques, M.R.F. and Bainy, A.C.D. (2005) Effect of salinity on biomarker responses in *Crassostrea rhizophorae* (Mollusca, Bivalvia) exposed to diesel oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **62**: 376-382.