

고온에 노출된 꼬막 (*Tegillarca granosa*; Linnaeus, 1758) 의 생리적 반응

이희중¹, 송재희², 정희도², 박경일³

¹국립수산과학원 남동해수산연구소, ²국립수산과학원 서해수산연구소 갯벌연구센터,
³군산대학교 해양과학대학 수산생명의학과

Changes in physiological responses of blood cockle (*Tegillarca granosa*; Linnaeus, 1758) exposed to high temperatures

Hee-Jung Lee¹, Jae-Hee Song², Hee-Do Jeong² and Kyungil Park³

¹South East Sea Fisheries Research Institute, NIFS, Tongyeong 39769, Korea

²Tidal Flat Research Institute, NFIS, Gunsan 54014, Korea

³Department of Aquatic Life Medicine, College of Ocean Science and Technology, Kunsan National University, Gunsan 54150, Korea

ABSTRACT

This study examined the physiological responses of cockles exposed to thermal stress in order to optimize techniques for measurement of physiological alternations in cockles and understand the importance of thermal stress on summer mortality events. For these reasons, cockles acclimated to 25°C were exposed to 30°C, 35°C, or 40°C for 4h/day over eight days, and the condition index, nitric oxide (NO) concentration, burrowing rates and mortality rates were measured after each heat treatment. From the 1st day of exposure, and each day after, NO concentrations in cockles significantly increased when the temperatures was > 30°C. In contrast, decreases in phagocytosis rates were observed when specimens were exposed to 30°C from the 2nd day of exposure while the burrowing rates started to decline from the 6th day of exposure when exposed to > 35°C. In addition, the mortality rate of cockles exposed to 35°C for 5 days increased. This study confirmed that cockles exposed to temperatures above 30°C may experience physiological stress, possibly leading to death, depending on the exposure time.

Key words: Blood cockle, *Tegillarca granosa*, heat stress, nitric oxide

서론

꼬막 (*Tegillarca granosa*) 과 새꼬막 (*Scapharca subcrenata*) 은 고부가가치의 해산이매패로서 우리나라에서 사회·경제적으로 매우 중요한 수산자원이다. 이들은 실트질이 우세하며 조간대가 발달한 남서해안에 주로 서식하며, 2019년

도에 새꼬막과 꼬막이 각각 8,370 톤과 37 톤이 생산되었다 (KOSIS 2020). 그러나 최근 꼬막 및 새꼬막의 대량 폐사가 동절기와 하절기에 주기적으로 발생하고 있으며, 이러한 폐사의 원인이 명확히 규명되지는 않았으나 서식 적온을 벗어난 고수온과 저수온이 지목되고 있다 (Shin and Moon, 2005; NIFS, 2018; Yoon and Jeong, 2018; Lee *et al.*, 2020).

해수온 상승은 전 세계가 겪고 있는 문제지만 특히 우리나라의 경우 타 해역보다 급격한 상승이 발생하고 있다 (Hyun *et al.*, 2020; 기상청, 2020). 꼬막류의 주 서식지인 조간대는 조석에 따라 급격한 온도변화에 노출되어 있는 곳이다 (Mangano *et al.*, 2002). 특히 여름철 한낮에 간조가 발생하면 지온의 급격한 상승이 일어나며 이 때 지온은 수온보다 10°C 이상 높아 여기에 노출된 이매패류는 극심한 생리적 변화를 겪게 될 것으로 추정 된다 (Nam *et al.*, 2018). 따라서 간조 시 고온에 노출된 꼬막 역시 생리적 스트레스에 노출될 수

Received: march 18, 2021; Revised: march 26, 2021;
Accepted: march 31, 2021

Corresponding author: Kyungil Park

Tel: +82 (10) 3419-1469, e-mail: kipark@kunsan.ac.kr
1225-3480/24785

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.

있으며, 이러한 현상은 최근 발생하고 있는 꼬막류의 여름철 대량폐사와 밀접한 연관이 있을 것으로 판단된다.

이때폐의 폐사를 이해하는데 아치사 상태의 혈구를 이용한 면역반응 측정은 매우 유용하다 (Rahman *et al.*, 2019). 이때 폐류는 개방혈관계 (Open blood-vascular system) 로 혈구는 혈관뿐만 아니라 모든 조직 사이를 순환하며 산소 및 영양분 공급 등 다양한 기능을 수행한다 (Kang *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2010). 특히, 이때폐류의 혈구는 체내 항상성을 유지하기 위해 오염물질 노출 (Pipe and Coles, 1995; Renault, 2015), 병원체 침입 (Huntley *et al.*, 2014), 환경 변화 (Gainey and Greenberg, 2003; Matozzo and Marin, 2011) 등의 각종 자극에 대한 즉각적이고 다양한 변화를 나타내 폐류의 생리적 상태를 이해하는데 이용되고 있다. 이러한 병원체나 환경변화에 대한 폐류의 면역 반응을 측정하는 대표적인 방법으로는 백혈구에 의한 식균 작용 (Labreuche *et al.*, 2006; Rahman *et al.*, 2019) 을 비롯해 식균 작용 시 활성화되는 혈구 내 활성산소나 일산화질소 (Nitric Oxide, NO) 등이 있다 (Tafalla *et al.*, 2003; Nam *et al.*, 2013; Park, 2013; Wang *et al.*, 2018).

따라서 이 연구는 꼬막류 중 새꼬막에 비해 생산량은 적으나 부가가치가 높은 꼬막을 대상으로 이들을 고온에 노출시키고 혈구의 NO 농도변화, 식세포작용, 잠입을 등을 정량함으로써 고온에 의한 꼬막의 면역반응 측정 기술을 개발하고 이를 통해 여름철 꼬막의 대량폐사를 이해하고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 실험 환경 설정

본 실험의 꼬막 노출 온도를 결정하기 위하여 국립수산물과학원 갯벌연구센터의 ‘갯벌어장정보시스템’ (갯벌 지온) 및 기상청 (기온), 국립해양조사원 (수온) 의 자료를 활용하였다. 관측 정점은 꼬막 채집지인 가로림만으로 이 지역의 하절기 (2016년 7-9월) 일평균 갯벌 지온 및 기온, 수온 자료를 바탕으로 실험 노출 온도 (25°C, 30°C, 35°C, 40°C) 를 설정하였다 (Fig. 1). 노출 시간은 일반적인 꼬막 서식지의 간조시간을 감안하여 4시간/일로 설정하였다.

2. 시료

실험에 사용된 꼬막은 2016년 8월 충청남도 태안군 당산리 (36° 51' 19.5"N, 126° 18' 11.8"E) 에서 채집한 2년생 약 400 개체를 전라북도 군산시에 위치한 갯벌연구센터로 옮긴 후 수온 25°C 염분 31.9 psu의 환경에서 48시간동안 순치하였다.

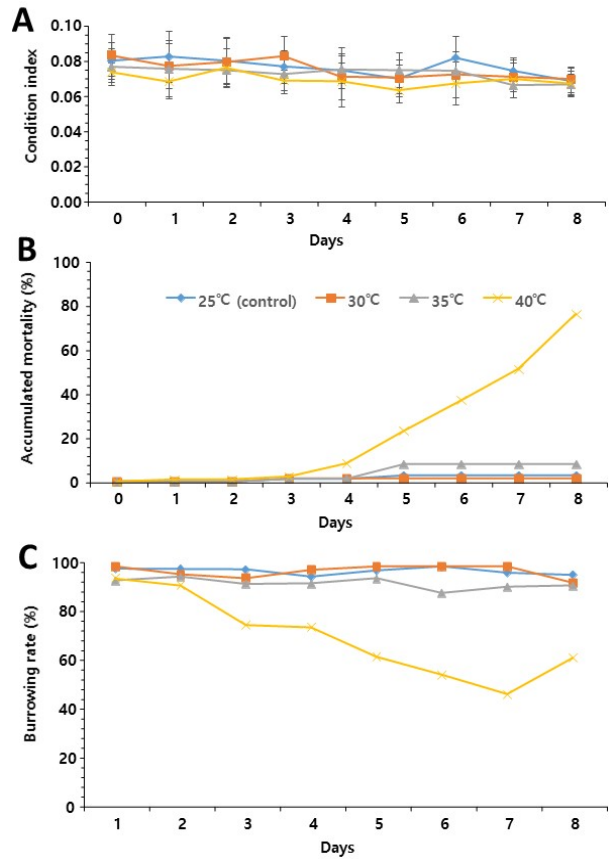


Fig. 1. *Tegillarca granosa* condition index (A), cumulative mortality rates (%) (B) and burrowing rates (%) (C) after heat exposure.

3. 고온 노출

수조 바닥에 9 cm 두께의 저질 (실트질 89.8%, 점토 9.8%) 이 깔린 4 개의 사각 수조 (30 × 50 × 30 cm) 에 유사한 각장의 꼬막 100 마리씩을 25°C (대조구), 30°C, 35°C, 40°C로 설정된 저온인큐베이터 (IL-11-4C, Jeio tech) 에 넣고 매일 4 시간 동안 공기중에 노출 시켰다. 노출이 끝난 후 시료를 수온 25°C의 해수가 들어있는 수조에 다시 넣었으며, 20시간 후 인큐베이터의 각 온도에 재노출 하였다. 이러한 해수-고온 공기 노출을 9일간 반복하였으며, 사육수는 1일 1회 전량 환수하였다. 수온, 염분 및 DO는 YSI MPS 550을 이용해 매일 측정하였으며, 실험 기간 중 먹이는 공급하지 않았다.

4. 잠입율 및 생존율

인큐베이터에서 고온 노출 후 수조로 복귀한 꼬막이 다음 날 고온 노출전까지 잠입한 개체를 계수 하여 잠입율 {(잠입 개체/전체 개체 수) × 100} 을 산정하였고, 잠입하지 않은 개체 중 폐각이 열려있는 개체를 조사해 생존율을 조사하였다.

5. Diaminofluorescein (DAF) 을 이용한 NO 정량

인큐베이터에서 고온 노출이 완료된 꼬막을 매일 무작위로 10 개체씩 선택하고 후폐각근에서 혈림프액을 약 1 ml씩 주사기를 이용해 추출하였다. 혈림프액 100 μl에 diaminofluorescein-2 diacetate (DAF-2DA, Sigma, D2813) 을 넣어 최종농도가 5 μM이 되도록 희석한 다음 암실에서 10분간 반응 시켰다. 평균해수 100 μl를 넣고 유세포분석기 (Beckman coulter, GiliusTM) 를 이용하여 FSC-HLin (gain 2, volts 106) / SSC-HLin (gain 20, volts 303, Discr. 43) density plot 상에서 혈구집단을 선정한 다음 혈구 5,000개의 형광량을 FL1 (gain 2, volts 433) histogram으로 나타냈다. NO 농도는 Kaluza 1.2 (Beckman coulter) 프로그램을 이용하여 혈구의 평균 형광량 (relative fluorescence unit, RFU) 으로 나타냈다.

6. 식세포율 (%)

꼬막의 혈림프액 100 μl 를 30 μl 의 FITC가 코팅된 형광 bead (working solution = 1.5 ml seawater + 30 μl stock solution, Polyscience, USA) 와 혼합 후, 실온에서 1 시간동안 incubation한 다음 Flow cytometer (Gallius, Beckman, USA) 를 이용해 식세포율 (%) 을 분석하였다. 식세포율은 전체 혈구 중 2개 이상의 형광 bead를 섭취한 혈구의 비를 Phagocytosis rate (%) 으로 표현하였다.

7. 각장, 각고, 비만도

각 그룹별로 혈액 채취가 완료된 꼬막 10 개체의 각장, 각고, 습중량, 육질건중량 및 폐각건중량을 측정하였으며, 비만도는 육질건중량/폐각건중량으로 계산하였다.

8. 통계분석

각 노출 온도와 노출 기간에 따른 NO 농도와 phagocytosis

rate 의 변화를 검증하기 위해 SPSSWIN 25.0프로그램을 사용하여 two-way ANOVA를 실시한 후, LSD (least significant difference) 로 집단 간 사후검증을 실시하였다. 이 때 통계적 유의도는 p < 0.05로 하였다.

결 과

1. Biometric factor

실험기간동안 측정된 꼬막의 크기는 실험기간동안 평균 각장 23.7-24.2 mm 였으며, 총중량은 4.5-4.8 g, 습중량은 0.9-1.0 g 으로 모든 그룹에서 유의적인 차이가 없었다. 비만도 역시 전 실험기간동안 0.07-0.08의 범위로서 그룹간 유의적인 차이가 없었다 (Fig. 1A).

2. 누적폐사율

40℃에 노출된 그룹은 노출 1일째부터 폐사한 개체가 나타나기 시작하였으며, 이후 급격히 증가하여 5일째에는 23.0%를 기록하였고 실험 종료 시에는 76.2%를 기록하였다 (Fig. 1B). 35℃에 노출된 그룹은 3일째부터 폐사한 개체가 나타나기 시작하였으며 5일째에 8.1%를 나타냈고 이는 실험 종료시까지 이어졌다. 반면 30℃에 노출된 그룹에서는 종료시까지 1.3%의 폐사율을 나타냈다. 대조구의 경우 노출 3일째에 1.3%의 폐사율을 나타냈고 종료시에는 3.0%를 기록하였다.

3. 잠입율

대조구 (25℃) 와 30℃에 노출된 꼬막의 잠입율은 첫째 날 99-100%의 잠입율을 보였으며, 실험기간동안 93-100%를 기록하여 두 집단 간 현저한 차이는 없었다. 그러나 35℃와 40℃에 노출된 꼬막의 경우 노출 첫째 날부터 94%와 95%를 기록하였으며, 실험기간동안 35℃에 노출된 그룹은 88.9-95.6%를 나타냈으며, 40℃에 노출된 그룹은 47.6-95.0을 기록하였다.

Table 1. Descriptive analysis of NO concentrations in the hemocytes of cockles exposed to various temperatures for 8 days. (standard deviation, SD).

Day	25℃ (Control)	30℃	35℃	40℃
0	32.3 ± 0.2	32.9 ± 1.1	33.1 ± 1.6	33.2 ± 1.9
1	34.4 ± 0.9	35.9 ± 4.4	28.7 ± 1.0	26.9 ± 1.0
2	36.1 ± 1.1	31.5 ± 0.8	28.6 ± 0.8	27.1 ± 1.1
3	35.5 ± 0.9	31.1 ± 0.8	28.0 ± 0.6	24.8 ± 2.7
4	35.1 ± 0.4	30.6 ± 0.4	27.5 ± 0.3	24.4 ± 1.2
5	36.1 ± 2.7	31.9 ± 3.2	26.8 ± 1.3	24.8 ± 0.6
6	36.1 ± 0.9	32.1 ± 0.4	26.1 ± 0.6	24.2 ± 0.3
7	34.1 ± 1.3	31.8 ± 1.4	26.3 ± 0.2	24.2 ± 0.1
8	33.6 ± 0.9	32.0 ± 0.5	27.1 ± 2.8	25.2 ± 0.9

Table 2. Two-way ANOVA, the effect of exposure temperature and dates on changes in NO concentrations

Source	Type III sum of squares	df	Mean squared	F	Sig.
Corrected model	1834.551a	35	52.416	29.607	.000
Intercept	488010.194	1	488010.194	275653.794	.000
Day	1149.421	8	143.678	81.157	.000
Temperature	522.505	3	174.168	98.379	.000
Day*Temperature	162.624	24	6.776	3.827	.000
error	254.934	144	1.770		
Total	490099.678	180			
Corrected total	2089.484	179			

특히, 이 그룹의 꼬막은 노출 3일째에 75.9%로 현저한 잠입을 감소를 나타냈고 노출 7일째 47.6%로 감소하였다 (Fig. 1C).

4. NO

노출 이전 각 그룹의 NO 농도는 45.04-46.06 (RFU) 로써 그룹간 유의한 차이가 없었으나, 노출 1일째부터 대조구를 제외한 30-40℃에 노출된 모든 그룹의 NO 농도가 대조구에 비하여 유의하게 증가하였으며, 이런 경향은 실험 종료 시까지 이어졌다 (Table 1, 2). 노출기간동안 대조구의 NO 농도는 45.99-51.79 (RFU)을 나타낸 반면, 30℃에 노출된 그룹은 52.05-55.77 (RFU), 35℃에 노출된 그룹은 52.19-54.54 (RFU), 40℃에 노출된 그룹은 52.14-54.65 (RFU)을 나타냈다.

5. 식세포율 (%)

노출 이전 각 그룹의 식세포율은 32.3-33.2%로 유의한 차이가 없었으나 고온 노출 후 노출 온도와 기간에 따라 식세포율의 변화가 나타났다 (Table 3, 4). 대조구의 경우 전 실험 기간 동안 33.6-36.1%의 식세포율을 나타낸 반면, 30℃에 노

출된 그룹에서는 노출 2일째부터 31.5-35.9%의 감소된 식세포율을 나타냈고, 35℃에 노출된 그룹은 노출 1일째부터 26.1-28.7%의 식세포율을 나타냈으며, 가장 높은 온도인 40℃에 노출된 그룹은 24.2-27.1%의 가장 낮은 식세포율을 나타냈다.

고 찰

본 연구에서 꼬막은 공기 중 노출과 고수온이라는 두 가지 스트레스에 노출되었다. 현재까지 다양한 논문들이 패류의 공기 중 노출과 고온 노출 시 생리적 반응을 기술하고 있다. 패류의 공기 중 노출 시 oxygen consumption과 metabolic response의 감소가 발생하며 (Widdows *et al.*, 1979; Nicchitta and Ellington, 1983), 고온에 노출 시 면역력의 변화가 보고되었다 (Rahman *et al.*, 2019). 또한, 공기중 노출과 고온 노출이 동시에 진행될 경우 cockle 이나 mussel의 폐사율이 증가한다 (Tarnowska *et al.*, 2012; Yin *et al.*, 2017; De Andrade *et al.*, 2020). 따라서 공기중 노출과 고수온이라는 두 가지의 스트레스에 노출된 본 연구의 시료는 공기

Table 3. Descriptive analysis of phagocytosis rates (%) in the hemocytes of cockles exposed to various temperatures for 8 days. (standard deviation, SD)

Day	25℃ (Control)	30℃	35℃	40℃
0	46.06 ± 1.5	45.04 ± 1.7	45.21 ± 0.9	45.71 ± 0.1
1	45.99 ± 2.4	52.50 ± 1.6	52.19 ± 1.5	52.14 ± 1.1
2	47.79 ± 3.1	52.52 ± 0.9	53.85 ± 1.1	54.61 ± 0.7
3	48.67 ± 2.0	52.56 ± 0.5	53.88 ± 1.3	54.45 ± 1.7
4	48.91 ± 1.5	53.69 ± 0.8	53.67 ± 1.1	54.65 ± 1.6
5	50.35 ± 1.6	53.94 ± 0.3	53.94 ± 0.9	54.34 ± 0.5
6	51.79 ± 0.9	54.82 ± 1.1	54.54 ± 1.1	54.54 ± 1.2
7	51.01 ± 0.8	55.43 ± 2.3	54.21 ± 0.4	54.48 ± 1.2
8	51.57 ± 1.2	55.77 ± 0.2	54.52 ± 0.7	54.24 ± 0.8

Table 4. Two-way ANOVA, the effect of exposure temperature and dates on changes in phagocytosis rates

Source	Type III sum of squares	df	Mean squared	F	Sig.
Corrected model	2781.533a	35	79.472	39.542	.000
Intercept	164993.452	1	164993.452	82093.307	.000
Day	240.795	8	30.099	14.976	.000
Temperature	2102.564	3	700.855	348.714	.000
Day*Temperature	438.174	24	18.257	9.084	.000
error	289.415	144	2.010		
Total	168064.400	180			
Corrected total	3070.948	179			

중 노출이나 고온노출의 단일 스트레스 보다 더 높은 스트레스에 노출된 것으로 추정된다. 이러한 사실은 본 연구 결과가 실제 꼬막양식장에서 발생하는 고온 스트레스를 적절히 반영하고 있지는 않을 것으로 판단되나 꼬막의 스트레스 반응 측정기술 개발과 고수온기 꼬막의 스트레스 및 하절기 대량폐사를 이해하는데 유용한 정보를 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

패류의 잠입율은 종과 저질 타입, 조석주기, 온도 및 질병 등 다양한 요인에 따라 다르게 나타 난다 (Roberts *et al.*, 1989; Alexander *et al.*, 1993; Pariseau *et al.*, 2007; Song *et al.*, 2008; Waki and Yoshinaga, 2018). 이러한 사실은 조간대 서식 패류의 잠입속도와 잠입률이 패류의 생물학적 활성을 판단할 수 있는 유용한 척도가 될 수 있음을 시사한다 (Song *et al.*, 2008).

한편, 패류의 식세포작용은 세포면역반응의 일환으로 혈구세포(주로 과립구)가 외부 유래 물질을 탐식하는 현상을 정량화 한 것으로써 패류의 면역력을 나타내는 주요 지표로 널리 이용되고 있다. 현재까지 다수의 연구에서 고수온에 노출된 패류의 식세포 작용이 측정되었다. Rahman *et al.* (2019) 은 굴 (*Crassostrea gigas*), 지중해담치 (*Mytilus galloprovincialis*) 및 mud cockle (*Katylisia rhytiphora*) 이 고수온에 노출 시 식세포율이 증가함을 보고함으로써 본 연구에서 대조구에 비해 고수온에 노출된 꼬막의 식세포율이 감소한 것과 대조를 이뤘다. 이 같은 상이한 결과는 이들의 실험이 최고 수온 25°C에 설정되었기 때문에 30-40°C에 노출된 본 연구와 다른 수온범위 때문인 것으로 판단된다. 식세포율 이외에도 다수의 면역관련 인자들을 이용한 고수온에 따른 면역력의 변화를 측정 한 실험에서 노출 온도가 30°C이하로 제한된 경우가 매우 많다 (Matzko and Marin, 2011). 따라서 여름철 조간대의 지온이 30°C를 넘는 우리나라의 환경 특성을 고려한 패류 면역반응에 관한 추가 연구가 필요한 것으로 판단된다.

NO는 L-arginine (아미노산) 이 nitric oxide synthase (NOS) 에 의해 산화되어 생성되는 물질이다. NOS는 NOS-I

(neuronal NOS, nNOS), NOS-II (inducible NOS, iNOS), NOS-III (endothelial NOS, eNOS) 등 3가지 isotype 이알려져 있으며 체내에 일정하게 유지되나 iNOS는 염증 등 면역 방어기전에 관여하는 cytokine의 자극이 있으면 전사조절에 의해 발현 된다 (Yim, 2010). NO는 superoxide와 반응하여 peroxynitrite (ONOO-) 를 형성하여 세포독성에 관여 한다. iNOS에 의해 생성된 NO는 염증반응을 촉진시킬 뿐 아니라 prostaglandins과 같은 염증매개체의 생합성을 촉진하여 염증을 심화 시킨다 (Salvemini *et al.*, 1993; Guo *et al.*, 2015). 따라서 NO 농도의 변화는 염증량을 진단하는데 널리 이용되고 있으며, 이는 생물의 생리적 특성을 이해하는 방법으로써 매우 유용하다 (Nam *et al.*, 2013). Lee *et al.* (2020) 에 의하면 0°C 이하의 온도에 노출된 꼬막 혈구의 NO 농도가 대조구 (4°C) 에 비해 현저하게 증가한다. 온도 하락과는 반대로 본 연구에서는 기온 30°C도 이상 고온의 공기중으로 노출된 꼬막의 혈구에서도 NO 농도가 증가하는 것이 확인되었다. 따라서 꼬막의 NO 변화는 저수온과 고수온 스트레스를 나타내는 지표로서 매우 유용한 것으로 판단된다.

패류의 폐사는 지속적인 고온스트레스가 발생할 때 더 많이 발생 한다 (Seuront *et al.*, 2019). 본 연구에서 꼬막의 폐사는 35°C 이상의 고온에 노출 후 6일째부터 발생하는 것으로 나타났다. 따라서 본 시료를 채집한 해역의 기온, 수온 및 지온을 고려할 때 지온이 30°C가 넘는 고온 환경이 7월초부터 8월 하순까지 2개월에 걸쳐 지속적으로 유지되고 있어 이러한 환경에 서식하는 꼬막은 생리적 스트레스에 노출될 수 있을 가능성이 높다. 더구나 8월 중순에는 35°C가 넘는 지온이 4일 이상 지속되는 시기이므로 이러한 환경에서는 thermal stress는 더욱 상승하여 대량폐사로 이어질 수 있을 것이다. 본 연구와 유사한 실험을 수행한 Shin and Moon (2005) 의 보고에 의하면 수온 31°C에 노출된 성패의 생존율은 노출 4일 만에, 40°C에 노출된 꼬막은 노출 1일 째 전량 폐사하였다. 물론 이 실험은 실험실내에서 연속적으로 고수온 노출을 의도한 것

로써 본 연구나 양식장의 실제 환경과의 차이가 있으나 고수온은 꼬막의 폐사율을 높이는 주된 요인임을 암시하고 있다 (Hwang, 2012). Nam *et al.* (2018) 또한 조간대 서식 바지락이 기온 30°C 이상, 지온 32-37°C 이상인 기간이 1주일이상 지속될 때 바지락의 대량폐사가 발생함으로 보고한 바 있어 장기간에 걸친 고수온 또는 고지온 환경에 노출된 꼬막은 다양한 생리적 스트레스를 경험하게 되는 것으로 판단된다.

본 연구에서 고온에 노출된 꼬막의 생리적 반응을 잠입율, 식세포작용 및 NO 농도 정량 등을 통해 조사하였다. 그 결과 각 조사 방법에 따라 생리적 반응의 발생 시기 및 그 정도가 다르게 나타났다. 잠입율의 경우 대조구에 비해 현저한 감소가 나타나는 온도는 35°C 이상의 온도였으며 발생 시기는 노출 후 6일 쯤이었다. 식세포작용의 경우 30°C에 노출된 시료는 노출 2일 쯤 대조구에 비해 낮은 값을 나타냈다. 한편 NO 농도의 변화는 30°C에 노출된 경우 노출 1일 만에 발생했다. 이러한 사실은 NO 농도 측정이 타 측정 방법에 비해 고온에 노출된 꼬막의 생리적 변화를 조기에 진단할 수 있다는 장점이 있는 것으로 확인되었다. 이러한 기술은 꼬막 양식 적지를 판단하는데 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

사 사

이 연구는 국립수산물과학원 사업과제 (R2021018, 지속 가능한 남해안 패류양식 안정화 연구 R2021016) 의 일환으로 수행되었습니다.

REFERENCES

- Alexander, R., Stanton, R., & Dodd, J. (1993) Influence of Sediment Grain Size on the Burrowing of Bivalves: Correlation with Distribution and Stratigraphic Persistence of Selected Neogene Clams. *Palaos*, **8**(3): 289-303. Doi: 10.2307/3515151.
- De Andrade, J.T.M., Cordeiro, N.I.S., Montresor, L.C., Luz, D.M.R., Viana, E.M.F., Martinez, C.B., Vidigal, T.H.D.A. (2020) Tolerance of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) to aerial exposure at different temperatures. *Hydrobiologia*. <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04191-4>.
- Gainey, L.F., Greenberg, M.J. (2003) Nitric oxide mediates seasonal muscle potentiation in clam gills. *Journal of experimental biology*, **206**(Pt 19): 3507-3520. Doi: 10.1242/jeb.00573.
- Guo, H., Callaway, J.B., Ting, J.P. (2015) Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Natural Medicine*, **21**(7): 677-87. <http://doi.org/10.1038/nm.3893>.
- Huntley, J.W., Fursich, F.T., Alberti, M., Hethke, M., Liu, C. (2014) A complete Holocene record of trematode-bivalve infection and implications for the response of parasitism to climate change. *Proceedings of the national academy of sciences of the United states of america*, **23**:111(51): 18150-18155. Doi: 10.1073/pnas.1416747111.
- Hwang, S.-C. 2012. "http://www.climate.go.kr/home/cc_data/presentation/20120402/20120402_presentation_5.pdf" http://www.climate.go.kr/home/cc_data/presentation/20120402/20120402_presentation_5.pdf. [Accessed Nov 1, 2020]
- Hyun, J.-H., Choi, K.-S., Lee, K.-S., Lee, S.-H., Kim, Y.-K., Kang, C.-K. (2020) Climate change and anthropogenic impact around the Korean coastal ecosystems: Korean Long-term Marine Ecological Research (K-LTMER). *Estuaries and Coasts*, **43**: 441-448. <https://doi.org/10.1007/s12237-020-00711-6>
- Kang, S.G., Park, S.W., Kim, Y.K. (2000) The morphology of the hemocytes of the clam, *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia). *Journal of fish pathology*, **13**(2): 129-136. Doi: 1226-0819(pISSN).
- KOSIS (2020) Korean Statistical Information Service. \ Statistical database for agriculture and forestry/fishery [Accessed Nov 1, 2020]. https://kosis.kr/eng/statisticslist/statisticslistindex.do?menuId=M_01_01&vxcd=MT_ETI_TLE&parmTabId=M_01_01&statId=1971002&themald=#Selectstatsboxdiv.
- Labreuche, Y., Soudant, P., Goncalves, M., Lambert, C., Nicolas, J.L. (2006) Effects of extracellular products from pathogenic *Vibrio aestuarianus* strain 01/32 on lethality and cellular immune responses of the oyster *Crassostrea gigas*. *Development and comparative immunology*, **30**: 367-379. Doi: 10.1016/j.dci.2005.05.003.
- Mángano, M.G., Buatois, L.A., West, R.R. & Maples, C.G. (2002) Ichnology of an equatorial tidal flat: the Stull Shale Member at Waverly, eastern Kansas. *Bulletin of the Kansas Geological Survey*, **245**: 1-130. Doi: <https://doi.org/10.1080/10420940290208171>.
- Matozzo, V., and Marin, M. G. (2011) Bivalve immune responses and climate changes: is there a relationship? *Invertebrate Survival Journal.*, **8**(1): 70-77.
- Nam, K. W., Yang, H. S., Park, K. I. (2013) Quantification of nitric oxide concentration in the hemocytes of Manila clam *Ruditapes philippinarum* by using 4,5-diaminofluorescein diacetate (DAF-2) detection method. *The Korean Journal of Malacology*, **29**: 10. 9710/kjm.2013.29.1.15.
- Nam, K. W., Jeung, H. D., Song, J. H., Park, K. 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 & Vectors*, **11**: 42. Doi: 10.1186/s13071-018-2620-3.
- Nicchitta, C. V., Ellington, W. R. (1983) Energy metabolism during air exposure and recovery in the high intertidal bivalve mollusc *Geukensia demissa granosissima* and the subtidal bivalve mollusc *Modiolus squamosus*. *The Biological Bulletin.*, **165**(3):

- 708-722. Doi: 10.2307/1541473.
- NIFS (2018) Investigation of the cause of decline in fishery productivity in Yeolja bay ark shell (*Andara kagoshimensis*) of south coast off Korea. National Institute of Fisheries Science, Research Report. pp 56.
- Pariseau J., Myrand, B., Desrosiers, G., Chevarie, L., Giguere, M. (2009) Influences of physical and biological variables on softshell clam (*Mya arenaria* Linnaeus 1758) burial. *Journal of Shellfish Research*, **26**: 391-400. Doi: 10.2983/0730-8000(2007)26[391:IOPABV] 2.0.CO;2.
- Pipe, R.K. and Coles, J.A. (1995) Environmental contaminants influencing immunefunction in marine bivalve molluscs. *Fish & Shellfish Immunology*, **5**: 581-595. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(95\)80043-3](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(95)80043-3).
- Park, K. I. (2013) Variation of nitric oxide concentrations in response to shaking stress in the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *The Korean Journal of Malacology*, **29**(1): 1-6. Doi: <http://dx.doi.org/10.9710/kjm.2013.29.1.1>.
- Rahman, M.A., Henderson, S., Miller-Ezzy, P., Li, X.X., Qin, J.G. (2019) Immune response to temperature stress in three bivalve species: Pacific oyster *Crassostrea gigas*, Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and mud cockle *Katylisia rhytiphora*. *Fish & Shellfish Immunology*, **86**: 868-874. Doi: 10.1016/j.fsi.2018.12.017.
- Renault, T. (2015) Immunotoxicological effects of environmental contaminants on marine bivalves. *Fish & Shellfish Immunology*, **46**: 10.1016/j.fsi.2015.04.011.
- Roberts, D., Rittschof, D., Gerhart, D. J., Schmidt, A. R., Hill, L. G., (1989) Vertical migration of the clam *Mercenaria mercenaria* (L.) (Mollusca:Bivalvia): environmental correlates and ecological significance. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **126**: 271-280. Doi: [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(89\)90192-5](https://doi.org/10.1016/0022-0981(89)90192-5).
- Salvemini D, Misko T.P, Masferrer, J.L., Seibert, K, Currie, M.G., Needleman, P. (1993) Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **90**(15): 7240-7244. Doi: 10.1073/pnas.90.15.7240.
- Seuront, L., Nicastro, K. R., Zardi, G. I., Goberville, E. (2019) Decreased thermal tolerance under recurrent heat stress conditions explains summer mass mortality of the blue mussel *Mytilus edulis*. *Scientific Reports*, **9**: 17498. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53580-w>.
- Shin, Y. K. and Moon, T. S. (2005) Temperature tolerance and physiological changes of blood cockle, *Tegillarca granosa*. *Journal of Korean Fisheries Society*, **38**: 251-256. Doi: <https://doi.org/10.5657/kfas.2005.38.4.251>.
- Song, J. H., Kim, C. H., Park, S. W., Yu, J. H., Jo, Y. J. (2008) Seasonality of the Biological Activity Factors of the hard clam *Meretrix lusoria* in the Western Coast of Korea. *Journal of Aquaculture*, **21**: 111-122.
- Song, L., Wang, L, Qiu, L., Zhang, H. (2010) Bivalve immunity. *Advanced Experimental Medicine and Biology*, **708**: 44-65. doi: 10.1007/978-1-4419-8059-5_3.
- Taffala, C., Gomez-Leon, J., Novoa, B. and Figueras, A. (2003) Nitrite oxide production by carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) hemocytes. *Development & Comparative Immunology*, **27**: 197-205. Doi: 10.1016/S0145-305X(02)00098-8.
- Tarnowska, K., Verney, A., Wolowicz, M., Féral, J. P., Chenuil, A. (2012) Survival of male and female *Cerastoderma glaucum* (Bivalvia) during aerial exposure. *Vie et Milieu - Life and Environment*, **62**(1): 23-28.
- Waki, T., Takahashi, M., Eki, T., Hiasa, Umeda, L., Karakawa, N., Yoshinaga, T. (2018) Impact of Perkinsus olseni infection on a wild population of Manila clam *Ruditapes philippinarum* in Ariake Bay, Japan. *Journal of Invertebrate Pathology*, **153**: 134-144. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.03.001>.
- Wang, J., Ren, R. M., Yao, C. L. (2018). Oxidative stress responses of *Mytilus galloprovincialis* to acute cold and heat during air exposure. *Journal of Molluscan Studies*, **84**: 285-292. Doi: <https://doi.org/10.1093/mollus/eyy027>.
- Widdows, J., Bayne, B. L., Livingstone, D. R., Newell, R. I. E., Donkin, P. (1979) Physiological and biochemical responses of bivalve molluscs to exposure to air. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. **62**(2): 301-308. Doi: [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(79\)90060-4](https://doi.org/10.1016/0300-9629(79)90060-4).
- Yim, C. Y. (2010). Nitric oxide and cancer. *Korean Journal of Medicine*, **78**(4): 430-436.
- Yin, X., Chen, P., Chen, H. Yan, X. (2017). Physiological performance of the intertidal Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) to long-term daily rhythms of air exposure. *Scientific Reports*, **7**: 41648. Doi: <https://doi.org/10.1038/srep41648>.
- Yoon, Y-H., Jeong, D. (2018) Marine Environmental Characteristics of the Fishing Ground for Blood Cockle, *Tegillarca granosa* (Linnaeus) in the Northwestern Areas of Yeolja Bay, South Sea of Korea. Fall Conference Abstract Book, The Korean Society for Marine Environment and Energy. p. 250.

