

수온 증가에 따른 말전복, *Haliotis gigantea*과 둥근전복, *Haliotis discus discus* (Reeve, 1846) hemolymph의 생리학적 변화

민은영, 김신후, 황인기, 김경욱, 박보미, 이정식¹, 강주찬

부경대학교 수산생명의학과, ¹전남대학교 수산생명의학과

Influence of elevated temperatures on the physiological response of hemolymph from two species of abalone, *Haliotis gigantea* and *Haliotis discus discus* (Reeve, 1846)

Eun-Young Min, Shin-Hu Kim, In-Ki Hwang, Kyeong-Wook Kim, Bo-Mi Park, Jung Sick Lee¹ and Ju-Chan Kang

Department of Marine Life-Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

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

ABSTRACT

This study was conducted to examine the effects of alterations in water temperature (WT) on biochemical and immunological factors in the hemolymph of the abalones, *Haliotis gigantea* and *H. discus discus*. The abalone were exposed to various WT; 18, 20, 22, 24, 26 and 28 °C for 96 hours. In biochemical factors, total-protein (TP), glucose, magnesium (Mg), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were not significant changes in hemolymph of *H. gigantea* and *H. discus discus*. But calcium was significantly increased by high WT (≥ 24 °C). In immunological factor, The phenoloxidase (PO) activity was decreased in hemolymph of *H. gigantea* and *H. discus discus* exposed to high temperature (≥ 22 °C) compared to the control ($P < 0.05$). Whereas alkaline phosphatase (ALP) was not significantly changed. These results suggested that high temperature adversely affects the immunity of *H. gigantea* and *H. discus discus*.

Key words: *Haliotis gigantea*, *Haliotis discus discus*, hemolymph, biochemical parameters, immunological parameters

서 론

우리나라는 2010년, 6,228톤의 양식산 전복을 생산하여 중국에 이어 세계 2위의 전복 생산국으로 주목을 받고 있으며, 현재 소형종인 오분자기 (*Haliotis diversicolor supertexta*),

난류계인 말전복 (*Haliotis gigantea*), 둥근전복 (*Haliotis discus discus*), *Haliotis sieboldii*와 한류계인 북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 등을 주로 전남 완도 지역 및 제주도 연안에서 생산하고 있다 (KNSO, 2011; Jang *et al.*, 2010). 국내 전복의 양식은 해상가두리 육성법을 이용한 대량 생산 체계가 구축된 이후 급격한 성장을 보이고 있지만, 이는 최근 급변하는 해양 환경 조건에 그대로 노출된다는 단점이 있다 (Park *et al.*, 2011). 특히 환경변화에 대응하여 회피할 수 있는 어류와는 달리 이동이 매우 제한적인 전복류는 급격한 환경변화에 대해 매우 민감할 것으로 생각된다 (Kim *et al.*, 2006). 최근 발전소, 제철공장 등으로부터 배출된 배수의 연안 해역 방류와 다양한 화학물질이 수계로 유입됨에 따라 급격한 환경오염이 이루어지고 있고, 이로 인한 수온상승은 스트레스로 작용하여 생체 내 대사, 혈액 성분 및 면역력과 같은 수산생

Received: September 7, 2015; Revised: September 21, 2015; Accepted: September 30, 2015

Corresponding author : Ju-Chan Kang

Tel: +82 (51) 629-5944 e-mail: jckang@pknu.ac.kr
1225-3480/24583

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.

물의 면역 및 생리적 변화를 초래하였다는 보고가 있다 (Kim *et al.*, 2005; Baeck *et al.*, 2014; Chang *et al.*, 2001; Min *et al.*, 2014a,b; Park *et al.*, 2013; Ryan, 1995).

급격한 수온변화로 인한 스트레스는 생체 내 활성산소류 (ROS, reactive oxygen species) 발생을 증가 시킨다 (Stohs *et al.*, 2000; Firat *et al.*, 2009). 이러한 ROS에 대한 방어 기작은 간체장 및 순환계를 통해 이루어지며, 헤모림프 (hemolymph) 와 혈구세포 (hemocytes) 가 그 기능을 담당한다. 복족류는 개방혈관계로, 헤모림프는 모든 조직 사이를 순환하면서 상처 치유, 폐각 재생, 영양분 소화 및 분비물 배설 등 기본적인 척추동물의 혈액과 같은 기능을 수행 하며, 체액 성 및 세포성 면역 성분도 포함하고 있다 (Cheng, 1981; Ashida *et al.*, 1990). 그 중에서도 phenoloxidase (PO) 는 비특이적 면역반응에서 주요한 역할을 담당하며, 온도와 염분 등 환경변화에 따라서 그 활성이 달라지는 것으로 알려져 있다 (Anderson *et al.*, 1981; Feng and Canzonier, 1970; Siiderhall *et al.*, 1994).

Aspartate aminotransferase (AST) 와 alanine aminotransferase (ALT) 는 L-아스파르트산의 아미노기를 α -케토글루타르산으로 전달하여, 옥살로아세트산과 L-글루탐산을 생성하는 가역반응을 촉매하는 효소이다. 이 효소들은 non-plasma-specific enzymes으로 간, 신장, 비장과 같은 조직 세포내에 존재하며 특히 간에 함량이 많다. 간 손상이나 간 질병 시 혈청내에 노출되기 때문에 간 손상의 지표로 자주 이용된다. Alkaline phosphatase (ALP) 는 인산가수분해효소로 혈액 중 농도는 간이나 뼈 등의 질환에 의해 변화하기 때문에 임상검사의 대상이 된다 (Shahsavani *et al.*, 2010; Smutna M *et al.*, 2002; Yang and Chen., 2003).

최근 환경오염으로 인한 수산물 생산성 저하에 대한 대안으로 환경내성이 높은 우량품종 개발을 위한 연구가 활발히 진행 중에 있다. 우량품종 개발을 위해서는 각 전복류의 생리학적 차이를 이해할 필요성이 있다. 본 연구는 제주도의 주요 생산 품종 중 말전복과 둥근전복 모패의 급격한 수온증가에 따른 헤모림프 내의 생리학적, 면역학적 인자의 변화를 비교, 검토하여 우량품종 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험생물

본 실험에 사용한 말전복, *Haliotis gigantea* (각장 113.61 ± 12.18 mm, 전중 73.31 ± 25.76 g) 은 제주해양수산연구원 에서 분양받아 부경대학교에서 실험하였고, 둥근전복, *H. discus discus* (각장 100.68 ± 16.27 mm, 전중 88.91 ±

14.25 g) 는 중국 청도지역에서 분양 및 협조를 받아 부경대학교에서 실험하였다. 실험에 사용한 전복은 외관상 건강한 개체를 선택하여 실시하였다.

2. 실험조건

실험 전복은 18°C에서 1주 동안 순치시킨 후, 18, 20, 22, 24, 26 및 28°C의 수온 스트레스를 각각 주었으며, 96시간 이후 헤모림프를 채취하였다. 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 헤모림프를 채취한 뒤, 분석 전까지 상등액을 -70°C에 보관하였다.

3. 헤모림프 유기 및 무기성분 분석

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

4. 헤모림프 효소 분석

헤모림프 효소 활성은 aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), phenoloxidase (PO) 및 alkaline phosphatase (ALP) 를 분석하였다.

AST, ALT는 Reitman-Frankel법을 바탕으로 한 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.) 로 분석하였다.

PO 활성은 Asokan *et al.* (1997) 의 방법을 따라서 분석하였다. 0.1M phosphate buffer, pH 6.0에 2 mM L-DOPA

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

Item	Value
Room temperature (°C)	18.0 ± 1.3
pH	8.1 ± 0.3
Salinity (‰)	33.2 ± 0.5
Dissolved oxygen (mg/L)	7.2 ± 0.2
Chemical oxygen demand (mg/L)	1.2 ± 0.3
Ammonia (µg/L)	8.4 ± 0.6
Nitrite (µg/L)	5.4 ± 0.6
Nitrate (µg/L)	13.2 ± 0.4

를 넣고 혼합한 뒤, 이 혼합액과 시료를 넣고 490 nm에서 10 분간 흡광도를 측정하여, 흡광도 값이 1분에 0.001의 변화를 1 Unit로 정의하였다. 단위는 Unit/min/mg protein 으로 나타내었다.

ALP는 Kind-king법을 이용한 시판용 키트 (Asan Pharmaceutical. Co., Ltd. Korea) 를 이용하여 측정하였다. 아래의 식에 따라 검량선에서 ALP 값을 구하여 ALP 활성치를 계산하였다.

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

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 < 0.05 일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 헤모림프의 유기 및 무기성분

수온 증가에 따른 말전복 (*Haliotis gigantea*) 과 둥근전복 (*H. discus discus*) 의 헤모림프의 유기성분인 total-protein (TP) 와 glucose의 변화를 Table 2에 나타냈다. 대조구인 수온 18℃에서 말전복 (*H. gigantea*) 의 헤모림프 TP 농도는

2.68 ± 0.10 g/dL이며, 둥근전복 (*H. discus discus*) 은 3.44 ± 0.18 g/dL로 말전복 보다 약 1.28배 높았다. 수온 18℃에서 말전복 (*H. gigantea*) 의 glucose 농도는 31.05 ± 3.26 mg/dL이었고, 둥근전복 (*H. discus discus*) 은 33.18 ± 4.19 mg/dL으로 종에 따른 유의성은 나타나지 않았다. 수온 증가에 따른 TP의 변화는 두종 모두 유의성이 나타나지 않았고, glucose는 수온이나 종에따른 유의적인 변화가 나타나지 않았다.

수온 증가에 따른 두 전복의 헤모림프의 무기성분인 칼슘 (Ca) 과 마그네슘 (Mg) 의 변화를 Table 3에 나타내었다. 대조구에서 말전복 (*H. gigantea*) 과 둥근전복 (*H. discusdiscus*) 의 헤모림프 Ca 농도는 35-39 mg/dL 수준으로 종 차이에 따른 유의한 차이는 없었으나, 두 종 모두 수온이 증가할수록 유의적으로 증가하는 경향을 보였다 (P < 0.05). 대조구의 Mg 농도는 말전복 (*H. gigantea*) 이 33.44 ± 2.63 mg/dL, 둥근전복 (*H. discus discus*) 이 28.93 ± 1.23 mg/dL으로 약 1.15배 정도 높았다. 수온 증가에 따른 Mg 농도변화는 나타나지 않았다.

2. 헤모림프의 효소활성

수온 증가에 따른 말전복 (*H. gigantea*) 과 둥근전복 (*H. discus discus*) 의 헤모림프 효소로, aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) 및 phenoloxidase (PO) 활성을 Table 4와 Figure 1에 나타내었다.

Table. 2. Changes of organic components in hemolymph of abalone, *Haliotis gigantea* and *Haliotis discus discus* exposed to various water temperatures for a four-day time period. Each point represents a mean value ± S.D. of two replicates (n = 4). Values with different superscript are significantly different (P < 0.05) from control according to Duncan's multiple range test

Temperature (°C)	Components	<i>Haliotis gigantea</i>	<i>Haliotis discus discus</i>
18	Total-protein (g/dL)	2.68 ± 0.10 ^a	3.44 ± 0.18 ^a
20		2.89 ± 0.51 ^a	3.22 ± 0.11 ^a
22		2.66 ± 0.32 ^a	3.53 ± 0.15 ^a
24		2.61 ± 0.22 ^a	3.42 ± 0.14 ^a
26		2.87 ± 0.40 ^a	3.48 ± 0.11 ^a
28		2.77 ± 0.32 ^a	3.50 ± 0.21 ^a
18	Glucose (mg/dL)	31.05 ± 3.26 ^a	33.18 ± 4.19 ^a
20		34.11 ± 3.60 ^a	33.67 ± 3.36 ^a
22		33.49 ± 4.56 ^a	33.82 ± 3.39 ^a
24		29.48 ± 4.87 ^a	33.19 ± 3.19 ^a
26		34.50 ± 2.03 ^a	31.94 ± 4.07 ^a
28		36.80 ± 3.33 ^a	31.94 ± 3.87 ^a

Table 3. Changes of inorganic components in hemolymph of abalone, *Haliotis gigantea* and *Haliotis discus discus* exposed to various water temperatures for a four-day time period. Each point represents a mean value \pm S.D. of two replicates (n = 4). Values with different superscript are significantly different (P < 0.05) from control according to Duncan's multiple range test

Temperature (°C)	Components	<i>Haliotis gigantea</i>	<i>Haliotis discus discus</i>
18	Calcium (mg/dL)	39.62 \pm 3.56 ^a	35.50 \pm 3.05 ^a
20		42.45 \pm 2.00 ^a	35.50 \pm 3.05 ^a
22		43.83 \pm 1.65 ^a	34.82 \pm 2.48 ^a
24		48.51 \pm 2.22 ^b	34.83 \pm 3.40 ^a
26		46.93 \pm 2.91 ^{ab}	39.41 \pm 3.79 ^{ab}
28		49.46 \pm 2.14 ^b	41.88 \pm 3.08 ^b
18	Magnesium (mg/dL)	33.44 \pm 2.63 ^a	28.93 \pm 1.23 ^a
20		33.22 \pm 1.85 ^a	28.66 \pm 2.45 ^a
22		32.89 \pm 2.02 ^a	28.24 \pm 1.62 ^a
24		32.11 \pm 1.51 ^a	27.29 \pm 2.11 ^a
26		31.00 \pm 1.94 ^a	26.91 \pm 2.54 ^a
28		30.73 \pm 2.50 ^a	26.59 \pm 2.10 ^a

Table 4. Change of enzymes in hemolymph of abalone, *Haliotis gigantea* and *Haliotis discus discus* exposed to various water temperatures for a four-day time period. Each point represents a mean value \pm S.D. of two replicates (n = 4). Values with different superscript are significantly different (P < 0.05) from control according to Duncan's multiple range test

Temperature (°C)	Components	<i>Haliotis gigantea</i>	<i>Haliotis discus discus</i>
18	AST (Karmen/mL)	56.87 \pm 6.35 ^a	53.36 \pm 6.36 ^a
20		59.88 \pm 4.20 ^a	52.20 \pm 6.24 ^a
22		51.54 \pm 7.11 ^a	50.32 \pm 4.72 ^a
24		49.71 \pm 4.87 ^a	47.22 \pm 7.02 ^a
26		49.19 \pm 4.44 ^a	49.81 \pm 4.50 ^a
28		55.94 \pm 6.37 ^a	49.18 \pm 5.84 ^a
18	ALT (Karmen/mL)	40.37 \pm 4.59 ^a	27.36 \pm 4.37 ^a
20		42.67 \pm 6.81 ^a	32.74 \pm 6.38 ^a
22		40.87 \pm 3.17 ^a	31.00 \pm 4.68 ^a
24		39.93 \pm 4.10 ^a	33.44 \pm 6.45 ^a
26		41.59 \pm 4.35 ^a	30.83 \pm 4.84 ^a
28		42.73 \pm 3.75 ^a	31.54 \pm 5.12 ^a

대조구에서 AST는 말전복 (*H. gigantea*) 이 56.87 \pm 6.35 Karmen/mL, 둥근전복 (*H. discus discus*) 이 53.36 \pm 6.36 Karmen/mL로 종간의 차이는 나타나지 않았으며 수온증가에 따른 변화도 없었다 (Table 4).

대조구에서 ALT는 말전복 (*H. gigantea*) 이 40.37 \pm 4.59 Karmen/mL, 둥근전복 (*H. discus discus*) 이 27.36 \pm 4.37 Karmen/mL로 말전복이 1.47배 높았고 AST와 마찬가지로 수온에 따른 변화는 없었다 (Table 4).

고찰

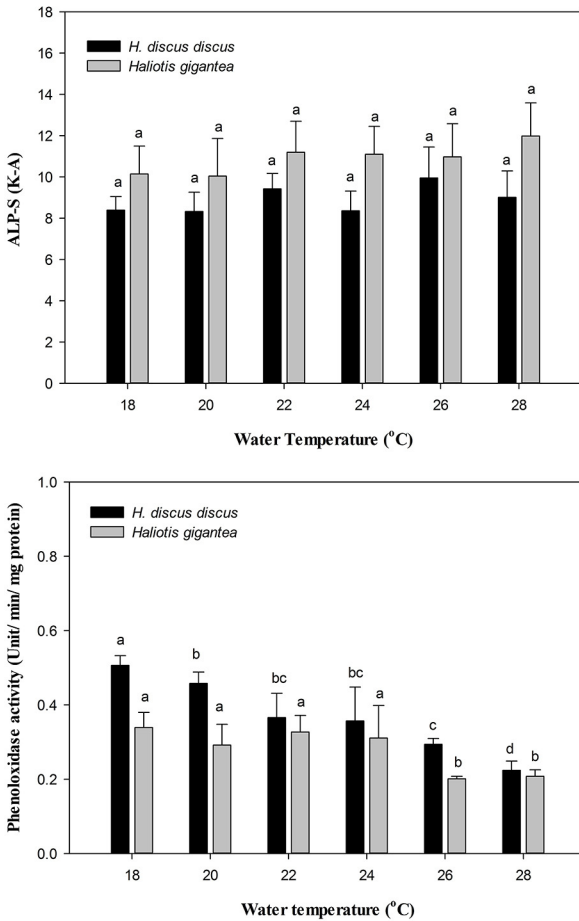


Fig. 1. Changes of ALP and Phenoloxidase activity in hemolymph of abalone, *Haliotis gigantea* and *H. discus discus* exposed to various water temperatures for a four-day time period. Each point represents a mean value ± S.D. of two replicates (n = 4). Values with different superscript are significantly different (P < 0.05) in *Haliotis gigantea* and *H. discus discus* as determined by Duncan's multiple range test.

대조구에서 ALP 활성은 말전복 (*H. gigantea*) 이 10.14 ± 1.35 K-A, 둥근전복 (*H. discus discus*) 이 8.38 ± 0.65 K-A 로 말전복 (*H. gigantea*) 이 1.21배 높게 나타났으나 수온 증가에 따른 유의적 변화는 없었다 (Fig. 1).

PO의 활성변화는 대조구에서, 말전복 (*H. gigantea*) 이 0.34 ± 0.04 unit/min/mg protein, 둥근전복 (*H. discus discus*) 이 0.50 ± 0.02 unit/min/mg protein으로 말전복 (*H. gigantea*) 이 1.47배 낮은 활성을 보였다 (P < 0.05). 수온 증가에 따른 PO 활성은 두 종 모두 수온의 증가에 따라 감소하는 경향성을 보였고 특히 26°C 이상에서 많은 감소를 보였다 (Fig. 1).

현재 전복의 양식이 주로 이루어지고 있는 곳은 전남과 제주의 연안으로 특히 제주 연안은 외양성 염분 (30-35 psu) 이 전복의 성장에 적합하기 때문이다 (Yang *et al.*, 2008). 최근 한국 연근해 수온의 장기변동에 관한 연구에서는 국내 연안의 수온이 지속적으로 상승하고 있다고 보고하고 있다 (Seong *et al.*, 2010). 이러한 수온의 증가는 스트레스로 작용하며, 특히 전복과 같은 고착생물은 여러 환경 변화를 피할 수 없기 때문에 세로 외부 환경 변화에 대하여 항상성을 유지하기 위해 다양한 생리적 반응을 보인다 (Min *et al.*, 2015). 수산 생물은 환경변화에 따른 스트레스를 견딜 수 있는 능력을 가지고 있으나, 일정 수준을 넘어서는 스트레스는 생물의 생리활성을 떨어뜨려 건강을 악화시킬 수 있다 (Barton, 1991). 국내에서 연구된 자료들을 보면 수온 및 염분변화에 따른 삼투압, 조직학적 변화, heat shock protein의 gene 발현, 항산화 효소 변화 등에 대해 보고된 바 있다 (Kim *et al.*, 2005, 2006; Park *et al.*, 2011; Shin *et al.*, 2011). 이러한 연구들은 해양환경 변화를 측정하기 위한 지표로 이용될 수 있는데, 이 중에서도 혈액 및 혈청학적 지표들은 다양한 스트레스에 따라 다르게 반응하므로 유해물질 노출이나 환경변화에 대한 대사 장애 수준을 파악할 수 있는 주요한 지표로 사용된다 (Zaccaron da Silva *et al.*, 2005; Jee *et al.*, 2004). 따라서 본 연구에서는 고부가 가치를 가지고있는 제주도의 주요 생산종 말전복 (*H. gigantea*) 과 둥근전복 (*H. discus discus*) 을 대상으로 고수온에서 혈림프의 생리적 반응을 조사하였다.

해양 생물에게 환경 스트레스가 주어지면 탄수화물 대사가 증가하면서 TP 와 glucose가 증가한다고 알려져 있다 (Cheng *et al.*, 2004a; Baeck *et al.*, 2014). 그러나 본 연구에서 TP 농도는 둥근전복 (*H. discus discus*) 이 말전복 (*H. gigantea*) 보다 1.28배 높게 나타나 종간의 차이는 보였으나 수온 증가에 따른 유의적 변화는 나타나지 않았다. Glucose 농도 역시 수온증가에 따른 차이가 없었고, 종에 따른 차이도 나타나지 않았다.

어류에서 혈청 내 Ca와 Mg의 농도는 삼투압을 유지하는 기능을 하는데 삼투조절 및 이온 조절 능력 손상과도 연관이 있다고 알려져 있다 (Waring *et al.*, 1996). 말전복 (*H. discus hannai*) 의 Ca 농도는 24°C이상에서 둥근전복 (*H. discus discus*) 의 Ca 농도는 26°C이상에서 유의적 증가를 나타내었고, Mg 농도는 유의적 변화가 나타나지 않았다. 무척추동물 특히 패류에서 Ca는 CaCO₃의 형태로 껍질 형성에 이용되는데 이러한 혈청 내 Ca 농도 증가는 수온증가가 외골격 성장에 영향을 미치기 때문이라 생각된다 (Lin and Meyers, 2005). Nikinmaa *et al.* (1985) 은 저산소 스트레스에서 purple

shore crab (*L. Variegates*)의 혈청 Ca 농도가 증가한다고 보고하였고, Morris and Butler (1996) 역시 저산소 스트레스에 노출된 Asian freshwater clam (*C. fluminea*)의 혈청 Ca 농도가 증가한다고 보고하였다. 본 연구에서의 결과 역시 스트레스로 인한 체내의 산성화를 중화시키는 과정에서 외골격 (Shell)의 탄산칼슘 (calcium carbonate)을 중탄산염 (bicarbonate) 형태로 전환시켰기 때문일 것으로 판단된다 (Byrne *et al.*, 1991).

Transaminase 인 aspartate transaminase (AST)와 alanine transaminase (ALT) 그리고 alkaline phosphatases (ALP)는 조직의 세포내에 존재하는데 세포의 손상 시 혈청 내로 유입되기 때문에 조직손상의 지표로 이용되고 있다 (Agrahari *et al.*, 2007). 혈청 내 AST와 ALT의 활성은 일반적으로 세포의 손상, 특히 간 손상에 의해 증가한다고 알려져 있다. Sastry와 Sharma (1980)는 mercuric chloride에 노출된 *Ophiocephalus* (*Channa punctatus*)에서 이러한 증가를 보고하였다. 하지만 본 연구에서는 AST 활성의 변화는 관찰되지 않았고, ALT 역시 수온에 따른 유의적 변화는 나타나지 않았다.

해양 무척추동물에서 ALP는 중요한 lysosomal enzyme 중 하나이며 외부물질의 소화와 phagocytosis와 같은 비특이적 면역을 담당하는 당단백이다 (Liang *et al.*, 2014). 이전 연구에서도 2주간 cadmium에 노출된 북방전복, *Haliotis discus hannai* (Ino, 1953)에서 ALP의 변화는 관찰되지 않았고 (Min *et al.*, 2014c), Park and Kang (2012)의 연구에서도 구리 노출에 따른 북방전복의 ALP 증가는 4주차 이후에서부터 나타난 것으로 보아, 본 연구에서 ALP의 유의적 증가가 나타나지 않은 것은 수온에 고수온에 노출된 기간이 짧아 조직손상 정도의 영향을 받지 않은 것으로 판단된다.

해양 무척추동물의 면역체계는 주로 prophenoloxidase와 연관된 멜라닌 자극계가 관여하는 선천성 면역에 의존한다 (Cong *et al.*, 2005). Pro-phenoloxidase는 헤모림프 내에서 합성되어 외부 이물질 및 미생물 유입 시 phenoloxidase (PO)로 활성화된다. PO는 산화효소 중 하나로 병원성 미생물 및 이물질 유입 시 방어에 필요한 멜라닌의 합성 및 상처 치유 역할을 한다 (Johnson *et al.*, 2003). 이러한 PO의 활성은 염분, 수온과 같은 환경요소에 따라 변화한다는 보고들이 있다 (Cheng *et al.*, 2004b; Johnson *et al.*, 2003). Cheng *et al.*, (2004b)은 암모니아에 노출된 Taiwan abalone (*Haliotis diversicolor supertexta*)에서 스트레스로 인해 granular cell의 감소로 인해 PO의 활성이 감소하였다고 보고하였고, Travers *et al.*, (2008) 역시 European abalone (*Haliotis*

tuberculata)에서 고수온 스트레스와 관련된 PO 활성의 감소를 보고하였다. 본 연구에서 말전복 (*H. gigantea*)은 26°C 이상의 수온에서 PO활성이 유의적으로 감소하였고, 둥근전복 (*H. discus discus*)은 22°C 이상의 수온에서 PO활성이 유의적으로 감소하였는데 이는 수온스트레스로 인한 면역 활성의 저하로 보이며 둥근전복 (*H. discus discus*)이 수온 스트레스에 더욱 민감한 것으로 판단된다.

결론적으로 26°C 또는 28°C 이상의 수온은 말전복 (*H. gigantea*) 및 둥근전복 (*H. discus discus*)의 스트레스 요인으로 작용하여 면역학적 변동을 유발한 것으로 보인다. 특히, PO는 둥근전복 (*H. discus discus*)에서 말전복 (*H. gigantea*)에 비해 더 낮은 수온에서 유의한 변화가 관찰되었다. 이는 전복 우량품종 개발을 위한 기초자료로 활용할 수 있을 것이다.

사 사

본 연구는 농림축산식품부, 해양수산부, 농촌진흥청, 산림청 Golden Seed 프로젝트 사업으로 수행되었습니다.

요 약

본 연구에서는 수온 증가에 따른 말전복 (*Haliotis gigantea*)과 둥근전복 (*H. discus discus*) 헤모림프의 생리 및 면역학적 변화를 관찰하기 위하여 위 두 전복을 20, 22, 24, 26 및 28°C 수온에 각각 4일간 노출시켰다.

노출 결과, 헤모림프의 totalo-protein (TP), glucose, calcium (Ca)은 둥근전복 (*H. discus discus*)이 말전복 (*H. gigantea*)보다 높은 값을 보였으나, magnesium (Mg), alkaline phosphatase (ALP) 두 전복에서 유사한 값을 보였다. 그리고 면역인자인 PO에서는 둥근전복 (*H. discus discus*)이 더 높게 나타났다. 수온 증가에 따른 헤모림프의 TP, glucose, Mg, AST, ALT 및 ALP는 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 하지만 헤모림프의 Ca 농도는 둥근전복 (*H. discus discus*)에서 24°C 이상, 말전복 (*H. gigantea*)에서는 26°C 이상의 수온에서 유의적 증가를 보였다. 그리고 면역인자인 phenoloxidase (PO)는 둥근전복 (*H. discus discus*)은 22°C 이상 말전복 (*H. gigantea*)에서는 26°C 이상의 수온에서 유의적 감소를 나타내었다. 결론적으로 말전복 (*H. gigantea*)은 24°C 이상에서 혈액학적 변화를 보였고, 26°C 이상에서 면역학적 변화를 보였다. 둥근전복 (*H. discus discus*)은 26°C 이상에서 혈액학적 변화를 보였고, 22°C 이상에서 면역학적 변화를 나타내었다.

REFERENCES

- Agrahari S., Pandey K.C., Gopal K. (2007) Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of Wsh, *Channa punctatus* (Bloch). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **88**: 268-272.
- Ashida, M., Yamazaki, H.I. (1990) Biochemistry of the phenoloxidase system in insets: with special reference to its activation. In molting and metamorphosis. Springer. Berlin, p239-265.
- Anderson, R.S., Giam, C.S., Ray, L.E., Tripp, M.R. (1981) Effects of environmental pollutants on immunological competency in the clam, *Mercenaria mercenaria*: impacted bacterial clearance. *Aquatic Toxicology*, **1**: 187-195.
- 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.
- Baeck, S.K., Min, E.Y., 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.
- Byrne, R.A., Shipman, B.N., Smatrean, N.J., Dietz, T.H., 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., Lee, J.K. (2001) Stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) and fat cod (*Hexagrammos otakii*) by the sudden drop and rise of water temperature. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **34**(2): 91-97.
- Cheng, T.C. (1981) Bivalves. *In*: Invertebrate blood cell (ed. by Ratcliffe, N.A., Rowley, A.F.), London Academic Press, London. pp. 233-299.
- Cheng, W., Li C.H., Chen, J.C. (2004a) Effect of dissolved oxygen on the immune responses of *Haliotis diversicolor supertexta* and its susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture*, **232**: 103-115.
- Cheng W., Hsiao I.S., Chen J.C. (2004b) Effect of ammonia on the immune response of Taiwan abalone *Haliotis diversicolor supertexta* and its susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, **17**: 193e202.
- Cong R., Sun W., Liu G., Fan T., Meng X., Yang L., Zhu L. (2005) Purification and characterization of phenoloxidase from clam *Ruditapes philippinarum*. *Fish & Shellfish Immunology*, **18**: 61e70.
- Feng, S.Y., Canzonier, W.J. (1970) Humoral responses in the American oyster (*Crassostrea virginica*) infected with *Bucephalus* sp. and *Minchinia nelsoni*. Special Publications. *American Fisheries Society. Publ.*, **5**: 497-510.
- Firat, Ö., Çogun, H.Y., Aslanyavrusu, S., 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.
- Jang, M.S., Jang, J.R., Prak, H.Y., 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., 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., 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., Kim K.J., Choe M.K., Yeo I.K. (2006) Physiological Changes of Juvenile Abalone, *Haliotis sieboldii* Exposed to Acute Water-temperature Stress. *Journal of Aquaculture*, **19**(2): 77-83.
- Kim T.H., Yang M.H., Choe M.K., Han S.J., Yeo I.K. (2005) Physiological Studies in Acute Water-temperature Stress of Juvenile Abalone, *Haliotis discus hannai*. *Journal of Aquaculture*, **18**(1): 7-12
- 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., 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., Meyers M.A. (2005) Growth and structure in abalone shell. *Materials Science and Engineering: A*, **390**(A): 27-41.
- Min E.Y., Jeong J.W., 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., 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.
- Min E.Y., Lee J.S., Kwak I.S., Kim J.W., Kang J.C. (2014c) Changes of enzyme activity in the hemolymph and hepatopancreas of the abalone, *Haliotis discus hannai* (Ino, 1953) exposed to cadmium. *Korean Journal of Malacology*, **30**(1): 41-49
- Min E.Y., Lee J.S., Kim J.W., Jeon M.A., Kang J.C. (2015) Influence of Elevated Temperatures on the Physiological Response of Hemolymph from Two Species of the Abalone, *Haliotis discus hannai* and *H. discus discus*. *Korean Journal of Malacology*, **31**(1): 1-8 2015.
- Morris S., 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., Soivio A. (1985) Effects of hypoxia and acidification on the haemolymph pH value and ion concentration in the freshwater crayfish (*Astacus astacus* L.). *Finnish Game and Fisheries Research Institute*, **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., 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, M.W., Kim H.J., Kim B.H., Son M.H., Jeon M.A., 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.
- Park H.J., 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**(2): 154-160.
- Ryan S.N. (1995) The effect of chronic heat stress on cortisol levels in the Antarctic fish *Pagothenia borchgrevinki*. *Experimentia*, **51**: 768-774.
- Sastry K.V., Sharma K., (1980) Effects of mercuric chloride on the activities of brain enzymes in a freshwater teleost *Ophiocephalus* (*Channa punctatus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **9**: 425-430.
- Seong K.T., Hwang J.D., Han I.S., Go W.J., Suh Y.S., Lee J.Y. (2010) Characteristic for long-term trends of temperature in the Koreans waters. *Journal of the Korean Society of Marine Environment & Safety*, **16**: 353-360.
- Shin Y.K., Jun J.C., Im J.H., Kim D.W., Son M.H., Kim E.O. (2011) Physiological response in abalone *Haliotis discus hannai* with different salinity. *Korean Journal of Malacology*, **27**: 283-289.
- Stohs S.J., Bagchi D., Hassoun E., Bagchi M. (2000) Oxidative mechanism in the toxicity of chromium and cadmium ions. *Journal of environmental Pathology Toxicology and Oncology*, **19**: 201-213.
- Siiderhall K., Cerenius L., Johansson M.W. (1994) The prophenoloxidase activating system and its role in invertebrate defense. In Primordial immunity: Foundations for the vertebrate immune system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **712**: 155-161.
- Shahsavani D., Mohri M., Gholipour Kanani H. (2010) Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. *Fish Physiology and Biochemistry*, **36**:39-43.
- Smutna M., Vorlova L., Svobodova Z. (2002) Pathobiochemistry of Ammonia in the Internal Environment of Fish (Review). *journal of Acta veterinaria Brno*, **71**: 169-181.
- Travers M.A., Goic N.L., Huchette S., Koken M., Paillar C. (2008) Summer immune depression associated with increased susceptibility of the European abalone, *Haliotis tuberculata* to *Vibrio harveyi* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, **25**(6): 800-808.
- Waring C.P., Stagg R.M., Roxton M.G. (1996) Physiological responses to handling in the turbot. *Journal of Fish Biology*, **48**: 161-173.
- Yang H.S., Park K.I., Hong C.H., Choi K.S. (2008) Effects of Salinity Stress in the Composition of Free Amino Acids of the Pacific abalone *Haliotis discus discus*. *Journal of Aquaculture*, **21**(4), 218-225.
- Yang J.L., Chen H.C. (2003) Serum Metabolic Enzyme Activities and Hepatocyte Ultrastructure of Common Carp after Gallium Exposure. *Zoological Studies*, **42**(3): 455-461.
- Zaccaron da Silva A., Zanette J., Ferrira J.F., Guzinski J., Marques M.R.F., Bairy 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.