



저작자표시-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이학 석사 학위논문

산화스트레스 유발 참전복(*Haliotis discus hannai*)의 박리와 회복에 관한 병리학적
연구



2015 년 2 월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 명 의 학 과

김보성

이학 석사 학위논문

산화스트레스 유발 참전복(*Haliotis discus hannai*)의 박리와 회복에 관한 병리학적
연구

지도교수 허 민 도

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2015 년 2 월

부 경 대 학 교 대 학 원

수산생명의학과

김보성

김보성의 이학석사 학위논문을 인준함.

2015 년 2 월 27 일



위 원 장 이학박사 정 현 도 (인)

위 원 약학박사 정 준 기 (인)

위 원 농학박사 허 민 도 (인)

목 차

Abstract.....	iii
I. 서론.....	1
II. 재료 및 방법.....	4
1. 전복의 사육 및 유지 조건.....	4
2. Carbon tetrachloride(CCl ₄)의 농도 결정 및 주사.....	4
3. OTC(Oxytetracycline)의 농도 결정 및 침지법.....	5
4. 광학현미경을 통한 조직학적 검사.....	6
5. 전자현미경을 통한 조직학적 검사.....	6
6. 근육 직경의 측정.....	7
7. 통계학적 분석.....	7
III. 결과.....	8
1. 광학현미경을 통한 조직학적 결과.....	8
2. 전자현미경을 통한 조직학적 검사.....	10
3. OTC 처리 후 박리율 및 회복시간 결과.....	11
4. 근육 직경 측정의 결과.....	13
5. 통계학적 분석.....	15
IV. 고찰.....	39
V. 요약.....	44
VI. 감사의 글.....	45

VII. 참고문헌	47
-----------------	----



**Pathological studies on exfoliation and recovery in oxidative stress-induced
abalone, *Haliotis discus hannai*.**

Bo-Seong Kim

Department of *Aquatic life medicine*, Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Various degree of histological degeneration in the adductor muscle was found in seemingly healthy of cultured abalone, *haliotis discus hannai* , although the other organs and tissues were quite normal. Any histological evidence for infection of the biological agents was not detected by Giemsa and H & E stains. The frequency of this muscular lesion increased with high temperature. Growth rates increased with the increase of water temperature. Based on these findings, it was hypothesized that muscular degeneration possibly was the result of oxidative stress related with high growth rate. Cultured abalone was artificially applied by infection of carbon tetrachloride for oxidative stress occurrence. From this experiment, similar kind of muscular lesion was obviously induced. Severe swelling of muscle fibers was induced

at 12h and 24h postinjection. On the other hand, to investigate the effect of the muscular lesion on abalone's behavior characteristics, recovery time from application of oxytetracycline used as an exfoliating agent was checked. 3 experimental groups with negative control, positive control and treatment groups were divided. Individuals from all groups were sampled in 0, 12, 24, 72 and 120 hour after the injection. All individuals were treated during 20 second with diluted oxytetracycline just before each sampling times and were measured about recovery time. There were significant difference in recovery time between treatment group and others. With the increase in severity of lesion, the recovery time was lengthened. After 72hrs, recovery time decreased with decrease in severity of swelling of muscle fiber. From these results, it is suggested that the muscular degeneration in seemingly healthy cultured abalone is able to be related to a kind of oxidative stress. These muscular lesions can have a negative effect on the behavioral characteristic and can be related to increase secondary infection or mortality.

I. 서 론

우리나라에서 건강식품으로 널리 알려져 있는 참전복의 양식에 의한 전복의 생산량은 2005년대 이후 점진적으로 증가 추세를 보이고 있다 (농림수산통계연보, 2013). 이러한 생산량은 전복의 종묘생산과 양성에 이르기까지 완전 양식이 발달하며 양식기술의 점진적 연구로 인하여 생산량이 증가하는 경향을 보이고 있다(Kim et al., 1998, Kim et al., 2013). 하지만 이러한 양식기술의 발달에도 불구하고 양식 면적에 비해 수확량이 기대치보다 낮은 것을 볼 수 있는데, 양성시 생존율이 해상가두리식 전복 양식에 있어 치패수용시기부터 2~3년간 사육 후 수확시까지 생존율의 범위가 40~60%로서 낮게 유지되기 때문이다(NFRDI, 2008).

이러한 생존율에 영향을 미치는 것은 감염성 및 비감염성 질병에 의한 개체의 감소로 나타나며, 감염성 및 비감염성 질병의 발병요인으로는 숙주, 병원체, 환경의 상호관섭을 통하여 발생한다고 밝혀져 있다(전, 2000; Dang *et al.*, 2012). 양식산 전복의 폐사를 유발하는 요소 중 하나로서 병원체로는 polydora 감염증(Won *et al.*, 2013), 선별 및 박리 작업시에 나타날 수 있는 화농성감염증(NFRDI, 2008), vibrio 감염증(Cardinaud *et al.*, 2014), herpes virus 감염증(Corbeil *et al.*, 2012)등에 대하여 연구가 되어 있다. 환경변화에 대한 숙주의 반응으로는 염분 변동에 따른 전복의 생리학적 분석(Shin *et al.*, 2011), 중금속 노출에 따른 전복의 혈청학적 분석(Min *et al.*, 2014), 수온 및 염분별 노출시간에 따른 전복의 조직학적 변성(Park *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2013)등이 연구되어 있다. 외부 환경적 요인 및 병원체에 대해서 연구가 진행이 많이

되어있는 반면, 숙주인 전복에 대해서는 기질성 병변에 대한 연구가 일부 진행되고 있지만 다른 병원체 및 환경 변화에 대한 연구보다는 부족한 실정이다(Kim *et al.*, 2014).

본 연구에서는 숙주 자체의 기질적 변성의 의의 및 영향을 고찰하기 위해 먼저 김 등(2014)이 연구한 폐각근의 기질적 변성을 분석하였을 때, 성장속도가 빠른 시기에 많이 발현이 되며 조직병리학적으로 관찰하였을 때 고등척추동물에서 성장속도가 빠른 개체에서 일어나는 산화스트레스성 근육 병변과 유사한 병변으로 나타나는 것을 관찰할 수 있었다(Jones *et al.*, 1997). 이러한 점을 미루어 전복에서 나타나는 기질성 병변이 세포의 과활성에 따른 산화스트레스의 병변으로 추정을 하여 예비실험으로 산화스트레스 유발물질인 CCl_4 (Carbon tetrachloride)를 전복의 복측 투여를 실시하게 되었다.

CCl_4 는 환원적으로 탈염소화되어 trichloromethyl free radical($\text{CCl}_3\cdot$)을 형성하고, 이것이 지질의 과산화를 개시한다(Henry *et al.*, 1986). 지방의 과산화는 free radical의 공격에 의해 사이클릭 과산화물, 알데하이드, 4-HNE 등의 다양한 물질들을 생성하며 (Sachdev and Kelvin, 2008), 이들은 생체 내의 단백질, DNA, 인지질과 같은 다양한 분자와 결합하여 안정된 물질을 형성한다(Requena *et al.*, 1977; Lilo *et al.*, 2011). 이로 인해 DNA의 산화 및 막에서의 구조적 변화로 세포의 종창의 결과를 초래하게 된다 (Ferraris *et al.*, 2002). 따라서 고등척추동물에서는 산화스트레스 유발제로 빈번하게 쓰이고 있으며(Cho *et al.*, 2014), 본 연구에서 역시 산화스트레스를 유발하기 위해 사용하였다.

CCl_4 를 복측 투여하여 양식산 전복의 기질적병변을 인위적으로 유발한 결과, 양식산 전복의 병리적 증상과 동일한 병변을 재현할 수 있었다. 이러한 기질적 병변은 숙주의 건강도를 낮춰 외부 환경의 변화 및 감염성 질병에 대한 민감도를 더 높이는 것으로 밝혀져 있다(Wedemeyer and McLeay, 1981). 따라서 양식산 전복에서 일어나는 병변이 숙주의 건강도를 낮추는 것으로 사료되며 이에 대한 실험으로 양식현장에서 폐사가 많이 발생하며 숙주의 건강도가 중요한 박리작업을 실험적 환경에서 실시하였다. 전복을 박리하는 방법에는 화학적 및 물리적 방법들이 개발되어 있다(Choi *et al.*, 1997, Choi *et al.*, 1998, White *et al.*, 1996., Han *et al.*, 2003). 하지만 현장 적용의 한계성 및 안전성 때문에 수산용 항생제인 oxytetracycline을 비롯하여 유기산 등을 사용하고 있는 현황이다(Kim *et al.*, 2013).

본 연구에서는 시판용 박리제 중 oxytetracycline을 이용한 박리를 실시하였으며, 인위적으로 산화스트레스를 유발한 개체들과 정상 개체들을 박리율 및 회복시간을 비교 분석을 실시하였으며 조직병리학적 결과와 상호 연관성을 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 전복의 사육 및 유지 조건

각장의 장축 6.14 ± 0.34 cm, 각장의 단축 4.13 ± 0.24 cm, 체중 26.46 ± 4.23 g의 전라남도 완도군의 참전복(*Haliotis discus hannai*) 150마리를 구입하여 한달 동안 순치한 후, 0h, 12h, 24h, 72h, 120h의 시점에서 10미씩 샘플링하기 위해 선별을 실시하여 Negative Control(NC) 군 50마리, Positive Ccontrol(PC) 군 50마리, Treatment(T) 군 50마리로 분류하였다. NC군은 각장의 장축 5.61 ± 0.35 cm, 각장의 단축 3.77 ± 0.25 cm, 체중 24.84 ± 4.52 g으로 분류하였으며 PC군은 각장의 장축 5.62 ± 0.34 cm, 각장의 단축 3.79 ± 0.26 cm, 체중 24.43 ± 4.44 g으로 분류하였으며 T군은 각장의 장축 5.72 ± 0.33 cm, 각장의 단축 3.85 ± 0.20 cm, 체중 24.44 ± 3.77 g으로 분류하였다. 실험의 순치 및 조건은 외부여과기를 사용한 정치식 수조에 air pump로 지속적으로 포기하며, 순치 및 실험 기간 동안 7일마다 수조의 전량을 1회 환수하였으며 이 기간 동안 수온은 16 ± 1 °C, 염분 농도는 33 ± 1 ‰을 유지하였다.

2. Carbon tetrachloride(CCl₄)의 농도 결정 및 주사

예비 실험으로 Carbon tetrachloride(CCl₄, Samchun, Korea)를 Olive oil에 희석하여 5 %, 10 %, 20%의 농도로 전복 개체당 0.15ml의 양으로 visceral injection을 실시한

결과, 결과 폐사가 일어나지 않으면서 가장 뚜렷한 조직병리학적인 반응이 10%의 농도에서 나타났다. 따라서 본 실험에서는 예비실험의 결과를 참고하여 10%의 농도의 0.15ml의 양으로 실험을 진행하게 되었으며, CCl₄의 희석액으로 visceral injection을 실시한 군을 Treatment 군, CCl₄의 희석액으로 사용한 Olive oil(Olive oil, Junsei, Japan)에 대한 반응을 관찰하기 위해 동량의 Olive oil만을 visceral injection한 Positive control 군, 동량의 멸균 PBS를 visceral injection을 실시한 Negative control 군으로 명명하였다. T 군, PC 군, NC 군은 visceral injection 후 38.5 × 16.5 × 12.0 cm의 격리통에 수납되어 각각 0h, 6h, 12h, 1d, 3d, 5d의 시간의 경과에 따라 샘플링하여 Oxytetracycline(홀로마이신, 우성양행, Korea) 처리를 한 후 조직병리학적으로 관찰하였다.

3. Oxytetracycline의 농도 결정 및 침지법

Oxytetracycline의 농도는 김 등(2013)의 논문을 참고하여 해수 1 L당 20 g의 Oxytetracycline을 첨가하여 20 g/L의 농도로 맞추어 제작하였다. NC 군, PC 군, T 군을 각각 visceral injection 후 격리통에 수납되는 시점부터 0, 12, 24, 72, 120 시간에 샘플링하여 20 g/L의 농도의 Oxytetracycline 용액에 20초간 침지시킨 후 해수로 2번 세척을 한 후 박리율을 측정하고, 참전복을 패각을 저면으로 향하게 배열하여 정치식수로 옮긴 후, 자력으로 패각을 위로 뒤집을 때까지 침지 후 회복시간을 측정하였다.

4. 광학현미경을 통한 조직학적 검사

각 시간에 따른 NC 군, PC 군, T 군 각각 10마리의 전복을 회복시간을 측정한 후 채취하여 패각을 제거하고 24시간 Bouin's solution에 고정시킨 후 배복(transverse or cross-sectional plane)으로 절개하여 입, 발근육 등이 포함된 부분과 폐각근, 신장, 아가미 등이 포함된 부분과 장, 간췌장, 생식소 등이 포함된 부분을 24시간 동안 재고정하였다. 재고정이 완료된 후 70%에서 100%까지 순차 농도의 에틸 알코올 수용액에 탈수하였다. Xylene으로 투명화하여 파라핀 친화시키고, 파라핀을 침투시켜 포매한 후 rotary형 microtome(Reichert-Jung 820, Leica)을 사용하여 4~5 μ m 두께의 박편을 얻어 아래와 같은 Hematoxylin & Eosin 염색, Giemsa 염색, Alcian blue-PAS 염색, Masson trichrome 염색을 실시하여 광학현미경(Olympus DX50, Japan)으로 검경하였다. 검경 후 현미경용 디지털 카메라(Olympus DP72, Japan)로 촬영하였다

5. 전자현미경을 통한 조직학적 검사

각 NC 군, PC 군, T 군 6마리의 전복의 Adductor muscle 을 절취하여 1 mm³로 세절하고 2.5% glutaraldehyde에 4°C, over night 전고정하여, 0.1M phosphatic buffer(pH 7.2)에 20분씩 세차례 수세하였다. 4°C에서 1% Osmium tetroxide solution에 2시간 후 고정하고 0.1M phosphate buffer(pH 7.2)에 세 차례 20분씩 수세한 후 50%에서 100%까지 순차농도 아세톤에서 탈수하였다. 아세톤 : Epon 혼합물에서 포매하여 Epon혼합물과 함께 열중합 holder에 넣어 oven내에서 열 중합시켰다. 700 μ m 두께의 준초박

절편을 1% toluidine blue 단염색하여 필요한 부위를 선별, 삭정하고 초박절하여 얻은 절편을 uranyl-acetate와 lead citrate 이중염색 후 투과전자현미경(H-7500, Hitachi, Japan)으로 관찰하였다.

6. 근육 직경의 측정

NC, PC, T 군의 모든 개체의 폐각근에서 패각 부착부로부터 100 μm 의 깊이까지 모든 Cross section된 근육섬유의 직경을 Image pro plus V 6.0(Image pro plus, MediaCybernetics, USA) 프로그램을 통하여 측정을 하고 각 개체에 대한 평균치와 표준편차를 구하였다.

7. 통계학적 분석

NC 군, PC 군, T 군의 각 측정된 근육 섬유들 중 의 평균을 SPSS statistics(IBM)으로 시간에 따른 각 군의 근육 섬유의 유의성 검정을 Duncan's Multiple Range Test 로 95% 유의 수준에서 실시하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 광학현미경을 통한 조직학적 검사

참전복에 CCl₄의 Visceral injection 후 OTC 침지법을 실시하여 0h에 해부한 NC 군, PC 군, T 군 세군 모두 새하선, 치설 주변부 근육, 신경절, 두부측 발 근육, 아가미, 신장, 소화맹낭, 장, 생식소에서 유의적인 변성을 보이지 않았다. 폐각근의 근육섬유 직경에는 NC 군이 $2.44 \pm 0.30 \mu\text{m}$, PC 군이 $2.38 \pm 0.26 \mu\text{m}$, T 군이 $2.67 \pm 0.23 \mu\text{m}$ 으로 세군 모두 비슷한 수치를 보이는 것으로 나타났다(Figure 1).

참전복에 CCl₄의 Visceral injection 후 OTC 침지법을 실시하여 12h에 해부한 NC 군, PC 군, T 군 세군 모두 새하선, 치설 주변부 근육, 신경절, 두부측 발 근육, 아가미, 신장, 소화맹낭, 장, 생식소에서 유의적인 변성을 보이지 않았다. 하지만 폐각근의 근육섬유 직경에는 NC 군이 $2.30 \pm 0.15 \mu\text{m}$, PC 군이 $2.34 \pm 0.12 \mu\text{m}$, T 군이 $3.66 \pm 0.35 \mu\text{m}$ 으로 측정되었으며 T 군이 NC, PC 군보다 유의적으로 높은 직경을 나타낸 것을 볼 수 있다(Figure 2). 이러한 T군의 근육섬유의 종창이 병원체에 의한 병변이 아니라는 것을 확인하기 위해 Giemsa 염색을 실시하였으며(Figure 6, 7, 8, 9), H & E 염색과 대비 관찰하였을 때 병원체의 존재를 관찰 할 수 없었다. 또한 이러한 변성의 치유 작용으로 아교 섬유가 폐각근의 근육변성에 침착 및 증식을 하여 흉터를 만들 수 있기 때문에 Masson trichrome 염색을 실시하였으며, 이에 대한 결과로 아교 섬유의 증식 및 침착을 관찰할 수 없었다(Figure 10).

참전복에 CCl₄ Visceral injection 후 OTC 침지법을 실시하여 24h에 해부한 NC 군, PC 군, T 군 세군 모두 새하선, 치설 주변부 근육, 신경절, 두부측 발 근육, 아가미, 신장, 소화맹낭, 장, 생식소에서 유의적인 변성을 보이지 않았다. 하지만 폐각근의 근육 섬유 직경에서는 NC 군이 $2.23 \pm 0.17 \mu\text{m}$, PC 군이 $2.30 \pm 0.16 \mu\text{m}$, T 군이 $3.31 \pm 0.37 \mu\text{m}$ 으로 측정되었으며 12h 보다 T 군의 폐각근의 근육 섬유 직경이 줄어들었지만 NC 군, PC 군 보다 유의적으로 높은 직경을 나타내는 것을 볼 수 있다(Figure 3).

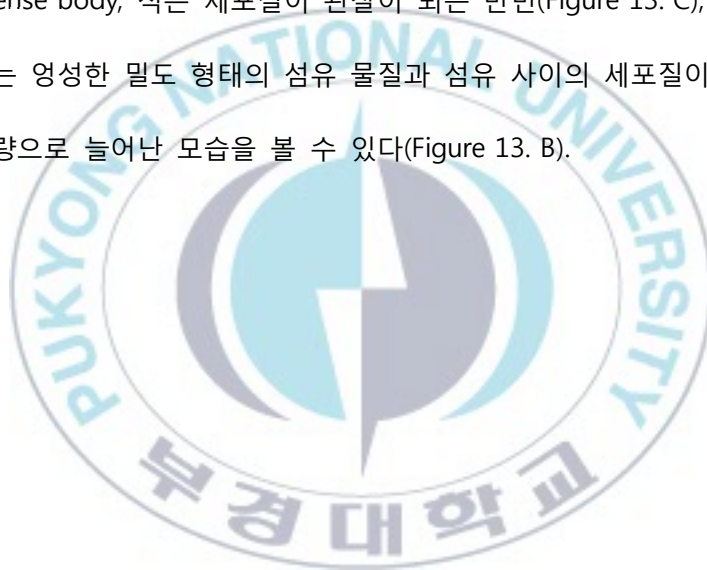
참전복에 CCl₄ 의 Visceral injection 후 OTC 침지법을 실시하여 72h에 해부한 NC 군, PC 군, T 군 세군 모두 새하선, 치설 주변부 근육, 신경절, 두부측 발 근육, 아가미, 신장, 소화맹낭, 장, 생식소에서 유의적인 변성을 보이지 않았다. 하지만 폐각근의 근육 섬유 직경에서는 NC 군이 $2.18 \pm 0.24 \mu\text{m}$, PC 군이 $2.18 \pm 0.17 \mu\text{m}$, T 군이 $2.95 \pm 0.55 \mu\text{m}$ 으로 측정되었으며 12h, 24h보다 T 군의 폐각근의 근육 섬유 직경이 줄어들었지만 NC 군, PC 군 보다 높은 직경을 나타내는 것을 볼 수 있다(Figure 4).

참전복에 CCl₄ 의 Visceral injection 후 OTC 침지법을 실시하여 120h에 해부한 NC 군, PC 군, T 군 세군 모두 새하선, 치설 주변부 근육, 신경절, 두부측 발 근육, 아가미, 신장, 소화맹낭, 장, 생식소에서 유의적인 변성을 보이지 않았다. 하지만 폐각근의 근육 섬유 직경에서는 NC 군이 $2.45 \pm 0.26 \mu\text{m}$, PC 군이 $2.34 \pm 0.16 \mu\text{m}$, T 군이 $2.59 \pm 0.27 \mu\text{m}$ 으로 측정되었으며 12h, 24h, 72h보다 T 군의 폐각근의 근육 섬유 직경이 줄어들었지만 NC 군, PC 군 보다 높은 직경을 나타내는 것을 볼 수 있다(Figure 5).

2. 전자현미경을 통한 조직학적 검사

Myoswelling 이 일어난 전복의 초박절편에서는 근육섬유의 다양한 정도를 확인할 수 있었다. Myoswelling이 일어난 부위는 정상의 근육섬유보다 2배 이상 높은 직경을 관찰할 수 있었다(Figure 13. A).

정상적인 근육섬유의 이 일어난 부위의 확대모습은 밀집한 밀도 형태의 섬유 물질의 존재와 dense body, 적은 세포질이 관찰이 되는 반면(Figure 13. C), Myoswelling이 일어난 개체는 엉성한 밀도 형태의 섬유 물질과 섬유 사이의 세포질이 정상섬유와 비교하여 대량으로 늘어난 모습을 볼 수 있다(Figure 13. B).



3. OTC 처리 후 회복시간 결과

참전복에 Visceral injection 후 0h에 샘플링을 실시한 NC 군, PC 군, T 군의 박리율은 NC 군이 100%(10/10), PC 군이 100%(10/10), T 군이 90%(9/10)로 나타났으며, 회복률은 NC 군이 100%, PC 군이 100%, T 군이 80%로 나타났다. 평균 회복 시간은 NC 군에서 11분 31초, PC 군에서 10분 00초, T 군에서 10분 01초로 나타났다(Table 1).

참전복에 Visceral injection 후 12h에 샘플링을 실시한 NC 군, PC 군, T 군의 박리율은 NC 군이 90%(9/10), PC 군이 90%(9/10), T 군이 100%(10/10)로 나타났으며, 회복률은 NC 군이 100%, PC 군이 90%, T 군이 30%로 나타났다. 평균 회복 시간은 NC 군에서 11분 36초, PC 군에서 5분 45초, T 군에서 16분 31초로 나타났다(Table 2).

참전복에 Visceral injection 후 24h에 샘플링을 실시한 NC 군, PC 군, T 군의 박리율은 NC 군이 70%(7/10), PC 군이 80%(8/10), T 군이 100%(10/10)로 나타났으며, 회복률은 NC 군이 100%, PC 군이 100%, T 군이 10%로 나타났다. 평균 회복 시간은 NC 군에서 9분 47초, PC 군이 9분 38초, T 군이 14분 11초로 나타났다(Table 3).

참전복에 Visceral injection 후 72h에 샘플링을 실시한 NC 군, PC 군, T 군의 박리율은 NC 군이 80%(8/10), PC 군이 80%(8/10), T 군이 60%(6/10)로 나타났으며, 회복률은 NC 군이 80%, PC 군이 100%, T 군이 70%로 나타났다. 평균 회복 시간은 NC 군이 3분 39초, PC 군이 5분 58초, T 군이 7분 51초로 나타났다(Table 4).

참전복에 Visceral injection 후 120h에 샘플링을 실시한 NC 군, PC 군, T 군의 박

리율은 NC 군이 80%(8/10), PC 군이 70%(7/10), T 군이 70%(7/10)로 나타났으며, 회복률은 NC 군이 100%, PC 군이 100%, T 군이 100%로 나타났다. 평균 회복 시간은 NC 군이 3분 02초, PC 군이 2분 18초, T 군이 9분 03초로 나타났다(Table 5).



4. 근육섬유의 직경 측정의 결과

참전복에 Visceral injection 후 0h에 실시한 NC 군, PC 군, T 군에서 Adductor muscle의 패각 연접부에서 80 μm 의 깊이까지 근육섬유의 직경을 측정한 결과, NC 군은 $2.44 \pm 0.30 \mu\text{m}$, PC 군은 $2.38 \pm 1.03 \mu\text{m}$, T군은 $2.67 \pm 0.23 \mu\text{m}$ 으로 나타났다 (Table 6). 이러한 근육섬유의 직경은 경미하게 T군이 높은 것으로 나타나지만 차이는 미미한 것으로 나타난다.

참전복에 Visceral injection 후 12h에 실시한 NC 군, PC 군, T 군에서 근육섬유의 직경을 측정한 결과, NC 군은 $2.30 \pm 0.15 \mu\text{m}$, PC 군은 $2.34 \pm 0.12 \mu\text{m}$, T 군은 $3.66 \pm 0.35 \mu\text{m}$ 으로 나타났다(Table 7). 이러한 근육섬유의 직경은 NC 군, PC 군에 비하여 T군이 더 높은 것으로 나타나며, 0h과 대조하였을 때 상당한 증가를 보임을 볼 수 있었다.

참전복에 Visceral injection 후 24h에 실시한 NC 군, PC 군, T 군에서 근육섬유의 직경을 측정한 결과, NC 군은 $2.23 \pm 0.17 \mu\text{m}$, PC 군은 $2.30 \pm 0.16 \mu\text{m}$, T 군은 $3.31 \pm 0.37 \mu\text{m}$ 으로 나타났다(Table 8). NC 군, PC 군의 근육섬유 직경은 12h과 유사한 것으로 나타나나, T군은 12h과 비교하여 경미하게 감소한 경향을 보인다.

참전복에 Visceral injection 후 72h에 실시한 NC 군, PC 군, T 군에서 근육섬유의 직경을 측정한 결과, NC 군은 $2.18 \pm 0.24 \mu\text{m}$, PC 군은 $2.18 \pm 0.17 \mu\text{m}$, T 군은 $2.95 \pm 0.55 \mu\text{m}$ 으로 나타났다(Table 9). 이러한 근육섬유의 직경은 0h에서 24h에서 나타나는 경향과 동일하게 나타나는 것으로 관찰된다.

참전복에 Visceral injection 후 120h에 실시한 NC 군, PC 군, T 군에서 근육섬유의 직경을 측정한 결과, NC 군은 $2.45 \pm 0.26 \mu\text{m}$, PC 군은 $2.34 \pm 0.16 \mu\text{m}$, T 군은 $2.59 \pm 0.27 \mu\text{m}$ 으로 나타났다(Table 10). T군의 120h에서 폐사가 3마리 일어났으며 그 근육섬유의 직경 결과치는 본 연구결과에서 제외하였다. 근육섬유의 직경은 NC 군, PC 군보다 T군이 경미하게 높은 것으로 관찰되지만 그 차이는 0h과 마찬가지로 미미한 것으로 나타난다.



5. 통계학적 분석

NC, PC, T 군의 근육섬유 직경에 따른 유의성 검정을 실시한 결과 NC, PC 군에서는 0h 부터 120h까지 유의적인 차이가 나타나지 않음을 관찰 할 수 있었다. 그에 반해 T 군에서는 12h에서 유의적인 증가가 관찰되었으며 추후 감소하는 경향을 보이며 120h 에 다시 0h 과 유사한 것으로 나타난다(Figure 13).



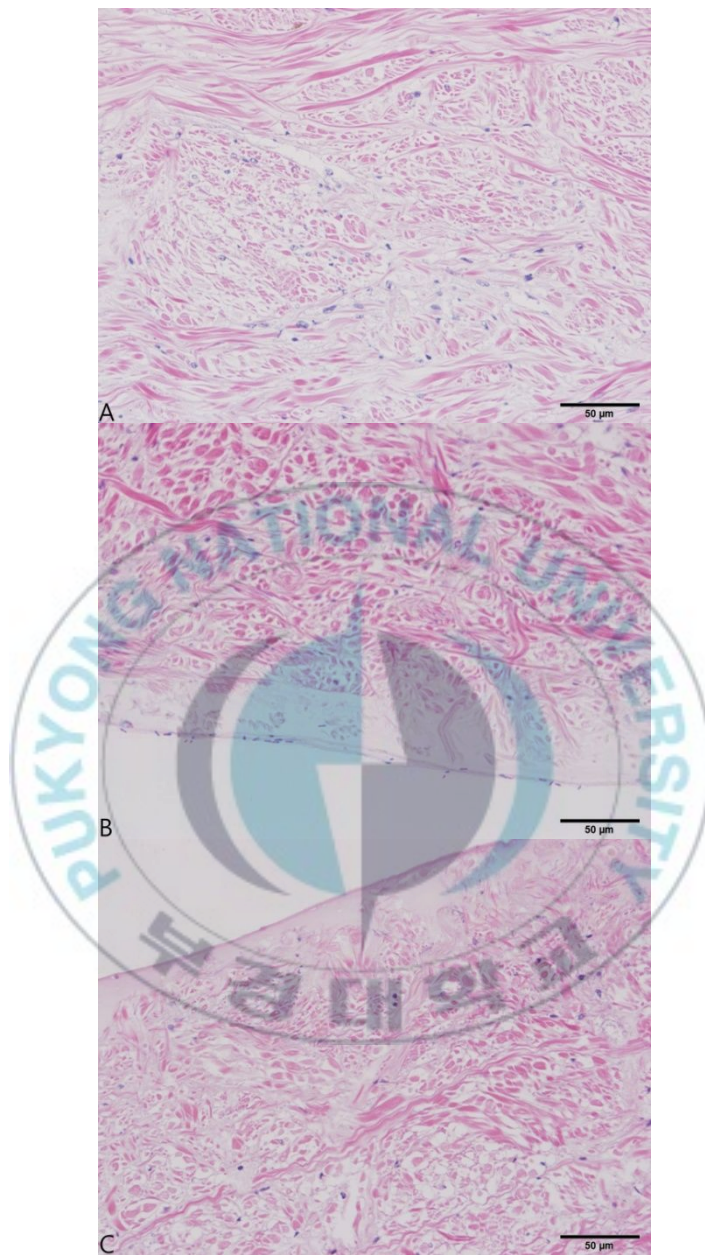


Figure 1. Microscopic observation of all groups with H & E stain at 0h

A: NC group's Adductor muscle (x 400),

B: PC group's Adductor muscle (x 400),

C: T group's Adductor muscle (x 400),

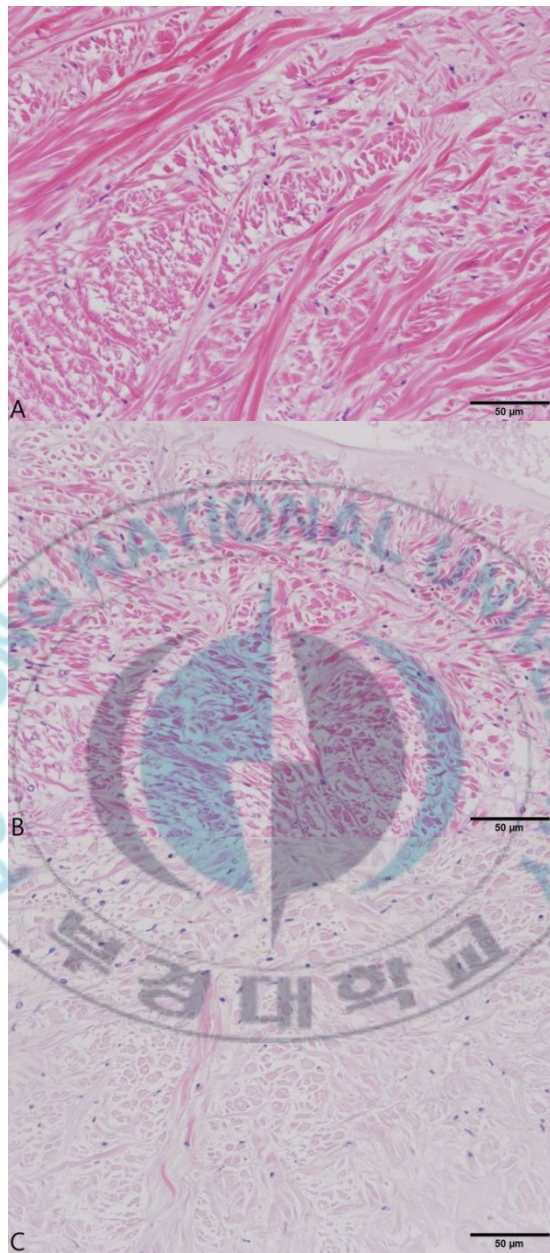


Figure 2. Microscopic observation of all groups with H & E stain at 12h

A: NC group's Adductor muscle (x 400),

B: PC group's Adductor muscle (x 400),

C: T group's Adductor muscle (x 400),

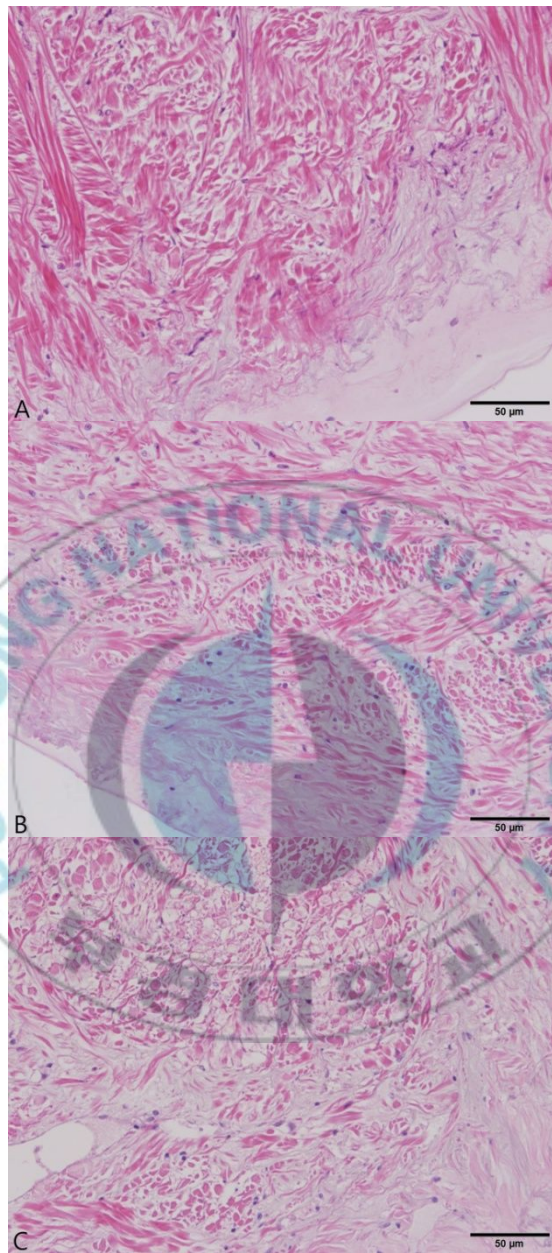


Figure 3. Microscopic observation of all groups with H & E stain at 24h

A: NC group's Adductor muscle (x 400),

B: PC group's Adductor muscle (x 400),

C: T group's Adductor muscle (x 400),

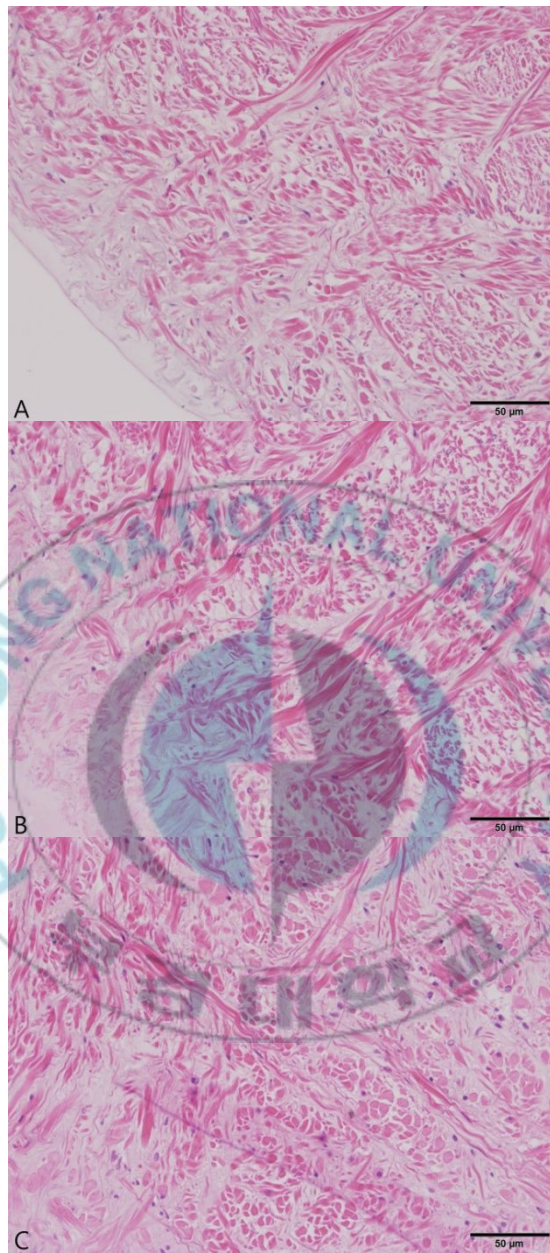


Figure 4. Microscopic observation of all groups with H & E stain at 72h

A: NC group's Adductor muscle (x 400),

B: PC group's Adductor muscle (x 400),

C: T group's Adductor muscle (x 400),

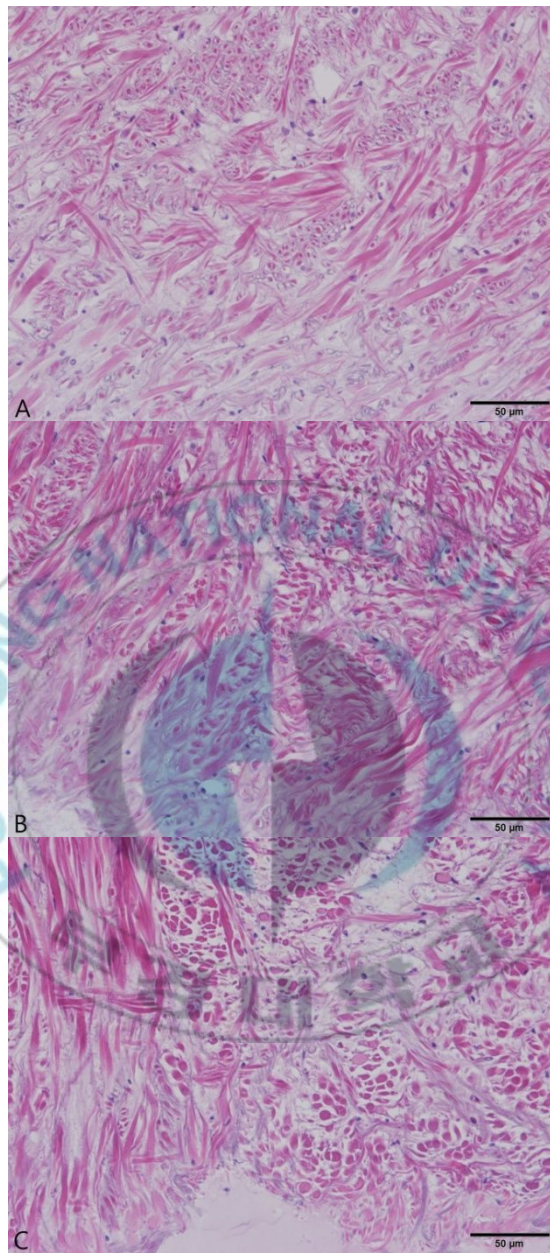


Figure 5. Microscopic observation of all groups with H & E stain at 120h

A: NC group's Adductor muscle (x 400),

B: PC group's Adductor muscle (x 400),

C: T group's Adductor muscle (x 400),

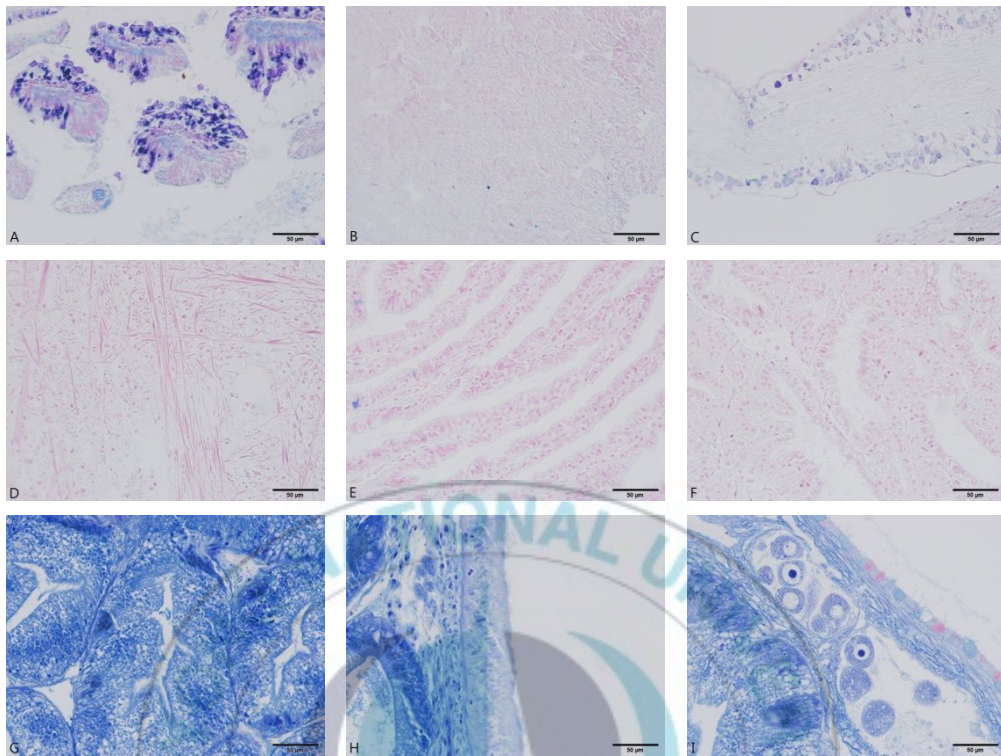


Figure 6. Microscopic observation of negative control group with Giemsa stain at 12h

A: Hypobranchial gland (x 400), B: Odontophore muscle (x 400),
 C: Ganglion (x 400), D: Pedal muscle (x 400), E: Gill (x 400),
 F: Kidney (x 100), G: Digestive tubule gland (x 400), H: Intetine (x 400),
 I: Gonad (x 400)

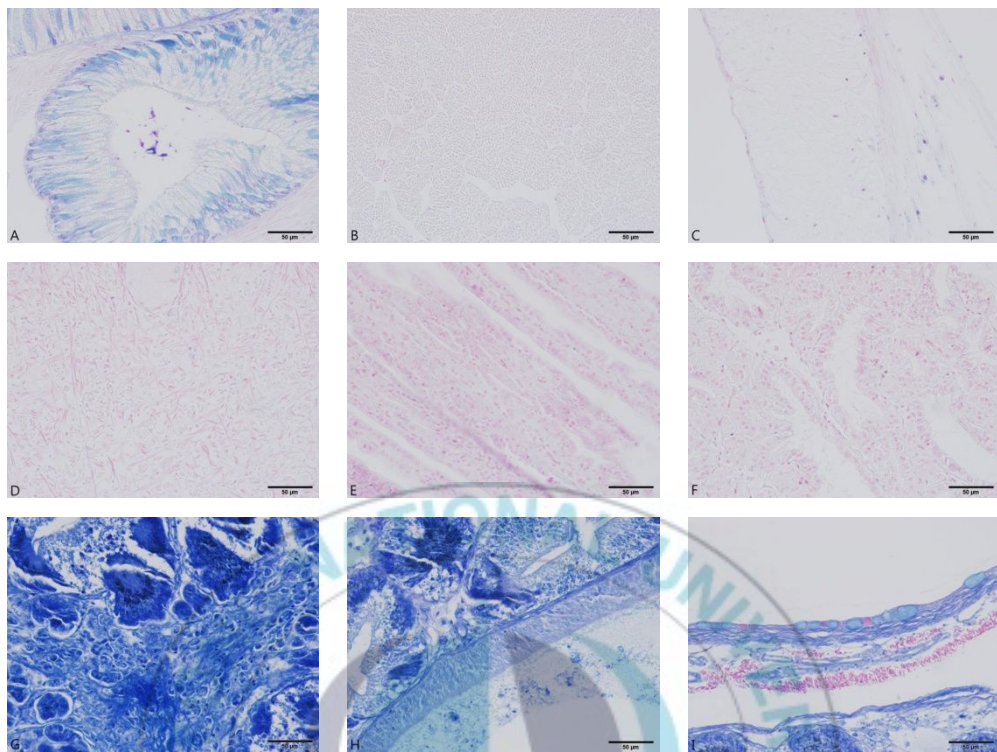


Figure 7. Microscopic observation of positive control group with Giemsa stain at 12h

A: Hypobranchial gland (x 400), B: Odontophore muscle (x 400),
 C: Ganglion (x 400), D: Pedal muscle (x 400), E: Gill (x 400),
 F: Kidney (x 100), G: Digestive tubule gland (x 400), H: Intetine (x 400),
 I: Gonad (x 400)

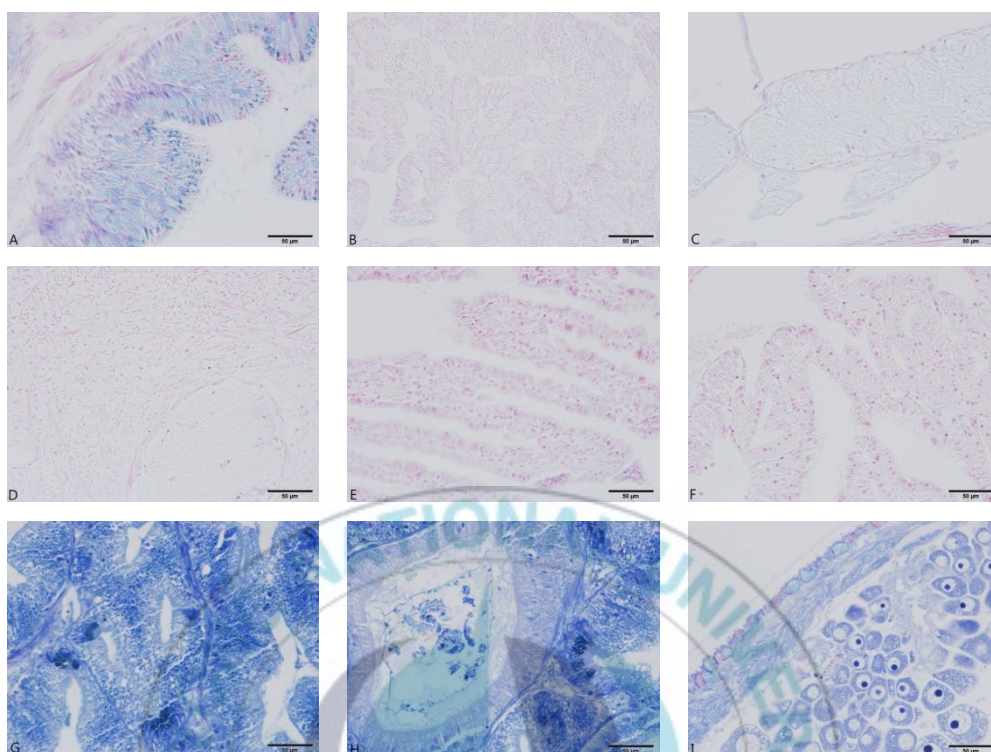


Figure 8. Microscopic observation of treatment group with Giemsa stain at 12h

A: Hypobranchial gland (x 400), B: Odontophore muscle (x 400),
 C: Ganglion (x 400), D: Pedal muscle (x 400), E: Gill (x 400),
 F: Kidney (x 100), G: Digestive tubule gland (x 400), H: Intestine (x 400),
 I: Gonad (x 400)



Figure 9. Microscopic observation of all groups with Giemsa stain at 12h

A: NC group's Adductor muscle (x 400),

B: PC group's Adductor muscle (x 400),

C: T group's Adductor muscle (x 400),

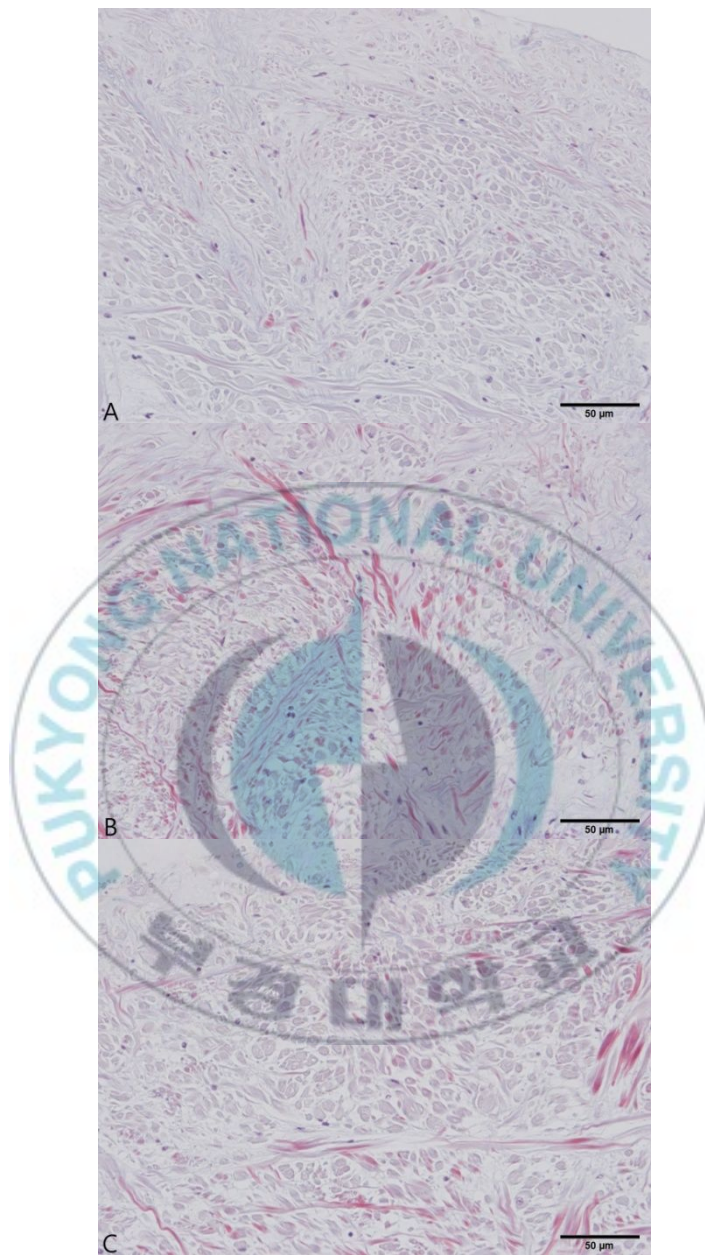


Figure 10. Microscopic observation of all groups with Masson trichrome stain at 12h.

A: NC group's Adductor muscle (x 400),

B: PC group's Adductor muscle (x 400),

C: T group's Adductor muscle (x 400),

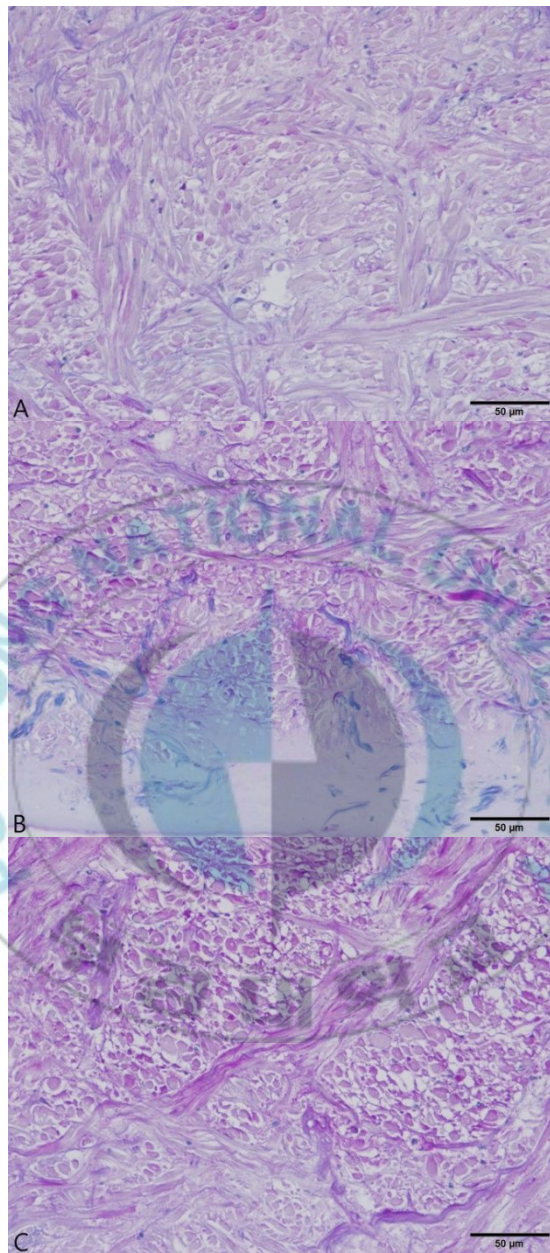


Figure 11. Microscopic observation of all groups with Alcian blue-PAS stain at 12h.

A: NC group's Adductor muscle (x 400),

B: PC group's Adductor muscle (x 400),

C: T group's Adductor muscle (x 400),

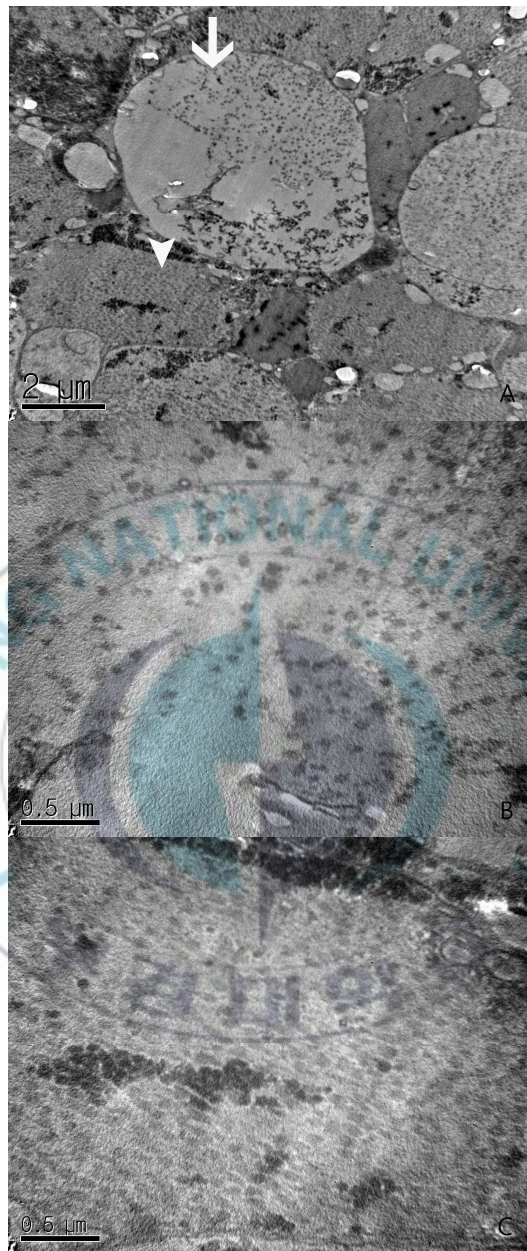


Figure 12. Transmission electron microscopic observation of Treatment group's Adductor muscle. White arrow is degenerated muscle fiber, arrow head is normal muscle fiber.

A: x10000 magnification B: x40000 magnification C: x40000 magnification

Table 1. NC, PC, T groups' recovery time at 0h sampling

Sample Number	NC group	PC group	T group
1	4 min 07 sec	3 min 52 sec	3 min 50 sec
2	7 min 03 sec	5 min 34 sec	6 min 22 sec
3	7 min 46 sec	6 min 03 sec	6 min 44 sec
4	9 min 13 sec	6 min 15 sec	7 min 30 sec
5	9 min 59 sec	6 min 55 sec	10 min 03 sec
6	11 min 42 sec	8 min 00 sec	11 min 16 sec
7	12 min 18 sec	8 min 33 sec	14 min 10 sec
8	12 min 43 sec	16 min 00 sec	20 min 16 sec
9	16 min 00 sec	18 min 40 sec	
10	24 min 26 sec	20 min 13 sec	
Average	11 min 31 sec	10 min 00 sec	10 min 01 sec

Table 2. NC, PC, T groups' recovery time at 12h sampling

Sample Number	NC group	PC group	T group
1	4 min 13 sec	1 min 30 sec	11 min 56 sec
2	6 min 05 sec	1 min 58 sec	12 min 16 sec
3	6 min 20 sec	3 min 33 sec	25 min 23 sec
4	7 min 38 sec	4 min 09 sec	
5	7 min 40 sec	5 min 01 sec	
6	8 min 24 sec	5 min 03 sec	
7	9 min 12 sec	7 min 23 sec	
8	14 min 05 sec	8 min 12 sec	
9	23 min 21 sec	15 min 03 sec	
10	29 min 10 sec		
Average	11 min 36 sec	5 min 45 sec	16 min 31 sec

Table 3. NC, PC, T groups' recovery time at 24h sampling

Sample Number	NC group	PC group	T group
1	3 min 18 sec	2 min 51 sec	14 min 11 sec
2	4 min 35 sec	2 min 52 sec	
3	4 min 58 sec	3 min 54 sec	
4	6 min 12 sec	4 min 56 sec	
5	7 min 34 sec	7 min 17 sec	
6	7 min 37 sec	7 min 18 sec	
7	8 min 08 sec	9 min 53 sec	
8	12 min 43 sec	17 min 26 sec	
9	19 min 54 sec	19 min 40 sec	
10	23 min 00 sec	20 min 19 sec	
Average	9 min 47 sec	9 min 38 sec	14 min 11 sec

Table 4. NC, PC, T groups' recovery time at 72h sampling

Sample Number	NC group	PC Group	T group
1	1 min 42 sec	0 min 38 sec	2 min 28 sec
2	2 min 00 sec	1 min 54 sec	3 min 06 sec
3	2 min 23 sec	2 min 31 sec	3 min 18 sec
4	2 min 44 sec	3 min 06 sec	5 min 20 sec
5	3 min 12 sec	4 min 05 sec	9 min 09 sec
6	4 min 20 sec	4 min 38 sec	10 min 10 sec
7	6 min 25 sec	5 min 04 sec	21 min 30 sec
8	6 min 31 sec	11 min 09 sec	
9		12 min 30 sec	
10		14 min 14 sec	
Average	3 min 39 sec	5 min 58 sec	7 min 51 sec

Table 5. NC, PC, T groups' recovery time at 120h sampling

Sample Number	NC group	PC group	T group
1	1 min 52 sec	0 min 21 sec	2 min 40 sec
2	1 min 59 sec	0 min 43 sec	3 min 50 sec
3	2 min 05 sec	1 min 18 sec	6 min 16 sec
4	2 min 10 sec	2 min 01 sec	6 min 28 sec
5	2 min 19 sec	2 min 31 sec	6 min 42 sec
6	2 min 56 sec	2 min 31 sec	7 min 25 sec
7	3 min 08 sec	2 min 53 sec	30 min 00 sec
8	3 min 20 sec	2 min 53 sec	폐사
9	4 min 10 sec	3 min 36 sec	폐사
10	6 min 30 sec	4 min 22 sec	폐사
Average	3 min 02 sec	2 min 18 sec	9 min 03 sec

Table 6. NC, PC, T groups' muscle fiber diameter at 0h sampling

Sample Number	NC group	PC group	T group
1	2.06 ± 0.92 μm	2.08 ± 0.82 μm	2.88 ± 0.99 μm
2	2.11 ± 0.71 μm	2.75 ± 1.13 μm	2.37 ± 0.60 μm
3	2.79 ± 1.02 μm	2.19 ± 0.73 μm	2.31 ± 0.64 μm
4	2.57 ± 0.94 μm	2.45 ± 0.84 μm	2.77 ± 0.66 μm
5	3.02 ± 1.27 μm	2.46 ± 0.96 μm	2.89 ± 0.86 μm
6	2.57 ± 1.10 μm	2.53 ± 1.27 μm	2.53 ± 0.57 μm
7	2.33 ± 0.88 μm	2.45 ± 1.07 μm	2.75 ± 0.65 μm
8	2.39 ± 0.75 μm	2.21 ± 0.99 μm	2.81 ± 0.65 μm
9	2.20 ± 0.84 μm	1.96 ± 1.20 μm	2.65 ± 0.65 μm
10	2.36 ± 0.10 μm	2.66 ± 1.25 μm	2.96 ± 0.85 μm
Average	2.44 ± 0.30 μm	2.38 ± 1.03 μm	2.67 ± 0.23 μm

Table 7. NC, PC, T groups' muscle fiber diameter at 12h sampling

Sample Number	NC group	PC group	T group
1	2.47 ± 0.88 μm	2.29 ± 0.88 μm	3.74 ± 1.47 μm
2	2.23 ± 0.82 μm	2.36 ± 1.05 μm	3.73 ± 1.23 μm
3	2.05 ± 0.65 μm	2.33 ± 0.93 μm	4.25 ± 1.51 μm
4	2.10 ± 0.85 μm	2.40 ± 1.10 μm	3.74 ± 1.79 μm
5	2.19 ± 0.83 μm	2.48 ± 1.16 μm	3.63 ± 1.19 μm
6	2.36 ± 1.04 μm	2.42 ± 0.97 μm	2.95 ± 0.78 μm
7	2.27 ± 0.89 μm	2.23 ± 0.94 μm	3.93 ± 1.36 μm
8	2.47 ± 1.06 μm	2.48 ± 0.87 μm	3.71 ± 1.07 μm
9	2.42 ± 1.06 μm	2.30 ± 0.98 μm	3.68 ± 1.06 μm
10	2.42 ± 0.99 μm	2.11 ± 0.85 μm	3.23 ± 1.65 μm
Average	2.30 ± 0.15 μm	2.34 ± 0.12 μm	3.66 ± 0.35 μm

Table 8. NC, PC, T groups' muscle fiber diameter at 24h sampling

Sample Number	NC group	PC group	T group
1	2.16 ± 0.80 μm	2.38 ± 1.02 μm	3.20 ± 0.89 μm
2	2.33 ± 0.95 μm	2.32 ± 0.88 μm	3.02 ± 1.06 μm
3	2.18 ± 0.93 μm	2.07 ± 0.75 μm	3.05 ± 1.09 μm
4	2.15 ± 0.87 μm	2.55 ± 0.98 μm	3.20 ± 1.27 μm
5	1.91 ± 0.82 μm	2.42 ± 0.84 μm	3.49 ± 1.21 μm
6	2.46 ± 1.12 μm	2.16 ± 0.82 μm	4.15 ± 1.83 μm
7	2.26 ± 0.86 μm	2.40 ± 0.81 μm	3.10 ± 1.12 μm
8	2.45 ± 1.07 μm	2.46 ± 0.85 μm	3.66 ± 1.58 μm
9	2.36 ± 0.91 μm	2.15 ± 0.90 μm	3.36 ± 1.09 μm
10	2.07 ± 0.82 μm	2.14 ± 0.84 μm	2.90 ± 1.04 μm
Average	2.23 ± 0.17 μm	2.30 ± 0.16 μm	3.31 ± 0.37 μm

Table 9. NC, PC, T groups' muscle fiber diameter at 72h sampling

Sample Number	NC group	PC group	T group
1	2.72 ± 1.16 μm	1.86 ± 0.69 μm	3.36 ± 1.37 μm
2	2.25 ± 0.89 μm	2.12 ± 0.81 μm	3.24 ± 1.16 μm
3	2.03 ± 0.86 μm	2.46 ± 0.79 μm	3.41 ± 1.47 μm
4	2.36 ± 1.02 μm	2.27 ± 0.83 μm	3.52 ± 1.75 μm
5	2.28 ± 1.01 μm	2.37 ± 0.89 μm	3.38 ± 1.51 μm
6	2.11 ± 0.93 μm	2.15 ± 0.79 μm	2.50 ± 0.93 μm
7	2.06 ± 0.82 μm	2.18 ± 0.82 μm	2.73 ± 0.93 μm
8	2.01 ± 0.81 μm	2.04 ± 0.78 μm	2.74 ± 0.88 μm
9	1.90 ± 0.73 μm	2.15 ± 0.81 μm	2.89 ± 1.15 μm
10	2.05 ± 0.80 μm	2.24 ± 0.91 μm	1.75 ± 0.56 μm
Average	2.18 ± 0.24 μm	2.18 ± 0.17 μm	2.95 ± 0.55 μm

Table 10. NC, PC, T groups' muscle fiber diameter at 120h sampling

Sample Number	NC 군	PC 군	T 군
1	2.47 ± 0.98 μm	2.62 ± 1.30 μm	2.52 ± 0.97 μm
2	2.79 ± 1.03 μm	2.33 ± 0.85 μm	2.83 ± 1.33 μm
3	2.63 ± 1.01 μm	2.30 ± 0.85 μm	3.07 ± 1.14 μm
4	2.44 ± 0.79 μm	2.37 ± 0.87 μm	2.28 ± 0.84 μm
5	2.61 ± 1.15 μm	2.19 ± 0.78 μm	2.44 ± 0.82 μm
6	1.86 ± 0.69 μm	2.60 ± 0.99 μm	2.44 ± 0.84 μm
7	2.37 ± 0.84 μm	2.19 ± 0.75 μm	2.53 ± 0.82 μm
8	2.53 ± 0.98 μm	2.18 ± 0.60 μm	폐사
9	2.22 ± 0.85 μm	2.24 ± 0.67 μm	폐사
10	2.62 ± 0.86 μm	2.41 ± 0.83 μm	폐사
Average	2.45 ± 0.26 μm	2.34 ± 0.16 μm	2.59 ± 0.27 μm

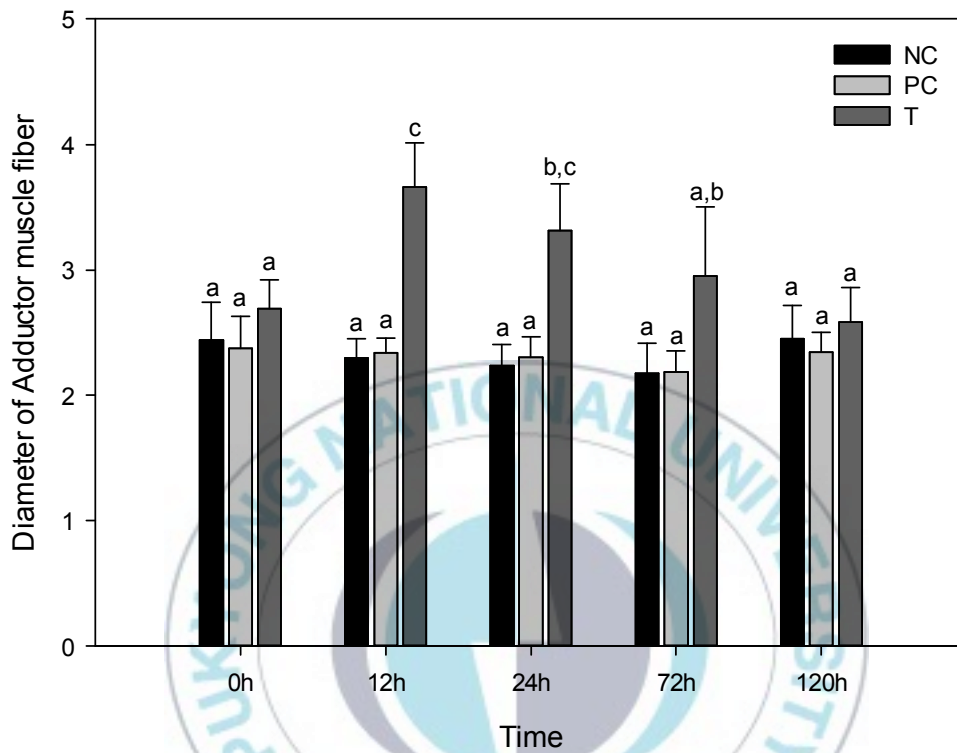


Figure 13. Analysis of muscle diameter trend of abalone which rely on time.

IV. 고 찰

김 등(2014)이 선행 연구로서 1년 7개월 동안 참전복 가두리 양식장에서 임상적으로 건강한 참전복을 샘플링하여 조직병리학적으로 관찰을 하였는데, 병원체에 감염되지 않았음에도 불구하고 폐각근 연접부에 근육 종창 내지 괴사의 형태가 나타나는 것을 관찰할 수 있었다. 특히 급이를 많이 하는 곳에서 변성변화의 빈도가 더 많은 것을 관찰할 수 있었으며(자료 미게재), 성장을 많이 하는 고수온기 시기에 이러한 변성들이 많이 출현하는 것을 볼 수 있었다.

고등 척추 동물뿐만 아니라 어류에서도 먹이를 통해 공급되는 영양분이 많으면 개체가 생식선이 발달하지 않을 때에는 세포의 체세포 분열에 쓰이는 에너지의 대사활동이 급격히 증가하고 개체는 급속 성장하게 된다. 개체에서 높은 성장률시 free radical이 과다하게 발생을 하게 되며(Alonso-Alvarez *et al.*, 2007; Block *et al.*, 2008), 이러한 free radical은 지질의 과산화를 개시한다(Henry *et al.*, 1986). 지방의 과산화는 free radical의 공격에 의해 사이클릭 과산화물, 알데하이드, 4-HNE 등의 다양한 물질들을 생성하며(Sachdev and Kelvin, 2008), 이들은 생체 내의 단백질, DNA, 인지질과 같은 다양한 분자와 결합하여 안정된 물질을 형성한다(Requena *et al.*, 1977; Lili *et al.*, 2011). 이로 인해 DNA의 산화 및 막에서의 구조적 변화로 세포의 종창의 결과를 초래하게 되며(Ferraris *et al.*, 2002), 본 연구에서 실시한 인위적 free radical 을 주입한 T군에서 근육 세포의 종창을 관찰할 수 있었다(Figure 2, 3).

이러한 free radical에 의한 세포변성을 방지하기 위해 dismutase (SOD), catalase

(CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione S-transferase (GST) 등과 같은 항산화효소가 free radical 및 파생물질을 불활화시켜 제거한다(Lopes *et al.*, 2001, Tiina *et al.*, 2005). 하지만 이러한 항산화효소들은 조직에 따라 함량이 다르며(Choi *et al.*, 2005), 조직내 항산화효소의 함량에 따라 항산화작용의 한계가 다르게 나타날 수 있다. 따라서 급속 성장시, 상대적 항산화효소의 함량이 적은 장기부터 변성변화를 나타낼 가능성이 높으며 중등도 및 고등도의 산화스트레스로 발전할 가능성이 높다(병리학, 2007; Hall *et al.*, 2010; McCord JM 2000; Almaida-Pagan *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2011). 일례로, 포유류에서 나타나는 급속 성장하는 개체에 나타나는 White muscle disease가 있으며(Jones *et al.*, 1997), 이러한 병변은 성장속도의 증가에 따른 항산화제의 상대적 결핍에 대한 반응으로 밝혀져 있다(Kennedy *et al.*, 1987; Beytut *et al.*, 2002).

성장이 빠른 고등척추 동물에서 일어나는 근육 병변과 마찬가지로 전복에서 발생한 폐각근에서 근육 종창 및 근육 종창의 심화로 발생 되어지는 근육 괴사가 성장의 증가와 연관성이 깊은 것으로 사료되며(Figure 2, 3), 폐각근이 다른 장기들보다 민감한 것으로 나타나는데 이는, 효소들의 대다수는 소화맹낭에서 생산되어지는 반면(Fried and Levin, 1973), 폐각근은 상대적으로 적은 효소 생산량을 나타내기 때문으로 사료된다. 또한 근육은 소화맹낭과 비교하여 항산화제의 함량이 낮은 편이 이를 뒷받침한다(Choi *et al.*, 2005).

본 연구에서 산화스트레스 유발제(CCl_4)를 사용하여 visceral injection 후 광학현미경을 통한 조직학적 검사의 결과로 새하선, 치설 주변부 근육, 신경절, 두부측 발 근육, 아가미, 신장, 소화맹낭, 장, 생식소에서 이상병변이 없으나, 폐각근에서만 증가된

병변을 보이는 것은 포유류에서 간장독성을 유발하는 양에 비해 아주 적은 양의 CCl_4 를 주입하였으며(Khedr and Khedr, 2014), 이는 세포내에서 수복 가능한 정도의 free radical과 파생물질의 생성량으로 세포내 항산화제에 의해 복구가 되었을 가능성이 농후하기 때문인 것으로 판단된다(Figure 2, 8).

병변의 자가회복 중 보편적으로 나타나는 섬유세포의 침윤 및 증식과 근육 세포의 괴사 등이 본 연구에서 관찰되지 않았는데(Figure 10), 이는 급성의 산화스트레스 유발실험에 의해 일어나지 않았을 가능성이 높을 것으로 보고 추후 연구가 더 필요한 것으로 나타난다.

전자현미경적으로 관찰한 폐각근 병변에서는 정상 근육 섬유와 비교하여 세포질에 영성한 밀도의 섬유 물질의 존재와 대량으로 늘어난 세포질을 관찰할 수 있었는데, glycogen particle의 존재를 관찰할 수 없었으며(Figure 12), Alcian blue-PAS 염색에서 음성(Figure 11), H & E 염색상에서 Eosinophilic 한 점을 미루어(Figure 2), 용해성 단백질 등이 사이를 채우고 있는 것으로 추정된다. 이러한 침투는 산화스트레스에 의한 세포막의 손상으로 인한 결과로 추정된다.

Oxytetracycline 처리 후 회복시간의 결과에서는 Negative control group(NC), Positive control group(PC), Treatment group(T)간에서 박리율은 유의한 차이가 나타나지 않은 것으로 보인다. 하지만, 박리 후 회복시간에서는 전체적인 경향이 비슷한 NC군, PC군들과 반하여 T군에서는 근육 섬유의 변성 정도에 따라 회복시간 및 회복률이 다른 경향을 보였다. Visceral injection 후 12h, 24h에서 회복률은 다른 시간과 비교하여 현저히 낮은 것을 관찰할 수 있는데(Table 2, 3), 근육 섬유들이 12h, 24h에서 변성

이 높게 나타난 것 연관성이 깊은 것으로 나타난다. 추후 72h, 120h에서는 근육섬유의 회복에 따라 걸리는 회복시간이 줄어드는 경향을 보였다(Table 4, 5, 6).

전복을 양식함에 있어서 박리 작업은 선별 및 출하 과정에서 꼭 필요한 작업이다 (Kim *et al.*, 2013). 박리 작업 후 패체의 건강도에 따라 회복 가능성 및 회복 시간이 달라지며 회복 시간이 더더짐에 따라 폐사량이 증가할 것이라고 예상된다. 본 연구에서 실행한 결과처럼 양식산 전복의 폐각근에서 일어나는 근육 병변들은 실제적인 박리 과정에서 회복 시간의 지연에 상당한 영향을 미치며 회복 시간 동안 발근육 및 내장기관이 노출됨에 따라 2차적인 감염도 쉬워질 것으로 사료된다.

경미한 근육변성은 본 연구의 결과처럼 자가수복의 과정을 통하여 회복할 가능성이 높지만, 병변이 이어져 만성으로 발전할 시에 패체의 생리적인 활성 및 대사가 자가수복으로 진행되어 패체의 전체적인 건강도 및 면역력을 낮추는 결과를 초래할 것으로 사료된다. 이러한 기질적 변성변화는 척추동물에서는 혈액학적 분석방법들이 발달되어 있지만(Jeon *et al.*, 1995, Huang *et al.*, 2006), 무척추동물인 전복에서는 표준치가 정립화되어 있지 않은 실정이며, 이러한 측정방법을 온도에 따라 대사활동이 달라지는 무척추동물에게 적용하기에는 한계가 있다(Kim *et al.*, 2005, Park *et al.*, 2011).

따라서 참전복에서 일어나는 기질적 변성변화인 근육변성을 먼저 조직병리학적 분석을 통해 고찰하고 Oxytetracycline을 침지법을 통해 근육변성이 실제 전복의 행동학적 특성에 어떠한 영향을 미치는지 확인하는데 본 연구의 목적이 있다. 본 연구와 양식 전복의 결과를 참고한 결과, 영양 과다 공급에 의한 급속성장은 패체의 건강도 저하와 연관된다고 할 수 있으며 이를 조절하기 위한 방법으로 조직병리학적 모니터링

이 한 방안이 될 수 있을 것이라고 사료된다. 또한 Oxytetracycline의 박리 후 회복시
간의 관찰 또한 양식산 전복 폐각근의 기질적 변성변화를 측정하는데 참고할 수 있
는 수단이 될 수 있을 것이라고 사료된다.



V. 요 약

현재의 전복 양식장에서 임상적으로 건강한 전복의 개체에서 일어나는 폐각근의 cellular swelling 과 myonecrosis 는 산화스트레스에 의한 결과로 추정되어 인위적으로 유발하여 동일한 결과를 얻을 수 있었다.

이러한 폐각근의 변성은 패체의 건강도를 약화시켜 이차감염 내지 환경적 변화에 대하여 민감하게 나타날 것으로 판단된다. 본 실험은 패체의 건강도에 큰 영향을 받는 박리제에 의한 박리 및 회복 실험을 진행하였으며, 근섬유의 변성 정도가 심화함에 따라 회복 시간이 길어지는 것으로 결과가 나타났다. 따라서 회복 시간과 근섬유의 변성 정도와 밀접한 연관관계가 있다고 판단된다. 본 실험은 패체의 건강도를 간접적으로 측정할 수 있는 하나의 수단이 될 수 있을 것으로 사료된다.

VI. 감사의 글

석사과정 학위를 취득하기 까지 많은 이들의 도움이 있었기에 제가 잘 마무리 할 수 있었던 것 같습니다. 제일 먼저, 항상 저를 믿어주시고 지지해주시며 무한한 격려를 아끼지 않으신 가족에게 감사하다는 말을 꼭 전하고 싶습니다. 힘들고 어려운 상황에도 굳건히 버틸 수 있었던 건 가족이라는 버팀목이 있었기 때문이라고 생각합니다. 아버지, 어머니 사랑합니다.

그리고 실험실에서 늘 긍정적인 모습으로 가르침을 따뜻하게 지도해주신 지도교수님이신 허민도 교수님께 감사드립니다. 멘토로서 저를 북돋아주신 덕분에 성장할 수 있었던 계기가 된 것 같습니다. 그리고 바쁘신 와중에도 많은 관심과 조언을 주셨던 정현도 교수님과 정준기 교수님께 감사드리며, 언제나 관심을 가지고 지켜 봐주신 박수일 교수님, 김도형 교수님, 김기홍 교수님께도 심심한 감사의 말씀드립니다.

실험실 생활을 하면서 저에게 가장 닮고 싶은 인생의 롤모델이신 이무근 선배님께도 정말 깊은 감사의 말씀을 드리고 싶습니다. 선배님의 조언과 충고를 바탕으로 더 진보해나가는 제가 되도록 하겠습니다. 그리고 따뜻하게 많은 가르침을 주신 이동규 선배, 햇병아리 시절부터 함께 고생한 황형준 동기, 이수연 형께도 깊은 감사의 말씀을 전합니다. 그리고 석사 동기인 황세명 후배님, 이성주 후배님 정말 고생 많았고 참 추억도 많은 실험실 생활을 같이 한 것 같습니다. 언제나 믿고 따라준 세명이와 성주 너무 고맙고 앞으로 하는 일마다 다 잘되길 기원할게. 그리고

저에게 많은 도움과 추억을 남겨준 어패류병리학실험실 후배인 상우, 동수, 종호, 준영, 성우, 경식, 태연, 은지, 재영이도 너무 고맙고 앞으로 하는 일마다 다 잘되길 바란다. 학위논문을 준비하면서 부족한 저를 이끌어주시고 도와주신 모든 분께 감사의 마음을 전합니다. 감사합니다.



VII. 참고문헌

- 강대영. 2007. 병리학. 대한병리학회, 2-17p
- 전세규. 2000. 養殖魚類의 疾病, 한국수산신문사. 11-13p
- 농림수산물통계연보. 2013. 농림수산물부.
- Almaida-Pagan PF, Costa JD, Mendiola P and Tocher DR. 2012. Changes in tissue and mitochondrial membrane composition during rapid growth, maturation and aging in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B. 161 , 404-412. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpb.2012.01.006>.
- Alonso-Alvarez C, Bertrand S, Faivre B and Sorci G. 2007. Increased susceptibility to oxidative damage as a cost of accelerated somatic growth in zebra finches. Functional Ecology. 21 , 873-879. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01300.x>
- Beytut E, Karatas F and Beytut E. 2002. Lambs with white muscle disease and selenium content of soil and meadow hay in the region of Kars, Turkey. The Veterinary Journal. 163 , 214-217. <http://dx.doi.org/10.1053/tvjl.2001.0652>.
- Blok MD and Stoks R. 2008. Compensatory growth and oxidative stress in a damselfly. Proc Biol Sci. 275(1636) , 781-785. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2007.1515>
- Cardinaud M, Barbou A, Capitaine C, Bidault A, Dujon AM, Moraga D and Paillard C. 2014. *Vibrio harveyi* Adheres to and penetrates tissues of the european abalone *Haliotis*

tuberculata within the first hours of contact. Applied and Environmental Microbiology. 80 , 6328-6333.

Corbeil S, McColl KA, Williams LM, Mohammad I, Hyatt AD, Crameri SG, Fegan M and Crane MS. 2012. Abalone viral ganglioneuritis: Establishment and use of an experimental immersion challenge system for the study of abalone herpes virus infections in Australian abalone. Virus Research. 165 , 207-213.

Cho BO, Lee CW, So Y, Jin CH, Yook HS, Byun MW, Jeong YW, Park JC and Jeong IY. 2014. Protective Effects of Radiation-induced Blackberry Mutant Extract on Carbon Tetrachloride (CCl₄)-induced Liver Injury in Sprague-Dawley Rats. J Korean Soc Food Sci Nutr. 43(6) , 807-813. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.6.807>.

Choi GO, Park EJ and Lee EH. 2005. The study on the swimming training time of rats induced diabetes by streptozotocin to the SOD(Super-Oxide Dismutase) activation of muscle, heart and liver tissue. Korea Sport Research. 16 (6) , 589-598.

Choi SD, Cheong SC, Kim HJ, Gong YG, Paek JM and Choi KJ. 1997. Study on exfoliation and Recovery of anesthetized young abalones, *Haliotis discus hannai* treated with Ethyl-p-aminobenzoate and freshwater in different temperatures of sea water. Journal of Aquaculture. 10(3) , 281-288.

Choi SD, Kim HJ, Suh HL, Suh HY, Yang MH and Hwang SI. 1998. Anaesthetic effect of MS-222 and Lidocaine on abalone, *Haliotis discus hannai* . J. Fish Pathol., 11(1) , 35-41.

- Dang VT, Speck P and Benkendorff K. 2012. Influence of elevated temperatures on the immune response of abalone, *Haliotis rubra*. Fish & Shellfish Immunol. 32 , 732-740. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2012.01.022>.
- Ferraris M, Radice S, Catalani P, Francolini M, Marabini L and Chiesara. 2002. Early oxidative damage in primary cultured trout hepatocytes: a time course study. Aquatic Toxicology. 59 , 283-296.
- Fried, G.H. and Levin, N.L. (1973) Enzymatic activity in hepatopancreas of *Nassarius obsoletus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry. 45 , 153-157.
- Hall ME, Blount JD, Forbes S and Royle NJ. 2010. Does oxidative stress mediate the trade-off between growth and self-maintenance in structured families?. Functional Ecology. 24 , 365–373. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01635.x>
- Han SJ, Kim BR, Won SH and Kim JW. 2003. Effect of urea on the exfoliation of juvenile abalone, *Haliotis discus Reeve*. J. of Aquaculture. 16(4) , 223-228.
- Haung XJ, Choi YK, Im HS, Yarimaga O, Yoon E and Kim HS. 2006. Aspartate aminotransferase (AST/GOT) and alanine aminotransferase (ALT/GPT) detection techniques. Sensors. 6 , 756-782.
- Henry DC, Ronald GT, Marlene DG and Ronald PM. 1986. The formation of a novel free radical metabolite from CCl₄ in the perfused rat liver and in vivo. The journal of biological chemistry. 261(10) , 4542-4548.

- Jeon JK, Kim PK, Park YJ and Huh HT. 1995. Study of serum constituents in several species of cultured fish. J Korean Fish Soc. 28 , 123-130.
- Jones TC, Hunt RD and King NW. 1997. Skeletal muscle. In: Veterinary Pathology Six edition Volume II. Cann Carroll, ed. Williams & Wilkins, Maryland, U.S.A., 887-889.
- Kennedy S, Rice DA and Davidson WB. 1987. Experimental myopathy in vitamin E and selenium-depleted calves with and without dietary polyunsaturated fatty acids as a model for nutritional degeneration myopathy in ruminant cattle. Res Vet Sci. 43 , 384-394.
- Kim BH, Lee SM, Go CS, Kim JW and Myeong JI. 1998. Optimum stocking density of juvenile abalone(*Haliotis discus gannai*) fed the formulated diet or macroalgae(Undaria). J. Korean Fish. Soc. 31(6) , 869-874.
- Kim BH, Park MW, Kim TI, Cho JK, Son MH and Myeong JI. 2013. A Study on the Optimum Stocking Density of the Juvenile Abalone, *Hailotis discus hannai* Net Cage Culture or Indoor Tank Culture. Korean J. Malacol. 29(3) , 189-195.
<http://dx.doi.org/10.9710/kjm.2013.29.3.189>
- Kim TH, Yang MH, Choe MK, Han SJ and Yeo IK. 2005. Physiological studies on acute water-temperature stress of juvenile abalone, *Haliotis discus hannai*. J Aquaculture. 18 , 7-12.
- Kim WS, Kang MH, Kim JO, Lee SW, Kim j, Hwang DJ and Oh MJ. 2013. Exfoliation of abalone, *Haliotis discus hannai* by commercial exfoliating reagents. J. Fish Pathol. 26(2) , 117-121.

- Kim SY, Noguera JC, Morales J and Velando A. 2011. Quantitative genetic evidence for trade-off between growth and resistance to oxidative stress in a wild bird. *Evol Ecol.* 25 , 461–472. <http://dx.doi.org/10.1007/s10682-010-9426-x>
- Khedr NF and Khedr EG. 2014. Antioxidant and anti-inflammatory effects of curcumin on CCl₄ -- induced liver fibrosis in rats. *Am. J. Biomed. Sci.* 6(3) , 191-200. <http://dx.doi.org/10.5099/aj140300191>
- Lilu G, Zhongyi C, Brian EC, Venkataraman A, Raquel FE, Richard ME and Sean SD. 2011. Phosphatidylethanolamines modified by γ -Ketoaldehyde (γ KA) induce endoplasmic reticulum stress and endothelial activation. *J Biol Chem.* 286(20) , 18170-18180. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M110.213470>.
- Lopes PA, Pinheiro T, Santos MC, Mathias LM, Collares-Pereira MJ and Viegas-Crespo AM. 2001. Response of antioxidant enzymes in freshwater fish population (*Leuciscus alburnoides* complex) to inorganic pollutants exposure. *The science of the total environment.* 280 , 153-163.
- McCord JM. 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American Journal Of Medicine.* 108(8) , 652-659. [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9343\(00\)00412-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9343(00)00412-5)
- Min EY, Lee JS, Kwak IS, Kim JW and Kang JC. 2014. Changes of enzyme activity in the hemolymph and hepatopancreas of the abalone, *Haliotis discus hannai* (Ino, 1953) exposed to cadmium. *Korean J. Malacol.* 30(1) , 41-49.

NFRDI. 2008. Standard Manual of Abalone Culture. Retrived from

http://portal.nfrdi.re.kr/upload/farm/farm_03.pdf.

Park CJ, Min BH, Kim KS, Lee JW, Lee JH, Noh JK, Kim HC, Park JW and Myeong JI. 2011.

Physiological responses on low water-temperature stress of pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. Korean J Malacol. 27, 317-322.

Park MS, Kim SH, Lim HK, Min BH Chang YJ and Jeong MH. 2013. Recovery rate and

histological changes in the gills of juvenile abalone *Haliotis discus hannai* by Exposure Time of Different water temperatures and salinities. Korean J. Malacol. 29(3) , 225-232

Park MW, Kim HJ, Kim BH, Son MH, Jeon MA and Lee JS. 2013. Changes of Survival Rate,

Falling Rate and Foot Histology of the Abalone, *Haliotis discus hannai* (Ino, 1952) with Water Temperature and Salinity. Korean J. Malacol. 29(4) , 303-311
<http://dx.doi.org/10.9710/kjm.2013.29.4.303>

Requena JR, Fu MX, Ahmed MU, Jenkins AJ, Lyons TJ, Baynes JW and Thorpe SR. 1997.

Quantification of malondialdehyde and 4-hydroxynonenal adducts to lysine residues in native and oxidized human low-density lipoprotein. Biochem. J. 322 , 317-325.

Sachdev S and Kelvin JAD. 2008. Production, detection, and adaptive responses to free

radicals in exercise. Free Radical Biology & Medicine. 44. 215-223.

Shin YK, Jun JC, Im JH, Kim DW, Son MH and Kim EO. 2011. Physiological Responses in

Abalone *Haliotis discus hannai* with Different Salinity. Korean J. Malacol. 27(4) , 283-289.

- Tiina MA and Carl WW. 2005. Antioxidant defenses in the preterm lung: role for hypoxia-inducible factors in BPD?. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 203 , 177-188.
[http://dx. doi.org/10.1016/j.taap.2004.07.008](http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2004.07.008)
- Wedemeyer GA and McLeay DJ. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In *Stress and Fish*. Pickering AD, ed. Academic Press, London, UK, 247-275.
- White, H.I., Hecht, T. and Potgieter, B. 1996. The effect of four anaesthetics on *Haliotis midue* and their suitability for application in commercial abalone culture. *Aquaculture*. 140 , 145-151.
- Won KM, Kim BH, Jin YG, Park YJ, Son MH, Cho MY, Park MA and Park MW. 2013. Infestation of the Abalone, *Haliotis Discus Hannai*, by the *Polydora* under Intensive Culture Conditions in Korea. *J. Fish Pathol*. 26(3) , 139-148.
- Yarrington JT and Whitehair CK. 1975. Ultrastructure of gastrointestinal smooth muscle in ducks with a vitamin E-Selenium deficiency. *The Journal of Nutrition*. 105 , 782-790.