양식 참전복(Haliotis discus hannai)의 비병증 예의 근육변성

김보성, 이성주, 황세명, 이무근¹, 박영진², 송교정², 허민도^{*}

부경대학교 수산생명의학과. 1사단법인 대한수산질병관리사회. 2전라남도 해양수산과학원

Myopathy in Clinically Healthy Cultured Abalone Haliotis discus hannai

Bo Seong Kim, Sung Joo Yi, Se Myung Hwang, Mu Kun Lee¹, Young Jin Park², Kyo Jung Song² and Min Do Huh*

> Department of Aquatic life Medicine, Pukvoung National University, Busan 608-737, Korea ¹Korean Aquatic Organism Disease Inspector Association, Busan 612-050, Korea ²Ocean & Fisheries Science Institute, Wando 537-801, Korea

In this study, 6-10 clinically healthy farmed abalone, Haliotis discus hannai were obtained from Jeollanam-Do Wando Soan-myeon, Bogil-myeon, and Nohwa-eup monthly for 1 year 7 months and were examined histopathologically. As a result, the adductor muscle had severe cellular swelling and myonecrosis. These lesions were stained with hematoxylin and eosin and Giemsa. The lesions were not caused by infection of bacteria or parasites. We investigated the relationship between lesion frequency and water temperatureand discovered that increased water temperature was associated with increasing lesion frequency. As water temperature is related to growth rate, increased growth rate was closely related to increased lesion frequency. We considered that these lesions could be a useful factor in measuring shellfish health.

Key words: Abalone, Water temperature, Adductor muscle, Haliotis discus hannai

서 루

전복 양성시 생존율은 40-60%로서 높은 폐사율을 나타내고 있는 실정이다(NFRDI, 2008). 높은 폐사율은 병원체, 환경, 숙 주와의 연관성에 의하여 발생을 한다(Dang et al., 2012). 폐사 율의 발생을 줄이기 위해 병원체, 환경, 숙주를 조절하는 것이 필요하나, 전복의 가두리 양식의 특성상 환경 및 병원체의 조절 은 한계가 있다. 따라서 숙주의 건강도 조절이 병원체, 환경의 조절보다 이상적인 것으로 생각된다.

숙주의 건강도를 측정하는 방법으로는 기질적 변성변화를 측 정하기 위한 방법들이 있으며, 이에 해당하는 것이 척추동물에 서 측정하는 방법인 조직병리학적, 혈액학적 분석방법들이다 (Jeon et al., 1995; Huang et al., 2006). 이러한 측정방법에 의해 발견되는 기질적 변성변화는 기회 감염성 병원체와 환경의 악 화에 대한 민감도를 더 높여 이차적 질병의 발생이나 환경적 변 화에 의해 자연 감모가 더 발생할 수 있는 것으로 알려져 있다 (Wedemeyer and McLeay, 1981). 이에 관한 연구로 양식어에

http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0174

 (\mathbf{i}) (cc)

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial Licens (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/)which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 질병 발생이전에 나타나는 기질적 변성변화의 출현과 이에 대한 의의를 연구하는 결과가 일부 있었지만(Huh et al., 2005; Lee. 2012:), 척추동물에서 실시하고 있는 혈액학적 측정방법 은 패체에서 표준치가 정립화되어 있지 않은 실정이며, 이러한 측정방법을 온도에 따라 대사활동이 달라지는 무척추동물에게 적용하기에는 한계가 있다(Kim et al., 2005; Park et al., 2011). 본 연구는 참전복에서 일어나는 기질적 변성변화를 조직병 리학적 분석으로 관찰하여 정의하기 위해 전라남도 완도군의 전복 가두리양식장에서 임상적으로 건강한 참전복을 1년 7개 월 동안 매달 6-10마리 샘플링하여 조직병리학적으로 관찰하 였다.

재료 및 방법

실험 패체

전라남도 완도군 소안면, 보길면, 노화읍 등 3군데의 지역에 위치하고 있는 각각의 전복 가두리양식장에서 입식 시기가 같

Kor J Fish Aquat Sci 47(2) 174-178, April 2014

Received 14 January 2014; Revised 11 March 2014; Accepted 27 March 2014 *Corresponding author: Tel: +82. 55. 629. 5942 Fax: +82. 55. 629. 5938 E-mail address: mindo60@gmail.com

은 참전복을 2011년 1월부터 2012년 7월까지 1년 7개월 동안 매달 6-10마리를 샘플링하였다.

조직병리학적 분석

조직병리학적 분석을 위해 샘플링한 참전복을 패각을 제거한 후 Bouin's solution에 24시간 동안 전 고정을 하였다. 후 고정 은 개체를 3가지 단면으로 분리하여 각각의 장기들을 평가할 수 있도록 하였다. 3가지 단면은 치설, 새하선이 나오는 단면, 폐각 근, 아가미, 신장, 장이 나오는 단면, 소화선, 생식선이 나오는 단 면으로 동일 고정액으로 24시간 동안 후 고정을 실시하였다. 후 고정이 완료된 후 전처리기계(Leica TP 1020, Germany)를 통 하여 파라핀 침투를 시키고 포매기(Medite TBS 88, Germany) 를 사용하여 포매를 실시하였다. 이후 Rotary형 조직박절기 (Leica RM 2125 RTS, Germany)을 사용하여 4-5 μm 두께의 박편을 얻어 상법상에 따라 Harris hematoxylin-eosin 염색과 Giemsa 염색을 실시하여 광학현미경(Olympus BX50, Japan) 으로 검정하였다. 검정 후 현미경용 디지털 카메라(Olympus DP72, Japan)로 촬영하였다.

수질측정방법

수온, 염분은 표층에서 2 m 이내 범위에서 다목적 수질 측정 기(Ysi YSI6820, USA)를 이용하여 매월 샘플링 시기에 함께 측정하였다.

폐각근의 조직병리학적 분석

전복의 폐각근을 패각과의 접착부를 기준으로 80 µm의 깊이 까지 폐각근의 변성도를 측정하여 동일 병변이 폐각근의 면적 에서 우점적으로 관찰될 때 정상, 종창, 위축 소견으로 나누었 다. 한 샘플링의 모든 패체에서 이러한 소견을 나누었으며 이를 합산하여 비중을 추산하였다.

결과 및 고찰

전라남도 완도군에서 샘플링한 참전복을 H&E 염색을 통하 여 조직병리학적으로 관찰한 결과, 폐각근을 제외한 모든 장기 는 정상적인 구조 및 세포를 유지하고 있는 것으로 나타났다. 하 지만, 폐각근에서는 다른 장기와 다르게 개체별로 정상, 비대 및 위축 소견이 나타나는 유의한 결과를 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 비대가 일어난 개체는 정상 및 비대의 근육섬유가 관찰되는 반 면, 위축이 일어난 개체에서는 근섬유의 괴사와 연결되는 것으 로 추정되는 위축 소견 및 비대의 소견이 복합적으로 관찰되었 다. 따라서 변성의 단계로 보았을 때, 비대의 과정에서 심화되어 위축으로 나타나는 것으로 여겨진다.

이러한 변성은 Giemsa 염색상에서 세균 및 기생충은 검출되 지 않았으며, H & E 염색상과 비교하여 보았을 때 바이러스 감 염의 증상인 inclusion body를 관찰할 수 없었다. 또한, 변성 부 위에 염증성 세포의 증가나 침윤이 관찰되지 않았으므로 병원 성 감염에 의한 결과가 아니라는 것을 추정할 수 있었다(Fig. 2). 따라서 감염증에 의한 증상이 아닌, 환경적 요인이나 내인 성 인자에 의해 일어난 증상으로 여겨진다. 이에 먼저 어장의 염 분 및 온도를 측정하여 근육 변성이 일어난 추세와 비교를 실시 하였다. 염분과 근육변성을 비교하였을 때, 서로의 상관성이 없 는 것으로 측정이 되었다(자료 미게재). 이에 반하여 수온과 근 육변성은 상관성을 띄는 것을 볼 수 있었는데, 먼저 소안면의 어 가에서 온도와 폐각근의 근육 변성의 빈도를 분석하면, 11년도 에서는 수온이 낮아질수록 대체적으로 비대 및 위축 소견이 완 화되는 경향을 보이며, 수온이 높아질수록 비대 및 위축 소견이 증가하는 경향을 보인다. 특히, 고수온기인 11년 5월부터 9월까 지 비대 및 위축소견이 다른 달에 비해 많이 나타나며, 이후, 증



Fig. 1. Histological observation of Adductor muscle from clinically healthy cultured abalone *Haliotis discus hannai*. A: Regular diameter of adductor muscle fibril. B: Cellular swelling in adductor muscle fibril (arrows), More extended degenerative muscle fibrils than normal ones. Cellular atrophy in adductor muscle fibril (elliptical circles). More condensed degenerative muscle fibril than normal ones is associated with myonecrosis. H&E, Bar = 50 µm.



Fig. 2. Histological observation of other organs with muscle degenerative abalone *Haliotis discus hannai*. A, Degenerative region of abalone adductor muscle. No evidence of infection of bacteria and parasite; B, Hypobranchial gland; C, Cerebral ganglion; D, Right kidney; E, Gill; F, Epitehlium of the stomach. Blue resgion in lumen is scran; G, Epithelium of mid gut; H, Digestive gland. Giemsa, Bar = 50 µm.



Fig. 3. Analysis of muscle degenerative trend of abalone *Haliotis discus hannai* and water temperature trend in So-an, Bo-gil and No-wha in each month.

상이 완화되는 경향을 보인다. 12년도에서는 11년도의 결과와 유사하게 저수온기에서는 비대 및 위축 소견이 완화되는 경향 을 보이며, 고수온기인 12년 4월부터 비대 및 위축 소견이 현저 하게 증가하는 경향을 보인다. 다만, 12년 5월에는 저수온기에 서 일어나는 근육 변성 빈도와 유사한 것을 볼 수 있었지만 전 체적인 추이를 관찰하였을 때, 점진적으로 심해지는 경향을 보 인다(Fig. 3).

보길면의 어가에서는 소안면의 결과와 약간 다르게, 11년도

1월부터 4월까지 다소 높은 빈도의 근육변성을 보였지만 전체 적인 경향은 소안면과 유사하게 고수온기에 비대 및 위축소견 이 높아지는 경향을 보이며 저수온기에서는 비대 및 위축소견 이 완화되는 경향을 보였으며, 12년도 역시 유사한 결과를 보 였다(Fig. 3).

노화면의 어가에서는 보길면의 어가와 같이 11년에서 2월부 터 4월까지 다소 높은 빈도의 근육변성을 보이지만 점차 완화되 는 경향을 보이며, 고수온기인 5월부터 9월까지 비대의 경향 늘 어가는 경향을 보이지만 그 빈도는 소안면 및 보길면보다 낮은 것으로 나타난다. 그 이후의 달에서는 소안면 및 보길면과 마찬 가지로 빈도가 줄어드는 경향을 보이며 12년 5월부터 다시 병 변의 심도 및 빈도가 증가하는 경향을 보이나 그 정도는 미미한 것으로 나타난다(Fig. 3).

세 어가의 경향은 어장의 위치에 따라 결과가 조금씩 다르게 나타나지만, 전반적인 경향은 동일한 것으로 나타나며, 주로 수 온이 높아지는 시기에 변성변화가 많이 나타나는 모습을 보인 다. 즉, 수온이 높아지는 시기에 성장속도의 증가에 따라, 이러 한 변성변화가 일어난다라는 것을 알 수 있었으며, 이러한 변 성변화의 심도는 Kim et al. (2012)이 조사한, 수온이 높아지는 2011년도 6월에서 9월까지의 비감염성 폐사율과 유사하게 높 아지는 경향을 볼 수 있었다. 뿐만 아니라, 온도의 상승에 따라 전복의 면역력이 낮아지는 경향도 감염성 폐사율이 높아질 수 있다는 점을 시사하고 있다(Dang et al., 2012).

따라서 폐각근에서 일어나는 이러한 병변이 패체의 건강도를 측정할 수 있는 한 방법으로서 제안할 수 있으며, 지속적인 모니 터링으로 패체의 건강도를 양호하게 유지시켜 폐사를 줄일 수 있는 한 방안으로 소개를 할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2011년 1월부터 2012년 12월까지 전라남도 해양수 산과학원의 지원을 받아 수행되었습니다.

References

- 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.
- Huh MD, Song NY and Lee mukun. 2005. Pathological discussion of anemia in fish. J Fish Pathol 18, 105-118.
- 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.
- 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.
- Kim JW, Lee HN, Jee BY, Woo SH, Kim YJ and Lee MK. 2012. Monitoring of the mortalities in the aquaculture farms of South Korea. J Fish Pathol 25, 271-277.
- Kim TH, Yang MH, Choe MK, Han SJ and Yeo IK. 2005. Physiological studies on acute water-temperature stress of juvenile abalone, *Haliotis dicus hannai*. J Aquaculture 18, 7-12.
- Lee DG. 2012. Histological observation of main organs in nondiseased cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. MD. Thesis, University of Pukyong National University, Busan, Korea.

- 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.
- 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.