

# 염화니켈 (NiCl<sub>2</sub>) 노출에 따른 북방전복 *Haliotis discus hannai*의 생존율, 탈락률 및 조직학적 지표 변화

김병학, 박정준, 손맹현, 김수지<sup>1</sup>, 김혜진<sup>1</sup>, 전미애<sup>1</sup>, 이정식<sup>1</sup>

국립수산과학원 남해수산연구소, <sup>1</sup>전남대학교 수산생명의학과

## Changes of Survival Rate, Falling Rate and Histological Biomarker in the Abalone *Haliotis discus hannai* Exposed to Nickel Chloride

Byeong-Hak Kim, Jung Jun Park, Maeng-Hyun Son, Suji Kim<sup>1</sup>, Hyejin Kim<sup>1</sup>, Mi Ae Jeon<sup>1</sup>  
and Jung Sick Lee<sup>1</sup>

South Sea Fisheries Research Institute, NIFS, Yeosu 59780, Korea

<sup>1</sup>Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 59626, Korea

### ABSTRACT

This study was conducted to find out concentration of trace metal, survival rate, falling rate and structural changes of the abalone *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Experimental groups were composed of one control condition and four nickel chloride exposure conditions (7.0, 12.0, 17.0 and 22.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L). The concentration of nickel in abalone was significantly increased all exposure groups. Though the exposure groups had lower survival rate than the control group, falling rate higher than the control group. Histopathological changes in the foot, gill and hepatopancreas of abalone was revealed prominently with exposure group than control group.

**Key words:** *Haliotis discus hannai*, nickel chloride (NiCl<sub>2</sub>), histopathology

### 서 론

미량금속은 수생태계에서 생물에게 영향을 미치는 스트레스 요인 중 하나로 오랜 기간 분해되지 않는 지속성과 그에 따른 독성 및 생체축적으로 인해 수계생물에게 급성 및 만성독성을 유발한다 (Atchison *et al.*, 1987). 또한 필요 이상의 농도에 노출될 경우, 세포 내부의 구조적 이상을 유발하며, 생체기능 장애를 일으켜 생리적활동에 악영향을 유발한다 (Sutherland and Major, 1981; Agnieszka *et al.*, 2010).

니켈 (Ni) 은 미량금속 중 필수원소에 속하는 금속으로 인지기질 합성, 비오틴 및 엽산 등의 활성화에 관여하며, 지질대사와 간에서의 triacylglycerol의 축적을 방해하는 것으로 알려져 있

다 (Stangl and Kirchgessner, 1996; Donald and Donald, 1999). 또한 USEPA (2013) 에서 priority pollutant로 규정되어 생물의 발암성 물질로 알려져 있으며, 기형과 DNA-protein 교차결합, 생리대사의 영향을 미친다 (Coogan *et al.*, 1989; Sunderman *et al.*, 1989).

복족류인 *Helix aspersa*를 니켈에 노출시켰을 경우, 장에서 글루코오스의 흡수가 억제되고, 장 상피세포 파괴 등의 영향을 나타내며 (Agnieszka *et al.*, 2010), *Lammellidens marginalis*의 경우, 소화선세관의 상피층 파괴와 탈락 현상을 유발한다 (Andhale *et al.*, 2011).

최근 북방전복 *Haliotis discus hannai*은 한국, 중국, 일본 등에서 고부가가치 양식대상종으로 생산량이 점차 증가하고 있는 추세지만, 전복 양식장의 유기물 오염 및 미량금속 등의 화학물질 증가로 인한 성장과 폐사 등의 문제점을 가지고 있다 (Kang *et al.*, 2015). 북방전복을 비롯한 이동성이 제한적인 많은 생물들은 해양환경 변화에 많은 영향을 받을 것으로 판단된다. 따라서 본 연구는 북방전복을 대상으로 미량금속의 한 종류인 염화니켈 (NiCl<sub>2</sub>) 의 만성노출에 따른 생존율, 탈락률 및 조직학적 지표 변화를 통하여 위해성을 평가하고자 하였다.

Received: June 1, 2016; Revised: June 24, 2016; Accepted: June 30, 2016

Corresponding author : Jung Sick Lee

Tel: +82 (61) 659-7172, e-mail: ljs@jnu.ac.kr  
1225-3480/24617

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.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

본 실험에 사용된 북방전복 *Haliotis discus hannai*의 크기는 각장  $36.05 \pm 4.67$  mm 인 300 개체를 사용하였다. 북방전복은 수온 18°C, 염분도 32.5 psu 조건에서 2주간 순치시킨 후 실험에 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 실험조건

본 실험은 OECD test guideline No. 203 (OECD, 1992) 을 수정하여 실시하였으며, 만지수식 독성시험 방법을 이용하여 4주 동안 진행하였다. 시험용액은 염화니켈 (NiCl<sub>2</sub>, Sigma, U.S.A) 을 표준용액 (1,000 mg/L) 으로 만든 다음, 실험 농도별로 희석하여 조제하였다. 염화니켈 실험구 설정은 급성독성시험을 통하여 0, 7.0, 12.0, 17.0, 22.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L 로 설정하였다. 사육수는 염화니켈의 반감기에 따라 2일 1회 실험수의 1/3씩 교환하였으며, 교환 시 사이펀을 이용하여 수조 바닥면의 배설물을 제거하였다. 실험기간 동안 북방전복의 사육환경과 유사하도록 각 수조마다 암막장치를 설치하였으며, 수온, 염분도 그리고 pH 를 매일 오전 9시에 측정하였다.

#### 2) 생존율 및 탈락률

실험개체들의 생존 및 탈락은 실험기간 동안 각 실험구별 24시간 간격으로 관찰하였다. 개체의 생존은 자극을 주었을 때, 발과 촉수의 수축반응 여부로 사망개체를 판단한 후, 누적 사망률을 구하여 생존율로 환산하여 나타냈다. 탈락개체는 기질로부터 떨어진 개체의 발과 촉수의 수축반응 여부로 판단하였다.

#### 3) 조직학적 지표 분석

광학현미경 조직표본제작은 각 기관계를 적출하여 Bouin's solution에 24시간 고정한 후, 흐르는 물로 36-48시간 동안 수세하였다. 그 후, 알코올의 농도 순 탈수과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 파라핀에 포매된 조직은 마이크로톰을 이용하여 두께 4-6 μm 로 연속절편을 제작하였다. 제작된 조직절편은 H-E 염색, Masson 삼중염색, AB-PAS (pH 2.5) 반응, AF-AB (pH 2.5) 반응 및 Long Ziehl-Neelsen 염색을 실시하였다. 점액세포의 염색친화도 판정은 Pantone® Formula Guide/solid coated, 2006 (Pantone Inc., U.S.A) 을 기준으로 고유번호를 괄호 안에 표시하였다. 조직화학적 변화양상 (호염기성세포 분포비율, 리포푸신 분포비율) 은 화상분석장치 (IMT, Visus, U.S.A) 를 사용하여 아래의 식을 이용하여 정량화하였다.

$$\text{Distribution of lipofuscin (\%)} = \frac{\text{Lipofuscin area } (\mu\text{m}^2)}{\text{Epithelial layer area of digestive tubule } (\mu\text{m}^2)} \times 100$$

$$\text{Distribution of basophilic cell (\%)} = \frac{\text{Basophilic cell area } (\mu\text{m}^2)}{\text{Epithelial layer area of digestive tubule } (\mu\text{m}^2)} \times 100$$

#### 4) 체내 염화니켈 농도 분석

분석개체는 해부하여 폐각을 제거한 뒤, 염과 이물질을 제거하기 위해 증류수로 세척 후, 분석 전까지 - 80°C 초저온 냉동고에서 보관하였다. - 80°C 동결건조기를 이용하여 시료를 동결건조시킨 후 건조된 시료를 마쇄하여 0.1-0.5 g을 취하였다. 마쇄된 시료에 HNO<sub>3</sub> (Nitric Acid 65%, Merck, Germany) 10 mL 를 넣고 80°C에서 서서히 분해시켰다. 완전히 분해된 시료는 60-80°C를 유지한 상태로 2% HNO<sub>3</sub>로 2회 이상 전 처리 하였다. 전 처리된 시료는 2% HNO<sub>3</sub>로 100 mL 정량한 후 일부를 분취하여 ICP-MS (Perkin Elmer, NexION®300X) 로 측정하였다.

#### 5) 유의성 검증

대조구에 대한 노출구들의 유의적 차이 (P < 0.05) 를 알아보기 위하여 SPSS 통계 프로그램 (SPSS 20.0, SPSS Inc., U.S.A) 을 이용하여 paired sample t-test를 실시하였다.

## 결 과

### 1. 체내 염화니켈 축적 농도

염화니켈에 노출된 북방전복의 체내 축적농도는 Fig. 1에 나타났다. 노출 1주 경과 후 대조구에서는 3.29 mg/kg 였으며, 7.0, 12.0, 17.0, 22.0 mg/L 노출구에서는 각각 23.98, 37.68, 37.41, 49.58 mg/kg 이었다. 실험종료기인 노출 4주 경과 후에는 대조구에서 3.64 mg/kg 였으며, 각 노출구에서는 각각 28.68, 37.70, 42.42, 38.69 mg/kg 으로 농도의존적으로 증가하는 결과를 보였다. 하지만 22.0 mg/L 노출구에서는 3주 경과 후 감소하는 결과를 나타냈다. 염화니켈에 4주 동안 노출된 북방전복의 체내 축적농도는 노출조건에 농도의존적인 결과를 보였으며, 모든 노출구에서 유의적인 차이를 나타냈다 (P < 0.05).

### 2. 생존율 및 탈락률

염화니켈에 4주 동안 노출된 북방전복의 생존율은 농도의존

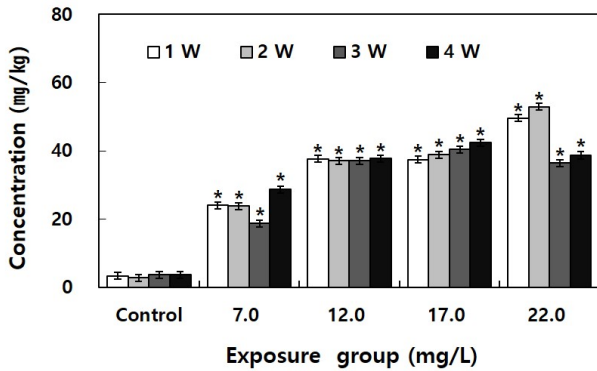


Fig. 1. Nickel concentration in the abalone *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride for 4 weeks. Vertical bar: SD. \*: Statistically significant difference from the control (ANOVA,  $P < 0.05$ ).

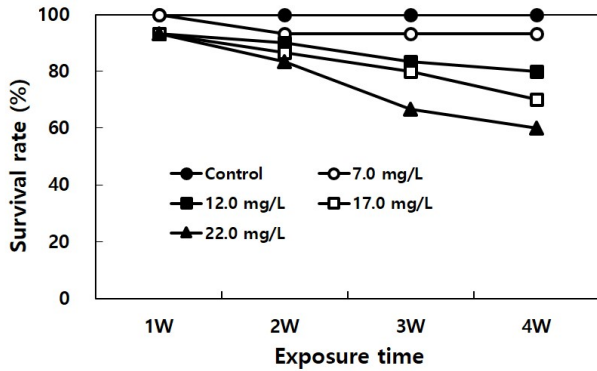


Fig. 2. Survival rate of the abalone *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride for 4 weeks.

적으로 감소하는 경향을 나타냈다. 대조구에서는 100%의 생존율을 보였다. 노출구에서는 1주 동안 93.3% 이상의 생존율을 보였으나 이후 특히, 4주 동안 17.0과 22.0 mg/L 노출구에서 생존율은 70.0%와 60.0%로 대조구에 비해 상대적으로 낮은 결과를 보였다 (Fig. 2).

탈락률은 농도의존적으로 증가하는 경향을 보였다. 대조구에서 탈락현상은 나타나지 않았지만, 노출 1주 후 7.0, 12.0, 17.0, 22.0 mg/L 노출구에서 각각 3.3%, 13.3%, 30.0%, 36.6%로 22.0 mg/L 노출구에서 가장 높은 탈락률을 보였다. 실험종료기인 노출 4주 후에는 17.0 mg/L 와 22.0 mg/L 노출구에서 각각 56.6%, 80.0%로 시간이 경과함에 따라 대조구에 비해 높은 탈락률을 보였다 (Fig. 3).

### 3. 조직학적 지표

#### 1) 발

염화니켈에 노출 1주 경과 후 북방전복의 발 상피층에서는 AB-PAS (pH 2.5) 반응 시 푸른색 (2935C) 으로 반응하는 점

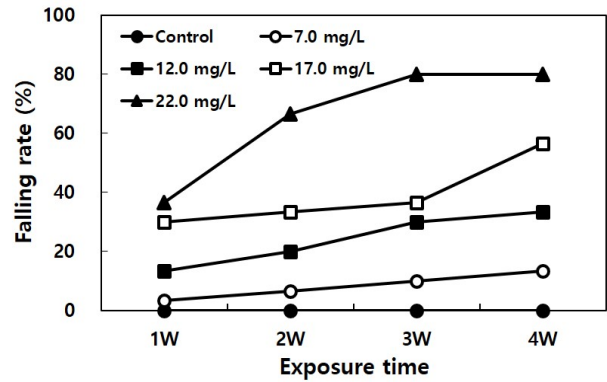


Fig. 3. Falling rate of the abalone *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride for 4 weeks.

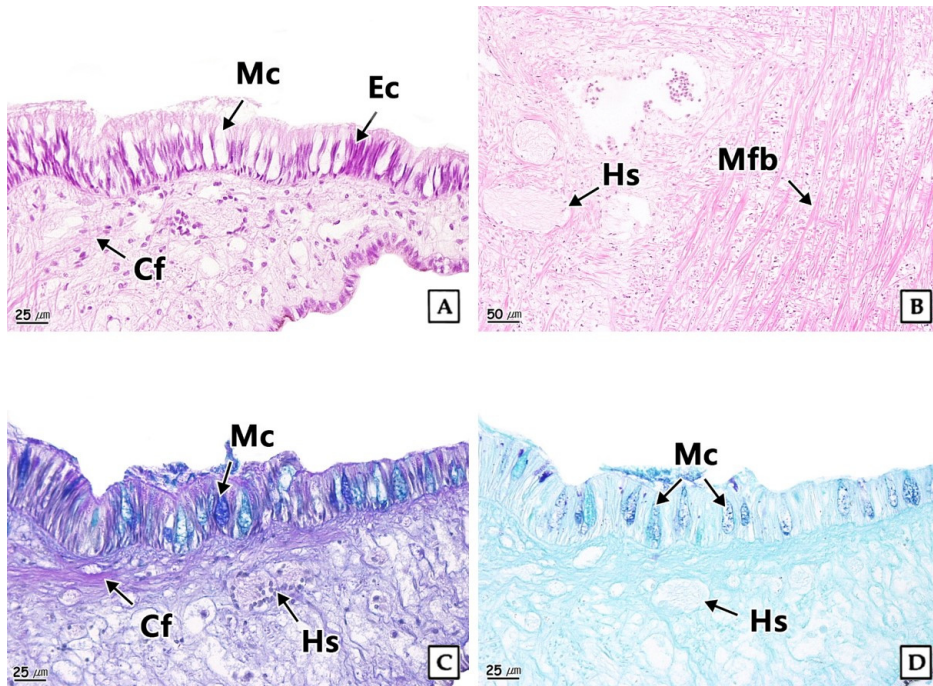
액세포의 수가 증가하였으며, 일부 점모의 소실이 관찰되었다 (Fig. 4A와 C). 17.0 mg/L 와 22.0 mg/L 노출구에서는 AF-AB (pH 2.5) 반응 시 푸른색 (3115C) 으로 반응하는 점액세포의 수가 증가하였으나 노출 4주 경과 후에는 점액세포 수의 감소와 혈림프동의 폐쇄가 관찰되었다 (Fig. 4D). 또한 근육층에서는 일부 근섬유 다발들의 소실이 관찰되었으며, 12.0 mg/L, 17.0 mg/L, 22.0 mg/L 노출구에서는 근섬유 다발들의 분절화와 갈라짐, 혈림프동의 폐쇄가 관찰되었다 (Fig. 4B).

#### 2) 아가미

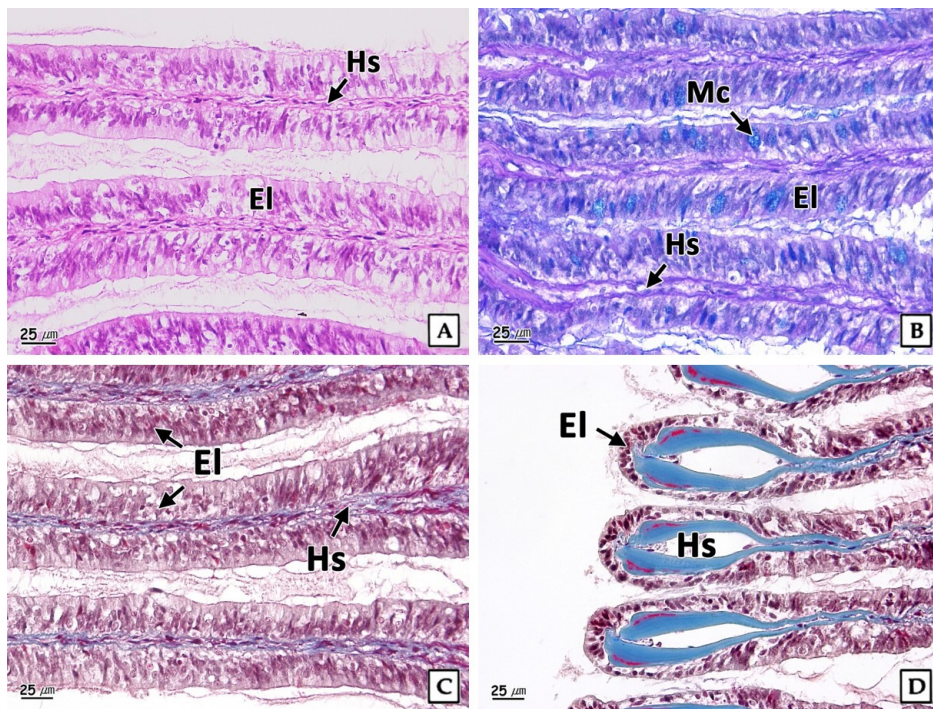
염화니켈에 노출된 북방전복의 아가미에서는 노출 1주 후 모든 노출구에서 새엽 상피층 점모의 탈락, 상피세포의 세포질 혼탁과 세포질의 변성이 관찰되었다 (Fig. 5A). 노출 시간이 경과함에 따라 새엽 상피층에서는 AB-PAS (pH 2.5) 반응 시 보라색 (2735C) 으로 반응하는 점액세포 수의 증가와 일부 상피세포의 파괴가 관찰되었다 (Fig. 5B). 노출 4주 경과 후에는 새엽 상피층 점모의 부분적 탈락과 점액세포의 공포화가 관찰되었으며, 17.0 mg/L 와 22.0 mg/L 노출구에서 일부 상피층의 탈락 및 상피세포의 파괴, 혈림프동의 변성이 관찰되었다 (Fig. 5C와 D).

#### 3) 간체장

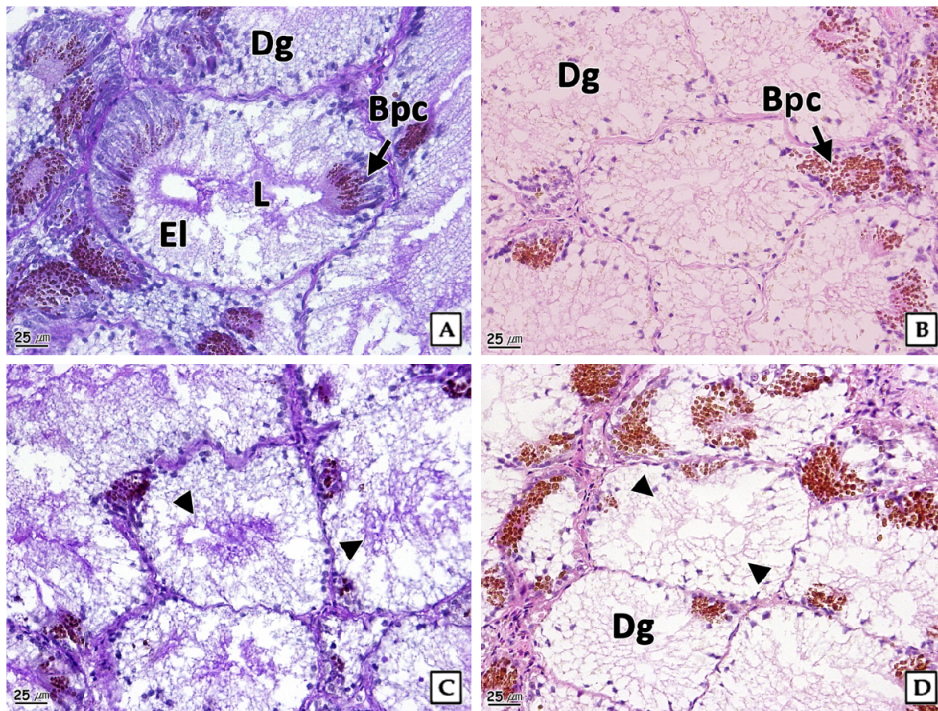
염화니켈에 노출된 북방전복 간체장의 소화선세포는 노출 1주 경과 후 상피세포의 공포화와 상피세포의 탈락 현상을 나타냈으며 (Fig. 6A와 B), 노출 시간이 경과함에 따라 소화선세포 일부 상피세포의 파괴가 증가되었다. 노출 4주 경과 후에는 모든 노출구에서 상피세포의 공포화를 비롯한 일부 상피세포의 파괴와 탈락이 뚜렷하게 관찰되었으며, 17.0 mg/L 와 22.0 mg/L 노출구에서 상피세포의 파괴가 진행됨에 따라 파괴된 세포 잔여물들이 내강 안으로 축적되는 것이 관찰되었다 (Fig. 6C와 D, arrow head).



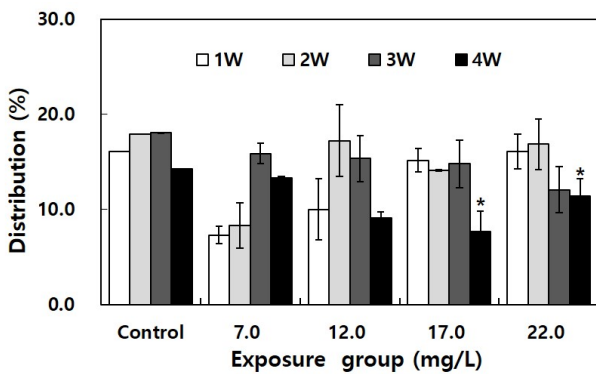
**Fig. 4.** Histological changes of foot in the abalone *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride for 4 weeks. **A:** 12.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L, **B and C:** 17.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L, **D:** 22.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L. Cf, collagen fiber; Ec, epithelial cell; Hs, hemolymph sinus; Mc, mucous cell; Mfb, muscle fiber bundle.



**Fig. 5.** Histological changes of gill in the abalone *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride for 4 weeks. **A:** 12.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L, **B and C:** 17.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L, **D:** 22.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L. EI, epithelial layer; Hs, hemolymph sinus; Mc, mucous cell.



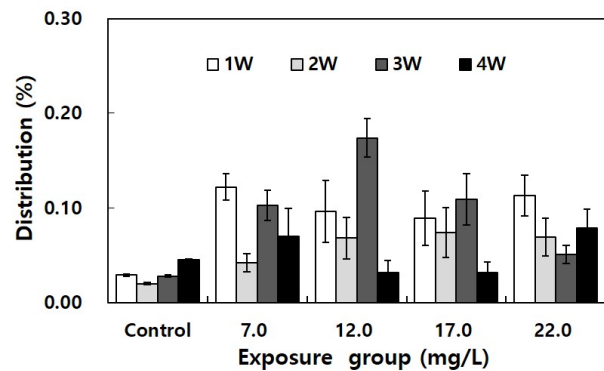
**Fig. 6.** Histological changes of digestive tubule of hepatopancreas in the abalone *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride for 4 weeks. **A:** 7.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L, **B:** 12.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L, **C:** 17.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L, **D:** 22.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L. Bpc, basophilic cell; Dg, digestive tubule; EI, epithelial layer; L, lumen.



**Fig. 7.** Basophilic cell distribution on the hepatopancreas of the abalone *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride for 4 weeks. Vertical bar: SD. \*: Statistically significant difference from the control (ANOVA,  $P < 0.05$ ).

소화선세관의 호염기성세포 분포비율을 비교한 결과, 모든 실험구에서 대조구보다 낮게 관찰되었다. 실험 종료기인 4주에 대조구에서 13.3%로 나타났으며, 17.0 mg/L 와 22.0 mg/L 노출구에서는 각각 7.7%와 9.1%로 유의적으로 감소하는 결과를 보였다 ( $P < 0.05$ ) (Fig. 7).

리포푸신 분포비율은 3주 동안 모든 실험구에서 대조구에 비해 높게 나타났다. 하지만 실험종료기인 4주 후에 12.0



**Fig. 8.** Lipofuscin distribution on the hepatopancreas in the abalone *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride for 4 weeks. Vertical bar: SD.

mg/L 와 17.0 mg/L 노출구에서는 0.03%로 대조구보다 낮게 나타났으며, 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ( $P > 0.05$ ) (Fig. 8).

### 고 찰

생물체내에서 필요 이상의 미량금속은 스트레스와 감염에 대한 감수성을 증가시키고 면역에 부정적인 영향을 미쳐 질병

의 발생을 증가시킨다 (Gagne *et al.*, 2008; Vijayavel *et al.*, 2009). 또한 금속이온 혹은 혈장단백질과 결합된 상태로 신경계, 간장 및 신장 등 장기에 흡수, 축적되어 생리적, 기능적 장애 및 형태적, 유전적, 생화학적 변화를 초래하여 생존을 위협한다 (WHO, 1970). 전복의 경우, 미량금속으로 인한 극심한 스트레스로 인해 기질로부터 탈락 및 이동성의 저하 등 구조의 변성과 기능의 저하가 나타나며 (Donovan and Taylor, 2008; Shin *et al.*, 2012), 생체 내 대사와 혈액성상의 변화를 일으킨다 (Barton and Iwama, 1991). 미량금속의 축적은 노출기간, 노출농도, 생물의 대사능력이나 활동 등 여러 가지 요소에 따라 축적량이 변한다 (Pagenkopf, 1983; Jacqueline *et al.*, 2010).

북방전복 *Haliotis discus hannai*를 염화아연에 노출시켜 체내 축적 농도를 관찰한 결과, 모든 노출구에서 농도의존적으로 증가하는 결과를 보였으며, 실험종료기에는 모든 노출구에서 대조구에 비해 높은 체내 축적농도를 나타냈다 (Son *et al.*, 2015). 본 연구에서도 염화니켈 만성노출에 따른 체내 축적농도를 비교한 결과, 1주 경과 후 모든 노출구에서 농도가 높아짐에 따라 농도의존적으로 증가하는 결과를 보였다. 마찬가지로 실험종료기에도 모든 노출구에서 농도의존적으로 증가하는 결과를 보였으나 22.0 mg/L 노출구에서는 3주 경과 후 감소하는 결과를 나타냈다.

Kim *et al.* (2015) 은 북방전복을 염화니켈 (NiCl<sub>2</sub>) 에 96 시간 동안 노출시킨 결과, 생존율은 대조구에 비해 모든 농도구에서 농도의존적으로 감소하였으며, 탈락률은 농도의존적으로 증가하였다. 또한 북방전복을 구리 (Cu) 에 노출시켰을 경우, 1.08 mg/kg 을 제외한 모든 농도구에서 생존율이 감소하는 결과를 나타냈다 (Wang *et al.*, 2009). 본 연구에서도 노출기간이 길어짐에 따라 생존율은 농도의존적으로 감소하였으며, 탈락률은 증가하는 결과를 보여 기존 연구들과 유사한 결과를 나타냈다.

전복의 발은 운동계에 해당하는 기관으로 이동과 부착을 비롯한 다양한 기능을 수행한다 (Voltzow, 1990). 삿갓조개류나 전복류의 경우에는 발의 기저근육이 폐각근 또는 각축근과 밀접하게 연관되어 있어 기질에 단단히 붙어 기어다니는 역할을 담당한다 (Trueman and Brown, 1985; Voltzow, 1990). 수온 변화에 따른 북방전복 발에서는 점액물질의 증가, 근육층 혈림프동의 확장 및 근섬유 다발의 간격 확대 등의 변화가 나타났다 (Park *et al.*, 2013). 또한 아연에 노출된 경우, 노출농도가 높아짐에 따라 발 상피층에 분포하는 점액세포의 증가 및 공포화, 혈림프동의 폐쇄 및 근섬유 다발들의 분절화 등이 관찰되었다 (Son *et al.*, 2015). 본 연구에서도 점액세포의 증가 및 공포화, 혈림프동의 폐쇄, 근섬유 다발들의 분절화와 갈라짐 등이 관찰되어 기존 연구와 유사한 결과를 보였다. 이러한

결과는 외부물질에 대한 방어기작 중 하나로 혈림프동의 폐쇄 및 근육층의 변성은 발 근육의 수축작용을 저하시키고 기질 부착력을 약화시켜 탈락률과도 관련이 있을 것으로 판단된다.

아가미는 호흡 및 질소노폐물 배설의 중추적 역할이 이루어지는 기관으로 다른 기관에 비해 표면적이 넓어 환경변화에 민감하게 반응하는 부위로 알려져 있으며, 다양한 변화에 노출되었을 때 형태 및 생리적 기능에 변화가 나타난다 (Lee *et al.*, 1997). 니켈에 급성 노출된 북방전복의 아가미는 혈구의 증가와 섬모의 부분적인 탈락이 관찰되었으며, 시간이 경과함에 따라 점액세포의 증가 및 상피세포의 파괴와 탈락이 관찰되었다 (Kim *et al.*, 2015). 본 연구에서도 기존 연구와 유사한 결과를 보였으며, 세엽 상피층 섬모의 탈락, 세포질 변성, 일부 상피층의 탈락 및 상피세포의 파괴 등이 관찰되었다. 이러한 조직학적 병변으로 인하여 아가미 호흡기능의 저하가 나타날 것으로 생각된다.

간체장은 소화, 흡수 및 해독기능을 수행 하는 기관으로 소화효소의 분비, 영양물질의 흡수와 저장 및 소화되지 않은 먹이의 방출 등을 담당하고 있다. 간체장의 소화선세관은 먹이의 세포 내 소화를 담당하는 상피세포와 세포 외 소화를 위한 효소의 합성, 분비에 관여하는 호염기성세포로 구성되어 있다. 니켈에 노출된 *Lammellidens marginalis*의 소화선세관에서는 상피층의 파괴와 탈락이 관찰되었으며 (Andhale *et al.*, 2011), 염화니켈에 급성 노출시킨 북방전복에서는 소화선세관 상피세포의 공포화와 일부 상피세포의 파괴가 관찰되었고 호염기성세포의 분포비율이 증가하였다 (Kim *et al.*, 2015). 본 연구에서는 소화선세관 상피세포의 공포화와 탈락이 관찰되었으며, 시간이 경과함에 따라 상피세포의 공포화와 파괴가 진행되어 파괴된 세포 잔여물들이 내강 안으로 축적되는 것이 관찰되었다. 또한 소화선세관 상피층의 파괴로 인해 호염기성세포의 분포비율이 감소하는 결과를 보였다.

리포푸신은 미량금속 이온들을 포획가능한 제 3 용해소체로 미량금속으로 인한 스트레스 영향 지표로 이용된다 (Byrne and O'Halloran, 2001). 수온에 노출된 지중해담치 *Mytilus galloprovincialis*의 소화선세관 소화세포 내에서는 리포푸신이 증가하였으며, 리포푸신의 축적은 노출 60일째보다 30일째에 더 많이 관찰되었다 (Dimitriadis *et al.*, 2003). 본 연구에서는 3주 동안 모든 노출구에서 리포푸신이 대조구보다 높게 나타났으나 실험종료기인 4주 경과 후에는 17.0 mg/L 와 22.0 mg/L 에서 증가 후 감소하는 결과를 보였다. 이러한 결과는 소화선세관 상피세포의 파괴로 인한 결과로 생각된다.

## 요 약

본 연구는 염화니켈 만성노출에 따른 북방전복의 체내 염화

니켈 축적농도, 생존율, 탈락률 및 조직학적 지표 변화에 대하여 알아보려고 하였다. 실험구는 1개의 대조구와 4개의 염화니켈 노출구 (7.0, 12.0, 17.0, 22.0 NiCl<sub>2</sub> mg/L) 였다. 염화니켈에 노출된 북방전복의 체내 축적 농도는 모든 노출구에서 유의적으로 증가하는 결과를 보였다. 생존률 및 탈락률은 대조구에 비해 노출구에서 농도의존적으로 나타났다. 북방전복의 발, 아가미, 간체장의 조직학적 변화는 시간이 경과함에 따라 대조구보다 노출구에서 뚜렷하게 나타났다.

## 사 사

본 연구는 국립수산과학원 (전복 가두리양식 생산성향상 및 표준화 연구 R20160006) 지원으로 수행되었습니다.

## REFERENCES

- Agnieszka, Z.R., Dolezych, B., Dolezych, S., Migula, P. and Maciej, L. (2010) Effect of nickel exposure and acute pesticide intoxication on acetylcholinesterase, catalase and glutathione S-transferase activity and glucose absorption in the digestive tract of *Helix aspersa* (Pulmonata, Helicidae). *International Journal of Environment and Pollution*, **40**: 380-390.
- Andhale, A.V., Bhosale, P.A. and Zambare, S.P. (2011) Histopathological study of nickel induced alterations in the fresh water bivalve *Lammellidens marginalis*. *Journal of Experimental Sciences*, **2**: 1-3.
- Atchison, G.J., Henry, M.G. and Sandheinrich, M.B. (1987) Effects of metals on fish behavior: a review. *Environmental Biology of Fishes*, **18**: 11-25.
- Barton, B.A. and Iwama, G.K. (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, **1**: 3-26.
- Byrne, P.A. and O'Halloran, J. (2001) The role of bivalve molluscs as tools in estuarine sediment toxicity testing: a review. *Hydrobiologia*, **465**: 209-217.
- Coogan, T.P., Latta, D.M., Snow, E.T. and Costa, M. (1989) Toxicity and carcinogenicity of nickel compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, **19**: 341-384.
- Dimitriadis, V.K., Domouhtsidou, G.P. and Raftopoulou, E. (2003) Localization of Hg and Pb in the palps, the digestive gland and the gills in *Mytilus galloprovincialis* (L.) using autometallography and X-ray microanalysis. *Environmental Pollution*, **125**: 345-353.
- Donald, G.B. and Donald, B. (1999) Nickel. *Clinical Toxicology*, **37**: 239-258.
- Donovan, D.A. and Taylor, H.H. (2008) Metabolic consequences of living in a wave-swept environment: Effects of simulated wave forces on oxygen consumption, heart rate and activity of the shell adductor muscle of the abalone *Haliotis iris*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **354**: 231-240.
- Gagne, F., Auclair, J., Turcotte, P., Fournier, M., Gagnon, C., Sauve, S. and Blaise, C. (2008) Ecotoxicity of CdTe quantum dots to freshwater mussels: impacts on immune system, oxidative stress and genotoxicity. *Aquatic Toxicology*, **86**: 333-340.
- Jacqueline, A.L., Islay, D.M. and Chris, N.G. (2010) The influence of salinity on copper accumulation and its toxic effects in estuarine animals with differing osmoregulatory strategies. *Aquatic Toxicology*, **99**: 65-72.
- Kang, J., Lee, Y.G., Jeong, D.U., Lee, J.S., Choi, Y.H. and Shin, Y.K. (2015) Effect of abalone farming on sediment geochemistry in the shallow sea near Wando, South Korea. *Ocean Science Journal*, **50**: 669-682.
- Kim, S., Jeon, M.A., Ju, S.M., Kim, J.W., Kang, J.C. and Lee, J.S. (2015) Histological indicator change of the abalone *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride (NiCl<sub>2</sub>). *The Korean Journal of Malacology*, **31**: 143-150.
- Lee, Y.C., Chang, Y.J. and Lee, B.K. (1997) Osmoregulation capability of juvenile grey mullets (*Mugil cephalus*) with the different salinities. *Journal of the Korean Fisheries Society*, **30**: 216-224.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (1992) Test No. 203: Fish, acute toxicity test. *In*; OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. (ed. by OECD). pp. 1-9. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
- Pagenkopf, G.K. (1983) Gill surface interaction model for trace-metal toxicity to fishes: role of complexation, pH and water hardness. *Environmental Science and Technology*, **17**: 342-347.
- Park, M.W., Kim, H., Kim, B.H., Son, M.H., Jeon, M.A. and Lee, J.S. (2013) Changes of survival rate, falling rate and histology of the abalone *Haliotis discus hannai* (Ino, 1952) with water temperature and salinity. *The Korean Journal of Malacology*, **29**: 303-311.
- Shin, Y.K., Lee, W.C., Kim, D.W., Son, M.H., Jun, J.C., Kim, E.O. and Kim, S.H. (2012) Seasonal changes in physiology of the abalone *Haliotis discus hannai* reared from Nohwa Island on the south coast of Korea. *The Korean Journal of Malacology*, **28**: 131-136.
- Son, M.H., Kim, B.H., Kim, S. and Lee, J.S. (2015) Histological indicator change of the abalone *Haliotis discus hannai* chronic exposed to zinc chloride (ZnCl<sub>2</sub>). *The Korean Journal of Malacology*, **31**: 195-201.
- Stangl, G.I. and Kirchgessner, M. (1996) Nickel deficiency alters liver lipid metabolism in rats. *The Journal of Nutrition*, **126**: 2466-2473.
- Sutherland, J. and Major, C.W. (1981) Internal heavy metal changes as a consequence of exposure of

- Mytilus edulis*, the blue mussel, to elevated external copper (II) levels. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, **68**: 63-67.
- Sunderman Jr, F.W., Morgan, L.G., Andersen, A., Ashley, D. and Forouhar, F.A. (1989) Histopathology of sinonasal and lung cancers in nickel refinery workers. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, **19**: 44-50.
- Trueman, E.R. and Brown, A.C. (1985) The mechanism of shell elevation in *Haliotis* (Mollusca: Gastropoda) and a consideration of the evolution of the hydrostatic skeleton in Mollusca. *The Journal of Zoology*, **205**: 585-594.
- USEPA (US Environmental Protection Agency) (2013) Environmental protection agency part 423, Appendix A. pp. 1.
- Vijayavel, K., Gopalakrishnan, S., Thiagarajan, R. and Thilagam, H. (2009) Immunotoxic effects of nickel in the mud crab *Scylla serrata*. *Fish & Shellfish Immunology*, **26**: 133-139.
- Voltzow, J. (1990) The functional morphology of the pedal musculature of the marine gastropods *Busycon contrarium* and *Haliotis kamtschatkana*. *Veliger*, **33**: 1-19.
- Wang, W., Mai, K., Zhang, W., Ai, Q., Yao, C., Li, H. and Liufu, Z. (2009) Effects of dietary copper on survival, growth and immune response of juvenile abalone *Haliotis discus hannai* Ino. *Aquaculture*, **297**: 122-127.
- WHO (World Health Organization) (1970) Health hazards of the human environment. *Geneva*, WHO: 35-37.