

## 양식넙치 (*Paralichthys olivaceus*)의 생리조건에 미치는 연속적인 수온 급강하의 영향

장영진 · 박명룡 · 강덕영\* · 이복규\*\*

부경대학교 양식학과, \*국립수산진흥원 거제수산종묘시험장, \*\*동의대학교 생물학과

### Physiological Responses of Cultured Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) on Series of Lowering Seawater Temperature Sharply and Continuously

Young Jin CHANG, Myong Ryong PARK, Duk-Young KANG\* and Bok Kyu LEE\*\*

Department of Aquaculture, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

\*Koje Marine Hatchery, National Fisheries Research and Development Institute, Koje 656-840, Korea

\*\*Department of Biology, Dong Eui University, Pusan 614-714, Korea

Physiological responses of cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) on lowering seawater temperature sharply and continuously were studied with 4 experiments of temperature changes (Exp.I~IV). In Exp.I, the temperature was decreased from 18°C to 9°C by the rate of 1°C/hr, thereafter back to the initial temperature after 5 days. With the same conditions of temperature rate and 5 days interval, the temperature changes for Exp.II, III and IV were 20°C to 17°C, 23°C to 14°C and 23°C to 17°C, respectively. Serum cortisol and glucose were measured during whole experiments. Hematocrit (Ht), hemoglobin (Hb), red blood cell (RBC) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) were measured in the Exp.I, and osmolality, electrolytes (Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>), total protein, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) of serum, in Exp.II~IV. Serum cortisol levels were significantly increased by the lowering temperature sharply during whole experiments, while serum glucose levels were increased only in Exp.III and IV. Ht, RBC and Hb were decreased as the water temperature was lowered, but MCHC was increased. The serum osmolality was reduced and the unstable changes of electrolytes were shown by the changes of seawater temperature. No significant changes in total protein, ALT and AST activity were observed.

**Key words:** olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, sharp temperature change, stress, physiological response

#### 서 론

어류가 스트레스를 받으면 catecholamine, corticosteroid와 같은 호르몬을 과다분비함으로써, 대사 (Barton and Schreck, 1987), 성장 (Clarke et al., 1981), 면역 (Maule et al., 1987; Pickering, 1992), 번식 (Carragher and Sumpter, 1990) 및 삼투압 조절 (Robertson et al., 1988) 등에 변화가 생기는 것으로 알려지고 있다. 어류양식에서 사육중인 어체가 주로 받는 스트레스로는 handling, confinement, 수송 및 약제투여 등 인위적 요인 (Donaldson, 1981)과 사육밀도 (Wedemeyer and Mcleay, 1981), 수질 (Smart, 1981), 수온 (Fryer, 1975) 및 염분 (Singley and Chavin, 1971) 등 환경적 요인을 들 수 있다. 어류는 주변환경에 의해 체내대사 및 생리상태가 변화하며 (Clarke et al., 1981; Berg et al., 1992), 수온은 어류의 번식, 영양대사, 성장 등과 같은 생리학적 요인을 좌우하는 중요한 변수가 된다. 특히 급격한 수온의 변화는 어체의 생리조건을 변화시키거나 체내 항상성 (homeostasis)을 봉괴시킬 수 있다 (Barton and Iwama, 1991; Pickering, 1992).

한국의 동해안에서 매년 여름철에 출현하는 냉수대는 양식중인 어류의 성장과 생존에 영향을 미칠 것으로 예상되는데, 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)의 육상수조식 양식이 이 지역의 주된 수산업으로 발전하면서부터 현장에서도 냉수대 출현에 의한 양식피해 가능성성이 제기되기 시작하였다. 특히 동해 남부해역에서는 6월부터 11월사이에 냉수대가 출현함에 따라 이 해역을 낀 육상수조식 넙치 양식장의 사육수가 급격한 수온변화와 저수온 현상을

나타내고 있어 (Fig. 1), 사육중에 있는 넙치의 생리적 변화가 심할 것으로 보인다. 그러나 이러한 수온급변에 의한 어류의 생리변화에 관한 연구결과는 아직도 부족한 실정이고, 한국의 동해안에서는 해마다 냉수대가 상습적으로 발생하고 있음에도 불구하고

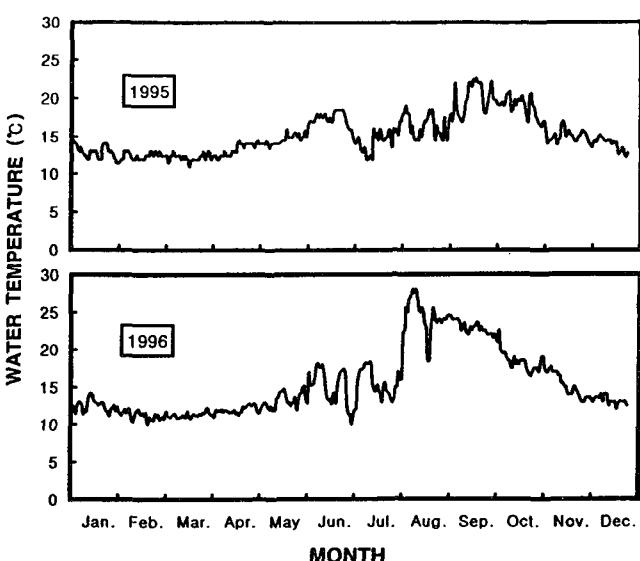


Fig. 1. Temperature variations of rearing seawater in an olive flounder culture farm located in Daebyeon area, Pusan, Korea in 1995 and 1996.

Park et al. (1999)이 보고한 1회성 수온급변 스트레스에 의한 양식법치의 생리적 변화를 제외하고는 연구가 미진한 상태로 남아 있다.

그러므로, 본 연구에서는 냉수대로 인한 양식법치의 스트레스 반응을 혈액 생리학적 측면에서 알아보기 위하여, 4차례의 수온 급강하에 따른 사육실험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 조건

동해 남부해역에 위치한 육상수조식 넙치양식장에서 사육중인 건강한 넙치를 3주 동안 예비사육하여 안정시킨 다음, 실험수조(저면적 0.4 m<sup>2</sup>, 수심 22.5 cm, 타원형 FRP 수조)에 무작위로 35마리(전장: 18.2 ± 0.8 cm, 체중: 68.4 ± 10.1 g) 씩 2구룹으로 수용하였다. 실험수온은 여과해수를 사용하여 Park et al. (1999)의 방법에 따라 온도조절 장치로 맞추어 주었는데, Fig. 2와 같이 동해안 냉수대 모델에 준한 4가지의 수온 급강하 조건(Exp.I, II, III 및 IV)을 5일 간격으로 설정하여 실험하였다. Exp.I에서 수온은 실험 개시시 18°C에서 9시간만에 9°C까지 급격히 떨어뜨린 다음, 3시간 만에 12°C로 상승시켜 3일간 두었다가 다시 6시간만에 개시시인 18°C로 상승시켰다. Exp.II, III 및 IV에서는 각각 3°C(20°C → 17°C), 9°C(23°C → 14°C) 및 6°C(23°C → 17°C)의 수온 차이를 주어 5일간 둔 다음, 다시 원래의 수온으로 올려 주었고, 수온구배는 시간당 1°C씩 하강 또는 상승되도록 하였다. 실험수조의 1일 환수량은 수용적의 15배가 되도록 유수식으로 하였으며, 각 실험사이의 수온은 자연해수의 수온으로 유지하였다. 실험기간중 각 수조에는 공기공급을 충분히 하여 용존산소가 평균 5 ppm 이상 유지되도록 하였다. 실험어의 먹이는 냉동 전갱이와 넙치용 배합사료를 1:1로 혼합한 모이스트펠렛 사료로서 매일 총체중당 5%의 먹이량을 2회(10:00, 18:00)로 나누어 주되 실험어가 더 이상 먹지 않을

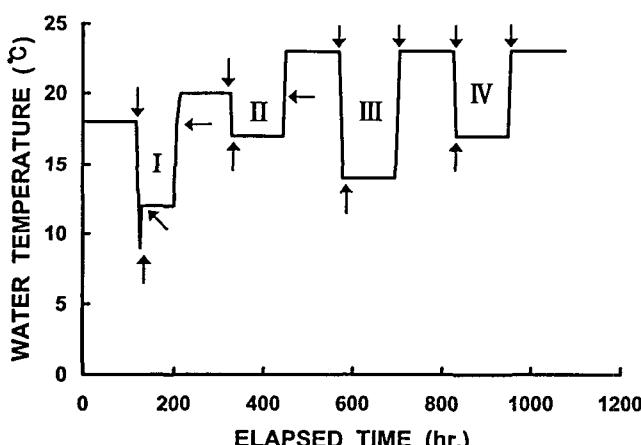


Fig. 2. Four kinds of temperature change designed for the experiments of series of lowering seawater temperature sharply and continuously. Arrows indicate the blood sampling time. I: Exp.I, II: Exp.II, III: Exp.III, IV: Exp.IV.

때까지 공급하였다. 또한 실험어의 안정과 도피방지를 위하여 차광막을 설치하였으며, 공기공급시 공기온도에 의한 수조내 수온상승을 억제하기 위하여 열음통을 통과한 공기를 주입하였다.

### 2. 혈액 샘플 및 분석

실험어의 혈액은 Fig. 2의 체혈시각에 맞추어 24시간 전부터 실험어를 절식시킨 다음 실험수조를 5마리씩 무작위 추출하고, 헤파린을 처리하지 않은 주사기를 사용하여 마취없이 1분 이내에 개체별로 미병부의 혈관에서 채취하였다. 개체별로 채취한 혈액(약 1 ml)은 즉시 헤파린 처리한 튜브에 0.5 ml 분주하여 혈액성상을 분석하였으며, 나머지는 4°C에서 5분간 방치한 뒤, 원심분리(12,000 rpm, 5분)에 의해 혈청을 추출하여 -70°C에 보관하면서 코티졸(cortisol)과 글루코스(glucose) 등의 분석에 사용하였다.

모든 실험에서 코티졸 농도는 cortisol RIA kit (DSL, USA)를 사용하여 항원·항체반응을 유도한 다음, Wizard 1470  $\gamma$ -counter (Hewlett Packard, USA)를 사용하여 radioimmunoassay (RIA)로 측정하였다. 글루코스 농도는 시약 Sicdia Glzyme (Shinyang, Korea)에 의해 생성된 적색 quinone색소를 Hitachi 736-40 (Hitachi, Japan)으로 비색 정량하여 모든 실험에서 분석하였다.

적혈구용적(hematocrit; Ht), 혈색소농도(hemoglobin; Hb), 적혈구수(red blood cell; RBC) 및 적혈구내 평균혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC)와 같은 혈액성상은 Exp.I에서 파악하였다. Ht는 혈액을 hematocrit tube에 넣어 원심분리(12,000 rpm, 5분)한 다음 hematocrit-reader로, RBC와 Hb는 Automated hematology analyzer (Coulter STKR)로 측정하였고, MCHC는 Hb × 100/Ht로 계산하여 구하였다. Exp.II, III 및 IV에서는 혈청의 삼투질 농도(osmolality), 전해질(Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>), 총단백질(total protein), aspartate aminotransferase (AST) 및 alanine aminotransferase (ALT)와 같은 아미노기 전이효소를 파악하였다. 삼투질 농도는 Na<sup>+</sup>의 함유량에 따라 동결점이 다른 것을 응용하여 micro-osmometer를 사용하여 측정하였고, 전해질(Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>) 농도는 AVL 988-3의 electrode를 이용해 직접 검량하였다. 총단백질은 시약 TP (IRC, Japan)를 사용하여 Hitachi 7150 장치로 분석하였다. AST는 시약 씨트디아에이에스티(EIKN, Japan), ALT는 시약 씨크디아에이엘티(EIKN, Japan)를 사용하여 Hitachi 7150 장치로 NADH<sub>2</sub>의 흡광도 감소율에 의해 측정하였다.

### 3. 통계 처리

각 실험에서 얻어진 자료값 사이의 유의차 유무는 SPSS-통계 패키지에 의한 ANOVA 및 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

## 결과

### 1. 코티졸과 글루코스

Exp.I에서 코티졸 농도(Fig. 3)는 실험개시시 3.6 ± 1.3 ng/ml였던 것이 9°C(9시간째)로 낮아지자 크게 상승하여 최고값(17.4 ±

5.5 ng/ml을 나타내었다 ( $P<0.05$ ). 그러나 12°C (12시간째)에서는 다시 개시시의 농도로 회복되었으며, 수온이 개시시로 상승 (18°C, 90시간째)되었을 때에도 비슷한 농도로 유지되었다. Exp.II에서는 개시시의 20°C에서  $1.5 \pm 0.1$  ng/ml였던 것이 17°C에서  $4.6 \pm 0.1$  ng/ml로 유의하게 상승하였다 ( $P<0.05$ ). 이후 다시 20°C로 수온이 상승될 때 개시시 수준으로 회복되었다. Exp.III에서는 23°C에서 14°C로 하강할 때, 코티솔 농도가  $2.0 \pm 0.8$  ng/ml에서  $7.3 \pm 0.7$  ng/ml로 Exp.II에 비해 급격히 상승했으며, 수온 상승시에는 Exp.II의 결과와 비슷한 수준을 보였다. Exp.IV에서는 수온변화에 따른 코티솔 농도는 유의한 변화를 보이지 않았지만, Exp.II와 III의 변화경향과 비슷하였다.

글루코스 농도는 Fig. 3과 같이 Exp.I에 있어 유의한 변화 경향을 파악할 수 없었지만, Exp.II에서는 개시시에  $36.2 \pm 7.2$  mg/dl였던 것이 수온하강시 (17°C)에는  $56.8 \pm 14.8$  mg/dl로 다소 상승하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다. Exp.III에서 글루코스 농도는 개시시  $26.4 \pm 1.2$  mg/dl였던 것이 9°C 낮아짐에 따라  $42.9 \pm 14.7$  mg/dl로 유의하게 상승하였다 ( $P<0.05$ ). 이후 실험개시시의 수온인 23°C로 상승하였을 때  $32.2 \pm 1.1$  mg/dl로 약간 낮아졌으나,

역시 개시시의 수준과 유의한 차이를 보였다 ( $P<0.05$ ). Exp.IV의 수온변화에 따른 글루코스 농도 역시 Exp.III와 같은 변화 경향을 나타내었다 ( $P<0.05$ ).

## 2. Ht, RBC, Hb 및 MCHC (Exp.I)

Exp.I에서 어체의 Ht, RBC, Hb 및 MCHC의 변화는 Table 1과 같다. 실험개시시 Ht는  $26.8 \pm 1.3\%$ 였으나, 9°C에 이르러 유의하게 감소하여 최저값 ( $17.7 \pm 1.0\%$ )을 보였다 ( $P<0.05$ ). 그러나 수온이 상승함에 따라 회복되는 경향을 보였다. RBC는 실험 개시시  $323 \pm 26 \times 10^4$  cell/ $\mu$ l였던 것이 9°C에서 최저값 ( $240 \pm 27 \times 10^4$  cell/ $\mu$ l)을 보였으나 ( $P<0.05$ ), 수온이 상승할 때 회복되었다. Hb는 실험개시시  $7.0 \pm 0.5$  g/dl였으나 9°C에서  $5.2 \pm 0.4$  g/dl로 최저값을 나타냈고 ( $P<0.05$ ), 수온이 상승할 때에는 개시시와 유의한 차이없이 높아졌다. MCHC는 실험개시시  $26.2 \pm 1.3\%$ 였던 것이 9°C (9시간째)에서  $29.1 \pm 0.5\%$ 로 유의하게 증가하였다 ( $P<0.05$ ). 이후 12°C (21시간째)에서 최고값 ( $30.6 \pm 0.3\%$ )을 나타내다가 개시수온인 18°C (90시간째)로 상승함에 따라 개시시의 수준으로 낮아졌다.

Table 1. Hematological factors of olive flounder on lowering seawater temperature sharply in the Exp.I<sup>a</sup>

Temperature (°C)	18	9	12	18
Exposure time (hr.)	0	9	21	90
Ht (%)	$26.8 \pm 1.3^a$	$17.7 \pm 1.0^c$	$23.9 \pm 0.6^b$	$29.2 \pm 1.0^a$
RBC ( $\times 10^4$ cell/ $\mu$ l)	$323 \pm 26^a$	$240 \pm 27^b$	$342 \pm 10^a$	$347 \pm 15^a$
Hb (g/dl)	$7.0 \pm 0.5^a$	$5.2 \pm 0.4^b$	$7.3 \pm 0.2^a$	$7.6 \pm 0.1^a$
MCHC (%)	$26.2 \pm 1.3^b$	$29.1 \pm 0.5^a$	$30.6 \pm 0.3^a$	$26.5 \pm 0.5^b$

<sup>a</sup>The values are mean  $\pm$  SEM (n=10). Means within each row followed by the different alphabetic letter are significantly different ( $P<0.05$ ). Ht: hematocrit, RBC: red blood cell, Hb: hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration.

## 3. 혈청의 삼투질 농도, 전해질 농도, 총단백질량, AST 및 ALT (Exp.II~IV)

수온의 급강하에 따른 넙치 혈청의 성분변화는 Table 2와 같다. 혈청의 삼투질 농도는 Exp.II 및 Exp.III에서 유의차는 없었지만 수온 하강시 감소하였고, 수온이 상승할 때에 개시시 수준으로 회복되는 경향을 보였다. 그러나 Exp.IV에서는 실험 개시시  $460.0 \pm 3.3$  mOsm/kg였던 것이 6°C 하강할 때  $435.1 \pm 4.6$  mOsm/kg으로 유의하게 낮아졌으며 ( $P<0.05$ ), 실험개시시의 온도 (23°C)로 환원되더라도  $407.0 \pm 1.1$  mOsm/kg으로 더욱 낮아졌다.

$\text{Na}^+$ 의 농도는 Exp.II와 III에서 수온이 낮아질 때는 유의한 변화가 없었으나, 개시시 수온으로 환원되었을 때 감소되는 경향이 있다 ( $P<0.05$ ). 그러나 Exp.IV에서는 실험 개시시  $158.3 \pm 1.1$  mEq/L였던 것이 6°C 내려갔을 때 Exp.III과는 상반되는  $171.7 \pm 9.6$  mEq/L로 유의하게 증가 ( $P<0.05$ )한 다음, 개시시의 수온으로 환원될 때 낮아졌지만, 여전히 개시시 수준 보다 높은 값을 보여 정상적인 전해질 조절이 이루어지지 않은 것으로 나타났다. 그외 전해질 ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  및  $\text{Ca}^{2+}$ )의 농도변화 역시  $\text{Na}^+$ 와 같은 경향이었다.

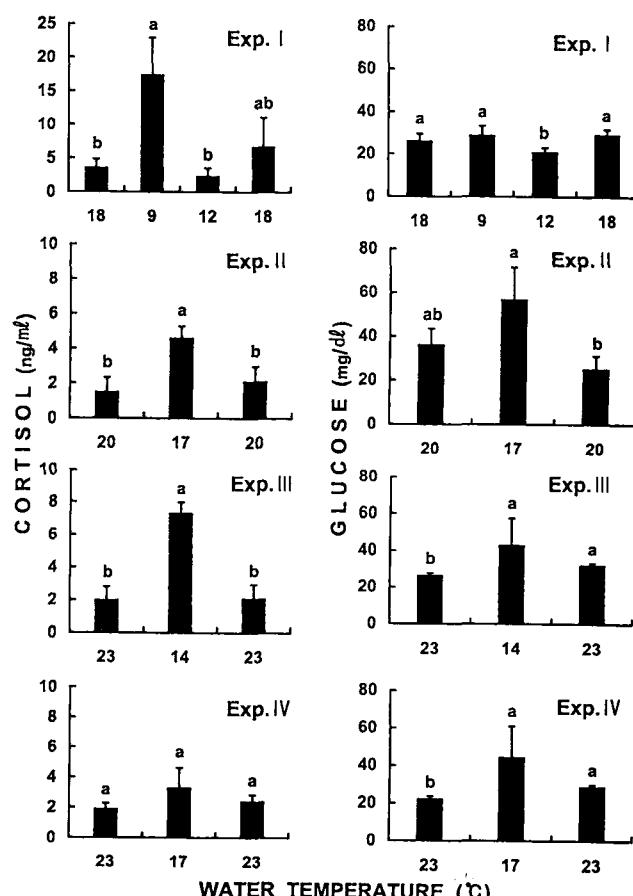


Fig. 3. Variations of cortisol and glucose levels of olive flounder serum in the experiments of series of lowering seawater temperature sharply and continuously. Different alphabetic letters on the bars are significantly different ( $P<0.05$ ).

**Table 2. Physico-chemical compositions of olive flounder sera on lowering seawater temperature sharply and continuously in the Exp.II, III and IV<sup>†</sup>**

Exp.II (-3°C)	20°C	17°C	20°C
Osmolality (mOsm/kg)	412.7 ± 10.0	401.0 ± 7.6	410.0 ± 10.4
Na <sup>+</sup> (mEq/L)	172.8 ± 1.3 <sup>a</sup>	170.7 ± 1.8 <sup>ab</sup>	169.3 ± 1.1 <sup>b</sup>
Cl <sup>-</sup> (mEq/L)	148.3 ± 1.6 <sup>a</sup>	145.3 ± 2.0 <sup>ab</sup>	145.3 ± 1.0 <sup>b</sup>
K <sup>+</sup> (mEq/L)	4.4 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.2 ± 0.1 <sup>c</sup>	3.7 ± 0.1 <sup>b</sup>
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	8.0 ± 0.4 <sup>a</sup>	6.7 ± 0.6 <sup>b</sup>	6.3 ± 0.3 <sup>b</sup>
Total protein (g/dl)	3.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	3.3 ± 0.1 <sup>b</sup>
AST (IU/L)	5.2 ± 1.9	4.3 ± 0.7	5.7 ± 1.2
ALT (IU/L)	2.0 ± 0.5	1.0 ± 0.5	2.0 ± 0.5
Exp.III (-9°C)	23°C	14°C	23°C
Osmolality (mOsm/kg)	422.3 ± 11.8	405.3 ± 18.4	418.3 ± 1.4
Na <sup>+</sup> (mEq/L)	168.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	163.0 ± 3.7 <sup>ab</sup>	159.0 ± 4.6 <sup>b</sup>
Cl <sup>-</sup> (mEq/L)	142.3 ± 1.5	140.3 ± 1.9	139.0 ± 1.2
K <sup>+</sup> (mEq/L)	3.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.9 ± 0.1 <sup>b</sup>	3.5 ± 0.1 <sup>a</sup>
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	5.8 ± 0.3	6.7 ± 0.5	6.0 ± 0.1
Total protein (g/dl)	3.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	3.4 ± 0.1 <sup>a</sup>
AST (IU/L)	7.1 ± 0.9 <sup>a</sup>	5.0 ± 0.5 <sup>b</sup>	6.0 ± 1.7 <sup>ab</sup>
ALT (IU/L)	2.0 ± 0.5	1.3 ± 0.3	1.0 ± 0.3
Exp.IV (-6°C)	23°C	17°C	23°C
Osmolality (mOsm/kg)	464.0 ± 3.3 <sup>a</sup>	435.1 ± 4.6 <sup>b</sup>	407.0 ± 1.1 <sup>c</sup>
Na <sup>+</sup> (mEq/L)	158.3 ± 1.1 <sup>b</sup>	171.7 ± 9.6 <sup>a</sup>	162.3 ± 2.0 <sup>ab</sup>
Cl <sup>-</sup> (mEq/L)	146.3 ± 0.5	146.3 ± 1.1	143.3 ± 1.9
K <sup>+</sup> (mEq/L)	3.6 ± 0.1	3.4 ± 0.1	3.7 ± 0.2
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	6.1 ± 0.9	7.7 ± 0.9	5.8 ± 0.4
Total protein (g/dl)	3.5 ± 0.2	3.4 ± 0.4	3.1 ± 0.1
AST (IU/L)	5.7 ± 1.0	4.3 ± 0.5	6.3 ± 2.6
ALT (IU/L)	1.0 ± 0.3 <sup>b</sup>	1.7 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.0 ± 0.5 <sup>a</sup>

<sup>†</sup>The values are mean ± SEM (n=10). Means within each row followed by the different alphabetic letter are significantly different (P<0.05).

총단백질량은 Exp.II에서 실험개시시 3.9 ± 0.1 g/dl였던 것이 수온이 하강함에 따라 3.3 ± 0.1 g/dl로 유의하게 낮아졌으며, 수온이 상승되었을 때에도 비슷하게 낮은 수준을 보였다 (P<0.05). Exp.III에서도 실험개시시 3.4 ± 0.1 g/dl였던 것이 수온 하강시에 3.1 ± 0.1 g/dl로 유의하게 낮아졌으나 (P<0.05), Exp.II 보다 변화폭이 작았으며 수온상승시 회복되었다. Exp.IV에서는 수온 하강시 실험개시시와 비슷한 농도를 나타냈으며, 개시시 수온으로 되었을 때에는 감소하였으나 유의차는 없었다.

AST의 활성은 Exp.II와 Exp.IV에서 변화를 나타내지 않았지만, Exp.III에서는 실험개시시 7.1 ± 0.9 IU/L였던 것이 수온 하강시 5.0 ± 0.5 IU/L로 낮아졌으며, 수온 상승시 다소 회복되는 경향을 보였다 (P<0.05). ALT의 활성은 Exp.II와 Exp.III에서 유의한 변화를 찾아 볼 수 없었지만, Exp.IV에서는 실험개시시 1.0 ± 0.3 IU/L였던 것이 수온 하강시 1.7 ± 0.3 IU/L으로 유의하게 증가하였고, 개시시의 수온으로 상승할 때에는 2.0 ± 0.5 IU/L로 더욱 높아졌다 (P<0.05).

## 고 찰

스트레스는 어체에게 생화학적인 작용을 가함으로써 건강도에 영향을 미칠 수 있고, catecholamine이나 코티졸을 과다분비하는 내분비 반응을 유도함으로써 비축된 에너지원의 빠른 소비를

유발한다 (Barton and Iwama, 1991; Pickering, 1993). 어류는 수온에 의해 성장, 번식, 대사, 삼투압 조절 및 면역 등 생명활동에 큰 영향을 받는다 (Davis and Parker, 1990; Ryan, 1995; Ishioka, 1980). 어체가 수온변화에 적응할 때 주요한 요인은 광주기와 적응온도로서, 여름에는 고온에 대하여, 겨울에는 저온에 대하여 저항력이 커지며, 고온에 적응된 어류는 저온에 약한 것으로 알려져 있다 (Horning and Pearson, 1973). 따라서 고수온기인 여름철의 냉수대와 같은 저수온 현상은 넙치의 환경적응을 어렵게 할 것이며, 급격한 수온변화는 성장과 생존을 좌우하는 직접적인 스트레스로 작용할 수 있다.

코티졸은 대부분의 경골어류에서 중요한 corticosteroid로서 스트레스 반응의 지표로 인정되고 있다 (Donaldson, 1981). 본 연구에서 넙치의 코티졸 농도는 어체가 급성 스트레스를 받았을 때 나타나는 일반적인 증가 폭과 달리 그 폭이 작은 것으로 나타났다. 이것은 어종 및 실험 조건이 타 연구와 다르기 때문에 넙치의 종 특이성과 수온 변화폭의 차이 등으로 다른 어종의 연구 결과와 비교하기는 어렵다. 그러나 4차례의 수온 급강하는 넙치의 코티졸 농도를 모든 실험에서 증가시켰고, 특히 수온의 하강폭이 클수록, 낮은 수온일수록 코티졸의 농도변화가 큰 것으로 나타나 반복적인 수온급변에 넙치가 스트레스를 받았음을 암시한다.

급성 스트레스에서 다량으로 생성되는 젖산은 일반적으로 글루코스 신생합성 경로를 통해 글루코스로 재생된다 (Hayashi et al., 1982). 글루코스는 스트레스가 주어지면, 그 반응으로 혈중 농도가 증가하기 때문에 스트레스와 대사의 지표로 이용되고 있다 (Ishioka, 1980; Robertson et al., 1987). 본 연구에서 넙치 혈청의 글루코스 농도는 최초로 수온급변을 준 Exp.I에서 뚜렷한 변화를 보이지 않았다. 이것은 Park et al. (1999)의 연구결과와 유사한 것으로, 넙치가 저서성인 테다 활동성 어류 보다 산소소비량이 낮으므로 (Kim et al., 1995), 스트레스에 덜 민감하거나 수온하강에 대하여 일시적으로 낮아진 대사량 및 낮은 에너지 요구량을 보인 터에 기인한 것으로 추측된다. 그러나 Exp.II, III, IV에서는 글루코스의 농도가 수온급변에 의해 유의하게 증가하는 경향을 나타냈다. 이것은 어체가 스트레스를 받을 때 혈중 코티졸 및 글루코스 농도가 증가한다는 종전의 연구결과 (Ishioka, 1980; Barton and Schreck, 1987; Robertson et al., 1987; Thomas and Robertson, 1991)와 일치하고 있다. 즉 Exp.I부터 Exp.IV까지 이어진 일련의 수온충격은 앞에서 언급한 코티졸, 글루코스 수준의 변화뿐만 아니라, 삼투질 농도 및 전해질 농도의 변화를 함께 고려해 볼 때 넙치에게 누적 스트레스를 제공하여 생명유지에 필요한 체내 항상성을 봉괴시킬 가능성이 높다.

Exp.I에서 수온을 급강하시킨 다음 다시 개시시의 수온으로 환원하였을 때 넙치 혈청의 코티졸 및 글루코스 농도가 실험개시시 수준으로 회복됨으로써, 처음에는 스트레스 반응이 무딘 것으로 보였다. 그러나 Exp.III과 IV에서 반복되는 수온충격에 의해 코티졸 농도는 개시시의 수준으로 회복된 반면, 글루코스 농도가 여전히 높은 결과를 보여 누적 스트레스에 의해 에너지의 요구량이 많아졌다고 할 수 있다 (Barton and Iwama, 1991; Pickering, 1992, 1993). 또한 일시적인 코티졸 상승이 오랜 시간 생체에 영향을 미칠 수 있기 때문에 (Barton and Iwama, 1991; Barton and

Schreck, 1987; Robertson et al., 1987; Thomas and Robertson, 1991), 스트레스를 받은 어체가 변화된 전해질의 항상성 회복을 위해 지속적으로 많은 에너지를 요구하기 때문인 것으로 추정된다 (Barton and Iwama, 1991; Pickering, 1992, 1993).

Ht, RBC, Hb 및 MCHC 등의 혈액학적 인자는 생체의 산소 운반능력을 나타낸다. 해산어류에 있어 수온상승 자극은 일반적으로 Ht, RBC 및 Hb는 증가하고 MCHC는 감소하며, 수온하강 자극은 이와 반대의 경향을 나타낸다 (Davis and Parker, 1990; Ishioka, 1980). 본 연구 역시 Exp.I의 Ht, RBC 및 Hb는 참돔을 대상으로 연구한 Ishioka (1980)의 결과와 같이, 수온 하강시 감소하고 수온 상승시 증가하는 경향을 보여 수온급변에 대한 스트레스 반응을 나타냈다. 그러나 글루코스는 오히려 수온 하강시 낮은 수치를 나타내어, Park et al. (1999)의 결과와 같이 1회성 저수온 충격에 대한 넙치의 스트레스 반응은 무딘 것으로 보인다. 이와 같은 결과는 넙치의 종 특이성에 기인하는 것으로 추측되나, 수온변화의 폭, 구배, 횟수 등 실험조건에 따른 차이를 배제하기 어려우므로 보다 세밀한 연구가 필요하다.

어체는 급성 스트레스를 받으면 전해질 조절에 혼란이 일어나므로 (Robertson et al., 1988; Barton et al., 1985; Ishioka, 1980), 이를 극복하기 위해 에너지 요구량이 많아지며 (Schreck, 1982; Davis et al., 1985; Barton and Iwama, 1991), 따라서 대사조절 능력이 저하되고, 이로 인해 외부 환경에 따라 혈중 전해질 농도가 변하게 된다 (Davis and Parker, 1990; Ishioka, 1980; Robertson et al., 1987, 1988). 본 연구에서는 Park et al. (1999)의 연구 결과와는 달리 수온급변, 특히 4차례의 수온하강에 따라 넙치의 삼투압 조절능력이 떨어져 전해질은 안정적이지 못한 것으로 나타났다. 또한 어류가 저수온에서 스트레스를 받아 총단백질량이 감소하는 것을 관찰했던 Ishioka (1980)의 결과와 같이 본 연구 (Exp.II, III)에서도 수온 하강에 따라 총단백질량이 감소하는 경향을 나타냈다. 그러나 수온급변이 거듭되었던 Exp.IV에서  $\text{Na}^+$  제외한 혈청의 전해질과 총단백질량은 안정상태를 나타냈고, Exp. III에서 ALT 활성의 변화가 적었던 점으로 보아, 넙치가 스트레스를 받았지만 실험 종료시까지 건강도 상실에는 큰 영향을 받지 않은 것으로 보인다.

## 요 약

냉수대로 인한 양식넙치 (*Paralichthys olivaceus*)의 생리적 반응을 알아보기 위하여, 4차례의 수온 급강하 조건 (Exp.I~IV)을 설정하여 사육실험을 실시하였다. Exp.I에서는 개시시 18°C에서 9시간만에 9°C까지 급격히 수온을 떨어뜨린 다음 3시간만에 12°C로 상승시켜 3일간 두었다가 다시 6시간만에 개시시 수온인 18°C로 상승시켰다. Exp.II, III 및 IV에서는 각각 3°C (20°C→17°C), 9°C (23°C→14°C) 및 6°C (23°C→17°C)의 수온차를 주어 5일간 둔 다음, 다시 원래의 수온으로 옮겨 주었고, 수온 구배는 시간당 1°C씩 하강 또는 상승시켰다. 모든 실험에서 넙치의 혈청 코티졸과 글루코스를 측정하였고, Ht, Hb, RBC 및 MCHC는 Exp.I에서, 혈청의 삼투질 농도, 전해질 지수 ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ), 총단백질량, 아미-

노기 전이효소인 ALT 및 AST 활성의 변화는 Exp.II, III 및 IV에서 조사하였다.

코티졸 농도는 모든 실험에서 수온의 급강하에 의해 유의하게 증가하였고, 특히 수온변화의 폭이 클수록, 수온이 낮을수록 변화폭이 커졌다 (Exp.I>III>II>IV). 글루코스 농도는 Exp.I에 있어 유의한 변화 경향을 파악할 수 없었지만, Exp.II에서 수온이 급강하 할 때 다소 상승하였고, 수온충격의 횟수가 증가함에 따라 (Exp. III과 IV) 유의하게 상승하였다. Ht, RBC, Hb는 수온 하강에 따라 유의하게 감소한 반면, MCHC는 증가하였다. 4차례의 수온급변에 따라 어체의 삼투질 농도는 감소하였고, 전해질 지수는 안정적이지 못하였다. 혈중의 총단백질량은 다소 감소하는 경향이었으나, ALT 및 AST의 활성은 뚜렷한 증감 경향을 보이지 않았다.

## 사 사

이 논문은 1997년 교육부 학술연구조성비 (수산과학: KIOS-97-F-07)에 의해 연구되었으며, 연구비를 지원하여 주신 데 대하여 깊히 감사드립니다. 또한 본 연구를 진행하기 위하여 현장 시설을 사용할 수 있도록 협조하여 주신 영진수산 직원 여러분께 심심한 사의를 표합니다.

## 참 고 문 헌

- Barton, B.A. and C.B. Schreck. 1987. Influence of acclimation temperature on interrenal and carbohydrate stress responses in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture, 62, 299~310.
- Barton, B.A. and G.K. Iwama. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annu. Rev. Fish Dis., 1, 3~26.
- Barton, B.A., G.S. Weiner and C.B. Schreck. 1985. Effect of prior acid exposure on physiological responses of juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to acute handling stress. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 42, 710~717.
- Berg, A., T. Hansen and S. Stefansson. 1992. First feeding of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) under different photoperiods. J. App. Ichthy., 8, 251~256.
- Carragher, J.F. and J.P. Sumpter. 1990. The effect of on the secretion of sex steroids from cultured ovarian follicles of rainbow trout. Gen. Comp. Endocrinol., 77, 403~407.
- Clarke, W.C., J.R. Shelbourne and J.R. Brett. 1981. Effects of artificial photoperiod cycles, temperature and salinity on growth and smolting in underyearling coho (*Oncorhynchus kisutch*), chinook (*O. tshawytscha*), and sockeye (*O. nerka*) salmon. Aquaculture, 22, 105~116.
- Davis, K.B. and N.C. Parker. 1990. Physiological stress in striped bass : effect of acclimation temperature. Aquaculture, 91, 349~358.
- Davis, K.B., P. Torrance., N.C. Parker and M.A. Suttle. 1985. Growth, body composition, and hepatic tyrosine aminotransferase activity in cortisol fed channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. J. Fish Biol., 27, 177~184.

- Donaldson, E.M. 1981. In *Stress in Fish* (Ed. Pickering, A.D.), Academic Press, London, p. 11.
- Fryer, J.N., 1975. Stress and adrenocorticosteroid dynamics in the goldfish, *Carassius auratus*. Can. J. Zool., 53, 1011~1020.
- Hayashi, S., Z. Ooshiro and T. Itakura. 1982. Stimulatory effect of ethanol on gluconeogenesis from lactate in the isolated liver cells of the eel. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 48, 1789~1793.
- Horning, W.B.I. and R.E. Pearson. 1973. Growth temperature requirement and lower lethal temperature for juvenile smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*). J. Fish. Res. Bd. Can., 30, 1226~1230.
- Ishioka, H. 1980. Stress reactions in the marine fish-I. Stress reactions induced by temperature change. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 46, 523~532 (in Japanese).
- Kim, I.N., Y.J. Chang and J.Y. Kwon. 1995. The patterns of oxygen consumption in six species of marine fish. J. Kor. Fish. Soc., 28, 373~381.
- Maule, A.G., C.B. Schreck and S.L. Kattari. 1987. Change in the immune system of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during the parr-to-smolt transformation and after implantation of cortisol. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 44, 161~166.
- Park, M.R., Y.J. Chang and D.Y. Kang. 1999. Physiological response of the cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) to the acute changes of water temperature. J. Aquaculture, 12, in press (in Korean).
- Perry, S.F. and S.D. Reid. 1993.  $\beta$ -adrenergic signal transduction in fish : interactive effects of catecholamines and cortisol. Fish. Physiol. Biochem., 11, 195~203.
- Pickering, A.D. 1992. Rainbow trout husbandry: management of the stress response. Aquaculture, 100, 125~139.
- Pickering, A.D. 1993. Growth and stress in fish production. Aquaculture, 111, 51~63.
- Robertson, L., P. Thomas and C.R. Arnold. 1988. Plasma cortisol and secondary stress responses of cultured red drum (*Sciaenops ocellatus*) to several transportation procedure. Aquaculture, 68, 115~130.
- Robertson, L., P. Thomas, C.R. Arnold and J.M. Trant. 1987. Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and disease outbreak. Prog. Fish-Cult., 49, 1~12.
- Ryan, S.N. 1995. The effect of chronic heat stress on cortisol levels in the Antarctic fish, *Pagothenia borchgrevinkii*. Experientia, 51, 768~774.
- Schreck, C.B. 1982. Stress and rearing of salmonids. Aquaculture, 28, 241~249.
- Singley, J.A. and W. Chavin. 1971. Cortisol levels of normal goldfish, *Carassius auratus* L., and response to osmotic change. Am. Zool., 11, 653pp.
- Smart, G.R. 1981. Aspects of water quality producing stress in intensive fish culture. In *Stress and Fish* (Ed. by A.D. Pickering), Academic Press, London, pp. 277~293.
- Thomas, P. and L. Robertson. 1991. Plasma cortisol and glucose responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidate. Aquaculture, 96, 69~86.
- Wedemeyer, G.A., and D.J. McLeay. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In *Stress and Fish* (Ed. by A.D. Pickering), Academic Press, London, pp. 247~275.

---

1999년 4월 22일 접수

1999년 9월 9일 수리