

양식 환경이 강도다리, *Platichthys stellatus*의 혈액 생화학적 성상 및 lysozyme 활성에 미치는 영향

권문경 · 임한규^{†*} · 민병화^{*} · 변순규^{**} · 김이청^{**} · 조병열^{***}
국립수산과학원 자원회복사업단, ^{*}양식관리팀, ^{**}동해특성화연구센터
^{***}울산지방해양수산청

Effects of aquaculture conditions on blood chemistry property and lysozyme activity of starry flounder, *Platichthys stellatus*

Mun-Gyeong Kwon, Han Kyu Lim^{†*}, Byung Hwa Min^{*}, Soon-Gyu Byun^{**}

Yi-Cheng Kim^{**} and Byoung-Youl Cho^{***}

Fisheries Resources Restoration Project center, National Fisheries Research and Development Institute,
^{*}Aquaculture Management Team, ^{**}East Sea Mariculture Research Center,
^{***}Ulsan Regional Maritime Affairs and Fisheries office

We have investigated lysozyme activity and protectivity of starry flounder, *Platichthys stellatus* against olive flounder pathogenic bacteria, *Edwardsiella tarda*, *Vibrio ichthyenteri* and *Streptococcus iniae* in varying salinities, water temperatures and stocking density. Starry flounders were susceptible to *E. tarda* but not *V. ichthyenteri* and *S. iniae*. Under low salinity condition, the lysozyme activity was decreased a little compared to the control but not significant. The physiological and immune activities were normal up to 26 °C culture temperature and 100% stocking density; they were compromised from 29°C and 200%, respectively.

Key words: Starry flounder, Aquaculture condition, Immunity, Pathogenicity

강도다리는 삼투압 조절 능력이 뛰어나 저염분에 대한 내성이 강한 광염성 해산 경골어류로서 현재 새롭게 양식이 시도되고 있는 품종이다. 새로운 양식 대상품종을 개발하기 위해서는 건강한 양식생물을 생산할 수 있는 적정 환경과 병원체에 대한 양식생물의 방어능력에 대한 연구가 이루어져야한다. 즉, 양식생물이 서식하기에 적절한 환경은 성공적인 양식 생산을 위해서 필수적인 것으로 환경이 양식생물에 유리할 때 생물의 성장률, 번식능 그리고 질병에 대한 방어력은 높아지게 된다.

어류의 면역계는 특이적 면역계와 비특이적 면역계로 이루어져있다. 특이적 면역계 중 IgM은 나일틸라피아, 잉어, 대서양대구, 무지개송어 등에서 수온에 영향을 받는다는 보고가 있지만 (Rijkers *et al.*, 1980; Klesius 1990; Suzuki *et al.*, 1997; Magnadóttir *et al.*, 1999), 사육수의 염분농도와 pH는 무지개송어와 잉어의 IgM 농도에 영향을 미치지 않는다는 보고도 있다 (Yada *et al.*, 2001). 비특이적 면역계 중 lysozyme은 담수어 및 해산어의 점액 및 혈중에 존재하는 성분으로 세균 세포벽의 β -1,4 linked muramic acid peptido-

[†]Corresponding Author : Han Kyu Lim, Tel : 051-720-2423
Fax : 051-720-2439, E-mail : limhk@nfrda.re.kr

glycan 층을 파괴하여 방어능을 갖는다. Lysozyme 활성은 가자미류 (*Pleuronectes platessa*), 농어류 (*Limanda limanda*)와 대서양 연어 (*Salmo salar*)에서 수온과 염분농도에 따라 활성이 다르다는 보고가 있어 사육환경 요소 및 어종에 따라 면역반응이 다르게 나타나는 것을 알 수 있다 (Zheng *et al.*, 2004).

어류에 감염되는 병원체도 환경에 따라 증식 속도 및 병원성이 다르게 나타난다. 예로 세균은 어체의 살균 작용에 대하여 방어할 수 있는 cytotoxin, hemolysin과 fimbriae를 갖고 있으며, 이 성분은 배양 조건 즉, 배지 종류, pH, 온도, 염분농도 및 철농도에 따라 활성 및 분비량이 변하게 된다 (Jacques *et al.*, 1994; Ferrala *et al.*, 1986; Poole and Braun, 1988).

본 연구에서는 주요 어병세균의 강도다리에 대한 병원성, 사육수의 염분농도, 사육수온, 밀도가 강도다리의 면역능 및 방어능에 미치는 영향과 염분농도가 어병세균인 *Edwardsiella tarda*, *Vibrio ichthyenteri*, *Streptococcus iniae*의 증식에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험용 균주

실험용 균주인 *E. tarda*, *S. iniae* 및 *V. ichthyenteri*는 넙치에 폐사를 일으켰던 병원성 균주로 국립수산물과학원 병리연구팀에서 분리되어 -70°C에 동결 보존되었다. 본 균주는 BHIA에서 25°C, 24시간 전배양 후 모든 실험에 사용되었다 (Table 1).

주요 어병세균의 강도다리에 대한 병원성 조사

넙치의 주요 어병세균이 강도다리에 대한 병원성을 조사하기 위하여, 넙치에서 분리된 *E. tarda*, *S. iniae* 및 *V. ichthyenteri*를 복강주사하였다. 실험어는 260ℓ 용량의 FRP 수조에 강도다리 (13.2±1.5 cm)를 20마리씩 수용하고, 수온 23±1°C인 사육수를 유수하면서 상업용 펠릿 사료(수협사료, 2S호)를 1일 2회 반복 급여하였다. 실험용 균주는 멸균생리식염수를 이용하여 *E. tarda*는 4.7×10⁷, 4.7×10⁵, 4.7×10⁴, *V. ichthyenteri*는 3.0×10⁷, 3.0×10⁶, *S. iniae*는 7.2×10⁷, 7.2×10⁶의 농도가 되도록 현탁하여 복강 주사 후 8일간 생존율을 조사하였다.

염분농도가 세균의 성장 및 강도다리의 면역능에 미치는 영향

염분농도가 세균의 성장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 염분이 어병세균인 *E. tarda*, *V. ichthyenteri* 및 *S. iniae*의 성장에 미치는 영향을 조사하였다. -70°C에 보존된 시험균주는 BHIA에서 전배양 후 염분농도가 33%, 20%, 10%, 5%로 조정된 BHIB에서 25°C, 56시간까지 배양 후 600 nm에서 증식량을 측정하였다.

염분농도가 강도다리에 미치는 영향을 조사하기 위하여 강도다리를 염분농도가 33%, 20%, 10%, 5%이 되게 조절된 사육수에 사육하면서 면역능 및 방어능을 조사하였다. 실험어는 0.5 ton 용량의 FRP 수조에 강도다리 (9.9±0.8cm)를 120마리씩 수용하고, 수온 14±1°C인 사육수를 유수하면서 상업용 펠릿 사료를 1일 2회 투여하였다. 면역능은 실험 30, 60, 90일째 채혈하여 혈청 lysozyme 활성을 조사하였으며, 방어능

Table 1. Pathogenic bacteria from diseased olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

Bacteria	Origin	Location	Year
<i>Edwardsiella tarda</i>	Kidney	Jeju-do	2004
<i>Streptococcus iniae</i>	Kidney	Jeju-do	2005
<i>Vibrio ichthyenteri</i>	Kidney	Jeju-do	2004

은 실험 90일째 *E. tarda*를 4.0×10^5 cfu/fish가 되게 복강주사한 후 생존율을 조사하였다.

사육수온, 밀도가 강도다리 면역능 및 혈액성상에 미치는 영향

사육수온이 강도다리의 면역능에 미치는 영향은 17°C, 20°C, 23°C, 26°C, 29°C에 사육 후 80일째 혈액생화학적 성상 및 lysozyme 활성을 조사하였다. 실험어는 0.3 ton 용량의 FRP 수조에 강도다리 (88.1 ± 0.6 mm)를 100마리씩 수용하고, 각 실험 수온으로 조절된 사육수를 1일 24회전으로 유수하면서 상업용 펠렛 사료를 1일 2회 공급하였다. 사육밀도가 강도다리의 면역능에 미치는 영향은 수조 저면적에 대한 체표면적이 33%, 50%, 100%, 200%, 300% 되게 사육한 후 80일째 혈액생화학적 성상 및 lysozyme 활성을 조사하였다. 실험어는 0.5 ton 용량의 FRP 수조에 강도다리 (67.0 ± 0.6 mm)를 밀도별로 수용하고, 수온 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 인 사육수를 1일 24회전으로 유수하면서 상업용 펠렛 사료를 1일 2회 급이하였다.

혈청 lysozyme의 활성

Lysozyme 활성은 Parry *et al.* (1965)의 turbidimetric method를 이용하여 측정하였다. 즉, 멸균 생리식염수 (pH 6.2)에 *Micrococcus lysodeikticus* (0.2 mg/ml) 현탁 후, 현탁액 950 μl 와 혈청 50 μl

를 혼합하여 25°C, 30초 및 4분 30초 반응시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. Lysozyme 활성은 units/ml로 나타내었으며, 1 unit는 흡광도 값이 0.001/min 감소한 값으로 표시했다.

혈액 생화학적 성분 분석

강도다리의 미부정맥에서 헤파린 처리된 주사기로 시험구별로 3마리씩 채혈하여 혈액의 생화학적 성상을 분석하였다. 글루코스, ALT (Alanine aminotransferase), AST (Aspartate aminotransferase) 농도는 전혈을 이용하여 혈액자동분석기 (Boehringer Mannheim, Germany)로 분석하였으며, Total protein은 혈청을 분리하여 Biuret 법으로 측정하였다(Asan Pharm Co., LTD.).

통계 처리

결과의 통계 처리는 SPSS (SPSS Inc., 1997) program으로 ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다.

결 과

주요 어병세균의 강도다리에 대한 병원성 조사

넙치의 주요 어병세균인 *E. tarda*, *S. iniae*와 *V. ichthyoenteri*의 강도다리에 대한 병원성은 세균

Table 2. Cumulative mortality(%) of starry flounder, *Platichthys stellatus*, challenged with pathogenic bacteria

Days	<i>E. tarda</i> (cfu/fish)			<i>S. iniae</i> (cfu/fish)		<i>V. ichthyoenteri</i> (cfu/fish)	
	4.7×10^7	4.7×10^5	4.7×10^4	7.2×10^7	7.2×10^6	3.0×10^7	3.0×10^6
1	0	0	0	0	0	0	0
2	100	10	0	0	0	0	0
3	100	60	30	0	0	20	0
4	100	100	50	10	10	20	0
5	100	100	50	10	10	20	0
6	100	100	50	10	10	20	0
7	100	100	70	10	20	20	0
8	100	100	70	40	20	20	0

현탁액을 복강 주사 후 폐사율로 나타내었다.

*E. tarda*는 복강 주사 후 누적폐사율이 4.7×10^7 cfu/fish 농도에서는 2일째 100%, 4.7×10^5 cfu/fish 농도에서 4일째 100%로 병원성이 높게 나타나, *E. tarda*에 감염 시 폐사율이 높을 것으로 예상된다. 그러나 *S. iniae*와 *V. ichthyenteri*는 7.2×10^7 cfu/fish, 3.0×10^7 cfu/fish로 주사 시 누적폐사율이 각각 40%, 20%의 나타나 강도다리는 *S. iniae*와 *V. ichthyenteri*에 대해서 방어능이 높을 것으로 기대된다(Table 2).

염분농도가 세균의 성장 및 강도다리의 면역능에 미치는 영향

세균 배양 배지 중의 염분농도가 세균의 증식에 미치는 영향을 조사하기 위하여 염분농도에 따른 실험용 균주의 증식량을 흡광도를 이용하여 측정하였다. 그 결과, *E. tarda*와 *S. iniae*는 염

분농도가 낮을수록 증식속도가 빨랐으며, *E. tarda*는 *S. iniae*에 비하여 염분농도에 따른 차이가 컸다. 그러나, *V. ichthyenteri*는 염분농도가 낮을수록 균의 성장 속도가 느리게 나타났다(Fig. 1).

사육수의 염분농도가 강도다리의 면역능에 미치는 영향은 혈청 lysozyme 활성을 이용하여 측정하였다. Lysozyme 활성 조사 결과, 일반 해수(33%)구에 비하여 염분농도가 낮아질수록 lysozyme 활성이 다소 낮아지는 경향을 나타내었으나, 실험구간에 유의적인 차이는 보이지 않았다(Fig. 2). 사육수의 염분농도가 강도다리의 방어능에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실험 90일째 *E. tarda*로 복강 주사 후 누적폐사율을 조사하였다. 결과, 실험 6일째 일반해수구는 누적폐사율이 85%, 일반 해수구를 제외한 모든 실험구는 100%를 나타내어, 일반 해수구가 다

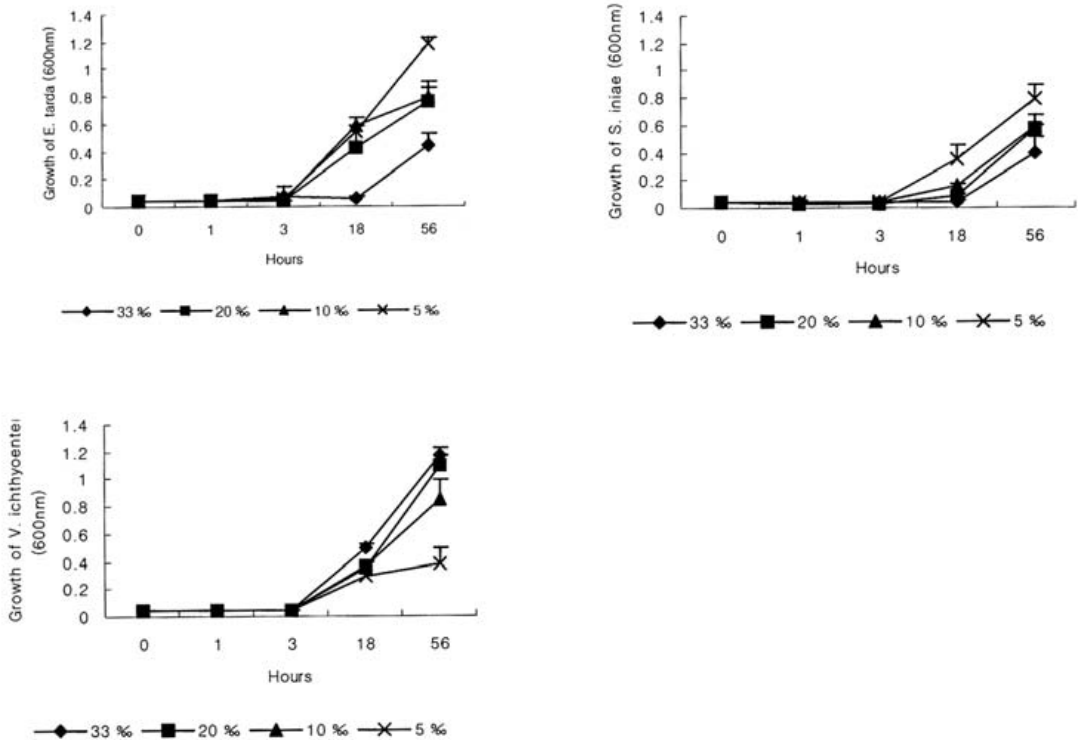


Fig.1. Proliferation of *Edwardsiella tarda*, *Streptococcus iniae* and *Vibrio ichthyenteri* incubated at different salinities. For each test, triplicate assays were achieved.

소 낮은 폐사율을 나타내었다.

사육수온, 밀도가 강도다리 혈액성상 및 면역능에 미치는 영향

사육수온이 강도다리 혈액성상에 미치는 영향을 조사한 결과 GOT, GPT 및 total protein에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, glucose에서는 26°C 이상에서는 저수온구에 비하여 유의적으로 높은 농도를 나타내었다 (Table 3). 사육

수온이 강도다리의 lysozyme 활성화에 미치는 영향 조사 결과, 수온 29°C 이상에서는 낮은 수온구에 비하여 유의적으로 활성이 저하되는 것으로 나타났다 (Fig. 3).

사육밀도가 강도다리 혈액 성상에 미치는 영향을 조사한 결과, GOT, GPT 및 total protein에서는 밀도구 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 glucose 농도는 수조 저면적의 200% 이상에서 높은 경향을 나타내었다 (Table 4). 사육밀

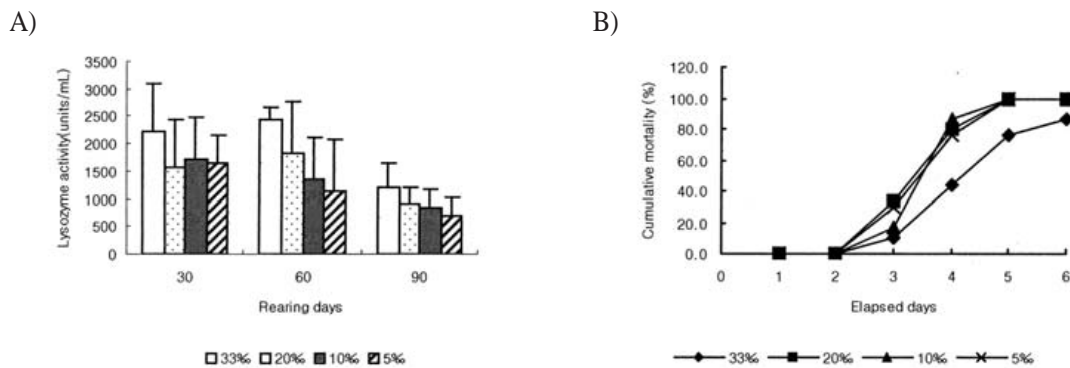


Fig.2. Effects of different salinities on starry flounder, *Platichthys stellatus*. A: Serum lysozyme activity of starry flounder, *Platichthys stellatus* in different salinities. For each test, triplicate assays were achieved.; B: Cumulative mortality of starry flounder, *Platichthys stellatus* challenged with *Edwardsiella tarda*.

Table 3. Effect of water temperature on blood chemistry activity of starry flounder, *Platichthys stellatus*

Temperature (°C)	AST ²⁾ (karmen /mℓ)	ALT ³⁾ (karmen /mℓ)	Total Protein (g/dℓ)	Glucose (g/ dℓ)
17	34.5 ± 2.30 ¹⁾	26.7 ± 2.61	3.7 ± 0.19	38.1 ± 5.62 ^a
20	23.7 ± 4.09	28.3 ± 2.18	3.6 ± 0.17	37.4 ± 3.82 ^a
23	27.6 ± 4.04	28.6 ± 2.27	3.7 ± 0.40	35.9 ± 7.41 ^a
26	31.4 ± 1.05	29.1 ± 1.18	3.7 ± 0.22	49.6 ± 3.65 ^b
29	34.1 ± 1.01	29.2 ± 0.77	3.6 ± 0.18	51.1 ± 3.43 ^b

¹ Values (mean ± SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

² Aspartate aminotransferase

³ Alanine aminotransferase

Table 4. Effect of densities on blood chemistry activity of starry flounder, *Platichthys stellatus*

Density (%)	AST ²⁾ (karmen /mℓ)	ALT ³⁾ (karmen /mℓ)	Total Protein (g/dℓ)	Glucose (g/dℓ)
300	33.0±3.68	27.3±3.42	3.6±0.13	41.3±4.22 ^a
200	33.2±1.40	27.3±1.76	3.9±0.09	41.7±4.20 ^a
100	34.3±3.18	29.5±2.14	3.9±0.12	39.3±3.92 ^{ab}
50	27.9±1.82	30.5±0.82	3.4±0.14	34.3±2.43 ^b
33	28.8±2.08	30.6±2.01	2.9±0.58	38.3±1.22 ^{ab}

¹ Values (mean±SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P<0.05$).

² Aspartate aminotransferase

³ Alanine aminotransferase

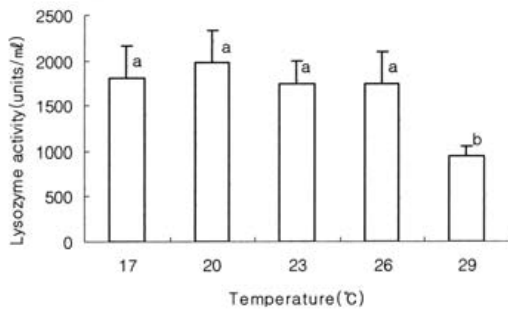


Fig.3. Effect of water temperature on serum lysozyme activity of starry flounder, *Platichthys stellatus*. Values (mean±SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P<0.05$).

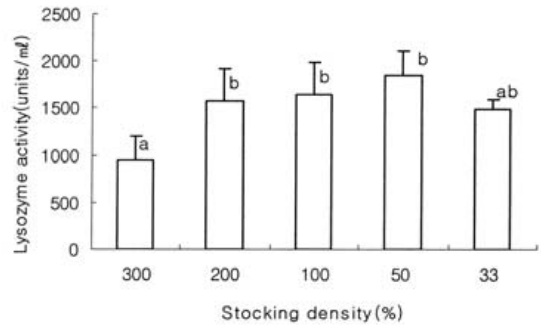


Fig.4. Effect of densities on serum lysozyme activity of starry flounder, *Platichthys stellatus*. Stocking density was expressed as (fish body surface/tank bottom area) × 100. Values (mean±SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P<0.05$).

도가 lysozyme 활성화에 미치는 영향을 조사한 결과, 사육밀도가 수조저면적의 300% 이상과 33% 이하에서 50~200%에 비하여 활성이 저하되었다 (Fig. 4).

고 찰

본 연구에서는 새로운 양식대상 종으로 개발 중인 강도다리의 세균성 질병에 대한 감수성과 강도다리의 생존율 및 생리활성을 높일 수 있는 적절한 사육환경을 조사하여 강도다리의 양식대상 종으로서의 가능성을 검토하였다.

어류양식에서 세균성 질병은 양식생물의 대량 폐사를 일으킬 수 있는 주요 병원체로 새로운 양식대상 종을 개발 시 세균 감염에 대한 저항력이 낮은 어종은 양식종으로 적합하지 않을 수 있다. 강도다리와 같은 가자미목에 속하는 넙치는 우리나라 양식 산업의 대표적 품종으로 넙치의 주요 세균성 질병인 *E. tarda*, *S. iniae* 및 *V. ichthyoenteri*에 대한 강도다리의 감수성을 조사하였다. 결과, *E. tarda* 감염에 대해서는 감수성이 높게 나타났으나, *S. iniae*와 *V. ichthyoenteri*에 대해서는 방어력이 높게 나타났다. 본 연구에서는 넙치 유래 균주를 사용하여 병원성 실험을

하였으나, 본 결과를 고려하여 양식 현장에서 강도다리의 대량생산 시 *E. tarda* 감염에 대한 예방이 필요할 것으로 판단된다.

강도다리는 광염성 어류로 기수지역에서도 양식이 가능할 것으로 판단되며, 기수지역에서 양식은 새로운 양식 기법으로 양식 생산을 확대할 수 있을 것으로 기대된다. 본 연구에서 염분농도별 사육 시험 결과, 일반해수구에서 lysozyme 활성 및 생존율이 높게 나타났으나 실험구간에 유의적인 차이는 보이지 않았다. 실험 기간 동안 lysozyme 활성이 다소 저하되는 경향을 보였는데, 강도다리 성장에 따른 고밀도로 인하여 면역능이 저하된 것으로 사료된다. 따라서, 저염분 해수는 강도다리에 다소 스트레스로 작용하여 면역능 저하가 나타난 것으로 보이며, 앞으로는 저염분 해수를 이용하여 강도다리의 치어기부터 성어기까지 생리 활성, 질병 발생 및 면역능 뿐만 아니라 경제성 분석에 대한 연구도 필요할 것으로 생각된다.

강도다리 사육 염분농도와 같은 염분의 배지에서 병원성 세균의 성장을 조사한 결과, 염분농도에 따라 증식속도에 차이가 나타났으나, 유의적인 차이는 보이지 않았다. 세균은 환경변화에 대한 적응 방법으로서 capsule의 두께를 변화시키거나 (Jacques *et al.*, 1994) siderophore 활성을 높이기도 함으로써 (Brown and Williams, 1985) 병원 미생물학적 성장에도 큰 차이를 나타내게 된다. Zheng *et al.* (2004)은 *E. tarda*를 15~30°C에서 배양 후 낚치, *Paralichthys olivaceus*에 인위 감염 시, 20°C와 25°C에서 배양하였을 때 어체 내에서 증식 속도가 빨랐으며, 병원성도 높게 나타났다. 또한, Mamnur *et al.* (1994)은 *E. tarda*의 배양 염분농도에 따른 증식속도 및 병원성 조사 결과, 증식속도는 0%에서 가장 빠르고 40%에서 가장 느렸으나, 병원성은 20%에서 가장 높았으며, 0과 30%에서 가장 낮게 나타나, 병원성과 증식속도가 일치하지 않았다. 본 연구에서는 염분농도에 따른 세균의 증식속도만 조사하였으나, 환경에 따른 병원성의

차이가 양식생물에 감염 시 발병에 더 중요한 요소로 작용할 것으로 생각된다. 새로운 양식대상 종 개발시 사육시설을 최대한 효율적으로 이용하여 최대 생산할 수 있는 적정 사육밀도 및 수온에 대한 연구는 양식대상 종의 생산성 향상을 위해 필수적인 연구이다. 모든 척추동물은 주어진 환경의 변화를 생리학적인 범위 내에서 조절하여 일정한 수준의 혈액 성상을 유지하려고 하며, 환경의 변화에 대한 저항성의 상한선과 하한선을 넘으면 폐사하게 되지만 (Reddy and Leatherland, 1998), 양식장 환경에서는 수질상태, 과밀식, 수온변화, handling, 병원체 등 많은 스트레스 인자가 존재하여 어류의 항상성 유지를 방해한다.

생체의 스트레스 반응 중 혈액의 glucose는 측정이 용이하고, 상대적으로 저렴하며, 2차 스트레스 반응의 가장 대표적인 지표 (Wedemeyer *et al.*, 1990)로서 증가 시 3차 스트레스 반응인 면역능 저하를 유도한다. Dominguez *et al.* (2005)은 수온과 염분농도가 나일틸라피아의 lysozyme 활성에 미치는 영향을 조사한 결과, 28°C, 24‰에서 가장 높은 활성을 나타내었다. 본 연구에서도 사육수온에 밀도에 따라 lysozyme 활성이 다르게 나타나, 29°C 이상에서는 낮은 수온구에 비하여 유의적으로 활성이 저하되는 것을 볼 수 있으므로, 26°C 이하에서 사육하는 것이 좋을 것으로 판단된다. 또한 사육밀도가 lysozyme 활성에 미치는 영향을 조사한 결과, 체표면적 300% 이상에서 저밀도구에 비하여 활성이 저하되므로 사육밀도는 수조저면적의 100%가 넘지 않는 것이 좋을 것으로 사료된다.

요 약

어병세균인 *Edwardsiella tarda*, *Vibrio ichthyenteri*, *Streptococcus iniae*의 강도다리에 대한 병원성, 염분농도가 어병세균의 성장 및 강도다리의 lysozyme 활성과 사육수온, 밀도가 강도다리에 미치는 영향을 조사하였다.

연구 결과, *E. tarda*에 대해서는 병원성이 높았으나, *V. ichthyenteri*와 *S. iniae*에 대해서는 항병력이 높았다.

염분농도에 따른 균의 증식속도 조사 결과, *E. tarda*와 *S. iniae*는 저염분에서 증식속도가 빨랐으나, *V. ichthyenteri*는 저염분에서 낮았으나, 유의적인 차이는 보이지 않았다. 저염분 사육에서 강도다리의 lysozyme 활성은 일반해수구에 비하여 다소 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

사육수온, 밀도가 강도다리에 미치는 영향을 조사한 결과, 수온은 26°C 이하, 밀도는 수조저면적의 100% 이하가 강도다리의 생리학적 성장 및 lysozyme 활성이 높게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 수산특정연구개발사업 (강도다리, *Platichthys stellatus*의 염분내성 및 저염분 해수를 활용한 완전양식 기술 개발, RP-2007-AQ-068)의 지원에 의해 수행되었습니다.

참고 문헌

- Brown, M.R. and Williams, P. : The influence of environment on envelope properties affecting survival of bacteria in infections. *Annu. Rev. Microbiol.*, 39: 527-556, 1985.
- Dominguez, M., Takemura, A. and Tsuchiya, M. : Effects of changes in environmental factors on the non-specific immune response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L.. *Aquaculture Res.*, 2005, 36: 391-397, 2005.
- Duncan, D.B. : Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics*, 11: 1-42, 1955.
- Ferrala, N.F., Champlin, A.K and Fekete, F.A. : Morphological differences in the capsular polysaccharide of nitrogen-fixing *Azotobacter chroococcum* B-8 as a function of iron and molybdenum. *FEMS Microbiol.*, 33, 137-142.
- Jacques, M., Belanger, M., Diarra, M.S., Dargis, M. and Malouin, F. : Modulation of *Pasteurella multocida* capsular polysaccharide during growth under iron-restricted condition and *in vivo*. *Microbiol.*, 140: 263-270, 1994.
- Klesius, P.H. : Effects of size and temperature on the quantity of immunoglobulin in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Veterinary Immunol. Immunopathol.*, 24: 187-195, 1990.
- Magnadóttir, B., Jónsdóttir, H., Helgason, S., Björnsson, B., Jørgensen, U. and Pilström, L. : Humoral immune parameters in Atlantic cod(*Gadus morhua* L.): I. The effects of environmental temperature. *Comp. Biochem. Physiol.*, 122: 173-180, 1999.
- Mamnur, R.M., Nakai, T. and Murgoa, K. : An ecological study on *Edwardsiella tarda* in flounder farms. *Fish Pathol.*, 29: 221-227.
- Parry, R.M., Chandau, R.C. and Shahani, R.M. : A rapid and sensitive assay of muramidase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 119: 384-386, 1965.
- Poole, K and Braun, V. : Influence of growth temperature and lipopolysaccharide on hemolytic activity of *Serratia marcescens*. *J. Bacteriol.*, 170, 5146-5152.
- Ready, P.K. and Leatherland, J.F. : *Fish Dis. Disorders*, 2: 279-301, 1998.
- Rijers, G.T., Frederix-Wolters, E.M.H. and Van, M.W.B. : The immune system of cyprinid fish. Kinetics and temperature dependence of antibody-producing cells in carp(*Cyprinus carpio*). *Immunology*, 41: 91-97, 1980.
- SPSS Inc. : SPSS Base 7.5 for Window, SPSS Inc., 444N. Michigan Avenue, Chicago, IL, 60-61, 1997.
- Suzuki, Y., Otaka, T., Sato, S., Hou, Y. and Aida, K.

- : Reproduction related immunoglobulin changes in rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem.*, 17: 415-421, 1997.
- Wedemeyer, G.A., Barton, B.A. and McLeay, D.J. : Stress and acclimation. In *Methods for Fish Biology*. pp. 451-489, Schreck, C.B. and Moyle, P.B., Am. Fish. Soc., Bethesda, Maryland, 1990.
- Yada, T., Azuma, T. and Takagi, Y. : Stimulation of non-specific immune function in seawater-acclimated rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss* with reference to the role of growth hormone. *Com. Biochem. Physiol.*, 129B: 695-701, 2001.
- Zheng, D., Mai, K., Liu, S., Cao, L., Liufu, Z., Xu, W., Tan, B., and Zhang, W. : Effects of temperature and on virulence of *Edwardsiella tarda* to japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* (Terminck et Schlegel). *Aquaculture Res.*, 35: 494-500, 2004.
-
- Manuscript Received : November 9, 2007
Revision Accepted : December 1, 2007
Responsible Editorial Member : So Young Kang
(Chonnam Univ.)